

胡须信息在大鼠双侧初级体感皮层间的传递路径*

王志杰^{1, 2)**} 高欣^{1, 2)} 李兵^{1)**} 吴建永^{3)**}

⁽¹⁾ 中国科学院生物物理研究所, 脑与认知科学国家重点实验室, 北京 100101; ⁽²⁾ 中国科学院研究生院, 北京 100049;

⁽³⁾ Department of Physiology and Biophysics, Georgetown University Medical Center, Washington, DC 20057, USA)

摘要 大鼠的初级体感皮层(primary somatosensory cortex, S I)虽然只接受来自对侧胡须的上行输入,但仍可以被同侧胡须刺激所激活。解剖学研究发现,在两侧 S I 皮层之间有两条传递胡须信息胼胝体通路:一条是类颗粒区(perigranular zone, PGZ)通路;另一条是异颗粒区(dysgranular zone, DZ)通路。然而,哪一条通路在传递胡须刺激信息的过程中起主要作用还不清楚。本研究使用电压敏感染料(voltage-sensitive dye, VSD)成像技术来观察胡须刺激时整个 S I 的神经元群体活动的空间分布和时间特性。实验发现,对侧胡须刺激首先激活 barrel(颗粒区, granular zone, GZ),然后以兴奋波的形式传播到胡须感觉区(sub-barrel field cortex, BFC)外侧的 DZ。而与首先激活 BFC 的对侧胡须刺激不同,同侧胡须刺激首先激活 S I 的 DZ。所激发的皮层兴奋以波的形式传播并扩散至 BFC。失活另一侧皮层可以抑制这种同侧反应。电刺激另一侧半球皮层与刺激同侧胡须类似,也首先激活成像侧 DZ。我们的实验结果显示,胡须刺激激活对侧 S I,在经过胼胝体传导后,另一侧半球的 DZ(同侧于被刺激的胡须)被激活。连接双侧皮层 DZ 区的胼胝体连接在 S I 对同侧胡须刺激的反应中起了主导作用。

关键词 电压敏感染料成像, 同侧胡须刺激, 体感皮层, 皮层抑制, 皮层电刺激

学科分类号 Q426, R338.2+5, R339.11

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00103

大鼠的胡须-体感表征系统是在皮层下完全交叉的^[1],即同侧的初级体感皮层(primary somatosensory cortex, S I)不直接接受上行的同侧胡须感觉信号。然而,已有的电生理研究结果提示 S I 也可以被同侧的胡须刺激所激活^[2-3]。当对侧的 S I 被抑制时,同侧的胡须刺激不会再激活 S I^[3],说明 S I 通过胼胝体接受同侧胡须信号。然而,由于空间分辨率的限制,这些电生理研究只提供了很有限的关于这种 S I 被同侧胡须刺激激活所产生反应的信息。我们对于所激发皮层活动的起始位置和皮层间的传播特性等信息还知之甚少。

已知存在着大量的胼胝体神经元连接双侧 S I。根据以往的研究,大鼠的 S I 可以根据细胞的形态分成 3 种区域:颗粒区 GZ (granular zone, 图 1a 中的深灰色斑点),又称为 barrel,其接收来自腹后内侧核(ventral posteromedial nucleus)的输入;类颗粒区 PGZ,位于各 barrel 之间的空隙(图 1a 中深灰色 barrel 之间的细纹间隙);异颗粒区 DZ,位于 BFC 的外侧(图 1a 中在 BFC 的喙端的条纹状间

隙)^[4]。根据这个分类,已有的解剖学研究结果显示存在两条连接双侧半球 S I 的通路:a. 一条通路从皮层的 barrel(即 GZ)出发,投射至周围的 PGZ, PGZ 的活动接着通过胼胝体连接被传至对侧相应位置的 PGZ^[5-10](图 1b 中的虚线粗黑箭头),在后文中,这条通路被称为 PGZ 通路;b. 第二条通路也从 barrel 产生,传导至 PGZ 区然后继续传导至 BFC 之外的 DZ 区,接着 DZ 区把这种神经活动通过胼胝体传导至另一侧半球的 DZ 区(图 1b 中的实线粗黑箭头),对侧的 DZ 区继续把神经活动传导至相邻的 BFC^[4, 11-15],在后文中,这条通路被称为 DZ 通路。这两条不同的胼胝体通路可能在双侧

* 国家重点基础研究发展计划(973)(2005CB724301), 国家高技术研究发展计划(863)(2007AA02Z313), 国家自然科学基金(90408020)和中国科学院知识创新工程(KSCX1-YW-R-32)资助项目。吴建永受美国国立卫生研究院(NIH)基金 R01-NS059034 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 010-64889883, E-mail: wangzhijieggg@163.com

收稿日期: 2012-02-28, 接受日期: 2012-03-30

S I 间的跨胼胝体信息传递中起着不同的作用. 但是, 还不清楚哪条通路在双侧 S I 间的跨胼胝体信

息传递中起着主要的作用. 根据已有的文献调查结果, 尚没有对这两条通路的功能性研究.

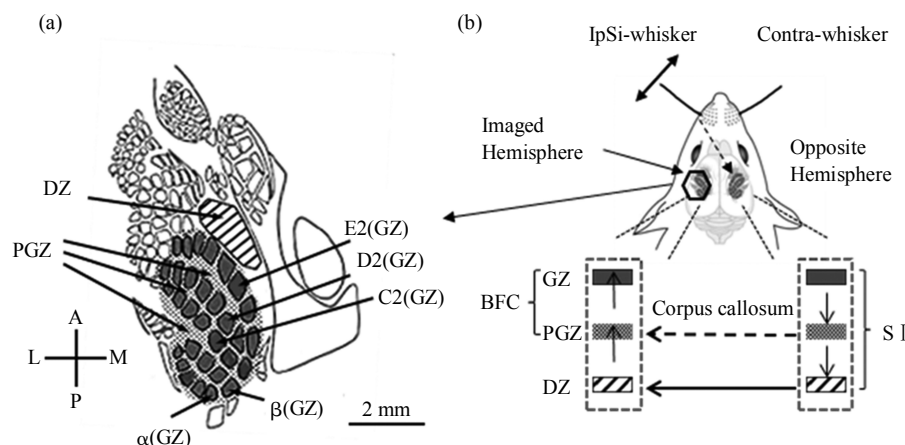


Fig. 1 Schematic illustrations of anatomical structure of rat S I and intra-/ inter- hemispherical connections

(a) Schematic drawing of cytoarchitectonic zones in rat S I, including GZ (gray), PGZ (stippled), and DZ (stripes). (b) Intra- and inter- hemispherical connections in S I. Thin arrows represent intrahemispherical connections (All connections here should be bidirectional. But for simplicity, only one direction is shown). In the corpus callosum are the interhemispherical pathways, the DZ pathway (solid thick arrow) and the PGZ pathway (dashed thick arrow). When the whisker ipsilateral to imaged hemisphere is stimulated, the ascending sensory signal first activates the GZ in the hemisphere opposite to the imaged cortex (opposite hemisphere). The activation of GZ in the opposite cortex then reaches the PGZ and DZ areas via intrahemispheric connections. The PGZ or the DZ pathways in the corpus callosum are two possible pathways for the information to the imaged cortex which are the main objective of this report.

电压敏感染料(voltage-sensitive dye, VSD)成像技术利用结合在神经细胞脂膜上的染料, 将膜电位转化为荧光信号, 通过记录这些荧光信号, 可以以高时间分辨率和空间分辨率记录大范围的皮层神经活动^[6]. 在本工作中, 使用 VSD 成像手段研究 S I 被同侧胡须所激活这一现象, 以观察皮层兴奋的起始位置和随时间的变化过程, 从而分析其中的神经信号传导通路. 实验中观察到 S I 对于任一侧胡须刺激的反应. 实验发现由同侧胡须刺激所激发的活动首先出现在 DZ 区, 然后以兴奋波的形式传导至 BFC. 实验中未观察到对于同侧胡须的反应中, PGZ 先于 DZ 反应的情况. 实验结果显示, 激活 S I 的同侧胡须信号主要通过双侧半球 DZ 区之间的胼胝体连接从另一侧半球皮层传递而至.

1 材料与方法

实验采用成年 Sprague-Dawley(SD)大鼠(250~300 g, $n=25$). 手术和实验过程严格遵守中国科学院生物物理研究所实验动物使用条例.

1.1 实验麻醉和手术

大鼠在麻醉前 30 min 注射阿托品(atropine sulfate, 40 μ g/kg)以抑制体液分泌^[17]. 在使用盐酸氯胺酮(ketamine, 60 mg/kg)和甲苯噻嗪(xylazine, 15 mg/kg)诱导麻醉大鼠后, 为大鼠作气管插管手术, 使用呼吸机为大鼠提供呼吸, 呼吸气体为室温条件的空气混以异氟烷(Isoflurane, 浓度随着 ketamine 和 xylazine 的效用减弱逐渐增加至 1.5%~2%)作为麻醉剂^[18]. 实验动物的体温由电热毯保持在 37.5°C. 定期给予实验动物腹腔注射林格溶液(约 2.5 ml/(kg·h))以补偿实验中水分的损失. 在大鼠的左侧 S I 区域(bregma 2~ -3 mm, lateral 3~ 8 mm)作开颅手术. 剪去开颅手术区域的硬脑膜以利于 VSD 渗入皮层. 局域脑电由在手术窗口边缘的记录电极记录. 脑电信号在 1~ 100 Hz 频率范围内被滤波, 然后与成像数据一起被转换为数字信号并存储.

1.2 VSD 染色

在颅骨手术位置周围用凡士林作临时的小井,

滴加溶于 ACSF 溶液的 VSD 溶液(RH1838, 1 g/L)于小井内. 为了减少脑脊液对皮层 VSD 染色的影响(脑脊液的持续渗出会冲淡皮层表面 VSD 的浓度), 实验中使用一个小泵和吸管. 吸管尖端浸入 VSD 液面以下, 吸出约 50 μ l 的 VSD, 反复循环 VSD, 从而保持皮层表面 VSD 的有效浓度. 染色约 90 min 后, 用 ACSF 冲洗皮层约 15 min^[18].

1.3 VSD 成像记录

染色结束后, 把高黏度的硅油(30 000 centistokes)加在大鼠皮层表面, 然后在小井表面覆盖盖玻片, 有效地减少成像过程中因皮层运动而产生的噪音. 成像方法主要根据 Takagaki 的工作^[17]描述. VSD 成像使用的是 Wu tech 公司的光电二极管阵列(H469V-001), 共 464 道记录位点. 实验记录时, 由一个 150 W 的氙灯所发出的光在经过(640 $\pm$ 15) nm 的滤波后, 经由 660 nm 的二向色镜反射, 由凸透镜聚集在皮层上. 这作为荧光信号的激发光. 而皮层被激发光所激发产生的荧光为凸透镜所聚集后, 经过 680 nm 长波段通光滤光片的滤波, 把实像投射到由 464 个光电二极管组成的六边形阵列 PDA. 成像区域直径约 3 mm, 而每个光电二极管接受从直径约 160 μ m 的记录区发出的荧光信号. 荧光投射到 PDA 后, 经过光电二极管的光电转换以及其后端的电流电压转换器, 隔直流电容以及后级放大器的处理, 光学信号被转化为电信号传给计算机, 并经过模数转换后存储为数据. 数据的采集是由 RedShirtImaging 公司的 Neuroplex 软件完成, 采样频率为 1.6 kHz.

实验中每次记录的时间约为 3 s. 在记录开始 1 s 之后给予刺激. 每次记录之间间隔大于 200 s, 以减小激发光对皮层的光毒损伤.

1.4 胡须刺激

实验使用 5 V, 1 ms 的脉冲驱动 3 W 的喇叭以刺激实验动物的胡须. 胡须被剪短至 10 mm, 刺激幅度为 1 mm, 刺激方向为从实验动物的前侧向后侧. 其中, 喇叭的纸膜被剪去以减小给予胡须刺激时的声音干扰^[19]. 同时做了喇叭不接触实验动物胡须的控制组实验, 以确保所记录的信号中无声音信号的影响.

1.5 电刺激

在一些实验中, 使用钨丝电极给予记录区对侧皮层 BFC 区电流刺激. 这些刺激为 100 μ s 宽, 0.5 mA 的单脉冲. 在记录之后通过电极给予反向

电流以保持刺激位点的电荷平衡. 刺激电极的位置是根据颅骨的图谱位置测量所得, 从而保证电极在 BFC 区. 电极在皮层的深度约为 1.5 mm, 大约在体感皮层的 V 层和 VI 层.

与微电流刺激不同, 电极刺激所激活的皮层区域在 0.5 mm 左右. 这一范围在大多数情况下既覆盖了 barrel, 也覆盖了其周围的 PGZ 区域.

1.6 抑制皮层

一个浸了蝇蕈醇(muscimol, 10 mmol/L, saline)的明胶海绵球被放在成像区对侧半球的 S I 表面上. 同时记录成像区皮层对于对侧胡须刺激的反应, 以确保 muscimol 没有抑制记录区皮层的活动.

1.7 数据处理方法

实验数据的处理和分析是基于 Matlab 7.0. 实验中的数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式显示.

实验数据根据 Prechtl 工作中的数据处理方法进行去噪. 在对数据作 100 Hz 的低通滤波以去除高频噪音后, 使用时空 SVD 的方法以减少记录数据中不包含信号的噪音成分^[20].

对于经过去噪处理的数据, 使用基于 Interactive Display Language(IDL)语言的 NeurPlex 软件作反应幅度值随时间变化的伪彩图, 其中每个二极管的幅度值都根据其各自最大值和最小值作归一化, 这种方法可以有效地避免因为 VSD 染色或是激发光强度不均造成的假象. 对于根据成像数据所得伪彩图, 使用每个二极管周围的 6 个二极管的数据作空间平滑滤波^[17, 21].

在图 2、3 和 5 中, 标记了对侧反应和同侧反应的起始位置. 这些起始位置是基于前 5 个到达反应幅值的 50%这一阈值的二极管的位置所得. 实验中以这 5 个二极管的质心为起始位置. 用这种方法, 可以减少因使用单一二极管的幅值变化判断起始位置所引入的误差(基于实验记录的时间分辨率, 有时在实验中发现同时有不只一个二极管达到阈值).

2 结 果

使用 VSD 成像记录一侧 VSD 的皮层活动, 同时刺激任一侧的胡须. 实验中以“同侧”指代成像侧的胡须, 而“对侧”指代另一侧的胡须. 在一些实验中, 电刺激或药物(muscimol)被施加在另一侧半球的皮层上, 则被称为“另一侧”皮层.

2.1 S I 对同侧胡须刺激的反应

实验中, 刺激大鼠的对侧胡须可以诱发 S I 皮层细胞群体的兴奋. 反应从相对应的 BFC 内的 barrel 产生(图 2a, 第一排用虚线矩形标记的小图), 然后扩散至整个成像区(图 2a, 第一排伪彩图). 这一现象与前人的 VSD 成像实验所报道的结果一致^[22]. 然而, 在实验中, 我们还刺激了大鼠同侧胡须. 结果显示, 同侧胡须刺激也首先诱发了 S I 的一个小区域的兴奋, 然后这种兴奋在 10 多毫秒内以波动形式传至整个成像区(图 2a, 第二排伪彩图). 实验发现, 虽然同侧胡须刺激所激发皮层反应(后文称为同侧反应)和对侧胡须刺激所激发的反应(后文称为对侧反应)都表现为兴奋波的形式影响周围的区域, 同侧反应的起始时间却要慢于对侧

反应的起始时间, 并且同侧反应的起始位置和对侧反应的起始位置相差明显(图 2a, b).

在图 2 所示的样本中, 对侧胡须 E2、E3、E4 和 D4 被分别刺激, 而反应的起始位置在成像区被标记出来(图 2b, 第二排). 起始位置的计算见 1.7. 与前人的报道一致, 对不同的对侧胡须刺激的反应起始于各自相应的皮层表征, 即散布在 BFC 内的 barrel^[17, 22]. 在同一只动物中, 以对侧反应的起始位置为参照, 又成像记录了刺激同侧胡须 E2、E3、E4 或 D4 所产生皮层兴奋的起始位置. 结果显示, 与对侧反应不同, 同侧反应的起始位置是聚集在一起的(图 2b, 比较第一行和第二行). 在同一只动物中, 同侧反应的起始位置从不与对侧反应起始位置重合(图 2c).

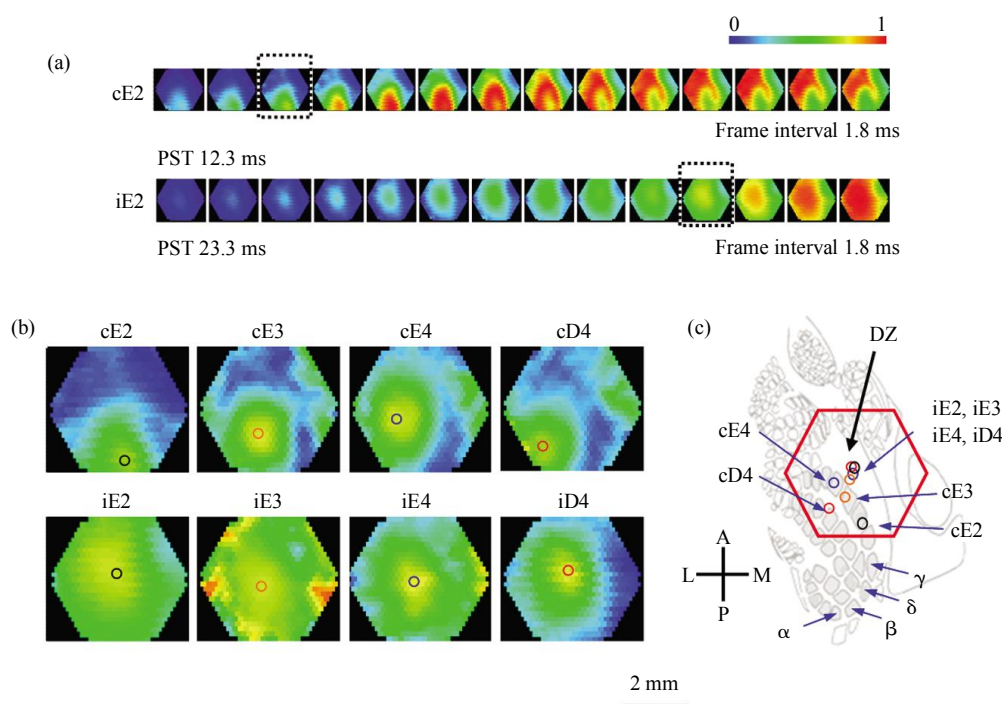


Fig. 2 S I activation by contralateral or ipsilateral whisker stimulations

(a) Pseudocolor movie frames of S I activation in response to contralateral E2 (cE2, top row) and ipsilateral E2 whisker (iE2, bottom row). On each detector, the amplitude of the signal is converted to pseudocolor according to a linear color scale (top right, peak, red; baseline, blue). The first frame is taken approximately 12.3 ms after the whisker deflection (post-stimulation time, PST) for contralateral E2 and 23.3 ms after the whisker deflection for ipsilateral whisker. Note that the activations by cE2 or iE2 started from different locations (marked by the broken line boxes in the top and bottom row images). And the activity evoked by ipsilateral E2 was slower than that of contralateral E2 for about 20 ms. These images are created by 5-trial averaged data. (b) Initiation sites of S I activations in responses to different whiskers. Note that the locations of initiation sites of contralateral whisker activations are scattered while those of ipsilateral whiskers activations are clustered. (c) The locations of the initiation sites in B superimposed onto a schematic diagram of cytoarchitectonic whisker barrel map. The locations and distances between contralateral initiation sites were used to orient and scale the map, to demonstrate the spatial relationship of contralateral and ipsilateral initiation sites. Based on this map, the sites of ipsilateral whiskers responses were clustered at the outside of the BFC.

接着, 实验中估计了这些同侧反应的起始位置与 BFC 的相对空间关系. 因为对侧胡须所激活的反应起始位置位于各胡须相应的 BFC 的皮层表征 barrel^[2], 于是根据这些对侧反应起始位置, 把 S I 的结构示意图与成像区相重合(图 2c). 在图 2 的示例动物中, 对侧胡须 E2、E3 和 E4 胡须所激发反应的起始位置被用来确定 E 排 barrel 的大小. 类似的, 通过对侧胡须 D4 的反应起始位置可以确定 E 排 barrel 的朝向. 用这种方法, 确定了相应的成像区域的皮层位置和相对大小. 然后, 在成像区内标记出同侧胡须 E2、E3、E4 和 D4 各自激发反应的起始位置. 结果显示, 不同的同侧反应的起始位置聚集在一个位于 BFC 之外的小区域. 通过和图谱的比较, 可以发现这个区域即 DZ 区(图 1a 和 2c).

图 2 中的胡须位置相对距离较近. 图 3 中是在另一只大鼠的皮层上记录到的对于相互距离较远的两列同侧胡须(分别为喙侧胡须, 即第 4 列的胡须, 以及尾侧胡须, 即第 1 列的胡须)的反应起始位置. 可以看出这些同侧反应的起始位置仍然聚集在 DZ 区.

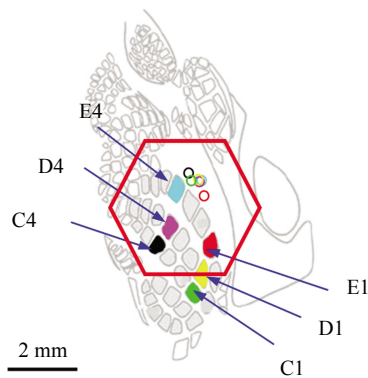


Fig. 3 Initiation sites of S I activation by ipsilateral rostral or caudal whiskers

We stimulated different ipsilateral whiskers and imaged the activation of S I. Different whiskers correspond to different barrels where the contralateral activation started (left figure, red, E1; yellow, D1; green, C1; cyan, E4; magenta, D4; black, C4). While the 1st arc barrels were far from the 4th arc barrels, the activation by different ipsilateral whiskers started from nearly the same site.

我们总共在 20 只大鼠上做了类似实验, 以观察 S I 对于不同的对侧胡须刺激和同侧胡须刺激的反应. 这些实验基本覆盖了不同的胡须. 在这些大鼠中, 对侧反应的起始位置都散布在 BFC 区内, 而同侧反应的起始位置都聚集在 DZ 区内.

2.2 失活另一侧皮层对同侧反应的抑制

已有的电生理研究提出, 同侧胡须刺激所激发的皮层兴奋可能来自另一侧皮层经过胼胝体的输入投射^[2-3]. 为了进一步验证这一假设, 实验中使用 muscimol, 一种 GABA_A 受体的选择性拮抗剂(见材料与与方法)失活另一侧皮层. 理论上, 这一操作不应该影响成像区皮层对于对侧胡须刺激的反应. 同时, 如果成像区皮层对于同侧胡须的反应是来自另一侧皮层, 则这一操作应该完全抑制这种对于同侧胡须的反应.

实验结果支持以上假设, 即抑制另一侧皮层的同时也抑制了同侧胡须刺激所激发的皮层反应. 在控制条件下(双侧 S I 都浸在生理盐水中), 拨动与成像区同侧的胡须 E2 以及对侧胡须 E2. 与预期相符合, 同侧及对侧刺激均可激活成像区的 S I (图 4b, 第一条曲线上的两个兴奋反应). 在另一侧皮层施加 muscimol 后, 成像区 S I 对于同侧胡须刺激的反应被完全抑制了(图 4a, 第二行), 而对于对侧胡须刺激的反应则没有改变(图 4b, 第 2 条曲线). 图 4b 中的两条曲线来自位于 iE2 和 cE2 两个起始位置之间的一个记录位点(图 4b 中 R), 在成像记录区的其他记录点所记录的皮层兴奋与之类似. 这个抑制实验证明同侧胡须刺激激活 S I 需要另一侧半球皮层的兴奋活动.

研究中共在 3 只大鼠上重复了这一实验. 在 3 只大鼠中, 当另一侧皮层被 muscimol 失活后, 记录区的 S I 对同侧胡须刺激的反应都被完全抑制.

2.3 DZ 区对另一侧皮层电刺激的反应

前文的结果表明, 图 2 中所观察到的 DZ 区的活动是从另一侧半球皮层传递而来的. 这其中, 另一侧半球皮层是由上行的感觉信号所激活的. 现在, 在不接受外界感觉信号输入的情况下, 直接刺激另一侧半球 S I 的不同位置(材料与与方法), 从而激活皮层以及两侧半球间连接. 实验中首先刺激左侧 D2、D3 胡须, 并成像记录右侧半球, 从而确定右侧皮层 D2、D3 barrel (图 5b, 棕色和红色十字). 然后, 拨动右侧 D2 和 D3 胡须, 从而确定右侧皮层的 DZ 区的位置(图 5b, 蓝色十字). 这之后, 移动成像区域至左侧半球, 并在右侧皮层的 D2、D3 barrel 和 DZ 区施加电刺激. 实验发现, 电刺激右侧皮层 D2、D3 barrel 以及 DZ 区均可在左侧 DZ 区激发兴奋(图 5a, 下方三幅图), 这表明双侧皮层 DZ 区之间胼胝体投射的参与. 在同一实验中, 又拨动了左侧胡须 D2 和 D3(与成像区同侧).

标记这些同侧活动的起始位置(图 5a, 上方两幅图) 并可以发现其与电刺激右侧 S I 时左侧皮层的反应起始位置相重合(图 5a, b). 这一结果进一步支持前

文的结论, 即包含大量的胼胝体投射的 DZ 通路^[12-13]在两侧半球间的皮层活动的传递中起了主要作用.

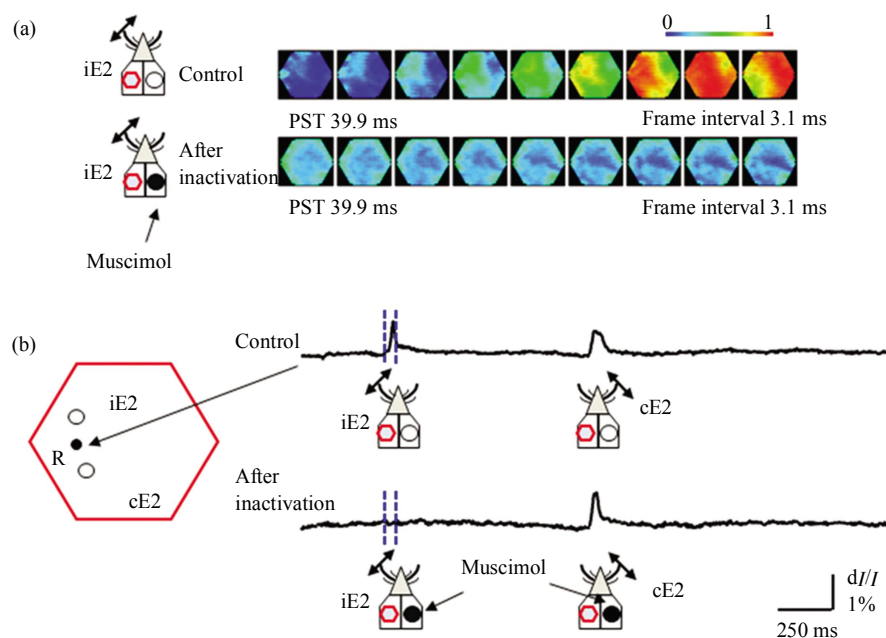


Fig. 4 Application of muscimol to opposite S I abolished activation by ipsilateral whisker

(a) Pseudocolor movie frames of S I activation in response to ipsilateral E2 in control condition (top row) and after inactivation of opposite S I (bottom row). The first frame is taken approximately 39.9 ms after the whisker deflection for ipsilateral E2. These images are created by single trial data. (b) Left hexagon showing the imaging field, the initiation sites of iE2 and cE2 are located by imaging the cortex under control conditions. A photodetector R in between the initiations sites is chosen and the VSD signal from this detector is presented on the right traces. Right traces: In recording trials the iE2 whisker was deflected followed by cE2 deflection (diagrams on the bottom of the traces). The duration of pseudocolor movie frames in (a) is marked by blue vertical dashed lines on the traces.

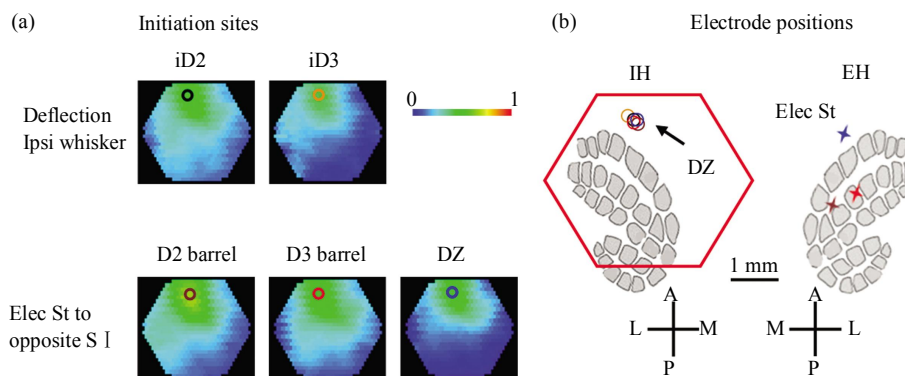


Fig. 5 Activation by ipsilateral whisker stimulus or electrical shocking opposite cortex

(a) The initiation sites of cortical activation (averaged from 10 trials) in response to ipsilateral whiskers stimuli (the top two images) and electrical stimuli to the opposite cortex (the bottom three images). The electrical stimulus is applied to the D2 barrel (brown), D3 barrel (red) or the DZ area (blue). Note that all the initiation sites of activations by these two kinds of stimuli are clustered in a small area, the DZ area. (b) The initiation sites of the data shown in (a) and electrical stimulation sites in the opposite cortex (EH) superimposed with the schematic cytoarchitectonic whisker barrel map determined by the initiation sites of contralateral activation (data not shown). The initiation sites in response to the two ipsilateral whisker stimuli are clustered outside the E barrel row (colored circles, same colors as in (a)). The crosses in EH mark the locations of electrical stimuli in opposite S I (IH, imaging hemisphere; EH, electrical stimulation hemisphere).

研究中共在 6 只大鼠上重复了这一实验. 在 6 只大鼠中, 当另一侧半球 S I 受到电刺激时, 在记录侧 S I 都可记录到兴奋反应, 且其起始位置都在 DZ 区.

3 讨 论

本研究主要探讨了 DZ 通路在双侧半球间传递胡须感觉信息的作用. 实验发现, 同侧胡须刺激首先激活另一侧半球的对应皮层表征 barrel(图 1b). 这之后通过半球间的连接, 这个神经活动被传递至成像侧 DZ 区, 并随后传播到周围的 BFC 区.

在图 2 和图 3 中, 确定同侧反应的起始位置在 DZ 区的主要依据是通过匹配对侧反应的起始位置和图谱的 barrel. 通过比较同侧反应和对侧反应的起始位置以及相应的皮层图谱, 可以发现同侧反应的起始位置与 barrel 以及 PGZ 均不在一起, 即同侧反应的起始位置在 BFC 之外. 而且, 不论刺激的胡须对应的 barrel 距离 DZ 较远(例如 E1)还是较近(例如 E3), 其同侧反应的起始位置都在 DZ.

在哺乳动物的大脑皮层中, 感觉刺激所激发的兴奋波已经被很多基于 VSD 成像的实验所报道^[2]. 例如, Ferezou 等^[23]发现这种兴奋波参与了从 S I 向运动皮层传递信息. Rubino 等^[24]发现兴奋波可能也介导猴子的各运动皮层子区之间的通讯. 这些研究都表明皮层兴奋的传播在皮层信息处理中起重要的作用. 本研究则记录到了 BFC 向 DZ 区(与刺激胡须对侧皮层)和 DZ 区向 BFC 区(与刺激胡须同侧皮层)的兴奋波的传播, 我们的实验结果显示这种兴奋波可能在胡须感觉信息的皮层间传递中起着重要作用.

在图 2a 中, 同侧反应比对侧反应慢. 这一延迟与前人基于电生理实验的结果基本一致^[2-3]. 这是因为神经活动经过胼胝体, 从一侧皮层传到另一侧皮层需要一定的时间. 这一延迟反映了成像所记录的同侧反应是来自另一侧半球的 S I. Shuler 等^[3]在其电生理研究中使用 muscimol 抑制与电生理记录侧相对侧的 S I, 从而没有再在电生理记录中记录到对于对侧胡须刺激的反应. 但是 muscimol 是否抑制了整个 S I 对于同侧胡须刺激的反应? 这一点难以用电生理记录证明. 在本研究中, 我们使用 VSD 记录整个皮层的活动. 结果表明, 在用 muscimol 抑制另一侧 S I 后, 整个记录侧的 S I 对于同侧胡须刺激的反应都被抑制了(图 4). S I 所接收的同侧胡须的信号来自另一侧的 S I.

在图 5 中, 电刺激了成像区的对侧 BFC 皮层的 D2 和 D3 barrel. 因为电刺激皮层所激发的皮层范围在 0.5 mm 左右, 所以电刺激所激活的不只有 barrel, 还有其周围的 PGZ 区. 按已知的解剖通路, 刺激 PGZ 区应该在成像侧皮层 PGZ 区出现反应, 其时间应该与 DZ 区的出现反应的时间相当. 但我们在实验中并没有观测到成像侧皮层 PGZ 的早期活动. 只观测到由 DZ 传来的兴奋波. 所以我们认为在同侧皮层 barrel 的兴奋主要是从 DZ 区传过来的, 虽然从 PGZ 区来的兴奋可能会更早些, 但是却看不到.

在引言中已经提及, 有两条连接双侧半球的解剖学通路(图 1b): 一条是通过两侧的 DZ 区(DZ 通路)的连接, 而另一条是直接通过双侧 PGZ 间的具有拓扑性质的连接(PGZ 通路). 本研究的结果显示神经活动(无论是胡须感觉信号还是电刺激所激发的皮层兴奋)主要通过 DZ 通路传导(图 2a). 实验中 PGZ 通路的活动未被检测出来的可能原因是: PGZ 通路所含有的胼胝体连接少于 DZ 通路^[6, 12-13], 因此 PGZ 通路的信号可能被 DZ 区活动的信号所覆盖; 或者 PGZ 通路本身不足以激活 BFC 皮层. 另外, PGZ 通路胼胝体投射的突触末梢主要集中在皮层的深层^[8]. 而已有的研究指出, 皮层的深层主要接收高级皮层和核团的调制性投射^[25-26]. 这一点也显示 PGZ 通路可能在跨胼胝体的胡须信息传递中起调制性作用. 在本研究中, 所记录到的同侧反应都起始于 DZ 区, 对于不同的同侧胡须并没有表现出在起始位置上的显著差异. 我们推测皮层可能通过其他方式(例如 PGZ 通路的调控)而不是反应起始位置来区分不同的同侧胡须.

实验中, 所记录到的同侧反应的起始位置表明: DZ 通路, 虽然是非直接的, 在驱动跨双侧半球间神经兴奋传递的过程中起主要的作用; 而 PGZ 通路与之相反, 则可能在这个过程中只是扮演调控者的角色, 而不是直接驱动神经兴奋的传递. 这一假说类似于 Guillery 和 Sherman 关于丘脑在皮层 - 皮层间通讯的过程中扮演中继传播者的理论^[27]. 在这一理论中, 皮层 - 皮层间通讯的主要信息是通过非直接的皮层 - 丘脑 - 皮层通路来传导的, 而直接的皮层 - 皮层连接只传递调控的信息. Innocenti 则报道了另一个两条通路连接同时存在的例子: 在其实验中, 发现了雪貂的双侧半球视觉皮层间的快速胼胝体通路和慢速胼胝体通路^[28].

同侧胡须刺激所激发的反应起始于 DZ 区这一

现象可能有利于动物区分对侧信息和同侧信息. 已有研究指出在连续两个相互时间间隔和空间间隔都很小的皮层兴奋间存在非线性作用^[29]. 因此, 在双侧胡须刺激的过程中, 如果同侧反应起始于 barrel (GZ) 周围的 PGZ 区, 则同侧信息容易与起始于 barrel (GZ) 的对侧胡须刺激所激发的反应因为非线性作用而混淆或互相干扰. 相比较而言, 在实际的大鼠 S I 中, 同侧反应起始于偏离 barrel (GZ) 的 DZ 区则可以减少同侧反应和对侧反应之间的非线性相互作用.

虽然对大鼠的双侧 S I 之间传递胡须信息的通路的研究还比较初步, 但本研究发现了同侧胡须刺激所激发的起始于 DZ 区的皮层兴奋. 这种反应为皮层处理通过胼胝体传递的同侧体感信息提供了一种机制. 其可能对增加感觉皮层处理双侧体感信息的效率和准确性起作用.

参 考 文 献

- [1] Smith R L. The ascending fiber projections from the principal sensory trigeminal nucleus in the rat. *J Comp Neurol*, 1973, **148** (15): 423-445
- [2] Wiest M C, Bentley N, Nicolelis M A. Heterogeneous integration of bilateral whisker signals by neurons in primary somatosensory cortex of awake rats. *J Neurophysiol*, 2005, **93** (5): 2966-2973
- [3] Shuler M G, Krupa D J, Nicolelis M A. Bilateral integration of whisker information in the primary somatosensory cortex of rats. *J Neurosci*, 2001, **21** (14): 5251-5261
- [4] Chapin J K, Sadeq M, Guise J L. Corticocortical connections within the primary somatosensory cortex of the rat. *J Comp Neurol*, 1987, **263** (3): 326-346
- [5] Cauller L J, Clancy B, Connors B W. Backward cortical projections to primary somatosensory cortex in rats extend long horizontal axons in layer I. *J Comp Neurol*, 1998, **390** (2): 297-310
- [6] Olavarria J, Van Sluyters R C, Killackey H P. Evidence for the complementary organization of callosal and thalamic connections within rat somatosensory cortex. *Brain Res*, 1984, **291** (2): 364-368
- [7] Hayama T, Ogawa H. Regional differences of callosal connections in the granular zones of the primary somatosensory cortex in rats. *Brain Res Bull*, 1997, **43** (3): 341-347
- [8] Koralek K A, Olavarria J, Killackey H P. Areal and laminar organization of corticocortical projections in the rat somatosensory cortex. *J Comp Neurol*, 1990, **299** (2): 133-150
- [9] White E L, DeAmicis R A. Afferent and efferent projections of the region in mouse SmL cortex which contains the posteromedial barrel subfield. *J Comp Neurol*, 1977, **175** (4): 455-482
- [10] Welker E, Hoogland P V, Van der Loos H. Organization of feedback and feedforward projections of the barrel cortex: a PHA-L study in the mouse. *Exp Brain Res*, 1988, **73** (2): 411-435
- [11] Wise S P, Jones E G. Cells of origin and terminal distribution of descending projections of the rat somatic sensory cortex. *J Comp Neurol*, 1977, **175** (2): 129-157
- [12] Akers R M, Killackey H P. Organization of corticocortical connections in the parietal cortex of the rat. *J Comp Neurol*, 1978, **181** (3): 513-537
- [13] Gould H J, 3rd, Kaas J H. The distribution of commissural terminations in somatosensory areas I and II of the grey squirrel. *J Comp Neurol*, 1981, **196** (3): 489-504
- [14] Oberlaender M, Boudewijns Z S, Kleele T, *et al.* Three-dimensional axon morphologies of individual layer 5 neurons indicate cell type-specific intracortical pathways for whisker motion and touch. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108** (10): 4188-4193
- [15] Kim U, Ebner F F. Barrels and septa: Separate circuits in rat barrel field cortex. *J Comp Neurol*, 1999, **408**: 489-505
- [16] 廖文凯, 吴建永, 耿新玲. 电压敏感染料成像技术及其在神经科学中的应用. *生物物理学报*, 2011, **27** (7): 569-587
- [17] Liao W K, Wu J Y, Geng X L. *Acta Biophys Sin*, 2011, **27** (7): 569-587
- [17] Takagaki K, Zhang C, Wu J Y, *et al.* Crossmodal propagation of sensory-evoked and spontaneous activity in the rat neocortex. *Neurosci Lett*, 2008, **431** (3): 191-196
- [18] Xu W, Huang X, Takagaki K, *et al.* Compression and reflection of visually evoked cortical waves. *Neuron*, 2007, **55** (1): 119-129
- [19] Benison A M, Rector D M, Barth D S. Hemispheric mapping of secondary somatosensory cortex in the rat. *J Neurophysiol*, 2007, **97** (1): 200-207
- [20] Prechtl J C, Cohen L B, Pesaran B, *et al.* Visual stimuli induce waves of electrical activity in turtle cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94** (14): 7621-7626
- [21] 马洪涛, 吴建永, 吴才宏. 大鼠皮层自发癫痫状活动起源的时空特征. *中国科学*, 2005, **35** (2): 138-145
- [22] Ma H T, Wu J Y, Wu C H. *Sci Chin C*, 2005, **35** (2): 138-145
- [22] Petersen C C, Grinvald A, Sakmann B. Spatiotemporal dynamics of sensory responses in layer 2/3 of rat barrel cortex measured *in vivo* by voltage-sensitive dye imaging combined with whole-cell voltage recordings and neuron reconstructions. *J Neurosci*, 2003, **23** (4): 1298-1309
- [23] Ferezou I, Haiss F, Gentet L J, *et al.* Spatiotemporal dynamics of cortical sensorimotor integration in behaving mice. *Neuron*, 2007, **56** (5): 907-923
- [24] Rubino D, Robbins K A, Hatsopoulos N G. Propagating waves mediate information transfer in the motor cortex. *Nat Neurosci*, 2006, **9** (12): 1549-1557
- [25] Deschenes M, Veinante P, Zhang Z W. The organization of corticothalamic projections: reciprocity versus parity. *Brain Res Rev*, 1998, **28** (3): 286-308
- [26] Alloway K D. Information processing streams in rodent barrel cortex: the differential functions of barrel and septal circuits. *Cereb Cortex*, 2008, **18** (5): 979-989
- [27] Guillery R W, Sherman S M. Thalamic relay functions and their role in corticocortical communication: generalizations from the visual system. *Neuron*, 2002, **33** (2): 163-175

- [28] Innocenti G M. Dynamic interactions between the cerebral hemispheres. *Exp Brain Res*, 2009, **192** (3): 417–423
- [29] Civillico E F, Contreras D. Integration of evoked responses in supragranular cortex studied with optical recordings *in vivo*. *J Neurophysiol*, 2006, **96** (1): 336–351

Transcallosal Pathway of Whisker Information Between Rat Primary Somatosensory Cortices*

WANG Zhi-Jie^{1,2)**}, GAO Xin^{1,2)}, LI Bing^{1)**}, WU Jian-Young^{3)**}

⁽¹⁾ State Key Laboratory of Brain and Cognitive Science, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

⁽²⁾ Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

⁽³⁾ Department of Physiology and Biophysics, Georgetown University Medical Center, Washington, DC 20057, USA)

Abstract It has been suggested that rodent primary somatosensory cortex (S I) can be activated by ipsilateral whisker stimulation, while S I only receives the ascending input from contralateral whiskers. Previous anatomical research revealed two transcallosal pathways transferring whisker information between bilateral cortices: perigranular zone (PGZ) pathway and dysgranular zone (DZ) pathway. But which pathway plays more important role in transferring whisker information remains unknown. We used voltage-sensitive dye (VSD) imaging to visualize the S I activation by stimulating whiskers. We found that the contralateral whisker stimulation first activates the barrel (granular zone, GZ), then the activity forms a propagating wave and spread to the DZ outside the sub-barrel field cortex (BFC). In contrast, ipsilateral whisker stimulation first activates the DZ outside the BFC. The evoked activity in the DZ forms a propagating wave and spreads into the BFC in S I . Inactivating opposite cortex blocks this ipsilateral whisker activation. Electrical stimulus to opposite cortex also first evokes DZ in the imaging cortex. Our results suggested that whisker stimulation first activated the barrel and then DZ in the opposite S I . After a delay of transcallosal transfer, the DZ of the other hemisphere (ipsilateral to the whisker being stimulated) was activated. The callosal fibers connecting the DZs on the two hemispheres play a major role in the S I activation by the ipsilateral whisker stimulation.

Key words voltage-sensitive dye imaging, ipsilateral whisker stimulation, somatosensory cortex, inactivating cortex, cortical electrical stimulus

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00103

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2005CB724301), Hi-Tech Research and Development Program of China (2007AA02Z313), The National Natural Science Foundation of China (90408020), Key Innovation Project of Chinese Academy of Sciences (KSCX1-YW-R-32) and NIH R-01NS59034 (to JYW).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-64889883, E-mail: wangzhijiegg@163.com

Received: February 28, 2012 Accepted: March 30, 2012