

联合型学习的神经元模型

黄彦猷

(中国科学院上海生理研究所)

提 要

施加在哺乳动物脑内某些神经元传入末梢的单个电刺激,当与会聚到该神经元的另一传入末梢的刺激以一定的时间关系结合并重复多次以后,此单个刺激所诱发的电反应可以产生长时程的改变。这种在脑内的神经元水平上的联合型学习的模拟,为探索学习记忆的分子机制开辟了道路。

学习,是指人和动物依赖于经验来改变自身行为以适应环境的神经过程。学习与记忆的神经机制,一直是生理学家们最感兴趣的问题之一。本世纪著名的生理心理学家 Hebb 于四十年前首先提出了学习的神经元理论。他认为神经系统的可塑性,是包括学习记忆在内的行为适应的基础,而神经系统的可塑性,则取决于神经元突触传递的可塑性^[1,2]。著名的突触生理权威 Eccles 也曾认为,不同类型的刺激在神经元的会聚,是建立条件反射的神经生理基础。今天,大多数的神经生理学家们都已经相信,一小群神经元以至单个神经元的活动的改变,对于学习记忆的形成有着极为重要的作用。

学习的模式可分为两种:一种是非联合型的 non-associative,即只需一种刺激就可以形成。它不需要刺激在时间上的固定关系或与伴随刺激之间的联合,这是一种最简单的学习形式,属于这种类型的学习有习惯化、敏感化等。另一种是联合型 associative 的学习,它需要协同地施加两个或两个以上的、具有一定时间关系的刺激来形成,属于这种类型的学习有经典的巴甫洛夫条件反射及操作式条件反射。七十年代, Kandel 在海兔体上的工作,出色地在神经元水平上分析了非联合型学习、即习惯化及敏感化的细胞机制,这方面的工作已广为人知。

但具有“联合”性质的学习的细胞模型,特别是哺乳动物脑内这种模型的建立,还是最近三、四年的事情。人们不约而同地在海马的锥体、颗粒细胞以及小脑的普金野氏细胞上发现,可以在神经元水平上人工地模拟联合型学习的效应。这种联合型学习的神经元模型的建立,不仅使人们有可能细致地分析信息在神经元内的贮存过程,而且为探索学习记忆的分子机制开辟了道路。

一、海马锥体及颗粒细胞上的联合型学习模型

于海马的单突触传入通路上施加短串强直刺激后,可以在锥体细胞上记录到长时程的兴奋性突触后电位 (EPSP) 的改变。这种现象被称为长时程突触增强 (Long-term synaptic potentiation, LTP) 作为一种与学习记忆细胞机制可能有关的现象, LTP 的发现引起了极大的关注^[3]。对 LTP 机制的研究,最近二、三年里出现了较大的突破。人们饶有兴趣地发现, LTP 具有“联合”的性质,即它在本质上是由两种不同的、具有一定时间关系的刺激协同作用而产生的。这一发现,使 LTP 反映了细胞水平上的学习过程的设想获得了新的有力证据。

关于 LTP 具有“联合”性质的最早报告是

1978年发表的。Mcnaughton等在投射到家兔海马内同一群齿状回颗粒细胞的前穿质的内侧束及外侧束施加弱的强直刺激,当这种刺激分别地施加于内侧束或外侧束时,都不能引起颗粒细胞突触后电位的长时程易化现象;而若这两个刺激同时地、或几乎同时地施加时,则可产生 LTP 效应^[4]。1984年以来,对 LTP 的这种“联合”性质的研究有了飞速的进展。人们在海马离体脑片上,通过以下几个步骤的研究,揭示了 LTP 的“联合”性质的机制是两个事件在突触水平上的协同作用。这两个事件之一是单次冲动引起的突触前末梢递质的释放,另一个是突触后膜电压依赖性的 N-甲基-D-门冬氨酸 (NMDA) 受体通道的开放。

1. 将单个脉冲 (0.2Hz) 刺激施加到海马 CA₁ 区锥体细胞树突层的传入纤维,可以诱发一个恒定大小的 field EPSP,也就是说,并无任何突触增强效应。但是,如果在一定时间间隔内,以另一个短串刺激协同地施加在投射到同一群锥体细胞的另一传入通路,并将这两个刺激重复地结合 20 次左右,原先不引起突触增强效应的单个测试刺激,可以引起突触后锥体细胞 field EPSP 振幅的长时程增大。field EPSP 虽然是一组神经元同步发放的结果,但由于海马锥体细胞排列整齐,故可以将其看成反映了单个神经元 EPSP 的改变。这种在分离通路上的单个测试刺激与短串强直刺激相撞合 (conjunction) 引起的 EPSP 的长时程改变需要严格的时间关系:测试刺激必须与短串强直刺激相重叠,或测试刺激超前不超过 40 msec,否则不能产生 LTP 效应^[5]。Kelso 等也以类似的工作,描述了这种长时程突触增强效应的产生,具有典型的巴甫洛夫经典条件反射的特点^[6]。

2. 上述在分离通路中以单个刺激与短串强直刺激协同产生 LTP 效应,其中短串强直刺激的作用很可能是产生突触后膜的去极化。根据这种分析,瑞典学者 Wigström 及其合作者 Gustafsson、黄彦猷等,首先采用了以施加在传入末梢的单个测试刺激与其突触后锥体细胞内

注射去极化电流脉冲 (5—8nA, 100ms) 相撞合的方法,在撞合约 50—60 次后,成功地以单个脉冲、在单个神经元引出了长时程的 EPSP 的增大[见附图]。这种效应至少持续 1 小时以上。单独地给予测试刺激或去极化脉冲本身,都不会引起这种 LTP 效应。只有当测试刺激与去极化脉冲相重叠,也就是落在去极化脉冲之中,或者测试刺激超前不超过 100ms 方能产生 LTP 效应^[7,8]。在这里,我们也许可以将测试刺激看成条件反射中的无关信号,其本身不引起特定的行为变化。而若与非条件刺激(去极化)相结合,则可以形成类似于条件反射建立的特定的细胞行为变化。这个实验结果,不但显示了 LTP 的产生不一定需要强直刺激,从而将探索 LTP 机制的工作大大向前推进了一步;更重要的是,它作为具有“联合”性质的学习的神经元模拟,对哺乳动物学习记忆脑机制的探索,将产生较大的影响。他们的发现得到了其它实验室相似工作的支持^[9,11]。Malinow 等则从另一角度证实了上述实验结果的可靠性。他们证明了,如果在细胞内注射超极化电流,使短串刺激不能产生突触后膜的去极化,则 LTP 效应不能产生^[10]。

3. 海马 CA₁ 等区域锥体细胞的传入末梢释放的递质是谷氨酸,它在突触后膜上的受体亚型可以分为两种类型: NMDA 型以及非 NMDA 型。其中非 NMDA 型受体通道的作用是维持平时的突触传递,而 NMDA 受体通道则是一种电压敏感性的受体通道。它在静息膜电位时不开放,只有在膜电位去极化至一定程度时才开放^[11]。Wigström 等发现,当将膜电位维持在去极化水平 (-40mV) 或将细胞外液中镁离子去除时,传入冲动所引起的 EPSP 中包含有一个额外的、去极化方向的电流成份,这种成份可以被 NMDA 受体阻断剂 2-氨基-5-膦羧基戊酸 (2-amino-5-phosphonovaleric acid, APV) 所去除^[12,13]。在以短串强直刺激诱发 LTP 的过程中,其 field EPSP 中也包含有这种电流成份。这种电流成份及 LTP 效应本身,可被 APV 同时阻断。因此,上述单个

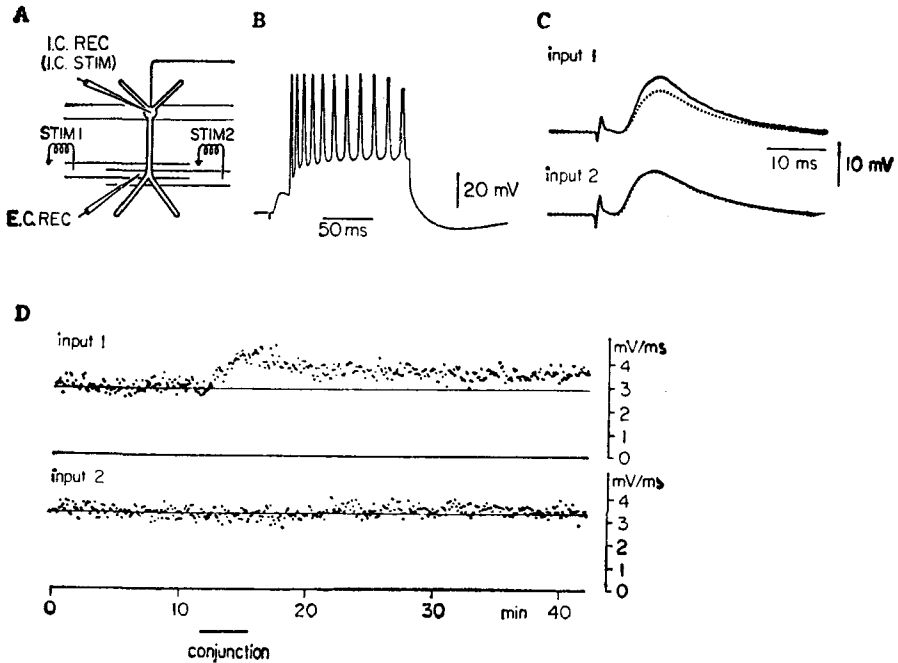


图1 胞内注射去极化脉冲引起的 LTP 效应

A. 海马锥体细胞的模式图。记录电极 (I. C. REC.) 置于细胞体内。刺激电极 (STIM1) 位于顶树突层。胞内注射电流 (I. C. STIM.) 通过记录电极进行。E. C. REC 为细胞外记录电极。B. 细胞内记录。显示刺激电极引起的 EPSP 与胞内注射去极化电流脉冲 (5nA, 100ms) 引起的发放相撞合 (conjunction) C. 撞合以前与以后胞内记录的 EPSP。虚线代表撞合前,实线代表撞合后。input 1 及 input 2 分别表示由 STIM 1 及 STIM 2 产生的 EPSP。STIM 1 与 STIM 2 间隔 3.5 秒。去极化脉冲仅与 input 1 引起的 EPSP 撞合,故在撞合以后的 EPSP 变化只发生在 input 1 D. EPSP 上升相坡度随时间的变化过程。图底部横杠 (conjunction) 表示撞合持续的时间。

传入刺激与突触后膜去极化“联合”的实质,是单次传入冲动引起末梢释放的谷氨酸类递质与位于神经元树突棘的去极化引起的 NMDA 受体通道的开放在一定条件下的重合。NMDA 受体通道的短暂开放,使包括钙离子在内的调节性电流进入胞内,触发某种生理过程,长时程突触增强效应由此而产生^[11,14]。

二、小脑普金野氏细胞上的联合型学习模型

小脑皮层接受两个不同的传入纤维输入。其中,起源于前橄榄核的爬行纤维与普氏细胞树突形成单突触联系;而另一路传入是起源于脑干广泛区域的苔状纤维,苔状纤维终于颗粒细胞,由颗粒细胞发出的平行纤维,与普氏细胞形成单突触的联系。因此,普氏细胞同时接受平行纤维与爬行纤维的单突触传入。七十年代

初,Marr 与 Albus 提出一个工作假设,认为爬行纤维可以“训练”普氏细胞,使它学会对同步而来的平行纤维的冲动呈现抑制反应^[12]。1982 年,日本生理学家 Ito 以实验证据支持了上述假设。他们发现,如果以每秒 4 次的刺激同时地施加在前庭神经(经苔状纤维及平行纤维与普氏细胞形成突触联系)及橄榄核(发出爬行纤维)并持续 25 秒左右,可以有效地抑制原先单个刺激前庭神经所引起的兴奋作用。表现为普氏细胞诱发单位放电脉冲数的减少及普氏细胞内记录到的 EPSP 的减小。其抑制时程可以长达 1 小时,甚至 3 小时以上,因此被称为长时程突触抑制(Long-term depression, LTD)^[16,17]。Ekerot 等以直接刺激爬行纤维与平行纤维的方式,证实了这种异突触相互作用产生的长时程抑制的存在^[18]。与海马神经元的长时程突触增强效应一样,这种长时程突触抑制也具有“联

合”的性质。LTD 效应必须由协同地刺激爬行纤维和平行纤维产生,并且要求这两个刺激的时间间隔在一定的范围之内。间隔 20ms 为最佳时间,61% 的普氏细胞可以产生 LTD 效应。随着时间间隔的增大,LTD 效应减少。超过 400ms,就几乎没有 LTD 效应了^[18]。这种神经元的条件性抑制效应不但可以在整体的兔和猫脑上引出,在切断了复杂的神经环路的离体脑片标本上也同样可以产生^[19]。对 LTD 的分子机制的研究亦显示了 LTD 的“联合”的性质。如果协同地在刺激爬行纤维的同时将 L 型谷氨酸(平行纤维释放的递质)微电泳至普氏细胞的突触间隙,可以使普氏细胞对谷氨酸敏感性降低并产生类似 LTD 的、对平行纤维传入冲动呈长时程抑制反应的效应。而若单独地微电泳谷氨酸,或单独地刺激爬行纤维均无此现象^[17]。另一方面,研究结果表明普氏细胞的膜电位改变与 LTD 的形成有关。爬行纤维的兴奋可以在普氏细胞树突引起去极化方向的平台电位。如果通过刺激兰状细胞抑制普氏细胞,使之不能去极化,则协同刺激平行纤维及爬行纤维产生的 LTD 效应消失^[18,20]。这种去极化的平台电位,很可能是由钙离子流入普氏细胞树突所引起的,而钙离子的内流在 LTD 形成中的作用已经被证实。因此,LTD 的“联合”性质的分子基础很可能是这样的:在平行纤维兴奋所释放的 L 型谷氨酸与爬行纤维兴奋所引起的钙离子内流的协同作用下,普氏细胞树突内积聚的高浓度的钙离子,通过某种直接或间接的机制,使膜上谷氨酸受体失敏感性,由此产生 LTD 效应^[17]。

三、结 语

从上述海马及小脑的“联合”学习的神经元模型中,我们可以很容易地看出它们有许多相同的特点:都需要两个以上不同通路而来的协同作用的刺激;两个刺激之间需要一定的时间间隔,需要结合一定的次数,神经元活动的改变持续相当长的时间等等。从对 LTP 及 LTD 的机制研究中也发现,它们在本质上是突触前

末稍释放的递质与突触后神经元兴奋协同作用的结果。这与 Hebb 氏关于学习的神经元机制的设想何等接近!^[1,2]在某种意义上,我们可以将上述的两种刺激分别看成整体动物条件反射模型中需要在时间上结合的条件信号与非条件信号;将需要一定次数的结合看成是训练(条件反射建立过程);将长时程的细胞效应看成是条件反射的建成和巩固。因此,这种条件性的细胞行为改变与整体动物的学习行为有着很大的模拟性。很显然,并非脑内所有的神经元都有这种“联合”学习(或者说条件反射)的功能,而具备这种功能的神经元,则很可能在动物的学习记忆过程中起重要作用。海马神经元的 LTP 效应,已经被许多事实证明与学习记忆行为相关联^[3];小脑神经元的 LTD 效应也已经被证明与动物的运动学习有关^[17]。当然,这种“联合”学习的神经元模型与整体动物的学习记忆模型还存在着差别。例如,在神经元的“联合”学习的模型中,条件刺激与非条件刺激的时间间隔,是以毫秒来计算的,而整体动物的条件反射则通常是以秒甚至更长的时间单位来计算的;整体动物的学习的持续效应也远较细胞的“学习”效应长得多。这些都意味着什么?神经元水平的“联合”学习在整体的学习行为中起什么作用?这些都是有待于进一步研究的问题。但无论如何,学习的神经元模型,将使关于学习过程的神经机制的研究更加深入,并很可能给人工智能的研究带来启迪,这是可以想象的。

本文承梅镇彤教授审阅,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Milner, P. M.: *Trends in Neuroscience*, 1986, 9, 347.
- [2] Prisco, G. V.: *Progress in Neurobiology*, 1984, 22, 89.
- [3] 黄彦猷:《生理科学进展》1985, 16, 154.
- [4] Mcnaughton, B. L. et al.: *Brain Res.*, 1978, 157, 277.
- [5] Gustafsson, B. et al.: *J. Neuroscience*, 1986, 6, 1575.
- [6] Kelso, S. R. et al.: *Science*, 1986, 232, 85.
- [7] Wigström, H. et al.: *Acta Physiol. Scand.*, 1986, 126, 317.
- [8] Gustafsson, B. et al.: *J. Neuroscience*, 1987, 7, 774.
- [9] Sastry, B. R. et al.: *Science*, 1986, 232, 988.
- [10] Malinow, R. et al.: *Nature*, 1986, 320, 529.

多肽、蛋白质的固相序列分析

梁 逊 郭小丽*

(南开大学化学系,天津)

提 要

本文综述了多肽、蛋白质固相序列分析的原理及目前的研究状况。讨论了各类载体在该方法中的使用及存在问题、载体与肽的偶联方式以及对 Edman 降解产物的分析鉴定等。着重说明了新型载体的研制及其应用。

对蛋白质结构和功能的深入研究,快速简便测定蛋白质一级结构的方法已成为重要的研究课题。用化学法测定蛋白质、多肽一级结构,早在1930年就由 Abderhalden 和 Brockmann^[1] 提出。他们采用异氰酸苯酯做为降解试剂,从氨基端进行蛋白质一级结构的测定,但这种降解法特异性不好。1950年 Edman^[2] 进一步改进了这个方法,他把降解试剂改为异硫氰酸苯酯,使这方法的特异性大大提高,从而建立了从氨基端进行蛋白质、多肽一级结构测定的 Edman 降解法,并在1967年由 Edman 和 Begg 设计了自动蛋白质、多肽序列分析仪,使 Edman 方法成为很有价值的蛋白质、多肽序列测定手段。Edman 提出的液相序列分析法本身也有些难以克服的困难和不足之处,主要有以下几方面:(1)降解下来的氨基酸衍生物与母体肽链分离比较困难,这是由于采用萃取方法使降解下来的氨基酸衍生物溶于有机相,而与溶于水相的肽链分离。当肽链变短时或一些

带非极性功能基团的氨基酸的肽,在有机相中有一定的溶解度,从而造成肽链丢失,并干扰序列分析。(2)Edman 的液相降解法要求实验操作严格,否则得不到满意的结果。(3)Edman 液相序列分析仪结构比较复杂,鉴定一个氨基酸所需周期较长。

为了克服以上不足,1966年 Laursen 提出了固相 Edman 降解法^[3],并设计了固相 Edman 序列分析仪。其实验操作简便,降解下来的氨基酸与母体肽链只需通过简单过滤方法即可完全分离,固相自动序列分析仪也比液相简单,而且分析一个氨基酸只需一小时左右。下面将详细叙述固相法的原理及目前的研究状况。

一、Edman 降解法的化学过程

用 Edman 方法进行肽或蛋白质的降解过

* 现在中国科学院上海植物生理研究所工作。

- [11] Stephen, D. S.: *Trends in Neuroscience*, 1987, 10, 142.
[12] Wigström, H. et al.: *Acta Physiol. Scand.* 1985, 124, 475.
[13] Wigström, H. et al.: *Neuroscience*, 1986, 17, 1105.
[14] Huang Y. -Y. et al.: *Neuroscience*, 1987, 9, 22.
[15] Gellman, R. S. et al.: *Trends in Neuroscience*, 1985, 8, 181.

- [16] Ito, M. et al.: *J. Physiol.*, 1982, 324, 113.
[17] Ito, M.: *Neuroscience Res.*, 1986, 3, 531.
[18] Ekerot, C-F. et al.: *Brain Res.*, 1985, 342, 357.
[19] Sakurai, M.: *Neuroscience letter supp.*, 1985, 22, s26.
[20] Ekerot, C-F. et al.: *J. Physiol.*, 1981, 318, 207.

[本文于1987年5月3日收到]