

## 中缝核 5-羟色胺能神经投射对嗅球 调制效应的研究进展\*

王德娟 周 杨 操田田 李安安\*\*

(徐州医科大学, 江苏省脑病生物信息重点实验室, 生物化学与分子生物学研究中心, 徐州 221004)

**摘要** 中缝核 5-羟色胺能神经元通过其广泛的神经投射影响大脑多方面的功能, 包括抑郁和焦虑、睡眠-觉醒周期、奖赏、决策中的耐心以及性别取向等。背侧中缝核和中央中缝核的 5-羟色胺能神经元对嗅球有密集的神经投射, 从而调控嗅觉信息的初步表征和编码。近年来, 随着电生理、光学成像及光遗传技术的应用, 关于中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球的调制作用研究不断出现, 大量离体和在体实验证据表明中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球及嗅觉相关行为有广泛的调制。本文从嗅球不同神经元类型角度, 就中缝核 5-羟色胺能神经投射对嗅球的调控作用及其神经机制研究进展进行了总结。

**关键词** 中缝核, 5-羟色胺能神经元, 嗅球, 光遗传学

**学科分类号** Q4, Q189

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2016.0299

嗅觉是动物进化中最古老的感觉, 许多动物通过对外界气味进行检测, 进而介导各种社会行为, 包括食物寻找、疆域划定、敌友分辨、配偶选择及潜在危险的避免等。嗅觉也给人类提供了关于自身及周围环境等多方面的信息, 显著地影响人类的生理、心理和情感状态。同时, 嗅觉功能跟很多疾病密切相关, 例如: 糖尿病患者嗅觉功能往往较差; 癫痫患者在发作之前, 有时会有嗅幻觉现象的产生; 原本嗅觉灵敏的人后来嗅觉降低, 可能与帕金森症或老年痴呆症脑部神经退化疾病有关<sup>[1-2]</sup>。因此, 对嗅觉功能以及感知过程的研究, 不仅能揭示嗅觉系统自身的运行原理, 也能为某些相关疾病的发病原理以及早期诊断提供重要信息。

在嗅觉的感知过程中, 作为第一级神经中枢, 嗅球(olfactory bulb)接受来自嗅感神经元(olfactory sensory neurons)的神经输入, 经过复杂的信息处理以及表征之后, 送往更高级的嗅觉中枢如梨状皮层(piriform cortex)等<sup>[3-4]</sup>。同时, 嗅球作为嗅觉系统的关键中继中枢, 不仅接受来自外周的上行输入, 也接受大量来自高级中枢的下行输入。这些下行输入包括来自高级嗅觉皮层的离皮层(corticofugal)投射, 如前嗅核(the anterior olfactory nucleus)、梨状皮层

的下行投射<sup>[5-7]</sup>, 以及来自弥散性神经调制系统的投射, 包括来自基底前脑(the basal forebrain)的胆碱能(cholinergic)投射、蓝斑(the locus coeruleus)的去甲肾上腺素能(noradrenergic)投射和来自背侧中缝核(the dorsal raphe nuclei)的 5-羟色胺能(serotonergic)神经投射等<sup>[8]</sup>。因此, 嗅球的功能活动往往会受到广泛的下行神经输入的调控。

在嗅球受到的所有下行调制系统中, 最密集的神经投射之一来自于背侧中缝核 5-羟色胺能神经元; 同时, 在所有受到背侧中缝核 5-羟色胺能神经投射的脑区中, 嗅球为受到最为密集投射的脑区之一<sup>[9-10]</sup>。该现象提示背侧中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球有强烈的调制作用, 并可能显著影响嗅觉的感知过程。同时, 背侧中缝核的 5-羟色胺能神经元的活动与脑状态密切相关<sup>[11-12]</sup>, 而近年来的研究发现脑状态能显著影响嗅球的功能活动, 如作者及其他实验室近期的研究发现, 在不同麻醉程度及

\* 国家自然科学基金面上项目(31571082)和江苏省高校自然科学基金研究重大项目(16KJA180007)资助。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 0516-83262019, E-mail: anan.li@xzhmu.edu.cn

收稿日期: 2016-09-27, 接受日期: 2016-12-30

行为状态下, 嗅球对同一气味刺激的反应表现出明显差异<sup>[13-16]</sup>. 这些现象提示脑状态对嗅球功能活动的调制可能是通过背侧中缝核的下行 5-羟色胺能神经元投射到嗅球而实现.

神经系统内的 5-羟色胺属于单胺类神经递质, 脑内的 5-羟色胺能神经元主要分布于脑干中缝核<sup>[10]</sup>. 脑干中缝核 5-羟色胺能神经元的纤维在中枢神经系统中的投射分布十分广泛, 几乎遍及整个中枢神经系统, 中缝核神经元通过其广泛的神经投射影响大脑多方面的功能, 包括抑郁和焦虑、睡眠-觉醒周期<sup>[17]</sup>、奖赏<sup>[18-19]</sup>、决策中的耐心<sup>[20]</sup>以及哺乳动物的性别取向<sup>[21]</sup>等. 另外, 中缝核 5-羟色胺能神经元也参与感觉功能的调控, 其激活能抑制多种感觉系统反应<sup>[22]</sup>. 关于 5-羟色胺调制系统功能的假设认为其作用主要是为了在加强运动输出的同时抑制感觉信息的输入<sup>[23]</sup>. 然而, 也有大量研究表明 5-羟色胺对神经环路中不同类型的神经元有不同的作用, 因此对感觉反应的调控作用有差别<sup>[24-25]</sup>. 尽管传统的行为、药理学并结合电生理的方法对中缝核 5-羟色胺能神经投射在嗅球功能调控方面有一些研究, 然而近年来研究者进一步使用光遗传学(optogenetics)技术、活体双光子在体成像(*in vivo* two-photon imaging)技术以及清醒动物在体电生理(*in vivo* electrophysiology)记录等方法对该问题进行了更加深入的探讨.

## 1 嗅球的结构及中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球的神经投射

嗅球具有典型的层状结构特征, 从外向内主要

可分为嗅神经层(olfactory nerve layer)、嗅小球层(glomerular layer)、外网状层(external plexiform layer)、僧帽细胞层(mitral cell layer)、内网状层(internal plexiform layer)、颗粒细胞层(granule layer)以及位于嗅球最内部的室管膜下区(subependymal zone)<sup>[26]</sup>. 嗅球的层状结构如图 1 所示. 嗅神经层主要由投射至嗅球的嗅感神经元的轴突构成; 嗅小球层内的嗅小球(olfactory glomeruli)被认为是嗅球对嗅觉信息处理的最基本功能单位<sup>[27-28]</sup>. 在嗅小球内, 嗅感神经元与僧帽或簇状细胞形成突触联系, 将来自嗅感神经元的信息传递给僧帽细胞(mitral cells)和簇状细胞(tufted cells)作进一步处理. 嗅感神经元到僧帽/簇状细胞这一信息流受到分布在嗅小球附近的神经元的调控, 这些神经元统称为近球细胞(juxtglomerular cells)<sup>[29]</sup>. 近球细胞主要包括 3 类形态上不同的 3 种细胞: 球旁细胞(periglomerular cells)、外侧簇状细胞(external tufted cells)和短轴突细胞(short axon cells)<sup>[30]</sup>. 外网状层主要是僧帽和簇状细胞的轴突, 同时也有少量簇状细胞的胞体. 僧帽细胞的胞体构成僧帽细胞层的最主要部分. 僧帽细胞和簇状细胞为嗅球的两类投射神经元, 通过外侧嗅束(lateral olfactory tract)将嗅小球内的嗅觉输入整合并将嗅觉信息输出到各个嗅皮层. 僧帽细胞层内侧依次为内网状层和颗粒细胞层, 颗粒细胞层主要由颗粒细胞组成, 在调节僧帽细胞的输出等方面起重要作用<sup>[31-32]</sup>. 嗅球内部结构模式图如图 2 所示.

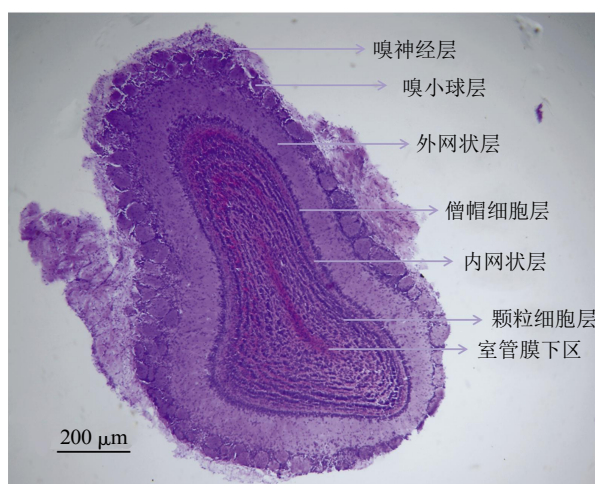


Fig. 1 Photomicrograph of coronal section through the mouse olfactory bulb

图 1 小鼠嗅球组织冠状切片

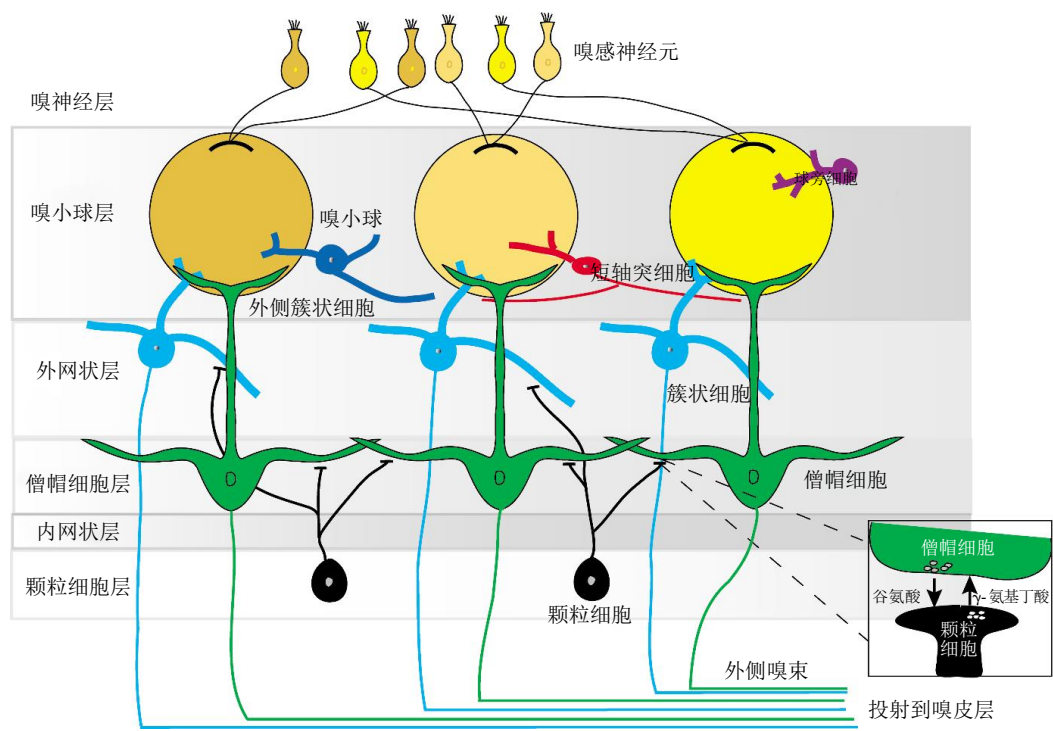


Fig. 2 Schematic of the olfactory bulb network  
图 2 嗅球内部神经元环路示意图

从神经投射来看, 尽管普遍认为 5- 羟色胺能神经元主要投射到嗅小球层, 但在颗粒细胞层和外网状层也有 5- 羟色胺能神经元末梢的分布<sup>[33]</sup>. 传统的观点认为嗅小球层的 5- 羟色胺能神经投射来自背侧中缝核<sup>[11, 34]</sup>. 然而, 最近有研究者使用表达绿色荧光蛋白的重组腺相关病毒特异性靶向标记突触素的方法, 进一步比较了背侧中缝核和中央中缝核对嗅球不同层的投射, 发现嗅小球层的 5- 羟色胺能神经投射主要来自于中央中缝核(the median raphe nucleus), 而颗粒细胞层的则主要来自背侧中缝核<sup>[35]</sup>. 中缝核 5- 羟色胺能神经元对嗅球的投射如图 3 所示. 该项研究对传统观点提出较大挑战, 将来如果有进一步的证据证明该投射分布的正确性, 会对深入理解 5- 羟色胺能神经元如何调控嗅球功能活动具有重要意义. 另外, 在受体表达方面, 多种 5- 羟色胺受体在嗅球各层均有表达, 如 5-HT1A 和 5-HT1B 受体分别在外网状层和颗粒细胞层表达, 而 5-HT2A 和 5-HT2C 受体主要分布在嗅小球层、颗粒细胞层和僧帽细胞层<sup>[36]</sup>. 可能正是由于中缝核对嗅球各层投射的复杂性以及多种受体的分布, 使得中缝核 5- 羟色胺能神经投射对嗅球各层以及各类细胞的调控极为复杂和多样化.

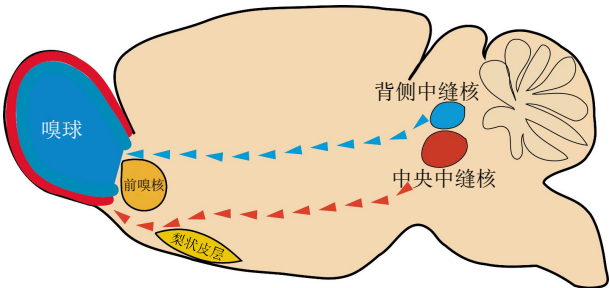


Fig. 3 Schematic of serotonergic projections from the raphe nuclei on the olfactory bulb  
图 3 中缝核对嗅球投射示意图

蓝色代表背侧中缝核及其对嗅球的投射区域, 红色代表中央中缝核及其对嗅球的投射区域

2 中缝核 5-羟色胺能神经投射抑制嗅感神经元活动

嗅感神经元位于鼻腔内, 其轴突末梢汇集至嗅球与僧帽 / 簇状细胞形成突触联系, 并在嗅球的最外层构成嗅神经层的最主要成分. 在嗅感神经元分布的嗅上皮中检测到有 5-HT1A 和 5-HT1B 受体的表达, 在分离的嗅感神经元上外源施加 5- 羟色胺

能抑制  $K^+$  电流, 且这一抑制效应可被 5-HT1A 和 5-HT1B 受体拮抗剂阻断, 这提示 5-羟色胺可能通过激活 5-HT1A 和 5-HT1B 受体, 抑制  $K^+$  电流从而调控嗅感神经元的活性<sup>[37]</sup>.

嗅感神经元的轴突末梢可直接投射到嗅球并与嗅球僧帽/簇状细胞形成突触联系, 因此可直接在嗅球研究嗅感神经元轴突末梢的活动. 传统电生理方法很难对嗅神经层的嗅感神经元轴突进行研究, 然而近年来随着在体光学成像技术的发展, 可特异性记录嗅感神经元轴突末梢的活动, 使得在体研究 5-羟色胺能神经投射如何调控嗅感神经元轴突末梢成为可能<sup>[38]</sup>. 有研究者使用药理学结合在体记录的实验方法, 通过局部施加 5-羟色胺的受体激动剂和拮抗剂, 发现 5-羟色胺信号通路的激活能抑制气味诱导的嗅感神经元末梢的突触活动, 且气味反应越强, 5-羟色胺的抑制作用就越强<sup>[41]</sup>.

外源施加 5-羟色胺受体激动剂或拮抗剂只能提供间接证据, 不能反映在体情况下中缝核对嗅球的投射. 而电刺激中缝核使 5-羟色胺能神经元活动增强并释放 5-羟色胺至嗅球, 能直接观察中缝核 5-羟色胺能神经投射对嗅球内各类细胞活动的影响. 同时, 如果电刺激背侧中缝核的同时对动物施加气味刺激, 则能有效观察到中缝核 5-羟色胺能神经元如何调制嗅球各类细胞对气味刺激的反应. Petzold 等<sup>[41]</sup>的研究首次使用电刺激结合在体光学成像技术验证了上述药理学的实验结论: 通过不同的时间长度(30 s~10 min)电刺激背侧中缝核, 同时用光学成像方法特异性记录嗅小球层嗅感神经元末梢对气味刺激的反应, 发现电刺激背侧中缝核能显著抑制气味所诱发的嗅感神经元信号的增强. 因此上述实验进一步证明, 药理学实验中观察到的 5-羟色胺的作用可以直接由中缝核的激活来实现. 总之, 该研究证明了 5-羟色胺的作用效应是抑制了嗅觉信息输入的初级阶段, 这与以往的 5-羟色胺抑制感觉反应的实验假说一致<sup>[42]</sup>.

在 5-羟色胺抑制嗅感神经元轴突末梢活动的神经机制方面, 研究发现该效应是部分通过 5-羟色胺作用于近球细胞的 5-HT2C 受体, 再由近球细胞释放  $\gamma$  氨基丁酸( $\gamma$ -amino butyric acid, GABA)至嗅感神经元末梢而实现突触前抑制作用(presynaptic inhibition)<sup>[41]</sup>. 在嗅觉系统中, 突触前抑制受到广泛研究, 有研究表明其作用可能是增益控制(gain control)的神经机制<sup>[39]</sup>. 嗅感神经元轴突末梢上的突触前抑制由 GABAB 受体介导, 且不受气味刺激强

弱的影响, 提示嗅感神经元轴突末梢前强直性抑制由不依赖于感觉输入的嗅小球层的近球细胞介导<sup>[40]</sup>. 研究发现, 5-羟色胺激活了近球细胞中的球旁细胞上的 5-HT2C 受体, 球旁细胞释放 GABA 抑制了嗅感神经元末梢谷氨酸的释放. 然而, 最近的研究更倾向于近球细胞中的短轴突细胞介导了这一效应<sup>[41]</sup>. 总之, 现有研究表明中缝核 5-羟色胺能神经投射, 通过激活 GABA 能的近球细胞增强了 GABAB 受体介导的嗅感神经元轴突末梢的突触前抑制.

### 3 中缝核对嗅小球层神经元的调控

位于嗅神经层下面的嗅小球层是最有特色的脑部结构之一, 嗅小球呈现一种神经纤维富集的球状结构, 由神经元和胶质细胞包围<sup>[26]</sup>. 嗅小球的结构在物种间高度保守, 上千个表达同一气味受体的嗅感神经元轴突汇聚到同一个嗅小球, 不同的气味受体特征性分布在嗅球表面, 而嗅小球成了这一分布模式的结构单位<sup>[29, 42]</sup>. 同时, 嗅小球被认为是嗅球对嗅觉信息处理的最基本功能单位. 在嗅小球内, 嗅感神经元与僧帽或簇状细胞形成突触联系, 将来自嗅感神经元的信息传递给僧帽和簇状细胞作进一步处理. 该过程受到近球细胞的调控. 僧帽/簇状细胞的树突和近球细胞的树突在嗅小球层形成相互的树-树突触联系. 一方面, 近球细胞的树突与僧帽/簇状细胞形成对称性突触联系, 另一方面, 僧帽/簇状细胞的树突与近球细胞的树突形成非对称性突触<sup>[26]</sup>. 如果说嗅小球是控制嗅觉信息传入大脑的大门, 那么近球细胞就是守门人.

中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球最密集的投射位点在嗅小球层, 来自中缝核的神经元末梢与分布在嗅小球附近的中间神经元形成突触联系. 除了拥有最密集的神经元投射外, 嗅小球层接受的投射纤维有膨大的突起, 这些都提示嗅小球层是 5-羟色胺的主要调控位点<sup>[43]</sup>. 离体脑片研究表明, 近球细胞受到 5-羟色胺能神经元的调制: 直接施加 5-羟色胺能使约 1/3 的近球细胞去极化, 5-羟色胺对近球细胞的去极化作用是通过非选择性阳离子通道介导的, 这一离子通道的反转电位为 -44 mV. 该研究进一步的药理学实验表明, 5-羟色胺对近球细胞的作用是通过 5-HT2C 受体实现<sup>[44]</sup>. 近些年的研究进一步拓展了我们对 5-羟色胺能神经投射对不同类型近球细胞的具体调控及机制的认识.

### 3.1 中缝核直接对外侧簇状细胞进行兴奋性调制

外侧簇状细胞分布在嗅小球层的底部, 其树突投射到邻近的嗅小球。外侧簇状细胞在形态上的一个特点是树突在嗅小球内有复杂而广泛的分叉, 甚至比僧帽细胞的树突更为广泛。另一个特点是, 外侧簇状细胞的二级树突不会延伸到嗅小球层下面的外网状侧, 因此不同于僧帽 / 簇状细胞, 外侧簇状细胞不受到颗粒细胞的抑制<sup>[30]</sup>。正是因为这一特征, 外侧簇状细胞有别于传统的簇状细胞。在功能上, 外侧簇状细胞有一个突出特点: 自发节律性放电<sup>[45]</sup>。在同一个嗅小球内, 外侧簇状细胞和其他的近球细胞及僧帽 / 簇状细胞形成树 - 树突触。因此, 僧帽 / 簇状细胞除了接受嗅感神经元的嗅觉信息输入外, 也受外侧簇状细胞的兴奋性调控<sup>[46]</sup>。

多数研究均发现中缝核 5-羟色胺能神经元直接兴奋外侧簇状细胞。离体药理学实验表明, 直接施加 5-羟色胺能对外侧簇状细胞产生兴奋性调制, 该调制是由于 5-HT<sub>2A</sub> 受体被激活后所诱发内向电流所介导, 该电流导致了外侧簇状细胞的去极化以及放电频率的升高<sup>[47]</sup>。除了药理学实验证明 5-羟色胺对外侧簇状细胞的直接兴奋性调控作用, 最近有研究用光遗传的方法, 特异性激活中缝核 5-羟色胺能神经元检测外侧簇状细胞的电生理反应, 全细胞记录到与光刺激偶联的兴奋性突触后电流<sup>[48]</sup>。另外, 在体实验结果提示, 中缝核电刺激诱导的球旁细胞和短轴突细胞的兴奋性作用是通过 5-羟色胺兴奋外侧簇状细胞实现<sup>[49]</sup>。以上研究都表明 5-羟色胺对外侧簇状细胞的兴奋性调制以直接作用方式实现。另外, 最近研究也证明, 外源施加 5-羟色胺能增强外侧簇状细胞微小抑制性突触后电流频率<sup>[41]</sup>, 这一作用是通过 5-羟色胺对嗅球内微神经环路调控而实现, 是 5-羟色胺对外侧簇状细胞间接调控的结果。

5-羟色胺诱导外侧簇状细胞的内向电流幅度和放电频率的升高程度与外侧簇状细胞的自发放电反相关, 即具有较低自发放电频率的细胞会比有较高放电频率的细胞受到更强的调制, 这一效应的结果是, 5-羟色胺使外侧簇状细胞的群体自发放电频率处在一个较高的频率范围内<sup>[47]</sup>。5-羟色胺可能通过调节外侧簇状细胞自发放电频率到高的水平, 使外侧簇状细胞和探索性的快速吸气(sniffing)同步化从而优化嗅小球的活动。

虽然外源施加 5-羟色胺也能直接兴奋外侧簇状细胞, 但特异性激活中缝核 5-羟色胺能神经元

诱导的外侧簇状细胞兴奋性电流能被 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)受体和 D, L- $\alpha$ -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(D, L- $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid, AMPA)受体的拮抗剂阻断, 证明中缝核 5-羟色胺能神经元对外侧簇状细胞的直接兴奋作用是通过谷氨酸实现的<sup>[48]</sup>。而之前的免疫组化实验证明投射到嗅球的 5-羟色胺能神经元上有谷氨酸转运体 3 的表达<sup>[33]</sup>, 另外有报道 5-羟色胺能神经元不仅通过释放 5-羟色胺发挥投射作用, 也能分泌谷氨酸<sup>[18]</sup>。这提示中缝核 5-羟色胺能神经元末梢通过释放谷氨酸而不是 5-羟色胺兴奋外侧簇状细胞。

5-羟色胺对外侧簇状细胞的调控对嗅小球环路功能可能有几方面的意义: a. 5-羟色胺对外侧簇状细胞的兴奋性作用使其在接收嗅感神经元输入后更容易放电, 而同一个嗅小球内的外侧簇状细胞是电偶联的, 它们的放电高度协调。而之前有报道, 5-羟色胺增加了家蚕嗅小球对雌性信息素的敏感性<sup>[50]</sup>。因此, 5-羟色胺可能使嗅小球对嗅觉信息的输入更加敏感。b. 5-羟色胺兴奋外侧簇状细胞, 外侧簇状细胞进一步激活球旁细胞, 球旁细胞抑制僧帽细胞的同时对嗅感神经元施加突触前抑制作用。这也解释了 5-羟色胺对嗅感神经元突触末梢的抑制性调控的环路基础<sup>[11]</sup>。c. 外侧簇状细胞同时也能激活短轴突细胞, 而短轴突细胞能抑制距离较远的嗅小球僧帽细胞的活动。因此, 5-羟色胺可能增强了嗅小球内和嗅小球间的抑制作用。

### 3.2 中缝核对球旁细胞的间接兴奋作用

球旁细胞是嗅小球层数量最多的一类中间神经元, 其胞体在三类近球细胞中最小, 一般没有轴突, 主要分布在嗅小球周围并只对单个嗅小球有突触联系。根据其树突的分布特征可以将球旁细胞分为两类: I 型和 II 型。II 型球旁细胞不接受嗅感神经元的直接输入, 但与外侧簇状细胞形成兴奋性突触联系<sup>[30]</sup>。

Brunert 等<sup>[49]</sup>用电刺激结合光学成像的方法证明中缝核对嗅小球层中间神经元的兴奋性作用, 与之前近球细胞激活释放 GABA 抑制嗅感神经元末梢的实验结论有契合之处<sup>[11, 48]</sup>。该研究采用短时程的中缝核电刺激(4 s), 在嗅球特异性记录球旁细胞的激活水平, 结果证明不论是在静息状态下, 还是在气味刺激条件下, 都在背侧嗅球表面检测到球旁细胞信号活动的增强。与中缝核激活诱导球旁细胞

兴奋这一实验结论不同, 离体实验表明 5- 羟色胺对球旁细胞的自发放电有抑制作用<sup>[41]</sup>. 实验手段(在体 *vs* 离体)及刺激方式(中缝核电刺激 *vs* 外源 5- 羟色胺给药)的不同可能导致了这一实验结论的差异.

尽管如此, 诸多实验证据都表明 5- 羟色胺对球旁细胞调控的作用是间接的. 首先, 离体实验证明 5- 羟色胺对球旁细胞的间接调控: 一方面, 5- 羟色胺对球旁细胞没有明显去极化作用; 另一方面, 5- 羟色胺增加了球旁细胞的微小兴奋性突触后电流 (miniature excitatory postsynaptic current, mEPSC) 和微小抑制性突触后电流 (miniature inhibitory postsynaptic current, mIPSC) 频率<sup>[41]</sup>, 提示 5- 羟色胺对球旁细胞的调控作用通过兴奋外侧簇状细胞和短轴突细胞间接实现. 其次, 在体实验也证明了中缝核对球旁细胞的间接调控: 用检测突触前谷氨酸释放的蛋白标记球旁细胞, 发现电刺激中缝核诱导了荧光信号的增强<sup>[48]</sup>, 这一结果提示中缝核刺激通过激活球旁细胞突触前的谷氨酸释放介导了这一兴奋作用, 而这里的谷氨酸很可能是由外侧簇状细胞介导的. 综上, 离体和在体实验都证明 5- 羟色胺通过兴奋外侧簇状细胞间接兴奋性调控球旁细胞, 而球旁细胞释放 GABA 抑制突触前的嗅感神经元末梢, 这可能是 5- 羟色胺抑制嗅感神经元突触末梢活动的环路机制之一.

值得注意的是, 5- 羟色胺受体拮抗剂只能部分抑制中缝核刺激诱导的球旁细胞的激活<sup>[49]</sup>, 提示除了 5- 羟色胺信号通路外, 也有中缝核刺激诱导的其他信号通路的参与, 如来自于中缝核的兴奋性神经递质谷氨酸的直接作用或来自其他被中缝核激活的脑区对嗅球的间接投射. 这也解释了为什么在体实验刺激中缝核和离体 5- 羟色胺得出的实验结论不一致, 电刺激中缝核牵涉的神经环路要更复杂.

### 3.3 中缝核兴奋短轴突细胞

短轴突细胞在近球细胞中所占比例最少, 短轴突细胞既有 GABA 的表达也有多巴胺(dopamine)的表达, 并可与高达 100 个嗅小球联系. 短轴突细胞可以与僧帽 / 簇状细胞形成直接的突触联系, 也可以通过释放 GABA 和多巴胺到外侧簇状细胞, 通过外侧簇状细胞兴奋僧帽 / 簇状细胞<sup>[51]</sup>.

离体药理学实验表明 5- 羟色胺对短轴突细胞直接兴奋性调控. 与球旁细胞的研究结果不同, 5- 羟色胺能使短轴突细胞去极化<sup>[41]</sup>. 在体实验表明中缝核刺激能诱导静息和气味诱导条件下短轴突神经元的兴奋, 与球旁细胞的研究结果相似, 中缝核

对短轴突细胞的兴奋性调控是由谷氨酸和 5- 羟色胺介导<sup>[49]</sup>, 而这里的谷氨酸可能由外侧簇状细胞兴奋分泌. 因此, 在体实验提示 5- 羟色胺对短轴突细胞也进行间接的调控. 短轴突细胞与多个嗅小球联系, 因此 5- 羟色胺对短轴突细胞的调控作用可能增强了嗅小球间的抑制作用.

有药理学实验发现 5- 羟色胺介导的短轴突细胞的兴奋是动作电位非依赖的, 且能显著增强嗅小球层神经元的微小抑制性突触后电流频率<sup>[41]</sup>. 这一效应的可能机制是: 在短轴突细胞与球旁细胞、外侧簇状细胞、僧帽细胞形成的树 - 树突触上, 5- 羟色胺受体激活 TRPC (transient receptor potential cation channel) 通道, 钙离子内流, 诱发突触递质 (GABA) 的释放. 乙酰胆碱作为一种重要的神经调制递质, 在颗粒细胞和嗅小球层中间神经元上的树 - 树突触上也诱导了非动作电位依赖的 GABA 的释放<sup>[52-53]</sup>. 说明这些树 - 树突触可能是神经调制系统对嗅球实施调控的重要靶点.

综上, 中缝核对嗅小球层外侧簇状细胞和短轴突细胞有直接兴奋性作用, 外侧簇状细胞的兴奋又激活了嗅小球层的两种中间神经元——球旁细胞和短轴突细胞, 而这两种抑制性神经元释放 GABA 抑制嗅感神经元末梢活动. 这提示 5- 羟色胺对嗅感神经元轴突末梢的抑制作用可能有两途径: 一是 5- 羟色胺兴奋外侧簇状细胞, 激活球旁细胞和短轴突细胞, 抑制嗅感神经元末梢; 另一个是 5- 羟色胺直接兴奋短轴突细胞, 短轴突细胞抑制嗅感神经元末梢.

## 4 中缝核调控僧帽/簇状细胞反应

僧帽 / 簇状细胞为嗅球的主要输出神经元, 针对这两类神经元的研究对揭示嗅球功能有重要的意义. 由于僧帽细胞和簇状细胞都直接接受来自嗅感神经元的输入, 在早期的研究中, 人们认为这两类细胞具有类似的功能, 因此将两类细胞笼统称为僧帽 / 簇状细胞(mitral/tufted cells, M/T cells)<sup>[14, 16, 54]</sup>.

光学成像实验表明, 电刺激中缝核对静息状态下的僧帽 / 簇状细胞有快速兴奋的调制作用. 但对气味诱导条件下的僧帽 / 簇状细胞的活动只有轻微的兴奋性作用<sup>[49, 55]</sup>. 除了用成像技术检测神经元激活水平外, 在体电生理检测神经元放电变化也是研究神经元功能的有效手段. 用光遗传技术特异性刺激中缝核 5- 羟色胺能神经元, 在体电生理检测到僧帽 / 簇状细胞在不同状态下细胞放电变化有差

异. 实验证明中缝核 5-羟色胺能神经元的激活诱导僧帽/簇状细胞的放电活动有的增强, 有的减弱<sup>[49]</sup>.

中缝核对不同状态下僧帽/簇状细胞调控表现出分化, 可能是中缝核对嗅球各类神经元调控反映在僧帽细胞上的结果. 中缝核对外侧簇状细胞、球旁细胞和短轴突细胞都有兴奋性调制. 而在嗅球微环路水平上, 僧帽/簇状细胞受到外侧簇状细胞的兴奋性调节, 也接受球旁细胞、短轴突细胞的抑制作用<sup>[30]</sup>. 因此, 在不同的状态下, 根据受到的兴奋和抑制作用的强弱平衡及激活时间上的差异, 中缝核刺激可能介导了僧帽/簇状细胞活动的增强、抑制或不变. 比如, 在低气味分子浓度条件下, 中缝核增强了外侧簇状细胞反应, 同时球旁细胞和短轴突细胞活动也增强, 僧帽/簇状细胞活动比较复杂, 可能增强, 可能抑制. 在高气味分子浓度条件下, 外侧簇状细胞、球旁细胞和短轴突细胞的活动达到最强, 中缝核的调控作用不能施行, 那么 5-羟色胺能神经元可能对僧帽/簇状细胞有直接调控作用<sup>[49]</sup>.

虽然僧帽细胞和簇状细胞都是嗅球的输出神经元, 但后来的研究发现, 这两类细胞也将嗅觉信息传入到不同的高级嗅觉中枢, 二者在结构及功能等方面均存在差异<sup>[30, 56]</sup>. 研究表明中缝核对这两类神经元的调控作用也有差异<sup>[57]</sup>.

#### 4.1 中缝核对僧帽细胞的复杂调控

僧帽细胞胞体较大、分布在嗅球僧帽细胞层, 它的二级树突分布在外网状层的深层, 轴突分散投射到几乎各个嗅皮层, 是嗅球的主要信息输出神经元. 至少有 2 个层次神经微环路可以调节僧帽细胞的活动. 第一个位于嗅小球层, 外侧簇状细胞的兴奋作用及中间神经元球旁细胞的抑制性调节. 另外一个位于外网状层, 在这里僧帽细胞的长树突和颗粒细胞的树突形成突触连接<sup>[30]</sup>. 大量研究表明中缝核对僧帽细胞可能并不仅仅直接进行调控, 也可以通过其他细胞如外侧簇状细胞、颗粒细胞与僧帽细胞构成的神经环路间接作用而实现<sup>[41, 44, 48, 58]</sup>.

在最早期的在体电生理研究中发现, 在家兔嗅球微电泳注入 5-羟色胺后, 僧帽细胞的自发放电频率明显降低, 表明 5-羟色胺对僧帽细胞具有抑制作用<sup>[59]</sup>. 然而, 后来的离体研究发现, 5-羟色胺对僧帽细胞的调控表现出复杂的效应: 一方面能够通过直接作用于僧帽细胞 5-HT<sub>2A</sub> 受体兴奋僧帽细胞, 另一方面, 可以通过激活抑制性中间神经元,

如球旁细胞以及颗粒细胞而间接抑制僧帽细胞的活动<sup>[44]</sup>. 光遗传实验通过检测光刺激与电流偶联的情况, 直接证明了中缝核 5-羟色胺能神经元对僧帽细胞的间接调控, 僧帽细胞的延迟反应是由 5-羟色胺能神经元通过嗅球内部的兴奋性信号通路间接介导的, 而外侧簇状细胞能通过释放兴奋性神经递质谷氨酸激活僧帽细胞, 这提示 5-羟色胺可能通过激活外侧簇状细胞实现对僧帽细胞的调控<sup>[48]</sup>.

5-羟色胺能神经元对僧帽细胞的兴奋性效应在最近一项研究中也被发现<sup>[58]</sup>. 另外, 该研究除了发现 5-羟色胺能强烈兴奋僧帽细胞外, 同时也能对抑制性中间神经元颗粒细胞有一定的兴奋性作用, 而在嗅球内的神经环路中, 颗粒细胞往往抑制僧帽细胞的活动. 5-羟色胺对僧帽细胞的复杂效应, 提示 5-羟色胺能神经元对僧帽细胞的调控可能在动物不同的行为及脑状态下表现出差异.

5-羟色胺对不同激活状态下的僧帽细胞调控作用出现分化. 一方面, 离体电生理实验表明, 5-羟色胺能增强静息状态下(不施加嗅感神经元电刺激)的僧帽细胞放电, 对激活状态下(施加嗅感神经元刺激)的僧帽细胞放电没有显著性改变<sup>[41]</sup>. 这一实验结果提示, 5-羟色胺能通过增强僧帽细胞的自发电活动, 增强僧帽细胞的信噪比(signal to noise ratio), 因此可能选择性影响对阈值附近及阈值以下信号的检测. 另一方面, 利用成像技术的在体实验表明, 短时程的(毫秒级)中缝核刺激诱导静息状态下僧帽细胞反应增强, 但在气味刺激条件下, 中缝核刺激诱导的僧帽细胞反应出现分化, 即有增强有抑制<sup>[48]</sup>. 这一实验结论和离体脑片膜片钳实验结果有一定的出入, 可能的原因是: 离体药理学实验是通过局部施加 5-羟色胺检测僧帽细胞的电活动得出的结果, 但中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球的投射是广泛的<sup>[35]</sup>, 因此不能完全模拟在体实验条件. 根据在体实验结果进一步的数据分析提示, 中缝核刺激提高了僧帽细胞气味编码模式的分离, 提高嗅球的气味编码能力.

由于嗅球内僧帽细胞的神经元环路相对复杂, 既受外侧簇状细胞的兴奋性调控, 也接受包括球旁细胞、短轴突细胞和颗粒细胞的抑制性调控, 同时也受前嗅核、梨状皮层的反馈调节. 而这些神经元环路和嗅皮层都受到中缝核的投射, 这可能也是中缝核对僧帽细胞调控相对复杂的原因.

#### 4.2 中缝核间接兴奋簇状细胞

簇状细胞作为嗅球的输出神经元, 其轴突与僧

帽细胞的轴突延伸通过外侧嗅束投射到嗅皮层。簇状细胞胞体比僧帽细胞的小、分布在外网状层，其二级树突分布在外网状层的浅层，轴突特异性投射到前嗅核、盖带区及前梨状皮层的腹内侧部分<sup>[60]</sup>。除形态结构上的差异外，近年来的研究发现僧帽细胞和簇状细胞在处理嗅觉信息方面也表现出差异<sup>[56]</sup>。

相对于中缝核对僧帽细胞的复杂调控，中缝核对簇状细胞的调控研究表明：中缝核 5-羟色胺能神经元对簇状细胞有兴奋作用。在体实验表明，在静息和气味刺激条件下，短时程的中缝核刺激诱导簇状细胞反应增强。这提示中缝核对嗅球的调制使簇状细胞更加敏感，容易对气味产生反应，同时也增强了本底的气味反应<sup>[48]</sup>。进一步的体外全细胞实验验证了在体实验结论，光刺激激活中缝核 5-羟色胺能神经元诱导静息及激活状态下簇状细胞兴奋性电流，结合药理学实验，这一兴奋性电流由谷氨酸和 5-羟色胺及嗅球 GABA 能神经环路介导的抑制性成分介导。另外，5-羟色胺对簇状细胞的兴奋作用是间接的，可能也是通过外侧簇状细胞介导<sup>[48]</sup>。相对于中缝核对僧帽细胞调控作用的广泛而深入的研究，目前关于中缝核对簇状细胞调控研究较少，因此，中缝核 5-羟色胺能神经元对簇状细胞的调控作用有待进一步的推进。

## 5 中缝核调控颗粒细胞轻度去极化

嗅球对嗅感神经元输入信息的加工通过两个水平，一是嗅小球层对输入信息的调节<sup>[54]</sup>，另外是颗粒细胞对僧帽细胞输出到嗅皮层水平上的调控<sup>[32]</sup>。作为嗅球中数量最多的中间神经元，颗粒细胞的树突与僧帽细胞和簇状细胞的树突在外网状层形成树-树交互突触。颗粒细胞介导的侧抑制可以使僧帽细胞的感受域变小。另外，交互突触参与了嗅球内部震荡的形成，从而使僧帽细胞的放电同步化。因此，颗粒细胞对嗅球对嗅觉信息的加工有重要的作用。

中缝核对嗅球的投射研究表明，颗粒细胞层主要接受背侧中缝核神经元的投射<sup>[35]</sup>。电生理实验表明 5-羟色胺可能通过兴奋颗粒细胞或近球细胞间接兴奋僧帽细胞<sup>[44]</sup>。外源施加 5-羟色胺诱导颗粒细胞去极化，进一步的药理学实验结果提示 5-羟色胺对颗粒细胞的激活作用是间接的。电生理实验表明，5-羟色胺对僧帽/簇状细胞的兴奋性调控间接诱导了颗粒细胞的去极化。另外，5-羟色胺对颗粒细胞的兴奋作用较弱，去极化的颗粒细胞膜电

位仍低于阈电位，不足以促使其爆发动作电位<sup>[58]</sup>。

## 6 总结与展望

中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球神经元有广泛、密集的投射，5-羟色胺能神经元及中缝核的激活调控了嗅球神经元的电生理特性及功能，5-羟色胺显著影响嗅觉相关行为。这些研究从各个层面证明，中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球有强烈的调制作用。不论是体外实验结合药理学研究中缝核对嗅球环路的调控机制，还是活体实验探究中缝核对嗅球不同类型神经元功能的调节，都反映出中缝核对嗅球调控的复杂性。中缝核抑制了嗅神经层的嗅感神经元末梢；针对嗅球嗅小球层神经元的研究表明，中缝核对外侧簇状细胞有直接的兴奋作用，对中间神经元球旁细胞有间接调控，对短轴突细胞的调控有直接和间接两种方式；针对嗅球两类主要输出神经元僧帽细胞和簇状细胞的研究表明，中缝核间接兴奋簇状细胞，而对不同状态下的僧帽细胞的调控作用比较复杂；另外，中缝核对颗粒细胞有轻微的兴奋作用。中缝核对嗅球不同类型神经元的调控如图 4 所示。中缝核调控嗅球环路的神经机制研究提示，中缝核投射神经元释放 5-羟色胺和谷氨酸参与调控。

5-羟色胺神经信号通路作用时间从几秒到几个小时发挥不同的作用，短时间窗在惩罚和奖赏的评价中起作用<sup>[18]</sup>，几分钟时程参与呼吸和体温调节<sup>[61]</sup>，情绪和脑状态的调控需要长时程的调节<sup>[62]</sup>。根据刺激的时程和强度的差异，中缝核神经元对嗅球环路的调控可能有所不同。如几分钟的中缝核刺激通过嗅感神经元的突触前抑制介导了感觉输入的抑制<sup>[11]</sup>，而几秒的中缝核刺激介导了球旁细胞、短轴突细胞及簇状细胞的兴奋作用<sup>[48-49]</sup>。因此，中缝核不同的刺激时程可能反映了动物在不同行为状态下，如社交行为或焦虑状态下中缝核对嗅觉信息不同调控机制。以往的研究证明来自中缝核投射神经元释放的谷氨酸参与调控奖赏行为和海马的神经元活动<sup>[63]</sup>。近几年关于中缝核对嗅球的调控作用研究表明，中缝核对嗅球的投射有多种神经递质介导，不但有 5-羟色胺的参与，也有谷氨酸的调控。而在中缝核对嗅球调控过程中，这两种神经递质的释放位点及数量的研究有待进一步深入。

在体实验，无论使用电刺激中缝核还是特异性光刺激 5-羟色胺能神经元的方法，都为中缝核调控嗅球的神经机制提供了活体实验依据，避免了其

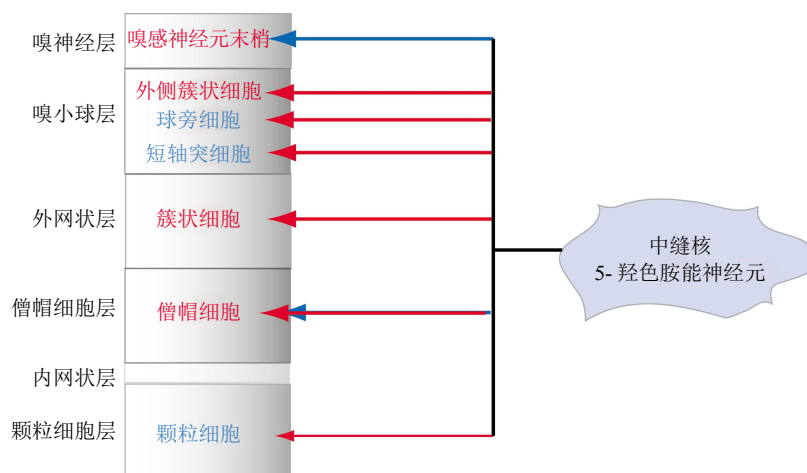


Fig. 4 Diagram of cell-type modulation in olfactory bulb by serotonergic projections from the raphe nuclei

图 4 中缝核 5-羟色胺能神经元对嗅球各层神经元调控示意图

红色表示兴奋性神经元或兴奋性调制, 蓝色表示抑制性神经元或抑制性调制。

他神经调制系统对嗅球调控的干扰。但目前<sup>[10]</sup>在体实验使用的动物都处于麻醉状态, 神经元和突触功能可能会在很多方面有所改变, 中缝核神经元的基础活动也与清醒状态时不同<sup>[10]</sup>。因此, 在清醒动物上开展中缝核对嗅球的调控研究还将继续深入。另外, 在嗅觉相关任务的学习过程中, 嗅球各类神经元对气味的反应是否受中缝核的调控, 中缝核神经元的活动能否影响不同行为状态下嗅球的功能等宏观方面的研究有待开展。

中缝核除了通过嗅球对嗅觉信息施加调控以外, 嗅觉皮层包括前嗅核和梨状皮层也是其调制靶点。特异性激活中缝核 5-羟色胺能神经元能快速抑制梨状皮层神经元的自发电活动, 但对气味诱导的活动没有影响<sup>[64]</sup>。中缝核对嗅觉皮层的调制及嗅觉皮层又进一步反馈调节嗅球环路, 有可能是中缝核对嗅球功能调控复杂性的原因之一。因此, 整合多种研究方法, 综合考虑嗅球内外多种神经环路的相互影响, 并系统研究不同脑状态或行为状态下 5-羟色胺能神经投射对嗅球各类细胞的调制作用及其神经机制, 将有助于我们真正理解该调制作用的详细细节和行为学意义。

## 参 考 文 献

- [1] Barresi M, Ciurleo R, Giacoppo S, *et al.* Evaluation of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases. *Journal of the Neurological Sciences*, 2012, **323**(1-2): 16-24
- [2] Klingelhoefer L, Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease--

- the gut-brain axis and environmental factors. *Nature Reviews Neurology*, 2015, **11**(11): 625-636
- [3] Uchida N, Poo C, Haddad R. Coding and transformations in the olfactory system. *Annual Review of Neuroscience*, 2014, **37**: 363-385
- [4] Hu R, Zhang J, Luo M, *et al.* Response patterns of GABAergic neurons in the anterior piriform cortex of awake mice. *Cerebral Cortex*, 2016, DOI: 10.1093/cercor/bhw175
- [5] Boyd A M, Kato H K, Komiyama T, *et al.* Broadcasting of cortical activity to the olfactory bulb. *Cell Reports*, 2015, **10**(7): 1032-1039
- [6] Otazu G H, Chae H, Davis M B, *et al.* Cortical feedback decorrelates olfactory bulb output in awake mice. *Neuron*, 2015, **86**(6): 1461-1477
- [7] Oettl L L, Ravi N, Schneider M, *et al.* Oxytocin enhances social recognition by modulating cortical control of early olfactory processing. *Neuron*, 2016, **90**(3): 609-621
- [8] Linster C, Fontanini A. Functional neuromodulation of chemosensation in vertebrates. *Current Opinion in Neurobiology*, 2014, **29**: 82-87
- [9] Dugue G P, Mainen Z F. How serotonin gates olfactory information flow. *Nature Neuroscience*, 2009, **12**(6): 673-675
- [10] Jacobs B L, Azmitia E C. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiology Reviews*, 1992, **72**(1): 165-229
- [11] Petzold G C, Hagiwara A, Murthy V N. Serotonergic modulation of odor input to the mammalian olfactory bulb. *Nature Neuroscience*, 2009, **12**(6): 784-791
- [12] Fletcher M L, Chen W R. Neural correlates of olfactory learning: critical role of centrifugal neuromodulation. *Learning & Memory*, 2010, **17**(11): 561-570
- [13] Li A, Gong L, Xu F. Brain-state-independent neural representation of peripheral stimulation in rat olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(12): 5087-5092

- [14] Nunez-Parra A, Li A, Restrepo D. Coding odor identity and odor value in awake rodents. *Progress of Brain Research*, 2014, **208**: 205–222
- [15] Kato H K, Chu M W, Isaacson J S, *et al.* Dynamic sensory representations in the olfactory bulb: modulation by wakefulness and experience. *Neuron*, 2012, **76**(5): 962–975
- [16] Li A, Gire D H, Restrepo D. Upsilon spike-field coherence in a population of olfactory bulb neurons differentiates between odors irrespective of associated outcome. *The Journal of Neuroscience*, 2015, **35**(14): 5808–5822
- [17] Yokogawa T, Hannan M C, Burgess H A. The dorsal raphe modulates sensory responsiveness during arousal in zebrafish. *The Journal of Neuroscience*, 2012, **32**(43): 15205–15215
- [18] Liu Z, Zhou J, Li Y, *et al.* Dorsal raphe neurons signal reward through 5-HT and glutamate. *Neuron*, 2014, **81**(6): 1360–1374
- [19] Zhou J, Jia C, Feng Q, *et al.* Prospective coding of dorsal raphe reward signals by the orbitofrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 2015, **35**(6): 2717–2730
- [20] Miyazaki K W, Miyazaki K, Tanaka K F, *et al.* Optogenetic activation of dorsal raphe serotonin neurons enhances patience for future rewards. *Current Biology*, 2014, **24**(17): 2033–2040
- [21] Liu Y, Jiang Y, Si Y, *et al.* Molecular regulation of sexual preference revealed by genetic studies of 5-HT in the brains of male mice. *Nature*, 2011, **472**(7341): 95–99
- [22] Hurley L M, Devilbiss D M, Waterhouse B D. A matter of focus: monoaminergic modulation of stimulus coding in mammalian sensory networks. *Current Opinion in Neurobiology*, 2004, **14**(4): 488–495
- [23] Dugue G P, Lorincz M L, Lottem E, *et al.* Optogenetic recruitment of dorsal raphe serotonergic neurons acutely decreases mechanosensory responsivity in behaving mice. *PLoS One*, 2014, **9**(8): e105941
- [24] Enger R, Tang W, Vindedal G F, *et al.* Dynamics of ionic shifts in cortical spreading depression. *Cerebral Cortex*, 2015, **25** (11): 4469–4476
- [25] Hurley L M, Sullivan M R. From behavioral context to receptors: serotonergic modulatory pathways in the IC. *Frontiers in Neural Circuits*, 2012, **6**: 58
- [26] Shipley M T, Ennis M. Functional organization of olfactory system. *Journal of Neurobiology*, 1996, **30**(1): 123–176
- [27] Shepherd G M. Discrimination of molecular signals by the olfactory receptor neuron. *Neuron*, 1994, **13**(4): 771–790
- [28] Economo M N, Hansen K R, Wachowiak M. Control of mitral/tufted cell output by selective inhibition among olfactory bulb glomeruli. *Neuron*, 2016, **91**(2): 397–411
- [29] Wachowiak M, Shipley M T. Coding and synaptic processing of sensory information in the glomerular layer of the olfactory bulb. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2006, **17**(4): 411–423
- [30] Nagayama S, Homma R, Imamura F. Neuronal organization of olfactory bulb circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, 2014, **8**: 98
- [31] Lledo P M, Gheusi G, Vincent J D. Information processing in mammalian olfactory system. *Physiological Reviews*, 2005, **85**(1): 281–317
- [32] Cazakoff B N, Lau B Y, Crump K L, *et al.* Broadly tuned and respiration-independent inhibition in the olfactory bulb of awake mice. *Nature Neuroscience*, 2014, **17**(4): 569–576
- [33] Suzuki Y, Kiyokage E, Sohn J, *et al.* Structural basis for serotonergic regulation of neural circuits in the mouse olfactory bulb. *The Journal of Comparative Neurology*, 2015, **523** (2): 262–280
- [34] Mclean J H, Shipley M T. Serotonergic afferents to the rat olfactory bulb: I. Origins and laminar specificity of serotonergic inputs in the adult rat. *The Journal of Neuroscience*, 1987, **7**(10): 3016–3028
- [35] Steinfeld R, Herb J T, Sprengel R, *et al.* Divergent innervation of the olfactory bulb by distinct raphe nuclei. *The Journal of Comparative Neurology*, 2015, **523**(5): 805–813
- [36] Mclean J H, Darby-King A, Paterno G D. Localization of 5-HT<sub>2A</sub> receptor mRNA by *in situ* hybridization in the olfactory bulb of the postnatal rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 1995, **353**(3): 371–378
- [37] Gao S, Guo X, Liu T, *et al.* Serotonin modulates outward potassium currents in mouse olfactory receptor neurons. *Physiology Research*, 2013, **62**(4): 455–462
- [38] Bozza T, McGann J P, Mombaerts P, *et al.* *In vivo* imaging of neuronal activity by targeted expression of a genetically encoded probe in the mouse. *Neuron*, 2004, **42**(1): 9–21
- [39] Olsen S R, Wilson R I. Lateral presynaptic inhibition mediates gain control in an olfactory circuit. *Nature*, 2008, **452**(7190): 956–960
- [40] Pirez N, Wachowiak M. *In vivo* modulation of sensory input to the olfactory bulb by tonic and activity-dependent presynaptic inhibition of receptor neurons. *The Journal of Neuroscience*, **28**(25): 6360–6371
- [41] Brill J, Shao Z, Puche A C, *et al.* Serotonin increases synaptic activity in olfactory bulb glomeruli. *Journal of Neurophysiology*, 2016, **115**(3): 1208–1219
- [42] D'hulst C, Mina R B, Gershon Z, *et al.* MouSensor: a versatile genetic platform to create super sniffer mice for studying human odor coding. *Cell Reports*, 2016, **16**(4): 1115–1125
- [43] Gomez C, Brinon J G, Barbado M V, *et al.* Heterogeneous targeting of centrifugal inputs to the glomerular layer of the main olfactory bulb. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2005, **29**(4): 238–254
- [44] Hardy A, Palouzier-Paulignan B, Duchamp A, *et al.* 5-Hydroxytryptamine action in the rat olfactory bulb: *in vitro* electrophysiological patch-clamp recordings of juxtglomerular and mitral cells. *Neuroscience*, 2005, **131**(3): 717–731
- [45] Hayar A, Kamup S, Shipley M T, *et al.* Olfactory bulb glomeruli: external tufted cells intrinsically burst at theta frequency and are entrained by patterned olfactory input. *The Journal of Neuroscience*, **24**(5): 1190–1199
- [46] Banerjee A, Marbach F, Anselmi F, *et al.* An interglomerular circuit gates glomerular output and implements gain control in the mouse olfactory bulb. *Neuron*, 2015, **87**(1): 193–207
- [47] Liu S, Aungst J L, Puche A C, *et al.* Serotonin modulates the population activity profile of olfactory bulb external tufted cells.

- Journal of Neurophysiology, 2012, **107**(1): 473–483
- [48] Kapoor V, Provost A C, Agarwal P, *et al.* Activation of raphe nuclei triggers rapid and distinct effects on arallel olfactory bulb output channels. *Nature Neuroscience*, 2016, **19**(2): 271–282
- [49] Brunert D, Tsuno Y, Rothermel M, *et al.* Cell-type-specific modulation of sensory responses in olfactory bulb circuits by serotonergic projections from the raphe nuclei. *The Journal of Neuroscience*, 2016, **36**(25): 6820–6835
- [50] Gatellier L, Nagao T, Kanzaki R. Serotonin modifies the sensitivity of the male silkworm to pheromone. *The Journal of Experimental Biology*, 2004, **207**(Pt 14): 2487–2496
- [51] Liu S, Plachez C, Shao Z, *et al.* Olfactory bulb short axon cell release of GABA and dopamine produces a temporally biphasic inhibition-excitation response in external tufted cells. *The Journal of Neuroscience*, 2013, **33**(7): 2916–2926
- [52] Pressler R T, Inoue T, Strowbridge B W. Muscarinic receptor activation modulates granule cell excitability and potentiates inhibition onto mitral cells in the rat olfactory bulb. *The Journal of Neuroscience*, 2007, **27**(41): 10969–10981
- [53] Ghatpande A S, Sivaraaman K, Vijayaraghavan S. Store calcium mediates cholinergic effects on mIPSCs in the rat main olfactory bulb. *Journal of Neurophysiology*, 2006, **95**(3): 1345–1355
- [54] Li A, Gire D H, Bozza T, *et al.* Precise detection of direct glomerular input duration by the olfactory bulb. *The Journal of Neuroscience*, 2014, **34**(48): 16058–16064
- [55] Fonseca M S, Murakami M, Mainen Z F. Activation of dorsal raphe serotonergic neurons promotes waiting but is not reinforcing. *Current Biology*, 2015, **25**(3): 306–315
- [56] Fukunaga I, Berning M, Kollo M, *et al.* Two distinct channels of olfactory bulb output. *Neuron*, 2012, **75**(2): 320–329
- [57] Devore S. Rapid control of olfaction. *Nature Neuroscience*, 2016, **19**(2): 181
- [58] Schmidt L J, Strowbridge B W. Modulation of olfactory bulb network activity by serotonin: synchronous inhibition of mitral cells mediated by spatially localized GABAergic microcircuits. *Learning & Memory*, 2014, **21**(8): 406–416
- [59] Bloom F E, Costa E, Salmoiraghi G C. Analysis of individual rabbit olfactory bulb neurons responses to the microelectrophoresis. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1964, **146**: 16–23
- [60] Igarashi K M, Ieki N, An M, *et al.* Parallel mitral and tufted cell pathways route distinct odor information to different targets in the olfactory cortex. *The Journal of Neuroscience*, 2012, **32**(23): 7970–7985
- [61] Ray R S, Corcoran A E, Brust R D, *et al.* Impaired respiratory and body temperature control upon acute serotonergic neuron inhibition. *Science*, 2011, **333**(6042): 637–642
- [62] Cools R, Roberts A C, Robbins T W. Serotonergic regulation of emotional and behavioural control processes. *Trends in Cognitive Science*, 2008, **12**(1): 31–40
- [63] Varga V, Losonczy A, Zemelman B V, *et al.* Fast synaptic subcortical control of hippocampal circuits. *Science*, 2009, **326**(5951): 449–453
- [64] Lottem E, Lorincz M L, Mainen Z F. Optogenetic activation of dorsal raphe serotonin neurons rapidly inhibits spontaneous but not odor-evoked activity in olfactory cortex. *The Journal of Neuroscience*, 2016, **36**(1): 7–18

## Progresses of Modulatory Effects of Serotonergic Projections From The Raphe Nuclei on The Olfactory Bulb\*

WANG De-Juan, ZHOU Yang, CAO Tian-Tian, LI An-An\*\*

(Jiangsu Key Laboratory of Brain Disease Bioinformation, Research Center for Biochemistry and Molecular Biology,  
Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China)

**Abstract** Serotonergic neurons in the raphe nuclei are involved in a variety of brain functions by their extensive neural innervation, including depression, anxiety, sleep-wake cycles, reward, patience in decision making, and sexual preference. Serotonergic projections from the dorsal and median raphe nucleus densely innervate the olfactory bulb, where they can modulate the initial representation and processing of olfactory information. In recent years, with the application of electrophysiology, optical imaging and optogenetic techniques, numerous *in vitro* and *in vivo* studies have demonstrated the effects of serotonergic modulation from the raphe on the olfactory bulb and olfaction related behaviors, and revealed the underlying neural mechanisms. This article reviewed the most recent progresses about the modulatory effects of serotonergic projections from the raphe nuclei on defined cell types in the olfactory bulb.

**Key words** raphe nuclei, serotonergic neurons, olfactory bulb, optogenetics

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2016.0299

---

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31571082) and Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (16KJA180007).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-516-83262019, E-mail: anan.li@xzhmu.edu.cn

Received: September 27, 2016 Accepted: December 30, 2016