中枢神经元放电的在体多通道同步记录技术*

王锦琰　罗　非　韩济生（北京大学神经科学研究所，北京大学神经生物学系，北京 100083）

摘要　中枢神经元放电的在体多通道同步记录技术是采用细胞外记录的方法来监测神经元群的同步电活动。该系统包括微电极阵列（microarray）、数据采集和分析系统。应用这一技术可以同步记录多个脑区的大量神经元的电活动，研究不同脑区的神经元放电在时间和空间上的联系，进而通过分析神经元的放电模式来研究大脑对外部事件的编码机制。

关键词　神经元群；多通道记录技术；微电极；在体
学科分类号　R338

中枢神经元放电的在体多通道同步记录技术（in vivo multi-channel recording methods for central neural activities），简称多通道记录法，是采用电生理的技术—细胞外记录的方法来监测神经元群的同步电活动。应用这一方法可以同步记录多个脑区的大量神经元的电活动，便于研究个体在接受某一感觉刺激或执行特定行为任务时，不同脑区的神经元放电在时间和空间上的联系，进而通过分析神经元的放电模式来研究大脑对外部事件的编码机制。

一、概述

众所周知，当大脑对某一特定事件作出反应的时候，实际上是多个脑区在同时参与对这一事件的编码。因此，研究这些散在分布的神经元活动的唯一可行的办法就是在多个脑区进行大量神经元单位放电的同步记录（Deadwyler 等. 1996）。

在清醒的猴子身上进行神经元群多通道记录已有 50 多年的历史了。最初尝试这一方法的人是 John C. Lilly[1]，他在 1949 年采用多电极阵列植入的方法研究灵长类的行为与神经元放电的关系，利用 25 个微电极记录到了 610 个神经元的放电。他报道"不同的皮层区域，其神经元群的放电模式也不同，并且都随着动物状态的改变而改变"。虽然有了良好的开端，但是相关技术的缓慢发展限制了多通道技术在随后的 30 年中的进步。直到 20 世纪 70 年代末和 80 年代初，计算机被引入神经科学领域，多通道技术才开始迅速发展（Kruger 等. 1983，Chapin 等. 1981）。目前这一技术已应用于多种动物，从低等的鸟类、啮齿类到高等的灵长类，都取得了可喜的成果[2~5]。

二、多通道记录系统的组成

（一）微电极

微电极（microwire 或 microelectrode）是记录系统中最主要的组成部分，通常由金属制成，直径约为 12 ~ 50μm，表面覆盖一层很薄的绝缘材料，尖端裸露。最简单也是最古老的多单位神经元记录技术，是利用几根直径很细、表面绝缘、尖端暴露的金属丝插入感兴趣的脑区。Strumwasser[6] 用自制的微电极，包含 4 到 6 根直径 80μm 的不锈钢电极丝，植入地鼠脑内，可以记录到多个神经元放电，并且可以持续记录至少几个星期。Olds 等[7] 改进了这一技术，用 9 根直径 67μm 的镍铬合金丝植入大鼠脑内进行神经元电信号的记录。现代的微电极多设计成 m × n 的电极丝阵列，行间距为 0.5 ~ 1 mm，同一行的相邻电极丝之间相距 100 ~ 300 μm。如 4 × 2 的电极阵列表示每个电极包含 8 根电极丝，排成 2 行，每行 4 根。

几种常用的电极材料为钨丝、不锈钢以及铂金，有时候也用碳丝。在中枢神经系统里，神经元生活在电解质溶液中，这种盐溶液对于金属来说是极具腐蚀性的，所以微电极的电极丝表面必须涂上绝缘物质，才能保证电极的完整性。保持绝缘层的完整性是很重要的，如果绝缘层受损，内层的金属丝暴露，就会产生大量的噪音，更为严重的是，若此时相邻的电极丝接触，就会造成短路。最常用的绝缘材料为特氟隆（Teflon），即聚四氟乙烯。

对微电极的直径也是有要求的，一方面电极丝的直径要小，以减少噪音和对组织的损伤，另一方面电极丝也不能太细，否则难以保证它有足够的强度穿过脑组织，或者会造成植入困难或在下降过程中发生弯折，影响实验结果。

动作电位引起的细胞外的电位改变是通过膜外

* 国家自然科学基金（30170307）资助课题

万方数据

电阻反映出来的。记录电极和参考电极之间的电位差与电极的输入阻抗直接相关。当电流强度固定的时候,输入阻抗越大,产生的电压越高。因此,使用高阻抗的电极可以得到较好的信噪比结果。

微电极阵列的形状也是多样的,等长度的电极丝组成的电极其尖端位于同一直线或平面上,不同长度的电极丝其尖端可以排列成三维构型,这些都是根据所要植入的脑区形状来选择的。另外在手术中,还可以调整电极插入的角度,以使电极尖端位于感兴趣的脑区,同时避免损伤重要的组织结构。

通常,按矩阵形式排好的电极丝外面还要包被一层称为聚乙烯乙二醇(polyethylene glycol)的物质,用于固定矩阵的形状以及增加电极的强度。聚乙烯乙二醇这种物质的特点是遇盐水溶解,因而在电极植入脑组织的过程中可被溶解掉。

要得到清晰的电信号,除了有合适的电极外,还要有良好的接地装置。参考电极,也叫做地线(ground wire),通常比记录电极的直径要粗一些。我们知道,金属丝的横截面积越大,通过其尖端的电流也越大。因此,粗一些的地线有利于收集到较多的神经元的电变化,因而具有较好的参考价值。研究者们常用的方法是将金属螺丝植入动物颅骨中,然后将地线缠绕在螺丝上。

手术操作对于实验的成功起着决定性的作用,最关键的是要把握好电极下降的速度,推进过程越慢,损伤越小,记录到的神经元信号也就越好,神经元的寿命也越长,否则欲速则不达。

目前用于神经元多通道记录的微电极主要由美国的两大公司生产,一个是 NB labs (Dennison, TX) 公司,一个是 Bigraphics (Winston-Salem, NC) 公司.

(二)信号传递系统　动作电位引起细胞外跨膜离子流的改变,继而引起膜外电压的改变,记录电极可以探测到这种改变,从而在记录电极和参考电极之间产生电位差,这种电位差我们称之为电信号。信号传递系统是负责将电信号由脑内传送到计算机内的硬件结构,由 Headstage、微连接器(connector)和前置放大器几部分组成(图 1)。Headstage 是电极的颅外部分,相当于微连接器的插座,通过牙科水泥固定在动物头顶上。与 Headstage 相连接的传送电信号的微小装置称为 Headset,即微连接器的插头部分,与需要直流电源供电的场效应转换器(field effect transistors, FETs)相连,可以将记录到的电信号初步放大,然后将这种放大后的信号再传送到前置放大器(pre-amplifier),加以进一步放大,最后输送到电脑的记录系统,此时操作者便可进行数据资料的整理、贮存和分析了。因此微连接器和前置放大器除了信号传导作用外,还起着提高信噪比的作用。

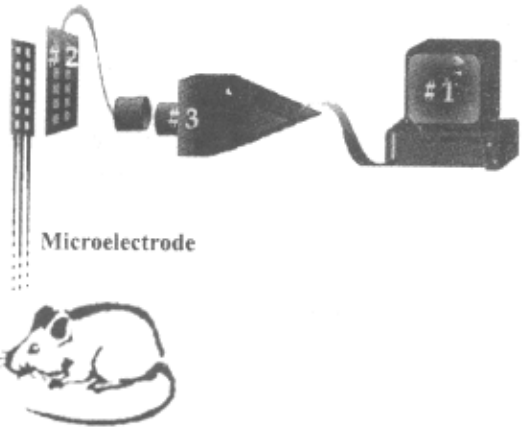

图 1　多通道记录技术的信号传递系统模式图

#1 数据采集系统;#2 Headset;#3 前置放大器

(三)数据采集和分析系统　计算机的发展使得多通道技术的发展成为可能,因为记录到的神经元数据需要大量的存储空间。并且,随着微电极的不断改进,各种新的数据记录和分析软件也应运而生。现在在大鼠身上已经实现了同步记录几百个神经元的电活动。

用细胞内记录法得到的动作电位的波幅通常在 60 ~ 100mV 之间,而细胞外记录到的电位值要比细胞内低 2 个数量级,即几百 μV 至几个 μV,因此很容易被噪音或刺激伪迹所掩盖。所以,有效地控制内部和外部噪音是获得好的信号的保证。另外,微电极探测到的电信号可能是周围的多个神经元的电活动,但通常只有离电极尖端很近的神经元的放电才能被记录到,因此每个电极丝记录到的电信号通常只限于邻近的少数几个神经元,平均 2 ~ 4 个。并且,现有的软件分析系统可以将这些混杂在一起的电信号分解成各自独立的动作电位。对于不同神经元的鉴别基本上是靠动作电位的波形,包括动作电位的波幅、宽度、下降支的坡度等。神经元的动作电位通常持续时间很短,只有 0.2ms 至几个 ms,所以我们在进行数据分析时只能把它们看作一个个的事件点,即把它们发生的时间点(time stamp)记录下来,作为数据形式进行贮存和处理。

目前用于神经元多通道记录的数据采集和分析系统都是由 Plexon (Dennison, TX) 公司和 Bigraph-

万方数据

ics（Winston-Salem，NC）公司提供的[3]。

三、神经元群同步放电记录技术的优越性

多通道记录技术应用于神经科学领域，具有许多其它技术无法比拟的优越性：(1) 记录的神经元数量多，跨脑区；(2) 在清醒的、自由活动的动物身上进行记录，结论可信；(3) 具有较高的时间（ms）和空间（μm）分辨率；(4) 可以长期记录，数周乃至数月；(5) 记录到的是神经元的单位放电，而不是神经元群的复合电位。其中一个显著的优越性就是一次记录可以获得大量神经元的数据。通用的微电极阵列都是由 8 根电极丝组成的，目前已经可以做到在大鼠脑内植入 8 组微电极阵列，即 64 根电极丝，因此理论上讲最多可以一次记录到 256（64 × 4）个神经元的电活动。以往的在体记录方法每次只能获取一个神经元的数据，多通道技术的应用使记录到的神经元产量大大增加。

中枢神经元同步放电研究的重要性也已日益显现出来。首先，即使是最简单的行为也需要中枢大量神经元的同步激活。另外，有的脑区中只有少量神经元被特定行为所激活，因此，必须同时记录大量神经元才可能找到这一小群神经元。第三，由于各脑区神经元几乎同步激活，致使人们无法经由传统方法所获得的单个神经元的信息重建原始的放电模式。应用多通道记录技术可以跨脑区记录神经元群的同步活动，使得研究不同核团在行为过程中的时间和空间联系成为可能。由于目前的技术允许同时计录数百个神经元的同步电活动，并且可以持续几天、几星期甚至数月，因此这一方法被广泛应用于学习和记忆、感觉信息加工、感觉运动整合，以及神经系统可塑性的研究[8~10]。

四、结语

要理解中枢神经系统如何处理信息，一个很重要的方面就是要搞清楚脑内大量神经元是如何协调工作的。尽管很多有价值的信息可以通过记录整个脑区的活动，如场电位、EEG 等，或通过每次记录一个神经元的单个神经元放电方法进行研究，但这些方法不能使我们全面的、直接的认识大量神经元在对某一事件进行信息加工的过程中所表现出来的协作的以及相互的作用，即它们在时间和空间上的联系。并且，即使是最简单的行为也需要中枢神经系统多个水平大量神经元的同步激活。因此，多通道记录技术对于研究中枢神经系统的信息编码机制起着不可替代的作用。

多通道技术的应用需要多种技术手段的支持，尤其是计算机软硬件开发的支持。尽管目前计算机的进步使复杂繁琐的计算工作简单化，但由于记录到的数据量很大，研究者们不得不花费大量的时间用于数据分析和处理。让我们来看看多通道记录技术的创始人之一，John C. Lilly[1] 的一段经典评论："…研究动物的行为与神经系统的关系，困难之一是存在一个空间问题，也就是如何植入足够多的电极而又尽可能小地避免损伤。另外还存在一个时间问题，也就是对于每个植入的电极来说，如何在单位时间内取足够多的样本量。…而研究者本身的问题在于如何处理记录到的数据。即使他有足够多的技术手段，要研究一只猴子生命中的一个极短暂的时刻也需要投入大量的时间"。因此，未来研究的任务之一就是根据这一技术的需要开发更有效的计算软件，将这种技术的优越性充分发挥出来，以更好地研究和解决神经科学领域存在的问题。

参 考 文 献

1 Lilly JC. Biological and Biochemical Bases of Behavior. Madison：The University of Wisconsin Press，1958，83 ~ 100.

2 Nicolelis MA，Ghazanfar AA，Stambaugh CR，et al. Simultaneous encoding of tactile information by three primate cortical areas. Nat Neurosci，1998，1：621 ~ 630.

3 Nicolelis MA，Ghazanfar AA，Faggin BM，et al. Reconstructing the engram：simultaneous，multisite，many single neuron recordings. Neuron，1997，18：529 ~ 537.

4 Yu AC，Margoliash D. Temporal hierarchical control of singing in birds. Science，1996，273：1871 ~ 1875.

5 Chang JY，Chen L，Luo F，et al. Neuronal responses in the frontal cortico-basal ganglia system during delayed matching-to-sample task：ensemble recording in freely moving rats. Exp Brain Res，2002，142：67 ~ 80.

6 Strumwasser F. Long-term recording from single neurons in brain of unrestrained mammals. Science，1958，127：469.

7 Olds J，Disterhoft JF，Segal M，et al. Learning centers of rat brain mapped by measuring latencies of conditioned unit responses. J Neurophysiol，1972，35：202 ~ 219.

8 Talwar SK，Xu S，Hawley ES，et al. Rat navigation guided by remote control. Nature，2002，417：37 ~ 38.

9 Laubach M，Wessberg J，Nicolelis MA. Cortical ensemble activity increasingly predicts behaviour outcomes during learning of a motor task. Nature，2000，405：567 ~ 571.

10 Wessberg J，Stambaugh CR，Kralik JD，et al. Real-time prediction of hand trajectory by ensembles of cortical neurons in primates. Nature，2000，408：361 ~ 365.

万方数据