# 昆明小鼠中脑下丘声反应特征的区域分布

沈钧贤 徐智敏 沈力坚

(中国科学院生物物理研究所脑与认知科学研究中心视觉信息加工重点实验室, 北京 100101. E-mail: shenjx@sun5.ibp.ac.cn)

**摘要** 用微电极胞外记录技术研究了昆明小鼠中脑下丘声反应特征的区域分布. 结果表明, 下丘各分区表征的特征频率(characteristic frequency, CF)范围明显不同: 背皮质区 4~15 kHz, 中央核区 10~70 kHz, 外皮质区 4~35 kHz. 在中央核区, CF 沿背-腹及外-内方向增加, 高频位于中央核区的腹内侧, 低频分布在背侧. CF 等频率线向内弯曲. 背皮质区与中央核中心区听神经元的最低阈值(minimum threshold, MT)较低(约 10 dB SPL), 而外皮质区背侧及腹侧听神经元的 MT 较高. 结果提示, 小鼠下丘各分区听觉功能有所分工.

**关键词** 小鼠 下丘 听神经元 特征频率 最低阈值

哺乳动物听觉系统从耳蜗到听皮层具有“音调拓扑特性”(tonotopy), 对于声频率识别与分辨有重要意义. 听觉通路抽提、加工并整合声信号中复杂的频率信息, 是一个十分重要而又尚未弄清楚的问题. 下丘(inferior colliculus, IC)是加工单耳及双耳听觉信息的中心, 与脑干多个核团有直接的上行联系, 并受听皮层的下行调控. 它在频率调谐、声源空间定位与刺激时程调谐等方面起重要作用[1~8]. 至今尚不很清楚在小鼠 IC 内频率表征究竟是怎样组构的. 研究表明, 猫 IC 接收各脑干核团的主要投射高度分散在等频层的不同位置上; IC 靠传入投射表征信号频率外, 还可能由于分散投射之间的相互作用产生新的功能. Stiebler 等人[9]用电生理方法研究了麻醉状态家鼠(*Mus musculus*)IC 的音调拓扑组构、频率表达与纯音阈值分布. 但正常小鼠中脑 IC 声反应特征的区域分布及其功能意义还知之甚少. 声行为实验表明[10], 昆明小鼠能发声, 有良好听力. 叫声的主频介于 10 与 20 kHz 之间, 而声刺激反应的频率范围相当宽(1~65 kHz), 最低反应阈值约 5 dB(声压级, sound pressure level, SPL). 本文用微电极胞外记录技术研究了昆明小鼠 IC 声反应特征的区域分布, 并探讨了 IC 各分区可能的听觉功能分工.

## 1 材料与方法

(ⅰ) 动物准备与手术. 3 只听力正常的雄性昆明小鼠(*Mus musculus* Km), 4~6 周龄, 体重约 20~25 g, 由中国科学院遗传与发育生物学研究所提供. 用戊巴比妥钠(Nembutal, 40 mg/(kg 体重))麻醉动物, 手术细节参照文献[10,11]. 实验期间用 Nembutal (8 mg/(kg 体重))和安定止痛剂使动物维持浅麻醉状态. 移去左侧中脑 IC 上方的头骨与硬脑膜, 暴露左侧 IC.

(ⅱ) 记录. 用 3 mol/L KCl 灌注玻璃微电极(阻抗 10~15 MΩ), 以与水平面成 70°夹角进入 IC, 记录听觉神经元反应. 第 1 穿刺点选在 IC 正中, 通过该点的额切面定义为中(medial, m)切面, 距离 λ 点(头骨中缝与矢状缝的交点)约 800 μm. 头向与尾向相距 500 μm 的两个额切面分别称为前(rostral, r)与后(caudal, c)切面. 在各切面上每间隔 200~500 μm 用微电极穿刺, 首次穿刺的第 1 个记录点的位置在进入 IC 表面约 50 μm 处, 以后每进深约 200 μm 作一次声反应记录. 无关电极放在附近的颞肌. 电极由遥控微驱动器(SM-21, Narishige, 日本)推进, 精度 1 μm. 神经活动经放大器(List-electronic L/M-1, 德国)放大后输到示波器(VC-10, Nihon Kohden, 日本)和专用计算机(DATA 6000 Universal Waveform Analyzer, 美国)上记录下来, 供日后分析. 实验在电磁屏蔽、隔声消音室内进行, 温度 24~26℃.

(ⅲ) 声刺激. 由刺激器(HI-MED 100, 英国)产生电信号(时程 60 ms, 上升、下降各 5 ms), 经功率放大后输入到宽带喇叭(EAS-10TH800B, Matsushita Technic, 日本, 频响范围 3~100 kHz)产生短纯音, 速率 1 $s^{-1}$. 喇叭位于记录的对侧(右侧), 与右耳相距 50 cm. 将 Brüel & Kjaer 4135 传声器(丹麦)放在耳廓位置, 经 B&K 2610 型放大器测出声刺激强度, 以 dB SPL 表示, 0 dB 相当于 20 μPa.

(ⅳ) 数据分析. 系统地改变声刺激频率与强度, 测出听神经元对对侧声反应的频率调谐曲线、特征频率(characteristic frequency, CF)、最低阈值(minimum

threshold, MT, 与 CF 对应的阈值)及在 CF 频率和声刺激强度为阈上 20 dB 时的反应潜伏期. 选择同一动物 IC 的 r, m 与 c 三个额切面上不同位置听神经元的声反应特征进行比较分析.

## 2 结果

对 3 只小鼠下丘共进行 31 次穿刺, 从 256 个位置记录声反应特性, 共得到 152 条完整的多单位频率调谐曲线, 用于 CF, MT, 调谐曲线锐度及潜伏期等分布状况分析.

### 2.1 下丘声反应特征频率的分布

图 1 表示小鼠 IC 听神经元 CF 的分布. 在 r, m 与 c 额切面上沿着电极穿刺路径从背到腹 CF 有明显的变化. 从背皮质区(dorsal cortex, DC)进入中央核区(central nucleus, CN), 随穿刺深度增加 CF 稳定地上升: 在 r 与 m 切面上, 从 4, 8 或 15 kHz 上升到 18, 25 或 30 kHz; 进入 CN 的内区(medial part, M), CF 陡增到 50, 60 或 70 kHz. 离开 CN 进入外皮质区(external cortex, EC), CF 突然下降到 10 或 8 kHz, 甚至更低. 在 m 切面外侧一个仅穿越 EC 区的记录路径上, 约 500 μm 范围内未记录到声反应. 在 c 切面上 CF 随穿刺深度增加有相似的变化; 但 EC 区 CF 变化明显不连续. 从 IC 外侧到内侧方向上, CF 大体上是递增的. 在 IC 最内侧的导管周围灰质与间质核区, 基本上没有检测到声反应.

小鼠 IC 听神经元的 CF 范围为 4~70 kHz. 其中, DC 区为 4~15 kHz, CN(包括 M)区为 10~70 kHz, EC 区为 4~35 kHz. 最低 CF(4 kHz)主要分布在 IC 表面以下 50~200 μm 范围内, 在 2000 μm 以上的 EC 区也有零星分布. 而最高 CF(60~70 kHz)主要分布在 M 区.

### 2.2 下丘的等频线分布

将 IC 各额切面上 CF 相同点相连成为等频线(isofrequency contour), 可显示小鼠 IC 音调拓扑组构基本上呈层状分布模式(图 2). 如图 2 (b)所示, m 切面上 DC 区 8 kHz 等频线较平缓, CN 区等频线斜率随 CF 增大(从 18 到 60 kHz)而明显地上升. r 切面(图 2(a))各频率的等频线斜率比 m 切面的稍大些, c 切面(图 2(c))各等频线斜率较低. EC 区 CF 变化不连续, 分布较分散, 难以画出等频线.

将二维等频线延伸形成三维等频层, 呈现与家鼠 IC 相似的洋葱状构型[9]: 各 CF 等频层按频率高低依次从内向外分布, 高频位于内侧, 低频靠外侧; 各个等频层的斜度从背侧到腹侧和从尾侧到吻侧逐渐增加. 其中, 20~40 与 12~18 kHz 范围等频层占据空间较大, 这与本实验获得的不同 CF 听神经元数量分布较为吻合: CF 在 20~40 kHz 的神经元占 40.2%, 12~18 kHz 占 29.6%, 8~10 kHz 占 17.1%, 大于 45 kHz 为 9.2%, 小于 5 kHz 为 3.9% (神经元总数 $n$ = 152).

### 2.3 下丘神经元最低阈值的分布

图 3 表示 IC 不同额切面上 MT 分布. m 切面 DC 区与 CN 区听神经元 MT 都较低, 分别为(平均值 ± SD, 下同)(8.10 ± 1.55)(神经元数 $n$ = 5)和(8.20 ± 2.70) dB SPL($n$ = 29), 而 EC 区 MT 较高, 为(22.6 ± 9.47) dB SPL ($n$ = 9) (表 1). r 与 c 切面情况与 m 切面相似. c 切面腹侧听神经元的 MT 最大, 为 65 dB SPL. 统计表明, 在 EC 区与 CN 区和 EC 区与 DC 区之间, MT 均值都有显著性差异($t$ 值分别为 6.79 和 4.87, $P$ < 0.001). 在同一等频层上, MT 较低、反应灵敏度较高的听神经元位于等频层的中心.

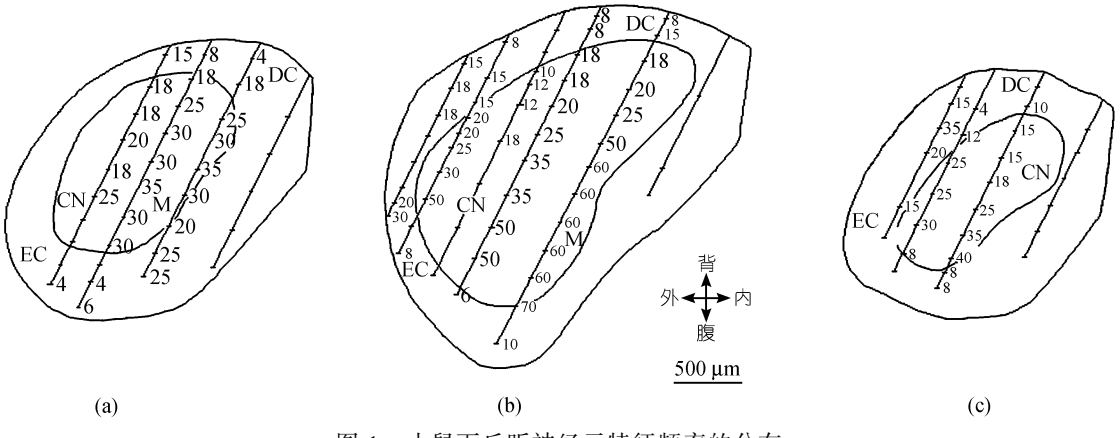


图 1 小鼠下丘听神经元特征频率的分布

(a) r 切面; (b) m 切面; (c) c 切面. DC 示背皮质区, CN 示中央核区, M 示中央核内区, EC 示外皮质区. 单位: kHz

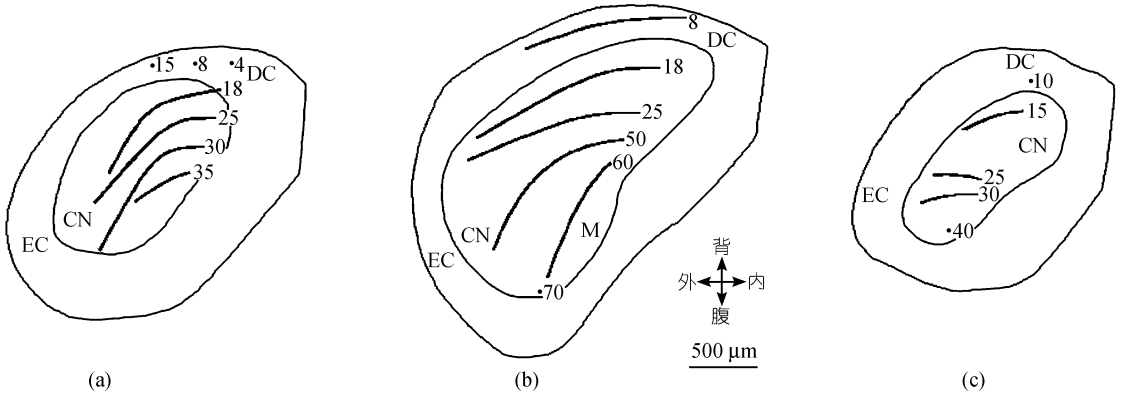


图 2 小鼠下丘听神经元特征频率等频线的分布
(a) r 切面; (b) m 切面; (c) c 切面. 单位: kHz

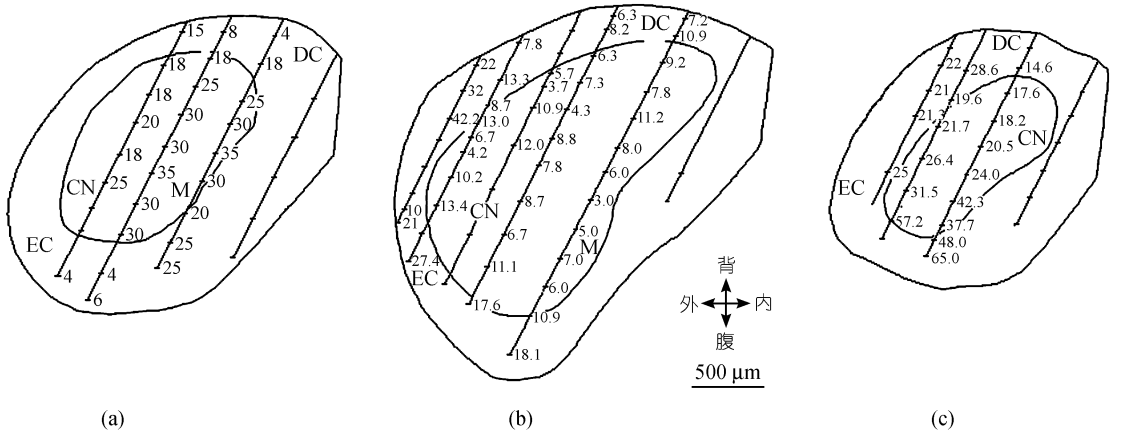


图 3 小鼠下丘听觉神经元最低反应阈值的分布
(a) r 切面; (b) m 切面; (c) c 切面. 单位: dB

表 1 小鼠下丘不同额切面上听神经元最低阈值(dB SPL)的变化(神经元总数 $n$ = 91)

| 额切面 | DC | | CN | | EC | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | MT | $n$ | MT | $n$ | MT | $n$ |
| r | 10.6 ± 1.89 | 4 | 14.2 ± 4.52 | 16 | 31.3 ± 8.13 | 6 |
| m | 8.10 ± 1.55 | 5 | 8.20 ± 2.70 | 29 | 22.6 ± 9.47 | 9 |
| c | 12.2 ± 2.40 | 2 | 22.1 ± 7.77 | 11 | 36.4 ± 16.7 | 9 |

### 2.4 下丘听神经元频率调谐锐度与反应潜伏期的分布

IC 听神经元频率调谐曲线锐度($Q_{10\ dB}$值, 为 CF 除以 MT 以上 10 dB 的频率调谐曲线的频带宽度)范围在 0.48~5.83 之间, 高 CF 或低 MT 神经元的 $Q_{10}$ 值较高(图 4). 表 2 为 IC 不同额切面上听神经元 $Q_{10}$ 均值变化. 在 CN 区中部, 特别是 M 区, 听神经元的 $Q_{10}$ 值较大. 若 CF 相同, $Q_{10}$ 值表示听神经元对该频率的选择性高低. 在各个等频层上, $Q_{10}$ 值较大的听神经元出现在中部, 这与 MT 最低分布区相重叠, 表明位于 IC 中心区的听神经元既有高的听觉灵敏度, 又有较高的频率选择性, 非常适合于进行频率分辨与弱声检测.

位于 DC 区表层的听神经元反应潜伏期最长(约 15.0 ms), 位于 IC 底部的神经元潜伏期最短(约 5.3 ms). 从背侧到腹侧反应潜伏期逐渐变短, 变化率约 0.3 ms/100 μm. IC 不同额切面上听神经元反应潜伏期测值之间看不出有规律性变化.

## 3 讨论

本研究用电生理学方法揭示了小鼠听觉中脑下丘听觉特征频率与反应阈值的分布, 扩展了对哺乳动物下丘功能性组构的了解. 与家鼠 IC 相比[9], 昆明小鼠 IC 听神经元自发活动较低(发放率< 5 神经脉冲/s),

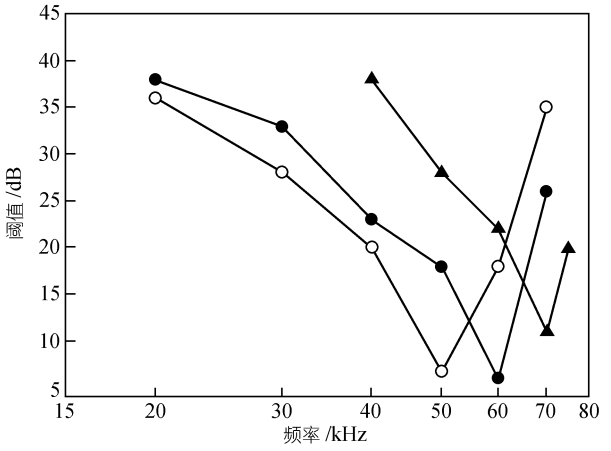


图 4 小鼠下丘中央核 m 额切面 CN 的 M 区 3 个听神经元的频率调谐曲线

○, ●和△分别表示不同神经元. 神经元 CF (kHz), MT (dB)和 $Q_{10\ dB}$ 分别为: ○: 50, 6.7, 3.12; ●: 60, 6.0, 4.61; ▲: 70, 11, 4.67

表 2 小鼠下丘不同额切面上听神经元频率调谐锐度($Q_{10}$ 值)的变化(神经元总数 $n$ = 91)

| 额切面 | DC | | CN | | EC | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $Q_{10}$ | $n$ | $Q_{10}$ | $n$ | $Q_{10}$ | $n$ |
| r | 1.19 ± 0.25 | 4 | 2.27 ± 0.78 | 16 | 1.98 ± 0.52 | 6 |
| m | 1.23 ± 0.48 | 5 | 2.30 ± 1.14 | 29 | 2.07 ± 0.58 | 9 |
| c | 0.72 ± 0.14 | 2 | 1.39 ± 0.34 | 11 | 1.44 ± 0.50 | 9 |

较高的信噪比有利于听觉信息的传递与加工. 与其他实验哺乳动物一样, 小鼠 IC 各分区表征的 CF 范围明显不同, 其中 DC 区与 CN 区的 CF 范围基本上连续分布, 构成小鼠整个的听力范围(4~70 kHz), 并由一组按音调拓扑排列、表征不同 CF 的等频层沿背-腹向弯曲地分布. EC 区 CF 范围较窄(4~35 kHz), 分布不连续. 这暗示着 IC 各分区听觉功能有某种程度分工: DC 区听神经元灵敏度高、潜伏期较长, 主要处理低频声音信息; CN 区占据 IC 大部分空间, 其中央与 M 区听神经元反应最灵敏, CF 较高, 潜伏期较短, CN 区是 IC 接收与加工信息的核心区域; EC 区 CF 范围较窄、反应阈值较高, 可能与听及体感的总合反应有关[12]. 例如, 由鼠崽不安叫声诱发的母鼠舐仔反应, 经常因鼠崽运动产生的体感刺激而增强[9].

如上所述, 小鼠中脑 IC 中央核区的听觉神经元声反应特征相当突出(阈值低、CF 高与潜伏期短), 这个特点与马铁菊头蝠(*Rhinolophus ferrumequinum*)很相似[13]: 飞行中菊头蝠靠回声定位信号中恒频成分的 Doppler 频移确定被掠物运动的相对速度及空间位置, 而主要负责这类重要行为、对恒频调谐的大部分神经元集中分布于 IC 的腹内侧区, 其解剖位置与小鼠 IC 的中央核区相对应.

另外, 与猫等哺乳动物不同, 小鼠听皮层有一分区为超声区(ultrasonic field, UF) [10], 该区听觉神经元的 CF > 40 kHz. 小鼠声行为研究表明, 鼠崽发出的叫声以大于 40 kHz 的高频成分为主, 这暗示小鼠亲子间的声通讯可能以高频信号为主. 可以推测, 这些信号主要由小鼠下丘 CN 区神经元进行特征抽提与加工, 继而传送到皮层进行识别. 目前还不清楚 CF > 40 kHz 的下丘神经元是怎样经内膝体投射到听皮层 UF 区、影响小鼠的声行为的.

**致谢** 本工作为国家自然科学基金资助项目(批准号: 30170250, 39770209).

## 参 考 文 献

1 Aitkin L. The Auditory Midbrain: Structure and Function in the Central Auditory Pathway. New Jersey: Humana, 1985
2 Irvine D R F. Physiology of the auditory brainstem. In: Popper A N, Fay R R, eds. The Mammalian Auditory Pathway: Neurophysiology. New York: Springer, 1992. 153~231
3 Egorova M, Ehret G, Vartanian I, et al. Frequency response areas of neurons in the mouse inferior colliculus. Ⅰ. Threshold and tuning characteristics. Exp Brain Res, 2001, 140: 145~161
4 Yan J, Ehret G. Corticofugal reorganization of the midbrain tonotopic map in mice. Neuroreport, 2001, 12: 3313~3316
5 Pollak G D, Wenstrup J J, Fuzessery Z M. Auditory processing in the mustache bat's inferior colliculus. Trends Neurosci, 1986, 9: 556~561
6 Zook J M, Winer J A, Pollak G D, et al. Topology of the central nucleus of the mustache bat's inferior colliculus: Correlation of single unit properties and neuronal architecture. J Comp Neurol, 1985, 231: 530~546
7 Xia Y F, Qi Z H, Shen J X. Neural representation of sound duration in the inferior colliculus of the mouse. Acta Otolaryngologica, 2000, 120: 638~643
8 张季平, 孙心德, Jen P H S. 大棕蝠听皮层对下丘听神经元频率调谐的调制. 科学通报, 2000, 45: 2636~2641
9 Stiebler I, Ehret G. Inferior colliculus of the house mouse. Ⅰ. A quantitative study of tonotopic organization, frequency representation, and tone-threshold distribution. J Comp Neurol, 1985, 238: 65~76
10 沈钧贤, 徐智敏, 姚煜东. 昆明小鼠听皮层声反应特征的区域分布. 科学通报, 1999, 44: 2205~2209
11 Shen J X, Xu Z M, Yao Y D. Evidence for columnar organization in the auditory cortex of the mouse. Hearing Res, 1999, 137: 174~177
12 Aitkin L M, Kenyon C E, Philpott P. The representation of the auditory and somatosensory systems in the external nucleus of the cat inferior colliculus. J Comp Neurol, 1981, 196: 25~40
13 Pollak G D, Schuller G. Tonotopic organization and encoding features of single units in inferior colliculus of horseshoe bats: Functional implications for prey identification. J Neurophysiol, 1981, 45: 208~226

(2002-04-19 收稿, 2002-07-03 收修改稿)