

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19700288

研究課題名（和文） 島皮質における味覚と嗅覚の統合

研究課題名（英文） Integration of taste and odor information in rat insular cortex

研究代表者

柏谷 英樹 (KASHIWADANI HIDEKI)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：70328376

研究成果の概要：

食物を口に含んだ時に感じる「flavor」の知覚には、味覚と嗅覚の統合が重要な役割を果たす。本研究では島皮質における味覚と嗅覚の統合メカニズムを明らかにすることを目指している。本研究によって、味覚、嗅覚の同時刺激によって強い応答する細胞（flavor 刺激に選択性を持つ細胞）が島皮質で見つかった。現在無麻酔下動物を用いて、このような細胞の応答が経験依存的にどのように変化するかを明らかにしつつある。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	0	1,900,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	390,000	3,590,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：嗅覚、味覚、電気生理学、島皮質

1. 研究開始当初の背景

普段我々が感じる「味」感覚は、嗅覚入力によって大きく影響を受ける。例えばピーチジュースを飲むさいに鼻をふさいでおくと、我々の多くは「砂糖水」の味しか感じない。

このことは、我々が通常「味」と感じている感覚は、実際には味覚と嗅覚が統合されることによって形成される感覚（flavor）であることを意味している。では、どのような神経メカニズムによってこの flavor 感覚は生まれるのであろうか？

「匂い」は鼻腔の奥に広がる嗅上皮上にシート上に並ぶ嗅神経細胞によって検出さる。嗅神経細胞によって検出された匂い情報は、一次嗅覚中枢である嗅球、さらに二次中枢である嗅皮質へと伝えられる。一方「味」情報は、舌の味蕾にある味覚細胞によって検出され、延髄孤束核、視床味覚野、そして大脳一次味覚野（島皮質）へと伝えられる。このようにそれぞれ三次中枢までは、味覚情報と嗅覚情報は統合されることなく、独立して情報処理されると考えられてきた。

しかしながら近年の解剖学的な研究により、これまで大脳新皮質一次味覚野と知られてきた島皮質は、嗅皮質ニューロンから軸索投射を受けることが明らかになってきた。この知見から、島皮質は単純な味覚野ではなく、嗅覚情報も処理すること、そして味覚と嗅覚の統合を行う部位であることが示唆された。しかしながら、島皮質ニューロンが生理的狀態で本当に嗅覚情報を処理しているのか？また、ある単一ニューロン上で、本当に嗅覚情報と味覚情報の両者を処理し、嗅覚情報と味覚情報の統合に寄与しているのか？に関しては全く明らかになっていなかった。

また、我々はそれまでに知っている香りの食物から予想外の味を感じると強い違和感を持つ。しかしながら食べ慣れることによりその違和感は消失し、食物として受け入れることができる。このような違和感の消失は、島皮質のニューロンの一部が新たに匂いと味の両者に応答する性質を獲得し、食物として認識することができることを示唆している。しかしながら、島皮質ニューロンの匂い・味応答特性が本当に経験依存的・学習依存的に変化していくのかどうかは、未だに明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、これまで大脳新皮質一次味覚野と考えられてきた島皮質で、嗅覚、味覚の両モダリティが統合され、flavor 感覚を表現できるのか？さらに学習依存的に flavor 応答が変化するか？を明らかにすることで

ある。麻酔条件下ラット、無麻酔条件下ラットを用いて具体的に明らかにする点について、以下に記す。

- ウレタン麻酔下ラットを用いた研究 -

(1) ウレタン麻酔下のラット島皮質にガラス微小電極を刺入し、島皮質ニューロンの匂い応答を明らかにする。さらに、味覚、嗅覚の両感覚刺激に対して応答する細胞が島皮質に存在するのか、明らかにする。また、両 modality に応答する細胞で、味覚刺激、嗅覚刺激の組み合わせに特定のルールが存在するのかどうかを明らかにする。

(2) 味覚・嗅覚両者に応答するニューロンに関して、味覚・嗅覚の同時刺激を行うと、どのような応答をするのかを明らかにする。特に味覚・嗅覚の単独刺激時の応答の和と、同時刺激時の応答強度を比較し、同時刺激時の応答の和(summation)より、より強い応答を示すニューロンが存在する(味覚・嗅覚刺激の mixture facilitation flavor 知覚に、より選択的)のか？を明らかにする。

- 覚醒下ラットを用いた研究 -

(1) 一頭体から効率よく島皮質ニューロンの応答を記録するために、ヘッドレスト式を用いた記録系を立ち上げる。この記録系を用いると、ラットを非常に低ストレス条件下で脳定位固定装置に装着できるため、無麻酔下にもかかわらず脳座標を用いて効率的に島皮質ニューロンの応答を記録することが可能になる。

また、記録効率をあげるため、シリコン多点プローブを用いた、マルチサイトシングルユニット同時記録系を立ち上げる。

(2) ヘッドレスト式固定法を用いて、無麻酔条件下で、味覚・嗅覚刺激を行い、応答特性を明らかにする。さら

に、味覚・嗅覚同時刺激による mixture facilitation 効果が、無麻酔下条件下でも観察されるか、明らかにする。

- (3) ヘッドレスト式固定法で脳定位固定装置に装着した状態で、特定の組み合わせの味覚・嗅覚同時刺激を繰り返し行い、経験依存的に同時刺激に対する応答特性に変化が見られるかどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 麻酔下急性電気生理実験

麻酔下ラットの島皮質の嗅覚、味覚応答を以下の方法で記録した。ウイスターラット(240-280、雄)を12%ウレタン水溶液(1.2 g/kgw, i.p.)を用いてにより深麻酔し、脳定位固定装置上に装着した。Bregmaを基準として外側に3.5-4.0mm, 前方に0.0-1.0mmの位置の頭蓋骨に小穴を歯科ドリルにて開け、硬膜を切開した。また、舌の動きによる筋電位の発生を抑えるため、舌下神経を両側性に切断した。

細胞外単一記録を行うため、ガラス微小電極(電極内液:2% Pontamine Sky Blue 6B in 0.5M K Acetate: 8 - 12 M)を島皮質に刺入した。記録針は、脳表面から外側に10度傾け刺入した。全ての記録後、電極に通電し(10 μ A - 2min)記録部位の確認を行った。

記録した細胞外ユニット活動は50Hz-10kHzでフィルターをかけた後、AD converter (Power 1401, CED)を介してPCに取り込んだ。解析はオフラインにてSpike 2 (CED)を用いて行った。

匂い刺激にはグリーン臭、キャベツ臭、バナナ臭、ラクトン臭(ピーチ様臭)、オニオン臭、アミン臭(くさや様臭)、テルペンハイドロカーボン臭(樟脳様臭)、ペレット臭の8つの匂いを用いた。

味覚刺激には5基本味(0.1M NaCl(塩味), 0.01M HCl(酸味), 0.5M Sucrose(甘味),

0.01M Quinine(苦味), 0.1M Mono Sodium Glutamate(旨味))を用いた。

(2) 覚醒亜急性電気生理実験

ネブタール麻酔下でラットを深麻酔した後、ヘッドレスト式固定装置にラットを装着した。頭蓋骨を露出させた後、頭蓋骨にステンレスビスを固定し、更に固定アンカーを歯科用セメントにて頭蓋骨に固定した。同時に島皮質背側部の頭蓋骨に歯科用ドリルで小穴を開け、記録に備えた。小穴はシリコン栓にて蓋をしておいた。これらの手術後、動物はホームケージに戻し、1週間以上体力を回復させた。

次にヘッドレスト式固定装置ラットを慣れさせるため、12時間の絶水を行い、ヘッドレスト固定装置上で1日2時間自由摂水を行わせた。およそ3週間のトレーニングにより、4匹中2匹のラットで、ヘッドレスト固定装置上で安静状態を保たせることができるようになった。

このような動物を用いて、ヘッドレスト式固定装置に動物を装着した後、島皮質背側部頭蓋骨のシリコン栓を外し、記録用電極を島皮質へ刺入、細胞外単一記録を行った。記録にはガラス微小電極及びシリコン製多点電極を用いた。これらの実験系で、味覚、嗅覚刺激応答を無麻酔下で記録した。また、ピーチ臭と砂糖水の同時刺激を繰り返し行い、経験依存的な同時刺激に対する応答の変化を観察する。

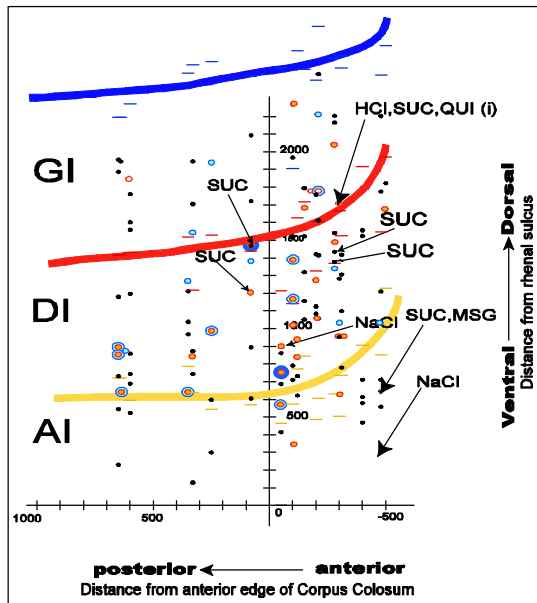
4. 研究成果

ウレタン麻酔下ラットの島皮質における嗅覚、味覚そして同時刺激による応答を調べた結果、以下のような発見があった。

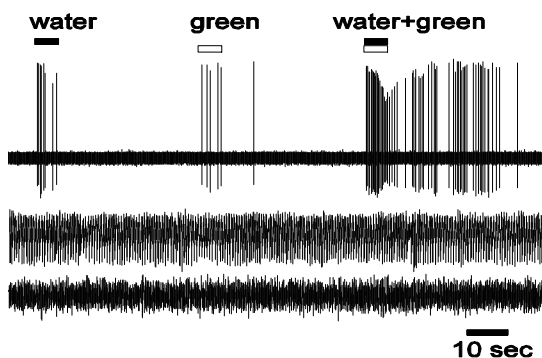
- (1) 記録した島皮質ニューロンのうち、およそ25%のニューロンが、今回用意した8種類のうち少なくとも一つの嗅覚刺激に応答した。

- (2) これら嗅覚応答ニューロンのおよそ20%では、5基本味の中の少なくとも1種類の味覚刺激にも応答した(図1)。

(3) 嗅覚刺激と味覚刺激の同時刺激によって、単独刺激時より大きな応答を示す (taste-odor mixture facilitation) ニューロンが見つかった。



(図1) 島皮質内での嗅覚・味覚応答ニューロンの分布。嗅覚応答ニューロンはオレンジ色で示してある。嗅覚応答ニューロンは島皮質のうち disgranular area (DI) に多く存在している。



(図2) 島皮質での味(水)刺激と匂い(green odor)の同時刺激による mixture facilitation. 同時刺激提示で明らかに強い応答が観察される。

また、ヘッドレスト式固定装置を用いた覚醒下ラットからの記録に関しては、ラットへの安定したヘッドアンカーの装着手術法の開発、及びヘッドレスト式固定装置上での安定した保持をすることが可能になった。

ヘッドアンカーの頭蓋骨固定の際、1週間ほどでヘッドアンカーを固定した歯科用セメントが頭蓋骨より剥離する問題があった。この問題は、歯科用セメントを用いる前に骨表面の脱灰し、歯科用セメントとの接着面を広くすることで解決することができた。またヘッドレスト式固定装置上で安静状態を保てるラットを作成する点で困難があったが、3週間ほどかけて徐々にヘッドアンカリングに慣れさせることによって、ラットの安静状態を保つことが出来るようになった。

この動物を用いて、ガラス電極またはシリコン製多点電極を島皮質に刺入し、自発発火活動を記録することに成功している。現在、匂い刺激、味覚刺激に対する応答を記録しており、無麻酔した動物の島皮質における嗅覚・味覚情報の統合様式をあきらかにしつつある。また、ピーチ臭と砂糖水の同時提示を何度も行い、経験依存的にピーチ臭応答ニューロンの砂糖水応答及び同時刺激応答がどのように変化するかを明らかにする予定である。

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)

[学会発表] (計1件)

1. Convergence of Olfactory and Gustatory Information in the Rat Insular Cortex. Hideki Kashiwadani and Kensaku Mori
The 37th Society for Neuroscience 2007, San Diego (査読有)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏谷 英樹 (KASHIWADANI HIDEKI)
東京大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 70328376

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし