

イモリ嗅細胞の混合臭刺激に対する応答の解析

中川 将志 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 中谷 敬 (筑波大学 生命環境系)

導入

嗅覚は外界の匂いを受容する感覚であり、食物の探索や危険の察知、生殖など、様々な活動を行う上で重要な役割を担っている。脊椎動物の場合、匂い物質は嗅上皮に存在する嗅細胞で受容され、嗅覚受容体共役型Gタンパク質を介したシグナル伝達経路により電気信号に変換される。この信号が高次の中枢神経系へ伝達されることで、匂いが認識される。

これまで2種類以上の匂い刺激による相互作用について議論されてきた。例えば、ある種の匂い物質が電気信号を抑制する抑制性匂い応答の存在が知られている。本研究では、嗅細胞での匂い物質による相互作用について調べるため、イモリ嗅上皮における電気シグナルをEOG (electro-olfactogram) 記録法により記録し、観察した。

材料

【動物】成体のアカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) を、雌雄の区別なしに使用した。このアカハライモリは業者より購入し、自由に陸地と水中を行き来できる容器内において、室温 (約 22°C) で飼育した。

【匂い刺激】匂い刺激には、揮発性匂い物質である *n*-amyl acetate (N)、isoamyl acetate (I)、cineole (C)、そして limonene (L) の4種類を用いた。単一臭刺激および混合臭刺激は、共に Ringer 液 (組成; NaCl 110 mM, KCl 3.7 mM, MgCl₂ 1 mM, CaCl₂ 3 mM, Na-HEPES 2 mM, Na-pyruvate 1 mM, D-Glucose 15 mM, pH 7.2) で 0.05% に調製した。

方法

【標本の作製】イモリの頭部を切断し脊髄を破壊した。次に切断した頭部を Ringer 液で満たしたディッシュに移し、針で頭を固定した。そして実体顕微鏡下ではさみを用いて鼻孔より切り込みを入れ、両頬上皮を除去し嗅上皮を露出させた。

【匂い刺激の投与】匂い刺激は、Ringer 液を刺激溶液に素早く交換することで嗅上皮に与えた。Ringer 液は、匂い刺激を与える時以外はディッシュ内に常に供給され、また吸引ポンプによって常に排出させた。匂い刺激は記録開始1秒後に2秒間与えた。

【記録】外径 1.2 mm のガラス管電極を、マイクロマニピュレータを操作して嗅上皮に位置させた。このガラス管電極を Ag-AgCl 電極を介して増幅器に接続し、嗅上皮における EOG を記録した。なお EOG 記録法とは、露出させた嗅上皮にガラス電極を密着させることで、電極周辺の複数の細胞の応答を加算した電流を記録する方法である。

結果

嗅上皮に単一臭刺激を与えると脱分極性の電気応答が観察され、また刺激がなくなると次第に元の電位に戻る様子が観察された。C と L を刺激として用いた場合の応答について、単一臭刺激を与えた時の応答の大きさは、C では 0.71 ± 0.11 mV (n=18)、L で

は 0.49 ± 0.11 mV (n=11) だった。続いて混合臭刺激を与えた時の応答の大きさは、C-L 混合液では 0.26 ± 0.04 mV (n=8) だった。以上より、単一臭刺激に対する応答よりも、混合臭刺激に対する応答の方が小さくなる様子が観察された。この応答の一例を図に示した。

同様の実験を4種類の匂い刺激すべてに対して行ったところ、単一臭刺激を与えた時の応答の大きさは、N では 0.51 ± 0.11 mV (n=13)、I では 0.35 ± 0.03 mV (n=25) だった。一方、混合臭刺激を与えた時の応答の大きさは、N-I 混合液では 0.33 ± 0.04 mV (n=7)、N-C 混合液では 0.48 ± 0.13 mV (n=5)、N-L 混合液では 0.13 ± 0.03 mV (n=7)、I-C 混合液では 0.15 ± 0.06 mV (n=5)、そして I-L 混合液では 0.15 ± 0.01 mV (n=12) だった。以上より応答の大きさは刺激の種類によって様々だったが、いずれの刺激を用いた場合でも抑制性の匂い応答を確認することができた。

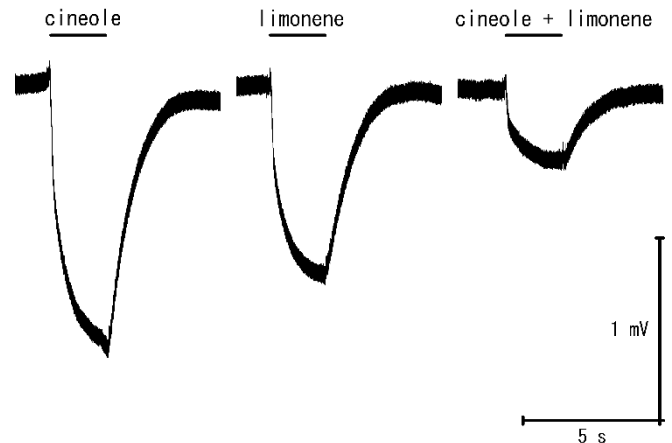


図. 嗅上皮の EOG 記録図

バーは刺激を与えた時間を表す。

考察

今回の結果から嗅覚の電気応答において、混合臭刺激の応答は単純にそれぞれの応答の加算になるとは限らず、抑制性の応答となることが確認できた。心理物理学の分野で知られている現象に、嗅覚マスキングが挙げられる。マスキングとは感覚の相互作用を指すが、これは例えば、ある種の匂いを提示することで不快臭等を感じさせなくするといった応用に用いられることがある。今回の結果は、このマスキング現象を生理学的に示す結果である。またマスキング現象が、嗅上皮—嗅覚受容細胞のレベルで行われている可能性を明らかにした。

さらに今回、いずれの匂い物質においても抑制効果が確認されたが、抑制効果の程度は匂いの分子によって異なるようだった。

抑制効果のメカニズムの詳細については未だ詳しく知られていないが、今後はニューロンの相互作用の同定および機能解明が期待される。イモリは両生類であり、水溶性の匂い物質であるアミノ酸も嗅覚として知覚することが知られている。アミノ酸を匂い刺激として用いた場合の応答の解析も進めたい。