

# 经验改变大鼠听皮层神经元的特征频率\*

王 放 杨文伟 谭江秀 彭垠婷 张季平 孙心德\*\*

(华东师范大学生命科学院脑科学研究中心, 上海 200062)

**摘要** 应用常规电生理学技术, 以神经元的特征频率和频率调谐曲线为指标, 研究大鼠听皮层神经元特征频率的可塑性. 结果表明, 在给予的条件刺激频率和神经元特征频率相差 1.0 kHz 范围内, 条件刺激可诱导 50% 以上神经元特征频率发生完全偏移, 并可分为向频率调谐曲线的低频端偏移、高频端偏移, 或两侧均可偏移三种类型. 其中, 神经元的特征频率高、 $Q_{10}$ -dB 值大和频率调谐曲线对称指数大于零的神经元, 其特征频率偏向频率调谐曲线高频端的概率更高. 结果提示, 经验可改变大鼠听皮层神经元的特征频率, 为深入研究中枢神经元功能活动可塑性的机制提供了重要实验资料.

**关键词** 大鼠, 听皮层, 神经元, 特征频率, 可塑性

**学科分类号** Q6

感觉皮层具有多重功能图, 它们系统地表达环境信息. 这些感觉功能图都可为感觉剥夺、损毁或经验所改变, 表现出极大的可塑性. 其中, 神经元频率感受野 (receptive field, RF) 的可塑性已在沙土鼠、豚鼠、大鼠和蝙蝠等动物的中脑、内侧膝状体和听皮质等多个脑区研究过<sup>[1~4]</sup>. 我们曾在大鼠上观察到, 一个特定频率的声音作为条件刺激, 能快速诱导初级听皮层神经元 RF 可塑性<sup>[5]</sup>. Weinberger 等<sup>[6]</sup>的研究表明, 在清醒动物上, 这种可塑性经过几次训练即可产生, 并能保持数周至数月. 不少研究推测, 经验依赖性、瞬时性的中枢听觉神经元功能活动可塑性, 可能是记忆、注意等脑高级功能活动的神经基础之一<sup>[7~9]</sup>. 为进一步了解中枢听觉神经元功能可塑性的特征和诱导可塑性的相关因素, 我们以大鼠听皮层神经元的特征频率 (characteristic frequency, CF) 为指标, 考察神经元 CF 可塑性的特征及相关因素, 为深入探讨中枢感觉功能可塑性机理提供实验资料.

## 1 材料和方法

### 1.1 动物和手术

实验在 34 只成年 SD 大鼠上进行, 体重 250~350 g, 雌雄不拘, 购自上海复旦大学医学院实验动物中心, 清洁级.

手术前, 经皮下注射阿托品 (atropine,

0.25 mg/kg), 以减少动物呼吸道分泌物. 然后经腹腔注射戊巴比妥钠 (sodium pentobarbital, 40~50 mg/kg) 麻醉动物, 在盐酸普鲁卡因局局部麻醉下, 行气管插管术. 切开头部皮肤, 除去结缔组织, 暴露顶骨, 用 502 胶水和牙科水泥将一根长 2 cm 的铁钉粘固于颅骨上, 以备固定动物头部. 打开左侧颞骨, 暴露听皮层, 除去硬脑膜. 将动物移于实验台架上, 通过头部铁钉将动物头部固定. 实验在高性能电声屏蔽室内进行, 动物体温维持在 38℃.

### 1.2 声刺激

声刺激系统由声信号数字化软件、高速 AD/DA 卡、计算机、dB 衰减器 (Leader LAT-45)、功率放大器及高保真扬声器组成. 1.0~50.0 kHz 纯音频率连续可调, 声音包络持续时间 50 ms, 上升和下降时间分别为 5 ms, 声强度以 dB SPL (0 dB SPL 相当于 20 uPa) 表示, 每秒给声一次. 扬声器位于动物头部前方记录电极对侧水平方向 30 度, 垂直方向 0 度空间的自由声场, 距动物双耳连线中线 45 cm 处. 实验前扬声器经 6.35 mm 麦克风 (B & K 4135) 和测量放大器 (B&K 2607) 校正.

\*国家自然科学基金资助项目 (30170313, 90208012, 30570595), 上海市启明星项目 (05QMX1420) 和上海市曙光计划项目 (05SG28).

\*\* 通讯联系人. Tel: 021-62232775, E-mail: xdsun@bio.ecnu.edu.cn

收稿日期: 2006-02-24, 接受日期: 2006-03-28

1.3 神经元反应的记录

经微电极拉制仪 (Narishige PE-21) 拉制的玻璃微电极, 内充以 3 mol/L KCl 和 2% Biocytin, 电极尖端直径 1.0~1.5  $\mu\text{m}$ , 阻抗 5~10 M $\Omega$ . 在手术显微镜下, 根据初级听皮层 (A1) 区血管分布特征并参考大鼠脑图谱<sup>[10]</sup>, 将电极插入初级听皮层 (A1), 行细胞外记录单个神经元听反应. 听反应信号经放大器 (ISODAMX) 放大、滤波后, 由计算机采样, 并作刺激后时间序列直方图 (PSTHs).

1.4 数据分析

实验时, 当探测到听神经元后, 先测定其特征频率 (characteristic frequency, CF)、最低阈值 (minimum threshold, MT)、听反应潜伏期, 测绘出频率调谐曲线 (frequency tuning curve, FTC) 等. 在 30 min 时间范围内, 给予偏离该神经元 CF 1.0 kHz 的纯音条件刺激 (conditioned stimulus, CS), 条件刺激的强度为该神经元 MT 以上 10 dB SPL. 经条件刺激诱导 30 min 后, 再分别测定该神经元的 CF、MT、FTC 等, 并记录条件刺激前、后神经元

放电时间序列直方图, 分析神经元的 CF 及 FTC 的可塑性变化. 应用 Sigmaplot 8.0 软件做实验数据处理.

2 结 果

实验在 34 只成年大鼠的初级听皮层上, 共记录到 158 个对声刺激产生反应的神经元. 对其中 120 个神经元 CF 的可塑性进行了仔细观察, 结果如下.

2.1 神经元特征频率可塑性变化类型

120 个神经元 CF 可塑性变化见表 1. 在 30 min 时间范围内, 给予与神经元 CF 相差 1.0 kHz 的条件刺激 ( $\text{CF}-\text{CSF} = \pm 1.0 \text{ kHz}$ ) 诱导后, 66.7% (80/120) 以上的神经元的 CF 发生了可塑性变化, 即神经元的 CF 向条件刺激的频率 (CSF) 偏移, 其中 CF 完全偏移到 CSF 的占 50.8% (61/120), 不能完全偏移到 CSF 的占 15.9% (19/120), 有 40 个神经元 CF 不发生任何偏移.

Table 1 Distribution of CF shift type of AC neurons induced by CS

| Complete CF shift 61(50.8%) |                           |                          | Non-complete CF shift | CF no shift |
|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------|
| Bidirectional shift         | Shift to higher frequency | Shift to lower frequency |                       |             |
| 19 (15.8%)                  | 25 (20.8%)                | 17 (14.2%)               | 19 (15.9%)            | 40 (33.3%)  |

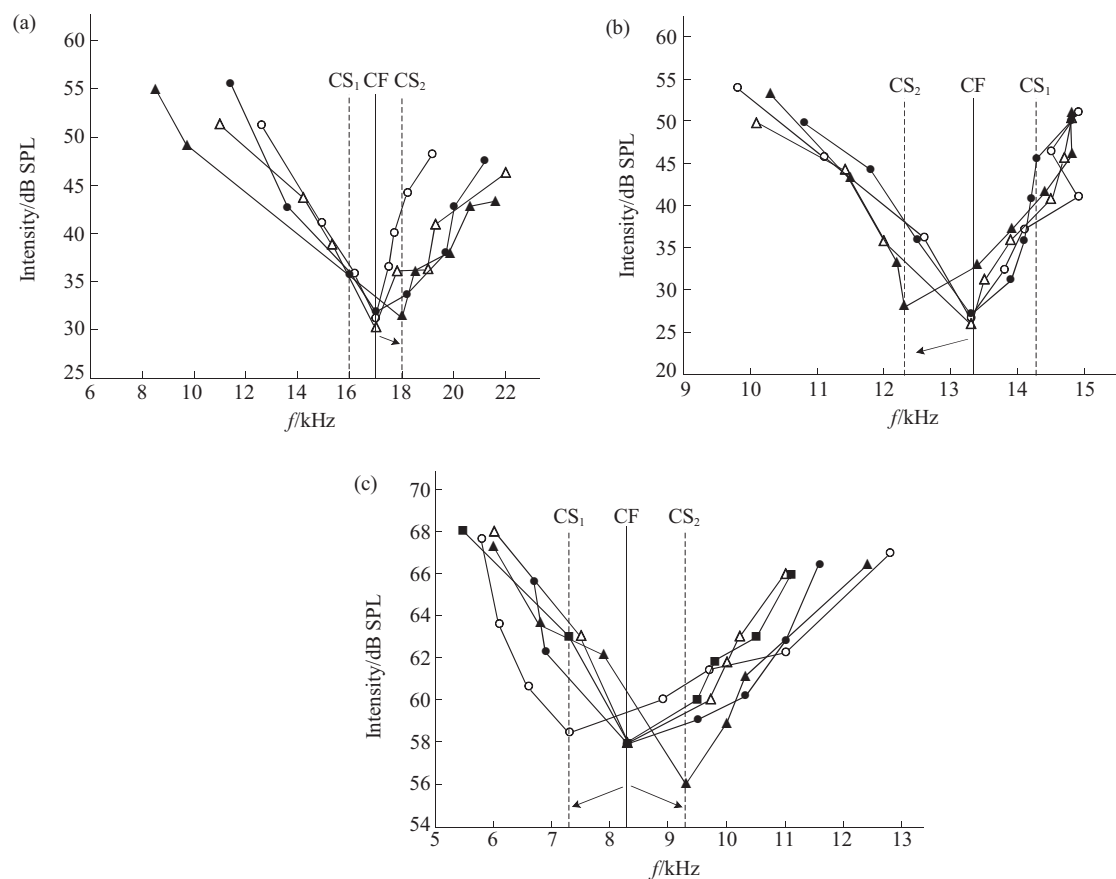
图 1 给出了 CF 完全偏移的三种类型. 其中, 图 1a 为一个 CF 向 FTC 的高频端偏移的神经元, 该神经元自身的 CF 为 17.0 kHz, 先给予 30 min 的 16.0 kHz 条件刺激 ( $\text{CS}_1$ ), CF 并不发生相应的偏移, 但再给予 18.0 kHz 的条件刺激 ( $\text{CS}_2$ ) 30 min, 其 CF 转移到 18.0 kHz, 即 18.0 kHz 成为该神经元新的 CF. 条件刺激停止 25 min 后, CF 又恢复到 17.0 kHz (recovery). 图 1b 为一个 CF 向 FTC 低频端偏移的神经元, 该神经元自身的 CF 为 13.3 kHz, 给予 12.3 kHz 的条件刺激 ( $\text{CS}_2$ ) 后, CF 转移到 12.3 kHz. 图 1c 是一个 CF 双侧都能发生偏移的神经元, 它自身的 CF 为 8.3 kHz, 对分别给予的低于 ( $\text{CS}_1 = 7.3 \text{ kHz}$ ) 和高于 ( $\text{CS}_2 = 9.3 \text{ kHz}$ ) CF 的条件刺激, 该神经元的 CF 均可发生相应的完全偏移.

在部分神经元上, 给予 30 min 条件刺激后, 神经元的 CF 虽然可发生偏移, 但却不能完全偏移到 CS 的频率, 为 CF 不能完全偏移的神经元. 还有少数神经元, 在本实验条件下, CF 不发生任何偏移. 图 2 是这两类神经元的实验记录. 图 2a 神经元

自身的 CF 为 10.0 kHz, 分别给予 9.0 kHz 和 11.0 kHz 的条件刺激, 可见 CF 只能分别偏转到 9.5 kHz 和 10.5 kHz, 停止刺激 25 min 后, 又恢复到原来的 CF. 图 2b 则是一个 CF 完全不偏移的神经元, 无论是  $\text{CS}_1$  或  $\text{CS}_2$ , 在 30 min 的条件刺激诱导时间内, 都不能使它的 CF 发生任何偏移.

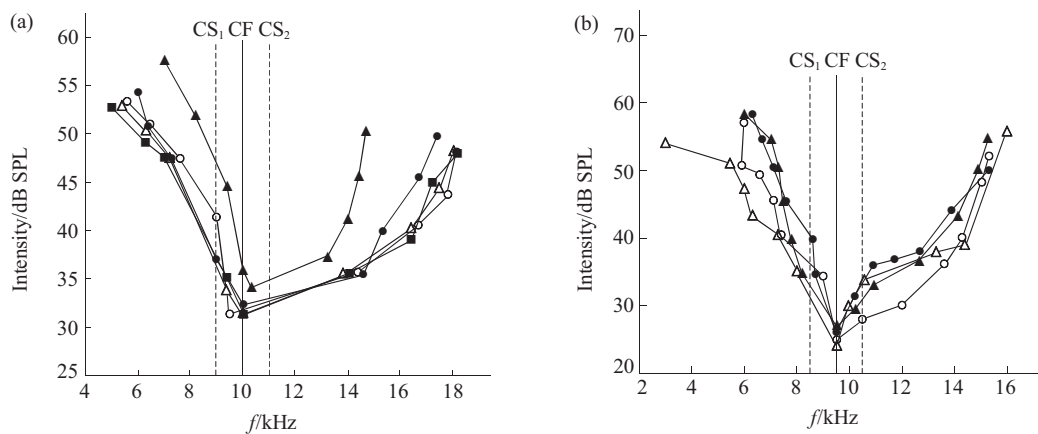
2.2 特征频率可塑性与神经元 CF 的关系

我们分析了神经元特征频率可塑性的三种类型与神经元自身 CF 的关系. 结果显示, 在所记录的所有神经元的 CF 范围内, 随着 CF 的增加, 条件刺激诱发的特征频率可塑性总体变化的百分数也逐渐增加 (1.0~8.0 kHz 段为 28.00%, 9.0~16.0 kHz 段为 47.54%, 17.0~32.0 kHz 段为 69.23%). 同时可见, 无论哪个频率段中, 特征频率可塑性偏向神经元 FTC 的高频端 (high frequency side, HFS) 的概率更高, 特别是在 17.0~32.0 kHz 较高的频段内, 神经元 CF 偏向 HFS 的百分数明显高于其他频段 ( $t$ -test,  $P < 0.05$ ) (图 3).



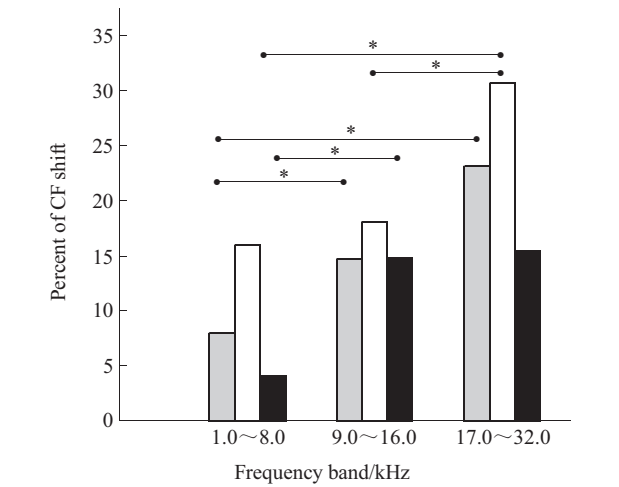
**Fig. 1** Characteristics and types of CF plasticity in AC neurons induced by conditioned stimulus (CS)

(a) CF shift toward the higher frequency side (HFS) of frequency tuning curve (FTC) of AC neuron. (b) CF shift toward the lower frequency side (LFS) of frequency tuning curve (FTC) of AC neuron. (c) CF shift to both HFS and LFS of AC neuron. The arrows indicate the CF shift toward to HFS or LFS of neuron's FTC. ●—●: CF; ○—○:  $CS_1$ ; ▲—▲:  $CS_2$ ; △—△: Recovery1; ■—■: Recovery2.



**Fig. 2** The non-complete CF shift (a) and CF no shift (b) in AC neuron were evoked by conditioned stimulus (CS)

●—●: CF; ○—○:  $CS_1$ ; ▲—▲:  $CS_2$ ; △—△: Recovery1; ■—■: Recovery2.

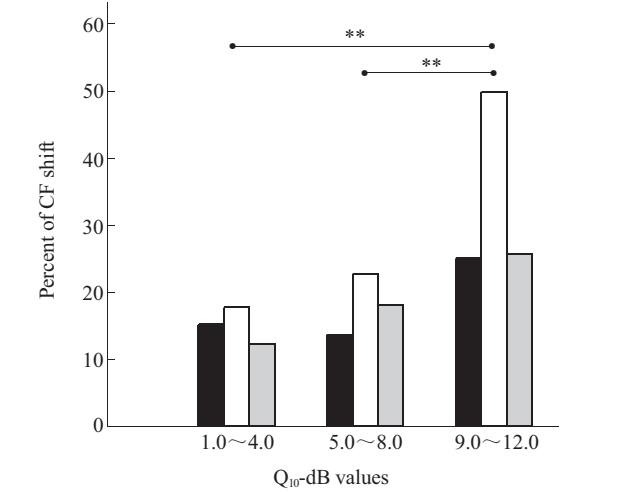


**Fig. 3 Histogram showing the relationship between CF plasticity and CF of AC neurons were evoked by conditioned stimulus (CS)**  
■: BLH; □: HFS; ▨: LFS. HFS: Higher frequency side; LFS: Lower frequency side; BLH: Both LFS and HFS. Single star represents significance of  $P < 0.05$ .

2.3 特征频率可塑性与神经元  $Q_{10}$ -dB 值的关系

神经元的  $Q_{10}$ -dB 值反映该神经元 FTC 的锐化程度,  $Q_{10}$ -dB 值越大, 其 FTC 锐化越明显. 我们分析了所记录神经元 CF 可塑性变化与  $Q_{10}$ -dB 值的关系发现,  $Q_{10}$ -dB 值越大, 神经元 CF 发生偏移的百

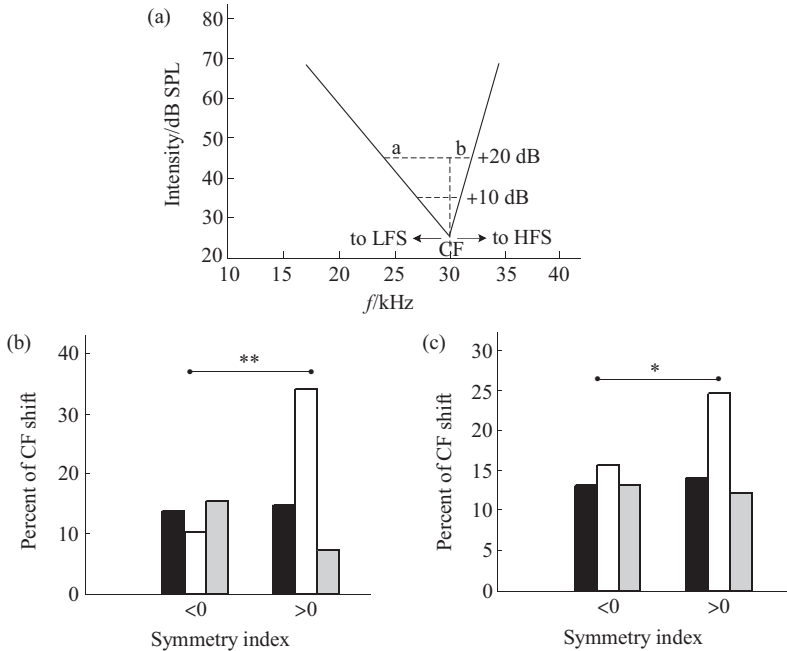
分数越高, 特别是 CF 向 FTC 的高频端 (HFS) 偏移更加明显 ( $t$ -test,  $P < 0.01$ ) (图 4).



**Fig. 4 Histogram showing the relationship between CF plasticity and  $Q_{10}$ -dB values of AC neurons**  
■: BLH; □: HFS; ▨: LFS. HFS: Higher frequency side; LFS: Lower frequency side; BLH: Both LFS and HFS. Double star represents significance of  $P < 0.01$ .

2.4 特征频率可塑性与神经元 FTC 类型的关系

为了分析神经元 CF 可塑性与 FTC 类型的关系, 我们用 FTC 低频端 (LFS) 和高端 (HFS) 的对称指数 (symmetry index) 描述 FTC 的类型. 图 5a 是



**Fig. 5 Histogram showing the relationship between CF plasticity and symmetry index of frequency tuning curve (FTC) of AC neurons induced by conditioned stimulus (CS)**  
(a) Experimental arrangement for measuring symmetry index of FTC in AC neuron. The arrows indicate the CF shift toward higher frequency side(HFS) or lower frequency side (LFS) of FTC. (b) and (c) Relationship between CF shift and symmetry index, which measured at 10(+10) and 20(+20) dB above minimum threshold (MT) of neuron, respectively. HFS: Higher frequency side; LFS: Lower frequency side; BLH: Both LFS and HFS. Single and double stars represent significance of  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively. ■: BLH; □: HFS; ▨: LFS.



一个计算对称指数的示意图, 由神经元的 CF 向上画一直线, 垂直于该神经元 MT 以上 10 dB 或 20 dB 处 FTC 的 LFS 和 HFS 的连线, 垂直线将连线分成 a、b 两段, 分别代表神经元 FTC 近 LFS 和近 HFS 的宽度, 对称指数的计算公式为:  $(a-b)/(a+b)$  = 对称指数. 对称指数大于零 ( $>0$ ) 表示 FTC 的高频端更加锐化, 而对称指数小于零 ( $<0$ ) 则表示 FTC 的低频端更加锐化. 同时, 考虑到不同的神经元 FTC 形状的多样性, 我们分别计算了每个神经元 MT 以上 10 dB 处 (+10 dB) 和 20 dB 处 (+20 dB) FTC 的对称指数, 并分别分析了它们与神经元 FTC 的关系, 图 5b、c 分别为两者对称指数与神经元 CF 偏移的关系. 可见, FTC 对称指数大于零, 其 CF 向高频端(HFS)偏移的百分数都远高于对称指数小于零者. 提示, FTC 高频端锐化的神经元, 由条件刺激诱导神经元 CF 向高频端偏移的概率更高.

### 3 讨 论

感觉经验可诱导皮层感觉图的重构, 已在猫、猴、蝙蝠、沙土鼠、豚鼠和大鼠等多种动物上证实<sup>[11~14]</sup>. Weinberger 等<sup>[9]</sup>研究表明, 一个特异性声音作为条件刺激, 能快速诱导豚鼠初级听皮层 (A1) 神经元的频率感受野 (RF) 可塑性. 在清醒动物上, 这种可塑性经过几次训练即可产生, 并可保持数周至数月. 杨文伟等<sup>[9]</sup>在轻度麻醉的大鼠听皮层 A1 区观察到, 有 66% 的神经元给予 40 min 的条件刺激诱导, 即可使神经元的 RF 产生相应的转移, RF 可塑性的诱导迅速, 反应稳定. 本文在轻度麻醉的大鼠上也观察到, 当给予与被测神经元的 CF 相差 1.0 kHz 的条件刺激 30 min 后, 有 50.8% 的听皮层 A1 区神经元的 CF 就能完全偏移 to 条件刺激声的频率 (CSF) 上, CSF 成为该神经元新的 CF. 条件刺激能使不同动物脑区神经元的 RF、CF 以及音调组构等发生可塑性, 提示听觉经验诱导听皮层神经元功能重构具有普遍意义. 研究推测, 由于 RF 可塑性具有联合性、高特异性、高分辨性、能快速诱导和保持时间长等生理性记忆特征, 因此, 它可能是学习、记忆的重要的神经元机制之一<sup>[15~17]</sup>.

我们的实验观察到, 在条件刺激诱导 CF 可塑性变化的 120 个神经元中, 有 15.8% 的神经元 CF 既能向 FTC 高频端偏移, 也可向 FTC 的低频端偏移, 另外 20.8% 和 14.2% 的神经元, 其 CF 仅能向 FTC 的高频端或低频端偏移. 总体上看, 似乎 CF

偏向 FTC 的高频端和低频端不存在明显差异, 这 和 杨 文 伟 等<sup>[9]</sup>, Zhang 等<sup>[18]</sup> 分别在大鼠和胡须蝙蝠听皮层上获得的结果相似. 但我们进一步分析发现, 随着神经元的 CF 和  $Q_{10}$ -dB 值增加, CF 可塑性变化概率有增高的趋势 (图 3、4), 并且, 那些 CF 高、 $Q_{10}$ -dB 值较大的神经元, 其 CF 向 FTC 高频端偏移的概率也更高 (图 3、4). Yan 等<sup>[19]</sup>在大棕蝠上曾观察到, 条件刺激使神经元的 BF 仅向 FTC 的一侧转移, 认为这可能和听神经元 FTC 的非对称性有关. 为此, 我们引入了神经元 FTC 对称指数的参数, 其公式为  $(a-b)/(a+b)$  = 对称指数. 当对称指数等于零时, 则 FTC 的高频端和低频端完全对称, 对称指数大于或小于零, FTC 则是不对称的. 我们发现, 那些对称指数大于零的神经元 CF 向 FTC 高频端偏移的概率更高 (图 5). 感觉皮层神经元的频率调谐和功能组构依赖于来自不同的频率通道丘脑皮层突触的竞争<sup>[20]</sup>, 每个听皮层神经元都可能接受多个调谐于不同频率神经元的输入和汇聚, 最终整合的结果, 使得神经元 CF 向着被激活的兴奋性高的神经元 CF 转移. 神经元的 FTC 对称指数大于零表示其高频端的斜度较低频端的斜度陡峭, 因此, 条件刺激的频率会激活更多的调谐于高频端神经元的活动. 诱导神经元 RF、CF 等可塑性变化的相关因素较多, 如条件刺激诱导时程、条件刺激的频率范围等已有研究报道. 但神经元的 RF、CF 等可塑性究竟发生在哪一级中枢, 不同频率通路传入是如何汇聚和整合的等, 都还有待深入研究.

### 参 考 文 献

- 1 SaKai M, Suga N. Centripetal and centrifugal reorganization of frequency map of auditory cortex in gerbils. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (10): 7108~7112
- 2 Bjordahl T S, Dimyan M A, Weinberger N M. Induction of long-term receptive field plasticity in the auditory cortex of waking guinea pig by stimulation of the nucleus basalis. *Behav Neurosci*, 1998, **112** (3): 467~479
- 3 Gao E Q, Suga N. Experience-dependent plasticity in the auditory cortex and the inferior colliculus of bats: Role of the corticofugal system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (14): 8081~8086
- 4 Xiao Z J, Suga N. Reorganization of the cochleotopic map in the bat's auditory system by inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (24): 15743~15748
- 5 杨文伟, 高利霞, 孙心德. 大鼠听皮层神经元频率感受野的可塑性. *科学通报*, 2004, **49** (11): 1062~1067  
Yang W W, Gao L X, Sun X D. *Chin Sci Bull*, 2004, **49** (11): 1062~1067
- 6 Weinberger N M, Bakin J S. Learning-induced physiological

- memory in adult primary auditory cortex: receptive field plasticity, model, and mechanisms. *Audiol Neurotol*, 1998, **3** (2~3): 145~167
- 7 Bakin J S, Weinberger N M. Induction of physiological memory in the cerebral cortex by stimulation of the nucleus basalis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (20): 11219~11224
  - 8 Bakin J S, South D A, Weinberger N M. Induction of receptive field plasticity in the auditory cortex of the guinea pig during instrumental avoidance conditioning. *Behav Neurosci*, 1996, **110** (5): 905~913
  - 9 Diamond D M, Weinberger N M. The role of context in the expression of learning-induced plasticity of single neurons in auditory cortex. *Behav Neurosci*, 1989, **103** (3): 471~491
  - 10 Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 4 th. San Diego: Academic Press, 1998
  - 11 Weinberger N M. Dynamic regulation of receptive fields and map in the adult sensory cortex. *Annu Rev Neurosci*, 1995, **18**: 129~158
  - 12 Weinberger N M. Physiological memory in primary auditory cortex: characteristics and mechanisms. *Neurobiol Learn Mem*. 1998, **70** (1~2): 226~251
  - 13 Kilgard M P, Merzenich M M. Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. *Science*, 1998, **279** (5357): 1714~1718
  - 14 Sakai M, Suga N. Plasticity of the cochleotopic (frequency) map in specialized and nonspecialized auditory cortices. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (6): 3507~3512
  - 15 Suga N, Ma X F. Multiparametric corticofugal modulation and plasticity in the auditory system. *Nature Reviews Neurosci*, 2003, **4** (10): 783~794
  - 16 Weinberger N M, Javid R, Lapan B. Long-term retention of learning-induced receptive-field plasticity in the auditory cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90** (6): 2394~2398
  - 17 Weinberger N M. Specific Long-term memory traces in primary auditory cortex. *Nature Review Neurosci*, 2004, **5**: 279~290
  - 18 Zhang Y F, Suga N. Modulation of responses and frequency tuning of thalamic and collicular neurons by cortical activation in mustached bats. *J Neurophysiol*, 2000, **84** (1): 325~333
  - 19 Yan W, Suga N. Corticofugal modulation of the midbrain frequency map in the bat auditory system. *Nat Neurosci*, 1998, **1** (1): 54~58
  - 20 Zhang L I, Bao S, Merzenich M M. Disruption of primary auditory cortex by synchronous auditory input during a critical period. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (4): 2309~231

## Experience Alters The Characteristic Frequency of Primary Auditory Cortical Neuron in The Rat\*

WANG Fang, YANG Wen-Wei, TAN Jiang-Xiu, PENG Yin-Ting, ZHANG Ji-Ping, SUN Xin-De\*\*

(Research Center for Brain Science, College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

**Abstract** Using conventional electrophysiological technique, the plasticity of characteristic frequency (CF) of neurons in rat auditory cortex (AC) was investigated by determining CF and frequency tuning curve (FTC) shifts of neurons. In the AC, when the frequency difference between conditioned stimulus frequency (CSF) and the CF of neuron was in 1.0 kHz with conditioned stimulation for 30 min, 61 of 120 neurons (50.8%) completely shifted their CF to the CSF. According to the CF shift direction, complete CF shifts were classified into three patterns: CF shift toward lower frequency side (LFS) of neuron's FTC, CF shift to higher frequency side (HFS) and CF shift to both LFS and HFS. Among them, some neurons with higher CF, bigger  $Q_{10}$ -dB value and symmetry index  $> 0$  of FTC, the probability of CF shift toward HFS of FTC is higher than other neurons. The results suggest that the experience can alter CF in rat auditory cortical neurons. These findings also provide evidence for further study of plasticity mechanisms in sensory function of the brain.

**Key words** rat, auditory cortex, neuron, characteristic frequency, plasticity

\*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30170313, 90208012, 30570595), Shanghai Rising-star Program (05QMX1420), Shanghai ShuGuang Program (05SG28).

\*\*Corresponding author. Tel: 86-021-62232775, E-mail: xdsun@bio.ecnu.edu.cn

Received: February 24, 2006 Accepted: March 28, 2006