

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K14473

研究課題名(和文)躊躇行動としての食物新奇恐怖反応を司る脳内メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of neural mechanisms involved in food neophobia as a hesitant behavior

研究代表者

篠原 恵介 (Shinohara, Keisuke)

大阪大学・人間科学研究科・助教

研究者番号：10803603

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：げっ歯類(ラット)を対象として、躊躇行動としての食物新奇恐怖(ネオフォビア)に関わる脳内メカニズムを解明することを目的とした。まず、従来の測定法(摂取量比較)によって、不安などの負の情動表出に関わるとされる腹側海馬の機能が嗅覚性新奇恐怖に関与する可能性が示された。また、ラットが新奇味溶液含有ボトルのノズル先端に鼻先を近づけてから溶液を摂取するまでの潜時を調べたところ、水を摂取した時と比べて潜時が長くなる傾向が示された。この行動傾向が躊躇行動を反映するかどうかについてはさらなる検討が必要であるものの、新奇味溶液呈示時のラット行動変化の一端を明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食物の呈する匂いへの反応も食物新奇恐怖の特徴を説明する上で重要であるが、嗅覚性新奇恐怖の研究例は少なく、未解明な点が多かった。本実験の結果は、味と匂いの複合刺激としての食物に対する新奇恐怖の生起メカニズムを解明するために重要な知見と言える。食物新奇恐怖は現代人の非健康的な食習慣と関連することから、その脳内メカニズムの解明によって、ヒトの食習慣改善のための介入法につながる生理学的・神経科学的基盤を提供できる。また、食物新奇恐怖を示す動物の行動傾向を解明することは、飲食物を報酬とする行動課題(迷路課題やオペラント学習課題)のプロトコルの精緻化につながる可能性も考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate the neural mechanisms involved in food neophobia as a hesitant behavior in rats). First, conventional methods (intake comparison) indicated that the function of the ventral hippocampus, which is thought to be involved in negative emotional expression such as anxiety, may be involved in olfactory neophobia. In addition, we measured the latency from the time when rats put the tip of their nose near the nozzle of a bottle containing a novel taste solution to the time when they ingested the solution. Latencies when rats ingested a novel taste solution tended to be longer than when they ingested water. Although further investigation is needed to determine whether this behavioral trend reflects hesitant behavior or not, we clarified a part of the behavioral change in rats when presented with the novel taste solution.

研究分野：行動神経科学

キーワード：ネオフォビア 情動 食行動 ラット 海馬

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトやある種の雑食性動物は初めて経験する飲食物の摂取を躊躇する(食物新奇恐怖, ネオフォビア)が、摂取後に体調に問題がないことを経験すれば、次回以降の摂取量は増加する。食物新奇恐怖は、毒性の高い飲食物の多量摂取を回避するための防衛機能となる一方、過剰に働くことは適応的な栄養摂取を妨げる結果となる。特に、食物の安定供給が保証された現代社会においては、食物新奇恐怖は偏食をもたらす要因の1つとされており、その生起にかかわる脳内メカニズムの解明は重要な課題といえる。げっ歯類対象の行動神経科学的研究では、味溶液の摂取量の変化を味覚性新奇恐怖の行動指標として、その脳内メカニズムが検討されてきた。しかし、新奇恐怖反応は動物が飲食物の摂取時に引き起こす行動の変化(躊躇行動)であり、摂取量の減少は副次的な結果といえる。摂取量が減少する背景には、動物がその新奇性を判断(認知的側面)した後に、新奇恐怖反応として摂取の躊躇(情動的側面)が生じると考えられる。従来の研究での摂取量比較だけでは、動物の摂取行動に対して各脳部位の機能がこれらの側面をどのように制御することで新奇食物の摂取量を減少させるかについては未解明である。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、食物新奇恐怖に関わる脳内メカニズムを解明することである。そのために、従来の行動神経科学的研究では扱われてこなかった、躊躇行動としての新奇恐怖反応を定量的に測定する方法を確立する。その行動測定法を利用して行動薬理学的実験を実施し、新奇恐怖反応を司る脳部位を特定し、関連する神経回路を解明する。また、従来の研究では味刺激に焦点が絞られてきたが、本研究では食物の呈する匂いにも着目し、匂いに対する新奇恐怖反応(嗅覚性新奇恐怖)も扱う。

## 3. 研究の方法

(1) げっ歯類対象とした嗅覚性新奇恐怖の研究例は少なく、未解明な点が多かった。そのため、まずは従来の測定法(摂取量比較)によって、嗅覚性新奇恐怖に関わる脳部位を解明するための実験を実施した。

(2) 新奇味溶液や新奇匂溶液の摂取時におけるラットの躊躇行動を評価する方法を確立するための実験を実施した。

## 4. 研究成果

### (1) 嗅覚性新奇恐怖に関わる脳部位の検討

ラットに新奇恐怖を表出させるための嗅覚刺激には、アーモンドの匂いを呈するベンズアルデヒド溶液(0.15%)を用いた。成体ラット(Wistar系, 雄)に18時間の絶水後にベンズアルデヒド溶液を初めて呈示すると(第1試行)、同じ条件で水を呈示する試行(baseline)に比べて摂取量が減少するが、4試行に渡って繰り返すと徐々に摂取量が増加していく。このことから、ラットはベンズアルデヒド溶液に対して新奇恐怖を表出することが示唆された。しかし、同じラットに0.5%サッカリン溶液を呈示した場合と比べると、ベンズアルデヒド溶液では摂取量の増加が緩やかであり、特に第2試行での摂取量は第1試行からほとんど増加しなかった。このことから、ベンズアルデヒド溶液に対する新奇恐怖が減弱されるためには、サッカリン溶液と比べて多くの呈示を繰り返す必要があることが示唆された。

恐怖など負の情動表出に関わるとされる扁桃体基底外側核(basolateral amygdala, BLA)は味覚性新奇恐怖にも関与することが示唆されているが、嗅覚性新奇恐怖への関与については未解明であった。そこで、GABA<sub>A</sub>(gamma aminobutyric acid type A)受容体作動薬ムシモール(muscimol)をラットの両側BLAに微量注入することで薬理的に不活性化させる実験を実施した。この方法によるBLAの不活性化によって、味覚性新奇恐怖(0.5%サッカリン溶液の呈示)が抑制され、新奇味溶液を多量に摂取するようになることが申請者による研究[研究成果1]で確かめられているが、新奇匂溶液(ベンズアルデヒド溶液)を呈示してもその摂取量は変化しなかった。この結果から、味覚刺激と嗅覚刺激では新奇恐怖を引き起こす脳内メカニズムが異なり、BLAは味覚性新奇恐怖に限定的に関与する可能性が考えられた。

そこで、特に不安様行動の表出に関与するとともに、嗅覚情報処理との関連も示唆されている腹側海馬(ventral hippocampus, VH)に注目した。両側VHにmuscimol微量注入することで薬理的に不活性化させたラットに味溶液または匂溶液を呈示する実験を実施した結果[研究成果2](Fig. 1)、いずれも新奇恐怖そのもの(第1呈示での摂取量の減少)には影響しなかった。しかし、第2呈示での摂取量に注目すると、muscimol投与ラットでは第1呈示から著しく増加し、生理食塩水を注入した統制ラットよりも有意に多くなった。この結果は、VHの不活性化に

よって嗅覚性新奇恐怖の解消過程（繰り返しの呈示による摂取量の増加）が促進されることを示唆している。一方、味溶液ではそのような結果が確認されなかったことから、VH は嗅覚性新奇恐怖に限定的に関与することが示唆された。食物の呈する匂いへの反応も食物新奇恐怖の特徴を説明する上で重要であるが、嗅覚性新奇恐怖の研究例は少なく、未解明な点が多かった。本実験の結果は、味と匂いの複合刺激としての食物に対する新奇恐怖の生起メカニズムを解明するために重要な知見と言える。

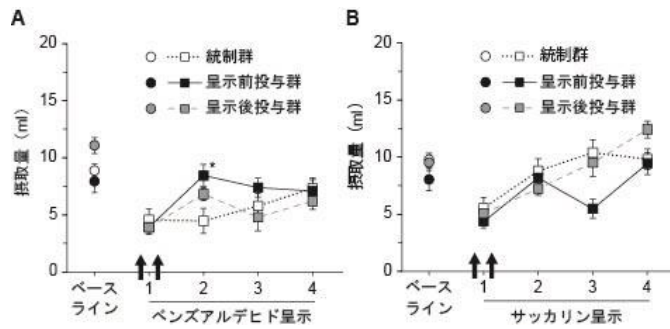


Fig. 1 腹側海馬 (VH) への muscimol 投与による効果 (平均値 ± 標準誤差; 統制群  $n = 15$ ; 呈示前投与群  $n = 8$ ; 呈示後投与群  $n = 8$ )  
 (A) 匂溶液呈示実験における摂取量の推移  
 (B) 味溶液呈示実験における摂取量の推移  
 (研究成果 2 の図を改変)

### (2) ラットの躊躇行動を評価する方法の確立(1)

新奇味溶液 (0.5%サッカリン溶液) の摂取時におけるラットの躊躇行動を評価するため、摂取時の姿勢変化を測定する方法を確立するための実験を実施した。カメラ 2 台同期システムを用いて、実験装置内で味溶液を摂取するラットを撮影し、分析した。新奇味溶液を呈示した際に、呈示の初期には摂取時に伸展姿勢が見られたが、やがて身体を屈曲させながら摂取する行動が観察された。しかし、新奇味溶液を摂取時のラット体長を比較したところ、摂取溶液や摂取回数による違いは示されなかった。

### (3) ラットの躊躇行動を評価する方法の確立(2)

そこで、別のアプローチでラットの躊躇行動を評価する方法を検討した。ラットが溶液ボトルのノズル先端から 5 cm 手前に鼻先を近づけてからノズルを実際に舐めるまでの潜時を水呈示時と新奇味溶液 (0.5%サッカリン溶液) 呈示時で比較した。20 分間の溶液呈示中での接近回数は新奇味溶液呈示時に増加する一方、潜時は長くなる傾向が示された (Fig. 2)。現在、新奇味溶液呈示後に内蔵不快感を誘発させる処置 (塩化リチウム投与) によって味溶液への嫌悪を条件づけた場合での傾向と比較することで新奇恐怖反応に特有の行動傾向かどうかを検討している段階である。

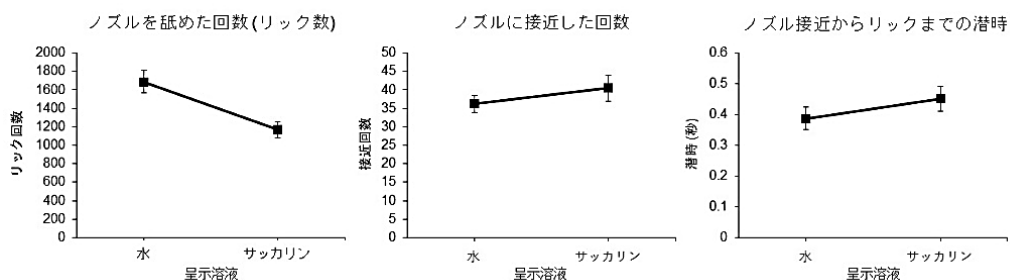


Fig. 2 水呈示時と新奇味溶液 (0.5%サッカリン溶液) 呈示時でのリッパ回数、ノズル接近回数、接近からリッパまでの潜時の比較 ( $n = 16$ )  
 20 分間の呈示中に見られた接近 (赤外線センサーによる検出) ごとに潜時を計測し、1 回の呈示内での中央値を比較

### 研究成果

- [1] K. Shinohara, Y. Yasoshima, Inactivation of the basolateral amygdala suppresses the expression of taste neophobia but not the retrieval process in attenuation of neophobia, *Behav. Brain Res.* 372 (2019) 112010. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112010>.
- [2] K. Shinohara, Y. Yasoshima, Inactivation of the ventral hippocampus facilitates the attenuation of odor neophobia in rats, *Behav. Brain Res.* 401 (2021) 113077. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113077>.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shinohara Keisuke, Yasoshima Yasunobu	4. 巻 401
2. 論文標題 Inactivation of the ventral hippocampus facilitates the attenuation of odor neophobia in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 113077 ~ 113077
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2020.113077	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shinohara Keisuke, Yasoshima Yasunobu	4. 巻 372
2. 論文標題 Inactivation of the basolateral amygdala suppresses the expression of taste neophobia but not the retrieval process in attenuation of neophobia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 112010 ~ 112010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbr.2019.112010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 篠原恵介	4. 巻 28
2. 論文標題 食物新奇恐怖における腹側海馬の役割	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本味と匂学会誌	6. 最初と最後の頁 25 ~ 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shinohara, K. Nakabayashi, M., and Yasoshima, Y.
2. 発表標題 Analysis of licking and approaching behaviors in rats showing taste neophobia
3. 学会等名 日本動物心理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinohara, K. and Yasoshima, Y.
2. 発表標題 The role of ventral hippocampus in the attenuation of olfactory neophobia in rats
3. 学会等名 日本味と匂学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinohara, K., and Yasoshima, Y.
2. 発表標題 Transient inactivation of ventral hippocampus promotes learning of the odor-safe association in rats, Society for Neuroscience
3. 学会等名 Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinohara, K., and Yasoshima, Y.
2. 発表標題 Behavioral analysis of long-trace conditioned taste aversion in rats
3. 学会等名 Oral Neuroscience
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinohara, K., and Yasoshima, Y.
2. 発表標題 Qualitative differences between short- and long-trace paradigms for conditioned taste aversion: Microstructure analysis of ingestive behaviors in rats
3. 学会等名 日本動物心理学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------