

# Bicuculline 对小鼠中脑下丘听神经元 反应特性的影响\*

周晓明 冯瑞本 孙心德\*\*

(华东师范大学生物学系脑功能研究室 上海 200062)

**摘要:** 采用微电泳技术考察了 GABA<sub>A</sub> 受体拮抗剂荷包牡丹碱(bicuculline), 对小鼠中脑下丘听神经元强度-放电率曲线、频率调谐曲线和听空间反应域的影响。结果表明, 微电泳 bicuculline 使听神经元的放电率显著提高, 多数神经元的强度-放电率曲线变为单调型; 听神经元频率调谐曲线加宽, 并且对曲线上部的作用更加明显; 听神经元的听空间反应域增大, 方向敏感性降低。实验结果提示了 GABA 能抑制在下丘听信息处理中的重要作用。

**关键词:** 荷包牡丹碱; 下丘; 强度-放电率曲线; 频率调谐曲线; 听空间反应域

中图分类号: Q429.8 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2001)04-26-05

## Effects of Bicuculline on Auditory Response Properties of Inferior Collicular Neurons in the Kunming Mouse

ZHOU Xiao-Ming FENG Rui-Ben SUN Xin-De

(Department of Biology, East China Normal University Shanghai 200062, China)

**Abstract:** Effects of bicuculline, a GABA<sub>A</sub> antagonist, on auditory response properties of inferior collicular neurons in the Kunming mouse were studied using iontophoretic technique. The results showed that bicuculline increased impulse rate of neurons to acoustic stimulus and changed intensity-rate functions of most neurons from non-monotonic to monotonic. It also broadened frequency tuning curves and expanded spatial response areas of inferior collicular neurons. The results suggest that GABAergic inhibition plays an important role on auditory processing of inferior colliculus.

**Key words:** Bicuculline; Inferior colliculus; Intensity-rate functions; Frequency tuning curves; Spatial response areas

中脑下丘(inferior colliculus, IC)是哺乳动物的听反射中枢和听信息向中传递的重要中继站,它至少接受来自同侧或对侧的四个听觉核团的输入。如此复杂的信息传入造成了下丘听神经元反应特性的复杂性以及在中枢听信息处理中的重要作用。而  $\gamma$ -氨基丁酸(Gamma-aminobutyric acid, GABA)是中枢中一种重要的抑制性神经递质。研究表明,下丘神经元除了接受

内源性的 GABA 能抑制性影响外,同时也接受其它听觉部位的 GABA 能抑制性输入<sup>[1-4]</sup>, 这种 GABA 能抑制可以影响下丘听神经元对声刺

\* 国家自然科学基金(No.39870246)资助项目;

\*\* 通讯作者;

第一作者介绍 周晓明,男,29岁,博士;研究方向:脑的听觉信息处理;现在美国密苏里大学从事博士后研究;

收稿日期:2000-04-14,修回日期:2000-12-30

激的反应特性<sup>[5-11]</sup>。本文采用微电泳技术考察了GABA<sub>A</sub>型受体拮抗剂荷包牡丹碱(Bicuculline)对下丘听神经元的三个重要反应特性:强度-放电率曲线(intensity-rate function)、频率调谐曲线(frequency tuning curve)和听空间反应域(spatial response area)的影响,以期进一步了解GABA能抑制对下丘听觉信息处理的作用及其机制。

## 1 材料与方 法

实验在18只昆明种小鼠上进行,体重24~36g。在戊巴比妥钠(腹腔注射,25~30mg/kg体重)麻醉下切开头部皮肤,暴露动物额-顶骨,除去上面的肌肉和结缔组织。用502胶水和牙科水泥将一根长2cm的铁钉粘固于颅骨上,将动物移到实验台架上,通过头部的铁钉固定。在手术显微镜下暴露中脑下丘,除去硬脑膜,借助JE-802型微电极操纵仪将玻璃微电极沿下丘表面垂直插入相当于中央核部位,细胞外记录下丘听神经元对声信号的反应。

三管玻璃微电极做细胞外记录及电泳。其中一管充以3mol/L KCl(阻抗3~5MΩ)做记录电极,一管充以3mol/L NaCl做平衡电极,另一管充以bicuculline(SIGMA,0.01mol/L,pH=3.0)做电泳电极。电泳时间2~5min,电泳电流20~80nA。

声刺激系统由声调发生仪、KH-1200型信号发生器、dB衰减器、功率放大器、直流偏压电源和喇叭组成。声刺激信号持续时间20ms,起落时间分别为0.5ms,纯音频率在0~100kHz范围内连续可调。喇叭置于动物头部正前方

34cm处,并通过步进马达,可在动物头部正前方的半球面上移动。定义动物头部中线及耳间线为其听空间的水平方向0°和垂直方向0°,喇叭的移动范围为动物听空间水平方向左右各80°,垂直方向上下各60°。实验前,将喇叭置于动物头部正前方,用置于动物耳部的1/4英寸麦克风(Bruel & Kjaer公司)对其进行校正。声刺激强度以dB SPL(20μPa)表示。

动物置于隔音屏蔽室内,室内壁贴附70mm厚的异型微孔泡沫塑料,以防声反射。本底噪声低于30dB SPL。室温维持在35℃左右。

## 2 结 果

### 2.1 Bicuculline 对强度-放电率曲线的影响

下丘听神经元的放电率随着声刺激强度的变化而变化,这种变化可分为三种类型:单调型(monotonic type)、饱和型(saturated type)和非单调型(non-monotonic type)。单调型即放电率随着刺激强度的增加而单调上升;饱和型即放电率先随刺激强度的增加而上升然后达到饱和;非单调型即放电率先随着刺激强度的增加而上升然后下降。图1显示了微电泳bicuculline对3个不同类型听神经元强度-放电率的影响。从图中可以看出,微电泳bicuculline后3个神经元在不同强度下的放电率均有显著提高,而且A神经元的强度-放电率曲线从非单调型变为单调型,B从饱和型变为单调型,而C则未发生变化。

实验共观察了微电泳对39个下丘听神经元强度-放电率曲线的影响,微电泳前后各类型神经元的数目及比例见表1。从表中可以看

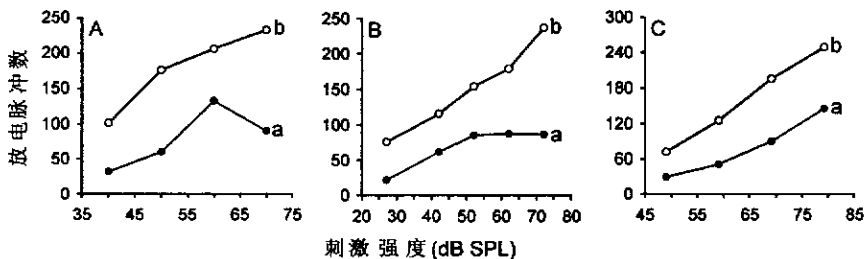


图1 微电泳荷包牡丹碱对单调型(A)、饱和型(B)及非单调型(C)下丘神经元强度放电率曲线的影响

a. 微电泳前; b. 微电泳后

出,微电泳前多数神经元(21/39,54%)为非单调型,其中14个(67%)微电泳后变为单调型。在8个饱和型神经元中,5个(63%)变为单调型。而单调型神经元则多数(6/10,60%)未发生变化。结果表明,微电泳 bicuculline 后多数神经元的强度-放电率曲线变为单调型,使得单调型神经元所占的比例从电泳前的21%上升到电泳后的65%。

表1 Bicuculline 对39个下丘神经元强度-放电率曲线的影响

电泳前	数目(%)	荷包牡丹碱		
		非单调型	饱和型	单调型
非单调型	21(54%)	3	4	14
单调型	8(21%)	0	3	5
饱和型	10(25%)	1	3	6
总数(%)		4(10%)	10(25%)	25(65%)

2.2 Bicuculline 对频率调谐曲线的影响 调谐曲线是听神经元的基本反应特性,它的宽窄反映了听神经元的频率选择性。调谐曲线的宽

窄以  $Q_n$ -dB 值(最佳频率除以最低阈值以上  $n$  dB 处调谐曲线的宽度)来衡量,调谐曲线愈窄,  $Q_n$ -dB 值愈大,说明听神经元对声刺激的频率选择性愈高。图2显示了微电泳对2个听神经元调谐曲线的影响,其中A神经元的调谐曲线明显变宽,且阈值下降,而B则从封闭型调谐曲线变为“V”型调谐曲线。在所观察的32个听神经元中,有21个(66%)  $Q_{10}$ -dB 值增加超过20%。由于最低阈值的关系,32个听神经元中有23及12个神经元可以测得  $Q_{30}$ -dB 值及  $Q_{50}$ -dB 值。微电泳后  $Q$  值增加超过20%的分别有18个(78%)和9个(75%)(表2)。

从表2还可以看出, bicuculline 对  $Q_n$ -dB 值的影响随刺激强度的增加而增大。 $t$ -检验表明,不同强度下  $Q_n$ -dB 值的变化存在明显差异 ( $P < 0.05$ )。这说明 bicuculline 对调谐曲线的影响与声刺激的强度有关,其对调谐曲线上部的作用比下部更加明显。

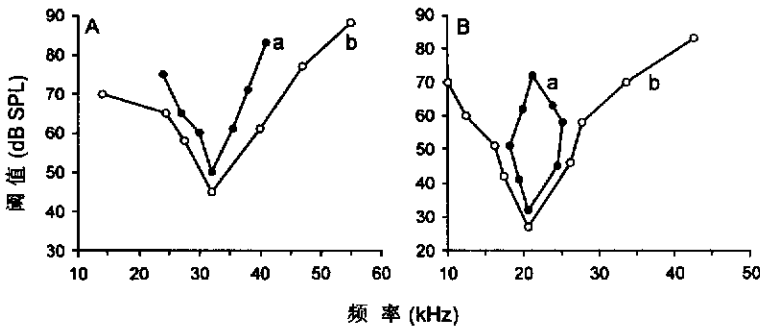


图2 微电泳 bicuculline 对两个下丘神经元频率调谐曲线的影响

a. 微电泳前; b. 微电泳后

表2 不同强度下微电泳 bicuculline 引起的  $Q_n$ -dB 值的平均变化百分比

强度 (dB)	总数	变化百分比	变化百分比大于20%的神经元数目
10	32	23 ± 14	21
30	23	36 ± 18	18
50	12	52 ± 24	9

2.1 Bicuculline 对听空间反应域的影响 下丘听神经元具一定的方向敏感性,在特定的声刺激强度下,只对听空间中某一区域内发出的

声信号产生反应,这一区域即为该声强下的听空间反应域。听空间反应域愈小,说明神经元的方向敏感性愈高。听空间反应域的大小一般以其水平宽度来衡量。图3显示了微电泳对2个神经元最低阈值以上5 dB 听空间反应域的影响,可以发现微电泳后反应域均明显扩大。实验共观察了微电泳 bicuculline 对29个听神经元反应域的影响,其中22个(76%)神经元听空间反应域水平宽度增加超过20%,平均变化百分比为  $29 \pm 16$  (%)。

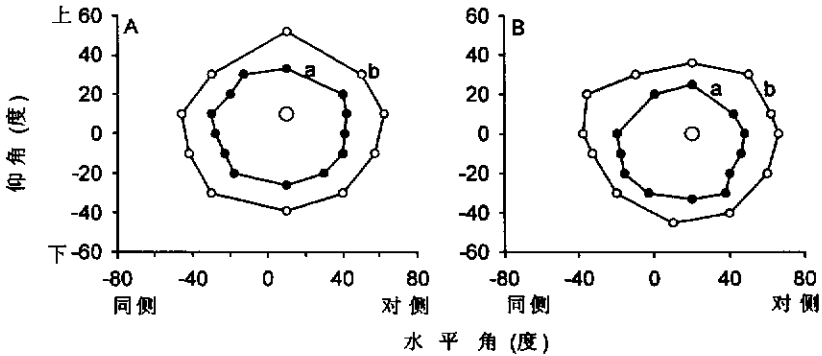


图3 微电泳 bicuculline 对两个下丘神经元听空间反应域的影响

a. 微电泳前; b. 微电泳后

### 3 讨论

**3.1 GABA 能抑制在下丘听信息处理中的作用** GABA 是一种重要的中枢抑制性神经递质。对下丘 GABA 能抑制解剖学的研究表明, GABA 及其合成酶、降解酶在下丘中广泛存在<sup>[12,13]</sup>。下丘中央核许多神经元的胞体及轴突被带有扁平或多边形囊泡的 GABA 阳性纤维末梢所包围<sup>[2]</sup>。生理学研究也发现, GABA 抑制性功能与下丘听信息的处理密切相关, 它可以改变听神经元的放电形式、发放频率、频率调谐曲线, 同时可以选择性地取消感觉输入的作用<sup>[5,6,9-11]</sup>。特别是在下丘神经元对听空间的信息编码过程中, GABA 能抑制起了极为重要的作用, GABA 能抑制的减弱或消除可直接影响下丘听神经元对两耳时间差 (interaural time difference, ITD) 和强度差 (interaural intensity difference, IID) 的敏感性, 从而影响其双耳反应特性及听空间反应特性<sup>[7,8]</sup>。此外, 它还被认为与动物年龄依赖性的听力缺失有关, 这种听力缺失包括声空间定位能力的下降、缺乏在噪声中分辨有益信号的能力及对声音频率分辨力的下降等。在衰老大鼠的下丘 GABA 活性及其释放的明显下降则从另一个侧面反映了 GABA 能抑制与年龄依赖性听力缺失的相关性<sup>[14]</sup>。我们的研究结果也表明, 电泳 bicuculline 可以对下丘听神经元的反应特性产生影响, 因为强度-放电率曲线、频率调谐曲线和听空间反应域是下丘听神经元的重要反应特性, 它们直接反映了

听神经元对声信号的强度、频率编码及空间定位, 所以实验结果进一步证实了 GABA 能抑制在下丘听信息处理中的重要作用。

**3.2 GABA 能抑制对下丘听神经元反应特性影响的机制** 有关 GABA 能抑制对下丘听神经元反应特性影响的机制, Faigold 等认为, 在下丘听神经元中占多数的非单调型神经元对于在噪声环境中的信号分析极其重要, 因为这类听神经元仅对特定强度的声信号反应较强, 而 GABA 能抑制对这类神经元反应特性的形成起了重要作用<sup>[5]</sup>。本实验中通过微电泳 bicuculline 选择性地阻断 GABA<sub>A</sub> 受体的作用后, 单调神经元的比例明显增加, 而非单调型神经元的比例明显减少也证明了这点。调谐曲线的削尖则与侧抑制 (lateral inhibition) 有关, 因为兴奋性神经元往往与数个最佳频率与之相近的抑制性神经元形成突触后联系, 这些抑制性神经元兴奋后对兴奋性神经元所产生的侧抑制是调谐曲线削尖的主要原因<sup>[9,15]</sup>。因此当这种抑制性作用被选择性地阻断后, 兴奋性神经元受到的侧抑制消除使得调谐曲线变宽, 这与实验中观察到的结果完全一致。神经元听空间反应域的形成则与中枢的周边抑制 (surrounding inhibition) 有关, 是神经元的兴奋性中心区域与抑制性周边区域相互作用的结果<sup>[16]</sup>, 实验中观察到的 bicuculline 对神经元听空间反应域影响的结果提示 GABA 能抑制在周边抑制中所起的重要作用, 至于具体的机制还需进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Adams, J. C., E. Mugnaini. Dorsal nucleus of the lateral lemniscus: a nucleus of GABAergic projection neurons. *Brain Res. Bull.*, 1984, **13**(4): 585 ~ 590.
- [2] Ribak, C. E., R. C. Roberts. The ultrastructure of the central nucleus of the inferior colliculus of the Sprague-Dawley rat. *J. Neurocytol.*, 1986, **15**(4): 421 ~ 438.
- [3] Roberts, R. C., C. E. Ribak. GABAergic neurons and axon terminals in the brainstem auditory nuclei of the gerbil. *J. Comp. Neurol.*, 1987, **258**(2): 267 ~ 280.
- [4] Roberts, R. C., C. E. Ribak. An electron microscopic study of GABAergic neurons and terminals in the central nucleus of the inferior colliculus of the rat. *J. Neurocytol.*, 1987, **16**(3): 333 ~ 345.
- [5] Faingold, C. L., C. A. Boersma Anderson, D. M. Caspary. Involvement of GABA in acoustically-evoked inhibition in inferior colliculus neurons. *Hear. Res.*, 1991, **52**(1): 201 ~ 216.
- [6] Faingold, C. L., G. Gehlbach, D. M. Caspary. On the role of GABA as an inhibitory neurotransmitter in inferior colliculus neurons: iontophoretic studies. *Brain Res.*, 1989, **500**(1/2): 302 ~ 312.
- [7] Fugita, I., M. Konishi. The role of GABAergic inhibition in processing of interaural time difference in the owl's auditory system. *J. Neurosci.*, 1991, **11**(3): 722 ~ 739.
- [8] Park, T. J., G. D. Pollak. GABA shapes sensitivity to interaural intensity disparities in the mustache bat's inferior colliculus: implications for encoding sound location. *J. Neurophysiol.*, 1993, **13**(5): 2 050 ~ 2 067.
- [9] Yang, L., G. D. Pollak, C. Resler. GABAergic circuits sharpen tuning curves and modify response properties in the mustache bat's inferior colliculus. *J. Neurophysiol.*, 1992, **68**(5): 1 760 ~ 1 774.
- [10] 冯瑞本, 孙心德. N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)及荷包牡丹碱对不同年龄鼠耳蝠下丘神经元听反应的影响. *生物物理学报*, 1998, **14**(4): 673 ~ 678.
- [11] 吴飞雄, 陈其才. GABA在蝙蝠听觉信息处理过程中的调控作用. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 1997, **31**(2): 337 ~ 338.
- [12] Fisher, S. K., W. E. Davies. GABA and its related enzymes in the lower auditory system of the guinea pig. *J. Neurochem.*, 1976, **27**(5): 1 145 ~ 1 155.
- [13] Tachibana, M., K. Kuriyama. Gamma-aminobutyric acid in the lower auditory pathway of the guinea pigs. *Brain Res.*, 1974, **69**(2): 370 ~ 374.
- [14] Caspary, D. M., A. Raza, B. A. Lawhorn Aromor *et al.* Immunocytochemical and neurochemical evidence for age-related loss of GABA in the inferior colliculus: implications for neural presbycusis. *J. Neurosci.*, 1990, **10**(7): 2 363 ~ 2 372.
- [15] Suga, N., K. Tsuzuki. Inhibition and level-tolerant frequency tuning in the auditory cortex of the mustached bat. *J. Neurophysiol.*, 1985, **53**(4): 1 109 ~ 1 145.
- [16] Knudsen, E. I., M. Konishi. Center-surround organization of auditory receptive fields in the owl. *Science*, 1978, **202**: 778 ~ 780.