

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月28日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700748

研究課題名（和文）

食行動の制御に関わる脳内システム間神経連絡の役割

研究課題名（英文）

The role of the brain network involved in feeding behavior

研究代表者

乾 賢（INUI TADASHI）

大阪大学・人間科学研究科・助教

研究者番号：40324735

研究成果の概要（和文）：

食べ物の記憶を思い出す際に、脳の中のどのような情報伝達経路が働くかを調べた。ヒトや動物は食後に体調不良を経験すると、その食べ物の味を危険なものとして記憶し、嫌いになる。これを味覚嫌悪学習という。この味覚嫌悪学習が成立すると、脳の中の情報伝達経路の活動が変化することがわかった。したがって、味覚嫌悪学習による食行動の変化（好き・摂取から嫌い・忌避へ）に、脳内での情報処理の変化が関わっていることが示唆される。

研究成果の概要（英文）：

We examined the signal transduction pathways in the brain involved in the recall of food memory. When human and animals eat some foods followed by malaise or nausea, they learn the taste of the foods as the signal of danger and became to dislike the foods. This phenomenon is referred to as conditioned taste aversion (CTA). In this study, we found the changes in the activities of the signal transduction pathways in the brain after CTA, suggesting that the plastic changes in the brain network are involved in the shift in feeding behavior (from like to dislike).

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：脳、記憶、おいしさ、栄養

1. 研究開始当初の背景

食行動は身体的な健康、精神的な安定を維持するために必須である。食行動の制御には脳が重要な役割を担うと考えられているが、そのメカニズムは未解明の部分が多い。食行動に影響を与える要因として、経験・おい

さ・栄養状態があげられる。これらの要因に関わる神経メカニズムについて、その詳細が調べられている。しかし、食行動の全容を説明するには未だ至っていない。

おいしいものを食べると、更に食べたくなる（おいしさが食欲を増進させる）、あるいは

は、食後に体調が悪くなると、食べたものを嫌いになる（経験によって、食べ物のおいしさが変わる）といった現象を、我々は日常的に体験している。これらの体験は、経験とおいしさと栄養状態が相互に影響を及ぼしあっていることを示唆している。したがって、これらの3つの要因が相互作用する仕組みを明らかにしなければ、食行動の全てを理解することはできないと考えられる。そこで本研究では、経験・おいしさ・栄養状態が相互作用する神経メカニズムを解明することを目指そうと考えた。

2. 研究の目的

食行動に関わる脳部位間の神経連絡を明らかにすることを目的とした。上述のように、食行動は経験（食物記憶）・おいしさ・栄養状態が互いに影響を及ぼしあうことで制御される。食物記憶には扁桃体が重要な役割を果たすことが報告される。おいしさには脳内報酬系といわれる神経回路が関与すると考えられている。そして、栄養状態のモニタリングに視床下部が関わっていることが明らかにされている。これらの3つの脳部位・神経回路がどのように連絡しあっているのか、またどのように食行動に関与しているのかは不明である。そこで本研究課題では、「扁桃体から脳内報酬系への情報伝達経路」と、「脳内報酬系から視床下部への情報伝達経路」が食行動の制御に実際に関わっているのか、関わっているのであればどのような機能を担っているのかを調べることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) マンガン造影 MRI 法を用いた実験

食行動における情報伝達経路の活動を調べるために、マンガン造影 MRI 法を用いた。

神経細胞が信号伝達のために機能するには、細胞膜の電位が変化する「興奮」といわれる状態になる必要がある。この神経細胞の興奮時に、細胞膜に存在するカルシウムイオンチャンネルが開孔する。通常はこのチャンネルからカルシウムイオンが細胞内に流入するが、金属の一種であるマンガンが細胞の周囲にあると、マンガンイオンもこのカルシウムイオンチャンネルを介して細胞内に流入する。また、マンガンイオンは細胞内に取り込まれると順行性、すなわち信号伝達と同一の方向へ、運ばれていく。したがって、活性化する神経細胞が多くなるほどマンガンイオンはより多く神経細胞内に流入して順行性に運ばれると考えられる。

マンガンのもう一つの特徴として、MRI の造影剤として用いることができる。マンガンは磁性体ではないため、MRI でマンガンの存在を直接可視化することはできない。MRI に

おいて生体内部を撮像することができるのは、周囲に存在する物質によって変化するプロトン（水素イオン）のスピンの緩和時間を基準に画像を作り出すという原理による。マンガンイオンはこのスピンの緩和時間に影響を及ぼす。T1 強調画像といわれるタイプの画像を撮像すると、マンガンイオンが存在する近辺の輝度が上昇する。

以上のことから、マンガンを特定の脳部位へ微量注入しておき、動物に何らかの刺激を与えることで、その脳部位の神経細胞が活性化すると、マンガンイオンは細胞内に流入し、その神経細胞が軸索を伸ばす部位へと運ばれていくと考えられる。このとき MRI を用いてマンガン注入部位の周囲を撮像すれば、与えた刺激に対して、どのような方向（部位）への信号伝達がより強くなされるかを明らかにすることができる。

本研究課題では、このマンガン造影 MRI 法を用いて、味覚嫌悪学習の想起時に扁桃体から脳内報酬系への情報伝達経路が活動するかどうかを調べた。

味覚嫌悪学習は食物記憶の一種である。ヒトや動物が食べ物を食べたあとで、下痢や吐き気などの体調不良を経験すると、その食べ物の味と内臓不快感の情報を結びつけて学習する。この現象を味覚嫌悪学習という。味覚嫌悪学習が成立すると、その食べ物の味が嫌いになり、避けるようになる。これはその食べ物が危険なものであることを示すシグナルとして味を認識するようになるためであると考えられている。味覚嫌悪学習は味刺激を条件刺激、内臓不快感を無条件刺激とする連合学習と考えることができる。

先行研究において、扁桃体基底外側核の活動を可逆的に停止すると、一時的に味覚嫌悪学習の記憶を想起することができなくなるということが報告されている。また、味覚嫌悪学習の成立後に、嫌いになった条件刺激を呈示すると、扁桃体基底外側核のニューロンが活性化することも報告されている。以上のことから扁桃体基底外側核が味覚嫌悪学習の記憶の想起に重要な役割を果たしていることは確実であると考えられるが、扁桃体基底外側核からの遠心性投射路の関与については全く明らかにされていない。そこで本研究課題では、まず動物（ラット）に味覚嫌悪学習を獲得させ、その数日後にテストを行った。テストでは、最初に塩化マンガン（40 mM, 50 nL）を扁桃体基底外側核に注入し、その30分後に条件刺激を動物に呈示して味覚嫌悪学習の記憶を想起させた。さらに30分後に麻酔を施し、MR装置で撮像した。撮像は1時間ごとに4回繰り返した。比較のために、味覚嫌悪学習を獲得させずに味溶液を呈示する群、味覚嫌悪学習を獲得させるがテストで水を呈示する群、味覚嫌悪学習を獲得させずにテ

ストで水を呈示する群、生得的に嫌いな味である苦味溶液を呈示する群の5つを設けた。

(2) 腹側淡蒼球 GABAA 受容体活性化

脳内報酬系から視床下部への情報伝達経路について、当初(1)と同様に、マンガン造影 MRI 法を用いて調べる予定であった。しかし、十分なデータ量(個体数)を得るために想定以上に時間がかかったため、「扁桃体から脳内報酬系への情報伝達経路」についての実験を終了するのに2年間を要した。そこで、マンガン造影 MRI 法とは別に並行して行える行動薬理学的手法を用いて、脳内報酬系から視床下部への情報伝達経路について調べた。

先行研究において、味覚嫌悪学習の想起時に、脳内報酬系の一部である側坐核から腹側淡蒼球への投射経路が活性化し、腹側淡蒼球で細胞外 GABA 遊離レベルが上昇することが分かっている。また、行動薬理学的手法によって腹側淡蒼球に GABAA 受容体のアゴニストであるムシモールを微量注入すると、嫌悪性味刺激に対してみられるものと類似した行動学的反応が表出することも分かっている。腹側淡蒼球からの出力先は多岐にわたることが解剖学的研究によって明らかにされているが、主要な投射先の一つが視床下部である。そこで、腹側淡蒼球へのムシモールの注入による行動変化に、腹側淡蒼球から視床下部への神経投射が関与するかどうかを、免疫組織学的手法による Fos 蛋白質(細胞活性化にはって発現する最初期遺伝子の一つ)の検出によって調べた。

4. 研究成果

(1) マンガン造影 MRI 法を用いた実験

味覚嫌悪学習の記憶を想起させた個体の MR 画像の例を以下に示す。図1はマンガン注入した部位(扁桃体基底外側核)を含む領域の MR 画像である。白くなっている部分がマンガンの存在によってプロトンのスピン緩和時間が影響を受けて輝度が上昇した部分である。

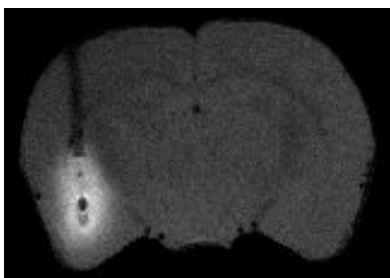


図1 マンガン注入部位領域の MR 画像

次にマンガン注入部位より 1 mm 吻側のスライスを示す(図2)。このスライスには扁桃

体中心核(黄色の矢印で示した部分)が含まれる。味覚嫌悪学習を獲得し、条件刺激を提示された動物では、この扁桃体中心核におけるマンガンの集積が早い段階から始まり、量も多かった。したがって、味覚嫌悪学習の記憶を想起することによって、扁桃体基底外側核から中心核への神経伝達経路が活性化することがわかった。

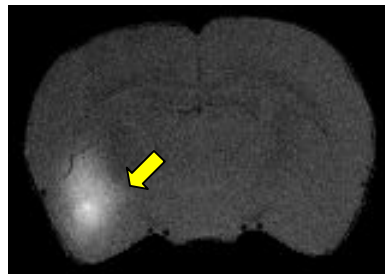


図2 マンガン注入部位から 1 mm 吻側の領域

脳内報酬系の一部である側坐核や腹側淡蒼球におけるマンガンの集積についても調べた。腹側淡蒼球ではいずれの群でもマンガンの集積がみられなかったのに対し、側坐核では味覚嫌悪学習の記憶を想起した群により多くのマンガンが集積する傾向がみられた。しかし、画像の信号強度(輝度)を群間で比較したところ、統計学的な有意差はみられなかった。これは注入したマンガンの量や濃度が低すぎたために、扁桃体基底外側核から側坐核へ十分に到達しなかった可能性が考えられる。したがって、今後実験パラメータを変えて検討する必要がある。

(2) 腹側淡蒼球 GABAA 受容体活性化

腹側淡蒼球へ注入するムシモールの用量を2種類(10 ng/0.25 μ l/side、100 ng/0.25 μ l/side)用いた。低用量では嫌悪性反応はみられなかったが、高用量では注入から60分後以降に頻発した。特に、顎を床に擦り付ける行動(口腔内のものを除去するための行動)が多くみられた。免疫組織化学染色によって、Fos 様蛋白質発現細胞が視床下部でみられるかどうかを検討した。その結果、低用量よりも高用量の場合のほうが、陽性細胞が視床下部で多くみられた。したがって、腹側淡蒼球から視床下部への神経投射路が嫌悪性反応の表出に関与していると示唆される。味覚嫌悪学習の記憶の想起によってみられる条件刺激に対する様々な行動学的反応にも腹側淡蒼球から視床下部への神経連絡が関与しているかもしれない。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計4件)

①乾賢、乾千珠子、大澤五住、吉岡芳親、志村剛、条件性嫌悪味刺激による扁桃体基底外側核出力ニューロンの活性化：マンガン造影MRI法による解析、日本味と匂学会誌、査読有、18巻、3号、(2011)、259-262

② Inui T, Inui-Yamamoto C, Yoshioka Y, Ohzawa I, Shimura T., Activation of projective neurons from the nucleus accumbens to ventral pallidum by a learned aversive taste stimulus in rats: a manganese-enhanced magnetic resonance imaging study., Neuroscience, 査読有, 177, (2011), 66-73

③乾賢、志村剛、ラット腹側淡蒼球へのGABA受容体アゴニスト投与による味覚反応の発現メカニズム、日本味と匂学会誌、査読有、17巻、3号、(2010)、263-266

④乾千珠子、乾賢、吉岡芳親、志村剛、大澤五住、味覚嫌悪学習の想起によって活性化する扁桃体基底外側核の遠心性投射路：マンガン造影MRI法による解析、日本味と匂学会誌、査読有、17巻、3号、(2010)、305-308

〔学会発表〕(計7件)

① Inui T, Inui-Yamamoto C, Ohzawa I, Yoshioka Y, Shimura T., Efferent activated projections from the basolateral nucleus of the amygdala by a learned aversive taste stimulus: a manganese-enhanced MRI study., Neuroscience 2011, 2011. 11. 12, Washington D. C.

②乾賢、乾千珠子、大澤五住、吉岡芳親、志村剛、条件性嫌悪味刺激による扁桃体基底外側核出力ニューロンの活性化：マンガン造影MRI法による解析、日本味と匂学会第45回大会、2011. 10. 7、石川県立音楽堂

③乾賢、乾千珠子、大澤五住、吉岡芳親、志村剛、味覚嫌悪学習の想起による扁桃体基底外側核の遠心性投射路の活動：マンガン造影MRI法、第34回日本神経科学大会、2011. 9. 15、パシフィコ横浜

④乾千珠子、乾賢、志村剛、上田甲寅、安春英、中塚美智子、隈部俊二、岩井康智、大澤五住、吉岡芳親、マンガン造影MRI法を用いた味覚嫌悪学習の想起によって活性化する神経経路の可視化、日本解剖学会第86回近畿支部学術集会、2010. 10. 27、大阪府立大学

⑤乾賢、志村剛、ラット腹側淡蒼球へのGABA

受容体アゴニスト投与による味覚反応の発現メカニズム、日本味と匂学会第44回大会、2010. 9. 9、北九州国際会議場

⑥乾千珠子、乾賢、大澤五住、上田甲寅、岩井康智、志村剛、吉岡芳親、味覚嫌悪学習の想起によって活性化する扁桃体基底外側核の遠心性投射路：マンガン造影MRI法による解析、日本味と匂学会第44回大会、2010. 9. 9、北九州国際会議場

⑦乾賢、乾千珠子、吉岡芳親、大澤五住、志村剛、味覚嫌悪学習の想起時における側坐核から腹側淡蒼球への神経投射の活性化：マンガン造影MRI法を用いて、第87回日本生理学会大会、2010. 5. 12、盛岡市民文化ホール

〔その他〕

ホームページ等

<http://kosei4.hus.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

乾 賢 (INUI TADASHI)

大阪大学・大学院人間科学研究科・助教
研究者番号：40324735

(2) 研究協力者

乾 千珠子 (INUI CHIZUKO)

大阪歯科大学・口腔解剖学講座・助教
研究者番号：00419459

研究協力者

志村 剛 (SHIMURA TSUYOSHI)

大阪大学・大学院人間科学研究科・教授
研究者番号：80150332