

論 文

味覚情報の末梢性調節機構

村山伸樹*

Peripheral Modulation System in Gustatory Information

Nobuki MURAYAMA

あらまし

舌の味覚受容器に発生した求心性インパルスは味神経を伝導して中枢味覚神経系に到達する。しかしながら、一部の求心性インパルスは、味覚神経終末部に逆行性に伝導して他の味細胞に発生した求心性情報を抑制する。本研究はこの機序についてカエルの舌及びこれを支配する舌咽神経を用いて電気生理学的実験を行った。舌咽神経を電気刺激して逆行性インパルスが発生させると、その直後に舌の味刺激によって生じる求心性応答は抑制を受けるが、その抑制度は味刺激の種類によって異なっていた。また、この抑制は求心性応答よりも、味覚情報としてはノイズに相当する自発性放電を強く抑制した。さらに、この抑制には味線維及び遅順応型機械線維の興奮が関与していることがわかった。この抑制の機序として、味細胞—感覚神経間または感覚神経—感覚神経間に抑制性シナプス結合の存在が示唆された。

1. ま え が き

カエルの舌咽神経味線維はその各々が数個の茸状乳頭を支配し(味覚ユニット)、又、1個の乳頭は異なる味線維による支配を受けているので互いに隣接する乳頭間には連絡がある¹⁾。この為、ある乳頭の味刺激に

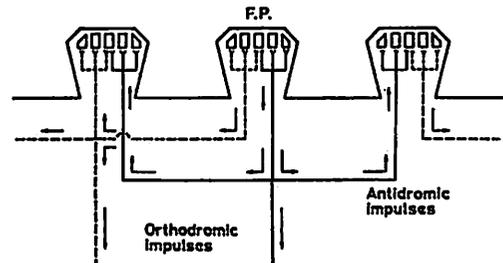


図1 茸状乳頭の味刺激による順行性及び逆行性インパルスの経路

よって生じたインパルスが乳頭間線維を介して隣接する乳頭の求心線維末端に逆行し、この乳頭の味刺激により生じた順行性味インパルスの情報を抑制することが報告されている²⁾(図1)。しかしながら、この逆行性インパルスによる抑制が味覚情報の伝達にどのような効果をもたらしているのか、また、舌咽神経に含まれた線維のうちどのような線維がこの逆行性抑制に寄与しているのか等については未だ不明である。

本実験は、舌咽神経の電気刺激により逆行性インパルスが発生させることができる事³⁾を利用して上に述べた問題点を明らかにする。

2. 方 法

食用ガエル(体重250—450g)を20%ウレタン液(15 ml/kg, 腹腔内投与)で麻酔し、一側の舌咽神経幹を末梢側の内、外側枝と共に露出して中枢端で切断した後、以下に述べる方法で2種類の実験を行った。

実験1 まず、長時間安定して味応答を記録するた

平成元年12月6日受付

* 熊本大学工学部電気情報工学科
Faculty of Engineering, Kumamoto University,
Kumamoto, 860 Japan

めに両側の舌動脈を切開後、細径のポリエチレンチューブを挿入してリンガー液で舌を灌流 (0.1ml/min) した⁹⁾。次に、舌咽神経幹を2対の銀—塩化銀電極にのせ中枢側電極を逆行性刺激用に、末梢側電極を求心性インパルスの記録用に用いた。逆行性刺激には持続0.1msのパルスを用い、刺激頻度、刺激時間及び刺激強度をそれぞれ変化させた。逆行性刺激の効果を調べるため、舌の機械及び味刺激によって生じた舌咽神経求心性応答を刺激停止後10秒に記録し、その大きさを刺激前及び刺激停止後30分の応答値と比較した。求心性インパルスは増幅後、時定数0.3sの積分器を介してペンレコーダに描記した。

実験2 内、外側枝を神経幹の分枝部で離断し、各枝を記録電極にのせて単一茸状乳頭を電気刺激しながら両側枝線維から同時に順行性活動電位が記録されるような単一茸状乳頭を同定した⁹⁾。そして、この乳頭を先端が約300 μ mのガラス棒で機械刺激したり、ローラーポンプに取り付けたV字形ガラス管に吸引して味溶液を流したりして両側枝から同時に求心性応答を記録した。次いで、一方の側枝に逆行性電気刺激 (100 Hz, 30 s, 3 V) を与えたのち乳頭を食塩刺激して求心性インパルスを他側枝から記録し、刺激前と刺激停止後30分の応答値と比較した。この際、各味刺激期間中に出現したインパルスはオシロスコープ上で記録すると共に1秒毎の数のヒストグラムで表し、逆行性刺激停止直後の5秒間及び停止後10秒から5秒間のインパルス数を逆行性刺激効果の判定のために用いた。

3. 結 果

3.1 求心性応答の抑制

図2は7種類の自然刺激 (0.5M 食塩, 2.5mM 塩化カルシウム, 0.1mM キニーネ, 10mM 酢酸, 蒸留水の味刺激と温刺激及び触刺激) に対する舌咽神経の求心性積分応答の例で、A, B及びCはそれぞれ舌咽神経に逆行性の電気刺激 (100Hz, 10s, 3V) を与える前、停止10秒後及び停止30分後の自然刺激に対する積分応答を示している。食塩, 塩化カルシウム, 酢酸, 蒸留水及び温刺激に対する積分応答は逆行性刺激により大きく抑制を受けているのに対し、キニーネ及び触刺激に対する応答はほとんど抑制を受けていない。表1はこの抑制の程度を6例の平均でまとめたもので積分応答の初期成分及び持続成分共ほとんど同じ値を示している。食塩, 塩化カルシウム, 酢酸, 蒸留水及び温刺激に対する応答の抑制度は30—45%程度であり、

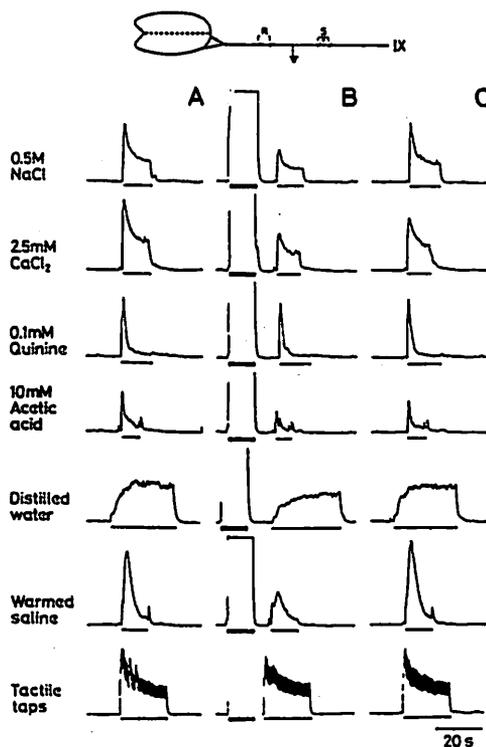


図2 各種自然刺激に対する舌咽神経求心性積分応答

表1 逆行性刺激による求心性積分応答の抑制度

応答の種類	抑制度 (%)	
	初期成分	持続成分
食塩	39.3	35.5
塩化カルシウム	33.6	33.5
キニーネ	4.6	—
酢酸	30.3	—
蒸留水	—	40.1
温応答	40.4	44.9
触応答	3.2	1.6

一方、キニーネ及び触刺激に対する応答の抑制度は1.5—4.5%で対照値と有意の差は見られなかった。これらの結果から、求心性応答に対する逆行性刺激の効果は一様ではなく、選択性を持っていることが示唆された。さらに詳しくこの逆行性抑制を調べるために以下の実験では舌への味刺激に食塩とキニーネを用いて実験を行った。

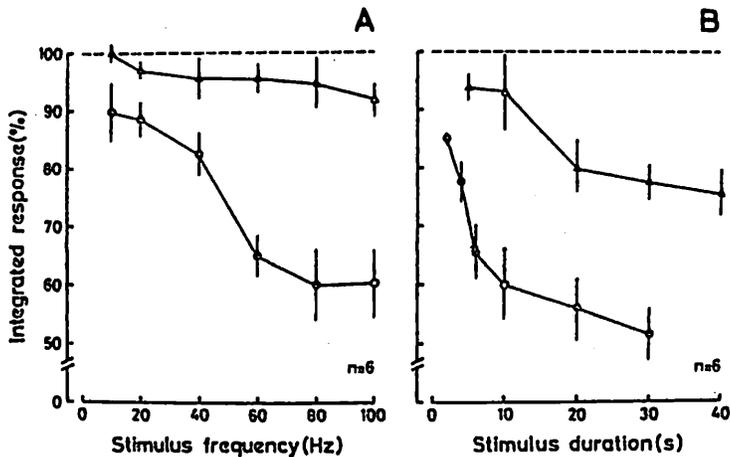


図3 食塩及びキニーネ応答に及ぼす逆行性刺激の頻度変化(A)及び持続時間変化(B)の効果

3. 2 逆行性抑制の条件

図3 Aは逆行性刺激の持続時間(10s)と強さ(3V)を一定とし、刺激頻度を変化させた時得られた舌咽神経求心性応答の変化を示す。食塩応答(●)は刺激頻度の増加と共に著しく減少し、100Hzのとき対照値に比べて約40%程度抑制されている。これに対してキニーネ応答(▲)は刺激頻度が100Hzのときでも8%程度しか抑制されていない。Bは逆行性刺激の頻度(100Hz)と強さ(3V)を一定とし刺激時間を変えたとき食塩及びキニーネに見られた減少を示している。Aの結果と同様食塩応答は刺激時間が長くなるほど強く抑制されるがキニーネ応答は40秒の刺激でも20-25%程度しか抑制されていない。

以上の実験では極大刺激を用いたが舌咽神経は主として機械線維と味線維からなり前者はしきい値が低く、後者は高いので刺激強度を変えて抑制効果を調べる必要がある。図4 Aは舌咽神経を中枢側で刺激し、その結果生じた電位変化を末梢側から記録したもので左から右に刺激頻度を増していくと2峰性の複合活動電位が現れる。Bは2つの活動電位の振幅と刺激強度との関係を示すもので、強度は第2の活動電位のしきい値を基準(1.0)として相対的強度で表している。Cは刺激頻度(100Hz)と刺激時間(10s)を一定としたときの刺激強度と食塩応答との関係を示すもので刺激の相対的強さが1.0以下(○)のとき、即ち、主として速順応型機械線維を興奮させた場合はその逆行性インパルスは食塩応答をほとんど抑制しないが、1.0以上(●)

になると食塩応答は減少し、2.5以上で抑制効果はほとんど飽和に達することがわかる。Bの結果と比べると求心性応答の抑制には主としてしきい値の高い味線維と遅順応型機械線維が関与していることがわかるであろう。

3. 3 自発性放電の抑制

一般に、求心性神経は感覚器に刺激が与えられなくても自発的に興奮してインパルスを発生している。これを自発性放電という。カエルの舌咽神経も約19Hz程度(21匹の平均)の自発性放電を繰り返している。この発源の機序に関しては十分解っていないが、おそらく受容器-神経軸索シナプス間の興奮過程に由来するものとおもわれる。それ故、自発性放電が逆行性刺激によりどの様に影響されるかは興味深い。図5はこの結果を示している。上段のヒストグラムは逆行性刺激の持続時間と強さは変えずに刺激頻度を20(a)、60(b)及び100Hz(c)と変化させたときの自発性放電の変化例である。刺激頻度の増加に伴い自発性放電は著しく減少し、その抑制度は100Hzの時対照値に比べ約80%程度にも達している。そして、その後ゆっくりと刺激前の自発性放電レベルまで回復する。Aはこれを8例の平均で示したもので、逆行性刺激前5秒間の自発性放電頻度を100%として刺激停止直後の5秒間(●)及び停止後10秒からの5秒間(○)の自発性放電頻度を相対値で表している。B及びCはそれぞれ逆行性刺激の持続時間及び強さを変化させたときの結果で、いずれもパラメータの増加に伴い自発性放電頻度

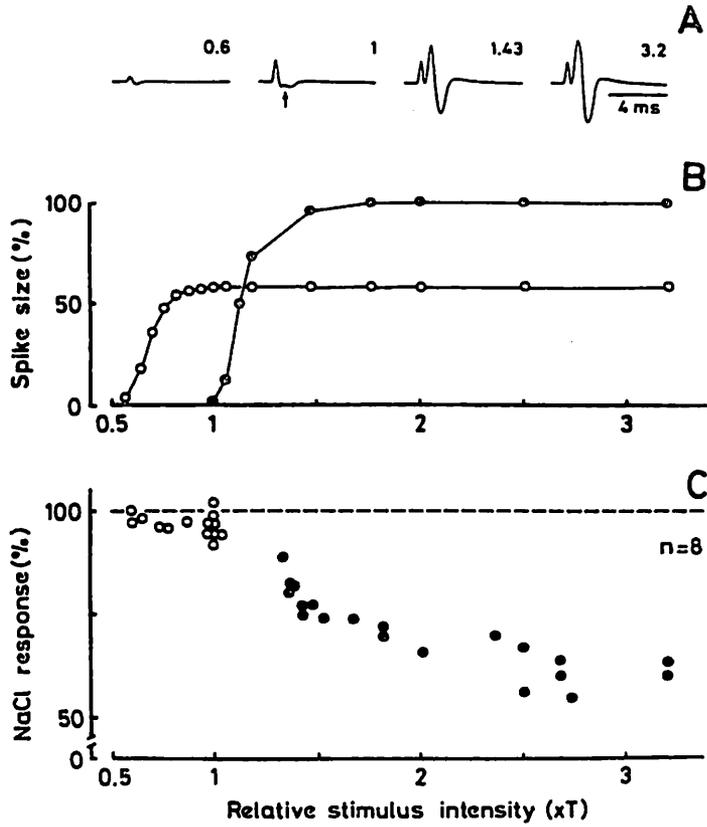


図4 食塩応答に及ぼす刺激強度変化の効果

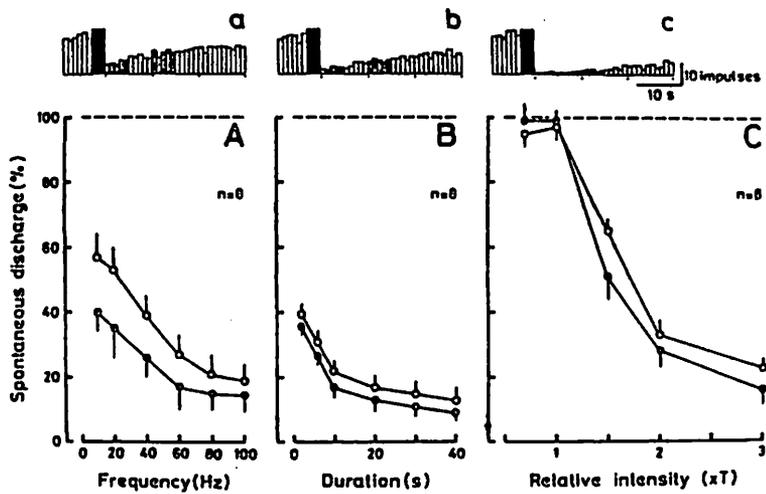


図5 自発性放電頻度に及ぼす逆行性刺激の頻度 (A), 持続時間 (B) 及び刺激強度 (C) の効果

は著しい減少を示した。その抑制度は求心性応答のそれに比べ有意に大きかったが、逆行性刺激に対する抑制様式は求心性応答の抑制様式と類似していた。

3. 4 逆行性インパルスの効果

求心性応答及び自発放電に対する逆行性インパルスの効果を比較するために、図3 B及び図5 Bに示した抑制度を逆行性インパルスの数(逆行性刺激の頻度×持続時間)に対する抑制度として表してみた(図6)。横軸のインパルス数を対数にとると食塩応答、キニーネ応答及び自発放電頻度のいずれの抑制度ともインパルス数の増加に伴い直線的に減少した。この直線の傾きに有為差が認められないことから、これらの応答は同じ機序で抑制されていることが示唆された。又、これらの応答を50%抑制するのに必要なインパルスの数を調べてみると、自発放電に対しては63発、食塩とキ

ニーネに対してはそれぞれ3000及び5100発必要なことがわかった。これらの結果から、舌の自然刺激によって生じる逆行性インパルスは味覚神経情報を選択的に抑制するだけでなく、自発性放電を強く抑制して求心性信号の鮮鋭化に役だっていることが推察される。

3. 5 逆行性抑制に寄与する求心性線維

上で述べた実験系では食塩やキニーネ応答を伝導しているユニット線維自身も逆行性に電気刺激されているので、これらの抑制が電気刺激された線維自身のナトリウムチャネル不活性化によるものか⁶⁾またはイオン電流の不活性化によるものか⁷⁾それとも他の異なるユニット線維の逆行性興奮によるものなのか⁸⁾がはっきり解らない。そこで、食塩応答の抑制について舌咽神経内、外側枝線維によって二重支配されている単一茸状乳頭を用いて調べた。図7はその同定方法を示す。

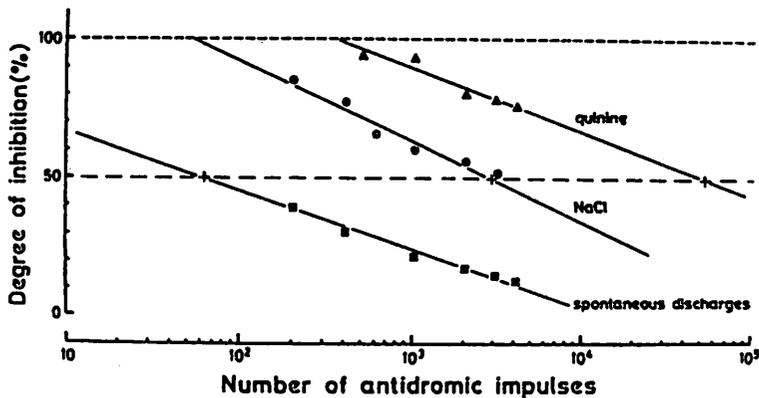


図6 舌咽神経求心性信号の抑制度と逆行性刺激のインパルス数との関係

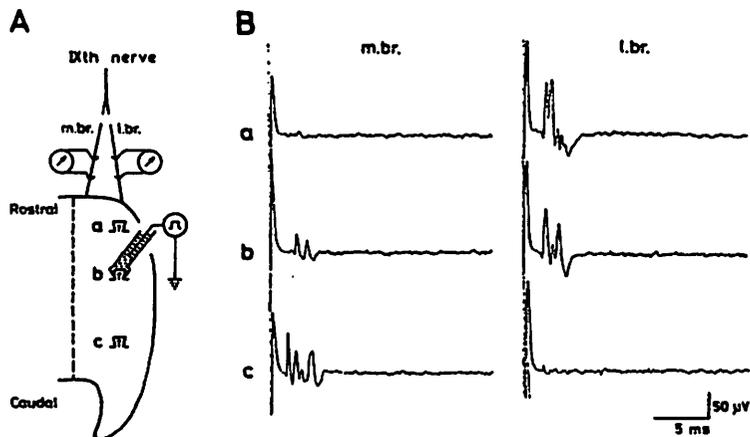


図7 舌咽神経の両側枝に支配された単一茸状乳頭の同定方法

まず、各単一茸状乳頭をガラス吸引電極で電気刺激し、その順行性活動電位をそれぞれの側枝から同時に記録した(A)。舌の吻側部にある乳頭(A-a)の電気刺激では舌咽神経外側枝のみにしかその記録が得られない(B-a)。反対に、尾側部にある乳頭(A-c)の刺激では内側枝のみにしか記録が得られない(B-c)。一方、舌の中央部付近にある乳頭(A-b)の刺激では両側枝から同時に活動電位が得られた(B-b)。

図8 Aはこのような両側枝に支配された単一乳頭へ電磁石に取り付けた先端直径 $300\mu\text{m}$ のガラス棒で20ms持続する機械刺激を与えたとき得られたもので内側枝からは速順応型の、外側枝からは遅順応型のスパイクが得られている。Bはこの乳頭をV字形ガラス管で吸引して3種類の味溶液(食塩、キニーネ、酢酸)

を流した場合で内側枝からは食塩及び酢酸の応答が、外側枝からは3種類全ての応答が記録された。

図9 Aは図8の実験で食塩によく応答した内側枝を記録側とし、外側枝に逆行性刺激を与えたことを示すものでその結果、Bのように刺激前後の食塩応答(aとc)が逆行性刺激(100Hz, 30s, 3V)によって著名に減少(b)し、その抑制度は約80%にも達した。図8の実験からこの乳頭を支配する外側枝からは遅順応型機械応答、食塩、キニーネ及び酢酸応答が記録されている。即ち、これらの応答を伝導しているユニット線維の逆行性興奮によって、内側枝に含まれた異なる感覚ユニットの求心性食塩応答が明らかに抑制されることが解った。同様な実験を54個の単一茸状乳頭について行い、一側枝の求心性食塩応答の抑制度と電気刺

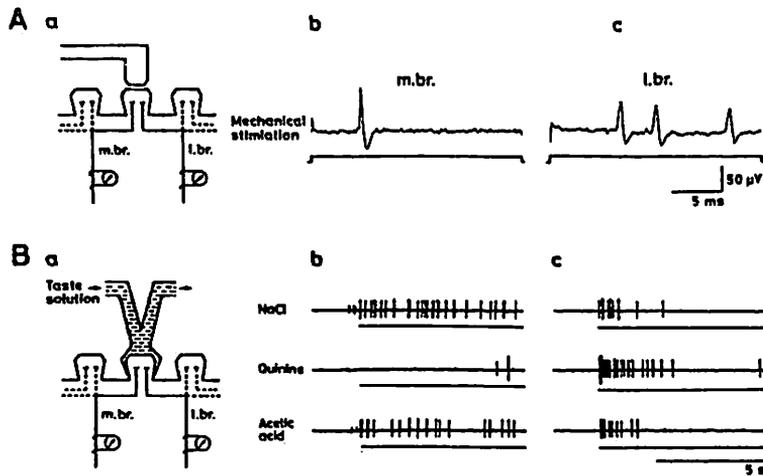


図8 両側枝に支配される茸状乳頭の機械及び味刺激に対して舌咽神経内側枝及び外側枝から得られた求心性応答

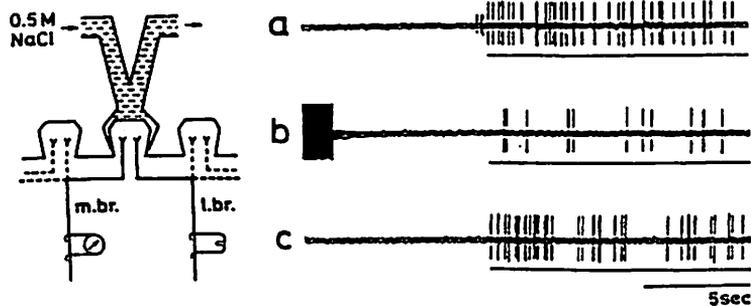


図9 一側枝の求心性応答に及ぼす他側枝の逆行性電気刺激の効果

表2 食塩応答の抑制度と刺激側枝の求心性応答数との関係

タイプ	応答の種類	抑制度 (%)	例数	タイプ別平均値
1	Rm	1.3	6	20.8
	Q	27.3	6	
	Sm	36.2	5	
2	N, Q	40.5	2	37.5
	N, A	32.5	2	
	Q, A	42.0	2	
	Q, Sm	53.0	3	
	Q, Rm	23.3	3	
	Sm, Rm	33.0	2	
	3	N, Q, A	48.7	
Q, A, Sm	68.3	3		
Q, A, Rm	34.0	2		
4	N, Q, A, Sm	85.2	5	76.7
	N, Q, A, Rm	77.0	3	
	Q, A, Sm, Rm	55.0	2	
5	N, Q, A, Sm, Rm	82.7	3	82.7

N: 食塩, Q: キニーネ, A: 酢酸,
Sm: 遅順応機械応答, Rm: 速順応機械応答

激を与えた側枝に記録された感覚応答の数との関係を調べた。表2にその結果を示したが、これを見て解るように、一側枝に観察された食塩応答の抑制度は逆行性刺激を与えた側枝に記録された感覚応答の数が増すに連れて増加している。又、タイプ1で、遅順応型機械応答(Sm)及びキニーネ応答(Q)を伝導しているユニットの逆行性活動は他側枝の食塩応答を25-35%程度抑制するが、速順応型機械店答(Rm)を伝導するユニットの逆行性活動は他側枝の食塩応答をほとんど抑制しないことがわかる。

もし、逆行性刺激を与えた側枝に観察される求心性感覚応答がそれぞれ互いに独立しているユニットによって伝導しているものと仮定するならば、食塩応答(N)を伝える感覚ユニットの逆行性活動による抑制度は表2から次のように計算できる。

41%(タイプ2のN, Q)-27%(タイプ1のQ)=14%
49%(タイプ3のN, Q, A)
-42%(タイプ2のQ, A)=7%
83%(タイプ4のN, Q, A, Sm)
-68%(タイプ3のQ, A, Sm)=15%

77%(タイプ4のN, Q, A, Rm)
-34%(タイプ3のQ, A, Rm)=43%
83%(タイプ5のN, Q, A, Sm, Rm)
-55%(タイプ4のQ, A, Sm, Rm)=28%
これより、食塩応答を伝える1本の感覚線維の逆行性活動による抑制度は全体平均で21.4%となる。各応答を伝える1本の感覚線維の逆行性活動による抑制度についても同様な計算を行った(表3)。この結果から、やはり速順応型機械応答を伝導している感覚ユニットの逆行性活動では他側枝の食塩応答はほとんど

表3 1本の感覚ユニットの逆行性活動による抑制効果

応答の種類	抑制度 (%)	例数
N	21.4	5
Q	19.2	5
A	9.2	5
Sm	24.8	8
Rm	0.5	8

抑制されず、一方、食塩、キニーネ、酢酸および遅順応型機械応答を伝えるそれぞれの感覚ユニットの活動は他側枝の食塩応答を約19%—25%程度抑制していることがわかった。

3. 6 逆行性化学刺激による抑制効果

より直接的に異なる味覚ユニット間の抑制効果を調べるために、二重支配された茸状乳頭と味神経で連絡している近隣の乳頭に味刺激を与えた。そしてこの刺激によって誘発された逆行性インパルスが二重支配された乳頭内で別の感覚ユニットに発生した求心性食塩応答を抑制するかどうかを観察した。図10は二重支配された乳頭と神経連絡をもつ近隣の乳頭の同定方法を示したものである。まず最初に、舌咽神経内、外側枝に二重支配された茸状乳頭であることを電気刺激で確かめた後(図7)、この乳頭(P.1)を食塩およびキニーネで味刺激して両側枝からその求心性応答を同時に記録した。この結果から、食塩応答を伝える感覚ユニットは内側枝に、一方、キニーネ応答を伝える感覚ユニットは舌咽神経の両側枝に含まれていることがわかった(A)。次に、近隣の乳頭を電気刺激してP.1から逆行性活動電位を記録し、P.1と神経連絡をもつ乳頭(P.2)を同定した。この乳頭(P.2)にキニーネ刺激を行い、P.1から逆行性インパルス

(B)。このことから、P.1とP.2はキニーネ感受性ユニット線維で神経連絡していることがわかる。さらに、P.2に食塩及びキニーネ刺激を与えてこの乳頭が外側枝のみで支配されていることを確かめた(C)。

これらの結果に基づいて、外側枝のキニーネ感受性ユニットの逆行性インパルスがP.1の食塩刺激によって誘発された内側枝の求心性応答を抑制することができるかどうか調べた。図11はその結果である。P.2のキニーネ刺激後3秒にP.1を食塩刺激することの求心性応答はキニーネ刺激前、後15分の求心性応答に比べ初期成分が減少していた(A)。Bはキニーネ刺激による抑制効果の回復過程を20例の平均で表したものである。対照値と比較して最初の1秒間の求心性応答は約40%程度減少し、その後徐々に元のレベルまで回復している。その回復時間は約4秒であった。

4. む す び

実験1.の結果(図4—7、表1)は舌咽神経線維の逆行性インパルスが舌の味刺激によって生じる求心性応答を選択的に抑制すること、抑制の程度は逆行性刺激の強さ、頻度及び持続時間のそれぞれに依存していることを示しており、その機能的役割は求心性応答

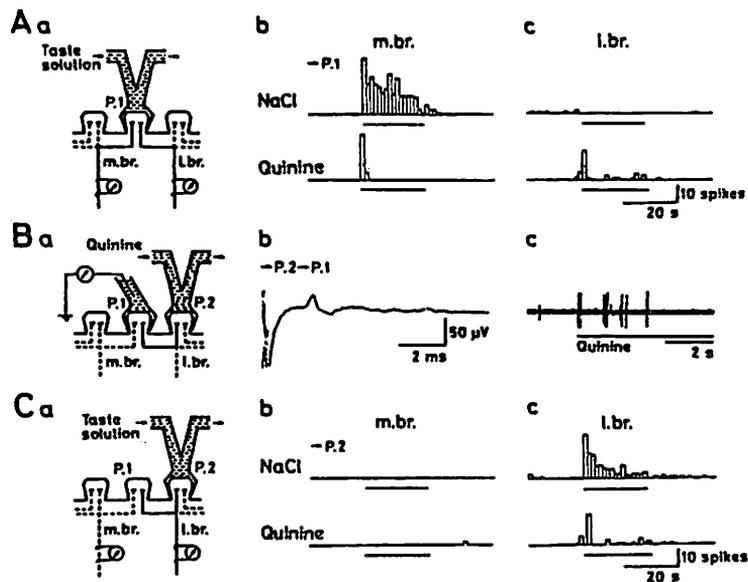


図10 二重支配された茸状乳頭と線維連絡のある近隣乳頭の同定方法

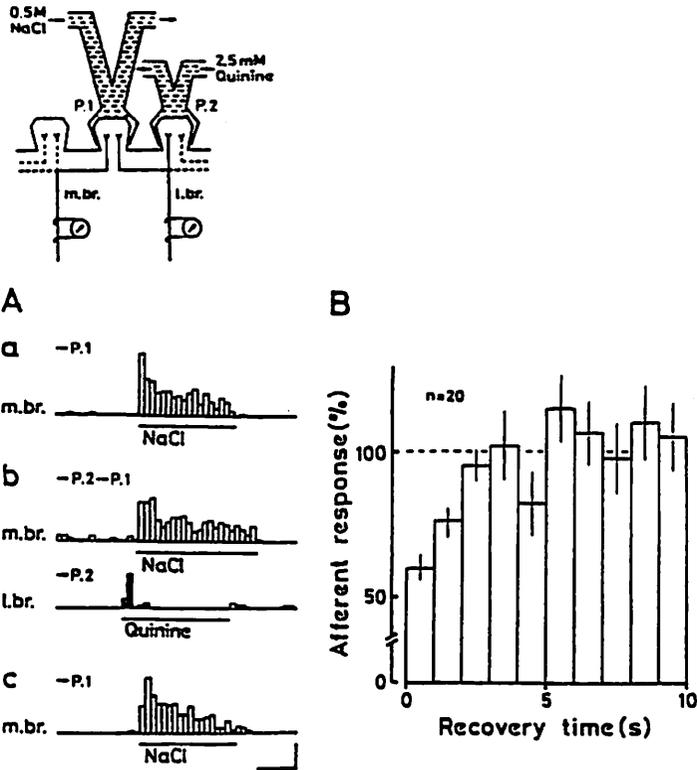


図11 食塩感受性ユニットとキニーネ感受性ユニット間の相互干渉作用の効果

よりも自発放電頻度を強く抑制して求心性信号の鮮鋭化を行っているものと推測された(図8)。このようなシステムは他の感覚器官でも存在する可能性がある。

単一茸状乳頭を用いた実験結果(図9-12, 表2-3)は一側枝に誘発された感覚ユニットの逆行性インパルス活動が他側枝の求心性食塩応答を抑制し、その抑制の割合は感覚ユニット線維の種類により違っており、遅順応型機械応答, 食塩, キニーネ及び酢酸応答を伝えるユニットの逆行性活動では約9-25%程度求心性応答を抑制したが、速順応型機械応答を伝えるユニットのそれでは求心性応答を抑制しないことを示した。

このような抑制現象は次のようなメカニズムによるものと考えられる。1) 自律神経による遠心性抑制, 2) 舌咽神経を逆行するインパルスが求心線維末端の外液カリウムイオンの蓄積をもたらしたことによる抑制, 3) 抑制性シナプスによる抑制等である(図12)。

本実験では舌咽神経に与えた電気刺激の最大強度は

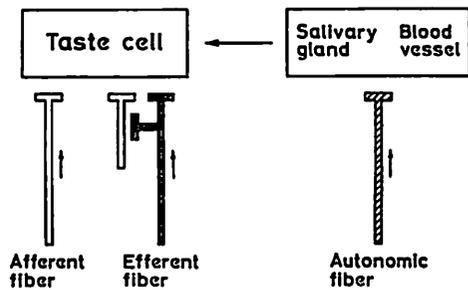


図12 抑制機序のモデル

3V であるから自律神経による抑制効果は考慮にいれないでもよいものと思われる。(カエルの自律神経を興奮させるためには30V以上の電圧が必要である⁹⁾。

末梢神経の頻回刺激で引き起こされる細胞外液中のカリウムイオンの蓄積によって中枢神経系のシナプス

伝達抑制を受けることが報告されている⁹⁾。Film and Esakov¹⁰⁾ はカエル舌咽神経の頻回刺激後求心性食塩応答の抑制が約12分程持続することを観察した。本実験でも舌咽神経束の頻回刺激による抑制時間は約15分程であった。この様に長時間持続するような抑制には確かにこのメカニズムが作用しているものとおもわれる。しかしながら、二重支配された単一茸状乳頭の実験ではその抑制時間は約5分程であった。このことから、異なる味覚ユニット間の抑制にはもう少し違ったメカニズムが存在するものと思われる。

電顕の研究によると、味細胞と神経終末部とのシナプス構造には4つのタイプが存在することが報告されている。即ち、味細胞-神経タイプ、神経-味細胞タイプ、神経-神経タイプ及びメルケル細胞-神経タイプである¹¹⁾。森元ら¹²⁾ はカエルの味覚器官の遠心性シナプスによる抑制機構を薬理的に研究し、この抑制にコリン性シナプスが関与していることを報告した。本実験の抑制機構もこの抑制性の化学シナプスによるものではないかと推測する。この場合、味細胞と感覚神経の間または2本の感覚神経の間に相反シナプスが存在するものと思われる。今後はこの神経系について時系列解析などを行い、経時的パターン変化が味覚情報にどの様な影響を及ぼしているかを検討したい。

参考文献

- 1) G. Rapuzzi and C. Casella: "Innervation of the fungiform papillae in the frog tongue.", *J. Neurophysiol.*, Vol. 28, pp. 154-165 (1965).
- 2) V. Taglietti et al.: "Interaction between taste receptors in the frog tongue.", *Pflugers Arch.*, Vol. 53, pp. 226-234 (1968).
- 3) N. Murayama and N. Ishiko: "Effect of antidromic stimulation of the glossopharyngeal nerve on afferent discharges occurring with and without sensory stimulation of the frog tongue.", *Neuroscience Letters*, Vol. 60, pp. 95-99 (1985).
- 4) N. Murayama and N. Ishiko: "Selective depressant of antidromic impulses on gustatory nerve signals.", *J. General Physiol.*, Vol. 88, pp. 219-236 (1986).
- 5) N. Murayama: "Interaction among different sensory units within a signal fungiform papilla in the frog tongue.", *J. General Physiol.*, Vol. 91, pp. 685-701 (1988).
- 6) J. A. Macdonald and M. S. Brodwick: "Inhibition in branch afferent neurons of the bullfrog tongue.", *J. Comp. Physiol.*, Vol. 87, pp. 293-316 (1973).
- 7) I. J. Miller, Jr.: "Peripheral Interactions among single papilla inputs to gustatory nerve fibers.", *J. General Physiol.*, Vol. 57, pp. 1-25 (1971).
- 8) F. A. Kutyna and R. A. Bernard: "Effects of antidromic activity in gustatory nerve fibers on taste disc cells of the frog tongue.", *J. Comp. Physiol.*, Vol. 118, pp. 291-306 (1977).
- 9) N. Kriz, et al.: "Extracellular potassium changes in the spinal cord of the cat and their relation to slow potentials, active transport and impulse transmission.", *J. Physiol.*, Vol. 249, pp. 167-182 (1975).
- 10) V. A. Filin and A. I. Esakov: "Interaction between taste receptors.", *Bull. exp. Biol. Med. USSR*, Vol. 65, pp. 12-15 (1968).
- 11) R. S. Dehan and P. P. C. Graziadei: "The innervation of frog's taste organ: a histochemical study.", *Life Sciences*, Vol. 13, pp. 1435-1449 (1973).
- 12) 森元克士, 佐藤昌康: "舌咽神経逆行性刺激による味神経応答の抑制", *日本生理学雑誌*, Vol. 37, pp. 110 (1975).