

# 由丘脑底核和苍白球外部形成的基底神经节先驱

## A basal ganglia pacemaker formed by the subthalamic nucleus and external globus pallidus

Dietmar Plenz\* & Stephen T. Kital

*Department of Anatomy and Neurobiology, University of Tennessee,*

*College of Medicine, Memphis, Tennessee 38163, USA*

(translated by zang jie)

**摘要：**基底神经节 (STN) 的丘脑底核对于正常运动 1,2 以及运动障碍 3-5 都很重要。STN 的损伤 6 或深部脑刺激 7,8 可以减轻帕金森病的静息性震颤。STN 及其目标核 9,10 在低频下显示同步振荡爆发放电，其中一些与震颤相关，但这种同步爆发的潜在机制尚不清楚。在这里，我们展示了兴奋性 STN 和抑制性外部苍白球 (GPe) 形成了一个参与同步爆发的反馈系统。在成熟的器官型皮层-纹状体-STN-GPe 培养物中，STN 和 GPe 中的神经元自发地以 0.4、0.8 和 1.8 Hz 的频率产生同步振荡脉冲。苍白球病灶消除了这种爆裂，而皮质病灶则倾向于以 0.8 Hz 的频率爆裂。苍白球爆发虽然弱于 STN 爆发，但需要通过募集底下回弹激发产生同步振荡爆发。我们建议 STN 和 GPe 构成由 GPe 神经元的纹状体抑制调制的中央 pacemaker。该 pacemaker 可能负责正常和病理性基底神经节中的同步振荡活动。

为了测试我们关于 STN 和 GPe 产生同步振荡爆发的提议，我们开发了一个体外模型 11，其中两个细胞核都与皮质和纹状体（它们的主要外在输入源）共培养，以确保适当的成熟。STN 和 GPe 在出生后第 0-2 天从大鼠中获得，并与额内侧皮层和背外侧纹状体一起培养。体外  $38 \pm 1$  天后 ( $n = 58$  个培养物)，用一或两个细胞外电极从 STN 和 GPe 记录自发的单单位和多单位活动。

STN 中的自发活动显示出持续 10-15 秒的独特的、刻板的振荡爆发放电周期（图 1a）。爆发内的发射速率达到每秒数百个尖峰，并且爆发以低频振荡。在两次爆发之间，STN 单位要么保持沉默，要么以低速率不规则地发射。STN 单元的爆发活动被锁相并与其他 STN 和 GPe 单元同步（图 1b、c），表明它反映了两个核的种群活动。自发同步爆发每 1-2 分钟定期发生一次，主频率偶尔会发生变化（图 1d）。

基于使用连续自发尖峰周期（每个神经元  $324 \pm 135$  s）的相关分析和频率图，大约一半的 STN（83/181）和三分之一的 GPe 单元（31/102）以频率振荡的方式发射 0.1 到 4 Hz（20 毫秒时间分辨率）之间。类似地，61% STN-STN（46/76）、44% STN-GPe（33/75）和 23% GP-GPe（4/17）神经元对在该频率范围内显示同步振荡爆发。

STN-GPe 系统在同步爆发期间显示出对特定频率的明确偏好。相对功率谱分析揭示了分别在  $f_{01} = 0.44$  Hz 和  $f_{02} = 0.79$  Hz 处的两个主要种群频率（图 2a）。通过将  $f_0$  与每个相关函数在  $f_0 \pm \Delta f$  范围内的相应总相对功率作图，发现了第三个主要频率（图 2b）。 $f_0$  的最终概率分布在先前获得的频率  $f_{01} = 0.42 \pm 0.09$  和  $f_{02} = 0.82 \pm 0.11$  处达到峰值，但也揭示了  $f_{03} = 1.87 \pm 0.21$  Hz 处的第三个主频率（高斯拟合，平均值  $\pm$  s.d；图. 2c），同时相对功率比  $f_{01}$  和  $f_{02}$  小八倍（ $0.0029 \pm 0.0001$  对  $0.022 \pm 0.001$ ；组阈值，1.0 Hz）。找到了 STN、GPe 和  $f_0$  型相关函数的所有主要频率（图 2b，方差分析 ANOVA）。STN 神经元在突发放电期间，与其他 STN 和 GPe 神经元以不同的相位关系发射。在所有主频率上都观察到锁相发放（图 2d，方差分析），最小和最大相位（中最大，中最大）主要聚集在  $(0^\circ, \pm 180^\circ)$  或  $(\pm 180^\circ, 0^\circ)$  附近（图 2e）。这些结果将锁相振荡爆发表征为 STN-GPe 系统内的同步网络活动，该系统稳定在三个离散的谐波频率，在此期间神经元要么一起发放，要么交替发放。

尽管 STN 和 GPe 神经元都参与爆发活动，但 STN-STN 和 STN-GPe 互相关函数的定量比较表明，每次爆发，STN 单元产生的峰值比 GPe 神经元多四倍（图 2f）。同步爆发主要局限于低频范围。在较高的时间分辨率（2 ms）下进行相关分析，在 12 个丘脑底（22/181）和 22 个苍白球（23/102）单位中发现了 4 Hz 以上的振荡活动。这些振荡与单元的平均发射率 ( $r_{STN} = 0.956$ ;  $r_{GPe}$

= 0.998) 密切相关, 并且从未在互相关函数中发现 (STN-STN, 0/73; STN-GPe, 0/76)。大多数具有这些较高振荡的装置没有显示同步振荡爆发放电 (41/45)。因此,  $f_0 > 4$  Hz 的有节奏的放电可能反映了神经元的内在重复放电和不同步的群体活动。

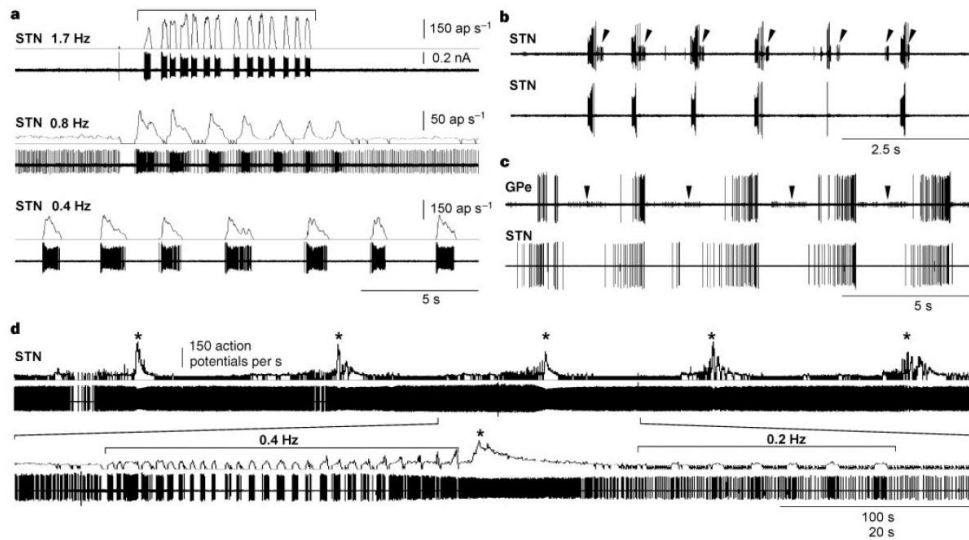


图 1. STN 单元显示振荡突发周期, 与其他 STN 和 GPe 单元同步。 a, 基本频率为 1.7、0.8 和 0.4 Hz 的振荡爆发周期。 上迹线: 瞬时环速 ( $t=0.1$  s)。 较低痕迹: 来自不同培养物的细胞外 STN 单单位活性。 b, c, 在同步爆发期间, STN 单元与其他 STN 或 GPe 单元在 0 $\pi$ 、接近 0 $\pi$  (b, 箭头) 或 180 $\pi$  (c, 箭头) 显示稳定的相位关系。用两个电极同时进行细胞外多单元记录。 d, 同步爆发期有规律地分组为更长的神经元活动周期 (1  $\pm$  2 分钟)。 在同步爆发期间 (星号), 爆发内频率偶尔会发生变化 (括号)。

在体内, 皮质刺激在 STN12 和 GPe13 中产生复杂的兴奋和抑制序列, 也涉及皮质纹状体通路。为了测试皮质输入是否是同步爆发所必需的, 皮质文化通过沿着皮质纹状体边界的切割被急性分离 (图 3A)。尽管 STN 中的尖峰活动减少了 50 以上 (图 3D), 但皮层病变并未消除同步振荡爆发 ( $n=5$  培养物, 图 3A-C)。然而, 它将  $f_0$  分布集中在  $f_{02}$  (图 3E), 表明  $f_{02}$  是在没有传入皮层驱动的情况下的首选振荡状态。该实验表明, STN 和 GPe 系统中的同步爆发非常稳健, 这一发现进一步支持了皮质损伤后 STN 单元的平均爆发间脉冲间隔没有改变的发现 (图 3F)。皮质损伤没有改变 GPe 中的放电率。由于纹状体活动在同步爆发中也很重要, 纹状体和皮质输入被放置在纹状体-STN 边界处的切口中断。在这些条件下, 同步突发仍然存在 ( $n=2$ , 数据未显示)。

在体内, STN 的主要抑制输入来自 GPe<sup>14</sup>, 兴奋性 STN 投射回 GPe<sup>15,16</sup>。该反馈系统对于同步突发的生成至关重要。在 STN 和 GPe 之间的投影被沿 STN-GPe 边界的切割中断后 ( $n=4$  个培养物), 同步爆发被取消 (图 3G, H) 并且 STN 单元发射变得有规律, 如超过方差系数降低 70 ( $P < 0.005$ ; 图 3I)。

此外，STN 神经元的平均放电率略有增加（ $13 \times 2$  Hz 完整 vs  $16 \times 2$  Hz 损伤），大多数 STN 单元 (13/20) 内在振荡 ( $r = 0.96$ ,  $f_0$  与平均放电率) 没有相关性在互相关函数中 (13/13)。损伤后 1 小时内，STN 中建立了持久且不相关的爆发活动（图 3J）。在分离的 GPe 中几乎不存在自发活动（数据未显示）。这些结果表明 GPe 对于同步爆发的产生至关重要，苍白球输入主要负责 STN 活动的时间组织，而不是控制 STN 神经元的平均放电率。

药理学研究支持我们的模型。通过使用谷氨酸拮抗剂 6,7-二硝基喹啉-2,3-二酮 (DNQX) ( $n = 3$  个培养物,  $n = 7$  个神经元; 图 4a) 的浴应用阻止同步放电。此外，由局部谷氨酸盐应用于 STN 引发的 STN 爆发活动引发同步振荡爆发 ( $n = 5$ ; 图 4b)。这些结果表明从 STN 到 GPe 的谷氨酸能爆发传输对于同步振荡爆发是必要的。

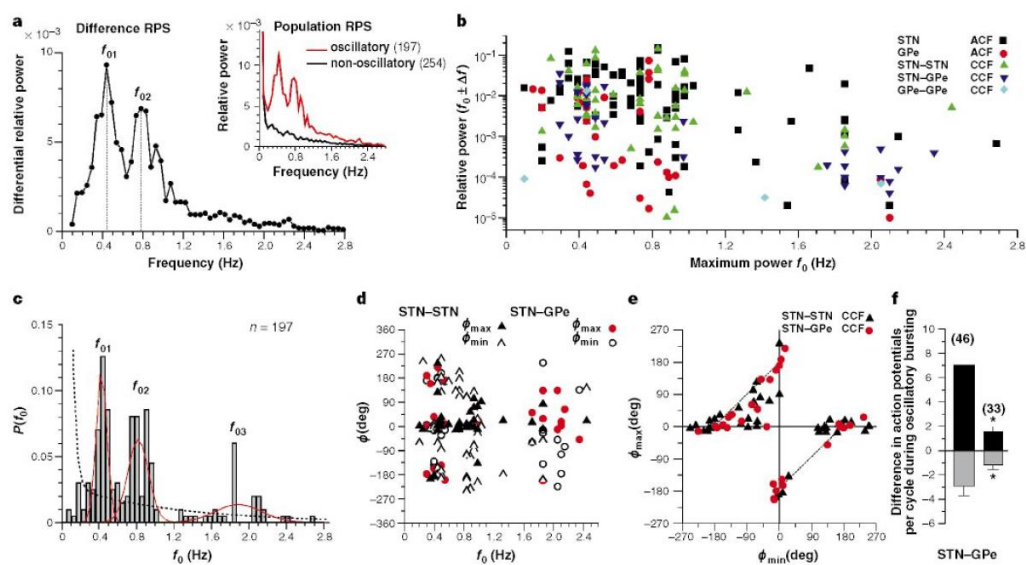


图 2. STN 和 GPe 中同步振荡爆发的定量分析。a, 差分相对功率谱 (RPS) 揭示了在两个主要频率 ( $f_{01} = 0.44$  Hz,  $f_{02} = 0.79$  Hz) 处发生突发的趋势。插图: 来自非振荡 (黑色) 和振荡 (红色) 自相关和互相关函数 (分别为 ACF 和 CCF) 的平均 RPS。b, 每个振荡相关函数和 RPS 的  $f_0$  与相对功率 ( $f_0 \pm \Delta f$ ) 的散点图。c, 从 b 获得的  $f_0 [P(f_0)]$  的概率分布揭示了  $f_{01} = 0.42 \pm 0.09$ 、 $f_{02} = 0.82 \pm 0.11$  和  $f_{03} = 1.87 \pm 0.21$  处的三个主要种群频率: 21 (高斯 @t; 红线)。黑色虚线表示非振荡情况下的  $P(f_0)$  (二阶指数衰减)。d, STN 和 GPe 单元之间的锁相环与  $f_0$  无关。e, 大多数单元在  $0^\circ$  时与其他 STN 和 GPe 单元同步或在  $180^\circ$  处反相, 如 ( $f_{min}$ ,  $f_{max}$ ) 的散点图所示。虚线表示在对称突发±暂停周期和所有可能阶段均等分布的假设下的预期。f, STN 单元在一个同步爆发期间 ( $P < 0.005$ ) 比 GPe 单元贡献了更多的高于机会的尖峰 ( $a_{0.995}$ )。类似地, 与 GPe 神经元相比, STN 神经元中的暂停明显缺乏更多的尖峰信号 ( $P < 0.05$ )。

此外，同步的 GABA ( $\gamma$ -氨基丁酸) 输入到 STN，通过对 STN 的局部 GABA 应用模拟，引发同步爆发，然后是 STN 神经元中的反弹爆发 ( $n = 4$ ，图 4c)。该响应曲线表明同步抑制性苍白球爆发可以通过招募 STN 反弹爆发来触发同步振荡爆发。STN 和 GPe 神经元之间用于产生同步振荡活动的突发传输的基本要求得到 STN 神经元的细胞内记录与 GPe 中的细胞外记录相结合的进一步支持。在 cortex-STN-GPe 三重培养物中进行记录以排除来自纹状体的抑制性输入。数据显示苍白球爆发先于 STN 神经元中的超极化抑制电位，然后是反弹爆发 ( $n = 3$ ；图 4d)。这些反弹爆发可能反映了 STN 神经元的内在膜特性，因为反弹尖峰也可以通过将超极化电流注入培养的 STN 神经元的细胞体中引起 (12/14；图 4e) 17,18。最后，在没有 GPe 的皮质-纹状体-STN 培养物中，STN 中的自发活动的特征是持久的间歇性爆发 (图 4f)，类似于在急性 GPe 病变 1 小时后在四重培养物中发现的那些。

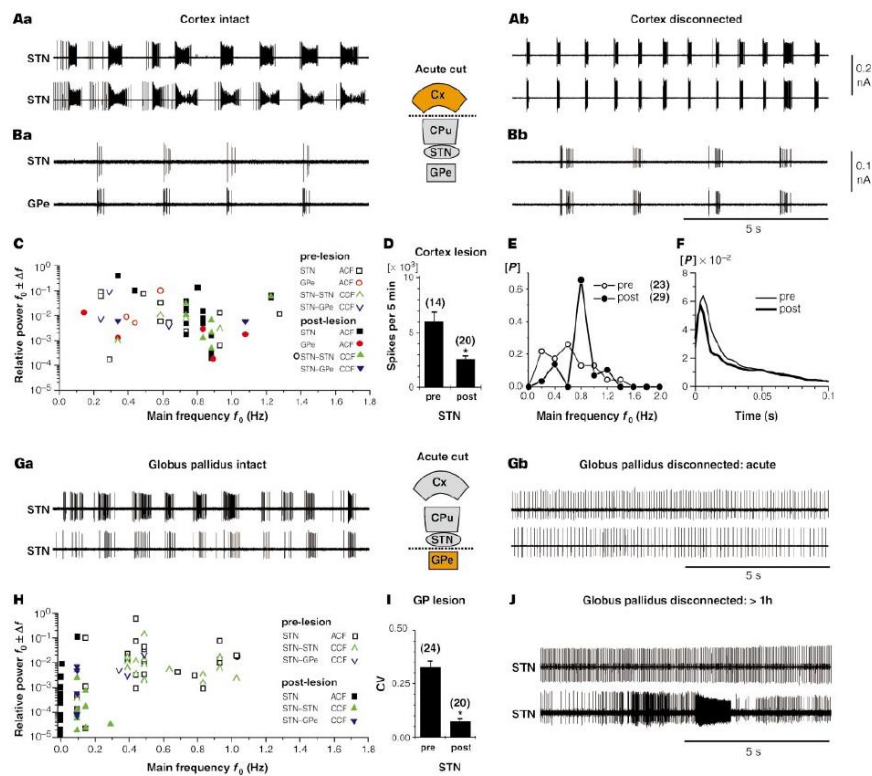


图 3 同步振荡爆发不依赖于皮质输入，而是依赖于完整的 STN±GPe 连接。A, B, 爆发不依赖于皮质输入。在 (Aa, Ba) 和 (Ab, Bb) 皮质病变之前，来自 STN 和 GPe 中不同单元对的同时记录。C,  $f_0$  和  $f_0 \pm \Delta f$  频段中 (病变前，开放符号) 和之后 (病变后，闭合符号) 皮质输入的相对功率的散点图，同步爆发主要发生在  $f_0=0.8$  Hz。F, STN 单元的平均爆发间隔直方图在皮质损伤后没有变化。G, 急性苍白球病变消除了 STN 中的同步爆裂。苍白球病灶之前 (Ga) 和之后 (Gb) 不同单位对的同时记录。H, 苍白球病灶前 (病灶前，开放符号) 和病后 (病后，闭合符号)  $f_0 \pm \Delta f$  波段中  $f_0$  和相对功率的散点图。I, 急性苍白球病变后 STN 环的变异系数 (CV) 降低。J, 来自 STN 装置的同时记录，显示在长期苍白病灶 (>1 小时) 后非同步、非振荡爆发放电。Cx, 皮质; Cpu, 纹状体。

此处体外描述的同步振荡爆裂与体内 STN 和 GPe 中观察到的活动模式非常相似。在瘫痪 19 和麻醉大鼠 (M. Bevan, 个人交流) 中, 在 STN 和 GPe 中发现了低频范围内的振荡爆发放电。在灵长类动物中, 大多数 GPe 神经元在数百毫秒的高频放电周期内激发, 中间有类似的长期静默期 20-22。这些神经元活动水平的相似性和皮质-纹状体-STN-GPe 培养物的成熟形态使我们得出结论, 这里描述的同步振荡爆发捕获了体内观察到的主要活动模式。

我们的研究将 STN-GPe 系统确定为基底神经节的中央 pacemaker, 应该对基底神经节功能和功能障碍具有深远的影响。首先, 在培养系统中, GPe 对 STN 活动的时间组织至关重要, GPe 激发由 STN 决定。另一方面, 在 GPe 中遇到的振荡突发比在 STN 中更少, 并且 GPe 单元的突发强度小于 STN 单元。这表明一些 GPe 神经元可以在小范围的苍白球活动内对同步振荡爆发的产生有相当大的控制。由于同步振荡突发放电本身不需要皮质或纹状体输入, 因此外部苍白球神经元的纹状体抑制应允许对 STN-GPe pacemaker 进行独立且非常有效的传入控制。

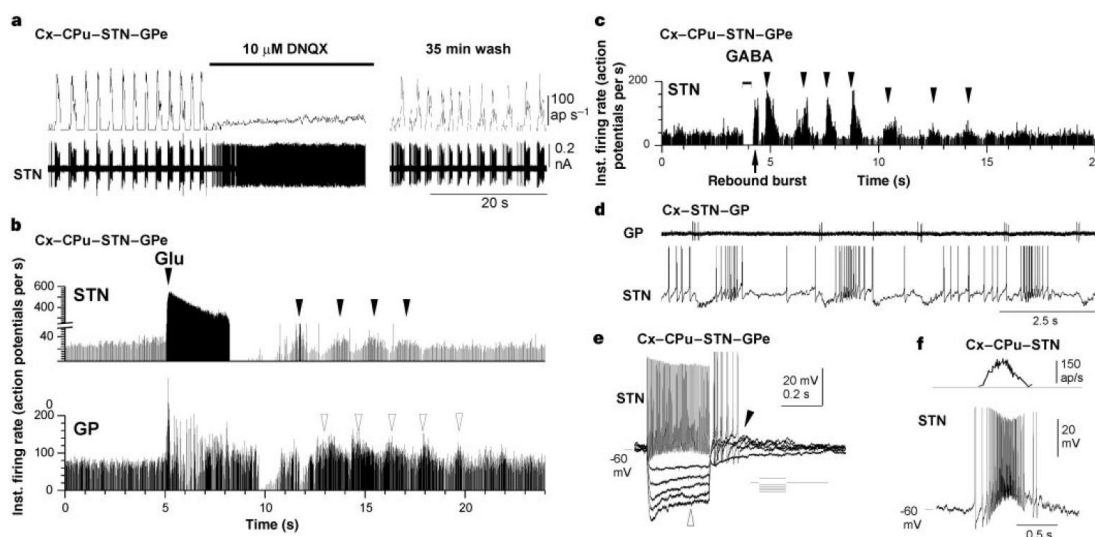


图 4. STN±GPe 起搏器中同步振荡脉冲产生的机制。 a, 同步爆发被谷氨酸拮抗剂 DNQX 的浴应用消除。 b, 同步振荡爆发可以通过局部谷氨酸喷射 (Glu) 到 STN (200 ms, 1 mM) 引起。同时记录的 STN 和 GPe 单元的瞬时尖峰频率图。注意 STN 和 GPe 中的反相爆裂 (填充和开放箭头)。 c, 局部 GABA 应用到 STN (200 毫秒, 1 mM) 停止环 (支架) 并启动振荡爆发 (箭头), 然后是反弹爆发 (箭头)。 d, 在同步振荡爆发期间, GPe 爆发先于 STN 神经元中的一系列超极化和反弹爆发激发。 e, 在稳态电流注入 (插图) 时, 培养的 STN 神经元显示出弱适应高频放电、内向整流 (空心箭头) 和反弹激发 (空心箭头)。每次反弹响应平均 3.8 个尖峰。 f, 在没有 GPe 的情况下培养的 STN 神经元中的自发持久去极化 (清晰的细胞内记录)。

其次, 帕金森病动物模型的电生理学 5,19,23,24 和原位杂交 25 结果表明 STN 活动的时间特性 2,5,25 和 STN 靶核中神经元活动的同步 9,10 可能对纹

状体多巴胺缺乏导致的基底神经节功能障碍。我们的结果提供了一种基本机制，通过该机制，STN-GPe pacemaker 中的同步振荡活动可能与纹状体中的多巴胺缺乏有关。我们建议多巴胺通过作用于“间接”纹状体通路 3，控制在 pacemaker 活动期间变得同步的 STN 和 GPe 神经元的募集。

最后，皮质-纹状体-STN-GPe 培养物中不存在多巴胺输入。因此，我们的体外系统可能更类似于缺乏多巴胺的基底神经节系统，而不是正常的体内基底神经节活动。这一观点得到以下发现的支持：多巴胺耗竭会增加 STN 5、23、24、外部苍白球 21、26 和基底神经节输出核 21、27 的爆发活动。然而，考虑到核中广泛的同步和 STN 目标核中可能夹带的活动，高度同步的振荡发射可能只是 STN-GPe pacemaker 最简单的可检测模式。在正常情况下，我们会设想在多个 STN-GPe 反馈回路中 pacemaker 活动，这些回路实现彼此之间的动态相位关系，并由纹状体抑制单独控制。由于 STN-GPe pacemaker 位于基底神经节的“间接”通路中 3,15，构成“间接”通路的纹状体神经元的活动可能与直接相关的“直接”通路中的纹状体活动存在质的差异到运动执行 28,29。“间接”纹状体通路将控制“窗口”的时间序列，“直接”纹状体通路中的活动通过这些窗口被基底神经节的输出核整合。

## 参考文献

- [1] Matsumura, M. Kojima, J., Gardiner, T. W. & Hikosaka, O. Visual and oculomotor functions of the monkey subthalamic nucleus. *J Neurophysiol* 67, 1615-1632 (1992).
- [2] Wichmann, T., Bergman, H. & DeLong, M. R. The primate subthalamic nucleus. I. Functional properties in intact animals. *J Neurophysiol* 72, 494-506 (1994).
- [3] Albin, R. L., Young, A. B. & Penney, J. B. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12, 366-375 (1989).
- [4] Wichmann, T. & DeLong, M. R. Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* 6, 751-758 (1989).
- [5] Bergman, H., Wichmann, T., Karmon, B. & DeLong, M. R. The primate subthalamic nucleus. II. Neuronal activity in the MPTP model of parkinsonism. *J Neurophysiol* 72, 507-520 (1994).
- [6] Bergman, H., Wichmann, T. & DeLong, M. R. Reversal of experimental parkinsonism by lesions of the subthalamic nucleus. *Science* 249, 1436-1438 (1990).
- [7] Limousin, P. *et al.* Electrical stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med* 339, 1105-1111 (1998).
- [8] Rodriguez, M. C. *et al.* The subthalamic nucleus and tremor in Parkinson's disease. *Mov Disord* 13, 111-118 (1998).
- [9] ini, A., Feingold, A., Slovin, H. & Bergman, H. Neurons in the globus pallidus do not show correlated activity in the normal monkey, but phase-locked oscillations appear in the MPTP model of Parkinson. *J Neurophysiol* 74, 1800-1805 (1995).
- [10] Hurtado, J. M., Gray, C. M., Tamas, L. B. & Sigvardt, K. A. Dynamics of tremor-related oscillations in the human globus pallidus: A single case study. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 1674-1679 (1999).
- [11] Plenz, D., Herrera-Marschitz, M. & Kitai, S. T. Morphological organization of the globus pallidus- subthalamic nucleus system studied in organotypic cultures. *J Comp Neurol* 397, 437-457 (1998).
- [12] Kitai, S. T. & Deniau, J. M. Cortical inputs to the subthalamus: intracellular analysis. *Brain Res* 214, 411-415 (1981).
- [13] Kita, H. Responses of globus pallidus neurons to cortical stimulation: intracellular study in the rat. *Brain Res* 589, 84-90 (1992).
- [14] Kita, H., Chang, H. T. & Kitai, S. T. Pallidal inputs to subthalamus: intracellular analysis. *Brain Res* 264, 255-265 (1983).



- [15] Parent, A. & Hazrati, L. N. Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of the subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res Rev* 20, 128-154 (1995).
- [16] Shink, E., Bevan, M. D., Bolam, J. P. & Smith, Y. The subthalamic nucleus and the external pallidum: two tightly interconnected structures that control the output of the basal ganglia in the monkey. *Neuroscience* 73, 335-357 (1996).
- [17] Nakanishi, H., Kita, H. & Kitai, S. T. Electrical membrane properties of rat subthalamic neurons in an *in vitro* slice preparation. *Brain Res* 437, 35-44 (1987).
- [18] Beurrier, C., Congar, P., Bioulac, B. & Hammond, C. Subthalamic nucleus neurons switch from single- spike activity to burst firing mode. *J Neurosci* 15, 599-609 (1999).
- [19] Ruskin, D. N. *et al.* Multisecond oscillations in firing rate in the basal ganglia: Robust modulation by dopamine receptor activation and anaesthesia. *J Neurophysiol* 81, 2046-2055 (1999).
- [20] DeLong, M. R. Activity of pallidal neurons during movement. *J Neurophysiol* 34, 414-427 (1971).
- [21] Fillion, M. Effects of the interruption of the nigrostriatal pathway and of dopaminergic agents on the spontaneous activity of globus pallidus neurons in the awake monkey. *Brain Res* 178, 425-441 (1978).
- [22] Aldridge, J. W. & Gilman, S. The temporal structure of spike trains in the primate basal ganglia: Afferent regulation of bursting demonstrated with precentral cerebral cortical ablation. *Brain Res* 543, 123-138 (1991).
- [23] Hollerman, J. R. & Grace, A. A. Subthalamic nucleus cell firing in the 6-OHDA-treated rat: basal activity and response to haloperidol. *Brain Res* 590, 291-299 (1992).
- [24] Hassani, O.-K., Mouroux, M. & Fe'ger, J. Increased subthalamic neuronal activity after nigral dopaminergic lesion independent of disinhibition via the globus pallidus. *Neurosci* 72, 105-115 (1996).
- [25] Chesselet, M. F. & Delfs, J. M. Basal ganglia and movement disorders: an update. *Trends Neurosci* 10, 417-422 (1996).
- [26] Pan, H. S. & Walters, J. R. Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway decreases the firing rate and alters the firing pattern of globus pallidus neurons in the rat. *Synapse* 2, 650-656 (1988).
- [27] Miller, W. C. & DeLong, M. R. in *The Basal Ganglia II* (eds Carpenter, M. B. & Jayaraman, A.) 415-427 (Plenum, New York, 1987).

[28] Wurtz, R. H. & Hikosaka, O. Role of the basal ganglia in the initiation of saccadic eye movements. *Prog Brain Res* 64, 175-190 (1986).

[29] Chevalier, G. & Deniau, J. M. Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. *Trends Neurosci* 13, 277-280 (1990).

[30] Abeles, M. Quantification, smoothing, and confidence limits for single-units' histograms. *J Neurosci Methods* 5, 317-325 (1982).