

磁共振脑功能成像在小动物嗅觉研究中的应用*

李安安^{1,2,4)} 饶小平^{1,4)} 吴瑞琪^{1,4)} 徐富强^{1,3)**}

¹⁾中国科学院武汉物理与数学研究所, 波谱与原子分子物理国家重点实验室, 武汉 430071;

²⁾湖北第二师范学院化学与生命科学学院, 武汉 430205;

³⁾武汉光电国家实验室, 武汉 430074; ⁴⁾中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要 综述了磁共振脑功能成像(functional MRI, fMRI)在嗅觉研究中的应用, 着重介绍 fMRI 在小动物嗅觉研究中的优势, 以及近 10 年来 fMRI 在嗅球(olfactory bulb, OB)信息编码、处理和传输机制研究中所取得的进展. 作为人类最古老的感觉方式之一, 整个嗅觉系统(除鼻腔中的嗅细胞)都属于边缘系统, 这赋予嗅觉系统一般的感知功能和许多不为人所熟知的对情感、记忆以及生理和心理状态调控的功能. 同时, 由于缺乏有效手段, 其内在性也使得嗅觉系统在大脑中的信息编码、处理、传输和感知等机制的研究极为困难. fMRI 由于具有相对高的时间和空间分辨率, 并可以无创地、重复地观测大脑任何部位的神经活动而被广泛应用于神经科学的研究. fMRI 在嗅觉系统的应用使我们对人的嗅觉高级中枢感知机制方面的研究取得了一定的进展, 而嗅球为嗅觉信息编码和处理中心, 由于其尺寸和人体 MRI 空间分辨率的限制, 对人 OB 中编码机制的研究一直无法进行.

关键词 磁共振脑功能成像(fMRI), 编码, 嗅球, 嗅觉

学科分类号 Q4, Q189

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00341

从 1952 年以来, 核磁共振的研究在物理、化学、生理学或医学三个领域共 6 次获得诺贝尔奖, 足以说明相关领域的重要性. 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)始于 20 世纪 70 年代后期, 其基本原理是利用质子的核磁共振信号在组织内不同的局部微环境中具有不同的衰减行为, 通过电磁技术定位和数据处理, 获得物体内部的结构图像, 因此任何组织病变将影响正常的磁共振信号的衰减, 形成不同的影像而可能被 MRI 检出. 由于其高分辨率、高对比度、无损性和无放射性等优点, MRI 已被广泛地应用于全身各系统的疾病, 包括肿瘤、炎症、创伤、退行性病变、血管变化以及各种先天性疾病等的检查, 成为继 X 射线之后最重要的影像学临床诊断方法^[1-2].

基于常规 MRI 的磁共振脑功能成像(functional MRI, fMRI)起始于 20 世纪 90 年代, 主要包括血氧水平依赖 (blood oxygenation level dependent, BOLD)、弥散加权 / 张量、灌注加权和分子造影剂等形式. 其中 BOLD-fMRI 占主导地位, 其信号基础是受激组织的血氧供应和代谢的不平衡, 即脑区

神经元活动增加, 局部血流量和血流容积也增加, 但增加的血氧量大于消耗的血氧量, 导致神经活动区的氧合血红蛋白量多于参照状态, 而脱氧血红蛋白含量少于参照状态. 因脱氧血红蛋白为顺磁性物质, 其含量的改变导致 MRI 信号的改变. 尽管 BOLD 信号的翻译还存在不确定性^[2-3], 但它与神经活动的关联性毋庸置疑. 作为目前人们所掌握的唯一无侵入、无创伤、可精确定位个体参与特定任务时整个脑区活动情况, fMRI 已被广泛地应用于基础神经科学的各个领域. 其用途由起始时单纯的大脑皮层功能定位, 到脑内不同功能区之间的功能联系, 从对各种感觉系统和运动感知等基本脑功能的机制研究, 到对思维、记忆和心理活动等高级脑功能的探索, 详细综述见参考文献[2, 4]. 本文仅综述

* 国家自然科学基金杰出青年基金(08Q1011001), 中国科学院百人计划(08B1021001), 武汉光电国家实验室创新基金(Z08004)和中国科学院武汉物理与数学研究所重点资助项目(08K1011001).

** 通讯联系人.

Tel: 027-87197091, E-mail: fuqiang.xu@wipm.ac.cn

收稿日期: 2009-05-28, 接受日期: 2009-08-31

fMRI 在嗅觉研究中的应用，集中在近 10 年来 fMRI 对小动物嗅觉研究中涉及嗅球(olfactory bulb, OB) 信息编码、处理和传输机制等研究所取得的进展。

1 嗅觉及其常见研究方法

嗅觉对于动物早期生存、寻找食物和配偶、认知猎物 and 天敌，以及种内交流和通讯都非常重要。嗅觉也给人类提供了关于食物、自身、其他人、动物、植物以及环境等多方面的信息，明显地影响人类的生理、心理和情感状态以及动物的摄食行为和社会行为^[6]。啮齿类的嗅觉通路主要有两条(图 1): 主嗅(main olfactory system)和副嗅系统(accessory

olfactory system)。主嗅系统包括鼻腔嗅上皮中的嗅细胞、主嗅球及其高级中枢的投射区，大多认为该系统针对一般气味的检测、分辨和甄别。副嗅系统包括外周犁鼻器中的化学感应神经元、副嗅球及其高级中枢的投射区，大多认为与信息素功能有关。但最近的研究表明主、副嗅系统具有一定的交叉^[6]。其他与嗅觉有关的器官和神经还有马赛若鼻中隔器(septal organ of masera)、零神经末梢(terminal endings of the nervous terminals)、三叉神经末梢(terminal ending of trigeminal nerve)，但它们作为化学感受器的功能以及如何影响动物行为及生理的机制尚不清楚^[7]。

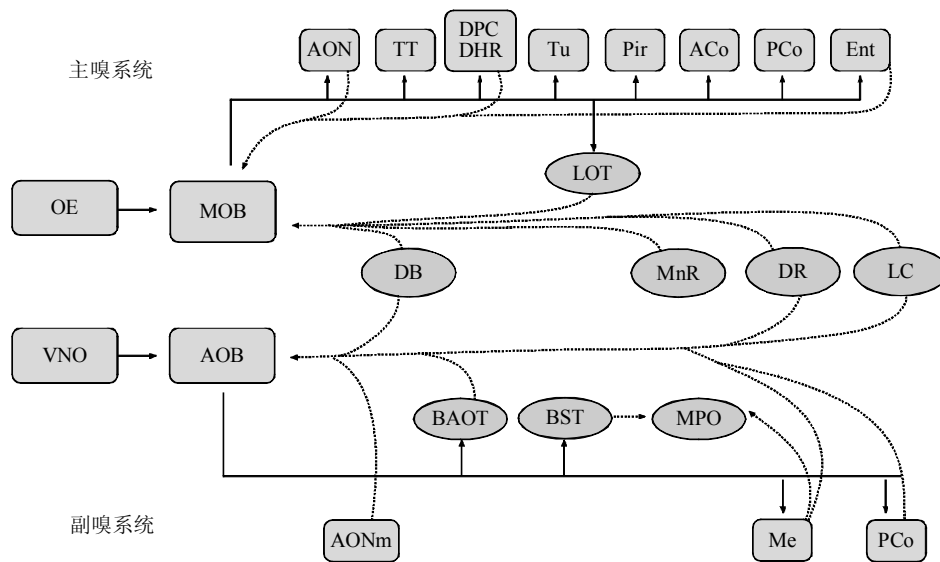


Fig. 1 General pathways of mammalian olfactory system (Modified from reference[8])

图 1 哺乳动物嗅觉主要通路示意图 (改编自参考文献[8])

气味信息或信息素信息在被传到嗅球(主嗅球或副嗅球)以后，还可以传到其他与情绪、情感相关的脑区，并与这些脑区有往返联系。ACo: 前杏仁皮质核(anterior cortical amygdaloid nucleus); AOB: 副嗅球(accessory olfactory bulb); AON: 前嗅核(anterior olfactory nucleus); AONm: 前嗅核中区(medial division of anterior olfactory nucleus); BAOT: 副嗅束核(bed nucleus of the accessory olfactory tract); BST: 终纹床核(bed nucleus of the stria terminalis); DB: 斜角带核(nucleus of diagonal band); DHR: 背侧海马原基(dorsal hippocampal rudiment); DPC: 背侧大脑脚皮质(dorsal peduncular cortex); DR: 中缝核(dorsal raphe nucleus); Ent: 内嗅皮层(entorhinal cortex); LC: 蓝斑(locus coeruleus); LOT: 外侧嗅束(lateral olfactory tract); Me: 中央杏仁核(medial amygdaloid nucleus); MnR: 中缝核(medial raphe); MOB: 主嗅球(main olfactory bulb); MPO: 外侧视前区(medial preoptical area); OE: 嗅上皮(olfactory epithelium); PCo: 后杏仁皮质核(posterior cortical amygdaloid nucleus); Pir: 梨状皮层(piriform cortex); TT: 外侧纵纹(taenia tecta); Tu: 嗅结节(olfactory tubercle); VNO: 犁鼻器(vomeronasal organ)。

对于主嗅系统，空气中的气味分子通过呼吸而溶解于鼻腔黏膜中，并与其中的嗅细胞(属于神经细胞)树突纤毛上的气味受体蛋白结合，产生动作电位，启动嗅觉过程。神经信息由嗅细胞的轴突(嗅神经)送往嗅觉通路的第一个中继站——OB，在 OB 中，嗅神经的轴突、投射神经元僧帽细胞的树

突和局部神经元形成嗅觉功能单元的突触结构——嗅小球。僧帽细胞与其深层的颗粒细胞形成神经环路，进一步调制僧帽细胞的神经输出。僧帽细胞 - 颗粒细胞神经环路处理过的神经信息经由僧帽细胞的轴突所汇聚而成的嗅束将信息进一步传递给包括嗅皮层梨状皮层、杏仁核、内嗅皮层和腹侧纹状体

等与情绪情感相关的十几个脑区(图 1), 最终形成嗅觉以及与嗅觉相关的神经活动^[8]. 由 OB 结构和在嗅觉系统中的枢纽位置可以推断出 OB 的功能活动在嗅觉的信息编码、处理和传送过程中占据的重要地位. 因此, 大量有关嗅觉系统的研究均集中在 OB.

在对嗅觉信息编码和处理的研究中, 许多技术, 包括 2-DG 摄取(2-deoxy glucose uptake)、c-fos 作图、钙离子荧光和电压敏感性成像、电生理记录、内源性光学成像、免疫组织化学以及分子生物学等, 从不同的方面揭示了 OB 的嗅觉感知过程及运作原理^[5,9]. 近年来, fMRI 在嗅觉的应用又使我们对 OB 的认知更进了一步. 在这些方法中, 2-DG 摄取、c-fos 作图以及免疫组织化学方法具有很好的空间分辨率, 能够精确定位到 OB 内部的细微结构, 但这些方法并不能体现 OB 功能活动的动态性, 即缺乏 OB 活动的时间维度. 光学成像方法(如钙离子荧光、电压敏感性和内源性光学成像)和电生理记录方法虽然具备非常好的时间分辨率, 但一次只能考察 OB 某个局部或某些位点的信息, 而不能同时监测整个 OB 的活动. 而 fMRI 方法可兼顾空间和时间两个维度, 既能精确定位 OB 活动的空间位置, 又能提供该位置神经活动的动态信息.

fMRI 在嗅觉研究中的应用最开始是以人为研究对象. 这些早期的研究主要包括确定气味所激活的脑区, 监测这些脑区的气味反应情况, 阐明这些脑区在嗅觉信息处理、气味鉴别以及气味记忆中的作用^[1,4]. 关于 fMRI 在人嗅觉研究中的应用, 已有多篇综述作了较为详尽的阐述^[1,4], 本文仅对主要研究成果作概括性介绍.

利用 fMRI 的研究发现, 能够被气味激活的脑区包括额叶、眶叶、梨状皮层、内嗅皮层、颞叶、岛叶、扣带皮层、顶叶、外侧裂周区、海马、杏仁核和小脑等. 在此后的研究中, fMRI 的应用包括初级的嗅觉处理以及与嗅觉相关的脑的高级认知功能活动, 这些研究主要包括以下几个方面: 揭示了嗅觉系统从嗅上皮到嗅皮层的多种适应机制, 适应可以发生在初级以及次级嗅皮层, 信号在经历早期的强烈瞬时增强后, 在随后的 30~40 s 逐渐减弱; 探讨了嗅觉系统对来自不同方位气味的空间信息提取机制; 从影像学的角度证明了大脑两半球对气味的感知具有不对称性, 即右侧脑区的 fMRI 信号往往比左侧的信号强; 揭示出嗅觉探测和鉴别能力的性别差异, 一般来讲, 气味所诱发的 fMRI 活动都

是女性比男性强, 在某些特定的区域, 如额叶和外侧裂周区, 女性所激活的像素数量可以达到男性的 8 倍; 证实了气味刺激通常也与情绪相关, 令人愉快的和令人不愉快的气味(克莱门氏小柑橘和异戊酸)在大脑诱发不同的活动模式, 且只有令人厌恶的气味才能在杏仁核诱发强烈的反应; 系统研究了气味真实感知和气味幻觉的脑机制, 真实气味和幻觉气味均能激活相同的特定嗅觉脑区, 而且对不同情感类型气味(愉快的和不愉快的气味)表现出相同的差异^[10-11]. 这些结果表明, fMRI 的活动能很好地反映人在特定生理状态下对不同类型气味的反应及相关心理状况.

2 fMRI 对小动物 OB 研究的特点

尽管以上这些研究对于我们理解与嗅觉信息处理、气味鉴别和认知等相关脑区有非常重要的意义, 但这些研究都无法涉及 OB 的功能活动. 正如我们上面所提到的, OB 在解剖学位置上是嗅觉通路的第一个中继站(图 1), 所有进入更高级中枢的信息必须先经过 OB, 使它成为嗅觉信息编码的中心和信息传递的枢纽, 因此揭示 OB 的功能及运作原理对于理解嗅觉的整个过程至关重要. 然而, 由于 OB 在人脑只占据非常小的空间(只有 fMRI 的几个像素), 而用于人的 fMRI 磁场的场强一般较弱, 所以用 fMRI 对 OB 功能活动的研究在很长一段时间均未能实现. 直到 1998 年, 耶鲁大学的 Robert Shulman 实验室才首次利用高场强的 fMRI (7.0T) 揭示了大鼠 OB 对气味的反应情况^[12], 开始了对 OB 功能活动的 fMRI 研究, 并在此后 10 年取得了若干重要进展.

2.1 解剖 MRI 可以清楚分辨出 OB 的层状结构

要得到 OB 层状结构的 BOLD-fMRI 图像, 必须先获得高分辨率的解剖 MRI 影像. 图 2a 是 OB 的一张冠状切面活体动物的解剖像, 该解剖像所揭示的 OB 层状结构与甲苯染色位置相当的 OB 冠状切面图(图 2b)非常一致. 在 MRI 解剖像中, OB 从外到内的层状结构为嗅神经层 (olfactory nerve layer, ONL)、嗅小球层 (glomerulus layer, GL)、外网状层 (external plexiform layer, EPL)、颗粒细胞层 (granule cell layer, GCL) 以及室管膜下区 (subependymal zone, SEZ) 都清晰可见. MRI 所揭示的 OB 层状结构与组织化学所揭示的层状结构高度一致性为 BOLD-fMRI 功能成像研究中神经活动的精确定位奠定了良好基础.

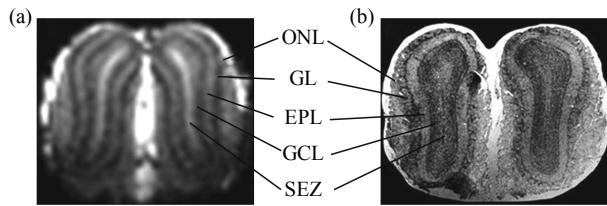


Fig. 2 The anatomical MRI (a) and cresyl-stained histological staining (b) of a coronal section of rat OB
图 2 OB 高分辨率的解剖 MRI 像(a)与组织化学方法得到的解剖像(b)

2.2 fMRI 清晰地显示了气味刺激主要激活了OB的GL和ONL

刺激后 BOLD 信号与刺激前 BOLD 信号的相对变化值(通常用 $\Delta S/S$ 来表示, 即刺激后与刺激前的信号差值除以刺激前信号值)可以揭示出 OB 不同区域或不同层被气味所激活的情况. 乙酸异戊酯刺激后, BOLD 高度激活的区域位于 OB 的内侧和外侧(medial and lateral sides)^[12-14]. 相对于其他部位的信号值($\Delta S/S$, $\sim 5\%$), GL 激活的信号相当大($\Delta S/S$, 20%). 不同的动物存在个体差异, 但总体上来看, 激活的区域主要位于 OB 靠外的几层, 包括 ONL、GL 和 EPL, 这与用 2-DG 摄取方法在 OB 上所得到的结果类似^[14]. 而这种 BOLD 信号的分布也与这几层的结构和组成密切相关. ONL 是由所有的不同类型嗅觉受体神经元的轴突构成, 这些轴突聚合成嗅神经束, 从嗅上皮出发穿过筛板进入 OB. 在 OB, 每个嗅神经束包含约 50 个轴突并且这些轴突被胶质细胞所包绕, 这些轴突是大脑中最为细的类型之一, 而且是无髓并紧密包扎在一起, 这就需要大量的能量用于离子的转运和膜电位的保持^[14], 这些能量最终体现在较强的 BOLD 信号上. GL 层主要是由嗅细胞的轴突末梢、输出神经元和局部神经元的树突构成, 是 OB 中突触最密集的地方, 也是毛细血管最密集的地方^[14], 该层的 BOLD 信号最强, 表明突触活动消耗大量能量, 这与理论计算的结果相吻合^[15].

2.3 fMRI 进行 OB 的功能研究时可以清楚显示动物个体间的重复性和差异

作为一种可靠的研究方法, 其研究结果必定具备相当好的重复性. 在最早期的小动物 OB fMRI 研究中, 作者也都非常关心重复性, 从他们的实验结果看, 同一只动物的不同刺激以及不同动物都具备相当好的重复性^[12-14]. Schafer 等^[16]引进了用空间

活动相关系数(SCC)将 OB 激活区域量化的方法, 系统比较了同一动物在不同气味刺激时, 以及不同动物之间 OB 活动模式的重复性情况. 他们的研究表明, 在同一动物内, 同一种气味的不同次刺激可以诱发重复性非常好的模式, SCC 约为 0.6 ($SCC \geq 0.2$ 表示显著相关). 活动模式不完全一样可能与动物的生理状态、麻醉程度以及对气味的适应等相关, 这些因素的影响可以通过优化实验条件尽量降低. 影响重复性的另一重要因素也可能是神经解剖的属性, 嗅觉神经元(olfactory sensory neurons, ORN)的树突并不是均匀分布在整个嗅黏膜上, 鼻甲骨大小瞬时变化而引起微小气味输送的变化很可能导致所观察到的微小活动模式的改变^[17]. 另外, 在邻近的或较远的嗅小球之间有大量的中间神经元连接, 这些中间神经元连接既可以作为局部调谐工具, 也可以用于易化 OB 的时相编码^[18]. 这些因素都可以影响 OB 活动模式的重复性. 在不同个体, 主要的拓扑模式往往具有很好的重复性, 然而个别活动区域则往往有较大的变异. 这些变异除以上所提到的引起个体内差别的原因外, 还可能与 OB 发育的遗传投射模式相关^[19], 该模式显示, ORN 投射和嗅小球特异性在广泛投射区域大致是恒定的, 但某个嗅球的精确定位会随着 OB 表面的实质成分的变化而发生改变, 即使是在相同环境下生活的同源鼠系也存在这种情况, 而且其相邻的嗅小球及其相对位置在同一动物的两个嗅小球中也有相当变化. 因此个体间 OB 活动模式的变异正好说明了动物个体之间本身所具备的差别, 这是其他成像方法如 2-DG uptake 以及 c-fos 等所不具备的. 这两种方法均需要将多个动物的激活模式进行叠加, 而无法得到个体间的差异.

2.4 fMRI 进行 OB 的功能研究时具有很高的空间分辨率

空间分辨率直接影响影像方法的应用范围, 故所有成像技术都必须重点考虑. 在利用高场强的 fMRI 对动物 OB 进行研究时, 其空间分辨率一般约为 $0.01 \mu\text{l}$ (长 \times 宽 \times 片厚, $220 \mu\text{m} \times 220 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$)^[12-14]. 在该空间分辨率情况下, 可以得到信噪比非常好的 BOLD 信号. 然而, Kida 等^[20]通过调节实验参数逐步减少像素体积来提高空间分辨率, 他们最终可将 OB 的空间分辨率最高提高至原来的 8 倍, 达到长 \times 宽 \times 片厚为 $110 \mu\text{m} \times 110 \mu\text{m} \times 125 \mu\text{m}$ 的水平(体积约为 $0.001 \sim 0.002 \mu\text{l}$). 尽管在此空间分辨率条件下, 刺激的时程需要延长, 信噪

比也会明显下降,但在某些特殊研究需要的情况下是有意义的.假如我们需要研究气味刺激后单个嗅小球的活动情况,由于单个嗅小球的体积约为 $0.002\ \mu\text{l}$,该空间分辨率就非常必要.

2.5 fMRI 进行 OB 的功能研究时具有较高的时间分辨率

高时间分辨率是揭示脑的功能状态随时间变化动态过程的保证,故为所有成像方法必须具备的另一特性.与 fMRI 所具备的优越的空间分辨率相比, fMRI 所具备的时间分辨率相对逊色.多数情况下 fMRI 需要平均数十秒或几分钟内的信号^[12-14],尽管这与 2-DG up-take 以及 c-fos 等成像方法相比具有很大的优越性,但与电生理记录(ms 级)以及钙离子成像方法相比,其时间分辨率有较大差别.另外,与快速的神经电信号不同, BOLD 信号反映的是相对较慢的血氧信号, fMRI 研究的是 OB 对气味间接、长延迟反应,该方法的原理决定了其不可能具有特别优越的时间分辨率.因此,提高 fMRI 的时间分辨率对于研究 OB 对气味刺激反应的动态变化有一定意义. Martin 等^[21]通过使用超快成像序列和短时程刺激的方法将 fMRI 在 OB 的时间分辨率进一步提高,达到 1 s. 由于即使是短的嗅觉刺激也不像听觉或视觉刺激那样持续时间往往只有几十毫秒甚至几毫秒,一般都长达数秒,因此 1 s 的时间分辨率对于观察短时程气味刺激所诱发的 OB 功能活动变化的需求基本满足.

总之, fMRI 具有无创性、高的空间分辨率及相对高的时间分辨率等优点,并能提供关于 OB 活动的多维信息(三维空间、时间和强度信息).另外, fMRI 能研究整个 OB 对气味的响应情况,包括各层之间的差别,并能在个体内或个体间重复实验.这是其他成像方法,如 2-DG up-take、内源性光学成像、钙离子荧光成像以及 c-fos 等所不能兼得的.

3 fMRI 在小动物嗅觉研究中的主要进展

3.1 fMRI 能用于探讨 OB 对气味刺激的编码问题

感觉是脑对外界客观刺激的主观反应,外界环境刺激作用到各类感受器后,可引起感受器产生神经活动,这些神经活动沿着相应的神经通路被传送到特定的脑区,最终引起感觉.不同类型的感觉刺激会引起大脑皮层不同部位的激活,从而对不同刺激进行编码.如视觉信号投射到大脑皮层的枕叶,听觉信号投射到大脑皮层的颞叶,触觉信息投射到

大脑皮层的顶叶等,从而形成了感觉投射图.大脑不同区域被激活代表接受到了不同的感觉刺激,从而对相应的感觉进行初步编码.对于特定的感觉刺激而言,如声音,具有不同的频率,大脑在进行不同频率编码时,又在听觉投射区进一步形成了音频投射图,即不同的频率再由脑的不同区域编码,最终形成了脑对感觉刺激的空间编码.除听觉外,空间编码也普遍存在于视觉系统以及躯体感觉(触觉)系统等.然而,由于引起嗅觉的化学物质的特性不存在渐变性(声波的频率以及光波的波长都可以是渐变的),因而,嗅觉是否可以像其他感觉一样进行空间编码一直受到人们的质疑.早在 1950 年, Adrain^[22]就提出气味可以由 OB 的空间活动模式来编码,而在 1975 年耶鲁大学的 Shepherd 实验室首次用 2-DG 摄取的方法证实了不同气味可以激活不同的空间活动模式,为嗅觉的空间编码提出了首个证据^[23].在过去的 10 余年中, Leon 和 Johnson 实验室继续用 2-DG 摄取方法系统地研究了 OB 对气味的空间编码,并构建了 395 种物质的空间活动图^[24],这些活动图可以从他们实验室的网站上找到(<http://leonservr.bio.uci.edu>). 东京大学的 Kensaku Mori 实验室用内源性光学成像的方法也在 OB 构建了气味的空间活动图,他们将 OB 分成 9 个区(背侧 4 个区 ABCD,腹外侧 5 个区 EFGHI),这些区域分别对具有不同化学特性的气味有反应,进一步证实了 OB 对气味信息的空间编码^[25].然而,正如以上所提到的,2-DG 摄取方法虽然能够揭示整个 OB 的活动模式,然而一次却只能测试一种气味,无法在同一只动物比较不同气味或同一气味不同浓度的活动模式.内源性光学成像虽然可以在同一只动物比较不同气味的空间活动模式,并具有相当好的时间、空间分辨率,却只能考察整个 OB 的一部分,并不能同时研究整个 OB,也无法比较 OB 中不同层之间的活动关系.只有 fMRI 方法才能兼备以上两个方面,对 OB 的气味空间编码进行有效研究.

Xu 等^[14]使用高空间分辨率的 fMRI 研究了不同碳链长度的酯和醛在 OB 所激活的空间活动模式.他们的研究表明,酯和醛在 OB 中激活了不同的空间活动模式,而对于不同碳链长度的酯或醛,在 OB 激活的空间活动模式虽然有些差异,但对于多数的活动区域表现出了很大的相似性.那些存在差异的区域则正好可以用于编码这些物质的细微差别.这些激活的区域主要集中在 OB 的外侧和内

侧, 这与其他研究如 2-DG 摄取以及内源性光学成像方法所得到的结果一致. 另外, 尽管 OB 内外侧所接受的神经投射来自功能类似的受体神经元, 并被认为形成了镜像的功能对称^[26], 但该研究发现, 气味所激活的 OB 的内外侧活动模式并不完全对称, 该不对称性可能为 OB 的气味编码提供了另一维的编码机制, 因而能对气味间的细微差异的鉴别起重要作用. 因此, fMRI 不仅与 2-DG 摄取和内源性光学成像对 OB 空间编码取得了一致的研究结果, 更拓展了 OB 对气味的空间编码的概念.

3.2 fMRI 可以研究 OB 不同层对气味的适应情况

适应是感觉系统对持续或重复刺激反应的减弱, 可以帮助大脑从原有刺激中区分出新奇的刺激. 该现象存在于感觉系统的分子、细胞、细胞集合以及系统水平. 近年来, 有关嗅觉适应现象的研究要么集中在较宏观的方面, 如动物行为学研究和生理心理学的研究, 要么集中在较微观的方面, 如单个神经元、信号传导通路、分子以及相关蛋白质动力学的研究^[27]. 因此很有必要的使用是介于宏观和微观之间(如细胞集合或某个脑区)的介观方法(如 fMRI 等)将这两类极端方法联系起来, 从而系统地解释嗅觉适应现象. 另外, 嗅觉受体神经元与吸入的气味分子结合后, 将这些化学信号转化为电信号, 并被送到 OB. 在 OB 中, 外周信息经过 GL、EPL、OB 内联合系统(intrabulbar association system, IAS)和 OB 间神经环路处理后, 神经信号通过嗅球的僧帽细胞被送往高级感知中枢. 因此对 OB 适应的研究可以解释嗅觉外周适应如嗅上皮处的适应与心理物理的嗅觉感知适应的联系.

Schafer 等^[28]使用 7T 的高分辨率 fMRI 方法系统研究了 OB 不同层对气味刺激的适应现象. 他们的研究发现, OB 的适应是与气味的浓度、持续时间以及刺激间隔有关. 气味的浓度越大, 刺激持续时间越长, 越容易适应, 而气味刺激间隔时间越长则越不容易适应. 这些结果与以前其他方法如电生理记录单个神经元、心理学研究等的结果非常类似. 然而, 由于 fMRI 具有很高的分辨率, 可以比较 OB 不同层对气味的适应情况. OB 的神经传入是由 ONL 传到 GL, 通过同时比较这两层的气味适应现象发现, GL 的适应快于 ONL 的适应. 根据该现象以及前人的电生理实验现象, 他们提出嗅觉适应可以发生在嗅觉神经传入的任何一个中继站, 这样, 在神经信号的上传过程中, 适应会越来越强. 可很好地揭示了为什么心理学研究的适应要

显著比在嗅上皮处的适应更强烈. 因此, fMRI 的研究很好地将分子水平以及行为学水平的适应现象衔接起来, 部分阐释了嗅觉适应的原理.

3.3 fMRI 可以同时研究主嗅系统和副嗅系统对气味和信息素的反应情况

正如前面所提到的, 哺乳动物的嗅觉系统主要包括两个通路, 主嗅系统和副嗅系统. 在进入高级中枢之前, 主嗅系统主要由嗅上皮和主嗅球构成, 而副嗅系统则主要由犁鼻器和副嗅球构成. 在早期的研究中, 人们普遍认为主嗅系统和副嗅系统在功能上有很大的差别: 主嗅系统处理普通的气味, 而副嗅系统则特化为处理信息素以及调节特定的行为和内分泌活动.

然而, 近年来大量的研究, 包括分子生物学方法、组织化学方法、电生理记录以及行为学研究等^[6, 29], 均发现这两个系统的功能并不完全独立, 而是具有相互交叉的复杂关系. 对该问题的研究最直接的证据应该是用功能脑成像的方法来直接观测主嗅球和副嗅球被普通气味或信息素的激活情况. 尽管有研究者用 c-fos 表达的方法证明了二者的交叉, 但该方法却无法体现出这些区域被激活时的动态信息. Xu 等^[30]用 7.0T 高分辨率 fMRI 的研究发现, 普通气味如乙酸异戊酯和信息素如 2-庚酮都能同时激活主嗅球和副嗅球, 只是前者在主嗅球有更大的激活而后者在副嗅球有更大的激活. 在用小鼠尿液(既含有普通气味也含有信息素)刺激时, 主嗅球和副嗅球都被激活, 但主嗅球的激活强度比副嗅球的更大. 另外, 他们还比较了主嗅球和副嗅球对尿液刺激反应时信号随时间变化的动态情况: 主嗅球的信号在气味给出后迅速上升到最大, 然后逐渐减弱至初始值; 而副嗅球的信号则先上升至一定值, 在此基础上又继续升高, 最后才逐渐减弱至初始值, 即经历了两次信号的增强. fMRI 的研究从空间和时相两个方面均证明了主嗅系统和副嗅系统之间存在着复杂的交互作用, 而传统的关于两个系统功能截然不同的观点需要进一步修正.

4 结 语

尽管在过去的 10 年中, fMRI 为嗅觉研究提供了很多信息, 然而其应用于嗅觉基本问题的解决仅仅只是个开始. fMRI 可以无损地提供活体动物中功能单元、脑区内和脑区间等层次上的神经活动的强弱和关联等信息. 之前的 fMRI 研究集中于 OB, 即嗅觉系统的第一个中心, 那么其他众多嗅觉脑区

(初级脑区见图 1)在受激时的应答行为、与 OB 活动之间的关系、这些脑区之间的关系, 以及它们在嗅觉信息编码、解码、感觉形成、与其他感觉的整合方面的功能等问题的研究, fMRI 成为必需的手段, 因为几乎所有与嗅觉相关脑区都处于大脑深层。另外, 与之紧密相关的是最近引起广泛关注的大脑中的“默认系统”(default system)和脑区功能连接的研究^[1], 它们对揭示大脑基本功能具有极大的意义。由于嗅觉是唯一不通过丘脑的感觉系统, 可作为揭示大脑基本工作原理研究中的一个特殊模型, 而这类研究的最重要工具是 fMRI。虽然 OB 中的群体编码机制已广为接受, 但单个神经元(电生理记录)、功能单元及局部 OB(光学成像)、OB 内和 OB 间(fMRI)等层次上神经活动的关系, OB 中活动模式受生理状态、学习记忆等的调控, 空间活动模式与时间活动模式之间的辩证统一等 OB 内信息编码的基本问题都远未解决, fMRI 可从特别的角度和水平上提供珍贵的帮助。动物模型的优越性是克服了以人体为实验对象的生物医学研究在道德伦理、方法学 and 经济学等方面的局限性, 与其他方法包括电生理、光学成像、遗传学(转基因动物)、药理学、分子生化和手术等技术联合使用, 可深入地研究基因、通路、神经网络等的性质和功能, 环境、药物、遗传因素对疾病发生及发展的影响, 发育、病理和药理学的机制等。嗅觉与许多严重疾病, 包括老年痴呆、糖尿病、肥胖症、帕金森氏症、亨廷顿氏症等密切相关。例如嗅觉障碍是老年痴呆的症状之一, 相关研究可能揭示老年痴呆的发病机制, 发现早期诊断的方法。因此, fMRI 技术在嗅觉系统的应用如同在其他众多领域一样, 具有重大的基础研究意义和临床应用价值。

参 考 文 献

- [1] Xu F, Greer C, Shepherd G M. Application of functional MRI in olfactory system//Simon S A, Nicolelis M A L. *Methods in Chemosensory Research*. USA: CRC Press, 2001: 465-476
- [2] Logothetis N K. What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature*, 2008, **453**(7197): 869-878
- [3] Sirotni Y B, Das A. Anticipatory haemodynamic signals in sensory cortex not predicted by local neuronal activity. *Nature*, 2009, **457**(7228): 475-480
- [4] Savic I. Imaging of brain activation by odorants in humans. *Curr Opin Neurobiol*, 2002, **12**(4): 455-461
- [5] Xu F. That's your left foot and... *Trends Neurosci*, 2001, **24**(10): 549-550
- [6] Luo M, Fee M S, Katz L C. Encoding pheromonal signals in the accessory olfactory bulb of behaving mice. *Science*, 2003, **299**(5601): 1196-1201
- [7] Kimchi T, Xu J, Dulac C. A functional circuit underlying male sexual behavior in the female mouse brain. *Nature*, 2007, **448**(7157): 1009-1015
- [8] Shipley M T, Ennis M. Functional organization of olfactory system. *J Neurobiol*, 1996, **30**(1): 123-176
- [9] Xu F, Greer C A, Shepherd G M. Odor maps in the olfactory bulb. *J Comp Neurol*, 2000, **422**(4): 489-495
- [10] Porter J, Anand T, Johnson B, *et al.* Brain mechanisms for extracting spatial information from smell. *Neuron*, 2005, **47**(4): 581-592
- [11] Bensafi M, Sobel N, Khan R M. Hedonic-specific activity in piriform cortex during odor imagery mimics that during odor perception. *J Neurophysiol*, 2007, **98**(6): 3254-3262
- [12] Yang X, Renken R, Hyder F, *et al.* Dynamic mapping at the laminar level of odor-elicited responses in rat olfactory bulb by functional MRI. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(13): 7715-7720
- [13] Xu F, Kida I, Hyder F, *et al.* Assessment and discrimination of odor stimuli in rat olfactory bulb by dynamic functional MRI. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(19): 10601-10606
- [14] Xu F, Liu N, Kida I, *et al.* Odor maps of aldehydes and esters revealed by functional MRI in the glomerular layer of the mouse olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(19): 11029-11034
- [15] Nawroth J C, Greer C A, Chen W R, *et al.* An energy budget for the olfactory glomerulus. *J Neurosci*, 2007, **27**(36): 9790-9800
- [16] Schafer J R, Kida I, Xu F, *et al.* Reproducibility of odor maps by fMRI in rodents. *Neuroimage*, 2006, **31**(3): 1238-1246
- [17] Schoenfeld T A, Cleland T A. The anatomical logic of smell. *Trends in Neurosci*, 2005, **28**(11): 620-627
- [18] Lodovichi C, Belluscio L, Katz L C. Functional topography of connections linking mirror-symmetric maps in the mouse olfactory bulb. *Neuron*, 2003, **38**(2): 265-276
- [19] Feinstein P, Mombaerts P. A contextual model for axonal sorting into glomeruli in the mouse olfactory system. *Cell*, 2004, **117**(6): 817-831
- [20] Kida I, Xu F, Shulman R G, *et al.* Mapping at glomerular resolution: fMRI of rat olfactory bulb. *Magn Reson Med*, 2002, **48**(3): 570-576
- [21] Martin C, Grenier D, Thevenet M, *et al.* fMRI visualization of transient activations in the rat olfactory bulb using short odor stimulations. *Neuroimage*, 2007, **36**(4): 1288-1293
- [22] Adrian E D. The electrical activity of the mammalian olfactory bulb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1950, **2**(4): 377-388
- [23] Sharp R R, Kauer J S, Shepherd G M. Local sites of activity-related glucose metabolism in rat olfactory bulb during olfactory stimulation. *Brain Res*, 1975, **98**(3): 596-600
- [24] Johnson B A, Xu Z, Ali S S, *et al.* Spatial representations of odorants in olfactory bulbs of rats and mice: Similarities and differences in chemotopic organization. *J Comp Neurol*, 2009, **514**(6): 658-673
- [25] Mori K, Takahashi Y K, Igarashi K M, *et al.* Maps of odorant molecular features in the mammalian olfactory bulb. *Physiol Rev*,

- 2006, **86**(2): 409–433
- [26] Nagao H, Yoshihara Y, Mitsui S, *et al.* Two mirror-image sensory maps with domain organization in the mouse main olfactory bulb. *Neuroreport*, 2000, **11**(13): 3023–3027
- [27] Lecoq J, Tiret P, Charpak S. Peripheral adaptation codes for high odor concentration in glomeruli. *J Neurosci*, 2009, **29** (10): 3067–3072
- [28] Schafer J R, Kida I, Rothman D L, *et al.* Adaptation in the rodent olfactory bulb measured by fMRI. *Magn Reson Med*, 2005, **54**(2): 443–448
- [29] Woodley S K, Cloe A L, Waters P, *et al.* Effects of vomeronasal often removal on olfactory sex discrimination and odor preferences of female ferrets. *Chem Senses*, 2004, **29**(8): 659–669
- [30] Xu F, Schaefer M, Kida I, *et al.* Simultaneous activation of mouse main and accessory olfactory bulb by odors or pheromones. *J Comp Neurol*, 2005, **489**(4): 491–500
- [31] Sheline Y I, Barch D M, Price J L, *et al.* The default mode network and self-referential processes in depression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(6): 1942–1947

Application of fMRI in Olfactory Studies of Small Animals*

LI An-An^{1,2,4}, RAO Xiao-Ping^{1,4}, WU Rui-Qi^{1,4}, XU Fu-Qiang^{1,3**}

⁽¹⁾ Wuhan Institute of Physics and Mathematics, The Chinese Academy of Sciences, State Key Laboratory of Magnetic Resonance and Atomic and Molecular Physics, Wuhan 430071, China;

⁽²⁾ Department of Chemistry and Life Science, Hubei University of Education, Wuhan 430205, China;

⁽³⁾ Wuhan National Laboratory for Optoelectronics, Wuhan 430074, China;

⁽⁴⁾ Graduate University of The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract The entire olfactory system, except for the olfactory sensory neurons in the nasal cavity, is an intrinsic part of the limb system, conferring olfaction many rarely known functions including the regulation of emotion, memory, and physiological and psychological states, in addition to the general function of smell. Meanwhile, the innermost anatomical structures of the sensory system and the lacking of effective tools make the study of olfactory information coding, processing, transmission and perception processes extremely difficult. The functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been broadly used in neuroscience research, because it can repeatedly and non-invasively monitor neuronal activity in any brain region with relatively high temporal and spatial resolutions. Its application has significantly advanced our understanding of olfactory information processing at higher olfactory centers in human brain. Olfactory bulb (OB), the information coding and processing center of the olfactory system, is dedicated to and essential for olfaction. However, the relative small size of human OB, in comparison with the spatial resolution of human fMRI, has been greatly hindering our study of the mechanisms of information coding and processing in the OB. Here the application of fMRI in the olfactory system was reviewed, and focused on the small animal fMRI, its advantages and some important progresses made in the past decade.

Key words fMRI, coding, olfactory bulb, olfactory

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00341

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation for “the Outstanding Young Scholars” (08Q1011001), The Chinese Academy of Science for “100 Talents Program” (08B1021001), The Creative Foundation of Wuhan National Laboratory for Optoelectronics (Z08004), and The Foundation of Wuhan Institute of Physics and Mathematics (08K1011001).

**Corresponding author.

Tel: 86-27-87197091, E-mail: fuqiang.xu@wipm.ac.cn

Received: May 28, 2009 Accepted: August 31, 2009