



Title	味覚嫌悪学習の想起に関与する中枢神経機序の解明 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	菊池, 媛美
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15486号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89681
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Emi_Kikuchi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 菊池 媛 美

学 位 論 文 題 名
味覚嫌悪学習の想起に關与する中枢神経機序の解明

キーワード（5つ）味覚嫌悪学習，分界条床核，想起，嫌悪，恐怖

味覚嫌悪学習 (conditioned taste aversion, CTA) は，味覚刺激を条件刺激 (conditioned stimulus, CS) とし，内臓不快感を無条件刺激 (unconditioned stimulus, US) とする連合学習である．条件づけされた動物は CTA の想起による CS 摂取量の減少を示す．分界条床核 (bed nucleus of the stria terminalis, BNST) は味覚情報と内臓感覚情報を受けており，CTA との関連を示唆する先行研究があるものの，CTA における BNST の機能的役割については未だ不明な点が多く残されている．そこで本研究では，CTA の想起過程における BNST の役割を明らかにすることを目的とし，BNST の神経活動制御が，CS に対する反応行動におよぼす影響を検証した．

実験 1 では雄性 C57/BL6 マウスの BNST にアデノ随伴ウイルスベクターを注入し，ヒト改変アセチルコリン受容体 M4 (hM4Di 受容体) を発現させた．hM4Di 受容体に人工リガンドである clozapine-N-oxide (CNO) が作用すると神経活動が抑制される．このマウスに対して 0.2% サッカリン溶液 (CS) を呈示し，直後に US として 0.3M 塩化リチウム (2% BW) の腹腔内投与を行い，条件づけを施した．テスト 2 において CNO (1 mg/kg) を投与した群では，溶媒である生理食塩水を投与した群に比べて CS 摂取の抑制が有意に増強した．さらに，naïve な (CTA を経験していない) マウスを用いて，BNST ニューロンの抑制が水および味溶液 (サッカリン，スクラロース，塩化ナトリウム，グ

ルタミン酸ナトリウム、塩酸キニーネ、クエン酸)の摂取に及ぼす影響を評価した。CNO 投与により、サッカリン溶液およびスクラロース溶液の摂取量が有意に減少した。これらの結果から、BNSTの神経活動抑制は甘味溶液の嗜好の高低に関わらず、その摂取を減少させることが分かった。

実験 1 では BNST の神経活動抑制により CS 摂取量が減少し、BNST が CTA に関与していることが示唆された。この摂取量減少の原因を明らかにするため、実験 2 では微細行動分析システムを使用し、BNST の神経活動抑制が CS に対する行動におよぼす影響を詳細に調べた。近年の研究において CNO は血液脳関門を通過しにくいことなどが指摘されているため、新規の人工リガンドであるデスクロクロザピン (DCZ) を用いた。CS を舐める行動 (Lick 行動) と CS への接近行動を分析した。実験群には DCZ (5 μ g /kg あるいは 50 μ g /kg)、対照群には DCZ 溶媒 (1% DMSO 含有生理食塩水) を投与し、30 分後にサッカリン溶液を呈示した。50 μ g/kg DCZ 投与により高頻度 Lick (burst) のサイズ (1burst あたりの Lick 数) が小さくなったことから、DCZ 投与による BNST の神経活動抑制は、CS に対する嫌悪を増大させることが分かった。また、DCZ 投与により有意に少ない総 Lick 数、すなわち有意に少ない CS 摂取量を示したが、CS に対する嫌悪の増大がこの摂取量減少の一因であった。接近行動を分析すると、DCZ 投与により CS への接近 (Entry) の頻度は変化しなかったことから、BNST の神経活動抑制は欲求行動に影響しないことが示唆された。一方で、Lick 行動をともなう Entry (Entry-Lick) の頻度と平均持続時間は DCZ 投与によって有意に減少した。これは DCZ によって CS に対する嫌悪が増大したために、CS 摂取量が減少し、Lick 行動も持続しなかったことを示す。一方、Lick 行動をともなわない Entry (Entry-Stop) の平均持続時間に群間差はみられなかったが、頻度は DCZ 投与により増加する傾向がみとめられ、発生確率が有意に上昇することが示された。Entry-Stop は躊躇の指標であることから、DCZ 投与による Entry-Stop の増加は、分界条床核の神経活動抑制により、マウスが CS の摂取をより強く躊躇するようになったことを示す。低用量 (5 μ g) の DCZ を投与した場合、Entry の平均持続時間が対照群よりも有意に短くなったが、その程度は高用量 (50 μ g) に比べると小さかった。その他のパラメーターに有意差はなかった。DCZ を行動実験に用いる場合にはある一定以上の用量が必要で

あるが, CNO よりも低い用量で有効であることが分かった.

実験 1, 2 では BNST の神経活動抑制による影響を調べた. そこで実験 3 では BNST の神経活動を促進した場合の影響について検討した. マウスの BNST に興奮性人工受容体であるヒト改変アセチルコリン受容体 M3 (hM3Dq) を発現させるためのアデノ随伴ウイルスベクターを注入した. その他の手続きは実験 2 と同様にした. 実験群のうち, 5 匹では BNST の尾側部にのみ hM3Dq 発現細胞が観察された. 残りの 4 匹については吻側部と尾側部の両方に発現細胞の分布がみられた. BNST の吻側部と尾側部では神経投射が異なることを考慮し, 尾側部に陽性細胞が分布していた個体(尾側群, $n = 5$)と吻側にも分布がみられた個体(吻側群, $n = 4$)の 2 群に分けて分析を行なった. 尾側群では DCZ 投与によって総 Lick 数と burst のサイズが減少する傾向がみられたものの有意な群間差はなかった. よって, BNST 尾側部の神経活動を促進しても, 摂取量や CS に対する嫌悪に有意な変化は生じないことが示唆された. 一方, DCZ 投与は尾側群において最初の Lick までの潜時を有意に増大させた. また, Entry の頻度について群間差は有意ではないものの減少する傾向にあったことから, DCZ 投与による BNST 尾側部の神経活動亢進は, 接近動機づけを弱め, 欲求行動を減少させることが示唆された. Entry-Lick の頻度と平均持続時間も DCZ 投与によって有意ではないものの減少する傾向にあったことから, CS 摂取量(総 Lick 数)の減少傾向へとつながったと考えられる. Entry-Stop の発生確率は低下したが, Entry の頻度そのものが減少したため, 尾側群のマウスでは CS に接近することへの恐怖が DCZ によって増大した可能性がある. すなわち, 接近行動自体が起こらないために, 摂取量は減少し, burst も減少した. 一方, 吻側群では, 最初の Lick までの潜時と Entry の頻度は DCZ 投与の影響を受けなかった. また, Entry-Stop の頻度や平均持続時間についても変化がなかった. これらのことから, 尾側部とは異なり, BNST 吻側部の神経活動を亢進しても接近動機づけが減弱することはなく, CS に対する恐怖は増強されない可能性がある.

以上の結果から, BNST の神経活動を抑制すると, CS の味に対する嫌悪が強まり, 摂取量が減少することが明らかとなった. 一方, BNST の神経活動を亢進すると, CS へ接近することへの恐怖

が増強され、摂取量が減少することが示された。したがって、BNSTにはCTAの想起における嫌悪と恐怖に関わる神経回路が存在することが示唆される。