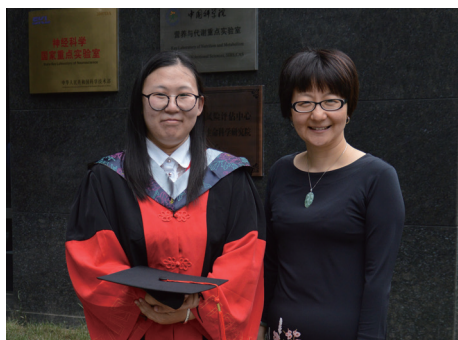


DOI: 10.13376/j.cbbls/2014158

文章编号: 1004-0374(2014)11-1103-04

· 发现的历程 ·



编者按: 大脑的正常认知功能依赖于其复杂而精细的神经网络。来自环境的刺激,特别是自然的感觉刺激,对大脑皮层的多个脑区中神经元的生长、突触的形成,以及神经网络的建立至关重要。感觉输入不仅可以影响其对应感觉皮层的功能,而且可以通过跨模态机制影响其他感觉皮层的功能。然而,前人关于跨模态可塑性机制的研究主要集中在成年个体上,基本没有涉及发育早期的机制。为了研究自然感觉刺激对大脑皮层的调节,中科院神经所于翔研究组建立了对新生小鼠进行感觉刺激或剥夺的行为范式,包括通过胡须拔除对小鼠进行特异的触觉剥夺、黑暗环境饲养

对小鼠进行特异的视觉剥夺,和丰富环境饲养对小鼠进行多模态的自然感觉刺激。研究发现,从出生起对小鼠进行触觉或视觉剥夺,不仅影响了对应大脑皮层的发育,而且还减缓了其他感觉皮层的发育,而通过丰富环境饲养增加感觉刺激可以促进多个感觉皮层的发育。该研究揭示了一种新型的发育早期感觉经验依赖的感觉皮层跨模态可塑性机制,并发现了催产素这种由下丘脑分泌的神经肽是介导该跨模态可塑性的关键分子。催产素由于其与情绪和社交行为的相关性,已成为孤独症治疗的热点分子之一。该研究提示催产素在发育更早期就对感觉皮层的神经环路形成有重要的促进作用。鉴于孤独症患儿经常伴随有感觉输入的异常,该发现对进一步解析孤独症的致病机制有重要的借鉴意义。

自然感觉刺激对脑发育的影响

郑菁婧, 李舒婧, 于翔*

(中国科学院上海生命科学院神经科学研究所, 神经科学国家重点实验室, 上海 200031)

大脑的功能依赖于精确神经网络的建立。一个刚出生的婴儿已经拥有了几乎她/他未来大脑中所有的神经元,然而,这些神经元之间的连接还没有完全形成。外界因素,特别是来自环境的各种感觉刺激,对发育早期大脑中神经元的生长与功能性连接的建立至关重要。在人类的大脑皮层,这个过程一般在出生后的几年内完成,而在生长周期更快的小鼠中则可在几周内完成。感觉经验是怎样影响大脑发育的,对这一问题的探索,不仅可以使人类更加了解大脑发育的奥秘,并且对于解析发育性神经系统疾病的机理也有重要的借鉴意义。

来自外界的视觉、听觉、触觉、嗅觉、味觉信息主要通过我们的眼睛、耳朵、皮肤、鼻子以及舌头上的感觉神经元传入大脑的感觉皮层。这个过程需要多个神经元的有序连接与信息传导。神经元通过其树突接受信息,并通过其轴突向下一级神经元传递信息。树突与轴突之间形成的结构被称之为突

触,是神经系统中传递信息的重要基本单元。每个神经元通过其成百上千的突触与其他神经元形成精细且庞大的神经网络。突触连接的强度具有很强的可调节性,即突触可塑性(synaptic plasticity)。该过程被认为是学习与记忆的重要物质基础^[1-3]。在发育早期,神经元的自发放电,以及来自外界的自然界感觉刺激对功能性神经环路的形成以及突触可塑性的建立至关重要^[4-6]。

前人的研究表明,单一模式的感觉剥夺,如视觉或触觉的剥夺,可使相对应感觉皮层的神经元电活动下降^[7-8]。相反,通过丰富环境饲养增加感觉刺激可以引起多个感觉皮层神经元放电的增强^[9-11]。这种感觉经验介导的大脑皮层神经元电活动的变化是一个复杂的过程,涉及多种突触与细胞水平的机

收稿日期: 2014-10-19

*通信作者: E-mail: yuxiang@ion.ac.cn

制,包括大脑皮层神经元的突触可塑性,即突触强度的改变,以及神经元形态与突触结构的改变^[12-14]。

单一模式的感觉剥夺是否会影响其他感觉模式,研究发现,盲人有着更高的听觉敏锐度和更精细的触觉敏感度。与行为表现相符,功能性脑成像的研究结果显示,未被剥夺的感觉模态(如听觉、触觉等)拥有了更多的皮层代表区域,并可能占据视觉信息的通常代表区域^[15-17]。这些结果说明,感觉输入不仅可以影响其对应的皮层代表区域,而且可以跨模态地影响其他感觉输入的皮层代表区域。前人关于跨模态可塑性的研究主要集中在成年个体。在发育早期是否也存在跨模态可塑性(crossmodal plasticity),当大脑皮层中的突触连接还在建立中,且感觉输入对皮层神经元的招募还未完成时,不同感觉输入之间是否仍然处于竞争关系。

为了回答这些问题,我们建立了对实验小鼠进行早期感觉剥夺与增强的范式。新生小鼠的重要感觉输入包括其触觉和本体感觉,特别是来自胡须的触觉输入。为了研究触觉输入对小鼠脑发育的影响,我们对新生的小鼠进行了持续的胡须修剪或拔除,从而剥夺其触觉输入。在出生后两周,即小鼠神经环路发育与突触形成的高峰期,对其初级触觉皮层的锥体神经元,即主要投射神经元,进行了全细胞膜片钳电生理记录。结果显示,从出生起对小鼠进行胡须拔除(whisker-deprivation, WD)的确显著影响了其初级触觉皮层的发育,主要体现在第2/3层锥体神经元微小兴奋性突触后电流(miniature excitatory post-synaptic currents, mEPSCs)频率的降低和神经元自发放电频率的降低。这些结果提示触觉剥夺显著影响了初级触觉皮层锥体神经元的兴奋性突触传递,以及神经元的兴奋性^[18]。

那么胡须拔除是否也跨模态影响了其他感觉皮层,我们惊讶地发现,发育早期胡须拔除显著降低了初级视觉皮层和听觉皮层锥体神经元的兴奋性突触传递。免疫印迹的结果显示,发育早期胡须拔除显著降低了初级触觉皮层和初级视觉皮层中AMPA、NMDA等谷氨酸能兴奋性突触后受体的表达,进一步验证了感觉剥夺对多个初级感觉皮层兴奋性突触传递的影响。这些实验结果提示,发育早期的跨模态可塑性与成体动物的跨模态可塑性显著不同:单一模态的感觉剥夺导致了整体感觉皮层兴奋性突触传递的下降与相应的发育延迟。

为了进一步验证这种跨模态可塑性是否广泛存在,我们建立了另一种单模态感觉剥夺的范式——

通过黑暗饲养(dark-rearing, DR)剥夺小鼠的视觉输入。实验结果显示,从出生开始的视觉剥夺降低了初级视觉皮层与触觉皮层的兴奋性突触传递和神经元的放电频率,以及兴奋性突触后受体的表达。综上,在从出生开始的胡须拔除和黑暗饲养两种不同的单模态感觉剥夺,均跨模态地减缓多个感觉皮层的发育。

感觉输入是如何影响多个大脑感觉皮层的功能呢,通过基因芯片的筛选以及实时定量PCR验证,我们发现在触觉剥夺和视觉剥夺的小鼠下丘脑中,神经肽催产素(oxytocin, OXT)的mRNA水平均显著下降。催产素是一种9个氨基酸组成的小肽(Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂),主要由下丘脑的室旁核和视上核中的催产素神经元合成。前人的研究表明,合成催产素的神经元主要投射到垂体,并通过其分泌到外周血中,参与调控哺乳动物的泌乳、催产、分娩等行为^[19-21]。此外,催产素神经元还直接投射到中枢神经系统的特定区域,或者通过其胞体与树突将催产素分泌到细胞外液中,通过脑脊液循环或细胞外扩散参与中枢神经系统的调控。近期的研究表明,催产素参与调节哺乳动物的社会行为,包括促进人与人之间的信任、通感情绪、眼神交流、面部识别等^[19-21]。然而,前人的研究主要针对成年或青少年个体,尚未有关于其调节大脑皮层发育的报道。

如果催产素是介导感觉皮层跨模态可塑性的关键分子,感觉剥夺是否影响了其在感觉皮层的神经肽水平。酶联免疫吸附测定的结果显示,胡须剥夺或黑暗环境饲养小鼠的初级触觉与视觉皮层中的催产素水平显著低于普通饲养的小鼠,说明感觉剥夺能够影响催产素在感觉皮层的神经肽水平。下丘脑合成的催产素是通过什么途径到达大脑皮层的,实时定量PCR与免疫组织化学结果分别显示,在两个感觉剥夺的范式中,下丘脑催产素神经元的mRNA与蛋白水平显著下降。此外,感觉剥夺小鼠的下丘脑所释放的催产素也显著下降,说明感觉剥夺下调了下丘脑中催产素的合成与分泌。鉴于下丘脑分泌催产素的神经元邻近第三脑室,并且催产素的树突分泌是其调节中枢神经系统功能的一个重要途径^[22-24],我们推测催产素很可能通过脑脊液循环从下丘脑到达大脑皮层。实验结果显示,感觉剥夺显著降低了小鼠脑脊液中的催产素水平,与我们的假说相吻合。通过将催产素的抗体在体注射到侧脑室,从而螯合脑脊液中游离的催产素,显著降低了

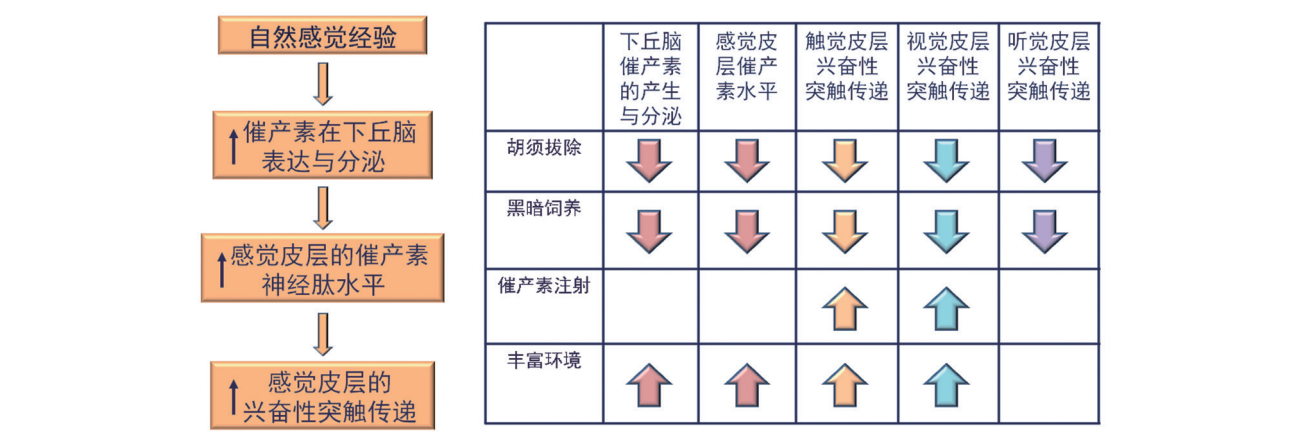
触觉皮层和视觉皮层的兴奋性突触传递, 进一步支持了我们的假说。

催产素对感觉皮层发育的调控是否充分且必要, 催产素基因敲除小鼠感觉皮层的兴奋性突触传递显著低于同笼野生型小鼠, 说明催产素对感觉皮层的发育是必要的。在体定位注射催产素到触觉皮层可以导致触觉皮层兴奋性突触传递与神经元放电频率显著增加, 说明催产素可以显著促进感觉皮层的发育。更为重要的是, 在胡须拔除小鼠的触觉皮层注射催产素, 不仅可以挽救其触觉皮层的发育迟缓, 而且可以跨模态地挽救其视觉皮层的发育。这些结果证明催产素是介导感觉皮层跨模态可塑性的关键分子。

既然感觉剥夺降低了催产素的表达与分泌, 那么自然感觉刺激的增加是否可以促进其表达与分泌, 带着这个疑问, 我们建立了从出生起对小鼠进行丰富环境饲养的范式。丰富环境是一种由复杂的自然和社会刺激组成的饲养范式, 已被广泛用于研究环境对大脑的影响^[9-11,25]。我们在用于成年小鼠的丰富环境饲养范式上加以补充, 使其更适用于幼年小鼠。主要改进包括在丰富环境的饲养笼中添加了用于刺激触觉发育的垫料, 如棉花、卷纸、各种材质的碎布料等, 以及用于刺激嗅觉系统的香料球^[26]。此外, 丰富环境笼内还有各种颜色的玩具, 包括塑料小屋、管道、跑轮和积木等。为了增加社交刺激, 在面积较大的丰富环境笼内(笼底面积约为普通笼两倍), 2只母鼠共同饲养着12只或以上的鼠宝宝, 对比普通笼中1只母鼠和6只左右的幼鼠。实验结果显示, 从出生开始的丰富环境饲养可

以显著增加小鼠下丘脑的催产素表达, 以及感觉皮层的催产素神经肽水平。重要的是, 丰富环境饲养可以显著增加触觉和视觉皮层的兴奋性突触传递, 并且能够挽救由感觉剥夺所导致的发育延迟。鉴于胡须拔除小鼠和对照小鼠——不管是在普通饲养笼还是丰富环境笼——均由同一母鼠抚养, 小鼠大脑皮层兴奋性突触传递的恢复应主要归因于其自身的改变, 如催产素表达的上调。

上述实验结果表明, 在发育早期, 感觉输入可以双向调控下丘脑神经肽催产素的表达与分泌, 及其在感觉皮层的水平, 从而通过跨模态的机制, 影响多个感觉皮层的兴奋性突触传递和神经元放电的频率(图1)。本工作揭示了催产素在发育早期促进大脑皮层兴奋性突触传递的新功能。一个新生个体的神经网络还在初级建立阶段, 所以每个脑区之间是互相帮助的, 也就是所有的感觉输入对大脑的发育有一个叠加效应。在青少年或成年人中, 脑内的神经网络已基本成熟, 不同脑区或网络会独立行使它们的正常功能。这可能就是跨模态可塑性在发育早期和成年动物中机制不同的原由。在体注射催产素或者丰富环境饲养可以显著挽救感觉剥夺对小鼠感觉皮层发育的延迟, 这对人类的现实生活有什么借鉴意义, 父母对一个失明幼儿的抚摸不能让他/她重新看到世界, 但更多的触觉、听觉、嗅觉等感觉刺激可能缓解由于缺乏视觉输入导致的整体大脑皮层发育的延迟。如果单模式感觉输入的剥夺是暂时的、部分的, 或者可逆的, 通过其他感觉输入跨模态进行挽救具有更高的有效性和可行性。一个近期备受关注的、与感觉输入或加工密切相关的发育



左, 自然感觉经验可以通过增加下丘脑神经肽催产素的表达与分泌, 增加其在感觉皮层的水平, 最终增加感觉皮层的兴奋性突触传递。右, 感觉输入改变可以双向调控催产素的表达与分泌, 从而双向影响多个感觉皮层的兴奋性突触传递。

图1 感觉经验对催产素表达与分泌以及感觉皮层兴奋性突触传递的双向调控

性神经系统疾病是孤独症谱系障碍(简称孤独症或自闭症)。在美国精神病学会最新发布的精神疾病诊断统计手册第5版中,孤独症的诊断标准中添加了“对感觉刺激反应过度或反应低下”的标准。感觉过度敏感或低下在孤独症儿童中普遍存在^[27-28],而且表现的时间普遍早于社会交流的障碍。催产素,由于其对社交功能的促进作用,已成为孤独症治疗的热点分子之一^[19-20]。上述研究结果提示催产素在发育更早期就对感觉皮层的神经环路形成有促进作用。鉴于孤独症患者经常伴随有感觉输入的异常,孤独症患者脑内的催产素表达水平是否也存在异常,可否通过给予催产素促进感觉皮层发育,从而改善孤独症儿童的症状有待进一步研究。此外,通过自然感觉刺激在体增加催产素的表达,从而促进这些儿童的大脑发育,也是一个有待探讨的对幼年孤独症患者进行行为干预与治疗的方式。

致谢:感谢姚海珊研究员、张丁红,以及本研究组的张小荻、苗婉莹等合作者对本工作的重要贡献。感谢于翔研究组和神经所各位老师同学在本课题开展过程中给予的建议。感谢基金委、科技部等对本课题的资助。

[参 考 文 献]

- [1] Neves G, Cooke SF, Bliss TV. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat Rev Neurosci*, 2008, 9(1): 65-75
- [2] Takeuchi T, Duzsikiewicz AJ, Morris RG. The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence. *Philos Trans R Soc Lond B: Biol Sci*, 2014, 369(1633): 20130288
- [3] Matynia A, Kushner SA, Silva AJ. Genetic approaches to molecular and cellular cognition: a focus on LTP and learning and memory. *Annu Rev Genet*, 2002, 36: 687-720
- [4] Katz LC, Shatz CJ. Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science*, 1996, 274(5290): 1133-8
- [5] Crair MC. Neuronal activity during development: permissive or instructive? *Curr Opin Neurobiol*, 1999, 9(1): 88-93
- [6] Sur M, Rubenstein JL. Patterning and plasticity of the cerebral cortex. *Science*, 2005, 310(5749): 805-10
- [7] Feldman DE, Brecht M. Map plasticity in somatosensory cortex. *Science*, 2005, 310(5749): 810-5
- [8] Fox K, Wong RO. A comparison of experience-dependent plasticity in the visual and somatosensory systems. *Neuron*, 2005, 48(3): 465-77
- [9] Nithianantharajah J, Hannan AJ. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(9): 697-709
- [10] Sale A, Berardi N, Maffei L. Enrich the environment to empower the brain. *Trends Neurosci*, 2009, 32(4): 233-9
- [11] van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci*, 2000, 1(3): 191-8
- [12] Malinow R, Malenka RC. AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci*, 2002, 25: 103-26
- [13] Ganguly K, Poo MM. Activity-dependent neural plasticity from bench to bedside. *Neuron*, 2013, 80(3): 729-41
- [14] Holtmaat A, Svoboda K. Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10(9): 647-58
- [15] Bavelier D, Dye MW, Hauser PC. Do deaf individuals see better? *Trends Cogn Sci*, 2006, 10(11): 512-8
- [16] Bavelier D, Neville HJ. Cross-modal plasticity: where and how? *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3(6): 443-52
- [17] Merabet LB, Pascual-Leone A. Neural reorganization following sensory loss: the opportunity of change. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11(1): 44-52
- [18] Zheng JJ, Li SJ, Zhang XD, et al. Oxytocin mediates early experience-dependent cross-modal plasticity in the sensory cortices. *Nat Neurosci*, 2014, 17(3): 391-9
- [19] Insel TR. The challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin, vasopressin, and affiliative behavior. *Neuron*, 2010, 65(6): 768-79
- [20] Lee HJ, Macbeth AH, Pagani JH, et al. Oxytocin: the great facilitator of life. *Prog Neurobiol*, 2009, 88(2): 127-51
- [21] Stoop R. Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. *Neuron*, 2012, 76(1): 142-59
- [22] Leng G, Ludwig M. Neurotransmitters and peptides: whispered secrets and public announcements. *J Physiol*, 2008, 586(Pt 23): 5625-32
- [23] Ludwig M, Leng G. Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(2): 126-36
- [24] Veening JG, de Jong T, Barendregt HP. Oxytocin-messages via the cerebrospinal fluid: behavioral effects; a review. *Physiol Behav*, 2010, 101(2): 193-210
- [25] Bennett EL, Diamond MC, Krech D, et al. Chemical and anatomical plasticity brain. *Science*, 1964, 146(3644): 610-9
- [26] He S, Ma J, Liu N, et al. Early enriched environment promotes neonatal GABAergic neurotransmission and accelerates synapse maturation. *J Neurosci*, 2010, 30(23): 7910-6
- [27] Marco EJ, Hinkley LB, Hill SS, et al. Sensory processing in autism: a review of neurophysiologic findings. *Pediatr Res*, 2011, 69(5 Pt 2): 48R-54R
- [28] Suarez MA. Sensory processing in children with autism spectrum disorders and impact on functioning. *Pediatr Clin North Am*, 2012, 59(1): 203-14, xii-xiii