

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 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：24614006

研究課題名(和文)食物過剰摂取行動の習慣化と再発に関わる脳の強化学習システムの解明

研究課題名(英文)Behavioral and neural mechanisms of sugar overconsumption

研究代表者

八十島 安伸 (Yasoshima, Yasunobu)

大阪大学・人間科学研究科・准教授

研究者番号：00273566

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：現代社会で問題化している過食を、味覚のおいしさや食からの報酬によって強化された学習行動と仮定し、その形成に関わる強化要因や脳基盤を調べるために、マウスにおけるショ糖過剰摂取行動モデルを作出し、その行動特性や生理基盤を調べた。行動特性の解析から、代謝的・エネルギー的欲求よりも味覚報酬やおいしさへの摂取動機づけが行動変容を強化する要因として働く過剰摂取モデルの作製に成功した。また、甘味呈味物の摂取亢進には、味覚と内臓感覚との連合による味覚嗜好学習とそれに基づく甘味嗜好性シフトに関わることを明らかとした。さらに、その学習には扁桃体基底外側核が関与することを脳内微小破壊法を用いて示した。

研究成果の概要(英文)：The present project aimed to develop mouse models of hedonically motivated sugar overconsumption and sugar preference. In Study 1, limited access to a highly palatable sucrose solution and chow for 10 days caused binge-like sucrose overconsumption in food-deprived mice. The binge-like behavior was not disrupted by energetic restoration such as systemic administration of glucose and preload of chow, suggesting that the binge-like behavior is driven by hedonic motivation rather than metabolic need. Longer training accelerated its reinstatement after long abstinence. In Study 2, FD mice were alternately exposed sucrose and saccharin. Trained mice increased sucrose intake and preference for sucrose over an equally sweet-tasting non-caloric saccharin. Mice with selective lesions of the basolateral, but not central, amygdala did not show these behavioral preference for sucrose. Our study provides useful mouse models of hedonic motivated sugar overconsumption and preference for sugar reward.

研究分野：行動神経科学

キーワード：過剰摂取行動 甘味刺激 動機づけ 味覚嗜好性 味覚嗜好学習 扁桃体

## 1. 研究開始当初の背景

飲食物の摂取は生存に不可欠であるが、不適切な飲食は健康を損ねる要因ともなり得る。摂食行動のプロセスにおける分子・生理・脳メカニズムは、近年、多くの研究がなされており、詳細なメカニズムが明らかとなりつつある (Berthoud, 2011)。

食に関する世界的な問題の一つに、甘味呈味物 (ショ糖など) や油脂、そしてアルコールの摂取過多などに起因した食べ過ぎやその結果である肥満がある。食べ過ぎや肥満は広く関心を持たれており、代謝学・内科学・心身医学の視点からのアプローチもなされ、さまざまな医学的知識が各種のメディアでも周知されてきた。また、心理学の面からも検討がされている (今田, )。しかしながら、食べ過ぎや過食が大幅に減少しないのは、医学的・心理的な介入や努力を経ても、人はどうしても食べ過ぎてしまう傾向を持つからとも考えられる。すなわち、人間における摂食への動機づけのプロセスへの理解を深め、代謝学からの介入や心的努力では制御しきれない摂食動機づけやその脳基盤を探ることは、過食や肥満の抑制にはとって有益な情報を提供できると考えられた。

近年では、食への嗜癖 (摂食嗜癖) や食物嗜癖という概念も提唱されている (Avena, 2009)。食物嗜癖の真偽は、現在のところ広く議論されている段階ではあるものの、さまざまな食物が心理・行動に及ぼす効果が報告されている。甘味呈味物質 (ショ糖など) や油脂などの報酬効果が注目されている (Avena, 2009; Sakamoto et al., 2015)。

そこで、甘味の持つ強い摂食や動機づけへの促進作用に着目し、間歇呈示スケジュールを用いて、マウスにおけるショ糖溶液の過剰摂取行動モデルの作出を試みた。同動物モデルは、ヒトの過食障害 (むちゃ食い障害) の一部の特性をモデル化する試みであり、極端な例ではあるものの、摂食動機づけメカニズムの理解には示唆的であると考えられた。間歇呈示スケジュールによる甘味呈味物の過剰摂取はラットでは既にモデル化されていた (Corwin et al., 2011)。しかしながら、遺伝子工学的操作や遺伝学的知見が豊富であるマウスにおける過剰摂取行動モデルは数報 (Czyzyk et al., 2010; Consoli et al., 2009; Halpern et al., 2013) のみしか報告されおらず、また、それらも簡便な手法によるものではなく、さらに、甘味呈味物の過剰摂取モデルではなかった。そこで、簡便、かつ、将来的な応用範囲の広いマウスにおける行動モデルが必要と考えられた。従来から、過剰摂取を呈する自然突然変異マウスや発生工学により作製された遺伝子改変マウスが肥満となることが複数報告されている。これらは遺伝的素因が過剰摂取や肥満を形成させる主因である。その一方で、野生型マウスとして広く研究に使用されている近交系の野生型マウスであっても、ある特別な給餌条

件下での食経験によって過剰摂取行動を呈するようになると予測できた。食習慣によって過剰摂取を誘導できれば、ヒトにおいて食習慣が過食を誘発させる現象の脳基盤を探るための有用な動物モデルとなると期待される。

甘味呈味物は動物・ヒトにとって、元来、好ましい味覚刺激である。したがって、甘味には摂取そのものを促進する作用がある。現代社会では甘い飲食物は広く流通し、かつ安価に入手できるため、日常の食生活でも摂取する機会が多く、結果として、甘味呈味物を必要以上に摂取することで生活習慣病に陥るリスクがある (Hu, 2013)。そこで、甘味呈味物からの摂取カロリーの軽減を目的として、近年ではノンカロリーの人工甘味料が広く飲食料品に流用されている。一方で、食べ過ぎや肥満は現代社会では増加している。この矛盾への説明の一つとして、ヒトは低カロリーの人工甘味料よりも、やはりカロリーを有するショ糖を好むのではないかと、つまり、日々の食生活においてノンカロリー人工甘味料よりもショ糖への嗜好がより強く形成され、結果としてショ糖含有のものをより多く摂取するのではないかと考えられた。しかしながら、この仮説は直接証明されておらず、甘味呈味物の食べ過ぎにおける味覚嗜好シフトの関与は不明であった。

## 2. 研究の目的

以上の背景を踏まえて、本研究では、第一の目的として、野生型マウスを実験対象として、短時間のうちにショ糖溶液を過剰摂取するように摂取行動を変容させる行動モデルを作出し、その行動特性を明らかとすることとした。第二の目的は、甘味呈味物の過剰摂取行動の強化子と考えられる味覚嗜好の形成と、その変化の脳基盤を探ることとした。そのために、甘味への嗜好変化を伴う行動モデルを作製し、その行動変容への強化子となる要因を探り、その行動モデルにおける扁桃体の役割を明らかとすることとした。そのために、マウスをモデル動物として、人工甘味料であるサッカリンよりもショ糖をより好んで摂取するようになる行動 (ショ糖嗜好性シフト) の動物モデルの作出を目指した。扁桃体の機能分析においては、扁桃体の亜核を選択的に破壊できる方法を開発して、ショ糖嗜好性シフトに関わる扁桃体亜核を同定することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1) 甘味過剰摂取行動の動物モデル化

#### マウス過剰摂取行動モデルの作製

野生型雄性マウス (C57BL/6J) を用いた。マウスにショ糖溶液 (0.5 M) と固形飼料 (MF: オリエンタル酵母) を 4 時間 (午前 9 時から午後 13 時) のみ呈示する間歇呈示スケジュールを毎日 10 日間施し、それぞれの摂取量を 10 時 (最初の 1 時間)、11 時、そして 13

時に計測した。

シヨ糖過剰摂取における嗜好性に基づく摂食動機づけ

間歇呈示訓練の前後で、夜間に固形飼料を自由摂取させる期間を設けた。訓練前後にも、上記の呈示スケジュールでシヨ糖溶液を呈示し、その摂取量を測定した。訓練後のシヨ糖摂取測定では、夜間に固形飼料を摂取しているため空腹を動因とする摂食動機づけは低いと考えられた。次に、同様の訓練手続き10日間を別群のマウスに施し、夜間制限給餌下のまま、訓練11日目のシヨ糖溶液呈示の直前にグルコース(2 g/kg BW)を腹腔内投与した。さらに、別のマウス群において、同様の手続きの下、訓練11日目において9時から固形飼料を先だて1時間呈示(プレ呈示)した後、10時からシヨ糖溶液を呈示した。グルコースの事前投与や固形飼料のプレ呈示は、夜間に制限給餌下にあるマウスにおいて、空腹動因に基づく恒常性維持の摂食への動機づけを低減する操作である。

シヨ糖過剰摂取行動の保持と再発

10日間もしくは30日間のシヨ糖過剰摂取訓練が終了してからマウスを5日間自由給餌条件下に置いてから夜間制限給餌を行い、翌朝(テスト日)にシヨ糖溶液を再呈示し、過剰摂取の表出が生じるのかどうかを調べた。そのテスト終了後、訓練最終日から数えて30日目までは自由給餌条件下で飼育し、10日間の再訓練を行い、過剰摂取行動の再形成について調べた。

## 2) 甘味嗜好性シフトのモデル化と扁桃体関与

シヨ糖選択的嗜好の形成の動物モデル

シヨ糖溶液とサッカリン溶液の同時呈示(ニビン同時選択テスト)において、野生型雄性マウスがそれぞれを同程度摂取するようにシヨ糖濃度を調節した。その後、制限給餌下でシヨ糖とサッカリンの水溶液を交互に毎日呈示し、各溶液6回ずつの呈示となるように経日的に訓練した。訓練後、シヨ糖とサッカリンの同時選択テストを再度行い、それぞれの摂取量を計測した。また、制限給餌条件の効果を探るために、別群のマウスにおいて、自由摂取条件下での同様の訓練とテストを行った。

学習性甘味嗜好シフトへの扁桃体の関与

上記の訓練効果に対する扁桃体の関与を探るために、扁桃体の中心核と基底外側核のそれぞれを選択的に破壊されたマウスを用意した。イオン電気泳動法によって興奮性神経毒(カイニン酸)を微量投与する微細破壊法(Hernadi et al., 2000)を応用した手法を開発し、それを利用してマウスの扁桃体におけるそれぞれの亜核を選択的に破壊した。破壊マウスに上記と同様の交互呈示訓練と同時選択テストを行った。

## 4. 研究成果

### (1) シヨ糖過剰摂取行動モデルの確立と行動特性の解析

制限給餌下で0.5 M シヨ糖溶液、蒸留水、固形飼料を間歇呈示する訓練を毎日繰り返していくと、最初の1時間におけるシヨ糖摂取量が徐々に増大していき、10日目には約4倍量のシヨ糖溶液摂取量になることが分かった(図1)。一方で、固形飼料の摂取量には大きな変化は見られなかった。訓練5-6日目ごろになると、次の2時間目の摂取量も有意に増加し始めた。一方、他の対照群ではシヨ糖摂取量の顕著な増大はみられなかった。以上から、エネルギー不足の条件下で味覚報酬作用の高いシヨ糖を間歇的に摂取すると、シヨ糖摂取量のみが増大していくことが示唆された。

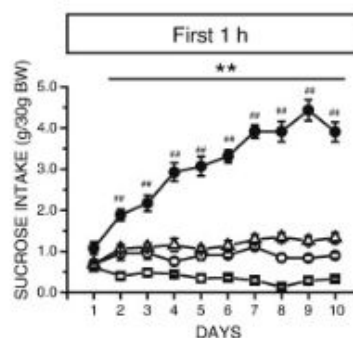


図1 呈示開始から1時間におけるシヨ糖摂取量の経日的変化。縦軸はシヨ糖の摂取量(g)を示す。文献より引用許可を取り掲載。

上記のシヨ糖摂取量の増大が、制限給餌によるエネルギー不足を解消するため(恒常性維持のため)の摂食への動機づけ(homeostatic motivation)によって生じるのか、それとも、シヨ糖の持つ味覚報酬(例、おいしさ)を得ようとする(嗜好性に基づく)摂食への動機づけ(non-homeostatic motivation, hedonic motivation)に基因するのかを確かめるために、訓練後夜間に十分量の固形飼料を摂餌させた。その直後に訓練と同様のスケジュールでシヨ糖と固形飼料を呈示してみたところ、シヨ糖摂取量は訓練前に比べて有意に多く、その増加は訓練後の3日間みられた(図2)。シヨ糖と同時に呈示された固形飼料の摂取量は極めて僅かであった。また、サッカリンを用いた訓練の場合でも、同様に夜間固形飼料給餌後でのサッカリン摂取量は訓練終了後の2日間増大していた。以上の結果は、訓練後には、エネルギー不足ではない状態にあっても、訓練効果が継続して高嗜好性シヨ糖への摂取動機づけが表出すること、そして、その動機づけの促進は数日間維持されることが示唆された。以上から、本モデルでは、嗜好性に基づく摂食への動機づけが訓練によって増大したことが示唆される。また、この行動変容には、カロリーは不要であるため味覚に基づく報酬効果が強化要因となってい

ることが示唆される。

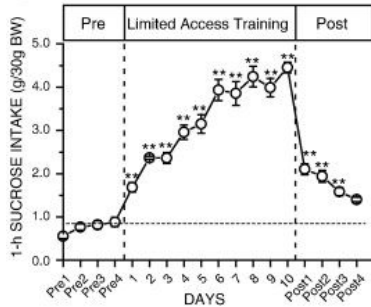


図 2 給餌再開後におけるシヨ糖摂取量増大の持続。Pre は訓練前、Post は訓練後の期間、そして、縦軸はシヨ糖摂取量 (g) を示す。文献 より引用許可を得て掲載。

10 日間の訓練後の 11 日目に同様のスケジュールでシヨ糖呈示を行う前に、グルコースを末梢投与して血糖値上昇させ、その後のシヨ糖溶液の摂取量を計測した (先行研究からグルコースの末梢投与には摂食抑制作用があることが示唆されている)。結果として、グルコースを事前に投与してもシヨ糖摂取量の増大には影響しなかった。また、シヨ糖呈示タイミングを 1 時間遅らせ、1 時間固形飼料を摂餌させた後にシヨ糖を呈示してもシヨ糖摂取量の増大には影響がなかった。以上から、本モデルでのシヨ糖過剰摂取は、エネルギー調節とは異なるメカニズムが関わっており、恒常性維持のための動機づけによってシヨ糖摂取が促進されているわけではないと考えられた。

間歇呈示訓練が終了した 5 日後のテストでも、シヨ糖溶液摂取量は訓練前の水準に比べて有意に多かった。また、30 日間訓練を受けたマウスでは、30 日間の休止期後の再訓練時における過剰摂取行動の再形成が促進された。つまり、長期間の訓練を経験すると、脳内に何らかの学習痕跡が形成され、それが保持されるために、長期間の休止期後でも再形成が促進され、過剰摂取が再発しやすくなると推察される。

## (2) 甘味嗜好を強化・シフトさせる嗜好学習メカニズム

### シヨ糖選択的嗜好の形成の動物モデル

制限給餌群マウスでは、訓練経過に従って、シヨ糖摂取量が増加し、訓練後には同時選択テストではシヨ糖の選択的摂取がみられた。自由給餌群マウスでは、シヨ糖摂取量の増大やシヨ糖選択的摂取はみられなかった。以上から、制限給餌下では、シヨ糖の摂取後効果による報酬作用がシヨ糖嗜好性シフトの強化子となっていると示唆された。そして、これらの行動変容は、摂取後効果に基づく内臓感覚と甘味の味覚情報の連合に基づく学習であることが示唆された。

学習性甘味嗜好シフトへの扁桃体の関与  
扁桃体基底外側核を選択的破壊されたマ

ウスでは、訓練時でのシヨ糖摂取量増大、および訓練後でのシヨ糖選択的嗜好はみられなかった。一方、中心核を破壊されたマウスでは、シヨ糖への嗜好性シフトが偽破壊対照群と同様にみられた。以上から、味覚と内臓感覚の連合に基づく甘味嗜好シフトは、カロリーが強化子となっている嗜好学習が関与し、その学習には扁桃体基底外側核が関与することが示唆された。

## (5) まとめ

野生型マウスにおいて、給餌条件や甘味溶液の呈示条件を操作することによって、甘味過剰摂取行動、および甘味嗜好シフトについての動物モデルを作出できた。それぞれのモデルにおける行動変容には、甘味呈味物の持つ報酬作用 (口腔感覚由来、内臓感覚由来) が強化子となっていることが示唆された。甘味嗜好シフトに関しては、味覚嗜好学習がその背景にあり、そして、扁桃体基底外側核がその嗜好学習に関与することが示唆された。

## 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 6 件)

Yasoshima, Y., Shimura, T. A mouse model for binge-like sucrose overconsumption: Contribution of enhanced motivation for sweetener consumption. *Physiology & Behavior* 138: 154-164, 2015 査読有

Yasoshima, Y., Yoshizawa, H., Shimura, T., Miyamoto, T. The basolateral nucleus of the amygdala mediates caloric sugar preference over a non-caloric sweetener in mice. *Neuroscience* 291: 203-215, 2015 査読有  
西岡春奈, 山口恵里奈, 八十島安伸, 志村 剛、日本味と匂学会誌 21: 315-318、2014 査読有

山口恵里奈, 八十島安伸, 志村 剛、摂食抑制作用のあるペプチド YY はマウスにおける味覚嫌悪学習を生じさせない、日本味と匂学会誌 21: 319-322、2014 査読有

八十島安伸, 向井所孝彰, 山口恵里菜, 西岡春奈, 志村剛、自由給餌下マウスにおける嗜好性飼料の間歇呈示による日内摂食パターン変化と視床下部機能、日本味と匂学会誌 20: 245-276、2013 査読有

朝比奈洋子, 西 栄美子, 藤原宏子, 佐藤亮平, 八十島安伸, 宮本武典、制限給餌下のマウスの体重によるシヨ糖嗜好性の制御メカニズムへの扁桃体の関与、日本味と匂学会誌 20: 263-264、2013 査読有

### [学会発表] (計 10 件)

Nishioka H, Yamaguchi E, Yasoshima Y., Shimura T. Effect of intermittent sucrose intake for several weeks on central

glucose-sensing system in mice. 第 120 回  
日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第 92  
回日本生理学会大会 合同大会 2015 年 3  
月 神戸国際会議場・国際展示場

Yamaguchi E, Yasoshima Y, Shimura T.  
Neuronal activation in midbrain regions after  
peripheral administration of peptide YY in  
mice: an effect of postingestive  
consequences. 第 120 回日本解剖学会総  
会・全国学術集会 / 第 92 回日本生理学  
会大会 合同大会 2015 年 3 月 神戸国際  
会議場・国際展示場

Asahina Y, Nishi E, Eda-Fujiwara H, Satoh  
R, Yasoshima Y, Tsuneoka Y, Miyamoto T.  
Neural circuit contributing to control  
mechanism of body weight-dependent  
sucrose preference. 第 120 回日本解剖学会  
総会・全国学術集会 / 第 92 回日本生理  
学会大会 合同大会 2015 年 3 月 神戸国  
際会議場・国際展示場

朝比奈洋子, 藤原宏子, 佐藤亮平, 八十  
島安伸, 宮本武典. 制限給餌下マウスの  
体重によるショ糖嗜好性制御メカニズム  
における扁桃体と体性感覚野(S1FL/HL)  
の関与 日本味と匂学会第 48 回大会  
2014 年 10 月 静岡市清水文化会館マリ  
ナート

Yamaguchi E, Yasoshima Y, Shimura T.  
Lowered plasma peptide YY levels in mice  
showing binge-like sugar overconsumption.  
第 37 回日本神経科学大会 2014 年 9 月  
パシフィコ横浜

Nishioka H, Yamaguchi E, Yasoshima Y,  
Shimura T. Altered glucostatic control of  
food intake in mice with daily intermittent  
access to sugar. 第 37 回日本神経科学大会  
2014 年 9 月 パシフィコ横浜

Yasoshima Y, Shimura T. The dorsomedial  
hypothalamic nucleus is involved in  
palatable food entrainment to diurnally  
scheduled delivery of high-sucrose diet in ad  
libitum-fed mice. 第 37 回日本神経科学大  
会 2014 年 9 月 パシフィコ横浜

八十島安伸, 山口恵里菜, 西岡春奈, 志村  
剛 おいしさの希求に関わる脳と体のメ  
カニズム 第 66 回日本生物工学会大会  
2014 年 9 月 札幌コンベンションセンタ  
ー

Yasoshima Y, Shimura T. Effects of  
lesions of the insular cortex and gustatory  
thalamus on binge-like sugar  
overconsumption in mice. 22nd Annual  
meeting of the Society for the Study of  
Ingestive Behavior (SSIB 2014) 2014 年 7  
月 Seattle, Washington, USA

Miyamoto T, Yoshizawa H, Ohkubo L,  
Shimura T, Yasoshima Y. Contribution of  
amygdala to selective learned preference for  
a nutritive sweetener in mice. 22nd Annual  
meeting of the Society for the Study of

Ingestive Behavior (SSIB 2014) 2014 年 7  
月 Seattle, Washington, USA

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

八十島 安伸 (YASOSHIMA YASUNOBU)  
大阪大学・大学院人間科学研究科・准教授  
研究者番号 : 00273566

### (4) 研究協力者

山口恵里菜 (Erina Yamaguchi)  
大阪大学・大学院人間科学研究科・博士後期  
課程 1 年次