

<平成 21 年度助成>

食行動を調節する嗜好性および嫌悪性情動発現の脳機構

志 村 剛

(大阪大学大学院人間科学研究科)

1. はじめに

食行動は、体内の栄養状態を一定に保つために、基本的には脳の視床下部を中心とした神経機構により代謝的に調節されている。一方、食物のもつ報酬性・嫌悪性の情動的情報は食物選択や摂取量決定といった面で食行動に重要な役割を果たす。とくに食物のおいしさは食行動の引き金として強力に作用するため、時には必要以上のエネルギー摂取をもたらし、それが肥満やメタボリック・シンドロームなどの健康問題の一因となっている。しかし、味の快・不快などの情動性味覚情報処理の神経機構に関しては未解明の点が多く、国際的にも関心が高まっている課題である¹⁾。本研究では、口腔内から脳に上行する味覚入力に、どのような過程を経て報酬性あるいは嫌悪性の情動的情報が付加され、それに基づいた摂取あるいは回避行動が選択されるのかという点を明らかにすることを目的とした。具体的には、我々のこれまでの

研究成果を踏まえて、扁桃体とその関連部位に着目し(図1)、代謝性および情動性の摂食調節に扁桃体内の異なる細胞集団(基底外側核と中心核)が別々に働いている可能性を検討するとともに、味の報酬性に基づく摂取行動、嫌悪性に基づく忌避行動を媒介する神経回路の検索を行った。

2. 実験1

自発的な高嗜好性食物摂取における扁桃体の役割

【目的】 扁桃体は古くから不安や恐怖などの負の情動の発現に重要な部位だと考えられてきたが²⁾、同部位の広範な破壊実験から、扁桃体は食物摂取行動にも関与することがわかってきた³⁾。扁桃体は形態・機能の面からいくつかの亜核に分類されるが、中でも中心核と基底外側核は、味覚情報処理や食物摂取に関わることが示唆されている⁴⁾。これらの亜核は、脳内報酬系の主要部位である側坐核と連携して高嗜好性の食物摂取に関与している可能性が高いが⁵⁾、その生理的機構を調

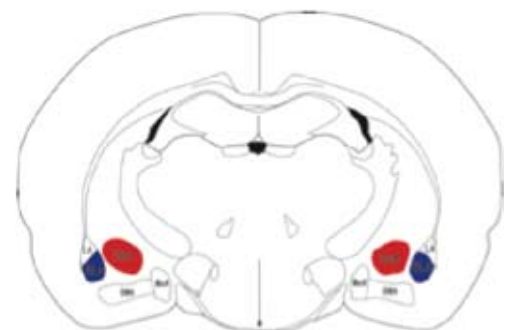
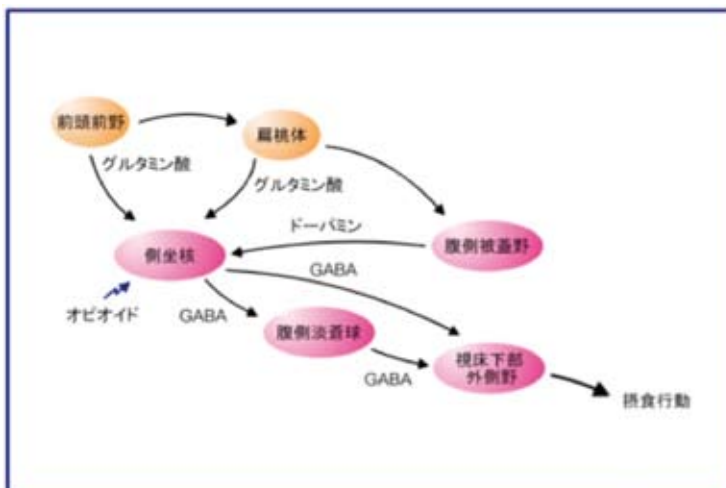


図1 摂食行動に関する脳内報酬系回路(左)とラット扁桃体の亜核(赤:中心核、青:基底外側核)(右)

べた研究は少ない。そこで本実験では、扁桃体中心核と基底外側核が嗜好性味刺激の自発的摂取行動にどのように関与しているかを検討するために、 γ -アミノ酪酸 (GABA) 受容体の作動薬を投与してこれらの部位を一時的に不活性化し、高嗜好性の流動食であるエンシュア・リキッドの摂取量ならびに摂取時の表出行動がどのように変化するかを調べた。

【方法】 ラットを対象とし、扁桃体基底外側核または中心核に薬物注入のためのガイドカニューレを植え込む手術を行った。これらのラットは、飼料・水とも自由摂取の条件下で飼育し、毎日定刻にエンシュア・リキッドを与えて、その摂取量を測定した。エンシュア・リキッドは、医療現場で患者に経口あるいは経胃で投与して栄養補給を行うために用いられる完全栄養の流動食である。動物を対象にしたいくつかの先行研究では、このエンシュア・リキッドがテスト刺激として用いられ、ラットはこの流動食に高い嗜好性を示すことが明らかにされている⁶⁾。薬物注入実験時には、GABA 作動薬のムシモール、バクロフェン、または溶媒のみを脳内に微量注入し、その直後から2時間にわたってエンシュア・リキッドの摂取量を測定するとともに、ラットが示すさまざまな情動関連行動の出現頻度を計数した。

また、このような扁桃体垂核の一時的な不活性化による行動の変化が、他のどの脳部位におけるニューロン活動変化と関連するものなのかを明らかにするため、ニューロン活性のマーカーである Fos タンパク質発現数を免疫組織化学的に検出して調べた。

【結果と考察】 連日の訓練で自発的にエンシュア・リキッドを安定して摂取するようになったラットの扁桃体中心核に GABA 作動薬のムシモールまたはバクロフェンを投与すると、**図 2** のように、用量依存的にエンシュア・リキッドの摂取量が減少した。一方、基底外側核に GABA 作動薬を微量

投与した場合には、摂取量の変化はなかった。

中心核への GABA 作動薬投与時には、捕食者と遭遇した時にラットが示す前肢を交互に繰り出す行動 (forepaw treading) の発現が用量依存的に増加した。また、排尿・脱糞の回数も用量依存的に増加した。

以上の行動変化が見られた扁桃体中心核へのムシモール注入により、側坐核殻部、外側中隔、中脳水道周囲灰白質、結合腕傍核、孤束核の各部位において、対照の溶媒のみ注入の場合と比べて、有意に多数の Fos 様免疫反応陽性細胞が観察された。

本実験の結果、自発的な嗜好性摂取行動には扁桃体基底外側核はほとんど関与せず、中心核が選択的に働くことが示唆された。中心核の不活性化は防御行動の一つと考えられる forepaw treading⁷⁾ を誘発するとともに、不安関連行動の排尿・脱糞⁸⁾ を頻発させたことから、通常の生理的状态では、扁桃体中心核は不安行動や防御反応が起こらないように持続的に抑制をかけており、摂取行動の発現を保障するような情動状態の維持に関与していると推察される。また、Fos タンパク質の発現を指標とした検索から、扁桃体中心核の不活性化による摂取行動の抑制には側坐核殻部が、防御反応の発現にはおもに中脳水道周囲灰白質や外側中隔が関与していることが示唆された。

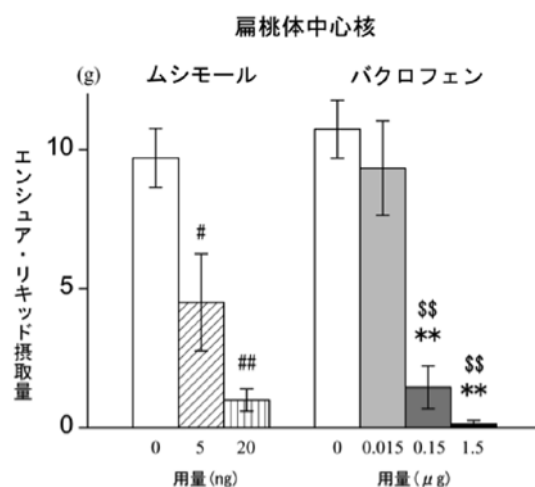


図 2 扁桃体中心核へのムシモールおよびバクロフェン投与がエンシュア・リキッド摂取量に及ぼす影響

3. 実験 2

味覚嫌悪学習の想起における扁桃体基底外側核の GABA 伝達の関与

【目的】 はじめて口にする飲食物を摂取した後に内臓不快感を経験すると、その味に対する嫌悪が記憶される。これは味覚嫌悪学習と呼ばれ、味覚刺激と内臓不快感の連合学習の一種である。味覚嫌悪学習は有害物を誤って摂取するのを未然に防ぐ役割を持ち、ヒトや動物にとって不可欠であり、この学習に関与する脳部位の検索が進められている。中でも扁桃体はこの学習に主要な役割を演じていることが示唆されているものの⁹⁾、その機能は十分に明らかにされていない。扁桃体基底外側核の GABA は恐怖学習に重要な役割を果たしていることが明らかにされているので¹⁰⁾、本実験では GABA_A 受容体作動薬のムシモールを基底外側核に局所投与して神経活動を一時的に不活性化し、味覚嫌悪学習の想起にどのような影響が生じるかを調べた。

【方法】 あらかじめ基底外側核にガイドカニューレを装着したラットにサッカリンを条件刺激として 20 分間与え、その直後に 0.15 M 塩化リチウムを腹腔内投与して内臓不快感を誘発した。この条件づけ処置の 2 日後にムシモールまたは溶媒を微量投与してから条件刺激のサッカリンを与え、その摂取量を測定した。

【結果と考察】 図 3 に示したように、溶媒投与の

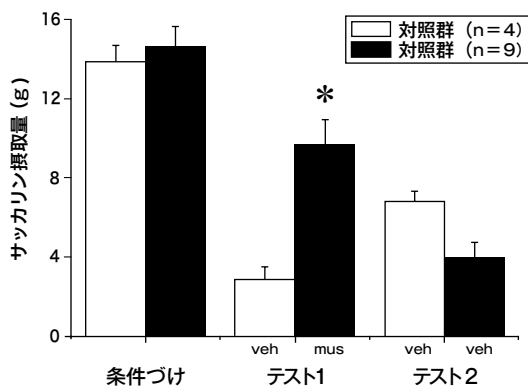


図 3 味覚嫌悪条件づけ時、ムシモール (mus) または溶媒 (veh) を投与したテスト 1、溶媒を投与したテスト 2 におけるサッカリン摂取量

対照群ではテスト 1 のサッカリン摂取量が著明に減少し、味覚嫌悪が獲得された。しかし、テスト 1 でムシモール投与を受けた実験群ではサッカリン摂取量が対照群より有意に多く、味覚嫌悪の想起が阻害された。翌日に行ったテスト 2 では、両群とも溶媒のみ投与条件でサッカリン摂取を調べたが、実験群ではテスト 1 よりも摂取量が少なく、条件づけの効果が維持されていると判断できる。

本実験の結果、扁桃体基底外側核は、実験 1 のような自発的な嗜好性味刺激摂取よりもむしろ、経験による学習性の味覚情報処理に深く関与することが示唆された。

4. 実験 3

味覚嫌悪学習の想起によって活性化する扁桃体基底外側核の遠心性投射路：マンガン造影 MRI 法による解析

【目的】 従来の諸家の研究や上述の実験 2 の結果から、扁桃体は味覚嫌悪学習の記憶想起に必須であると考えられる。扁桃体の垂核である基底外側核と中心核は味覚情報と内臓感覚情報の両方を、直接あるいは間接的に受ける¹¹⁾。味覚嫌悪学習におけるこれらの垂核の機能的役割の差異については不明な点が多く、特に垂核間の情報伝達に関してはほとんど明らかにされていない。そこで本実験では、味覚嫌悪学習の記憶想起時に基底外側核から中心核への投射経路が活性化するかどうかを、マンガン造影 MRI 法を用いて検討した。マンガン造影 MRI 法は、マンガンが活性化した細胞内に取り込まれた後、軸索内を神経終末に向かって順行性に移動する活動依存性神経トレーサーとしての性質を持つという特性を生かした新規な非侵襲的脳機能計測法の一つである¹²⁾。

【方法】 あらかじめ基底外側核にマンガン注入のためのガイドカニューレの留置、および味溶液呈示用の口腔内カニューレを留置する手術を行ったラットを用いた。手術後 6 日目に、サッカリン溶液 (条件刺激) を 10 分間呈示し、直後に 0.15 M

塩化リチウム (実験群) あるいは生理食塩水 (対照群) を腹腔内に注射した (無条件刺激)。2 日後のテストでは、塩化マンガンを基底外側核に注入し、30 分後にサッカリン溶液を 10 分間呈示した。マンガン注入終了から 60 分後に麻酔し、11.7 T 実験動物用 MR 装置を用いて冠状断画像を、マンガン投与 1 時間後および 2 時間後に撮像した。

【結果および考察】 実験群は条件づけを経験した結果、テスト時にはサッカリンに対して嫌悪性味覚反応を数多く示し、嫌悪学習を獲得したことが確認された。

図 4 に示すように、1 時間後の撮像では実験群も対照群も基底外側核の輝度が上昇しているが、実験群の輝度が若干高い傾向が見られた。一方、2 時間後の画像では、実験群においては基底外側核領域の輝度が著明に上昇し、中心核を含む領域にまで達していることが判別できる。対照群でも高輝度領域は拡大しているが、実験群ほど明確ではない。

マンガン注入 1 時間後時点で見られた基底外側核輝度の群間のわずかな差が、2 時間後の時点で拡大したことから、実験群では味覚嫌悪学習の記憶想起によって、基底外側核の尾側から吻側方向へマンガン移動が促進されたと考えられる。また、

中心核領域への輝度上昇の拡大は実験群のみで見られたため、味覚嫌悪学習の記憶想起によって基底外側核から中心核への神経投射が活性化し、それによって忌避行動が生じることが示唆された。

5. おわりに

本研究では、恒常性維持のための視床下部以下の摂食実行系の神経回路に対して、前脳の情動性味覚情報機構がいかなる調節機能を果たすかを、扁桃体の働きに焦点を当てて検討した。扁桃体のなかのおもな亜核の一つである中心核は、通常の生理的状态において摂食行動が円滑に生じるように、負の情動を抑制する作用を持つことが明らかになった。一方、基底外側核は味覚刺激とそれを摂取したあとの身体への影響とを連合し記憶する過程に深く関与すること、さらに嫌悪記憶の想起は基底外側核から中心核への神経投射の活性化によって媒介されることが新規な脳機能計測法から示唆された。このように、本研究によって食行動調節に関わる情動性味覚情報の神経機構の理解を一層深めることができたが、食の問題が山積している現在、今後もさらに研究を発展させる必要がある。

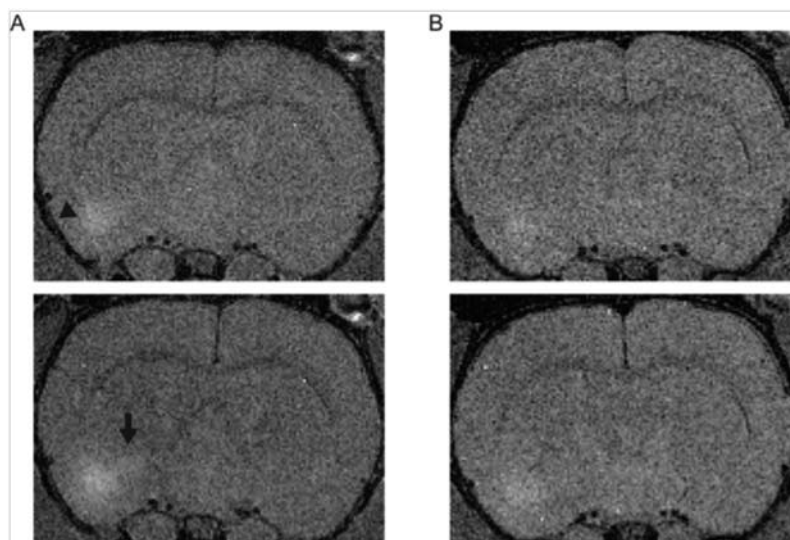


図 4 扁桃体吻側部における輝度の経時的変化。塩化マンガン注入から 1 時間後 (上) と 2 時間後 (下) の画像。実験群 (A) と対照群 (B)。三角が基底外側核、矢印が中心核に相当する領域を示す

文献

- 1) Saper CB, Chou TC and Elmquist JK: The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron* **36**, 199-211 (2002)
- 2) Klüver H and Bucy PC: Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. *Arch Neurol Psychiatr* **42**, 979-1000 (1939)
- 3) Grossman SP and Grossman L: Food and water intake following lesions or electrical stimulation of the amygdala. *Am J Physiol* **205**, 761-765 (1963)
- 4) Box BM and Mogenson GJ: Alterations in ingestive behaviors after bilateral lesions of the amygdala in the rat. *Physiol Behav* **15**, 679-688 (1975)
- 5) Kelley AE and Berridge KC: The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci* **22**, 3306-3311 (2002)
- 6) Levin BE and Keesey RE: Defense of differing body weight set points in diet-induced obese and resistant rats. *Am J Physiol* **274**, R412-R419 (1998)
- 7) Reynolds SM and Berridge KC: Glutamate motivational ensembles in nucleus accumbens: rostrocaudal shell gradients of fear and feeding. *Eur J Neurosci* **17**, 2187-2200 (2003)
- 8) Archer J: Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anim Behav* **21**, 205-235 (1973)
- 9) Yamamoto T, Shimura T, Sako N, Yasoshima Y and Sakai N: Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behav Brain Res* **65**, 123-137 (1994)
- 10) Helmstetter FJ and Bellgowan PS: Effects of muscimol applied to the basolateral amygdala on acquisition and expression of contextual fear conditioning in rats. *Behav Neurosci* **108**, 1005-1009 (1994)
- 11) Norgren R: Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *J Comp Neurol* **166**, 17-30 (1976)
- 12) Inui-Yamamoto C, Yoshioka Y, Inui T, Sasaki K, Ooi Y, Ueda K, Seiyama A and Ohzawa I: The brain mapping of the retrieval of conditioned taste aversion memory using manganese-enhanced magnetic resonance imaging in rats. *Neuroscience* **167**, 199-204 (2010)

Brain mechanisms for hedonic and aversive emotions that regulate feeding behavior

Tsuyoshi Shimura

*Division of Behavioral Physiology, Graduate School of Human Sciences
Osaka University*

The brain mechanisms for regulating the homeostatic drive to eat have been documented for many years. However, the central mechanisms for the hedonic control of feeding, another important modulation of feeding, remain unclear. In the present study, we examined the neural, especially amygdalar, mechanisms responsible for both hedonic and aversive emotions that regulate feeding behavior.

While taste palatability is one of the most important positive emotions that facilitate food intake, negative emotions such as fear and anxiety are also implicated in the regulation of feeding. Recent evidence suggests that the amygdala is involved in the emotional modulation of feeding behavior. We have shown that the transient inactivation of the central nucleus of the amygdala (CeA) by microinjecting the GABA (gamma-aminobutyric acid) receptor agonist clearly suppressed the intake of palatable food. In addition, inactivation of the CeA frequently elicited fearful forepaw treadings and anxiety-related behaviors (urination and defecation). Thus, the CeA may normally suppress negative emotions to sustain feeding behavior.

Moreover, the amygdala is involved not only in inherent negative emotions but also in acquired fear. Conditioned taste aversion (CTA) is a robust associative learning that is acquired by only one paired presentation of a conditioned taste stimulus with visceral malaise. The basolateral amygdala (BLA) is known to be one of the key regions for fear learning and memory. To elucidate the role of BLA on the retrieval of CTA, we investigated the effect of microinjections of muscimol, a GABA_A receptor agonist, on the intake of conditioned stimulus (CS) on the retrieval test. The muscimol-injected group showed significantly higher consumption of CS than the vehicle-injected group. These results suggest that the facilitation of GABA_A receptors in the BLA disrupts the retrieval of CTA.

Furthermore, using a manganese-enhanced magnetic resonance imaging technique, we have shown that significantly more manganese moved from the BLA to CeA in the CTA-acquired group than in the other groups in response to the conditioned taste stimulus. It is suggested that a specific BLA–CeA pathway is involved in the retrieval of CTA memory.

Together, these results indicate that the amygdala is a pivotal region for emotional influences on the regulation of feeding behavior.