

コイ嗅球の嗅神経電気刺激に対する応答

佐藤真彦・藤田一郎

上田一夫

コイ 嗅球の嗅神経電気刺激に対する応答

佐藤真彦・藤田一郎・上田一夫  
 東京大学 理学部 動物学教室

緒言

魚類の嗅球の神経回路を調べる試みは、従来、主に形態学的手法を用いてなされてきている<sup>4</sup>。電気生理学的研究は少なく、しかも、細胞内記録による解析はほとんどなされていない<sup>3,5</sup>。そこで、われわれはコイを材料に用いて、僧帽細胞の細胞内電位と嗅球の誘発電位の解析を行ってきた。嗅索電気刺激に対する応答についてはすでに報告した<sup>6,7</sup>。本論文では、嗅神経電気刺激によりひき起こされた誘発電位および細胞内電位の解析の結果について報告する。

方法

クラーレで不動化したコイを材料として用いた。嗅神経・嗅球・嗅索を露出したのち、嗅神経表面に同心円電極をあてて電気刺激を行なった。嗅索は終脳の直前で切断し、内側嗅索(MOT)と外側嗅索(LOT)に分離し、それぞれを一对の銀電極によって電気刺激した。誘発電位の記録には、2M NaCl 溶液をつめたガラス電極または先端以外を絶縁したステンレス電極を用いた。細胞内電位の記録には、2M K-citrate 溶液、または3M KCl溶液をつめたガラス電極を用いた。

結果

1. 嗅神経電気刺激によりひき起こされる誘発電位

図1は、嗅神経を電気刺激した時に、嗅神経層・僧帽細胞層・顆粒細胞層の各層で記録された誘発電位を示す。嗅神経層で記録すると(A)二相性の嗅神経複合活動電位(Ab, ON-CAP) およびそれに続く陰性電位(Ab, 太矢印, 後述)が記録された。刺激の強さがC<sub>2</sub>波(後述)のいき値の3倍(3.0×T)の時、ON-CAPのピーク潜時は8.5msであった。僧帽細胞層では(B)、ピーク潜時が11.8ms(3.0×Tの時)の陰性電位が生じた(Bb, MC-CAP)。この電位は、僧帽細胞層で最も大きく、またこの電位に重なって、僧帽細胞の単一活動電位が記録された。このことから、この電位は、嗅神経電気刺激により順行性に賦活された僧帽細胞の複合活動電位であると推定される。顆粒細胞層では(C)、小さな陰性電位C<sub>0</sub>とそれに続く大きな陽性電位C<sub>2</sub>が記録された(Cb)。刺激の強さが3.0×Tの時、C<sub>0</sub>のピーク潜時は11.8msで、MC-CAPのそれと一致していた。このことから、C<sub>0</sub>は、僧帽細胞の複合活動電位を

顆粒細胞層で記録したものであると考えられる。

C<sub>2</sub>は、僧帽細胞層を境に極性が逆転して、嗅神経層では陰性となった(Ab, 太矢印)。このことから、C<sub>2</sub>は嗅神経電気刺激により興奮した僧帽細胞が、樹状突起間シナプスを介して賦活した顆粒細胞の peripheral dendrites の脱分極を反映していると推定された。

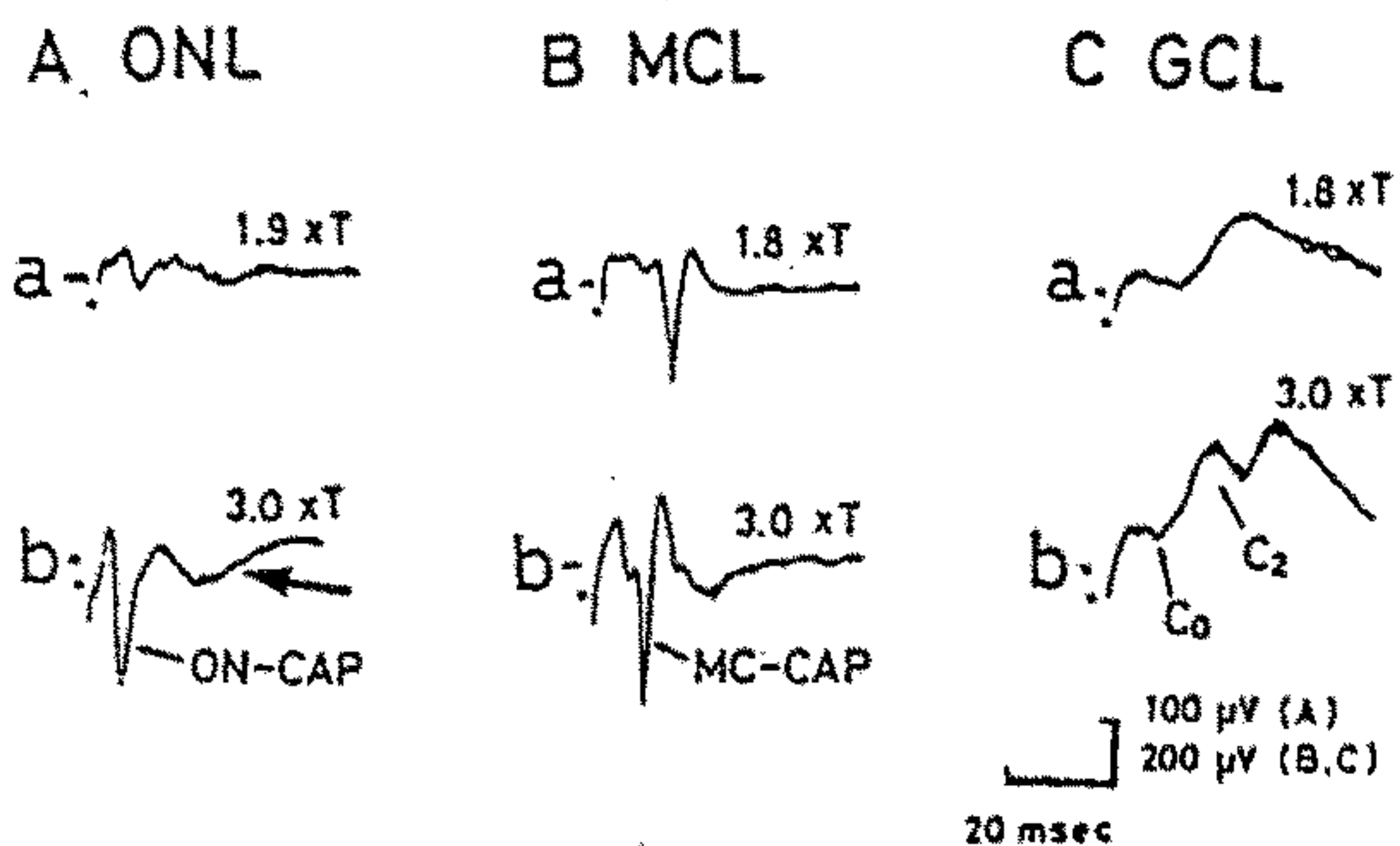


図1. 嗅神経を電気刺激した時に、嗅神経層(ONL, A)・僧帽細胞層(MCL, B)・顆粒細胞層(GCL, C)で記録された誘発電位。右肩の数字は刺激の強さを表わす(本文参照)。ON-CAP: 嗅神経複合活動電位、MC-CAP: 僧帽細胞複合活動電位。

2. 誘発電位の嗅球内での空間的分布

嗅神経の内側部(mON)および外側部(ION)を同心円電極を用いて別々に刺激し、それぞれの誘発電位(mONおよびION誘発電位)の嗅球内での空間的分布を調べた(図2)。

A-Iは、Jに示したA-Iの各トラックで記録されたmONおよびION誘発電位である。内側のトラックG・F・Aでは、ON-CAPはmON刺激によってのみ生じ、ION刺激では生じなかった(G・F・A)。一方、外側のトラックI・H・Eでは、ION刺激によってのみON-CAPが生じた(I・H・E)。ピーク潜時は尾側のトラックほど長くなっていた。以上のことから、mON刺激によって嗅球内側部を、ION刺激によって嗅球外側部を走行している嗅神経線維がそれぞれ賦活されることが示された。

最内側のトラックAは、顆粒細胞層には入らずに、嗅神経層のみを通過する。このトラックAでは、mON誘発電位のC<sub>2</sub>波(mON-C<sub>2</sub>)は、どの深さでも陰性で

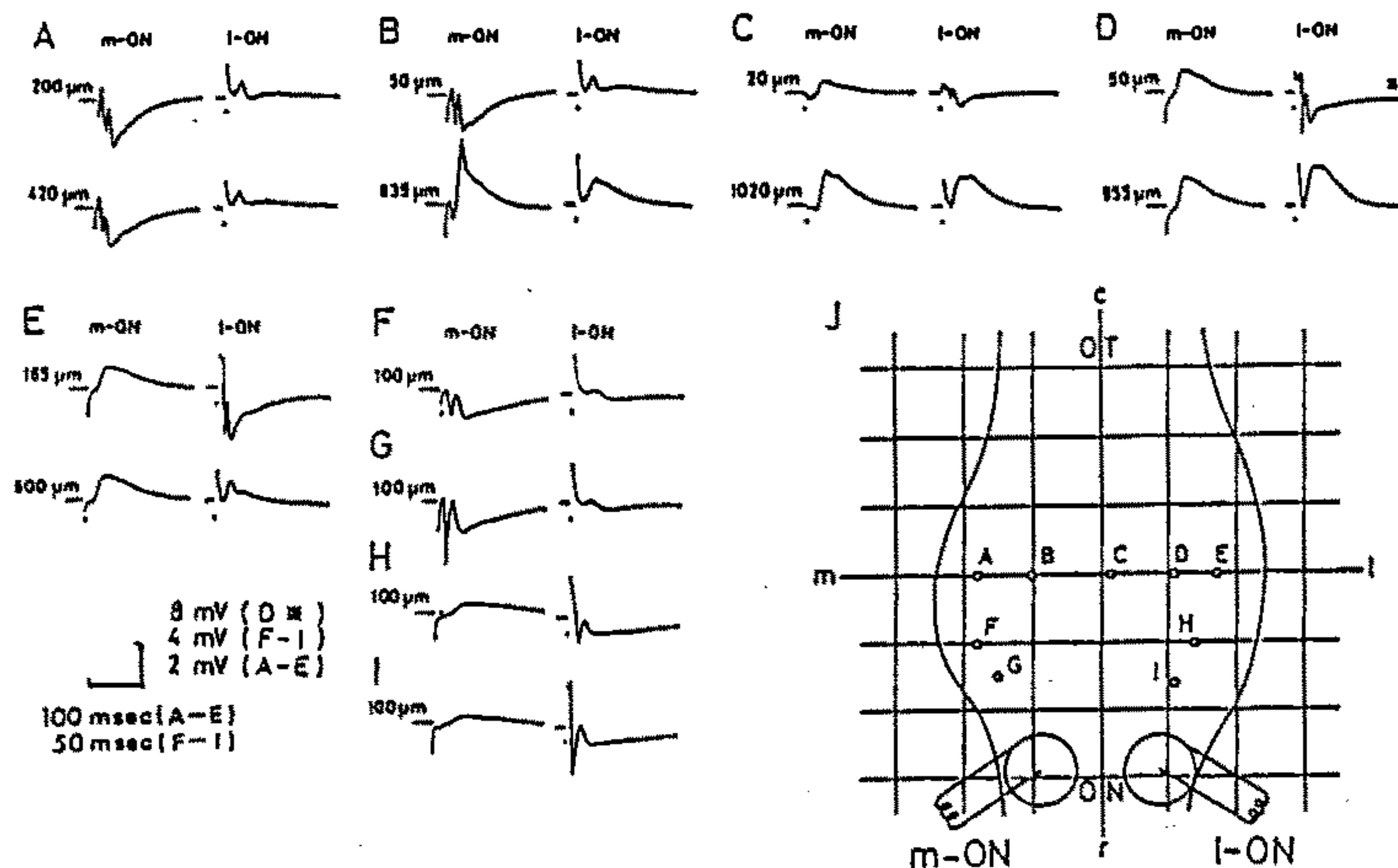


図2. 誘発電位の空間的分布  
A-I: Jに示されたトラックA-Iで記録された誘発電位。数字は嗅球表面からの深さを示す。Aでは2つの異なる深さでの記録を示し、B-Eでは上段に嗅神経層、下段に顆粒細胞層での記録を示す。F-Iは嗅神経層での誘発電位を示す。  
J: 背側からながめた嗅球の模式図。記録トラックA-Iと刺激電極の位置が示されている。mON: 嗅神経内側部刺激電極、ION: 嗅神経外側部刺激電極、ON: 嗅神経、OT: 嗅索、m: 内側、l: 外側、r: 吻側、c: 尾側。

あり、ION 誘発電位のC<sub>2</sub>波 (ION-C<sub>2</sub>)はどの深さでも陽性であった。トラックBでは、mON-C<sub>2</sub>は嗅神経層で陰性、顆粒細胞層で陽性であったが、ION-C<sub>2</sub>はどちらの層においても陽性であった。トラックC・D・Eでは、mON-C<sub>2</sub>は嗅神経層でも顆粒細胞層でも陽性であったのに対し、ION-C<sub>2</sub>は嗅神経層で陰性、顆粒細胞層で陽性であった。図には示されていないが、トラックEよりさらに外側のトラック (顆粒細胞層に入らずに、嗅神経層のみを通過するトラック) では、どの深さでも、mON-C<sub>2</sub>は陽性、ION-C<sub>2</sub>は陰性であった。以上の結果は、mON 刺激により嗅球内側部に位置する顆粒細胞が賦活され、ION 刺激により嗅球外側部の顆粒細胞が賦活されることを示している (文献8 参照)。

### 3. 嗅神経電気刺激に対する僧帽細胞の応答

僧帽細胞は、1) LOT または MOT への刺激により逆行性活動電位を生じること、または2)僧帽細胞層に存在することを基準に同定した。図3に、嗅神経電気刺激によりひきおこされた僧帽細胞の細胞内電位応答を示す。嗅神経電気刺激を行なうと、僧帽細胞にはEPSPと活動電位が生じ、続いて持続時間の長いIPSPが生じた (Ab)。この細胞では、IPSPの振幅は18 mV、持続時間は4.2秒であった。

嗅神経刺激によるIPSPは、1) 過分極通電により反転して陽性電位となる、2) 塩素イオンの注入により極性が反転する、3) コンダクタンスの増加を伴う、ことが判明した。このことから、このIPSPは、僧帽細胞膜の、主として塩素イオンに対する透過性の上昇により発生していることが推定される。

図3Bは、嗅神経刺激の強さを变化させた時の僧帽細胞の応答を示す。刺激の強さがC<sub>2</sub>波のいき値の1.6倍 (1.6×T) の時、EPSPが生じ、時に活動電位も生じた (Bb)。刺激の強さが2.0×T以上では、EPSPと活動電位が毎回、生じた (Bc, Bd)。EPSPの潜時は、嗅神経刺

激を強くするにつれて短縮した。一方、ON-CAPのピーク潜時も刺激を強くするにつれて短縮し (図1A)、EPSPの潜時の短縮のかなりの部分をしめていた。このことから、このEPSPは単シナプス性に生じたものと考えられる。

また、嗅球内側部に位置する僧帽細胞はmON 刺激によってのみ賦活され、ION 刺激では賦活されないこと、逆に、外側部の僧帽細胞はION 刺激によってのみ賦活され、mON 刺激では賦活されないことも判明した。

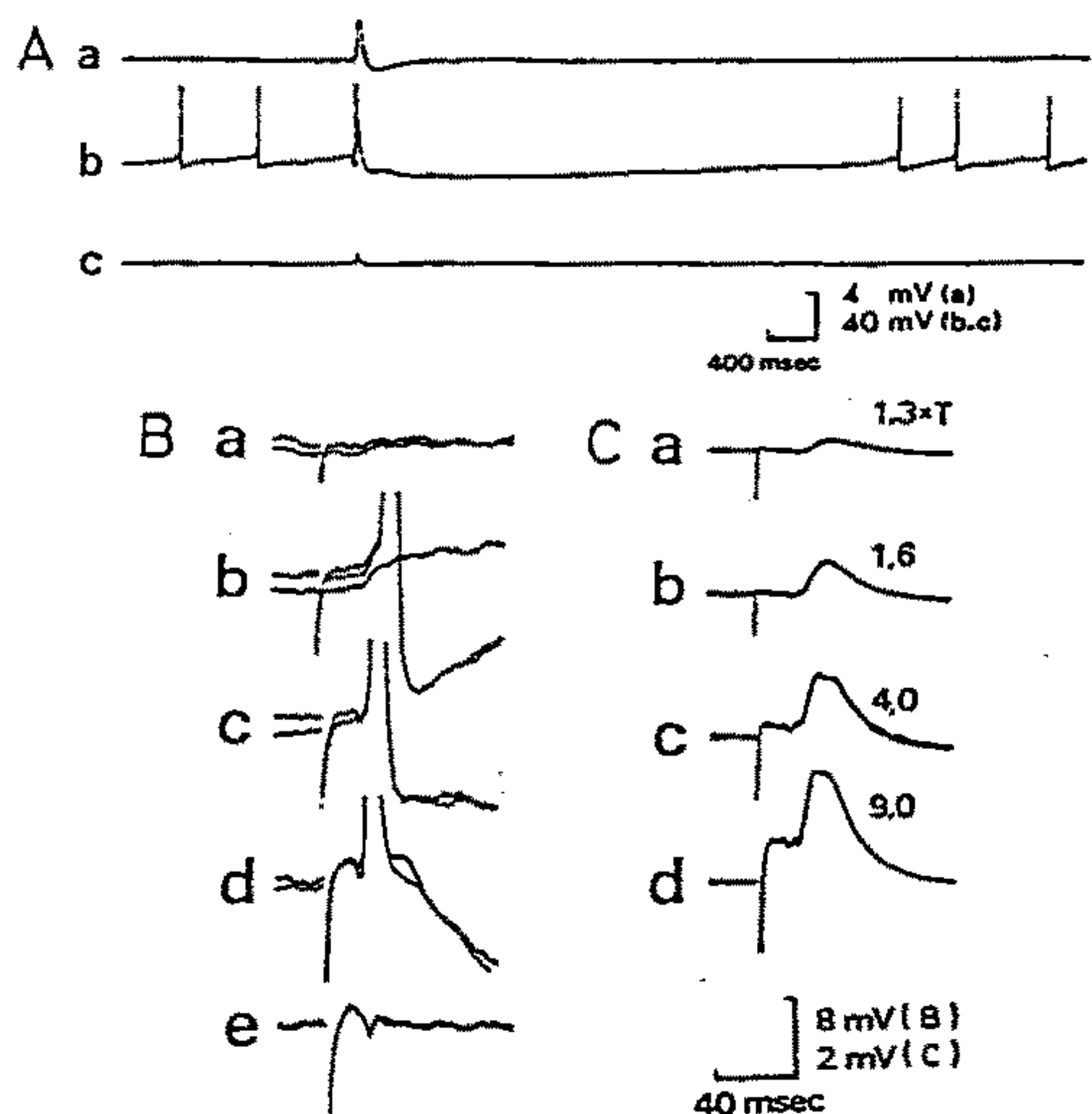


図3. 嗅神経刺激に対する僧帽細胞の応答  
Aa: 顆粒細胞層での誘発電位、Ab: 同時記録した僧帽細胞の細胞内応答、Ba-Bd: 嗅神経刺激の強さを変えた時の僧帽細胞の細胞内応答、Ca-Cd: 同時記録した顆粒細胞層での誘発電位、右肩の数字は刺激の強さを示す、Ac・Be: 記録した僧帽細胞のごく近傍での細胞外電位。

考 察

われわれは最近、嗅球内側部の僧帽細胞はMOTに軸索を投射し、外側部の僧帽細胞はLOTに投射していることを報告した<sup>5</sup> (図4)。また、嗅球内側部の僧帽細胞は内側部の顆粒細胞から樹状突起間シナプスを介する抑制を、外側部の僧帽細胞は外側部の顆粒細胞から同様の抑制を受けることを報告した<sup>7</sup> (図4)。

本実験では、内側部の嗅神経に発生したインパルスは嗅球内側部を走行している嗅神経中を伝わり、内側部の僧帽細胞および顆粒細胞を賦活すること、逆に、外側部の嗅神経インパルスは嗅球外側部を伝わり、外側部の僧帽細胞および顆粒細胞を賦活することが示された。

以上のことから、嗅球の内側部と外側部はそれぞれ固有の入出力経路および抑制回路を持っていることが推定される。このことは、コイの嗅球の内側部と外側部が異なった働きをしていることを強く示唆している。イワナでは、アミノ酸や胆汁酸に対する応答が嗅球の内側部と外側部で異なることが報告されている<sup>2</sup>。また、タラ<sup>1</sup>とキンギョ<sup>9</sup>で、MOTとLOTが異なった嗅覚情報を伝達していることが、行動学的実験から示唆されている。

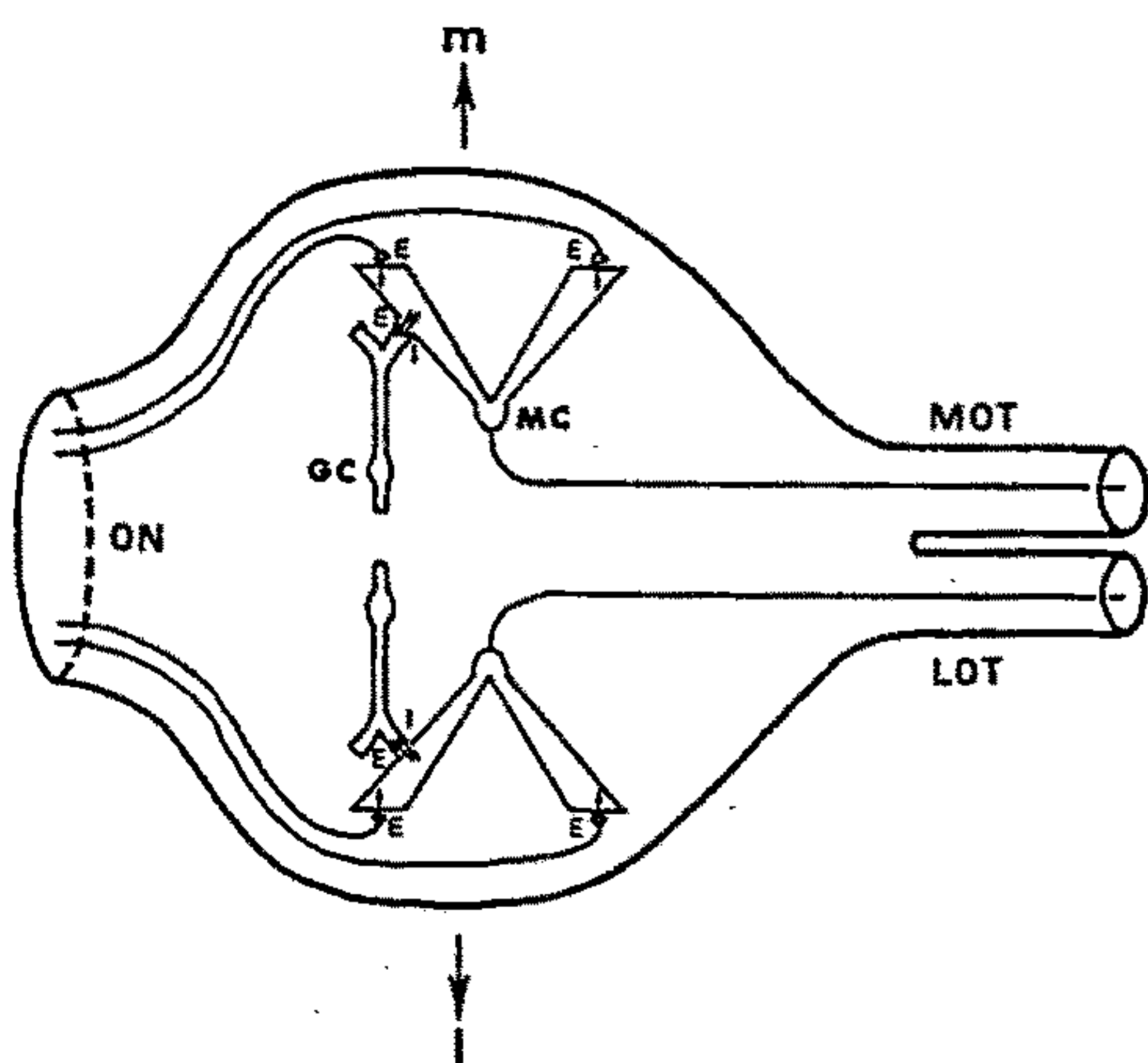


図4. コイの嗅球の神経回路

背側よりながめた時の嗅球が描かれている。MC: 僧帽細胞、GC: 顆粒細胞、ON: 嗅神経、MOT: 内側嗅索、LOT: 外側嗅索、E: 興奮性シナプス、I: 抑制性シナプス、m: 内側、l: 外側。

参考文献

- (1) Døving, K. B. and R. Selset, Behavior patterns in cod released by electrical stimulation of olfactory tract bundlets, *Science*, 207, 559-560 (1980)
- (2) Døving, K. B., Selset, R. and G. Thommesen, Olfactory sensitivity to bile acids in salmonid fishes, *Acta Physiol. Scand.*, 108, 123-131 (1980)
- (3) MacLeod, N. K. and G. W. Lowe, Field potentials in the olfactory bulb of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*): evidence for a dendrodendritic inhibitory pathway, *Exp. Brain Res.*, 25, 255-266 (1976)
- (4) Oka, Y., Ichikawa, M. and K. Ueda, Synaptic organization of the olfactory bulb and central projection of the olfactory tract, In *Chemoreception in Fishes* (T. J. Hara ed.) Elsevier (in press)
- (5) Satou, M., Ichikawa, M., Ueda, K. and S. F. Takagi, Topographical relation between olfactory bulb and olfactory tracts in the carp, *Brain Res.*, 173, 142-146 (1979)
- (6) Satou, M., Fujita, I., Ichikawa, M. and K. Ueda, Inhibition of mitral cells in the carp olfactory bulb, *Proc. of the 14th Japanese Symposium on Taste and Smell* (H. Tomita ed.), 45-48 (1980a)
- (7) Satou, M., Fujita, I., Ichikawa, M. and K. Ueda, Inhibition in the carp olfactory bulb: analysis of evoked potential and intracellular potential, *Proc. of the 2nd Meeting of the Japan Soc. Gen. Comp. Physiol.*, 82 (1980b)
- (8) Shepherd, G. M. and L. B. Haberly, Partial activation of olfactory bulb: analysis of field potentials and topographical relation between bulb and lateral olfactory tract, *J. Neurophysiol.*, 33, 643-653 (1970)
- (9) Stacey, N., personal communication

RESPONSES OF OLFACTORY BULB TO OLFACTORY NERVE VOLLEYS IN THE CARP

M. Satou, I. Fujita and K. Ueda

(Zoological Institute, Faculty of Science, University of Tokyo)

In the carp olfactory bulb (OB), analyses were carried out on intracellular potentials of mitral cells and field potentials evoked by electrical stimulation of the olfactory nerve (ON).

Electrical shocks, applied to the ON, evoked an olfactory nerve compound action potential (ON-CAP) and a later negative wave (C2) in the olfactory nerve layer. A mitral cell compound action potential (MC-CAP) was evoked in the mitral cell layer. In the granule cell layer (GCL), the ON-evoked potential was composed of two waves, a small negative wave (C0) and a later large positive wave (C2). From latency measurements and laminar analyses of these waves, it was concluded that the C0 wave was the MC-CAP recorded in the GCL, and that the C2 wave was the depolarization of peripheral dendrites of the granule cells, which were activated through the dendrodendritic synapses from the mitral cells.

When the medial part and the lateral part of the ON (mON and lON) were stimulated separately, the spatial distribution of the ON-CAP and the C2 wave evoked by stimuli to the mON and the lON were studied. From the characteristic distribution patterns of these

waves, it was concluded that (1) the mON (lON) fibers ran in the medial (lateral) part of the olfactory bulb, and that (2) the mON (lON) volleys activated the granule cells in the medial (lateral) part of the OB.

Intracellular studies of the mitral cells revealed that the electrical shocks to the ON elicited action potentials superimposed on an EPSP followed by a large and long-lasting IPSP. It was found that stimuli applied to the mON activated the mitral cells in the medial part of the OB exclusively, while stimuli to the lON activated the mitral cells in the lateral part of the OB exclusively.

From these results, it was concluded that the volleys in the mON and the lON activated the mitral cells directly and the granule cells indirectly in the medial and lateral part of the OB respectively. The possible functional differences between the medial and lateral parts of the OB were discussed.