

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：82636

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500396

研究課題名(和文) 味覚中枢における味情報符号化の神経基盤の解明

研究課題名(英文) Neural mechanisms of taste information coding in gustatory cortex using MRI and intrinsic optical imaging

研究代表者

黄田 育宏 (KIDA, IKUHIRO)

独立行政法人情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター脳機能計測研究室・主任研究員

研究者番号：60374716

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：味覚情報処理機構を解明するために超高磁場MRIと光イメージングを使用し、大脳味覚領域のネットワークと血管網と味覚刺激に対する活動パターンの計測を行った。味覚刺激によりラット左右両半球島皮質にある中大脳動脈と嗅静脈の交点付近に活動パターンが見られた。その応答は基本味により重なりが見られた。MRIの血管造影によりそれら血管の交点は左右半球で非対称な位置に存在することが分かった。つまり、左右半球の大脳味覚野はその交点付近に存在し、また大脳味覚野が左右半球で非対称な位置にあることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：To understand a mechanism of taste information processing, we used magnetic resonance imaging at 7 Tesla to measure a brain connectivity related to gustatory area and a distribution of cerebral blood vessels in a rodent. We also performed an intrinsic optical imaging to measure a spatial activated pattern during taste stimulation in the insular cortices of both hemispheres. We successfully observed spatial activated patterns in the dorsal of rhinal vein (rv) and anterior and posterior of middle cerebral artery (mca). The spatial activated patterns were overlapped in different taste stimulations. We also observed that the intersection of mca and rv in the insular cortex of the left hemisphere was more anterior to one in the right hemisphere. The locations of gustatory cortex were asymmetrical between the left and right hemispheres, whereas the tastant-induced area was similar location based on the intersection of mca and rv in both hemispheres.

研究分野：総合領域 脳神経科学

キーワード：味覚 ファンクショナルMRI 脳機能 大脳味覚野 脳循環 マッピング

1. 研究開始当初の背景

感覚情報は、中枢神経系における空間的・時間的な賦活パターンによる符号化により処理されている。1次感覚野の空間的な賦活マップは、神経機能単位である系球やコラム・パレル構造に起因しており、視覚、嗅覚、体性感覚において示されている。近年、味覚の1次感覚野である島皮質の大脳味覚野でコラム様構造の存在が示唆され、味覚の情報処理においても空間的賦活マップの存在が推測される。

大脳味覚野の神経活動の計測は電気生理学的手法を用いて行われ、中大脳動脈の吻側と尾側および嗅静脈の背側部に見られる。しかし、電気生理学的手法は、刺激による神経活動の時間的な賦活パターンの計測には有効であるが、1度に計測できる神経の数が限られるため空間的な賦活マップの計測には適していない。近年、大脳味覚野の空間的な賦活マップを計測するために、神経活動に伴う血流変化を利用する光イメージングや機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) が用いられている。Accolla らは、内因性シグナルによる光イメージングを用いて、ラット大脳味覚野での5つの基本味に対する賦活マップを示し、それぞれの賦活マップには重なりがあることを報告した。一方、Chen らは大脳味覚野において活動パターンではなく、基本味ごとのホットスポットの存在を2光子蛍光分光法により示した。我々は、fMRI を利用し、味覚刺激に対する島皮質の応答の計測に成功した。その結果、ラット舌に左右差なく味刺激を行ったにも関わらず、島皮質の信号は左右半球で異なる応答を示した。小動物を対象とした大脳味覚野における活動パターンに関する研究は、現在のところ上記3つであるが統一的な見解に達していない。味溶液の濃度・温度・刺激時間や麻酔状態などの条件が異なっており、また、2つの光学測定では片側大脳味覚野だけを測定しているなどの要因により、異なる結果が得られている可能性がある。

2. 研究の目的

基本味に対する大脳味覚野の活動パターンおよび味覚中枢の形態的・機能的なネットワークとその対称性を明らかにし、味覚情報処理機構の解明を目的とする。そのために、局所の空間分解能の優れた内因性シグナルによる光イメージングと大脳レベルにおいて空間分解能の優れた超高磁場 (7テスラ) 磁気共鳴画像法を用いて検討を行った。

3. 研究の方法

(1) 内因性シグナル光イメージング実験

雄性SDラットを用いた。イソフラレン麻酔下で以下の手術を行った。気管切開により人工呼吸器につなぎ、呼吸ガスを調節した。

血圧や血液ガスをモニターするために大腿動脈、および筋弛緩剤を注入するために大腿静脈へそれぞれカニューレシオンを行った。また、体温は温熱パッドにより37℃を維持した。その後、ラット頭部をstereotaxic frame (SR-50) で固定し、頭皮、咬筋を切開し、側頭部頭蓋骨を露出し、中大脳動脈と嗅裂の交差する付近の頭蓋骨を薄く削って観察窓を作成した。この領域は、島皮質における大脳味覚野が存在すると考えられている。両側の観察窓を作成後、麻酔をウレタンに切り替えた (1.2 g/kg, i.p.)。

味覚刺激として、蒸留水を溶媒としたスクロース溶液 (0.5M) と塩化ナトリウム (NaCl) 溶液 (0.5M) を準備した。味溶液は、バルブコントローラーシステム (VC-6) を利用し、ピンチバルブでコンピューター制御を行った。味溶液は、シリコンチューブを鉛筆型のチップに繋げ、そのコーン型をした先端を開口させたラットの口腔内へ舌に接触しない位置に固定した。味溶液で刺激を2秒間行い、その後、蒸留水で舌の洗浄を5秒間行った。一度の刺激手順に1分を要し、それを10回繰り返した。

内因性シグナルによる光イメージング法は以下の手順で行った。冷却 CCD カメラ (Orca ER) 付き正立型顕微鏡 (SMZ1500) 下に頭部を固定したラットを置き、両側の大脳味覚野付近の画像は、Simple PCI ソフトウェアにより PC に取り込んだ。光源にタンゲステンハロゲンライトを用いて、フィルターにより異なる波長の光の落射照明を行った (KTS-150-RSVS)。大脳皮質表面の血行動態は、酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの等吸収点である 586 nm の照射光を用いて測定した。この波長で得られる信号は、血液量を反映するとされている。一度の刺激手順に対して 40 枚の画像を露光時間 200 ms で取得した。

(2) MRI 実験

雄性SDラットを用いた。イソフラレン麻酔下で以下の手術を行った。気管切開により人工呼吸器につなぎ、呼吸ガスを調節した。血圧をモニターするために大腿動脈へカニューレシオンを行った。また、体温は温水パッドにより37℃を維持した。MRI 撮像に動きの影響が含まないようにするため、ラット頭部を固定した。ラットをMRI装置に固定後、麻酔を α -クロロコースに切り替えた (80 mg/kg, i.p.)。

MRI 撮像は、ブルカー社製小動物用7テスラMRI装置 (BioSpec70/30USR; Bruker Biospin) にて、送信専用ボリウムコイルと受信専用4chフェーズドアレイコイルを使用して撮像を行った。MR血管撮像は、2D-FLASHシーケンスにより、撮像野 100 μ m²、スライス厚さ 200 μ m、繰り返し時間 17ms、エコー時間 5.2ms、撮像時間 24分36秒の条件

で行った。そのとき、イソフルラン麻酔を施したラットに 95 % O₂ と 5 % CO₂ の Carbogen を吸入させ、吸入開始から 15 分後に撮像を開始した。mca が走行する領域の撮像を行い、MCA に交差する rv のイメージングを試みた。

4. 研究成果

(1) 内因性シグナル光イメージング実験

左右半球島皮質領域に作成した観察窓を通して、中大脳動脈およびその周辺の静脈の走行を直接観察でき(図 1a)、中大脳動脈と嗅静脈の交差する位置を同定した(図 1a, 星印)。図 1b と図 1c は、スクロースと NaCl の味覚刺激に対する左右半球島皮質領域の光吸収変化量の結果である。図 1b と図 1c の白点線は、図 1a で同定した中大脳動脈と嗅静脈の位置を示している。スクロース刺激を行った場合、左右両半球において、嗅静脈の背側部および中大脳動脈を挟んだ吻側と尾側領域の血液量の増加がみられた。一方、NaCl 刺激では、応答を示した領域はスクロース刺激と重なっていたが、血液量は減少を示した。応答領域は、Accolla らの先行研究と一致した結果となった。一方、Accolla らは、スクロースと NaCl 刺激に対して増加傾向を示した。今回の結果では、スクロース刺激による応答は Accolla らと一致した傾向を示したが、NaCl 刺激での応答は異なる傾向を示した。NaCl 濃度が高い場合、味の情報に加えて不快情動の影響が含まれると報告がある。さらに、大脳味覚野は情動に深く関わる扁桃体と双方方向の連絡があるので、不快情報による扁桃体の活動が大脳味覚野の応答に影響した可能性があると考えられる。

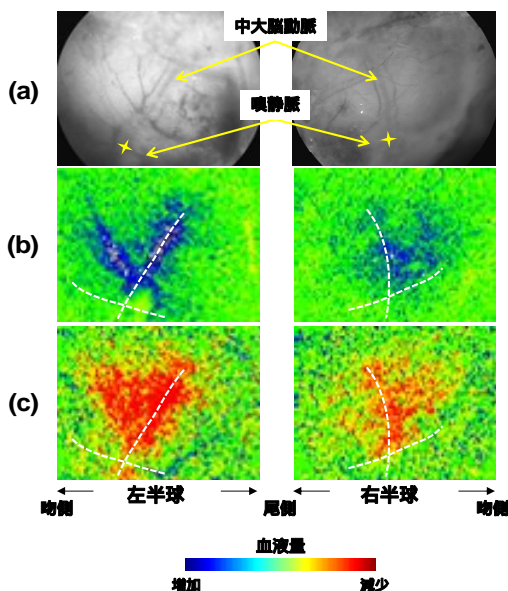


図1 光イメージング反射光画像と賦活マップ

図 2 は、嗅静脈背側部における中大脳動脈の吻側と尾側の血液量変化を詳細に解析した。

図 2 の A は中大脳動脈の吻側、P は尾側の信号を示している。スクロース刺激では血液量の増加がみられ(図 2a, 信号としては減少)、NaCl 刺激では血液量の減少が見られた(図 2b, 信号としては増加)。左右両半球において中大脳動脈の吻尾側(図 2, A と P)での変化量は同程度であった。また、左右両半球においても変化量に差はなかった。従って、内因性シグナルによる光イメージング法では、嗅静脈背側部における中大脳動脈吻尾側の味刺激による応答は同程度であり、この傾向は左右両半球において保持されていることが明らかになった。

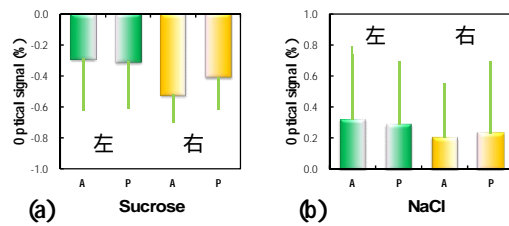


図2 左右島皮質における信号変化量

(2) MRI 実験

磁気共鳴血管撮像法を用いてラット大脳左右半球における中大脳動脈と嗅静脈の交点の位置関係を調べた。図 3 は、磁気共鳴血管撮像法の最大値投影法による大脳血管分布の冠状画像(図 3a)と水平画像(図 3b)を示している。

図 3a における矢印は中大脳動脈、および矢印の頭は中大脳動脈と嗅静脈の交点を示す。図 3b における矢印は嗅静脈を示している。3D-MR 血管撮像は、比較的流れの遅い静脈の描出には向いておらず、ここでは 2D-MR 血管撮像を採用した。しかし、2D-MR 血管撮像だけでは交点は描出できないため、血管拡張および血流量増加能をもつ Carbogen をラットに吸入し、中大脳動脈と嗅静脈の交点の画像化に成功した(図 3)。これにより、左

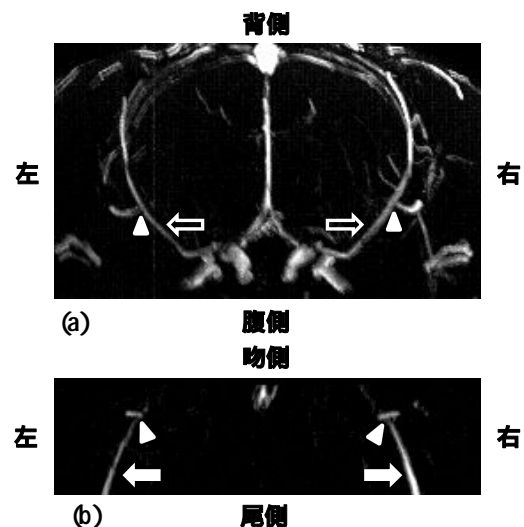


図3 磁気共鳴血管撮像

右大脳半球の中大脳動脈と嗅静脈の交点位置の比較が可能となった。

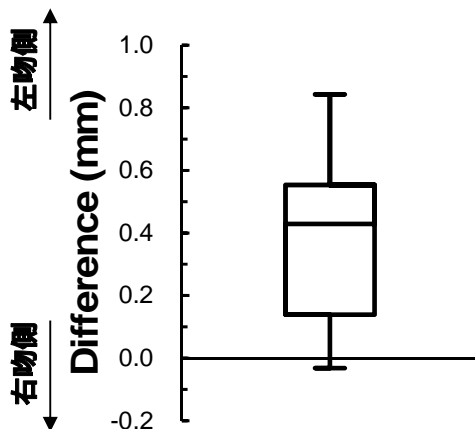


図4 左右半球における中大脳動脈と嗅静脈の交点の位置関係

図4は、中大脳動脈と嗅静脈の交点位置の左右対称性を示している。つまり、左右半球のいずれかの交点位置が吻側（あるいは尾側）にあるのかを示している。MR血管撮像により、左半球の交点は、右半球の交点よりも約0.4 mm 鼻先側に位置することが明らかになった。

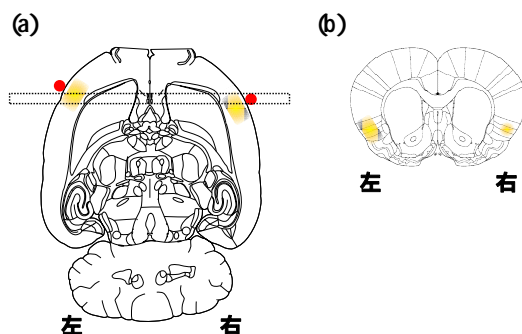


図5 ラット大脳味覚野の左右非対称性

図5は、本研究での成果を模式的に示している。図5aはラット大脳の水平断面に中大脳動脈の位置と光イメージングの応答を示している。味覚刺激に対する光イメージングの応答は中大脳動脈と嗅静脈の交点付近にあり、左右半球で同じ応答様式であった(図5a, 図2)。また、MR血管造影では、中大脳動脈と嗅静脈の交点は、左右半球で非対称な位置関係にあることが明らかになった(図5a)。これらの結果は、先行研究(Kida et al., NeuroImage 2011)で得られた左右半球の島皮質における応答が非対称である結果と一致している(図5b: 図5aにおける点線位置での島皮質信号変化)。大脳味覚野は島皮質の前部に位置し、その後側には内臓や心血管からの情報の投射がある。内臓構造が左右非対称なことから島皮質への投射も左右非対称である可能性が高い。また心血管系において、

血圧変動により右島皮質のみで応答する。これらのことから、島皮質における大脳味覚野が左右半球で非対称な位置にあることは矛盾しない。実際、遺伝ト्रेस法を用いた研究においても甘味レセプターから大脳味覚野への投射は左右で異なることが示されている。

これまでの味覚研究では、頭蓋骨の縫合部を基準として島皮質に微小電極を刺入し、味覚刺激時の神経活動を測定している。本研究成果から、大脳外部に電極刺入の基準点を設けた位置設定では、左右半球で異なる機能をもった位置に電極を刺入することになり、異なる活動を得る可能性があることを示唆しているため注意が必要である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

Kida I, Enmi J, Iida H, Yoshioka Y: Asymmetrical intersection between the middle cerebral artery and rhinal vein suggests asymmetrical gustatory cortex location in rodent hemispheres. *Neurosci Letters*, 589:150-152, 2015. doi: 10.1016/j.neulet.2015.01.017 (査読有)

Omatsu M, Obata T, Minowa K, Yokosawa K, Inagaki E, Ishizaka K, Shibayama K, Yamamoto T: Magnetic displacement force and torque on dental keepers in the static magnetic field of an MR scanner. *J Magn Reson Imaging*, 40:1481-1486, 2014. doi: 10.1002/jmri.24500.

[学会発表](計14件)

Yamamoto T: MR physics and physiology: what we see in proton signals from the human body. 14th Asia-Oceania Congress of Medical Physics & 12th South East Asia Congress of Medical Physics, Ho Chi Minh City (Vietnam), 2014年10月24日

黄田 育宏: 小動物 fMRI による味と匂い地図. 日本味と匂学会第48回大会, 清水文化会館(静岡県・静岡市), 2014年10月3日

西 慶悟, 唐 明輝, 山本 徹: 大脳静脈血酸素飽和度揺らぎの精密測定 細動脈機能情報の取得. 第107回日本医学物理学学会学術大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), 2014年4月12日

Tang M, Yamamoto T: Elastic changes of arteriolar blood volume in the human brain - Estimation based on spin-echo signal fluctuations -. 第107回日本医学物理学学会学術大会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), 2014年4月12日

Kida I: BOLD fMRI with olfactory and taste stimuli in small animals. The 2nd International Congress on Magnetic Resonance Imaging and The 19th Annual Scientific Meeting of KSMRM, Seoul(Korea), 2014年3月29日

圓見 純一郎, 黄田 育宏, 劉 国相, 吉岡 芳親, 飯田 秀博: Carbogen 吸入を併用した 2D TOF-MRA による脳静脈イメージング方法の検討. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会, アスティとくしま(徳島県・徳島市), 2013年9月20日.

Kida I: Functional representations of chemical senses by functional magnetic resonance imaging. 日本味と匂学会第 47 回大会, 仙台市民会館(宮城県・仙台市), 2013年9月5日.

黄田 育宏, 圓見 純一郎, 星 詳子, 根本 政人, 井口 義信, 飯田 秀博, 吉岡 芳親: ラット大脳味覚野の左右非対称性. 第 36 回日本神経科学大会, 国立京都国際会館(京都府・京都市), 2013年6月22日.

Kida I, Hoshi Y, Nemoto M, Iguchi Y & Yoshioka Y: Asymmetrical gustatory cortex but symmetrical gustatory representation in the left and right hemispheres of the rodent brain. 21st Scientific Meeting & Exhibition Int'l Soc Magn Reson Med, Salt Lake City(USA), 2013年4月25日

黄田 育宏: 内因性光イメージングによるラット味覚野賦活領域の解析. 日本味と匂学会第 46 回大会, 大阪大学コンベンションセンター(大阪府・吹田市), 2012年10月5日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黄田 育宏 (KIDA IKUHIRO)

独立行政法人情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター脳機能計測研究室・主任研究員

研究者番号: 60374716

(2) 研究分担者

山本 徹 (YAMAMOTO TORU)

北海道大学・保健科学研究所・教授

研究者番号: 80261361