



Title	味覚の行動科学的・認知神経科学的実験法について
Author(s)	山本, 隆; 志村, 剛; 磨, 哲崇 他
Citation	大阪大学人間科学部紀要. 1996, 22, p. 177-203
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/11579">https://doi.org/10.18910/11579</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 味覚の行動科学的・認知神経科学的実験法について

山本 隆・志村 剛・畠 哲崇・八十島 安伸・坂井信之

### 目 次

1. はじめに
2. 行動学的実験
3. 神経解剖学的実験
4. 電気生理学的実験
5. 神経化学的実験
6. おわりに

# 味覚の行動科学的・認知神経科学的実験法について

山本 隆・志村 剛・畠 哲崇・八十島 安伸・坂井信之

## 1. はじめに

行動は観点の違いから多様に分類可能である。本文では、感覚刺激にもとづく行動として味覚行動を考えてみたい。味覚は嗅覚とともに外界の化学刺激を受容したときに生じる感覚であるから、化学感覚ともいわれる。化学受容はアメーバのような単細胞から豊長類までのすべての生き物が持つ機能であることを考えると、生命維持のために本質的に重要な感覚要素とみなされる。生き物は、生命維持のため必ず外界から必要な化学物質を取り込まなければならないが、毒物の摂取を避けることも必要である。このような体に必要なものを取り込み、有害物質を忌避する行動に化学感覚は本質的な役割を持つと考えられる。

本文でいう味覚行動とは、化学感覚の中でも味覚にもとづく前述のような基本的な行動、および、それに関連する行動の総称である。味覚行動の本態を明らかにするには、単なる行動観察のレベルに留まっていてはならない。化学刺激を受け取る味蕾の中の味細胞からの情報は、脳に送られ、脳細胞の働きの結果として味覚行動が生じることを考えれば、脳の働きを明らかにしなければ事の本質にせることはできないといえよう。脳をブラックボックスとする限り、いかに行動を分析しようがその解釈は説明のための理論構築、不毛の議論に終始することになりかねない。

近年急速に発達している神経科学的技術をいかに味覚行動研究に応用すれば実りある結果が得られるかを考えてみたい。

## 2. 行動学的実験

### A 味覚機能の測定

味覚には、2つの機能的側面がある。一つは、快か不快か、すなわち摂取すべきかすべきで

ないかといった生命維持に密接した情動的な面、他の一つは味物質の物理化学的構造の差から生じる味質の違いを識別する分析的な面である。行動学的実験法のうち、前者を調べる方法は嗜好テストと呼ばれており、後者を調べる方法は味質弁別テストと呼ばれている。嗜好テストは、飲食物の摂取に際して、動物がその味を好むか嫌うかを判定しようとするもので、味質弁別テストは、動物がある味と別の味とをその味質の違いにより区別しているかどうかを調べようとするものである（山本, 1994）。

#### a)味覚嗜好テスト

嗜好テストの測定には、1) 単一味溶液を動物に呈示してその摂取量を測定する1ビン法、2) 味溶液と蒸留水とをそれぞれ別の容器に入れ対呈示し、いずれの液を好むかを調べる2ビン法、3) さらに多くの味溶液を同時に呈示する多ビン法（カフェテリア法）などがある。いずれの場合も、各溶液の摂取量の違いによって嗜好の傾向を探ることができる。摂取量を実測する代わりにリッコメーターを用いて、リック（ペロペロなめ）の数をカウントする方法もある。これらのテストの他に、動物の口腔内にあらかじめ導いておいたカニューレを通じて味溶液を与える、このときに生じる動物の口、頸、舌あるいは体全体の動きを指標とすることによって動物の味の嗜好性を調べようとする味覚反応テスト（taste reactivity test）がある（Grill and Norgren, 1978）。与えられた味溶液の快一不快によって、動物の反応は異なる。この様子をビデオに収録しておき、典型的な摂取パターンと嫌悪パターンの発現頻度をカウントすれば、その味溶液に対する嗜好の程度がわかる。典型的な摂取パターンとしては舌の前方・側方への突出し、頸運動、手のひらをなめるなどの行動があり（図1のAからD）、嫌悪パターンとしては口を大きく開ける、頸を床にこする、頭や手を振るといった行動がある（図1のEからH）。ラットがいろいろな味つけをされた飼料を摂取する際にも同じような味覚誘発性の反応が現れる（十河ら, 1995）。

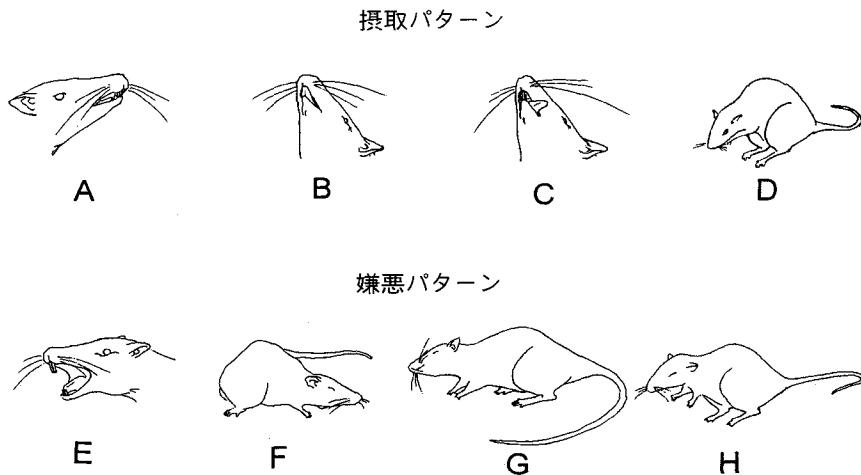


図1 ラットの味覚反応。

- |                                      |                                |
|--------------------------------------|--------------------------------|
| A頸運動(mouth movement)                 | B舌の前方への突き出し(tongue protrusion) |
| C舌の側方への突き出し(lateral tongue movement) | D手のひらなめ(paw licking)           |
| E口を大きく開ける(gaping)                    | F頸こすり(chin rubbing)            |
| G頭を振る(head shaking)                  | H手を振る( forelimb flailing)      |

Steiner (1974) は、ヒトで正常な新生児、水頭症や無脳症の新生児の口腔内に甘味、酸味、苦味の各溶液を注入し、顔面表情を調べた結果、いずれの新生児でも快・不快の規準で顔面表情が変化することから、この味覚誘発性の顔面表情は脳幹部の反射によるものと推察している。

### b)味覚弁別テスト

ヒトは、蔗糖やサッカリンなどを甘い、酢酸や塩酸は酸っぱいといったように味刺激を質的に区分できるが、動物はどうだろうか。これを調べるのが、味覚弁別テストである。このテストは、味覚嫌悪学習などの条件づけ手法（後述）を用いて、動物にある味を記憶させることが基本となる。つまり、ある溶液に対して、嫌悪を獲得させ、ヒトで5基本味とされる甘味、塩味、酸味、苦味、うま味を含む各種テスト溶液を与えたとき、どの溶液の摂取量が少なくなるか（どの溶液に対して汎化がみられるか）を調べることによって、味の類似度を判定しようとするのである。

## B 味覚に関する学習

### a)味覚嫌悪学習

味の嗜好性は、生まれてから死ぬまで一貫しているわけではない。例えば、ラットにサッカリンという人工甘味料の水溶液を与えると、初めて与えられた日の摂取量は少ない（これを新奇性恐怖という）が、次の日から摂取量は増加し、最終的には蒸留水の摂取量をうわまわるよ

うになる。つまり、ラットはサッカリンに対する嗜好性を生来的に持っているのである。しかし、初日の呈示後に内臓不快感（下痢など）を起こさせると、ラットは、以後サッカリンを呈示されても、それを摂取しなくなる（Garcia et al., 1974）。このような現象はニホンザルやヒトでも認められており、味覚嫌悪学習と呼ばれている（この学習の最近の総説は志村ら, 1994を参照）。

なお、我々の研究室ではラットを被験体として用い、味溶液（条件刺激）としてサッカリン溶液（0.005%）、内臓不快感を起こす無条件刺激として塩化リチウムの腹腔内注射（0.15M水溶液を体重の2%量）を採用している。味覚-内臓不快感の対呈示は一回とし、次の日から4日間テストとして、サッカリン溶液の単独呈示（20分間、その後に蒸留水の単独呈示を行う場合もある）を行い、サッカリンの摂取量の抑制をもって味覚嫌悪学習が獲得されたとみなしている。

#### b)味覚嗜好学習

味に対する好みが増加する、いわゆる味覚嗜好学習の要因は、嫌悪の形成に比べるとかなり多様であるとされている。例えば、食塩欠乏ラットは、正常ラットなら嫌う高濃度の食塩水を好んで摂取するようになる（志村, 1995）し、必須アミノ酸あるいは蛋白質を制限された飼育条件下のラットは、欠乏しているアミノ酸（鳥居, 1990）や蛋白質（Rogers and Harper, 1970）を含む餌や溶液を選択し、好んで摂取するようになる。また、ある味刺激と高カロリーワークの液体の胃内注入との対呈示により、その味刺激を多く摂取するようになる（Elizalde and Sclafani, 1990）こともわかっているし、ある味刺激と視床下部外側野の脳内報酬刺激との対呈示を繰り返すと、その味刺激の摂取が増加するという報告などがある。

#### c)味覚学習と他の学習との関係

例えば、上記の味覚学習実験で、条件味刺激を八方向迷路のいずれかに置けば、場所の学習と味の学習を組み合わせた実験パラダイムを考案することができる。味覚学習と他の学習との共通点、類似点、相違点などを探るうえでも、他の学習との連合実験パラダイムの開発とその研究は今後の課題であろう。

### C 破壊行動学的研究法

味覚行動の神経機序を探る方法の一つに、生体に損傷を与え、行動に及ぼす影響を調べるものがある。

#### a)神経切断実験

味覚情報を伝える末梢神経は鼓索神経、舌咽神経、大浅錐体神経、迷走神経である。各神経を単独、あるいは組み合わせて切断することによって起こる行動の変化を詳しく調べれば、各神経の機能的役割が理解できる。

### b)除脳実験

味覚情報の脳内での流れや味覚嫌悪学習の脳内メカニズムを探るために、脳の様々な部位を破壊する脳破壊実験法がある。除脳実験とは、脳を切断し、切断部より上位の脳の働きを除外したときの効果を調べる実験法である。GrillとNorgren (1978) は、上丘以上の部位（大脳や間脳など）と下位の脳部位との神経的つながりを絶たれたラットを用い、これらの動物の味覚反応を調べた。その結果、これらの除脳動物は生得的な忌避反応は維持していたが、味覚嫌悪学習を獲得することはできなかった。

### c)脳微小破壊実験

脳組織の微小破壊法としては、電気凝固破壊と細胞毒による細胞体破壊がある。これらは、形態的にも機能的にも回復不可能であるから、不可逆的破壊である。電気凝固破壊は電流の大きさや通電時間などのパラメーターを変化させることで限局した細かな破壊が作れるが、その周辺を走っている神経線維までも破壊してしまう。細胞毒による破壊には、イボテン酸、カイニン酸などのグルタミン酸のアゴニストが用いられる。これらの薬物を脳内に微量投与すると、通過線維にはあまり影響を与えずに、グルタミン酸レセプターを持つ細胞体だけを過剰興奮させ、破壊することができる。しかし、注入部位から他の部位への薬物の流出が見られるために、限局した破壊は難しい。我々の研究室では、そのどちらの破壊法も用いており、限局した破壊が必要な時には電気凝固破壊を用いている。細胞毒による広い破壊を行った時には各動物の破壊を重ね合わせ、その結果はそれらの最大公約数的な部位の破壊の結果として解釈せざるをえない。脳部位を同時に複数個所破壊する方法を用いれば代償作用の有無を検討することもできる。

不可逆的破壊を加えると、味覚学習の脳機序を調べる場合、学習のどの相が障害を受けたことによる効果なのかを特定できないので、最近は、一時的に機能を麻痺させる薬物（麻酔薬やテトロドキシンなど）を用い、味覚刺激の前後の短い間だけ神経や脳細胞の活動を抑える方法が用いられるようになってきた。このような方法を可逆的脳微小破壊実験法という。薬理作用の明確な薬物を使用することにより細胞レベルあるいは細胞下レベルでの物質レベルの研究も可能となってきた（本文5. 神経化学的実験の項参照）。

## 3. 神経解剖学的実験

神経解剖学とは、脳や神経の形態や部位間のつながりを調べたり、神経がどのような化学的伝達物質・修飾物質を含んでいるかを同定する研究分野である。味覚行動の中核神経機序を理解するうえで、その形態学的基盤となる情報を提供するものであり、きわめて重要である。

### A トレーサー法

ある神経と別の神経とのつながりを個別的に調べることは技術的に困難である。今日の技術で知ることができるのは、ある部位の神経細胞群はどの部位に情報を送っているのか（軸索をのばしているのか）、あるいは、どの部位から情報を受けているのか、つまり、比較的マクロな神経連絡路である。古くは、脳のある部分を損傷し、それによって生じる変性線維を追跡するMarckii法、Fink-Heimer法などが用いられていたが、変性像をみる専門的な観察力が必要であり、今日ではあまり用いられていない。近年は神経にある物質を取り込ませて、軸索流によって神経内を移動させ、発色させてその移動部分を調べる方法が良く用いられている。

この目的で用いられる物質にHRP(西洋ワサビ過酸化酵素)がある。HRPは主に神経の末端から取り入れられて、細胞体へと運ばれる(図2の上)。微量のHRPを電気泳動的に、あるいはマイクロピペットにより脳の局所に注入後、2~3日後に動物を灌流固定し、凍結切片を作製した後、DAB法によりHRPを発色させるとHRPを取り込んだ細胞体を可視化できる。このように、物質を神経細胞の末端から取り込ませ、細胞体を染め出す手法を逆行性標識と呼ぶ。

これに対し、細胞体から薬物を取り込ませ、神経の末端を染め出す方法を順行性標識という(図2の下)。細胞体からのHRPの取り込みを促進させるためWGA-HRP(HRPに小麦胚芽からの糖鎖物を結合させたもの)が用いられるようになったが、神経末端や通過線維からの取り込みも促進されるという副作用も出る。より特異的な順行性標識の物質として、PHA-L(*Phaseolus vulgaris*-L)が良く用いられる。最近、順行-逆行のどちらも標識する様々な物質(Biotin-Dextran, Cholera Toxin B subunit)が見出されている。PHA-Lやこれらの物質の可視化には、免疫組織化学的手法(後述)を用いる。

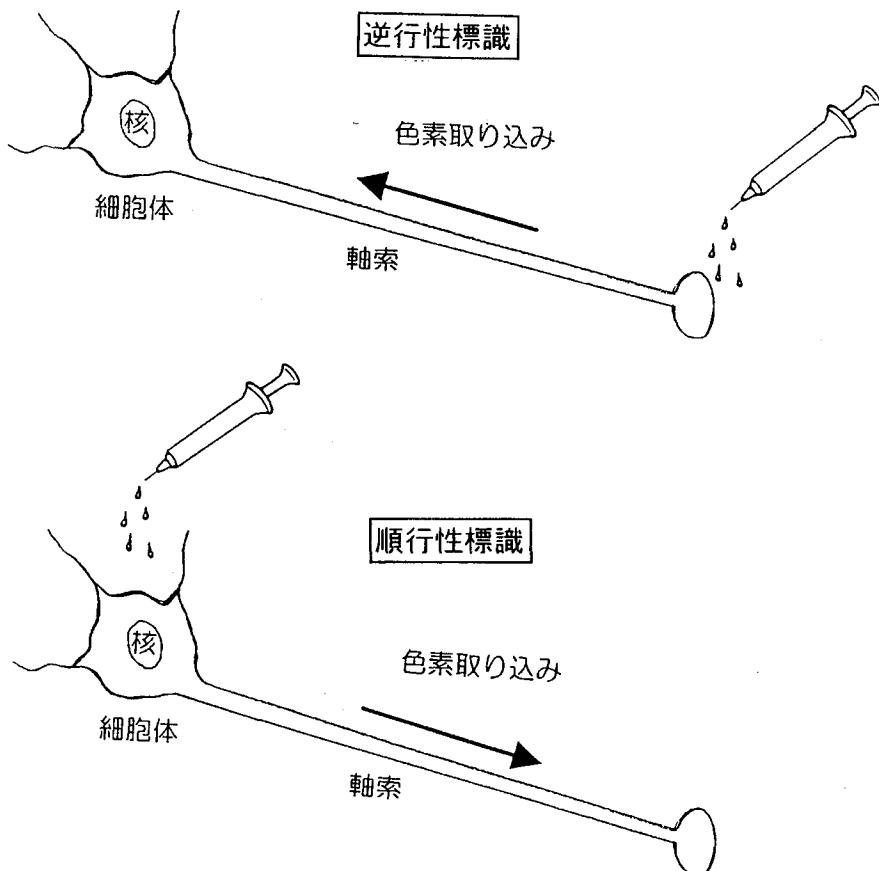


図2 トレーサー標識法。

このような手法を用いて味覚に関する脳部位を決定することができる。味覚に関する解剖学的研究のデータはラットに関するものが多く、詳細に調べられているが、サル、ウサギ、ハムスター、マウスについても基本的な研究がなされている。上記のFink-Heimer法やHRP法を用いてラットの味覚中継核として橋の結合腕傍核を見出し、さらに前脳への味覚投射部位の詳細を明らかにしたNorgrenらの業績は特筆に値する(図3)。我々の研究室ではWGA-HRPを用いた神経解剖学的手法により味覚嫌悪学習の脳内神経路を検索している(Sakai et al., 1995)。

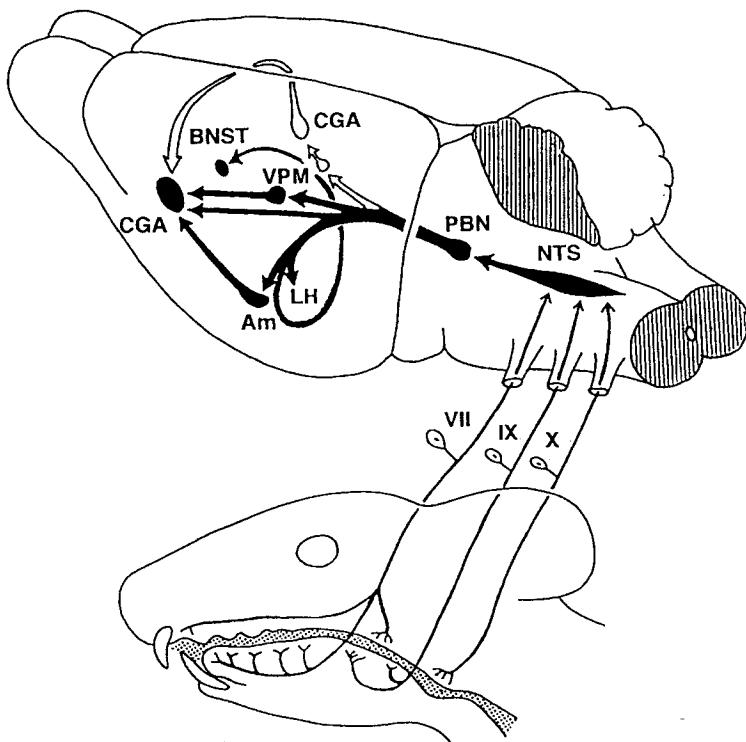


図3 ラットの味覚神経と脳内伝導路。

## B 神経機能解剖学

### a) 2 DG法

トレーサーを用いた手法では脳部位間の線維連絡はわかるが、行動のなかでどのような機能的役割を果たしているのかは推測するのみである。そのため、前記の破壊実験との組み合わせや、電気生理学的手法と組み合わせた研究が必要となる。

神経細胞が活性化されると、脳のある特定の部位（刺激や行動によってそれぞれの特定部位が異なる）の代謝率が上昇する。この代謝率の上昇は、脳の栄養源であるグルコースの消費量という形で測定できる。そこで、グルコースと同じように細胞に取り込まれるが、完全には代謝されずに、細胞内に分解産物が蓄積する 2-deoxyglucose (2 DG) を利用する方法がある。放射性同位元素を含んだ 2 DG を動物に注射し、刺激を受けたり、行動を行っている動物の各脳部位のグルコース代謝量を可視化することによって、脳全体での情報伝達の様子を観察することができる（2 DG法）。つまり、この方法を用いれば、細胞の活動の様子と情報伝達路との両方が同時に検出できるのである。しかし、この場合放射能を使わざるを得ないし、軸索や樹

状突起の活性化をも同時に検出してしまう、細胞レベルでの解像度は得られないなどといった欠点もある (Carlson, 1994)。

### b) 遺伝子発現法

最近、細胞が興奮した際に直早期遺伝子によって作られる核内蛋白質を染色・可視化することにより、細胞間連絡と細胞の機能とがさらに簡便に詳細に研究できるようになった。現在我々の研究室ではc-fos mRNAにより生成されるFOS様蛋白質を細胞興奮性のマーカーとして用いている。直早期遺伝子により生成される蛋白質の中でもFOS蛋白質は最も重要であり、免疫組織化学法（後述）を使えば、特別な装置なしに可視化できる。我々の研究室では、この方法を用いて味覚行動に関するいくつかの研究を行っている。味覚嫌悪学習の無条件刺激である塩化リチウムをラットの腹腔内に注射したときに活性化する脳部位の検索(Yamamoto et al., 1992)、各種味溶液をラットに摂取させたときに活性化する脳部位、特に結合腕傍核における機能局在性の検討 (Yamamoto et al., 1994)、味覚嫌悪学習にともなう神経興奮性の可塑的变化 (Yamamoto et al., 1995b)などが挙げられる。

しかし、このFOSラベリング法にもいくつかの欠点がある。1) FOS蛋白質は部位によって発現しやすさが異なること。例えば、我々の実験でも視床味覚野にはFOS様蛋白質の発現は一切みられなかった。2) 細胞が興奮してから蛋白質が生成されるまでに時間がかかるので(約2時間)、時間分解能が良くないこと。3) 味刺激以外の要素でも発現すること。例えば、味覚刺激の前後に何らかの嗅覚、視覚、聴覚刺激などがあると、それらによって誘発されたFOS様蛋白質の発現を味覚刺激によって誘発されたものと勘違いしてしまう恐れもある。4) 電気生理学的方法ほど感度が良くないこと。例えば、胃の中に7.5mlという大量の蒸留水を注入し、胃を物理的に拡張させても、FOS様蛋白質の発現は見られなかった(澤ら, 1995)が、電気生理学的実験によると、胃の拡張により結合腕傍核外側部でニューロン活動が記録されている。

直早期遺伝子ではあるが、c-fosとは異なったグループに属するzif/268 (egr-1、Krox24、NGFI-A) という遺伝子が学習に深く関っているということが報告されている。c-fosは細胞内にカルシウムイオンが流入することによって発現が誘発されると考えられており、c-fos発現とシナプス長期増強の間には直接の関連性は示されていない。一方、zif/268の発現とシナプス長期増強との関連がラットにおいて示唆されており (Abraham et al., 1991)、今後の研究の発展が期待される。

## C 免疫組織化学法

免疫組織化学法は、免疫反応を応用したものである。抗原（バクテリアやウイルスなどの蛋白質・ペプチド）に対して抗体（白血球により作られる）が結合し、それを攻撃・排除しようとする活動が免疫反応である。免疫組織化学法では、検出したい物質、例えば神経伝達物質や

核内蛋白質などを動物（ウサギやヤギなど）に注射し、その物質に対しての抗体を作る。この抗体を調べたい脳組織と反応させると、検出したい物質（抗原）と抗体が結合する。この抗体に呈色源を反応させると可視化できるので、その物質（抗原）の存在が検出できることになる。この呈色反応にはいくつかの方法があるが、現在最も高感度であるといわれているのはLSAB法である。この方法では、抗原（例えばFOS様蛋白質）に対して一次抗体（ウサギの免疫グロブリンG）を反応させ、さらに一次抗体に対してビオチン化された二次抗体（ウサギ免疫グロブリンGに対するヤギ抗体）を反応させる。最後に、ビオチンに結合する性質をもったストレプトアビシン（HRP色素が結合されている）を反応させ、そのストレプトアビシンに結合しているHRPをDAB法を用いて染色するのである。

免疫組織化学法の利点は、1) 放射能を必要としないこと、2) 簡便であること（一次抗体、二次抗体などを含んだキットが販売されており、初心者でも簡単に使用できるように考へてある）、3) 二次抗体の種類（染色の種類）の選択によっては何種類もの異なる抗原を同時に染め出すことができる（実際的には3種類が限度である）こと、などである。

#### D トレーサー法と免疫組織化学法との融合（二重染色法）

Aという部位とBという部位との線維連絡がどのような神経伝達物質を介しているかを知るために、最初にトレーサーを注入しておき、その後脳切片に対して免疫組織化学法を施す必要がある。一番簡便な方法は、フルオロゴールドなどの蛍光色素系のトレーサーと蛍光化された二次抗体を用いた免疫組織化学法を使用することである。しかしながら、蛍光色素を検出するには蛍光顕微鏡が必要であり、蛍光色素はすぐに消失してしまう（観察中に消えることさえある）ことなどから敬遠されることもある。

Mantyhと Hunt(1984)は、この二重染色法を用いて、末梢から大脳皮質までの味覚経路においてどのような神経ペプチドが存在しているかということを報告している。

### 4. 電気生理学的実験

#### A 遺伝子のクローニングおよび発現系

甘味や苦味の味細胞における受容体は蛋白質であるとされているが、その構造（アミノ酸配列、三次元構造）は不明である。1960年代末から1970年代にかけて、数多くの動物の舌乳頭を集めその組織中から受容体蛋白質を生化学的手法により抽出しようとする試みがなされたが成功するに至らず、この手法は現在全く行われていない。近年は、受容体の解明に向けて遺伝子工学的手法が採用されているので以下にその概略を述べる。

まず、目的とする細胞（場合によっては組織全体）よりmRNAを抽出する。次に、このmRNAよりそれに相補的なDNA(cDNA)を合成し、バクテリオファージなどのベクターとなるDNA内に挿入し、宿主の菌内で増殖させる。このファージを十分に希釈することによって

1分子のcDNA由来のクローンを作製する。次に、各々のcDNAクローンよりcRNAを合成し、カエル（アフリカツメガエルがよく用いられる）の卵母細胞に注入する。

この時、たとえばcRNAの翻訳産物がイオンチャネルであれば、パッチクランプ法（別項参照）により細胞膜に組み込まれたイオンチャネルを検出することが可能となる。また、この翻訳産物（蛋白質）の一次構造（アミノ酸配列）も、クローニングされたcDNAの塩基配列を決定することにより構造決定が可能となる。近年、このような方法で、ラットの甘味受容体と思える膜7回貫通型のポリペプチドの構造が報告されている（Abe et al., 1993）。

### B 細胞内電位記録法

味刺激は、味細胞膜に存在するレセプター、あるいはチャネルに作用するので、味細胞内に微小電極を挿入し、味細胞自体の電気的変化を調べることは、味覚の末梢受容機構についての重要な情報を提供する。

動物を麻酔後、舌を固定し、硬質ガラス管から作製した微小ピペット（先端直径が1μm以下）に高濃度電解質溶液（塩化カリウム、酢酸ナトリウムなど）と色素（プロシオニエローなど）をつめた微小電極を味孔から味細胞内に刺入する（図4）。

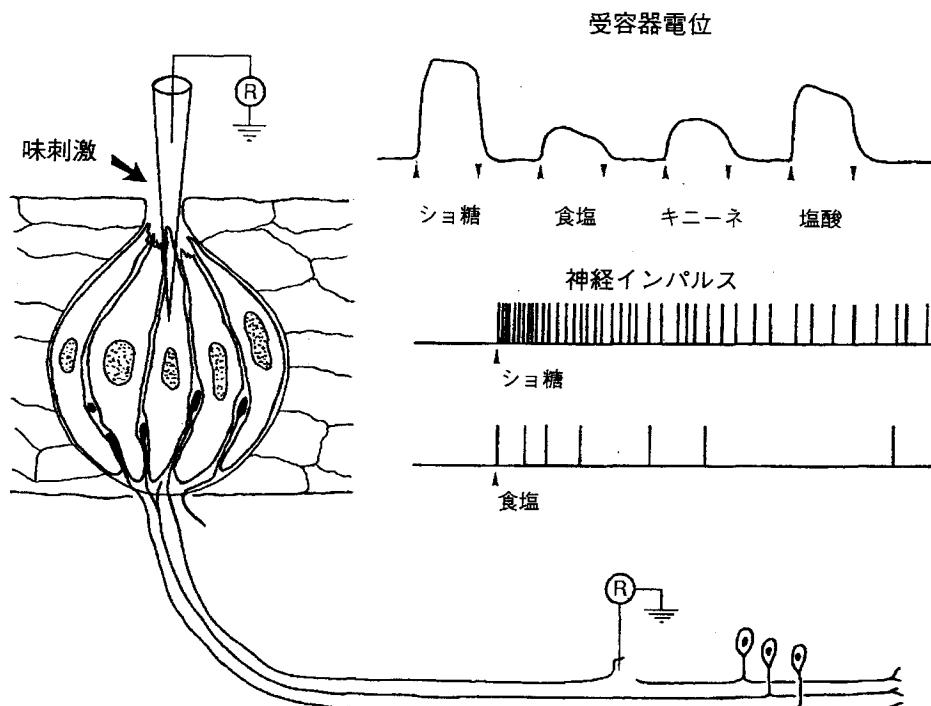


図4 味細胞と味覚神経の電気活動記録。

測定終了後、電極の中の色素を電気泳動的に注入し、組織切片上で味細胞のみが色素によっ

て染色されていることを確認する。

KimuraとBeidler(1961)は、ラットおよびハムスターの味細胞からの細胞内電位記録に初めて成功し、受容器電位とよばれる脱分極性変化を記録した。その後、各種動物から記録されたが、味細胞を損傷し正確な応答が記録できないことから、現在は、次に述べるパッチクランプ法が主流になりつつある。なお、細胞内に2本の電極を刺入し、一方から記録、他方から味細胞内にcAMPなどセカンドメッセンジャー系薬物を注入し、その作用を調べる実験も行われている。

### C パッチクランプ法

味細胞が電位変化を示す際に、膜を介してイオンがどのように動くのかを調べるのがこの方法である。生体膜におけるイオンの通り道をイオンチャネルと呼んでおり、その実体は、脂質二重層を基本構造とする膜内在性蛋白質である。このようなイオンチャネル1分子を流れる電流（单一チャネル電流）を測定する画期的な方法がNeherとSakmann(1976)により1970年代半ばに開発され、その後の爆発的な進展と相まってノーベル賞受賞に結びついた。

まず、パパイン、エステラーゼなどの酵素処理により、舌から味細胞を単離して取り出す必要がある。パッチクランプに用いる電極（パッチ電極）は通常先端直径が0.5～3 μmで、細胞内記録（前項参照）で用いるものよりは太い電極を用いる。これは、電極を細胞内に刺入するのではなく、イオンチャネルの存在する細胞表面に吸着させることを目的とするからである。この電極を、目的とする細胞膜表面に押しあて、電極内に陰圧をかけると、電極と細胞膜との間に10Ω以上の高抵抗の密着（ギガオームシール）が得られる。このギガオームシールにより電流ノイズが減少し、電極先端開口部直下の細胞膜微小領域（パッチ膜）を流れる微小電流を測定することができる。

当初、パッチクランプ法が、味細胞に適応されたのは、比較的味細胞を取り出すことが簡単な、カエル、マッドパピー、ナマズなどであったが、現在ではラット、マウス、ハムスターなどの哺乳類を用いた研究もなされている。

このように、パッチクランプ法の味覚生理学研究への応用は、比較的新しいものではあるが、 $\text{Na}^+$ イオンによって生じる電位がアミロライドによって抑制されること、 $\text{Na}$ -サッカリンに対する味細胞のポテンシャルの発生に $\text{Ca}^{2+}$ イオンが関与すること、酸味や苦味物質は、味細胞の膜電位依存性 $\text{K}^+$ チャネルをブロックすること、 $\text{H}^+$ イオンが $\text{Na}$ チャネルを通る可能性があることなど重要な知見が得られている。

なお、パッチ膜からの記録ではなく、比較的太めの電極を味細胞膜に貫通させ、細胞全体の活動を記録するホールセルクランプ法は、従来の *in vivo* の細胞内電位記録法にかわって、よく用いられている。

### D 神経応答記録

味覚受容細胞が受け取った味覚情報がどのような神経情報として脳に送り込まれるかを明らかにするには、味覚神経の活動を電気生理学的に記録し分析する必要がある。逆に、味覚神経の活動を分析することにより末梢の受容体の性質や味物質の作用機作を推定することも可能である。

ヒトを初めとする哺乳類の味覚情報は、舌前方 2 / 3 を支配する鼓索神経、舌後方 1 / 3 を支配する舌咽神経、軟口蓋を支配する大浅錐体神経、咽頭部、喉頭部を支配する上喉頭神経の 4 種により伝えられる。鼓索神経と大浅錐体神経は、顔面神経の枝であり、上喉頭神経は迷走神経の枝である（図 3）。

味覚の強さを定量的に測定するには、動物の味覚器に味刺激を与えた時の、味神経応答を測定するのが一般的である。味応答は、上記の各味覚支配神経から測定が可能である。味応答を記録するには、動物を麻酔した後、当該神経を露出させる。神経の中権側を切断し、銀-塩化銀電極ないしは白金電極によりインパルスを増幅器に導く。不関電極は、近隣の組織に固定する。

神経束からの味応答を記録する場合は、電極は、神経束表面に接触させる。線維束応答の場合、その神経は数百本以上に及ぶので、インパルス数を数えるのは不可能で、通常積分器を通して、積分応答として記録する。

ラットの場合、その神経により味物質に対する応答性が異なることがよく知られている。例えば、鼓索神経束は、苦味物質であるキニーネに対する応答は小さいが、舌咽神経では大きい。逆に、塩味であるNaClの応答は、鼓索神経のほうが大きい。また、大浅錐体神経は、甘味物質に対する応答が大きいことが知られている。

同様の方法で、単一神経線維からの応答の記録も可能である。神経束は多数の神経線維から成るので、実体顕微鏡下でピンセットやピンなどを用いて細いフィラメント状に分けていく必要がある。細くした束を電極にかけると、神経線維の太さや電極からの距離に依存して各線維ごとに異なった大きさのインパルスが得られる。神経束をさらに細かく分けていくと、大きさのそろったインパルスつまり单一神経活動が導出できる（図 4）。

Pfaffmann(1941) はネコの单一鼓索神経線維からの応答を初めて記録したが、1種類の基本味のみを伝える神経線維はかなり少なく、大部分の单一神経線維は 2 種類以上の基本味に反応するとしている。このような单一神経応答の特徴は、その後、マウス、ラット、ハムスター、マカクザルでも明らかにされている。このような单一神経活動の分析から、味覚情報伝達機序として、Erickson(1964) によりアクロスファイバーパターン説が、Frank(1974) によりラベルドライン説が提唱されている。

#### E 味覚を変化させる物質の構造と作用

味覚を変化させる物質の構造を明らかにし、その作用機序と対応させることにより、受容器側の機構を明らかにしようとする研究方法がある。

甘味を抑制する物質として次のようなものがある、1) ギムネマ酸 (gymnemic acid)。これは、インド産の熱帯植物 *Gymnema sylvestre* の葉に含まれるトリテルペン誘導体である。2) ジジフィン (ziziphin)。これは、ナツメ (*Ziziphus jujuba*) の葉に含まれるギムネマ酸と類似の構造物であり、ギムネマ酸に比べ、より選択的に甘味のみを抑制する。また、ジジフィンの甘味抑制効果はギムネマ酸より広く、各種の人工甘味料による甘味も抑制することが知られている。3) グルマリン (gurmarin)。ギムネマ酸が顕著な抑制効果を示すのは、ヒトを含むチンパンジー以上の高等動物であるが、同じ *Gymnema sylvestre* の葉の抽出物中にギムネマ酸とは異なる物質でかつ、ラットのショ糖に対する応答を抑制する物質が存在することが発見され、グルマリンと名づけられた (Imoto et al., 1991)。

塩味を抑制する物質として、アミロライド (Amiloride) がある。利尿薬として開発されたアミロライドは、上皮や腎臓におけるNa-チャネルのブロッカーであるが、ラットのNaClに対する味応答を選択的にブロックすることが示され (DeSimone and Ferrell, 1985)、塩味 (Naイオンの味) の発現には、アミロライド感受性のNa-チャネルが関与していることが示唆されている。

苦みを抑制する物質として、ホスファチジン酸含有リボ蛋白が最近見出された (Katsuragi and Kurihara, 1993)。

酸味を甘味に変える物質として、ミラクリン (西アフリカ産の植物 *Richdella dulcifica* の実に含まれる191個のアミノ酸からなるポリペプチド) とクルクリン (東南アジア原産の植物 *Curculigo latifolia* に含まれる分子量12,000のポリペプチドの二量体) が知られている。ミラクリンやクルクリンが酸っぱいものを甘くする機構は、味細胞のコンホーメーションの変化で説明される。つまり、酸のない条件下では、その活性中心は甘味受容サイトにほとんど結合せず、酸の存在によってはじめて、味細胞のコンホーメーションが変化しミラクリンの活性中心が甘味受容サイトに結合するものと考えられている。

## F 中枢神経からの味応答記録

脳内で味覚情報が伝達される部位として、延髄孤束核、橋結合腕傍核 (齶歯類)、視床後内側腹側核、大脳皮質味覚野 (サルでは、第一次及び第二次味覚野) や、視床下部外側野、扁桃体などが知られている (図3)。それぞれの場所におけるニューロンが味刺激に対してどのように応じるかは電気生理学的実験により知ることができる。実験は大きく、麻酔下における急性記録実験と覚醒動物における慢性記録実験に分けることができる。

### a) 急性記録法

ガラス管微小電極や金属微小電極 (ガラスで絶縁したタングステン電極がよく用いられる)などを用いて单一ニューロンのインパルス発射を通法に従い記録し、データレコーダーに収録する。動物は麻酔されているため、術者が味溶液を口腔内に注入しなくてはならない。口腔後

方部の味蕾を刺激するのは困難であるが、舌や口蓋などを局所的に刺激することにより単一ニューロンの受容野を調べることができる。また、味刺激以外に、触刺激や温度刺激の効果を調べることもできる。

#### b) 慢性記録法

これには、自由行動下の動物が自由に飲食物を摂取したときの記録と、動物の頭部のみを固定し、実験者が動物の口腔内に溶液を注入したり、口のところに呈示した溶液を飲ませたときの記録がある。自由行動下のラットにおける慢性記録では、ステンレスや白金イリジウムなどの極細ワイヤー（直径25-80 $\mu\text{m}$ ）を数本脳内に埋め込んだ後、ワイヤーから任意の2本の組合せを選び、それぞれからの電位信号を差動増幅することでユニット活動が記録できる。また、サルにおける慢性記録の場合には、電極ホルダーを頭蓋骨に固定し、ガラスで絶縁したタンゲステン電極などをそのホルダーに取り付け、モンキーチェアに座らせて記録する方法が多用される。慢性記録では、動物が積極的に口や舌を動かして摂取や拒否の行動を示すので、口腔全体に刺激が行き渡るという利点がある。また、意識のある状態で記録するので、行動や学習（例えば、味覚嫌悪学習）と組み合わせて、味覚ニューロンの動きを調べることができる。

#### c) 光学測定法

近年、多くの電位感受性の色素などが開発された結果、それらを神経組織に投与し、その吸光や蛍光の変化を測定することで、多くの神経細胞の電気的活動を計測することができるようになりつつある。光学測定法の利点は、多くの部位での活動性の変化を一度に計測できるので、神経細胞群間でのダイナミックな情報の流れを観察できることにある。柳浦ら（1995）は、2波長光学計測法を用いて島皮質における内因性ヘモグロビンの酸化状態を測定・解析することによって味覚野の神経応答を画像計測している。

### G 非侵襲的脳機能測定法

#### a) 味覚誘発電位（脳波）

大脳皮質に視床からの味覚情報が投射する部位（第一次味覚野）は、島皮質を覆う前頭弁蓋部に存在する。鼓索神経などの味覚神経を電気刺激すると、この前頭弁蓋部に限局した誘発電位が生じる。また、この部位の外側部には口腔が再現されていて、触覚、温度覚などの三叉神経刺激による誘発電位も観測される。

ヒトにおける味覚誘発電位の最初の記録は、被験者の舌に一定量の味溶液の呈示と水の洗浄を繰り返し、40回の加算平均をすることで行われた（Funakoshi and Kawamura, 1971）。味覚性電位の潜時は個体差が大きいものの酸味と塩味に対して大きな応答が記録された。Kobal(1985)は、触刺激の混在を除外するためガス状の味刺激を行う方法を開発し、12-20回

の加算平均により電位を記録した。そして、味刺激に用いた酢酸の濃度に依存して電位の大きさと潜時が変化すること、口腔粘膜の局所麻酔により電位が消失することを観察した。彼は、甘味、酸味、塩味、苦味刺激に対する味覚性誘発電位を記録している。

味覚性誘発電位の記録は、刺激法の困難さ、順応の起こり易さ、繰り返し刺激の困難さや味覚性電位と他の感覚性電位（触覚、温度覚）などの混入があり、一般的には難しい。しかし、臨床上の検査などでは今後の応用が期待されている（生井ら, 1995）。

#### b) PET(positron emission tomography)

PETは、<sup>11</sup>C、<sup>13</sup>N、<sup>15</sup>O、<sup>18</sup>Fなどのラジオアイソトープを微量投与し、その同位体から放出される陽電子消滅線をCTスキャンと同様な画像処理法にて2次元像に再構成していく方法である。空間分解能は10 mm程度と良くないが、脳血流やエネルギー代謝を時間軸を含めて3次元的に測定できる。<sup>15</sup>Oを用いた脳局所血流量測定は、神経細胞の活動性を反映すると考えられており、近年のイメージデータの処理技術等の改善により、多くの脳の高次機能研究に適用されつつある。Kinomuraら（1994）は、生理食塩水と純水との呈示による脳内血流量を測定したところ、視床、島皮質、帯状回、海馬傍回、側頭回などの血流量に差を認めた。

#### c) 脳磁図 (MEG: magnetoencephalography)

近年の磁気物性工学の進歩により、きわめて高感度な磁気センサーであるSQUID(superconducting quantum interference device、超電導量子干渉素子)が開発され、それを用いた脳磁場計測装置が開発されている。最近では、多くのSQUIDセンサーを取り付けた全頭型も利用されている。観測された磁場から等磁界線図を描き、この磁界図に対応する電流ベクトルを計算し、脳内での電流源を3次元的に求めることができる。MEGは、優れた空間分解能と、ミリ秒単位の時間分解能で測定可能である。小早川ら（1995）は、サッカリン溶液と食塩溶液の呈示によるMEGを観測している。双方の刺激により、両半球の島と前頭弁蓋部との移行部位に電流源を認めた。

#### d) fMRI( functional magnetic resonance imaging)

現在、完全無侵襲なfMRI(磁気共鳴機能描画)は、脳局所の活動状況を秒オーダーの時間分解能とミリメーターの空間分解能で測定できるので各方面より注目されている。fMRIは、酸化型ヘモグロビンと還元型ヘモグロビンでの磁性の違いで生じた局所磁場不均一によって生じる水素原子の核スピン共鳴状態の変化を画像化するものである。従来は、測定物体の動きによって画像に乱れが生じやすかったが、田淵ら（1995）は、覚醒ラットに各種味溶液を自由摂取させたときのfMRIの撮像に成功した。今後とも、脳の高次機能解明に対しての適用が増えると思われる。

## H 筋電図

味刺激により誘発される行動を客観的にとらえる方法に、ビデオ撮影による行動解析があるが、それと相補的に、あるいはより詳細に運動解析をするには、行動のもとになる筋の活動を分析する必要がある。

筋電図 (electromyography : EMG) とは、筋細胞が興奮する際に発生する活動電位であり、筋表面上の皮膚に表面電極をあてたり、筋肉中に針電極を刺入して測定する。食物に含まれる味物質がラットの咀嚼筋活動に及ぼす影響につき、十河ら (1995) は、高濃度キニーネのような嫌悪的な味物質の混入された飼料を摂食するとき、咬筋、側頭筋、頸二腹筋の咀嚼バーストの周波数は、他の味質を混入された飼料摂食時より高くなり、そのバースト放電量は小さくなることを明らかにした。

## I 心電図

味の刺激が自律神経系に作用することは、唾液や消化液の分泌、消化管運動、インスリン、成長ホルモンなどのホルモン分泌が味覚の影響を受けることからも示唆されている。これ以外の自律神経に対する作用として、味覚が心臓の働きに影響を及ぼすか否かも興味が持たれるところである。

心電図 (electrocardiogram : ECG) とは、体表面に電極をあてて導出された心臓の活動電位をいう。HanamoriとIshiko (1993) は、ラットの舌咽神経領域を、種々の味溶液で刺激した際の心電図、心拍動数、動脈圧の変化を記録し、塩酸、キニーネ、高濃度食塩水で刺激された時、その心拍動数と動脈圧が、大きくなることを見出した。この結果は、口腔内への味刺激が、心機能にも影響を与えることを示している。

## 5. 神経化学的実験

ニューロン活動はシナプスにおける化学伝達物質やその他の液性要因にもとづいて生じるものであるから、中枢の味覚情報処理様式を明らかにするためには、それらの生理活性物質がどのようにニューロン活動に影響を及ぼしているかを解明する必要がある。しかし、味覚行動の中枢機構に関する神経化学的知見は現在までのところごく限られているので、今後この方面的研究が重要な課題になると思われる。

## A 脳内薬物注入法

味覚行動に対する影響を検討するため、覚醒動物の脳内局所に薬物を注入する方法と、中枢味応答性ニューロンの活動に対する影響を検討するため、電気生理学的実験時に記録部位近傍への薬物投与を行う方法などについて簡潔に述べる。

脳内に薬物を微量注入するには、圧力注入法とイオン電気泳動法の2種類があり、前者は主

に行動実験に用いられ、後者は電気生理学的実験と併用されることが多い。

#### a) 壓力注入法

麻酔下で圧力注入法により薬物を注入し、麻酔から覚醒したあとでの行動に影響がみられるか否かを検討する方法もある (Roldan and Bures, 1994) が、観察対象となりうる行動の種類やパラダイムが限られてしまう。実験可能な行動の種類を増やすためにも、覚醒動物における薬物注入が必要である。

覚醒した状態の自由行動下動物に注入する場合には、あらかじめ麻酔下にて脳内にダミーカニューレを装填したガイドカニューレを埋め込んでおく。注入は、ダミーカニューレと注入用カニューレを取り替えることにより隨時可能である。注入に際し、外径 $200\mu\text{m}$ 程度のステンレス製パイプを注入用カニューレとしてガイドカニューレに刺入し、 $1\text{-}10\mu\text{l}$ のハミルトンマイクロシリンジをポリエチレンチューブで連結した後、微速にて薬物溶液を押し出し注入する。注入部位の組織の力学的な破壊の度合いを最小限にするために、注入速度を控え、一定の流速で注入することに留意する必要がある。Rosenblum ら (1993) は、大脳皮質味覚野に蛋白質合成阻害剤を注入すると、味覚嫌悪学習の獲得が障害されることを見いだしている。同様に、八十島ら (1995) は、蛋白リン酸化酵素C(PKC)の阻害剤を扁桃体に注入すると、味覚嫌悪学習が障害されることを認めた。

#### b) イオン電気泳動法

イオン電気泳動法には、多連ガラス微小電極が用いられる (桜井, 1985)。多くの場合、七連管が使用される。中心のガラス管を細胞外活動電位の記録用電極とし、周囲のガラス管を薬物泳動用に用いる。摂食行動に関する視床下部などで、一つのバレル (ガラス管) からブドウ糖を局所投与することによって、ブドウ糖感受性ニューロンの存在が報告されている (Oomura, 1988)。また、同じニューロンが別のいくつかのバレルに詰めたノルアドレナリンやドーパミンなどの神経伝達物質の電気泳動的投与に対して応答するか否か、そして味刺激などに応答するか否かについても調べることができる (Karadi et al., 1992)。ラットの島皮質味覚野において、ニコチン性およびムスカリリン性アセチルコリン受容体の作動薬と遮断薬とを電気泳動的に投与して、島皮質ニューロンの自発放電と味覚応答に対する影響が調べられている (長谷川ら, 1995)。神経活動に対する薬物電気泳動投与実験の最大の留意点は、神経活動の変化が真の薬理効果によって起こっているか否かを吟味する実験を行うことである。さらに、放出電流や保持電流などの電流アーチファクト、薬液によるpHの変化によるアーチファクト、薬液バレルの目詰まりなどに注意を払う必要がある (桜井, 1985)。

#### c) 薬物注入実験における注意点とその応用

双方の投与法に共通して、コントロール実験の実施には特に注意が必要である。薬物作用は、

薬物の種類や濃度によって左右されるため、薬理作用が明確で特異性の高い薬物を用いること、その薬物作用に濃度依存性が見られることなどを確認する必要がある。圧力注入法ならば溶液の濃度を変えること、電気泳動法ならば放出電流の大きさを変えることなどが必要である。また、溶媒の種類やpHにも留意し、その溶媒単独の投与によっては効果が見られないことも必要なコントロールである。さらに、化学的に構造の類似した誘導体で、薬理作用の異なる物質をコントロール剤として使うとよい。これにより、浸透圧のわずかな変化や薬物の非特異的作用の効果などを除外できる。さらに、問題とする脳部位での限局した薬物処理によって行動が影響を受けることを示すため、薬物注入部位をあらかじめ目的部位とは違う近傍に設定し、その場所への注入による効果をみる実験をすることが望ましい。

従来の圧力注入法を用いると、カイニン酸やイボテン酸などの興奮性神経毒を使った場合に、溶液の拡散範囲が広くなり、限局した脳部位の破壊を行うことは難しい。そこで、電気泳動法の応用として、それらの興奮性神経毒を局所に投与することもできる (Sandor et al., 1992)。電気泳動的な投与の場合は、ガラス管の先端孔が微小なため溶液拡散を最小限に抑えることができる。また、ガラス微小管を刺入するので、ハミルトンシリジなどの針を刺入する場合よりも物理的侵襲が少ないなど利点が多い。

### B マイクロダイアリシス (microdialysis)法

スウェーデンのUngerstedt(1984)のグループにより開発されたマイクロダイアリシス法(脳内微小透析法)は、脳内に透析プローブを植え込み、半透膜を介して灌流液中に回収した脳内生理活性物質を連続的に定量する方法である。この方法により、従来不可能であった脳局所の細胞間隙に放出される脳内物質の連続測定が可能になり、現在、神経科学の広い領域で盛んにこの方法が応用されている。また、この方法は無麻酔、無拘束の被験体にも適用できるので、行動に関連した脳内物質を調べるには絶好の方法である。味覚行動に関して、この方法を採用した研究は我々自身の研究 (Shimura et al., 1995) も含めて、まだ少数しか報告されていないが、味覚の神経機構を追求するためにはきわめて有用な方法である。

マイクロダイアリシス法の基本的原理は、分子量の小さい物質は自由に通すが、大分子は通過できないような特性の透析膜を用いたプローブを特定の脳部位に刺入し、プローブ内部をリシゲル液などで灌流することにより、血管の機能を模倣することである。細胞外液と灌流液とを半透膜で隔てることにより、低分子量物質は細胞外液あるいは灌流液中からそれぞれ濃度勾配の低い方向へと拡散する。マイクロダイアリシス法は、この半透膜の性質を利用して、細胞間隙に存在する種々の化学物質、とりわけ神経伝達物質とその代謝関連物質を透析液中に回収したり、灌流液に薬理学的に活性な物質を溶解して脳局所に微量注入したりする方法であるが、ここでは、現在マイクロダイアリシス法の主流となっている脳内物質の定量方法について述べる。

自由行動下の動物から神経伝達物質を測定するためには、あらかじめ麻酔下の手術により目

的とする脳部位の近傍までガイドカニューレを挿入しておき、動物が手術の侵襲から十分回復したあとでマイクロダイアリシス実験を行う。実験時には、ダミーカニューレを取り除き、透析プローブを目的脳部位まで刺入して灌流を行うが、灌流液は測定対象によりやや異なり、基本的には体液のpHや浸透圧に近い溶液を用いる。当研究室では、pH7.4の人工脳脊髄液を実験日の朝にその都度調整し、毎分2μlの流速で透析プローブに送液し、20分毎に試料をマイクロサンプラーに自動的に回収している。なお、マイクロダイアリシス法により、脳内からある生理活性物質を回収しようとする際には、目的とする部位で当該物質の存在がすでに明らかにされていることが前提となるので、測定対象物質に応じて、適切な回収方法を選択する必要がある。例えば、アセチルコリンを回収測定しようとする場合には、回収後のアセチルコリンの分解を抑える目的で、アセチルコリン分解酵素阻害剤のフィゾスチグミンやネオスチグミンをあらかじめ標準灌流液に添加しておく。

このような方法で、自由行動下の動物から継時的に特定の物質を回収するが、物質の濃度変化と行動との時間的な対応関係をしらべるためには、動物の行動をビデオ記録したり、行動量測定装置を用いて定量的にとらえたりする必要がある。

また、回収された物質が神経細胞の活動に基づいて放出されたものであることを証明するためには、シナプス伝達を促進したり遮断したりする処置によって、当該物質が予測通りの方向に変化することを確認する必要がある。例えば、 $\text{Ca}^{2+}$ を含まない灌流液を用いた場合、シナプス伝達は抑制されるので、伝達物質の放出も著明に減少することが予測される (Westerink et al., 1988)。

試料回収後の分析方法は測定しようとする物質に応じて、それぞれ適切な方法を用いるが、最近の測定技術の進歩により、ごく微量の物質でも、電気化学検出や蛍光検出を用いた高速液体クロマトグラフィーで詳細な定量ができるようになってきた。

以上のような測定法を用いて、我々は大脳皮質味覚野のアセチルコリンが苦味を呈するキニーネや、あらかじめ味覚嫌悪を条件づけたサッカリンなど、動物が嫌悪する味刺激に対して、有意に増加することを明らかにしている (Shimura et al., 1995)。また、Hoebelのグループは、摂食の動機づけに関連してマイクロダイアリシス法による実験をいくつか報告しており、中でも興味深い成績として、側坐核ではドーパミンが嗜好性の味刺激に、アセチルコリンが嫌悪性味刺激の処理に関する示唆している (Mark et al., 1995)。

### C 酵素電極法によるバイオセンサー

上記のように、マイクロダイアリシス法により、味覚行動に関連した神経伝達物質が少しづつ明らかになってきたが、この方法には時間分解能が劣るという大きな欠点がある。すなわち、回収した試料を分析するためには、最低でも1サンプルあたり数分の時間を要するので、秒あるいはミリ秒のような短い時間間隔の神経化学的变化を検出することは不可能であり、急速に変化する細胞外事象を見落とすことがある。一方、細胞間隙に存在する電気化学的に活性な酸

化還元物質を、微小電極を用いて直接測定する *in vivo* ポルタンメトリー法はリアルタイムで活動変化をとらえることができるという利点をもつ反面、測定した対象物質の同定が困難であるという欠点がある。

最近開発されたマイクロダイアリシスバイオセンサー (Galley et al., 1993) は、透析膜を用いたプローブの中に電極を封じ込み、電気化学検出器を構成して、リアルタイムでプローブ近傍の脳内物質の濃度変化を検出する方法である。つまり、センサー内部に酵素溶液を満たすことによって、その酵素に特異性のあるダイアリシスバイオセンサーとなる。例えば、酵素としてグルタミン酸オキシダーゼを使用すると、透析膜からプローブ中に拡散してきたグルタミン酸は酵素によって過酸化水素を生成するので、それを電気化学的にプローブ内部の電極で検出するというしくみである。この方法は麻酔下の動物を対象にいくつか試みられているが、自由行動中に適用した例はまだほとんど報告されていない。ごく最近、我々はこの方法を無麻酔無拘束の動物に適用し、動物が好んで味刺激を摂取するときに、腹側淡蒼球のグルタミン酸レベルが上昇することを観察している (志村ら, 1996)。味刺激に対する特異性や測定部位など、まだまだ検討すべき課題は多いが、時々刻々の脳内物質の変動を行動中にモニターできることから、味覚行動の神経化学的研究においても将来有望な方法である。

## 6. おわりに

行動のしくみを最近の科学的知識、技術を駆使して解明するためには旧来の心理学、生理学、解剖学といった一定の枠の中に留まっていてはならない。学際的アプローチとして、脳行動学とか認知神経科学という学問領域を新しく考える必要があろう。このような領域での研究の結果、脳の構造や機能が不明の時代に唱えられた心理学領域の各種の理論や学説の中には過去の遺物とみなされるようになったり、逆にその科学的背景が明かになったものもある。

行動を脳の働きとしてとらえる限りは、ヒトや動物を対象にした非侵襲的脳機能計測の他に、実験系をモデル化し、動物実験を行わざるをえない。考え方は心理学的、認知科学的発想であっても実験技術は本論文で紹介したような神経科学的手法を用いる必要がある。従って、脳について基本的な知識、実験装置、その使用技術、実験遂行上の経費などが必要となる。研究発表の舞台も、生理学会、神経科学会などの専門家の集まる場所でなくてはならない。

以上のこととは残念ながら現状では日本の多くの心理学研究室では実行不可能であろう。この点、少くとも味覚の神経科学的研究成果の大部分が米国の人間工学研究室から出ていることときわめて対照的である。日本の実験心理学、生理心理学の体質を再考する必要がある。一方、医学関係の研究室の多くは、より細分化、先端化し、細胞生物学、分子生物学の方面に研究が進んで行く現状では、一部の研究室を除いて認知科学的研究を期待することは難しい。幸い本学部の我々の講座は、上記の条件を満足しうる貴重な存在といえる。人間科学の素養を身につけた学生が本文で記載した神経科学的手法を用いて新領域を開拓し、世界に羽ばたいてもらいた

いと切望する。

### 文献

- Abe, K., Kusakabe, Y., Tanemura, K., Emori, Y. and Arai, S. Primary structure and cell-type specific expression of a gustatory G protein-coupled receptor related to olfactory receptors. *J. Biol. Chem.* 268 : 12033-12039, 1993.
- Abraham, W. D., Dragunowm, M. and Tate, W. P. The role of immediate early genes in stabilization of long-term potentiation. *Mol. Neurobiol.* 5 : 297-314, 1991.
- Carlson, N. R. *Physiology of Behavior*. Allyn and Bacon, 1994.
- DeSimone, J. A. and Ferrell, F. Analysis of amiloride inhibition of chorda tympani taste response of rat to NaCl. *Am. J. Physiol.* 249 : R52-61, 1985.
- Elizalde, G. and Sclafani, A. Flavor preferences conditioned by intragastric Polycose infusions:a detailed analysis using an electronic esophagus preparation. *Physiol. Behav.* 47 : 63-77, 1990.
- Erickson, R. P. Sensory neural patterns and gustation. In: *Olfaction and Taste*, edited by Y. Zotterman. Oxford, UK:Pergamon. vol. I, pp. 205-213, 1963.
- Frank, M. An analysis of hamster afferent taste nerve response functions. *J. Gen. Physiol.* 61 : 588-618, 1973.
- Funakoshi, M. and Kawamura, Y. Summated cerebral evoked responses to taste stimuli in man. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 30 : 205-209, 1971.
- Galley, P. T., Errington, M. L. and Bliss, T. V. P. Real-time measurement of glutamate release in the dentate gyrus during long-term potentiation using a dialysis electrode. *Brain Res. Assoc. Abstr.* 10 : 34. 4 P, 1993.
- Garcia, J., Hankins, W. G. and Rusiniak, K. W. Behavioral regulation of the milieu interne in man and rat. *Science* 185 : 824-831, 1974.
- Grill, H. J. and Norgren, R. Chronically decerebrate rats demonstrate satiation but not bait shyness. *Science* 201 : 267-269, 1978.
- Hanamori, T. and Ishiko, N. Cardiovascular responses to gustatory and mechanical stimulation of the nasopharynx in rats. *Brain Res.* 619 : 214-222, 1993.
- 長谷川佳代子、小川 尚 ラット大脳皮質味覚野ニューロンに対するアセチルコリンの修飾作用。日本味と匂学会誌 2 : 383-384, 1995.
- 生井明浩、富田 寛、池田 稔、伊藤 勇 味覚誘発電位の臨床応用－刺激関連電位、事象関連電位のどちらがよいか－ 日本味と匂学会誌 2 : 189-191, 1995.
- Imoto, T., Miyasaka, A., Ishima, R. and Akisaka, K. A novel peptide isolated from the leaves of *Gymnema sylvestre*. *Comp. Biochem. Physiol. A.* 100 : 309-314, 1991.
- Karadi, Z., Oomura, Y., Nishino, H., Scott, T. R., Lenard, L. and Aou, S. Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving monkey. *J. Neurophysiol.* 67 : 389-400, 1992.
- Katsuragi, K. and Kurihara, K. Specific inhibitor for bitter taste. *Nature* 365 : 213-214, 1993.
- Kimura, K. and Beidler, L. M. Microelectrode study of taste receptors of rat and hamster. *J.*

- Cell. Comp. Physiol. 58 : 131-140, 1961.
- Kinomura, S., Kawashima, R., Yamada, K., Ono, S., Itoh, M., Yoshida, S., Yamaguchi, T., Matsui, H., Miyazawa, H. and Itoh, H. Functional anatomy of taste perception in the human brain studied with positron emission tomography. Brain Res. 659 : 263-266, 1994.
- Kobal, G. Gustatory evoked potential in man. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 62 : 449-454, 1985.
- 小早川 達、斎藤幸子、綾部早穂、遠藤博史、小川 尚、山口佳子、熊谷 徹、武田常広 誘発磁気計測によるヒト大脳皮質味覚野の推定。日本味と匂学会誌 2 : 293-296, 1995.
- Mantyh, P. W. and Hunt, S. T. Neuropeptides are present in projection neurons at all levels in visceral and taste pathways:from periphery to sensory cortex. Brain Res. 299 : 297-311, 1984.
- Mark, G. P., Weinberg, J. B., Rada, P. V. and Hoebel, B. G. Extracellular acetylcholine is increased in the nucleus accumbens following the presentation of an aversively conditioned taste stimulus. Brain Res. 688 : 184-188, 1995.
- Neher, E. and Sakmann, B. Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibers. Nature 260 : 779-802, 1976.
- Oomura, Y. Chemical and neuronal control of feeding motivation. Physiol. Behav. 44 : 555-560, 1988.
- Pfaffmann, C. Gustatory afferent impulses. J. Cell. Comp. Physiol. 17 : 243-258, 1941.
- Rogers, Q. R. and Harper, A. E. Selection of a solution containing histidine by rats fed a histidine-imbalanced diet. J. Comp. Physiol. Psychol. 72 : 66-71, 1970.
- Roldan, G. and Bures, J. Tetrodotoxin blockade of amygdala overlapping with poisoning impairs acquisition of conditioned taste aversion in rats. Behav. Brain Res. 65 : 213-219, 1994.
- Rosenblum, K., Meiri, N. and Dudai, Y. Taste memory:the role of protein synthesis in gustatory cortex. Behav. Neural Biol. 59 : 49-56, 1993.
- Sakai, N., Shimura, T. and Yamamoto, T. A search for neural pathway involved in conditioned taste aversion in rats. Fourth IBRO World Congress of Neuroscience Abstracts 393, 1995.
- 桜井正樹 微小イオン泳動法。生体の科学 36 : 416-418, 1985.
- Sandor, P., Hanjnal, A., Jando, G., Karadi, Z. and Lenard, L. Microelectrophoretic application of kainic acid into the globus pallidus. Brain Res. Bull. 28 : 751-756, 1992.
- 澤 幸祐、坂井信之、山本 隆 各種味溶液胃内注入によるc-fos発現の脳内分布。日本味と匂学会誌 2 : 415-418, 1995.
- Shimura, T., Suzuki, M. and Yamamoto, T. Aversive taste stimuli facilitate extracellular acetylcholine release in the insular gustatory cortex of the rat:a microdialysis study. Brain Res. 679 : 221-226, 1995.
- 志村 剛 食塩摂取行動の発現機構。大阪大学人間科学部紀要 21 : 175-197, 1995.
- 志村 剛、Zoltan Karadi、山本 隆 味刺激時の淡蒼球腹内側部グルタミン酸レベルの変動。第72回日本生理学会大会予稿集、1996. 印刷中
- 志村 剛、八十島安伸、坂井信之、山本 隆 味覚嫌悪学習の生理機構。大阪大学人間科学部紀要 20 : 143-166, 1994.

- 十河宏行、畠 哲崇、山本 隆 ラットの咀嚼行動に及ぼす味覚の効果。日本味と匂学会誌 2 : 371-374, 1995.
- Steiner, J. E. Innate, discriminative human facial expressions to taste and smell stimulation. Annals of the New York Academy of Sciences 237 : 229-233, 1974.
- 田淵英一、余川 隆、近藤高史、小野武年、鳥居邦夫 Functional MRIによる各種溶液飲水行動時のラット脳内活動の変化。日本味と匂学会誌 2 : 219-222, 1995.
- 鳥居邦夫 嗜好形成とその変化。臨床栄養 76 : 608-617, 1990
- Ungerstedt, U. Measurement of neurotransmitter release by intracranial dialysis. Ed. Marsden, C. A. Measurement of Neurotransmitter Release In Vivo. John Wiley & Sons, New York, pp. 81-105, 1984.
- Westerink, B. H. C., Hofsteede, H. M., Damsma, G. and De Vries, J. B. The significance of extracellular calcium for the release of dopamine, acetylcholine and amino acids in conscious rats, evaluated by brain microdialysis. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 337 : 373-378, 1988.
- 山本 隆 味覚テスト。生体の科学 45 : 488-489, 1994.
- Yamamoto, T., Fujimoto, Y., Shimura, T. and Sakai, N. Conditioned taste aversion in rats with excitotoxic brain lesions. Neurosci. Res. 22 : 31-49, 1995a.
- Yamamoto, T., Shimura, T., Sakai, N. and Ozaki, N. Representation of hedonics and quality of taste stimuli in the parabrachial nucleus of the rat. Physiol. Behav. 56 : 1197-1202, 1994.
- Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Azuma, S., Bai, W. -Zh. and Wakisaka, S. C-fos expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride. Neuroreport 3 : 1049-1052, 1992.
- Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N. and Sakai, N. C-fos immunohistochemical study on brain-stem mechanisms of conditioned taste aversion in the rat. Fourth IBRO World Congress of Neuroscience Abstracts 393, 1995b.
- 柳浦真美子、塩野 悟、中島道夫、谷藤 学 2波長脳計測光学システムによる味覚野神経活動の画像計測。日本味と匂学会誌 2 : 483-486, 1995.
- 八十島安伸、高橋有理、山本 隆 カルシウム依存性蛋白質キナーゼの味覚嫌悪条件づけ獲得に対する関与。日本味と匂学会誌 2 : 367-370, 1995.

**On the Methods for Behavioral and Neuroscientific Researches in Gustation**

*Takashi YAMAMOTO, Tsuyoshi SHIMURA, Noritaka SAKO, Yasunobu YASOSHIMA and Nobuyuki SAKAI*

Taste stimulation elicits various behaviors from innate acceptance-rejection behaviors to sophisticated feeding behaviors based on learning and memory of taste stimuli. To understand the brain mechanisms underlying these behaviors, experiments should be done with combinations of the modern techniques employed in the field of neuroscience.

We have described such experimental approaches necessary for behavioral, neuroanatomical, electrophysiological, and neurochemical studies on taste and taste-elicited behaviors. The fact that a large amount of important findings by means of these techniques have come from psychologists and/or psychological laboratories of the USA gives a sharp contrast to the fact that essentially no data have been borne by the Japanese counterparts.