

## 研究论文

# 小鼠外侧丘系背核神经元对纯音的反应特性

佘文娟<sup>\*\*</sup>, 程艳玲<sup>\*\*</sup>, 杨丹丹, 王欣<sup>\*</sup>

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

**摘要:** 外侧丘系背核(dorsal nuclei of lateral lemniscus, DNLL)是听觉信息上传通路中的神经核团, 是下丘抑制性输入的重要来源。目前对DNLL的研究远不如对听觉低位脑干和中脑下丘那么广泛而深入, 对于小鼠这种常用听觉模式动物的DNLL的研究尚未见报道。本实验在自由声场条件下, 采用单单位细胞外记录的方法, 研究了昆明小鼠(*Mus musculus*, Km) DNLL神经元对纯音的声反应特性。实验结果显示, 小鼠DNLL神经元对纯音刺激的发放模式分为瞬时型(36%)与长时型(64%)两类, 两类发放模式对应的特征频率和阈值存在显著性差异。DNLL神经元的频率调谐曲线(frequency tuning curves, FTCs)均为开放的“V”型, 瞬时型与长时型神经元的FTC无显著差异, 但长时型神经元中持续型神经元的FTC明显较起始-持续型和暂停型神经元更为锐化。与猫等动物不同, 小鼠DNLL神经元的特征频率与深度之间无线性相关( $P > 0.05$ ), 未见背腹轴音频拓扑结构。DNLL神经元的放电率-强度函数(rate-intensity function, RIF)分为单调型(60%)、饱和型(31%)和非单调型(8%)。三种RIF均包含瞬时型与长时型发放模式, 瞬时型神经元对应的动态范围显著小于长时型( $P < 0.01$ ), 这可能与瞬时型神经元接受较多的抑制性输入有关。小鼠DNLL神经元存在多样的发放模式和声强编码方式, 源于其接受多个听觉核团的投射, 其在听觉信息的处理过程中发挥不同的作用。

**关键词:** 外侧丘系背核; 发放模式; 频率调谐; 强度调谐; 小鼠

**中图分类号:** Q6; R338

## Response characteristics of neurons to tone in dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the mouse

SI Wen-Juan<sup>\*\*</sup>, CHENG Yan-Ling<sup>\*\*</sup>, YANG Dan-Dan, WANG Xin<sup>\*</sup>

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

**Abstract:** The dorsal nucleus of lateral lemniscus (DNLL) is a nucleus in the auditory ascending pathway, and casts inhibitory efferent projections to the inferior colliculus. Studies on the DNLL are less than studies on the auditory brain stem and inferior colliculus. To date, there is no information about response characteristics of neurons in DNLL of albino mouse. Under free field conditions, we used extracellular single unit recording to study the acoustic signal characteristics of DNLL neurons in Kunming mice (*Mus musculus*). Transient (36%) and ongoing (64%) firing patterns were found in 96 DNLL neurons. Neurons with different firing patterns have significant differences in characteristic frequency and minimal threshold. We recorded frequency tuning curves (FTCs) of 87 DNLL neurons. All of the FTCs exhibit an open “V” shape. There is no significant difference in FTCs between transient and ongoing neurons, but among the ongoing neurons, the FTCs of sustained neurons are sharper than those of onset plus sustained neurons and pauser neurons. Our results showed that the characteristic frequency of DNLL neurons of mice was not correlated with depth, support-

Received 2015-07-08 Accepted 2015-12-21

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31000493), the Natural Science Foundation of Hubei Province of China (No. 2014CFB655), the Scientific Research Project Fund for Youth Teachers from Central China Normal University (No. CCNU15A05035) and the Fund of Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology, China (No. GRIB201508).

<sup>\*\*</sup>These authors contributed equally to this work.

<sup>\*</sup>Corresponding author. Tel: +86-27-67868508; E-mail: xueyue312@aliyun.com

ing the view that the DNLL of mouse has no frequency topological organization through dorsal-ventral plane, which is different from cats and some other animals. Furthermore, by using rate-intensity function (RIF) analysis the mouse DNLL neurons can be classified as monotonic (60%), saturated (31%) and non-monotonic (8%) types. Each RIF type includes transient and ongoing firing patterns. Dynamic range of the transient firing pattern is smaller than that of ongoing firing ones ( $P < 0.01$ ), suggesting that the inhibitory inputs may underlie the formation of transient firing pattern. Multiple firing patterns and intensity coding of DNLL neurons may derive from the projections from multiple auditory nuclei, and play different roles in auditory information processing.

**Key words:** dorsal nuclei of lateral lemniscus; firing pattern; frequency tuning; intensity tuning; mouse

声音由外周听觉系统接受后,在各级听觉中枢核团进行抽提、加工和整合,最终到达听皮质并形成听觉感知<sup>[1]</sup>。外侧丘系(lateral lemniscus, LL)是构成听觉中枢通路的核团之一,根据其结构和功能特点,可将其分为3个亚核:外侧丘系背核(dorsal nuclei of lateral lemniscus, DNLL)、外侧丘系中间核(intermediate nuclei of lateral lemniscus, INLL)和外侧丘系腹核(ventral nuclei of lateral lemniscus, VNLL)。其中, DNLL位于下丘(inferior colliculus, IC)尾部的下面,接受耳蜗前腹核(anteroventral division of cochlear nucleus, AVCN)和上橄榄外侧核(lateral superior olive, LSO)、同侧的上橄榄内侧核(medial superior olive, MSO)及对侧 DNLL 的兴奋或抑制性输入<sup>[2-4]</sup>,并向双侧 IC 和对侧 DNLL 发出投射<sup>[5, 6]</sup>。免疫细胞化学的研究表明, DNLL 神经元中含有  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)和谷氨酸脱羧酶,是听觉中脑重要的抑制性输入来源<sup>[7, 8]</sup>。神经药理学<sup>[9, 10]</sup>、行为学<sup>[11]</sup>及电生理<sup>[7]</sup>的研究显示, DNLL 神经元在双耳时间差和双耳强度差敏感,双耳信息加工处理及声源定位方面起到重要作用。

分析 DNLL 神经元的声反应特性,不仅有助于了解低位听觉核团对声信号的加工过程,还有助于分析声信号特征检测的形成机制。DNLL 在体电生理研究已经在猫<sup>[12, 13]</sup>,大鼠<sup>[14-16]</sup>,沙鼠<sup>[17]</sup>,兔<sup>[18]</sup>和几种回声定位蝙蝠如胡须蝠<sup>[19, 20]</sup>、大棕蝠<sup>[7]</sup>、菊头蝠<sup>[21]</sup>以及墨西哥游离尾蝠<sup>[22, 23]</sup>中进行,不同物种 DNLL 神经元的音频组构及声反应特性具有差异。小鼠作为常用听觉研究实验动物,其 DNLL 的声反应特性尚未见报道,声反应特性与声信号编码之间的联系也不清楚。本实验在自由声场条件下,采用单单位细胞外微电极记录方法,研究小鼠 DNLL 神经元的声反应特性,并与其它物种进行比较,从而进一步了解 DNLL 在听觉信息处理中的功能。

## 1 材料和方法

**1.1 动物手术和记录电极制备** 本实验采用 28 只健康的昆明小鼠(*Mus musculus*, Km)为实验动物,体重 20~25 g,雌雄不拘,购自湖北省预防医学科学院实验动物中心。整个动物实验过程获得学校伦理委员会的批准,参照 NIH 实验动物护理和使用条例进行。手术前经腹腔注射麻醉试剂戊巴比妥钠(60~90 mg/kg),切开头顶正中的头皮,除去表面结缔组织及薄层肌肉,暴露颅骨,用脱脂棉蘸取 95% 的医用酒精反复擦拭,使颅骨表面脱脂。用瞬凝胶和牙科水泥将长约 1.6 cm 的平头铁钉固定于颅顶,以便固定动物头部。参照小鼠脑立体定位图谱<sup>[24]</sup>,用金属钢针于 DNLL 所在位置(人字缝后,距前囟 4.60~4.96 mm,中线旁开 1.8~2.0 mm 处)的颅骨处钻一个直径 200~500  $\mu\text{m}$  的小孔,并挑破脑膜,供金属钨电极垂直插入。将动物移至无回声屏蔽室内(室温 25~28  $^{\circ}\text{C}$ ,本底噪声 29 dB SPL)并进行固定。实验过程中如动物清醒,可经腹腔补注适量 1.0% 的戊巴比妥钠溶液,使动物维持在浅麻醉状态。

记录神经元反应并灼烧标记位点的金属电极由一对钨金属电极(FHC Inc., Bowdoin, ME, USA)组成,尖端直径小于 10  $\mu\text{m}$ ,两极间距为 50  $\mu\text{m}$ ,单根电极阻抗为 1~4 M $\Omega$ 。

**1.2 声刺激及神经元反应的记录** 声刺激于自由声场条件下给出,超声喇叭(AKG model CK50,直径 1.5 cm,频率响应 1~100 kHz)固定在电极记录侧的对侧(与矢状缝成 60 $^{\circ}$ 夹角),并保证其与动物耳部处于同一水平线上。通过计算机设定给声频率和强度,由 TDT 系统(Tucker-Davis Technology system 3, Alachua, USA)给出声刺激信号。声刺激为时程 40 ms、起落时间 5 ms 的纯音,刺激频率为 2 次/秒。用声级计(B & K-2610, Denmark)和 1/4 英寸麦克风(4936, B & K)校正声刺激系统,超声喇叭给声强度以声压水平(dB SPL)表示,0 dB 相

当于 20  $\mu\text{Pa}$ 。

钨电极由液压微电极推进器 (Kopf 640, USA) 从 DNLL 正上方钻孔处垂直推进, 经过 IC 进入 DNLL 前, 会有明显的自发放电, 且神经元的特征频率 (characteristic frequency, CF) 发生显著的变化。通过示波器监视和监听器监听神经元的放电, 找到声敏感性神经元并记录微电极推进器上所示深度。声刺激引发的生物电信号由钨电极引导至放大器 (ISO-80, WPI, USA) 放大, 并联输出至示波器 (PM3084, FLUKE, USA) 与监听装置 (AM9, GRASS, USA), 再经模 / 数 (A/D) 转换进入计算机采样, 声刺激引发的反应叠加、转换, 以刺激后时间直方图 (post-stimulus-time histograms, PSTHs) 的形式储存, 供进一步分析处理。实验中, 先用 40 ms 纯音找到声敏感性神经元, 再调节声刺激信号的声强和频率, 测量神经元的最小阈值 (minimal threshold, MT)、CF 及频率调谐曲线 (frequency tuning curves, FTCs)。由 MT 起始, 以 10 dB 幅度递增声信号的强度, 测量神经元的放电率 - 强度函数 (rate-intensity functions, RIFs)。

**1.3 数据统计与分析** 根据神经元反应的 PSTHs,

获得神经元在各频率、声强刺激下对应的发放数、首次发放潜伏期 (first spike latency, FSL) 等数据。根据神经元的 RIF 计算该神经元的动态范围 (dynamic range, DR), 即发放数介于最小发放数增加 10% 到最大发放数降低 10% 之间所对应的强度范围。数据分析、作图由 Origin 7.5 及 SigmaPlot 10.0 软件完成。本文数据用 *t*-test 和 one-way ANOVA 验证数据是否具有显著性差异。

**1.4 组织学检验** 实验结束后, 通直流电 (0.1 mA, 10 s) 灼烧记录位点。迅速对麻醉动物进行心脏灌流, 并用 4% 的多聚甲醛 (溶于 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 7.3) 固定 2~3 h。然后取出脑组织, 于 4% 多聚甲醛溶液中浸泡 12 h, 进行后固定。次日用振荡切片机 (VT1000S, Leica Co., USA) 切片, 片厚 40  $\mu\text{m}$ 。经甲苯胺蓝染色制成装片。在显微镜 (Leica, DM4000B, Germany) 下观察灼烧位点并照像, 对照小鼠脑立体定位图谱以确认记录的神经元位于 DNLL。

**2 结果**

本实验共记录到 96 个 DNLL 神经元, 这些神

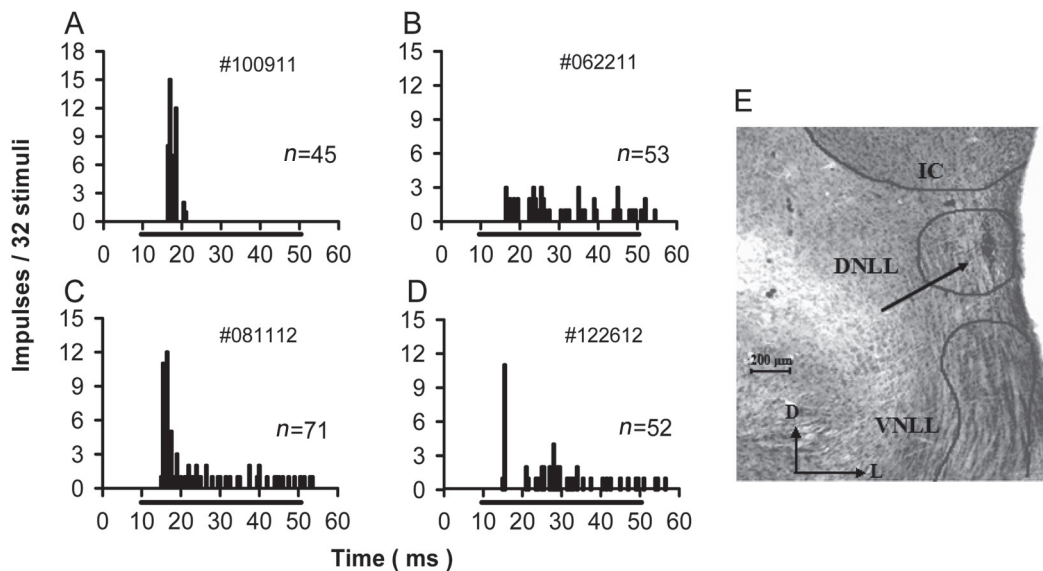


图 1. 小鼠 DNLL 神经元的不同发放模式以及 DNLL 核团的尼氏染色

Fig. 1. Different types of discharge pattern of DNLL neurons and Nissl's staining of the coronal section of DNLL neurons and surrounding tissue of mouse. A: transient (onset); B: sustained; C: onset plus sustained; D: pauser. The recording depths ( $\mu\text{m}$ ), minimal thresholds (MTs, dB SPL) and characteristic frequencies (CFs, kHz) of four neurons are 2 255, 27.5, 13.0 (A); 2 317, 38.0, 9.5 (B); 2 518, 50.0, 22.0 (C); 2 525, 59.0, 12.0 (D) respectively. The serial number of each representative neuron is located on the top of PSTH in each panel. The bar under the abscissa represents 40 ms acoustic stimulus. *n* is spike number. E: Nissl's staining of the coronal section of DNLL neurons and surrounding tissue of mouse. Black arrow points to the trace burnt by tungsten electrode. D: dorsal; L: lateral. Scale bar is 200  $\mu\text{m}$ .

神经元的深度范围为 2 137~2 717 ( $2\ 388.3 \pm 156.2$ )  $\mu\text{m}$  ; CF 范围为 7.0~34.0 ( $18.1 \pm 6.6$ ) kHz ; MT 范围为 1.5~75.5 ( $41.3 \pm 18.6$ ) dB SPL。对所有 DNLL 神经元的 RIF 进行了测量, 对其中的 87 个 DNLL 神经元的 FTC 进行了测量。

### 2.1 小鼠 DNLL 神经元的发放模式

DNLL 神经元在 CF 声刺激下表现出两类发放模式: 瞬时型 (transient, 35/96, 36%) 和长时型 (ongoing, 61/96, 64%)。瞬时型只在声刺激起始部分有发放, 亦称为起始型 (onset); 长时型的发放持续时间与声刺激时程相近, 可分为 3 种: 持续型 (sustained, 25/96, 26%)、起始 - 持续型 (onset plus sustained, 19/96, 20%) 和暂停型 (pauser, 17/96, 18%)<sup>[25]</sup>。不同发放模式的代表性神经元如图 1A~D 所示。

### 2.2 不同发放模式神经元的声反应特性

为分析听神经元的发放模式是否与声反应特性相关, 我们对不同发放模式神经元的声反应特性进行测量和比较。瞬时型神经元的深度与长时型神经元的深度无显著性差异 (unpaired *t*-test,  $P > 0.05$ ) (图 2A); 瞬时型 DNLL 神经元的 CF 高于长时型 DNLL 神经元的 CF (unpaired *t*-test,  $P < 0.05$ ) (图 2B); 瞬时型 DNLL 神经元的 MT 高于长时型 DNLL 神经元的 MT (unpaired *t*-test,  $P < 0.01$ ) (图 2C)。

FSL 是评价神经元声反应的时间特性的指标, 某些方面比神经元发放数有更好的稳定性<sup>[26-28]</sup>。CF、MT+10 dB 声刺激时, 小鼠 DNLL 神经元的 FSL 分布范围为 3.5~20.0 ( $8.6 \pm 3.2$ ) ms, 其中 84% 低于 11 ms (图 3A)。从 MT 开始, 以 10 dB 的幅度

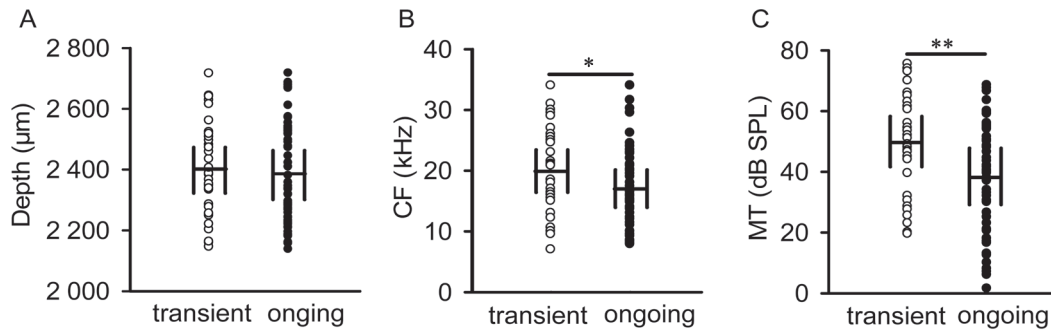


图 2. 瞬时型和长时型神经元的深度、特征频率和最小阈值的比较

Fig. 2. Depth, characteristic frequency (CF) and minimal threshold (MT) of transient and ongoing DNLL neurons. Black unfilled circles and filled circles represent the distributions of transient and ongoing DNLL neurons' depth (A), CF (B) and MT (C) respectively. Horizontal lines and vertical lines represent the mean and half a standard deviation respectively. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

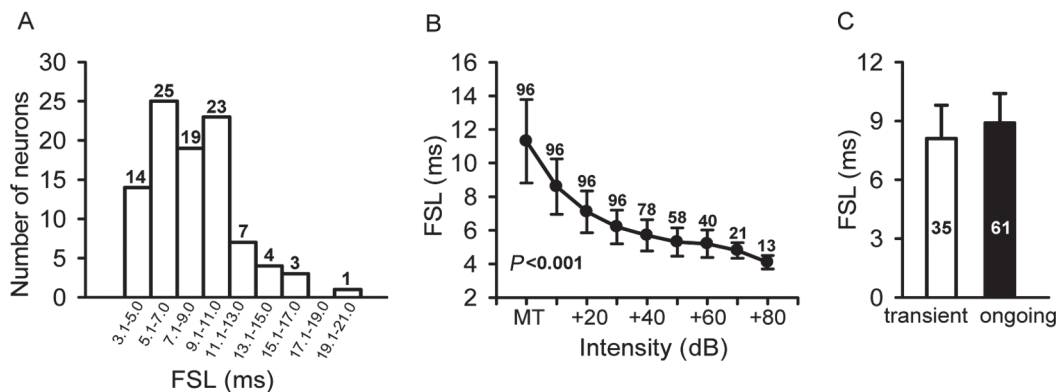


图 3. DNLL 神经元的首次发放潜伏期特性

Fig. 3. First spike latency (FSL) feature of DNLL neurons. A: Histogram shows the distribution of FSL at MT+10 dB in the DNLL neurons. The number above the columns is the number of neurons. B: Point plot shows the FSL varied at the different intensity, with the number of neurons on each data point.  $P < 0.001$ , one-way ANOVA. C: Histogram shows the distribution of FSL at MT+10 dB in transient and ongoing DNLL neurons. The number in the columns is the number of neurons. The bars represent half a standard deviation.

递增声强，DNLL神经元的FSL有逐渐缩短的趋势(图3B, one-way ANOVA,  $P < 0.001$ )。瞬时型DNLL神经元与长时型DNLL神经元的FSL无显著性差异(图3C, unpaired  $t$ -test,  $P > 0.05$ )。

进一步比较长时型DNLL神经元3种发放模式的深度、MT、CF和FSL，可见深度和CF在3种发放模式之间不存在显著性差异(unpaired  $t$ -test,  $P > 0.05$ )，MT和FSL在不同发放模式之间有显著性差异(表1)。持续型神经元的MT低于起始-持续型神经元(unpaired  $t$ -test,  $P < 0.01$ )和暂停型神经元(unpaired  $t$ -test,  $P < 0.001$ )；暂停型神经元的FSL短于持续型神经元(unpaired  $t$ -test,  $P < 0.001$ )和起始-持续型神经元(unpaired  $t$ -test,  $P < 0.001$ )。

### 2.3 小鼠 DNLL 神经元的音频组构和频率调谐

对频率的分析是听神经元的重要功能，本实验对小鼠DNLL神经元的CF和FTC进行了测量，并观察是否存在音频拓扑组构。小鼠DNLL神经元的CF在7.0~34.0 (18.1 ± 6.6) kHz范围内，其中81% (78/96)分布在10~30 kHz之间(图4A)。DNLL神经元的CF与深度之间无线性相关(图4B, linear regression,  $P > 0.05$ )，未见背腹轴音频拓扑组构。DNLL神经元的CF与MT之间无线性相关(图4C, linear regression,  $P > 0.05$ )，未见频率与声强敏感性之间存在对应关系。

本实验记录了87个DNLL神经元的FTC，全部为开放的“V”型。其中多数(79/87, 91%)为单峰型，少数(8/87, 9%)为双峰型(图4D~E)。为评价DNLL神经元FTC的锐化程度，我们采用了 $Q_{10}$ 值和 $Q_{30}$ 值，分别为CF除以阈上10 dB和30 dB

的带宽，数值越大反映FTC越锐化。单峰型神经元FTCs的 $Q_{10}$ 值介于0.3~7.4 (2.6 ± 1.5)之间， $Q_{30}$ 值介于0.3~2.3 (0.9 ± 0.5)之间；双峰型神经元FTCs的 $Q_{10}$ 值介于1.2~8.6 (4.0 ± 2.2)之间， $Q_{30}$ 值介于0.5~2.9 (1.5 ± 0.8)之间。双峰型神经元高频峰的 $Q_{10}$ 和 $Q_{30}$ 值明显高于单峰型神经元的 $Q_{10}$ 和 $Q_{30}$ 值(unpaired  $t$ -test,  $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ , 图4F)，说明DNLL神经元FTC的形状与锐化程度相关。记录了FTC的87个小鼠DNLL神经元中，瞬时型神经元的 $Q_{10}$ 高于长时型神经元的 $Q_{10}$ (unpaired  $t$ -test,  $P < 0.05$ )，瞬时型神经元的 $Q_{30}$ 和长时型神经元的 $Q_{30}$ 未见显著性差异(unpaired  $t$ -test,  $P > 0.05$ , 图4G)。进一步比较长时型中的3种发放模式的频率调谐，发现持续型神经元的 $Q_{10}$ 高于起始-持续型神经元的 $Q_{10}$ (unpaired  $t$ -test,  $P < 0.01$ )和暂停型神经元的 $Q_{10}$ (unpaired  $t$ -test,  $P < 0.05$ )，持续型神经元的 $Q_{30}$ 高于起始-持续型神经元的 $Q_{30}$ (unpaired  $t$ -test,  $P < 0.001$ )和暂停型神经元的 $Q_{30}$ (unpaired  $t$ -test,  $P < 0.01$ , 图4H)，这说明DNLL神经元的发放模式与频率调谐能力存在相关性。

### 2.4 小鼠DNLL神经元的强度调谐

本实验记录了96个DNLL神经元的RIF。参照先前的标准<sup>[29, 30]</sup>，声强增加时发放数持续增加为单调型RIF(图5A)；声强增加时发放数不变或下降<25%为饱和型RIF(图5B)；声强增加时发放数下降≥25%为非单调型RIF(图5C)。小鼠DNLL神经元中，单调型、饱和型、非单调型RIF的比例分别为60% (58/96)、31% (30/96)、8% (8/96)。低声强刺激下，三种RIF类型DNLL神经元的深度、

表1. 3种长时型神经元的深度、CF、MT和FSL的比较  
Table 1. Depth, CF, MT and FSL of three types of ongoing DNLL neurons

Type		Sustained	Onset plus sustained	Pauser
	<i>n</i>	25	19	17
Depth (μm)	Range	2 160–2 717	2 137–2 671	2 156–2 686
	Mean ± SD	2 424.9 ± 153.2 <sup>(1)</sup>	2 359.9 ± 152.0 <sup>(2)</sup>	2 344.6 ± 155.8 <sup>(3)</sup>
CF (kHz)	Range	8.0–30.2	7.9–34.0	8.5–23.4
	Mean ± SD	16.9 ± 6.2 <sup>(4)</sup>	18.0 ± 7.3 <sup>(5)</sup>	16.1 ± 4.6 <sup>(6)</sup>
MT (dB SPL)	Range	6.0–63.5	7.0–67.5	10.0–68.5
	Mean ± SD	26.8 ± 15.8 <sup>(7)</sup>	41.9 ± 18.0 <sup>(8)</sup>	47.0 ± 15.8 <sup>(9)</sup>
FSL (ms)	Range	7.0–20.0	5.5–14.0	3.5–10.5
	Mean ± SD	10.3 ± 2.7 <sup>(10)</sup>	9.3 ± 2.7 <sup>(11)</sup>	6.2 ± 1.9 <sup>(12)</sup>

CF, characteristic frequency; MT, minimal threshold; FSL, first spike latency. Unpaired  $t$ -tests show no significant difference among (1), (2), (3) and (4), (5), (6), significant difference between (7) and (8) at  $P < 0.01$ ; (7) and (9), (10) and (12), (11) and (12) all at  $P < 0.001$ . *n* is number of neurons.

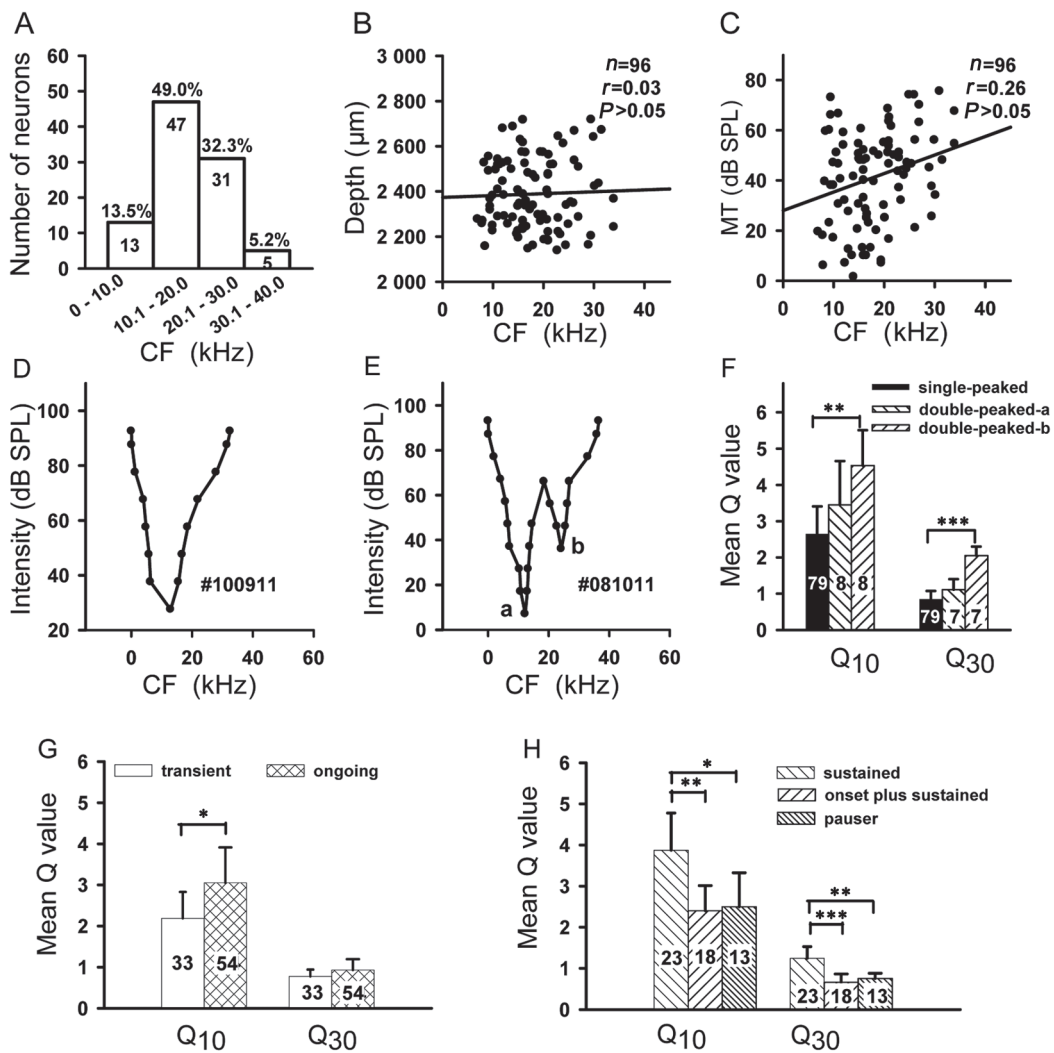


图 4. DNLL 神经元特征频率的分布，基本参数之间的相关性和频率调谐特性

Fig. 4. Distributions of characteristic frequencies (CFs, A), the relationship between CF and depth or CF and MT (B and C), and the characteristics of frequency tuning curve (FTC, D–H) in the DNLL neurons. Figures above the columns represent the percentages and figures in columns represent the number of neurons (A). Solid line represents linear regression line;  $n$  is the number of neurons;  $r$  is correlation coefficient;  $P$  is significance level (B and C). There are two kinds of FTCs as single-peaked (D) and double-peaked (E). The peak in low frequency was marked as “a” and the peak in high frequency was marked as “b”. Mean  $Q_{10}$  and  $Q_{30}$  are shown in column diagram and compared with each other (F–H). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ . The number in the columns is the number of neurons. The bars represent half a standard deviation.

MT、CF、FSL 均无差异 (unpaired  $t$ -test, 均  $P > 0.05$ )。随着声强从阈值增至高强度，单调型神经元的 FSL 从  $(10.9 \pm 5.0)$  ms 缩短到  $(4.5 \pm 1.4)$  ms (one-way ANOVA,  $P < 0.001$ )；饱和型神经元的 FSL 从  $(12.6 \pm 5.5)$  ms 缩短到  $(5.0 \pm 2.2)$  ms (one-way ANOVA,  $P < 0.001$ )；非单调型神经元的 FSL 从  $(11.1 \pm 7.1)$  ms 缩短到  $(5.2 \pm 2.3)$  ms，但因神经元数量较少 ( $n = 8$ )，未见统计学差异 (one-way ANOVA,  $P > 0.05$ )。随着声强从阈值增至高强度，单调型和饱和型神经元的发放

持续时间，即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分别延长  $(9.4 \pm 3.3)$  ms 和  $(10.7 \pm 3.6)$  ms (one-way ANOVA, 均  $P < 0.001$ )；非单调型神经元的发放持续时间未见规律性变化 (one-way ANOVA,  $P > 0.05$ )。非单调型神经元在刺激声强从最佳声强 (最多发放数对应的声强) 增至高强度的过程中，发放持续时间的平均值从  $24.2$  ms 缩短至  $19.5$  ms，可见非单调性的形成主要和发放持续时间缩短有关。以最佳声强下发放持续时间的中

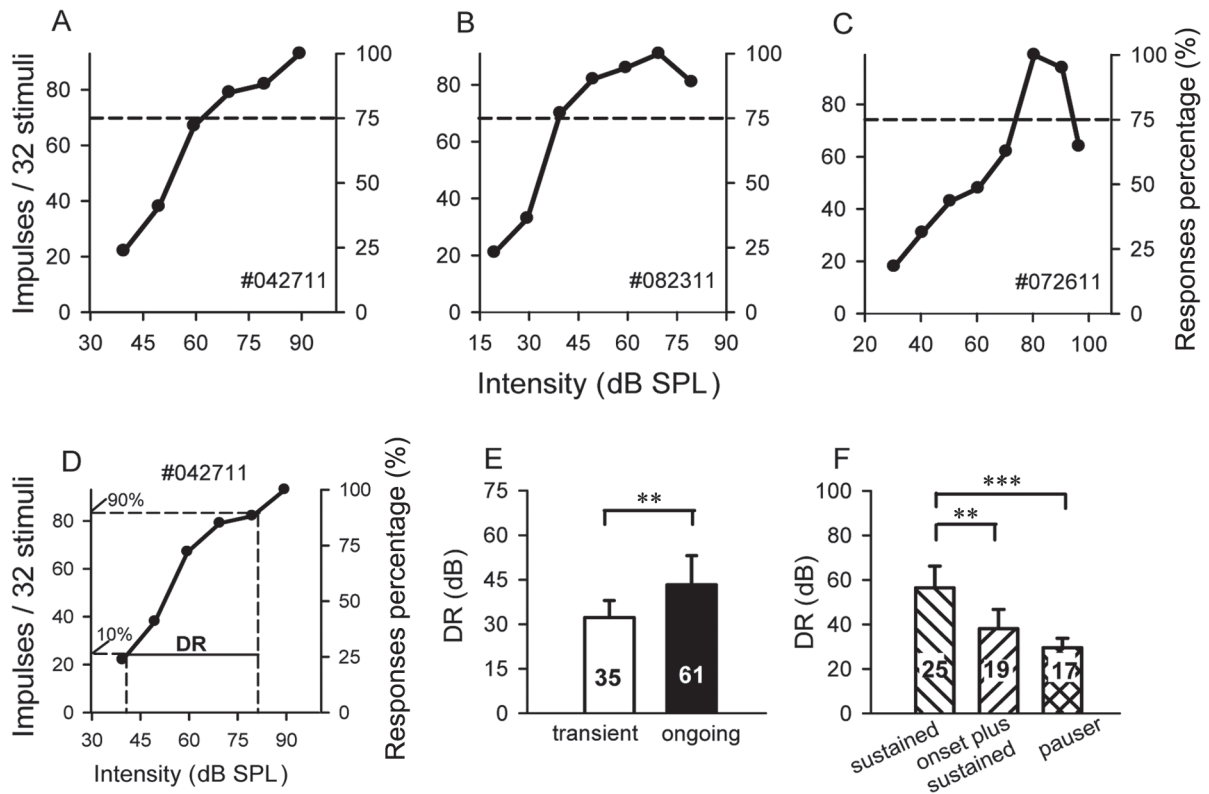


图 5. DNLL神经元的放电率-强度函数类型及动态范围值

Fig. 5. Rate-intensity function (RIF) types of representative DNLL neurons and dynamic range (DR) in different DNLL neurons. *A*: Monotonic RIF; *B*: Saturated RIF; *C*: Non-monotonic RIF. The depths ( $\mu\text{m}$ ), MTs (dB SPL), and CFs (kHz) of three neurons are 2 159, 39.5, 18.0 (*A*); 2 276, 19.5, 7.0 (*B*); 2 516, 30.5, 11.0 (*C*) respectively. *D*: The model diagram of DR. *E*: Histogram shows differences of DR between transient and ongoing DNLL neurons. *F*: Histogram shows differences of DR in three ongoing discharge patterns of DNLL neurons. The bars represent half a standard deviation. Numbers in the columns represent the number of neurons (*E* and *F*). \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ .

点为准将非单调型神经元的发放持续时间分为前后两部分，高强度下前半部分的平均发放数为最佳声强下平均发放数的 80%，高强度下后半部分的平均发放数为最佳声强下平均发放数的 30%，后半部分的发放数相对前半部分更为减少 (paired  $t$ -test,  $P < 0.05$ )。

我们观察 DNLL 神经元强度调谐能力和发放模式之间的联系。瞬时型 DNLL 神经元中，单调型、饱和型、非单调型 RIF 的比例分别为 63%、26%、11%；长时型 DNLL 神经元中，单调型、饱和型、非单调型 RIF 的比例分别为 59%、34%、7%，两类发放模式的神经元中不同 RIF 类型的比例未见明显差异。为进一步比较两者的强度调谐能力，根据神经元的 RIF 计算该神经元的 DR，即发放数介于最小发放数增加 10% 到最大发放数降低 10% 之间所对应的强度范围 (图 5D)。DR 值越小说明神经元的

强度感受范围越窄，强度调谐范围越集中。小鼠 DNLL 神经元的 DR 在 8.1~86.9 ( $39.2 \pm 17.9$ ) dB 范围内，瞬时型 DNLL 神经元的 DR 小于长时型 DNLL 神经元的 DR (unpaired  $t$ -test,  $P < 0.01$ ) (图 5E)。长时型 DNLL 神经元中，持续型发放模式的 DR 大于起始-持续型发放模式的 DR (unpaired  $t$ -test,  $P < 0.01$ ) 和暂停型发放模式的 DR (unpaired  $t$ -test,  $P < 0.001$ ) (图 5F)。

### 3 讨论

#### 3.1 小鼠 DNLL神经元的发放模式与反应特性

以往研究表明，DNLL 接受多种低级听觉核团的兴奋性与抑制性神经输入，而这些神经输入在听觉信息传递中存在多种通路，不同通路对信息的加工整合方式不同，以致形成了多样化的发放模式 [14, 15 31]。本研究中，小鼠 DNLL 神经元的发放

模式分为瞬时型和长时型。瞬时型 DNLL 神经元的发放模式 (图 1A) 与上橄榄内侧核神经元相似<sup>[31, 32]</sup>, 长时型 DNLL 神经元的发放模式 (图 1B, C, D) 与耳蜗核和上橄榄外侧核神经元相似<sup>[31, 33]</sup>。这是由于 DNLL 神经元接受了双侧耳蜗前腹核和上橄榄外侧核, 以及同侧的上橄榄内侧核的直接投射<sup>[2-4]</sup>。小鼠 DNLL 和大鼠 DNLL 相比, 起始型发放模式所占比例较小, 而暂停型发放模式所占比例较大<sup>[14, 15]</sup>。胡须蝠的 DNLL 神经元中梳型 (chopping pattern) 发放模式高达 58%, 且多为对侧给声兴奋、同侧给声抑制的 EI (excitatory/inhibitory) 类型<sup>[34]</sup>。大棕蝠 DNLL 中梳型发放模式占 12%, 且在单耳刺激下都表现为单调型神经元<sup>[7]</sup>。本实验中小鼠 DNLL 神经元中仅有 10% (10/96) 的持续型发放模式神经元表现为梳型。神经元的发放模式可能传递某种时间变量, 不同发放模式意味着神经元对声信号的不同参数进行检测, 其物种上的差异与动物的生存环境有关<sup>[35]</sup>。

本实验结果还显示, 小鼠 DNLL 中瞬时型与长时型神经元的 CF、MT 均表现出显著性差异, 其中瞬时型神经元的 CF 高于长时型神经元的 CF ( $P < 0.05$ ) (图 2B), 瞬时型神经元的 MT 高于长时型神经元的 MT ( $P < 0.01$ ) (图 2C)。大鼠脑片的细胞内记录显示, 去极化电流使瞬时型与长时型 DNLL 神经元产生相似的兴奋性突触后电位, 这两类神经元的膜特性一致, 推测在体记录出现不同的发放模式是由声诱发的不同抑制性输入造成的<sup>[25, 36, 37]</sup>。胡须蝠 DNLL 的药理学实验支持这一推测, 注射 GABA<sub>A</sub> 递质阻断剂后, 瞬时型发放模式向长时型发放模式转变, 伴有 CF 和 MT 的改变<sup>[38]</sup>。本研究中小鼠 DNLL 神经元不同发放模式的形成, 以及不同发放模式的神经元在 CF、MT 上的差异, 可能由该神经元接受的抑制性输入和来自低位核团的上行兴奋性输入在特定时间和程度上整合而成, 并非神经元的固有属性。

小鼠 DNLL 神经元在 CF、MT+10 dB 声刺激下的 FSL 为  $(8.6 \pm 3.2)$  ms, 明显短于本实验室在相同条件下测得的小鼠 IC 神经元的 FSL [ $(20.4 \pm 6.2)$  ms, 数据待发表], 且随着声刺激强度的上升, FSL 有逐渐缩短的趋势 (图 3B, one-way ANOVA,  $P < 0.001$ ), 声强最大时 FSL 仅为  $(4.1 \pm 0.4)$  ms。这使得来自 DNLL 的抑制性输入可以较快地产生, 并通过神经纤维投射到 IC, 对 IC 神经元的声反应

特性发挥重要调制作用。本研究下一步的实验内容主要围绕 DNLL 对 IC 神经元声反应特性的影响进行。

### 3.2 小鼠 DNLL 的音频组构及频率调谐特点

本实验显示小鼠 DNLL 神经元的 CF 与深度无相关性, 未发现背腹音频组构。Aitkin 等发现猫 DNLL 神经元中的低频神经元位于 DNLL 背部, 高频神经元位于 DNLL 腹部<sup>[12, 13]</sup>, 呈背腹音频组构。这种频率分布特点在胡须蝠 DNLL 中也存在<sup>[19, 20]</sup>。然而, 对大棕蝠 DNLL 神经元的研究却未发现类似的现象<sup>[7]</sup>。菊头蝠的 DNLL 神经元从外侧到中央, 频率逐渐升高<sup>[39]</sup>。给大鼠 IC 不同区域注射微量追踪剂后发现, 向 IC 高频区投射的 DNLL 神经元位于 DNLL 的外周, 向 IC 低频区投射的 DNLL 神经元位于 DNLL 的中央<sup>[40, 41]</sup>, 呈洋葱样标记。大鼠 DNLL 神经元的电生理研究显示较松散的音频组构: 高频神经元位于 DNLL 的外周, 低频神经元位于 DNLL 的中央<sup>[14]</sup>。上述结果提示 DNLL 核团的音频组构存在物种差异, 且 DNLL 核团的音频组构不像 IC 核团那样明显而规则。本研究结果未显示小鼠 DNLL 存在背腹音频组构 (图 4B), 但小鼠可能存在背腹轴以外的音频组构, 或因实验方法的限制未能发现其音频组构在背腹轴上的分布。

小鼠 DNLL 神经元的 FTC 均为开放的“V”型, 其中多数 (79/87, 91%) 为单峰型, 少数 (8/87, 9%) 为双峰型, 双峰 FTC 可能参与复杂声的辨别以及多个声信号的联合敏感<sup>[42]</sup>。Q<sub>10</sub> 值介于 0.3~8.6 ( $2.7 \pm 1.6$ ) 之间, Q<sub>30</sub> 值介于 0.3~2.9 ( $0.9 \pm 0.5$ ) 之间。和蝙蝠 DNLL 相比, 小鼠 DNLL 神经元的 FTC 明显较宽, 表现出较广的频率响应范围和较弱的频率选择性<sup>[15]</sup>。和小鼠 IC 神经元的 FTC 相比, 小鼠 DNLL 神经元的 FTC 在宽度上无明显差异, 形式上较为单一<sup>[43]</sup>。药理学研究显示, 微电泳注射 GABA 能递质阻断剂, 可使 IC 神经元的 FTC 明显变宽<sup>[44, 45]</sup>, DNLL 作为 IC 主要的上行 GABA 能输入来源, 可能起到锐化 IC 神经元 FTC 并增强频率选择性的作用。

### 3.3 小鼠 DNLL 神经元的强度调谐特点及可能的神经机制

强度调谐被认为是神经元突触水平兴奋性与抑制性输入实时整合的结果, 其中抑制性输入在强度选择性的形成中起重要作用<sup>[46-48]</sup>。整个听觉的上行通路中, 耳蜗核最先出现了非单调型 RIF。一般认为,



越高位的听觉核团，接受的抑制性输入越多，其强度选择性也越高。小鼠 DNLL 神经元中多数 (92%) 为单调型和饱和型 RIFs，仅有少数 (8%) 表现为非单调型，这与大棕蝠、墨西哥游离尾蝠、大鼠等哺乳动物的研究结果相似<sup>[7, 15, 23]</sup>。不同物种的 DNLL 核团中非单调型 RIF 所占比例均小于较高位的 IC 核团<sup>[49, 50]</sup>。DNLL 主要接受低级核团的上行投射，随着声强增大，神经元接受了更多的兴奋性输入，发放数逐渐增多，表现为单调型 RIF。而饱和型及非单调型 DNLL 神经元的存在，可能是由于高强度的声刺激激活了低位听觉核团内的较高阈值的甘氨酸能或 GABA 能神经元；或激活了 DNLL 核团内的抑制性神经元，从而使得神经元的发放数减少；也可能是激活了对侧 DNLL 或较高位的听觉核团如下丘内的抑制性神经元，产生反馈调节的结果<sup>[30]</sup>。本研究中，不同强度调谐类型的神经元 FSL 变化趋势较为统一，发放持续时间变化趋势有明显差异。非单调型神经元在最佳声强增至高声强时，FSL 缩短，发放持续时间缩短，发放数的减少以后半部分更为明显 ( $P < 0.05$ )，推测抑制性输入的来源更可能来自对侧 DNLL 或较高位的听觉核团，使其在到达时间上较为滞后。DNLL 神经元不同 RIF 的形成具体受到哪些抑制性神经递质的影响，这些抑制性神经递质来自哪些听觉核团，还需要药理学实验的进一步研究。

就发放模式与强度调谐之间的关系而言。瞬时型和长时型神经元都可以表现出三种不同的强度调谐类型，但瞬时型神经元的 DR 小于长时型 DNLL 神经元的 DR ( $P < 0.01$ ) (图 5E)。这与 Covey 对大棕蝠 DNLL 神经元的研究结果一致<sup>[7]</sup>，提示瞬时型神经元的强度调谐范围更加集中，可能在双耳强度差辨别中发挥更加重要的作用<sup>[51]</sup>。瞬时型神经元中非单调型 RIF 的比例相对较高 (11%)，可能由于瞬时型发放模式和非单调型 RIF 的形成都需要抑制性输入的参与<sup>[38, 46-48]</sup>，接受较多抑制性输入的神经元倾向于表现出瞬时型发放模式和非单调型 RIF。

### 参考文献

- Malmierca MS. The structure and physiology of the rat auditory system: an overview. *Int Rev Neurobiol* 2003; 56(1): 147-211.
- Glendenning KK, Brusno-Bechtold JK, Thompson GC, Masterton RB. Ascending auditory afferents to the nuclei of the lateral lemniscus. *J Comp Neurol* 1981; 197(4): 673-703.
- Fathke RL, Gabriele ML. Patterning of multiple layered projections to the auditory midbrain prior to experience. *Hear Res* 2009; 249(1-2): 36-43.
- Wu SH. Synaptic excitation in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus. *Prog Neurobiol* 1998; 57(3): 357-375.
- Yavuzoglu A, Schofield BR, Wenstrup JJ. Substrates of auditory frequency integration in a nucleus of the lateral lemniscus. *Neuroscience* 2010; 169(2): 906-919.
- Franklin SR, Brunso-Bechtold JK, Henkel CK. Bilateral cochlear ablation in postnatal rat disrupts development of banded pattern of projections from the dorsal nucleus of the lateral lemniscus to the inferior colliculus. *Neuroscience* 2008; 154(1): 346-354.
- Covey E. Response properties of single units in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus and paralemniscal zone of an echo locating bat. *J Neurophysiol* 1993; 69(3): 842-859.
- Winer JA, Larue DT, Pollak GD. GABA and glycine in the central auditory system of the mustache bat: Structural substrates for inhibitory neuronal organization. *J Comp Neurol* 1995; 355(3): 317-353.
- Kelly JB, Li L, van Adel B. Sound localization after kainic acid lesions of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the albino rat. *Behav Neurosci* 1996; 110(6): 1445-1455.
- Kidd SA, Kelly JB. Contribution of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus to binaural responses in the inferior colliculus of the rat: interaural time delays. *J Neurosci* 1996; 16(22): 7390-7397.
- Ito M, van Adel B, Kelly JB. Sound localization after transection of the commissure of proboscis in the albino rat. *J Neurophysiol* 1996; 76(5): 3493-3502.
- Aitkin LM, Anderson DJ, Brugge JF. Tonotopic organization and discharge characteristics of single neurons in nuclei of the lateral lemniscus of the cat. *J Neurophysiol* 1970; 33(3): 421-440.
- Davis KA, Lomakin O, Pesavento MJ. Response properties of single units in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of decerebrate cats. *J Neurophysiol* 2007; 98(3): 1475-1488.
- Bajo VM, Villa AEP, de Ribaupierre F, Rouiller EM. Discharge properties of single neurons in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the rat. *Brain Res Bull* 1998; 47(6): 595-610.
- Kelly JB, Buckthought AD, Kidd SA. Monaural and binaural response properties of single neurons in the rat's dorsal nucleus of the lateral lemniscus. *Hear Res* 1998; 122(1-2): 25-40.
- Fu XW, Brezden BL, Kelly JB, Wu SH. Synaptic excitation in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus: whole-cell patch-clamp recordings from rat brain slice. *Neuroscience*

- 1997; 78(3): 815–827.
- 17 Siveke I, Pecka M, Seidl AH, Baudoux S, Grothe B. Binaural response properties of low-frequency neurons in the gerbil dorsal nucleus of the lateral lemniscus. *J Neurophysiol* 2006; 96(3): 1425–1440.
  - 18 Kuwada S, Fitzpatrick DC, Batra R. Sensitivity to interaural time differences in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the unanesthetized rabbit: comparison with other structures. *J Neurophysiol* 2006; 95(3): 1309–1322.
  - 19 Yang L, Pollak GD. Features of ipsilaterally evoked inhibition in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus. *Hear Res* 1998; 122(1–2): 125–141.
  - 20 Yang L, Pollak GD. GABA and glycine have different effects on monaural response properties in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the mustache bat. *J Neurophysiol* 1994; 71(6): 2014–2024.
  - 21 Metzner W, Radtke-Schuller S. The nuclei of the lateral lemniscus in the rufous horseshoe bat, *Rhinolophus rouxi*. A neurophysiological approach. *J Comp Physiol A* 1987; 160(3): 395–411.
  - 22 Bauer EE, Klug A, Pollak GD. Spectral determination of responses to species-specific calls in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus. *J Neurophysiol* 2002; 88(4): 1955–1967.
  - 23 Pecka M, Zahn TP, Saunier-Rebori B, Siveke I, Felmy F, Wiegrebe L, Klug A, Pollak GD, Grothe B. Inhibiting the inhibition: a neuronal network for sound localization in reverberant environments. *J Neurosci* 2005; 94(6): 4019–4037.
  - 24 Paxinos G, Franklin KBJ. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd ed. New York: Academic Press, 2001.
  - 25 Wu SH, Kelly JB. *In vitro* brain slice studies of the rat's dorsal nucleus of the lateral lemniscus. I. Membrane and synaptic response properties. *J Neurophysiol* 1995; 73(2): 780–793.
  - 26 Heil P. First-spike latency of auditory neurons revisited. *Curr Opin Neurobiol* 2004; 14(4): 461–467.
  - 27 Guyonneau R, VanRullen R, Thorpe SJ. Neurons tune to the earliest spikes through STDP. *Neural Comput* 2005; 17(4): 859–879.
  - 28 VanRullen R, Guyonneau R, Thorpe SJ. Spike times make sense. *Trends Neurosci* 2005; 28(1): 1–4.
  - 29 Tang J, Wu FJ, Wang D, Jen PH, Chen QC. The amplitude sensitivity of mouse inferior collicular neurons in the presence of weak noise. *Chin J Physiol* 2007; 50(4): 187–198.
  - 30 Pollak GD. The dominant role of inhibition in creating response selectivities for communication calls in the brainstem auditory system. *Hear Res* 2013; 305: 86–101.
  - 31 Covey E, Vater M, Casseday JH. Binaural properties of single units in the superior olivary complex of the mustached bat. *J Neurophysiol* 1991; 66(3): 1080–1093.
  - 32 Grothe B, Vater M, Casseday JH, Covey E. Monaural interaction of excitation and inhibition in the medial superior olive of the mustached bat: An adaptation for biosonar. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(11): 5108–5112.
  - 33 Meyer K, Rouiller EM, Loquet G. Direct comparison between properties of adaptation of the auditory nerve and the ventral cochlear nucleus in response to repetitive clicks. *Hear Res* 2007; 228(1–2): 144–155.
  - 34 Markovitz NS, Pollak GD. The dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the mustache bat: monaural properties. *Hear Res* 1994; 71(1–2): 51–63.
  - 35 Fu ZY, Mei HX, Cheng L, Bai J, Tang J, Jen PSH, Chen QC. Local neuronal circuits that may shape the discharge patterns of inferior collicular neurons. *Neurosci Bull* 2013; 29(5): 541–552.
  - 36 Yang L, Liu Q, Pollak GD. Afferent connections to the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the mustache bat: evidence for two functional subdivisions. *J Comp Neurol* 1996; 373(4): 575–592.
  - 37 Fu XW, Wu SH, Brezden BL, Kelly JB. Potassium current and membrane excitability of neurons in the rat's dorsal nucleus of the lateral lemniscus. *J Neurophysiol* 1996; 76(2): 1121–1132.
  - 38 Yang L, Pollak GD. Differential response properties to amplitude modulated signals in the dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the mustache bat and the roles of GABAergic inhibition. *J Neurophysiol* 1997; 77(1): 324–340.
  - 39 Pollak GD. Discriminating among complex signals: the roles of inhibition for creating response selectivities. *J Comp Physiol* 2011; 197(5): 625–640.
  - 40 Merchán MA, Saldaña E, Plaza I. Dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the rat: concentric organization and tonotopic projection to the inferior colliculus. *J Comp Neurol* 1994; 342(2): 259–278.
  - 41 Kelly JB, Liscum A, van Adel B, Ito M. Projections from the superior olive and lateral lemniscus to tonotopic regions of the rat's inferior colliculus. *Hear Res* 1998; 116(1–2): 43–54.
  - 42 Jen PSH, Chen QC, Wu FJ. Interaction between excitation and inhibition affects frequency tuning curve, response size and latency of neurons in the auditory cortex of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *Hear Res* 2002; 174: 281–289.
  - 43 Wang X, Jen PH, Wu FJ, Chen QC. Preceding weak noise sharpens the frequency tuning and elevates the response

- threshold of the mouse inferior collicular neurons through GABAergic inhibition. *Brain Res* 2007; 1167: 80–91.
- 44 Jen PHS, Zhang J. The role of GABAergic inhibition on direction-dependent sharpening of frequency tuning in bat inferior collicular neurons. *Brain Res* 2000; 862(1): 127–137.
- 45 Yang L, Pollak GD, Resler C. GABAergic circuits sharpen tuning curves and modify response properties in the mustache bat inferior colliculus. *J Neurophysiol* 1992; 68(5): 1760–1774.
- 46 Qi QZ, Si WJ, Luo F, Wang X. Intensity tuning of neurons in the primary auditory cortex of albino mouse. *Prog Biochem Biophys* 2013; 40(4): 365–373.
- 47 Wu GK, Li P, Tao HW, Zhang LI. Nonmonotonic synaptic excitation and imbalanced inhibition underlying cortical intensity tuning. *Neuron* 2006; 52(4): 705–715.
- 48 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.
- 49 Wang D, Pi JH, Tang J, Wu FJ, Chen QC. Dynamic modulations on intensity sensitivity evoked by weak noise in the inferior collicular neurons. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2005; 57(1): 59–65.
- 50 Tang J, Xiao ZJ, Shen JX. Delayed inhibition creates amplitude tuning of mouse inferior collicular neurons. *Neuroreport* 2008; 19(15): 1145–1149.
- 51 Sato T, Fukui I, Ohmori H. Interaural phase difference modulates the neural activity in the nucleus angularis and improves the processing of level difference cue in the lateral lemniscal nucleus in the chicken. *Neurosci Res* 2010; 66(2): 198–212.