

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17006

研究課題名（和文）ラット粘性嫌悪条件付け試験を利用した口腔内触覚受容機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of oral tactile sensation using conditioned viscosity aversion test in rats

研究代表者

中富 千尋（Nakatomi, Chihiro）

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：80878273

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的はラットを用いたテクスチャー認知解析を行うことであり、まず粘性嫌悪条件付け試験を用いてラットの粘性認知を明らかにした。テクスチャー受容機構を明らかにするためには粘性だけではなく他のテクスチャー感覚評価およびそれらの相互作用を明らかにする必要があると考えられた。そこでさらに、ラットでの粒子性認知評価法を確立したのちに、粘性付与による粒子性認知の変化を解析したところ、粘性存在下では、粒子性認知が抑制されることが明らかになった。本研究で用いたラットテクスチャー認知評価法を利用することにより、テクスチャー認知メカニズム解明が可能となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔内の触覚感覚によって食品テクスチャーを正確に知覚することは、食品に応じて咀嚼力を調節したり、安全に嚥下できるタイミングを判断するために重要な感覚である。食品テクスチャー感覚に関与する受容器や神経回路を明らかにするためには、動物実験系での解析が必須である。本研究で粘性や粒子性感覚を評価できる実験系を確立したこと、またその相互作用があることを動物実験系で明らかにしたことで、今後より詳細な解析を行うことが可能になった。今後本研究を発展させテクスチャー認知メカニズムの詳細を明らかにすることで、摂食嚥下機能改善に有用な知見を提供できる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to analyze texture perception in rats. We have previously clarified viscosity perception in rats using the conditioned viscosity aversion test. To clarify the mechanism of texture perception, it is necessary to analyze not only viscosity perception, but also other texture perceptions and their interactions. First, we established a method to evaluate texture perception in rats, and then analyzed the change of texture perception with viscosity. Since there are many types of food textures, further study of different texture perceptions and their interactions would lead to the understanding of the mechanism of texture perception.

研究分野：口腔生理学

キーワード：食品テクスチャー 触覚

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔粘膜の触覚は、摂食や構音などの口腔生理機能に必須の感覚である。口腔粘膜上の機械受容器を介して食品の硬さや粘性等の物理的特性（テクスチャー）が認知され、咬合圧や舌の位置などが調整される。また、咀嚼中の食塊のテクスチャー変化を認知し、嚥下のタイミングを判断する。食品に混入した異物を検出するためにも触覚は欠かせない。構音の際は、舌の位置や舌と口蓋・歯牙との接触強さを機械受容器が検出することで、舌の繊細な動きのコントロールが可能となる。

ヒトやマウスの舌口蓋粘膜には、機械受容器であるメルケル触盤、クラウゼ小体、マイスネル小体、ルフィニ小体が分布する（Moyaedi et al., Sci. Rep., 2018; Moyaedi et al., J. Comp. Neurol., 2021）。マウス舌の糸状乳頭にはクラウゼ小体が分布し、茸状乳頭では味蕾を取り巻くように有髄神経線維が存在する。口蓋ヒダ上皮下には多数のメルケル触盤とマイスネル小体が存在する。これらの機械受容器の応答特性の詳細は明らかにされていないが、舌尖部にクラウゼ小体を含む糸状乳頭が密集していることは、これらが全身で最も鋭敏な舌の触覚を担っていることを示唆している。このように口腔内での機械受容器の組織学的解析が進む一方で、どの機械受容器がどの食品テクスチャー受容に関与しているのかという生理機能は未解明である。

皮膚の触覚研究では von Frey 試験やブラシ試験など、触覚認知を動物の行動で評価する方法が確立されている一方、口腔テクスチャー認知研究では確立された評価方法がない。これは、試験食材にテクスチャーを付与する添加物（増粘剤、微結晶セルロース、寒天等）が主に多糖類から構成され、齧歯類が多糖類の味認知している報告があることから、味認知とテクスチャー認知を切り分けた評価が困難であることが原因として考えられる。

2. 研究の目的

本研究ではまず粘性テクスチャー認知評価法の確立を目的とした。過去のヒトでの報告で、粘性テクスチャーの存在下では粒子性など他のテクスチャー感覚が変化することが報告されている。また、食品は複数のテクスチャーから構成されることから、テクスチャー受容機構を明らかにするためにはまず、粘性だけではなく他のテクスチャー感覚の評価および、それらの感覚の相互作用を明らかにする必要があると考えられた。そこでさらに、ラットにおける粒子性認知評価法を確立したのちに、粘性付与による粒子性認知の変化を確認することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究には実験動物として Wistar 系雄性ラット（体重 250 ~ 300 g）を用いた（九州歯科大学動物実験許可番号：21-15、23-004）。

実験 ラット粘性嫌悪条件付け試験による粘性認知の評価

粘性食材として 0.1% CMC-H（約 3.6 mPa・s）を用いた。条件刺激（CS）として 0.1% CMC-H を 10 分間摂取された後に、無条件刺激（US）とした 0.15 M LiCl を腹腔内投与し腹痛を誘発させることにより、粘性に対する嫌悪条件付けを行った。対照群には生理食塩水を投与した。条件付けから 3 日後に水と 0.1% CMC-H の二瓶選択法を行い、粘性に対する嫌悪学習の成立を確認した。

また、本実験では、CMC の味に対する条件付けの成立を抑制するために、条件付けの前に、0.1% CMC-H と同じ味である 0.1% CMC-L を 8 日間提示し、味に対する安全学習を成立させることにより、潜在的抑制を誘導した（図 1）。嫌悪条件付けおよび二瓶選択試験前には 12 時間の絶水絶食を行った。

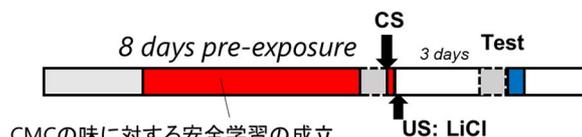


図 1 粘性嫌悪学習試験

実験 ラットを用いた粒子テクスチャー認知の解析

粘性食材として微結晶セルロース粒子（直径 20, 50, 90, 160 μm 、濃度 0.05 ~ 1.6 %）を水に懸濁して用いた。また、20 μm 粒子懸濁液の濾過溶液を用いた。粒子性認知試験には、グルコースとフルクトース（濃度 8%）を用いた条件付け嗜好学習試験を応用した（図 2）。ラットはグルコースとフルクトースに対して生得的に同程度の嗜好性を示すが、両者を交互に摂取されるトレーニングを繰り返すとグルコースへの嗜好性を獲得する。ここでさらにグルコースとフルクトースに異なるフレーバーを加えると、グルコースと対にしたフレーバーへの嗜好性を獲得する。本研究ではフレーバーの代わりに粒子を加えて試験を行った。もしラットが粒子を認知していた場合は、粒子に対する嗜好学習が成立する。嗜好性の評価には二瓶選択嗜好試験を用いた。次に、粘性付与による粒子性認知変化を検討するために、粒子分散溶媒に水ではなく 0.1% 高粘度 CMC を加えて粘性を付与して同様の試験を行った。

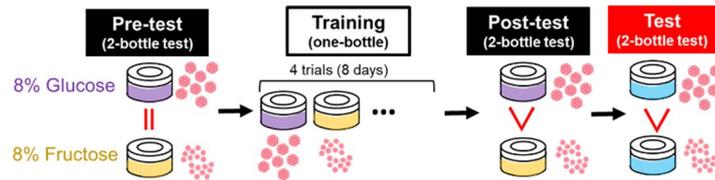


図 2 嗜好学習試験

4. 研究成果

実験 0.1% CMC-H を条件刺激とした嫌悪条件付け試験の結果、0.1% CMC-H に対する嫌悪学習が成立したことから、ラットは 0.1% CMC-H の粘度約 3.6 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ を認知することが明らかとなった（図 3）。

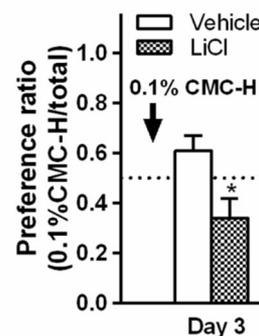


図 3 0.1% CMC-H への嫌悪学習試験。*, $P < 0.05$ against Vehicle by Student's t test

実験 実験で使用した微結晶セルロース粒子の顕微鏡像を図 4 に示す。直径 20 μm 粒子懸濁液のろ液中には直径およそ 1.5 μm の微細粒子が含まれていた。

まず、各直径の粒子と水との二瓶選択嗜好試験により粒子に対する生得的な嗜好性を確認したところ、全ての粒子サイズおよび濃度においてラットは嗜好も嫌悪もしなかった（図 5）。

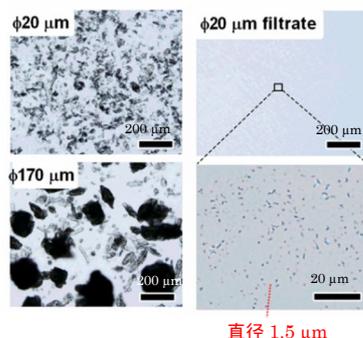


図 4 微結晶セルロース粒子の顕微鏡像

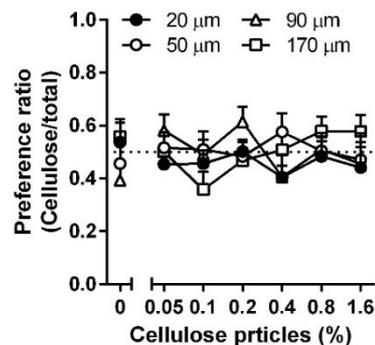


図 5 水と粒子懸濁液の二瓶選択嗜好試験

そこで粒子の認知を調べる為に粘性と同様に嫌悪条件付け試験を行ったが、嫌悪学習が成立しなかった。そこで粒子性認知については条件付け嗜好試験を行った。直径 170 μm 粒子とグルコース、直径 20 μm とフルクトースを組み合わせる群、反対に 20 μm 粒子とグルコース、170 μm 粒子とフルクトースを組み合わせる 2 群にて実験を行ったところ、どちらの群でも、グルコースと組み合わせた粒子への嗜好学習を獲得したことから、ラットが 170 μm 粒子と 20 μm 粒子を識別していることが示された（図 6）。20 μm 粒子と、その濾液を使って同様の実験を行うと、20 μm 粒子への嗜好学習を獲得し、ラットが 20 を識別して

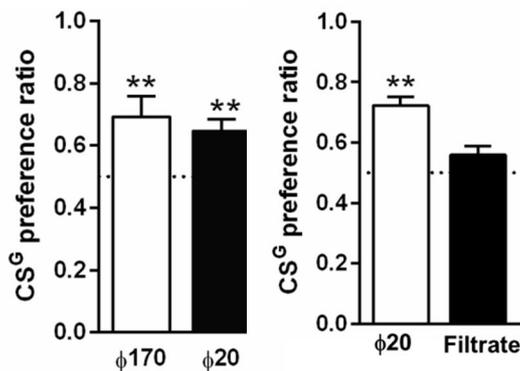


図 6 170 μm 粒子または 20 μm 粒子への嗜好学習試験。**, $P < 0.01$ against 0.5 by one-sample Student's t test

図 7 20 μm 粒子またはその濾液への嗜好学習試験。**, $P < 0.01$ against 0.5 by one-sample Student's t test

いることが示された(図7)。さらに、20 μm 粒子のろ液と水を用いて実験を行ったところ、ろ液に対する嗜好学習が成立したことから、ラットは1.5 μm 程度の極微細な粒子の認知できることが示された(図8)。ここで、ろ液に、増粘剤 CMC を濃度3%で加えると、ろ液に対する嗜好学習が認められなかった(図9)。これは、粘性の付与により粒子性感覚の閾値が上昇した可能性を示唆している。

以上の結果から、粘性テクスチャー存在下では、粒子性テクスチャー感覚が抑制されることが明らかになった。多くの食品は複数のテクスチャーを有するほか、咀嚼による食塊形成の過程では複数のテクスチャーが混在する。今後、単一のみならず複数テクスチャーの同時呈示による解析を進めることにより、食品テクスチャー認知メカニズム解明に繋がる。

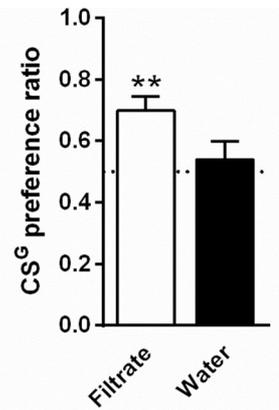


図8 濾液への嗜好学習試験。
**, $P < 0.01$ against 0.5 by one-sample Student's t test

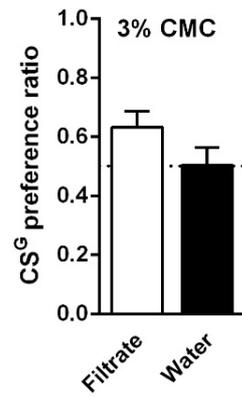


図9 3% CMC を溶媒に添加した場合の濾液への嗜好学習試験。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Chihiro Nakatomi, Noritaka Sako, Yuichi Miyamura, Seiwa Horie, Takemi Shikayama, Aoi Morii, Mako Naniwa, Chia-Chien Hsu, Kentaro Ono	4. 巻 16448
2. 論文標題 Novel approaches to the study of viscosity discrimination in rodents	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-20441-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakatomi Chihiro, Hsu Chia-Chien, Ono Kentaro	4. 巻 65
2. 論文標題 Correlations of sensations of hardness and springiness of agar and gelatin gels with mechanical properties in human participants	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 316 ~ 323
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2023.09.001	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 Nakatomi Chihiro, Wakao Takutoshi, Yogi Taishi, Hsu Chia-Chien, Inui Tadashi, Ono Kentaro	4. 巻 277
2. 論文標題 Discrimination of cellulose microparticles in rats	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Physiology & Behavior	6. 最初と最後の頁 114486 ~ 114486
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.physbeh.2024.114486	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中富千尋, 堀江成和, 徐嘉鍵, 乾賢, 小野堅太郎
2. 発表標題 ラットは食物粒子性を認知している
3. 学会等名 日本味と匂学会第56回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中富千尋, 堀江成和, 徐嘉鍵, 乾賢, 小野堅太郎
2. 発表標題 嗜好学習試験によるラット口腔内粒子性認知の解析
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中富千尋, 堀江成和, 徐嘉鍵, 乾賢, 小野堅太郎
2. 発表標題 ラットは微結晶セルロース粒子のサイズの違いを識別している
3. 学会等名 日本生理学会 第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中富千尋, 若尾拓俊, 徐嘉鍵, 乾賢, 小野堅太郎
2. 発表標題 ラットは食物中の微細粒子を認知している
3. 学会等名 第74回西日本生理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中富千尋, 徐嘉鍵, 小野堅太郎
2. 発表標題 寒天とゼラチンゼリーの力学的性質とヒトにおける硬さおよび弾力性感覚との相関
3. 学会等名 第65回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中富千尋
2. 発表標題 齧歯類を用いた食品テクスチャー認知の評価
3. 学会等名 第101回日本生理学会大会
4. 発表年 2024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
研究協力者	若尾 拓俊 (Wakao Takutoshi)		
研究協力者	堀江 成和 (Horie Seiwa)		
研究協力者	徐 嘉鍵 (Hsu Chia Chien)		
研究協力者	小野 堅太郎 (Ono Kentaro)		

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
---------	---------