

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500973

研究課題名(和文) おいしさと記憶の相互作用による脳内食行動調節機構の解明

研究課題名(英文) Study for the brain mechanisms of ingestive behavior -interaction between palatability and memory-

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

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)：おいしさと記憶による食行動の調節機構を明らかにするために、味覚嫌悪学習における記憶の成立と嗜好性の変化を個別に分析し、その神経メカニズムを調べることを目的とした。行動学的実験において、新規に実験装置を開発し、実験動物(ラット)の飲み口への接近を検出することで記憶の成立を定量的に解析する方法を確立した。また、飲み口へのリックを検出することで摂取行動のパターンを分析し、嗜好性の変化を明らかにする方法を確立した。これらの方法に基づいて、行動薬理学的実験を行い、扁桃体基底外側核が味覚嫌悪学習における記憶の成立と嗜好性の変化の両方の機能において非常に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：To reveal the ingestive behavior regulated by palatability and memory, we aimed to assess the brain mechanisms of memory establishment and palatability shift in conditioned taste aversion (CTA) in rats. Initially, we developed an experimental chamber for detecting the rat's approaches to a drinking spout, and counting their licks to the spout. We found that the rats show increased "conflict" (rats approach, but not lick, the spout) and decreased "burst" (high-frequency of licks) after conditioning. We defined that conflict indicates memory establishment, and burst indicates palatability shift. Based on these ideas, in behavioral pharmacology experiments, we examined the effects of temporal inactivation of the basolateral amygdala (BLA) on conflict and burst. We demonstrated that BLA inactivation significantly decreases conflict and increases burst. These results suggest that the BLA is a key brain region for both of memory establishment and palatability shift in CTA.

研究分野：行動神経科学

キーワード：おいしさ 記憶 味覚 脳 摂取行動 扁桃体 学習

### 1. 研究開始当初の背景

食行動は身体的健康、精神的安定の維持に必須である。食行動の制御には脳が重要な役割を担うが、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、食べ物のおいしさと記憶があげられる。おいしさと記憶による食行動の調節機構について多くの研究がなされているが、全容はいまだ明らかにされていない。

「おいしい菓子の名前を覚える」「まずい料理屋には行かない」といったことを我々は容易に行うことができる。このことから、おいしさと記憶は密接な関係にあると推察される。このおいしさと記憶の相互作用のメカニズム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。そこで本研究では、おいしさと記憶の相互作用による食行動調節の脳内メカニズムを解明することを目指した。

### 2. 研究の目的

食べ物のおいしさ・まずさ(嗜好性)は食経験(記憶)によって、比較的容易に変化する。そのような現象の一つに味覚嫌悪学習がある。味覚嫌悪学習では、食後の体調不良を経験する(記憶の成立)によって、好きな食べ物が嫌いになる(嗜好性の変化)。

従来の味覚嫌悪学習についての研究で用いられてきた行動実験の指標は、ほとんどが条件刺激(動物が学習によって嫌悪を獲得する味溶液)の摂取量変化である。摂取量の測定は簡便で確実な方法ではあるが、「どの程度飲んだか」という情報は得られても、「どのように飲んだか」という情報を得ることはできない。「どのように飲んだか」が分からなければ、嗜好性の変化と記憶の成立を分離して調べることはできない。なぜなら、学習によって条件刺激の摂取が減ったとしても、摂取すべきではないという記憶による回避と、不快な味だという嗜好性の低下による回避のどちらが影響しているのかを、摂取量だけ、すなわち「どの程度飲んだか」という指標だけでは判断できないからである。味覚嫌悪学習の神経メカニズムについては、先行研究によって多くの知見が報告されているが、その詳細については不明な点が多く残されている。その原因の一つとして、複雑な神経メカニズムを摂取量の変化という単純な行動指標のみで推し量ろうとするところに限界があるためと考えられる。そこで本研究の目的の一つとして、味覚嫌悪学習における嗜好性の変化と記憶の成立を個別に分析することを可能にする行動分析手法を確立することを目指した。

先行研究によって扁桃体が味覚嫌悪学習において何らかの役割を担っていることが示唆されている。扁桃体は味の強さや質の識別に関与するとされる島皮質や、嗜好性に基づく摂取行動に関わる側坐核との間に密接な神経連絡がある。したがって、扁桃体が味

覚嫌悪学習による記憶の成立と嗜好性の変化の両方あるいはいずれかに関与している可能性が考えられた。そこで、扁桃体の一時的な不活性化が味覚嫌悪学習の記憶の想起と嗜好性の低下のいずれに影響を及ぼすかを調べることをもう一つの目的とした。扁桃体は複数の亜核の集合体であるが、本研究では味覚嫌悪学習への関与が強く示唆されている基底外側核を対象とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 行動学的実験

実験装置の開発(図1、乾・志村(2014))  
縦25 cm×横40 cmの実験箱を作製した。短辺の壁の一方に床から7.5 cmのところの高さ5 cm、幅4 cm、奥行き3 cmの出窓を取り付けた。この出窓の大きさは実験動物(ラット)の頭部が丁度入る大きさであった。出窓は開放されており、その先に溶液を入れた給水瓶を設置することで、ラットは溶液を摂取することができた。出窓の側面に3つの通過センサーを取り付けて、ボトルへの接近を検知できるようにした。また、給水瓶にタッチセンサーを接続し、リック(舐める)行動を検出した。

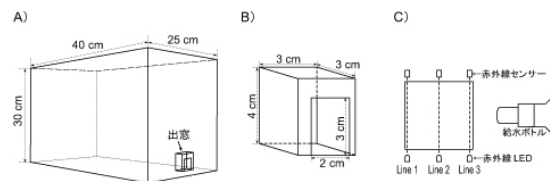


図1 本研究課題において新規に開発した実験装置の模式図。A) 装置の全体図。B) 出窓の拡大図。C) 通過センサーの配置図

#### 解析方法の確立

通過センサーとタッチセンサーからの信号をパソコンに取り込んだ。データのサンプリング周波数は10Hzであった。通過センサーの遮断によって、動物が出窓に頭部を入れたこと(以降、Entryと表記)を検出し、その持続時間と回数を分析した。また、1回のEntryの間に溶液をリックした場合をLick entry、リックをせずに途中で停止した(接近するものの摂取しなかった)場合をStop entryとして分類した。一方、リックに関しては、200ミリ秒未満の間隔で3回以上連続してみられた高頻度のリックパターンをBurstと定義した。さらに、Burstが500ミリ秒未満の間隔で連続的にみられた場合をClusterと定義した。

#### (2) 行動薬理学的実験

##### 外科的手術

ラットの扁桃体基底外側核に神経活動を一時的に停止させる作用のある薬物を局所的に注入するために、ガイドカニューレを留置する手術を行った。

##### 実験手続き

上述の実験箱で蒸留水を摂取させるトレー

ニングを行った。飲水量が安定してから条件づけを行った。甘味を呈するサッカリン溶液 (5 mM) を摂取させ、直後に塩化リチウム (0.15 M、体重の 2%量) を腹腔内投与した。その後、2 回のテストを行った。1 回目のテストではサッカリン溶液を呈示し、動物が味覚嫌悪学習を獲得したことを確認した。2 回目のテストでは、動物を 2 群に分け、一方には扁桃体基底外側核に GABA<sub>A</sub> 受容体作動薬であるムシモールを注入し (実験群)、他方には溶媒である生理食塩水 (対照群) を注入した。注入直後に実験箱においてサッカリン溶液を呈示した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 行動学的実験

通過センサーの遮断とボトルのリックについてデータをラスタプロットしたものを図 2 (乾・志村 (2014) を改変) に示す。

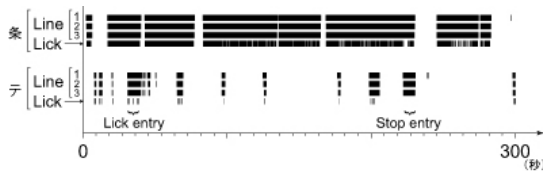


図2 通過センサー (Line) とタッチセンサー (Lick) によって検出したデータ例について一部 (10 分間) をラスタプロットした。「条」は条件づけを、「テ」はテストを示す。

条件づけとテストを比較すると、Entry の持続時間が短くなり、リック数も大きく減少した。Stop entry が数箇所みられるように、ボトルに接近するものの、摂取しないというコンフリクト (葛藤) 状態がみられることが分かった (図 3)。また、嗜好性を示す Burst と Cluster についても条件づけ後に大きく減少した (図 4)。

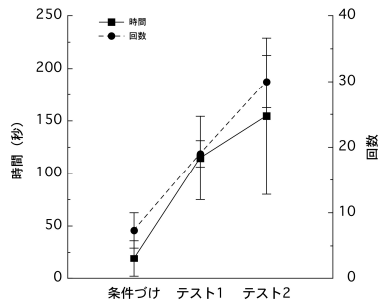


図3 条件づけを行った日とテストにおける Stop entry の総持続時間と回数の平均。味覚嫌悪学習を獲得すると、コンフリクト (葛藤) 状態を示す時間と回数が有意に増加することが分かる。

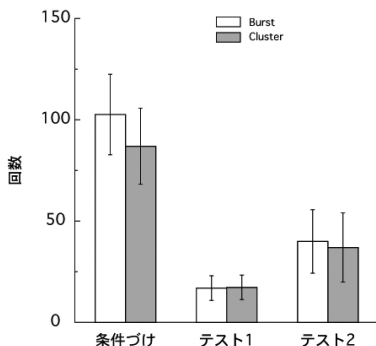


図4 条件づけを行った日とテストにおける Burst と Cluster の表出回数の平均。味覚嫌悪学習を獲得すると、リックが大きく減少することが分かる。

##### (2) 行動薬理学的実験

行動学的実験において、有意な増加がみられた Stop entry と Burst および Cluster について、テスト 2 でムシモールあるいは生理食塩水を扁桃体基底外側核に注入した結果を図 5 と図 6 に示す。

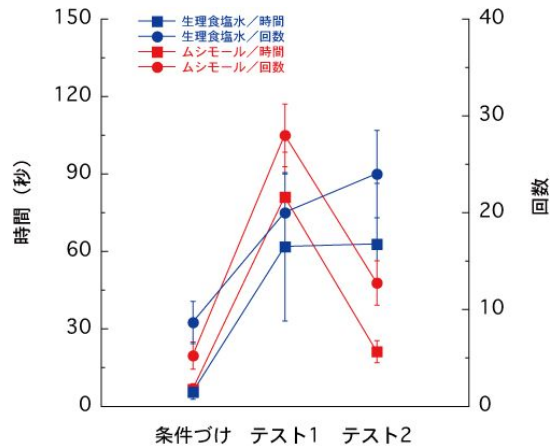


図5 条件づけを行った日とテストにおける Stop entry の総持続時間と回数の平均。テスト 2 において、ムシモールを扁桃体基底外側核に注入した群 (赤) では、コンフリクト (葛藤) 状態を示す時間と回数が、生理食塩水を注入した群 (青) に比べて有意に低かった。

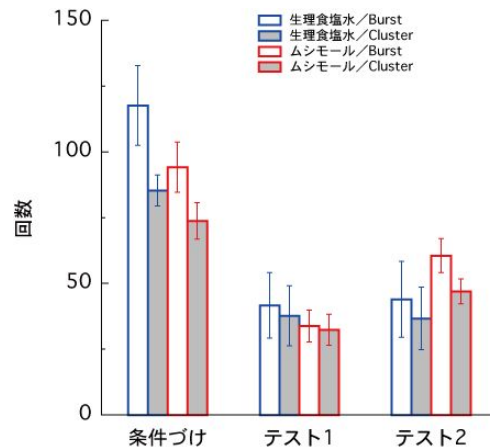


図6 条件づけを行った日とテストにおける Burst と Cluster の表出回数の平均。生理食塩水を注入した群 (青) ではテスト 1 とテスト 2 のいずれにおいても Burst と Cluster の表出回数は低かったのに対し、ムシモールを注入した群 (赤) の Burst はテスト 1 に比べてテスト 2 で有意に増加した。

Stop entry (図 5) については、対照群では、テスト 1 とテスト 2 の両方で条件づけを行った日より回数と時間が有意に多かった。一方、実験群はテスト 1 において対照群と同様に回数や時間が増加したが、ムシモールを注入されたテスト 2 ではテスト 1 に比べて明らかに減少した。また、Burst と Cluster (図 6) については、対照群はテスト 1 とテスト 2 の間に変化はみられなかったのに対し、実験群では Burst の回数が有意に増加し、Cluster も増加する傾向にあった。以上のことから、ムシモール注入によって扁桃体基底外側核を一時的に不活性化すると、味覚嫌悪学習の獲得によって低下したサッカリン溶液の嗜好性が回復するだけでなく、記憶の想起も妨げられることが分かった。

### (3) まとめ

行動学的実験の結果から、味覚嫌悪学習による記憶の成立は、ラットが飲み口に近づく際に示すコンフリクト(葛藤)状態、すなわち Stop entry を検出することで定量的に分析が可能であることが示された。一方、ラットのリック行動から Burst あるいは Cluster の回数や時間を解析することで嗜好性の変化を示すことができた。

行動学的実験において確立した手続きを用いて扁桃体基底外側核の機能を行動薬理学的手法で調べた。その結果、扁桃体基底外側核は味覚嫌悪学習における記憶の成立と嗜好性変化の双方に非常に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

今後は、島皮質などの味覚嫌悪学習への関与が示唆されている他の脳部位についても、本研究課題で確立した実験手法を用いて調べることで、味覚嫌悪学習における記憶成立と嗜好性変化の神経機構を明らかにしたい。

### 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 5 件)

- 1) 味覚嫌悪学習の想起における接近-回避コンフリクト, 乾賢, 志村 剛, 日本味と匂学会誌, 21(3) 269-272, 2014 査読有
- 2) Delta-opioid receptor blockade in the ventral pallidum increases perceived palatability and consumption of saccharin solution in rats., Inui T, Shimura T, Behavioural Brain Research, 269:20-27, 2014 査読有  
doi: 10.1016/j.bbr.2014.04.005.
- 3) Activation of efferents from the basolateral amygdala during the retrieval of conditioned taste aversion., Inui T, Inui-Yamamoto C, Yoshioka Y, Ohzawa I, Shimura T., Neurobiology of learning and memory, 106:210-220, 2013 査読有  
doi: 10.1016/j.nlm.2013.09.003.
- 4) The odor of Osmanthus fragrans attenuates food intake., Yamamoto T, Inui T, Tsuji T., Scientific Reports, 3: 1518, 2013 査読有  
doi: 10.1038/srep01518.
- 5) ラット腹側淡蒼球への -オピオイド受容体拮抗薬注入が甘味溶液の摂取と嗜好性に及ぼす影響, 乾賢, 志村剛, 日本味と匂学会誌, 19- 3: 353-356, 2012 査読有

[学会発表](計 9 件)

- 1) 乾賢 他, 味覚嫌悪学習の想起における接近 - 回避コンフリクト, 日本味と匂学会第 48 回大会, 2014 年 10 月 3 日, 静岡市清水文化会館(静岡県・静岡市)
- 2) 乾賢 他, 分界条床核への GABA<sub>A</sub> 受容体阻害薬注入が条件性嫌悪味刺激の摂取に及ぼす影響, 第 37 回日本神経科学大会, 2014 年 9 月 13 日, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
- 3) Inui T et al., The efferent pathways of the basolateral amygdala activated by the retrieval of conditioned taste aversion in rats, The 22nd Annual Meeting of the Society for the Study of Ingestive Behavior, 2014 年 7 月 31 日, Seattle (USA)
- 4) 乾賢 他, ラット腹側淡蒼球への GABA<sub>A</sub> 受容体アゴニスト投与によって惹起される味覚関連嫌悪行動, 第 91 回日本生理学会大会, 2014 年 3 月 18 日, 鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市)
- 5) 乾賢 他, ラット腹側淡蒼球 GABA<sub>A</sub> 受容体活性化による嫌悪性味覚反応様行動の表出, 日本味と匂学会第 47 回大会, 2013 年 9 月 6 日, 仙台市民会館(宮城県・仙台市)
- 6) 乾賢 他, 腹側淡蒼球 -オピオイド受容体の阻害によって甘味溶液の摂取量が増加し、嗜好性が上昇する, 第 36 回日本神経科学大会, 2013 年 6 月 21 日, 国立京都国際会館(京都府・京都市)
- 7) 乾賢 他, ラット腹側淡蒼球への -オピオイド受容体拮抗薬注入が甘味溶液の摂取と嗜好性に及ぼす影響, 日本味と匂学会第 46 回大会, 2012 年 10 月 4 日, 大阪大学コンベンションセンター(大阪府・吹田市)
- 8) 乾賢 他, 条件性嫌悪味刺激の処理に関わる扁桃体基底外側核遠心路のニューロイメージング, 第 35 回日本神経科学大会, 2012 年 9 月 20 日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)
- 9) Yamamoto T & Inui T, Neural substrate of conditioned taste aversion: roles of amygdala and reward system in acquisition and expression, The 16th meeting of The International Symposium on Olfaction and Taste, 2012 年 6 月 24 日, Stockholm (Sweden)

〔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