

大鼠丘脑侧后核到初级视皮层突触传递的短时程可塑性*

贾凡¹⁾ 周逸峰^{1,2)}**

¹⁾中国科学技术大学生命科学学院视觉研究实验室, 合肥 230026;

²⁾中国科学院生物物理研究所, 中国科学院视觉信息加工开放实验室, 北京 100101)

摘要 大鼠丘脑侧后核 (lateral posterior thalamic nucleus, LP nucleus) 到初级视皮层的突触连接是膝体外视觉通路的重要组成部分。运用场电位记录和电泳的方法在位研究了该视觉回路突触传递的短时程可塑性。结果表明, 无论是运用双脉冲刺激还是串刺激都能观察到明显的短时程抑制特性。电泳荷包牡丹碱 (bicuculline) 和 2-hydroxy-saclofen 使该抑制作用减弱, 电泳钙离子使抑制加强, 电泳 APV 对抑制作用没有明显影响。所以突触前递质释放水平的改变, 和 γ -氨基丁酸 (GABA) 能受体 (尤其是 GABA_B 受体) 的活动都会影响该回路突触传递的短时程可塑性, 而 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 受体则几乎没有作用。该回路很强的短时程抑制特性可能与 LP 核在视觉注意中的作用有关。

关键词 短时程, 突触可塑性, 丘脑侧后核 (LP 核), 视皮层, 大鼠, 电泳

学科分类号 Q426, Q424

在哺乳动物中至少存在两条视觉通路。其中一条是主要的通路: 视网膜-外膝体-视皮层; 另一条是膝体外通路, 涉及到视网膜、上丘、丘脑侧后核 (LP 核) 和视皮层等^[1]。近年来, 第二条通路的功能越来越受到重视, 许多证据表明这条视觉通路参与了视觉注意。在对人脑的正电子发射断层显像 (PET) 研究^[2]中发现: LP 核的活动在注意依赖性的任务中被选择性增强。对猴脑的单细胞记录结果^[3]也证实了这一点。对人和猴的毁损研究^[4]也表明缺少了 LP 核就无法转移注意。然而这条通路的突触可塑性目前还所知甚少, LP 核到视皮层的突触传递对注意进行调制的机制也不清楚。

突触的活动历史会使突触后电位的幅度增加或减小, 这就是突触的可塑性。如果该可塑性发生在短时程内 (一般认为小于几十秒), 并且能迅速恢复则称为短时程的突触可塑性^[5,6]。最近, Wiggs 和 Martin^[7]认为重复刺激下产生的短时程抑制作用很可能是注意的神经机制。在下颞叶, 大约 1/4 到 1/3 的神经元表现出明显的重复抑制效应。本文研究了大鼠丘脑 LP 核到初级视皮层突触传递的短时程可塑性的表现形式, 以及通过观察有关药物对该可塑性的影响并探讨其形成机制, 试图为了解 LP 核调节视觉注意的神经机制提供线索。

1 材料与方法

实验动物为 31 只三个月左右的成年 Wistar 大鼠, 乌拉坦 (urathane) 麻醉 (1.5 mg/kg) 后,

固定在立体定位仪上。在实验中, 大鼠的眼睛始终被遮住, 防止视觉刺激的影响。刺激电极为同心圆的双极电极 (美国 FHC 公司) 连接在刺激隔离器 (A385, 美国 WPI 公司) 上, 置于与记录电极同侧的 LP 核上 ($P = 4.0$ mm, $L = 1.6$ mm, $D = 4.0 \sim 5.0$ mm)。利用 IGOR 软件控制 ITC-18 数据接口, 控制刺激隔离器产生电刺激。单管玻璃微电极 (电阻为 1.0 ~ 2.0 M Ω) 连接在胞外放大器上 (2400, 美国 Dagan 公司), 插在初级视皮层上 ($P = 7$ mm, $L = 3 \sim 4$ mm), 为场电位的记录电极。微电泳实验时, 将多管微电极的一管灌注 3 mol/L NaCl 溶液作为记录电极; 一管灌注 175 mmol/L NaCl 溶液, 用来平衡电流; 剩下的管中灌注以下药物中的一种: a. GABA_A 受体拮抗剂荷包牡丹碱 (bicuculline) (0.5 mmol/L, Sigma 公司), b. GABA_B 受体拮抗剂 2-hydroxy-saclofen (25 mmol/L, Sigma 公司), c. NMDA 受体拮抗剂 APV (50 mmol/L, Sigma 公司), d. 30 mmol/L 钙离子。多管微电极连接在微电泳仪 (260-A, 美国 WPI 公司) 上。由于药物都为阳离子, 使用 10 ~ 20 nA 的负向电流维持药物不从电极尖端扩散到组织中。电泳时用的电流大小 (20 ~ 60 nA) 根据药物而不同。电泳 5 min 后开始

* 国家自然科学基金重大项目 (39893340-03), 国家自然科学基金项目面上项目 (30070257) 和中国科学院青年科学家小组项目资助。

** 通讯联系人。

Tel: 0551-3601436, E-mail: zhoyu@ustc.edu.cn

收稿日期: 2002-02-05, 接受日期: 2002-03-06

进行数据采集, 并维持恒定的电泳电流直到数据采集结束. 停止电泳后 30 min 内, 场电位幅度恢复到电泳前水平.

刺激波宽 0.2 ms, 刺激强度 0.1 ~ 0.5 mA. 在实验记录前, 作一个输入输出曲线, 在后面的实验中都用能诱导出 1/2 最大反应的刺激强度诱导场电位. 刺激的模式有单个刺激、双脉冲刺激和由 15 个脉冲组成的串刺激. 记录到的场电位波形经滤波放大后 ($0.1 \sim 3 \times 10^3$ Hz), 储存在计算机里. 利用 IGOR 软件测量出每个刺激产生的场电位幅度, 并进行分析处理. 双脉冲刺激下, 抑制比为第二个场电位幅度与第一个的比值. 串刺激下, 抑制比为稳态场电位幅度 (最后三个刺激诱导场电位的平均幅度) 与第一个幅度的比值. 分析结果以 $\bar{x} \pm s$ 的方式呈现.

2 结 果

2.1 LP 核到初级视皮层通路的短时程突触可塑性

刺激大鼠 LP 核, 可以在视皮层记录到一个单突触反应. 双脉冲刺激是研究短时程可塑性的最常用方法. 作为短时程可塑性的一种表现形式, 双脉冲反应变化一般发生在 ms 级, 具有两种相反的反应类型: 双脉冲抑制 (paired-pulse depression, PPD) 和双脉冲易化 (paired-pulse facilitation, PPF). 图 1a 是刺激间隔分别为 50 ms 和 200 ms 的典型场电位图. 图 1b 为统计后的双脉冲抑制比随刺激间隔的变化图. 由图 1 可见: 在刺激间隔从 20 ms 到 1 000 ms 的双脉冲刺激下, 大鼠丘脑 LP 核到初级视皮层的突触传递会被不同程度地减弱, 表现出明显的双脉冲抑制特性. 突触传递的抑制程

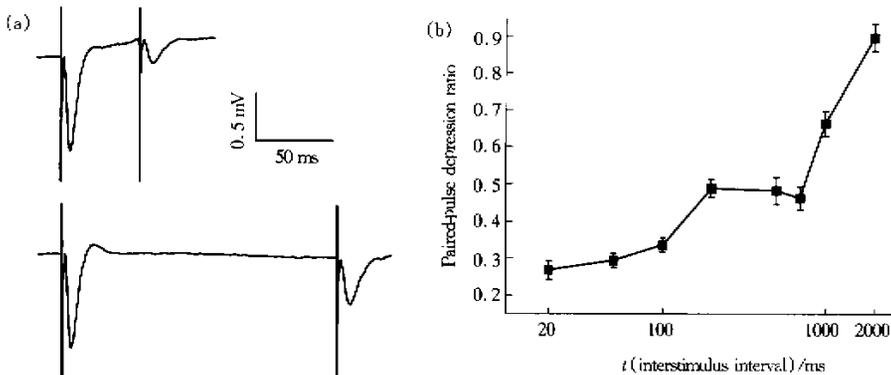


Fig. 1 Paired-pulse depression

(a) Field potentials induced by applying paired-pulse stimulation at interstimulus interval of 50 ms and 200 ms. (b) Average paired-pulse depression ratio changes with interstimulus interval ($n = 17$).

度基本上随着刺激间隔的增加而减小. 刺激间隔为 20 ms 时, 双脉冲抑制程度最大, 而当刺激间隔增加到 2 000 ms 时, 双脉冲抑制比为 0.90, 抑制基本消失. 不过当刺激间隔在 200 ~ 800 ms 之间时, 双脉冲抑制程度并没有逐渐减小反而略有增加, 这提示我们: 该回路突触传递的短时程抑制作用中很可能存在几个具有不同强度和反应时程的成分.

在正常生理条件下, 视觉皮层接受的大部分传入信号频率范围为 5 ~ 50 Hz. 为了研究从 LP 核到初级视皮层回路短时程可塑性的频率特性, 我们用 3 种不同频率的串刺激 (10 Hz、20 Hz 和 50 Hz) 来诱导场电位. 图 2a 是一个 10 Hz 串刺激 (15 个) 诱导的场电位反应叠加图. 由图 2 可见: 10 Hz 的串刺

激能够强烈地抑制从外膝体到初级视皮层的单突触反应的幅度. 图 2b 为不同频率下场电位相对幅度 (场电位幅度除以第一个刺激诱导的场电位平均幅度进行归一化) 随刺激个数的变化图. 随着刺激频率的增加, 抑制程度的差异越来越大, 而且不同频率刺激产生的抑制曲线存在明显差异. 在 10 Hz 刺激下, 第二个刺激产生的抑制程度最大, 随后场电位幅度逐渐增大, 形成了一个短时程增强作用 (short term augmentation). 第 15 个刺激诱导的场电位幅度是第二个刺激诱导的 1.6 倍. 在 20 Hz 刺激下, 也是第二个刺激产生的抑制程度最大, 随后场电位幅度在波动中略有增加. 而在 50 Hz 刺激下, 场电位幅度越来越小, 表现出典型的短时程抑制现象.

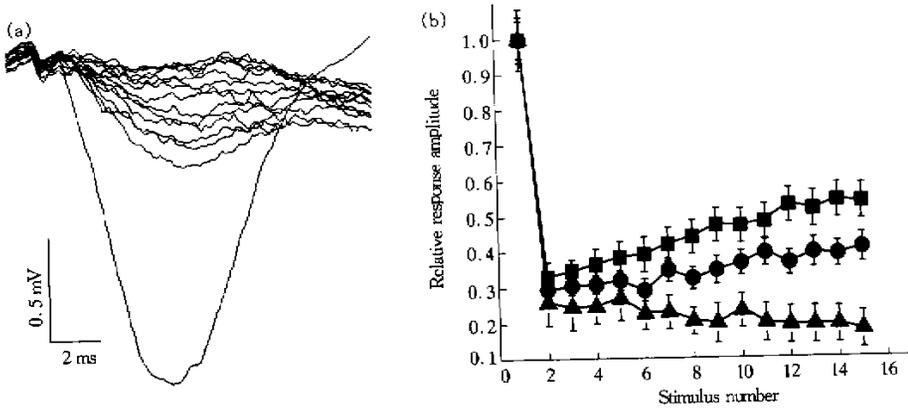


Fig.2 Synaptic frequency depression induced by train stimulation

(a) Field potential recorded during a train of 15 stimuli at 10 Hz. (b) Relative response amplitude of synaptic response components during three different frequency stimulation ($n = 16$). ■ : 10 Hz , ● : 20 Hz , ▲ : 50 Hz.

2.2 有关药物对上述突触可塑性的影响

如同中枢神经系统的大部分区域一样，该视觉回路的突触反应既有兴奋性突触后电位也有抑制性突触后电位，突触传递受到许多因素的影响。我们运用微电泳的方法对此进行了研究。为了研究递质释放几率对短时程抑制作用的影响，我们电泳钙离子来增加递质的释放几率。电泳 GABA_A 受体拮抗剂 bicuculline 和 GABA_B 受体拮抗剂 2-hydroxy-saclofen 来研究 GABA 能受体介导的抑制性突触后

电位对短时程突触可塑性的作用。有报道^[8]在海马 NMDA 受体对双脉冲反应有显著作用，我们也研究了电泳 NMDA 受体拮抗剂 APV 对短时程可塑性的影响。

图 3 是电泳 APV、2-hydroxy-saclofen、bicuculline 和钙离子等药物对不同刺激间隔 (20 ~ 1 000 ms) 的双脉冲抑制比的影响。其中，电泳 NMDA 的特异性拮抗剂 APV 会减小场电位幅度，但是对该回路的双脉冲抑制现象没有什么明显作用。电泳钙离子

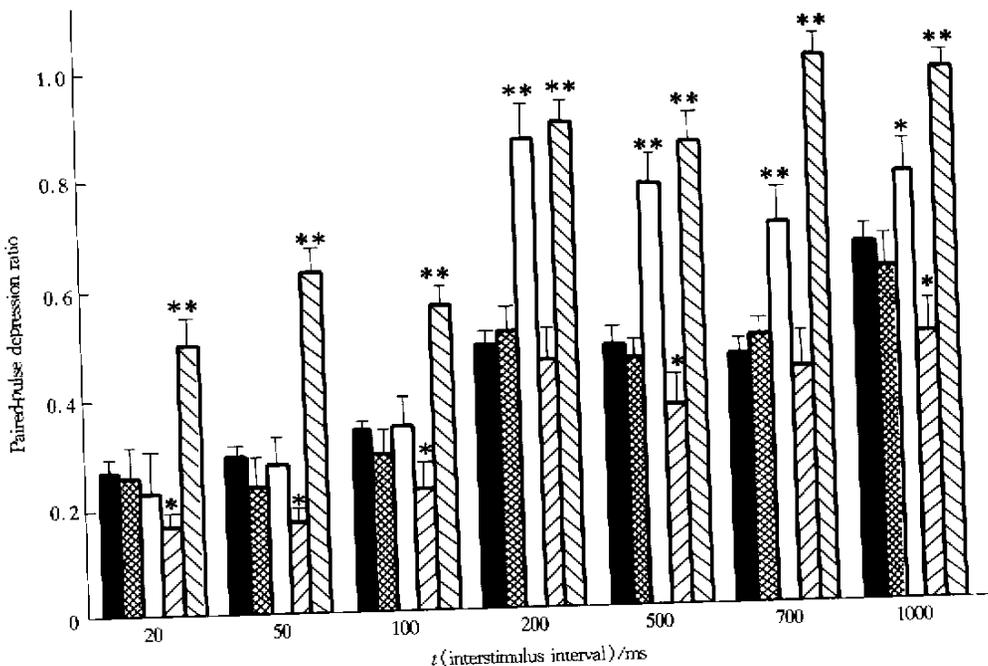


Fig.3 Drug effects on paired-pulse depression

The effects on paired-pulse depression at different inter-stimulus intervals by iontophoresis of APV ($n = 6$), 2-hydroxy-saclofen ($n = 6$), bicuculline ($n = 7$) and Ca²⁺ ($n = 8$). Statistical comparison between the drug groups and control group ($n = 17$) data for all inter-stimulus intervals, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (t -test). ■: control; ■: APV; □: bicuculline; ▨: Ca²⁺; ▩: saclofen.

能提高细胞外钙离子的浓度,从而使突触的递质释放水平提高,场电位幅度增加.在我们实验的大部分刺激间隔下,钙离子对双脉冲抑制现象都有不同程度的增强作用.电泳 GABA_A 拮抗剂 bicuculline 也会增加场电位幅度,在较短的刺激间隔(20~100 ms)下,对双脉冲抑制的作用不明显.但是当刺激间隔在200~1 000 ms之间时,bicuculline 能够明显地拮抗双脉冲抑制作用. GABA_B 的特异性拮抗剂 2-hydroxy-saclofen 对场电位幅度的影响不大,但是对双脉冲抑制现象的拮抗作用更加明显.在我们测试的所有刺激间隔下,2-hydroxy-saclofen 都能大大削弱抑制作用.在 2-hydroxy-saclofen 的拮抗下,刺激间隔大于 200ms 的双脉冲刺激就几乎没有抑制作用了.同时我们也研究了电泳这些药物对串刺激下稳态抑制程度的影响,发现基本都和双脉冲抑制的作用相似(图4). APV 对 3 个不同频率的抑制都不明显.在 10 Hz 和 20 Hz 刺激下, Ca²⁺ 使得频率抑制的程度增加;而 50 Hz 的频率抑制程度则几乎不受 Ca²⁺ 影响. Bicuculline 和 2-hydroxy-saclofen 对 3 个不同频率的抑制作用都有拮抗能力. 2-hydroxy-saclofen 的去抑制作用更强一些.

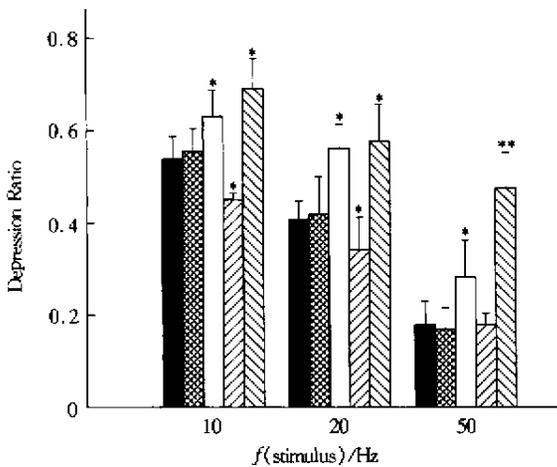


Fig. 4 Drug effects on frequency depression

The effects on frequency depression (10, 20 and 50 Hz) by iontophoresis of APV ($n=6$), 2-hydroxy-saclofen ($n=6$), bicuculline ($n=7$) and Ca²⁺ ($n=8$). Statistical comparison between the drug groups and control group ($n=16$) data for three frequencies, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ (t -test).

■: control; ■: APV; □: bicuculline; ▨: Ca²⁺; ▩: saclofen.

3 讨论

本文运用场电位记录和微电泳的方法研究了大鼠 LP 核到初级视皮层突触传递的短时程可塑性.结果表明,该视觉通路的突触传递具有明显的短时程抑制特性,突触前的递质释放水平的改变和

GABA 能受体(尤其是 GABA_B 受体)的活动都会影响突触传递的短时程可塑性.而 NMDA 受体却几乎没有作用.

在海马和神经肌肉接头等区域中,与我们在 LP 核到视皮层回路观察的短时程抑制作用相反,易化作用比较常见.这可能是因为视觉系统中突触传递释放的递质比海马等区域多^[9].对海马脑片的研究表明,提高细胞外钙离子浓度会增加递质的释放量,并且使突触传递的易化程度减小甚至出现抑制现象^[10].新皮层锥体神经元递质释放几率的改变也会影响短时程可塑性,从而改变了神经信号的编码^[11].所以突触前递质枯竭很可能是产生突触抑制的主要原因之一.随着双脉冲刺激间隔的增加,突触前递质不断地恢复,这种抑制作用就会随之减弱.我们电泳钙离子的实验结果也支持这一观点.突触前递质释放水平的提高,导致递质枯竭的速率上升,从而使得抑制作用增强.在 50 Hz 串刺激下, Ca²⁺ 对抑制程度的影响不大,这很可能是因为 50 Hz 刺激使得突触前释放了大量的神经递质,这样增加 Ca²⁺ 浓度对增加递质消耗程度的作用不大,因而对该频率下的稳态抑制程度几乎没有影响(对刺激间隔为 20 ms 的双脉冲抑制作用还是有影响的).

除了突触前的钙离子作用外, GABA 能受体对该回路的短时程抑制作用也有相当重要的贡献. GABA_A 受体的特异性拮抗剂 bicuculline 在刺激间隔大于 200 ms 时能明显减弱双脉冲抑制,可能是因为 bicuculline 拮抗了 GABA_A 受体介导的抑制性突触后电位. GABA_B 受体的特异性拮抗剂 2-hydroxy-saclofen 的去抑制作用更明显,在我们测试的 7 个刺激间隔下全部都大大地减弱了抑制作用.这种去抑制现象的产生最大的可能是因为 2-hydroxy-saclofen 拮抗了 GABA_B 受体介导的抑制性突触后电位.此外 2-hydroxy-saclofen 也有可能通过抑制 GABA_B 受体和电压依赖性钙通道相互作用,改变突触前递质释放几率.电泳谷氨酸能的 NMDA 受体拮抗剂 APV 对短时程抑制作用却几乎没有影响.根据视皮层脑片上的实验结果^[12],谷氨酸能的另一类受体 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酮酸 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA) 受体对短时程可塑性的影响也很小.所以递质释放水平和 GABA 能受体是影响 LP 核到初级视皮层突触传递的短时程可塑性的重要因素.

该视觉回路的短时程抑制程度比视皮层脑片中的结果^[12]大很多.在视皮层脑片中第 IV 层到 II、

Ⅲ层的通路中,不同频率的串刺激(10、20、50 Hz)都使得场电位的幅度越来越小,经过一段时间后达到稳态。随着刺激频率的增加,场电位的稳态幅度减小,突触抑制的速率和程度都在增加。这种频率依赖的短时程抑制作用能够为视皮层提供一个动态的增益控制机制^[13],使得神经元可以平衡慢速率和快速率的传入,并显著提高对突触传入发放模式细微变化的敏感度。而膝体外通路虽然有很强的短时程抑制作用,但是对串刺激没有明显的频率依赖性的抑制速率改变。这种短时程抑制特性可能是其参与视觉注意调节的神经基础。Desimone等^[14]认为特定的事物重复刺激之后,皮层的抑制作用使得只有少数对物体识别起关键作用的神经元没有被压抑。这种选择性更强的神经活动导致了更快、更有效率的神经响应。LP核到初级视皮层的很强短时程抑制作用可能也以类似的方式对视觉注意进行调制。此外,短时程的抑制作用也可能通过提高突触传递阈值的方式来调节神经元网络的输出活动,进而调节视觉注意。

参 考 文 献

1 Zhu J J, Lo F S. Recurrent inhibitory interneurons of the rabbit's lateral posterior-pulvinar complex. *J Neurophysiol*, 1997, **78** (6):

- 3117 ~ 3124
- 2 Corbetta M, Miezin F M, Dobmeyer S, *et al.* Selective and divided attention during visual discriminations of shape, color, and speed: functional anatomy by positron emission tomography. *J Neurosci*, 1991, **11** (8): 2383 ~ 2402
- 3 Petersen S E, Robinson D L, Morris J D. Contributions of the pulvinar to visual spatial attention. *Neuropsychologia*, 1987, **25** (1A): 97 ~ 105
- 4 Rafal R D, Posner M I. Deficits in human visual spatial attention following thalamic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, **84** (20): 7349 ~ 7353
- 5 Zucker R S. Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci*, 1989, **12**: 13 ~ 31
- 6 Nadim F, Manor Y. The role of short-term synaptic dynamics in motor control. *Curr Opin Neurobiol*, 2000, **10** (6): 683 ~ 690
- 7 Wiggs C L, Martin A. Properties and mechanisms of perceptual priming. *Curr Opin Neurobiol*, 1998, **8** (2): 227 ~ 233
- 8 Capek R, Esplin B. Attenuation of hippocampal inhibition by a NMDA (N-methyl-D-aspartate) receptor antagonist. *Neurosci Lett*, 1999, **1129** (1): 145 ~ 148
- 9 Castro-Alamancos M A, Connors B W. Distinct forms of short-term plasticity at excitatory synapses of hippocampus and neocortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94** (8): 4161 ~ 4166
- 10 Zucker R S. Calcium- and activity-dependent synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol*, 1999, **9** (3): 305 ~ 313
- 11 Tsodyks M V, Markram H. The neural code between neocortical pyramidal neurons depends on neurotransmitter release probability. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94** (2): 719 ~ 723
- 12 Varela J A, Sen K, Gibson J, *et al.* A Quantitative description of short-term plasticity at excitatory synapses in layer 2/3 of rat primary visual cortex. *J Neurosci*, 1997, **17** (20): 7926 ~ 7940
- 13 Abbott L F, Varela J A, Sen K, *et al.* Synaptic depression and cortical gain control. *Science*, 1997, **275** (5297): 220 ~ 224
- 14 Desimone R. Neural Mechanisms for visual memory and their role in attention. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (24): 13494 ~ 13499

The Short-term Plasticity of Synaptic Transmission From Rat Lateral Posterior Thalamic Nucleus to Primary Visual Cortex*

JIA Fan¹⁾, ZHOU Yi-Feng^{1 2)**}

⁽¹⁾Vision Research Laboratory, School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

⁽²⁾Laboratory of Visual Information Processing, Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract The synaptic connection from rat lateral posterior thalamic nucleus to primary visual cortex is an important part of extrageniculate visual pathway. The short-term plasticity of this synaptic transmission is investigated *in vivo* by using field potential recording and iontophoresis methods. The field potentials were depressed rigorously by either paired-pulse stimulation or repetitive stimulation at different frequency (10, 20, 50 Hz). Iontophoresis of bicuculline and 2-hydroxy-saclofen decreased the depression degree, while iontophoresis of Ca²⁺ increased the depression degree. Therefore, the short-term plasticity of synaptic transmission in this pathway is affected by many factors, such as: changing the transmitter release level at pre-synaptic terminal and activity of GABAergic receptors. However, when applying APV, the selective antagonist of NMDA receptors, no any obvious change in short-term synaptic plasticity was obtained. The rigorous short-term plasticity in this visual pathway may play a role in the visual attention function, which is related to the lateral posterior thalamic nucleus.

Key words short-term, synaptic plasticity, lateral posterior thalamic nucleus, visual cortex, rat, iontophoresis

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (39893340-03, 30070257) and Youth Scientist Group Program of CAS.

** Corresponding author. Tel: 86-551-3601436, E-mail: zhouy@ustc.edu.cn

Received: February 5, 2002 Accepted: March 6, 2002