

DOI: 10.13376/j.cbls/2016093

文章编号: 1004-0374(2016)07-0727-04

· 发现的历程 ·



编者按: 动物对不同的感觉刺激产生不同的行为反应, 这对动物生存至关重要。关于其神经机制的研究, 之前的工作多集中在感觉系统信息处理方面。但视觉刺激所包含的行为意义是怎样被大脑处理的, 大脑处理后又如何根据刺激的行为意义调控行为的发生尚不清楚。为了更好地解析行为选择的神经机制, 中国科学院神经科学研究所杜久林组姚园园等利用斑马鱼的逃跑环路为模型, 研究了不同行为意义的视觉刺激引起不同行为反应的神经机制。首先, 他们发现斑马鱼仅对危险性而非非危险性视觉刺激产生逃跑行为, 且这一行为控制发生在视觉信息由视觉中枢向逃跑命令神经元传递的阶段(即视觉-运动信息转换阶段)。其次, 发现下丘脑多巴胺能神经元和后脑甘氨酸能抑制性神经元组成“开关”样功能模块控制这一行为选择。进而, 他们发现这一“开关”样功能模块对危险性和非危险性视觉刺激的不同控制是由这些神经元的视觉反应特性实现的。这一工作揭示了神经调质系统在行为选择中的作用, 增加了人们对感觉-运动信息转换控制的认识。该工作发现的神经调质系统响应感觉刺激这一功能特点可能是大脑中一种普遍存在的神经机制, 即神经调质系统接受和处理感觉刺激所携带的行为意义, 进而通过调节感觉-运动神经通路, 帮助动物作出相应的行为选择。这一工作作为课题组提出的“Bi-modal Brain Function Hypothesis”提供了进一步的实验证据。

巴胺能神经元和后脑甘氨酸能抑制性神经元组成“开关”样功能模块控制这一行为选择。进而, 他们发现这一“开关”样功能模块对危险性和非危险性视觉刺激的不同控制是由这些神经元的视觉反应特性实现的。这一工作揭示了神经调质系统在行为选择中的作用, 增加了人们对感觉-运动信息转换控制的认识。该工作发现的神经调质系统响应感觉刺激这一功能特点可能是大脑中一种普遍存在的神经机制, 即神经调质系统接受和处理感觉刺激所携带的行为意义, 进而通过调节感觉-运动神经通路, 帮助动物作出相应的行为选择。这一工作作为课题组提出的“Bi-modal Brain Function Hypothesis”提供了进一步的实验证据。

揭秘大脑里的“开关”

姚园园

(中国科学院上海生命科学研究院神经科学研究所, 上海 200031)

动物对不同的感觉刺激产生不同的行为反应^[1-3], 比如模拟食物的刺激引起捕食行为, 模拟捕食者的刺激引起逃跑行为, 这对动物生存至关重要。感觉行为的产生涉及感觉信息加工处理、感觉信息向运动系统的传递(即感觉-运动信息转换)和运动命令的执行。对不同感觉刺激如何引起不同行为反应的研究之前多集中在感觉系统信息处理方面。以视觉为例, 视觉通路的各级(视网膜-外侧膝状体-视皮层)神经元对视觉刺激不同特征信息进行不同层次的加工处理, 如形状、颜色、运动、对比度等^[4-5]。但感觉刺激所包含的行为意义是怎样被大脑处理的, 大脑处理后又如何根据其行为意义调控行为的发生, 是否有“开关”样的机制使得不同意义的刺激产生不同的行为等问题尚不清楚。

近年来, 随着基因编辑技术和显微成像技术的发展, 同时, 由于斑马鱼幼年期体型小、脑部透明、

神经环路相对简单、在体操作容易等优势, 斑马鱼幼鱼为解析行为的神经环路机制提供了一个很好的模型^[6]。本课题组以斑马鱼逃跑行为为对象, 研究行为选择的神经机制, 探索是否有“开关”样的神经机制使动物对危险刺激逃跑, 而对非危险刺激不产生逃跑行为。

该课题始于一次意外发现: 当施加高剂量的多巴胺 D1 受体阻断剂 SCH-23390 后, 结果发现本来不能引发快速逃跑行为的一种闪光(flash)视觉刺激引发了高概率的逃跑行为。这一结果提示, 斑马鱼的视觉逃跑行为是被控制的, 而多巴胺参与这一控制。为了验证这一提示, 本课题组进行了更多的实验。多巴胺是大脑内由多巴胺能神经元分泌释放的

收稿日期: 2016-03-30

通信作者: E-mail: yyyao0805@gmail.com

一种神经调质,通过与多巴胺受体结合而发挥作用,与之类似的有五羟色胺系统等。为了排除所用阻断剂的非特异性作用,本课题组使用其他多巴胺 D1 受体阻断剂也发现了类似的效果,且施加五羟色胺系统的药物不产生类似的现象。为了排除所用药物副作用的可能性,本课题组直接检测了逃跑命令神经元 Mauthner cell (M 细胞)^[7] 的 flash 反应,发现原本很小的 flash 反应在局部施加多巴胺 D1 受体阻断剂后显著增大。这些结果提示,多巴胺系统控制了视觉逃跑行为的产生,使得 flash 刺激不能诱发逃跑反应的产生。

该现象背后蕴含着一系列科学问题。(1) 视觉信息从视网膜信息处理到引起逃跑行为产生经历了多级神经突触传递,多巴胺的控制发生在哪里?(2) 多巴胺系统对视觉逃跑行为的控制是直接的还是间接的?如果是间接的,是什么介导的?(3) 多巴胺是由哪个核团的多巴胺能神经元释放的?(4) 多巴胺对视觉逃跑行为的控制代表了什么生理意义?是否在某种情况下,这一“开关”能自行开启?

在最初的两年里,本人先后对这四个问题一一进行了尝试,然而由于工具的欠缺和技术、思路的局限,课题停滞在现象上,对机制的探索遥不可及。

转机往往发生在看似不经意间。在一次纯属好奇的筛选中,本人发现了一个转基因工具,使得课题峰回路转。该转基因品系可以标记视觉信息向逃跑环路传递过程中的一个重要结点:斑马鱼视觉中枢视顶盖神经元。视觉信息经由视网膜、视顶盖传递向 M 细胞。Flash 刺激在 M 细胞上引起的反应很小有两种可能性:(1) flash 向 M 细胞的输入很弱,即 flash 在视顶盖神经元上引起的反应很小;(2) flash 信息在向 M 细胞传递中被多巴胺控制。借助于视顶盖神经元中表达的荧光标记蛋白作为指示,本课题组记录了视顶盖神经元的 flash 反应,发现反应很大,且随着光强的增加而增强,但 M 细胞的反应始终较小,提示 flash 信息是在由视顶盖神经元向 M 细胞传递中被多巴胺控制。后来施加多巴胺 D1 阻断剂的实验进一步验证了这一提示。

找到多巴胺的控制靶点后,开始思考多巴胺对视觉信息的控制是直接的还是间接的。为此,本课题组首先通过全细胞记录的方式在 M 细胞内注入抑制 D1 受体信号通路下游靶点蛋白激酶 A 的阻断剂,以阻断 M 细胞 D1 受体的功能。与细胞外施加 D1 受体拮抗剂对比,细胞内阻断 M 细胞 D1 受体不影响 flash 刺激引起的 M 细胞反应。这一结果表

明,多巴胺对视觉信息的控制不受 M 细胞中 D1 受体的调控,是间接的。结合之前的研究,D1 受体通常激活其靶向神经元的神经活动^[8],本课题组推测多巴胺能信号对视觉信息的控制可能是通过抑制性系统实现的。药理学实验表明确实如此:阻断抑制性信号后,flash 刺激引发较大的 M 细胞反应且引发逃跑行为;增强抑制性神经活动后,阻断 D1 受体不再能增大 flash 刺激在 M 细胞上的反应及引起逃跑行为;反之,增强多巴胺的信号活动,不影响阻断抑制性信号引起的效果。

那么抑制性信号来自哪里?在斑马鱼中,有许多抑制性神经元分布于 M 细胞周围^[9]。这一状况使得解析这一问题十分困难,对此本课题组进行了破釜沉舟的尝试。首先,对这些神经元进行一一记录,对其特性进行普查;其次,在记录上百个细胞发现一定的规律后,对这些神经元进行分类;再次,对不同类别的神经元一一损毁,检测哪些参与对视觉信息传递的控制。最后,找到了两类甘氨酸能神经元参与控制,且这两类神经元受多巴胺的调节。

在解答了四个问题中的两个后,本课题组并未停止发现的脚步,开始探索第三个问题:多巴胺来自何处。在斑马鱼中,多巴胺能神经元分布于约 9 个核团,其中位于 3 个核团的神经元可投射至 M 细胞所在的后脑^[10-11]。为了找寻参与视觉信息控制的多巴胺来自于哪一个核团,本课题组用双光子激光对三个核团依次进行局部损毁,然后检测损毁这些核团后对 M 细胞视觉反应的影响,最终发现位于尾侧下丘脑的多巴胺能神经元对视觉信息的控制是必需的。进一步光遗传学激活的实验表明,这些神经元对控制视觉信息向 M 细胞的传递也是充分的。

至此,本课题组一面感叹大脑结构和功能设计的精巧,下丘脑多巴胺能神经元和后脑甘氨酸能神经元组成“开关”样结构让 flash 这一视觉刺激不引发逃跑行为;一面思索这种“开关”样的机制让 flash 信息虽有潜力却不能通过 M 细胞产生逃跑行为的背后的生理意义是什么。最初设想这个“开关”可能在某个时刻让 flash 产生逃跑以应对某些危机时刻,为此本课题组创造了一系列“危机”,但这些状态并未使“开关”打开,flash 并未产生逃跑行为。后来想可能 flash 刺激是不危险的,所以不逃跑,如果危险的刺激来了,有可能就能使“开关”打开。为此,本课题组尝试给予斑马鱼模拟捕食者靠近的 looming 视觉刺激,即一个白背景下的黑色阴影以

一定速度靠近斑马鱼，发现斑马鱼对该刺激的确产生快速逃跑行为。更有趣的是，“开关”神经元（下丘脑多巴胺能神经元和后脑甘氨酸能神经元）对 flash 刺激和对危险性的 looming 刺激的反应不同：对非危险性的 flash 刺激，多巴胺能神经元及其正向调控的抑制性神经元电活动增加；而对危险性视觉刺激，这两种神经元的活动受到抑制。这一反应的不同使得 flash 视觉信息从视觉中枢向逃跑运动命令神经元的传递中受到抑制，而危险性 looming 视觉信息传递过程中受到的抑制被解除，从而使危险性视觉刺激而非非危险性视觉刺激诱发逃跑行为（图 1）^[12]。

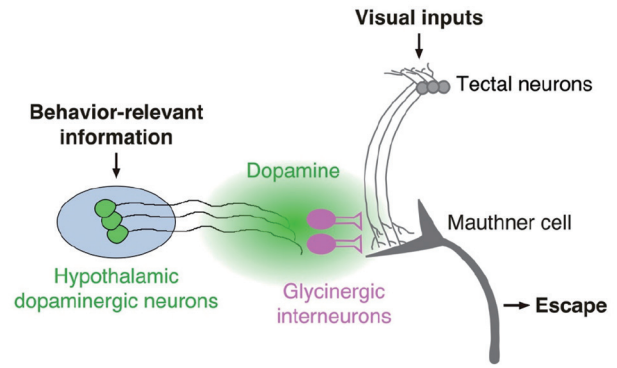


图2 大脑中的两种信息处理系统

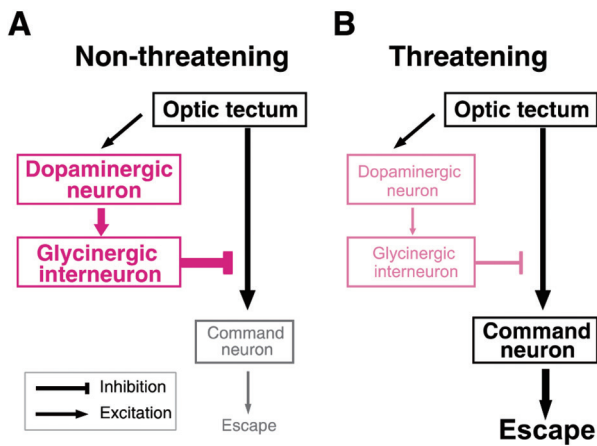


图1 视觉逃跑行为控制的神经机制和生理意义

这一发现表明：当视觉输入被神经系统接受后，一方面视觉特征信息沿着视觉通路传递，另一方面视觉的生理意义信息输送至神经调质系统；进而，大脑根据生理意义调节视觉信息的传递（图 2）。正如本课题组提出的“Bi-modal Brain Function Hypothesis”，在大脑中存在两种神经系统来处理感觉信息，一种是感觉-运动系统，其告诉人们“这是什么”；另一种是神经调质系统，其告诉人们“这意味着什么”；且后者对前者的神经信息处理进行实时调节，使得大脑依据感觉信息“意味着什么”而对其“是什么”进行有选择性的处理，从而产生恰当的心理或行为反应。

回顾这一发现历程，一度意气风发，也一度恍惚迷茫。这里谈几点体会以飨读者。(1) 低年级的时候注意实验的严谨性。实验严谨包括实验对照严格、实验因素（温度等各因素，动物的发育、运动、饥饿状态等）考虑周全、实验操作规范合理、统计

方法合适等。如果实验对照不严格，只能给予一定的提示而无法得出一个明确的结论，那么花费的时间、精力、材料等就都浪费了；如果实验因素考虑不周全或控制不严格，实验结果可能不稳定；类似地，如果实验操作不规范，得出结论的可靠性和可重复性会大打折扣；如果统计方法不合适，得出的结论可能不够可靠。(2) 从开始养成好的实验习惯。实验习惯包括在实验安排、实验记录、数据备份、做和想结合、交流等方面的习惯。如果实验安排不合理，比如准备做某项实验，没有相应准备样品、试剂、仪器等或安排了明显过量的实验事项，实验可能不能顺利进展。如果实验记录不清晰或一些细节缺少，将来分析归纳数据可能会很尴尬。如果只顾着做实验，拿到许多数据却没有分析，或者没有头绪分析，只是感觉做得不好或结果不理想，接着又去重复做，一方面实验者不能及时发现实验中的问题，一方面重复不理想的实验容易使实验者产生挫败感。(3) 从全局角度思考设计实验。在合理设计实验的前提下，统筹考虑前后各个结点的充分性、必要性，以及实验结果是否从前到后均说明一个结论。当前后不一致时需要思考结论的合理性，思考是否还蕴藏有其他的可能性，这也是科研逻辑严谨性的体现。(4) 保持好的身体、好的心态。很欣赏苏东坡的《定风波·莫听穿林打叶声》，狼狈却不觉，竹杖芒鞋，吟啸徐行，归去，也无风雨也无晴。愿各位读者无论身处何境，能保持一颗从容的心。

定风波

三月七日，沙湖道中遇雨。雨具先去，同行皆狼狈，余独不觉，已而遂晴，故作此词。

莫听穿林打叶声，何妨吟啸且徐行。竹杖芒鞋轻胜马，谁怕？一蓑烟雨任平生。

料峭春风吹酒醒，微冷，山头斜照却相迎。回首向来萧瑟处，归去，也无风雨也无晴。

致谢： 特别感谢我的导师中国科学院上海生命科学研究院神经科学研究所杜久林研究员对我的指导和培养以及对本文的修改；感谢李小泉、张白冰、尹陈、陈玮钰和华中科技大学曾绍群教授、刘亚丰副教授等合作者，这项工作由大家齐心协力完成；感谢科技部和中科院等单位的基金资助。

[参 考 文 献]

- [1] Cisek P, Kalaska JF. Neural mechanisms for interacting with a world full of action choices. *Annu Rev Neurosci*, 2010, 33: 269-98
- [2] Gold JI, Shadlen MN. The neural basis of decision making. *Annu Rev Neurosci*, 2007, 30: 535-74
- [3] Kristan WB. Neuronal decision-making circuits. *Curr Biol*, 2008, 18: R928-32
- [4] Peirce JW. Understanding mid-level representations in visual processing. *J Vis*, 2015, 15: 5
- [5] Nassi JJ, Callaway EM. Parallel processing strategies of the primate visual system. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10: 360-72
- [6] Shang CF, Mu Y, Du JL. Zebrafish swimming in neuroscience research: a visible mind in a transparent brain. *Sci Chin*, 2005, 45: 223-36
- [7] Korn H, Faber DS. The Mauthner cell half a century later: a neurobiological model for decision-making? *Neuron*, 2005, 47: 13-28
- [8] Tritsch NX, Sabatini BL. Dopaminergic modulation of synaptic transmission in cortex and striatum. *Neuron*, 2012, 76: 33-50
- [9] Koyama M, Kinkhabwala A, Satou C, et al. Mapping a sensory-motor network onto a structural and functional ground plan in the hindbrain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 1170-75
- [10] Tay TL, Ronneberger O, Ryu S, et al. Comprehensive catecholaminergic projectome analysis reveals single-neuron integration of zebrafish ascending and descending dopaminergic systems. *Nat Commun*, 2011, 2: 171
- [11] Mu Y, Li XQ, Zhang B, et al. Visual input modulates audiomotor function via hypothalamic dopaminergic neurons through a cooperative mechanism. *Neuron*, 2012, 75: 688-99
- [12] Yao YY, Li XQ, Zhang BB, et al. Visual-cue discriminative dopaminergic gating of visuomotor transformation and behavior selection. *Neuron*, 2016, 89: 598-612