鸽子海马区位置细胞及其空间响应特性分析

刘新玉¹, 万红^{1,2*}, 陈雪美¹, 尚志刚^{1,2}, 师丽^{1,2,3}, 李珊¹, 陈艳¹, 聂洁洁¹

1. 郑州大学电气工程学院, 郑州 450001;

2. 郑州大学河南省脑科学与脑机接口技术重点实验室, 郑州 450001;

3. 清华大学自动化系, 北京 100084

* 联系人, E-mail: wanhong@zzu.edu.cn

收稿日期: 2017-01-19; 接受日期: 2017-01-23; 网络版发表日期: 2017-03-15

国家自然科学基金(批准号: 61673353, U1304602)资助

摘要 位置细胞被认为是构成空间认知地图的基本单元, 对于动物空间认知具有十分重要的作用. 为了解析鸟类的空间认知神经机制, 本文以鸽子(*Columba*)为模式动物, 设计了4种目标明确程度不同的空间认知任务, 利用12只鸽子海马区记录的位置细胞, 从定性、定量和稳定性3个方面对比了有目标和无目标环境中位置细胞的空间响应特性. 结果表明, 有目标环境比无目标环境更易诱发出位置野, 且位置野的稳定性随环境中目标明确程度的提高而增加. 此外, 鸽子海马区位置细胞一般具有多个位置野, 平均每个位置细胞有2.7个位置野, 同时记录的位置细胞位置野基本处于相近的位置上, 大部分都有重叠. 本文的研究成果将有助于深化对不同物种动物空间认知机制的理解, 也将为进一步解析鸽子的三维空间认知和导航机制奠定基础.

关键词 鸽子, 海马区, 位置细胞, 位置野, 空间响应特性, 稳定性

空间位置感知和运动导航是大脑的基本功能, 明白自己身处何方以及将去向何处, 对每个个体的生存都至关重要. 自1948年Tolman^[1]研究大鼠(*Rattus norvegicus*)在不同迷宫中的空间记忆时首次提出“认知地图”这一假说以来, 几十年里研究者在哺乳动物大脑中相继发现了位置细胞^[2]、网格细胞^[3]、头朝向细胞^[4,5]、边界细胞^[6]、速度细胞^[7]等一系列与空间认知与导航功能相关的特异神经元. 其中, 通过对空间位置的记忆能力来认识及记录周围环境信息的海马(hippocampus, Hp)区位置细胞对于大脑的空间认知具有重要作用^[8,9]. 每个位置细胞均可表征动物所处环境的某一部分, 众多位置细胞的协同作用, 就可在

Hp区内形成一张表征周围空间环境的大脑内部认知地图^[10]. 相对于哺乳动物, 鸟类独自经历了3亿年的进化历程, 虽然现有研究已证实鸟类与哺乳类Hp区有着类似的分区和相似的功能^[11], 但在空间认知中所依赖的神经机制目前并不清楚.

鸽子(*Columba*)是空间认知和导航研究的典型动物模式, 长久以来科学家就对鸽子的认路本领争论不休. 脑区损毁实验证实^[12-15], Hp区参与了鸽子归巢等诸多行为, 对鸽子的空间认知以及学习导航具有至关重要的作用. 2003年, Bingman等人^[16]首次在鸽子Hp区记录到了具有位置调谐特性的神经元; 2004年, Hough和Bingman^[17]在鸽子进行迷宫实验时发现, 记录到的

引用格式: 刘新玉, 万红, 陈雪美, 等. 鸽子海马区位置细胞及其空间响应特性分析. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 292-304
Liu X Y, Wan H, Chen X M, et al. Response properties of place cells in the hippocampus of freely moving pigeons. Sci Sin Vitae, 2017, 47: 292-304, doi: [10.1360/N052016-00306](https://doi.org/10.1360/N052016-00306)

76个细胞中, 25个细胞对目标位置敏感, 13个细胞对走向目标过程中敏感, 12个细胞对迷宫外区域敏感; 2005年, Siegel等人^[18]通过实验观察发现鸽子大部分位置细胞都有多个位置野, 每个位置细胞一般有2~5个位置野; 2006年, Siegel等人^[19]还发现鸽子的左、右侧Hp区具有较大差异, 左侧Hp区更多地参与了两个位置之间的导航活动, 右侧Hp区则更多参与了速度的调节, 而且左侧Hp区位置细胞具有更强的位置特异性和稳定性; 2008年, Hough和Bingman^[20]发现鸽子Hp区位置细胞也同样具有“重映射”特性, 在改变视觉线索时, 记录到的15个位置细胞中有12个都发生了位置野的重建; 同年, Kahn等人^[21]发现在无稳定目标的开放场地中, 鸽子左、右脑Hp区位置细胞响应也具有较大差异, 但是无论是左侧Hp区还是右侧Hp区, 稳定的目标位置对于位置野的形成十分重要。

尽管目前对鸽子Hp区位置细胞的空间响应特性已有初步的认识, 但是鸽子位置细胞在空间认知中的作用机制还需深入研究. 本文针对鸽子Hp区位置细胞的空间认知机制, 基于目标在位置细胞位置野形成中的重要作用, 根据环境中目标的明确程度, 设计了4种不同的空间认知任务, 采集了鸽子在完成上述空间认知任务时Hp区神经信号, 给出了位置细胞的确定方法, 研究了有目标和无目标环境中位置细胞的空间响应特性, 并对位置细胞位置野进行了定性和定量分析, 在此基础上探讨了位置野的稳定性。

1 材料与方法

1.1 动物与行为训练

实验动物选用经过预训练筛选后成年家鸽, 体重450~550 g, 雌雄不拘, 动物实验经郑州大学生命科学伦理审查委员会审查, 符合动物管理和使用委员会的各项规定. 为了解析鸽子Hp区位置细胞的空间认知机制, 设计了4种空间认知任务, 即无目标圆形迷宫自由觅食任务(Task1)、无目标圆形迷宫自主觅食任务(Task2)、有目标圆形迷宫觅食任务(Task3)和有目标十字迷宫觅食任务(Task4)(图1). 在这4种任务中, Task1完全没有目标, 迷宫中也没有显著标志物, 食物是靠迷宫上面的给食装置由人控制自动投入, 以诱导鸽子在规定时间内遍历整个迷宫环境; Task2也没有目标, 但

把迷宫分成了4个部分, 分别在这4个部分放置食物、水、窝和保健砂等显著标志物, 让鸽子在其中自由活动; Task3同样将迷宫分为4个部分, 但每个部分都放有自动给食装置, 训练鸽子按给定的顺序在4个位置交替寻找食物, 并遍历整个迷宫空间; Task4是十字迷宫任务, 在迷宫的4个臂的尽头分别放置有自动给食装置, 训练鸽子完成指定的任务并获得奖励, 使其遍历整个迷宫空间, 不同方向上奖励出现的顺序是随机的. 对于Task1, Task3和Task4, 每天每只鸽子进行2~3组实验, 每次实验持续5或9 min; 对于Task2, 每只鸽子每组实验连续记录12 h, 数据每5 min保存一次。

针对这4种任务, 分别制作了圆形迷宫和十字迷宫两种训练系统. 其中Task1~Task3使用的圆形迷宫虽然内部结构不同, 但大小一致, 即半径50 cm、高80 cm的圆桶, 此高度确保了鸽子在训练过程中不易飞出. 对于Task1, 自动给食装置位于迷宫的上部, 由实验人员在房间外部进行控制; 而对于Task2, 在迷宫内部安置了4个高度为45 cm的挡板以使迷宫分为4个区域, 并且分别放置了不同的标志物; 对于Task3, 在上述隔开的4个区域中都安装了自动给食装置, 这4个给食装置由单片机控制循环开启和闭合, 每个给食装置开启时间为8 s; Task4使用的十字迷宫由实验等待区和“十”字形通道组成, 实验等待区的长宽高分别为55 cm×30 cm×35 cm, “十”字形通道的4个臂等长, 长宽高分别为70 cm×20 cm×35 cm, 关于十字迷宫的具体组成请参考文献^[22].

基于上述实验装置, 在行为训练和信号采集过程中, 每只鸽子分别圈养在单独的铁丝笼中, 并放置在一个12 h/12 h间隔明暗的房间中. 训练开始前2~3天开始限食, 水自由饮用, 食物只在周六可以自由摄取, 其他时间限制给食, 鸽子的体重被维持在正常摄食的80%~90%, 鸽子空间认知任务的训练范式如图1E所示. 训练时, 首先让鸽子熟悉迷宫环境, 即所有食盒装满食物并处于打开状态, 让鸽子在迷宫中自由摄食, 一般经过3天左右, 鸽子就能熟悉迷宫环境和食盒位置; 然后进行迷宫任务预训练, 此阶段的目的是为了在电极植入前使鸽子熟悉训练模式, 并淘汰不适宜做实验的鸽子, 时间不宜过长, 一般3~5天即可; 对于经过预训练的鸽子, 进行电极植入手术, 术后经过5~7天、待鸽子恢复后进行行为训练和神经信号采集。

图1 鸽子空间认知实验方案和训练范式示意图

A: Task1实验场景示意图; B: Task2实验场景示意图; C: Task3实验场景示意图; D: Task4实验场景示意图; E: 鸽子行为训练范式

1.2 电极植入与电生理实验

在微电极阵列植入前,对鸽子腹腔注射10%水合氯醛进行麻醉(0.4 mL/100 g),俯卧固定于自制的鸽子脑立体定位仪上^[23],实施开颅手术。术前使用1 mL左右的利多卡因对手术区进行局部麻醉。参考鸽子脑立体定位图谱^[24],确定Hp区位置(A, 4.0~7.5 mm; L, 0~3 mm; D, 0~3 mm),去除颅骨,并在手术显微镜下进行硬脑膜的剥除,而后进行微电极阵列植入(铂铱合金,电极间距300 μm ,电极直径35 μm ,阻抗一般在0.5~1.0 M Ω)。待电极植入到目标位置后,用耳脑胶在电极周围进行填充作为人工硬脑膜,然后用牙科水泥对电极进行初步固定。在电极周边颅骨上固定4~6颗钛合金或不锈钢螺钉,使其尽量均匀分布,并将电极的地线缠绕在螺钉上。最后用牙科水泥进行固定,并进行伤口缝合和消毒处理,等待鸽子的苏醒和恢复。

1.3 信号采集与处理

待鸽子身体恢复后,对鸽子进行控食和行为训练,如果连续两天鸽子行为正确率大于90%,则进行神经信号采集。即在鸽子执行相关行为任务的同时,用CerebusTM神经信号采集装置(Blockrock Microsystem Inc., 美国)检测Hp区神经信号。对采集后的信号,利用

0.25~5 kHz二阶Butterworth带通滤波器进行滤波处理,并利用幅度阈值法检测出spike(阈值为4~5倍信号均方根),spike的采样频率为30 kHz,16位模数转换精度。对于检测出的spike信号利用电极间相关法去除大幅值干扰^[25],并利用波形特征的高斯混合模型进行spike分类^[26],获得不同神经元的spike序列。spike信号处理如图2所示。

1.4 位置细胞确定与分析

为了确定位置细胞及其位置野,假设一个Trial中微电极阵列共记录了C个神经元的spike发放序列, $N(1:T) = \{N_i(t) : i = 1, \dots, C; t = 1, \dots, T\}$,其中 $N_i(t)$ 为第i个神经元在第t个bin上spike发放的个数。假设bin的宽度足够小,以至于每个bin中最多只有一个spike,一般设置为1 ms。

对鸽子完成空间认知任务的二维平面,进行网格化处理,分别计算每个网格中鸽子经过该网格的次数和神经元发放spike的个数,并定义为路径密度矩阵 R_p 和spike密度矩阵 R_s 。根据 R_p 和 R_s ,定义发放率矩阵 R_f 如下:

$$R_f = R_s ./ R_p$$

且满足

图2 spike预处理

A: 利用电极间相关法去噪前后的spike序列; B: 分类后的spike 波形示例; C: spike处理前后位置细胞位置野的变化

$$R_f(i,j) = \begin{cases} 0, & \text{if } R_s(i,j) = 0 \text{ and } R_p(i,j) = 0, \\ \max(R_f), & \text{if } R_s(i,j) \neq 0 \text{ and } R_p(i,j) = 0. \end{cases}$$

其中 $/$ 表示对应元素相除, $i = 1, 2, \dots, M$, $j = 1, 2, \dots, M$, 此处设置 $M=64$, 即每个格的面积大约为 2.5 cm^2 。

为了提高发放率估计的准确性和可靠性, 利用二维高斯函数对 R_f 进行了平滑处理^[17]。然后, 提取出 R_f 中所有大于0的元素, 组成新向量, 即 $R'_f = \text{find}(R_f > 0)$, 计算其均值 $\mu_{R'_f}$ 和方差 $\sigma_{R'_f}$ 。如果给定网格的发放率 $R_f(i,j)$ 满足: $R_f(i,j) > \mu_{R'_f} + 3 \times \sigma_{R'_f}$, 则定义该网格为响应网格^[17]。

对于所有的响应网格, 如果多个网格之间具有以下性质:

- (i) 响应区中至少包含一个响应网格;
- (ii) 如果响应区中包含两个或两个以上的响应网格, 那么对于每个响应网格至少有另一个响应网格与其是相互连接的, 即满足 $D(R_f^{k1}, R_f^{k2}) \leq 1$, 其中 D 为欧氏距离, R_f^k 表示第 k 个响应网格。

则定义这些网格构成的区域为神经元响应区。

由定义可知, Hp区神经元响应区具有以下性质:

- (i) 神经元发放率矩阵 R_f 可通过一些响应区构成。
- (ii) 不同的响应区之间直接不能相互连通;
- (iii) 每一个响应区都是唯一的。

对于一个神经元所有的响应区, 如果满足以下条件:

- (i) 对于给定的响应区, 包含的响应网格个数 ≥ 9 ^[17];

(ii) 对于给定的响应区, 包含的所有响应网格spike发放率最大值 ≥ 1 .

则定义这个响应区为神经元的位置野, 具有位置野的神经元定义为位置细胞.

图3给出了位置细胞确定的流程图. 由图可知, 位置细胞的确定基本上分为5步, 即: (i) 根据神经元spike序列和鸽子的运动轨迹获得spike密度矩阵 R_s 和路径密度矩阵 R_p ; (ii) 根据 R_s 和 R_p 获得spike发放率矩阵 R_f ; (iii) 对矩阵 R_f 进行二维高斯平滑处理; (iv) 设定阈值, 获得响应网格和响应区; (v) 根据上述定义确定位置野.

对于包含 N 个响应网格的位置野 $R_{pf}^k = \{G_k | k = 1, 2, \dots, N\}$, 定义位置野的面积 A_{pf}^k 为位置野中响应网格的个数, 即 $A_{pf}^k = N$; 定义位置野的位置 (x_0, y_0) 为包含位置野最小矩形的质心坐标, 即 $(x_0, y_0) = \left(\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N x_k, \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N y_k\right)$, 其中 (x_k, y_k) 为第 G_k 的坐标位置(图3B).

1.5 位置细胞位置野稳定性度量

为了分析在有、无目标环境中位置细胞位置野的稳定性, 分别对不同任务中记录到的位置细胞进行了统计分析, 计算了不同记录日期中位置细胞位置野的诱发率和位置野位置的变化情况, 具体如下: 假设对

于特定鸽子, 共包含 D 个记录周期(即 D 天)和 C 个位置细胞, 则位置细胞位置野的诱发率定义为:

$$P_c = \frac{\sum_d PC_{c,d}}{D} \times 100\%,$$

其中 $PC_{c,d}$ 为第 c 个位置细胞在第 d 天中记录到的位置野情况, 即如果位置细胞有位置野则 $PC_{c,d}=1$, 否则 $PC_{c,d}=0$. P_c 越大表明位置野诱发的概率越高, 位置细胞位置野越稳定.

对于位置细胞位置野位置的变化情况, 计算了位置细胞在所有记录周期中位置野位置曲线的方差, 即:

$$S_c = \left[\frac{1}{D-1} \sum_{d=1}^D (x_d - \mu_x)^2, \frac{1}{D-1} \sum_{d=1}^D (y_d - \mu_y)^2 \right],$$

其中 S_c 表示第 c 个位置细胞位置野位置曲线的方差, x_d 和 y_d 表示位置野在 x 轴和 y 轴的位置, μ_x 和 μ_y 表示位置野位置在 x 轴和 y 轴的均值. S_c 度量了位置细胞位置野位置在不同记录天数中的离散程度, S_c 越大表明位置细胞位置野稳定性越差.

1.6 组织学鉴定

在所有的数据采集和行为学实验完成之后, 利用10%水合氯醛对鸽子以腹腔注射方式进行麻醉, 然后利用5 mA、时长30 s的阳极直流电进行脑区损毁, 以

图3 鸽子Hp区位置细胞的确定流程

A: 鸽子Hp区位置细胞确定示意图; B: 位置野大小和位置的示意图

标记电极尖端的位置. 对于脑区损毁后的鸽子, 然后利用 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液和 4% 的多聚甲醛进行心脏灌注. 灌注完成后, 从颅骨中移出大脑, 并在福尔马林溶液中浸泡 48 h, 进行固定. 利用冰冻切片机 (LEICATM, CM1950, 瑞士) 在电极植入位置以 50 μm 精度进行切片, 并对切片进行固定处理, 在显微镜下对植入位置进行标记. 鸽子 Hp 区微电极植入位点的空间分布如图 4 所示.

2 结果

2.1 位置细胞的响应特性分析

对于上述 4 种空间任务, 分析了鸽子 Hp 区位置细胞的空间响应特性, 并对位置细胞进行了筛选. 图 5 为 Task 4 中当鸽子从正、反两个方向经过相同位置时位置细胞的响应特性. 由图可知, 鸽子无论是从哪个方向经过同一位置时, 位置细胞的响应基本是类似的. 而且在 Task 4 中记录的所有位置细胞的统计分析结果表明, 对于正、反两个方向, 位置细胞 spike 发放率也没有显著差异 (t -test, $P > 0.05$). 图 6 为 4 种任务中具有典

型位置野的位置细胞, 上图为位置细胞的 spike 发放率密度, 下图为确定出的位置细胞位置野, 图中的数字代表所有网格中的最大发放率, 图上为位置细胞编号. 由图可知, 在鸽子在执行 4 种任务时, 无论是在有目标还是无目标环境中, Hp 区均能记录到对特定区域具有特异性响应的位点细胞.

图 7 为不同任务中 Hp 区位置细胞位置野的空间分布. 由图可知, Task 1 中位置细胞位置野的分布比较分散, Task 2 中位置细胞位置野则主要分布在窝附近, 这可能与鸽子在窝附近待的时间长有关, Task 3 中位置细胞位置野则布满了整个觅食空间, 而 Task 4 中位置细胞位置野主要是在奖励附近. 此外, 无论是有目标空间环境还是无目标空间环境, 记录到的位置细胞位置野基本处于相近的位置上, 而且大部分位置野都有重叠. 此外, 从整体上看位置细胞位置野形状都比较规则, 基本呈圆形或椭圆形.

2.2 位置细胞位置野的统计分析

为了对位置细胞位置野进行定量描述, 分别对不同任务中位置细胞个数、位置野个数、位置野面积

图 4 鸽子 Hp 区微电极植入位点空间分布图

A: 植入微电极阵列的鸽子; B: 灌注后的鸽子大脑; C: 鸽子大脑的冠状切片; D: 微电极尖端位置示例; E: 微电极植入位点的空间分布

图5 正、反两个方向经过相同位置时位置细胞响应特性

A: 从上到下为不同试次spike序列、spike序列的时间直方图(PSTH)和spike发放率波形图; B: 位置细胞的spike 发放密度图。图中的三角代表以此处为对准位置; C: 正、反方向spike发放率的统计对比($n=31$), n 为位置细胞的个数

图6 不同空间认知任务中典型的位置细胞spike发放率密度和位置野分布

A: Task1中典型位置细胞; B: Task2中典型位置细胞; C: Task3中典型位置细胞; D: Task4中典型位置细胞

等进行了统计分析. 表1分别给出了12鸽子记录到的位置细胞及其位置野个数. 在12只鸽子中共记录到了

271个神经元, 其中有177个具有位置野, 位置细胞平均占了65%. 而这177个位置细胞共记录到了473个位

图 7 不同空间认知任务中海马区位置细胞位置野的空间分布

表 1 不同鸽子记录到位置细胞个数和位置野个数

Task type	Pigeon ID	No. of neurons	No. of place cells	No. of place fields	Mean of place field
1	P022	16	14	56	4.0
1	P349	16	16	49	3.0
2	P010	16	11	15	1.3
2	P016	32	26	43	1.6
3	P001	16	16	63	3.9
3	P009	32	32	109	3.4
3	P046	15	15	54	3.6
3	P048	16	16	51	3.1
4	P052	32	3	3	1.0
4	P055	32	1	2	2.0
4	P059	32	13	13	1.0
4	P070	16	14	15	1.0
Total		271	177	473	2.7

置野, 平均每个位置细胞有2.7个位置野. 4个任务相比而言, Task4记录到的位置细胞比重最小, 只占了27%, Task3所占比重最大, 为100%. 此外, 不同任务对应的平均位置野的个数也不一致, 其中Task1诱发的位置野个数最多, 平均每个位置细胞有3.5个位置野, Task2诱发的位置野个数最少, 每个位置细胞平均只有1.4个位置野.

图8给出了不同任务对应的位置细胞位置野统计结果. 在位置细胞位置野个数的分布上, 可以看出位置细胞具有1个位置野的比重最大, 占32%, 其次是2个位置野, 占20.9%, 而且具有2个位置野的位置细胞有51%集中在Task2中. 此外, Task2和Task4中位置细胞的位置野都小于3个, 占到了总数的55.7%, Task1的位置细胞位置野个数分布十分平均, 而Task3的位置野个

数主要集中在了4个附近. 在位置野面积的分布上, 在20个响应网格以下位置野比重最大, 占到了30.2%, 其次是20~30个响应网格, 占到了17.5%. 此外, Task1和Task3的分布基本一致, 大部分位置细胞位置野面积都比较小, 而Task2和Task4的位置野面积则主要集中在50个响应网格以上.

2.3 位置细胞位置野的稳定性分析

在位置细胞的定性和定量分析的基础上, 进一步分析了位置细胞位置野的稳定性. 图9和10分别给出了无目标环境和有目标环境中位置野稳定性的示例, 图中用白色圆形曲线标记了位置野的位置和大小. 由图可知, 在无目标环境中, 位置细胞位置野的稳定性较差, 除了在20160114和20160120两天中出现过之后,

图 8 海马区位置细胞位置野统计分析结果

A: 位置细胞位置野个数的统计分布; B: 位置细胞位置野面积的统计分布; C: 4种任务中位置细胞位置野个数的统计分布; D: 4种任务中位置细胞位置野面积的统计分布

图 9 不同记录日期中有、无目标环境位置细胞位置野示例

A: 无目标环境中的位置野; B: 有目标环境中的位置野

在其他日期记录的数据中并没有在相同位置上观察到位置野; 但在有目标环境中, 位置细胞位置野有较

好的稳定性, 几乎在所有的记录日期中都观察到了位置野。

图 10 位置细胞位置野稳定性的统计分析结果

A: 不同鸽子位置细胞位置野位置在x轴和y轴随记录天数变化曲线的标准差; B: 有、无目标环境中位置细胞位置野位置在不同记录日期中的分布示例, 位置细胞分别来自于P349(17天)和P059(11天); C: x轴和y轴中有无目标分布标准差的对比

为了进一步确认位置细胞位置野在有、无目标环境中的稳定性, 分别对4种任务中所有鸽子记录到的位置细胞进行了统计分析, 结果发现, 在4种任务中记录到位置细胞在所有记录日期中出现的概率平均值分别为9.3%, 28.6%, 43.8%和87.5%。此外, 对位置细胞位置野的位置随记录天数变化曲线也进行了统计分析(图10)。从单个位置细胞位置野位置在不同日期中变化曲线的标准差分布看, 有目标环境中位置细胞位置野的稳定性也好于无目标环境位置细胞位置野的稳定性。这一结果表明, 位置细胞位置野的稳定性与环境中目标明确的程度有关, 有目标环境中位置细胞位置野的稳定性要优于无目标环境。

3 讨论与结论

针对鸽子Hp区空间认知的神经机制, 本文系统分析了位置细胞位置野的空间响应特性。首先根据鸽子的运动特点和行为习性, 设计了4种空间认知任务, 采集了鸽子在完成上述空间认知任务时Hp区神经信号, 给出了位置细胞确定方法, 研究了有目标环境和无目标环境中位置细胞的空间响应特性, 并对位置细胞位置野进行了定性和定量分析, 探讨了位置野的稳定性。12只鸽子的研究结果表明, 无论外界环境中是否有目标, Hp区位置细胞都能诱发出位置野, 但相比之下有目标环境中诱发出的位置野更稳定。此外, 在所有记录到

的271个神经元中, 位置细胞占了65%, 而且记录到的177个位置细胞中共包含473个位置野, 平均每个位置细胞有2.7个位置野。

位置细胞对于动物空间认知具有十分重要的作用[8,9]。相对于哺乳类Hp区位置细胞, 鸽子等鸟类Hp区位置细胞的研究起步较晚, 而且相对较少。针对鸽子Hp区位置细胞特性, 设计了4种空间认知任务, 这4种空间认知任务中目标的明确程度逐渐增加。Task1中完全没有目标; Task2中虽然也没有目标, 但迷宫被分成了4部分, 而且每部分都有不同的标志物; Task3有目标, 与Task2基本类似, 但目标更为明确; Task4不仅目标明确, 而且去往目标的路径也是固定的。研究结果发现, 在这4种任务中, 鸽子Hp区位置细胞都能诱发出位置野。但我们注意到, 4种任务相比而言, Task4记录到的位置细胞比重最小, 这可能是由于鸽子活动空间较小, 位置细胞位置野并没有被有效激发。此外, 研究还发现与无目标的环境相比, 有目标的环境更易诱发出位置野, 而且诱发出的位置野也比较稳定。

鸽子和大鼠都是常用的空间认知和导航行为学实验模式动物, 具有优越的空间认知和运动导航能力, 但是从位置细胞空间响应特性上看, 鸽子Hp区位置细胞与大鼠Hp区位置细胞位置野特性具有较大差异。在位置野的个数上, 在一个给定环境中大鼠Hp区位置细胞大多数情况下仅有一个位置野[10], 而鸽子Hp区大部

分情况下都有多个位置野, 平均每个位置细胞有2.7个位置野; 在位置野的位置上, 实验观察到的大多数大鼠Hp区位置细胞在同一环境中有着不同的位置野, 虽然有小部分位置细胞位置野有重叠现象^[27], 而在同一环境中记录到的鸽子Hp区位置细胞位置野基本处于相近的位置上, 而且大部分位置野都有重叠; 在位置野的形成上, 大鼠位置细胞对于环境依赖性不强, 在环境中缺乏标志物甚至黑暗无光的环境中, 大鼠Hp区一些位置细胞仍能形成位置野^[28], 而鸽子Hp区位置细胞的激活与外界环境中有着密切的关系, 只有有目标的环境中才能激发出稳定的位置野。

而且与大鼠行为特性相比, 实验中发现鸽子并不喜于探索, 难以在短时间内遍历整个空间, 以至于在每天2~3个实验周期中鸽子Hp区位置细胞位置野出现的概率较低, 4种任务平均概率仅为42.3%, 而且发现只有在长期的大量重复实验并经过叠加平均后位置野才比较明显, 而大鼠在几分钟、至多十几分钟内就能观察到相对明显的位置野^[2]。不过, 位置细胞的诱发概率随着环境中目标的明确程度的增加而增加。此外, 大鼠的位置野也比较稳定, 一旦出现可以持续一个月之久^[8], 而鸽子则极不稳定, 其位置野甚至在连续的记录中也会发生改变。这可能与鸟类和鼠类所处环境有关, 但其深层次的原因还需要进一步研究才能揭示。

众所周知, Hp区是一个极其复杂的区域, 负责多

项认知和学习记忆任务, 位置细胞只是其中众多功能神经元中的一种, 不能排除在位置细胞筛选中会有一些任务/行为相关的神经元会混入其中。为了避免这一问题, 在植入位置上选择了与大鼠Hp区中CA1亚区功能类似的DMv亚区作为目标位置, 而且在位置细胞确定上也设置了严格的筛选条件, 以降低位置细胞的误检率。此外, 本文也仅从定性、定量和稳定性3个方面对鸽子Hp区位置细胞进行了探讨, 有关位置细胞的其他响应特性及Hp区其他细胞类型在空间认知中的作用等许多问题还需要大量研究才能解析, 任重而道远。

综上所述, 本文针对鸽子的空间认知机制, 研究了鸽子Hp区位置细胞的空间响应特性, 从定性、定量和稳定性3个方面对比了有目标和无目标环境中位置细胞位置野的特性。研究结果表明, 外界环境中、无目标位置细胞都能诱发出位置野, 但是相比之下有目标的环境比无目标更易诱发出位置野, 而且诱发出的位置野也较稳定。此外, 研究还发现鸽子Hp区位置细胞一般具有多个位置野, 平均每个位置细胞有2.7个位置野, 同时记录的位置细胞位置野基本处于相邻或相近的位置上, 大部分位置野都有重叠。本研究将有助于深化对不同物种动物空间认知机制的理解, 也将为进一步解析鸽子的三维空间认知和导航机制奠定基础。

参考文献

- 1 Tolman E C. Cognitive maps in rats and men. *Psychol Rev*, 1948, 55: 189–208
- 2 O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely moving rat. *Brain Res*, 1971, 34: 171–175
- 3 Fyhn M, Molden S, Witter M P, et al. Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science*, 2004, 305: 1258–1264
- 4 Taube J S, Muller R U, Ranck J B. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *J Neurosci*, 1990, 10: 420–435
- 5 Taube J S, Muller R U, Ranck J B. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. II. Effects of environmental manipulations. *J Neurosci*, 1990, 10: 436–447
- 6 Solstad T, Boccara C N, Kropff E, et al. Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. *Science*, 2008, 322: 1865–1868
- 7 Kropff E, Carmichael J E, Moser M B, et al. Speed cells in the medial entorhinal cortex. *Nature*, 2015, 523: 419–424
- 8 马晓宇, 林龙年. 解码大脑的空间方位认知. *生命科学*, 2014, 26: 1248–1254
- 9 叶芷. 脑中的空间导航系统—place cell和grid cell的发现. *中国科学: 生命科学*, 2015, 45: 317–319
- 10 O'Keefe J. A review of the hippocampal place cells. *Prog Neurobiol*, 1979, 13: 419–439
- 11 Herold C, Bingman V P, Ströckens F, et al. Distribution of neurotransmitter receptors and zinc in the pigeon (*Columba livia*) hippocampal formation: a basis for further comparison with the mammalian hippocampus. *J Comp Neurol*, 2014, 522: 2553–2575

- 12 White A R, Strasser R, Bingman V P. Hippocampus lesions impair landmark array spatial learning in homing pigeons: a laboratory study. *Neurobiol Learn Mem*, 2002, 78: 65–78
- 13 Herold C, Coppola V J, Bingman V P. The maturation of research into the avian hippocampal formation: recent discoveries from one of the nature's foremost navigators. *Hippocampus*, 2015, 25: 1193–1211
- 14 Cnotka J, Mohle M, Rehkamper G. Navigational experience affects hippocampus size in homing pigeons. *Brain Behav Evol*, 2008, 72: 233–238
- 15 Kahn M C, Bingman V P. Avian hippocampal role in space and content memory. *Eur J Neurosci*, 2009, 30: 1900–1908
- 16 Bingman V P, Hough II G E, Kahn M C, et al. The homing pigeon hippocampus and space: in search of adaptive specialization. *Brain Behav Evol*, 2003, 62: 117–127
- 17 Hough G E, Bingman V P. Spatial response properties of homing pigeon hippocampal neurons: correlations with goal locations, movement between goals, and environmental context in a radial-arm arena. *J Comp Physiol A*, 2004, 190: 1047–1062
- 18 Siegel J J, Nitz D, Bingman V P. Spatial-specificity of single-units in the hippocampal formation of freely moving homing pigeons. *Hippocampus*, 2005, 15: 26–40
- 19 Siegel J J, Nitz D, Bingman V P. Lateralized functional components of spatial cognition in the avian hippocampal formation: evidence from single-unit recordings in freely moving homing pigeons. *Hippocampus*, 2006, 16: 125–140
- 20 Hough G E, Bingman V P. Rotation of visual landmark cues influences the spatial response profile of hippocampal neurons in freely-moving homing pigeons. *Behav Brain Res*, 2008, 187: 473–477
- 21 Kahn M C, Siegel J J, Jechura T J, et al. Response properties of avian hippocampal formation cells in an environment with unstable goal locations. *Behav Brain Res*, 2008, 191: 153–163
- 22 万红, 师黎, 刘新玉, 等. 用于家鸽的双层半封闭式自动“十字”形迷宫. 中华人民共和国专利, 201510576476.4, 2015-12-23
- 23 万红, 师黎, 刘新玉, 等. 家鸽脑立体四点定位装置. 中华人民共和国专利, 201510264896.9, 2015-09-23
- 24 Karten H J, Hodos W. *Stereotaxic Atlas of the Brain of the Pigeon (Columba livia)*. Baltimore: Johns Hopkins Press, 1967. 3–7
- 25 Paralikar K J, Rao C R, Clement R S. New approaches to eliminating common-noise artifacts in recordings from intracortical microelectrode arrays: inter-electrode correlation and virtual referencing. *J Neurosci Methods*, 2009, 181: 27–35
- 26 万红, 张超, 刘新玉, 等. 波形特征的高斯混合模型锋电位分类算法. 中国生物医学工程学报, 2016, 35: 402–410
- 27 O'Keefe J. Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Exp Neurol*, 1976, 51: 78–109
- 28 Quirk G J, Muller R U, Kubie J L. The firing of hippocampal place cells in the dark depends on the rat's recent experience. *J Neurosci*, 1990, 10: 2008–2017

Response properties of place cells in the hippocampus of freely moving pigeons

LIU XinYu¹, WAN Hong^{1,2}, CHEN XueMei¹, SHANG ZhiGang^{1,2}, SHI Li^{1,2,3},
LI Shan¹, CHEN Yan¹ & NIE JieJie¹

¹*School of Electrical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;*

²*Henan Key Laboratory of Brain Science and Brain-Computer Interface Technology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;*

³*Department of Automation, Tsinghua University, Beijing 100084, China*

Place cells are considered to be the basic unit of cognitive maps, which play an important role in spatial cognition for many animals. To investigate the neural mechanisms underlying spatial cognition in birds, we designed four spatial cognitive tasks with or without goals, using pigeons as an animal model. We examined place cells in the hippocampus of 12 pigeons while they performed each task. We measured their spatial response properties and comparatively analyzed place field properties between tasks with and without goals using qualitative and quantitative measures. The results revealed that the reliability of place fields increased when the presence of a goal was clearer, and that place fields were more easily activated in tasks with a goal compared with those with no goal. In addition, we found that place cells in the hippocampus generally possessed multiple place fields, with an average of 2.7 place fields for each place cell. Place fields recorded simultaneously were always located in a similar position, and most exhibited overlapping regions. These results will be helpful for extending our understanding of the mechanisms underlying spatial cognition in different species, and provide a foundation for future studies investigating three-dimensional spatial cognition and navigation mechanisms in pigeons.

pigeon, hippocampus, place cell, place field, spatial response properties, reliability

doi: [10.1360/N052016-00306](https://doi.org/10.1360/N052016-00306)