

<平成 27 年度助成>

だしの嗜好と快に関する研究

松田 (小泉) 美和子・Youcef Bouchekioua・利川 珠美・田中 謙二
(慶應義塾大学 医学部精神・神経科学教室)

1. はじめに

和風天然だしには独特な香りと奥深い味わいがある。和風だしを好むか否かは経験に影響される¹⁾。慣れていない人は和風だし特有の生臭い風味を好まないが、繰り返し慣れ親しんだ人には“美味しさ”すなわち“心地よさ”としてすりこまれると考えられる。砂糖や油脂は、脳内報酬機構(中脳辺縁系ドーパミン神経)を介して、快感、食べ過ぎ、そして執着を引き起こすと言われている²⁾。しかし、和風だしがもたらす嗜好性(好き嫌い)、快情動、および脳内応答ならびに活性部位を検討した研究例は少ない。本研究では、嗜好性の発現に関わる行動と脳の働きを検討することで、私たちの食文化および食生活に浸透している和風だしを味わった時の心地よさに迫ることにした。

2. Ingestive preference (2 瓶選択テスト)

だしを初めて飲んだ時、さらに、毎日繰り返し飲んだ時の嗜好性の発現と変化を観察するため、2 瓶選択テストを行った。2 瓶選択テストでは、2 種類の液体を同時にマウスに提示し、自由にそれらを選択させた後、飲用量の比から相対的な嗜好性を判定する。C57BL6J 雄性マウスに、和風天然だし(茅乃舎だしを煮出した液)と水を同時に与え、10 日間自由に選択摂取させた。初め 48 時間(2 日間)における観察結果を、新しい味のインパクトから生じる嗜好性として判定した。最後 72 時間(3 日間)における結果を、慣れ親しんだ後の嗜好性として判定した。その結果、初め 48 時間におけるだしの選択率

は 93.7% と高い嗜好性を示したが、最後 72 時間には 76.9% に低下した (Fig1)。だしを初めて味わったインパクトは、強い快感をもたらすが、だしの味に日々慣れると、快感が弱まること became 明らかになった。全 6 匹を詳しくみると、4 匹のだし選択率は約 90% であり高い嗜好性 (high-preference) を維持したが、残る 2 匹は 68% (マイルドな嗜好性) および 21% (嫌悪性) であり、低い嗜好性 (low-preference) に変化していた。C57BL6J マウスは生得的に旨味成分に対して高い嗜好性を示すと報告されている³⁾。しかし、本研究において、複合的風味の集合体である天然だしを繰り返し摂取した場合、高い嗜好性は持続しないことが明らかになった。毎日だしを飲むことで、マイルドな心地よさをもたらす個体と飽きる個体が出現したことは、興味深い結果である。

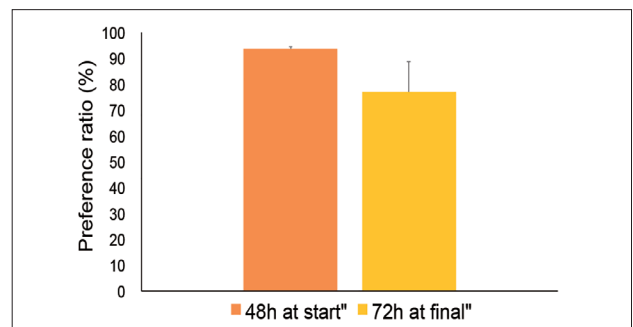


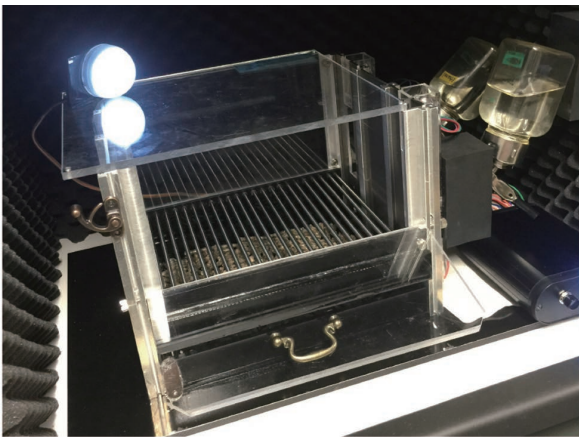
Fig 1. Ingestive preference for dashi

3. Taste preference (リッキングテスト)

溶液または食物の摂取時間が長くなると、消化管での吸収、ホルモンシグナルおよび内臓感覚による摂食後効果“post-ingestive effect”が生じる^{4,5)}。味わった時に感じる本来の美味しさを検証するためには“post-ingestive effect”をできるだけ小さくする必

要がある。そこで、味覚嗜好性をより詳しく解析するため、秒単位または分単位におけるリッキング行動（舐める行動）の観察を行った。リッキング行動観察装置は当研究室により独自に設計および製作した（写真）。

2瓶選択テストに使ったマウスを継続してリッキングテストに用い、給水時間を制限した条件下において、和風天然だし、次いで4%砂糖水を舐める試験スケジュールを実施した。訓練手続きは先行研究を参考にした⁶⁻⁸⁾。



最初にだしを舐め始めた瞬間から、そのリッキング行動が停止するまで、初期リッキング（initial licking）として行動解析を行った。味わい始めた瞬間のリッキング行動（回数・持続時間・速度など）は、より正確な味覚嗜好性を反映していると考えられる。本研究で観察された和風だしの初期リッキング回数は平均342.0回（SE 84.5）であり、4%砂糖水に比べて有意に多かった（Fig2-A）。だしを舐めるスピードは砂糖水と同じだった（Fig2-B）。一方、比較対照としてエタノールを用いた。12%エタノールを常習的に飲ませた別コホートをを用いて、エタノールの初期リッキング回数を観察したところ、平均118.0回（SE 24.1）だった。だしはエタノールに比べて初期味覚嗜好性が約3倍高い結果であった。従って、だしは、口腔内に入ってすぐに心地よい味として積極的に受け入れられることが明らかになった。

さらに、だしまたは4%砂糖水を5分間提示した時のリッキング回数を観察した。だしのリッキング

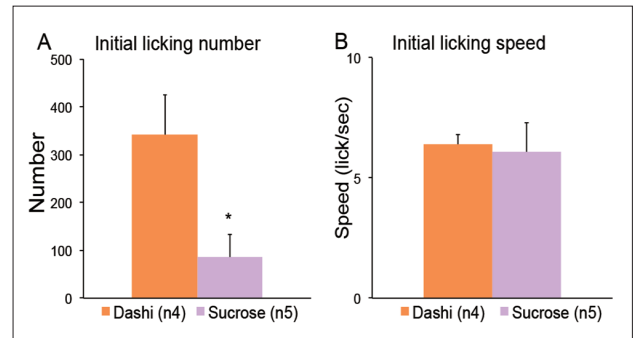


Fig 2. Initial licking for dashi or sucrose

回数は平均680回、砂糖水は平均374回であった（Fig3-A）。だしのリッキング回数は砂糖水に比べて有意に多かったが、飲んだ順番の影響が含まれていると考えられる（だしの提示を終えた25分後に砂糖水は提示された）。さらに、飲み口に接近するために頭を入れる空間（マガジン）における滞在時間を検討した。このマガジン滞在時間は、舐める行動に至らなくとも飲み口に接近した行動“アプローチ行動”を計測することができる。だしまたは砂糖水を提示した時のマガジン滞在時間に有意な差はみられなかった（Fig3-B）。だしと砂糖水に示したアプローチ行動（興味）は同等であったことから、リッキング行動とアプローチ行動は独立したメカニズムによる支配を受ける行動であることが推察できる。全6匹を詳しくみると、次のリッキングパターンに分かれた。(1) だしのリッキング回数が砂糖水の2倍だった4匹、(2) だしと砂糖水のリッキング回数が同じだった2匹。この個体差は、2瓶選択テストにおける個体差“high-preference vs. low-preference”に一致した。従って、だしを繰り返し飲んだ後の嗜好性の変化には、だしと砂糖水に対する味覚嗜好性の個体差が関与する可能性が考えられる。

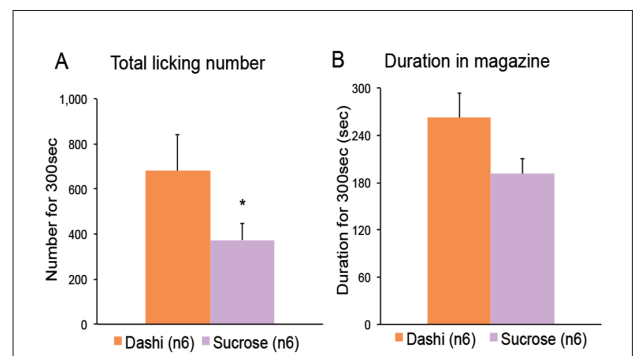


Fig 3. Total licking number and duration in magazine

4. 脳内報酬系ドーパミン応答 (in vivo マイクロダイアリシス)

食物報酬刺激は脳内の側坐核 core 領域においてドーパミン放出を誘発すると報告されている⁹⁾。だしまたは砂糖水を5分間提示した時のリッキング行動を計測しながら、側坐核 core から細胞外液をマイクロダイアリシス法により回収した。電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィーおよび高感度分析カラム (エイコム製) によりドーパミン濃度を定量した。リッキング行動開始より30分前に回収された3試料におけるドーパミン濃度の平均値をベースライン100%とした。だしを舐めた時、ドーパミン放出量の変化は約110%だった。しかし、個体間のばらつき (標準誤差) が大きいため、ベースラインに比べて有意な増加は認められなかった。一方、砂糖水を舐めた時、ドーパミン変動には個体差がほとんどみられず、ベースラインに比べて統計的に有意な増加が観察された (Fig 4)。だしにみられたドーパミン放出量の個体差は、先述した “high preference vs. low-preference” の個体差を反映していた。従って、砂糖とは異なるメカニズムにより、だしに対する好き嫌いの発現に対してドーパミン神経が機能しているものと考えられる。

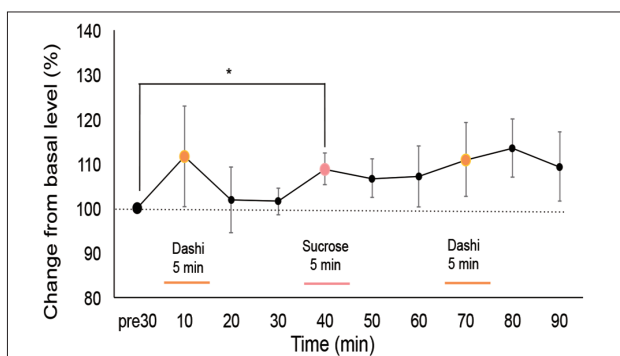


Fig 4. Dopamine release with licking of dashi or sucrose

5. 脳内最初期遺伝子 *c-fos* mRNA 発現 (in situ hybridization)

旨味成分であるグルタミン酸をラットに胃内投与した脳機能画像研究によると、前脳における幾つか

の部位が活性化されることが報告されている¹⁰⁾。本研究では、複雑な風味を併せ持つ和風だしをマウスに自発的に摂取させた時の脳内神経応答をみることを目的とし、和風だしを初めて経験した時の脳内最初期遺伝子 (*c-fos*) mRNA 発現を検討した。C57BL6J 雄性マウスを用いて、ドリンコメジャー (小原医科産業製) から水を飲む訓練を行い、給水時間を経日的に短くした後、水または和風だしを5分間摂取させた。摂取開始から5分後、すなわち摂取終了後直ちに、麻酔下 PFA かん流によって脳を固定した。脳組織切片を作成し、*in situ* hybridization 法により *c-fos* mRNA 発現を観察した。だしを初めて飲んだグループにおける *c-fos* mRNA 発現は、水を飲んだグループに比べて、脳全体において亢進された。とりわけ *c-fos* 発現が著しかった部位は、味覚シグナル伝達に関与する島皮質、食欲・摂取行動を調節する視床下部神経垂核である室傍核、前視床下部核、視交叉上核および背内側核、報酬獲得および動機づけに関わる中脳辺縁ドーパミン神経回路の出力核である黒質網様体、および投射中継点である尾側線条体、飲水行動に関係する橋、および視覚野であった (Fig5)。だしを摂取して5分という早いタイミングにおいて、味覚、摂取行動および飲水行動に関連する脳部位の神経活動が亢進され、中脳辺縁ドーパミン神経回路が刺激されたことから、だしを受容し摂取行動が促進される過程において脳が美味しさとして感知しているものと考えられる。さらに、視覚野において *c-fos* mRNA 発現がだし摂取により誘導されることが初めて明らかとなった。視覚刺激が食行動および味覚を修飾することは知られているが、だしの味刺激が視覚野の神経活動を誘導した本現象は興味深い結果である。視覚野が刺激された背景として、だしを飲む時には、味や香りだけでなく視覚の刺激からも快感が誘起される可能性が考えられる。

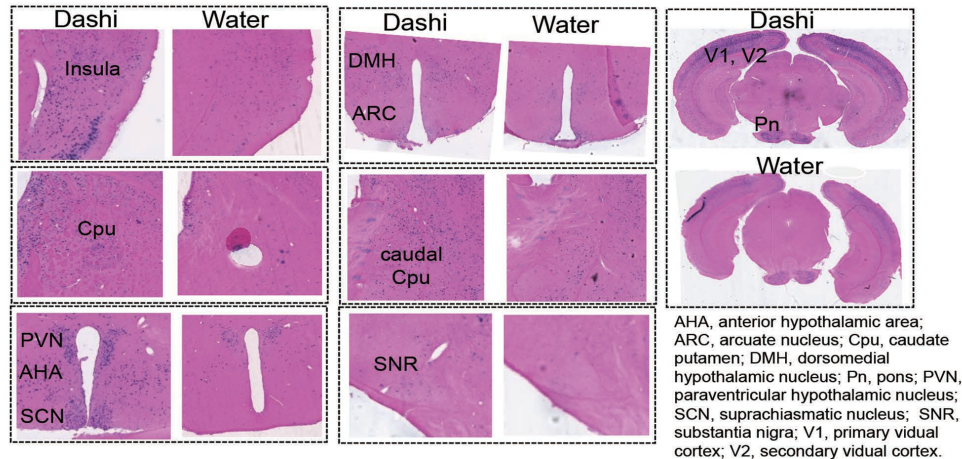


Fig 5. *c-fos* mRNA expression by dashi or water consumption

6. まとめ

日常的に和風だしを摂取している私たちの食生活において、和風だしは、強いインパクト、マイルドな心地よさ、さらに飽きの性質を併せ持つユニークな嗜好性を発揮することが分かった。繰り返しだしを摂取した時に生じる好き嫌いの個体差は、不変的な強い快刺激をもたらす砂糖とは異なるメカニズムで、脳内報酬系ドーパミン神経の影響を受けている可能性が示唆された。だしを飲むことで、速やかに脳内神経細胞が応答し、摂取行動および食欲が亢進され、美味しさが感知されるほか、視覚刺激が惹起されることが分かった。和風だしから得る栄養的価値、安全性、そして美味しさに脳神経細胞が応答し、私たちに嗜好性と快情動をもたらしているものと考えられる。和風だしの魅力を科学的に解明することにより、日本に息づく食文化および食経験をいかした健全で豊かな食生活の実現に役立つことを期待する。

謝辞

本研究を遂行する上で、研究助成を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団に心より感謝申し上げます。有意義な議論を賜りました龍谷大学農学部の伏木亨先生に深謝致します。また、研究に御協力頂きました慶應義塾大学医学部の高田則雄先生および吉田慶多朗さんに厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 伏木亨、味覚と嗜好のサイエンス、2008年、丸善
- 2) Gosnell BA, Levine AS. Reward systems and food intake: role of opioids. *International Journal of Obesity* 2009; 33: S54-S58.
- 3) Bachmanov AA, Tordoff MG, Beauchamp GK. Intake of Umami-Tasting Solutions by Mice: A Genetic Analysis. *The Journal of Nutrition* 2000; 130(4): 9355-9415.
- 4) Yamamoto T, Ueji K. Brain Mechanisms of Flavor Learning. *Frontiers in Systems Neuroscience* 2011; 5: 76.
- 5) Sclafani A. Post-ingestive positive controls of ingestive behavior. *Appetite* 2001; 36(1): 79-83
- 6) Yoneda T, Saitou K, Mizushige T, Mitsumura S, Manabe Y, Tsuzuki S, Inoue K, Fushiki T. The palatability of corn oil and linoleic acid to mice as measured by short-term two-bottle choice and licking tests. *Physiology & Behavior* 2007; 91 (2-3): 304-309.
- 7) Glendinning JI, Chyou S, Lin I, Onishi M, Patel P, Zheng KH. Initial licking responses of mice to sweeteners: effects of *tas1r3* polymorphisms. *Chemical Senses* 2005; 30(7): 601-614.
- 8) Damak S, Rong M, Yasumatsu K, Kokrashvili Z, Pérez CA, Shigemura N, Yoshida R, Mosinger B Jr, Glendinning JI, Ninomiya Y, Margolske RF. *Trpm5* null mice respond to bitter, sweet, and umami compounds. *Chemical Senses* 2006; 31(3): 253-264.
- 9) Bassareo V, Di Chiara G. Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. *Neuroscience* 1999; 89(3): 637-641.
- 10) Tsurugizawa T, Kondoh T, Torii K. Forebrain activation induced by postoral nutritive substances in rats. *Neuroreport* 2008; 19(11): 1111-1115.

The neurobiology of preference and palatability of Japanese dashi

**Miwako Koizumi-Matsuda, Youcef Bouchekioua,
Tamami Toshikawa , Kenji F. Tanaka**

Department of Neuropsychiatry, Keio University School of Medicine

We Japanese intuitively accept that the acquisition of ‘savoriness,’ or a feeling of comfort regarding Japanese dashi, an umami-rich broth typically made from dried fish and kelp, is dependent on our experiences. However, the neural signature of umami consumption remains unknown.

To investigate both the ingestive and taste preference for dashi in mice, we designed a two-bottle drinking test and a brief-access licking behavior paradigm. All mice showed a robust preference for the newly-experienced dashi over water in the two-bottle drinking test. However, after a daily consumption of dashi, inter-individual differences regarding the preference for dashi emerged. Mice were divided into two groups: those having a (1) ‘high-preference’ and (2) ‘low-preference’ for dashi. We observed a similar pattern in the licking paradigm: the ‘high-preference’ group exhibited a higher licking rate of dashi than a sucrose solution, whereas the ‘low-preference’ group licked dashi at the same rate as the sucrose solution. We also measured the approach behavior to dashi by recording the time spent inside the magazine, where the bottle nozzle was accessible. No difference in approach behavior was observed for dashi and sucrose solution, suggesting a dissociation between taste-mediated licking responses and approach behavior.

To determine how the brain reward system and neural activity in general are impacted by dashi consumption, we measured the extracellular dopamine release via *in vivo* microdialysis, and mapped the general brain activity by *in situ* hybridization analysis of *c-fos* mRNA expression. Dashi licking did not produce a statistically significant change in extracellular dopamine release. This result was characterized by a great variability among individuals, while sucrose solution consumption significantly stimulated dopamine release, with little individual difference. Dashi drinking activated *c-fos* mRNA expression in the visual cortex, in addition to food consumption related regions, such as the insula and several hypothalamic nuclei.

We conclude that the preference and palatability of Japanese dashi may have a unique neural signature involving a different reward system than that of sucrose intake. Inter-individual differences had a strong impact on the development of dashi preference, and might reflect a differential neural response ‘activation or adaptation’ to daily dashi intake.