

色觉研究的某些重要进展

杨 雄 里

(上海生理研究所)

引 言

色觉研究经历了漫长的历程。一个世纪以来,两种色觉理论——Young-Helmholtz 的三色说和 Hering 的拮抗说,进行了长期、反复的论争。前一理论认为在视网膜中有三种光谱敏感峰分别在红、绿、蓝区的化学物质,这些物质受光分解,最后引起不同的颜色感觉;与之相反, Hering 认为有六种基本感觉,这些感觉以成对拮抗的方式(黑-白、蓝-黄、红-绿)出现,他假设网膜中存在三种物质,上述每一拮抗对中的一种颜色(如红)使其中一种物质异化,另一种颜色(如绿)则使其同化*,在二十世纪五十年代以前,色觉研究主要局限于心理物理实验,尽管这些工作的不断进展加深了对色觉现象的认识,但是对于颜色信息在视系统的接收、编码和传递过程却无法进行精细的分析,因此就很难在严格的生理基础上对这两种理论作出正确的评价。近二十年来,随着资料的积累和技术的发展,色觉研究有了重要的突破。实验表明,在网膜中确实包含有三种不同光谱敏感性的视色素,但颜色信息在神经通路中的传递却是编码为拮抗成对的形式,这样,两种表面上截然不同的色觉理论辩证地统一起来了。

我们知道,只包含一种光敏色素的单个感受细胞是不能反映颜色差别的,因为一种感受细胞,虽然对不同波长的光敏性可以不一样,但是只要适当改变相对光强,总能使这种感受细胞对两种任意选择的波长产生相同的反应。这正是在一种特殊的色盲者(单色觉者)中发生的情况,他们没有色觉,而只有亮度感觉,两种不同波长的光只要改变相对强度就可作出完全的比配。因此,为了要感受颜色信息,必须要有几种感受细胞,分别包含不同光谱敏感性的视色素。此外,为了不致使各种感受细胞的信号在传递过程中混淆起来,还必须要有一种能对此作出鉴别的神经过道。我们将会看到,从逻辑上作出的这两点推断的生理学基础现在已经确定了。

色觉研究十分广泛,本文主要介绍视网膜颜色分辨机制的研究近况,特别是应用微分光光度术对网膜单个感受细胞视色素的研究,以及用微电极技术对网膜单个细胞电活动的分析所取得的重大进展,最后简略论及视觉中枢对颜色信息的处理。为使问题简化,讨论集中于灵长类和鱼类(鲤鱼属),这两类动物用行为方法已证明具有良好的三色觉^[2-4],对它们视系统色觉过程的研究也进行得最深入。

一、视色素的研究

网膜感受细胞外段中包含光敏色素——视色素,这是一种色蛋白,以维生素 A 醛(视黄醛)的几种异构体为其载色基团。光照后视色素漂白,在暗中又逐渐复生,这是整个视觉过程的起

* 这是一种十分简化的叙述。这两种理论在开始时叙述比较笼统,对颜色信息在视系统中的传递和分析都没有也不可能作详细讨论。一个世纪来,理论逐渐完善并采取了更严格的叙述方式,但是基本思想没有变。关于这两种理论的历史演变,请参阅参考资料[1]。

始点。很长时间以来,对视色素的研究主要限于用化学方法把它们从外段中抽提出来后进行分析,这种方法对于阐明视色素的结构及其受光照射后发生的变化起了重要的作用,但是迄今为止,除了从小鸡、鸽子网膜已抽提到锥细胞视色素外^[5,6],在大多数动物只能抽提到杆细胞视色素。根据比较解剖、人类心理物理和动物行为的比较研究,发现杆细胞主司暗视觉,在暗视条件下是没有色觉的,只有锥细胞才和色觉有关*。虽然这两种细胞的色素在许多方面很相似,对杆细胞色素光化学研究的结果对锥细胞色素也有一定意义,但化学抽提的方法破坏了感受细胞固有结构,在色觉研究中不能不有相当的局限性。

五十年代末, Rushton、Weale 用网膜反射密度术(retinal reflectance densitometry)首先对人的网膜在位视色素进行研究^[7,8]。这种方法的原理是把一束光投射于眼底,然后测量由眼底反射的光量,由于此光束两次通过感受细胞外段包含的视色素,因此反射的光量能准确反映视色素的含量和光谱特性。这种方法原理虽简单,但技术上实现和数据的分析都相当复杂。Rushton 用部分漂白法^[7]发现在中央凹有两种锥细胞色素,一种绿敏色素(chlorolabe),吸收峰 540 毫微米,另一种红敏色素(erythrolabe),吸收峰 570 毫微米,并证明甲型色盲缺少红敏色素,乙型色盲缺少绿敏色素。这两种色素漂白和复生的动力学十分相似,但和杆细胞色素却迥然不同,前者光敏性要比后者高 5—10 倍。按推论蓝敏色素的存在是没有问题的(见后),但可能是因为包含这种色素的锥细胞太少,而且杆细胞色素的吸收光谱又在蓝绿部分,它的影响不易用部分漂白法所消除,因此迄今为止,应用这种方法还不能清晰地把这种色素鉴别出来。

网膜反射密度术为色觉研究开辟了一个新领域,但也有其所短。它虽然成功地鉴别了两种锥细胞色素的存在,但这些色素是分别包含在不同类型的锥细胞中,还是混合在一种锥细胞中,或者事实上只是单一的色素,只是前面有几种不同的滤色片(例如鸟类和龟的感受细胞含有颜色油滴,起着滤色片的作用),对于这些问题,这一方法无法作出清晰的回答。此外,由于部分漂白法还不能完全地把两种色素分开,也由于仪器的噪音,要精确地测定锥细胞色素的吸收光谱也还有困难。

上述这些问题只有通过单个感受细胞视色素的研究才能解决。六十年代初,几个不同的实验室独立地发展了微分光光度术^[9-11]。他们在红外光下把网膜从眼球中分离出来使之存活,然后应用这项技术对几种动物的单个感受细胞的视色素进行了研究。图 1 是

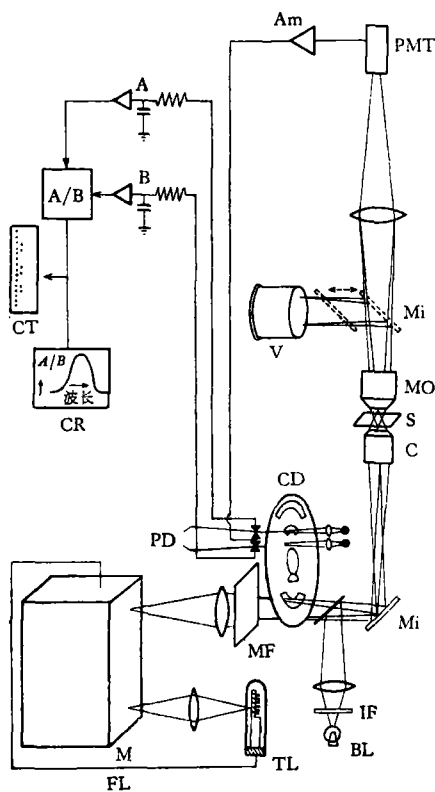


图 1 微分光光度术模式图

IL——钨灯, BL——背景光, IF——红外滤色片, M——单色仪, MF——金属箔, CD——机械光束切割盘, Mi——反射镜, C——聚光镜, S——网膜, MO——显微物镜, V——观察器, PMT——光电倍增管, Am——放大器, CT——计算机纸带, CR——记录器, PD——光敏二极管, FL——反馈回路

* 这样说并不完全正确,杆细胞也可能参与色觉过程,见后述。

一种典型测定仪器的模式图。钨灯 TL 的白光通过单色仪后成单色光束,光束经金属箔 MF 上两个小孔分成两束, A 光束为测试光束, 聚焦于一片夹在载玻片中的离体网膜 S, 通过单个感受细胞外段; B 光束为参考光束, 聚焦于载玻片上无网膜区。两光束由显微物镜 MO 投射于光电倍增管 PMT 阴极表面。机械光束切割盘 CD 使两光束交替照射光阴极表面, 这样, 按照光倍管的不同输出比 $[A/B]$, 经过计算机分析和校正就可以得到单个感受细胞视色素的吸收光谱。实验均在红外光下进行以避免色素漂白, 并通过红外转象器 V 加以观察。其它仪器原理相近, 对于彼此的优劣, MacNichol 曾作了详尽的讨论^[12]。

但是, 这样得到的吸收光谱通常不能真正反映视色素的特性, 这是因为网膜中存在着非光敏色素和散射特性与波长相关的颗粒; 光学系统中衍射和色象差也是一个原因。为了减小这些因素的影响, 往往先测定暗适应时视色素的吸收光谱, 然后用 BL 的白光漂白后再测一次, 如果在这一过程中不形成带色的分解产物(通常有这种产物形成, 对此还需校正), 那么这两次吸收光谱相减(差别光谱)就表示这种视色素真正的光谱吸收特性。

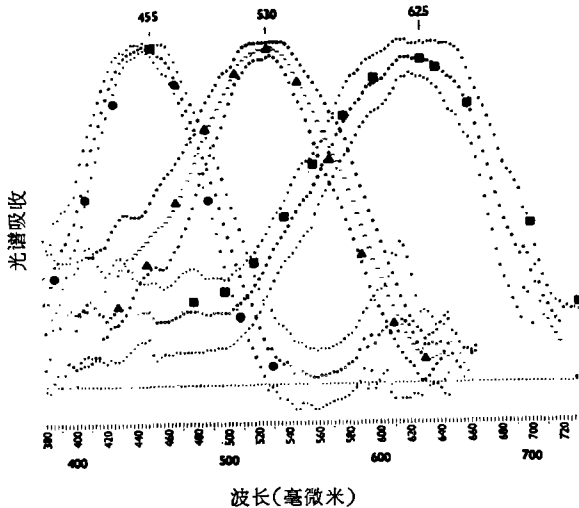


图2 用微分光光度法测量金鱼单个锥细胞视色素的差别光谱
三种色素吸收峰分别在 455 ($N=8$ 平均), 530 ($N=10$), 625 ($N=9$) 毫微米。每一曲线上、下符号示标准差。●、▲、■系按照 Dartnall 诺模图据同一峰值画出

应用这种方法, Brown, Liebman 等首先在蛙上获得成功^[9,11], 他们得到的单个杆细胞色素差别光谱峰值为 502—504 毫微米, 在实验误差范围内同化学抽提的结果吻合得很好。单个锥细胞视色素的测定最初是在金鱼上进行, 它的锥细胞外段直径较大(4 微米)。Marks 发现锥细胞色素有三种, 其吸收峰值分别为 455 ± 15 , 530 ± 5 和 625 ± 5 毫微米(图 2)^[14]。这三种色素分别包含在三种不同的锥细胞中。这一结果已被反复证实^[15,16]。之后又开始对灵长类(人和恒河猴)的旁中央凹单个锥细胞色素进行研究, 虽然资料不多, 但也表明存在三种光谱敏感性不同的视色素, 其中红敏和绿敏色素与 Rushton 用网膜反射密度术测定的在位色素的结果相符合^[17,18]。现将用微分光光度术测定的龟、金鱼、灵长类单个锥细胞视色素的结果汇总于(表 1)。

单个锥细胞色素和杆细胞色素有许多相似之处, 它的吸收光谱和 Dartnall 诺模图* 吻合得很好。在同一光照条件下, 两种色素漂白的速度相近, 因此光敏度不会有很大差异, 这和 Rushton 在位色素测定的结果有矛盾, Rushton 假设这一差别系锥细胞外段在位时的聚光作用而致^[7]。但是锥细胞色素在光照后热分解过程要比杆细胞色素快得多^[12,19]。

对于微分光光度法的结果曾经有过一些争论。例如, 有人认为感受细胞外段层叠的小盘起着干涉滤色片的作用, 因此所测定的是感受细胞的这种光学性质; 也有一种意见以为感受细

* Dartnall 综合了许多动物视色素的吸收光谱, 发现虽然峰值各异, 但若横坐标以波数或频率表示, 不同峰值的吸收光谱具有相同的形状, 依此可作出诺模图(Nomogram), 当色素吸收峰一经确定, 即可按诺模图画出其整个吸收光谱^[21]。

表 1 应用微分光光度术测定单个锥细胞视色素结果汇总

动物	吸收光谱峰值(毫微米)	峰值光密度 (每微米厚度)	参考资料
金 鱼	1. 455±15, 530±5, 625±5	0.008	14
	2. 455, 535, 620	0.013±0.002	15
	3. 455±3, 530±3, 625±5	0.0124±0.0015	16
龟	450±5, 518, 620±5	—	19
灵 长 类	1. 447, 540, 577	—	12
	2. 440, 525—535, 560	—	17
	3. 440, 535, 575	0.015	20

胞外段形如波导管, 它的波导作用对吸收光谱的形状和峰值起了决定的影响。但是这些解释依据不足, 因为单个杆细胞色素测定结果与化学抽提的相同; 在进行微分光光度测定时, 若光束不是依垂直方向而是从感受细胞侧方照射, 两者结果相近(由于 Stiles-Crawford 效应会有一些差别)^[14,20]; 若把从恒河猴中央凹中分离的锥细胞外段悬液置于超声场中, 使所有粒子都小于 2 微米(波导结构已破坏), 仍可以测得两个色素, 峰值分别为 526 和 573 毫微米^[22]。看来, 虽然有可能存在波导作用, 但它对光谱吸收峰并没有明显的影响。

在具有三色觉的动物(包括人)网膜中鉴定了三种光谱敏感性不同的视色素(在鱼、龟分别包含在三种锥细胞中, 灵长类也是这样, 但还没有完全肯定), 为 Young-Helmholtz 三色理论提供了严格的生理学依据, 这在色觉研究中是一个重要突破。但是视色素对光的吸收只是视觉过程的第一步, 颜色信息在视系统中的传递方式和过程还需要由电生理研究加以进一步阐明。

二、视网膜细胞的电生理研究

对神经系统中信息传递的研究最重要的手段是分析它的电活动。有三种基本的技术:

1. 记录神经细胞的群体反应。2. 细胞外记录一个或几个神经细胞的活动。3. 用微电极插入细胞内记录跨细胞膜的电位变化。视网膜电图 (Electroretinogram) 是视网膜的综合电反应, 一般认为反映了感受细胞和内核层细胞的活动^[23]。由于是大量细胞的群体反应, 不同的兴奋、抑制模式往往不能充分表现出来, 而且不同类型神经元的活动互相叠加、互相掩蔽, 增加了分析的复杂性。当然采用一定的方法, 也能对网膜的色觉过程进行研究^[24,25], 但一般来说, 要对各种神经细胞的功能联系和相互作用进行精细分析比较困难, 因此这一部分主要介绍对网膜各水平单个细胞(大抵按信息传递的顺序)电活动的研究结果。关于视网膜电图近年进展参见资料[26,27]。

在综述电生理结果之前, 有必要先对网膜结构和各种细胞间的突触联系作一个扼要的介绍, 在这方面近年来也有很大进展^[29]。图 3 是典型的脊椎动物网膜突触联系的模式图。杆细胞只和一种双极细胞(杆双极细胞)相联, 杆双极细胞的轴突伸至内网状层和弥散神经节细胞的树突或细胞体形成突触联系。锥细胞和两种双极细胞(侏儒、扁平双极细胞)相接触。侏儒双极细胞在中央凹区只和单个锥细胞相联, 但两者在多处形成突触; 扁平双极细胞和一群锥细胞相联。这两种双极细胞的轴突又伸至内网状层在各个水平和神经节细胞树突相接触。水平

细胞在外网状层均有突起和杆、锥细胞相联,大多数突起在形态上是相似的。在内网状层侏儒

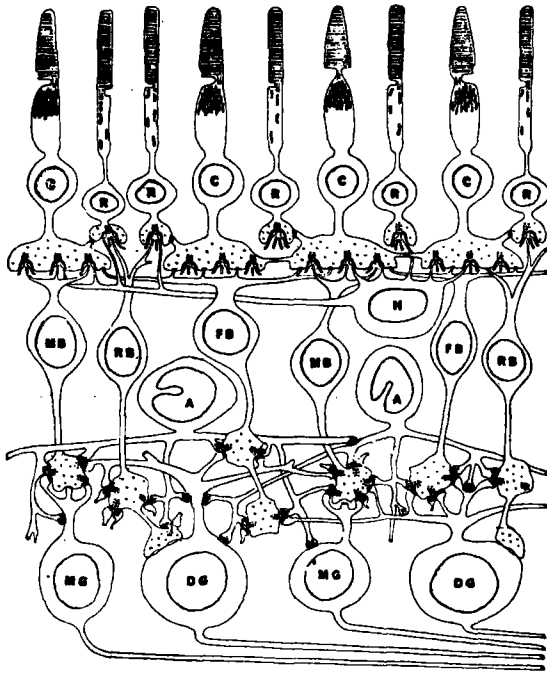


图3 一种典型的脊椎动物(灵长类)
视网膜各种细胞间联系的模式图

R-杆细胞, C-锥细胞; MB-侏儒双极细胞, RB-杆双极细胞, FB-扁平双极细胞; H-水平细胞; A-无足细胞; MG-侏儒神经节细胞, DG-弥散神经节细胞。在杆、锥细胞以及各种细胞间形成突触处略示精细结构

神经节细胞和侏儒双极细胞形成一一对应的联系,但弥散神经节细胞和各型双极细胞都有联系。在这一层,无足细胞和各种双极细胞的末梢都发生接触,而且在双极细胞和神经节细胞接触处一般都有无足细胞突起,后者又有突起返回双极细胞形成回路,无足细胞彼此间及和神经节细胞的树突、细胞体都有突触联系^[28]。

网膜的功能联系主要是按纵向排列的,即杆、锥细胞的活动经双极细胞传递至神经节细胞,但是正如从上述模式图中可见的,一个感受细胞通常可以激活许多双极细胞,后者又可激活许多神经节细胞,以致信息既按垂直方向传递又向水平方向扩布。而由于水平细胞在外网状层、无足细胞在内网状层形成的水平联系又进一步增加了水平扩布和相互作用的可能性。即使从纵向来看,在有些动物的网膜(如龟)已经发现,除信息的正向传递外还有信息的反馈(例如从水平细胞→感受细胞),甚至在感受细胞之间也存在着相互作用^[30,31]。此外每一类细胞又有好几种,它们与其它细胞形成的突触联系也各不相同。这些错综的联系就使网膜活动模式和过程的分析变得异常复杂。在考虑颜色信息在

网膜中传递和分析时,我们将集中讨论在锥细胞起主导作用,即明视条件下网膜的活动,暗视的情况只在必要时略加提及。

1. 单个锥细胞的电活动

因为锥细胞直径仅几微米,微电极插入时细胞极易受损伤,微电极尖端也易折断,因此进行细胞内记录十分困难。1967年Tomita等采用尖端0.1微米的微电极,将离体网膜置于高频(10千周/秒)微震动台上使微电极容易插入,成功地记录了鲤鱼单个锥细胞的电反应^[32]。这不是全或无的脉冲活动,而是一种渐变光反应,随着光强增加,振幅不断增大,至一定水平后趋于饱和,光照时细胞超极化(无脊椎动物光感受器反应为去极化^[33])(图4)。

细胞内记录的感受细胞电位和S-电位(见后)对白光刺激都是超极化,因此在两者间鉴别时必须十分谨慎。他们当时确定反应来自锥细胞主要依据以下几点准则:1.组织学:鲤鱼的杆细胞太细(1微米),微电极无法插入,在感受细胞层唯一可能的位置是锥细胞内段。2.静息电位:在记录对光反应之前,应该先记录到一个直流电位变化,作为微电极进入细胞内的标志(S-电位在细胞外也可记录到)。3.无面积效应:感受细胞的反应只依赖于记录点的刺激光强,而和照射面积无关,如果反应来自网膜内其它细胞,由于将综合许多感受细胞的活动,反应

有明显的面积效应(大面积光照时反应更大)*,以后采用细胞内标记技术,即在电生理记录后,用电泳法使染料(尼亚加拉天蓝 Niagara Sky Blue 6B)**通过记录电极尖端透入细胞,然后用组织学切片加以检验,表明染料确仅限于单个锥细胞的内段(如果电极在细胞外,染料迅速扩散),为上述推断提供了确证^[34]。他们共测定了142个锥细胞的光谱反应曲线,共有三种不同光谱敏感性的细胞(图5),其中敏感峰为 462 ± 15 毫微米的共23个(16%), 529 ± 14 毫微米 14 个(10%), 611 ± 23 毫微米 105 个(74%)。这一结果和单个锥细胞色素吸收光谱(吸收峰为 455、530、625 毫微米)的测定十分接近。当然两者在定量上还有些差别:电反应的光谱响应曲线要比吸收光谱更窄,在三种锥细胞的比例上也有不同, Marks 测定以绿锥细胞为最多,蓝的最少,而 Tomita 却以红的最多,绿的最少。但是考虑到技术上的复杂性,两种结果的吻合程度是十分惊人的。

近年来对龟单个锥细胞电活动的研究也十分活跃。微分光光度术已表明龟有三种锥细胞色素,电生理研究得到了类似的结果,电反应的光谱敏感峰为 $460(450 \pm 5)$, $550(518)$, $630(620 \pm 5)$ 毫微米***。如果消除锥细胞内油滴颜色的影响(在绿锥细胞前有橙色油滴,使电反应峰值向长波段偏移),结果就更加接近^[36,37]。用荧光黄(Procian yellow)染料标记,证明这些反应确实来自锥细胞。

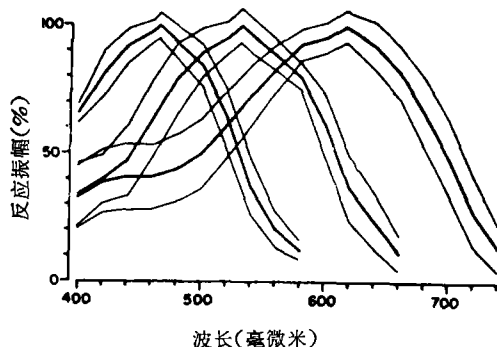


图5 鲤鱼三种锥细胞电活动的平均光谱反应曲线,曲线上下细线示标准差

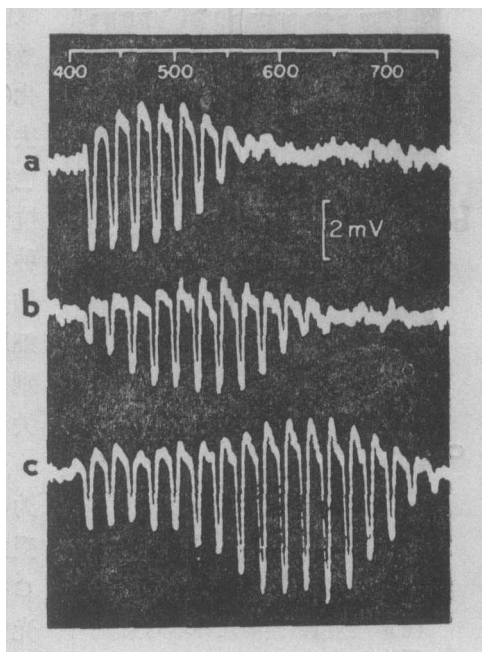


图4 鲤鱼单个锥细胞对等量子 (2×10^5 光子/平方微米·秒,网膜水平)不同波长光的电反应(细胞内记录)

三种细胞有不同的光谱敏感性。电位向下表示超极化,图顶端为波长标尺(毫微米),刺激波长间隔为 20 毫微米

更高等脊椎动物单个锥细胞电活动的细胞内记录至今尚未成功,但是结合上述结果有理由推断,在灵长类(包括人)网膜内也会有三种不同光谱敏感性的锥细胞。综合微分光光度的研究,表明颜色信息在网膜感受细胞这一水平是以红、绿、蓝三种不同的信号编码的,这正是 Young-Helmholtz 三色理论的基本思想。

2. S-电位

1953 年 Svaetichin 用微电极从某些浅海鱼网膜中记录到一种新的电活动,这是一种渐变光反应,之后即谓之 S-电位^[38]。这是首次从网膜内核

* 这一准则对龟是不适合的,实验已经表明龟的锥细胞由于彼此间的相互作用或通过水平细胞的作用也有一定大小的感受野,反应并非和光照面积无关^[30]。甚至发现鱼的感受细胞间也有一定的联系^[39]。不过感受细胞反应的面积效应一般都较小。

** Niagara Sky Blue 6B 是一种水溶性很好的染料,在有机溶剂中可溶性极低,这就使染色点能在进行组织块脱水、包裹的过程中依然保持。

*** 括号内数值系单个锥细胞色素吸收光谱峰值。

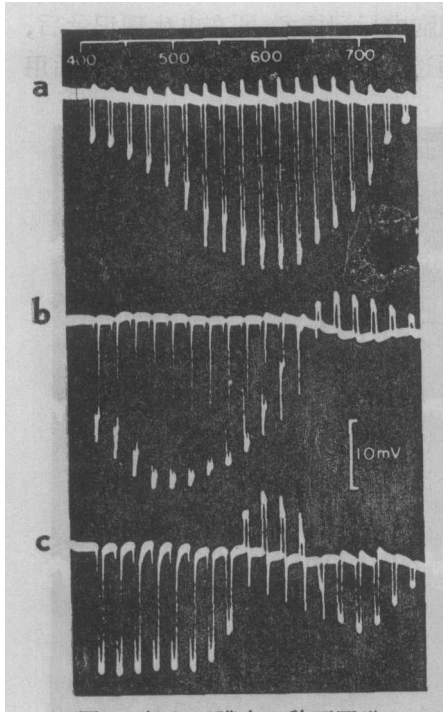


图6 鲤鱼网膜中几种不同类型的 S-电位

电位向下为超极化,顶端数字为波长标尺(毫微米)。a. L型: 对任何波长刺激的反应都是超极化。b. C型, 双相: 对 400—620 毫微米反应是超极化, 对长波段是去极化。c. C型, 三相: 对光谱两端的反应是超极化, 对中间波段是去极化

层中记录到的单细胞电活动。

有两种S-电位。一种对可见光区域内的任何波长刺激的反应都是超极化,称为L型。另一种对不同波长刺激呈拮抗式反应,例如,对短波段是超极化,长波段去极化(双相反应),或对光谱两端呈超极化,对中间波段呈去极化(三相反应),称为C型(图6)。这种对于不同颜色的拮抗反应是首次在视系统中发现,似乎是 Hering 拮抗色理论的第一个生理学依据。至今, S-电位已在许多种类动物,包括灵长类网膜中记录到。以后发现,这种色拮抗反应不仅可以在网膜中其它细胞(双极细胞、神经节细胞、无足细胞),而且在视系统的更高水平也都能记录到,看来是颜色信息沿着神经通路传递的一种主要方式。关于这一点以下还要详述。

S-电位的起源目前还不完全清楚。Svaetichin 当时认为起源于锥细胞,但随后电极标记技术表明它来自自感受细胞更近心端^[40,41]。L型反应一般认为源于水平细胞, C型有人以为源于无足细胞,但 Kaneko 等在金鱼用荧光黄染料标记清晰地表明L型和C型均源于水平细胞^[42,43]。在没有更确切的反证之前,我们接受这一结论,并称具有L型反应的为L-细胞, C型反应的为C-细胞。

水平细胞通常都接受不同感受细胞(包括不同锥细胞)的输入,甚至L型也不例外。它们的光谱反应一般都是几种感受细胞输入的综合。由于各种锥细胞的光谱敏感特性互相重叠,即使用单一波长刺激也可能使不同锥

细胞兴奋,因此水平细胞正是反映了这些细胞的共同活动。要把不同锥细胞的输入鉴别开来,常用而又比较有效的方法是颜色光适应,即以一定的颜色背景光把光谱敏感性与之相应的一种或两种锥细胞的功能抑制下去,从而把另一种分离出来(图7)。这种方法在鉴别神经节细

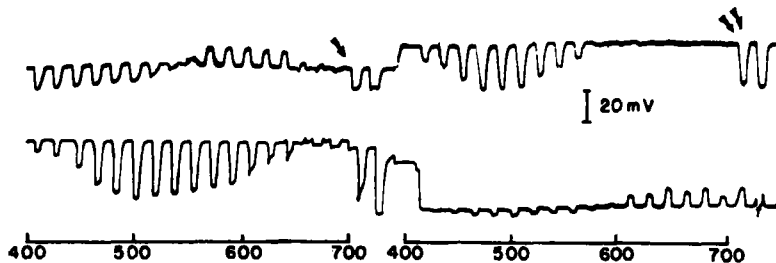


图7 颜色光适应对两种C型 S-电位的影响

图下标数字为波长(毫微米)。上. 红光适应。左侧为未适应时的反应。箭头所示系对两次白色闪光的反应(前一闪光强度比后一闪光弱 0.6 对数单位)。右侧系适应后的反应,红光适应抑制了对长波段的反应,而对短波段反应振幅增加。由于去极化反应的消除,对白光刺激的反应振幅增加(双箭头所示)。下. 蓝光适应,抑制对短波段反应,而对长波段反应增加

胞的不同输入时也经常采用。

水平细胞接受何种感受细胞的输入,对各种动物似乎并不完全一致,甚至一种动物的几层水平细胞情况也不相同。表2是几种动物水平细胞接受感受细胞输入类型的比较。

表2 水平细胞接受感受细胞输入类型的比较

动物	水平细胞类型	感受细胞输入种类	参考资料
鱼 (鲤鱼属)	中层 L 型	杆细胞	44
	内外层 L 型	G-, R-	45
	内外层 C 型	G+/B-	
		R+/G-	
		G+/R-, B-	39
龟	L 型	R-, R-G-, R-B-G-	46, 47
	C 型	R+/G-B- G+/B-G-	

注: R, G, B 分别表示红、绿、蓝三种锥细胞, + 表示去极化, - 表示超极化, R+/B- 即表示对红光反应为去极化, 对蓝光为超极化, 余同。

水平细胞在视觉中的作用还是一个争论的问题。它在网膜相当大区域内和感受细胞形成突触联系, 而且在相邻的水平细胞间还有电阻很低的电学联系^[49], 通常有较大的感受野(可以覆盖整个网膜)。考虑到水平细胞对锥细胞的反馈作用^[37], 这些细胞似乎能综合网膜大面积感受细胞的反应以产生一种对网膜敏感度的所谓“自动增益控制”(Automatic Gain Control), 使网膜在相应的照明水平下处于最佳工作状态^[45, 50]。L 型细胞一般认为和色觉无关, 但是既然它可以同时从不同锥细胞获得输入, 那么和色觉的关系也不能完全排除。C 型细胞和色分辨有密切的关系, 因为不同波长会引起性质不同的反应, 很小的波长差(10—20 毫微米)就能使反应由超极化转为去极化(或相反)。很清楚, 对 C 型细胞至少有两种不同类型的突触, 一种突触前末梢释放超极化递质, 另一种释放去极化递质(也可能是对同一递质两种不同的突触后反应), 这些递质直接或间接地由不同光谱敏感性的锥细胞所释放。Fuortes 在研究龟感受细胞间相互作用的基础上提出了另一种解释, 他设想锥细胞在暗中连续向水平细胞释放去极化递质, 一旦前者因光照而超极化, 去极化递质减少, 水平细胞出现超极化, 因此超极化是一群锥细胞直接作用的结果。由于锥细胞的相互作用, 当用另一些波长刺激时, 这群锥细胞又可能为另一群拮抗的锥细胞的信号去极化, 此时去极化递质增加, 水平细胞去极化^[31]。但是这些解释都还缺乏确切的实验依据。

水平细胞的性质和别的神经细胞有些不同, 例如经过细胞内微电极通以电流时, 细胞的静息电位发生很大变化, 但是对光反应的振幅和极性都没有影响, 而且对 S-电位和神经节细胞反应特性的比较研究中也观察到两者在定量上的差别^[48]。因此有人认为, 它可能和视觉过程无关。但是如果水平细胞不是处于信息传递的主通道上, 而是处于反馈回路中, 或者它所起的作用是系统调节作用, 那么它的反应未必一定要和直接通道的细胞反应保持定量上的一致。

3. 神经节细胞的电反应

在网膜各级细胞中研究得最早、最广泛、最深入的是神经节细胞。本节的讨论仅限于和色觉研究有关的工作, 其余方面参阅资料^[51]。早在三十年代, Hartline 就在蛙单根视神经纤维

(神经节细胞的轴突)记录到电反应,这是一种在神经系统中常见的全或无的脉冲反应。他发现可以分为三类,即给光反应(光照一开始有反应)、撤光反应(光照时无反应,但撤光时有反应)、给-撤光反应(光照时和撤光时均有反应)。每一根纤维均对视网膜的一定区域有反应,这区域就是该细胞的感受野^[52]。

之后,神经节细胞的电生理研究由于微电极技术的应用不断进展。Granit 对神经节细胞的光谱敏感特性作了细致的研究,提出了“优势器”(dominator)和“调变器”(modulator)的概念^[53],但他的主要实验动物是蛙和猫,这些动物只有很弱的色觉能力。1953 年 Kuffler 等观察到猫神经节细胞感受野中心和周边具有拮抗反应(中心是给光反应,周边是撤光反应),但仍未发现颜色拮抗细胞^[54]。六十年代初,在金鱼游离的网膜中才发现,除了一部分对所有波长均有相同反应外,许多神经节细胞对不同颜色有拮抗反应(图 8)^[55],例如对蓝绿光是给光反应,对红光则是撤光反应。在红、绿、蓝之间有六种可能的组合,其中以红-绿对为最多,包含蓝的最少^[56]。用小光点刺激发现这些色拮抗细胞中有许多在空间反应上也是拮抗的,例如在感受野中心对红光是给光反应,周边对绿光是撤光反应,形成同心圆式拮抗感受野。Daw 采用光点和光环相结合的方法发现情况还要复杂得多^[57]。由于反应性质的空间构型十分复杂,因此提出了各种分类法,但是可以大抵归纳成如图 9 所示的四种类型。

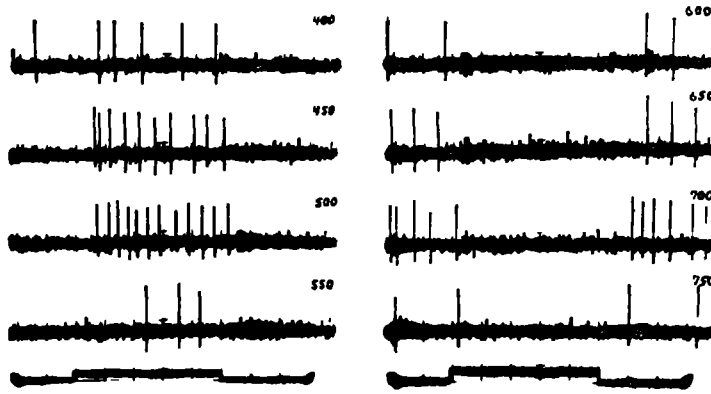


图 8 金鱼网膜神经节细胞对不同波长光刺激的电反应
 图下线为光刺激讯号,反应右上角数字为波长(毫微米),该细胞对蓝绿光为给光反应,对红光为撤光反应

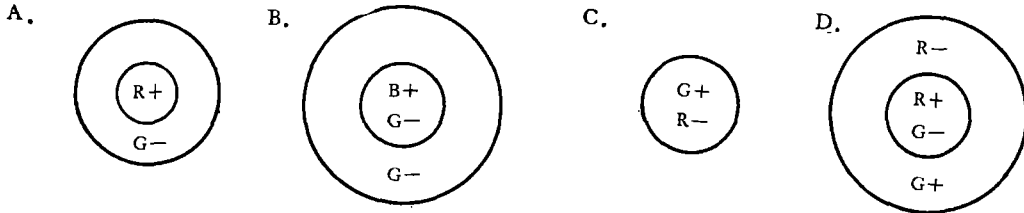


图 9 不同类型的色拮抗细胞

R、G、B 分别表示红、绿、蓝;+ 为给光反应,- 为撤光反应,R+ 即表示对红光刺激为给光反应,余均似。
 A 型——有中心-周边空间构型,中心和周边对不同颜色有拮抗反应; B 型——除中心-周边反应的
 颜色有部分重叠,余同 A 型; C 型——无中心-周边空间构型,但有色拮抗反应; D 型——双拮抗型,中心和
 周边均为色拮抗,空间反应也相拮抗

这些反应在鲤鱼属和猴研究得最细致。鱼具有 A、C、D 型^[58]。这些细胞感受野中心直径 1—2 毫米, 周边 5 毫米或更大。用颜色光适应的方法表明, 感受野中心一般总有红锥细胞输入, 而绿锥细胞输入总和红的相拮抗; 同一感受细胞对中心和周边的输入总是拮抗的(即无 B 型)。对于蓝锥细胞意见还不一致, 有人认为蓝锥细胞只对中心有输入, 并且和红锥细胞同符号^[59], 也有实验表明蓝锥细胞对中心和周边都有输入, 符号同绿锥细胞^[60]。它的双拮抗反应又可分成两个亚型, 其中之一恰如图 9 D 型所示, 只是中心和周边均有杆细胞输入, 符号同红锥细胞; 另一型正与图示相反。如果是前一型, 则同时用红光照射中心、绿光照射周边时细胞有最大的给光反应。杆细胞和红锥细胞相联系有点出乎意外, 因为杆细胞的光谱敏感特性和绿锥细胞而不是红锥细胞相近。这意味着如果在暗适应时对 500 毫微米为给光反应, 在明适应时则转为撤光反应。其实, 神经节细胞的活动正是几种感受细胞相互作用的综合结果, 即使感受野同一区域, 给光和撤光反应也不是完全独立的, 例如图 9 中的 C 型细胞, 若用红光适应, 则对红色的撤光反应被抑制, 但同时绿色的给光反应的绝对敏感度却增加, 这提示使该细胞产生撤光反应的输入对给光反应的输入似乎有某种抑制作用, 红光适应使后者从这种抑制中解脱出来^[55]。甚至细胞的类型也不是一成不变的, 有些非色拮抗型细胞在适当的适应条件下可以转换成 D 型^[57]。

已经测定了红-绿拮抗型细胞的光谱敏感特性, 和 Marks 测定单个锥细胞色素的结果相吻合^[57]; 但对包含蓝的细胞的分析还没有得到满意的结果。

Gouras 等人最近对恒河猴的神经节细胞反应进行了一系列研究^[61, 62]。无 B、D 型, 有 A、C 型, 但特性又和金鱼有所不同。其中 A 型为持续反应(在光刺激整个时间都有反应), 在 R、G、B、C、Y、M [C 即 (B + G), Y 即 (R + G), M 即 (R + B)] 间有许多种组合, 其中包含蓝的较少, 感受野中心通常都只有一种锥细胞输入。这种细胞比例最大, 占总数(460)的 61%; C 型也是持续反应, 数量很少(2%)。采用颜色光适应方法, 发现每个细胞有不同的锥细胞输入, 并且可以鉴别出三种光谱敏感峰分别在红、绿、蓝区的细胞(图 10)。还有一些 A 型的变种, 它们的反应是瞬变型的(仅在光刺激开始或终了时有反应), 光谱反应较宽, 感受野中心有两种锥细胞输入。此外也发现相当数量的非色拮抗型细胞。

不同反应类型细胞和形态分类间的关系还有待研究。色拮抗反应传导速度比非色拮抗型更慢, 这提示前者可能是侏儒神经节细胞。

4. 双极细胞和无足细胞的电活动

由于技术上的困难, 这两种细胞还研究得很少。Kaneko 发现金鱼双极细胞电反应也是渐变光反应, 感受野均呈中心-周边构型, 中心直径为 100—200 微米, 和该细胞的树突分布区相

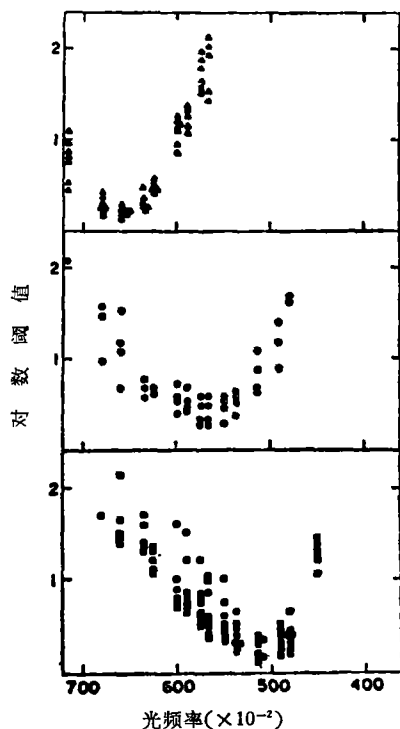


图 10 用颜色光适应分离的灵长类三种神经节细胞的光谱反应特性

示三种细胞(持续型)感受野中心为 B+, G+, R+, 颜色背景光分别为黄、红、蓝。横坐标以光频率($\times 10^{-2}$)表示, 纵坐标为对数阈值

近,环形的周边为1—1.5毫米(图11)。这些细胞分为两类:色拮抗型和非色拮抗型。前者 和神经节细胞的B型相似(参看图9),后者无论是中心或周边总是对红光有最大反应^[64,65]。 Vazulla 在龟发现除了上述两种类型外还有一种类似于B型^[66]。

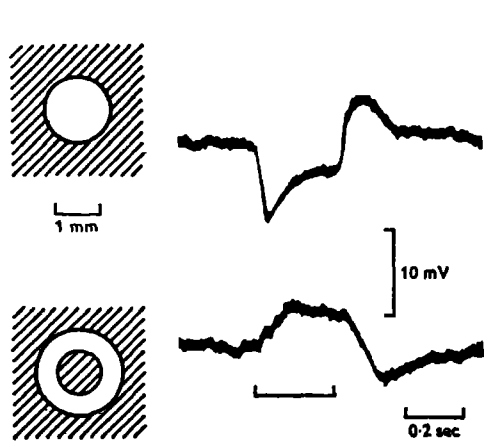


图11 双极细胞对光的电反应
(细胞内记录)

对光点为超极化(上),对光环为去极化(下)。电 反应下的水平线示光刺激时程

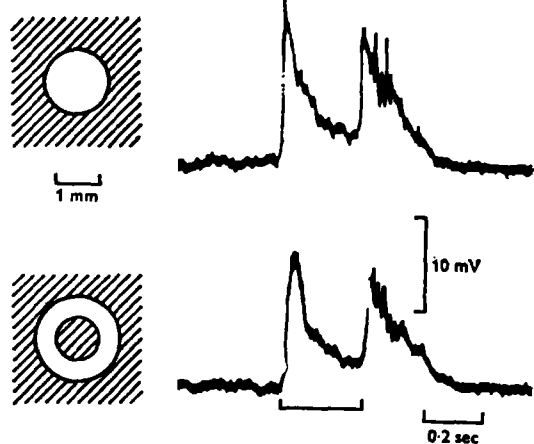


图12 非色拮抗型无足细胞对光的电反应
(细胞内记录)

反应为瞬变型,在给光或撤光时均为去极化,无 中心-周边拮抗构型,对光点光环反应相同,注 意伴有峰形电位

至今尚未从灵长类记录到双极细胞的电反应,因为这些细胞太细长,微电极很难插入。由 于灵长类和色觉有关的似乎主要是侏儒双极细胞(图3),形态学研究表明在中央凹,锥细胞和 侏儒双极细胞、侏儒神经节细胞形成一一对应的突触联系,在一定程度上是信息传递的一条专 线^[63],因此关于侏儒双极细胞的某些特性可以根据神经节细胞的特性来加以推测。看来,它们 的基本特性——中心-周边构型的色拮抗型反应和金鱼双极细胞不会有多少差异,虽然色拮抗 的类型可能不同。

金鱼的无足细胞的电活动也是渐变光反应,但是伴有峰形电位(图12),它的感受野没有 中心-周边构型,按其特性也可分为色拮抗型和非色拮抗型两类。前者是持续型,对红光是超 极化,对绿光去极化;后者为瞬变型,对不同波长有相似反应,在给光或撤光时去极化,似乎主 要是来自红锥细胞的输入^[64]。尚未能记录到灵长类无足细胞的反应。

无足细胞在视觉(色觉)中作用更不清楚,它位于双极细胞和神经节细胞之间,并和两者形

表3 金鱼双极细胞、无足细胞反应类型和感受野大小的比较

细 胞 类 型		反 应 类 型		感受野大小(毫米)		参考资料
		中 心	周 边	中 心	周 边	
双 极 细 胞	色拮抗型	R 士	G干 R干	0.2	1—1.5	64
	非色拮抗型	R 士	R 干			
无 足 细 胞	色拮抗型 (持续型)	R—G+		2.5		64
	非色拮抗型 (瞬变型)	给光撤光时R+				
神 经 节 细 胞		略		1—2	5—7	57

成广泛的突触联系,它几乎可以肯定并不在信息传递的主通道中,但它能综合大面积各种细胞的活动提示,可能在按环境颜色的变化而调整网膜的活动方面起着某种作用^[12]。某些细胞的瞬变反应也表明它们可能和时间对比、运动检测这样一些视觉现象有关^[64]。

表 3 为金鱼双极细胞、无足细胞电反应特性和感受野大小的比较。

三、视觉中枢对颜色信息的处理

关于这方面工作的详细讨论已超出本文范围,可参阅资料^[67,68]。这里只需指出,以对颜色信息的处理方式而言,外膝体和视皮层神经元的反应模式和神经节细胞并无多大差别,有大量各种类型色拮抗型细胞*。例如在猴的外膝体可以找到四种色拮抗型细胞,图 9 中 A、B、C 型都有,不同层细胞的反应类型也很相似,采用颜色光适应能分离出三种细胞,光谱敏感峰分别在 450、540、570 毫微米,与单个锥细胞视色素吸收光谱十分接近,当然情况要更复杂些^[69]。视皮层也相似,只是空间构型更加复杂,还有一些兼有某些特征检测功能的色拮抗型细胞^[70]。

四、结 语 和 展 望

在色觉这样一个牵涉到多种学科的研究领域中,本文涉及的只是很窄的一个方面,但是这方面工作的进展可能是近二十年来最重要的、最有意义的。色觉研究曾经在相当长时间内踟蹰不前,一方面由于资料还不完善,问题本身还不成熟,在一定程度上也受技术水平的限制。一旦问题明朗而又越过了技术上的障碍,情况就完全改观。可以说,运用网膜反射密度术对位在锥细胞视色素、微分光光度术对单个锥细胞视色素的研究,以及应用微电极技术对网膜单个细胞电活动的分析大大推进了人们对颜色信息在视系统中接收、传递、分析过程的认识,使色觉研究出现了一个崭新的局面。

这一进展不仅在视觉生理学而且在认识论上都有一定意义。恩格斯指出:“只要自然科学在思维着,它的发展形式就是假说。”Young-Helmholtz 三色说和 Hering 的拮抗说在开始时都只是依据心理物理的某些实验资料提出的一些假说,虽然能解释许多色觉现象,以后大量的工作也不断提供了各种证明,特别是色的三变量性(即任一颜色原则上都可以由三种各自独立的原色的综合相比配)似乎是三色说的一个有力的佐证,但是数十年来主要局限于心理物理这一领域的色觉研究工作,不可能对视系统的颜色信息处理过程在细胞水平进行精细的分析。虽然化学抽提杆细胞视色素早已成功,但迄今还只能从很少数的动物网膜中抽提到锥细胞色素。用电生理方法对网膜功能的研究是从三十年代开始的,已经提供了不少有价值的资料,但主要的工作是在色觉能力较弱的动物上进行,也没有可能对单个细胞的电活动进行分析。由于这些原因,在二十多年前对于色觉的认识仿佛是控制论中“黑箱”的情况,即给以一定的输入(颜色刺激)观察“黑箱”(视系统)的输出(反应),然后依据这样获得的大量资料对“黑箱”信息处理的过程和特性进行推测、假设,至于视系统是否确以假设的这种或那种方式作信息处理,只能由进一步心理物理的实验提供间接的证明。因此两种理论的争论还多半是表面的、非实质性的。现在,情况殊变,“黑箱”打开了,对色觉理论开始有可能在更科学、更坚实的基础上加以评价,并为形成更完善的色觉新理论创造了条件。如上所述,在网膜中有三种锥细胞分别包含

* 在一些较低等的脊椎动物,中脑顶盖区为其视觉中枢,神经节细胞轴突直接终止于视顶盖,两者对颜色信息处理的方式更为相似。

三种不同光谱敏感性的视色素,这三种视色素光照后漂白使锥细胞兴奋,因此,在感受细胞这一级颜色信息是以三个独立的变量接收的。而在感受细胞之后,这信息却不是简单地以红、绿、蓝三条独立的“专线”向中枢传递,从双极细胞至神经节细胞一直到视中枢,包括横向联系的水平细胞和无足细胞,颜色信息都是编码为拮抗对的形式进行传递,这就保证了不同感受细胞的信号不在传递的过程中混淆起来。看来,在两种色觉理论中不是两者择一的问题,它们都有正确的一面,也都有各自的片面性:三色说虽然正确地描述了在感受细胞颜色信息的接收,但信息的编码传递却是依据着拮抗说所假设的方式。这样,两种理论随着对客观规律认识的深化就在一个新的水平上辩证地统一起来了。回顾色觉研究的历史,这一基本思想正是半个多世纪前为 von Kries、Müller 所假设的^[1],但多年来未受重视,而实践使它重又恢复了生命力。

“我们只能在我们时代的条件下进行认识,而且这些条件达到什么程度,我们便认识到什么程度。”在色觉研究中,如果说二十年前我们不可能达到今天这样的认识是因为当时条件的限制,那么今天的认识也同样受着目前条件的制约,它决不是完善的,即使就网膜色分辨的机制而言,也还有许多问题很不清楚,这些问题主要有:

1. 对网膜几种细胞的功能都只是初步的了解,特别是对双极细胞和无足细胞还很少研究,而双极细胞一般认为正是处于视信息传递的主要通路之中。

2. 目前的研究在同一实验中主要还是限于单种细胞,对各种细胞之间的功能联系和相互作用的极其复杂的模式还缺乏协同的研究,譬如对感受细胞的三色信号到底是怎样编码成色拮抗对形式这样一个中心问题,除了一些很不成熟的假设外几乎一无所知。

3. 三色信号编码为色拮抗对是否是信息传递的唯一形式,此外还有没有其它可能的形式。

4. 对一些重要的色觉现象(如同时色对比)在细胞水平尚不能提供完满的解释。

5. 已有一些证据表明杆细胞在色觉过程中起着某种作用,其作用和机制的分析。

6. 灵长类单个锥细胞和中间神经元电活动的研究。

至于全部的色觉研究还有更多的工作要做,更多的问题有待解决。总之,要形成一种相对完善的,能在细胞水平精细、定量地描述各种色觉现象的理论正有待大量的各个领域(组织学、光化学、电生理、心理物理学)的共同研究,但是在漫长的色觉研究中十分艰难的一步已经跨出了。

本文承我所视觉组许多同志提出修改意见,谨此致谢。

参 考 资 料

- [1] Judd, D. B., *Proc. Nat. Acad. Sc.*, **55** (1966), 1313.
- [2] Shefiner, J. H., Levine, M. W., *Vision Res.*, **16** (1976), 671.
- [3] De Valois, R. L., Jacobs, G. H., *Science*, **162** (1968), 533.
- [4] De Valois, R. L. *et al.*, *Vision Res.*, **14** (1974), 53.
- [5] Wald, G. *et al.*, *J. Gen. Physiol.*, **38** (1955), 623.
- [6] Bridges, C. D., *Vision Res.*, **2** (1962), 125.
- [7] Rushton, W. A. H., *J. Physiol. (Lond)*, **220** (1972), 1.
- [8] Ripps, N., Weale, R. A., *Photophysiology* (Ed. A. C. Giese), Academic Press, **5** (1970), 127—168.
- [9] Liebman, P. A., *Biophys. J.*, **2** (1962), 162.
- [10] Marks, W. B., MacNichol, Jr., E. F., *Fed. Proc.*, **22** (1962), 519, abstract 2143.
- [11] Brown, P. K., *J. Opt. Soc. Amer.*, **51** (1961), 1000.
- [12] MacNichol, Jr., E. F. *et al.*, *Colour*, Adam Hilger, London, **73** (1973), 191—251.
- [13] MacNichol, Jr., E. F., *Sci. Amer.*, **211** (1964), 48.
- [14] Marks, W. B., *J. Physiol. (Lond.)*, **178** (1965), 14.
- [15] Liebman, P. A., *Handbook of Sensory Physiology*, (Ed. H. J. A. Dartnall), Springer Verlag, **VII**/

- I (1973), 481—528.
- [16] Harosi, F. I., MacNichol, Jr., E. F., *J. gen. Physiol.*, **63** (1974), 279.
 - [17] Brown, P. K., Wald, G., *Science*, **143** (1964), 45.
 - [18] Marks, W. B. et al., *J. Opt. Soc. Amer.*, **54** (1964), 1181.
 - [19] Liebman, P. A., Granda, A. M., *Vision Res.*, **11** (1971), 105.
 - [20] Liebman, P. A., Entine, G., *J. Opt. Soc. Amer.*, **54** (1964), 1451.
 - [21] Dartnall, H. J. A., *Brit. Med. Bull.*, **9** (1953), 24.
 - [22] Murray, G. C., *Ph. D. Dissertation Johns Hopkins University*. 引自资料 [12].
 - [23] Brown, K. T., *Vision Res.*, **8** (1968), 633.
 - [24] Witkovsky, P., *Vision Res.*, **8** (1968), 823.
 - [25] 杨雄里等, 生物化学及生物物理学报, **9** (1977), 25; 科学通报, **22** (1977), 3, 131.
 - [26] Armington, J. C., *The Electroretinogram*, Academic Press, 1974.
 - [27] 杨振玉、杨雄里, 视网膜电图的源起及离子机制. 待发表.
 - [28] Dowling, J. E., Boycott, B. B., *Proc. Roy. Soc.*, **B166** (1966), 80.
 - [29] Stell, W. K., *Handbook of Sensory Physiology* (Ed. M. G. F. Fuortes), **VII/2** (1973), Springer Verlag, 111—214.
 - [30] Baylor, D. A. et al., *J. Physiol. (Lond.)*, **214** (1971), 265.
 - [31] Fuortes, M. G. F., *Investig. Ophthal.*, **11** (1972), 275.
 - [32] Tomita, T. et al., *Vision Res.*, **7** (1967), 519.
 - [33] Tomita, T., *Quart. Rev. Biophys.*, **3** (1970), 179.
 - [34] Kaneko, A., Hashimoto, H., *Vision Res.*, **7** (1967), 847.
 - [35] Witkovsky, P., *Investig. Ophthal.*, **13** (1974), 996.
 - [36] Baylor, D. A., Hodgkin, A. L., *J. Physiol. (Lond.)*, **234** (1973), 163.
 - [37] Fuortes, M. G. F. et al., *J. Physiol. (Lond.)*, **234** (1973), 199.
 - [38] Svaetichin, G., *Acta Physiol. Scand.*, **29** (1953), Suppl. 106, 565.
 - [39] Tomita, T., *Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology*, **XXX** (1965), 559.
 - [40] MacNichol, Jr., E. F., Svaetichin, G., *Amer. J. Ophthal.*, **46** (1958), 26.
 - [41] Tomita, T. et al., *Jap. J. Physiol.*, **9** (1959), 63.
 - [42] Kaneko, A., *J. Physiol. (Lond.)*, **207** (1970), 623.
 - [43] Hashimoto, Y. et al., *Vision Res.*, **16** (1976), 25.
 - [44] Kaneko, A., *J. Physiol. (Lond.)*, **227** (1973), 261.
 - [45] Naka, K. I., Rushton, W. A. H., *J. Physiol. (Lond.)*, **185** (1966), 536.
 - [46] Yazulla, S., *Vision Res.*, **16** (1976), 727.
 - [47] Saito, T. et al., *Vision Res.*, **14** (1974), 119.
 - [48] Witkovsky, P., *J. Neurophysiol.*, **30** (1967), 546.
 - [49] Kaneko, A., *Vision Res.*, 1971, Suppl. 3, 17.
 - [50] Byzov, A. L., Kusnezova, L. P., *Vision Res.*, 1971, Suppl. 3, 51. 引自资料 [12].
 - [51] Leviek, W. R., *Handbook of Sensory Physiology* (Ed. M. G. F. Fuortes), Springer Verlag, **VII/2** (1973), 531—556.
 - [52] Hartline, H. K., *Amer. J. Physiol.*, **121** (1938), 400.
 - [53] Granit, R., *Receptors and Sensory Perception*, Yale University Press, 1956.
 - [54] Kuffler, S. W., *J. Neurophysiol.*, **16** (1953), 37.
 - [55] Wangner, H. G. et al., *J. Gen. Physiol.*, **43** (1960), Suppl. 6, 45.
 - [56] Bicking, L. A., *Doctorial thesis*, Johns Hopkins University. 引自 Abramov, I., *Handbook of Sensory Physiology*, (Ed. M. G. F. Fuortes), Springer Verlag, **VII/2** (1973), 568—607.
 - [57] Daw, N. W., *J. Physiol. (Lond.)*, **197** (1968), 567.
 - [58] Daw, N. W., *Physiol. Rev.*, **53** (1973), 571.
 - [59] Spekreijse, H. et al., *J. Neurophysiol.*, **35** (1972), 73.
 - [60] Beauchamp, R. D., Lovasik, J., *J. Neurophysiol.*, **36** (1973), 925.
 - [61] Gouras, P., *J. Physiol. (Lond.)*, **199** (1968), 533.
 - [62] De Monasterio, F. H., Gouras, P., *J. Physiol. (Lond.)*, **251** (1975), 167.
 - [63] Gouras, P., *Vision Res.*, 1971, Suppl. 3, 397. 引自资料 [58].
 - [64] Kaneko, A., *J. Physiol. (Lond.)*, **235** (1973), 133.
 - [65] 御手洗玄洋, 神経進歩, **17** (1973), 1113.
 - [66] Yazulla, S., *Vision Res.*, **16** (1976), 737.
 - [67] De Valois, R. L., *Investig. Ophthal.*, **11** (1972), 417.
 - [68] Gouras, P., *Investig. Ophthal.*, **11** (1972), 427.
 - [69] De Valois, R. L., *Vision Res.*, 1971, Suppl. 3, 383. 引自资料 [58].
 - [70] Hubel, D. H., Wiesel, T. N., *J. Physiol. (Lond.)*, **195** (1966), 216.