



间歇性 θ 节律经颅磁刺激改善大鼠工作记忆的海马与前额叶跨脑区神经网络效应研究*

张天恒 郭苗苗** 徐桂芝** 吉利辉 王中豪

(河北工业大学电气工程学院, 省部共建电工装备可靠性与智能化国家重点实验室,
天津市生物电工与智能健康重点实验室, 天津 300130)

摘要 目的 间歇性 θ 节律刺激(iTBS)作为一种新型的经颅磁刺激模式,已经广泛应用于探索大脑认知功能和神经调控等方面,但其电生理调控机制尚不清晰,探索iTBS对大脑认知功能的影响及其电生理机制,对脑疾病的治疗和磁刺激的临床应用具有重要意义。方法 本文利用iTBS制备磁刺激大鼠模型,采集记录大鼠在执行工作记忆(WM)任务过程中腹侧海马(vHPC)和内侧前额叶皮层(mPFC)的局部场电位(LFPs)信号,应用格兰杰因果网络分析方法,研究了iTBS对大鼠WM过程中vHPC与mPFC跨脑区神经网络协同和信息交互的影响。结果 iTBS增强了大鼠的学习记忆能力,使其完成工作记忆任务所需时长减少(2.67 ± 1.63) d ($P<0.05$),iTBS显著改善了大鼠的行为学表现;同时iTBS增强了大鼠在WM期间vHPC与mPFC脑区的自因果网络连接,增加了网络连接强度、连接密度和全局效率($P<0.05$);并且iTBS增强了vHPC与mPFC脑区的跨脑区网络连接,增加了vHPC-mPFC跨脑区的节点度和因果流向($P<0.05$)。结论 iTBS磁刺激对大鼠工作记忆行为学及相关脑区神经网络均有显著的积极作用,iTBS可以促进大鼠认知能力,提高大脑神经网络的信息交互和传递效率,iTBS的神经调控机制可能是通过增强大脑vHPC与mPFC之间的网络连接和信息交互来提高工作记忆能力。

关键词 间歇性 θ 节律刺激, 海马-前额叶, 工作记忆, 脑网络, 格兰杰因果**中图分类号** R318, R338**DOI:** 10.16476/j.pibb.2021.0243

经颅磁刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)是一种非侵入、非药物治疗的神经调控技术,在探索大脑认知功能和治疗脑疾病方面得到广泛的应用,具有重要的临床价值^[1-3]。 θ 节律刺激(theta burst stimulation, TBS)是一种模拟神经节律放电特性的新型TMS刺激模式,与传统的重复TMS相比,刺激强度降低,刺激时长缩短,被认为是更有效的刺激模式,并随后被用于进行标准化的频率刺激^[4-5]。TBS按照间隔时间不同分为间歇性TBS(intermittent TBS, iTBS)和连续性TBS(continuous TBS, cTBS)。研究表明,iTBS可以对大脑皮层产生兴奋效果^[6],改善大脑认知功能,但其电生理机制仍不清楚。Blumberger等^[7]研究了iTBS和rTMS两种刺激模式在治疗抑郁症方面的应用,结果表明iTBS的治疗效果与10 Hz rTMS的治疗效果相当,但iTBS的治疗周期更短。

工作记忆(working memory, WM)是中枢神经系统重要的高级功能,在许多复杂任务的高级认知活动中发挥着重要作用,如理解、阅读及学习等^[8]。WM障碍是神经系统正常衰老和一些神经退行性疾病,如轻度认知障碍、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)等的主要临床表现之一,因此研究WM的神经机制对WM障碍等神经系统疾病的治疗具有重要的科学价值^[9]。工作记忆是较高认知能力的基础,腹侧海马(ventral hippocampus, vHPC)和内侧前额叶皮层(medial

* 国家自然科学基金(51737003, 51677053, 51707054)和天津市自然科学基金(20JCQNJC00710)资助项目。

** 通讯联系人。

郭苗苗 Tel: 15900241399, E-mail: gmm@hebut.edu.cn

徐桂芝 Tel: 13072222266, E-mail: gxzu@hebut.edu.cn

收稿日期: 2021-08-18, 接受日期: 2021-12-21

prefrontal cortex, mPFC) 脑区是工作记忆的主要责任脑区^[10]。近年来已有研究证明, TMS 作用于大脑多靶区可以有效改善 AD 患者的认知功能和记忆^[11], 特别是轻度障碍患者和 AD 早期。王欣^[12]通过对 AD 转基因鼠的实验研究发现, TMS 可以实现对 AD 早期异常神经活动的调控, 并实现了对 AD 认知障碍的延缓。同时, iTBS 的刺激方案也被广泛用于研究 AD 患者记忆障碍皮质可塑性的调节机制^[13], iTBS 可以通过诱导突触可塑性来影响脑内的神经活动, 同时神经元的突触可塑性与学习记忆密切相关^[14], 这种新的刺激模式也为探索大脑认知功能的神经调控提供新的有效干预方法和手段。

大脑是一个非常复杂的系统, 多个神经元、神经元集群或者多个脑区相互连接成庞杂的结构网络, 并通过相互作用完成脑的各种功能^[15]。在体多通道记录技术能够长期稳定记录动物清醒状态下大脑多个脑区的神经元电活动信号, 为研究大脑特定目标脑区的神经活动提供有效技术手段^[16]。大脑结构和功能的神经网络连接与脑认知机制之间存在紧密联系^[17], 学习记忆等认知功能的实现需要大脑多个脑区的神经同步活动, 神经网络研究已经成为脑功能与脑疾病研究领域的热点^[18]。有研究表明, 在空间工作记忆任务期间, vHPC-mPFC 网络中双向信息流增加, 认为信息流的增加预测了记忆的准确性^[19]。同时有研究发现, 记忆和认知能力下降与大脑不同脑区之间联系的改变有关, 这可能是由相应脑区之间结构和功能上的连接障碍所致^[20-21]。工作记忆障碍被认为是大脑认知功能衰退的核心特征, 它来源于局部脑回路与远程脑回路间的失联^[22], Dai 等^[23]基于磁共振成像和图论网络分析, 发现 AD 患者的临床表现与大脑功能连接网络或结构连接的异常有关。因此, 从前额叶-海马神经网络协同性的角度探索经颅磁刺激对工作记忆的调控机制研究具有十分重要的意义和价值^[24]。

因此, 本文应用工作记忆行为学和电生理学, 通过在体多通道微电极记录技术, 记录并获取工作记忆过程中大鼠 mPFC 和 vHPC 的局部场电位 (local field potentials, LFPs) 信号, 基于时域格兰杰因果方法, 深入分析了 mPFC-vHPC 双脑区的神经网络连接, 从神经网络协同性的角度, 研究了 iTBS 磁刺激模式对工作记忆过程中跨脑区神经网络的调控作用, 为临床 TMS 模式优化提供科学依

据与理论支撑, 具有重要的学术价值和应用前景。

1 材料与方法

1.1 磁刺激大鼠模型制备

本文以 12 只成年雄性 Wistar 大鼠为实验对象, 随机分为刺激模型组和对照组, 每组 6 只, 大鼠周龄为 8~10 周, 体重约 300 g, 本实验均已由河北工业大学生物医学伦理委员会审查通过 (审查编号: HEBUTaCUC201905)。

TMS 设备采用重复脉冲磁刺激系统 (英国 Magstim 公司生产, 型号: Rapid2), 刺激线圈采用 8 字型线圈。刺激时, 将大鼠的头部固定, 同时避免其挣扎减少应激反应。刺激线圈放置在与大鼠的顶骨平行的头皮表面上方约 2~3 mm 处。刺激组采用 iTBS 经颅磁刺激模式对大鼠头部进行刺激, 刺激强度为 100% 运动阈值, 刺激频率为 5 Hz, 每天刺激 600 个脉冲, 刺激总时长为 14 d, 对照组大鼠不进行任何刺激操作。经颅磁刺激的 TBS 模式中每个脉冲又包含 3 个 50 Hz 的高频脉冲, iTBS 刺激模式为刺激 2 s, 间隔 8 s (图 1)。

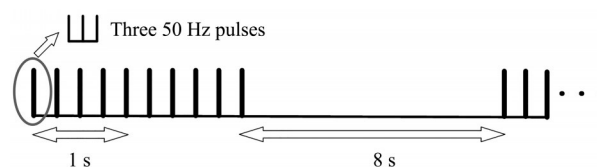


Fig. 1 Schematic diagram of iTBS magnetic stimulation paradigm

1.2 电极植入与数据采集

磁刺激完成后, 利用在体多通道技术对大鼠进行电极植入手术, 分别在大鼠 vHPC 和 mPFC 脑区各植入 8 通道微电极阵列 (1~8 通道为 mPFC, 9~16 通道为 vHPC), 电极位置排布均为 2×4 (图 2b)。

首先, 在大鼠腹腔注射水合氯醛 (40 mg/kg) 进行麻醉, 皮下注射阿托品以减少呼吸道分泌。待其麻醉后, 剔除大鼠头部毛发并将其头部固定在立体定位仪上。切开头部皮肤, 暴露颅骨, 找到冠状缝与矢状缝的交点, 为前囟点位置。参考大鼠脑定位图谱^[25], 以前囟点为参考原点, 定位 mPFC 脑区 (向前 2.5~4.5 mm, 旁开 0.2~1.0 mm, 深度 2.5~3.0 mm) 和 vHPC 脑区 (向后 4.0~5.3 mm, 旁开 4.0~5.0 mm, 深度 7.5~8.5 mm) (图 2)。

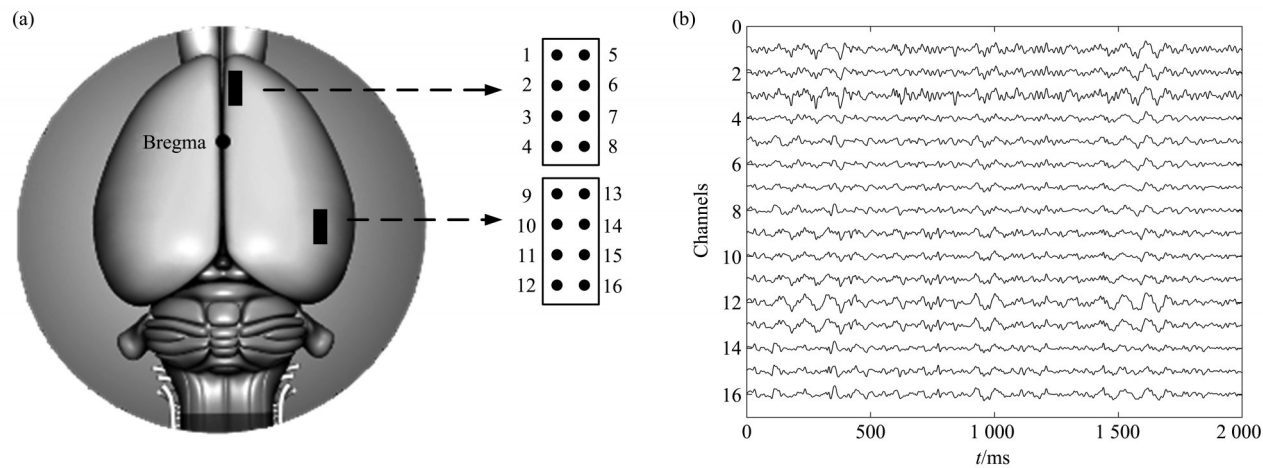


Fig. 2 The location of electrode placement in brain regions of rats and the LFPs signals
(a) The electrode location. (b) A 16-channel LFPs signals for 2 s.

使用颅钻在颅骨上述定位区域各开一个矩形窗，暴露并移除硬脑膜，将双脑区微电极阵列缓慢垂直推进至目标脑区深度，同时，对记录到的神经元信号进行持续监控，最后用牙科水泥和不锈钢螺钉进行固定。手术完成后，将大鼠放回饲养笼进行单独饲养，恢复期2 d后，进行T迷宫工作记忆行为学任务，并同步采集记录行为学过程中的大鼠vHPC和mPFC脑区的LFPs信号。

本文应用在体多通道神经电生理信号采集系统（美国 Plexon 公司生产，OmniPlex128）对大鼠vHPC和mPFC脑区的神经电信号进行记录，采样频率为1 kHz，通过500 Hz低通滤波从神经电信号中提取原始LFPs信号，再经过去除50 Hz工频干扰和基线漂移，以及0.5~100 Hz滤波等预处理，然后用于后续的数据处理与分析。

1.3 T迷宫行为学实验

本文应用T迷宫^[26-27]行为学实验来评价大鼠

工作记忆能力。大鼠恢复期过后，开始对大鼠进行2 d适应性训练，即让大鼠在迷宫中自由探索，2次/d，每次30 min，随后开始正式训练任务。每天对每只大鼠进行两组T迷宫WM任务训练，每组训练包含20次实验。每次实验任务均包括自由选择阶段和延时交替选择两个阶段（图3）。任务开始前，在T迷宫左右两目标臂端放置食物奖励；任务开始后，大鼠从起始端出发，首先进行自由选择阶段，此时大鼠可以任意进入一个目标臂端，并获得食物奖励。随后大鼠回到起始端经过5~10 s延迟，重新出发，开始延时交替选择阶段。此时当大鼠选择与自由选择阶段不同目标臂端时，大鼠可以获得食物奖励，并视为正确执行WM任务；而当大鼠选择与自由选择阶段同一目标臂端时，则大鼠不能获得食物奖励，视为错误执行WM任务。一次实验任务完成以后，大鼠返回到起始区域，准备重新开始下一次WM任务训练。在大鼠执行T迷宫WM任

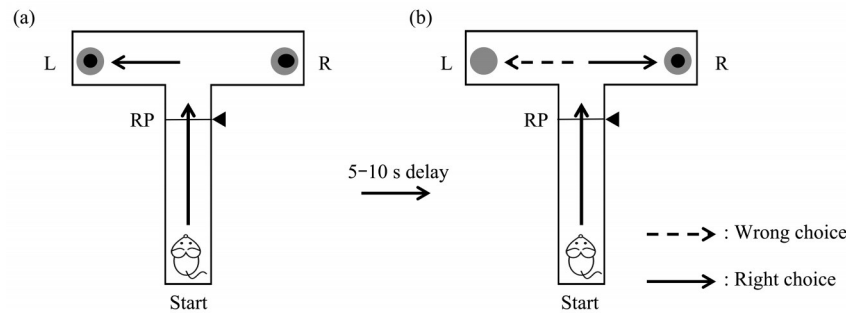


Fig. 3 T Maze WM behavioral task
(a) Free choice. (b) Delay alternate choice. RP is the reference point for behavioral choice.

务行为学过程中同步采集记录 vHPC 和 mPFC 脑区的 LFPs 信号。

记录每天大鼠行为学数据结果, 以正确执行 WM 任务次数占总任务次数的百分比表示大鼠每天任务的正确率。当大鼠执行 T 迷宫 WM 任务的正确率达到并保持在 80% 以上连续 2 d, 认为其“学会”此任务。在大鼠进行 T 迷宫工作记忆行为学任务的同时, 同步采集记录行为学过程中的大鼠 vHPC 和 mPFC 脑区的 LFPs 信号。将大鼠正确执行工作记忆任务中延时交替选择阶段的 LFPs 数据用于后续的网络计算和分析。

1.4 数据处理与分析

本文基于格兰杰因果^[28-29] (Granger causality, GC) 网络连接模型, 构建复杂因果网络, 对比分析不同组大鼠在工作记忆任务过程中 vHPC-mPFC 跨脑区网络的因果关联特性, 研究 iTBS 磁刺激对大鼠工作记忆的跨脑区神经网络调控机制。

格兰杰因果关系 GC 值的大小反映了不同电极通道之间神经信号因果连接的强度大小。计算神经信号每两个通道之间的因果连接 GC 值, 同时采用 Bonferroni 校正计算有显著性 ($P < 0.05$) 的格兰杰因果 GC 值, 去除无效连接, 这样可以得到一个因果连接矩阵网络 GC^d :

$$GC^d = \begin{bmatrix} GC_{11} & GC_{12} & \dots & GC_{1j} \\ GC_{21} & GC_{22} & \dots & GC_{2j} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ GC_{i1} & GC_{i2} & \dots & GC_{ij} \end{bmatrix} \quad (1)$$

其中, GC_{ij} 表示通道 j 对通道 i 的因果连接。分别计算 vHPC 与 mPFC 脑区内部以及 vHPC-mPFC 神经信号每两个通道之间的因果连接 GC 值, 可以分别构建得到 vHPC 与 mPFC 脑区自身的因果网络, 以及 vHPC-mPFC 两个脑区的跨脑区因果网络。

然后在矩阵网络 GC^d 的基础上, 对网络进行阈值化处理剔除网络伪连接, 得到二值矩阵网络 GC^b :

$$GC^b = \begin{bmatrix} GC_{11}^b & GC_{12}^b & \dots & GC_{1j}^b \\ GC_{21}^b & GC_{22}^b & \dots & GC_{2j}^b \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ GC_{i1}^b & GC_{i2}^b & \dots & GC_{ij}^b \end{bmatrix} \quad (2)$$

其中, GC_{ij}^b 的值只为 0 或者 1, 当 GC_{ij}^d 大于阈值为 1, 小于阈值为 0。当计算每个脑区内因果连接时, 对角线为节点自连接, 设置为 0。

在二值矩阵网络的基础上, 进一步计算网络连接强度、连接密度、全局效率以及因果流向性等网络特性进行对比分析。

网络连接密度可以表征网络通道节点之间连接数目的多少, 用 CD 表示:

$$CD = \frac{1}{N(N-1)} K \quad (3)$$

其中, N 表示通道数量, K 表示矩阵网络中所有非零元素的数量。

全局效率指的是网络中各节点之间最短路径长度的调和平均数的倒数, 最短路径长度表示网络从一个节点到另一个节点的最短连接边的长度。全局效率是衡量网络对信息的总体传输能力的全局指标, 用 Eg 表示:

$$L_{ij} = \sum_{a_{uv} \in d_{ij}} a_{uv}, i \neq j \quad (4)$$

$$Eg = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{i,j=1}^N \frac{1}{L_{ij}} \quad (5)$$

其中, d_{ij} 表示从节点 j 到节点 i 的最短路径, a_{uv} 表示从节点 j 到节点 i 的连接边, L_{ij} 表示从节点 j 到节点 i 的最短路径长度。

节点的度定义为网络中与节点之间相连的其他节点数目, 一个节点的度越大意味着这个节点在网络中越重要。在有向网络中, 节点的度包括出度和入度, 节点总的度大小为该节点出度与入度的和:

$$k_i^{\text{in}} = \sum_{j=1}^N GC_{ji}, k_i^{\text{out}} = \sum_{j=1}^N GC_{ji} \quad (6)$$

$$k_i^{\text{all}} = k_i^{\text{out}} + k_i^{\text{in}}$$

其中, k_i^{in} 为入度, 表示其他通道对通道 i 有因果连接的通道数; k_i^{out} 为出度, 表示通道 i 对其他通道有因果连接的通道数。

因果流向性是复杂网络连接中的一个重要性质。网络节点的因果流向定义为其出度和入度之间的差值, 用 CF_i 表示:

$$CF_i = k_i^{\text{out}} - k_i^{\text{in}} \quad (7)$$

其中, CF_i 值大于 0, 表示该节点对整个网络产生强烈的因果影响, 为因果源, 反之 CF_i 值小于 0, 表示该节点为因果汇。

1.5 组织学检验

在实验结束后, 对大鼠脑组织进行切片, 验证微电极阵列在大鼠脑区的植入位置。将大鼠全脑完整地取出, 放入多聚甲醛溶液中进行浸泡固定 24 h, 再将全脑放入 30% 的蔗糖溶液中进行脱水, 等待大脑沉降 24 h 后取出, 分别进行前额叶和海马脑区的修块保留, 然后使用振动切片机, 沿电极植入方向进行大脑冠状切片, 脑片厚度为 150 μm , 将切好的脑片按照顺序贴在载玻片上, 并用中性树

胶进行封片,最后应用光学显微镜拍照记录实际电极植入位置,并与大鼠脑图谱进行比对,验证植入位置是否在海马脑区和前额叶皮层。

1.6 统计学分析

本实验所得数据采用 Wilcoxon 符号秩和检验法进行统计学分析,以 P 值大小为参考对不同组间数据差异是否有统计学意义进行判断,认为当 $P < 0.05$ 时数据具有显著性差异并记为 “*”,同时

$P < 0.01$ 时记为 “**”, $P < 0.001$ 时记为 “***”。

2 结 果

2.1 组织学验证结果

对大鼠脑组织进行切片检测,记录大鼠前额叶皮层和海马脑区的切片图,并与大鼠脑图谱进行对照,结果如图4所示。

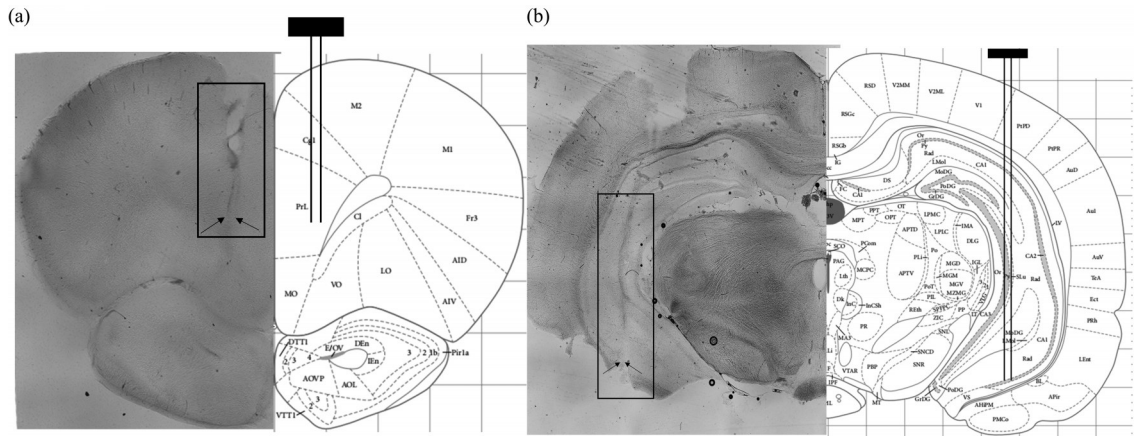


Fig. 4 The histological representations of the electrode positions
(a) mPFC. (b) vHPC. The left is the partial brain sections and the right is standard brain atlas.

图4右侧部分为标准脑图谱^[25],图中PrL和CA1分别为前囟点前4.20 mm前额叶皮层和前囟点后5.04 mm海马脑区位置;左侧为实际大脑切片图,由于微电极阵列位置排布均为2×4,在脑组织切片上可以观察到两列电极孔道,图中黑色框和黑色箭头表示为两列电极孔道位置和电极末端位点。

2.2 行为学统计分析

统计每组大鼠“学会”工作记忆任务所需时长天数,作为评价大鼠工作记忆能力的行为学指标,并对刺激组 and 对照组大鼠平均时长天数进行对比分析(图5)。

对照组大鼠“学会”工作记忆任务的平均时长天数为(7.67±1.966) d,刺激组大鼠“学会”工作记忆任务的平均时长天数为(5.00±0.894) d,刺激组大鼠“学会”工作记忆任务所需时长天数明显低于对照组,完成工作记忆任务所需时长减少了(2.67±1.63) d,经 Wilcoxon 符号秩和检验,两组时长天数之间存在统计学差异($df=5$, $Z=-2.207^b$, $P=0.027$)(图5)。结果表明, iTBS 刺激增强了大鼠的学习记忆能力,使其完成工作记忆任务所需时长减少。

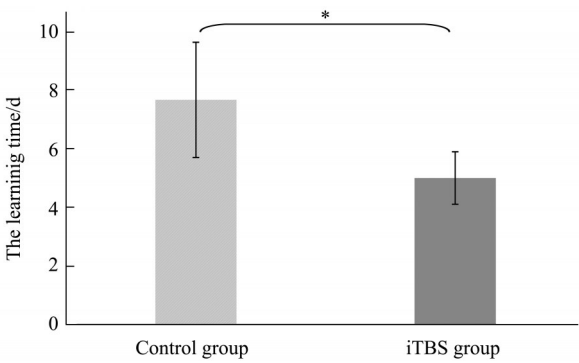


Fig. 5 The behavioral results of rats in T maze
($n=6$, $*P < 0.05$)

2.3 磁刺激对前额叶脑区因果连接的影响

选取大鼠在正确执行工作记忆任务中延时交替选择阶段的 LFP 数据,以 T 迷宫行为学参考点为 0 点,前后各取了 2 000 ms,总共 4 000 ms 的数据长度进行计算,利用格兰杰因果网络构建方法,构建分析了对照组和刺激组大鼠在工作记忆过程中 mPFC 脑区的脑因果网络以及网络特性值(图6)。

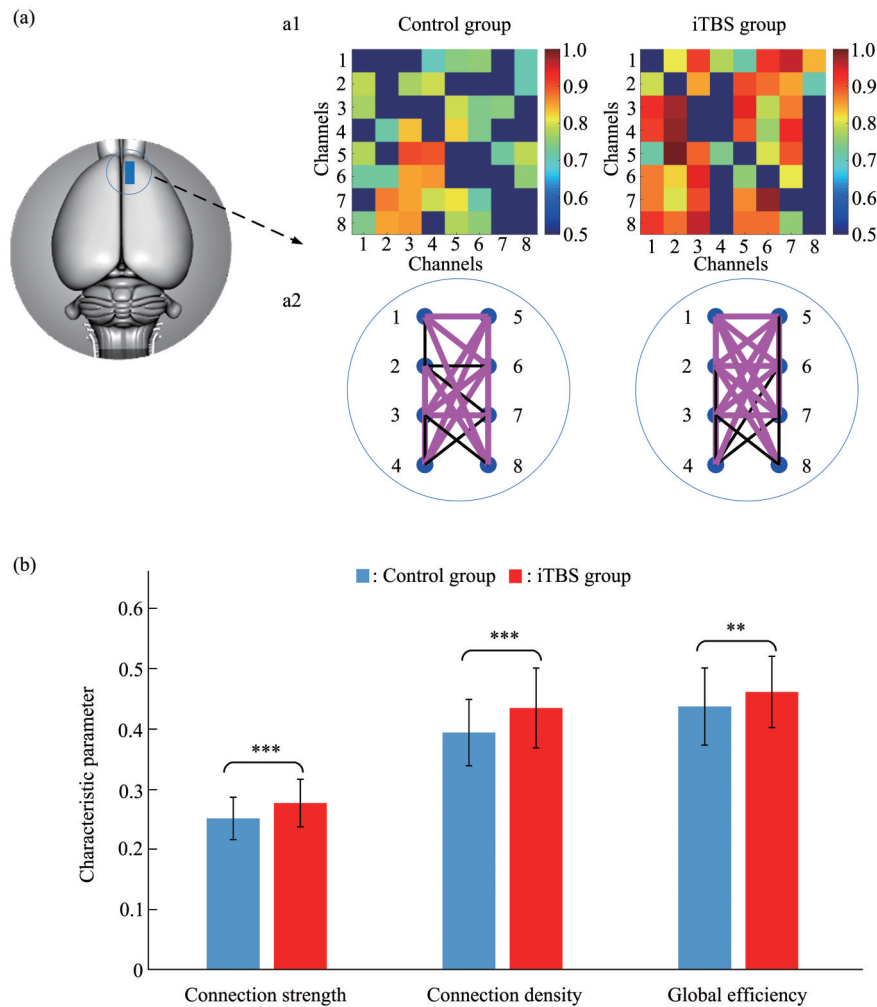


Fig. 6 The comparison of mPFC causal network between iTBS group and control group

(a) mPFC causal network connection. The a1 is the network matrix and the a2 is network connection. (b) Network characteristic parameter ($n=120$, $**P<0.01$, $***P<0.001$).

如图6a1所示,网络矩阵的横坐标与纵坐标均表示mPFC植入的电极通道,矩阵中的每个元素对应从横轴对应通道到纵轴对应通道的格兰杰因果连接强度,色条表示因果连接强度的大小,颜色越接近红色表示对应两个通道之间的因果连接越大;反之,颜色越接近蓝色表示对应的因果连接越小,对角线表示通道的自因果,均设置为0。同时,在mPFC脑区的有向网络连接中(图6a2),单向连接用黑色线表示,双向连接用紫色线表示。可以看出,在大鼠的mPFC脑区因果网络中,iTBS组大鼠mPFC脑区因果网络连接强度明显强于对照组,网络双向连接数量多于对照组,表明iTBS刺激增强了工作记忆过程中mPFC脑区内的因果连接性。

进一步对网络连接强度、连接密度以及全局效率等网络特性进行对比分析(图6b),可以看出,

iTBS组大鼠mPFC脑区因果网络的连接强度、连接密度以及全局效率值都明显高于对照组大鼠。经Wilcoxon符号秩和检验,两组之间均存在统计学差异(连接强度: $df=119$, $Z=-4.460^b$, $P=8.00\times 10^{-6}$;连接密度: $df=119$, $Z=-4.621^b$, $P=4.00\times 10^{-6}$;全局效率: $df=119$, $Z=-3.150^b$, $P=0.002$),3种网络特性值变化趋势基本一致,表明iTBS刺激增强了工作记忆过程中mPFC脑区内的因果连接强度,使连接数量增多,连接密度增大,并进一步提高了信息传递效率。

2.4 磁刺激对海马脑区因果连接的影响

按照同样的方法,构建分析了对照组和刺激组大鼠在工作记忆过程中vHPC脑区的脑因果网络以及网络特征参量(图7)。

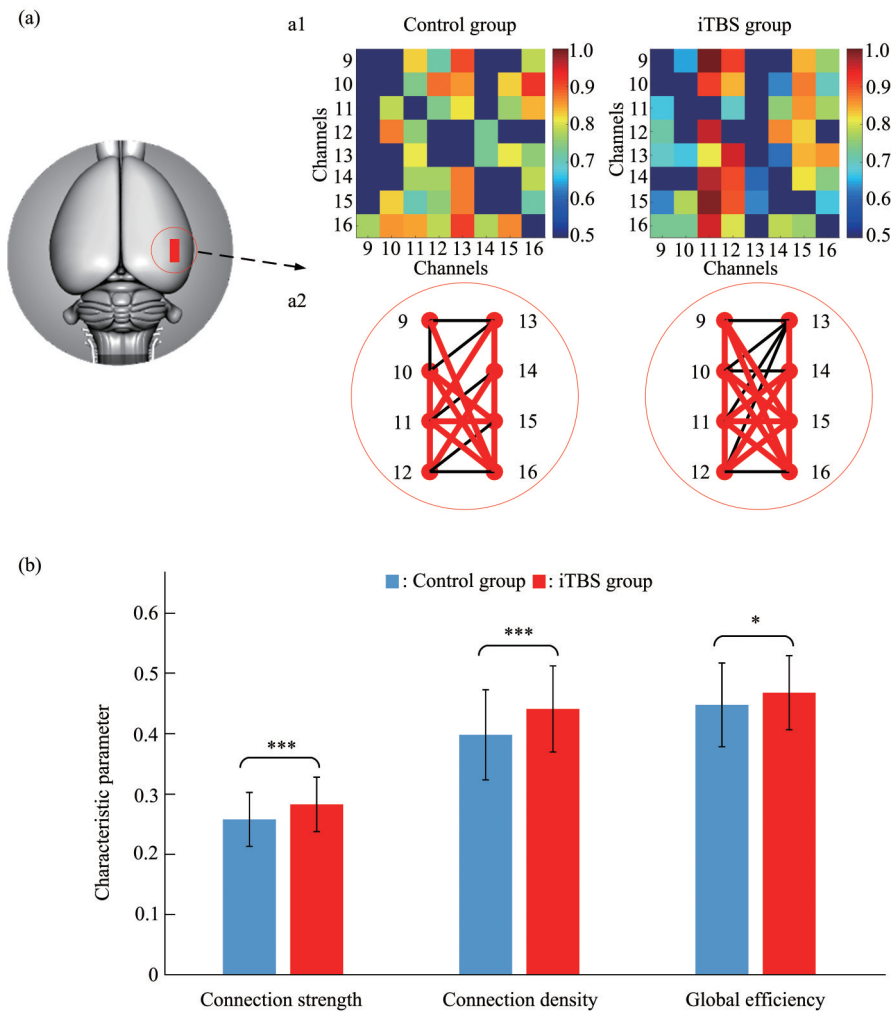


Fig. 7 The comparison of vHPC causal network between iTBS group and control group

(a) vHPC causal network connection. The a1 is the network matrix and the a2 is network connection. (b) Network characteristic parameter ($n=120$, $*P<0.05$, $***P<0.001$).

如图 7a1 所示, 矩阵的横坐标与纵坐标均表示 vHPC 植入的电极通道, 矩阵中的每个元素对应从横轴对应通道到纵轴对应通道的格兰杰因果连接强度。同时, 在 vHPC 脑区的有向网络连接中 (图 7a2), 单向连接用黑色线表示, 双向连接用红色线表示。可以看出, 在大鼠的 vHPC 脑区因果网络中, iTBS 组大鼠 vHPC 脑区因果网络连接强度明显强于对照组, 网络双向连接数量多于对照组, 表明 iTBS 刺激增强了工作记忆过程中 vHPC 脑区内的因果连接性。

同样进一步对 vHPC 脑区网络连接强度、连接密度以及全局效率等网络特性进行对比分析 (图 7b), 可以看出, iTBS 组大鼠 vHPC 脑区因果网络的连接强度、连接密度以及全局效率值都明显高于

对照组大鼠。经 Wilcoxon 符号秩和检验, 两组之间均存在统计学差异 (连接强度: $df=119$, $Z=-3.740^b$, $P=1.84\times10^{-4}$; 连接密度: $df=119$, $Z=-4.139^b$, $P=3.50\times10^{-5}$; 全局效率: $df=119$, $Z=-2.006^b$, $P=0.045$), 3 种网络特性值变化趋势基本一致, 表明 iTBS 刺激增强了工作记忆过程中 mPFC 脑区内的因果连接强度, 使连接数量增多, 连接密度增大, 并进一步提高了 vHPC 脑区内的信息传递效率, 此结果与上述 mPFC 脑区因果网络结果变化较为一致。

2.5 磁刺激对前额叶与海马跨脑区因果网络连接的影响

按照同样的方法, 进一步构建分析了对照组和刺激组大鼠在工作记忆过程中 vHPC 与 mPFC 脑区

的双向的跨脑区因果网络（图8）。

如图8a1和8b1所示，网络矩阵的横坐标与纵坐标分别表示mPFC和vHPC植入的电极通道，矩阵中的每个元素对应从横轴对应通道到纵轴对应通道的格兰杰因果连接强度。同时，在mPFC与vHPC的有向网络连接中（图8a2，b2），单向连接分别用蓝色线和红色线表示。可以看出，在大鼠vHPC与mPFC的跨脑区网络中，vHPC-mPFC网络矩阵的因果连接数量更多，连接强度更大，同时与对照组相比，iTBS组的vHPC-mPFC和mPFC-vHPC网络矩阵的因果连接数量和连接强度都有所

增大。经Wilcoxon符号秩和检验，刺激组与对照组之间均存在统计学差异，vHPC-mPFC网络（连接强度： $df=119$ ， $Z=-2.079^b$ ， $P=0.038$ ；连接密度： $df=119$ ， $Z=-2.263^b$ ， $P=0.024$ ）；mPFC-vHPC网络（连接强度： $df=119$ ， $Z=-3.198^b$ ， $P=0.001$ ；连接密度： $df=119$ ， $Z=-3.312^b$ ， $P=0.001$ ）。结果表明，在工作记忆过程中，从vHPC到mPFC有更多的信息传递，并且iTBS刺激增强了工作记忆过程中vHPC-mPFC的因果连接性，从vHPC到mPFC的因果连接更加明显，提高了vHPC-mPFC两个脑区的信息交互。

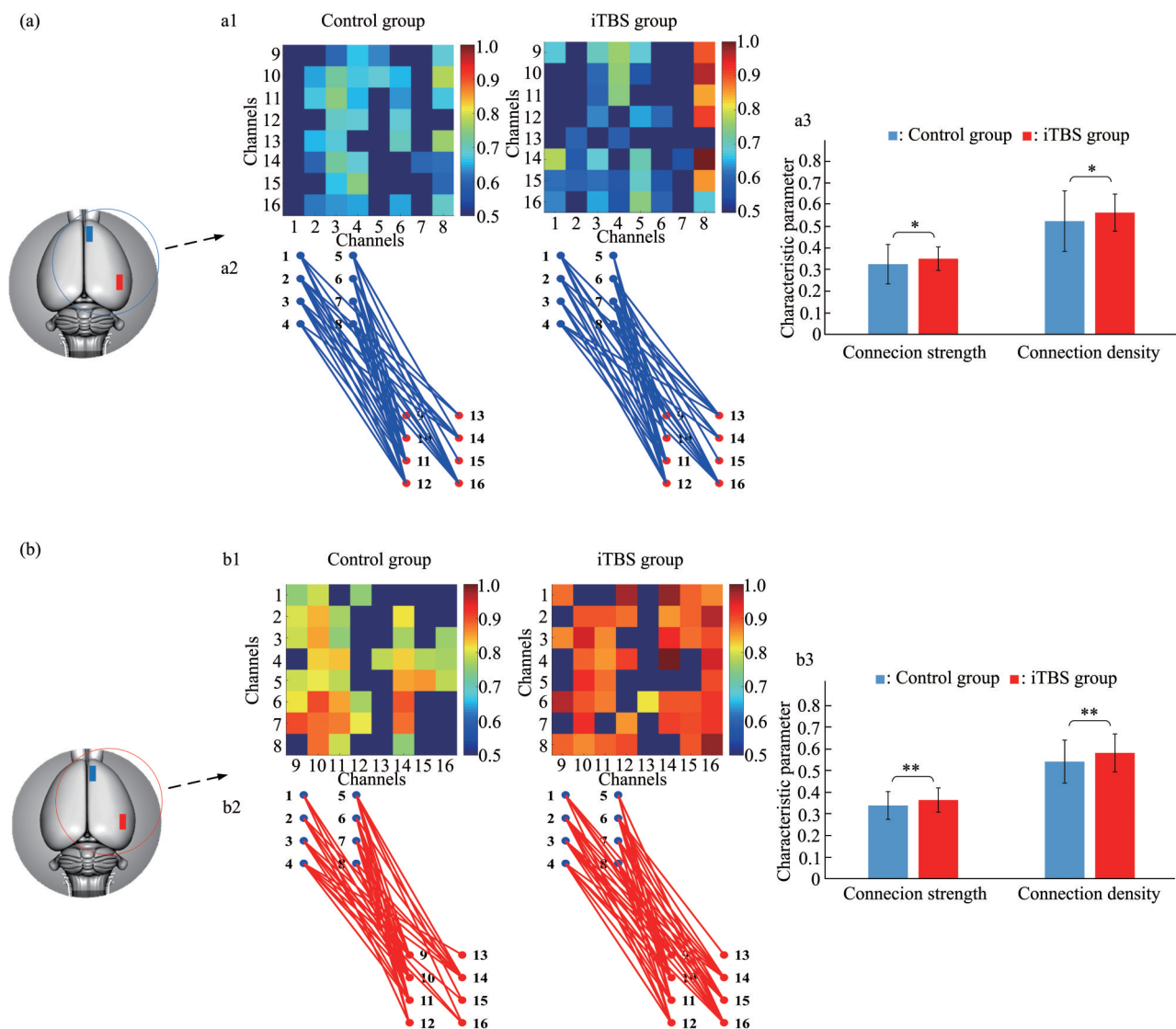


Fig. 8 The comparison of vHPC and mPFC cross-brain network between iTBS group and control group

(a) mPFC-vHPC cross-brain network. The a1 is the network matrix and the a2 is network connection. The a3 is the network characteristic parameter ($n=120$, $*P<0.05$). (b) vHPC-mPFC cross-brain network. The b1 is the network matrix and the b2 is network connection. The b3 is the network characteristic parameter ($n=120$, $**P<0.01$).

2.6 磁刺激对前额叶与海马跨脑区因果网络连接特性的影响

在 vHPC 与 mPFC 的跨脑区因果网络基础上, 进一步分析了对照组和刺激组大鼠在工作记忆过程中 vHPC 与 mPFC 脑区的度连接分布和信息流向 (图9)。

图9a为大鼠vHPC与mPFC的跨脑区网络度分布, 色条表示度连接的大小, 颜色越接近红色表示对应通道的度连接越大; 反之, 颜色越接近蓝色表示对应通道的度连接越小。可以看出, vHPC脑区

比mPFC脑区表现出更大的度连接, 最大度连接的节点通道位于vHPC脑区, 说明在vHPC与mPFC的跨脑区网络中, vHPC脑区里有更重要的网络连接节点, vHPC脑区为主要责任脑区, 在工作记忆过程中负责更多的信息整合。同时, iTBS组大鼠mPFC与vHPC脑区的整体度连接分布呈现增加趋势 (图9b), 并且平均度连接值显著增大 ($df=119$, $Z=-2.113^b$, $P=0.035$), 说明 iTBS 增强了 vHPC 与 mPFC 的跨脑区网络连接, 提高了 vHPC 与 mPFC 两个脑区的信息交互。

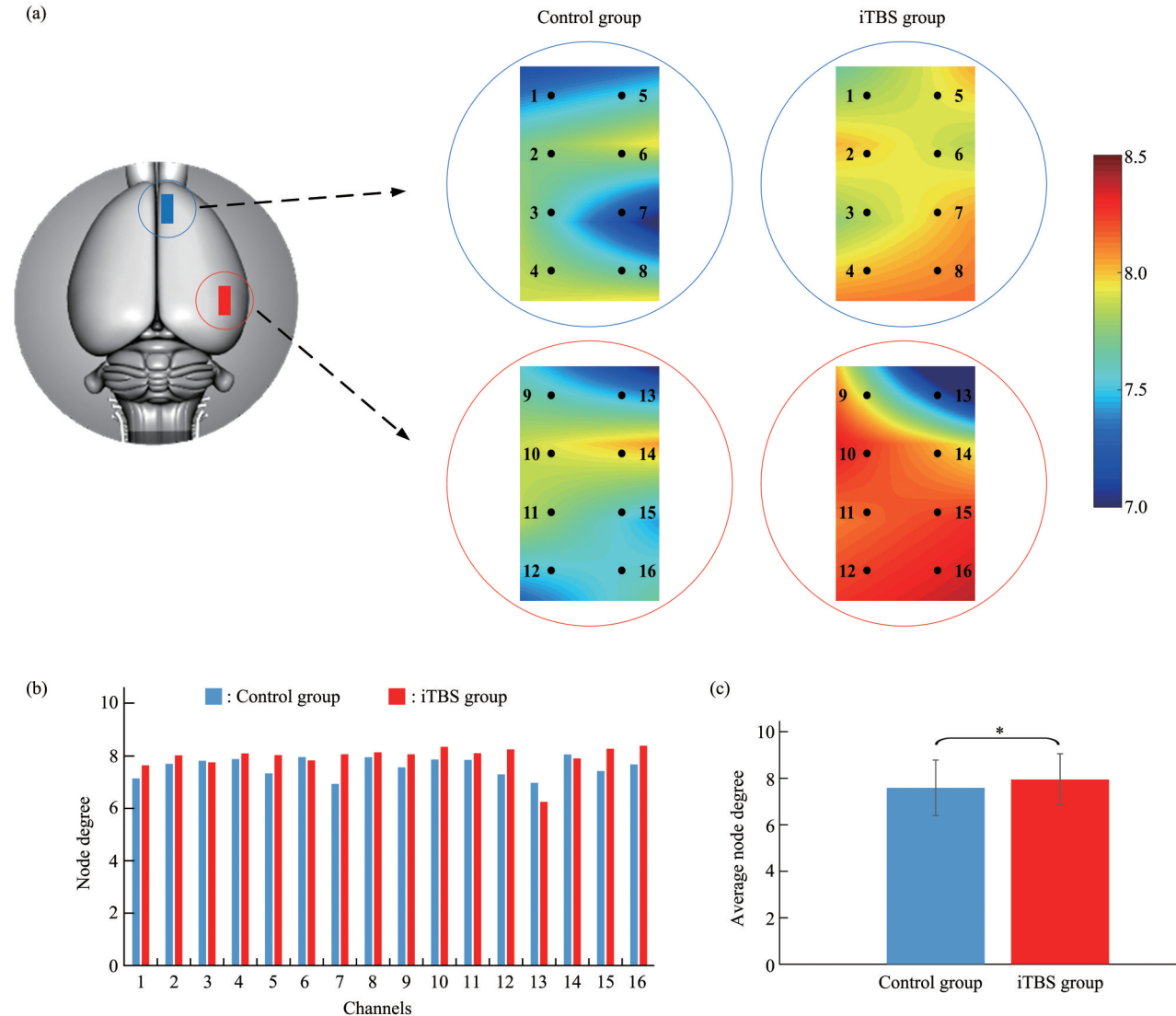


Fig. 9 The comparison of vHPC and mPFC network node degrees between iTBS group and control group
(a) vHPC与mPFC network node degrees distribution. (b) The comparison of network node degrees. (c) The comparison of average node degrees ($n=120$, $*P<0.05$).

图10a为大鼠vHPC与mPFC的跨脑区网络因果流向, 色条表示因果流向的大小, 颜色越接近红

色表示对应通道的因果流向越大, 正值呈现因果流出; 反之, 颜色越接近蓝色表示对应通道的因果流

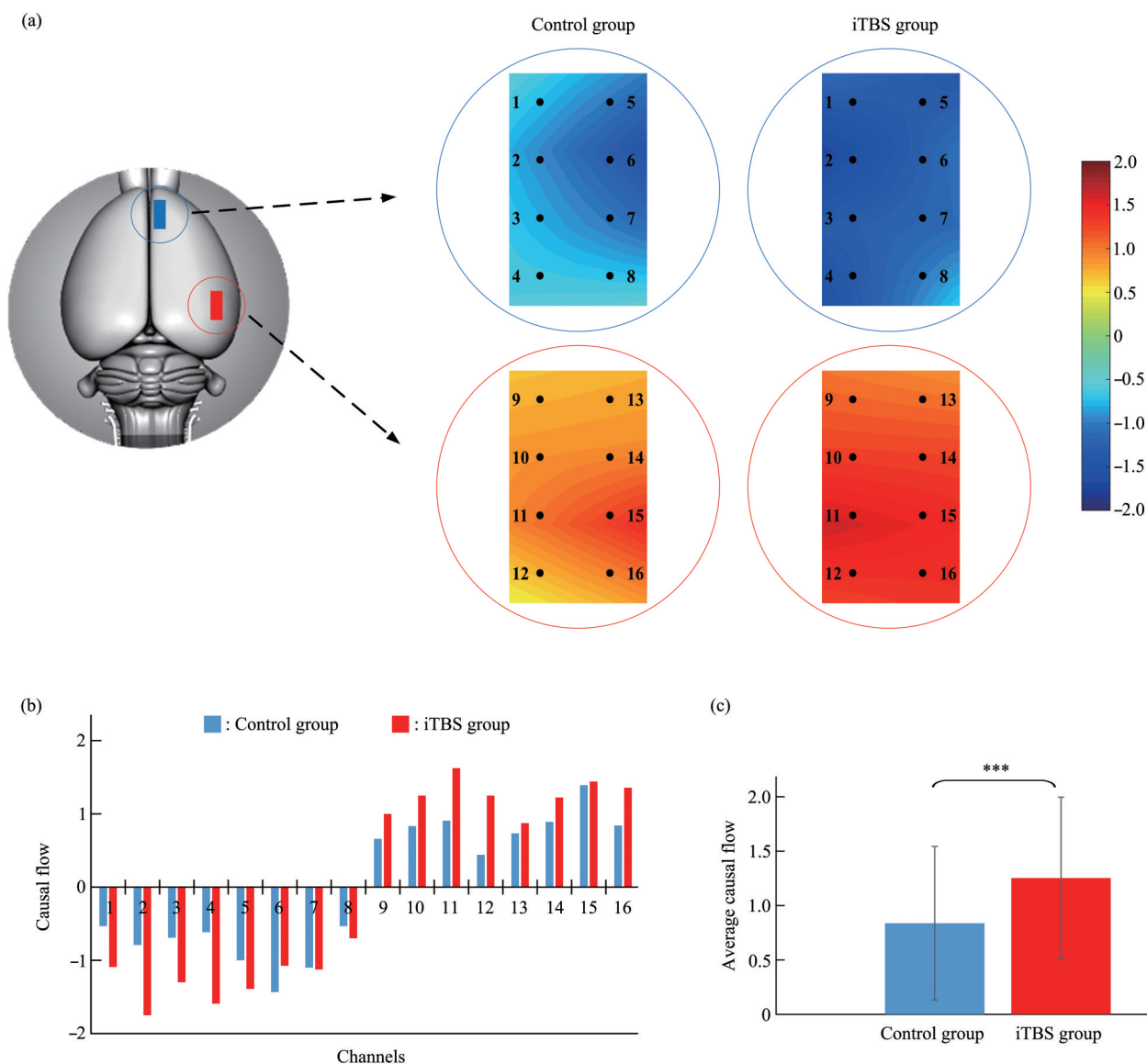


Fig. 10 The comparison of vHPC and mPFC network causal flow between iTBS group and control group

(a) vHPC与mPFC网络因果流分布。(b) The comparison of network causal flow. (c) The comparison of average causal flow ($n=120$, *** $P<0.001$).

向越小, 负值为因果流入。从图 10a, b 可以看出, vHPC 主要表现为因果流出, mPFC 主要表现为因果流入, iTBS 组大鼠的 mPFC 与 vHPC 脑区的整体因果流向明显增加, 并且平均因果流向值显著增大 ($df=119$, $Z=-3.923^b$, $P=8.8\times 10^{-5}$), 说明大鼠在工作记忆过程中从 vHPC 到 mPFC 有更多的信息传递, 并且 iTBS 增强了从 vHPC 到 mPFC 的因果流向性, 提高了 vHPC-mPFC 两个脑区的信息传递和交流。

3 讨 论

本文基于格兰杰因果关系算法, 对大鼠执行 WM 任务中的 LFPs 信号因果网络进行分析, 并引

入网络连接强度、网络连接密度、全局效率以及因果流向等网络特性参数, 通过对比分析对照组和刺激组在 T 迷宫内执行 WM 任务过程中的行为学表现及 LFPs 信号因果网络特性的差异, 讨论分析了 iTBS 对大鼠 WM 相关行为及神经网络关联特性的影响。

行为学结果表明, 经过 iTBS 刺激的正常成年大鼠比无磁刺激的正常成年大鼠达到“学会”记忆任务的平均时长天数显著缩短 ($P<0.05$), 经频磁刺激对大鼠的认知行为产生了相应的影响, 提高了大鼠工作记忆能力。行为表现是大脑神经活动的最终表达, 也是反映磁刺激效应的宏观表现。已有研

究表明, iTBS 能够提高健康人类对照组的认知能力^[30], 在本文结果中, iTBS 使大鼠在更短的时间内完成了工作记忆任务, 提高了大鼠认知记忆能力, 与以往的对 iTBS 刺激积极影响的研究结果较为一致, 并进一步表明了 iTBS 在提高工作记忆等认知功能方面的有效性。

前额叶和海马脑区是工作记忆的主要责任脑区, 其中 vHPC 在记忆的形成和巩固中发挥重要作用, mPFC 也与记忆的巩固和提取尤其相关, 工作记忆的功能实现跟 mPFC 与 vHPC 脑区各自发挥作用都息息相关, 磁刺激对 mPFC 与 vHPC 脑区神经网络的影响也会因此影响到工作记忆过程中。越来越多的研究表明, mPFC 与 vHPC 脑区的神经同步活动是工作记忆的重要机制^[31-32]。本文利用格兰杰因果方法, 研究了 iTBS 对 mPFC 和 vHPC 脑区的神经网络影响, 结果表明, iTBS 增强了 mPFC 和 vHPC 脑区内神经网络连接, 提高了网络连接密度和传递效率, 提高了 mPFC 与 vHPC 脑区的神经同步活动, 并且 mPFC 和 vHPC 脑区的增强效果具有一致性。同时 mPFC 和 vHPC 在生理结构上存在直接通路的神经投射连接, 主要起自 vHPC 脑区到 mPFC 脑区^[33], vHPC-mPFC 回路是海马和前额叶之间存在功能联系的解剖学基础, 磁刺激对 mPFC 及 vHPC 的增强一致性, 也证实了两个脑区结构和功能上的网络连接信息交互。

由于记忆的复杂性, 其功能无法由单独脑区独立完成, 工作记忆的形成依赖于大脑不同脑区结构或功能上的网络连接, 并且前额叶皮层与海马脑区之间的网络连接是工作记忆功能执行的关键^[34], 前额叶和海马通过分工合作共同完成认知活动任务^[35-36]。以往的研究表明, 与工作记忆相关的神经活动主要从海马转移到前额叶, 工作记忆相关的大脑处理信息随神经活动在脑区之间发生传递^[19]。本文的研究结果进一步证实了以往的研究, 在本文中, 从 vHPC 到 mPFC 的因果连接网络更强, 连接数量更多, 并且网络因果流向也表现为 vHPC 流出、mPFC 流入。本文 iTBS 的作用结果表明, iTBS 增强了从 vHPC 到 mPFC 的网络连接、节点度和因果流向, 使更多的大脑信息从 vHPC 流向 mPFC, 增强了 vHPC 与 mPFC 之间的协同交互。而且 vHPC 与 mPFC 脑区相关神经元的神经信息影响了大鼠工作记忆的行为表现, 从而导致了大鼠工作记忆能力的提升, 本文中 iTBS 影响神经网络的变化与行为学结果呈现一致性。因此, iTBS 可以

通过提高 vHPC 与 mPFC 之间神经信息的网络协同作用来提高大鼠的工作记忆行为表现。

此外有研究表明, vHPC 与 mPFC 的 theta 和 gamma 振荡同步是工作记忆中信息传递的关键^[31], 同时记忆的形成、巩固与检索过程都依赖于特征神经振荡在 PFC 和 HPC 脑区间的同步作用, 本文从时域网络研究中发现从 vHPC 到 mPFC 的脑网络连接可能是工作记忆的潜在编码机制之一, 因此 theta 和 gamma 频段的网络同步也是今后研究 iTBS 调控大脑认知功能关注的重点, iTBS 对于 vHPC 与 mPFC 的网络同步效应可能影响到了记忆形成或检索的不同阶段, iTBS 对于工作记忆发展过程中 theta 和 gamma 频段网络同步的影响有待进一步的详细剖析, 以期望更深层的挖掘出 iTBS 的神经调控机制。

4 结 论

本文结果表明, iTBS 模式经颅磁刺激对大脑神经活动及行为表现均有显著的积极影响, iTBS 磁刺激可以促进大鼠在工作记忆任务的行为表现, 并且能够增强大鼠 vHPC-mPFC 脑区的网络连接, 提高信息交互和传递效率, 改善大鼠工作记忆能力。iTBS 的神经调控机制可能是通过增强 vHPC 与 mPFC 之间的网络连接来提高工作记忆能力。本文有助于对 iTBS 刺激神经调控机制的理解, 在 iTBS 刺激对工作记忆障碍表征的神经疾病治疗和临床应用方面具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Choi G S, Kwak S G, Lee H D, *et al.* Effect of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on chronic central pain after mild traumatic brain injury: a pilot study. *J Rehabil Med*, 2018, **50**: 246-252
- [2] 尚莹春, 张涛. 重复经颅磁刺激对认知功能的作用及其分子机理的研究进展. *电工技术学报*, 2021, **36**(4): 685-692
Shang Y C, Zhang T. *Trans China Electrotech Soc*, 2021, **36**(4): 685-692
- [3] Mioni G, Grondin S, Bardi L, *et al.* Understanding time perception through non-invasive brain stimulation techniques: a review of studies. *Behav Brain Res*, 2020, **377**: 112232
- [4] Suppa A, Huang Y Z, Funke K, *et al.* Ten years of theta burst stimulation in humans: established knowledge, unknowns and prospects. *Brain Stimul*, 2016, **9**(3): 323-335
- [5] Huang Y, Edwards M J, Rounis E, *et al.* Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*, 2005, **45**(2): 201-206
- [6] Thomson A, Tielens S, Schuhmann T, *et al.* The effect of

- transcranial magnetic stimulation on living human neurons. *Brain Stimul*, 2019, **12**(2): 524
- [7] Blumberger D M, Vila-Rodriguez F, Thorpe K E, *et al*. Effectiveness of theta burst versus high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with depression (THREE-D): a randomised non-inferiority trial. *Lancet*, 2018, **391**(10131): 1683-1692
- [8] Christophel T B, Klink P C, Spitzer B, *et al*. The distributed nature of working memory. *Trends Cogn Sci*, 2017, **21**(2): 111-124
- [9] Baddeley A. *Exploring Working Memory: Selected Works of Alan Baddeley*. Lond: Routledge, 2017
- [10] Bolkan S S, Stujenske J M, Parnaudeau S, *et al*. Thalamic projections sustain prefrontal activity during working memory maintenance. *Nat Neurosci*, 2017, **20**(7): 987-1017
- [11] Eliasova I, Anderkova L, Marecek R, *et al*. Non-invasive brain stimulation of the right inferior frontal gyrus may improve attention in early Alzheimer's disease: a pilot study. *J Neurol Sci*, 2014, **346**(1-2): 318-322
- [12] 王欣. rTMS 调控早期 AD 转基因鼠神经活动延缓认知障碍的研究[D]. 天津:生物医学工程研究所, 2019
Wang X. Study on rTMS Regulating the Neural Activities of Early-stage AD Transgenic Mice to Delay Cognitive Impairment[D]. Tianjin: Inst Biomed Eng, 2019
- [13] Blumberger D M, Vila-Rodriguez F, Thorpe K E, *et al*. Effectiveness of theta burst versus high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with depression (THREE-D): a randomised non-inferiority trial. *Lancet*, 2018, **391**(10131): 1683-1692
- [14] 陈燕. 神经元的突触可塑性与学习和记忆. 生物化学与生物物理进展, 2008, **35**(6): 610-619
Chen Y. *Prog Biochem Biophys*, 2008, **35**(6): 610-619
- [15] Pfaff D W, Volkow N D. *Neuroscience in the 21st century: from basic to clinical*. New York: Springer, 2016
- [16] Yao Y, Lin L. Primary observation on *in vivo* firing patterns of neurons in mice medial prefrontal cortex//Chinese Neuroscience Society. The 12th Biennial Conference of the Chinese Neuroscience Society. Tianjin: Chinese Neuroscience Society, 2017: 487-488
- [17] Park H J, Friston K. Structural and functional brain networks: from connections to cognition. *Science*, 2013, **342**(6158): 1238-1241
- [18] 骆清铭. 脑成像与脑网络. 生物化学与生物物理进展, 2012, **39**(6): 497
Luo Q M. *Prog Biochem Biophys*, 2012, **39**(6): 497
- [19] Xia M, Liu T, Bai W, *et al*. Information transmission in HPC-PFC network for spatial working memory in rat. *Behav Brain Res*, 2019, **356**: 170-178
- [20] Tomasi D, Volkow N D. Aging and functional brain networks. *Mol Psychiatry*, 2012, **17**: 549-558
- [21] Andrews-Hanna J R, Snyder A Z, Vincent J L, *et al*. Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron*, 2007, **56**(5): 924-935
- [22] Reinhart R M G, Nguyen J A. Working memory revived in older adults by synchronizing rhythmic brain circuits. *Nat Neurosci*, 2019, **22**: 820-827
- [23] Dai Z, Lin Q, Li T, *et al*. Disrupted structural and functional brain networks in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2019, **75**: 71-82
- [24] Bassett D S, Sporns O. Network neuroscience. *Nat Neurosci*, 2017, **20**(3): 353-364
- [25] Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press, 2004
- [26] Wenk G L. Assessment of spatial memory using the T maze. *Curr Protoc Neurosci*, 2001, **8**(1): Unit 8.5B
- [27] Tamura M, Spellman T, Rosen A, *et al*. Hippocampal-prefrontal theta-gamma coupling during performance of a spatial working memory task. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 2182
- [28] Ding M, Chen Y, Bressler S. Granger causality: basic theory and application to neuroscience//Schelter B Winterhalder M, Timmer J. *Handbook of Time Series Analysis*. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2006, **17**: 437-460
- [29] Rubinov M, Sporns O. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. *NeuroImage*, 2010, **52**: 1059-1069
- [30] Hoy K E, Bailey N, Michael M, *et al*. Enhancement of working memory and task-related oscillatory activity following intermittent theta burst stimulation in healthy controls. *Cereb Cortex*, 2016, **26**(12): 4563-4573
- [31] 王雪玲, 王伊萌, 杨佳佳, 等. 记忆水平依赖的海马-前额叶神经节律交互. 生物化学与生物物理进展, 2021, **48**(8): 907-921
Wang X L, Wang Y M, Yang J J, *et al*. *Pro Biochem Biophys*, 2021, **48**(8): 907-921
- [32] Eichenbaum H. Prefrontal-hippocampal interactions in episodic memory. *Nat Rev Neurosci*, 2017, **18**(9): 547
- [33] Parent M A, Wang L, Su J J, *et al*. Identification of the hippocampal input to medial prefrontal cortex *in vivo*. *Cereb Cortex*, 2010, **20**(2): 393-403
- [34] 王琳, 王亮. 认知地图的神经环路基础. 生物化学与生物物理进展, 2017, **44**(3): 187-197
Wang L, Wang L. *Prog Biochem Biophys*, 2017, **44**(3): 187-197
- [35] Liu T, Bai W, Xia M, *et al*. Directional hippocampal-prefrontal interactions during working memory. *Behav Brain Res*, 2017, **338**: 1-8
- [36] Torfi S, Sevil D. Hippocampal-prefrontal interactions in cognition, behavior and psychiatric disease. *Front Syst Neurosci*, 2016, **9**: 190

Effect of Intermittent Theta Burst Stimulation on Cross-brain Neural Network Between The Hippocampus and Prefrontal Cortex of Working Memory in Rats*

ZHANG Tian-Heng, GUO Miao-Miao**, XU Gui-Zhi**, JI Li-Hui, WANG Zhong-Hao

(School of Electrical Engineering, State Key Laboratory of Reliability and Intelligence of Electrical Equipment, Tianjin Key Laboratory of Bioelectromagnetic Technology and Intelligent Health, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

Abstract Objective As a new type of transcranial magnetic stimulation, the intermittent theta burst stimulation (iTBS) has been widely used to explore brain cognitive function and neuroregulation, but its electrophysiological regulation mechanism is still unclear. Therefore, exploring the underlying electrophysiological mechanism and the effect of iTBS on the brain's cognitive functions is of great significance for the treatment of brain diseases and clinical application of magnetic stimulation. **Methods** In this study, the model rats were treated with iTBS, and the local field potential (LFPs) signals in the ventral hippocampus (vHPC) and medial prefrontal lobe (mPFC) were collected and recorded during the working memory (WM) tasks in rats. The effect of iTBS on neural network coordination and information interaction across brain regions was investigated by using Granger causality network. **Results** The results suggested that iTBS enhanced the WM ability and the behavioral performance of the rats, reducing the time to complete the WM task by (2.67 ± 1.63) d ($P < 0.05$). At the same time, iTBS enhanced the self-causal network connections in vHPC and mPFC during WM, and increased the network connection strength, connection density and global efficiency ($P < 0.05$). In addition, iTBS enhanced the cross-brain network connection between vHPC and mPFC, and increased the node degrees and causal flow ($P < 0.05$) from vHPC to mPFC. **Conclusion** iTBS has a significant positive effect on the behavior of WM and neural network in related brain areas of rats. iTBS can promote the cognitive ability of rats and improve the efficiency of information interaction and transmission of neural network. The neural regulation mechanism of iTBS may be to enhance the WM ability by enhancing the network connection and information interaction between vHPC and mPFC.

Key words intermittent theta burst stimulation, hippocampus-prefrontal, working memory, brain network, Granger causality

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0243

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (51737003, 51677053, 51707054) and the Natural Science Foundation of Tianjin, China (20JCQNJC00710).

** Corresponding author.

GUO Miao-Miao. Tel: 86-15900241399, E-mail: gmm@hebut.edu.cn

XU Gui-Zhi. Tel: 86-1307222266, E-mail: gzxu@hebut.edu.cn

Received: August 18, 2021 Accepted: December 21, 2021