

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25780450

研究課題名(和文)報酬獲得行動の駆動における中脳ドパミンニューロンの役割解明

研究課題名(英文)A study of the role of midbrain dopamine neurons in reward-seeking behavior

研究代表者

時田 賢一 (Tokita, Kenichi)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号：70384188

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：マカクにおける味覚刺激の報酬価を測定するため、味覚反応テストをもちいて味溶液摂取時のサルの表情を詳細に記録・分析した。実験は3頭のカニクイザルを被験体としておこなった。味刺激は甘味、塩味、酸味、苦味、うま味の5基本味をもちいた。その結果、甘味刺激は苦味刺激などの嫌悪性の味刺激よりも多くの表情変化を惹起する傾向はあったものの、統計的に有意なレベルには達しなかった。また、うま味刺激単独呈示(MSGとIMP)とうま味混合刺激呈示(MSGとIMP混合)による結果の比較も同様に、統計的に有意な差が検出されるほどの違いは認められなかった。より確かな結果と結論を得るには、実験条件の修正が必要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, taste reactivity test (Grill and Norgren, 1978) was applied to estimate the reward value of taste stimuli by measuring taste-induced changes in facial expression in the marmoset. Three cynomolgus monkeys were used as experimental subjects. Taste stimuli consisted of five basic tastes: sweet (sucrose), salty (sodium chloride), sour (hydrochloric acid), bitter (quinine dihydrochloride) and umami (monosodium glutamate, MSG and inositol monophosphate, IMP). Results show that sweet stimulus tended to elicit more changes in facial expressions than aversive sour and bitter stimuli, but they did not reach statistical significance. Mixture of umami stimuli MSG and IMP also failed to elicit significantly more facial expressions than its component (MSG or IMP alone) does. Modifications of experimental methods (concentration of stimulus, amount of solution applied to the mouth) are required to obtain more rigorous results.

研究分野：神経科学

キーワード：報酬 ドパミン 味覚

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む動物は、報酬 (Reward) に接近し、罰 (Punishment) を回避するという種を超えた普遍的な行動の機構を備えている。それは報酬獲得行動が、個体の生存において基本的かつ重要な役割を果たしている適応的なものであるからにほかならない。したがって、そのメカニズムの解明は、動物行動の一般原理に関する理解に大きく寄与するものと期待される。

サルを被験体とした報酬獲得行動の神経科学的研究において、報酬として最も広く一般的に使用されているのは、水や果物ジュースといった味覚刺激である。本研究では、サルの報酬獲得行動における味覚刺激の報酬価を測定するため、味覚反応テスト (Taste Reactivity Test) をもちいて、味溶液摂取時のサルの表情を詳細に記録・分析した。味覚反応テストは、味覚刺激を呈示された際に動物が示す表情や舌の動きを動画として記録したのちにカウントし定量化するものであり、げっ歯類における神経科学・行動科学領域で確立されている方法である。しかしながら、霊長類を被験体として用いた研究は数が少なく、極めて限られた知見しか得られていない (Berridge, 2000; Steiner et al., 2001)。そこで本研究では、霊長類の報酬獲得行動の神経メカニズムの解明に役立てることのできる行動パラダイムとしての味覚応答テストの確立を目的として、基礎データを得るために計画された。味覚応答テストの確立後に、このパラダイムを用いた神経生理学的実験への移行を計画した。

2. 研究の目的

霊長類を被験体とした報酬探索行動の神経生理学的研究において、報酬として最も広く使用されるのは水や果物ジュースといった味覚刺激である。ラットやマウスなどのげっ歯類を用いた行動科学・神経科学的研究においては、味覚刺激呈示時に動物が示す表情や舌の動きをカウントして定量化し、刺激の報酬価を測定するためのひとつの方法として、味覚反応テストがよく用いられる。味覚反応テストは、優れた方法であるにもかかわらず、報酬系のメカニズム解明を目指した霊長類の神経科学的研究では採用されることは希である。

嫌悪刺激・罰刺激としては顔面への加圧空気の吹きかけ (エアパフ) がよく採用されている (Matsumoto and Hikosaka, 2009; Monosov and Hikosaka, 2012)。霊長類を用いた研究でエアパフが嫌悪刺激としてしばしば用いられるのは、呈示方法が簡便、呈示時間が瞬間的、非侵襲的である、といったいくつかの優れた性質を有するからである。しかし、報酬の果物ジュースと嫌悪刺激のエアパフは、感覚モダリティが異なっており、必ずしも最適な報酬・罰の組み合わせとはいえない。また、適切な摂食行動 (効率的な栄

養源の摂取と有害な毒物等の回避) には味覚が主な役割を果たしており、動物にとって味覚は生命維持に直結していることを考慮すると、報酬だけでなく嫌悪刺激としても味覚刺激を用いたほうが、人工的なエアパフを用いるよりも生態学的妥当性を有すると考えられる。

また、サッケード (急速眼球運動) を利用した行動課題は、サルの報酬探索行動の研究において一般的に用いられる確立された優れた実験手法のひとつであるが、エアパフによって古典的に条件づけられた瞬目反応は、手掛かり刺激の価値評価に基づいた学習のサッケードによる遂行 (学習された道具的行動の遂行) に干渉する可能性もある。このような問題を克服するためにも、報酬としてジュースを用いるような実験では、嫌悪刺激も同様に味溶液を用いるのが本来望ましいといえる。しかし、報酬および嫌悪刺激としても味溶液を用いた一般的な実験系は、霊長類のシステム神経科学的研究においては未だに確立されていない。

したがって本研究では、まず、サルの学習行動を安定して成立させようような嗜好性および嫌悪性の味刺激を行動実験において味覚反応テストによって選定し、最適な刺激条件を設定することを目的とした。基礎データを得ることにより、神経科学的研究の土台となるような報酬、罰ともに味覚刺激を用いた接近・回避学習行動解析のための新しい霊長類実験系の確立を企図した。

3. 研究の方法

(1) 被験体

カニクイザル (*Macaca fascicularis*) 3 頭 (オス 1 頭、メス 2 頭) を被験体として用いた。これらのうち、オス 1 頭とメス 1 頭は、所属研究室の過去の神経生理学的実験に既に用いられている。

(2) 刺激

味覚刺激は以下の表にまとめた、甘味 (ショ糖)、塩味 (塩化ナトリウム)、酸味 (クエン酸)、苦味 (塩酸キニーネ)、うま味 (グルタミン酸ナトリウム、イノシン酸ナトリウム、およびそれらの混合溶液) の 5 基本味を含む 8 種類を用いた。それぞれの味刺激の溶媒には蒸留水を用いた。また、実験遂行時には、各味溶液は室温に保たれた。

表 1 味覚刺激

刺激	濃度 (M)
蒸留水	-
ショ糖	0.5
塩化ナトリウム	0.1
塩酸	0.01
塩酸キニーネ	0.01
グルタミン酸ナトリウム (MSG)	0.1
イノシン酸ナトリウム	0.01

Δ (IMP)	
MSG・IMP 混合	0.1 (MSG)
	0.01 (IMP)

(3) 刺激呈示および行動記録方法

被験体のカニクイザルを所属研究室で神経生理学的実験に用いられるモンキーチェアに座らせた状態で実験をおこなった。この際にサルは頭部を固定しなかった。カニクイザルの約1メートル前方に、表情記録用のビデオカメラを設置し、実験開始から終了まで動画を記録した。表1に示した各味覚刺激は室温に保ち、シリンジを用いて、ひとつの刺激につき0.5 mlを5秒かけて口腔内に注入した。各味刺激は、1回の実験につき少なくとも2回提示した。刺激はランダムな順に呈示した。各刺激間には1.0 mlの蒸留水を2回口腔内に注入した(味刺激としての蒸留水とは別に口腔内の洗浄のため)。各味刺激の間には、少なくとも1分間のインターバルを挿入した。

(4) ビデオ解析による表情反応のカウント

それぞれの味覚刺激について、刺激の呈示開始時から15秒間に惹起された様々な表情の出現頻度をビデオ解析によってカウントし、定量化した。本研究で採用したIngestive reactionとAversive reactionからなる味覚反応は以下の6種類である。

Ingestive reaction

Tongue protrusion

Aversive reaction

Gaping

Eye squinch

Nose wrinkle

Head shake

Passive drooping

4. 研究成果

味覚反応テストによって、うま味混合溶液を含む5基本味の味溶液に対するサルは表情反応が記録・分析された。

その結果、カニクイザルはGapingを始めたとするAversive reactionを塩酸や塩酸キニーネのような、一般的には動物に忌避されるような嫌悪性味刺激に対しても、ほとんどあるいはまったく示さないことが明らかになった。また、本研究でIngestive reactionとみなしたTongue protrusionもこれらの嫌悪性味刺激の呈示によって惹起された。これは、試験的に濃度の高い0.02 Mの塩酸キニーネを呈示した際も同様であった。

嗜好性味刺激のショ糖、食塩、うま味刺激に対しては、嫌悪性味刺激呈示時と同様に、Aversive reactionはほぼまったく観察されなかった。Ingestive reactionのTongue protrusionについては、嗜好性味刺激呈示時の出現頻度が嫌悪性味刺激呈示時のそれよ

りも高い傾向があったが、統計的に有意な差は検出されなかった。また、うま味刺激単独呈示時(MSGもしくはIMP)とそれらの混合溶液呈示時のTongue protrusionを比較すると、混合溶液呈示時のほうが多い傾向はあったものの、統計的に有意ではなかった。

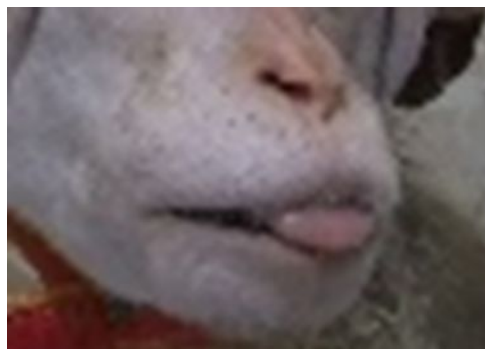


図1 Tongue protrusionの例

本研究においては、霊長類を用いた経科学的研究のための味覚反応テストの確立を目指したものであったが、異なる味質の刺激によって統計的に有意な表情出現頻度の差は検出できなかった。特にAversive reactionについては、出現頻度そのものが極めて低く、今後の検討課題である。

しかし、Tongue protrusionについては、刺激による効果の違いが弱いながらも傾向としては認められたため、刺激の量、濃度、呈示時間等のパラメータを適切に操作することで、この方法の神経生理学的研究への導入可能性が示された。また、Ingestive reactionもしくはAversive reactionとみなす表情反応をより仔細に観察し、現段階で解析したもの以外の表情や動作も含めることで、更に味質による効果の差異を検出しやすくなる可能性がある。

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)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

時田 賢一（TOKITA KENICHI）
独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研
究センター・研究員
研究者番号：70384188

(2) 研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3) 連携研究者

（ ）

研究者番号：