

第 1 章 前 言

1.1 问题的提出

自从 1859 年达尔文(Darwin)的《物种起源》出版后,以“物竞天择,适者生存”为代表的进化论观点已经广为人知。在生存斗争中,具有有利性状的个体有更高的概率在生存斗争中获胜而继续生存繁衍,反之,具有不利性状的个体则更可能在生存斗争中失败而被淘汰。所以凡是在漫长生存斗争中保留下来的性状都是适应环境和有益于生物生存的。情绪也是这样的一种生物性状。

人类具有丰富的感情,那么,与动物相比,情绪与情绪性行为是人类所特有的一种性状吗?达尔文在其 1872 年出版的著作《人与动物的情感表达》中首次从生物学的角度将情绪的起源与动物的行为联系起来,描述了许多人与动物共有的情绪性行为,比如在惊讶时扬起眉毛,在挑衅的冷笑时扬起上唇。这些人与动物共有的情感表达行为提示我们,人类的情绪与情绪性行为本质上和其他动物一样,是一种在生存斗争中所保留下来的本能行为。这一观点为我们在动物模型上研究情绪与情绪性行为的起源与发生机制打下了基础。至此,各种情绪与情绪性行为的发生机制以及其对生物生存意义成为生物学领域中一个非常重要的问题。

1.2 研究背景及意义

为了研究各种情绪性行为的发生机制,首先需要对各种情绪下的特征性行为进行系统性地描述与鉴定。其中恐惧情绪是最早被系统性描述并研究的一种代表性的情绪。恐惧性行为指的是动物在遇到危险时所表现出的一系列自发的防御反应,是生物体进化出的一种面对危险时高效的自我保护机制。

恐惧可分为先天恐惧 (innate fear) 和后天恐惧 (或习得性恐惧, conditioned or learned fear)。先天恐惧指的是不依赖过去的经历或记忆就能引起的恐惧反应, 这些恐惧反应与生俱来且难以消除; 后天恐惧是指那些依赖于过去经历或记忆的恐惧反应, 会随着时间的流逝而渐渐消失, 称作恐惧记忆消退 (fear extinction)^[1]。

1908年, 美国心理学家威廉·麦独孤 (William McDougall) 在其著作《社会心理学导论》中首次描述了在恐惧、愤怒和厌恶情绪下所表现出的各种本能行为。其后, 1915年美国生理学家沃尔特·坎农 (Walter B. Cannon) 在其著作 *Bodily Changes in Pain, Hunger, Fear and Rage* 中详细描述了在情绪激动的背景下所发生的身体变化, 并首次提出了在恐惧情绪下的特征行为“逃跑或战斗 (flight or fight)”。在随后的动物研究中, 研究者们发现面对威胁, 生物体会表现出一系列的防御行为 (defensive behavior), 这一系列的防御行为在包括人类的多种哺乳动物中高度保守, 被称为防御级联反应 (defensive cascade)。它包含了觉醒 (arousal)、战斗或逃跑 (fight or flight)、冻结 (freezing) 和崩溃性静止 (tonic immobility) 这四个阶段。不同阶段的防御行为由中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 与其调控的多种外周器官所调控^[2]。

觉醒、战斗或逃跑、冻结和崩溃性静止的状态由防御级联网络的不同结构和路径的神经活动所产生。觉醒是面对危险激活防御级联的第一步, 此时下丘脑通路的激活、促进促肾上腺皮质激素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 的分泌, 以及同时调控一系列心血管系统的活动, 使机体进入警觉状态。战斗或逃跑行为涉及下丘脑和外侧导水管周围灰质 (lateral periaqueductal gray, LPAG) 的激活。而冻结行为涉及多种通路的激活, 如下丘脑通路、背侧运动核 (the dorsal motor nucleus, DMN) 的迷走神经通路 (抑制交感神经的激活)、外侧中脑导水管周围灰质 (LPAG), 以及腹外侧导水管周围灰质 (lateral periaqueductal gray, ventral part; vLPAG) (抑制外侧导水管周围灰质的激活)。崩溃性静止包括来自背侧运动核 (DMN) 的迷走神经通路和腹外侧导水管周围灰质 (vLPAG) 通路的激活。在崩溃性静止状态下, 下丘脑通路不被激活。

在不同的场景下, 动物体会产生不同的防御反应。在啮齿类动物的研究中, 防御反应又可分为主动防御和被动防御, 这两种防御策略的转换由中央杏仁核 (central amygdaloid nucleus, CeA) 的神经元所调控^[3]。恐惧情

绪还会导致生物体产生一系列生理指标的改变。恐惧情绪会引起心血管系统产生一系列自发的适应性反应,如增强肾上腺素分泌,让机体做好准备以面对即将到来的威胁。这些心血管反应和激素分泌又会进一步在动物体内导致各种生理指标的改变,如体温升高(hyperthermia)或体温降低(hypothermia)。主动的防御策略通常伴随着交感神经系统的激活,从而引起心率升高,血压升高和活动增加。与之相反,被动的防御策略通常伴随着副交感神经系统的激活,从而引起心率降低,血压降低和活动减少^[1]。

另外,当生物体处于防御级联反应的不同阶段时,其生理状况也不相同。比如,在恐惧反应中,体温升高现象是紧张和焦虑的一种体现,通常是由交感神经系统激活所引起,这代表着生物体对即将到来危险的觉醒。而在某些极端危险的情况下,动物体会出现崩溃性静止的状态,如部分动物的假死现象,这时生物体内交感神经系统活性被抑制而副交感神经系统活性增强,从而产生心率降低,呼吸减缓,体温降低的现象,严重时可导致死亡^[2]。

为了进一步理解这些恐惧情绪所驱动的特定行为的神经机制,多年来科学家们建立了许多恐惧相关的行为范式来研究特定行为背后的神经机制,如在阴影测试(looming test)中所发现的中脑上丘(superior colliculus, SC)启动小鼠对上方阴影所产生的逃跑和冻结行为^[4-5];利用捕食者气味分子2MT所发现的中央杏仁核(CeA)调控的小鼠面临威胁时所引起的冻结行为^[6]。

关于恐惧引起的体温升高现象背后的神经机制,之前的研究已经揭示了一条从下丘脑到延髓的起关键作用的神经环路。这条神经环路通过调控交感神经系统中枢苍白球前侧(raphe pallidus nucleus, rRPa)和椎体旁侧(parapyramidal nucleus of raphe, PaPy)脑区来调控褐色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)交感神经的活性,增强褐色脂肪组织的产热作用来引起体温升高^[7]。

而关于恐惧引起的体温降低现象,仅有一些年代久远的描述性工作。人们在很久之前就发现,实验兔子会在受约束(restricted)时出现体温降低的反应,这种体温降低的反应可在训练后被减弱。在兔子身体上观察到的这种现象被认为是一种恐惧性的体温降低现象。1950年,一项研究发现,自由活动的兔子,在受到约束时其呼吸频率会增加且耳朵温度会显著升高。与此同时,受约束兔子的直肠温度会逐渐降低。待呼吸平稳,耳朵温度恢复

后,直肠温度降低的现象也会停止,并逐渐恢复^[8]。

除实验兔子外,恐惧性的体温降低现象在实验大鼠中也有报道。人们发现,大鼠会在被固定的情形下出现体温降低现象,且这种现象的产生可能是由大脑的 5-羟色胺系统所介导^[9]。

而在一些极端危险的情况下,许多动物会采取一种假死的防御策略,这种假死的状态也通常伴随着体温降低、心率减缓等生理状态的改变。但恐惧性体温降低现象背后关键的神经机制与其对生物生存的意义目前并不清楚。

1.3 文献综述

该节以信号-感知-行为的发生顺序,介绍了啮齿类模型生物中的多种先天性恐惧信号及其对应的感知系统、信号感知与传递的分子神经机制以及最终产生行为的神经环路机制。首先,探讨了恐惧信号的多种感知途径和有代表性的恐惧行为范式,并着重介绍了本书中所使用的捕食者气味分子 2-甲基-2-噻唑啉(2-methyl-2-thiazoline, 2MT)的发展与由来,其次,介绍了几种经典的瞬时受体电位 TRP(transient receptor potential)离子通道所介导的感知功能,并着重探讨了 TRPA1(transient receptor potential ankyrin 1)离子通道在感知这一类捕食者气味分子中起到的关键作用,最后回顾了已知的恒温动物感知环境温度调控体温变化的神经环路机制。鉴于 TRP 离子通道在多种情形下对恐惧信号感知与温度感知的重要作用,推测恐惧所诱导的体温调控过程可能也有 TRP 离子通道的参与。

1.3.1 先天性恐惧信号及其感知

在自然界中,诱发动物产生先天性恐惧反应的威胁主要有三种:捕食者、攻击性的同类,以及身体内部的不适(如疼痛、缺氧等)。所有先天性恐惧信号的感知都是通过不同的感官系统来实现的,包括嗅觉、视觉、听觉和体感。许多研究表明,来自单一感官的信号,如捕食者的气味、头顶移动的阴影等,都足以独立地诱导先天性恐惧反应的产生。

1.3.1.1 嗅觉恐惧信号及其感知

与人类相比,啮齿类动物主要依靠嗅觉来探测周围环境。一些研究发

现,来自捕食者的唾液、尿液、粪便等身体分泌物的气味^[10],以及来自攻击性同类的气味^[11-13]能够引起啮齿类动物明显的恐惧防御反应。如从狐狸粪便中提取的捕食者气味分子2,3,5-三甲基-3-噻唑啉(2,3,5-trimethyl-3-thiazoline,TMT)可以引起小鼠明显的冻结反应^[13],雄性成熟同类尿液中的主要尿蛋白(major urinary protein,MUP)可以显著增加小鼠的攻击性行为^[14],捕食者(如猫或大鼠)尿液中的主要尿蛋白则可以显著增加小鼠的回避性行为^[12]。这些气味信号的检测依赖于主嗅觉系统(main olfactory system,MOS)和辅助嗅觉系统(accessory olfactory system,AOS)。

在啮齿类动物中,来自捕食者的气味一般是由主嗅觉系统来感知的,而来自同类或天敌尿液、泪液及皮肤分泌物中的外激素(pheromone)一般是由辅助嗅觉系统来感知的。如图1-1所示。

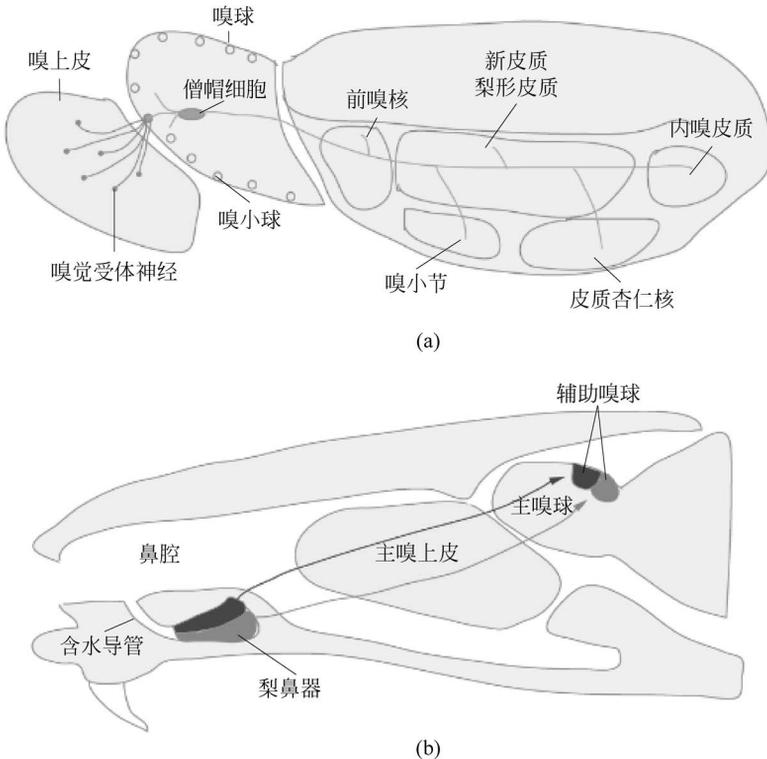


图 1-1 小鼠的嗅觉感知系统

(a) 小鼠的主嗅觉系统(MOS)示意图; (b) 小鼠的辅助嗅觉系统(AOS)示意图

主嗅觉系统通过位于嗅上皮的感觉神经元来检测挥发性气味,这些嗅上皮的感觉神经元进一步投射到位于主嗅球(main olfactory bulb, MOB)上的被称为嗅小球的特定结构,再由位于嗅球上的僧帽细胞(mitral cell)通过远程轴突将嗅觉信息传入多个嗅皮质区域,包括前嗅核、梨形皮质、嗅小节的杏仁核以及内嗅皮质。而辅助嗅觉系统则通过位于鼻中隔基部一种化学感受结构——犁鼻器(vomer nasal organ, VNO)来检测液相的气味信息,表达 V1R 和 V2R 家族受体的 VNO 神经元分别将其轴突投射到副嗅球的前端和后端,进而将气味信息传入大脑。

在狐狸气味分子 TMT 引起的恐惧反应中,TMT 分子最先由鼻上皮神经元感知,鼻上皮神经元进一步投射到位于后背侧嗅球的僧帽细胞^[15-16],僧帽细胞再进一步投射到前皮质杏仁核(nucleus of the cortical amygdala, CoA)^[17],引起小鼠的恐惧性行为。而同类或天敌主要尿蛋白(MUP)的感知则依赖于 VNO 神经元中一类叫作 TRPC2 的特定 TRP 离子通道,敲除 *Trpc2* 基因的小鼠会丧失对入侵雄性同类的攻击行为以及对天敌尿液的回避性行为^[12]。

1.3.1.2 视觉恐惧信号及其感知

啮齿类动物会对视野上方阴影产生一系列恐惧防御反应,包括逃跑、寻求庇护和冻结反应^[18-19]。在实验室中,通常通过在小鼠笼子顶部的屏幕上显示一个不断扩大的圆形阴影或者一个移动的条状阴影来模拟自然状态下猛禽接近的情景,从而引起小鼠逃跑或冻结的恐惧反应,这类行为范式被称为阴影测试。在自然界中,视觉是发现这类威胁的唯一有效途径。

视觉恐惧信号的感知是一个复杂的神经过程,涉及多个脑区的协同工作。在啮齿类动物中,位于眼球后部的视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell)接收并整合视网膜上的所有视觉信号,其神经轴交汇于视交叉(optic chiasm)并将其轴突投射到眼球对侧的外膝体(lateral geniculate nucleus, LGN)。外膝体是视觉意识传输的中继站,会将视觉信息换元后传输至视皮层(visual cortex),从而形成丰富的视觉感受。同时,视网膜神经节细胞还会将视觉信息直接传递到上丘(SC)。上丘是一个在脊椎动物进化过程中高度保守的初级视觉中枢。上丘是中脑的一部分,能够整合来自视网膜的简单视觉信息,如物体的相对位置和视觉威胁的感知;并发出运动指令,产生与本能行为和认知行为相关的特定输出,如参与控制反射性眼动和头

部运动。如图 1-2 所示。

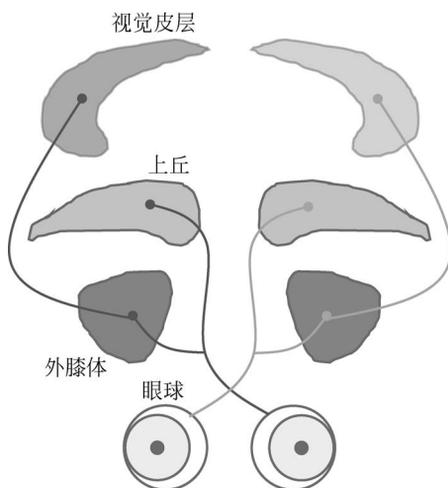


图 1-2 啮齿类动物的视觉感知系统

在阴影测试所引起的小鼠逃跑或冻结的恐惧反应中,头顶迫近的阴影刺激会激活位于小鼠浅层上丘的小清蛋白(parvalbumin,PV)阳性的神经元,上丘的 PV^+ 神经元会将这种视觉威胁信息传递到下游的二叠体旁核(parabigeminal nucleus, PBGN)和外侧丘脑后核(lateral posterior thalamic nucleus, LPTN),进而触发小鼠逃跑和冻结或者单纯冻结的恐惧防御反应^[4-5]。

1.3.1.3 听觉恐惧信号及其感知

动物也经常依靠它们的听觉系统来探测危险,尤其是夜间活动的物种。在习得性恐惧(conditioned or learned fear)的行为范式中,听觉系统被广泛用于引发防御反应。研究者将中性声音与足部电击联系起来,对小鼠进行多次训练后,仅靠声音信号就可以引起小鼠强烈的冻结反应^[20-21]。在某些条件下,特殊的听觉刺激本身也能诱发小鼠的先天性恐惧防御反应。例如,17~22 kHz 的超声波可以诱发小鼠的逃跑和冻结反应^[22]。

在哺乳动物中,位于耳蜗的螺旋神经节神经元(spiral ganglion neuron)接收听觉信息并将其轴突投射到位于脑干的背侧和腹侧耳蜗核(cochlear nucleus)。背侧耳蜗核中的投射神经元将信息直接传送到中脑对侧的下丘(inferior colliculus),或经由外侧丘系核中的中间神经元中介再到下丘。腹侧耳蜗核中的投射神经元将信息传到脑干中同侧和对侧的上橄榄

核(superior olivary nuclei),在此处来自左右耳的听觉信号首次被整合。上橄榄核神经元的投射也终止于下丘,后者是整合所有听觉信息的重要中枢。之后,听觉信息进一步从下丘传输到丘脑中的内侧膝状体核(medial geniculate nucleus),内侧膝状体核会投射到大脑皮质颞叶中的听皮质,形成丰富的听觉信息。如图 1-3 所示。

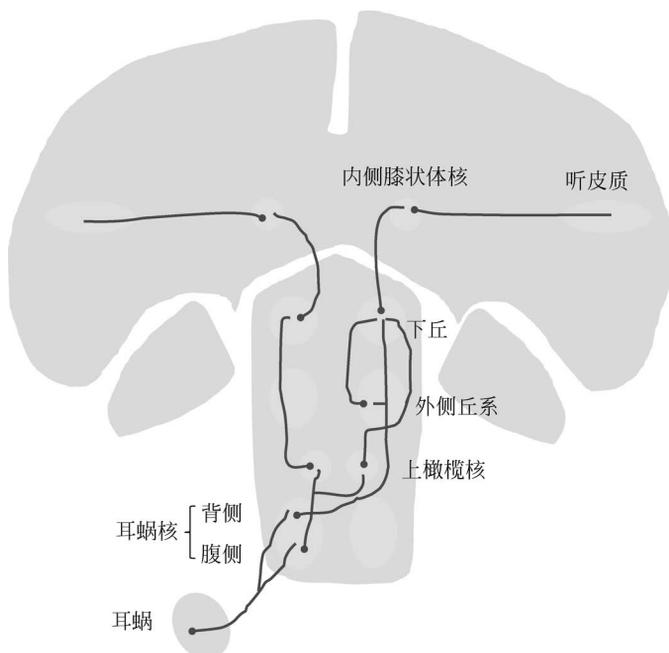


图 1-3 哺乳动物的听觉感知系统

目前,对声音诱发的先天性恐惧的神经环路研究较少,有研究发现 17~20 kHz 的超声波可以上调下丘区域(inferior colliculus)和背外侧的中脑导水管周围灰质(dorsolateral periaqueductal gray, dLPAG)的 c-fos 表达^[22]。还有研究报道了听觉皮层一下丘一背外侧的中脑导水管周围灰质的神经环路介导了小鼠对声音的逃跑反应^[23]。

1.3.1.4 体感恐惧信号及其感知

在所有感觉中,体感系统有着最大的感觉器官,包括所有的皮肤和肌肉。它响应的感觉刺激也丰富多样,包括机械、温度变化和化学刺激。从这些刺激中体感系统可以产生有关身体位置和运动的本体感觉(proprioception)、

有关环境温度的温度感觉(thermosensation)、不同形式的触碰以及痛觉(nociception)、痒觉(pruriception)和对体内器官的内感觉(interoception)。体感系统也是动物感知外在威胁的重要途径。例如,对兔子、大鼠和小鼠进行束缚刺激(restricted stress)可以引起体温降低,心率变缓的恐惧性反应^[8-9]。而伤害性的机械刺激则能直接激起小鼠的防御攻击行为^[24]。体感系统也能感知机体内在的威胁,如窒息时,体感系统通过位于颈动脉体的血氧和二氧化碳感受器来检测窒息的发生^[25],从而产生强烈的恐惧反应。

在脊椎动物对外的体感系统中,所有神经元的胞体都位于沿脊髓平行分布的背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)或脑干附近的三叉神经节(trigeminal ganglia)中,分别负责对身体和脸的感觉。每个感觉神经元只发出一条突起,该突起分叉后形成一条从皮肤或肌肉收集信息的外周轴突和一条将信号发送到脊髓或脑干的中枢轴突。在感觉神经元附近,由机械、热或化学刺激产生的受体电位被转化为动作电位,动作电位沿外周和中枢轴突将感觉信息传入中枢神经系统(CNS)。对外体感系统中的触觉和对痛、痒和温度的感觉分别由两条并行的神经上行通路传入大脑。

位于 DRG 感知触觉的本体感觉神经元通过脊髓中的背柱通路(dorsal column pathway)将上行分支发送到延髓(medulla),组成直接的背柱通路。脊髓中的背角投射神经元(dorsal horn projection neuron)接收 DRG 的本体感觉神经元的信号,并发出沿背柱通路上行的轴突,与直接通路中的轴突终止于延髓中的同一区域,组成间接背柱通路。位于延髓的神经元接收到来自直接通路和间接通路的体感信息后,将其轴突投射到对侧丘脑。丘脑神经元再以拓扑映像的方式将触觉信息转继到初级体感皮质,形成体感信息。

除背柱通路外,触觉信息还可由不同的背角投射神经元转继,形成上行的脊颈束通路(spino-cervical tract pathway)传入颈外侧核。再由颈外侧核将信息转继到对侧丘脑。如图 1-4 所示。

痛、痒和温度感觉主要由另一条上行通路介导。位于背角的投射神经元从感觉轴突接收输入,并将轴突发送到脊髓对侧,再沿对侧的前外侧柱通路(anterolateral column pathway)上行。一部分外侧柱通路的轴突终止于对侧丘脑,在此将信息转继到初级体感皮质,形成痛、痒和温度感觉的位置信息。另一部分外侧柱通路的轴突与脑干中的臂旁核(parabrachial nucleus, PB)形成突触连接,臂旁核再将痛觉信息转继到杏仁核和下丘脑,引起自主神经系统对痛觉刺激的反应。杏仁核还将痛觉信息发送到岛叶皮

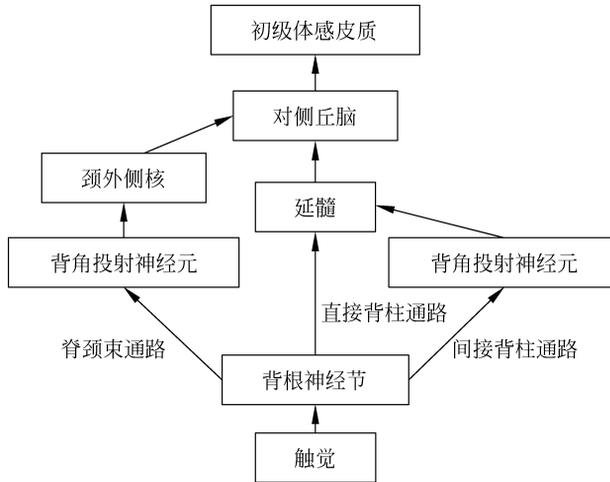


图 1-4 触觉信息的传递

质,引发痛觉的情感反应。前外侧柱通路在脑干中的另一目标是位于中脑的水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG),形成下行的痛觉信号。如图 1-5 所示。

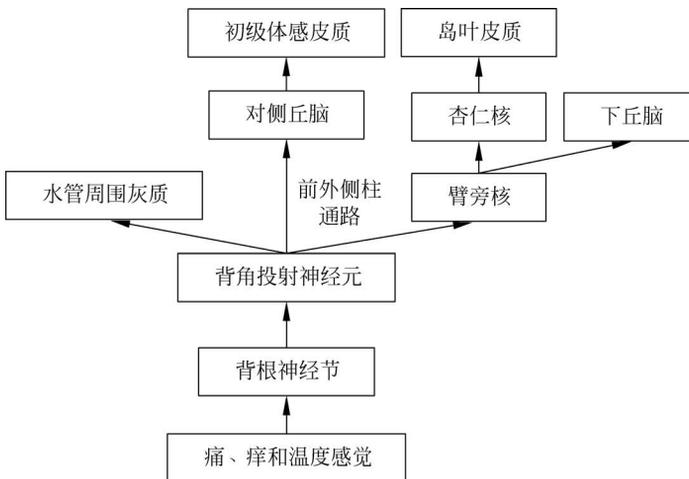


图 1-5 痛、痒和温度感觉信息的传递

对体内器官的内感觉主要由自主神经系统 (autonomic nervous system) 的三个分支——交感神经系统 (sympathetic system)、副交感神经