

# 预期作用对大鼠皮层-丘脑神经元 伤害性反应的调节\*

张含萸<sup>1</sup> 王锦琰<sup>2</sup> 罗非<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>北京大学神经科学研究所,北京 100083; <sup>2</sup>中国科学院心理研究所心理健康重点实验室)

**摘要** 目的:探索与痛觉预期特异相关的脑区,并研究预期作用对大鼠丘脑-皮层神经元伤害性反应的影响。方法:采用经典的声音-激光条件反射模型使大鼠产生痛觉的确定性预期,同时采用多通道单位放电同步记录技术观察预期状态下前扣带回(ACC)、中央杏仁核(CeA)、丘脑背内侧核(MD)以及初级躯体感觉皮层(SI)的神经元群对预期信号和随后伤害性激光刺激的反应模式。结果:(1)ACC和MD对预期信号的反应幅度和比例以及SI的抑制性反应比例在条件化后显著增加;(2)条件化能够显著增强四个脑区神经元对伤害性反应的幅度和比例,且在训练过程中增强的幅度最大。结论:ACC、MD和SI可能是参与预期信号编码的特异性脑区;预期效应,特别是预期形成过程能显著增强中枢的痛反应。

**关键词** 伤害性感觉;痛觉情绪;清醒动物

## ANTICIPATION OF PAIN MODULATES CORTICAL AND THALAMIC NOCICEPTIVE RESPONSES IN AWAKE RATS

ZHANG Han-Ti<sup>1</sup>, WANG Jin-Yan<sup>2</sup>, LUO Fei<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Neuroscience Research Institute, Peking University, Beijing 100083; <sup>2</sup>Key Laboratory of Mental Health, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

**Abstract** Objective: To explore the specific brain structures for pain anticipation and how anticipation influences cortical and thalamic nociceptive responses in awake rats. Methods: According to conventional tone-laser conditioning model, rats were trained to associate a tone (conditioned stimulus) with noxious CO<sub>2</sub> laser pulsation (unconditioned stimulus) applied to the hind paw. Single-neuron activities in the anterior cingulate cortex (ACC), central nucleus of amygdala (CeA), medial dorsal thalamus (MD) and primary somatosensory cortex (SI) were recorded simultaneously during conditional training. Results: (1) Neuronal responses to anticipatory stimuli (tone) in ACC and MD were significantly enhanced, meanwhile the percentage of inhibitory neurons in SI increased since conditioning model was fully established. (2) The nociceptive responses in target areas were greatly enhanced by conditioning, especially in the training session. Conclusion: ACC, MD and SI might be involved in the processing of pain anticipation, which turned out to facilitate the central nervous nociceptive responses.

**Key words** Nociception; Pain affect; Awake animals

情绪对痛觉的调制有着不可忽视的作用,而情绪又会受到认知的影响,其中一个逐渐引起科学家们密切关注的认知因素就是预期。大量的生理学 and 影像学实验均证实,预期能够改变疼痛的感觉和情

绪成分,参与的脑区主要有前额叶皮层(PFC)、前扣带皮层(ACC)、岛叶(IC)、初级躯体感觉皮层(SI)、海马和小脑等<sup>[1~4]</sup>。以往在人类被试的影像学实验中虽然可以观察到中枢多个部位的激活,并能利用

\* 本工作由国家自然科学基金(30170307、30370461、30570577)、中国科学院百人计划、教育部新世纪优秀人才支持计划(985-2-068-113)、教育部 211 工程项目、科技部 973 项目(2003CB515407)资助

责任作者

心理物理学方法控制各种情绪、认知因素,但技术上仍存在时间分辨率不够高的缺陷,血氧水平也只是间接体现了中枢神经元群的反应,少量以动物为实验对象的痛觉预期研究也仅仅停留在损毁前后的行为学观察和简单的单神经元记录上<sup>[5,6]</sup>。痛觉的预期作用究竟来自于哪些脑区的特异性活动?它又是怎样调节中枢伤害性反应的?这其中有很多的谜团等待我们一一解开。本实验以经典的条件反射理论为基础建立痛觉预期模型,同时采用多通道神经元同步放电技术记录清醒大鼠多个脑区的神经元集群放电,以期探索预期因素影响痛觉感受的机制。

### 材料与方 法

1. 微电极植入 健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠,单笼饲养,自由进食和饮水,保持 12 hr : 12 hr 的人工昼夜节律,以 7:00 am 为黑暗期的开始。适应环境至少一周,体重达 250 ~ 310 g 后,即可进行电极埋置手术。依据大鼠脑图谱定位如下脑区:

SI, bregma 后 1.0 mm (-1.0 A),中线旁开 2.0 mm (L),深距颅骨表面 2.0 mm (V); ACC, 3.2 A, 0.8 L, 2.5 V; 中央杏仁核 (CeA), -2.0 A, 4.0 L, 8.5 V; 丘脑背内侧核 (MD), -2.3 A, 0.8 L, 5.5 V。体视显微镜下根据脑区定位打孔,将微电极阵列固定于立体定位仪的引导杆下端,垂直下降至脑表面后缓慢推进至靶脑区。然后将牙科水泥堆于电极根部,通过附着螺丝将电极锚定在颅骨表面。最后将电极片按一定顺序排列,用牙科水泥包埋固定,制成信号接口。术后恢复两周,然后开始实验。

2. 条件化训练 以激光刺激 (单脉冲,光束直径 2.5 mm,波宽 20 ms,输出功率 7 ~ 8 W)作为非条件刺激,哨声 (持续时间 100 ms,声强 80 dB,频率 800 Hz)作为条件刺激,自哨声响后 1 秒给予对侧足底激光刺激。实验流程分为 3 个阶段,分别在 3 天里完成。(1) 阶段 1 (条件化训练前的对照):随机给予单纯激光刺激、单纯声音刺激和声音-激光配对刺激 (间隔 900 ms),各 40 次。(2) 阶段 2 (条件化训练):先给予 30 次单纯声音刺激 (用于去除朝向反射),随后给予 70 次声音-激光配对刺激。(3) 阶段 3 (条件化训练的强化):给予 50 次配对刺激,以加强前一日的条件反射,观察确定性预期情况下神经元的伤害性反应。任何两次激光刺激间隔不少于 1 分钟。

3. 数据采集和分析 在行为训练的同时采用多

通道记录系统 (美国 Bigrphics 公司)和 Magnet 软件记录神经元放电。NeuroExp, brec, Matlab, Prism 4.0 和 Excel 进行统计分析,实验数据以均数 ± 标准误差表示。每个神经元对刺激的反应均按刺激前的基线标准化成相应的 Z 分值,即  $Z = (\text{实际反应频率} - \text{基线放电频率均值}) / \text{基线放电频率标准差}$ 。采用方差分析比较每个脑区神经元群在各种条件下的反应。用 t 检验比较条件化前后不同部位神经元反应比例间的差异。

### 结 果

1. 各脑区的预期性反应 考察配对声音刺激引起的神经元反应,发现如下规律:从反应强度上看 (见图 1),与阶段 1 相比,ACC 和 MD 神经元的反应幅度在阶段 2 和 3 都显著增加,其中 ACC 的反应随条件化程度的增加而增强,而 MD 反应则在阶段 2 的条件化学习中达到最大值。从反应比例上看 (见表 1),发生兴奋反应的 ACC 和 MD 神经元均在学习过程 (阶段 2) 中最高;学习后略有降低,MD 反应比例降低幅度较大,而 ACC 变化甚微。上述现象均提示 MD 可能参与情绪性学习,而 ACC 则更倾向于受单纯情绪状态的影响。另外 SI 的抑制性神经元比例在阶段 2 和 3 都显著升高,提示该类反应模式也与条件化有关。

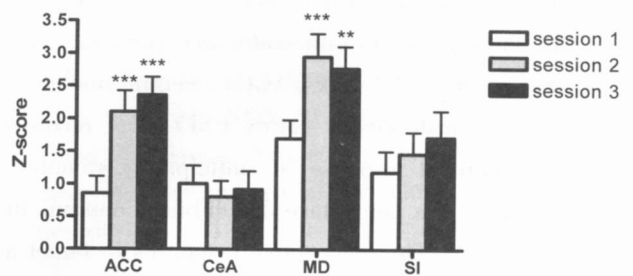


图 1 不同条件化状态下配对声音刺激引起的的神经元反应幅度变化

Fig 1 Normalized firing rate induced by paired tone stimuli in each session. \*\*, \*\*\*:  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ , compared with session 1

2. 预期对伤害性反应的调节 除预期本身的特异性反应外,我们同样关心它对痛反应的影响。由图 2 可以看出,全部脑区的神经元对伤害性刺激的反应在阶段 2 均显著增强;与阶段 2 相比,阶段 3 的反应都有所下降,但 ACC 和 SI 的反应仍显著高于对照情况 (阶段 1)。有显著反应的神经元比例统

计结果也与之相一致(见表 2),除 ACC 的反应比例出现在阶段 2,MD 和 SI 的增加具有统计学意义。随预期程度而增加外,其它脑区的最高反应比例均

表 1 各脑区对配对声音刺激有显著兴奋/抑制反应的神经元比例

Table 1 Percent of neurons exhibiting excitatory or inhibitory responses to paired tone stimuli in target areas

脑区 Brain area	阶段 1 Session 1	阶段 2 Session 2	阶段 3 Session 3
CeA			
兴奋反应 Excitatory	6/69 (8.70%)	11/70 (15.71%)	8/71 (11.27%)
抑制反应 Inhibitory	0/69 (0)	2/70 (2.86%)	4/71 (5.63%)
ACC			
兴奋反应 Excitatory	4/70 (5.71%)	23/73 (31.51%) <sup>***</sup>	21/70 (30.00%) <sup>***</sup>
抑制反应 Inhibitory	1/70 (1.43%)	3/73 (4.11%)	0/70 (0)
MD			
兴奋反应 Excitatory	4/61 (6.56%)	22/63 (34.92%) <sup>***</sup>	17/64 (26.56%) <sup>**</sup>
抑制反应 Inhibitory	2/61 (3.28%)	3/63 (4.76%)	0/64 (0)
SI			
兴奋反应 Excitatory	6/83 (7.23%)	14/85 (16.47%)	14/86 (16.28%)
抑制反应 Inhibitory	3/83 (3.61%)	11/85 (12.94%) <sup>*</sup>	13/86 (15.12%) <sup>*</sup>

<sup>\*</sup>, <sup>\*\*</sup>, <sup>\*\*\*</sup>:与阶段 1 比较,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ , compared with session 1

表 2 各脑区对配对激光刺激有显著兴奋/抑制反应的神经元比例

Table 2 Percent of neurons exhibiting excitatory or inhibitory responses to paired laser stimuli in target areas

脑区 Brain area	阶段 1 Session 1	阶段 2 Session 2	阶段 3 Session 3
CeA			
兴奋反应 Excitatory	39/69 (56.52%)	49/70 (70.00%)	44/71 (61.97%)
抑制反应 Inhibitory	1/69 (1.45%)	0/70 (0)	0/71 (0)
ACC			
兴奋反应 Excitatory	24/70 (34.29%)	36/73 (49.32%)	41/70 (58.57%) <sup>**</sup>
抑制反应 Inhibitory	1/70 (1.43%)	1/73 (1.37%)	0/70 (0)
MD			
兴奋反应 Excitatory	28/61 (45.90%)	46/63 (73.02%) <sup>**</sup>	43/64 (67.19%) <sup>*</sup>
抑制反应 Inhibitory	1/61 (0)	2/63 (2.63%)	3/64 (0)
SI			
兴奋反应 Excitatory	47/83 (56.63%)	62/85 (72.94%) <sup>*</sup>	58/86 (67.44%)
抑制反应 Inhibitory	7/83 (8.43%)	6/85 (7.06%)	13/86 (15.12%)

<sup>\*</sup>, <sup>\*\*</sup>:与阶段 1 比较,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , compared with session 1

## 讨 论

良好的预期和期望是安慰剂产生镇痛效应的基本机制;相反,对疼痛的预期则会给曾经受到过创伤的病人带来更加痛苦的体验。影像学研究证实,痛觉预期能够引起痛觉特异性脑区如 SI、ACC、IC、PFC、小脑以及 PAG 等<sup>[1-4]</sup>的持续激活。为数不多

的动物实验也提示,大鼠的 ACC 可能参与痛觉预期相关的活动<sup>[7]</sup>。本实验在严格控制痛觉预期的情况下观察了清醒大鼠痛觉相关脑区的反应,发现 ACC、MD 和 SI 神经元对于疼痛预期有特异性反应。

对人类的研究结果显示,预期的机制可能与厌恶情绪的产生、注意指向变化等因素有关。尽管对于动物是否有情绪活动仍存在争议,但 Johansen

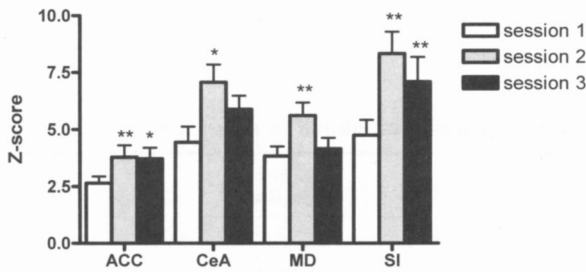


图2 不同条件化状态下配对激光刺激引起的神经元反应幅度变化  
Fig. 2 Normalize firing rate induced by paired laser stimuli in target brain regions. \*, \*\*:  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , compared with session 1

等提出的福尔马林条件位置回避模型 (formalin induced conditioned place avoidance, F-CPA) 为啮齿类动物 ACC 参与情绪活动提供了依据<sup>[8]</sup>。本实验中观察到, ACC 的预期信号反应随条件化加强而增加, 即当预期情况的确切性增加时, 厌恶情绪也增强, 提示 ACC 参与预期的机制与负性情绪有关。相比之下, MD 的预期反应在条件化形成中最高, 提示 MD 的神经元反应更多地参与情绪性学习过程。事实上, 心理学研究也表明, 动物和人类的 MD 是与间脑性健忘症、学习记忆缺陷密切相关的脑区之一<sup>[9]</sup>。有趣的是, 随着条件化的增强, SI 对预期信号的抑制性反应比例显著增强, 可能是在接受预期信号的同时 SI 能抑制皮层内的神经元放电, 起到降低背景反应的作用, 以更加突出即将到来的痛觉刺激。

有研究显示, 对疼痛的预期或用形容词描述疼痛都能够显著增强被试者的激光诱发的事件相关电位<sup>[10]</sup>。同样, 本实验也发现, 对疼痛刺激的预期增强了四个脑区对伤害性刺激的反应, 体现出情绪因素对痛觉编码的调制作用。此外我们还观察到, 当条件化完全建立后 (即确定性痛觉预期形成时), 各脑区神经元的伤害性反应都有所减弱。该结果可以用预期的注意机制学说<sup>[11]</sup>来解释: 在形成确定性预期后, 大鼠很可能因为注意力指向的改变, 即过于注意声音刺激 (表现为与注意力相关的 SI 和 ACC 对预期信号反应幅度的增强) 而分散了对痛刺激的注意力, 导致了确定预期的情况下神经元对伤害性刺激的编码反而比不十分确定的学习中要弱。

综上所述, 本实验首次同步观察了大鼠多个脑区对痛觉预期的神经元活动, 发现 ACC 和 MD 能够特异地参与预期编码以及预期增强伤害性刺激反应的现象, 提示人类和啮齿类动物的预期存在共同的神经机制, 这也为我们进一步以大鼠为对象研究痛

感觉和情绪的相互关系提供了一个有力的支持。

## 参 考 文 献

- 1 Ploghaus A, Tracey I, Gati JS, et al Dissociating pain from its anticipation in the human brain *Science*, 1999, 284: 1979 ~ 1981.
- 2 Porro CA, Baraldi P, Pagnoni G, et al Does anticipation of pain affect cortical nociceptive systems? *J Neurosci*, 2002, 22: 3206 ~ 3214.
- 3 Villemure C, Bushnell MC. Cognitive modulation of pain: how do attention and emotion influence pain processing? *Pain*, 2002, 95: 195 ~ 199.
- 4 Koyama T, McHaffie JG, Laurienti PJ, et al The subjective experience of pain: where expectations become reality. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 12950 ~ 12955.
- 5 Watkins LR, Cobelli DA, Mayer DJ. Classical conditioning of front paw and hind paw footshock induced analgesia (FSA): naloxone reversibility and descending pathways *Brain Res*, 1982, 243: 119 ~ 132.
- 6 Kung JC, Su NM, Fan RJ, et al Contribution of the anterior cingulate cortex to laser-pain conditioning in rats *Brain Res*, 2003, 970: 58 ~ 72.
- 7 Wang JY, Luo F, Chang JY, et al Parallel pain processing in freely moving rats revealed by distributed neuron recording *Brain Res*, 2003, 992: 263 ~ 271.
- 8 Johansen JP, Fields HL, Manning BH. The affective component of pain in rodents: direct evidence for a contribution of the anterior cingulate cortex *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 8077 ~ 8082.
- 9 Zola-Morgan S, Squire LR. Amnesia in monkeys after lesions of the mediodorsal nucleus of the thalamus *Ann Neurol*, 1985, 17: 558 ~ 564.
- 10 Dillmann J, Miltner WH, Weiss T. The influence of semantic priming on event-related potentials to painful laser-heat stimuli in humans *Neurosci Lett*, 2000, 284: 53 ~ 56.
- 11 Price DD. *Psychological Methods of Pain Control: Basic Science and Clinical Perspectives* Seattle, IASP Press, 2004.