

小鼠初级听皮质神经元的强度 调谐特性与机制分析*

齐巧珍 侣文娟 罗峰** 王欣**

(华中师范大学生命科学学院, 遗传调控与整合生物学湖北省重点实验室, 武汉 430079)

摘要 强度是声音的基本参数之一, 听神经元的强度调谐在听觉信息处理方面具有重要意义. 以往研究发现 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能抑制性输入在强度调谐的形成过程中起重要作用, 但对抑制性输入与局部神经回路之间的关系并不清楚. 本实验通过在体细胞外电生理记录和神经药理学方法, 分析了小鼠初级听皮质神经元的强度调谐特性, 结果显示: 单调型神经元在声刺激强度自中等强度增高时潜伏期缩短($P < 0.05$)且发放持续时间延长($P < 0.05$), 非单调型神经元在声刺激强度自最佳强度增高时潜伏期不变且发放持续时间缩短($P < 0.01$). 注射 GABA 能阻断剂荷包牡丹碱(bicuculline, Bic)后, 39.3%的神经元强度调谐类型不变, 42.9%的神经元非单调性减弱, 17.9%的神经元非单调性增强. 表明 GABA 能抑制并非形成非单调性的唯一因素, 兴奋性输入本身的非单调性和高阈值非 GABA 能抑制的激活也可能在其中发挥作用. 推测由兴奋性和抑制性输入所构成的局部神经功能回路及其整合决定了听皮质神经元的强度调谐特性.

关键词 强度调谐, 发放持续时间, 潜伏期, 抑制性输入, 听皮质, 小鼠

学科分类号 Q6, R338

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00317

强度是声音的基本物理特征之一. 声音所包含的生物学信息体现在声强(intensity)随时间的变化之中. 强度调谐(intensity-tuning)是指神经元对不同强度的声刺激信号反应不同, 其对声强编码、复杂声分析、声源定位、提高信噪比等听觉信息处理都具有重要意义^[1-5]. 研究表明, 神经元对声强反应的放电率函数主要有两种类型: 单调型(monotonic), 神经元的放电率随声强增加而增加, 或增加到一定水平后趋于稳定; 非单调型(non-monotonic), 神经元的放电率随声强增加而增加到一定水平后明显下降^[6]. 非单调型的放电率-强度函数(rate-intensity function, RIF)表现出强度选择性, 被认为是神经元完成强度编码的可能机制, 与峰值相对应的强度被称为该神经元的最佳强度, 具不同最佳强度的神经元在听觉核团的分布可能为声音强度的位置编码提供支持依据.

神经电生理研究已证实, 在哺乳动物的耳蜗核(cochlear nuclei, CN)^[7]、上橄榄核(superior olive

complex, SOC)^[8]、下丘(inferior colliculus, IC)^[9-10]、内膝体(medial geniculate body, MGB)^[11]和听皮质(auditory cortex, AC)^[5]都存在对声信号强度具有选择性的神经元, 但迄今为止未发现与之相关的拓扑结构^[12]. 有关听中枢神经元强度选择性(intensity selectivity)形成的机制, 目前并不十分明了. 一般认为, 强度选择性的形成是神经元突触水平时相整合(temporal integration)的结果, 抑制性输入在其中起关键作用^[13-15]. 由于强度选择性可以随声刺激其他参数的改变而发生动态变化, 什么样的神经元具有真正意义上的强度选择性, 决定强度选择性的抑

* 国家自然科学基金(31000493), 华中师范大学自主科研青年项目博士基金(11A01025)和遗传调控与整合生物学湖北省重点实验室基金资助项目.

** 通讯联系人. Tel: 18971617317

E-mail: xueyue312@yahoo.com.cn, fluocn@gmail.com

收稿日期: 2012-06-26, 接受日期: 2012-10-22

制性输入来自何方? 这些问题尚不清楚, 采用不同实验方法以及在不同实验动物上所得的结论也不尽一致. 近年来, 在体全细胞电压钳研究发现, 非单调型神经元的抑制性突触后电位与兴奋性突触后电位的间隔在高强度声刺激下变短, 或抑制性突触后电位幅度在高强度声刺激下不均衡地增强, 均造成膜电位去极化水平减弱, 从而使发放数减少^[16]. 上述改变主要取决于抑制性输入的来源及时相特征, 然而其局部神经回路的联系方式和递质作用尚未见报道.

本研究采用不同强度的纯音作为探测声, 结合神经药理学方法, 观察初级听皮质(primary auditory cortex, AI)神经元在强度调谐过程中神经冲动发生的变化, 探讨神经元接受的抑制性输入来源、类型及其在强度调谐中的作用, 推导其所处的神经回路模型. 研究结果可阐释哺乳动物听神经元的强度调谐特性, 为探讨其内在神经机制提供证据.

1 材料和方法

1.1 动物手术及固定

选用健康、听力正常的昆明小鼠(*Mus musculus*, Km)11只, 体重20~25 g, 雌雄不拘. 用戊巴比妥钠(nembutal 60~90 mg/kg b. w.)腹腔注射麻醉. 头顶正中切开头皮, 除去表面的薄层肌肉及结缔组织, 暴露头顶颅骨, 并用95%酒精棉球擦拭, 使颅骨表面脱脂. 将1.8 cm长的平头铁钉用强力胶固定在颅顶, 用牙科水泥加固, 以便实验中固定动物. 用利针于AI所在位置将颅骨穿一个直径200~500 μm 的小孔, 并挑破脑膜, 以便插入玻璃微电极. 上述操作完成后, 将动物安放于无回声屏蔽室内的防震实验台, 动物头部的铁钉被固定在自制的支架上, 以防止头部移动, 保持动物耳眼线与扬声器中心处于同一平面. 屏蔽室内本底噪声29 dB SPL, 温度控制在25~28℃. 实验过程中根据动物反应用小儿头皮注射针经腹腔补注0.6%戊巴比妥钠溶液, 维持于浅麻醉状态.

1.2 声刺激系统及给声模式

自由声场条件下给出40 ms的短纯音(tone burst), 喇叭固定在俯仰方位角0°平面、经向方位角测试侧的对侧60°. 声刺激系统包括函数信号发生器(GFG-8016G, Good Will Instrument Co., LTD)、短声发生器(自制)、声强衰减器(LAT-45, LEADER, Japan)、高频功率放大器(自制)和超声喇叭(AKG model CK50, 直径1.5 cm, 频率响应

1~100 kHz). 实验前声刺激系统用声级计(B&K-2610, Denmark)和1/4英寸传声器(4139, B&K)校正, 声强用dB SPL表示(0 dB SPL相当于20 μPa). 纯音强度从阈值开始按10 dB递增, 时程为40 ms, 声刺激上升/下降时间均为5 ms, 刺激频率1次/s. 文中高强度即发声系统不衰减声强时给出的最大声强. 单调型神经元的中等强度为阈上20 dB, 因非单调型神经元的最佳强度平均为阈上19.7 dB, 两者可相互比较, 低强度即引起神经元动作电位的最小阈值(minimum threshold, MT).

1.3 皮层神经元声反应的记录及给药方法

玻璃微电极由单管电极和三管电极组装而成, 单管电极内充灌2 mol/L NaCl溶液, 阻抗5~10 M Ω , 用于记录神经反应, 三管电极中的两管内充灌2 mol/L NaCl溶液, 分别用于电流平衡和接地, 另一管内充灌10 mmol 荷包牡丹碱(bicuculline, Bic)溶液, 用于药物离子电泳注射. 电极从AI表面垂直推进, 用纯音寻找声敏神经元, 神经元的反应由玻璃微电极引出, 经生物电信号放大器(ISO-DAM, WPI, USA)放大后输至示波器(PM3084, FLUKE, USA)监视, 至监听装置监听和至计算机采样储存. 记录AI声敏神经元的深度(depth)、最佳频率(best frequency, BF)和最小阈值(MT), 通过多点记录神经元声反应的BF确定电极位于AI. 同一声刺激重复32次, 其诱导的神经元发放处理成“刺激-时间直方图”(peri-stimulus time histogram, PSTH). BF声刺激下, 以10 dB幅度递增声强, 得出RIF. 然后, 将与三管电极相连的离子电泳仪(WPI, USA)的滞留电流(-10 nA)转为注射电流(10~100 nA), 电泳注入 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能受体阻断剂Bic, 观察注药后神经元反应的变化, 并与注药前比较.

1.4 数据统计与分析

根据32次刺激后神经元反应的PSTHs, 获得神经元的发放数(spike count, SC)、首次发放潜伏期(first spike latency, FSL)、发放持续时间(firing duration, FD)(从第一个动作电位开始到最后一个动作电位结束之间的时程)、RIF等参数, 根据RIF分析确定AI神经元的强度调谐类型. 数据统计与分析由软件SPSS 13.0完成, 所有图均使用软件Sigmaplot 10.0制作. 经统计分析后的数据结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并用One-way ANOVA和t-test比较变化是否具有显著性差异.

2 结 果

实验共获得 83 个 AI 神经元. 这些神经元的深度范围为 $156 \sim 1\,338$ (764.5 ± 25.9) μm ; BF 范围为 $5.7 \sim 34.6$ (17.0 ± 0.5) kHz; MT 范围为 $22.7 \sim 72.6$ (50.7 ± 1.2) dB SPL. 其中 28 个神经元进行了 Bic 离子电泳并再次测定 RIF.

2.1 小鼠 AI 神经元的强度调谐类型

40 ms 的 BF 声刺激下, 逐步增大刺激强度, 小鼠 AI 神经元的诱发放电数出现明显改变, 表现出不同的强度调谐特性. 参照前人及本室先前的标准^[17-18], 声强增加时发放数持续增加、不变或下降 $< 25\%$ 为单调型 RIF; 声强增加时发放数下降 $\geq 25\%$ 为非单调型 RIF. 测定了 72 个 AI 神经元的 RIF, 其中 28 个神经元表现为单调型 RIF, 44 个神经元表现为非单调型 RIF. 两类神经元的 BF、depth、FSL 和 FD 均未见差异, 但单调型神经元的 MT 显著高于非单调型神经元的 MT ($t=2.67$, $P < 0.05$, 表 1). 声刺激强度从 MT 升高的过程中, 两类神经元 FSL、FD、SC 的变化趋势如图 1 所示.

2.2 单调型与非单调型神经元在不同声刺激强度下反应特性的比较

28 个单调型神经元的中等强度定为 MT + 20 dB, 以便与非单调型神经元的最佳强度进行对照(最佳强度平均为 MT + 19.7 dB). 单调型神经元在相当于 MT 的低强度、中等强度、高强度 3 种声刺激下的 FSL 和 FD 如图 2a 所示. 声强增高时单调型神经元的 FSL 逐渐缩短, FD 逐渐延长.

44 个非单调型神经元最佳强度的范围为 $42.6 \sim 91.3$ (66.2 ± 1.8) dB SPL. 非单调型神经元在低强度、最佳强度、高强度 3 种声刺激下的 FSL 和 FD 如图 2b 所示, 声强增高时非单调型神经元的 FSL 先缩短($t = 3.65$, $P < 0.001$)再不变, FD 则有先延长($t = 5.35$, $P < 0.001$)再缩短($t = 3.08$, $P < 0.01$)的趋势.

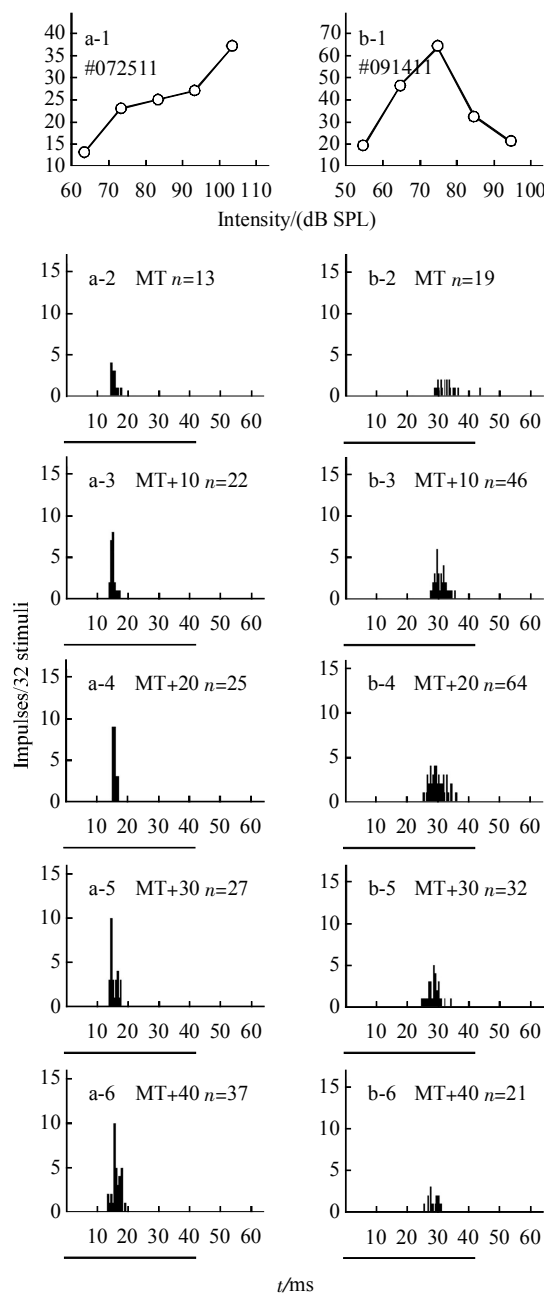


Fig. 1 Two representative neurons showing monotonic (a-1) and non-monotonic responses (b-1). a-2~a-6 and b-2~b-6 were the corresponding PSTHs at different sound intensity

The BF_s (kHz), MT_s (dB SPL) and recording depths (μm) of these neurons are 14.5, 63.4, 774 (a); 14.5, 54.7, 716 (b) respectively. n is spike number.

Table 1 Response properties of AI neurons

	BF/kHz	MT/dB SPL	Depth/ μm	FSL/ms	FD/ms
Monotonic neurons ($n=28$)	16.7 ± 0.8	$57.7 \pm 1.6^*$	730.4 ± 43.6	27.3 ± 2.5	9.2 ± 1.0
Non-monotonic neurons ($n=44$)	17.7 ± 0.8	$46.7 \pm 1.8^*$	754.9 ± 35.4	27.3 ± 1.9	7.9 ± 0.6

* $P < 0.05$, t -test.

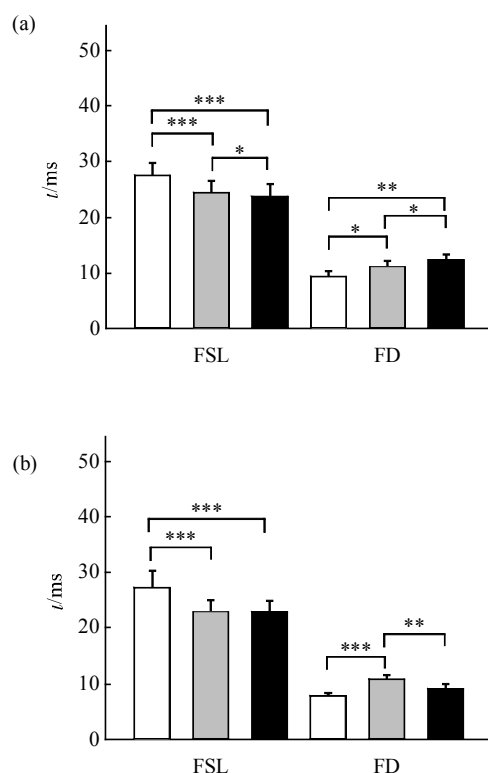


Fig. 2 Comparison of first spike latency (FSL) and firing duration (FD) at different intensity in monotonic (a) and non-monotonic neurons (b)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. □: Low intensity (LI); ▒: Moderate intensity (MI); ■: High intensity (HI).

为进一步分析抑制性输入的来源,以FD中点为准,计算两类神经元在声强上升时FD前半部分和后半部分的改变(图3)。以单调型神经元中等强度下发放持续时间中点为准,将高强度下的发放持续时间分为前后两部分,前部分减去中等强度下前半部分的值为前半部分的改变,后部分减去中等强度下后半部分的值为后半部分的改变。声强自中等强度上升时,60.7% (17/28)的单调型神经元FD前半部分延长,60.7% (17/28)的单调型神经元为FD后半部分延长,两者有正相关性。42.9% (12/28)的神经元表现出FD前后都延长。以非单调型神经元最佳强度下发放持续时间中点为准,将高强度下的发放持续时间分为前后两部分,前部分减去最佳强度下前半部分的值为前半部分的改变,后部分减去最佳强度下后半部分的值为后半部分的改变。声强自最佳强度上升时,47.7% (21/44)的非单调型

神经元FD前半部分缩短,68.2% (30/44)的非单调型神经元FD后半部分缩短,两者有负相关性,仅20.5% (9/44)的神经元表现出FD前后都缩短。

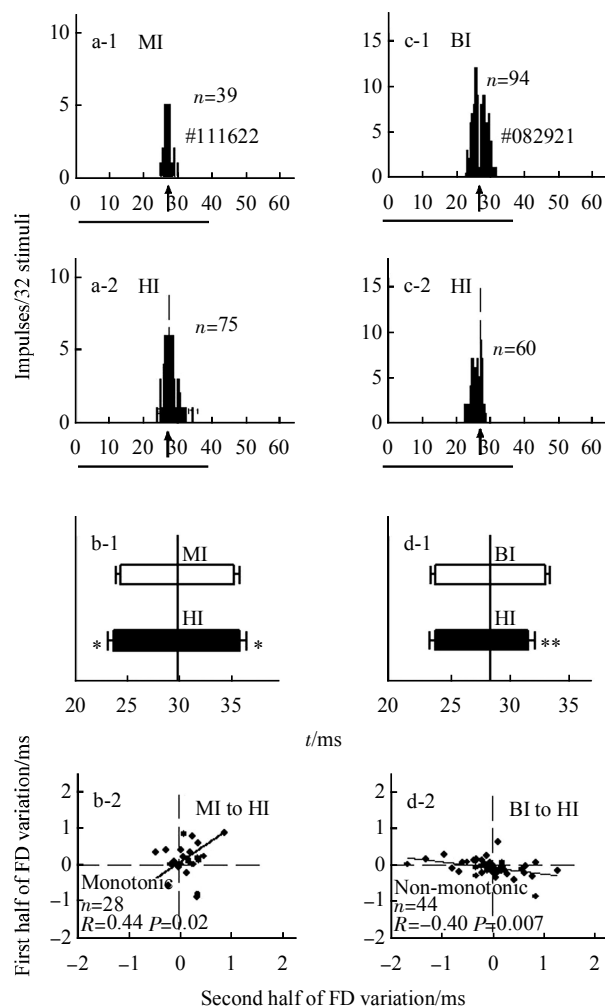


Fig. 3 Changes of FD at different intensity in monotonic (a) and non-monotonic (b) neurons

a: PSTH of a respective monotonic AI neuron at MI (a-1) and HI (a-2). b: Average of FD in 28 monotonic AI neurons at MI and HI (b-1), first and second half of FD variation of monotonic neurons determined in MI to HI sound stimulation (b-2). c: PSTH of a respective non-monotonic AI neuron at BI (c-1) and HI (c-2). d: Average of FD in 44 non-monotonic AI neurons at BI and HI (d-1), first and second half of FD variation of non-monotonic neurons determined in BI to HI sound stimulation (d-2). The arrows in a-1, 2 and b-1, 2 show the FD midpoint at BI or MI, n is spike number.

2.3 Bic 对 AI 神经元强度选择性的影响

对 28 个 AI 神经元电导入 GABA_A 受体阻断剂 Bic, 观察解除 GABA 能抑制后 AI 神经元的反

应. 这些神经元强度调谐类型的变化如表 2 所示, 39.3% (11/28) 的神经元强度调谐类型不变; 42.9% (12/28) 的神经元由非单调神经元转变为单调型神

经元, 表现为非单调性减弱; 17.9% (5/28) 的神经元由单调型神经元转变为非单调型神经元, 表现为非单调性增强. 3 种趋势的代表性神经元如图 4 所

Table 2 Changes of AI neurons intensity tuning after application of bicuculline

After Bic	Before Bic	
	Monotonic neurons (n=8)	Non-monotonic neurons (n=20)
Monotonic neurons (n=15)	3	12
Non-monotonic neurons (n=13)	5	8

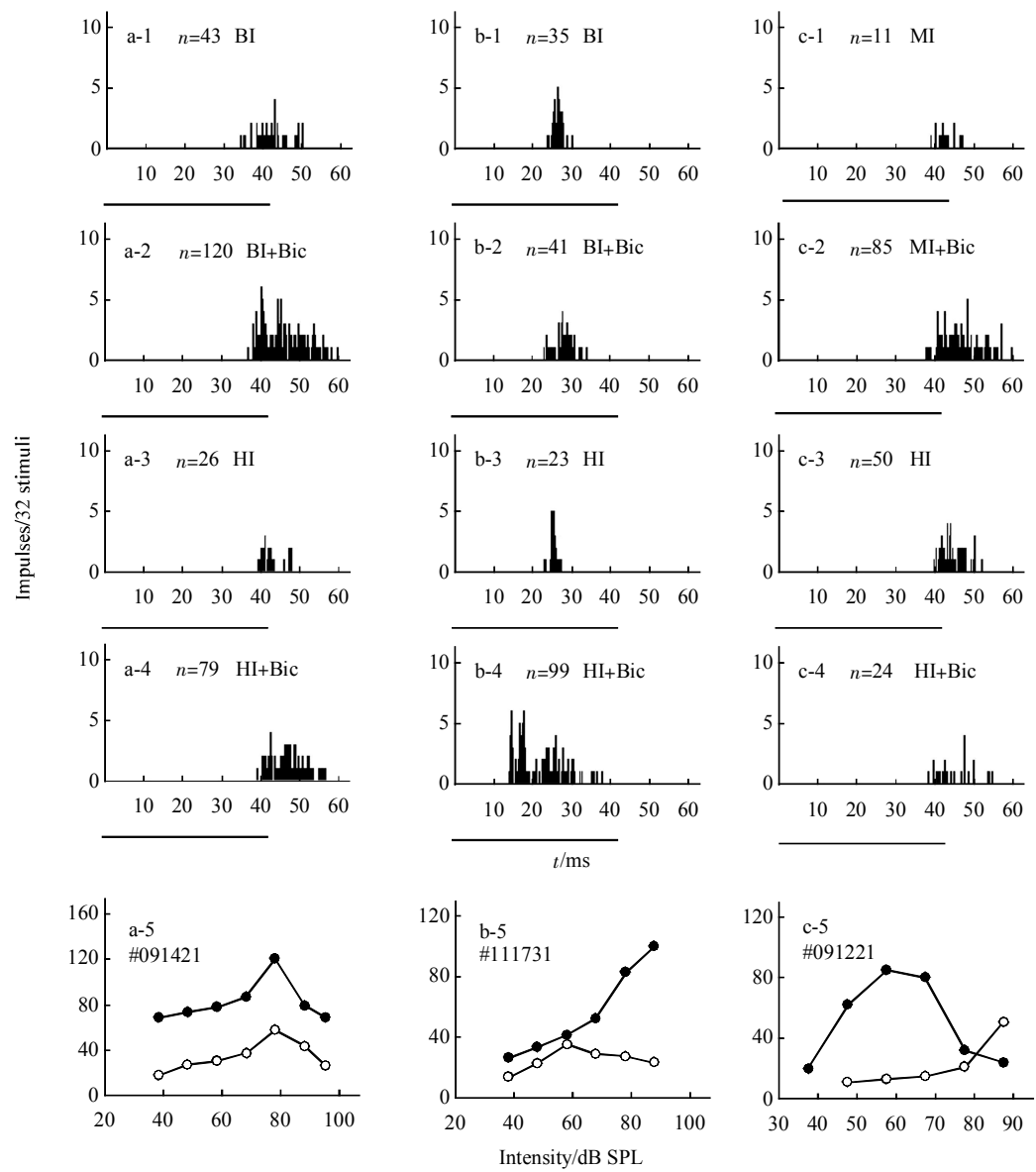


Fig. 4 Three representative neurons showing effects of bicuculline on intensity tuning of AI neurons

a: PSTHs of an AI neuron which is non-monotonic before and after Bic application (a-1 ~ a-4), and RIF of this neuron before and after Bic application (a-5). b: PSTHs of an AI neuron which is non-monotonic turns to monotonic after Bic application (b-1 ~ b-4), and RIF of this neuron before and after Bic application (b-5). c: PSTHs of an AI neuron which is monotonic turns to non-monotonic after Bic application (c-1 ~ c-4), and RIF of this neuron before and after Bic application (c-5). The BFs (kHz), MTs (dB SPL) and recording depths (μm) of these neurons are 13.5, 38.5, 1038(a); 15, 45.6, 748 (b); 18.3, 63.4, 952 (c) respectively. n is spike number. $\circ-\circ$: Con; $\bullet-\bullet$: Bic.

示. 强度调谐类型不变的神经元微电泳 Bic 后, 各强度声刺激下的发放数普遍上升. 非单调性减弱的神经元微电泳 Bic 后, 高强度声刺激下的发放数显著上升. 非单调性增强的神经元微电泳 Bic 后, 中等强度声刺激下的发放数显著上升, 高强度声刺激下的发放数有减少的趋势.

20 个非单调型神经元微电泳 Bic 后, 8 个神经元的非单调性不变, 12 个神经元的非单调性减弱. 统计发现: 微电泳 Bic 后非单调性不变的神经元, FSL 在不同声刺激状态下无显著差异, FD 在不同声刺激状态下有显著差异(One-way ANOVA, $P < 0.001$), FD 在最佳强度声刺激下为(10.21 ± 0.45) ms, 在高强度声刺激下缩短至(7.76 ± 0.49) ms, 微电泳 Bic 后最佳强度声刺激下延长至(22.77 ± 0.73) ms, 在高强度声刺激下缩短至(18.48 ± 0.84) ms. 微电泳 Bic 后单调性减弱的神经元, FSL 仅在微电泳 Bic 后声刺激强度从最佳强度上升到高强度时缩短($t = 3.14$, $P < 0.01$), FD 在不同声刺激状态下有显著差异(One-way ANOVA, $P < 0.001$), FD 在最佳强度声刺激下为(13.33 ± 0.62) ms, 在高强度声刺激下缩短至(10.93 ± 0.65) ms, 微电泳 Bic 后最佳强度声刺激下延长至(17.97 ± 0.77) ms, 在高强度声刺激下继续延长至(22.62 ± 0.69) ms.

3 讨 论

3.1 AI 神经元的强度调谐特性

本实验共获得 72 个 AI 神经元的 RIF, 其中 38.9% (28/72) 为单调型, 61.1% (44/72) 为非单调型. 与前人及本实验室先前所做 IC 神经元反应特性相比, AI 中非单调型神经元所占比例明显较高^[18-19]. 非单调性的形成被认为是抑制性输入的调制结果, AI 中非单调型 RIF 比例较高可能与 AI 中存在较多的抑制性输入有关^[20]. 以往实验亦发现, AI 神经元与 IC 神经元相比, 声脉冲跟随率较低、反应动力学范围(dynamic range, DR)较窄, 这些特性亦被认为与 AI 中的抑制性输入有关^[14], 抑制性输入在 AI 神经元对声信息的特征检测中起重要作用, 作为听觉高位中枢的 AI 侧重于信息筛选而非直接传递^[21-23].

神经解剖学和药理学研究证明, AI 中的抑制性递质主要是 GABA, 且接受来自 AI 的局部抑制性神经元支配, 未见直接接受来自其他皮质区或皮质下的长程抑制性支配^[20, 24]. 本实验注射 GABA 能抑制剂 Bic 后, 非单调型神经元发放数明显增加,

其中 60% (12/20) 非单调性减弱, 40% (8/20) 非单调性仍保持. 可见 GABA 能抑制参与了 AI 神经元非单调性的形成, 但并非决定 AI 神经元非单调性的唯一原因. 低位中枢兴奋性输入的非单调性可能是部分神经元微电泳 Bic 后保持非单调性的原因, 其他抑制性递质也可能参与非单调性的形成^[20].

以往实验显示, 大鼠 AI 存在平衡抑制和非平衡抑制. 平衡抑制指兴奋性和抑制性输入的相对时间和强度是稳定的, 非平衡抑制指神经元的抑制性与兴奋性输入之间的间隔随着声强增加而减小, 或随着声强增加抑制性输入相对增强. 其中, 非平衡抑制是产生和加强神经元非单调性的主要原因^[13, 16]. 本实验中, 单调型神经元的 GABA 能抑制被 Bic 解除时, 神经元可能出现新的平衡抑制(保持单调型), 或非平衡抑制(向非单调型转变). 非单调型神经元的 GABA 能抑制被 Bic 解除时, 神经元可能出现新的平衡抑制(向单调型转变), 或非平衡抑制(保持非单调型). 这些转变无法通过原有神经通路上的整合完成, 必然激活新的神经通路, 高阈值神经元很可能在此发挥作用.

3.2 兴奋与抑制性输入的相关性分析

以往研究多以神经冲动的发放数(spike count, SC)或发放率(spike rate, SR)作为中枢听神经元反应的指标. 近年来, 动作电位的发放时间, 尤其是 FSL 在某些方面被证实是比 SC 更好的反应指标^[25-27]. 脑片实验结果证明, 在同样的刺激条件下多次刺激所导致的神经元 FSL 很稳定, 神经元对声音信息的编码可依赖于 FSL 的精确性^[28]. 本实验中, FSL 在声信号的强度编码表现出显著的规律性, 单调型神经元的 FSL 在声强自中等强度上升时缩短($t = 2.92$, $P < 0.01$), 非单调型神经元的 FSL 在声强自最佳强度上升时不变($t = 0.03$, $P > 0.05$), 这种规律在微电泳 Bic 后依然存在. FSL 主要受上行传入性兴奋的影响, 推测声强增高时上行传入性兴奋加强, 使单调型神经元的 FSL 缩短^[29]. 非单调型神经元的 FSL 在声强自低强度上升至最佳强度时缩短($t = 4.26$, $P < 0.001$), 自最佳强度上升时不变($t = 0.07$, $P > 0.05$), 推测上行传入性兴奋在最佳强度达到饱和.

FD 的变化反映出兴奋性或抑制性输入的到达时间和整合结果, 可推测兴奋性或抑制性输入的来源^[21, 29-30]. 本实验中, FD 与 SC 表现出显著的相关性, 单调型神经元的 FD 在声强自中等强度上升时延长($t = 2.17$, $P < 0.05$), 非单调型神经元的 FD 在声

强自最佳强度上升时缩短($t=3.08$, $P<0.01$), 这种规律在微电泳 Bic 后依然存在. 推测 AI 神经元通过抑制性输入调控 FD, 从而改变 SC 并对不同声信号强度进行识别. 为进一步分析抑制性输入的来源, 以 FD 中点为准, 计算 FD 前半部分和后半部分的改变(图 3). 声强自中等强度上升时, 60.7%的单调型神经元 FD 前半部分延伸, 为上行传入性兴奋增加; 60.7%的单调型神经元为 FD 后半部分延伸, 为上行传入性兴奋延长或反馈性兴奋增加; 两者有正相关性, 推测上行传入性兴奋增加时, 反馈性兴奋增加. 声强自最佳强度上升时, 47.7%的非单调型神经元 FD 前半部分缩短, 为上行传入性抑制增加; 68.2%的非单调型神经元 FD 后半部分缩短, 为上行传入性抑制延长或反馈性抑制增加; 两者有负相关性, 推测上行传入性抑制增加时, 反馈性抑制减弱. 假如抑制性输入仅存在于上行传入通路, 微电泳 Bic 后神经元将不再接受新的抑制性输入, 应表现为非单调性的减弱或消失, 而本实验中 17.9% (5/28) 的神经元微电泳 Bic 后出现非单调性增强, 推测有高阈值非 GABA 能抑制存在于反馈通路上.

3.3 强度调谐的形成原因

迄今尚未发现与强度调谐相关的拓扑组构, 强度调谐被认为是神经元上兴奋性与抑制性输入实时整合的结果^[12, 31-32]. 声强增高时听神经元接受的兴奋性输入增加是强度编码的基础, 而抑制性输入的时相整合则是形成强度选择性的成因^[13, 20]. 解剖学研究显示, 丘脑向 AI 的投射主要为谷氨酸或天冬氨酸介导的上行传入性兴奋^[33], AI 神经元还接受来自 AI 内部的抑制或兴奋, 这些 AI 内部的抑制或兴奋可能为传入也可能为反馈^[20, 34]. 本实验试图通过 AI 神经元在不同刺激条件下的反应参数改变推测强度调谐的机制, 通过简化的神经回路模型推测听皮质强度选择性的形成.

单调型神经元微电泳 Bic 后神经元发放数在各强度声刺激下普遍增加, 推测 GABA 能神经元位于其上行通路且阈值较低, 声刺激强度达到阈值时就已经被激活, 故在阈上强度声信息编码中不表现出明显差异. 单调型神经元的 MT 较高(表 1), 符合上行通路存在低阈值抑制的假设. 微电泳 Bic 后保持单调性的单调型神经元, 微电泳 Bic 后声强从中等强度上升到高强度时 FD 后半部分明显延长, 推测有兴奋性神经元位于其反馈回路. 微电泳 Bic 后表现非单调性的单调型神经元, 微电泳 Bic 后声

强从最佳强度上升到高强度时 FD 后半部分明显缩短, 推测其反馈通路上存在高阈值非 GABA 能抑制性神经元, 微电泳 Bic 前的低兴奋状态下不激活该抑制性输入, 微电泳 Bic 后高声强激活的高兴奋状态下激活了该抑制性输入(图 5).

非单调型神经元的阈值较低, 当声强自最佳强度上升其 FD 缩短($t=3.08$, $P<0.01$). 推测其神经通路上 GABA 能神经元阈值较高, 在高强度声刺激下被激活, 导致神经元 FD 缩短、SC 减少. 60%的非单调型神经元的非单调性可由 Bic 减弱, 推测 GABA 能抑制在其强度选择性形成中占主导地位. 声强自最佳强度上升到高强度时, 47.7%非单调型神经元的 FD 前半部分缩短, 68.2%非单调型神经元的 FD 后半部分缩短, 推测 GABA 能既可能存在于上行传入通路也可能存在于反馈通路上. 40%非单调型神经元的非单调性不可由 Bic 解除, 且微电泳 Bic 后声强自最佳强度上升到高强度时, FD 的后半部分缩短, 推测可能有其他递质介导的反馈性抑制参与强度调谐. 这些神经元微电泳 Bic 后神经元发放数呈增加趋势, 说明同时接受高阈值的 GABA 能神经元投射(图 5).

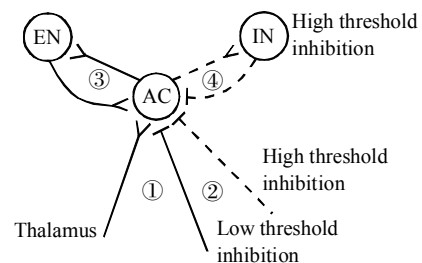


Fig. 5 A postulated model explaining the mechanism of intensity tuning in AI neurons

Monotonic RIF may remain the monotonicity after application of Bic if there is low threshold GABAergic inhibition in the ascending input (①) and/or excitatory neuron in the descending feedback (③). Non-monotonic RIF may remain the non-monotonicity if high threshold non-GABAergic inhibition in the descending feedback (④). Monotonic RIF may turn to non-monotonic after application of Bic if there is high threshold non-GABAergic inhibition in the descending feedback (④) which excited when GABAergic inhibition was removed. Non-monotonic RIF may turn to monotonic RIF after Bic application if there is high threshold GABAergic inhibition in the ascending input (②) and/or descending feedback (④). The dotted lines show the circuits which relate to non-monotonicity. EN: Excitatory neuron, IN: Inhibitory neuron.

参 考 文 献

- [1] Phillips D P, Carr M M. Disturbances of loudness perception. *J Am Acad Audiol*, 1998, **9**(5): 371–379
- [2] Sutter M L, Schreiner C E. Topography of intensity tuning in cat primary auditory cortex: single-neuron versus multiple-neuron recordings. *J Neurophysiol*, 1995, **73**(1): 190–204
- [3] Phillips D P. Neural representation of sound amplitude in the auditory cortex: effects of noise masking. *Behav Brain Res*, 1990, **37**(3): 197–214
- [4] Phillips D P, Semple M N, Calford M B, *et al.* Level-dependent representation of stimulus frequency in cat primary auditory cortex. *Exp Brain Res*, 1994, **102**(2): 210–226
- [5] Phillips D P, Semple M N, Kitzes L M. Factors shaping the tone level sensitivity of single neurons in posterior field of cat auditory cortex. *J Neurophysiol*, 1995, **73**(2): 674–686
- [6] Irvine D R, Gago G. Binaural interaction in high-frequency neurons in inferior colliculus of the cat: effects of variations in sound pressure level on sensitivity to interaural intensity differences. *J Neurophysiol*, 1990, **63**(3): 570–591
- [7] Young E D, Brownell W E. Response to tones and noise of single cells in dorsal cochlear nucleus of unanesthetized cats. *J Neurophysiol*, 1976, **39**(2): 282–300
- [8] Grothe B. Interaction of excitation and inhibition in processing of pure tone and amplitude-modulated stimuli in the medial superior olive of the mustached bat. *J Neurophysiol*, 1994, **71**(2): 706–721
- [9] Aitkin L. Rate-level functions of neurons in the inferior colliculus of cats measured with the use of free-field sound stimuli. *J Neurophysiol*, 1991, **65**(2): 383–392
- [10] Kuwabara N, Suga N. Delay lines and amplitude selectivity are created in subthalamic auditory nuclei: the brachium of the inferior colliculus of the mustached bat. *J Neurophysiol*, 1993, **69**(5): 1713–1724
- [11] Rouiller E, Ribaupierre Y, Morel A, *et al.* Intensity functions of single unit responses to tone in the medial geniculate body of cat. *Hear Res*, 1983, **11**(2): 235–247
- [12] Sharba B, Shihab A S, Patrick O K. Dichotomy of functional organization in the mouse auditory cortex. *Nature Neuroscience*, 2010, **13**(3): 361–368
- [13] Wu G K, Li P, Tao H W, *et al.* Nonmonotonic synaptic excitation and imbalanced inhibition underlying cortical intensity tuning. *Neuron*, 2006, **52**(4): 705–715
- [14] Chen Q C, Philip H S J. Bicuculline application affects discharge patterns, rate-intensity functions, and frequency tuning characteristics of bat auditory cortical neurons. *Hear Res*, 2000, **150**(1–2): 161–174
- [15] Andrew K, Ellen C. Functional role of GABAergic and glycinergic inhibition in the intermediate nucleus of the lateral lemniscus of the big brown bat. *J Neurophysiol*, 2009, **101**(6): 3135–3146
- [16] Tan A Y Y, Atencio C A, Polley D B, *et al.* Unbalanced synaptic inhibition can create intensity-tuning auditory cortex neurons. *Neuroscience*, 2007, **146**(1): 449–462
- [17] Zhou X, Jen P H. The effect of sound duration on rate-amplitude functions of inferior collicular neurons in the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *Hear Res*, 2002, **166**(1–2): 124–35
- [18] Tang J, Wu F J, Wang D, *et al.* The amplitude sensitivity of mouse inferior collicular neurons in the presence of weak noise. *Chin J Physiol*, 2007, **50**(4): 187–198
- [19] Pfingst B E, Oconnor T A. Characteristics of neurons in auditory cortex of monkeys performing a simple auditory task. *J Neurophysiol*, 1981, **45**(1): 16–34
- [20] Wu G K, Huizhong W T, Li I Z. From elementary synaptic circuits to information processing in primary auditory cortex. *Neurosci Biobehav R*, 2011, **35**(10): 2094–2104
- [21] Wang X, Lu T, Snider R K, *et al.* Sustained firing in auditory cortex evoked by preferred stimuli. *Nature*, 2005, **435**(7040): 341–346
- [22] Wang X, Li A A, Wu F J. Perception and selectivity of sound duration in the central auditory midbrain. *Acta Physiologica Sinica*, 2010, **62**(4): 309–316
- [23] Peng Y, Sun X, Zhang J. Contextual modulation of frequency tuning of neurons in the rat auditory cortex. *Neuroscience*, 2010, **169**(3): 1403–1413
- [24] Wang J, Mcfadden S L, Caspary D, *et al.* Gamma-aminobutyric acid circuits shape response properties of auditory cortex neurons. *Brain Res*, 2002, **944**(1–2): 219–231
- [25] Heil P. First-spike latency of auditory neurons revisited. *Curr Opin Neurol*, 2004, **14**(4): 461–467
- [26] Guyonneau R, VanRullen R, Thorpe S J. Neurons tune to the ear-liest spikes through STDP. *Neural Comput*, 2005, **17**(4): 859–879
- [27] VanRullen R, Guyonneau R, Thorpe S J. Spike times make sense. *Trends in Neurosciences*, 2005, **28**(1): 1–4
- [28] Fricker D, Miles R. EPSP amplification and the precision of spike timing in hippocampal neurons. *Neuron*, 2000, **28**(2): 559–569
- [29] Tang J, Xiao Z J, Shen J X. Delayed inhibition creates amplitude tuning of mouse inferior collicular neurons. *Neuroreport*, 2008, **19**(15): 1445–1449
- [30] Masatoshi K, Munenori O, Harunori O. Distinct neural firing mechanisms to tonal stimuli offset in the inferior colliculus of mice *in vivo*. *Neurosci Res*, 2012, **73**(3): 224–237
- [31] Wu F J, Chen Q C, Jen P H S. Effect of inhibition spectral integration on acoustic intensity sensitivity of neurons in the inferior colliculus of the big brown bat *Eptesicus fuscus*. *Acta Zoologica Sinica*, 2004, **50**(3): 380–387
- [32] Sivaram S S, Sterbing D S J, Filipovic B, *et al.* GABAA synapses shape neuronal responses to sound intensity in the inferior colliculus. *J Neurosci*, 2004, **24**(21): 5031–5034
- [33] Takeuchi A. The transmitter role of glutamate in nervous systems. *Jpn J Physiol*, 1987, **37**(4): 559–572
- [34] Pollak G D, Burger R M, Achim K. Dissecting the circuitry of the auditory. *Trends in Neurosci*, 2003, **26**(1): 33–39

Intensity Tuning of Neurons in The Primary Auditory Cortex of Albino Mouse*

QI Qiao-Zhen, SI Wen-Juan, LUO Feng**, WANG Xin**

(College of Life Sciences & Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology,
Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

Abstract Cortical neurons that are tuned to sound intensity (non-monotonic neurons) are very important for processing auditory information. Considering the fact that all auditory nerve fibers have monotonical responses, inhibition in the primary auditory cortex (AI) is essential for intensity tuning. By using free field sound stimulation and *in vivo* extracellular recording, the present study investigated the intensity-tuning properties in AI neurons of mouse (*Mus musculus*, Km). We also examined the effect of cortical application of the GABA_A receptor antagonist bicuculline on AI intensity tuning in order to indentify the possible source of inhibition. The intensity-tuning curves were recorded in 72 AI neurons among which 28 showed monotonic responses and 44 showed non-monotonic responses. In non-monotonic neurons, there was no change in the first spike latency but a decrease in the firing duration ($P < 0.01$) when the sound intensity increased from best intensity to highest intensity. After AI application of bicuculline by electrophoresis ($n = 28$), the non-monotonic responses did not change in 39.3% neurons, was weakened in 42.9% neurons and was enhanced in 17.9% neurons. It suggested that GABAergic inhibition must be involved in AI intensity tuning but was not the only source. Non-monotonic excitatory input and non-GABAergic inhibition should also be considered. A postulated model was presented to explain the mechanism of intensity-tuning in AI neurons.

Key words intensity tuning, firing duration, latency, inhibitory input, primary auditory cortex, mouse

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00317

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31000493), Central China Normal University Independent Scientific Research Project Fund Youth Doctor (11A01025) and Foundation of Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology.

**Corresponding author.

Tel: 18971617317, E-mail: xueyue312@yahoo.com.cn, fluocn@gmail.com

Received: June 26, 2012

Accepted: October 22, 2012