

睡眠过程中内膝体神经元的听反应后抑制*

孟现凯^{1, 2)} 孙文健³⁾ 徐新秀¹⁾ 张子聪³⁾ 贺菊芳^{1, 3)**}

(¹⁾中国科学院生物物理研究所, 北京 100101; (²⁾中国科学院大学, 北京 100049; (³⁾香港理工大学康复治疗学系, 香港九龙)

摘要 内侧膝状体神经元接受来自离皮层系统的兴奋和抑制两种神经调节。听觉刺激诱发的内膝体神经元起始反应后会伴随着一段长时抑制。在可自由活动的大鼠上研究了内膝体神经元的听反应后抑制现象。利用植入电极阵列技术, 记录了大鼠在睡眠过程中的脑电、肌电以及内膝体神经元胞外放电活动, 发现在睡眠的快速眼动时期和非快速眼动时期内膝体神经元存在着听反应后抑制现象, 并发现这种抑制更多地出现在非快速眼动睡眠期。在睡眠过程中, 丘脑网状核听觉分区的失活会导致内膝体神经元的听反应后抑制消失或减弱。因此, 我们推测丘脑网状核神经元参与了内膝体神经元在睡眠中的听反应后抑制, 它在非快速眼动睡眠中对内膝体施加了更强的抑制作用。

关键词 内侧膝状体, 丘脑网状核, 反应后抑制, 快速眼动睡眠, 非快速眼动睡眠

学科分类号 Q426, R338.2+4, R339.16

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00568

人在睡眠的时候很难被吵醒, 而在清醒时却可以轻易感知同样的声音。大脑通过丘脑对上行至皮层的感觉信息进行反馈调节的工作方式已经被广泛接受^[1-2]。皮层到丘脑既有兴奋性的直接投射, 也有间接的抑制性投射。皮层可以通过丘脑网状核间接地实现对丘脑中继神经元的抑制^[3-4]。在听觉通路上, 内侧膝状体(medial geniculate body, MGB)^[2, 5]是听觉丘脑的主体部分。丘脑网状核(thalamic reticular nucleus, TRN)是包覆在丘脑中继核团核心区外侧由 γ -氨基丁酸能(GABAergic)神经元构成的一层网状结构^[6-7]。丘脑网状核团的听觉区, 接受来自听皮层的直接投射, 并与内膝体之间有相互的神经投射^[8-9]。

我们实验室近年工作发现, 内膝体中来自离皮层的抑制作用主要是通过丘脑网状核实现的^[10]。我们猜测这种离皮层抑制作用参与了睡眠过程中听觉信息传递调控。之前, Edeline 等^[11]在非麻醉的豚鼠上观察了听觉丘脑神经元在清醒、慢波睡眠和快速眼动睡眠三个行为状态下对纯音刺激的听反应情况。结果表明, 听觉丘脑神经元在慢波睡眠和快速眼动睡眠两个明显不同的状态下, 其对纯音刺激的诱发反应没有显著差别。这一结果是否说明在这两

种状态下离皮层系统对内膝体神经元的调节(特别是抑制)作用是一样的呢? 为此我们在可自由活动的大鼠上, 利用在体植入多电极阵列手术和神经元胞外记录技术, 观察了睡眠过程中内膝体神经元对白噪声(white noise)刺激的诱发听反应情况。发现大鼠内膝体神经元诱发听反应后存在长时抑制(post-response inhibition, PRI)现象, 这种抑制随着丘脑网状核听觉区神经元的失活而衰减。实验结果提示听觉系统的离皮层抑制可能是大脑在睡眠中抵抗外界声音干扰的一种方式。

1 材料与方法

1.1 实验动物的准备

本实验采用体重在 280~420 g 之间的成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠为研究对象。手术前先将阿托品(atropine sulfate, 0.05 mg/kg)进行皮下注

* 国家自然科学基金 - 海外、港澳青年学者合作研究基金, 香港研究资助局 (CERG PolyU 5414/10M).

** 通讯联系人.

Tel: 0852-27666741, E-mail: rsjufang@polyu.edu.hk

收稿日期: 2012-11-22, 接受日期: 2013-01-09

射. 20 min 后, 腹腔注射全身麻醉剂盐酸氯胺酮(ketamine 10%, 80 mg/kg)与噻拉嗪(xylazine, 2%, 10 mg/kg)的混合液以进行全身麻醉. 大鼠被麻醉后注意保持其体温恒定在 37°C 水平. 本实验整个过程参考美国国立卫生研究院实验动物使用指南进行, 所有手术操作步骤经中国科学院生物物理研究所生物伦理道德委员会和香港理工大学生物伦理道德委员会许可.

1.2 手术过程

手术过程与之前报道的方法相似^[12-13]. 待动物被完全麻醉后, 进行无菌手术操作. 首先将动物固定到立体定位仪上, 打开电热毯加热以维持动物正常体温在 37°C. 在清理消毒大鼠头皮后, 用手术刀切开正中头皮, 暴露头骨, 用无菌棉球和生理盐水清理大鼠头骨表面. 标记打开右侧头骨的窗口位置(2mm × 2mm), 窗口中心相对前凶 Bregma 点坐标为(AP: -5.5 mm, ML: 3.3 mm)^[8, 14-15], 用牙科钻去除相应头骨. 用眼科镊和细针头去除硬脑膜, 注意用无菌生理盐水保持暴露的皮层表面湿润. 在骨窗周围钻入骨钉用作脑电记录、接地和支持固定. 利用微操纵器夹持微电极定位前凶后再移至右侧内膝体核团正上方, 在电动微推进器的带动下找到内膝体神经元. 用脑胶(kwik sil adhesiv, WPI)封合骨窗, 然后再用牙科水泥(carboxylate cement, 3M)封合固定电极和接头^[13]. 植入颈部肌电电极并缝合伤口. 手术结束后, 皮下注射镇痛剂丁丙诺啡(buprenorphine 0.15 g/L, 按照 0.05 mg/kg 体重), 待动物苏醒后, 将其放回洁净饲养笼内恢复.

术后恢复过程注意保持动物所处的环境安静清洁、通风和温度适中. 保证食物和水在动物可以自由获得的地方. 根据动物恢复情况给予皮下注射镇痛剂丁丙诺啡和抗生素. 恢复期为 3 天.

1.3 电生理记录

大鼠康复后, 放在电磁屏蔽的隔音室内进行适应训练 1~2 天. 室内光源是 12 h : 12 h(黑夜 : 白昼)自动控制, 以模拟昼夜节律. 首先把动物放入实验用的盒子内, 盒子的一侧有可供动物自由获取的水和食物. 然后将记录数据线接头插到动物头上插槽内. 整个实验过程动物是可以自由活动的, 而且它熟悉了环境后便会自由地进入睡眠. 训练结束后即进入正式实验过程.

实验中呈现的声音刺激由 TDT system3(tucker-davis technologies)产生, 为时长 50 ms, 声音强度 45dB SPL 的开放声场高斯白噪声. 刺激间隔为 2 s.

记录时, 喇叭被置于盛放大鼠盒子的正上方 1.2 m 处. 当大鼠经历不同行为状态时, 施加白噪声直至实验结束. 我们采集大鼠顶叶头骨脑电(electroencephalogram, EEG)、颈部背侧肌电(electromyogram, EMG)和内膝体神经元的胞外放电. 脑电和肌电信号通过 Grass S88 前置放大器放大后, 再经 Digidata 1440A 模数转换器数字化后传入电脑, 由 Axonscope 软件采集记录. 内膝体神经元胞外放电被 TDT 系统放大和数字化后直接被 Brainware 软件(tucker-davis technologies)采集记录. 同时我们从处理器模拟输出端 Digidata 1440A 导出内膝体神经元胞外放电, 从而实现胞外信号、脑电和肌电的同步记录. 脑电的滤波范围为 1~100 Hz, 放大倍数为 10 000; 肌电的滤波范围为 30~1 000 Hz, 放大倍数为 10 000; 胞外放电滤波范围为 300~3 000 Hz, 放大倍数为 20 000.

1.4 尼氏染色

记录实验结束后, 用巴比妥钠溶液(pentobarbital, 2%, Sigma 公司)深度麻醉大鼠, 然后利用正向直流电(10 μ A, 10 s)灼烧记录电极尖端, 灼烧结束后立即进行心脏灌流, 灌流液为 0.9%生理盐水和 4%多聚甲醛磷酸缓冲液(4°C). 灌流结束后, 取脑, 将其浸泡在 4%多聚甲醛磷酸缓冲液(4°C)中过夜. 经过蔗糖溶液(15%, 30%)梯度脱水后, 冰冻切片, 最后利用醋酸焦油紫染色(nissl staining)的方法来定位记录电极尖端位置^[8].

1.5 大鼠睡眠状态的划分

睡眠可以被粗略地划分为非快速眼动睡眠(non-rapid eye movement sleep, NREM)和快速眼动睡眠(rapid eye movement sleep, REM)两个阶段^[16]. Datta 和 Hobson 等对大鼠睡眠状态的研究工作^[17-18]表明大鼠存在与人类相似的清醒、NREM 睡眠和 REM 睡眠等行为阶段. 他们根据大鼠皮层脑电(EEG)、颈背侧肌电(EMG)将大鼠行为划分为: 清醒阶段, 大鼠的 EEG 基本上是低幅值(40~60 μ V)高频率(35~50 Hz), EMG 表现出高度紧张和偶发的与头部和颈部运动一致的簇状放电. 在 NREM 睡眠阶段, 大鼠整个身体经常处于拱垂状, 眼睛关闭, 有的时候头顶紧贴地面被身体压在下面. EEG 会逐渐变慢, 幅值增大, EEG 频率处于 0.1~10.0 Hz 之间, 幅值在 200~400 μ V 间. EMG 很小, 几乎消失. 到了 REM 睡眠期, EEG 表现出高频(20~40 Hz)低幅(50~80 μ V). 颈部肌肉失去肌张力, EMG 大部分时间为零, 偶尔能观察到来自

心跳的干扰. 睡眠中肌电的有无是区分 NREM 睡眠和 REM 睡眠的重要标志. 本文根据该方法利用 EEG 和 EMG 区分出清醒和睡眠. 对于睡眠期的划分只需要作如下判断: 如果睡眠中大鼠 EMG 接近为零, 则认为大鼠处于 REM 期, 否则为 NREM 期.

1.6 数据分析

首先用 Clampfit10.0 (Axon Instruments) 观察不同神经元在不同阶段下的 EEG 和 EMG, 根据大鼠状态划分方法(如上)进行状态划分. 结合胞外放电情况, 选取同一天内清晰、稳定, 且该状态维持时间最长的记录片段进行分析. 将对应片段的胞外记录信号利用 Brainware 9.07 软件自带的分波功能进行处理得到不同记录位点在不同行为阶段的胞外放电时间点值. 我们定义自发放电活动(spontaneous activity)为施加声音刺激前 100 ms 的胞外放电水平. 这里用自发放电平均发放数表征. 自发放电活动的标准差(standard deviation of spontaneous activity)代表刺激前该神经元单位的自发活动波动水平. 白噪声诱发听反应(evoked ON response)为声音刺激起始(onset)后 0~50 ms 内该神经元的平均发放数, 即每个刺激记录周期(trial)平均的反应发放个数. 它表征该神经元单位对声音刺激反应的强度^[14]. 为了方便观察听反应后抑制现象, 我们在内膝体神经元反应发放统计直方图的基础上除以相应的柱宽(这里为 2 ms)得到初始曲线, 平滑该曲线即得到结果中的 PSTH 曲线图, 相应的值被定义为内膝体神经元的平均发放率(mean firing rate). 内膝体神经元的平均发放率与其自发放电活动的差值除以自发放电波动水平得到 Z 值曲线. 计算公式如下:

$$Z_score = (\text{平均发放率} - \text{自发放电活动}) / \text{自发放电活动的标准差}$$

我们规定, 内膝体神经元的听反应后抑制时长是该神经元听反应 Z 值曲线上紧接听反应后, 低于自发放电均值一倍标准差($Z_score < -1$)的那段时间(图 2c).

统计学分析使用了 Origin8.0 (Origin Lab Corporation) 中的 two sample *t*-test, paired *t*-test 计算模块. Z 值曲线, 散点(raster)图和 PSTH 图由 Matlab 8.0 (MathWorks Inc.) 生成.

1.7 药物注射实验

为了将利多卡因(lidocaine, 20 g/L)注射到丘脑网状核听觉分区中, 并且同时记录内膝体细胞和丘脑网状核放电, 我们将药物注射管和记录电极黏合在一起(图 1). 图 1 中上面的 3 根电极为内膝体神

经元记录电极(A-M systems Inc), 电极间距约 0.5 mm. 下面的金属管是药物注射管(plastics one inc.). 注射管与第一根内膝体记录电极的间距为 2 mm. 按照前面电极植入手术的方法, 将其同时植入内膝体和丘脑网状核听觉分区. 记录实验过程中, 可以看到药物通过汉密尔顿微量注射器经由充满硅油(silicon oil, Sigma 公司)的细塑料软管缓慢地注入大鼠目标核团内. 利多卡因注射剂量为 3 μ l.

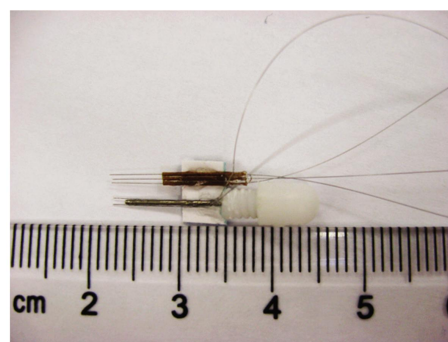


Fig. 1 Drug injection cannula and micro-wire multi-electrode array

Recording multi-electrode array and cannula (plastics one inc.) were adhered together to a piece of hard paper. The distance between multi-electrode array and cannula is about 2 mm. The distance between each tungsten micro-wire in the array is about 0.5 mm.

2 结 果

2.1 内侧膝状体神经元在睡眠中对噪声刺激的ON反应

我们在 11 只非麻醉大鼠上记录到 24 个对白噪声刺激有反应的内侧膝状体神经元单位(本文均指 multi-unit). 总共 19 个内膝体神经元单位在 NREM (主要为慢波)睡眠期, 17 个在 REM 睡眠期, 均记录到稳定、清晰的记录片段. 剩余 5 个因为未能记录到适合分析的记录片段, 在后期数据处理过程中予以排除.

图 2 给出了一个典型的内膝体神经元在 NREM 睡眠和 REM 睡眠两种状态下对白噪声的反应情况. 如波形图(waveform)中星号(*)所示, 该神经元在 NREM 睡眠和 REM 睡眠两种状态下均可对噪声刺激作出诱发 ON 反应(evoked ON response). 散点(raster)图给出了该神经元在连续不间断的睡眠记录中, 分别获得 41 和 64 次刺激周期的 spike 数

据. 最右侧的平均发放率曲线(PSTH)可以看到在两种状态下都有一个 ON 反应峰, 峰值点均出现在 16 ms 时刻附近. 这个 ON 反应在 raster 图中同样清晰可见. 从图 2d 的 nissl 染色结果, 可以看到该神经元单位的记录电极尖端位于内侧膝状体核团内. 我们计算了该神经元在两种状态下的自发放电

水平 (spontaneous activity) 和 ON 反应 (evoked ON response, 0~50 ms). 刺激前 100 ms 自发放电平均水平从 NREM 期的 0.02 个 /trial 升至 REM 期的 0.03 个 /trial. 而在噪声刺激 onset 后 50ms 内的诱发反应则分别为 NREM 期的 2.37 个 /trial 和 REM 睡眠期的 1.91 个 /trial.

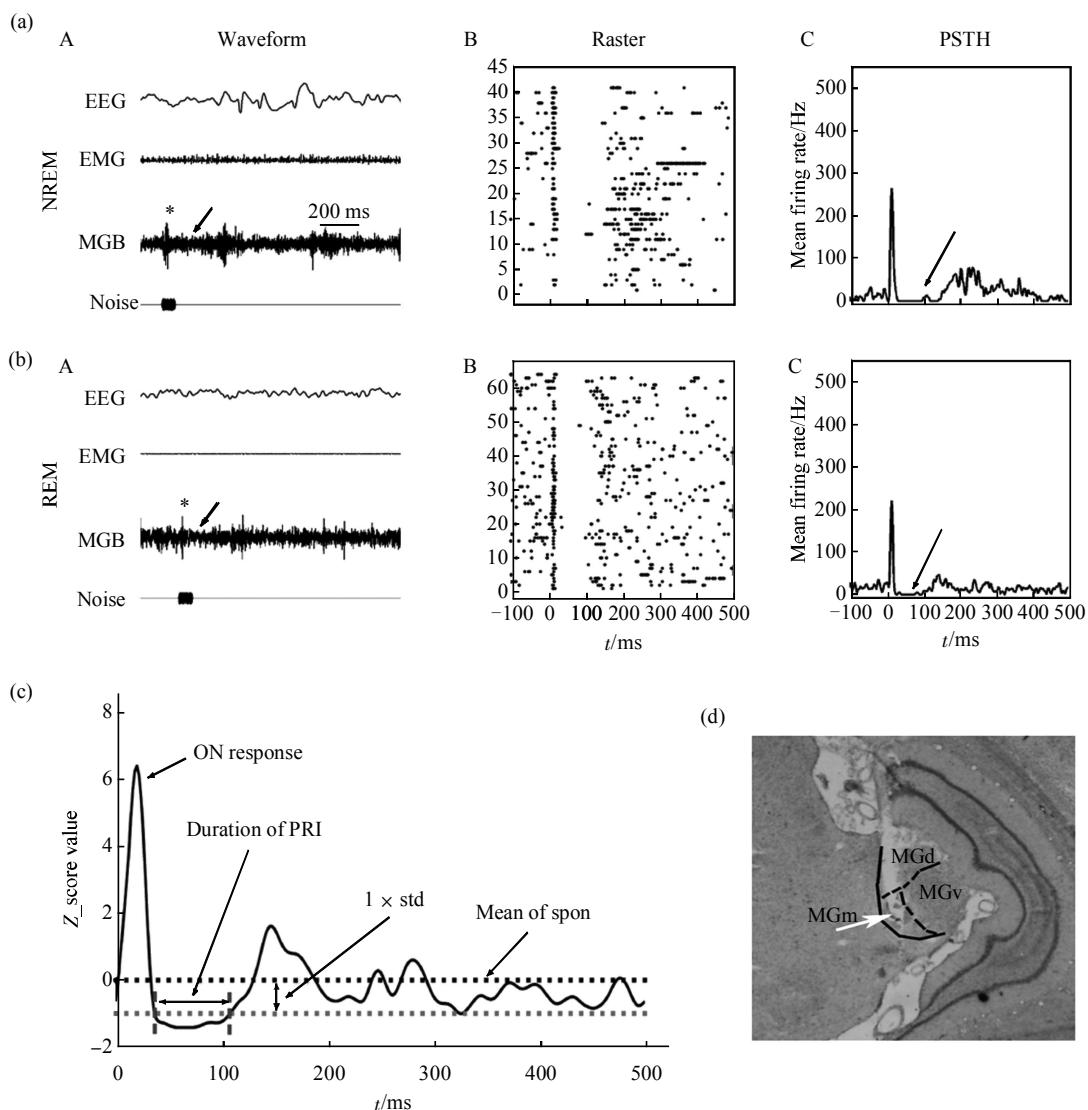


Fig. 2 Auditory responses of one MGB neuron in sleep

Auditory responses recorded from one MGB unit were shown in Figure 2. (a) Results from non-rapid eye movement (NREM) sleep. (b) Results from rapid eye movement (REM) sleep. In Figure (a) and (b), all "A" panels, left, are polygraph recordings. Four traces from top to bottom are waveforms for EEG, EMG, extracellular recording, and noise burst stimulus individually. The 200 ms time bar was shown in panel (a)-A, it is also applied to all "A" panels. The noise evoked response onset spikes of this MGB unit were indicated by asterisks "*". All "B" panels, medial, and "C" panels, right, are raster plot and Peri-stimulus Histogram (PSTH) showing the auditory responses of this MGB unit in two different sleep states. Please note that the long silence period indicated by arrows. The y axis is trial number in raster plot. It changed to mean firing rate in PSTH plot. The data are from 41 trials in (a), and 66 trials in (b). The acoustic stimuli were 50 ms, 45dB SPL, repeated white noise bursts with 2 s intervals. The stimuli were presented to the subject at 0 ms point in each trial, shown in raster and PSTH plots (bin=2 ms). (c) The schematic illustration for duration of post-response inhibition (PRI). This Z-score value curve is derived from (b)-C. (d) Picture of nissl stained coronal section to illustrate the location of this unit in MGB nucleus.

我们对所选取的神经元在睡眠中两种状态下的记录结果进行了统计分析. 结果如下: 总体来看, 最低的自发放电水平出现在 NREM 期, 平均每个 trial 只有 (0.027 ± 0.02) 个发放; REM 期自发放电水

平会显著提升 (0.054 ± 0.04) 个 /trial, $P < 0.05$, 参考图 3a 和表 1. 对于 0~50 ms ON 反应来说, NREM 睡眠和 REM 睡眠下分别为 (2.985 ± 1.86) 个 /trial 和 (3.264 ± 1.89) 个 /trial.

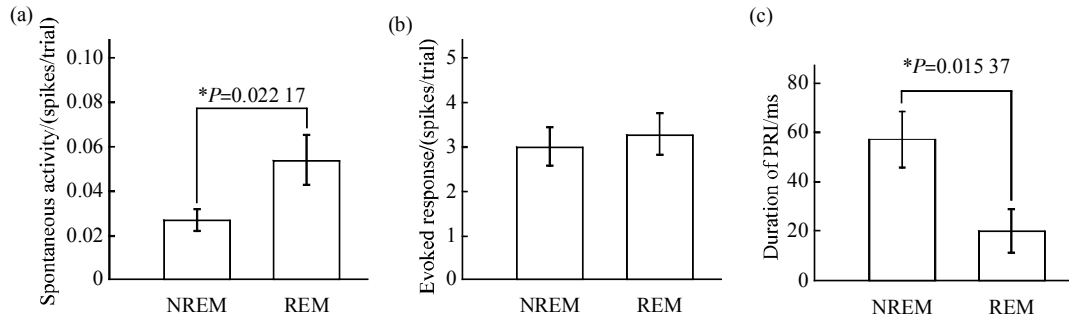


Fig. 3 Auditory responses of MGB units in sleep

(a) Spontaneous activities of MGB neurons in non-rapid eye movement (NREM) sleep and rapid eye movement (REM) sleep. (b) Evoked ON responses of MGB neurons in NREM sleep and REM sleep. (c) Duration of post-response inhibition (PRI) on MGB neurons in NREM sleep and REM sleep. In all Figures, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$. Please refer to Table 1 for the number of MGB neurons in each group. Error bars in each figure represent s.e.m.

Table 1 Changes in physiological parameters for 19 MGB units tested in sleep

	Vigilance states ($\bar{x} \pm s (n)$)	
	NREM	REM
Spontaneous activity (spikes/trial)	$0.027 \pm 0.02(19)$	$0.054 \pm 0.04(17)$
Mean ON response (spikes/trial)	$2.985 \pm 1.86(19)$	$3.264 \pm 1.89(17)$
Duration of post-response inhibition (ms)	$57.2 \pm 40.3(13)$	$19.9 \pm 32.0(13)$

Spontaneous activity was quantified during the 100 ms preceding each noise burst. Mean ON response was quantified during the 50 ms following each noise onset. Duration of post-response inhibition: the duration when the normalized firing rate was under minus standard deviation of spontaneous activity after the auditory response. n : Number of units.

2.2 内膝体细胞的听反应后抑制现象

我们在 7 只大鼠上记录到 13 个内膝体神经元单位有明显的白噪声诱发反应后长时抑制现象. 图 2 所示例的这个内膝体细胞在 NREM 睡眠和 REM 睡眠时期均展现出这种反应后抑制现象, 如图 2 Waveform 和 PSTH 图中箭头所示. 正如 2.1 节所述, 不同的状态下, 不同内膝体神经元的自发放电水平是不同的. 因此, 在比较这段反应后长时抑制时, 我们用该内膝体神经元 PSTH 曲线对应的

Z 值曲线进行讨论. 图 2c 给出了对应图 2b-C 的听反应 Z 值曲线, 可以看到, 在低于自发反应均值(图中黑色虚线)一倍标准差(图中红色虚线)的部分, 紧接 ON 反应有一段明显的长时抑制, 随后出现了反弹(rebound)峰. 这段 REM 睡眠状态下的听反应后抑制时长为 71 ms, 而在 NREM 睡眠期为 92 ms.

从我们记录的 19 个内膝体细胞的结果来看, 大部分细胞(13/19)在睡眠中都表现出听反应后抑制现象, 另外的 6 个则没有表现出这种现象. 如表 1 所示, 13 个内膝体神经元均在 NREM 睡眠期表现出听反应后抑制, 时长为 (57.2 ± 40.3) ms. 其中有 5 个在 REM 期也表现出这种现象, 时长分别为 (19.9 ± 32.0) ms. 注意 REM 期的抑制时长要显著地短于 NREM 睡眠期的情况($P < 0.05$, two sample t -test).

2.3 丘脑网状核的失活导致内膝体神经元听反应后抑制现象消失

为了确定丘脑网状核团是否参与了内膝体细胞噪声反应后长时抑制, 我们开展了以下实验. 利多卡因可以通过阻断神经细胞膜上快速的电压敏感钠通道来切断神经元的信号传递^[8]. 我们利用在体微注射技术, 在大鼠 NREM 睡眠期, 将 $3 \mu\text{l}$ 的利多卡因(20 g/L)注入到同侧丘脑网状核团听觉区^[8]中,

同时记录内侧膝状体细胞放电情况。

图 4 是向丘脑网状核内注入利多卡因前后的内侧膝状体听反应对比结果。图 4a 是注入利多卡因之前 NREM 睡眠时期一个内侧膝状体细胞的听反应情况。从波形图可以看到这是一个 ON-OFF 型听反应细胞，在 OFF 成分结束后，会出现一段发放抑制，如图 4a 中箭头所示。紧接着它能观察到该细胞产生的一个反弹发放。中图和右图是该细胞多次反应后的散点图和 PSTH 曲线。图 4b 为向同侧丘脑网状核内注入 $3 \mu\text{l}$ 的利多卡因后，该细胞的听反应情况。这段记录是在紧跟注射药后第一个 NREM 睡眠期完成的。我们发现，向丘脑网状核团注入利多卡因后 30 min，听反应后抑制消失，如图 4b 箭头所示。根据图 4c 我们判定注射利多卡因的药管

末端紧挨丘脑网状核团听觉区上方。在 4 只大鼠中观察了这一变化，记录到 5 个内侧膝状体神经元单位，其中有 4 个在睡眠过程中表现出听反应后抑制现象。图 5 给出了这些内侧膝状体神经元单位在相应的丘脑网状核团被利多卡因失活前后，它们的诱发听反应和听反应后长时抑制的时长变化情况。可以发现，丘脑网状核团内注入利多卡因后，大鼠依然能够进行正常睡眠，自发放电和诱发听反应均没有显著性改变 ($P > 0.05$, $n=5$, paired t -test, 图 5a, b)，但是内侧膝状体神经元上的听反应后长时抑制消失或者显著变短 ($P < 0.01$, $n=4$, paired t -test, 图 5c)。这里，进行比较的数据均来自注入利多卡因前的最后一个 NREM 睡眠期和注入后出现的第一个 NREM 睡眠期，这两次记录间隔时间大约 30 min。

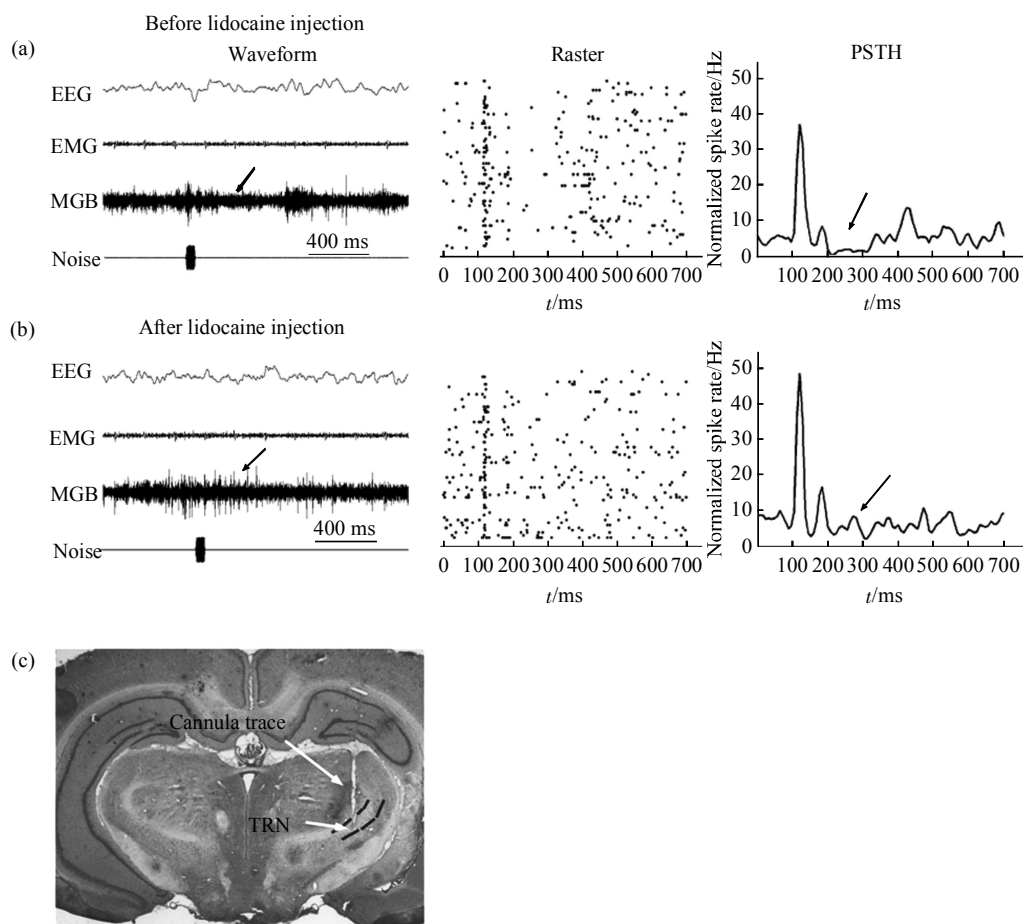


Fig. 4 Post response inhibition on MGB unit was eliminated by TRN inactivation in NREM sleep

(a) Recordings from medial geniculate units in NREM sleep before lidocaine applied on thalamic reticular nucleus. (b) Recordings from medial geniculate units in NREM sleep after application of lidocaine on thalamic reticular nucleus. The acoustic stimuli were 50 ms, 45dB SPL, repeated white noise bursts with 2 s intervals. The stimuli were presented to the subject at 100 ms point, shown in raster and PSTH plots (bin = 8 ms) in each trial. (c) The cannula trace in nissl staining section. The area between two black dashed lines is auditory sector of thalamic reticular nucleus^[15]. Note that the post-response inhibition is right after the evoked ON-OFF component in (a), as the arrows shown. It disappeared in 30 min after we injected $3 \mu\text{l}$ lidocaine (20 g/L) in thalamic reticular nucleus, see Figure (b).

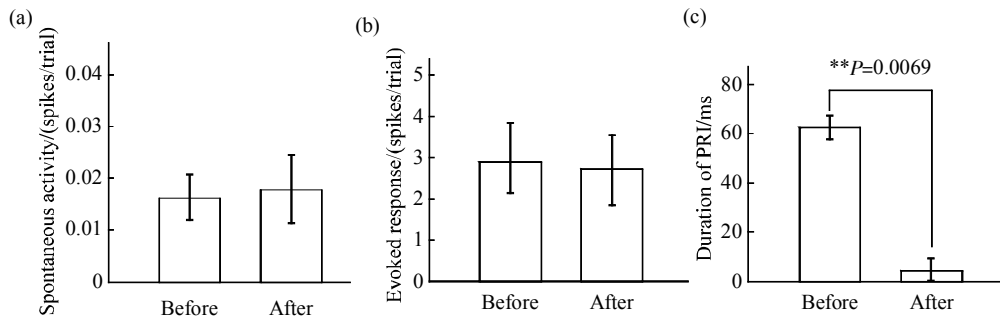


Fig. 5 Effects of TRN inactivation on auditory responses of MGB neurons in NREM sleep

Neural activity changes in MGB neurons when TRN was inactivated by lidocaine in NREM sleep. (a) Spontaneous activity of MGB neurons before and after TRN inactivation, $n=5$. (b) Evoked responses of MGB units before and after lidocaine application on TRN, $n=5$. (c) Duration of post-response inhibition on MGB units before and after lidocaine application on TRN, $n=4$. Note that the post-response inhibition disappeared in three of them in 30 min after application of lidocaine on TRN. Before: Before TRN was inactivated. After: After TRN was inactivated, mostly 30 min after lidocaine application. Error bars in each figure represent s.e.m.

3 讨 论

我们观察了睡眠过程中大鼠内侧膝状体神经元对噪声刺激的反应情况。通过对内膝体神经元在 NREM 睡眠和 REM 睡眠两种状态下听觉诱发反应的观察, 发现很多内侧膝状体神经元对噪声刺激反应后会伴随产生长时抑制现象, 在 NREM 睡眠时期这种反应后长时抑制比 REM 睡眠期作用时间更长。失活丘脑网状核听觉区实验表明这种抑制与丘脑网状核团的参与有关。

首先我们认为观察睡眠中自发和诱发反应本身的衰减并不是衡量睡眠中离皮层抑制作用的好指标。Hall 等^[19]曾经比较过大鼠内膝体上 click 声的诱发电位在清醒、NREM 睡眠和 REM 睡眠中的情况。他们发现唯一的显著变化是内膝体听觉诱发电位的幅值会在 REM 睡眠期相对清醒状态显著衰减, 其他成分基本保持不变。后来 Edeline 等^[20]观察了头被固定的非麻醉豚鼠内膝体神经元在清醒、慢波睡眠和 REM 睡眠中纯音诱发胞外神经元放电的情况。他们发现对比清醒状态的表现, 听觉丘脑神经元在两种睡眠条件下听觉阈值 (acoustic threshold) 增加, 诱发反应减弱。另外还发现, REM 和 NREM 睡眠中, 内膝的自发放电率都非常低 (< 1 Hz), 诱发平均发放率没有差异。从这方面看, 这与我们报道的白噪声诱发的 ON 反应结果 (图 3b) 一致。虽然从图 3a 数据上看 NREM 睡眠的自发放电明显低于 REM 睡眠期, 但是每个刺激记

录周期平均只有 0.06 个发放的事实说明内膝体神经元在两种睡眠中都处于非常安静的状态。这说明自发反应和诱发反应本身不能体现内膝体神经元睡眠中受抑制情况。失活丘脑网状核前后, 内膝体神经元的自发放电和诱发听反应也没有显著改变 (图 5a, b), 则提示听反应或者自发放电的水平与丘脑网状核介导的离皮层抑制无关。可是当失活丘脑网状核听觉区后, 听反应后抑制时长出现了显著变化 (图 5c), 说明听反应后抑制依赖于丘脑网状核神经元, 它很可能是离皮层调控丘脑的真实形式。

其次, 听反应后抑制是由听觉 ON 反应反馈激发的。内膝体神经元听觉 ON 反应峰最先出现, 它代表了听觉丘脑神经元对由下而上的听觉刺激做出的第一反应。从我们的数据来看, 无论是在睡眠的不同阶段 (图 3b), 还是在失活丘脑网状核团前后 (图 5b), 诱发 ON 反应均无显著差别, 这说明上行信息在这里不易受离皮层系统影响。而听反应后抑制总是紧跟诱发反应后出现, 说明是上行听觉信号在激活听皮层后经由皮层 - 丘脑网状核投射反馈到丘脑水平, 从而实现反馈调节。反应后长时抑制时长在两种睡眠期不同 (图 3c), 则表明两个时期这种离皮层反馈作用不同。这既有离皮层系统各个核团神经元状态变化的原因, 也有可能因为涉及的具体回路发生了改变。

那丘脑网状核如何实现对内膝体神经元的离皮层抑制呢? 我们知道丘脑网状核是由 GABA 能的神经元构成的^[6]。之前 Kim 等对有直接突触连接的丘

脑网状核视觉分区(perigeniculate nucleus, PGN)神经元和外膝体(LGN)中继神经元进行配对胞内记录后,发现 PGN 神经元强直放电形式激活短时程的由 GABA_A受体介导的活动,而 PGN 神经元簇状放电形式则可以激活长时程的由 GABA_B受体介导的超极化.这一工作在脑片水平上给出了丘脑内 GABA 抑制的工作机理^[20-21].另外, Steriade 等^[22-23]的研究表明,丘脑网状核神经元在慢波睡眠时期主要以 burst 形式进行同步放电.我们实验室的实验也发现在戊巴比妥的麻醉下,丘脑网状核听觉区神经元表现出 burst 为主的放电模式^[24-25].睡眠时,脑干-网状(brainstem-reticular)系统使得丘脑网状核神经元倾向以 burst 放电形式同步活动^[26].我们猜测在大鼠睡眠中,特别是 NREM 睡眠中,丘脑网状核听觉区神经元处于易于同步放电的状态,可以同时释放更多的 GABA 递质给内膝体神经元.大量的 GABA 可以激活内膝体细胞上的 GABA_A受体和 GABA_B受体.后者的活化引起了内侧膝状体神经元的超极化,从而导致内膝体神经元在声音诱发的情况下,非常易于形成反应后长时抑制现象.

其实,不只是听觉系统和视觉系统存在着这种现象,在体感觉系统,Warren 等^[27]通过对腹后外侧核(ventroposterior lateral nucleus, VPL, 背侧丘脑体感觉分区)神经元的研究表明,VPL 神经元也存在着刺激后抑制现象,VPL 神经元的活动会受到丘脑网状核神经元的影响.因此,我们认为这种反应后抑制是皮层调控感觉丘脑的普遍机制.

致谢 特别感谢上海交通大学生物医学工程学院何士刚教授在本研究过程中给予的实验条件方面的大力支持和研究方法上的宝贵意见.另外张立博士在本文数据分析过程中给与了建议,中国科学院生物物理研究所生命科学仪器中心孟涛高级工程师参与了电极阵列的制作,在此对他们表示感谢.

参 考 文 献

- [1] Sherman S M, Guillery R W. Exploring the Thalamus and Its Role in Cortical Function. 2nd ed. Cambridge, Mass.: MIT Press. 2006: xxi, 484 p.
- [2] Jones E G. The thalamus. 2nd ed. New York: Cambridge University Press. 2007: 1-205
- [3] Kimura A, Donishi T, Okamoto K, *et al.* Topography of projections from the primary and non-primary auditory cortical areas to the medial geniculate body and thalamic reticular nucleus in the rat. *Neuroscience*, 2005, **135**(4): 1325-1342
- [4] Winer J A. Decoding the auditory corticofugal systems. *Hear Res*, 2006, **212**(1-2): 1-8.
- [5] Pickles J O. An introduction to the physiology of hearing. 3rd ed. Bingley, UK: Emerald. 2008: 153-200
- [6] Pinault D. The thalamic reticular nucleus: structure, function and concept. *Brain Res Brain Res Rev*, 2004, **46**(1): 1-31
- [7] Fuentealba P, Steriade M. The reticular nucleus revisited: intrinsic and network properties of a thalamic pacemaker. *Prog Neurobiol*, 2005, **75**(2): 125-141
- [8] Yu X J, Meng X K, Xu X X, *et al.* Individual auditory thalamic reticular neurons have large and cross-modal sources of cortical and thalamic inputs. *Neuroscience*, 2011, **193**: 122-131
- [9] Kimura A, Imbe H, Donishi T. Axonal projections of auditory cells with short and long response latencies in the medial geniculate nucleus: distinct topographies in the connection with the thalamic reticular nucleus. *Eur J Neurosci*, 2009, **30**(5): 783-799
- [10] Zhang Z, Liu C H, Yu Y Q, *et al.* Corticofugal projection inhibits the auditory thalamus through the thalamic reticular nucleus. *J Neurophysiol*, 2008, **99**(6): 2938-2945
- [11] Edeline J M, Manunta Y, Hennevin E. Auditory thalamus neurons during sleep: changes in frequency selectivity, threshold, and receptive field size. *J Neurophysiol*, 2000, **84**(2): 934-952
- [12] Gao L, Meng X K, Ye C, *et al.* Entrainment of slow oscillations of auditory thalamic neurons by repetitive sound stimuli. *J Neurosci*, 2009, **29**(18): 6013-6021
- [13] Nicolelis M A L. Methods for neural ensemble recordings. 2nd ed. Frontiers in neuroscience 2008, Boca Raton: CRC Press. xx, 269 p.
- [14] Yu Y Q, Xiong Y, Chan Y S, *et al.* *In vivo* intracellular responses of the medial geniculate neurons to acoustic stimuli in anesthetized guinea pigs. *J Physiol*, 2004, **560**(Pt 1): 191-205
- [15] Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5th ed 2005, Amsterdam; Boston: Elsevier Academic Press.
- [16] Purves D. Neuroscience. 3rd ed. Sunderland, Mass: Sinauer Associates, Publishers. 2004: 659-680
- [17] Datta S, Hobson J A. The rat as an experimental model for sleep neurophysiology. *Behav Neurosci*, 2000, **114**(6): 1239-1244
- [18] Gervasoni D, Lin S C, Ribeiro S, *et al.* Global forebrain dynamics predict rat behavioral states and their transitions. *J Neurosci*, 2004, **24**(49): 11137-11147
- [19] Hall R D, Borbely A A. Acoustically evoked potentials in the rat during sleep and waking. *Exp Brain Res*, 1970, **11**(1): 93-110
- [20] Kim U, Sanchez-Vives M V, McCormick D A. Functional dynamics of GABAergic inhibition in the thalamus. *Science*, 1997, **278**(5335): 130-134
- [21] Sanchez-Vives M V, McCormick D A. Functional properties of perigeniculate inhibition of dorsal lateral geniculate nucleus thalamocortical neurons *in vitro*. *J Neurosci*, 1997, **17**(22): 8880-8893
- [22] Steriade M, Domich L, Oakson G. Reticularis thalami neurons revisited: activity changes during shifts in states of vigilance. *J Neurosci*, 1986, **6**(1): 68-81
- [23] Domich L, Oakson G, Steriade M. Thalamic burst patterns in the naturally sleeping cat: a comparison between cortically projecting

- and reticularis neurones. *J Physiol*, 1986, **379**: 429–449
- [24] Xu M, Liu C H, Xiong Y, *et al.* Corticofugal modulation of the auditory thalamic reticular nucleus of the guinea pig. *J Physiol*, 2007, **585**(Pt 1): 15–28
- [25] Yu X J, Xu X X, He S, *et al.* Change detection by thalamic reticular neurons. *Nat Neurosci*, 2009, **12**(9): 1165–1170
- [26] McCormick D A, Bal T. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci*, 1997, **20**: 185–215
- [27] Warren R A, Jones E G. Glutamate activation of cat thalamic reticular nucleus: effects on response properties of ventroposterior neurons. *Exp Brain Res*, 1994, **100**(2): 215–226

Post-response Inhibition on Medial Geniculate Neurons in Sleep*

MENG Xian-Kai^{1,2}, SUN Wen-Jian³, XU Xin-Xiu¹, ZHANG Zi-Cong³, HE Ju-Fang^{1,3}**

¹*Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;*

²*University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;*

³*Department of Rehabilitation Sciences, The Hong Kong Polytechnic University, Hung Hom, Kowloon, Hong Kong, China)*

Abstract The medial geniculate body (MGB, the auditory thalamus) receives strong corticofugal modulation that includes facilitation and inhibition. Auditory stimuli evoke an onset response that in many neurons followed by a lasting post response inhibition in MGB neurons. In the present study, we investigated the post response inhibition of MGB neurons in sleeping rats. Chronically implanted electrodes were used to record the neuronal activities of the MGB, as well as, the electroencephalogram (EEG) and the electromyography (EMG) from the rats in different stages of sleep. Both ON and ON-OFF neurons in the MGB showed prolonged post-response inhibition of over 50 ms. The post-response inhibition showed a shorter duration in rapid eye movement (REM) sleep than that in non-rapid eye movement (NREM) sleep. After the auditory sector of the thalamic reticular nucleus (TRN) was reversibly inactivated by local application of lidocaine, the post-response inhibition of MGB neurons disappeared or decreased. Based on these results, we concluded that the TRN was involved in the post response inhibition of the MGB in sleep. The TRN applied stronger inhibition to the MGB neurons during non-REM sleep than during REM sleep.

Key words medial geniculate body (MGB), thalamic reticular nucleus (TRN), post-response inhibition (PRI), rapid eye movement sleep (REM), non-rapid eye movement sleep (NREM)

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00568

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (Oversea Cooperation Fund) and Hong Kong Grants Council (CERG PolyU 5414/10M).

**Corresponding author.

Tel: 86-852-27666741, E-mail: rsjufang@polyu.edu.hk

Received: November 22, 2012 Accepted: January 9, 2013