

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007-2008

課題番号：19591993

研究課題名 (和文) 「おいしさ」を科学する：味覚—嗅覚相互関連の解明

研究課題名 (英文) A study of OISHISA: Convergence of olfactory and gustatory information onto the endopiriform nucleus.

研究代表者

須貝 外喜夫 (SUGAI TOKIO)

金沢医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90064625

研究成果の概要：「おいしさ」を味覚—嗅覚の相互関連という観点に立ち、梨状皮質（嗅覚野）深層の傍梨状核を調べた。脳スライス標本における興奮伝播パターン、in vivo 標本での電気刺激やニオイ刺激実験および自由行動下における c-Fos タンパク発現の免疫組織学的実験から、傍梨状核ニューロンは嗅覚刺激に対し活動するだけでなく、味覚刺激に対しても活動することがわかった。一連の結果は、「風味」とか「味わう」といった味のみならずニオイ情報が共になった複合感覚に傍梨状核が重要な役割をもつことを示す。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード： 傍梨状核、梨状皮質、味覚皮質、興奮伝播パターン、c-Fos タンパク、2 発電気刺激

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質の「味覚野」は、嗅溝背側部に位置する。一方、嗅溝をはさんで腹側部に嗅球からのニオイ情報投射を受ける「嗅覚野」と呼ばれる梨状皮質がある。従って、味覚野と嗅覚野は嗅溝をはさんで向き合っている。両中

枢のこのような配置は、2つの感覚野が相互に連絡を取り合う可能性を推測させる。我々はスライス標本を用いて両野間の機能的な連絡を調べ発表した (Neuroscience, 126, 2004) が、両野間の機能に関連した他の報告は国内外を問わずほとんど無い。ニオイ

や味情報の相互連絡による統合処理過程は、行動学的にも重要な脳の働きであり、これからの脳研究の方向性の一端を示している。

2. 研究の目的

脳スライス標本を用いた実験で梨状皮質深層の傍梨状核を介し、相互に機能的な連絡が味覚—嗅覚野間にあることを示した (Neuroscience, 126, 2004) が、この研究をさらに発展させ、この相互連関をより確実なものとするために。以下の3点に主に焦点を当て研究を行うことを目的とした。

(1) スライス標本を用い電位感受性色素による光学計測から得られる画像を基に、梨状皮質から傍梨状核、味覚皮質から傍梨状核への興奮伝播様式の詳細な解析を行う。

(2) 嗅球の電気刺激が、傍梨状核に電場電位を誘発するかを *in vivo* 標本で電気生理学的に調べる。なお、当初の計画では、内因性光計測実験を遂行することを計画していたが、傍梨状核で興味ある結果が得られ、この点に注目し (3) の実験を追加することに変更した。従って、内因性光計測実験は本研究期間中十分に行うことができなかった。

(3) ニューロン活動の有無を示す指標となる c-Fos タンパクの発現を種々の環境下、特に自由行動下で調べ、傍梨状核を含めた梨状皮質領域および味覚皮質領域で Fos 陽性細胞の発現をそれぞれ免疫組織学的に調べる。

3. 研究の方法

当初の計画では、モルモットを使用する予定だったが、手術の簡便さや、動物の体力、および c-Fos 実験を考慮してラットを使用した。また、本学の倫理委員会の規定に基づき、

疼痛を与えないように十分に配慮して以下の動物実験を行った。

(1) 実験 1: ラット脳をすばやく摘出後、スライス標本 (厚さ: 400 μm) を作成した。標本は、傍梨状核、梨状皮質等を含むように前額断あるいは水平断脳切片を作成した。電位感受性色素で染色後、梨状皮質に電気刺激を与えて生じる興奮伝播パターンを光計測システムによりリアルタイムで計測し、時・空間的解析を行った。今回特に 2 発刺激で生じる傍梨状核への興奮伝播に注目した。

(2) 麻酔下ラット *in vivo* 標本を用い、嗅球に電気刺激を与え、ガラス微小電極を用い傍梨状核から電場電位記録をおこなった。また、傍梨状核ニューロンのニオイ刺激に対する応答をガラス微小電極により記録後、記録部位の確認のため色素によるマーキングを行った。

(3) ニューロン活動の有無を示す c-Fos タンパクの発現を観察する目的で、一側嗅球に電気刺激を与えた。また、別の自由行動下のラットに味や匂いの自然刺激 (嗅覚および味刺激) としてリンゴを餌として与えた。それぞれ 90 分間放置後、還流固定し脳切片を作成後、免疫組織学的手法により、傍梨状核を含めた梨状皮質領域および味覚皮質領域で Fos 陽性細胞の発現をそれぞれ調べた。

4. 研究成果

(1) 梨状皮質および味覚皮質への 2 発刺激により生じる傍梨状核への興奮伝播。

梨状皮質あるいは味覚皮質への 1 発刺激に対し刺激強度を強くしても傍梨状核には電場電位は誘発されないが、梨状皮質あるいは味覚皮質に 2 発刺激 (刺激間隔: 20~100 ms) を与えると促進効果が生じ、傍梨状核に電場電位が発生した。光学計測による興奮伝播パターンの解析から、いずれの場合にも傍

梨状核への興奮伝播は、島皮質 V/VI 層の興奮を介して起こり、傍梨状核のみならず前障への興奮伝播も生じていることが確認された。傍梨状核、島皮質および前障の興奮は共に 100 ms 近く続いた。さらに図 1. に示したように、味覚皮質(GC)と梨状皮質(PC)の異なる部位への 2 発刺激(stim) (例えば、味覚皮質刺激を梨状皮質刺激に 13 ms 先行) に対しても傍梨状核(EPN)への興奮伝播が誘発された。

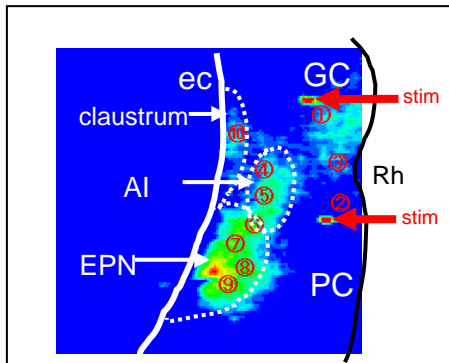


図 1. 味覚皮質と梨状皮質への 2 発刺激で生じる傍梨状核への興奮伝播.

Clastrum; 前障、Rh; 嗅溝

図 1. は、傍梨状核への興奮伝播の擬似カラー表示。刺激後 70 ms のイメージで黄色～赤色は興奮が強いことを示す。前額断切片、上が背側、右が外側である。傍梨状核への興奮伝播は島皮質(AI)の興奮を介して発生した。2 発刺激による傍梨状核の興奮は、梨状皮質刺激を味覚皮質刺激に先行させても、また味覚皮質刺激と梨状皮質刺激を同時に与えた場合にも誘起された。これらの結果は、梨状皮質深層の傍梨状核ニューロンは、梨状皮質ニューロンよりも複雑なニオイ情報処理に関与することを示唆する。また、味覚皮質の 2 発刺激や、梨状皮質と味覚皮質刺激の組み合わせで傍梨状核ニューロンが活動する結果は、ニオイ情報と味覚情報が収束する領域として傍梨状核が重要な意味を持つことを

示す。次に、水平断切片を用い、傍梨状核刺激に対する興奮伝播パターンを調べた結果、傍梨状核刺激に対し発生した興奮は、傍梨状核内を外包に沿って後方および前方に向けて伝播した。その伝播速度は 150-270 mm/s (平均 204±38 mm/s) であった。

(2) 嗅覚経路の中で傍梨状核が実際に活動するかどうかを、麻酔下ラットで嗅球電気刺激を行い確認した。1 発の嗅球刺激に対し傍梨状核で電場電位が記録された。また、スライス標本の結果と同様に、1 発では傍梨状核電位が出現しない強度での 2 発刺激 (刺激間隔: 20~100 ms) に対し傍梨状核電位に促進効果が観察された。この結果は、梨状皮質のみならず嗅球の電気刺激に対しても同様に傍梨状核が活動することを示す。なお、反対側嗅球の電気刺激では傍梨状核電位は認められなかった。また、麻酔下ラットでニオイ刺激に応答する傍梨状核ニューロンの記録を試みた。傍梨状核の周辺部にニオイ応答ニューロン (n=8) が存在することが判明した。

(3) 嗅球電気刺激や自由行動下自然刺激に対する Fos 陽性細胞の発現。

一側嗅球の電気刺激に対する Fos 陽性細胞の発現は、刺激側と同側の梨状皮質、傍梨状核に高密度に、また島皮質、味覚皮質および前障にも多数認められた。反対側の同領域では Fos 陽性細胞の発現はほとんど認められなかった。この結果は嗅球電気刺激に対する傍梨状核電位の結果と一致する。さらに自由行動下でのリンゴによる味と匂いの自然刺激に対し、梨状皮質、傍梨状核、島皮質、前障、および味覚皮質においてそれぞれ多数の Fos 陽性細胞の発現が認められた(図 2.)。傍梨状核では、特にその周辺に陽性細胞の発現が認められた。この結果は (2) の傍梨状核ニオイ応答ニューロンの分布の結果と一致する。なお、リンゴを与えなかった対照群

のラットでは同じ領域での Fos 陽性細胞の発現はきわめて少数であった。この結果は、自由行動下でのラットにおいても自然刺激に対し、梨状皮質領域や味覚皮質領域のみならず傍梨状核ニューロンが活動していることを示す。

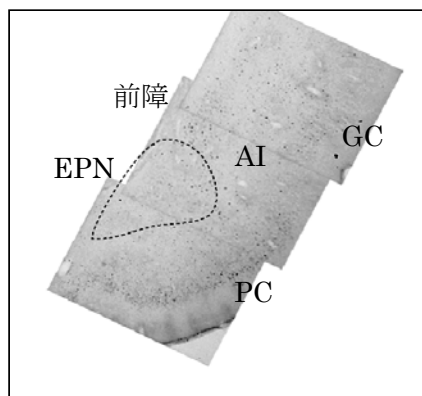


図 2. 自由行動下でリンゴを与えたラットでの c-Fos 陽性細胞の発現
破線で囲んだ領域は傍梨状核

(4) 今回の研究結果の意義、反省点および今後の展望。

本研究課題は、「おいしさ」を味覚—嗅覚の相互関連という観点に立ち調べることであった。「おいしさ」は、「風味」や「味わう」という感覚と密接に繋がり、口腔内の体性感覚や特に味覚や嗅覚に代表される化学感覚が、重要な因子であると考えられる。本研究では特に味覚と嗅覚の相互関連に焦点を向け、傍梨状核を集中的に調べた。スライス標本における興奮伝播パターン、in vivo 標本での嗅球刺激やニオイ刺激の結果は、それらの刺激に対し、傍梨状核ニューロンが活動する証拠を示した。また、スライス標本での興奮伝播の結果や自由行動下での自然刺激に対する結果は、傍梨状核ニューロンが味覚刺激に対しても活動することを示した。このように、傍梨状核は味覚および嗅覚情報が収束する重要な領域であると考えられる。すなわ

ち、「味わう」という味覚と嗅覚の複合感覚に關与する場所として傍梨状核が存在すると考えられる。今後、自由行動下での自然刺激(味覚刺激や嗅覚刺激あるいは体性感覚刺激)に対する傍梨状核ニューロン応答の記録を行うことでさらに興味深い発見が期待できる。なお、今回、傍梨状核の機能を調べるのに多くの時間を費やした結果、内因性光学計測の実験が十分遂行することが出来なかった点は、改めて今後、追及するテーマとして反省しなければならない。

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 2 件)

- ① 須貝外喜夫、山本 亮、吉村 弘、加藤伸郎 匂いと味情報の傍梨状核を介する機能的連絡. 日本味と匂学会誌、15、345-346、2008、査読有
- ② 須貝外喜夫、山本 亮、吉村 弘、加藤伸郎 梨状皮質—傍梨状核間の興奮伝播. 日本味と匂学会誌、14、521-522、2007、査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① 須貝外喜夫、匂いと味情報の傍梨状核を介する機能的連絡. 第 42 回日本味と匂学会、2008 年 9 月 18 日、富山.
- ② 須貝外喜夫、嗅覚中枢(梨状皮質)から傍梨状核へのニオイ情報の伝播. 第 44 回金沢医科大学医学会学術集会、2008 年 7 月 19 日、内灘.
- ③ 須貝外喜夫、傍梨状核を介する嗅覚および味覚情報の機能的な連絡. 第 12 回鋤鼻

研究会、2008年6月6日、御殿場.

- ④ 須貝外喜夫、ラット水平断脳切片における傍梨状核興奮伝播の光学的計測. 第85回日本生理学会大会、2008年3月26日、東京.
- ⑤ 須貝外喜夫、梨状皮質—傍梨状核間の興奮伝播. 第41回日本味と匂学会、2007年7月27日、東京.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

須貝 外喜夫 (SUGAI TOKIO)

金沢医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90064625

(2) 研究分担者

吉村 弘 (YOSHIMURA HIROSHI)

金沢医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90288845