

综述

皮层5-羟色胺受体亚基3A阳性抑制性神经元：类型及功能的多样性

吴锦云^{1,*}, 刘宏志¹, 齐妍清¹, 吴晓阳¹, 陈扬¹, 吕江腾², 龚玲¹, 何苗^{1,*}

¹复旦大学脑科学研究院, 上海 200032; ²上海交通大学基础医学院, 上海 200025

摘要: 大脑皮层中存在三大类 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能抑制性神经元, 分别表达小清蛋白(parvalbumin, PV)、生长抑素(somatostatin, SOM)和5-羟色胺受体亚基3A (5-hydroxytryptamine receptor 3A, Htr3a)。其中Htr3a阳性(Htr3a⁺)神经元主要起源于尾侧神经节隆起(caudal ganglionic eminence, CGE), 包含基因表达、形态、电生理特性和环路连接等方面高度异质的多种亚型。本文从以上各方面对Htr3a⁺神经元的特性及其环路功能进行总结, 并介绍现有的研究Htr3a⁺神经元常用的小鼠工具。

关键词: 5-羟色胺受体亚基3A; GABA能抑制性神经元; 神经元异质性

中图分类号: Q189

Cortical 5-hydroxytryptamine receptor 3A (Htr3a) positive inhibitory neurons: diversity in type and function

WU Jin-Yun^{1,*}, LIU Hong-Zhi¹, QI Yan-Qing¹, WU Xiao-Yang¹, CHEN Yang¹, LYU Jiang-Teng², GONG Ling¹, HE Miao^{1,*}

¹*Institutes of Brain Science, Fudan University, Shanghai 200032, China;* ²*Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medical Sciences, Shanghai 200025, China*

Abstract: Cortical GABAergic inhibitory neurons are composed of three major classes, each expressing parvalbumin (PV), somatostatin (SOM) and 5-hydroxytryptamine receptor 3A (Htr3a), respectively. Htr3a⁺ inhibitory neurons are mainly derived from the caudal ganglionic eminence (CGE). This highly heterogeneous group of inhibitory neurons are comprised of many different subtypes with distinct molecular signatures, morphological and electrophysiological properties and connectivity patterns. In this review, we summarized recent research progress regarding cortical Htr3a⁺ inhibitory neurons, focusing on their molecular, morphological and electrophysiological diversity, and introduced some genetic mouse tools that were used to study Htr3a⁺ inhibitory neurons.

Key words: 5-hydroxytryptamine receptor 3A; GABAergic inhibitory neuron; neuron heterogeneity

大脑皮层中存在谷氨酸 (glutamate, Glu) 能兴奋性神经元和 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 能抑制性神经元两大类神经元, 兴奋和抑制的平衡对于皮层发挥正常功能至关重要。抑制性神经元虽

Received 2020-07-16 Accepted 2020-12-10

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFA0108000), the National Natural Science Foundation of China (No. 31970971, 31771196, 31471037) and Shanghai Commission of Health Youth Program (No. 2017YQ016), Shanghai Rising-Star Program (No. 18QA1400600), and Shanghai Municipal Science and Technology Major Project (No. 2018SHZDZX01) and ZJLab.

*Corresponding authors. HE Miao: Tel: +86-21-54237869, E-mail: hem@fudan.edu.cn; WU Jin-Yun: E-mail: 19211520004@fudan.edu.cn

然只占皮层神经元总数的 10%~20%，但功能非常重要。它们不仅建立 GABA 能抑制性突触连接，还能够释放多种神经肽，在神经环路发育、可塑性形成、神经网络活动调控等过程中具有不可或缺的作用^[1-3]。抑制性神经元的异常会导致癫痫、自闭症、精神分裂症等多种神经精神疾病^[4, 5]。抑制性神经元高度异质，可分为多种类型^[6]。不同类型在发育起源、基因表达、形态特征、电生理特性和环路连接模式等方面存在显著差异，在脑功能调控中也发挥不同的作用^[7]。

皮层的抑制性神经元主要起源于胚胎期腹侧皮质的内侧神经节隆起 (medial ganglionic eminence, MGE)、尾侧神经节隆起 (caudal ganglionic eminence, CGE) 和视前区 (preoptic area, POA)。其中，起源于 CGE 的抑制性神经元绝大多数表达 5-羟色胺受体亚基 3A (5-hydroxytryptamine receptor 3A, Htr3a)^[8, 9]。这类神经元与起源于 MGE、分别表达小清蛋白 (parvalbumin, PV) 和生长抑素 (somatostatin, SOM) 的神经元一起，共同构成了皮层的三大类抑制性神经元。相对于另两类神经元标记基因，Htr3a 作为皮层抑制性神经元的标记基因应用较晚，相关遗传工具较为有限，且本身异质性较高，因此对其研究尚待进一步深入。

本综述简单介绍 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 和 5-羟色胺 3 型 (5-HT₃) 受体，着重总结近年来在 Htr3a 阳性 (Htr3a⁺) 神经元的发育、形态、电生理、环路连接和功能等方面的研究进展，讨论其类型和功能异质性，并介绍现有的研究 Htr3a⁺ 神经元常用的小鼠工具，以期为未来的研究提供借鉴和思路。

1 5-HT和5-HT₃型受体

5-HT (又名血清素) 是一种重要的单胺类神经递质^[10]，在神经发育过程中起着重要作用^[11]，并且参与调控情绪、认知、食欲等多种生理活动^[12, 13]。脑内 5-HT 含量的异常可以导致抑郁、焦虑、精神分裂症、自闭症等多种神经精神疾病^[13, 14]。

分泌 5-HT 的神经元主要位于脑干的中缝核中，其轴突投射到皮层、海马、丘脑、小脑以及脊髓等多个不同的区域^[15]。5-HT 以色氨酸为底物，经色氨酸羟化酶羟甲基化及 L-芳香族氨基酸脱羧酶脱羧两步反应合成^[13]。5-HT 与突触前膜或后膜上表达的不同类型 5-HT 受体结合，可兴奋或抑制神经元^[16]。

在哺乳动物中，共存在 7 种 5-HT 受体。其中，仅 5-HT₃ 型受体是配体门控型离子通道受体，主要通透钠离子、钾离子及少量钙离子^[17]，开放后会导致神经元去极化。其他 6 种 5-HT 受体均为代谢型 G 蛋白耦联受体^[18-20]。5-HT₃ 型受体属于半胱氨酸-环受体家族，最早在外周神经系统被发现。因为对吗啡有响应，这种受体一开始被命名为 M 型受体^[21, 22]。它在突触前和突触后均有表达^[23]。5-HT₃ 型受体的激活可以调控多巴胺、GABA、乙酰胆碱等多种神经递质的释放^[16, 19, 20]，5-HT₃ 型受体缺失会阻碍 NMDA 受体介导的长时程抑制的形成和 AMPA 受体的内化 (internalization)^[24]。

5-HT₃ 型受体是由 5 个亚基组成的五聚体^[19]。目前发现了 5 种不同的 5-HT₃ 型受体亚基，但在啮齿动物中只存在 3A 和 3B 两种亚基^[25]。3A 亚基是 5-HT₃ 型受体行使功能所必须的一个亚基^[26]。一个 5-HT₃ 型受体可以由 5 个 3A 亚基组成同源受体，也可以由 3A 亚基和 3B 亚基组合形成异构受体。含有 3B 亚基的受体单通道电导增加，钙离子通透性降低^[11]。

5-HT₃ 型受体在中枢和外周神经系统中均有分布。在中枢，5-HT₃ 型受体主要分布于皮层、海马、伏隔核、黑质和腹侧被盖区，在脑干中与呕吐反射有关的延髓最后区和孤束核分布尤为丰富^[19]。在皮层，5-HT₃ 型受体主要表达于 CGE 起源的抑制性神经元中。当这类神经元迁移进入皮层时，5-HT₃ 型受体表达上调，并且激活受体会促进神经元迁移，敲除受体则会导致神经元在皮层中异位分布，提示该受体在皮层神经环路的发育形成中起到重要作用^[27]。在成熟后的神经环路中，该受体也起到重要作用。在海马中，该受体的激活抑制并去同步化 Htr3a⁺ 神经元，导致下游的 PV⁺ 神经元接受的抑制性输入减少，进而影响投射神经元的同步化和 γ 振荡^[28]。在外周，5-HT₃ 型受体存在于神经节以及肠肌丛中^[29]，对于调控胃肠道信息传递、胃肠蠕动^[30] 以及维持泌尿道正常生理功能等交感和副交感神经功能具有重要作用。另外还有研究表明，Htr3a 基因突变可能会增加自闭症的患病几率^[31, 32]。

临床上有多种药物以 5-HT₃ 型受体作为靶点。阿洛司琼 (Alosetron) 被用于治疗肠易激综合征，托烷司琼 (Tropisetron)、昂丹司琼 (Ondansetron) 被用于缓解癌症患者放、化疗后出现的呕吐症状^[19]。也有研究认为该受体是治疗双相情感障碍^[19] 和抑郁症的潜在靶点^[33]。最近还有研究提示激活 5-HT₃ 型

受体可以抑制癫痫发作^[34], 但相关研究目前还处于动物实验的阶段。

2 Htr3a⁺神经元的特性

如前所述, Htr3a⁺神经元、PV⁺神经元和SOM⁺神经元是皮层的三大类抑制性神经元。其中, Htr3a⁺神经元约占30%^[9, 35], PV⁺神经元约占40%, SOM⁺神经元约占30%。Htr3a⁺神经元主要分布在皮层浅层(I~III层), 在深层(IV~VI层)分布相对较少^[9], 而PV⁺神经元主要分布在皮层IV~V层, SOM⁺神经元主要分布在皮层IV~VI层^[36]。最初研究认为所有皮层和海马的Htr3a⁺神经元均产生于CGE^[9, 37], 但后续研究发现也有少量Htr3a⁺神经元可能来自MGE^[38]。PV⁺神经元和SOM⁺神经元均产生于MGE^[39], 并且较Htr3a⁺神经元产生更早^[1, 40]。

除了抑制性神经元, 也有部分兴奋性神经元表达Htr3a, 例如出生后14天之前短暂存在于皮层I层的Cajal-Retzius细胞^[41]。在成熟的皮层中, 目前的研究认为所有表达Htr3a的神经元均为GABA能抑制性神经元, 下面的介绍也将仅聚焦于这类神经元。这类神经元在形态、电生理和标记基因表达方面仍然具有极高的异质性, 可以分为多种亚型。

2.1 Htr3a⁺神经元的发育起源

在空间起源方面, Lee等人利用Htr3a-BAC^{EGFP}小鼠遗传标记Htr3a⁺神经元, 在胚胎期观察到这类神经元起源于CGE区域^[9, 42]。他们还借助Nkx2.1基因在MGE及POA区域中的特异性表达, 利用Nkx2.1-BAC^{Cre}进行命运追踪, 发现MGE和POA起源的皮层神经元不表达GFP, 排除了Htr3a⁺神经元起源于MGE或POA的可能性。同时, 他们也利用Mash1-BAC^{CreER}小鼠对CGE起源的神经元进行命运追踪, 发现它们能够表达GFP, 进一步验证了Htr3a⁺神经元起源于CGE^[9](图1)。

在时间起源方面, Vucurovic等人利用5-溴脱氧尿核苷(5-bromo-2'-deoxyuridine, BrdU)标记增殖细胞, 发现皮层中Htr3a⁺神经元的产生起始于胚胎期(embryonic, E)12.5天, 一直延续到E16.5, 高峰为E13.5~14.5^[42]。

过去研究表明, 海马与皮层中表达同种标记基因的抑制性神经元通常具有相同的发育起源^[8]。因此, 当Chittajallu等人在海马发现和SOM共标的Htr3a⁺神经元时, 认为它们也起源于CGE^[37]。但是, Asgarian等人对此提出了质疑。首先, 他们指出

Chittajallu等人使用的Nkx2.1-BAC^{Cre}小鼠不能标记MGE背侧区域, 因此对MGE起源细胞标记不全^[38]。其次, 他们还指出Mash1-BAC^{CreER}小鼠对CGE的标记效率取决于他莫昔芬的给药次数、给药量, 甚至小鼠的遗传背景, 结果并不稳定。最后, 他们利用Nkx6.2-Cre标记MGE背侧及POA区域的神经干细胞, 利用Shh-Cre标记POA区域的神经干细胞, 结合Nkx2.1-Cre小鼠对海马中的Htr3a⁺-SOM⁺神经元进行了更为精准的命运追踪, 证明了它们实际上来源于MGE区域^[38]。在Lee等的研究中曾报道皮层中也存在少量共表达SOM的Htr3a⁺神经元^[9], 这部分神经元是否也来自于MGE尚待进一步证明。

Munoz-Manchado等人还在纹状体中发现了Htr3a⁺神经元, 并且其中一部分共表达PV^[43]。过去研究认为纹状体抑制性神经元全部起源于MGE^[44], 但当时尚未在纹状体发现Htr3a⁺神经元。因此, 纹状体中的Htr3a⁺神经元是来源于MGE还是CGE也有待进一步研究。

2.2 Htr3a⁺神经元高度异质

皮层Htr3a⁺神经元表达血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、Reelin(RLN)、神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)、钙结合蛋白(calretinin, CR)等多种其他标记基因^[9]。共表达不同标记基因的Htr3a⁺神经元在皮层中的分布、细胞形态、电生理特征等方面也不尽相同。

表达VIP的神经元几乎全部来自于CGE且表达Htr3a^[3], 因此根据VIP表达与否, 可将Htr3a⁺神经元分为两大类: Htr3a⁺VIP⁺神经元和Htr3a⁺VIP⁻神经元^[6, 35, 42], 目前对前者的研究比后者更为深入(图2)。

2.2.1 Htr3a⁺VIP⁺神经元

VIP是一种神经肽, 与受体结合后引发胞内环磷酸腺苷浓度升高, 进而激活下游转录因子和离子通道, 主要的功能是促进血管扩张、肝糖分解和糖合成。它在中枢神经系统的发育过程中起到保护和营养神经的作用, 并且可以介导神经元与胶质细胞、血管之间的信息交流, 以维持大脑的能量供给^[45]。

VIP⁺神经元的胞体主要分布在皮层II/III层, 在其余层分布较少^[45, 46]。大多数VIP⁺神经元的胞体为椭圆形, 呈纵向朝向。II/III层VIP⁺神经元的树突局限在皮层浅层, 轴突延伸至皮层深层; IV/VI层的VIP⁺神经元与其相反, 树突在皮层深、浅层都有分布, 而轴突局限在深层^[35, 46]。

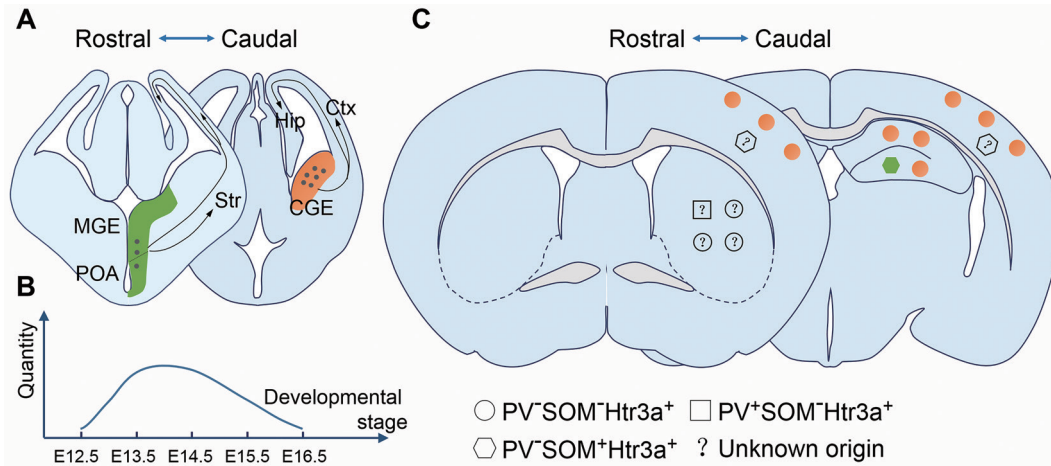


图 1. Htr3a⁺神经元的发育起源

Fig. 1. Developmental origin of Htr3a⁺ inhibitory neurons. *A*: Migratory routes of Htr3a⁺ inhibitory neurons in embryonic mouse brain. *B*: Temporal profile of Htr3a⁺ inhibitory neuron production. *C*: Developmental origin of cortical, striatal and hippocampal Htr3a⁺ inhibitory neurons. Str: striatum; Hip: hippocampus; Ctx: cortex; MGE: medial ganglionic eminence; POA: preoptic area; CGE: caudal ganglionic eminence; PV: parvalbumin; SOM: somatostatin; Htr3a: 5-hydroxytryptamine receptor 3A. White: ventricle; Gray: corpus callosum and anterior commissure; Green: MGE and POA; Orange: CGE.

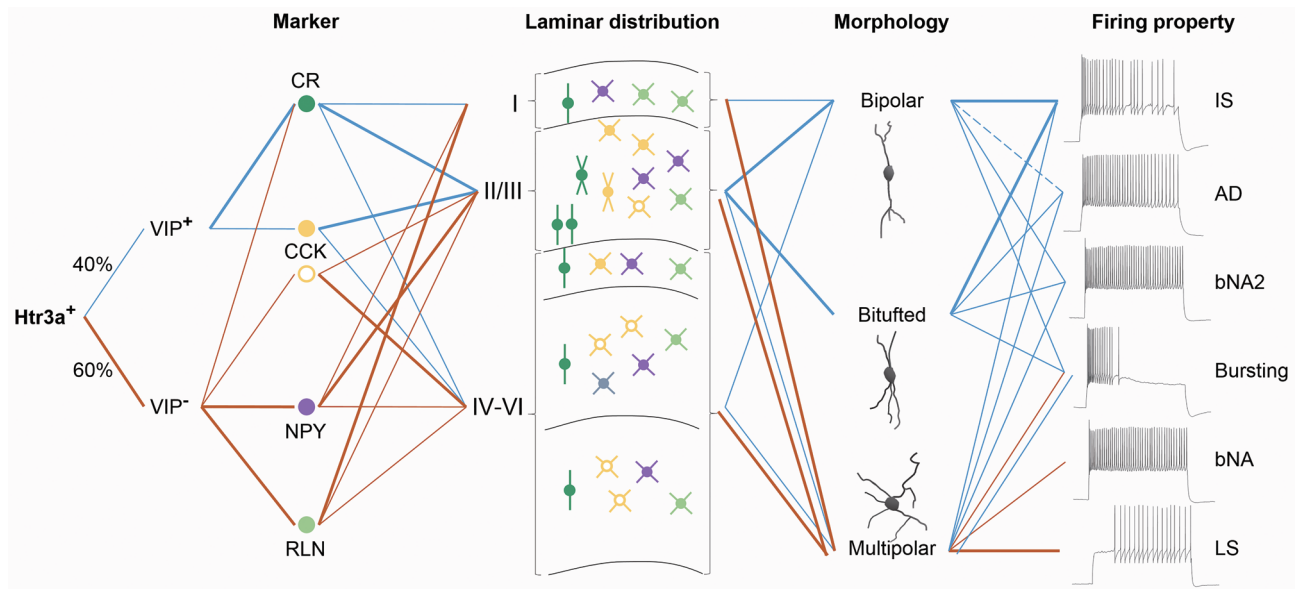


图 2. 高度异质的皮层Htr3a⁺神经元

Fig. 2. Heterogeneity of cortical Htr3a⁺ inhibitory neurons. Htr3a⁺ inhibitory neurons can be divided into two classes according to whether they express vasoactive intestinal peptide (VIP). Each class contains several subtypes with different marker genes, cortical distributions, morphology and electrophysiological properties. Blue lines: Htr3a⁺VIP⁺ inhibitory neurons; Orange lines: Htr3a⁺VIP⁻ inhibitory neurons. Thicker lines indicate stronger correlations. Number of cells in different cortical layers indicates relative density. bNA inhibitory neurons and bNA2 inhibitory neurons have similar firing property except bNA inhibitory neurons form a hump when receiving near threshold current injection. CR: calretinin; CCK: cholecystokinin; NPY: neuropeptide Y; RLN: Reelin; IS: irregular spiking; AD: adapting; bNA2: bursting nonadapting 2; bNA: bursting nonadapting; LS: late spiking.

除 VIP 之外，VIP⁺ 神经元还表达多种其他标记基因，例如 CR、CCK 和胆碱乙酰转移酶 (choline

acetyltransferase, ChAT)。VIP⁺CR⁺ 神经元约占 VIP⁺ 神经元的 40%，主要分布在皮层 II/III 层的深部，树

突呈现为双极 (bipolar) 或双簇 (bitufted) 形态^[47, 48] (图 2)。VIP⁺ChAT⁺ 神经元约占 VIP⁺ 神经元的 20%, 为双极或双簇细胞形态^[49], 可能是 VIP⁺CR⁺ 神经元的亚型。VIP⁺CCK⁺ 主要分布在 II 层, 具有多极细胞形态^[47]。因为它们胞体较小, 轴突在下游神经元的胞体上建立多个突触, 构成形似篮状的结构, 这类神经元也被称为小篮状细胞^[50]。

在视觉皮层中, 有研究发现少量 VIP⁺ 神经元与 SOM 共标^[51], 但这部分神经元是否来源于 CGE、是否表达 Htr3a 尚属未知。这类细胞目前在其他皮层分区中尚未见报道, 提示不同皮层区域 VIP⁺ 神经元的基因表达存在差异。值得注意的是, 近期有文章指出皮层 II/III 层的 VIP⁺ 细胞只有约一半能产生 5-HT₃ 型受体介导的离子流动^[52], 这对认为 VIP⁺ 神经元是 Htr3a⁺ 神经元的一种亚型的主流观点提出了挑战。

所有的 VIP⁺ 神经元都有很高的输入电阻, 这导致了 VIP⁺ 神经元对刺激非常敏感。浅层 (II/III 层) 和深层的 VIP⁺ 神经元在被动膜特性上存在一定差异: 浅层的 VIP⁺ 神经元相较于深层 VIP⁺ 神经元静息电位更高, 并且快速整流 (fast rectification) 更少^[46]。

VIP⁺ 神经元根据放电模式主要分为五类: 不规则放电型 (irregular spiking, IS)、适应型 (adapting, AD)、簇状放电型 (bursting)、簇状放电非适应 2 型 (bursting nonadapting 2, bNA2) 和延迟非快速放电 3 型 (delayed non-fast-spiking 3, dNFS3)。后两类 VIP 神经元数量较为稀少。

IS 神经元主要表达 CR^[3, 45], 主要分布于皮层 II/III 层, 多呈现为双极或双簇细胞形态。当给予接近阈值的电流时, IS 神经元的动作电位在不规律的时间点发放; 在给予超过阈值电流的刺激时, 这类神经元呈现出重复放电的放电模式 (repetitive firing pattern), 并具有放电频率 (spike frequency) 适应和单调振幅 (monotonic amplitude) 适应^[3]。

AD 神经元不表达 CR, 主要分布于皮层 II/III 层, 多呈现为双簇或多极的细胞形态, 轴突延伸至皮层深层。这类神经元包括快速适应型 (fast-adapting, FAD) 和连续适应型 (continuous adapting) 两个亚型。500 ms 的超阈值钳制电流刺激下, FAD 神经元仅在开始阶段发放一串动作电位, 后续不再放电。连续适应型神经元则在电流注入的整个过程中一直放电, 并且放电频率逐渐降低^[40, 46]。

簇状放电型神经元所表达的其他标记基因目前

尚无报道^[45, 53]。它们主要分布于皮层浅层^[46, 52], 形态为双极、双簇或多极。这类细胞在接受基强度的刺激时表现为簇状放电, 但在接受超阈值刺激时会转换成紧张性放电 (tonic)^[52]。

bNA2 神经元表达 CR, 主要分布位置目前尚无报道, 多呈现为双极形态^[9]。这类神经元在放电初始阶段短时间内发放 2~3 个动作电位, 一段时间后则以一定频率规律持续发放^[3]。

dNFS3 神经元所表达的其他标记基因、主要分布位置目前尚无报道。它们的轴突主干从胞体顶端上升后形成向下走形的轴突分支, 形似拱形^[3, 40, 54]。这类神经元在给予阈值电流刺激时动作电位延迟发放; 在给予更高的去极化电流刺激时, 会出现后超极化电位 (afterhyperpolarizations, AHP), 之后规则放电并呈现出单调频率适应^[3, 40]。

在环路输入方面, VIP⁺ 神经元是接受丘脑及皮层其他脑区长距离输入的主要抑制性神经元, 所接受的这类输入多于 PV⁺ 和 SOM⁺ 神经元^[45, 55]。在局部皮层, II/III 层中 AD 和 IS 类型的 VIP⁺ 神经元接受大量 IV~V 层兴奋性输入, 也接受 PV⁺ 神经元和 SOM⁺ 神经元的抑制性输入。在环路输出方面, 多项研究发现皮层 II/III 层的 VIP⁺ 神经元倾向于和 SOM⁺ 神经元建立突触连接, 抑制 SOM⁺ 神经元活性, 进而去抑制 SOM⁺ 神经元所调控的投射神经元, 对投射神经元的直接输出则相对较少^[56-58]。与此一致, Yetman 等人利用狂犬病毒逆行跨单突触示踪系统标记感觉皮层中与浅层投射神经元建立直接突触连接的 VIP⁺ 神经元, 也发现标记到的细胞数量很少, 且主要分布在 II/III 层, 胞体较小, 部分具有篮状细胞的结构^[59]。V 层的 VIP⁺ 神经元主要在 GABA 能抑制性神经元的树突上建立突触^[45]。

VIP⁺ 神经元的去抑制特性在感觉和运动相关的多个脑区的信息处理中发挥重要作用^[57, 60, 61], 尤其在感觉和运动系统的信息交互中占有重要地位。动物的躯体运动可以激活位于视觉皮层的 VIP⁺ 神经元, 进而增强动物对于视觉刺激的反应^[62]。来自运动皮层的兴奋输入可以激活感觉皮层的 VIP⁺ 神经元, 进而影响感觉信息的处理^[56]。VIP⁺ 神经元也在运动状态对听觉皮层的影响中发挥调控作用^[63]。激活前额叶皮层的 VIP⁺ 神经元有助于记忆的维持^[64]。VIP⁺ 神经元的功能异常可导致皮层对感觉刺激的反应减弱^[65]。

但是, 2017 年的一项研究发现额叶中的 VIP⁺

神经元对下游大部分投射神经元产生了直接抑制^[66]。但该研究也同时指出这种直接抑制的强度在不同皮层分区存在差异,在额叶中最强,在枕叶中最弱。这类直接抑制是否在所有皮层分区中都普遍存在、去抑制连接在环路中所行使的功能等问题尚待进一步研究。

2.2.2 Htr3a⁺VIP⁻神经元

Htr3a⁺VIP⁻神经元占 Htr3a⁺神经元的 60%, 主要分布在皮层 I 层, 占此层神经元的 90%。这类神经元大多数共表达 RLN 和 / 或 NPY, 少数表达 CCK 或 CR^[3, 9, 35]。

Htr3a⁺RLN⁺神经元参与出生后早期躯体感觉的形成^[67], Htr3a⁺NPY⁺神经元通过释放 NPY 引起血管收缩, 影响大脑血液流动^[68]。大部分 Htr3a⁺RLN⁺神经元和 Htr3a⁺NPY⁺神经元是神经胶质样细胞 (neurogliaform cell, NGFC)^[3, 42]。NGFC 有着典型的多极形态特征: 胞体较小, 树突和轴突呈放射状, 树突相对较短^[57]。

在皮层 I 层的 NGFC 约占此层所有神经元的 1/3, 通常具有平行于皮层表面、跨越多个功能柱的轴突, 因此被称为延长型 NGFC (elongated neurogliaform cell, ENGFC)。ENGFC 不表达 NPY, 通常有宽而深的 AHP, 可以和大范围的位于 I 层的投射神经元树突建立连接, 抑制多个功能柱的投射神经元活性^[48]。激活 ENGFC 可以同步化 II/III 层抑制性神经元的放电, 进而增强它们对 V 层投射神经元的抑制^[57, 69]。位于 V 层的 NGFC 的轴突垂直于皮层表面方向延长, 但电生理特性和 ENGFC 相似^[48]。

NGFC 主要的放电模式是延迟放电 (late spiking, LS) 1 型: 在电流钳实验中给予阈值电流注入, 在动作电位发放前有一段长的延迟^[40]。NGFC 的一个显著特征是在不建立突触的情况下通过容积传递释放 GABA, 同时激活周围神经元上的离子通道型 GABA_A 受体和代谢型的 GABA_B 受体^[70], 使其产生缓慢的长时程抑制性突触后电位^[71, 72], 因此它们也被称为总控 (master regulator)^[48]。NGFC 的这一特征使它们在突触发育、神经元成熟过程中发挥重要作用^[73]。但也有研究发现感觉皮层 IV 层的 NGFC 可以选择性地减弱 PV⁺ 神经元对丘脑输入的前馈抑制, 而不影响来自丘脑的信息输入本身^[73, 74]。另外, NGFC 也可以和其他类型的抑制性神经元建立电突触连接^[3]。这些特性提示 NGFC 在信息处理过程中发挥多种功能。

Htr3a⁺RLN⁺神经元中除了 LS1 型 NGFC, 还包含 LS2 型, 两者在放电模式和形态上均存在显著差异: 前者被注入能够诱发 3~5 个动作电位的阈上电流时, 动作电位的发放仍有延迟, 而后者不再有延迟; 前者胞体较小、树突细短、轴突丛致密, 而后者胞体较大、树突更粗长但分支较少^[3]。

Htr3a⁺RLN⁺神经元中还存在着一种簇状放电非适应型 (bursting nonadapting, bNA), 主要分布在 I 层和 I/II 层的分界处, 形态为多极。bNA 神经元和 VIP⁺ bNA2 型神经元有着相似的放电模式, 但前者在接受接近阈值电流的刺激时有一个比平衡电压基线略高的矮峰, 后者则没有^[3, 40]。

Htr3a⁺VIP⁻CCK⁺神经元具有大篮状细胞的形态, 主要分布在皮层 V~VI 层, 胞体比 VIP⁺CCK⁺小篮状细胞更大, 树突和轴突的覆盖范围也更大^[6]。它们具有多极状、分支众多的树突, 轴突主要与投射神经元的胞体建立突触连接。这类神经元的放电模式主要为规律 (Regular) 型或 Bursting 型^[35]。

另外还有一类研究较少的 Htr3a⁺VIP⁻亚型: 单束细胞 (single bouquet cell, SBC)^[35]。SBC 特异表达的其他标记基因目前尚无报道。SBC 的胞体分布在皮层 I 层, 轴突呈纵向朝向, 大部分局限在浅层, 也有一些延伸到 V 层。SBC 的主要放电模式是非延迟放电适应型, 具有后去极化电位 (afterdepolarization, ADP)^[48]。它们通过抑制同一个功能柱中 II/III 层内的各类抑制性神经元去抑制 V 层投射神经元^[69]。此外, 它们还能与 II/III 层投射神经元建立电突触连接^[57]。

综上所述, 各种 Htr3a⁺神经元亚型的电生理特性、形态、基因表达和环路连接模式等各项特性之间虽然存在一定的相关性, 但并非一一对应。表达同一种标记基因的神经元可能具备多种不同的电生理特性和形态, 同一种形态的神经元也可能存在多种放电模式并表达多种不同的标记基因。此外, 这些特性在发育过程中存在动态变化^[48, 57], 进一步提升了分型的复杂性和困难程度。

3 Htr3a⁺神经元相关的小鼠工具(表1)

相比于 PV⁺ 和 SOM⁺ 神经元, Htr3a⁺ 神经元相关遗传工具的发展相对滞后, 利用这些工具开展的功能研究也较少。目前用于标记 Htr3a⁺ 神经元的小鼠工具主要是两个 BAC 转基因小鼠品系: Htr3a-BAC^{EGFP}^[75] 和 Htr3a-BAC^{Cre}^[76]。Htr3a-BAC^{EGFP} 由 Hannah

表1. 现存Htr3a⁺神经元相关工具小鼠及其应用Table 1. Existing transgenic mouse lines targeting Htr3a⁺ inhibitory neurons and their applications

Transgenic mouse lines	Jax number	Developed by	Applications
Htr3a-BAC ^{EGFP}	Not available	Hannah Monyer Lab ^[75]	Label Htr3a ⁺ neurons to trace their lineage ^[9, 37, 42] , characterize their gene expression ^[9, 37, 42, 43] , and record their firing properties ^[9, 37, 42, 43] .
Htr3a-BAC ^{cre}	Not available	Nathaniel Heintz Lab ^[76]	Knockout transcription factor Lhx6 to study its role in neuronal apoptosis ^[77] . Knockout NMDA receptor to study its role in somatosensory function ^[67] and circuit integration ^[79] . Calcium imaging ^[67] and voltage imaging ^[78] to study the role of layer I inhibitory neurons in sensory processing.
Htr3a-flpo	030755	Bernardo Rudy Lab ^[80]	Identify layer I inhibitory neuron subtype ^[80] .
Htr3a KO	005251	Allan Basbaum Lab ^[81]	Knockout 5-HT ₃ receptor to study its role in neuron migration ^[27] , dendritic formation ^[82] , anxiety disorders ^[83, 86] , social behavior ^[84] , fear extinction ^[85] and hypothalamic-pituitary-adrenal activity ^[86] .

Monyer 实验室制作^[75], 由 Lee 等通过原位杂交实验验证特异性^[9], 并被 Lee、Chittajallu、Vucurovic 等用于荧光标记 Htr3a⁺ 神经元, 从而追踪其发育起源, 检测其基因表达和电生理特性^[9, 37, 42, 43]。Htr3a-BAC^{cre} 由 Nathaniel Heintz 实验室制作^[76], 标记特异性尚未被严格验证, 但已被用于在 Htr3a⁺ 神经元中进行基因敲除和钙成像等实验。Denaxa 等利用该品系小鼠条件敲除发育过程中的重要转录因子 Lhx6, 发现 Lhx6 的缺失可导致皮层 CGE 起源的抑制性神经元在发育过程中自噬减少, 以代偿失去存活能力的 MGE 起源的抑制性神经元^[77]。Che 等利用该品系小鼠在 Htr3a⁺ 神经元中表达钙敏蛋白 Gcamp6, 观察皮层 I 层中 Htr3a⁺ 神经元的活性变化, 发现它们在出生后第 6 天时有很强同步钙活动, 之后同步钙活动随着丘脑信息输入的减少而降低。更进一步, Che 等利用该品系小鼠条件敲除主要表达于 Htr3a⁺RLN⁺ 神经元中的 NMDA 受体, 干扰来自丘脑的信息输入, 发现会导致感觉系统的发育及功能异常^[67]。Fan 等人利用该品系小鼠在 Htr3a⁺ 神经元中表达电压指示剂 SomArchon, 结合全息结构照明成像系统, 发现皮层 I 层微环路的侧向抑制 (lateral inhibition) 在神经网络处理感觉信息及神经调质信息输入过程中发挥重要作用^[78]。Chittajallu 等人同样利用该品系小鼠条件敲除海马 NGFC 中的 NMDA 受体, 发现会导致突触功能异常^[79]。此外, Bernardo Rudy 实验室还制作了 Htr3a-flpo 的小鼠品系, 他们试图用其与其他 Cre 品系组合标记 I 层神经元亚型, 但由于所标记到的细胞类型并不特异, 未在论文中发表具体数据^[80]。

除上述品系之外, Htr3a 敲除小鼠模型^[81] 也被用于研究 5-HT₃ 型受体在 Htr3a⁺ 神经元中的功能。如前所述, 5-HT₃ 型受体调控皮层 Htr3a⁺ 神经元的迁移^[27] 和 Htr3a⁺ 神经元的同步化。还有研究发现 5-HT₃ 型受体的缺失会增加皮层投射神经元顶树突的复杂程度^[82], 使小鼠产生抗焦虑样表型^[83], 使小鼠社交行为受损^[84], 阻碍恐惧记忆的消除^[85], 以及阻碍急性应激时下丘脑-垂体-肾上腺轴的响应^[86]。

4 讨论

本综述主要总结了 Htr3a⁺ 神经元的各项特性, 并对与之相关的 5-HT、5-HT₃ 型受体以及现有的小鼠工具进行了介绍。目前对 Htr3a⁺ 神经元的了解尚浅, 在很多方面存在值得进一步研究的问题。

在细胞特性方面, 除了 5-HT₃ 型受体, 2002 年 Ferezou 等人发现 Htr3a⁺ 神经元也表达烟酰胺乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)^[87]。之后 Lee 等人用电生理的方法确认了除了 5-HT, 乙酰胆碱也可以通过 nAChR 引起 Htr3a⁺ 神经元兴奋, 并且所记录的每一个 Htr3a⁺ 神经元都能被乙酰胆碱兴奋, 说明这两种受体的确同时在同一个神经元中存在, 提示 Htr3a⁺ 神经元可以被这两类神经调质同时调控, 但其生理功能尚待进一步研究^[9]。另外, Yakel 等人发现 Htr3a 亚基可以和烟碱 $\alpha 4$ 亚基共组装形成对 5-HT 有响应的受体^[88, 89]。Sudweeks 等人在大鼠海马的实验中证明了这种受体在生理状况下也存在^[90]。这类共组装受体存在的生理意义还

不清楚。除了在啮齿动物中存在的 A 亚基和 B 亚基, 人脑中还存在 C、D、E 三种 5-HT 受体的亚基^[19]。这三种亚基的功能也还尚待研究。

在细胞分型方面, 目前对 Htr3a⁺VIP⁻ 神经元的认识还比较匮乏, Htr3a⁺VIP⁻ 神经元的主要分子标签 RLN、NPY 和 CCK 并不能够实现对这部分神经元 100% 的标记。POA 起源的 Htr3a⁺ 神经元同样被认为是一类缺乏分子标签的神经元^[9]。并且目前的分子标签相互之间存在部分重叠, 例如表达 RLN 的部分神经元也表达 NPY, 这对 Htr3a⁺ 神经元精确分型造成了困扰。另外, RLN 和 CR 也标记大量 Htr3a⁻SOM⁺ 神经元^[40]。是否有新的分子标签能够对目前的分型方式进行补充, 或是替代现有的分型方法, 还需要进一步研究和探索。除皮层外, Chittajallu 等人利用 Htr3a-BAC^{EGFP} 小鼠对海马的 Htr3a⁺ 神经元进行了分型。他们发现 CA1 区域约 40% 的 Htr3a⁺ 神经元表达 RLN, 约 20% 表达 CR。表达 CCK、SOM、VIP 的 Htr3a⁺ 神经元各占总 Htr3a⁺ 神经元的 10%^[37]。但近期 Harris 和 Winterer 等人的单细胞测序结果显示, 海马 CA1 区域没有或少有 Htr3a mRNA 的表达^[91, 92]。Winterer 等人认为造成这种差异的原因是 Htr3a 基因的瞬时表达^[92]。海马中 Htr3a⁺ 神经元的表达、分型及其功能还需进一步研究。

在功能方面, 虽然现在对于 VIP⁺ 神经元和 NGFC 有了相对细致的研究, 但是针对其他亚型的 Htr3a⁺ 神经元的功能学研究还比较缺乏。虽然 Htr3a⁺ 神经元具有高度的异质性, 但它们都受到 5-HT 的调控, 5-HT 的调控是否会使这一类神经元发挥某种协同效应, Htr3a⁺ 神经元的功能异常是否参与某些疾病的发生与发展, 这些问题都还有待回答。

参考文献

- Butt SJ, Stacey JA, Teramoto Y, Vagnoni C. A role for GABAergic interneuron diversity in circuit development and plasticity of the neonatal cerebral cortex. *Curr Opin Neurobiol* 2017; 43: 149–155.
- Oh WC, Lutz S, Castillo PE, Kwon HB. *De novo* synaptogenesis induced by GABA in the developing mouse cortex. *Science* 2016; 353(6303): 1037–1040.
- Rudy B, Fishell G, Lee S, Hjerling-Leffler J. Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons. *Dev Neurobiol* 2011; 71(1): 45–61.
- Gonzalez-Burgos G, Lewis DA. GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Bull* 2008; 34(5): 944–961.
- Levitt P, Eagleson KL, Powell EM. Regulation of neocortical interneuron development and the implications for neurodevelopmental disorders. *Trends Neurosci* 2004; 27(7): 400–406.
- Lim L, Mi D, Llorca A, Marin O. Development and functional diversification of cortical interneurons. *Neuron* 2018; 100(2): 294–313.
- Kepecs A, Fishell G. Interneuron cell types are fit to function. *Nature* 2014; 505(7483): 318–326.
- Pelkey KA, Chittajallu R, Craig MT, Tricoire L, Wester JC, McBain CJ. Hippocampal GABAergic inhibitory interneurons. *Physiol Rev* 2017; 97(4): 1619–1747.
- Lee S, Hjerling-Leffler J, Zagha E, Fishell G, Rudy B. The largest group of superficial neocortical GABAergic interneurons expresses ionotropic serotonin receptors. *J Neurosci* 2010; 30(50): 16796–16808.
- Brodie BB, Shore PA. A concept for a role of serotonin and norepinephrine as chemical mediators in the brain. *Ann N Y Acad Sci* 1957; 66(3): 631–642.
- Engel M, Smidt MP, van Hooft JA. The serotonin 5-HT₃ receptor: a novel neurodevelopmental target. *Front Cell Neurosci* 2013; 7: 76.
- Cléry-Melin ML, Jollant F, Gorwood P. Reward systems and cognitions in Major Depressive Disorder. *CNS Spectr* 2019; 24(1): 64–77.
- Mohammad-Zadeh LF, Moses L, Gwaltney-Brant SM. Serotonin: a review. *J Vet Pharmacol Ther* 2008; 31(3): 187–199.
- Cortes-Altamirano JL, Olmos-Hernandez A, Jaime HB, Carrillo-Mora P, Bandala C, Reyes-Long S, Alfaro-Rodriguez A. Review: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ and 5-HT₇ receptors and their role in the modulation of pain response in the central nervous system. *Curr Neuropharmacol* 2018; 16(2): 210–221.
- Dahlstroem A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol Scand Suppl* 1964; SUPPL 232: 1–55.
- Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 1999; 38(8): 1083–1152.
- Maricq AV, Peterson AS, Brake AJ, Myers RM, Julius D. Primary structure and functional expression of the 5HT₃ receptor, a serotonin-gated ion channel. *Science* 1991; 254(5030): 432–437.
- Derkach V, Surprenant A, North RA. 5-HT₃ receptors are membrane ion channels. *Nature* 1989; 339(6227): 706–709.
- Lummis SC. 5-HT₃ receptors. *J Biol Chem* 2012; 287(48): 40239–40245.

- 20 Thompson AJ, Lummis SC. 5-HT₃ receptors. *Curr Pharm Des* 2006; 12(28): 3615–3630.
- 21 Gaddum JH, Picarelli ZP. Two kinds of tryptamine receptor. *Br J Pharmacol Chemother* 1957; 12(3): 323–328.
- 22 Bradley PB, Engel G, Feniuk W, Fozard JR, Humphrey PP, Middlemiss DN, Mylecharane EJ, Richardson BP, Saxena PR. Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology* 1986; 25(6): 563–576.
- 23 Chameau P, van Hooft JA. Serotonin 5-HT₃ receptors in the central nervous system. *Cell Tissue Res* 2006; 326(2): 573–581.
- 24 Yu Y, Cao DQ, Xu HY, Sun M, Huang ZL, Yung WH, Lu N, Huang Y. 5-HT_{3A} receptors are required in long-term depression and AMPA receptor internalization. *Neuroscience* 2014; 278: 105–112.
- 25 Davies PA, Pistis M, Hanna MC, Peters JA, Lambert JJ, Hales TG, Kirkness EF. The 5-HT_{3B} subunit is a major determinant of serotonin-receptor function. *Nature* 1999; 397(6717): 359–363.
- 26 Niesler B, Walstab J, Combrink S, Moller D, Kapeller J, Rietdorf J, Bonisch H, Gothert M, Rappold G, Bruss M. Characterization of the novel human serotonin receptor subunits 5-HT_{3C}, 5-HT_{3D}, and 5-HT_{3E}. *Mol Pharmacol* 2007; 72(1): 8–17.
- 27 Murthy S, Niquille M, Hurni N, Limoni G, Frazer S, Chameau P, van Hooft JA, Vitalis T, Dayer A. Serotonin receptor 3A controls interneuron migration into the neocortex. *Nat Commun* 2014; 5: 5524.
- 28 Huang Y, Yoon K, Ko H, Jiao S, Ito W, Wu JY, Yung WH, Lu B, Morozov A. 5-HT_{3A} Receptors modulate hippocampal gamma oscillations by regulating synchrony of parvalbumin-positive interneurons. *Cereb Cortex* 2016; 26(2): 576–585.
- 29 Morales M, Wang SD. Differential composition of 5-hydroxytryptamine 3 receptors synthesized in the rat CNS and peripheral nervous system. *J Neurosci* 2002; 22(15): 6732–6741.
- 30 Aikiyo S, Kishi K, Kaji N, Mikawa S, Kondo M, Shimada S, Hori M. Contribution of serotonin 3A receptor to motor function and its expression in the gastrointestinal tract. *Digestion* 2020; doi: 10.1159/000509209.
- 31 Anderson BM, Schnetz-Boutaud NC, Bartlett J, Wotawa AM, Wright HH, Abramson RK, Cuccaro ML, Gilbert JR, Pericak-Vance MA, Haines JL. Examination of association of genes in the serotonin system to autism. *Neurogenetics* 2009; 10(3): 209–216.
- 32 Bi C, Wu J, Jiang T, Liu Q, Cai W, Yu P, Cai T, Zhao M, Jiang YH, Sun ZS. Mutations of ANK3 identified by exome sequencing are associated with autism susceptibility. *Hum Mutat* 2012; 33(12): 1635–1638.
- 33 Gupta D, Prabhakar V, Radhakrishnan M. 5HT₃ receptors: Target for new antidepressant drugs. *Neurosci Biobehav Rev* 2016; 64: 311–325.
- 34 Zhao H, Lin Y, Chen S, Li X, Huo H. 5-HT₃ receptors: a potential therapeutic target for epilepsy. *Curr Neuropharmacol* 2018; 16(1): 29–36.
- 35 Tremblay R, Lee S, Rudy B. GABAergic interneurons in the neocortex: from cellular properties to circuits. *Neuron* 2016; 91(2): 260–292.
- 36 Kim Y, Yang GR, Pradhan K, Venkataraju KU, Bota M, Garcia Del Molino LC, Fitzgerald G, Ram K, He M, Levine JM, Mitra P, Huang ZJ, Wang XJ, Osten P. Brain-wide maps reveal stereotyped cell-type-based cortical architecture and subcortical sexual dimorphism. *Cell* 2017; 171(2): 456–469. e2.
- 37 Chittajallu R, Craig MT, McFarland A, Yuan X, Gerfen S, Tricoire L, Erkkila B, Barron SC, Lopez CM, Liang BJ, Jeffries BW, Pelkey KA, McBain CJ. Dual origins of functionally distinct O-LM interneurons revealed by differential 5-HT_{3AR} expression. *Nat Neurosci* 2013; 16(11): 1598–1607.
- 38 Asgarian Z, Magno L, Ktena N, Harris KD, Kessaris N. Hippocampal CA1 somatostatin interneurons originate in the embryonic MGE/POA. *Stem Cell Reports* 2019; 13(5): 793–802.
- 39 Xu Q, Cobos I, De La Cruz E, Rubenstein JL, Anderson SA. Origins of cortical interneuron subtypes. *J Neurosci* 2004; 24(11): 2612–2622.
- 40 Miyoshi G, Hjerling-Leffler J, Karayannis T, Sousa VH, Butt SJ, Battiste J, Johnson JE, Machold RP, Fishell G. Genetic fate mapping reveals that the caudal ganglionic eminence produces a large and diverse population of superficial cortical interneurons. *J Neurosci* 2010; 30(5): 1582–1594.
- 41 Anstötz M, Cosgrove KE, Hack I, Mugnaini E, Maccaferri G, Lubke JH. Morphology, input-output relations and synaptic connectivity of Cajal-Retzius cells in layer 1 of the developing neocortex of CXCR4-EGFP mice. *Brain Struct Funct* 2014; 219(6): 2119–2139.
- 42 Vucurovic K, Gallopin T, Ferezou I, Rancillac A, Chameau P, van Hooft JA, Geoffroy H, Monyer H, Rossier J, Vitalis T. Serotonin 3A receptor subtype as an early and protracted marker of cortical interneuron subpopulations. *Cereb Cortex* 2010; 20(10): 2333–2347.
- 43 Munoz-Manchado AB, Foldi C, Szydlowski S, Sjulson L, Farries M, Wilson C, Silberberg G, Hjerling-Leffler J. Novel striatal GABAergic interneuron populations labeled in the 5HT_{3a}(EGFP) mouse. *Cereb Cortex* 2016; 26(1): 96–105.
- 44 Marin O, Anderson SA, Rubenstein JL. Origin and molecular

- specification of striatal interneurons. *J Neurosci* 2000; 20(16): 6063–6076.
- 45 Posluszny A. Updating the picture of layer 2/3 VIP-expressing interneuron function in the mouse cerebral cortex. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2019; 79(4): 328–337.
 - 46 Pronneke A, Scheuer B, Wagener RJ, Mock M, Witte M, Staiger JF. Characterizing VIP neurons in the barrel cortex of VIP^{Cre}/tdTomato mice reveals layer-specific differences. *Cereb Cortex* 2015; 25(12): 4854–4868.
 - 47 He M, Tucciarone J, Lee S, Nigro MJ, Kim Y, Levine JM, Kelly SM, Kruglikov I, Wu P, Chen Y, Gong L, Hou Y, Osten P, Rudy B, Huang ZJ. Strategies and tools for combinatorial targeting of GABAergic neurons in mouse cerebral cortex. *Neuron* 2016; 92(2): 555.
 - 48 Jiang X, Shen S, Cadwell CR, Berens P, Sinz F, Ecker AS, Patel S, Tolias AS. Principles of connectivity among morphologically defined cell types in adult neocortex. *Science* 2015; 350(6264): aac9462.
 - 49 Chedotal A, Cozzari C, Faure MP, Hartman BK, Hamel E. Distinct choline acetyltransferase (ChAT) and vasoactive intestinal polypeptide (VIP) bipolar neurons project to local blood vessels in the rat cerebral cortex. *Brain Res* 1994; 646(2): 181–193.
 - 50 Martin KA, Somogyi P, Whitteridge D. Physiological and morphological properties of identified basket cells in the cat's visual cortex. *Exp Brain Res* 1983; 50(2–3): 193–200.
 - 51 Gonchar Y, Wang Q, Burkhalter A. Multiple distinct subtypes of GABAergic neurons in mouse visual cortex identified by triple immunostaining. *Front Neuroanat* 2007; 1: 3.
 - 52 Pronneke A, Witte M, Mock M, Staiger JF. Neuromodulation leads to a burst-tonic switch in a subset of VIP neurons in mouse primary somatosensory (barrel) cortex. *Cereb Cortex* 2020; 30(2): 488–504.
 - 53 Petilla Interneuron Nomenclature G, Ascoli GA, Alonso-Nanclares L, Anderson SA, Barrionuevo G, Benavides-Piccione R, Burkhalter A, Buzsáki G, Cauli B, Defelipe J, Fairen A, Feldmeyer D, Fishell G, Fregnac Y, Freund TF, Gardner D, Gardner EP, Goldberg JH, Helmstaedter M, Hestrin S, Karube F, Kisvárdy ZF, Lambollez B, Lewis DA, Marin O, Markram H, Muñoz A, Packer A, Petersen CC, Rockland KS, Rossier J, Rudy B, Somogyi P, Staiger JF, Tamas G, Thomson AM, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, West DC, Yuste R. Petilla terminology: nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9(7): 557–568.
 - 54 Kawaguchi Y, Kubota Y. Physiological and morphological identification of somatostatin- or vasoactive intestinal polypeptide-containing cells among GABAergic cell subtypes in rat frontal cortex. *J Neurosci* 1996; 16(8): 2701–2715.
 - 55 Wall NR, De La Parra M, Sorokin JM, Taniguchi H, Huang ZJ, Callaway EM. Brain-wide maps of synaptic input to cortical interneurons. *J Neurosci* 2016; 36(14): 4000–4009.
 - 56 Lee S, Kruglikov I, Huang ZJ, Fishell G, Rudy B. A disinhibitory circuit mediates motor integration in the somatosensory cortex. *Nat Neurosci* 2013; 16(11): 1662–1670.
 - 57 Feldmeyer D, Qi G, Emmenegger V, Staiger JF. Inhibitory interneurons and their circuit motifs in the many layers of the barrel cortex. *Neuroscience* 2018; 368: 132–151.
 - 58 Pfeffer CK, Xue M, He M, Huang ZJ, Scanziani M. Inhibition of inhibition in visual cortex: the logic of connections between molecularly distinct interneurons. *Nat Neurosci* 2013; 16(8): 1068–1076.
 - 59 Yetman MJ, Washburn E, Hyun JH, Osakada F, Hayano Y, Zeng H, Callaway EM, Kwon HB, Taniguchi H. Intersectional monosynaptic tracing for dissecting subtype-specific organization of GABAergic interneuron inputs. *Nat Neurosci* 2019; 22(3): 492–502.
 - 60 Yu J, Hu H, Agmon A, Svoboda K. Recruitment of GABAergic interneurons in the barrel cortex during active tactile behavior. *Neuron* 2019; 104(2): 412–427.e4.
 - 61 Pi HJ, Hangya B, Kvitsiani D, Sanders JI, Huang ZJ, Kepecs A. Cortical interneurons that specialize in disinhibitory control. *Nature* 2013; 503(7477): 521–524.
 - 62 Fu Y, Tucciarone JM, Espinosa JS, Sheng N, Darcy DP, Nicoll RA, Huang ZJ, Stryker MP. A cortical circuit for gain control by behavioral state. *Cell* 2014; 156(6): 1139–1152.
 - 63 Bigelow J, Morrill RJ, Dekloe J, Hasenstaub AR. Movement and VIP interneuron activation differentially modulate encoding in mouse auditory cortex. *eNeuro* 2019; 6(5): ENEURO.0164-19.2019.
 - 64 Kamigaki T, Dan Y. Delay activity of specific prefrontal interneuron subtypes modulates memory-guided behavior. *Nat Neurosci* 2017; 20(6): 854–863.
 - 65 Batista-Brito R, Vinck M, Ferguson KA, Chang JT, Laubender D, Lur G, Mossner JM, Hernandez VG, Ramakrishnan C, Deisseroth K, Higley MJ, Cardin JA. Developmental dysfunction of VIP interneurons impairs cortical circuits. *Neuron* 2017; 95(4): 884–895.e9.
 - 66 Garcia-Junco-Clemente P, Ikrar T, Tring E, Xu X, Ringach DL, Trachtenberg JT. An inhibitory pull-push circuit in frontal cortex. *Nat Neurosci* 2017; 20(3): 389–392.
 - 67 Che A, Babij R, Iannone AF, Fetcho RN, Ferrer M, Liston C, Fishell G, De Marco Garcia NV. Layer I interneurons sharpen sensory maps during neonatal development. *Neuron* 2018; 99(1): 98–116.e7.
 - 68 Perrenoud Q, Rossier J, Ferezou I, Geoffroy H, Gallopin T, Vitalis T, Rancillac A. Activation of cortical 5-HT(3) receptor-expressing interneurons induces NO mediated vasodilata-

- tions and NPY mediated vasoconstrictions. *Front Neural Circuits* 2012; 6: 50.
- 69 Jiang X, Wang G, Lee AJ, Stornetta RL, Zhu JJ. The organization of two new cortical interneuronal circuits. *Nat Neurosci* 2013; 16(2): 210–218.
- 70 Olah S, Fule M, Komlosi G, Varga C, Baldi R, Barzo P, Tamas G. Regulation of cortical microcircuits by unitary GABA-mediated volume transmission. *Nature* 2009; 461(7268): 1278–1281.
- 71 Niquille M, Limoni G, Markopoulos F, Cadilhac C, Prados J, Holtmaat A, Dayer A. Neurogliaform cortical interneurons derive from cells in the preoptic area. *Elife* 2018; 7: e32017.
- 72 Tamas G, Lorincz A, Simon A, Szabadics J. Identified sources and targets of slow inhibition in the neocortex. *Science* 2003; 299(5614): 1902–1905.
- 73 Overstreet-Wadiche L, McBain CJ. Neurogliaform cells in cortical circuits. *Nat Rev Neurosci* 2015; 16(8): 458–468.
- 74 Chittajallu R, Pelkey KA, McBain CJ. Neurogliaform cells dynamically regulate somatosensory integration via synapse-specific modulation. *Nat Neurosci* 2013; 16(1): 13–15.
- 75 Inta D, Alfonso J, von Engelhardt J, Kreuzberg MM, Meyer AH, van Hooft JA, Monyer H. Neurogenesis and widespread forebrain migration of distinct GABAergic neurons from the postnatal subventricular zone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(52): 20994–20999.
- 76 Gerfen CR, Paletzki R, Heintz N. GENSAT BAC cre-recombinase driver lines to study the functional organization of cerebral cortical and basal ganglia circuits. *Neuron* 2013; 80(6): 1368–1383.
- 77 Denaxa M, Neves G, Rabinowitz A, Kemlo S, Liodis P, Burroni J, Pachnis V. Modulation of apoptosis controls inhibitory interneuron number in the cortex. *Cell Rep* 2018; 22(7): 1710–1721.
- 78 Fan LZ, Kheifets S, Bohm UL, Wu H, Piatkevich KD, Xie ME, Parot V, Ha Y, Evans KE, Boyden ES, Takesian AE, Cohen AE. All-optical electrophysiology reveals the role of lateral inhibition in sensory processing in cortical layer I. *Cell* 2020; 180(3): 521–535.e18.
- 79 Chittajallu R, Wester JC, Craig MT, Barksdale E, Yuan XQ, Akgul G, Fang C, Collins D, Hunt S, Pelkey KA, McBain CJ. Afferent specific role of NMDA receptors for the circuit integration of hippocampal neurogliaform cells. *Nat Commun* 2017; 8(1): 152.
- 80 Schuman B, Machold RP, Hashikawa Y, Fuzik J, Fishell GJ, Rudy B. Four unique interneuron populations reside in neocortical layer I. *J Neurosci* 2019; 39(1): 125–139.
- 81 Zeitz KP, Guy N, Malmberg AB, Dirajlal S, Martin WJ, Sun L, Bonhaus DW, Stucky CL, Julius D, Basbaum AI. The 5-HT₃ subtype of serotonin receptor contributes to nociceptive processing via a novel subset of myelinated and unmyelinated nociceptors. *J Neurosci* 2002; 22(3): 1010–1019.
- 82 Chameau P, Inta D, Vitalis T, Monyer H, Wadman WJ, van Hooft JA. The N-terminal region of reelin regulates postnatal dendritic maturation of cortical pyramidal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(17): 7227–7232.
- 83 Kelley SP, Bratt AM, Hodge CW. Targeted gene deletion of the 5-HT_{3A} receptor subunit produces an anxiolytic phenotype in mice. *Eur J Pharmacol* 2003; 461(1): 19–25.
- 84 Smit-Rigter LA, Wadman WJ, van Hooft JA. Impaired social behavior in 5-HT_{3A} receptor knockout mice. *Front Behav Neurosci* 2010; 4: 169.
- 85 Kondo M, Nakamura Y, Ishida Y, Yamada T, Shimada S. The 5-HT_{3A} receptor is essential for fear extinction. *Learn Mem* 2013; 21(1): 1–4.
- 86 Bhatnagar S, Sun LM, Raber J, Maren S, Julius D, Dallman MF. Changes in anxiety-related behaviors and hypothalamic-pituitary-adrenal activity in mice lacking the 5-HT_{3A} receptor. *Physiol Behav* 2004; 81(4): 545–555.
- 87 Ferezou I, Cauli B, Hill EL, Rossier J, Hamel E, Lambolez B. 5-HT₃ receptors mediate serotonergic fast synaptic excitation of neocortical vasoactive intestinal peptide/cholecystokinin interneurons. *J Neurosci* 2002; 22(17): 7389–7397.
- 88 van Hooft JA, Spier AD, Yakel JL, Lummis SC, Vijverberg HP. Promiscuous coassembly of serotonin 5-HT₃ and nicotinic alpha4 receptor subunits into Ca²⁺-permeable ion channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(19): 11456–11461.
- 89 Krieglner S, Sudweeks S, Yakel JL. The nicotinic alpha4 receptor subunit contributes to the lining of the ion channel pore when expressed with the 5-HT₃ receptor subunit. *J Biol Chem* 1999; 274(7): 3934–3936.
- 90 Sudweeks SN, Hooft JA, Yakel JL. Serotonin 5-HT₃ receptors in rat CA1 hippocampal interneurons: functional and molecular characterization. *J Physiol* 2002; 544(3): 715–726.
- 91 Harris KD, Hochgerner H, Skene NG, Magno L, Katona L, Bengtsson Gonzales C, Somogyi P, Kessaris N, Linnarsson S, Hjerling-Leffler J. Classes and continua of hippocampal CA1 inhibitory neurons revealed by single-cell transcriptomics. *PLoS Biol* 2018; 16(6): e2006387.
- 92 Winterer J, Lukacsovich D, Que L, Sartori AM, Luo W, Foldy C. Single-cell RNA-Seq characterization of anatomically identified OLM interneurons in different transgenic mouse lines. *Eur J Neurosci* 2019; 50(11): 3750–3771.