DOI:10.16016/j.2097-0927.202312040

痕迹性眨眼条件反射习得和巩固阶段海马中间神经元的放电活动变化

杨丹阳[1],张维维[2] 621000 四川 绵阳,四川中医药高等专科学校:临床医学院诊断学教研室[1],医学基础部生理学教研室[2]

[摘要] **目的** 研究小鼠背侧海马中间神经元在联合型记忆习得和巩固2个阶段的放电活动变化及其特征。**方法** 以痕迹性眨眼条件反射(trace eyeblink conditioning,tEBC)作为联合型记忆行为模型,将18只野生型C57BL/6小鼠(雄性,10~12周龄,体质量22~25 g)通过简单随机抽样分为配对组(n=9)和假配对组(n=9)。配对组每天接受配对给予的条件刺激(conditioned stimulus, CS)和非条件刺激(unconditioned stimulus, US),二者的配对关系为CS结束后250 ms给予US。假配对组每天接受同样数量的CS和US,但二者不存在时间上的配对关系。连续训练4 d,配对组小鼠建立tEBC,表现出条件眨眼反应(conditioned eyeblink response,CR)。在每天的训练过程中和训练后1.5 h,利用微电极阵列在体记录小鼠背侧海马神经元的放电活动。根据神经元的峰电位发放频率和峰电位谷-峰波宽鉴定出中间神经元(n=105),并分析其在训练期间和训练后慢波睡眠期间的放电活动变化。**结果** ①在CR习得训练早期(第1、2天),CS能够诱发背侧海马中间神经元出现显著增强的发放活动(P<0.05);训练后慢波睡眠期间尖波涟漪波(sharp wave ripple,SWR)振荡发生时,配对组小鼠背侧海马中间神经元发放频率显著低于假配对组(P<0.05)。②在CR习得训练后期(第3、4天),与假配对组比较,配对组CS诱发的背侧海马中间神经元放电活动增强不明显;2组小鼠背侧海马中间神经元在训练后慢波睡眠期SWR振荡发生时的发放频率差异无统计学意义。**结论** 背侧海马中间神经元在联合型记忆的习得和巩固阶段会展现出不同的放电变化。

[关键词] 海马;中间神经元;眨眼条件反射;慢波睡眠;尖波涟漪波
[中图法分类号] R338.26;R338.61;R338.8 [文献标志码] A

Changes in hippocampal interneuronal activity during acquisition and consolidation of trace eyeblink conditioning in mice

YANG Danyang[1], ZHANG Weiwei[2] [1]Department of Diagnosis, School of Clinical Medicine; [2]Department of Physiology, School of Basic Medicine, Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang, Sichuan Province, 621000, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the changes and features of firing activities of interneurons in dorsal hippocampus during the acquisition and consolidation of associative memory. **Methods** Trace eyeblink conditioning (tEBC) was utilized as a behavioral model of associative memory. A total of 18 wild-type C57BL/6 mice (male, 10~12 weeks old, weighing 22~25 g) were randomly divided into a paired group (n=9) and an unpaired group (n=9). Paired presentations of conditioned stimulus (CS) and unconditioned stimulus (US) were utilized to train these mice. The mice from the paired group were given US training in 250 ms after CS training, and those from the unpaired group received similar doses of CS and US training, but with no paired relationship in time. After 4 consecutive days' training, the mice of the paired group acquired tEBC, manifesting conditioned eyeblink responses (CR). Tetrode arrays were applied to record neuronal activity in dorsal hippocampus during both tEBC training epoch and the 1.5 h epoch after training. The putative interneurons (n=105) were identified according to their firing rate and spike width from trough to

[基金项目] 四川省科技计划项目(22NSFSC0572)
[通信作者] 张维维,E-mail:weky_1981@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

peak. Specific changes in hippocampal interneurons activity during tEBC training and post-training slow wave sleep were analyzed respectively. **Results** ①At the early stage of CR acquisition (the 1st and 2nd days), CS could evoke significantly greater activity of dorsal hippocampal interneurons in the paired group ($P<0.05$). During sharp wave ripples (SWR) in the post-training slow wave sleep, the firing rate of dorsal hippocampal interneurons was significantly lower in the paired group than the unpaired group ($P<0.05$). ②At the late stage of CR acquisition (the 3rd and 4th days), no significant differences in CS evoked activity of dorsal hippocampal interneurons were observed between the paired group and unpaired group, neither in the firing rate of dorsal hippocampal interneurons during SWR in the post-training slow wave sleep between the 2 groups. **Conclusion** The dorsal hippocampal interneurons show opposite changes in firing activity during the acquisition and consolidation of associative memory.

[**Key words**] hippocampus; interneuron; eyeblink conditioning; slow wave sleep; sharp wave ripple

Supported by the Project of Science and Technology Plan of Sichuan Province (22NSFSC0572). Corresponding authors: ZHANG Weiwei, E-mail: weky_1981@163.com

将在时间上先后发生的事件联系起来,并在脑内形成记忆是机体对外界刺激做出适宜反应所必需的、重要的脑高级功能[1]。这种联合型记忆功能容易受到诸如脑老化等退行性疾病的损害,大量研究关注该记忆发生的脑区定位及其神经机制,以期为改善或提升病理状态下的联合型记忆能力提供新思路、新靶点[2]。痕迹性眨眼条件反射(trace eyeblink conditioning,tEBC)是一种研究联合型记忆机制的常用行为模型[3]。为习得 tEBC,需要配对给予动物中性的条件刺激(conditioned stimulus, CS,如纯音刺激或灯光闪烁刺激)和伤害性的非条件刺激(unconditioned stimulus, US,如角膜吹气或角膜电击)。2 类刺激的给予在时间上比较接近,经过反复的配对训练,动物会逐渐建立起针对 CS 的条件眨眼反应(conditioned eyeblink response,CR),从而及时闭眼并躲避 US 所带来的伤害。研究发现:背侧海马在 tEBC 建立过程中发挥着关键作用[4]。在 tEBC 习得过程中,一部分背侧海马锥体细胞可被 CS 诱发出增强的放电反应,发挥联系 CS 和 US 的作用[5-6]。在 tEBC 训练后的慢波睡眠期间,习得过程中激活的锥体细胞会表现出更强的重激活[7-8]。

既往对海马记忆机制的研究重点是锥体细胞的活动及作用,但新近对海马抑制性中间神经元的研究,使海马中间神经元在学习和记忆形成中的作用日益受到重视。虽然海马的中间神经元细胞数量只占海马总细胞数量的 10%~15%[9],但 γ-氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)能抑制性神经环路对海马的记忆功能有着重要作用[10]。离体膜片钳实验表明 tEBC 训练增加了大鼠海马生长抑素(somatostatin, SOM)阳性中间神经元的兴奋性和活动水平[11]。研究者运用钙成像和化学遗传学技术,发现沉默 SOM 阳性中间神经元会抑制恐惧反射记忆的习得,而沉默小清蛋白(parvalbumin, PV)阳性中间神经元则会抑制恐惧反射记忆的巩固[12]。值得注意的是,表达 SOM、PV 的中间神经元主要位于背侧海马[9]。最近一项研究利用在体多通道和光遗传学技术发现小鼠背侧海马中间神经元在 tEBC 训练过程中表现出增强的发放反应,特异抑制背侧海马中间神经元的发放将损害 tEBC 的习得[13]。此外,清除海马中间神经元 γ 钙离子/钙调蛋白依赖的蛋白激酶Ⅱ[γ calcium-calmodulin (CaM)-dependent protein kinase Ⅱ, γCaMKⅡ]的表达,降低了小鼠习得联合型恐惧反应的能力[14]。

虽然海马中间神经元在记忆相关网络振荡节律中的作用及其可塑性变化模式已被初步揭示[10],但海马中间神经元的记忆相关放电活动和变化规律并未得到太多关注。此外,在联合型记忆习得和巩固的不同阶段,海马锥体细胞的放电活动及其微环路功能活动均发生动态变化[6, 15],且锥体细胞的这些活动变化与突触可塑性及长时记忆的形成密切相关[16],但在此过程中,单个或群体海马中间神经元放电活动变化在编码重要信息、表征信息间的关联关系及皮层-海马交互等海马记忆形成的关键过程中呈现怎样的活动模式,尚不清楚。为此,本研究利用在体多通道记录技术,将微电极阵列植入小鼠背侧海马区并连续记录中间神经元在 tEBC 习得和巩固阶段的放电活动,分析中间神经元在上述不同阶段放电活动的变化及其特征,以期全面揭示海马参与以 tEBC 为代表的联合型记忆形成的完整细胞活动机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

采用成都集萃药康生物科技有限公司提供的野生型 C57BL/6 小鼠(雄性,10~12 周龄,体质量 22~25 g)。小鼠饲养在 12 h 光照和 12 h 黑暗、温度 20~25 ℃的单笼标准环境中。所有实验操作符合四川中医药高等

专科学校的动物伦理审查指南要求(2023DS02)。

1.2 手术方法

使用浓度为1%~2%的异氟烷(瑞沃德生命科技有限公司提供)持续麻醉小鼠。被麻醉小鼠的头部固定在脑立体定位仪上,调整颅骨顶部呈水平位。在双侧小脑上方颅骨对称位置各钻1个小孔,各植入1颗不锈钢制的螺钉,作为地线与参考电极的连接点。在海马上方植入1个由4组Tetrode电极所组成的微电极阵列,坐标如下:前囟后1.9 mm、右侧旁开1.6 mm、初始深度0.7 mm。Tetrode电极阵列的制作参考文献[17]。术后恢复5 d,待小鼠的体质量恢复至术前水平后,方可进行实验环境和实验操作的习服,并开始进行在体电生理记录。

1.3 tEBC行为训练

本实验以tEBC为联合型记忆的行为模型,以持续150 ms的蓝光闪烁作为CS、100 ms的角膜吹气为US。18只雄性野生型C57BL/6小鼠通过简单随机抽样分为配对组(n=9)和假配对组(n=9)。在连续4 d的训练过程中,配对组小鼠每天接受100组CS和US的配对刺激(CS结束后250 ms给予US)。每组刺激之间间隔10~30 s(平均20 s)。假配对组小鼠每天接受同样数量的CS和US刺激,CS和US之间没有固定时间关系。在训练开始时,2组小鼠均仅表现出针对US的非条件眨眼反应(unconditioned eyeblink response,UR)。但随着训练进行,配对组小鼠会逐渐表现出针对CS、并先于US出现的CR。

1.4 在体电生理信号记录

在对小鼠的习服期间(通常2~3 d),通过微推进器以75 μm/d的速度,将微电极阵列向背侧海马推进,直到可以稳定记录到背侧海马神经元的峰电位发放活动和特征场电位活动。使用RHD2000(Intan Technologies,美国)神经数据采集器、以20 kHz采样频率对背侧海马CA1区神经元单位放电信号、局部场电位信号、条件刺激信号进行同步采样。每个训练日的记录时段主要包括:①tEBC训练前的1.5 h;②tEBC训练(持续约0.5 h);③tEBC训练后的1.5 h。除tEBC训练,其余时间小鼠均被放置在饲养盒中进行电生理记录。

1.5 峰电位甄选

在离线情况下对记录到的场电位数据进行带通滤波(0.5~6.0 kHz)处理。用KlustaKwik软件对Tetrode电极上所采集到的单位放电信号进行自动甄选并归为不同特征的峰电位集群。通过Klusters软件进行手动判别和甄选,筛除KlustaKwik软件在自动甄选过程中误判的噪声,以获取高信度背侧海马神经元峰电位信号。参照文献[8]的标准,将峰电位发放频率>6 Hz,峰电位谷-峰波宽<0.4 ms的神经元定义为中间神经元。

1.6 慢波睡眠期尖波涟漪波判定

参照文献[18]的方法,使用背侧海马的局部场电位活动和头颈部三维加速度反映小鼠的大脑觉醒-睡眠状态。慢波睡眠的判定标准如下:背侧海马呈现出高振幅、低频(1~4 Hz)局部场电位振荡活动,且小鼠头颈部无明显三维加速现象,状态持续时间>10 s。

参照文献[6]的方法,慢波睡眠期背侧海马尖波涟漪波(sharp wave ripple,SWR)的检测方法如下:在多道的背侧海马记录信号中,以SWR幅度最大的通道作为检测通道,以没有SWR的通道作为参考通道。先对2个通道的信号进行差分处理,再对差分信号进行100~250 Hz的带通滤波处理。SWR振荡被定义为振幅超过基线均值+4倍基线标准差的事件。

1.7 微电极阵列记录位点检测

在所有记录实验完成后,利用30 μA直流电(10 s)损毁记录电极尖端周围脑组织。损毁48 h后,腹腔注射致死剂量的戊巴比妥钠(浓度3%)。经心脏灌注生理盐水和4%多聚甲醛溶液各100 mL。将剥离后的脑组织置于4%多聚甲醛溶液中固定12 h,再转移至30%蔗糖溶液中脱水24 h。使用冰冻切片机将脱水后的脑组织制成50 μm厚的冠状切片。经DAPI染色后,在荧光显微镜(BX53,Olympus,日本)下观察代表电极尖端位置的损毁区域。只有损毁位点位于背侧海马的小鼠电生理信号数据才可被纳入数据的分析和统计。

1.8 统计学分析

采用SPSS13.0软件进行统计分析,数据以$\bar{x}\pm s$表示。配对组和假配对组海马中间神经元的平均放电频率、峰电位谷-峰宽度、条件刺激诱发放电活动强度、SWR振荡期间发放活动的比较采用独立样本t检验。P<0.05被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠背侧海马中间神经元的在体电生理记录

本研究将Tetrode电极阵列植入到小鼠背侧海马(图1A)。组织学鉴定结果显示,Tetrode电极阵列尖端的记录位点精确地位于背侧海马CA1区(图1B)。电生理记录可观察到背侧海马的局部场电位和神经元峰电位发放信号(图1C、D)。将峰电位平均发放频率>6 Hz、峰电位谷-峰波宽<0.4 ms的神经元定义为中间神经元。共记录105个背侧海马中间神经元:配对组小鼠(n=9)62个,假配对组小鼠(n=9)43个(图2A、B)。2组小鼠背侧海马中间神经元峰电位的平均发放频率:配对组为(19.0±1.8)Hz,假配对组为(15.5±

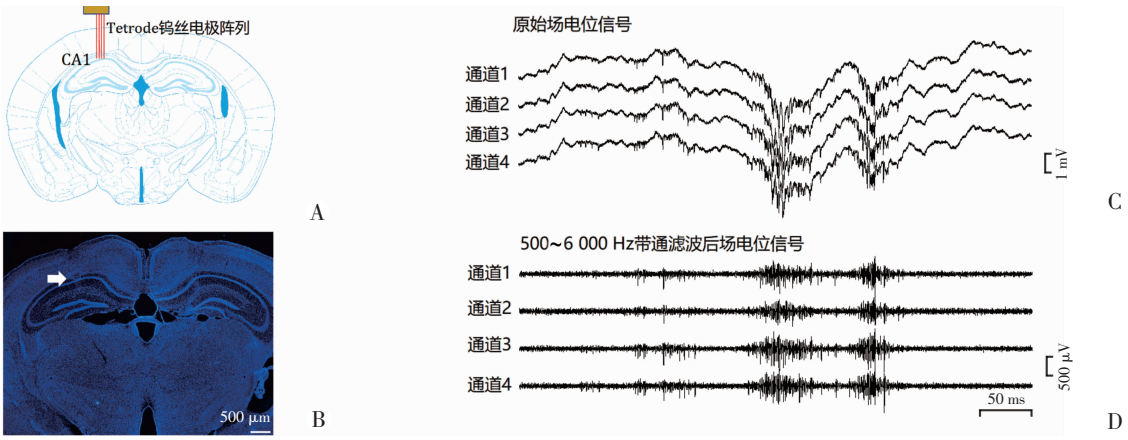
1.5)Hz,差异无统计学意义(图 2C);峰电位谷-峰波宽:配对组为(0.25±0.01)ms,假配对组(0.26±0.01)ms,差异无统计学意义(图 2D)。

2.2　配对训练使小鼠习得 tEBC

通过连续 4 d 训练,配对组小鼠逐渐建立 CS 与 US 之间的联系,表现出针对 CS 的 CR(图 3A)。统计分析显示:在训练第 1、2 天,配对组小鼠 CR 发生率为(50.3±5.3)%,假配对组小鼠 CR 发生率为(34.7±2.9)%,配对组小鼠 CR 发生率显著高于假配对组(P<0.05,图 3B);在训练第 3、4 天,配对组小鼠 CR 发生率由(50.3±5.3)%显著上升至(68.0±7.0)%(P<0.05,图 3B);同时,此阶段配对组小鼠 CR 发生率显著高于假配对组(P<0.01,图 3B)。

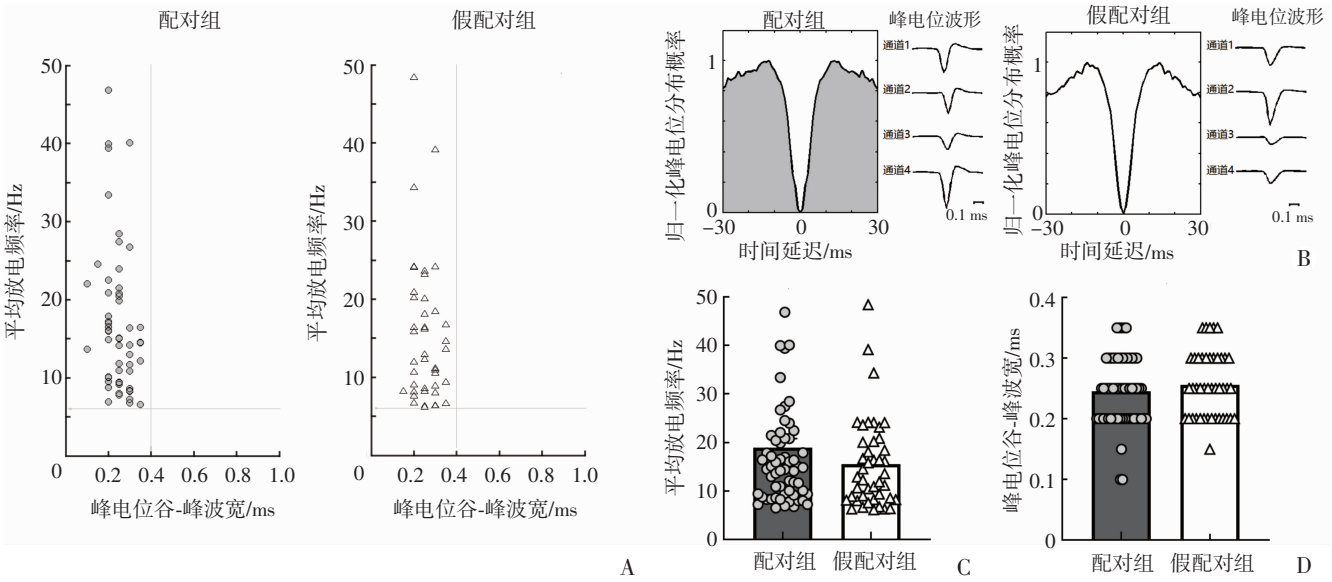
2.3　训练早期 CS 诱发背侧海马中间神经元的放电活动明显增强

背侧海马中间神经元在 tEBC 习得过程中的发放活动观测结果显示:在训练第 1、2 天,CS 诱发背侧海马中间神经元出现发放活动增强。配对组小鼠背侧海马中间神经元被 CS 所诱发的放电活动显著强于假配对组(配对组标准化放电频率 Z 值为 4.74±0.70,n=28;假配对组 Z 值为 3.03±0.65,n=14,P<0.05,图 4A~C)。



A:Tetrode 电极阵列记录位置示意图;B:代表性背侧海马冠状位切片 DAPI 染色　箭头示背侧海马;C:原始的背侧海马局部场电位信号;D:500~6 000 Hz 带通滤波后的背侧海马局部场电位信号

图 1　小鼠背侧海马局部场电位和峰电位发放信号的记录



A:2 组背侧海马中间神经元峰电位的平均发放频率与峰电位谷-峰波宽分布;B:2 组背侧海马中间神经元的峰电位发放自相关和波形图;C:2 组背侧海马中间神经元峰电位平均发放频率的比较;D:2 组背侧海马中间神经元峰电位谷-峰波宽的比较

图 2　小鼠背侧海马中间神经元峰电位发放特征

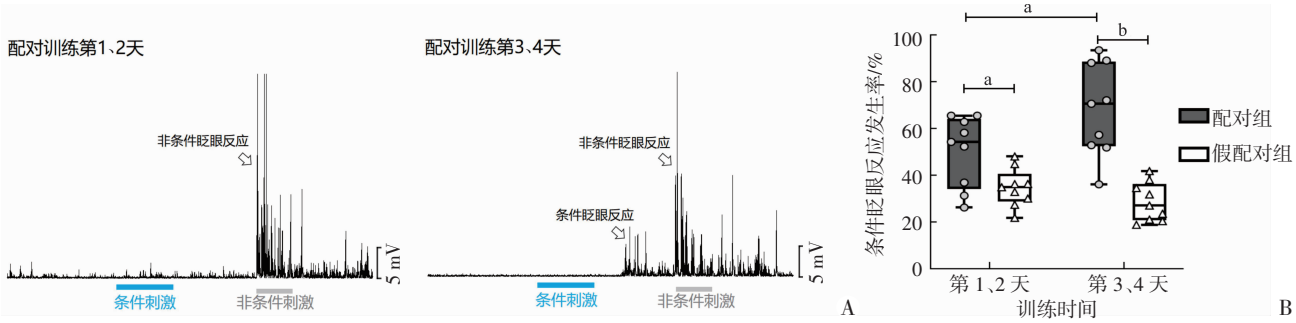
此外,96.4%(27/28)的配对组背侧海马中间神经元显示出增强的峰电位发放反应,而假配对组背侧海马中间神经元则仅有 64.3%(9/14)表现出增强的发放反应。在训练第 3、4 天,配对组小鼠背侧海马中间神经元被 CS 所诱发的放电活动与假配对组差异无统计学意义(配对组 Z 值为 3.11±1.37,n=34;假配对组 Z 值为 3.07±0.63,n=29,图 4D~F)。

2.4　训练早期背侧海马中间神经元在训练后慢波睡眠期 SWR 振荡时激活显著降低

进一步分析背侧海马中间神经元在 tEBC 训练后慢波睡眠期间发放的变化,结果显示,背侧海马中间神经元在慢波睡眠期间 SWR 振荡出现时发放显著增加(图 5A)。在训练第 1、2 天,与假配对组比较,配对组小鼠背侧海马中间神经元在训练后慢波睡眠期 SWR 振荡时发放显著更低[以条件反射训练前的慢波睡眠期值为 100%,配对组为(95.0±3.0)%,n=28;假配对组为(118.3±26.4)%,n=14,P<0.05,图 5B、C]。而在训练第 3、4 天,配对组小鼠背侧海马中间神经元在训练后慢波睡眠期 SWR 振荡时发放与假配对组无显著区别[以条件反射训练前的慢波睡眠期值为 100%,配对组为(100.1±3.7)%,n=34;假配对组为(97.1±3.4)%,n=29,图 5D~E]。

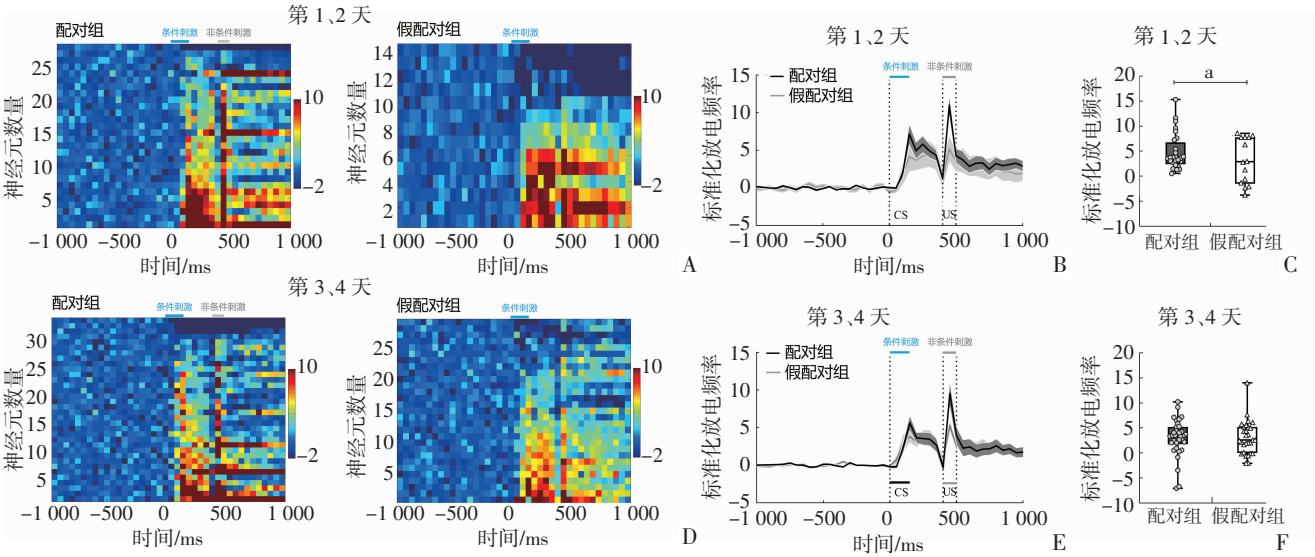
3　讨论

本研究通过实时、连续的在体神经元放电活动记录,揭示了在 tEBC 习得阶段,海马中间神经元对 CS 表现出增强的放电反应,且该增强反应具有显著的阶段特异性。在训练后睡眠期间,配对组小鼠海马中间神经元在 SWR 期间的放电活动显著低于假配对组小鼠,且该降低反应也具有阶段特异性。这些结果提示:背侧海马参与 tEBC 习得和巩固的过程可能需要中间神经元以不同特征的发放活动予以支持。



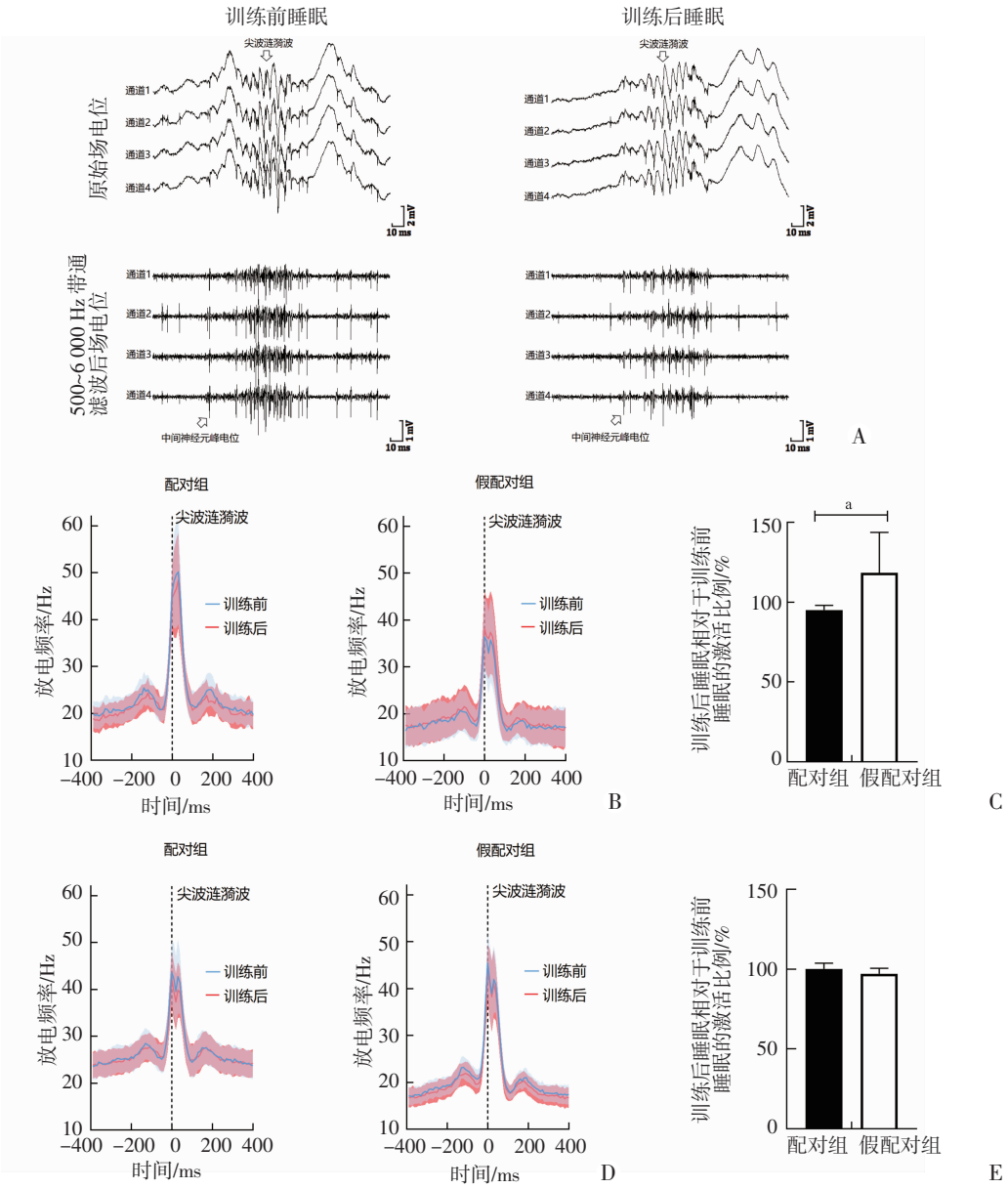
A:痕迹性眨眼条件反射训练第 1、2 天和第 3、4 天的代表性 CR 表现;B:2 组 CR 发生率的比较　a:P<0.05;b:P<0.01

图 3　小鼠痕迹性眨眼条件反射的习得



A、B:背侧海马中间神经元在条件刺激给予后第 1、2 天发放活动热图及变化曲线;C:2 组小鼠背侧海马中间神经元在条件刺激给予后第 1、2 天放电频率比较　a:P<0.05;D、E:背侧海马中间神经元在条件刺激给予后第 3、4 天发放活动热图及变化曲线;F:2 组小鼠背侧海马中间神经元在条件刺激给予后第 3、4 天放电频率比较

图 4　小鼠背侧海马中间神经元在 tEBC 训练过程中的发放活动



A:背侧海马中间神经元在尖波涟漪波振荡出现时的发放活动;B:训练后第1、2天慢波睡眠期尖波涟漪波振荡出现的发放活动;C:训练后第1、2天2组慢波睡眠期尖波涟漪波出现时背侧海马中间神经元发放活动变化的比较 a:$P<0.05$;D:训练后第3、4天慢波睡眠期尖波涟漪波振荡出现的发放活动;E:训练后第3、4天2组慢波睡眠期尖波涟漪波出现时背侧海马中间神经元发放活动变化的比较

图5 小鼠背侧海马中间神经元在tEBC训练后睡眠期间的发放活动

既往研究揭示了海马是tEBC习得所需的关键脑区[19]。在tEBC习得阶段,一部分背侧海马锥体细胞可被CS诱发出增强放电反应,发挥联系CS和US的作用[5-6]。然而新近一项研究发现,在给予CS的同时对海马锥体细胞特异性去抑制,使其在CS-US期间的放电活动大幅度增加,反而导致tEBC习得受损[13],提示在海马锥体细胞活动之外,还存在支持tEBC习得的其他细胞机制。离体膜片钳和原位杂交实验显示:tEBC训练增强了海马中间神经元的内在兴奋性[11];海马中间神经元的突触可塑性与恐惧反射记忆能力及神经元网络活动调节机制密切相关[14]。这些发现虽然提供了极具价值的线索,但无法区分单个海马中间神经元在记忆习得阶段的活动,也无法区分在记忆巩固阶段因神经元突触可塑性而发生的海马中间神经元放电活动变化。

本研究采用连续、实时的在体多通道记录技术,在tEBC的习得和巩固过程中,完成对大量单个背侧海马中间神经元放电活动特征的记录。从个体神经元放电

活动和神经元集群放电活动2个层面,揭示了在联合型记忆的习得和巩固过程中,背侧海马中间神经元的特征性放电模式。

本研究发现:在tEBC习得训练过程中,配对组小鼠海马中间神经元能被CS诱发出比假配对组更强的发放活动,但这种更强的发放活动仅限出现在tEBC习得的早期阶段。既往研究表明,海马仅参与记忆习得的早期阶段[20-21]。因此,本研究观察到海马中间神经元放电活动的变化特征恰好反映了海马在tEBC学习过程各阶段的不同参与程度。

既往发现,30%~40%背侧海马锥体细胞在tEBC习得过程中会被CS诱发出增强的发放[6, 22]。与此不同的是,本研究发现:96.4%的背侧海马中间神经元被CS诱发出增强的发放反应。由于中间神经元可以抑制邻近的锥体细胞[23],故推测在tEBC习得训练过程中会有大量锥体细胞的活动被抑制。也有研究报道了相当比例的海马锥体细胞活动在CS之后受到抑制的现象[6]。目前认为,CS所诱发的中间神经元发放增强反应,有助于提升背侧海马在此过程中信息处理的信噪比,改变海马中的振荡状态[24]。这可能是背侧海马中间神经元参与tEBC习得的细胞活动机制。

睡眠剥夺实验证实了联合型记忆的长时程巩固与记忆训练后的睡眠直接相关[6, 24],特别是记忆训练后睡眠期间海马SWR振荡的发生与记忆巩固联系密切[25]。而海马中间神经元,特别是PV^+中间神经元与海马SWR振荡的产生紧密相关[26]。因此,本研究特别关注了训练后睡眠期间SWR振荡发生时海马中间神经元的实时放电活动变化。结果显示:在早期习得训练后的睡眠期间,配对组小鼠背侧海马中间神经元在SWR振荡出现时的激活水平低于假配对组。研究发现:编码记忆信息的锥体细胞在训练后睡眠期间的海马SWR中会表现出较其他锥体细胞更强的重激活[27];去抑制机制可能在海马振荡(如SWR)产生和海马依赖记忆的形成中发挥重要作用[10]。我们推测:SWR振荡期间减弱的中间神经元活动,可使部分锥体细胞发生去抑制,从而有助于锥体细胞产生更强的重激活,进而参与tEBC的巩固。这与最近的研究[6]发现一致:剥夺tEBC训练后的正常睡眠,导致小鼠tEBC记忆巩固的损害。睡眠剥夺小鼠在恢复性睡眠期间,学习诱发SWR振荡发生率增加的情况低于正常睡眠小鼠,但单次SWR振荡中PV^+中间神经元显示放电频率显著增加,而非PV^+中间神经元在单次SWR振荡的放电频率则与正常睡眠小鼠相当。抑制恐惧条件反射记忆的研究发现也很好地支持了这一观点:在训练后抑制海马PV^+中间神经元活动将抑制恐惧条件反射记忆的巩固。其主要机制可能在于PV^+中间神经元受抑而引发的相关锥体细胞去抑制导致:①与记忆巩固相关的海马网络活动变化(如SWR振荡增加等)的缺失[28];②海马SWR振荡与mPFC纺锤波之间偶联被扰乱[29],从而抑制记忆的巩固。

综上所述,在联合型记忆行为模型上对特定细胞类型的中间神经元进行标识,并在个体和群体水平研究其在记忆行为不同阶段的实时放电活动,对于深刻阐明海马中间神经元在联合记忆形成中作用及机制具有重要意义,值得进一步探索。本研究结果为进一步阐明海马中间神经元在联合型记忆形成中的活动规律、全面揭示海马参与联合型记忆形成的完整细胞活动机制奠定了基础。

参考文献:

[1] GIOVANNIELLO J, BRAVO-RIVERA C, ROSENKRANZ A, *et al*. Stress, associative learning, and decision-making[J]. Neurobiol Learn Mem, 2023, 204: 107812. DOI: 10.1016/j.nlm.2023.107812.

[2] STEINKRAUSS A C, CARPENTER C M, TARKENTON M K, *et al*. Neural distinctiveness and discriminability underlying unitization and associative memory in aging[J]. Aging Brain, 2023, 4: 100097. DOI: 10.1016/j.nbas.2023.100097.

[3] HALVERSON H E, KIM J, FREEMAN J H. Dynamic changes in local activity and network interactions among the anterior cingulate, amygdala, and cerebellum during associative learning[J]. J Neurosci, 2023, 43(49): 8385-8402. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0731-23.2023.

[4] PILKIW M, TAKEHARA-NISHIUCHI K. Neural representations of time-linked memory[J]. Neurobiol Learn Mem, 2018, 153(Pt A): 57-70. DOI: 10.1016/j.nlm.2018.03.024.

[5] WEISS C, KRONFORST-COLLINS M A, DISTERHOFT J F. Activity of hippocampal pyramidal neurons during trace eyeblink conditioning[J]. Hippocampus, 1996, 6(2): 192-209. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:2<192::AID-HIPO9>3.0.CO;2-R.

[6] LI RR, YAN J, CHEN H, *et al*. Sleep deprivation impairs learning-induced increase in hippocampal sharp wave ripples and associated spike dynamics during recovery sleep[J]. Cereb Cortex, 2022, 32(4): 824-838. DOI: 10.1093/cercor/bhab247.

[7] ROUMIS D K, FRANK L M. Hippocampal sharp-wave ripples in waking and sleeping states[J]. Curr Opin Neurobiol, 2015, 35: 6-12. DOI: 10.1016/j.conb.2015.05.001.

[8] MOUNT R A, SRIDHAR S, HANSEN K R, *et al*. Distinct neuronal populations contribute to trace conditioning and

extinction learning in the hippocampal CA1[J]. eLife, 2021, 10: e56491. DOI: 10.7554/eLife.56491.

[9] PELKEY K A, CHITTAJALLU R, CRAIG M T, *et al*. Hippocampal GABAergic inhibitory interneurons[J]. Physiol Rev, 2017, 97(4): 1619-1747. DOI: 10.1152/physrev.00007.2017.

[10] TZILIVAKI A, TUKKER J J, MAIER N, *et al*. Hippocampal GABAergic interneurons and memory[J]. Neuron, 2023, 111(20): 3154-3175. DOI: 10.1016/j.neuron.2023.06.016.

[11] MCKAY B M, OH M M, DISTERHOFT J F. Learning increases intrinsic excitability of hippocampal interneurons[J]. J Neurosci, 2013, 33(13): 5499-5506. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4068-12.2013.

[12] LOVETT-BARRON M, KAIFOSH P, KHEIRBEK M A, *et al*. Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning[J]. Science, 2014, 343(6173): 857-863. DOI: 10.1126/science.1247485.

[13] ZHANG W W, LI R R, ZHANG J, *et al*. Hippocampal interneurons are required for trace eyeblink conditioning in mice[J]. Neurosci Bull, 2021, 37(8): 1147-1159. DOI: 10.1007/s12264-021-00700-0.

[14] HE X Z, LI J R, ZHOU G J, *et al*. Gating of hippocampal rhythms and memory by synaptic plasticity in inhibitory interneurons[J]. Neuron, 2021, 109(6): 1013-1028.e9. DOI: 10.1016/j.neuron.2021.01.014.

[15] GRUART A, SANCHEZ-CAMPUSANO R, FERNANDEZ-GUIZAN A, *et al*. A differential and timed contribution of identified hippocampal synapses to associative learning in mice[J]. Cereb Cortex, 2015, 25(9): 2542-2555. DOI: 10.1093/cercor/bhu054.

[16] ANDERSON E B, GROSSRUBATSCHER I, FRANK L. Dynamic hippocampal circuits support learning- and memory-guided behaviors[J]. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 2014, 79: 51-58. DOI: 10.1101/sqb.2014.79.024760.

[17] ZHANG J, ZHANG K Y, ZHANG L B, *et al*. A method for combining multiple-units readout of optogenetic control with natural stimulation-evoked eyeblink conditioning in freely-moving mice[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 1857. DOI: 10.1038/s41598-018-37885-w.

[18] 王斌, 胡昱博, 童柳霞, 等. 腹内侧丘脑神经元在小鼠觉醒-睡眠周期中的放电特征及变化[J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(16): 1585-1591. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202202028.
WANG B, HU Y B, TONG L X, *et al*. Characteristics of ventromedial thalamic neuronal activity during sleep-wake cycle in mice[J]. J Army Med Univ, 2022, 44(16): 1585-1591. DOI:10.16016/j.2097-0927.202202028.

[19] WEISS C, DISTERHOFT J F. The impact of hippocampal lesions on trace-eyeblink conditioning and forebrain-cerebellar interactions[J]. Behav Neurosci, 2015, 129(4): 512-522. DOI: 10.1037/bne0000061.

[20] TAKEHARA K, KAWAHARA S, KIRINO Y. Time-dependent reorganization of the brain components underlying memory retention in trace eyeblink conditioning[J]. J Neurosci, 2003, 23(30): 9897-9905. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-30-09897.2003.

[21] GREEN J T, ARENOS J D. Hippocampal and cerebellar single-unit activity during delay and trace eyeblink conditioning in the rat[J]. Neurobiol Learn Mem, 2007, 87(2): 269-284. DOI: 10.1016/j.nlm.2006.08.014.

[22] LI R R, ZHANG W W, ZHANG J, *et al*. Sustained activity of hippocampal parvalbumin-expressing interneurons supports trace eyeblink conditioning in mice[J]. J Neurosci, 2022, 42(44): 8343-8360. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0834-22.2022.

[23] MCKENZIE S. Inhibition shapes the organization of hippocampal representations[J]. Hippocampus, 2018, 28(9): 659-671. DOI: 10.1002/hipo.22803.

[24] DE ZEEUW C I, CANTO C B. Sleep deprivation directly following eyeblink-conditioning impairs memory consolidation[J]. Neurobiol Learn Mem, 2020, 170: 107165. DOI: 10.1016/j.nlm.2020.107165.

[25] JOO H R, FRANK L M. The hippocampal sharp wave-ripple in memory retrieval for immediate use and consolidation[J]. Nat RevNeurosci, 2018, 19(12): 744-757. DOI: 10.1038/s41583-018-0077-1.

[26] EVANGELISTA R, CANO G, COOPER C, *et al*. Generation of sharp wave-ripple events by disinhibition[J]. J Neurosci, 2020, 40(41): 7811-7836. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2174-19.2020.

[27] HUELIN GORRIZ M, TAKIGAWA M, BENDOR D. The role of experience in prioritizing hippocampal replay[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 8157. DOI: 10.1038/s41467-023-43939-z.

[28] OGNJANOVSKI N, SCHAEFFER S, WU J X, *et al*. Parvalbumin-expressing interneurons coordinate hippocampal network dynamics required for memory consolidation[J]. Nat Commun, 2017, 8: 15039. DOI: 10.1038/ncomms15039.

[29] XIA F, RICHARDS B A, TRAN M M, *et al*. Parvalbumin-positive interneurons mediate neocortical-hippocampal interactions that are necessary for memory consolidation[J]. eLife, 2017, 6: e27868. DOI: 10.7554/eLife.27868.

(收稿:2023-12-07;修回:2024-02-26)

(编辑 李 玥)