

Title	食物選択と情動に関する行動神経科学的研究
Author(s)	坂井, 信之
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3143718
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

食物選択と情動に関する
行動神経科学的研究

坂井信之

目次

序 イントロダクション

食のアメニティ	001
食行動を規定する要因	003
なぜ食べるのか	004
食べ物のおいしさ	007
食べ物と味	010
食べ物とにおい	011
味覚と嗅覚の神経科学的基盤	014
食べ物の嗜好	017
食べ物の嫌悪	022
本研究の目的	026

実験1 様々な無条件刺激を与えたときの味覚嫌悪学習と *c-fos* 発現。

序	028
方法	031
結果	034
考察	038
結論	043

実験2 味覚嫌悪学習の獲得と保持における結合腕傍核内側部と外側部の役割

序	044
方法	046
結果	051
考察	061

実験3 結合腕傍核からの上行性投射路とその機能

実験 3A	
目的	066
方法	068
結果と考察	069

実験 3B	
目的	074
方法	075
結果	077
考察	078
実験 3C	
目的	082
方法	083
結果	085
考察	089
総合論議	089

実験 4 味と匂いの連合学習

序	092
実験 4A 実験に用いる刺激を決定する	
目的	095
方法	096
結果	098
考察	100
実験 4B 実験パラダイムの確立	
方法	101
結果	104
考察	107
実験 4C 破壊行動実験	
方法	110
結果	114
考察	120
総合論議	121

実験 5 受動的回避に関わる脳部位

目的	127
方法	128
結果	131
考察	134

総合論議

味覚嫌悪学習	138
風味条件づけ	143
受動的回避	146
まとめ	148

要旨

付録：神経解剖学的実験

文献

謝辞

序

イントロダクション

食のアメニティ

最近アメニティという言葉や概念を耳あるいは目にすることが多くなった。元来、アメニティとは生活環境の「快適さ」を表す言葉として用いられてきたが、現在では生活環境だけではなく、われわれに「快適さ」をもたらす多様な事象を表現する言葉として広く使われるようになってきた（相良, 1997）。食においてもアメニティに関する研究は盛んになってきており、「食のアメニティ」といった雑誌の特集号が組まれたり、「おいしさの科学」「美味学」といった学術書も出版されている。これらの出版物は、一部のいわゆる美食家のためではなく、一般の人々の生活の質の向上を目指すことを中心に据えている。このような現象は、「食べればよい」から「よりおいしいもの」へといった人々の欲求水準の上昇を示唆するものである（たとえば、青木, 1994；鈴木, 1984）。マズローの欲求階層の例でいえば、生理的欲求から安全あるいはより高次の欲求の充足への欲求水準の上昇が起こっているのであろう。このことを裏付けるように、国民のレジャーに関するアンケートで、男女ともに「グルメ探求」と回答したものが一番多い（国民生活白書, 1994）。

ところが、これらの出版物の編著者には農学や栄養学を専門とする研究者が

多く、食物の形状・生理的意義などの物理・化学的特性やそれらの特性の検出（センサーや分別機械など）を議論する章に紙面のほとんどを費やしており、食行動やその背後にある心理学的、生物学的な側面についてはほとんど触れられていないか、触れられているとしてもほんのわずかでしかない。いわば、全ての人が、どんな場所で、どんな状況で食べても「おいしい」と感じる食べ物を作り出すことを目的としているようである。もちろん、そのような食物の物理・化学的特性が食物の感覚特性や栄養学的特性に関わっていることは明らかであるが、そのこと自体が食行動を誘発しているわけでも、人や動物がそれらの要因に基づいて食行動を行っているわけでもない。たとえば、最近の食品の風味の化学分析の研究を例にとると、食物から香気成分を取り出し、分析機器に注入すると結果が得られるという方法のみを用いた研究が増えてきているという（小林, 1994）。このような研究は食品化学の分野の中でも、「ごみを入れて、ごみを取り出す（garbage in, garbage out）」と表現されている（Block, 1993）が、食べ物の生態学的機能、つまり食品が人や動物にどのような効果をもたらしているのかについては考えられていないのである。人や動物は物理・化学的特性を認知し、それらの特性によって引き起こされる結果とその原因とを結び付け、記憶することによって、食行動を開始したり食物の選択を行ったりするのであって、物理・化学的特性のみによって反射的に行動を起こす生物は少ないことが分かっている。例えば、比較的神経機構が単純なナメクジでさえ食物のにおいと味あるいは食物摂取後の結果とを連合学習することができるのである。このような側面から見れば、人や動物の食行動という観点から食品のおい

しさを解明することも、「食のアメニティ」を構成する一つの大きな柱である
とすることができる。

そこで、本研究では食行動を「人や動物が、特定の物質を選択して、口腔から体内に取り込む過程」と位置づけ、その行動の対象とされる物質を食べ物と呼ぶことにする（今田, 1992）。このような考え方は、「食べ物を摂取する行動が食行動である」と考える食品学、栄養学等の考え方（例えば鈴木, 1984; 相良, 1997）とは異なるいわば人間科学的な食行動の定義である。

食行動を規定する要因

人や動物の食行動には、どのような要因が関わっているのだろうか。中島（1996）は、食行動に関わる要因として次の4つを挙げている。すなわち、生理的要因、認知的要因、物理的・化学的要因、文化的・社会的要因の4要因である。生理的要因は、さらに末梢的要因と中枢的要因とに分けることができ、従来生理学の分野で研究されてきた多くの内容を含んでいる。次の認知的要因のなかで中島は人や動物が食行動中に環境中の情報を用いてコスト（採餌）を計算することを例として挙げているが、カロリー表示などによって食物の選択が左右されるという現象（中島, 1992）もこの要因の中に含まれると思われる。物理的・化学的要因では味覚、嗅覚、視覚といった感覚要因が考慮されている。文化的・社会的要因の中では、女性は少食である方が良いとされる文化圏では、「女性が男性と一緒に食事をするとき、その男性の魅力と摂食量は反比例する」

という研究 (Pliner and Chaiken, 1990) が挙げられている。これらの要因は心理学的な方面から見た日常の食行動に関わる要因であり、さらに栄養学的・生理学的視点、文化人類学的・社会文化学的視点、臨床医学的・異常心理学的視点からも研究が行われていることも指摘されている。

今田 (1992) は、食行動の統制モデルとして、外的変数と心的過程とを考えている。外的変数には、食物の感覚特性や栄養組成、その食べ物についての情報などの食物の属性と気温や湿度を含む環境要因、共食場面などの社会的関係を指す文脈などが含まれる。栄養学や生活科学などの分野から行われている食に関する研究はこれらの要因を扱っている。食行動の研究を心理学的に行なっている今田は、心的過程を感覚感情過程、認知過程、情動過程の3つに大別し、それぞれの過程が上述の外的変数を修飾すると考えている。

ところが、食行動と一口に言っても、その中には摂食行動の他に、選択行動や調理行動など多くの行動が関わっている。例えば、根ヶ山 (1996) は食行動の過程として、選択、獲得、調理、加工、体内過程 (取込→咀嚼→嚥下→消化→吸収) を挙げている。これらの過程において、上に挙げたような諸要因がそれぞれ関わっていると考えると、これだけでもかなり多くの要因が食行動に関わっていると考えざるを得ない。

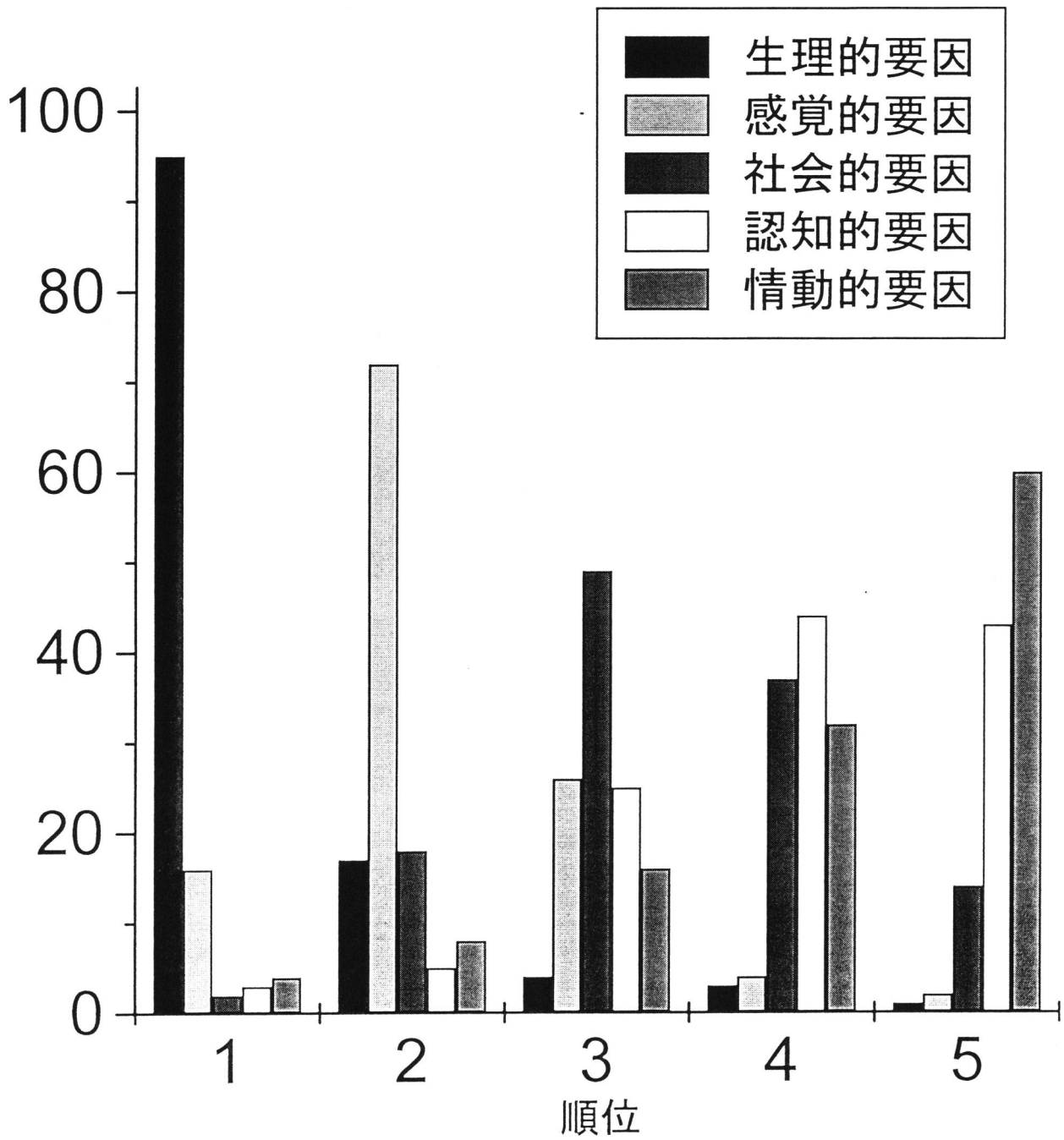
なぜ食べるのか

そこで、本研究では最初にアンケート調査により、人の食行動の開始を決め

る要因について調べ、日常の食行動においてどのような要因が食行動を統制しているのかということ明らかにしようと考えた。

女子専門学校生を対象にして以下に示すような食行動の開始要因についてのアンケート調査を行った。設問の内容は図 1 に示している。専門学校生には、選択肢の内容を捉え、自分が食事を始めようと思うきっかけとして多い方から順に並べるという方法で回答してもらった。選択肢には、「体が求める（お腹がすいた）から」「快感（おいしさ）を求めるから」「食べないと死ぬから、あるいは美容と健康のため」「恐怖・不安あるいは退屈があり、それを軽減したいから」「誰かが食べよう（食べなさい）というから、つきあいのため」という項目を設定した。

順位ごとに各項目の度数分布表を作成した結果（図 1）、「お腹がすいた」から食行動を始める、という選択肢を 120 名中 95 名が一位に挙げていた。この選択肢はお腹がすいたという生理的な欲求を表していると思われるので、以下生理的要因と表すことにする。この選択肢は、中央値が 1 となるので、一番頻繁に現れる食行動の開始要因であると考えられる。次に中央値が若かったのは、「おいしさ」を求めるという選択肢であり、この選択肢は味覚や嗅覚などによって表現される「おいしさ」が食行動の誘因となっていることを示すと思われるので、感覚的要因と呼ぶことにする。以下、「誰かが食べよう」ということから始まる社会的要因、「食べないと死ぬ」という知識が開始させるという知識的要因、「恐怖や不安の低減」など情動性の食行動を示すと思われる情動的要因と続いた。



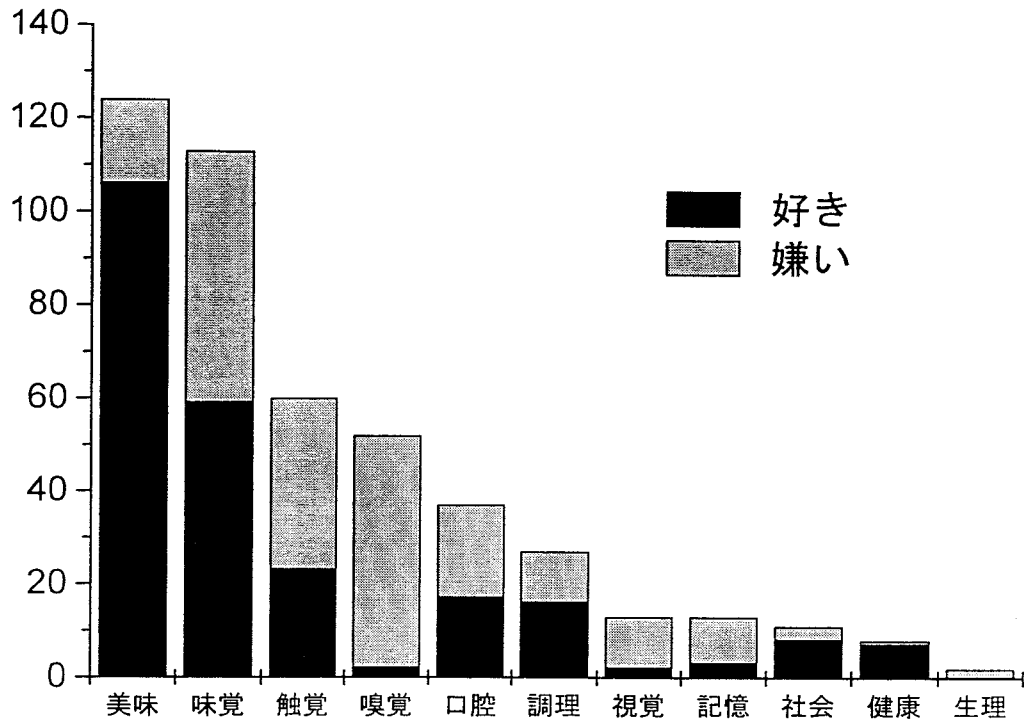
対象：女子専門学校生（18～29歳）

“食事を始めようと思うきっかけは何ですか？”

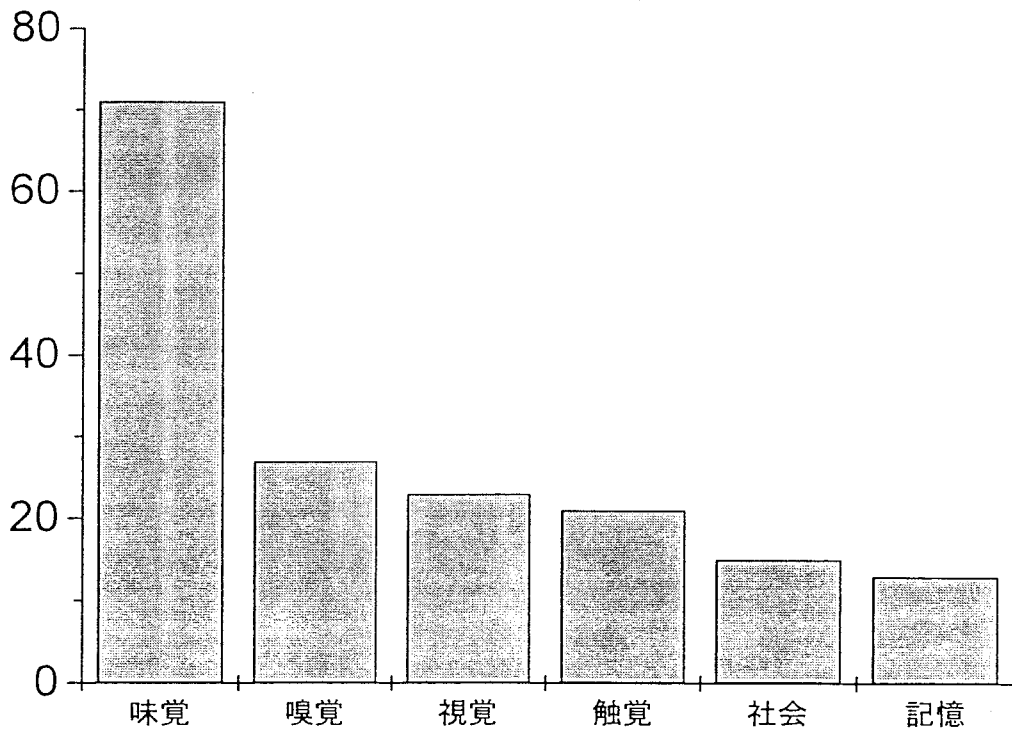
日常よく、「空腹は最高の調味料」だとか「おいしそうな匂いをかいだら食欲がわいてきた」などということがあり、上述の生理的要因と感覚的要因とは「おいしさ」（あるいは満足感をもたらす）という点で密接に結びついている。また、社会的要因、知識的要因、情動的要因なども、社会的満足や代理満足といった形ではあるが、人に満足感を与えていると思われる。しかしながら、これらの要因が日常的な食行動の誘因となっているとは考えがたく、特別な状況下でのあるいは一時的な誘因であると思われる。この点から、本研究では生理的要因と感覚的要因とを中心に論じていくことにする。

食物のおいしさ

それでは、「何を食べるのか」という点についてはどうだろうか？ 前述と同じ専門学校生に対して、いくつかの分類（肉料理、魚料理、お菓子など）についてそれぞれ最も好きなものと最も嫌いなものを列挙させ、その理由について調べるアンケート調査を行った。回答は自由記述方式であったので、その好き嫌いについての理由を質問者側でいくつかのカテゴリーに分類した。結果は図2上に示している。好き－嫌いの判断のもとになる基準で最も多かったのは、「おいしいか－まずいか」であった。おいしい（まずい）という判断には、味覚や嗅覚などの感覚属性からその食べ物に関する知識まで、様々な要因を含んでいる可能性がある。次に多かったのは、口当たり、歯ごたえなどの口腔内の触覚で、以下味覚、嗅覚と続く。ここで特筆すべきなのは、結果では「嗅覚」とま



“好き（嫌い）の決め手となるものは？”



“おいしさの決め手となるものは？”

とめているが、その回答はほとんどすべて「くさい」という言葉を含んでおり、嫌いなものを形容するために使われていたことである。同じように視覚（みため）も嫌いなものを形容するために使われていた。この理由は、口腔内の諸感覚（味覚も含む）はものを口の中に入れてときに初めて感じるができるのに対して、嗅覚や視覚は離れていても知覚できるということであろう。すなわち、まずいものは遠くにあるときから判断できないと口腔内に取り込んで不快な思いを経験してしまう可能性があるため、遠隔系の感覚がその検出を担っているということである。

さらに「おいしいーまずい」という判断を下す理由を聞いたところ、前ページの図 2 下に示すような結果が得られた。この場合も、好きー嫌いの判断と同じように、味覚、口腔内触覚、嗅覚という感覚要因が大きな鍵を握っている。

また、好きー嫌い、おいしいーまずいの両方の質問で他人からの情報、あるいは個人の経験などの知識的要因が嗜好を左右するという回答が得られた。「味や匂いが嗜好の決定要因である」と述べているものの中にも情報や経験が関わっていることを示唆する記述が多かった。アメリカ心理学協会（APA）から出版されている「WHY WE EAT WHAT WE EAT」という本では、「食べ物の好き嫌いは経験や学習によるものである」として、食べ物の好き嫌いに関して学習心理学者や発達心理学者が食物の嗜好について議論している（Capaldi, 1996）。食嗜好のこのような捉えかたは、次節で述べるように人やネズミなどの雑食性の生き物は生得的な食べ物の好きー嫌いは少なく、嗜好の多くは学習されたものであるという実験結果に支持された考えである。これらの点から考えると、

味や匂いに対して生じるおいしさやまずさは、今回のアンケート調査では検出できなかったが、その根本は学習されたものである可能性が高い。

これまでの話をまとめると、「人は食事の多くを満足感を得るために行っており、人に満足感をもたらすものには、味覚や嗅覚、口腔感覚といった感覚的要因が多い。個々人によって満足感を求める対象や水準は異なるが、そのいずれもが学習や経験によって左右されるものであることが示唆される。」ということになる。

そこで、本研究では最初に食物摂取における感覚的要因について述べ、その後で学習・経験的要因について述べることにする。

食べ物と味

生き物は生きていくために栄養のもとになる物質を摂取しなければならない。我々の祖先は生きていくうえで必要なものを的確に選び、生き延びてきた。その結果、食物摂取に有利となるように進化した感覚器官ができた。つまり、我々人間や霊長類等は視覚、イヌや齧歯類等は嗅覚、コウモリは聴覚というように餌を見つけるために異なった感覚が発達してきたのである。しかし、その餌を摂取すべきか忌避すべきかを最終的に決定する感覚は、ほとんどすべての種において、味覚が担っている。そのため、新生児やあるいは無脳児さえも、生まれながらにして味覚に対する反射を備えているのである。すなわち、炭水化物（糖類）などエネルギー源のマーカである甘味や、蛋白源のマーカである

アミノ酸系の旨味、ミネラル類のマーカ―となる塩味などを呈する溶液を口に入れられた新生児は、顔面を弛緩させ、あたかも満足しているような表情を見せる。また反対に腐敗物のマーカ―である酸味やアルカロイド類などの毒物が呈する苦味に対しては、唇をすぼめるなどの拒否的な反射行動を示す。いわゆる基本味と呼ばれている味は生物学的な意義をもっており、基本味に対する反応は生得的なものである可能性が大きい。このような反応は味覚顔面反射 (gustofacial reflex) と呼ばれており (Steiner, 1974, 1994)、類似の味覚誘発の運動性反射行動 (taste reactivity) はラットでも見られる (Grill and Norgren, 1978a)。無脳児や視床の一部である上丘以上のレベルで前脳を切断された動物でも同じような反応が見られることから、これらの反射行動は、必ずしも大脳皮質の関与を必要とせず、脳幹レベルで行われていると考えられる。

我々人間や齧歯類は雑食性であり、様々な物を試食し、最適の食物を探して生き延びてきた。ところが、自然界にはフグ毒のように口当たりが良くても生物体にとっては毒となるものもあり、当然これらの食物は「食べるに適するもの」とみなされてはいけない。このような経験は記憶され、その後の快適な食生活を支える大事な要因となる。

食べ物とおい

食べ物を口の中に入れた時に、我々は「味がする」と感じる。ところが、味覚生理学で扱われている狭義の味には前に述べた 4 つあるいは 5 つの基本味し

が含まれていない。我々が味と感じるその他の要因は味覚受容器以外の感覚受容器によって引き起こされているのである。その他の要因の中には辛さや渋さ、口当たりなどの触覚や嗅覚受容器を刺激する嗅覚などが含まれる。石倉（1992）によれば、鼻でくんと嗅ぐにおいては英語で *aroma*、食べ物が口の中に入ったとき起こる揮発成分による感覚は他の感覚要因と合わせて *flavor* と呼ばれている。ところが、これに相当する日本語は見受けられない。先ほどの広義の味に含まれる嗅覚成分は、*flavor* なのである。Rozin（1982）によれば、人は狭義の味（*taste*）と *flavor* との区別をつけるのは難しく、*flavor* と *taste* を区別する単語を持つ言語もほとんど見られない（わずかにハンガリー語とフランス語に見られるだけである）。普段何気なく味を感じて食べていても、風邪を引いたときなどに鼻がつまっていると「変な味だな」と思うことがある。通常ものを食べているときには、食べ物の揮発成分が口蓋の裏側から呼気と一緒に鼻腔を流れている（Duffy and Bartoshuk, 1996）。その時に嗅覚受容器が興奮させられておいの感覚が生じており、味覚受容器を刺激する味や三叉神経を刺激する辛さや触覚などと一緒に *flavor* として感じ取られるのである。ところが、風邪などをひいて鼻がつまると、空気が流れないので嗅覚受容器が刺激されることもなくなる。そうすると、記憶されている味とは異なったように感じられて「おやっ」と思うのである。

興味深いことに *aroma* と *flavor* とは、（日本語は別として）言語的にも知覚の上でも弁別できる。たとえば、「臭くて鼻がまがるかと思うようなチーズであっても、口の中に入れてみたらおいしかった」という経験などがその例である

(Rozin, 1982)。この現象は動物実験によっても確認されている。たとえば、におい物質をろ紙に含ませたものを提示した環境中でラットに水を飲ませ、その後動物に不快感をおこさせても、動物はそのにおいに対して嫌悪条件付けを獲得することは出来ない (Garcia, Hankins and Rusiniak, 1974)。ところがにおい物質を水の中に含ませておけば、動物はその匂いがする水を飲まなくなる、つまりそのにおいのする水に対して嫌悪を獲得できるのである (Slotnick, Westbrook and Darling, 1997)。この条件付けは第一次嗅覚中枢である嗅球を破壊すると獲得出来なくなるので、におい物質が口腔内の感覚 (触覚や味覚) を引き起こしたことによって学習が成立したという考えは排除できる。

このような現象は、生態学的に理にかなっている。においというものは、原則的に、外界を知覚する感覚であり、配偶者を見つけるという種保存的な重要性と獲物の位置を知るためあるいは捕食者を知るためという個体保存的な重要性とを含んでいる。これら全てにおいて、知覚の対象となる事物は外界に存在しているのである。それ故外界知覚としての嗅覚は、たとえば痛覚と連合しやすい (Garcia, Kovner and Green, 1970) など、外界の事物との関連が深い。だから、まだ口の外にある食べ物のおいというものは、「くさい」という形容詞で忌避する理由の一つとなるのであろう (アンケート調査の結果を参考)。ところが、一旦口の中に入ってしまうと、上に述べたような遠隔受容感覚としての特徴よりも、内的感覚 (味覚や内臓感覚など) と同じような機能を要求され、そのものを摂取したらどのような結果が起こるのか (つまり快感を生じさせるのか、それとも不快感や身の危険につながるのか) ということを予期する役割

を果たすことを期待されるのである。このような嗅覚の二重の機能については、テオフラストス（紀元前 2～3 世紀）以降様々な議論がなされている（McCartney, 1968; Engen, 1984; Rozin, 1982）が、生物学的にも意味のあるそして興味深い現象である。

味覚と嗅覚の神経科学的基盤

これまで述べてきたように食べ物の選択において、味覚や嗅覚が重要な役割を果たしていることが示唆される。人や動物は食べ物のにおいや味を知覚し、その知覚に関わる情報を処理して、その食べ物を摂取するか否かを決めるのである。ここで生じる情報には、刺激の物理化学的な特性に関わる感覚的要因やその感覚によって引き起こされる快－不快を始めとする情動的要因、その感覚にまつわる意味記憶やエピソード記憶などの認知的要因が含まれるであろう。様々な神経科学的実験から得られた知見によれば、これらの過程に脳を中心とした神経系が関わっていることは間違いない。手始めにこの項では、食行動に関わる脳内情報処理の入力部となる味覚や嗅覚の神経基盤を略述しておく。

味覚に関わる神経機構

口腔内に入ってきた味物質は、舌や口蓋、咽頭、喉頭に分布する味蕾を刺激する。味蕾の中には味細胞と呼ばれる特殊化した細胞があり、味孔から微絨毛を出している。この絨毛上には味物質を感知する受容体が存在しており、味物

質の種類に応じたトランスダクション機構により味細胞内に受容器電位が発生する。受容器電位は味細胞底部で神経伝達物質を放出し、味覚神経にインパルスが発生させる。舌前方部の茸状乳頭中の味蕾から生じた神経インパルスは顔面神経の枝である鼓索神経、舌後方部の葉状乳頭・有郭乳頭中の味蕾は舌咽神経の舌枝、咽頭部・喉頭蓋の味蕾は迷走神経の枝である上喉頭神経、そして軟口蓋の味蕾は顔面神経の枝である大浅錐体神経により伝達される（山本、1997）。各味覚神経は延髄の孤束核(nucleus of tractus solitarius; NTS)に終止する。NTSは吻尾に長い構造をしており、各味覚神経による情報は吻側に投射し、内臓感覚性の情報が投射する尾側部とは解剖学的に区別されている。NTSから上位中枢に対する味覚情報の投射路は、動物種により差が認められ、サルでは同側の視床の後内側腹側核小細胞部(parvicellular part of ventroposteromedial thalamus; VPMpc)へ直接投射するのに対して、ネコ、ウサギ、ラット、ハムスター等の哺乳動物では、同側の橋結合腕傍核(parabrachial nucleus; PBN)に投射する。PBNの内側部は味覚情報を受け、外側部は一般内臓性の感覚情報を受ける。PBNからは背側路と腹側路の2つの経路で上行する。背側路は両側のVPMpcでニューロンを替えて大脳皮質味覚野(cortical gustatory area; CGA)へ、一部は同側優位性にCGAへ直接投射する経路である。また、PBNからの腹側路は、視床下部（外側野、室傍核）、扁桃体（中心核）、分界条床核などへ投射する経路である（Norgren, R., 1984）。背側路は味の強さや質の分析を行い、腹側路は味刺激による快・不快の情動行動や食欲などに関係する（山本、1997）。

嗅覚に関わる神経機構

空気中に浮遊している揮発成分は、呼吸とともに人の体内に入り、においの感覚を生じさせる。空気中に漂っているにおい物質は、外鼻孔を通過して鼻腔に到達する (Duffy and Bartoshuk, 1996)。嗅裂に達したにおい物質は、鼻腔の天井にあたる嗅上皮に存在する嗅細胞を興奮させる。嗅細胞の軸索は第 I 脳神経である嗅神経を形成し、嗅球へと投射する (Engen, 1984)。糸球体でシナプスを形成した後、嗅球にある僧帽細胞が嗅球で処理された情報を嗅索を通して中枢へ伝達する (Bear, Connors and Paradiso, 1995)。

嗅覚の求心性投射路については未だに一致した見解が得られていないが、嗅覚の情報投射がユニークな特徴を持っていることは明らかである。すなわち、他の感覚の情報は (いくつかの中継核を経て) 視床を經由して大脳皮質感覚野へと伝達されるのに対して、嗅覚の情報はまず大脳皮質へと投射しそれから視床を含む様々な脳の領域へと投射しているのである (Bear ら, 1995)。ただし、一部には視床背内側核を經由して大脳皮質へと投射する経路もあることが知られている (Yarita, Iino, Tanabe, Kogure and Takagi, 1980)。一次嗅覚皮質と考えられている部位は、嗅結節・梨状葉前野・扁桃体・嗅内野を含む梨状葉である (遠山, 1987)。梨状葉からの情報は、視床背内側核や外側視床下部、島皮質 (味覚野が存在する)、扁桃体基底外側核 (basolateral amygdala, BLA)、海馬、眼窩前頭葉皮質 (orbitofrontal cortex, OFC) などへ投射することが知られている (Bear ら, 1995; Brennan and Keverne, 1997; 小野田, 1993; Shepherd, 1994)。

扁桃体や OFC はにおい情報の情動的な側面の処理に関わっていると考えられ

ている (Zald and Pardo, 1997) が、中でもサルの OBF には味覚や嗅覚、食べ物の視覚刺激などに応答するニューロンが存在することが確認されており、OBF が食行動に深く関わっていることが示唆されている (Rolls, 1997)。

食物の嗜好

食べ物の味やにおいを「好きになる」過程にはどのような原因がみられるのだろうか。学習心理学の立場から食物嗜好を論じている長谷川芳典 (1991、1996) は、①生得的に好まれる味との複合摂取、②エネルギーの補給、③特定栄養素の補給、④条件制止手続き、⑤味覚刺激と催吐剤の逆提示、⑥個体間伝播、⑦社会的強化、⑧初期の摂食経験、⑨脳内報酬刺激の 9 点を挙げている。学習心理学者である Capaldi (1996) によれば、4 つの要因が考えられるという。すなわち、(1)経験すること、(2)医療効果、(3)風味－風味間の学習、(4)風味－栄養間の学習の 4 つである。(1)には、長谷川のいう⑧が、(2)には③と⑤とが、(3)には①が、(4)には②が含まれているが、社会活動を営む人間にとって多く見うけられる⑥と⑦の要因については、Capaldi の論文では触れられていない。ちなみに長谷川が挙げている④と⑨の要因は実験室内でのラットを用いた研究にのみ当てはまる現象である。そこで本項では、Capaldi が挙げた四つの要因と長谷川が触れている社会的文化的要因 ((5) とする) との合計 5 つの要因について詳しく触れることにする。

(1) 経験すること (mere exposure) : Mennella と Beauchamp (1996) は、にんにくあるいはバニラのおいがるカプセルを授乳中の女性に3日間摂取させ、その後に授乳するように教示を行った。4日目に彼女らの子どもに対してにんにくとバニラのおいがる人工乳首をくわえさせたところ、乳児は母親が摂取していたほうのおいがる乳首を強く長く摂取したことを報告している。においカプセルを摂取した後に、(訓練を受けた人が) 母乳のにおいを評定したところ、それらの母乳は母親が摂取したカプセルのにおいを呈していることが分かった。この結果は、「乳幼児が母乳を通じて母親の摂取している食べ物を経験している」ということと「乳幼児は経験したことがある風味を新奇な風味よりも好む」ということを示している。また、雑食性の動物には新奇性恐怖 (neophobia) という現象がみられる。今まで経験したことがない新奇な味やにおいのある食べ物を提示されると、人やラットなどの雑食性の動物はその食べ物を摂取することを避けるか、摂取するにしてもごくわずかな量を摂取するのみであることを指す。この現象は、それらの食べ物を繰り返し経験して、摂取しても何の不都合もないことがわかると消失する。

(2) 医療効果 (medicine-effect) : 動物をある不快な状況下に置き、それからの回復とある風味を呈する食べ物とを対提示すると、動物はその食べ物を好むようになる。これが medicine effect と呼ばれる現象である。たとえば、動物にビタミン B1 であるチアミンを欠いた食事を与え続けると、その動物はチアミン欠乏状態に陥る。そのようなラットにチアミンを含んだ食べ物を与えると、動物は

チアミン欠乏状態から回復し、体調が改善した後もその食べものを好むようになる (Zahorik and Maier, 1969)。ところが、この現象が見られるのは実験室内でのラットであり、人間には見られない (Pliner, Rozin, Cooper and Woody, 1985)。事実、飲みすぎた後で飲む胃薬なども、それを飲めばすっきりとしたいい気分になれることがわかっているにもかかわらず、毎回飲むたびに「苦く嫌な味」であることには変わりがない。「良薬口に苦し」という言葉も人間には medicine effect が見られないことを表しているのではないだろうか。

(3) 風味－風味学習 (flavor-flavor learning) : 被験者に新奇なおいにする 2 種類のハーブティーを与える。片方のハーブティーには蔗糖を加えるが、もう片方には砂糖は加えない。2 種類のティーを (mere exposure の効果が出ないように) 同じ回数だけ提示し、それぞれの味について評価させる。対提示の一週間後に、それぞれのティーに砂糖を加えたものと加えないものとを被験者に提示し、また同じように評価させる。その結果、被験者は最初の提示時に砂糖を加えられていたハーブティーに対してより強い嗜好を示すようになった (Zellner, Rozin, Aron and Kulish, 1983)。このように、生得的に好まれる味 (甘味) と中立的なおいとを対提示するとにおいに対して嗜好が形成されるという現象を風味－風味学習と呼ぶ。ただし、Zellner らの実験では、カロリーを含む蔗糖溶液を用いているので、後で述べる風味－栄養学習を被験者が行ったためだとも考えることが出来る。しかしながら、彼らの実験で用いられている濃度と量であれば、絶食条件下におかれているわけでもない被験者にとってカロリー上の利

点はほとんどない。しかも動物実験において、蔗糖のかわりに甘い味はするがカロリーはないサッカリン溶液を用いても同じように嗜好は形成される (Fanselow and Birk, 1982)。我々がコーヒーを飲めるようになるまでの過程も同じようなものであろう。苦いコーヒーは子どもは飲めないが、薄いコーヒーに砂糖をたくさん入れて飲んでいるとそのうちコーヒーの匂いが好きになる。このような経験が続けば、砂糖もミルクも入れない「苦い」コーヒーも好きになってくるのではないだろうか。

(4) 風味－栄養学習 (flavor-nutrition learning) : 手続きの上では風味－風味学習と共通するところが多いが、風味－風味学習と異なるところが二点あり、それらは以下のように集約できる。I. 風味間の学習においては味とにおいとを同時に提示する必要があったが、風味－栄養学習ではにおいと味溶液の提示とが時間的に離れていても獲得できる (Capaldi, 1992)。II. 風味－栄養学習では、味の好ましさの要因は必ずしも必要ではなく、味溶液が含むカロリーが嗜好の強さを決定する (Mehiel, 1991)。III. 風味－栄養学習では、必ずしも味の情報が必要なのではなく、においを嗅がせたあとで、経口的ではなしに栄養を与えても (チューブを用いて経胃的に栄養を注入するなど)、においに対する嗜好が獲得される (Elizalde and Sclafani, 1990 ; Sclafani, 1991)。

(5) 社会的文化的要因 : 野生のニホンザルやチンパンジーにおいて、新奇な食べ物が導入された場合に、最初に食べ出すのは若い個体であるが、その行動は

若い個体から親や上位のサルへと伝播されることが知られている（河合, 1997; 松沢, 1997）。Hikamiら（1990）は、ニホンザルの親子において伴食経験を通じて母親と子どもが同じような嗜好を形成するようになることを実験的に示している。人においても、最初に述べたアンケート調査にあったように、「家族がおいしそうに食べているのを見て私も好きになった」という経験を持つ人も多い。「コマーシャルを見て」好きになる人も多いことも報告されている。さらに、社会的文化的な食習慣が地域によって様々であり、その習慣に合わない食べ物は好きになれないというのはよく見かける現象である。ただし、このような現象は社会生活を営むことがないような動物では見られず、言語を持った人間において一番発達しているものと思われる。

人の食物嗜好を研究している Zellner（1991）は、上に挙げた 5 要因の他に、唐辛子料理が好まれる理由として「良性のマゾヒズム」「相反過程理論」「期待を裏切られること」などが考えられると述べている。良性のマゾヒズムとは、最初は嫌悪的であるピリピリとする刺激感自体が快に変わっていくことを意味している。また、相反過程理論とは、「辛いものを食べると内因性のオピオイドペプチドが分泌されるが、辛いものを食べ続けると辛さに慣れ、オピオイドペプチドにより喚起される快感のみを感じるようになる」という仮説を提示できる。期待を裏切られることについては、「まずいと思って食べたら意外においしかった」という経験がその食べ物に対する好ましさを上昇させるという考え方である。

発達心理学的に食物嗜好の形成を見た場合、親しみやすさあるいは単に経験を重ねること（単純接触説）、社会文化的ルール（「この食べ物は夕食に食べるもの」などの観念）、社会的相互作用（何らかの行為の報酬、あるいは大人との会話など）、モデリング（仲間が食べるかどうか）などが嗜好形成の要因として挙げられる（長谷川智子、1996）。また、ブラックコーヒーや辛い料理などを「大人になりたい」という動機から摂取し始め、摂取を繰り返すうちにその味が好きになるということもあるだろう。これなどは、社会や文化的背景、友人の（無言の）圧力、多くの経験など様々な要因が重なっている例である。

これらの要因はすべて、人や動物の食物に対する好ましさを変化させ、食物の選択肢の幅を広げさせることにより、環境によりよく適応させるように働いている。このようなメカニズムを基に、子どもから大人に至るまで食の嗜好がダイナミックに変容していることが推測できる。

食物の嫌悪

鮮やかな黒と金色の帯模様のついた朱色蛾の幼虫を与えると、ヒヨコは糞を食べたときと同じ様な反応をしめし、2、3度つついた後では、ヒヨコ達はいつもこの種の毛虫を避けるようになったということ、Morganは1894年の著書で述べている。彼はこの現象をその毛虫のけばけばしい縞模様の知覚と不快な味覚体験とが連合されることによると解釈している(Boakes, 1984)。また、ネズミ駆除を試みていた農夫は、強力な毒物を餌に混ぜてもネズミを駆除できな

いことを見つけていた。ネズミは新しい食物を見つけるとごく少しだけ食べてみてその結果病気になれば、その後はその餌を避けるようになるからである (Logue, 1979)。これらの現象は食物嫌悪学習の一例であるが、20 世紀前半までは実験的・体系的に調べられなかった。

この現象を最初に実験的に行ったのは Garcia らである (詳しくは Seligman and Hager, 1972)。そのため、味覚嫌悪学習はガルシア効果と呼ばれることもある。彼らはラットに放射線を照射すると、照射後の摂食量が減ることにヒントを得て、次のような実験 (Garcia and Koelling, 1966) を行った。ラットが飲み口をなめると光が点滅し、クリック音がする装置を取り付けた実験箱内でラットにサッカリン溶液を摂取させ、その直後に塩化リチウムによる不快感あるいは肢への電気ショックと連合させる。このような対提示を 3 回繰り返した後に光と音の視聴覚刺激を伴う水、あるいは視聴覚刺激を伴わないサッカリン溶液を提示し、その摂取量を調べた。その結果、電気ショックを与えられた群は光や音を伴う水の摂取量が減少したのに対して、塩化リチウムを投与された群はサッカリン溶液を摂取しなくなった。つまり、サッカリンに対する味覚嫌悪学習が起ったのである。Garcia らは、この現象を味覚-内臓感覚はともに内的環境のモニターであり、視覚・聴覚-痛覚は外的環境のモニターであるために連合されやすいが、視覚・聴覚-内臓感覚や味覚-痛覚などの組み合わせはその所属性 (belongingness) が異なるために連合されにくいのではないかと考えた (Garcia, Hankins and Rusiniak, 1974)。この後、さらに味覚嫌悪学習の行動実験が続き、その結果、いくつかの味覚嫌悪学習の特徴が従来の古典的条件付けの概念にあて

はまらないことが解ってきた。連合選択性（ラットでは味－内臓不快感、サルやハトでは視覚－内臓不快感など）、一回の対提示による獲得可能性、刺激間の長期遅延の可能性（条件刺激－無条件刺激の遅延が12時間以上でも獲得可能）等の点である。これらの点をふまえて Seligman は 'prepared learning' という概念をうちだした（Seligman, 1970）。この概念の中で、彼は prepared association（生物学的に準備された連合）は消去や罰などの変化に対して高い抵抗を持っており、認知的な仲介は必要ないが、より準備性の低い学習、つまり unprepared あるいは contraprepared situation では認知的なメカニズム（期待、注意など）が関与してくるのではないかと考えている。さらに、彼は Thorndike が問題箱の問題の議論のなかで、『（ある問題箱を解く時間が他の問題箱を解く時間より有意に長かったことを受けて）このようなある行動とある決まった感覚の間に神経的な結合がなかったということがあれば、それはこのような連合の形成が難しいという原因にぴったりとあてはまるだろう』と述べていること（Thorndike, 1965）を引用し、このような preparedness の程度の違いは神経構造の違いに帰することが出来るだろうということを述べている（Seligman, 1970）。別の表現を借りれば、味覚嫌悪学習は、自然選択圧を受け発達してきたが、その中には神経回路網の発達も含まれていた（Rozin and Kalat, 1971）のではないかと。つまり、味覚嫌悪学習は適応するための本能的な学習であり、そのため、比較的シンプルな独立した神経メカニズムの存在が予想されるのである。

このような味覚嫌悪学習は我々の日常生活においてもよく見られることである。例えば、Seligman は、ある晩にベアルヌ風ソースがかかったフィレ・ミニヨ

ンを食べた。その数時間後に、流感のためにひどく吐き気を催した。その結果、次からベアルヌ風ソースを食べようとしても、その味が我慢出来ず、そのソースのことを考えただけでも吐き気を催すようになった(Seligman and Hager, 1972)。

人間の食物嫌悪についてのいくつかの報告(Bernstein, 1978; Bernstein and Webster, 1980; DeSilva and Rachman, 1987; Garb and Stunkard, 1974; 今田と山下, 1989, Logue, Logue and Strauss, 1983; Logue, Ophir and Strauss, 1981; Midkiff and Bernstein, 1985; Pelchat and LaChaussee, 1994; Pelchat and Rozin, 1982)をまとめてみると次のようになる。

1. 多くの人は何らかの食物に対して嫌悪を持っている。
2. 嫌悪は消化器系の症状（吐き気、嘔吐等）が原因となっていることが多い。
3. 視覚や嗅覚よりも味覚が嫌悪の対象となりやすい。
4. 一回の連合によって獲得される。
5. 刺激間の長期の遅延が可能である。
6. 認知的な変化を受けにくい（例：車酔いで気分が悪くなったのに、車の中で食べていたお菓子に対して嫌悪が起こるようになった）。
7. 味覚嫌悪の獲得には臨界期がある。

これらの特徴の大半は動物の味覚嫌悪学習の特徴と重なるので、動物の味覚嫌悪学習の研究を人間の食物嫌悪の現象に対処するために利用しようという動きがある。例えば、癌の治療のために化学療法や放射線療法を受けている患者のなかには食物嫌悪の症状を示し、栄養不良に陥る人がいる。それらの人には療法の不快感と治療前に食べた食事との間に連合が起こり、その食事に対して食物嫌悪を獲得していると考えられる。そこで、それらの食物嫌悪の軽減のために、治療の直前に新奇な味のする菓子を与え、その菓子に対して味覚嫌悪を獲得させ、食事に対する嫌悪を少なくしようという臨床的研究もある(Bernstein and

Borson, 1986; Bernstein, 1991)。

本研究の目的

このように味覚嫌悪学習は、動物、ひいては人間の生存を確かなものにするために必要不可欠なものであり、この味覚嫌悪学習のメカニズムを解明することは心理学的、生物学的、神経科学的のみならず、臨床的にも価値あることであると思われる。

そこで私は本研究において、ラットを用いた行動神経科学的実験から、食物選択時において作用する認知的要因と感覚的要因とに関する研究を行うことにした。ラットを用いて人の行動を研究するということには、メリットとデメリットとがある。メリットは、ラットは生まれてから経験している食行動のバリエーションが少ないので食物選択に対する実験的介入が効果的であること、実験動物として飼育・頒布されているので生理的な介入を許されること、実験動物として最も多く利用されているので比較・引用できるデータが多いことなどが挙げられる。それに対して、デメリットとしては、ラットは話すことが出来ないので行動から推定できることには限界があること、人は言語を用いることが出来る社会的生物でありそれぞれの個体の相互作用によって行動が規定される場合が多いが、このようなことはラットでは研究できないことなどがある。つまり、ラットを用いた実験によって得られる結果には限界があり、その結果をそのまま人の行動の解釈に用いることはできないのである。このような制約

にも拘わらずラットを用いる研究を行うのは、社会的、文化的多様性に関わらずすべての人の行動を一般的に説明できうるような要因を検索するには、生物学的に異なった種においても同様の現象が見られることを確認し、それが脳神経系の機能に還元出来ることを確かめることが第一であると考えからである。

また、食行動を統制する要因を認知的要因と感覚的要因に絞った理由は、前に挙げた女子専門学校生を対象としたアンケート調査などから、これら 2 つの要因が食行動を規定する大きな要因として考えられたからである。つまり、人の食物選択（たとえば好き嫌い）は各個人の経験を中心に形成され、その対象は味覚・嗅覚を中心とする感覚的要因に向けられていることが多いのである。私は、ラットを用いて実験的に好き嫌いを獲得させ、その行動科学的あるいは神経科学的本質を調べることによって、人の食物選択に関わる情動的要因（好き嫌い）に対する理解を深めることが出来ると信じている。

実験 1

様々な無条件刺激を与えたときの味覚嫌悪学習と *c-fos* 発現。

序

味覚嫌悪学習（以下 CTA）は、味に関する学習や記憶に基づいて毒のある食べ物を摂取することを避けるという適応的な行動の一つである。CTA は味覚性条件刺激（CS）と内臓不快感をもたらす無条件刺激（US）とを一回対提示するだけで、長期持続性の強い学習が起こるという特徴で広く知られている（Garcia, Hankins and Rusiniak, 1974）。CTA は、CS が US に先行して起こる時のみ獲得されるという点で古典的条件づけ（パブロフ型条件づけ）の一種であると考えられている。

人間では、胃腸の不快感や嘔吐を催させるような薬物は効果的な US である（Pelchat and Rozin, 1982）。動物実験では、CTA を獲得させるために様々な薬物が用いられてきた（Riley and Tuck, 1985; Gamzu, Vincent and Boff, 1985）。最も良く使われる US は、塩化リチウムや硫酸銅、アルコール、アポモルヒネなどの催吐性の薬物や X 線照射、体の回転などである（Riley and Tuck, 1985; Gamzu, Vincent and Boff, 1985）。興味深いことに、ヒトやサル、ラットにおいて習慣性が報告されているモルヒネ、コカイン、アンフェタミンなどの報酬性の薬物も、条件性場所嗜好（これらの薬物の注射と対提示された場所

を好むようになること)や自己投与に効果的な濃度で US として作用するのである (Hunt and Amit, 1987; Parker, 1995)。しかしながら、すべての嫌悪的な刺激が CTA を誘発するのではなく、例えば痙攣を引き起こすようなストリキニーネや肢への電気ショックなどは、US として用いても効果がないことが知られている (Berger, 1972; Pelchat, Grill, Rozin and Jacobs, 1983)。

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。現在行動生理学研究室では *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、免疫組織化学法を使えば、特別な装置なしに可視化できる (方法については付録を参照)。行動生理学研究室では、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 ら 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 ら 1994b)、味覚嫌悪学習にともなう神経興奮性の可塑的变化 (Yamamoto ら 1994a) などが挙げられる。

Swank らは、報酬性のアンフェタミンの投与あるいは催吐性の塩化リチウム投与が、共に孤束核の間質核、やや程度は落ちるが最後野や尾側の孤束核において *c-fos* に対する免疫活性を上昇させることを示した (Swank, Schafe and Bernstein, 1995)。これらの3領域では、塩化リチウムを投与したときには、

アンフェタミンを投与したときの2~3倍の活性を示した。同じように結合腕傍核外側部でも、塩化リチウム、アンフェタミン共に有意な *c-fos* 活性を示した。さらにアンフェタミンは線条体の細胞も活性化させたが、塩化リチウムを投与したときにはこれらの細胞の活性化は見られなかった。

従来の研究では、いくつかの US のみを取り上げた実験が多く、それらの実験結果すべてが必ずしも共通しているわけではない。すべての US を共通の手続きによって CS と連合させる行動実験が必要であり、このような行動実験を行わない限り、刺激が US として利用できるか否かということを決めることは出来ない。さらに、二種類以上の US によって共通に活性化される脳部位に関する研究としては、Swank らの研究 (1995) の他には報告されていない。

上に挙げたような CTA を引き起こす様々な US が、脳の特定の部位を活性化させるのであれば、その様な脳の部位が CS-US 連合あるいは US 情報の処理に深く関わっていることが示唆される。本実験では、行動実験と神経解剖学的実験より、CTA における US の処理に関わる脳部位を検索する。具体的には、前述の様々な US を処置された動物が、US に先行したサッカリン溶液 (CS) に対してどの程度の CTA を獲得することができるかということを行行動実験により検証し、並行してそれらの US を動物に投与したときに、脳のどの部位を活性化させているのかということ *c-fos* を指標とする神経解剖学的研究により明らかにするのである。この二つの実験から得られた結果を基にして、CTA を引き起こす処置に共通して活性化される脳部位を探し出すことによって、その部位が CTA の獲得に深く関わっていることが示唆されるのである。

この結果はすでに英文雑誌に投稿し、掲載されている (Sakai and Yamamoto, 1997)。

方法

被験体

成熟 Wistar 系アルビノ雄性ラット 30 匹 (日本動物株より購入) を用いた。実験開始時の体重は 250~300g であった。購入後は個別ケージ (プラスチック製) で飼育した。実験開始前は固形飼料 (オリエンタル酵母: MF)、水道水を自由に摂取させた。飼育期間中すべてに渡って、飼育室は人工照明を使用し、午前 6 時~午後 6 時を明期、午後 6 時~午前 6 時を暗期とする明暗サイクルと室温 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ を保った。その他、飼育に関しては鈴木 (1981) によった。

トレーニング

実験開始の 1 日前にホームケージで約 20 時間被験体を絶水状態においた。その際、固形飼料は自由に摂取させた。トレーニングでは、毎日 20 分間被験体に蒸留水をそれぞれの個別ケージ内で自由に摂取させ、その飲み量と被験体の体重とを測定した。被験体は、午後 5 時から翌日の訓練時まで絶水状態に置き、固形飼料のみ自由に摂取させた。

行動学的実験

行動学的実験は、種々の US が CTA 獲得にどの程度関わっているかを調べることを目的とした。上述のトレーニングを施したラットに、通常の水の代わりにサッカリン溶液を 20 分間 CS として与え、その後以下に示すいずれかの US を処置した。用いた US は、大きく分けると物理的処置と薬物的処置とに分けることができる。物理的処置としては、X 線照射 (1 Gyn/4min, n=4)、肢への電気ショック (2 mA の強さで 1 秒間, n=4)、体の回転 (ラットを扇風機を改造した装置に拘束し 1 分間に 80 回転の速さで 10 分間回転させた, n=4) のいずれかを行った。薬物的処置としては、0.15 M 塩化リチウム (0.15, 0.30, 0.60, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0 mEq/kg, 各投与量について n=3)、塩酸メタンフェタミン (2 mg/kg, n=4)、塩酸モルヒネ (10 mg/kg, n=4)、0.014 M 硫酸銅 (体重の 0.1% 量, n=3)、硫酸ストリキニーネ (1 mg/kg, n=4)、15% エチルアルコール (体重量の 3%, n=3)、0.3M 高張食塩水 (体重の 0.1% 量, n=3)、0.009M 酢酸 (体重の 0.1% 量, n=3) あるいは生理食塩水 (体重の 2% 量, n=3) のいずれかの腹腔内注射および塩酸コカインの皮下注射 (50 mg/kg, n=4) であった。ラットにサッカリンを摂取させる前後の質量の差をサッカリンの摂取量とし、以下に示す式を用いて CTA の強さの指標 (獲得指数: AI) を算出した (Yamamoto, Fujimoto, Shimura and Sakai, 1995)。

$$AI = (1\text{-テスト日のサッカリン摂取量} \div \text{トレーニング時の蒸留水の摂取量の平均}) \times 100$$

AI が大きければ強い CTA が獲得されたことを示す。

免疫組織化学的実験

行動学的実験終了後のラットに以上に挙げた（行動学的実験で処置した US とは異なる）いずれかの US を処置し、その 2 時間後に灌流・固定した。灌流および固定は、まず動物をネンブタール（80 mg/kg）で深麻酔し、0.02 M リン酸緩衝生理食塩水（PBS）を左心室より注入し、右心耳より血液を流出させた。その後 4 % パラフォルムアルデヒドにより固定し、脳を取り出した。取り出した脳は同液につけ一晩後固定し、20 % 蔗糖溶液に最低でも 3 日間浸漬した。ミクロトームを用いて作製した 60 μ m の凍結切片を *c-fos* 様蛋白質に対してストレプトアビジン-ビオチン法（SLAB 法）で可視化した（付録を参照）。SLAB 法について略述すると、*c-fos* に対するウサギ免疫グロブリン（1000 倍希釈、Oncogene Sci. Inc.）と切片を反応させ（室温で一晩）、次の日にビオチン化されたヤギの抗ウサギ免疫グロブリン（1000 倍希釈、DAKO）と反応させ（2 時間）、さらにペロキシダーゼを結合させたストレプトアビジン（1000 倍希釈、DAKO）と反応させる（1 時間）ことによって脳内に存在する *c-fos* 様蛋白質に対して呈色源であるペロキシダーゼを結合させた。ペロキシダーゼを可視化するために、ニッケル増強した DAB 反応を用いた。すべての反応終了後に、切片を卵白アルブミンスライドガラスに貼り付け、ニュートラルレッドとの対比染色を行った。染色を行った切片は写真撮影し、さらにカメラルシダを用いてスケッチした。*c-fos* 様免疫反応は、陽性反応を示した細胞の数を数えることによって数量化し

た（免疫組織化学・*c-fos*反応のプロトコールについては、付録を参照）。

PBNの垂核の分類は、Fulwiler and Saper（1984）の分類に基づいた。

結果

様々なUSを加えた後で発現する*c-fos*様免疫活性を示すニューロン（以下c-FLIと略す）は、主に最後野（AP）、孤束核（NTS）、結合腕傍核（PBN）に見られた。c-FLIの特に強い発現は、PBNの吻側にある最外側垂核（Pl）の両側に見られた。図3に示す様に、塩化リチウムの腹腔内注射（図3A）や酢酸の腹腔内注射（図3B）、コカインの皮下注射（図3C）、体の回転（図3D）の処置を受けた動物では、Plにc-FLIが見られるが、ストリキニーネの腹腔内注射では、その発現は見られていない（図3E）。c-FLIの発現は、他にPBNの中心外側垂核（Pc）や外部内側垂核（Pm）にも見られている（特に塩化リチウムと高張食塩水の腹腔内注射）。

本研究で用いたUSのほとんどは、APを取り囲むNTSの尾側部（Nc）やAPの吻側で第四脳室に接する間質核（Ni）にもc-FLIを発現させた。図3Fは、硫酸銅を腹腔内注射された動物のNcの交連核におけるc-FLIを示している。図3Gはメタンフェタミンの腹腔内注射後のAPとNcにおけるc-FLI発現、図3Hは高張食塩水の腹腔内注射後のNiにおけるc-FLIの顕微鏡写真である。

図4は、13種のUSにより発現したc-FLIのAP、NTS、PBNでの平均発現

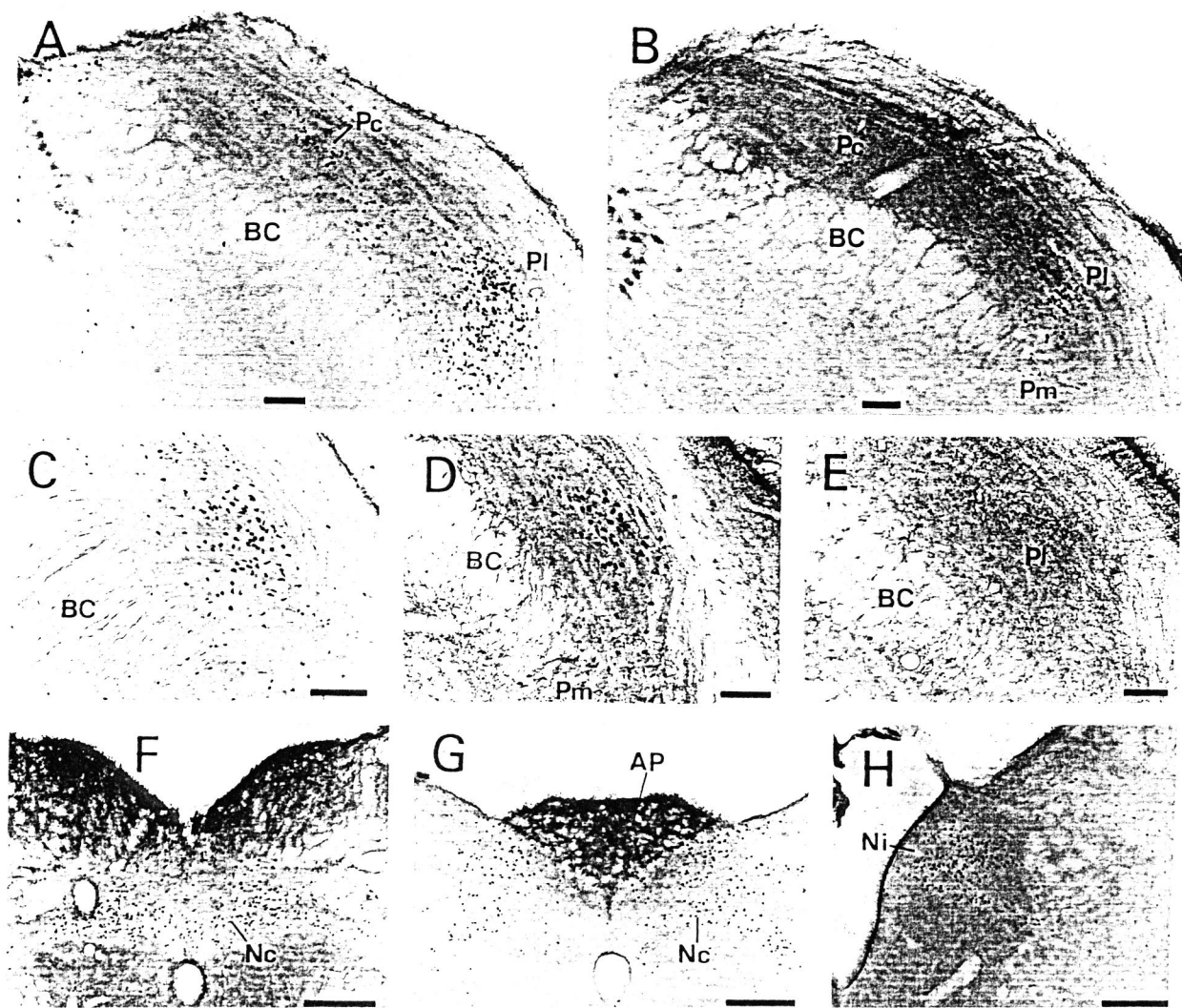


図3
 結合腕傍核 (A-E) および孤束核 (F-H) の顕微鏡写真。黒い点が *c-fos* の発現である。用いた刺激は、塩化リチウム (A)、酢酸 (B)、コカイン (C)、体の回転 (D)、ストリキニーネ (E)、硫酸銅 (F)、メタンフェタミン (G)、高張食塩水 (H) である。BC: 結合腕、Pc, Pl, Pm: それぞれ結合腕傍核中心外側亜核、外部外側亜核、内部外側亜核、Nc, Ni: 孤束核尾側部および間質核、AP: 最後野。横棒は 0.1mm を表している。

数と CTA の獲得指数 (AI) の平均とを示している。US は、それぞれの薬理学的特徴と AI の強さとに従ってならべてある。ストリキニーネや生理食塩水の腹腔内注射、肢への電気ショックなどは CTA の獲得には効果的ではなく、それらを処置した動物で見られる c-FLI の発現も多くはなかった。酢酸や高張食塩水の腹腔内注射は内臓の痛覚受容器や浸透圧受容器を活性化させるが、ごく弱い CTA を獲得させるのみであった。酢酸は少数の c-FLI を発現させたのに対して、高張食塩水は AP、NTS、PBN すべての部位において、かなり多い c-FLI を発現させた。コカインの皮下注射、モルヒネやメタンフェタミンの腹腔内注射は報酬性の薬物としてまとめた。それらの薬物は、c-FLI の弱い発現を示し、AI も 50 前後と弱い CTA の獲得を示した。残りの CS、すなわち X 線照射や体の回転、アルコールや硫酸銅、塩化リチウムの腹腔内注射、は催吐性の処置であり、強い c-FLI 発現と強い CTA の獲得を起こしている。しかしながら、c-FLI の発現数と AI との相関は有意ではなかった ($p > 0.05$, t -test)。AI と c-FLI の相関は、AP、NTS、PBN においてそれぞれ 0.393、0.431、0.442 であった。高張食塩水を分析の対象から取り除くと、相関係数は 0.956、0.733、0.695 となり、有意の相関を示すようになる ($p < 0.05$, t -test)。

図 4 は、NTS あるいは PBN 内での各部位 (Nc、Ni、Nr : 最吻側 NTS、Pl、Po : 外部外側亜核以外の PBN) での c-FLI を表している。この図からわかるように、各 US により活性化される c-FLI の NTS 内での分布は一定であるのに対して、PBN 内での分布は US によって様々である。

13 種の US すべてについて、これらの部位の c-FLI と AI との相関を調べたと

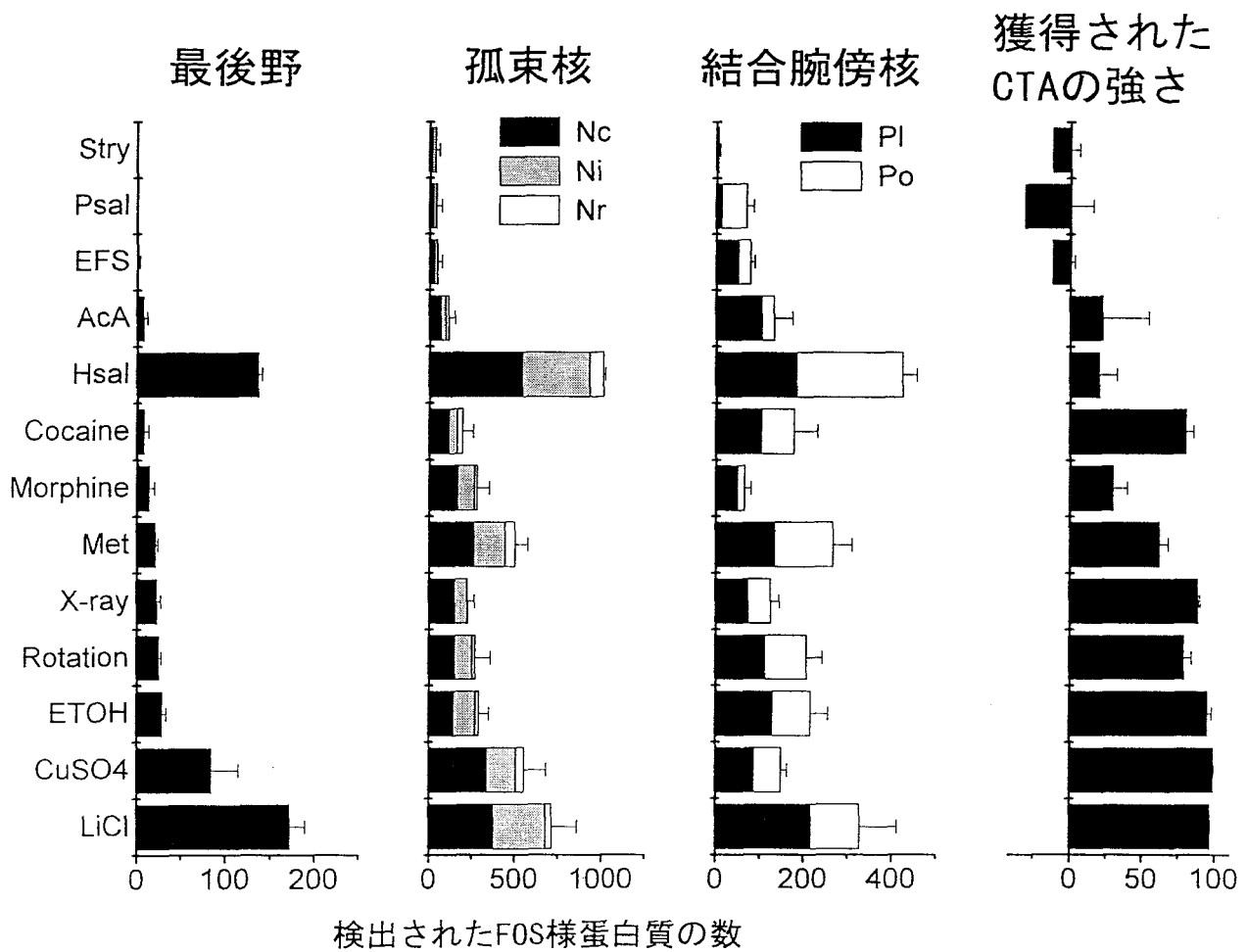


図 4

最後野 (AP)、孤束核 (NTS) および結合腕傍核 (PBN) における c-FLI の数とそれぞれの刺激によって引き起こされる CTA の獲得指数 (AI)。横棒は平均値±標準誤差を表している。PI, Po: それぞれ結合腕傍核外部外側亜核、とそれ以外の亜核群、Nc, Ni, Nr: 孤束核尾側部、間質核および吻側部、AP: 最後野。stry: ストリキニーネ、Psal: 生理食塩水、EFS: 肢への電気ショック、AcA: 酢酸、Hsal: 高張食塩水、Met: メタンフェタミン、X-ray: X線照射、ETOH: エタノール。

ころ、PIにおけるc-FLIとAIとの間にのみ有意な相関が見られた ($r=0.544$ 、 $p<0.05$)。分析の対象から高張食塩水のデータを取り除くと、各部位のc-FLIとAIとの相関は大きくなる。図5の上はNiにおけるc-FLIとAIの散布図、図5の下はPIにおけるc-FLIとAIの散布図を示している。

様々な量 (0.15, 0.30, 0.60, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0 mEq/kg) の塩化リチウムをラットに腹腔内注射してAP、NTS、PBNの各部位におけるc-FLI発現とCTAの獲得に対する効果を調べた。図6に示すように、塩化リチウムの投与量が増えるに伴って、AP、NTS、PBNの各部位におけるc-FLI発現とAIは共に増加した。AIとc-FLIとの相関係数は、AP、NTS、PBNそれぞれにおいて0.822、0.882、0.837で有意な相関 ($p<0.05$, t -test) であった。

考察

本研究で用いたUSはCTAを誘発できるかどうかということとその薬物あるいは処置の特性によって以下の4つに大別することができる。(1) 肢への電気ショック、生理食塩水あるいはストリキニーネの腹腔内注射、これらはCTAの誘発には効果的ではなかった。(2) 高張食塩水や酢酸の腹腔内注射、これらは内臓の痛覚受容器や浸透圧受容器を刺激するが、弱いCTAしか引き起こすことが出来ない。(3) メタンフェタミンやモルヒネの腹腔内注射あるいはコカインの皮下注射、これらの薬物は報酬性の薬物であり、中程度のCTAを引き起こした。

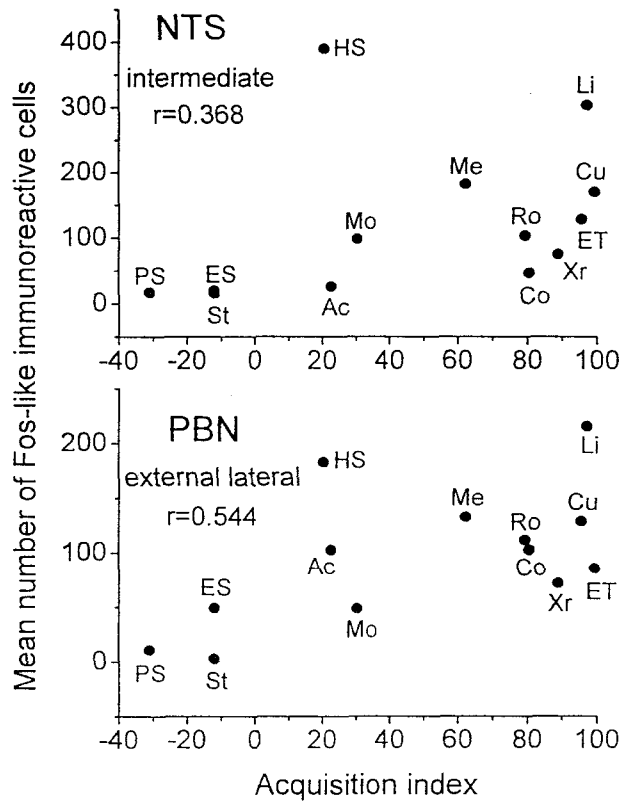


図 5

13種類の処置によるc-FLIとそれらによって引き起こされるCTAの強さとの相関を示す散布図。上段はNTS間質核における相関 ($r=0.368$)、下段はPBN外部外側亜核における相関 ($r=0.544$) を表している。St: ストリキニーネ、PS: 生理食塩水、ES: 肢への電気ショック、Ac: 酢酸、HS: 高張食塩水、Mo: モルヒネ、Me: メタンフェタミン、Co: コカイン、Ro: 体の回転、Xr: X線照射、ET: エタノール、Cu: 硫酸銅、Li: 塩化リチウム。

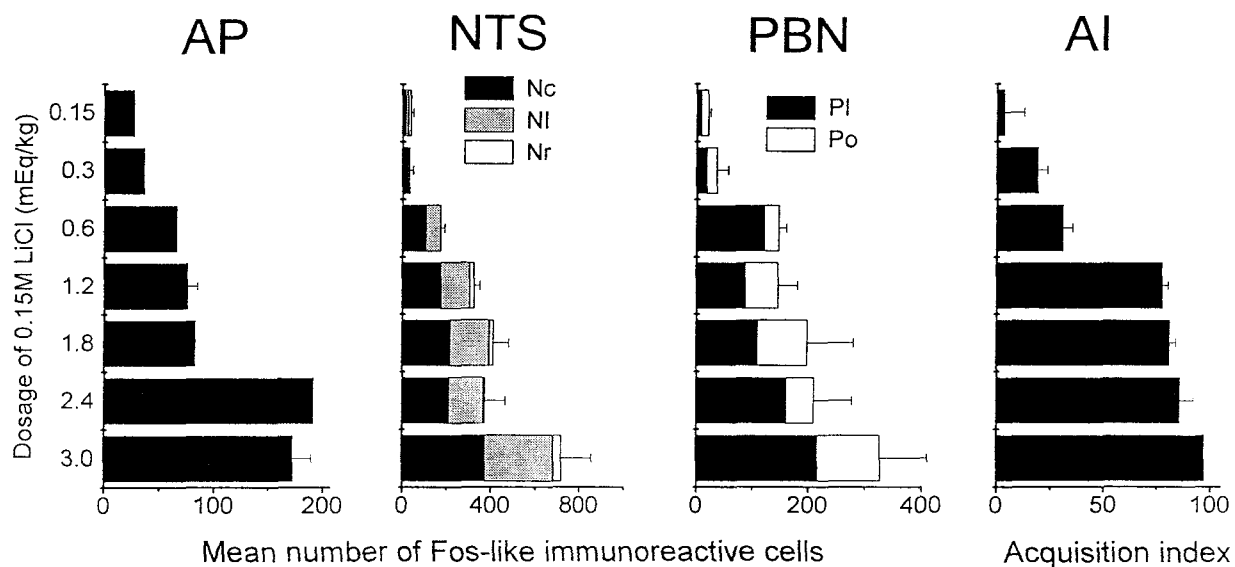


図 6

様々な量の塩化リチウムを腹腔内投与したときの最後野 (AP)、孤束核 (NTS) および結合腕傍核 (PBN) における c-FLI の数と CTA の獲得指数 (AI)。横棒は平均値±標準誤差を表している。Pl, Po: それぞれ結合腕傍核外部外側亜核、とそれ以外の亜核群、Nc, Ni, Nr: 孤束核尾側部、間質核および吻側部、AP: 最後野。

(4) X線照射や体の回転、塩化リチウムや硫酸銅、アルコールの腹腔内注射は、嘔吐を誘発する処置あるいは薬物であり、これらは強いCTAを引き起こした。

本研究における *c-fos* 発現の強さは、この分類と相関関係が見られた。つまり、第一グループの非効果的な処置は小数の *c-FLI* を示したのに対して、嘔吐誘発性の刺激は脳幹部において強い *c-FLI* を示した。13のUS刺激についてCTAの強さとAP、NTS、PBNにおける *c-FLI* の発現とにおいて強い相関が見られた。具体的に述べれば、PBNの外部外側亜核との相関が最も高く ($r = 0.544$)、尾側NTS、NTS間質核（それぞれ $r = 0.420$ 、 $r = 0.368$ ）と続く。様々な量の塩化リチウムを腹腔内注射したときの *c-FLI* とCTAの強さとの相関は、他の様々なUSを与えた時の結果と本質的に同じであった。そこで、これらの3部位は、US効果を発現するため、あるいはCS-US連合に関わるUS特性のための重要な部位だと考えられる。

高張食塩水に限ってはこの傾向は見られない。高張食塩水を腹腔内注射すると、内臓にある痛覚受容器や浸透圧受容器を刺激する (Kobashi, Ichikawa, Sugimoto and Adachi, 1993; Menetrey, Gannon, Levine and Basbaum, 1989)。本実験においても高張食塩水を腹腔内注射した後で、これらの受容器からくる情報が投射するAPやNTS、PBNなどの部位において *c-FLI* の発現が見られた。高張食塩水は塩化リチウムと同じように多くの *c-FLI* をAPやNTS、PBNに発現させたにも拘わらず、塩化リチウムによって誘発されるCTA (AI = 97.1) よりもはるかに弱いCTA (AI = 20.4) しか誘発出来なかった。Kobashiらは、胃の中に高張食塩水を注入した時に、APや尾側NTS、外側PBNに *c-FLI*

が強く発現することを報告している (Kobashi et al., 1993)。これらの結果から、痛覚受容器や浸透圧受容器から生じる情報を受け取る神経細胞は、その解剖学的分布は CTA を誘発するのに効果的な US を受け取る細胞群とオーバーラップしているにも拘わらず、味覚 CS との連合学習を引き起こすことはない。あるいは、高張食塩水も塩化リチウムも同じ神経細胞を興奮させるにも拘わらず、それぞれの作用時間が誘発する CTA の強さに影響を及ぼしていると考えられることも出来るだろう。塩化リチウムの作用時間は長い (Nijima and Yamamoto, 1994) が、高張食塩水の場合は、体重量の 0.1% を腹腔内注射するだけで同じような c-FLI を発現させることができて、これらの細胞の興奮している時間が CTA を誘発するほど長くない可能性もある。Nachman と Ashe は 0.65 M 高張食塩水を 4.61 ml/kg 腹腔内注射されたラットは CTA を獲得出来ないが、より多量 (20 ml/kg) を腹腔内注射されたラットは有意な嫌悪を獲得することが出来るということを発見した (Nachman and Ashe, 1973)。本実験でも、内臓器官の興奮をより持続させるために、より多量の高張食塩水を投与すれば強い CTA を獲得させることが出来たかも知れない。

モルヒネやアンフェタミン、コカインなどの正の強化子として作用する報酬系の薬物は、動物にとって自己投与する量とほぼ同じ量でも CTA を獲得することが知られている。CTA を引き起こさせる報酬性の薬物は、その同じ量で条件性場所選好を獲得させることも知られている。このようなわけで、報酬系の薬物によって引き起こされる CTA は、催吐剤によって誘発される CTA とは質的に異なると考えられる (Hunt and Amit, 1987; Parker, 1995)。しかしながら、

本研究や Swank ら (1995) の報告における *c-fos* を用いた研究からは、報酬系の薬物も催吐剤と同じように AP や尾側 NTS、NTS 間質核、PBN 外部外側亜核などに *c-FLI* を発現させることが分かった。Bechara ら (1993) は、外側 PBN をイボテン酸を用いて破壊されたラットはモルヒネ誘発性の CTA を獲得できなくなるが、条件性場所選好は正常に行うことが出来ることを示した。この結果は、モルヒネの嫌悪的な効果を内臓から中枢へ伝達することに関して PBN は関与するが、報酬的な動機づけの効果に関しては関与しない可能性を示唆している。これらの結果から、報酬系の薬物と催吐剤はともに AP や NTS、PBN など興奮させるが、報酬系の薬物はそれに加えて報酬系の脳部位をも興奮させる可能性を示している。

結論

CTA の無条件刺激として作用することが知られている様々な処置を行ったところ、尾側 NTS や NTS の間質核、PBN 外部外側亜核などに *c-fos* の強い発現が起こることがわかった。

実験 2

味覚嫌悪学習の獲得と保持における結合腕傍核内側部と外側部の役割

新奇な風味を呈する食べ物を摂取した後で内臓不快感が生じれば、同じ食べ物が再度提示されても、動物は摂取しない (Bures, Buresova and Krivanek, 1988; Schafe and Bernstein, 1996; Yamamoto, Shimura, Sako, Yasoshima and Sakai, 1994b)。この忌避学習において、動物が食べ物の味とその摂取後に生じる症状とを連合して学習せねばならないことは広く受け入れられている。この形の連合学習は、味覚嫌悪学習 (conditioned taste aversion: CTA) と呼ばれている。CTA の基盤となる神経メカニズムを理解するために、様々な動物実験が行われてきた。CTA の研究において採用されている典型的な実験パラダイムでは、サッカリンを条件刺激 (conditioned stimulus: CS)、塩化リチウム (LiCl) の腹腔内注射を無条件刺激 (unconditioned stimulus: US) として用いている。このように単純なモデルでは、味覚神経を経た味覚性 CS が、内臓感覚神経や血液を経た内臓性 US と連合していると考えられている。LiCl の無条件性の効果は、最後野 (area postrema: AP) によって仲介されていることが示唆されており (Ritter, McGlone and Kelley, 1980)、AP は孤束核 (nucleus tractus solitarius: NTS) や結合腕傍核 (parabrachial nucleus: PBN) へ投射していることが知られている (Shapiro and Miselis, 1985)。一般的に、味覚情報と内臓感覚情報は並行して投射しており、それぞれの中継ニューロンや投射先で相

相互作用している可能性がある (Cechetto, 1987; Cechetto and Saper, 1987; Hamilton and Norgren, 1984; Saper and Loewy, 1980)。

しかしながら、CTA の神経メカニズムを解明するために、多くの破壊実験が行われてきたにも拘わらず (Yamamoto et al., 1994b を参照)、CTA 獲得に関わる味覚あるいは内臓感覚の投射領域は明らかになっていない。その理由は、そのような実験での破壊は大きすぎて、味覚投射領域と内臓感覚投射領域の両方を含んでいるからである。PBN は、味覚と一般内臓感覚の両方の第二次中継核である。一般的に、PBN の内側部 (PBmed) には味覚情報が、外側部 (PBlat) には一般内臓感覚が投射していると考えられている (Herbert, Moga and Saper, 1990; Norgren, 1978)。これまでの破壊実験では、研究者は PBN 全体 (つまり PBmed と PBlat の両方を含む) を破壊し、PBN が CTA の獲得 (Aguero, Gallo, Arnedo, Molina and Puerto, 1996; Ivanova and Bures, 1990a; Reilly, Grigson and Norgren, 1993; Scalera, Spector and Norgren, 1995; Spector, Norgren and Grill, 1992; Yamamoto, Fujimoto, Shimura and Sakai, 1995) や固定化 (Ivanova and Bures, 1990b) に重要であることを示している。

微小脳破壊法によって、PBN の味覚領域と内臓感覚領域とを分けて破壊すれば、それぞれの機能を解明することができよう。このような方法を用いて、Aguero ら (1993) は、PBlat を破壊されたラットは CTA を獲得出来なくなることを示し、学習を獲得することが出来なかったのは内臓感覚情報の伝達を阻害したためであると解釈している。同じように、Nader ら (1996) は、PBlat を破壊するとモルヒネ誘発性の CTA が障害されることを示し、この障害はモル

ヒネの嫌悪的な特性がブロックされたために起こったものであると考えている。しかしながら、CTA 獲得後に PBlat を破壊し、PBlat が CTA の想起にどのように関わっているのかを調べた研究はない。

また、電気凝固破壊によって PBN を破壊した実験においても、その破壊の部位や程度が研究者によってまちまちである (DiLorenzo, 1988; Flynn, Grill, Schulkin and Norgren, 1991; Reilly et al., 1993; Spector et al., 1992) ので、PBN の破壊部位とその破壊による行動の変容とをマッチさせることも本研究の目的の一つである。

本研究は、内臓感覚が投射する PBlat と味覚情報が投射する PBmed とが CTA の獲得と想起においてどのように関わっているのかということを確認するために行ったものである。

なお本研究はすでに国際雑誌に投稿し、受理されている (Sakai and Yamamoto, in press) 。

方法

被験体

成熟 Wistar 系アルビノ雄性ラット 30 匹 (日本動物株より購入) を用いた。実験開始時の体重は 250~300g であった。購入後は個別ケージ (プラスチック製) で飼育した。実験開始前は固形飼料 (オリエンタル酵母: MF)、水道水を自由に摂取させた。飼育期間中すべてに渡って、飼育室は人工照明を使用し、

午前6時～午後6時を明期、午後6時～午前6時を暗期とする明暗サイクルと室温 24 ± 2 °C、湿度 55 ± 5 %を保った。その他、飼育に関しては鈴木ら (1981) によった。

トレーニング

トレーニング開始の1日前にホームケージで約20時間被験体を絶水状態においた。その際、固形飼料は自由に摂取させた。トレーニングでは、毎日20分間被験体に蒸留水をそれぞれの個別ケージ内で自由に摂取させ、その飲み量と被験体の体重とを測定した。被験体は、午後5時から翌日の訓練時まで絶水状態に置き、固形飼料のみ自由に摂取させた。

手術

30匹のラットをランダムに2つの大グループに分けた。一方は獲得テスト群、もう一方は保持テスト群で、それぞれの群は、無破壊コントロール群 (Con)、PBmed 破壊群 (PBmed-X)、PBlat 破壊群 (PBlat-X) という小グループからなっており、それぞれの小グループにはラットを5匹ずつ割り当てた。ラットをネンプタール (60 mg/kg) で麻酔し、アトロピンを腹腔内注射して、脳定位固定装置に固定した。頭部を剃毛し、ヨードチンキで消毒した後、頭皮を切開した。頭蓋骨を露出させた後、Paxinos and Watson (1986) の脳図譜にしたがって、両側のPBNの上方に位置すると思われる頭蓋骨の位置に歯科用ドリルを用いて穴を開けた。次に、生体現象記録用オシロスコープ (SONY TEKTRONIX

5113) でニューロン活動を監視しながら、ガラスコーティングしたエルジロイ製電極 (NARISHIGE 4F77 を用いて作製、真野・林 1975) や既製の金属電極を PBmed (ブレグマより 10.2 mm 後方、1.8 mm 側方) あるいは PBlat (ブレグマより 9.5 mm 後方、2.5 mm 側方) に水平面より 20° 傾けながら刺入し、目的部位に留置し、dye injector (DIA MEDICAL SYSTEM) にて通電し (100 μ A、1 分)、両側的に電気凝固させた。破壊終了後直ちに頭皮を縫合し、抗生物質 (ペニシリン 5 千単位) と 5%ブドウ糖 (1 ml) を腹腔内投与した。

獲得テスト

獲得テストでは、条件付けの前に PBN を破壊し、PBN の破壊がラットの CTA の獲得にどのような影響を与えるのかを調べた。

ホームケージ内でラットに 20 分間で水を摂取するようにトレーニングを行った後、破壊群ラットのみ PBN 破壊手術を行った。手術後、最低でも一週間の回復期を置き、その間ラットには固形飼料と水を自由に摂取させた。体重が手術前のレベルにまで回復した後、再びラットを絶水条件下に置き、摂水トレーニングを行った。

摂水量が一定になったところで、ラットに蒸留水の代わりに 0.02 M サッカリンナトリウム水溶液を 20 分摂取させ、直後に 0.15M 塩化リチウムを体重の 2% 量腹腔内注射した。古典的条件付けのパラダイムに則れば、サッカリン溶液が条件刺激 (CS)、塩化リチウムの腹腔内注射が無条件刺激 (US) となる。条件付けの次の日は回復日とし、1 日水道水と固形飼料を自由に与えるが、翌日か

ら再び絶水条件下に置いた。その後連続して 4 日間、最初にサッカリン溶液を 20 分、その後蒸留水を 20 分提示し、それぞれの飲み量を摂取前後の重量を比較することにより記録した。

保持テスト

保持テストでは、条件付け後に PBN を破壊し、PBN の破壊がラットの CTA の保持にどのような影響を与えるのかを調べた。

ホームケージ内でラットに 20 分間で水を摂取するようにトレーニングを行った後、ラットにサッカリン水溶液を 20 分摂取させ、直後に塩化リチウムを体重の 2%量腹腔内注射した。条件付けの次の日は回復日とし、自由に水を摂取させるが、翌日に再び条件付けを行った。ラットに 2 回条件付け操作を行った後、破壊群ラットのみ PBN 破壊手術を行った。手術後、最低でも一週間の回復期を置き、その間ラットには固形飼料と水を自由に摂取させた。体重が手術前のレベルにまで回復した後、再びラットを絶水条件下に置き、摂水トレーニングを行った。

術後トレーニングの摂水量が一定になったところで、連続して 4 日間、サッカリン溶液を 20 分、その後で蒸留水を 20 分提示し、それぞれの飲み量を摂取前後の重量を比較することにより記録した。

2 ビン法による味覚嗜好テスト

CTA 実験終了後、破壊による味覚不全の有無を確認するために、2ビン法を用いて味覚嗜好テストを行った。用いた味覚刺激は、0.002M 塩酸キニーネ溶液、0.01M 塩酸、0.1M 食塩水、0.5M 蔗糖溶液であった。上述の絶水条件下において、ラットに水と上記のいずれかの味溶液とを同時に 20 分間提示し、それぞれの摂取量を測定した。ただし、ボトルの位置による嗜好性の差を避けるため、5 分毎にボトルを左右入れ替えた。一つの味に対して朝と昼の合計 2 回のテストを行った。

組織

すべての行動実験の終了後、破壊部位およびその程度を同定するために、破壊を受けた実験群を灌流・固定し、脳を取り出した。ネンブタール (100mg/kg) で深麻酔したラットの左心室よりリン酸緩衝生理食塩水を灌流し、10% フォルマリンを注入することにより固定を行った。その後、頭部切開により脳を取り出し、後固定のためにパラフォルムアルデヒドに一晩以上、さらに凍結時の水の膨張から細胞を守るために 30% 蔗糖溶液に一晩つけ、ミクロトームにより凍結切片を作製した。クレジールバイオレットを用いて染色した後、スライドガラスに貼り付け、光学顕微鏡で観察した。

データの分析

条件付け前の水の摂取量および 4 日間のテスト時のサッカリンの摂取量とを基にして、以下に示すような式に基づいて CTA インデックス (CTAI) を算出

した。CTAIが大きくなれば、強い嫌悪が獲得されたことを表している。

$$\text{CTAI} = (\text{1-テスト時のサッカリンの摂取量の平均} \div \text{条件付け前の水の摂取量}) \\ \times 100$$

2ビン法による味覚嗜好テストでは、以下に示す嗜好スコア (PS) を算出した。

PSが大きくなれば、ラットはその味をより多く摂取したことを表す。

$$\text{PS} = (\text{1-味溶液の摂取量} \div \text{水の摂取量と味溶液の摂取量の和}) \times 100$$

データはすべて ANOVA で分析し、事後検定にはフィッシャーの最小有意差検定 (LSD) を用いた。

結果

獲得テストにおいて、コントロール群の 1 匹のラットが摂水トレーニングを獲得出来なかったため、データから削除した。また、獲得テストの PBmedX ラット、PBlatX ラット、保持テストの PBmedX ラット各一匹ずつでは、PBN 全体にわたる破壊であったため、これらのラットのデータもまた分析の対象から除外した。

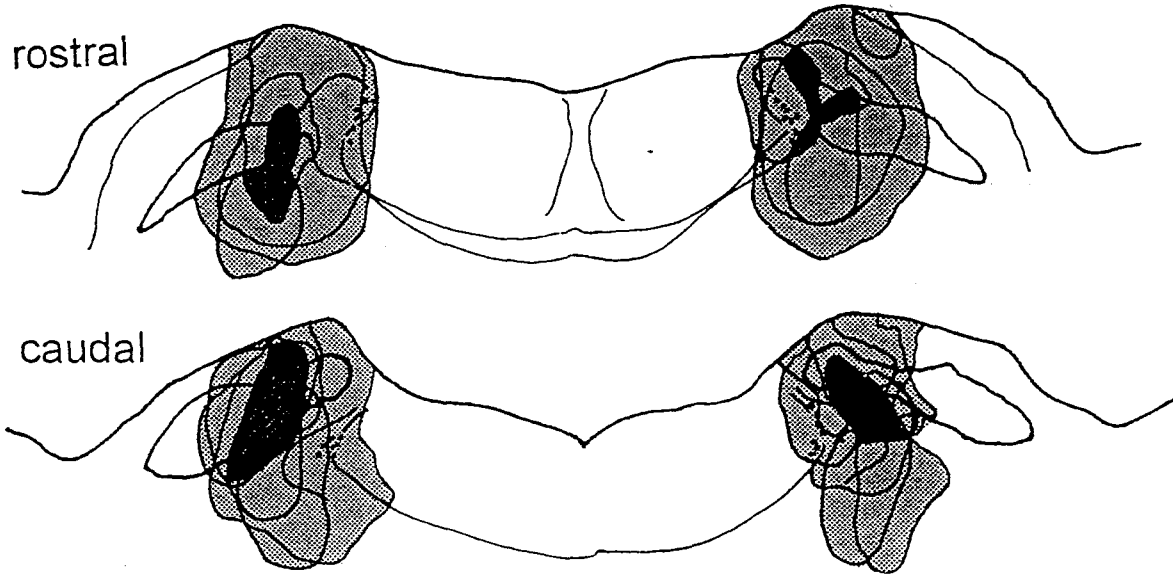
組織

図7は、本研究で行った PBN の破壊の大きさと位置を模式的に表した図である。図の上段は PBmed の破壊、下段は PBlat の破壊を示している。PBmed 破壊は左右両側の PBN 内側部と尾側を中心とする背外側亜核、中心外側亜核に広がった損傷を示していた。PBlat 破壊は、吻側を中心とする両側の外部外側亜核と外部内側亜核とを含む損傷を示した。獲得テスト群と保持テスト群とにおいてほぼ同じような破壊部位が認められたので、図にはそれらを合わせて表した。破壊は、左右の広がりが 0.25mm~1.0mm (平均 0.64mm)、深さが 0.5mm~1.2mm (平均 0.78mm) の範囲にあった。

獲得テスト

条件付け操作の前に破壊を行った獲得テストにおいて、以下の結果が得られた。条件付け前(破壊手術後)の平均水摂取量(g)は、コントロール群、PBmedX群、PBlatX群のそれぞれにおいて、 12.4 ± 0.7 、 5.30 ± 1.5 、 16.9 ± 1.1 であった。PBlatX群のラットはコントロール群のラットよりも水を多く摂取し、PBmedX群のラットはコントロール群より少ない量の水しか摂取しなかった(それぞれ $p < 0.05$)。破壊効果の比較のため、条件付け前の水摂取量を 100 とする相対摂取量を算出した。図8は各群における条件付け日の 0.1%サッカリン溶液(CS)、およびテスト日のサッカリンと水との相対摂取量をグラフに表したものである。

PBmed lesions



PBlat lesions

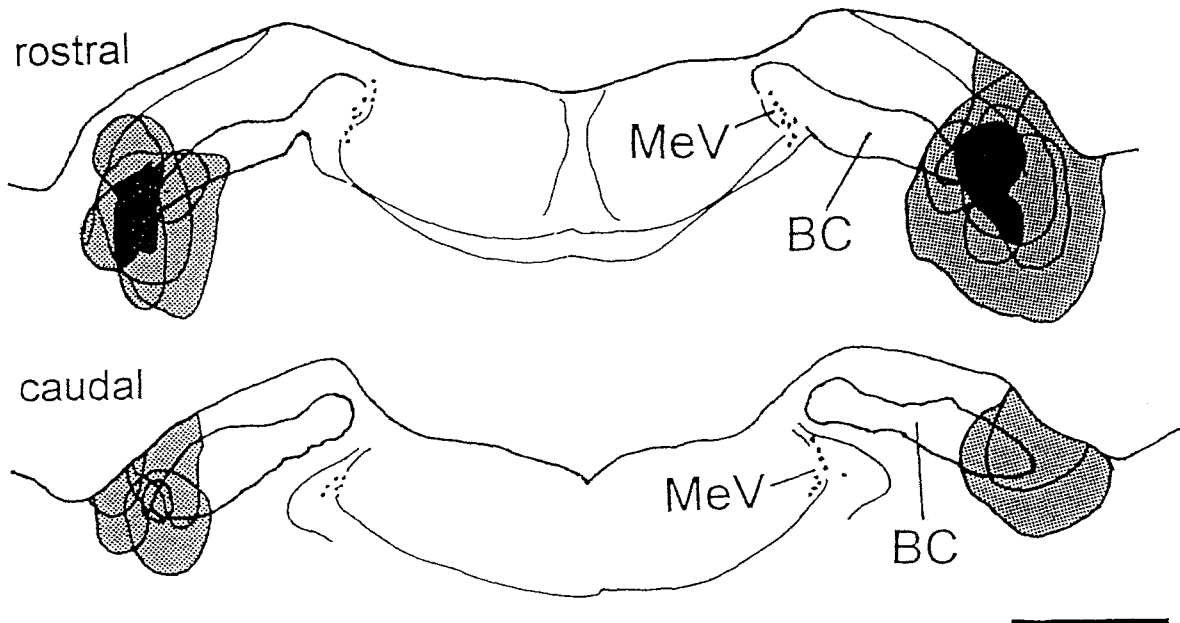


図 7

PBN 内での破壊の広がり。PBmed 破壊ラット 8 匹、PBlat 破壊ラット 8 匹のデータをまとめている。影をつけた部分はそれぞれのラットの破壊の広がりをもとめたもので、塗りつぶした部分はそれぞれの群で 4 匹以上のラットに共通して破壊されていた部分を示している。BC: 結合腕、MeV: 三叉神経中脳路核。横棒は 1mm。

図 8A に示すように、4 日間にわたるテスト日のコントロール群のサッカリン摂取量は条件付け前の水摂取量に比べて抑制されており、その摂取量は日を追うにしたがって増加する傾向にあった。それに伴って、サッカリンを提示した後には提示される水の摂取量には、減少していく傾向が見られた。PBmedX ラット、PBlatX ラットともにテスト初日のサッカリン摂取量は減少しているように見えるが、テスト 2 日目からは条件付け前の摂取量に相当する量のサッカリンを摂取している（図 8B と図 8C）。

3 群間における破壊の効果を比較するために上述の CTAI を算出し、一元配置の分散分析を行った。破壊の主効果は有意であった ($F(2,9) = 5.45, p < 0.05$)。すなわちコントロール群、PBmedX 群、PBlatX 群それぞれの CTAI は、 0.63 ± 0.09 、 0.08 ± 0.21 、 0.15 ± 0.08 であり、コントロール群の CTAI は、他の 2 群の CTAI よりも有意に大きかった (LSD による下位検定、 $p < 0.05$)。これらの結果は、PBN の破壊が CTA の獲得に対して強い障害をもたらしたことを示唆している。

さらに詳細な比較を行うため、各群のサッカリンの相対摂取量を用いて、継時測定二元配置の分散分析を行ったところ、破壊による主効果 ($F(2,9) = 9.04, p < 0.05$) と日による主効果 ($F(4,36) = 11.00, p < 0.01$) とが見られた。破壊×日の交互作用は見られなかった ($F(8,36) = 0.99, p > 0.05$)。下位検定により、テスト初日のコントロール群のサッカリン摂取量は、PBmedX 群、PBlatX 群それぞれのサッカリン摂取量よりも有意に小さいことがわかった ($p < 0.05$)。

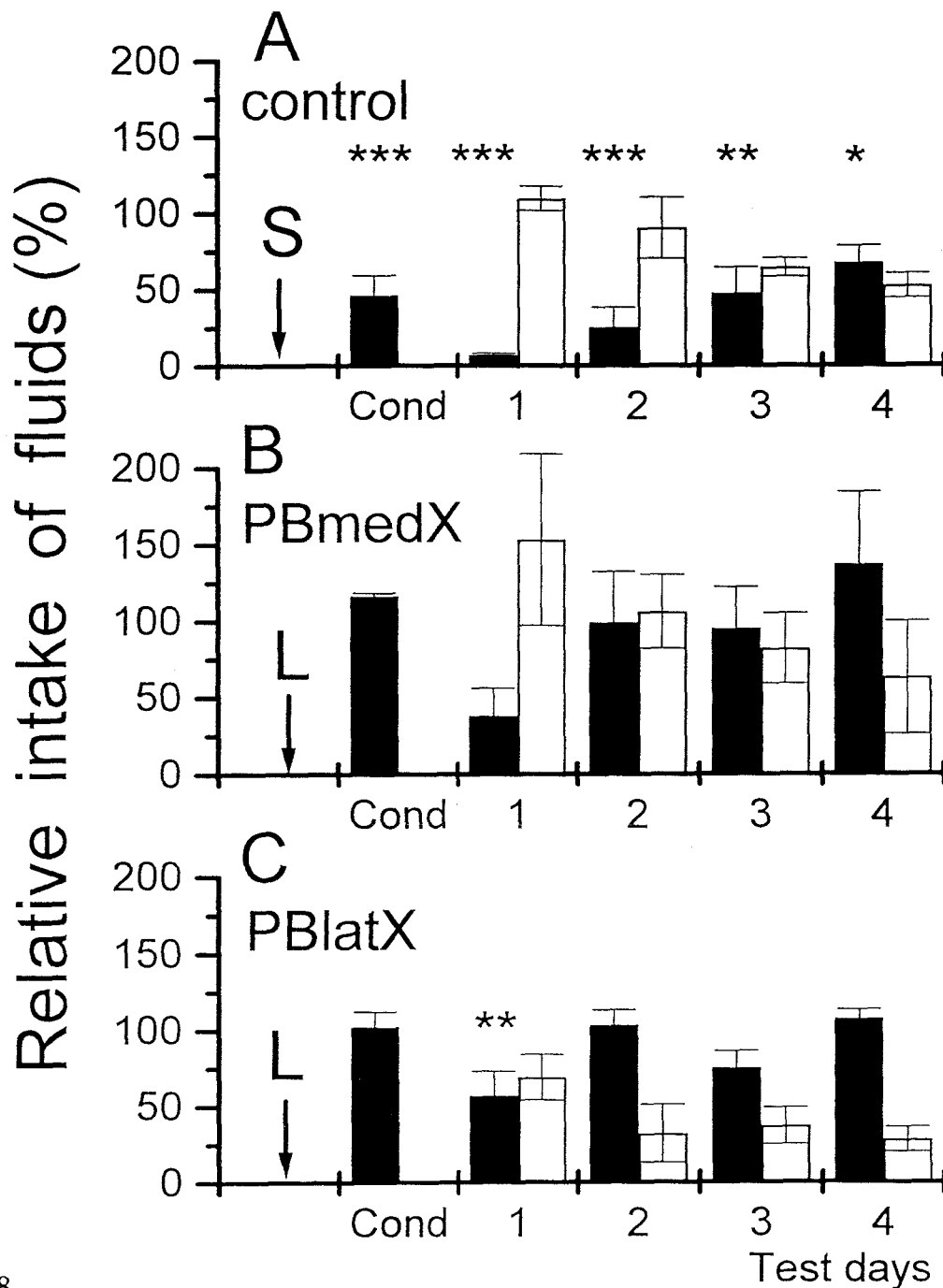


図8
 コントロール群、破壊群におけるサッカリンとその後に続く蒸留水の摂取量。条件づけ前の蒸留水摂取量を100としたときの相対摂取量を表している。Aは、コントロール群 (n=5)、BはPBmed破壊群 (n=4)、CはPBlat破壊群 (n=4)の結果である。破壊 (SあるいはL) は、条件づけ (C) の前に行われた。データはすべて平均値±標準誤差を表している。条件付け前の蒸留水摂取量に比べて差がある場合には*を付けている。*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

各テスト日のサッカリンの摂取量と条件付け前の蒸留水摂取量との関係調べのために、各群において生データを用いた一元配置の分散分析を行ったところ、コントロール群と PBlatX 群とにおいて主効果が見られた ($F(5,19) = 8.94$ 、 $p < 0.01$; $F(5, 19) = 3.50$ 、 $p < 0.05$) が、PBmedX 群においてはその効果は見られなかった ($F(5, 15) = 2.11$ 、 $p > 0.1$)。下位検定により、コントロール群では、条件付け日および 4 日間すべてのテスト日において、サッカリンの摂取量は条件付け前の蒸留水の摂取量に比べて抑制されていた ($p < 0.05$) のに対して、PBlatX 群では、テスト初日のサッカリン摂取量のみが抑制された ($p < 0.05$) ことがわかった。PBmedX 群ではサッカリン摂取量に関して条件付け前の蒸留水摂取量との有意な差は見られなかった。

本獲得テストにおける分析から、PBmed や PBlat の破壊を受けた動物は、新奇なサッカリンの味に対する新奇性恐怖を示さず、CTA の獲得も弱い (獲得してもすぐに消去する) ことがわかった。

保持テスト

条件付け操作の後で破壊操作を行う保持テストでは、破壊が CTA の保持にどのような影響を及ぼすのかということを知ることが出来る。条件付け前 (破壊前) の蒸留水摂取量 (g) はコントロール群、PBmedX 群、PBlatX 群のそれぞれにおいて 12.6 ± 0.8 、 11.8 ± 0.2 、 12.2 ± 0.6 で、各群間の差はなかった ($F(2,11) = 0.41$ 、 $p > 0.1$)。破壊効果の比較のため、条件付け前の水摂取量を 100 とする相対摂取量を算出した。図 9 は、各群における条件付け日 20 分間の 0.1% サッ

カリン溶液 (CS)、テスト日のサッカリンと蒸留水との相対摂取量をグラフに表したものである。

3 群のラットは手術前の蒸留水摂取量に差はなく、CTA の獲得も同じような程度であった。手術前のサッカリンの相対摂取量を用いて分散分析を行ったところ、日の主効果が見られた ($F(2,22) = 62.8$, $p < 0.01$) のみで、グループ間の主効果 ($F(2,11) = 0.34$, $p > 0.1$) あるいは日×グループの交互作用 ($F(4,22) = 0.42$, $p > 0.1$) は見られなかった。条件付け日初日のサッカリン摂取量は、各群ともに条件付け前の蒸留水摂取量に比べて有意に少なく ($p < 0.01$)、すべてのラットが新奇な CS に対して新奇性恐怖を示したことがわかる。2 日目のサッカリンの摂取量は強く抑制されており ($p < 0.01$)、すべての群において一回の CS-US 対提示によって CTA が獲得されていることがわかる。

破壊の効果は図 9 に示している。4 日間にわたるテスト日のコントロール群のサッカリン摂取量は、条件付け前の水摂取量に比べて抑制されており、その摂取量は 4 日間にわたって条件付け前の蒸留水摂取量に比べて有意に少なかった。図 9C に示したとおり、PBlatX ラットも同じような摂取パターン (すなわちサッカリンを避ける) を見せた。対照的に、PBmedX ラットは、テスト初日から 4 日間に渡って、条件付け前の蒸留水摂取量の 50%以上の量のサッカリンを摂取している (図 9B)。CTA の保持について、継時測定二元配置の分散分析を行ったところ、グループ間の主効果 ($F(2,11) = 8.52$, $p < 0.01$)、日の主効果 ($F(5,55) = 5.57$, $p < 0.01$) は有意であったが、日×グループの交互作用は見られなかった ($F(10,55) = 1.88$, $p > 0.05$)。

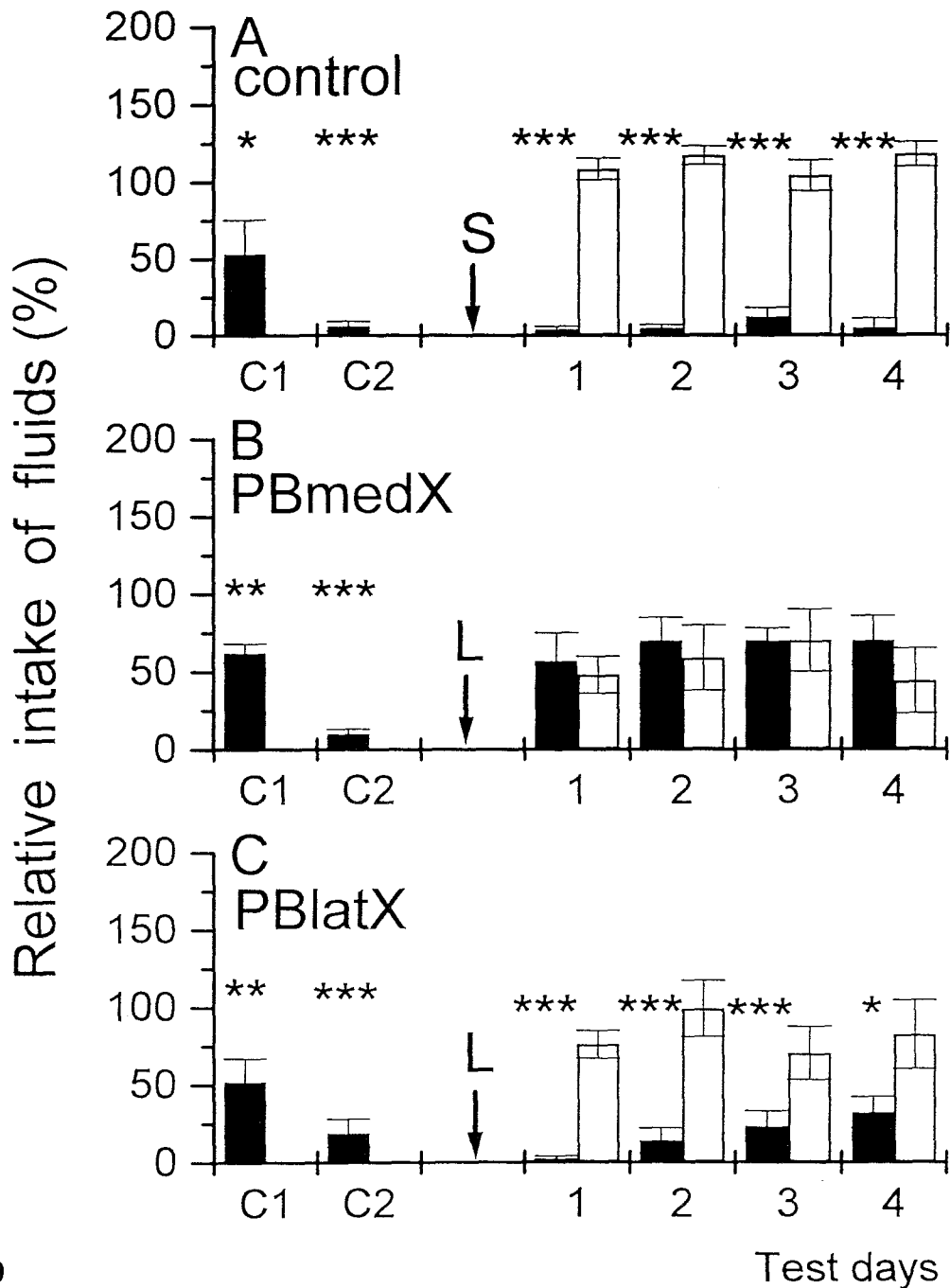


図9 各群におけるサッカリン溶液と蒸留水の相対摂取量。破壊（SあるいはL）は2回の条件づけ操作の後に行った。その他の記述については、図8を参照。

各テスト日のサッカリンの摂取量と条件付け前の蒸留水摂取量との関係を調べるために、各群において生データを用いた一元配置の分散分析を行ったところ、コントロール群と PBlatX 群とにおいて主効果が見られた ($F(4, 21) = 122.28$, $p < 0.01$; $F(4, 16) = 15.00$, $p < 0.01$) が、PBmedX 群においてはその効果は見られなかった ($F(4, 21) = 0.67$, $p > 0.1$)。下位検定により、コントロール群および PBlatX 群では4日間すべてのテスト日においてサッカリンの摂取量は抑制されていた ($p < 0.05$) のに対して、PBmedX 群ではサッカリン摂取量に関して条件付け前の蒸留水摂取量との有意な差は見られなかった。

3 群間における破壊の効果を比較するために上述の CTAI を算出し、一元配置の分散分析を行った。破壊の主効果は有意であった ($F(2, 11) = 16.55$, $p < 0.01$)。すなわちコントロール群、PBmedX 群、PBlatX 群それぞれの CTAI は、 0.94 ± 0.02 、 0.34 ± 0.12 、 0.82 ± 0.07 であり、PBmedX 群の CTAI は、他の 2 群の CTAI よりも有意に小さかった (LSD による下位検定、 $p < 0.05$)。PBlatX 群とコントロール群との間に有意な差は見られなかった ($p > 0.1$)。これらの結果は、PBmed の破壊が CTA の保持に対して強い障害をもたらしたことを示唆している。

2 ビン法による味覚嗜好テスト

図 10 に結果を示す。コントロール群のラットは、蔗糖溶液に対して嗜好を示すが、キニーネ溶液、塩酸、食塩水よりも蒸留水を好んでいる。分散分析によると、溶液の主効果 ($F(3, 30) = 8.97$, $p < 0.05$) あるいは溶液×破壊の交互作用

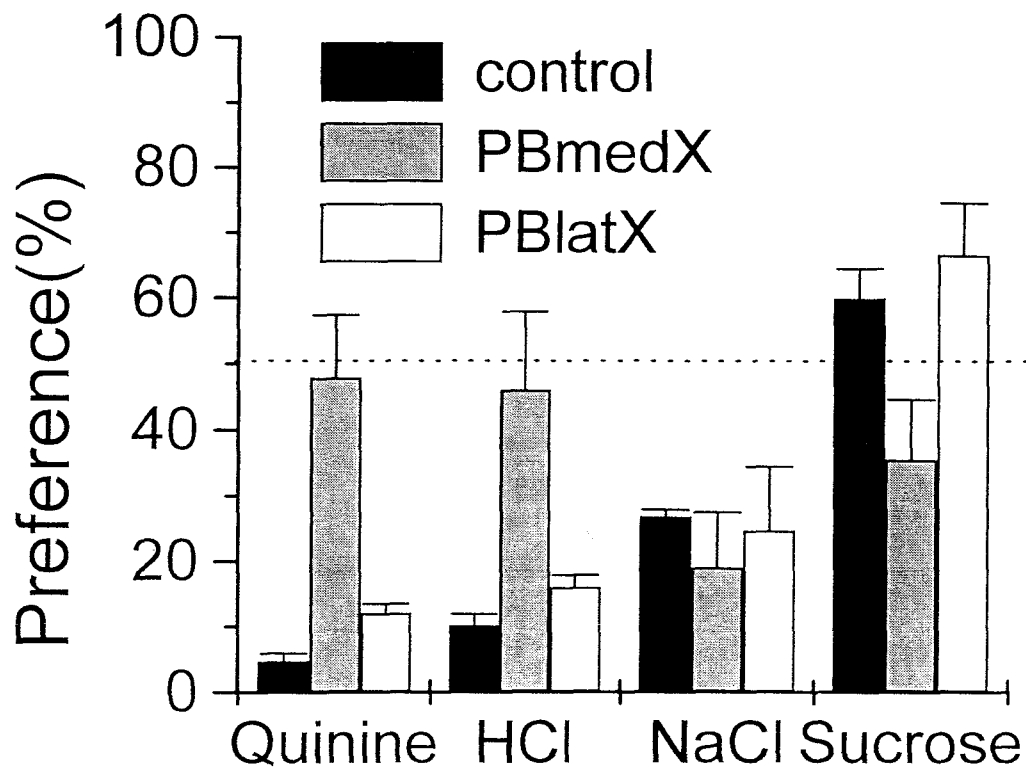


図 10
各群の 4 種類の味溶液に対する嗜好率。それぞれ平均値±標準誤差とを示している。

($F(6,30) = 3.85, p < 0.01$)は有意であったが、グループ間の主効果($F(2,9) = 0.43, p > 0.1$)は有意ではなかった。

PBlatX 群のラットは、これら 4 種の味溶液に対してコントロール群のラットと同じような嗜好-忌避行動を見せた。それに対して PBmedX 群のラットは、キニーネ溶液や塩酸をコントロール群より有意に多く摂取した ($p < 0.01$)。これらの結果から、PBmed の破壊によってラットは味刺激を十分に弁別出来なくなることが示唆された。

議論

本研究では電気凝固による破壊法を用いたが、その理由は、凝固破壊法は細胞体だけを破壊する細胞毒による化学破壊法よりも限局した小さい破壊を作ることができるからである。しかしながら、凝固破壊法は近辺を通過する神経線維をも破壊してしまうという欠点がある。本研究のみから PBN の近辺を通過する神経線維が CTA に深く関わっているという考えを取り除くことは出来ないが、テトロドトキシンを用いて PBN の細胞の機能を可逆的に阻害した研究 (Ivanova and Bures, 1990a, 1990b) や細胞毒を用いて化学的に破壊を行った研究 (Scalera, Spector and Norgren, 1995; Yamamoto, et al., 1995) などから、PBN 内に細胞体を持つ神経細胞が CTA の獲得と保持に関わっている可能性は高い。また、PBN を破壊すると味に対する感受性が弱められる (Hill and Almlı, 1983; Spector, 1995) ことはすでに報告されている。しかしながら、内臓の機

能を可視的に測ることは難しいので、PBNが内臓の機能にどのような影響を及ぼしているのかということはまだ研究されてこなかった。

このようなわけで、PBNの味覚受容性領域と内臓感覚受容性領域のそれぞれの様々なCTAの段階における機能については、現在まで体系的な研究はなされていなかった。そこで、以前の神経解剖学的な研究(Yamamoto, Shimura, Sako, Azuma, Bai and Wakisaka, 1992; Yamamoto, Shimura, Sako, Sakai, Tanimizu and Wakisaka, 1993)により明らかとなったPBN内側部(味覚の投射領域; PBmed)とPBN外側部(塩化リチウム誘発性の内臓感覚の投射領域; PBlat)とのそれぞれの機能を本研究において研究した。サッカリン溶液や食塩水を摂取したときに反応が見られる中心亜核や内側亜核、塩化リチウムを腹腔内に注射したときに反応が見られる外部外側亜核のような小さな亜核のみを破壊することは技術的に難しいため、PBNを便宜的に内側部と外側部とに分け、それぞれを限局して破壊することにした。このような観点から、本研究では、PBmedとPBlatとがCTAの形成や味覚誘発性の行動にどのように関わっているのかということを示した。具体的には、PBmed、PBlatともにCTAの獲得とその維持に深く関わっているが、PBmedはCTAの保持や味覚に対する正常な嗜好行動に関しても深く関わっているのに対して、PBlatを破壊してもこれらの行動に障害は及ばないことが分かった。

PBmed破壊では、NTS吻側から味覚情報の投射を受ける尾側PBNの内側亜核を含んでいた。このため、本実験で用いたPBmedXラットはキニーネや塩酸に対する正常な忌避行動と蔗糖に対する正常な嗜好とを示すことが出来なかつ

たものと思われる。これらの結果は、Hill と Almlı (1983) が示した 10 日齢の時に PBN 破壊を受けたラットはキニーネに対する忌避行動が弱くなるという結果と一致する。さらに Spector (1995) は、PBN を破壊されたラットではキニーネに対する忌避閾値が上昇することを報告している。これらの事実から考えると、PBmedX 群のラットが CTA を正常に獲得したり、保持したりすることが出来なかったのは、味覚情報の伝達や記憶の検索に障害を受けていたためだと思われる。

我々の研究室における *c-fos* を用いた免疫組織化学実験によると、サッカリン溶液や食塩水の味覚情報は主に PBN の内側部に投射するが、キニーネ溶液や塩酸の味覚情報は尾側 PBN の外部内側垂核や外部外側垂核に投射することが示唆されている (Yamamoto, Shimura, Sakai and Ozaki, 1994a)。ところが、本研究において PBmedX 群のラットに外部内側垂核や外部外側垂核が破壊されたラットは認められなかった。つまり、PBmed に破壊を受けたラットは、キニーネ溶液や塩酸の味覚情報を処理すると思われる外部内側垂核の細胞が残っていたにも拘わらず、これらの味に対して正常な忌避行動を示すことができなかったのである。この矛盾した結果の一つの説明として、塩酸やキニーネの味覚情報は NTS から PBN へ投射するにあたって、PBmed を経由して PBlat へと投射するのではないかと考えることができる。塩酸やキニーネ溶液を摂取させた時にも、蔗糖や食塩水による刺激と同じように、PBN の waist area と呼ばれている部分にある細胞が興奮することが最近分かったが (山本ら、未発表)、これらの細胞がキニーネや塩酸によって誘発される味覚行動に関わっている可能

性もある。

しかしながら、味覚弁別に対する PBN の破壊効果は実験手続きによって異なるという事実も存在する。すなわち、可逆的な破壊か不可逆的な破壊か、不可逆的な破壊であれば電気凝固破壊か細胞毒破壊か、1 ビン法による測定か 2 ビン法による測定か、あるいは刺激提示の持続時間の長さなどの要因によって結果が多少異なるのである。Ivanova と Bures (1990b) は、テトロドトキシンを PBN に注入して、PBN 内の細胞の活動を一時的にブロックしても、ラットはキニーネ溶液を正常に忌避できることを示した。また、Flynn ら (1991a) も 1 ビン法による測定や顔面表情反射などを指標とすると、PBN を電気凝固破壊されたラットの味覚弁別はわずかに障害されるだけであることを示している。これらの結果は、NTS が正常であれば通常の味覚誘因性行動は行うことができるということを示唆する。PBN を電気凝固破壊すると NTS からの上行性の線維を遮断し、逆行的に NTS ニューロンも破壊してしまう。NTS を破壊することによって味覚の感受性が明らかに障害される (Blomquist and Antem, 1967; Flynn et al., 1991a; Shimura, Grigson and Norgren, 1997) ので、PBN を電気凝固破壊したときに生じる味覚誘発行動の障害は NTS ニューロンの機能を損なったためだとも考えられる。

PBlat を破壊されたラットは 4 基本味に対してコントロール群と同じように正常な嫌悪-嗜好行動を示した。この結果から考えると、PBlat を破壊したときに見られる CTA の障害は味覚情報の伝達が阻害されたためではなく、塩化リチウムを注射したときの内臓感覚情報の伝達を阻害したためであろう。このよう

な解釈は、塩化リチウムを US として用いた Aguero ら (1993) やモルヒネを US として用いた Nader ら (1996) の解釈と一致する。実験 1 において、CTA を誘発するのに効果的な US を処置すると PBN の外部外側垂核が活性化されることを示しており、CTA の US の情報投射経路に PBN の外側部が含まれていることは間違いない。さらに、本実験で示されたように PBlat を破壊しても CTA の保持 (想起) には影響がないことから、PBlat や内臓感覚は CTA の想起に際しての味覚記憶の再生には必要でない (Houpt, Berlin and Smith, 1997) ことが示唆される。

PBmed や PBlat を破壊したときに見られる CTA 獲得の障害は、CS-US の連合を阻害したためだとも考えられる。今回行った PBlat の破壊には、*c-fos* を用いた研究によって CS-US 連合形成の場であることが示唆されている外部外側垂核 (Yamamoto, 1993; Yamamoto et al., 1994b) などを含んでいるからである。また、PBmed の破壊には味覚と内臓感覚の両方に反応するニューロンが電気生理学的に発見されている尾側 PBN の内側部も含まれていた (Hermann and Rogers, 1985) 。

しかしながら正常な PBN を持っても、視床以上のレベルで除脳されたラットは CTA を獲得することができない (Grill and Norgren, 1978b) 。この発見から考えると、味覚と内臓感覚との連合は扁桃体や大脳皮質味覚野で行われ、それらの部位から PBN へ投射する下行性の投射が CTA の発現に必要なことが示唆される (Yamamoto, et al., 1994b) 。

実験 3

結合腕傍核からの上行性投射路とその機能

実験 3A

目的

実験 2 では、味覚や内臓感覚が投射する結合腕傍核の外側部 (PBlat) を破壊すると味覚感受性は正常であるが、CTA の獲得が阻害されること、また、PBlat を破壊しても CTA の保持はほとんど影響を受けないことより、PBlat は味覚嫌悪学習の獲得に関与している可能性が有ることを示した。さらに、味覚情報が投射する PBmed を破壊された動物は、CTA の獲得と保持、さらに味覚に対する正常な選好-忌避行動に障害を持つことがわかった。ところが、視床以上のレベルで除脳されたラットは、PBN は正常であるにも拘わらず、CTA を獲得できないことが知られている (Grill and Norgren, 1978b)。さらに、扁桃体基底外側核 (basolateral amygdala: BLA) を破壊された動物は CTA を獲得出来なくなることを示した研究も多い (Nachman and Ashe, 1974; Bermudez-Rattoni and McGaugh, 1991; Yamamoto, Fujimoto, Shimura and Sakai, 1995)。これらの実験結果から PBN からの情報は最終的に BLA に送られて嫌悪学習行動が形成されると考えられる (例えば Yamamoto, Shimura, Sako, Yasoshima

and Sakai, 1994b)。

しかしながら、PBN と BLA との間の線維連絡に関する神経解剖学的研究は現在に至るまでなされておらず、PBN の上行性投射を扱った研究においても、PBN から BLA への投射は発見されていない (例えば、Fulwiler and Saper, 1984)。これらの結果は、PBN で処理された情報が途中いくつかの中継核を経て、BLA へと運ばれていることを示唆するものである。

Yamamoto ら (1995) は、視床味覚野と視床内側部とを合わせて破壊されたラットが CTA を獲得できなくなることを示しており、視床味覚野と視床内側部を経由して PBN で処理された情報が BLA に伝達されている可能性がある。ところが神経解剖学的な研究では、視床正中部への投射は PBmed に起因するものが発見されているのみであり、視床味覚野への投射もその起始細胞は PBmed に位置している。つまり、PBlat から視床への投射については、現在のところ知られていないことが多いのである。さらに、視床から扁桃体への投射についても、各亜核間の線維連絡については、詳しく調べられていない。

さらに、PBmed や PBlat の各亜核部分からの上行性投射に関して調べた研究も少なく、その投射路の機能も知られていない。

そこで、本研究では PBlat からの投射が示唆されている部位である扁桃体中心核 (Central nucleus of the Amygdala; Ce; Norgren, 1976) や、不確帯 (Zona Incerta; ZI; Krukoff, Harris, Jhamandas, 1993)、視床正中部 (Medial Thalamus; MT; Ogawa and Nomura, 1987) にトレーサーとして WGA-HRP あるいは Biotin Dextranamine を注入し、神経解剖学的に PBlat からの上行性の

投射路を調べた。

方法

被験体・飼育

実験動物には成体の Wistar 系アルビノ雄性ラット（日本動物株式会社より購入）7匹を用いた。購入時の体重は 250～290 グラムであった。購入後は個別ケージ（プラスチック製）で飼育し、固形飼料（オリエンタル酵母：MF）、蒸留水は自由に摂取させた。飼育期間中すべてに渡って、飼育室は人工照明を使用し、午前 6 時～午後 6 時を明期、午後 6 時～午前 6 時を暗期とする明暗サイクルと、室温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ を保った。

手続き

ネンブタール麻酔下(60mg/kg)のラットの MT(AP: 3.8～4.0mm, lat: 静脈洞の左右, depth: 6～6.5mm)、Ce(AP: 2.6mm, lat: 4.0mm, depth: 6.9mm)、ZI(AP:2.2～2.6mm, lat:1.8～2.5mm, depth: 5.8～6.0mm)のいずれかの部位に WGA-HRP(Toyobo 製)あるいは Biotin Dextranamine (Sigma 製)をマイクロシリンジ（イトー製；1 μl ）を用いて 0.06 μl 注入し、48～72 時間後に灌流・固定し、TMB-ST 法（付録を参照）あるいは SLAB 法（付録を参照）により染色を行った。切片はニュートラルレッドの対比染色を行い、暗視野および明視野で観察し、写真撮影およびカメラルシーダによりトレースした。

結果と考察

1) 視床正中部への注入

注入部位は視床正中部、正中核群、髄板内核等であった。逆行性にラベルされた細胞体は PBlat ではほとんど見られなかったが、ZI には多数のラベルされた細胞体と神経終末様の像が認められた (図 11)。

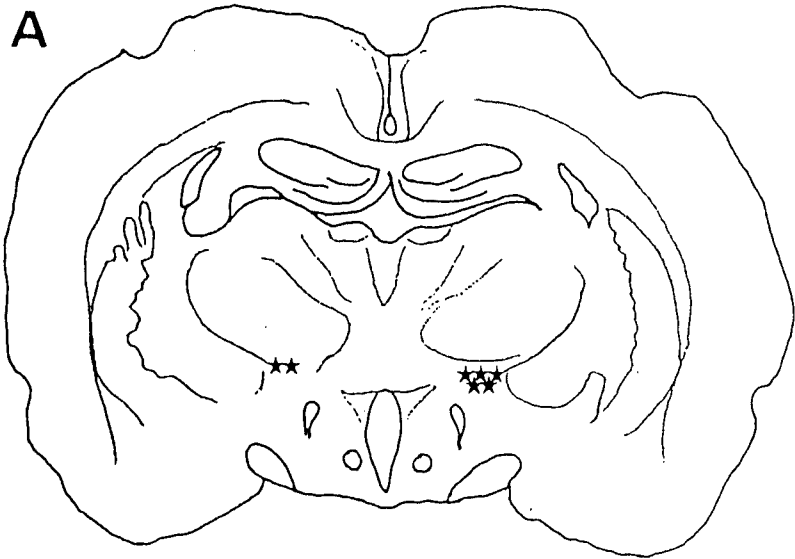
2) 不確帯への注入

注入部位には不確帯の他に視床腹内側核、無名質の一部が含まれていた。順行性および逆行性のラベルは、MT、PBlat に見られた (図 12)。

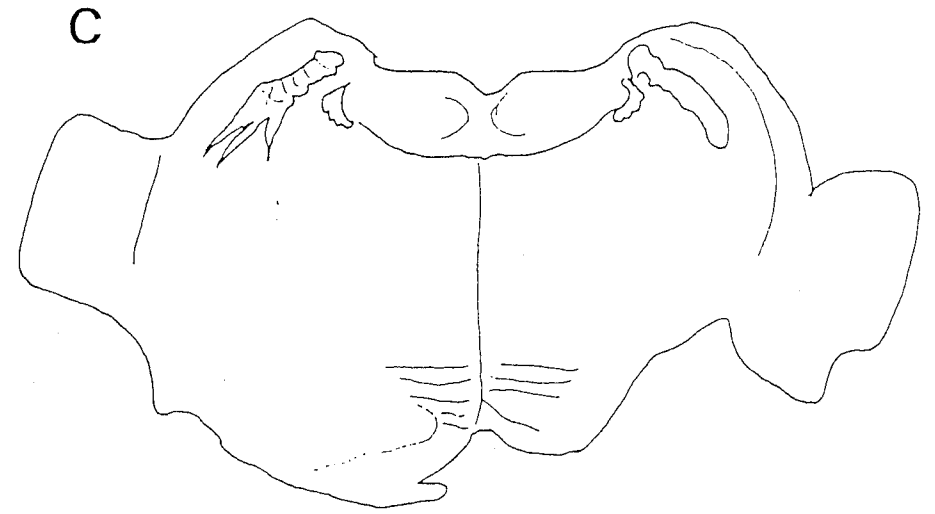
3) 扁桃体中心核への注入

注入部位には扁桃体中心核の他に扁桃体基底外側核(BLA)の一部、分界条床核の一部が含まれていた。逆行性にラベルされた細胞体は視床味覚野(VPMpc)、PBlat に見られた (図 13)。

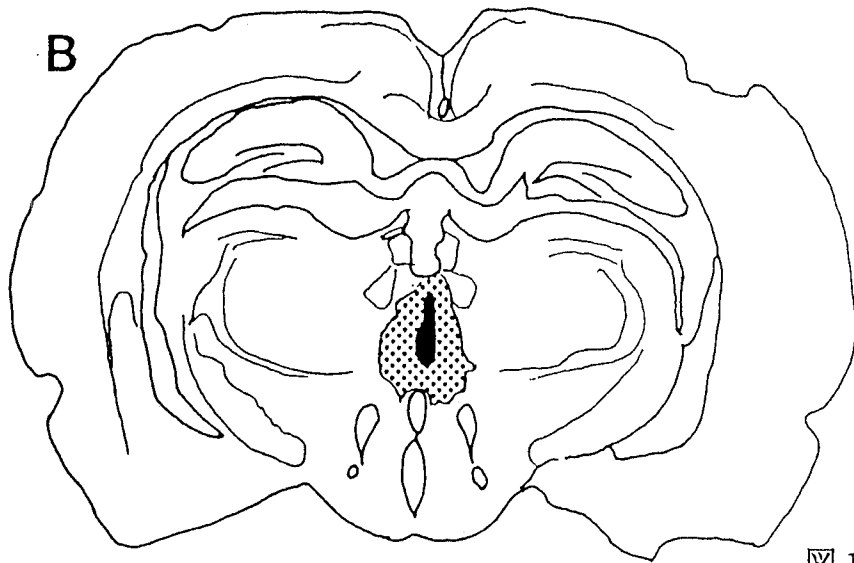
本実験の結果から、PBlat からの上行性の投射先には少なくとも Ce、ZI があり、ZI からは MT への投射があることが明らかとなった。さらに、MT からは BLA への投射があるという報告があり (Groenewegen, Berendse, Wolters and Lohman, 1990; Turner and Herkenham, 1991)、PBel→ZI→MT→BLA という



Zona Incerta (ZI)



Parabrachial Nucleus (PBN)



Medial Thalamus (MT)
(INJECTION SITE)

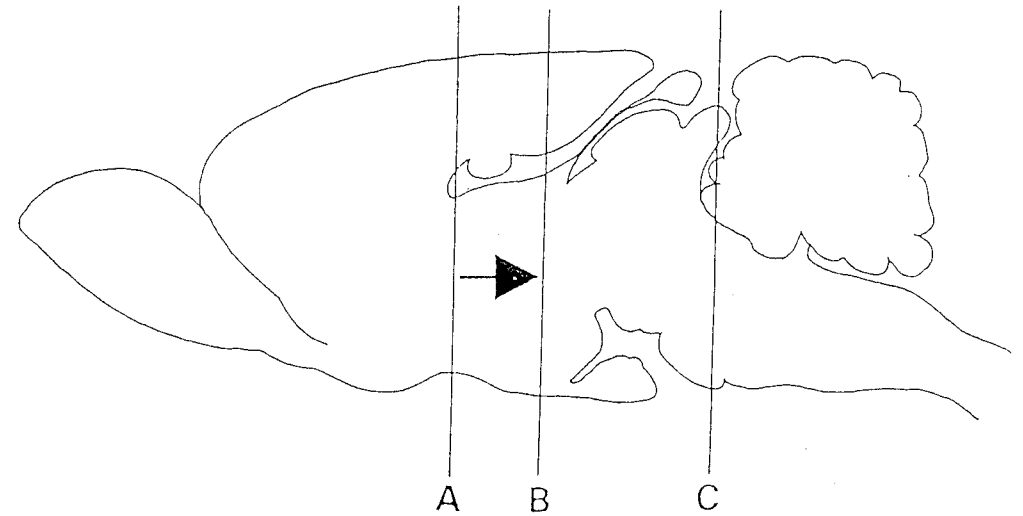
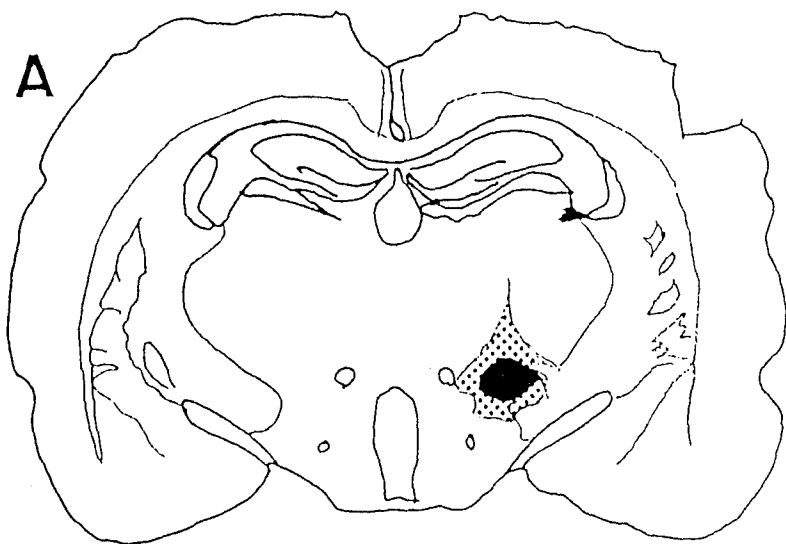
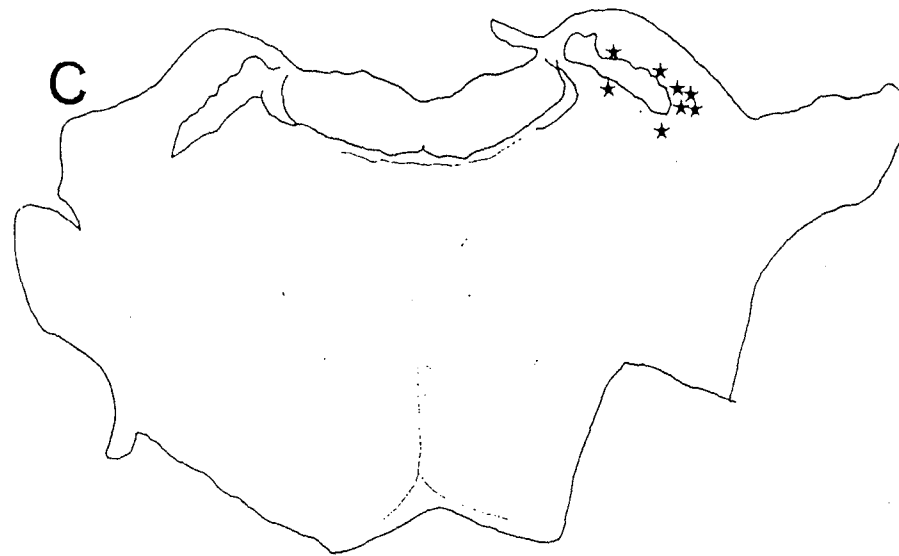


図 11

視床正中部に WGA-HRP を注入したときの様子。*は逆行性にラベルされた細胞体を表している。



Zona Incerta (ZI)
(INJECTION SITE)



Parabrachial Nucleus (PBN)



Medial Thalamus (MT)

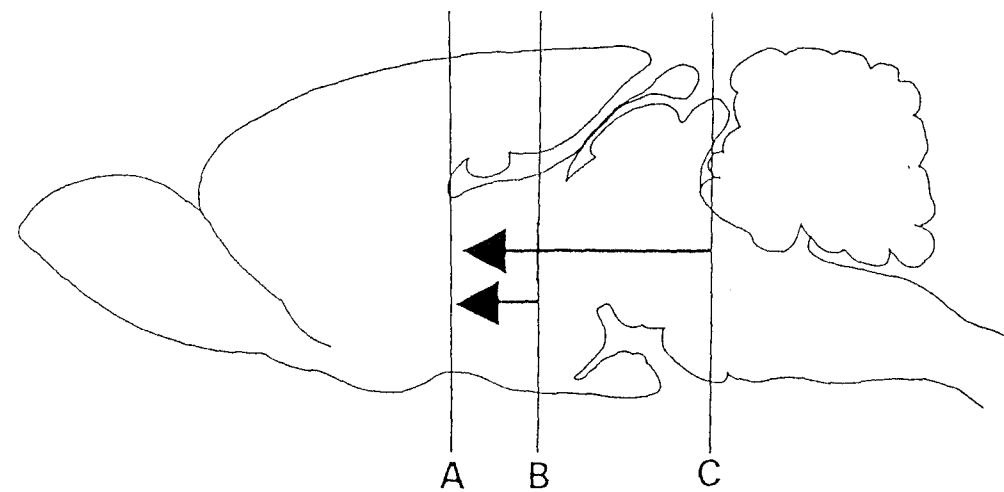
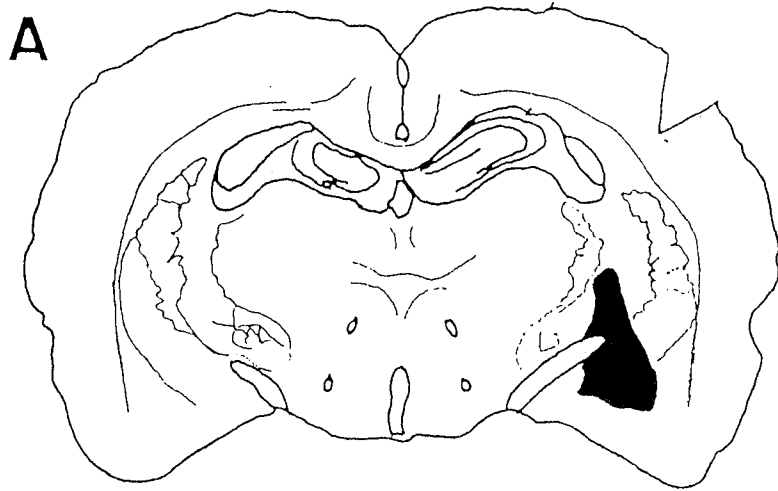
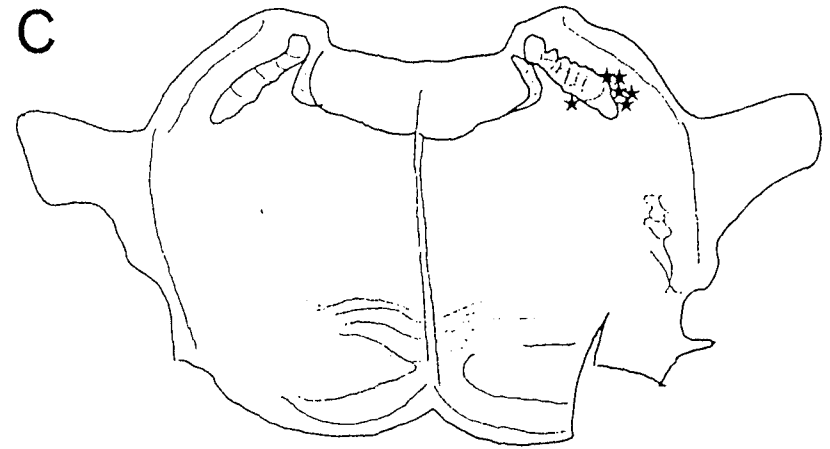


図 12

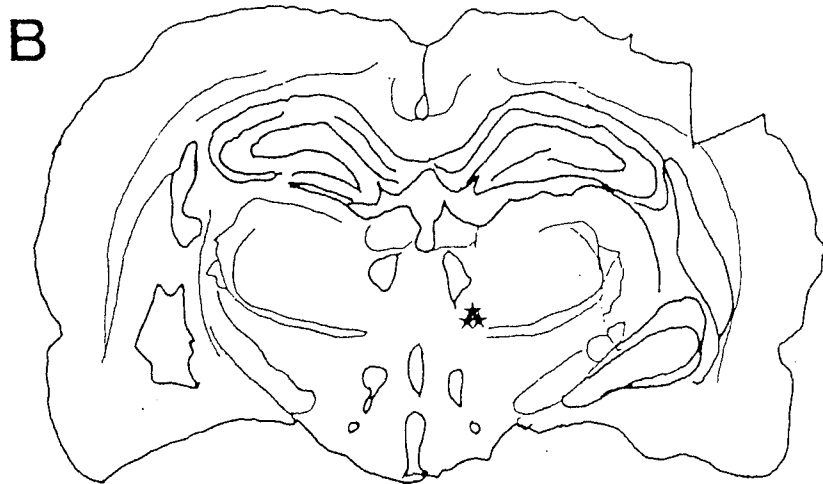
不確帯に WGA-HRP を注入したときの様子。*は逆行性にラベルされた細胞体を表している。



Central Nucleus of Amygdala (Ce)
(INJECTION SITE)



Parabrachial Nucleus (PBN)



Thalamic Taste Area (VPMpc)

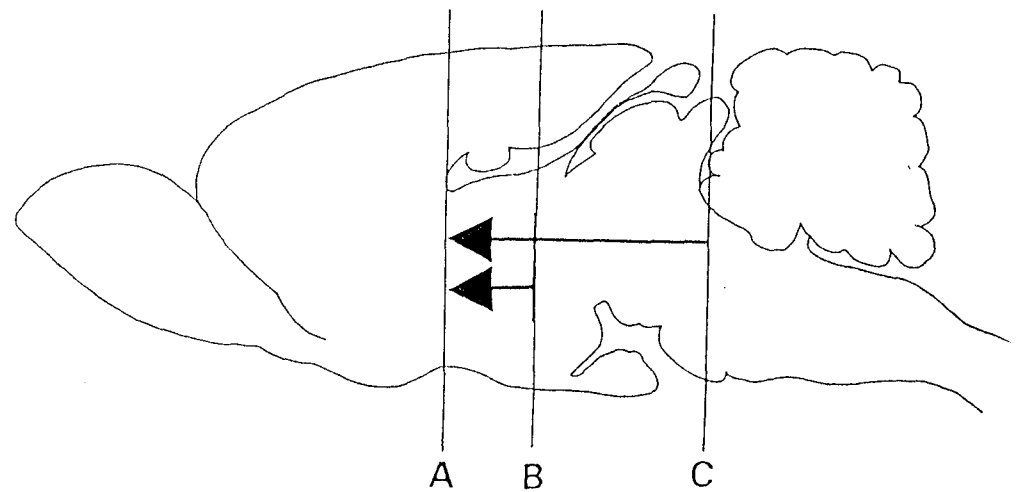


図 13

扁桃体中心核に WGA-HRP を注入したときの様子。*は逆行性にラベルされた細胞体を表している。

経路の存在が考えられる。Yamamoto ら (1995) は MT と VPMpc を含む破壊を受けたラットは、BLA を破壊されたラットと同じように、CTA の獲得に障害を持つということを示しているが、この障害はこの経路を遮断したことによるものと考えられる。

実験 3B

目的

実験 1 において、味覚嫌悪学習 (CTA) の無条件刺激となりうる処置は全て、結合腕傍核外部外側垂核に存在するニューロンを興奮させていることがわかった。また、実験 2 では、結合腕傍核外部外側垂核を破壊されたラットは CTA を獲得出来なくなることが分かった。味覚情報が投射する結合腕傍核の内側核を破壊した場合には、CTA の獲得と保持が出来なくなるが、味覚に対する嗜好にも大きな障害を受け、そのために CTA を学習することが出来なかった可能性が示唆された。一方、結合腕傍核の外部外側垂核を破壊されたラットは味覚に対する無条件性の嗜好は障害を受けないが、CTA の獲得に障害を受けたので、外部外側垂核の破壊により CTA の形成に関わる情報が結合腕傍核外部外側垂核を經由して上位脳へ伝達されることが示唆された。CTA の形成に関わる前脳の部位としては、いくつかの破壊行動実験から、扁桃体基底外側核 (BLA) がその候補として考えられている (例えば Yamamoto, et al., 1994) が、結合腕傍核外

部外側垂核と BLA との直接の神経連絡は知られていない。

そこで、実験 3A において結合腕傍核外部外側垂核から扁桃体への投射を神経解剖学的に検索した。その結果、結合腕傍核外部外側垂核から BLA への直接の投射はみられなかったが、途中いくつかの構造体を通して、PBlat から扁桃体への上行性のルートは少なくとも 2 つあることが示唆された。一つは PBlat→Ce、もう一つのルートは PBlat→ZI→MT→BLA である。さらに、CGA→BLA というルートも文献的に知られている ()。これらのルートが CTA 獲得に関与しているかどうかを調べるためにこれらのルートに含まれる BLA、Ce、CGA、MT あるいは ZI をイボテン酸を用いて破壊し、それぞれの部位の破壊が CTA の獲得にどのような影響を与えるかを調べ、前述のルートが CTA 獲得に対して果たしているであろう役割を考察した。

方法

被験体・飼育

実験動物には成体の Wistar 系アルビノ雄性ラット (日本動物 (株) より購入) 30 匹を用いた。購入時の体重は 200~250g であった。購入後は個別ケージ (プラスチック製) で飼育した。以後、固形飼料 (オリエンタル酵母 : MF) は自由に摂取させた。飼育期間中すべてに渡って、飼育室は人工照明を使用し、午前 6 時~午後 6 時を明期、午後 6 時~午前 6 時を暗期とする明暗サイクルと、室温 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ を保った。

手続き

1日20分間の摂水トレーニングを行った後、破壊手術を行った。動物はBLA、Ce、CGA、MTあるいはZI破壊群と統制群の6群に分けられ、破壊手術を受けた。一週間の回復期の後、動物を一日に約20時間の絶水下におき、20分間の蒸留水の摂取量を5日間測定した。6日目に蒸留水のかわりに0.01M サッカリンナトリウム溶液(CS)を20分間摂取させた後、0.15Mの塩化リチウム(US: 体重の2%量)を腹腔内に注射した。7日目から4日間、はじめにサッカリン溶液を20分間摂取させ、その後蒸留水を20分間与えそれぞれの飲み量を測定した。サッカリンと蒸留水の飲み量を測定することにより、CTAの獲得と保持の様子を調べた。

手術

摂水量がほぼ一定になったところで、破壊群ラット(各部位5匹ずつ)をペンタバルビタール麻酔下(60mg/kg)におき、脳定位装置(Narishige, Type SR-6N)に固定し、ブregマとラムダを水平に合わせた。頭皮を切開した後、当該部位の上方の頭蓋に穴を開けた(部位:ブregマより後方、正中より側方、深さ、BLA: 2.0mm, 4.8mm, 7.5mm および 3.0mm, 5.0mm, 8.0mm の二箇所、Ce: 2.6mm, 4.0mm, 6.9mm、CGA: -1.8mm, 4.8mm, 4.5mm、MT: 3.8mm, 1.0mm, 5.6mm、ZI: 2.2~2.6mm, 1.8~2.5mm, 5.8~6.0mm)。イボテン酸(Sigma Chemical, St Louis, MO, 1%)の注入は、固定装置に取り付けられた

マイクロ・シリンジ（イトー製；1 μ l）とマイクロインフュージョンユニット（Nihon Koden, XF-320J）を用いて各部位へ 0.3 μ l ずつ注入した。注入速度は毎分 0.03 μ l とし、注入前後に 5 分の静置期間を置き、片側に 20 分ずつかけて注入を行った。

組織

行動実験終了後、通法により動物を灌流・固定し、50 μ m の凍結切片を作製し、クレジールバイオレット染色を行い、破壊部位を同定した。

結果

脳組織切片の顕微鏡観察の結果から、この 5 群に 5 匹のコントロール群を加え、6 群間の比較を行った。

図 14 は、それぞれの群についての手術後の水の摂取量の平均と各日のサッカリンの摂取量の平均値を示したものである。ANOVA を用いて分析を行ったところ、手術後の水の摂取量では破壊の主効果は見られなかった ($F(5,26) = 1.16$, $p > 0.1$) ので、これらの部位を破壊しても摂水行動自体は影響を受けないことがわかる。

コントロール群、ZI 破壊群、BLA 破壊群はともにサッカリンを初めて提示した条件づけ日には、前日までの蒸留水の飲み量に比べてサッカリンの摂取量が減少するという新奇性恐怖がみられた（すべて $p < 0.01$, t-test）が、Ce 破壊群、

CGA 破壊群、MITC 破壊群は新奇性恐怖を示さなかった ($p>0.1$, t-test)。

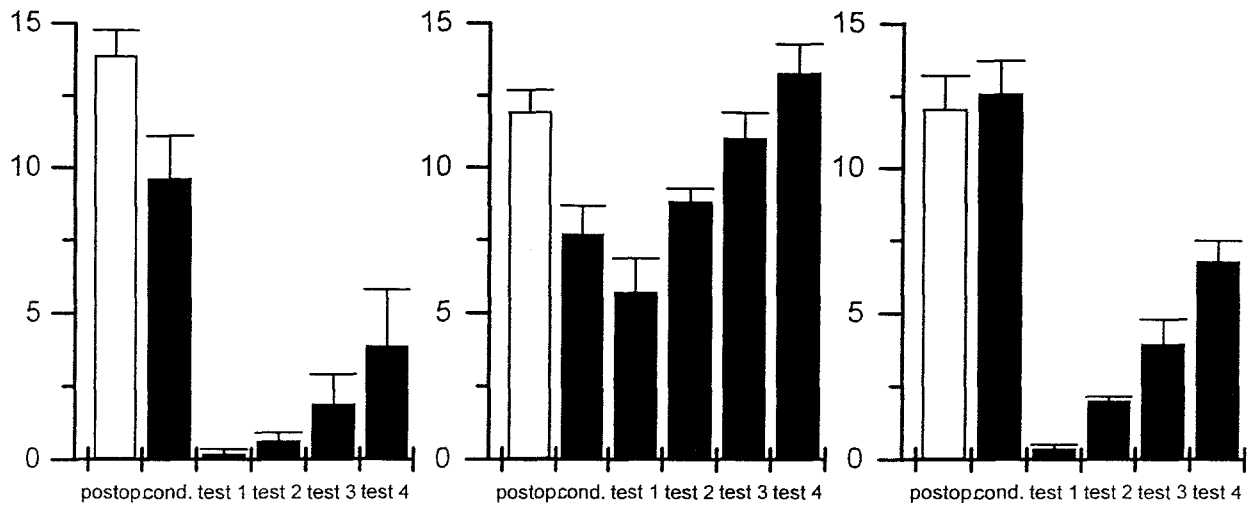
各群のサッカリンの摂取量について 2 元配置の経時性分散分析を行ったところ、破壊 ($F(5,26) = 8.02$, $p<0.01$) と試行 ($F(4,104) = 98.86$, $p<0.01$) の有意な主効果、および破壊×試行の有意な交互作用 ($F(20,104) = 5.59$, $p<0.01$) が見られた。テスト初日には、各群ともにサッカリン摂取の抑制 (サッカリン摂取量が条件づけ前の水の摂取量に比べて有意に小さい、 $p<0.01$) が見られ、CTA が獲得されていたことがわかる。しかしながら、コントロール群とのサッカリン摂取量の比較をとれば、BLA 群はテスト初日から有意に多くのサッカリンを摂取しており ($p<0.01$)、BLA 破壊群はコントロール群に比べて弱い CTA しかなかったことが分かる。

破壊によって CTA の獲得がどのような障害を受けたのかを調べるために、CTAI を算出した (図 15)。その結果、CTAI において破壊の主効果が見られた ($F(5,26) = 6.72$, $p<0.01$)。LSD を用いた下位検定により、BLA 群、MITC 群、ZI 群の CTAI は、コントロール群のそれと比べて有意に小さかった ($p<0.05$)。このことから、BLA や MITC、ZI の破壊により、CTA の獲得から保持、想起までのいずれかの過程において障害を受けることが示唆される。

考察

本研究では、Ce や CGA を破壊しても CTA の獲得には障害が見られなかった。MITC や ZI を破壊された動物は、CTA を獲得するが、コントロール群に比べる

コントロール 扁桃体基底外側核 扁桃体中心核



大脳皮質味覚野 視床正中中部 不確帯

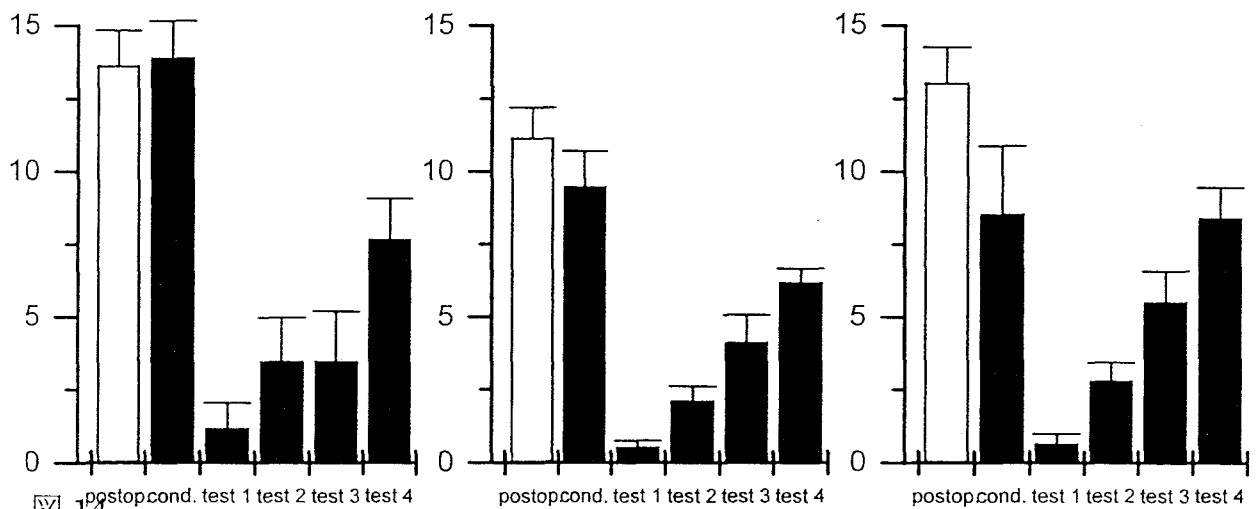
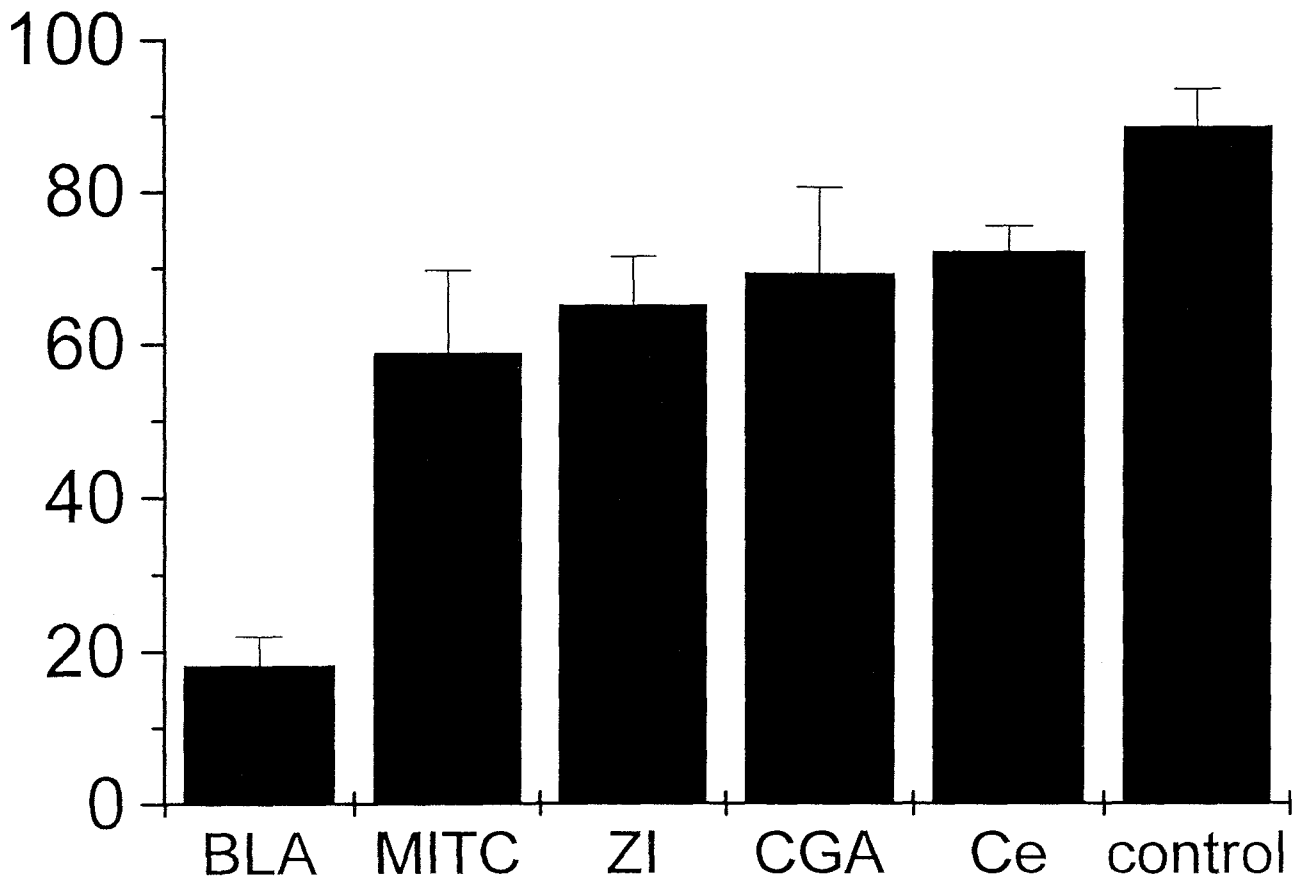


図 14

各群の蒸留水とサッカリン溶液の摂取量の平均と標準誤差。縦軸は、摂取量 (g) を表している。postop.は、破壊手術後の蒸留水の摂取量の平均、それ以外はサッカリン溶液の摂取量を示している。



$$\text{CTA Index} = \left(1 - \frac{\text{4日間のサッカリン摂取量の平均}}{\text{条件付け前の蒸留水摂取量の平均}}\right) \times 100$$

図 15

各群の CTA Index の平均値±標準誤差。CTA Index は上に示すような式に基づいて算出した。

と有意に弱い CTA であった。従来の破壊実験により CTA の獲得への関与が示唆されている BLA を破壊された動物は、CTA の獲得が弱められることが分かった。

実験 3A から示唆されていたのは、PBlat からの情報は、Ce や ZI、CGA に投射され、ZI への投射は MITC を介して、BLA へ伝達されるということであった。しかしながら、PBlat からの上行性の 3 つの投射先を破壊しても CTA の獲得に大きな影響はなかった。この解釈としては次のような可能性が考えられる。1) PBlat から Ce や CGA、ZI に送られる情報は CTA の獲得に関与しないものである。神経解剖学的実験では神経のつながりが確認されるだけで、このような機能についての検証を行うことはできない。破壊実験においても、投射先である核の全てを破壊出来る訳ではなく、今回行なった破壊によっても PBlat からの投射を受けている細胞がそのまま生き残り、機能していた可能性はある。電気生理学的実験を用いても、CTA の獲得（あるいは保持、想起）時にその細胞が興奮したか否かが分かるだけで、その細胞が CTA の形成に深く関わっているかどうかを知ることは出来ない。そこで、この仮説についての検証は難しい。2) CTA の獲得はすでに PBlat レベルで行われている。しかし、上丘レベルで除脳した動物は PBlat が正常でも、CTA を獲得できない(Grill and Norgren, 1978b)ことからこの可能性は否定される。3) PBlat からの出力は ZI や Ce 以外にもあり、それらの部位が CTA の獲得に関与している。実験 3A からも今回の実験で破壊した以外の投射先が見られた。様々な研究からも、無名質や分界条床核、視床下部腹内側核などの投射先が知られている。今回の破壊部位は CTA の形成

に関しておらず、これらの部位が CTA に関っているかどうかということは今後の研究を待たなければならない。4) PBlat-Ce 系、PBlat-CGA 系あるいは PBlat-ZI 系の投射はともに CTA 獲得に大きな役割を果たしているが、一つの系が破壊された場合には残りを介する情報が役割を果たすというような代償作用がある。このことは Ce と ZI、Ce と CGA、Ce と ZI など 2 つの投射先を同時に破壊された動物を用いた行動学的実験により確認できる。

実験 3C

目的

従来の研究 (Nachman and Ashe, 1974; Simbayi et al., 1986; Yamamoto et al., 1995) から、BLA が CTA の獲得に大きな役割を果たしていることが示唆されている。実験 3A で PBlat から扁桃体基底外側核への上行性のルートは少なくとも 3 つあることが示唆された。一つは Ce を経由するルート、ZI から MT を介して伝えられるルート、大脳皮質味覚野を介するルートの 3 つである。これらのルートが CTA 獲得に関与しているかどうかを調べるために Ce、CGA、MT あるいは ZI をイボテン酸による破壊を行い、それぞれの部位の破壊が CTA の獲得にどのような影響を与えるかを調べた (実験 3-B) が、どの破壊群のラットも CTA を獲得することが出来、BLA を破壊した時に匹敵する破壊効果は見られなかった。

多くの実験から、結合腕傍核を破壊されたラットは味覚嫌悪学習を獲得出来ないことが知られている (Ivanova and Bures, 1991a, 1991b; Spector et al., 1992; Scarela et al., 1995; Sakai and Yamamoto, in press など)。味覚を中継する結合腕傍核内側部 (PBmed) は、視床味覚野や大脳皮質味覚野と神経連絡していることが解剖学的に分かっている。また、Yamamoto ら(1995)の破壊実験では、視床味覚野と視床内側部とを大きく破壊されたラットは CTA の獲得が障害されることを示している。視床味覚野や視床正中部を単独に破壊しても CTA の獲得には影響がないことから、視床味覚野と視床正中部とを通る情報の両方が中断されると CTA の獲得が障害されると考えることができる。視床味覚野からは Ce と CGA に投射することが知られており、視床正中部からは BLA に情報が送られていることが実験 3A から分かった。結局、Yamamoto らの破壊は、結合腕傍核からの味覚性情報と内臓感覚性情報とを視床レベルで中断していたのであろう。

ところが、実験 3B で、伝達経路の一部を破壊しても破壊の効果が見られなかったのは、それぞれのルートが互いに機能を補いながら活動しているためだと考えられる。そこで、本実験では上述したルートの 2 ヶ所を破壊することにより、代償作用が起こっているのかどうかを調べることを目的とした。

方法

被験体・飼育

実験動物には成体の Wistar 系アルビノ雄性ラット（日本動物（株）より購入）16 匹を用いた。購入時の体重は 200～250g であった。購入後は個別ケージ（プラスチック製）で飼育した。以後、固形飼料（オリエンタル酵母：MF）は自由に摂取させた。飼育期間中すべてに渡って、飼育室は人工照明を使用し、午前 6 時～午後 6 時を明期、午後 6 時～午前 6 時を暗期とする明暗サイクルと、室温 $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ を保った。

手続き

1 日 20 分間の摂水トレーニングを一週間行った後、破壊手術を行った。動物は Ce+CGA 破壊群、Ce+ZI 破壊群、CGA+ZI 破壊群、統制群の 4 群に分けられ、破壊群は以下に述べる破壊手術を受けた。一週間の回復期の後、動物を一日に約 20 時間の絶水下におき、20 分間の蒸留水の摂取量を 5 日間測定した。6 日目に蒸留水のかわりに 0.01M サッカリンナトリウム溶液(CS)を 20 分間摂取させた後、0.15M の塩化リチウム（US: 体重の 2%量）を腹腔内に注射した。7 日目から 4 日間、はじめにサッカリン溶液を 20 分間摂取させ、その後蒸留水を 20 分間与えそれぞれの飲み量を測定した。サッカリンと蒸留水の飲み量を測定することにより、CTA の獲得と保持の様子を調べた。

手術

摂水量がほぼ一定になったところで、破壊群ラットをペントバルビタール麻酔下(60mg/kg)におき、脳定位装置 (Narishige, Type SR-6N) に固定し、プレグマとラムダを水平に合わせた。頭皮を切開した後、当該部位の上方の頭蓋に穴を開けた(部位: プレグマより後方、正中より側方、深さ、Ce: 2.6mm, 4.0mm, 6.9mm, CGA: -1.8mm, 5.0mm, 4.5mm, ZI: 2.2~2.6mm, 1.8~2.5mm, 5.8~6.0mm)。本実験では、一匹のラットについて2ヶ所の破壊を行った。イボテン酸 (Sigma Chemical, St Louis, MO, 1%) の注入は、固定装置に取り付けられたマイクロ・シリンジ (イトー製; 1 μ l) とマイクロインフュージョンユニット (Nihon Koden, XF-320J) を用いて各部位へ0.3 μ l ずつ注入した。注入速度は毎分0.03 μ l とし、注入前後に5分の静置期間を置き、片側に20分ずつかけて注入を行った。

組織

行動実験終了後、通法により動物を灌流・固定し、50 μ m の凍結切片を作製し、クレジールバイオレット染色を行い、破壊部位を同定した。

結果

脳組織切片の顕微鏡観察の結果から、5匹をCe+ZI破壊群、5匹をCe+CGA破壊群、5匹をCGA-ZI破壊群とした。この3群に6匹のコントロール群を加え、4群間の比較を行った。

図 16 は、それぞれの群についての手術後の蒸留水の摂取量の平均と条件づけ日とテスト日におけるサッカリンの摂取量を示したものである。4 群間で手術後の水の摂取量に有意差はなく ($F(3,16) = 0.78, p > 0.1$)、これらの破壊を行なっても摂水行動自体は影響を受けないことがわかる。

サッカリン溶液を初めて提示した条件づけ日には、前日までの蒸留水の飲み量に比べてサッカリンの摂取量が減少するという新奇性恐怖がコントロール群のラットでみられたが、破壊群は 3 群とも新奇性恐怖を示さなかった。

ANOVA を用いて分析を行ったところ、サッカリンの摂取量において、破壊 ($F(3,16) = 19.72, p < 0.01$)、日数 ($F(3,48) = 38.02, p < 0.01$) それぞれの有意な主効果が見られた。さらに、破壊×日数の交互作用も有意であった ($F(9,48) = 3.74, p < 0.01$)。テスト初日には、各群ともにサッカリン摂取の抑制が見られ、CTA が獲得されていたことがわかる。しかし、CGA+ZI 破壊群においては、テスト 1 日目からのサッカリン摂取量がコントロール群のそれに比べて有意に増大しており、この傾向は 4 日のテスト日全てにおいて見られた ($P < 0.05$, Fig.15)。さらにこの群では、サッカリンの摂取量は 2 日目には条件づけ前の蒸留水の摂取量レベルにまで回復していた。Ce+ZI 破壊群では 2 日目以降のサッカリン摂取量がコントロール群に比べて多かった ($p < 0.01$)。

CTA の獲得に対する破壊効果を示すために、CTAI を算出した (図 17)。CTAI について ANOVA を行ったところ、破壊の主効果が見られた ($F(3,16) = 16.98, p < 0.01$)。下位検定 (LSD) により、Ce+ZI 破壊群、CGA+ZI 破壊群の CTAI はコントロール群の CTAI よりも小さいことが明らかになった ($p < 0.01$)。す

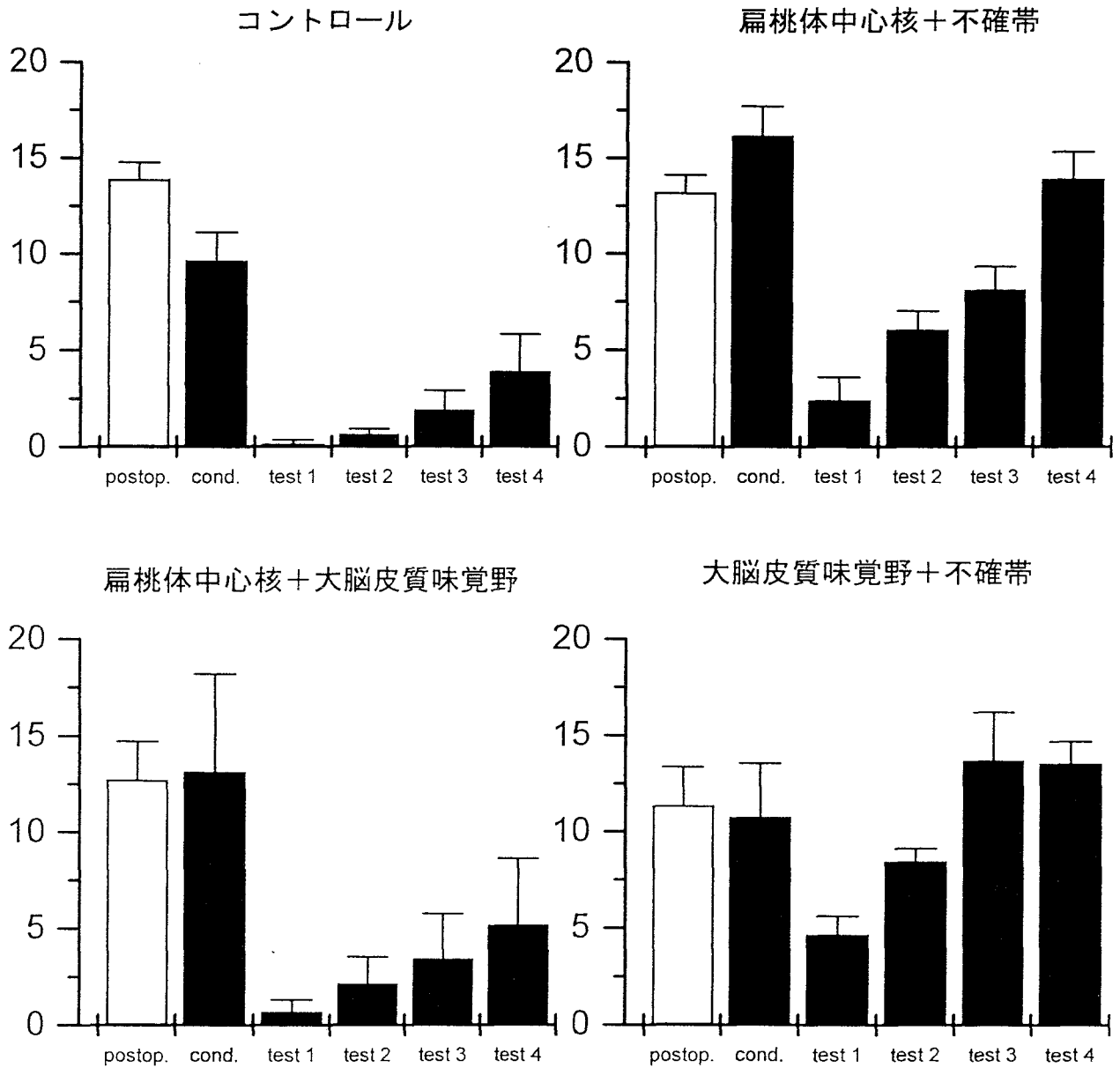


図 16

各群の蒸留水とサッカリン溶液の摂取量の平均と標準誤差。縦軸は、摂取量 (g) を表している。postop.は、破壊手術後の蒸留水の摂取量の平均、それ以外はサッカリン溶液の摂取量を示している。

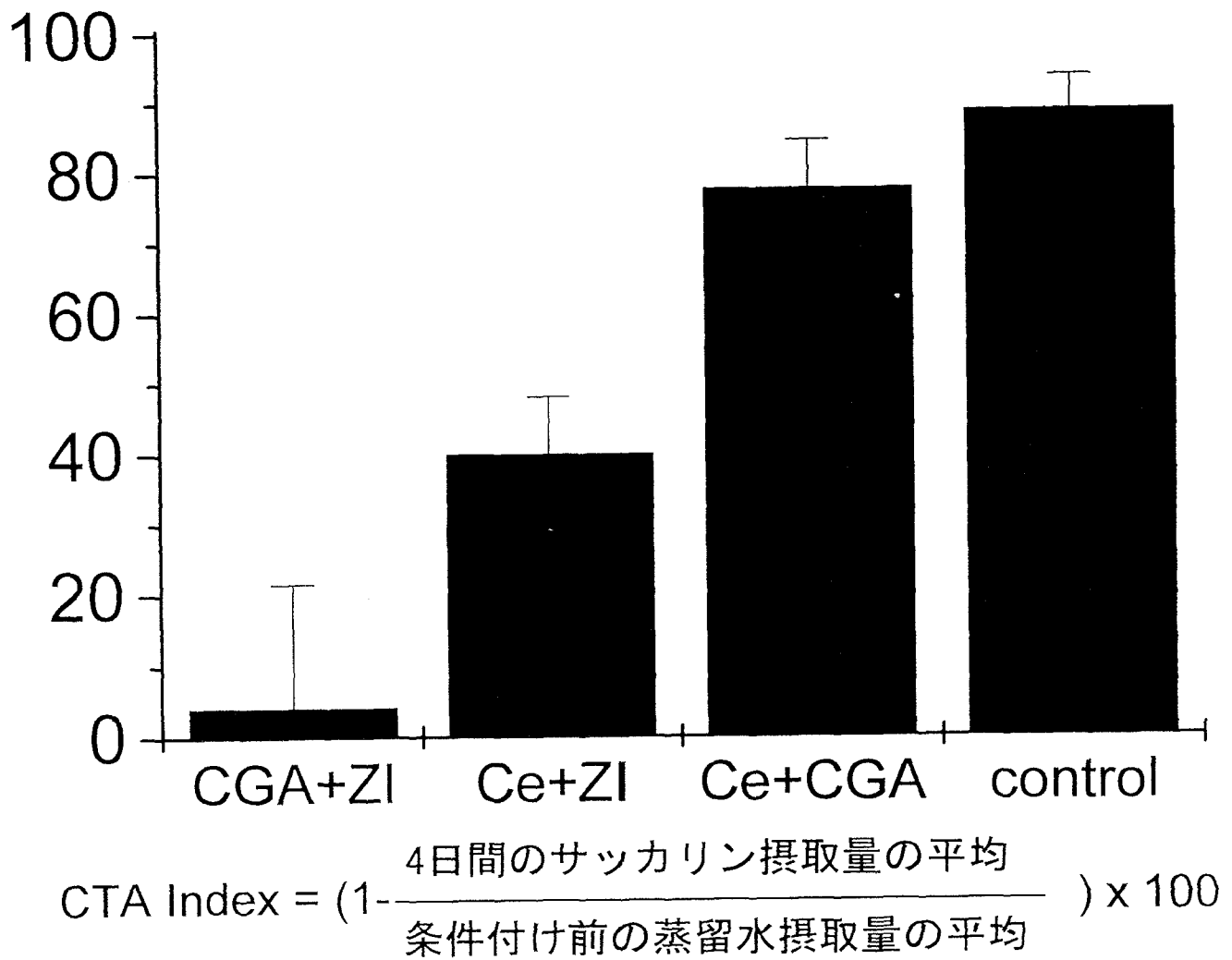


図 17
 各群の CTA Index の平均値 ± 標準誤差。CTA Index は上に示すような式に基づいて算出した。

なわち、Ce+ZI 破壊、あるいは CGA+ZI 破壊によって、CTA の獲得が有意に弱められた。Ce+CGA 破壊群は、コントロール群と有意な差は見られなかった。

考察

本実験の結果から、不確帯と大脳皮質味覚野とを破壊された動物は味覚嫌悪学習の獲得に大きな障害を持つことが分かった。不確帯と扁桃体中心核とを破壊された動物は、味覚嫌悪学習を獲得することはできたが、その消去がコントロール群に比べて有意に早くなった。一方、大脳皮質味覚野と扁桃体中心核とを破壊された動物はコントロールと同程度の味覚嫌悪学習を獲得することができた。この結果より、味覚嫌悪学習の獲得には大脳皮質味覚野や扁桃体中心核、不確帯を仲介して伝達される情報が大きな役割を果たしていることが示唆される。さらに、不確帯を含む複合破壊を受けた群はコントロール群に比べて有意に弱い学習の獲得を示したことから、これら 3 部位が同程度に関与しているのではなく、不確帯を経由する情報が一番大きな役割を果たしていることが考えられる。

総合論議

実験 3A から、不確帯は結合腕傍核からの入力を受け、その情報を視床正中部を介して扁桃体基底外側核に送っていることが示唆された。さらに、結合腕傍核

で処理された情報は、視床味覚野を経て大脳皮質へ投射される経路と扁桃体中心核に直接投射する経路とが文献的に知られている (Norgren, 1984)。実験 3C において、不確帯と大脳皮質を破壊されたラットが味覚嫌悪学習を獲得できなかったのは、結合腕傍核から扁桃体基底外側核への 2 つの投射経路を断つたためだと考えることが出来る。

結合腕傍核外側部を破壊した場合の CTAI は 11.55 ± 10.57 (実験 2 獲得テスト) で、扁桃体基底外側核を破壊した場合の CTAI は 18.24 ± 3.66 (実験 3B) であった。実験 3C で得られた大脳皮質味覚野と不確帯とを同時に破壊されたラットの CTAI は 7.63 ± 13.81 で、これら 3 群の間で得られた CTAI に有意差は見られない ($F(2,14) = 0.23, p > 0.5$)。このことから、味覚嫌悪学習の獲得には、視床味覚野から大脳皮質味覚野を経て扁桃体基底外側核へと運ばれる情報と不確帯から視床正中部を経て扁桃体基底外側核へと運ばれる情報とが相補的に関与している可能性が示唆される。視床味覚野には味覚に応答するニューロンが存在することが知られているが (例えば Norgren, 1984)、その直ぐ外側には内臓への刺激に応答するニューロンが存在する (Saper, 1995)。また、大脳皮質味覚野にも味覚に応答するニューロン (例えば山本, 1997) とその直ぐ尾側には内臓刺激に応答するニューロン (Yasui, Breder, Saper and Cechetto, 1991) とが存在することが確認されている。これらの事実から、結合腕傍核→視床味覚野→大脳皮質味覚野→扁桃体基底外側核へと続く神経連絡は味覚と内臓感覚とが並行して伝達されている可能性がある。さらに、電気生理学的な研究は未だなされていないが、不確帯を破壊すると味覚誘発性の行動障害が見られること

(Kiefer and Grijalva, 1980) や視床正中部に味覚情報が投射している可能性も示唆されている (Saper, 1995)。つまり、結合腕傍核→不確帯→視床正中部→扁桃体基底外側核という経路も味覚や内臓感覚を伝達している可能性がある。これらの仮説の検証は今後の電気生理学的な研究を待たねばならない。

扁桃体中心核を単独に破壊した場合の CTAI は 72.84 ± 2.17 で、この値とコントロール群の CTAI (89.71 ± 4.13) との間には有意差は見られた ($t=3.40$, $p<0.05$) が、扁桃体中心核を破壊されたラットも CTA を弱いながらも獲得していたことは間違いない (図を参照)。さらに、大脳皮質味覚野と扁桃体中心核を同時に破壊した場合の CTAI は 77.72 ± 6.72 で、大脳皮質味覚野を単独に破壊した場合の CTAI (69.33 ± 12.5) との間に差は見られない ($t=0.64$, $p>0.5$)。つまり、扁桃体中心核と大脳皮質味覚野との間に代償作用が存在する可能性は低いことが示唆される。これらのことから、本研究では扁桃体中心核が味覚嫌悪学習の獲得において中心的な役割を果たしているという可能性についての証拠を得ることは出来なかった。しかしながら、扁桃体中心核には、味覚嫌悪学習の獲得によってその応答を変化させるニューロンも発見されており (Yasoshima, Shimura and Yamamoto, 1996)、扁桃体中心核がどのような形で味覚嫌悪学習の形成に関わっているかを調べることは今後の検討課題である。

実験 4

味と匂いの連合学習

序

Capaldi (1996) によれば、ある食べ物を好きになるためには、4つの要因が考えられるという。すなわち、(1)経験、(2)医療効果、(3)風味－風味間の学習、(4)風味－栄養間の学習の4つである。このうち、経験とは摂食経験を増やすことによって雑食動物に見られる新奇性恐怖という現象を減弱させただけである可能性が高い。また、医療効果、風味－栄養間の学習においては、その食べ物自体を好きになったのか、その食べ物が快をもたらす（空腹という不快感からの開放やカロリーの補給など）から好きになったのかを区別することはできない。

対して、風味－風味学習 (flavor-flavor learning : 以下風味嗜好学習と表す) では、新奇なあるいは中立な風味を生得的に好ましい味 (甘味) と対提示することで動物にその風味に対する嗜好を獲得させることができる。

たとえば人を対象とした実験では、被験者に新奇なおいにする2種類のハーブティーを与える。片方のハーブティーには砂糖を加えるが、もう片方には砂糖は加えない2種類のティーを同じ回数だけ提示し、それぞれの味について評価させる。対提示の一週間後に、それぞれのティーに砂糖を加えたものと加えないものを被験者に提示し、また同じように評価させる。その結果、被験

者は最初の提示時に砂糖を加えられていたハーブティーに対してより強い嗜好を示すようになった (Zellner, Rozin, Aron and Kulish, 1983)。ただし、Zellnerらの実験では、カロリーを含む蔗糖溶液を用いているので、風味-栄養学習を被験者が行ったためだとも考えることが出来る。しかしながら、彼らの実験で用いられている濃度と量であれば、絶食条件下におかれているわけでもない被験者にとってカロリー上の利点はほとんどない。

動物実験において、蔗糖のかわりに甘い味はするがカロリーはないサッカリン溶液を用いても同じように嗜好は形成される。Fanselow と Birk は (1982) 実験を始める前は中立の刺激であるアーモンドとバニラの香料を用いて、一方をサッカリン溶液 (甘いカロリーはない) に、もう片方をキニーネ溶液 (苦いのでラットは生得的に好まない) に添加した。一日に片方のペアのみを対提示し、それぞれ 3 回の提示を行った結果、ラットはサッカリン溶液に添加された方の匂いのする水を匂いのない水より多く摂取した。逆にキニーネ溶液と対にされた匂いのする水の摂取は避けるようになった。

現在までのところ、嗜好が形成される過程についてはまだ良く分かっていない (Capaldi, 1996)。そこで本研究では、ラットを用いた破壊行動実験を行い、風味嗜好学習に関わる脳部位を同定し、この学習にどのような脳部位が関わっているのかという方向から、風味嗜好学習のメカニズムに迫ることにした。

本研究で破壊を行った脳部位は、扁桃体、大脳皮質味覚野、眼窩前頭葉皮質、帯状回の 4 部位である。扁桃体は、ラットにおいて、味覚嫌悪学習において連合学習が起こっていると示唆されている部位である (Yamamoto, Fujimoto,

Shimura and Sakai, 1994) し、味覚の情動的な側面の処理に関わっていることが示唆されている (Azuma, Yamamoto and Kawamura, 1984; Scott, Karadi, Oomura, Nishino, Plata-Salaman, Lenard, Giza and Aou, 1993)。また、眼窩前頭葉皮質はサルにおいて味覚と嗅覚のどちらの刺激に対しても応答する細胞や、食べ物を見たときに興奮する細胞が存在していることが知られている (Ogawa, 1994; Rolls, 1997)。Tanabe ら (1975) はサルの眼窩前頭葉皮質が嗅覚の視床中継核である視床背内側核からの入力を受け、眼窩前頭葉皮質を破壊されたサルは嗅覚を手がかりとする学習を行えなくなることを示している。さらに、人を対象とした PET (陽電子断層撮影法) を用いた研究より、扁桃体や眼窩前頭葉皮質は、嫌悪的な嗅覚情報の処理に関わっていることが示唆されている (Zald and Pardo, 1997)。このように、扁桃体や眼窩前頭葉皮質は、味覚や嗅覚によって誘発される情動性の学習に関わっていると考えられている。

帯状回は情動の中枢回路であると考えられているパベッツの回路を構成する部位の一つで、海馬や扁桃体と深いつながりを持っており (Shephard, 1994)、注意あるいは選択に関わる情動や動機づけ行動に関わっていると考えられている (Carlson, 1994; Posner and Raichle, 1994)。人を対象とした PET を用いた研究から、帯状回は味覚の弁別学習に関わっていることが示唆されている (川島・木之村・福田, 1997)。

大脳皮質味覚野は味覚の質的な処理を行っていることが分かっている (Yamamoto, Yuyama, Kato and Kawamura, 1985)。もし、風味嗜好学習が匂いと味の質とを連合しているのであれば、大脳皮質味覚野の破壊によって、

風味嗜好学習が障害を受けるであろうと予測できる。反対に、風味嗜好学習の獲得には、味覚の情動的側面が関わっているのであれば、扁桃体や眼窩前頭葉皮質、帯状回などの破壊によって、学習が障害を受けるはずである。

そこで、本研究において最初に、Fanselow and Birk (1982) の実験に沿って味覚と嗅覚との連合学習をラットに容易に獲得させるための実験パラダイムを改良し、獲得された嗜好の般化パターンを調べた。この般化パターンを調べることによって、ラットがどのような匂いを似ているあるいは異なっていると判断しているのかということが分かる。次に、このような連合学習を司る脳部位を調べるためにイボテン酸を用いた破壊行動学的実験を行った。この破壊実験により上で述べた仮説、つまりラットが嗜好を獲得するのは味質情報によるのか味刺激によって喚起される情動性情報によるものか、を検証することが出来る。

実験 4 A

目的

Fanselow と Birk の実験 (1982) では、キニーネと連合された匂いに対しては嫌悪を獲得させることが出来たが、サッカリンと連合された匂いに対する嗜好を獲得させることには失敗している。彼等の実験では、アーモンドの匂いとバニラの匂いを用いているが、ラットがこの 2 種類の刺激を容易に弁別出来な

い場合には条件づけの獲得が弱くなる可能性もある。

そこで、本実験においては用いようとする 2 種類の匂い刺激（バナナとアーモンド）をラットが区別できるか否かを調べるために、味覚による嗅覚嫌悪学習パラダイムを用いた研究を行った。

方法

被験体

ウィスター系雄性ラット（実験開始時の体重は約 200g）14 匹を用いた。動物は一匹ずつホームケージで飼育され、飼育室は室温（23℃）湿度（60%）明暗（12 時間）すべて機械的に保たれていた。動物は必要に応じて以下に示す方法で絶水条件下に置かれたが、餌は実験を通じて自由に摂取することが出来た。

トレーニング

動物を一日約 23 時間の絶水条件下に置き、一日に朝（20 分）夕（20 分）の 2 回ずつ測定ケージ内でのみ水を摂取するようにトレーニングを行った。加えて、ホームケージ内でも昼（20 分）の摂水トレーニングを行った。ほとんどの動物は一週間以内にトレーニングを習得できた。朝の摂取量が一定になったところで条件づけを行った。

条件づけ

トレーニングを習得した動物に対して味覚による嗅覚嫌悪増強のパラダイムに基づいた条件づけを行った。条件づけでは、朝の測定時間内にホームケージ内で、動物に匂い物質を溶かし込んだ 0.1% サッカリン溶液を提示し、その直後に塩化リチウム溶液 (0.15M) を体重の 2% 量腹腔内注射した。匂い物質としては、半数の動物にはバナナ (0.005% イソアミルアセテート水溶液)、残りの半分にはアーモンド抽出液 (0.1%) を用いた。塩化リチウムを腹腔内注射してから 6 時間後に動物に餌と蒸留水とを自由に摂取させ、その日は一晩回復日とした。

テスト

条件づけ日の翌日の昼から動物を絶水条件下に置き、その次の日の朝からテスト試行を行った。テスト第一回目は、測定ケージ内でラットに蒸留水、サッカリン溶液、CS 溶液、条件刺激と同じ匂いのする水を 10 秒×4 回ずつ提示し、それぞれの摂取量を測定した。ここで、匂い刺激に対して嫌悪が獲得されていた動物を対象に般化テストを行った。

般化テストで用いた刺激は、食品用香料 (パイナップル、プラム、メロン、グレープフルーツ、ミルク、グレープ、ペパーミント、レモン、アップル、ストロベリー、コーヒー、オレンジ、バニラ、ピーチ、アーモンドの 15 種類) の 0.1% 水溶液あるいは 0.005% イソアミルアセテート水溶液、蒸留水の 17 種類の液体であった。これらの刺激を測定ケージ内でランダムに提示し、それぞれの刺激

の摂取量を測定した。なお本実験で用いた匂い物質はすべて高砂香料株式会社のご好意により提供された物であった。

データの分析

各溶液および蒸留水の摂取量を用いて、バナナに嫌悪条件付けられた群、アーモンドに条件付けられた群それぞれに対して一元配置の分散分析ならびに最小有意差検定 (LSD test) を行なった。

結果

すべての動物が 0.1% サッカリン水溶液、CS 溶液、CS と同じ匂いを呈する溶液に対して摂取量の抑制を示した。

般化テストの結果は図 18 に示している。分散分析の結果、条件づけられた刺激の種類 (群) とテスト溶液の種類との間に交互作用が見られた ($F(16, 92) = 2.60, p < 0.01$)。

下位検定から、バナナの匂いを有する CS を摂取した動物は、バナナの匂いのする水を摂取するのを避けた ($p < 0.05$)。その他の匂いのする水に対する摂取量と蒸留水の摂取量との間に差は見られなかった。一方、アーモンドの匂いのするサッカリン溶液に条件づけられた動物は、アーモンド、ピーチ、ストロベリー、グレープフルーツの匂いを呈する水を摂取するのを避けた ($p < 0.05$)。

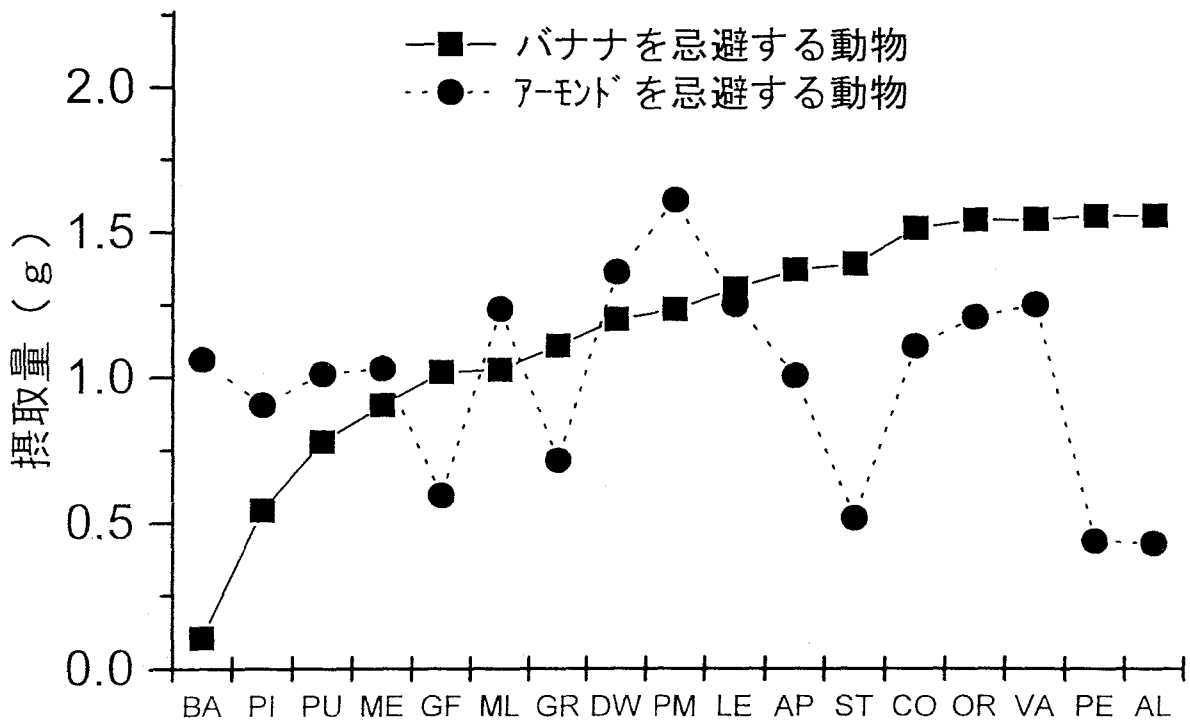


図 18

刺激般化のグラフ。丸はアーモンドの匂いを溶かしたサッカリン溶液を摂取したあとで塩化リチウムの腹腔内注射を受けた群、四角はバナナの匂いを溶かしたサッカリン溶液を摂取したあとで塩化リチウムの腹腔内注射を受けた群の様々な匂いのする水の摂取量を表している。

バナナに条件づけられた群のアーモンドの匂いのする水に対する摂取量、アーモンドに条件づけられた群のバナナの匂いのする水に対する摂取量それぞれは、蒸留水に対する摂取量とほぼ同じであった。

考察

本実験の結果から、バナナの匂いのするサッカリン溶液に嫌悪条件づけられた動物は、サッカリン溶液、バナナの匂いのする蒸留水、バナナの匂いのするサッカリン溶液のいずれに対しても忌避行動を示すこと、一方アーモンドの匂いのするサッカリン溶液に嫌悪づけられたラットもサッカリン溶液、アーモンドの匂いのする水、アーモンドの匂いのするサッカリン溶液のいずれに対しても忌避行動を見せた。この結果は、通常の味覚による嗅覚嫌悪増強パラダイムで見られる結果と一致する。

また般化テストの結果から、ラットはバナナの匂いとアーモンドの匂いとを区別していることが示唆された。このように、般化現象を用いればラットがどのように刺激を区別しているかを調べることができる。味覚嫌悪学習を用いて味覚の類似度について調べた研究は多い（山本, 1997 を参照）が、嗅覚の類似度や弁別について調べた研究は今までのところなかった。本研究の結果から、ラットはアーモンドの匂いとピーチ、ストロベリー、グレープフルーツとを似ていると判断していることが推測できる。これらの匂い間の類似度を明らかにするためには、例えばピーチに条件付けたときにもアーモンドに般化するか、

という検証をしなければならない。一方、バナナに条件付けた時には、他の匂いに対する般化は見られなかった。ラットがバナナの匂いを他の匂いと独立して感じているのか、他の刺激は食品用フレーバーを用いたのだがバナナの匂いとして用いたイソアミルアセテートのみが純物質であったためかは、本実験のみからは判断できない。

これらの結果から、ラットはバナナやアーモンドの匂いをそれぞれ区別して知覚し、それぞれの匂いを用いて学習が出来ることが分かった。そこで、次の実験では、バナナとアーモンドの匂いとを用いて、ラットに味と匂いの連合学習を行わせた。

実験 4B

方法

被験体

成熟ウイスター系雄性ラット 50 匹（日本動物㈱より購入）を用いた。実験開始時の体重は 250～300g であった。購入後は個別ケージ（プラスチック製）で飼育した。実験開始前は固形飼料（オリエンタル酵母：MF）、水道水を自由に摂取させた。飼育期間中すべてに渡って、飼育室は人工照明を使用し、午前 6 時～午後 6 時を明期、午後 6 時～午前 6 時を暗期とする明暗サイクルと室温

24±2℃、湿度 55±5%を保った。その他、飼育に関しては鈴木 (1981) によった。

トレーニング

実験開始の 1 日前にホームケージで約 20 時間被験体を絶水状態においた。その際、固形飼料は自由に摂取させた。トレーニングでは、毎日 10 分間被験体に蒸留水を 8 個の給水皿（ガラス製）を取り付けた円形オープンフィールド装置内で自由に摂取させ、その飲み量を測定した。測定は一日に朝と夕方の 2 回ずつ行った。被験体は、午後 5 時から翌日の訓練時まで絶水状態に置き、固形飼料のみ自由に摂取させた。動物の一日の摂水量が一定になったところで、学習試行へ移行した。

学習試行

摂水量が一定になったら、8 個の給水皿の 4 皿には匂い物質を加えた 0.01% サッカリン溶液を、残りの 4 皿には匂い物質を加えた 0.02M 塩酸キニーネ溶液をそれぞれ 1ml 入れておき、ラットに選択させた。どの皿にどの溶液が入るかということは試行毎にランダムに変えた。匂い物質として、0.1%アーモンドエッセンスと 0.005%イソアミルアセテート（バナナの匂いを呈する）とを用いた。どちらの匂いをサッカリン溶液と連合させるかは、ラットによりカウンターバランスをとった。朝と夕方の 2 回の測定終了後、ホームケージにて前述の 2 溶液を一晩自由に摂取させた。次の日の朝から絶水し、夕方にオープンフィールド

ド装置内で水を摂取させた。これを一試行とし、ラットを一試行学習群、二試行学習群、三試行学習群とに分けた。

テスト

テスト時には、匂い物質を水に溶かしたものをオープンフィールド装置内でラットに提示した。1回5分の選択テストを朝に行い、夕方はホームケージ内で水を1時間程度自由摂取させた。その理由は、絶水条件が強ければ飲水に対する動因が強くなり、匂いの種類に拘わらず全部飲み干してしまうかも知れないからである。このテストを6日間行い、各日のそれぞれの溶液の摂取量から以下に示す嗜好指数 (preference ratio) を算出した。

PR = サッカリンと連合された匂いのする水の摂取量 / 8皿すべての摂取量の和
* 100

このPRが大きければ、ラットはキニーネ溶液と対提示された匂いのする水を避け、サッカリンと連合された方の匂いのする水を選好したことを示している。

サッカリンと連合された匂いとキニーネと連合された匂いとの間で選択を行わせるテストだけでは、サッカリンと連合された匂いを好むようになったのか、それともキニーネと連合された匂いを避けるようになったのか、あるいはその両方が起ったのかを区別することはできない。そこで、上の実験とは別のラッ

トを用いて、三試行学習を行わせ、動物にどちらかの匂いのする水と蒸留水とを提示して自由に選択させる選択実験より、風味嗜好学習が起こったのかあるいは風味嫌悪学習が起こったのかということ調べた。この場合のデータの分析には、蒸留水の飲み量との比較によって嗜好率を算出した。

各群の PR について ANOVA を用いて分析を行った。事後検定にはフィッシャ一の最小有意差検定 (LSD) を用いた。

結果

結果は図 19 に示す。学習回数($F(2,13) = 36.20, p < 0.01$)およびテスト日($F(6,78) = 12.78, p < 0.01$)の有意な主効果が見られた。また、学習回数×テスト日の交互作用も有意であった ($F(12,78) = 11.16, p < 0.01$)。下位検定より、一試行学習群では、テスト 3 日目の嗜好率が有意に減少していることが明らかとなった ($p < 0.05$)。2 試行学習群、3 試行学習群ともに、8 日目に至るまで嗜好率の有意な減少は見られず、サッカリンと連合された匂いに対する学習された嗜好が長く持続することが分かった。

それぞれの匂い溶液と蒸留水との間での選択の結果を図 20 に示す。2 元配置の ANOVA によると、連合された味とその匂いの摂取量との間に交互作用が見られた ($F(2,24) = 14.09, p < 0.01$)。下位検定により、バナナとキニーネの連合学習を行った動物はバナナの匂いのする水を匂いのない水よりも少なく摂取し

サッカリンと連合された匂いに対する嗜好率(%)

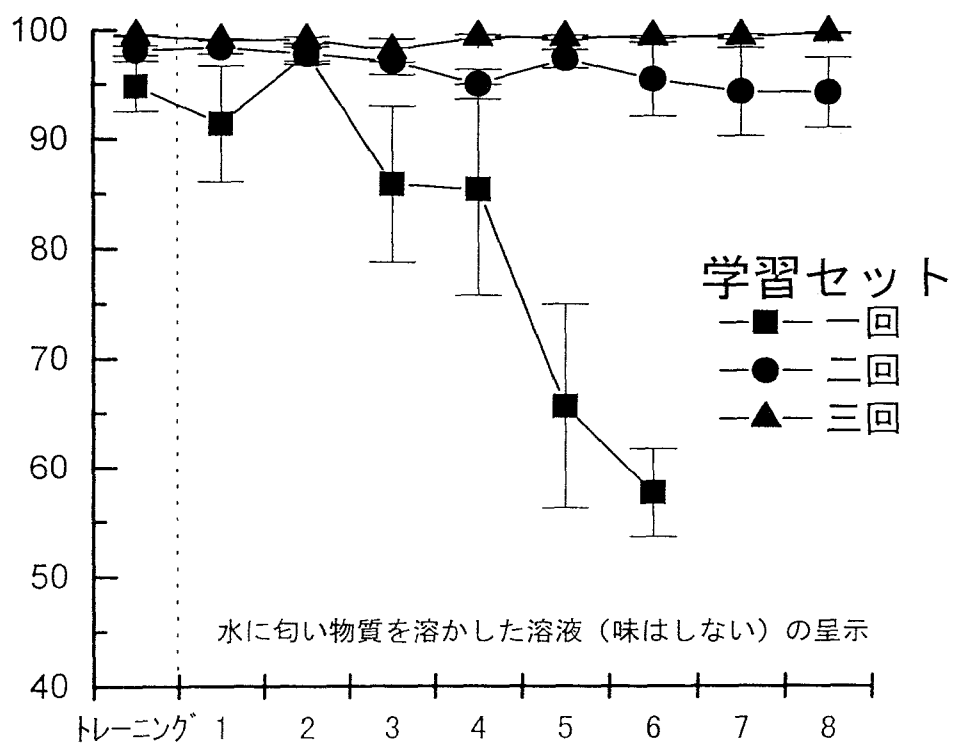


図 19

連合学習の回数と条件づけられた嗜好率の強さ。

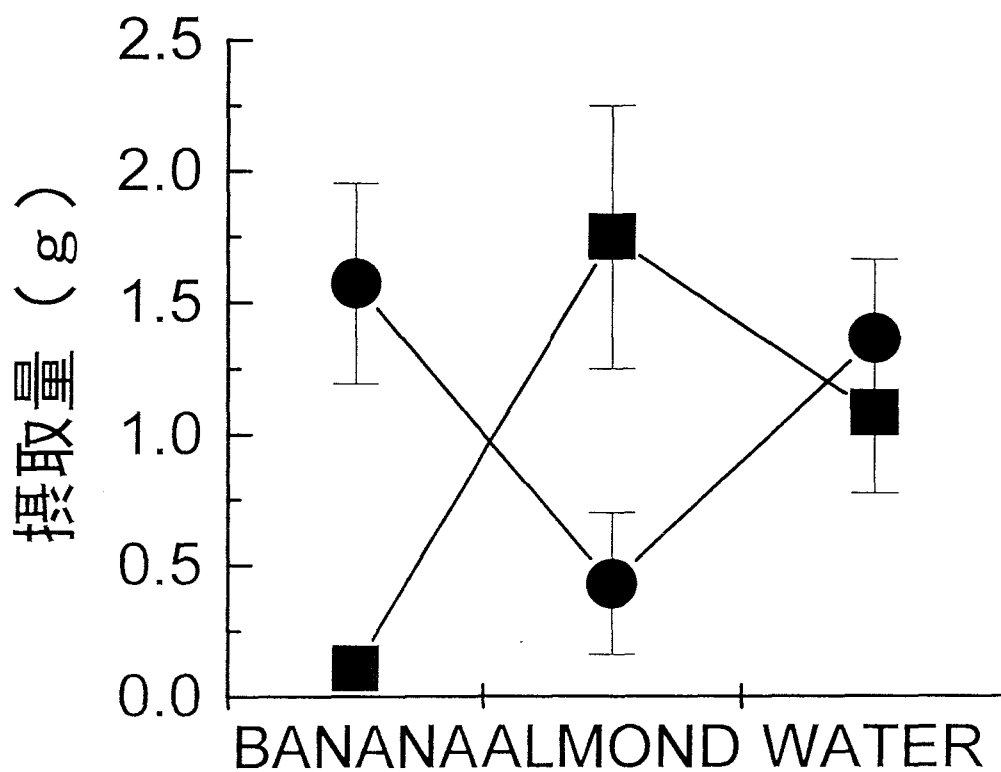


図 20

サッカリン溶液と連合された匂いあるいはキニーネ溶液と連合された匂いのする水の摂取量と蒸留水の摂取量との比較。四角はバナナ+キニーネ+アーモンド+サッカリンという連合学習を行った群、丸はアーモンド+キニーネ+バナナ+サッカリンという連合学習を行った群のそれぞれの刺激の摂取量 (g) を示す。刺激には、バナナの匂いのする水、アーモンドの匂いのする水、匂いのない蒸留水とを用いた。

($p < 0.01$)、アーモンドとキニーネの連合学習を行った動物はアーモンドの匂いのする水の摂取を避けること ($p < 0.01$) が明らかになった。しかしながら、両群ともサッカリンと連合された匂いの摂取量は、水の摂取量と有意差は見られなかった ($p > 0.05$)。

考察

本実験では、ラットに匂い付きのサッカリン溶液とキニーネ溶液とを提示すると、ラットは匂いと味とを連合学習し、キニーネ溶液と連合された匂いのする水を摂取するのを避け、サッカリン溶液と連合された方の匂いのする水を選好することが分かった。この結果は、Fanselow と Birk (1982) の結果と一致する。しかしながら、Fanselow と Birk の実験では、一日一つの味-匂い連合を 6 回 (各溶液 3 回ずつ) 学習させてもその学習 (サッカリンと連合された方の匂いを選好すること) は一日しか持続していない。本研究では、一回の連合学習でも 2 日は持続する学習を獲得させることが出来た。その理由として、本実験では一度に 2 種類の溶液を経験することになるので、対比することが出来、そのため強い学習を獲得させることができたものと思われる。本実験では、サッカリンと提示された匂いのする水と蒸留水との間で選択させた結果、サッカリンと連合された匂いに対する嗜好を示すことを実証することはできなかった。Fanselow と Birk の研究においてはアーモンドの匂いをサッカリンと対提示された動物はアーモンドの匂いのする水をコントロール群よりも多く摂取すると

いう結果を得ているが、その動物内においてアーモンドの匂いのする水と匂いのない水の摂取量との直接の比較はない。

匂いと味の連合学習のパラダイムとして、本研究で用いた実験法の他に、味覚による匂い嫌悪条件付け (**taste-potentiated odor aversion: TPOA**) と呼ばれる現象がある。ラットに匂いのする味溶液を摂取させ、内臓不快感を催させる処置を施すと、ラットはその匂いがする水を摂取しなくなるというものである。匂いを嗅がせながら無味の水を摂取させて、内臓不快感と対提示しても嫌悪は獲得されない (**Hankins, Garcia and Rusiniak, 1973**) ことから、味覚と嗅覚との相互作用がこの学習の背景にあると考えられている。しかしながら、匂い物質 (イソアミルアセテート) を溶かし込んだ水を摂取させ、その後で塩化リチウムを腹腔内注射しても、その匂いに対する嫌悪を獲得させることができる (**Slotnick, Westbrook and Darling, 1997**) こと、この嫌悪学習は嗅球を破壊すると獲得できなくなることなど (**Slotnick et al., 1997**) から、匂いと内臓不快感との連合学習が起こりうることが示されている。また、抑制性神経伝達物質である GABA (γアミノ酪酸) の扁桃体での働きを阻害した条件下で、匂いを嗅がせながら水を飲ませ、その後塩化リチウムを腹腔内注射すれば、その匂いに対する嫌悪を獲得させることが出来るという実験結果も報告されている (**Ferry and DiScala, 1997**)。これらの結果から考えると、TPOA では嗅覚と内臓不快感との間に連合が起こっていることが示唆される。すなわち、TPOA は、味覚と嗅覚との間に起こる連合学習ではない可能性が高い。

本実験で採用したパラダイムでは、ラットに提示した刺激としては、味覚刺激と嗅覚刺激しかなく、この間での連合学習が生じたと考えるより他にはない。それでは、この連合学習の本質はどのようなものだろうか？匂い A とサッカリン溶液、匂い B とキニーネ溶液とが対提示された場合を考えてみよう。一つ考えられるのは、匂い A によってサッカリンの味が表象され、サッカリンは甘い味だから摂取するが、匂い B のときはキニーネの味が表象されるから嫌がるという性質の学習ではないかということである。もしこのことが正しければ、味の質に関わる情報を処理すると考えられている大脳皮質味覚野 (Yamamoto et al., 1989) を破壊すると、この種の学習は獲得出来なくなるはずである。

もう一つは、味は甘い、苦いといった質の情報以外においしい、まずいといった情動的な情報を持っており、その情動的な情報と匂いとが結びついたのではないか、という考え方もある。つまり、連合学習が成立した時点で匂い A を提示されると、「おいしい」という情動が生じ、匂い B を提示されると「まずい」という情動が生じるのではないかということである。この考え方が正しければ、情動性学習の獲得に関わるとされている扁桃体や眼窩前頭葉皮質 (Zald and Pardo, 1997) を破壊することによって、学習の獲得が障害を受けることが予想される。

そこで、この仮説を検証するために次の破壊行動実験を行った。

実験 4C

方法

被験体

成熟ウイスター系雄性ラット 75 匹（日本動物株より購入）を用いた。実験開始時の体重は 250～300g であった。購入後は個別ケージ（プラスチック製）で飼育した。実験開始前は固形飼料（オリエンタル酵母：MF）、水道水を自由に摂取させた。飼育期間中すべてに渡って、飼育室は人工照明を使用し、午前 6 時～午後 6 時を明期、午後 6 時～午前 6 時を暗期とする明暗サイクルと室温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ を保った。その他、飼育に関しては鈴木（1981）によった。

術前トレーニング

実験開始の 1 日前にホームケージで約 20 時間被験体を絶水状態においた。その際、固形飼料は自由に摂取させた。トレーニングでは、毎日 10 分間被験体に蒸留水を 8 個の給水皿（ガラス製）を取り付けた円形オープンフィールド装置内で自由に摂取させ、その飲み量を測定した。測定は一日に朝と夕方の 2 回ずつ行った。被験体は、午後 5 時から翌日の訓練時まで絶水状態に置き、固形飼料のみ自由に摂取させた。動物の一日の摂水量が一定になったところで、動物に破壊手術を行った。

手術

75 匹のラットを 15 匹ずつランダムに以下に示すグループに分けた：無破壊コントロール群 (Con)、扁桃体破壊群 (Am)、大脳皮質味覚野破壊群 (CGA)、帯状回破壊群 (Cing)、眼窩前頭葉皮質破壊群 (OBF)。それぞれのグループは学習試行の数に基づいてさらに 3 つのサブグループから形成された。それぞれのサブグループにはラットを 5 匹ずつ割り当てた。ラットをネンブタール (60 mg/kg) で麻酔し、アトロピンを腹腔内注射して、脳定位固定装置に固定した。頭部を剃毛し、ヨードチンキで消毒した後、頭皮を切開した。頭蓋骨を露出させた後、Paxinos and Watson (1986) の脳図譜にしたがって、標的部位の上方に位置すると思われる頭蓋骨の位置に歯科用ドリルを用いて穴を開けた。イボテン酸 (Sigma Chemical, St Louis, MO, 1%) の注入は、固定装置に取り付けられたマイクロ・シリンジ (イトー製 ; 1 μ l) とマイクロインフュージョンユニット (Nihon Koden, XF-320J) を用いて各部位へ表に記載した通りの量を注入した。注入速度は毎分 0.03 μ l とし、注入前後に 5 分の静置期間を置き、片側に 20 分ずつかけて注入を行った。破壊終了後直ちに頭皮を縫合し、抗生物質 (ペニシリン 5 千単位) と 5 %ブドウ糖 (1 ml) を腹腔内投与した。

術後トレーニング

実験開始の 1 日前にホームケージで約 20 時間被験体を絶水状態においた。その際、固形飼料は自由に摂取させた。トレーニングでは、毎日 10 分間被験体に

蒸留水を 8 個の給水皿（ガラス製）を取り付けた円形オープンフィールド装置内で自由に摂取させ、その飲み量を測定した。測定は一日に朝と夕方の 2 回ずつ行った。被験体は、午後 5 時から翌日の訓練時まで絶水状態に置き、固形飼料のみ自由に摂取させた。動物の一日の摂水量が一定になったところで、学習試行へ移行した。

学習試行

術後トレーニングにおいて摂水量が一定になったら、8 個の給水皿の 4 皿には匂い物質を加えた 0.01% サッカリン溶液を、残りの 4 皿には匂い物質を加えた 0.02M 塩酸キニーネ溶液をそれぞれ 1ml 入れておき、ラットに選択させた。どの皿にどの溶液が入るかということは試行毎にランダムに変えた。匂い物質として、0.1% アーモンドエッセンスと 0.005% イソアミルアセテート（バナナの匂いを呈する）とを用いた。どちらの匂いをサッカリン溶液と連合させるかは、ラットによりカウンターバランスをとった。朝と夕方の 2 回の測定終了後、ホームケージにて前述の 2 溶液を一晩自由に摂取させた。次の日の朝から絶水し、夕方にオープンフィールド装置内で水を摂取させた。これを一試行とし、ラットを一試行学習群、二試行学習群、三試行学習群とに分けた。

テスト

テスト時には、匂い物質を水に溶かしたものをオープンフィールド装置内でラットに提示した。1 回 5 分の選択テストを朝に行い、夕方はホームケージ内で

水を約 1 時間自由摂取させた。その理由は、絶水条件が強ければ飲水に対する動因が強くなり、匂いの種類に関わらず全部飲み干してしまうかも知れないからである。このテストを 6 日間行い、各日のそれぞれの溶液の摂取量から以下に示す嗜好指数 (preference ratio) を算出した。

$$\text{PR} = \frac{\text{サッカリンと連合された匂いのする水の摂取量}}{\text{8 皿すべての摂取量の和}} \times 100$$

この PR が大きければ、ラットはキニーネ溶液と対提示された匂いのする水を避け、サッカリンと連合された方の匂いのする水を選好したことを示している。

各群の PR について ANOVA を用いて統計学的分析を行った。事後検定にはフィッシャーの最小有意差検定 (LSD) を用いた。

組織

すべての行動実験の終了後、破壊部位およびその程度を同定するために、破壊を受けた実験群を灌流・固定し、脳を取り出した。ネブタール (100mg/kg) で深麻酔したラットの左心室よりリン酸緩衝生理食塩水を灌流し、10%フォルマリンを注入することにより固定を行った。その後、頭部切開により脳を取り出し、後固定のためにパラフォルムアルデヒドに一晩以上、さらに凍結時の水の膨張から細胞を守るために 30%蔗糖溶液に一晩つけ、マイクロトームによ

り凍結切片を作製した。クレジールバイオレットを用いて染色した後、スライドガラスに貼り付け、光学顕微鏡で観察した。

結果

組織

組織学的検査の結果から、Am 破壊群の 3 匹、OBF 破壊群の 2 匹、Cing 破壊群の 2 匹が目的とした部位を破壊できていなかったために、それらの動物のデータを除外した。また、Am 破壊群の 1 匹と CGA 破壊群の 2 匹が手術後に死亡したので、これらの動物のデータも除外した。

術後トレーニング・学習試行

学習試行では、各群ともにサッカリン溶液をキニーネ溶液に比べて多く摂取する傾向にあった。統計学的分析によると、一試行学習群でのみ破壊の有意な主効果がみられた ($F(4,17) = 9.43, p < 0.01$) が、これは OBF 破壊群の一回目のキニーネ溶液の摂取量が有意に多かったためだと考えられる。しかしながら、OBF 群も 2 回目にはキニーネ溶液を他の群とほぼ同じように忌避している ($p > 0.05$)。二試行学習群、三試行学習群では、主効果は対提示の回数のみに見られた。すべての群において、破壊と対提示の回数との交互作用は見られなかった ($p > 0.1$)。この結果は、本実験で行った破壊は、キニーネに対する忌避行動を変化させないことを示唆している。

嗜好テスト

一試行学習

図 21 は一試行学習群におけるサッカリンと連合された匂いのする水に対する嗜好率を示したものである。ANOVA によれば、破壊の主効果 ($F(4,17) = 19.16$)、テスト日の主効果 ($F(5,85) = 12.13$) は有意であった ($p < 0.01$) が、破壊×テスト日の交互作用 ($F(20,85) = 1.66$) はわずかながら有意にはならなかった ($p = 0.056$)。

サッカリンと連合された匂いのする水のテスト一日目の摂取量はすべての群において、キニーネと連合された匂いのする水の摂取量よりも多いが、Cing 破壊群はコントロール群に比べて嗜好率が有意に小さかった ($p < 0.05$)。テスト 2 日目から 4 日目までは、コントロール群と CGA 破壊群の嗜好率がほぼ横這い状態であるのに対して、BLA 破壊群、Cing 破壊群、OBF 破壊群には嗜好率の減少が見られた (それぞれ $p < 0.01$)。5 日目、6 日目になると、コントロール群の嗜好率が減少し (一日目に対して $p < 0.05$)、BLA 群、Cing 群、OBF 群との有意な差がなくなるのに対して、CGA 破壊群では 5 日目までは依然として高い嗜好率を示している。

二試行学習

図 22 は二試行学習群におけるサッカリンと連合された匂いのする水に対する嗜

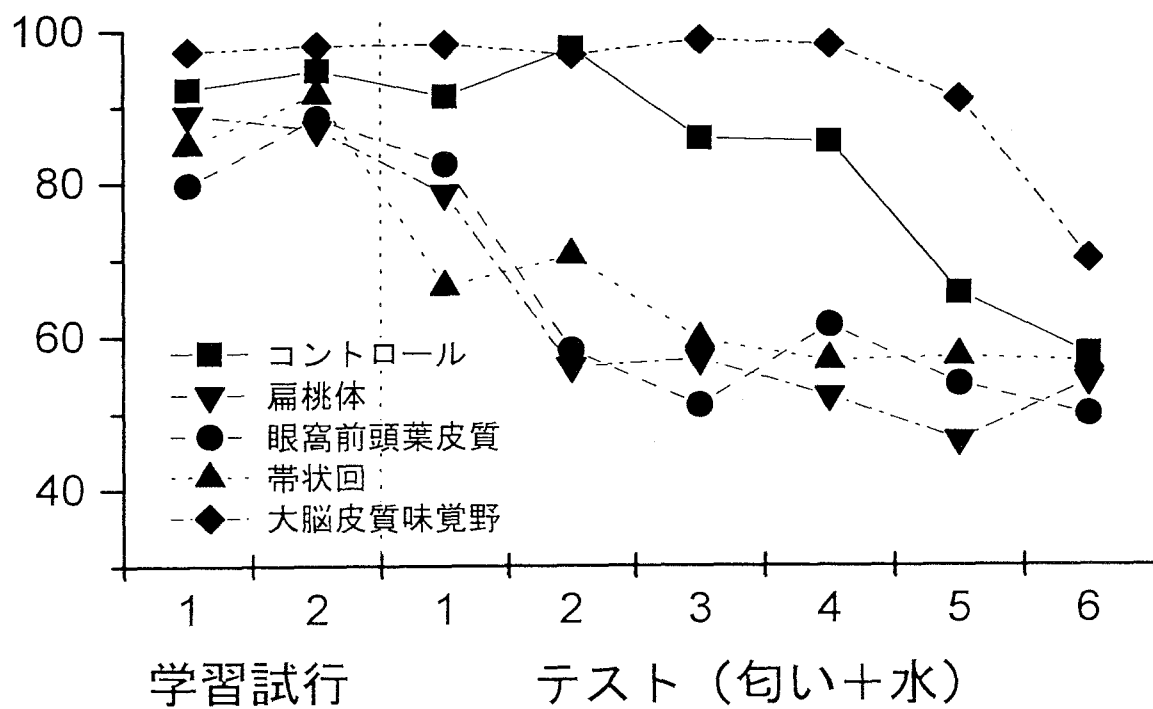


図 21

味覚と嗅覚との連合学習に及ぼす脳破壊の影響。本実験では、連合学習は一回のみ行っている。縦軸は嗜好率を示している。学習試行では匂い+味溶液、テスト試行では、匂い+蒸留水を刺激として用いている。

好率を示したものである。ANOVAによれば、破壊の主効果 ($F(4,15) = 18.53$)、テスト日の主効果 ($F(7,105) = 25.36$)、および破壊×テスト日の交互作用 ($F(28,105) = 9.42$) はすべて有意であった ($p < 0.01$)。

テスト一日目におけるサッカリンと連合された匂いのする水の摂取量はすべての群において、キニーネと連合された匂いのする水の摂取量よりも多く、コントロール群に比べて嗜好率が有意に小さかった群はみられなかった ($p > 0.05$)。テスト2日目から8日目までは、コントロール群とCGA破壊群の嗜好率がほぼ横這い状態であるのに対して、BLA破壊群、OBF破壊群においては3日目から、Cing破壊群においては4日目からの嗜好率の減少が見られた (それぞれ $p < 0.01$)。コントロール群、CGA破壊群では8日目まで依然として高い嗜好率を示している。

三試行学習

図23は三試行学習群におけるサッカリンと連合された匂いのする水に対する嗜好率を示したものである。ANOVAによれば、破壊の主効果 ($F(4,18) = 33.11$, $p < 0.01$)、テスト日の主効果 ($F(7,126) = 2.51$, $p < 0.05$)、および破壊×テスト日の交互作用 ($F(28,126) = 3.00$, $p < 0.01$) はすべて有意であった。

テスト一日目におけるサッカリンと連合された匂いのする水の摂取量はすべての群において、キニーネと連合された匂いのする水の摂取量よりも多く、コントロール群に比べて嗜好率が有意に小さかった群はみられなかった ($p > 0.05$)。テスト2日目から8日目までは、ほぼすべての群の嗜好率が横這

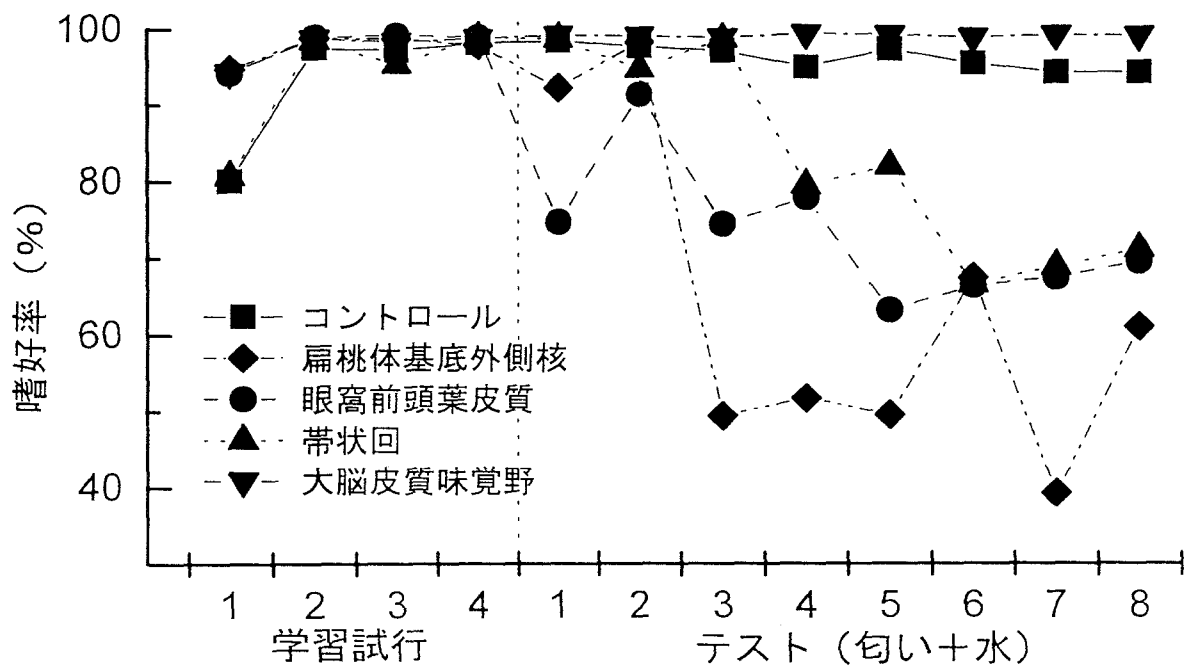


図 22

味覚と嗅覚との連合学習に及ぼす脳破壊の影響。本実験では、連合学習は二回行っている。縦軸は嗜好率を示している。学習試行では匂い+味溶液、テスト試行では、匂い+蒸留水を刺激として用いている。

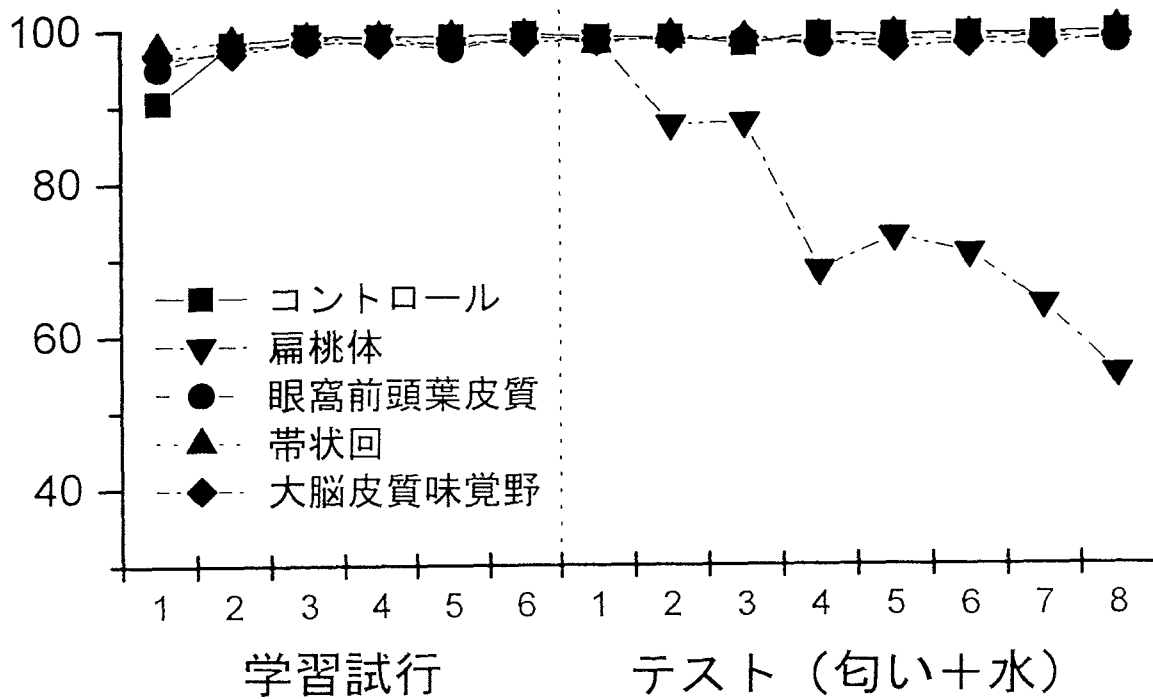


図 23

味覚と嗅覚との連合学習に及ぼす脳破壊の影響。本実験では、連合学習は三回行っている。縦軸は嗜好率を示している。学習試行では匂い+味溶液、テスト試行では、匂い+蒸留水を刺激として用いている。

い状態であるのに対して、BLA 破壊群のみに 2 日目からの嗜好率の減少が見られた（それぞれ $p < 0.05$ ）。

考察

本実験から、扁桃体や帯状回、眼窩前頭葉皮質など感覚の情動的処理を行うと考えられている部位を破壊すると、風味嗜好学習が弱められることが分かった。味覚の質的な情報を処理するといわれている大脳皮質味覚野 (Yamamoto et al., 1985) を破壊しても学習の減弱は認められないことから、本研究で用いたパラダイムでは味覚により喚起される情動と嗅覚情報が連合されている可能性が示唆される。

3 回の学習試行を行い、強い学習を獲得した動物群では、眼窩前頭葉皮質や帯状回が破壊されていても強い学習を獲得していることから、扁桃体の役割が一番大きいと考えられる。しかしながら扁桃体が破壊された動物でも嗜好を獲得していること（テスト 1 日目の嗜好率は高いこと）を考慮すれば、扁桃体のみがこの学習に関わっていると結論づけることはできない。反対に、大脳皮質味覚野を破壊しても学習には変化が見られなかったが、この結果だけで大脳皮質味覚野がこの学習に関与していないと結論づけるわけにはいかない。例えば、味覚嫌悪学習の獲得においても、大脳皮質味覚野を単独に破壊しても学習を獲得することはできる (Yamamoto et al., 1995; 本研究の実験 3) が、これと視床味覚野、あるいは不確帯とを同時に破壊された動物は、味覚嫌悪学習の獲得に障害が生じる (本研究の実験 3)。つまり、本実験のパラダイムにおいても大脳

皮質と扁桃体の両方を破壊することによって、風味嗜好学習を行えなくなる可能性がある。

総合論議

実験 4 においては、味覚と嗅覚との連合学習をラットに獲得させる簡便な方法を開発し、この学習が脳のどの部位で行われているのかということ破壊行動実験により研究した。

味覚と嗅覚とを連合させる課題としては、味覚による嗅覚嫌悪増強 (**taste-potentiated odor aversion learning: TPOA**) と呼ばれる現象が利用されてきた。具体的には、ラットに匂いを嗅がせながら味溶液を摂取させ内臓不快感と連合させると、ラットは以後その匂いを提示された時には水を摂取しなくなるというものである。匂いを嗅がせながらラットに水を摂取させても、匂いに対する嫌悪は獲得出来なかった (**Hankins et al., 1973**) ため、味覚による増強という表現が取られている。

しかしながら、TPOA には嗅覚と味覚の連合学習が起こったかどうかということを検証できないという大きな欠点がある。つまり、嗅覚と内臓感覚との連合学習が起こっていてもこの学習は獲得できるはずなのである。

Slotnick ら (1997) は匂い物質を水の中に溶かし込んでラットに提示し、その後で塩化リチウムを腹腔内注射し内臓不快感を生じさせると、ラットはその匂いのする水を摂取しなくなることを発見した。嗅覚の情報が最初に脳に入っ

てくる嗅球を破壊された動物は、この忌避学習を獲得することが出来なくなったので、匂い物質を水の中に溶かしても味覚や体性感覚などを生じさせないことが分かる。従来のパラダイムとの相違点は匂いの提示方法のみ（従来の実験では匂いは水の飲み口につけられたろ紙にしみ込ませてあるだけであった）である。Slotnick ら（1997）は、この結果を「従来の研究では嗅覚刺激と水との間に空間的距離があったため」あるいは「口の中の匂い物質は嗅覚以外の特性を持っているため」と考察している。

さらに、Ferry と DiScala（1997）は、扁桃体の基底外側核に GABA のアンタゴニストであるピククリンを注入すると、嗅覚嫌悪学習が獲得できるようになることを発見している。彼らの実験で用いられているパラダイムでは、Hankins らの研究では嫌悪が獲得できなかった方法、すなわち匂い物質はろ紙にしみ込ませた状態で水とともに提示されるという方法を用いている。にも拘わらず、匂いに対する嫌悪が獲得できたことから、Ferry と DiScala（1997）は「嗅覚と内臓感覚との連合は扁桃体基底外側核で起こっているが、普段は GABA によって抑制されている。味覚情報は、扁桃体基底外側核に達すると GABA による抑制を停止させ、そのために嗅覚が内臓感覚と連合できるようになるのではないか。」と考察している。

このように TPOA を用いると、味覚と嗅覚との相互作用が起こっていることは確かめることが出来るが、味覚と嗅覚との連合については直接確かめることは出来ず、推測の域をでない。同じように、Sclafani ら（1991）や Capaldi ら（1992）の研究で用いられている風味-栄養間学習でも、ラットが匂いと蔗糖

やポリコースの味とを連合しているのか、それらの摂取によって生じるカロリーと匂いとの間で連合学習が起こっているのかを区別することは出来ない。

本実験で用いたパラダイムや Fanselow and Birk (1982) で用いられたパラダイムを用いると、ラットに味覚と嗅覚との直接の連合を行わせることができる。サッカリンとキニーネは（本実験で用いたような量であれば）カロリーを持っていないし、ラットに内臓不快感をもたらしたりするものでもない。ラットがその匂いのする水を摂取するようになる（あるいはしなくなる）ということは、連合された味の特徴にのみ依存するのである。つまり、サッカリンと連合された匂いのする水は多く摂取するが、キニーネと連合された匂いのする水は摂取しないという行動は、匂いによってそれぞれが連合された味が表象されたからと考えることが出来る。ところが、匂い物質を加えていない水との摂取量を比較すると、ラットはキニーネと連合された方の匂いに対する忌避を示したが、サッカリンと連合された匂いのする水に対する嗜好は示さなかった。この原因については 3 通りの解釈ができる。一つ目は、匂い物質を加えていない水は摂取しても体に害はないので、絶水条件下におかれたラットは飲んでしまうということである。つまり、サッカリンと連合された匂いのする水の方が好ましいのであるが、摂水に対する動因が強いので、匂いのない水も飲んでしまった可能性がある。二つ目は、学習試行においてはその匂いがすれば甘い味がしていたのに、テスト時になると甘い味がしないので匂いの報酬価が減少してしまったという考えである。この現象は、anticipatory (negative) contrast（負の対比）と呼ばれており、ラットにおいて報酬として蔗糖やサッカリンを用い

たときに見られることが報告されている（例えば、Flaherty, Capobianko and Hamilton, 1973; Flaherty and Rowan, 1986 など）。三つ目は、忌避学習は出来たが、嗜好学習は出来なかったとも考えることが出来る。キニーネと連合された匂いとの比較においては、サッカリンと連合された匂いの方は害はないので摂取するが、水との比較ではどちらにも積極的な好ましさはないので、どちらも同じように摂取してしまったという考え方である。本実験のみからでは、以上 3 つの考え方のどれが正しいかを判断することはできないので、更なる研究が必要である。

味覚は味質に関する情報とその味によって喚起される情動的情報とを持っていて。例えば、サッカリンの甘い味には、「甘い」という質の情報と「摂取するとカロリーがあり、栄養欠乏状態から開放される」という快の情報とが含まれている（厳密に言えばサッカリンはカロリーを含んでいないが、自然界に存在する甘い味を呈するものにはカロリーを多く含んでいるものが多いため）。このどちらの情報も味覚と嗅覚との連合学習に含まれているのかということを実験 4C において調べた。

大脳皮質味覚野は、味の質の情報の処理に関わっていると考えられている（例えば、Yamamoto et al., 1989）。そこで、大脳皮質味覚野を破壊したラットが本実験で行った味覚と嗅覚との連合学習課題を学習することができない場合には、味覚の質の情報と嗅覚とが連合したと考えることが出来る。ところが、大脳皮質味覚野を破壊された動物も、コントロール群と同じように嗜好の変化を獲得することができた（実験 4C）。

味の情動的な要因は、扁桃体や眼窩前頭葉皮質で処理されると考えられている (Azuma et al., 1984; Rolls, 1997; Zald and Pardo, 1997)。そこでこれらの部位を破壊した動物が、味覚と嗅覚との連合学習を獲得できなくなれば、本実験でのパラダイムは味覚の情動的側面と嗅覚との連合学習を見ているものだと考えることが出来る。結果は、眼窩前頭葉皮質を破壊された動物は、弱い学習課題（一試行学習群）では獲得の障害を見せるが、強い学習課題（三試行学習）では、コントロール群とほぼ同じような学習の獲得を見せた。一方、扁桃体を破壊された動物では学習の障害が（一試行学習から三試行学習に至るまで）全般的に見られている。ところがどの破壊群のラットにおいてもテスト初日にはサッカリンと連合された匂いのする水に対する嗜好が見られるので、扁桃体や眼窩前頭葉皮質を破壊されたラットも学習を獲得することは出来ると考えざるを得ない。ある脳部位を単独に破壊して破壊効果が得られなくても、その部位が学習に関わっていないということを証明したことにはならない。例えば実験3Cで示したように、代償作用が起きている可能性があるからである。本実験のパラダイムにおいても、質的情報のルートと情動的情報のルートの両方が関与している可能性があるからである。この可能性を検証するためには、扁桃体と大脳皮質味覚野との両方を破壊された動物が、味覚と嗅覚との連合学習を獲得できるかどうかを確かめなければならない。

帯状回を破壊された動物は、弱い学習試行においては障害が見られたが、強い学習試行においては障害は見られなかった。帯状回を破壊されたラットは、ある行動を止める（抑制する）ことに障害を持つことが報告されている (Muir,

Everitt and Robbins, 1996)。これらの結果を考え合わせると、带状回を破壊された動物は、キニーネと連合された匂いのする水を飲みはじめるとそれを抑制することが出来ず、その結果摂取量が増大してしまったのではないかと考えることができる。連合学習を三回行うと（三試行学習の欄を参考）、带状回を破壊されたラットでもコントロール群と同じような弁別ができるので、この障害は過訓練によって回復することが出来る可能性が示唆される。

実験 5

受動的回避に関わる脳部位

目的

実験 1 から実験 3 までは味覚嫌悪学習に関する脳部位の検索を行い、実験 4 では味覚と嗅覚とを対提示することにより味覚-嗅覚間での連合条件付けを行った。実験 4 では、学習を獲得したラットはキニーネと対提示された匂いのする水を避けるようになるが、サッカリンと対提示された匂い物質に対する嗜好を示すことはできなかつたので、この実験も（少なくとも）嗅覚を手がかりとする嫌悪条件付けであったと考えることが出来る。2つの課題ともに、刺激（CS、US ともに）が生体の行動に関係なく与えられるので、古典的条件付けの一つであると考えられている（CTA に関しては Garcia, McGowan and Green, 1972, 風味条件付けに関しては Fanselow と Birk, 1982）。

嫌悪条件付けには、他にオペラント型の課題である積極的回避（active avoidance）と受動的回避（passive avoidance）などの学習も含まれることが知られている（今田, 1982; Prado-Alcala, 1995）。実験 3 と実験 4 で見られた学習の障害が一般的な嫌悪条件付けの障害によるものであるのか（つまり嫌悪情動に関わる脳部位を破壊してしまったのか）、CTA あるいは風味条件付けに特異的な障害であったのか（つまり味覚に関わる脳部位であったのか）を調べる

ために、これらの破壊動物が受動的回避学習を獲得出来るか否かを調べることにした。

方法

被験体

実験 3b および実験 4 で用いた動物から、コントロール群 10 匹、扁桃体基底外側核破壊群 15 匹、扁桃体中心核破壊群 13 匹、大脳皮質味覚野破壊群 5 匹、帯状回破壊群 8 匹、視床正中部破壊群 9 匹、眼窩前頭葉皮質破壊群 9 匹、不確帯破壊群 13 匹にさらに、受動的回避学習に関わると考えられている海馬を破壊された群 7 匹を付け加え、9 群 89 匹を用いた。

海馬破壊群以外の動物は、実験 3 あるいは実験 4 が終了した時点から餌と水は自由に摂取させた。すべての群ともに、受動的回避学習が行われた時には、手術後 3 週間以上経っていた。

手術

実験 3 あるいは実験 4 で用いられた動物は、それぞれの実験で述べたように処置された。ここでは、海馬破壊群についてのみ述べる。

ラット（7 匹）をペントバルビタール麻酔下(60mg/kg)におき、脳定位装置(Narishige: Type SR-6N)に固定し、ブregマとラムダを水平に合わせた。頭皮を切開した後、当該部位の上方の頭蓋に穴を開けた（部位：ブregマより後

方、正中より側方、深さ、背側：4.0mm, 3.0mm, 3.0mm; 腹側：5.3mm, 5.2mm, 6.0mm)。海馬を構成しているすべての細胞体を破壊するために、背側と腹側との2個所にイボテン酸を注入した。イボテン酸 (Sigma Chemical, St Louis, MO, 1%) の注入は、固定装置に取り付けられたマイクロ・シリンジ (イトー製; 1 μ l) とマイクロインフュージョンユニット (Nihon Koden, XF-320J) を用いて背側に 0.3 μ l、腹側に 0.5 μ l ずつ両側に注入した。注入前後に5分の静置期間を置き、注入速度は毎分 0.03 μ l に保ったまま注入を行った。

装置

ラット用ステップスルーケージ (NS-K100 : (株) ニューロサイエンス) を用いた。この装置には、暗室 (30cm \times 30cm \times 30cm) と明室 (25cm \times 25cm \times 10cm) の2部屋があり、それぞれの間はギロチンドア (開口部 8cm \times 8cm) が取り付けられている。明室の天井はスライド式に開閉できる透明なアクリル板、暗室の天井は塩化ビニル製のふたで出来ている。明室は蛍光灯で照射しているが、暗室にはその光は漏れにくい構造になっている。

明室・暗室ともに床はステンレスグリッド (Φ 3mm、1cm 間隔) になっており、暗室のグリッドには電流を流すことができるようになっている。肢への電気ショックは、ショックジェネレーター・スクランブラー (NS-S101 : (株) ニューロサイエンス) を用いて、1mA の電流を2秒間与えた。

手続き

行動実験は、条件付け日とテスト日の2日間に分けて行った。

条件付け日には、まずラットをホームケージより取り出し、明室に入れた。この時はギロチンドアは閉じたままで、ラットは明室内で探索行動を行わせた。30秒の探索時間の後にギロチンドアを開け、ギロチンドアを開けてから暗室に入るまでの潜時を測定した。ラットの体が全て暗室内に入った後、ギロチンドアを閉め、ラットが暗室に入ったらショックジェネレーターを通じて電気ショックを与えた。電気ショックを与えた後10秒ほどしてから、ラットを暗室より取り出しホームケージに返した。

テスト日には、条件付け日と同じように明室に入れ、30秒待ってギロチンドアを開ける。ラットが暗室に入るまでの潜時を測定するのだが、300秒を限度にして、300秒経ってもラットが暗室に入らない場合には、そこで測定を終了する。

データの解析

条件付け日とテスト日との、暗室に入るまでの潜時をデータとして扱った。それぞれのデータは、ノンパラメトリック検定 (Kruskal-Wallis 検定) を用いて処理を行い、必要に応じてコントロール群との間で Mann-Whitney 検定による事後検定を行った。

尚、上記の検定方法は中央値がすべての値の代表であることを前提としており、値の散らばりが大きい場合には間違った結果を引き起こすことがある (Sahgal, 1993) ので、テスト日に300秒以内に暗室へ入ったかどうかという

ことをパラメーターとしてそれぞれの破壊群とコントロール群との間に Fisher's exact 検定による独立性の検定を行った。カイ 2 乗検定ではなく、Fisher's exact 検定を用いたのは、すべての群の例数が 20 以下であったためである (Motulsky, 1997)。

組織

すべての破壊群に対して実験 3 および実験 4 に記述した通りに灌流固定を行った。

結果

条件づけ日における暗室に入るまでの各群の潜時を図 24 に、テスト日の潜時を図 25 に示した。いずれのグラフも縦軸は潜時を表している。箱はそれぞれの群の 4 分の 3 のデータの散らばりを、横棒は各群の潜時の中央値を表している。

条件付け日における潜時には群間の差が見られなかった ($\chi^2 = 6.23, p > 0.1$)。つまり、本実験で行った破壊ではラットが暗室内に入るまでの探索行動あるいは運動に関する能力を変えることはなかったということである。

しかしながら、テスト日における潜時については有意な破壊の効果が見られた ($\chi^2 = 37.21, p < 0.01$)。下位検定により、扁桃体基底外側核破壊群、大脳皮質味覚野破壊群、帯状回破壊群、海馬破壊群のラットの潜時は、コントロール群の潜時に比べて有意に短い ($p < 0.05$) ことがわかった。

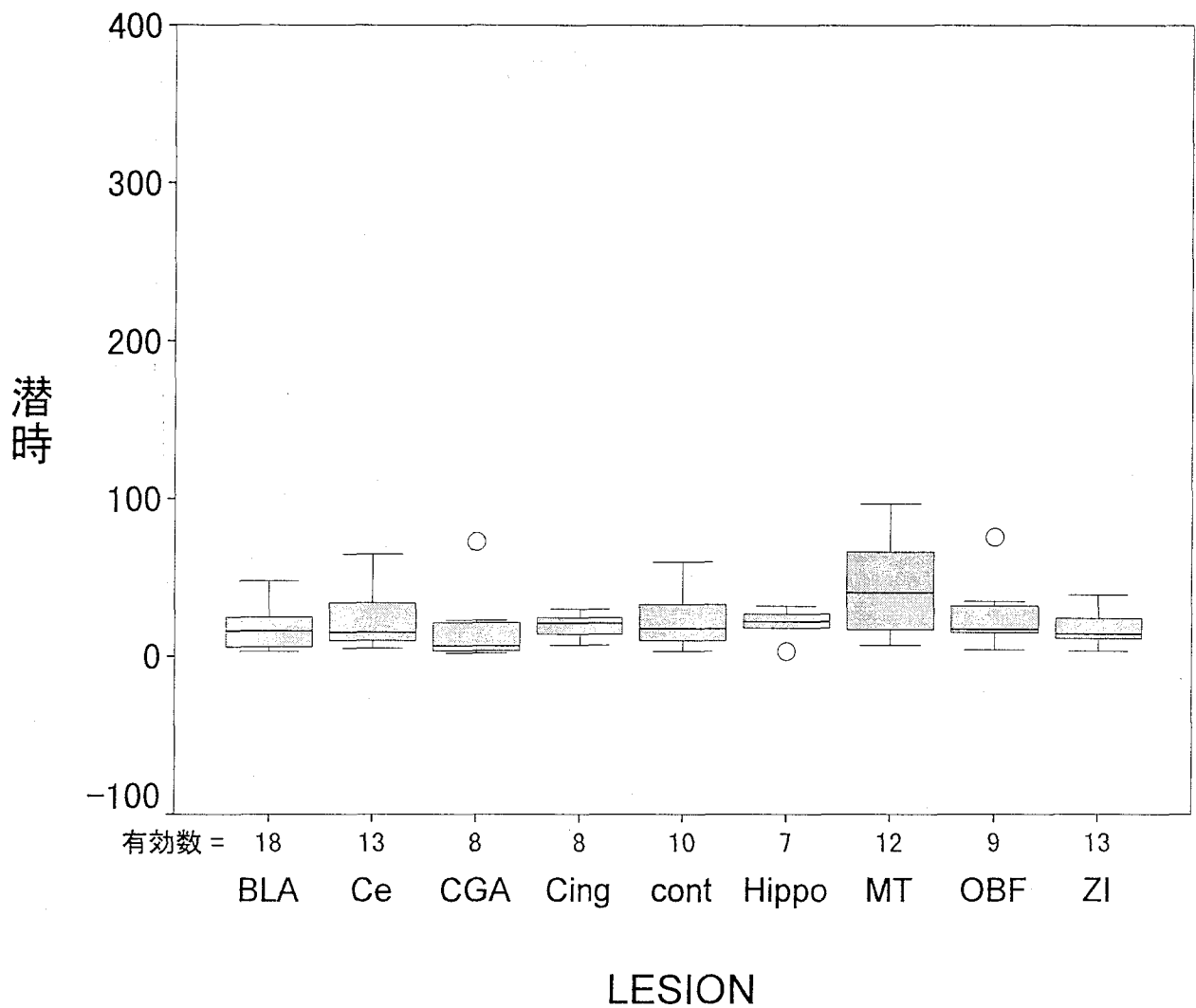


図 24

条件づけ日における暗室に入るまでの潜時。縦軸は秒数を表す。全ての群において、有意差は見られなかった。○は離れ値を示している。
 BLA: 扁桃体基底外側核、Ce: 扁桃体中心核、CGA: 大脳皮質味覚野、cont: コントロール、Hippo: 海馬、MT: 視床正中部、OBF: 眼窩前頭葉皮質、ZI: 不確帯の各破壊群

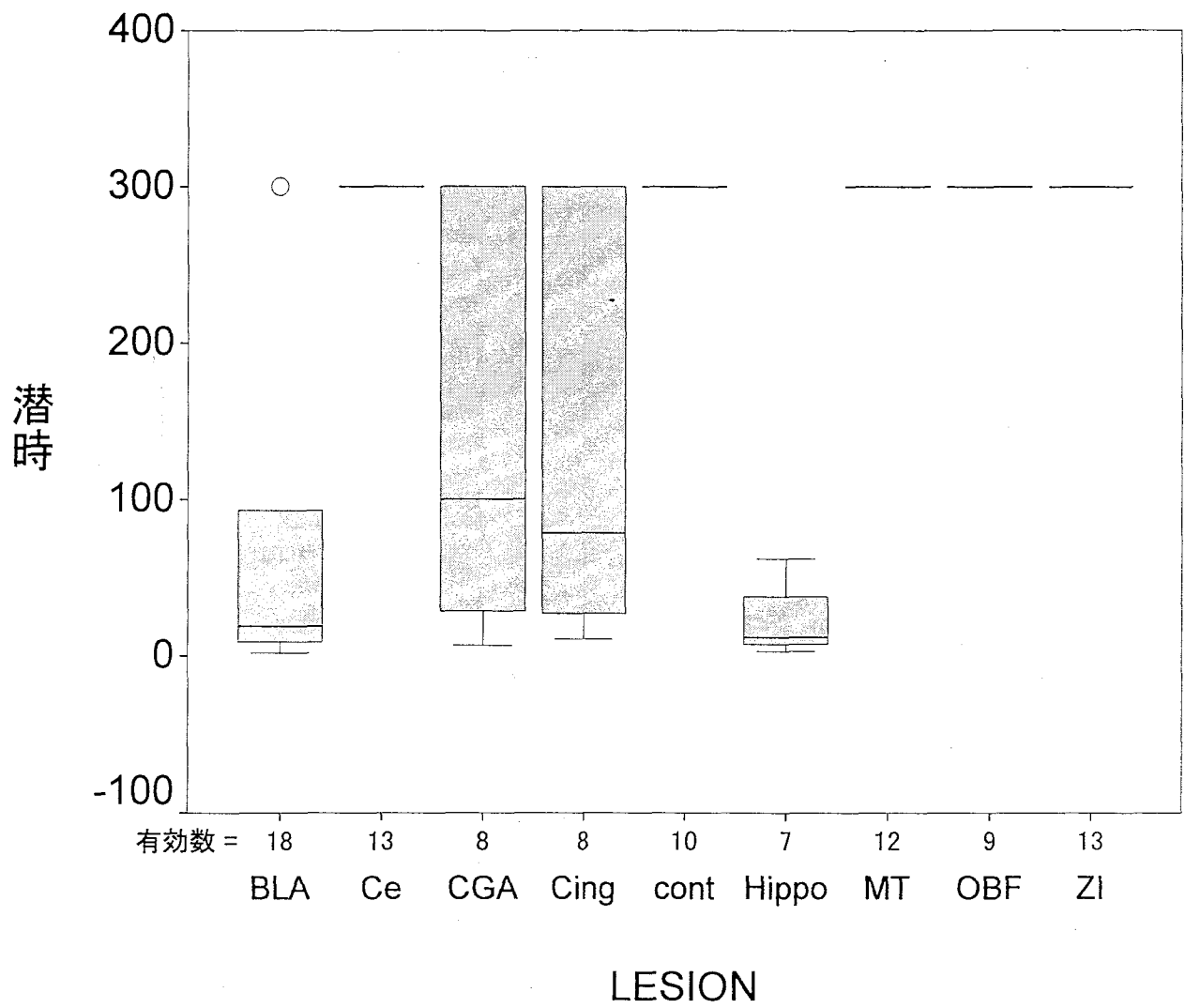


図 25

テスト日における潜時。縦軸は秒数。300 秒を上限として測定した。○は離れ値を示している。

Fisher's exact 検定から、300 秒以内に暗室内に入ったラットの数の比較では、扁桃体基底外側核群、海馬破壊群はともに 1%未満の危険率でコントロール群との差が検出できた。大脳皮質味覚野破壊群とコントロール群との間にも 5%未満の危険率で差が検出できたが、帯状回破壊群とコントロール群との間には有意な差は見られなかった ($p=0.071$)。

考察

本実験から、扁桃体基底外側核や海馬を破壊された動物は受動的回避学習の獲得に障害を持つことが分かった。この結果は、多くの結果と一致している（扁桃体破壊については Dunn and Everitt, 1988; Bermudez-Rattoni and McGaugh, 1991；海馬破壊については McNew and Thompson, 1966; Ambrogi Lorenzini, Baldi, Bucherelli, Sacchetti and Tassoni, 1997）。扁桃体基底外側核は他に恐怖条件付けの形成にも関わっていることがラットを用いた研究から分かっており (Davis, 1992; Maren and Fanselow, 1996 など)、さらに人を対象とした研究から嫌悪的な刺激を与えられた時に扁桃体が活性化されることが報告されている (Zald and Pardo, 1997)。これらの結果から、扁桃体は嫌悪的な情動に関わっていると考えることができる。扁桃体基底外側核を破壊された動物が CTA や匂いに対する忌避学習を獲得できなかった (実験 3 と実験 4) のは、扁桃体基底外側核破壊によって嫌悪刺激の処理が行えなくなったためであ

る可能性が示唆される。

ところが、海馬や扁桃体と深いつながりを持っている帯状回を破壊された動物は、明らかな障害を示すことはなかった。Muir, Everitt and Robbins (1996) は、帯状回に破壊を受けたラットが **five-choice attentional task** において行動の抑制において障害が見られた（つまり意味の無い刺激に対しても反応した）が、それらの動物も受動的回避学習は行うことができたことを示している。人を対象とした研究から、帯状回は実行に関係のない刺激を無視する機能を持っていることが示唆されている (Posner and Raichle, 1997)。これらの研究の結果から、帯状回を破壊された動物は無視すべき刺激に対しても敏感に反応してしまう可能性が示唆される。一方、扁桃体や海馬の細胞群は意味ある刺激に対して反応することが知られている（例えば小野, 1994）。本実験において海馬や扁桃体が破壊された動物が受動的回避学習を獲得できなかったのは意味のある刺激（暗室）の脳内情報処理が出来なかったため、帯状回破壊群が受動的回避学習を獲得できたのは（少なくとも）意味のある刺激である暗室に関する情報処理を行うことが出来たためだと考えることができる。

大脳皮質味覚野を破壊された動物が受動的回避学習を獲得できるか否かについては、一致した見解は得られていない。例えば、Bermudez-Rattoni と McGaugh (1991) は、大脳皮質味覚野を含む島皮質を破壊すると、受動的回避の獲得が障害されることを示しているが、Dunn と Everitt (1988) は大脳皮質味覚野を破壊しても受動的回避学習を獲得できることを示している。Bermudez-Rattoni と McGaugh の実験 (1991) では、Y型迷路のアームの先に

飲み口が取り付けられた装置で、ラットが飲み口から味溶液を摂取した後に肢へ電気ショックを与えるという方法で条件づけている。肢への電気ショックが与えられたアームに入るまでの潜時が長くなれば、受動的回避が獲得できたという指標を採用しているが、この場合ラットの絶水状態あるいは破壊による摂水動因の増大という要因が、受動的回避学習の障害の原因になっているとも考えることができる。Dunn と Everitt (1988) ではステップダウン型の課題を採用している。大脳皮質味覚野破壊群の反応潜時の平均は約 150 秒で、コントロール群の反応潜時は約 180 秒であった。ステップスルー型の課題を用いた本実験では、8 匹の破壊群のうち 5 匹が 5 分以内に暗室へ入った。破壊群の平均潜時は約 145 秒で、コントロール群の平均潜時は 300 秒であった。本実験では明室と暗室という明らかに異なる文脈刺激が存在していたのに対して、Dunn と Everitt (1988) の実験では高低という手がかりしか持ち得ない装置でしかもその装置に馴致されていたことが、コントロール群の潜時の差（つまり嫌悪の強さの差）に反映されていると考える。つまり、大脳皮質味覚野の破壊によって受動的回避学習は障害を受けるが、Dunn と Everitt (1988) の装置ではコントロールとの差を十分に引き出すことが出来なかったことが示唆される。

島皮質が味覚の情報処理以外の機能を持っていることを示唆する研究は多い。例えば、島皮質から脳幹部への直接投射があり、その投射が内臓の運動調節に関わっていることが知られている (Terreberry and Neafsey, 1983)。さらに、その投射は恐怖によって喚起される心拍の変化などに関わっていることが知られており (Pascoe and Kapp, 1987)、この経路が受動的回避に含まれている可

能性が指摘されている（Bermudez-Rattoni, Ormsby, Escobar and Hernandez-Echeagaray, 1995）。本実験で大脳皮質味覚野を含む島皮質を破壊することによって受動的回避学習が障害されたのは上記の経路を破壊したためであると考えることができる。

総合論議

本研究において、味覚嫌悪学習と風味嗜好学習ならびに受動的回避学習の形成に関わる脳部位についての行動神経科学的実験を行った。

味覚嫌悪学習

第一実験として、味覚嫌悪学習の形成に関わる無条件刺激についての研究を行った。伝統的な古典的条件付けでは、条件刺激と無条件刺激との対提示が時間的に接近し、随伴していればどのような連合条件付けも獲得させることが出来ることを前提としていた。ところが、Garcia と Koelling の実験（1966）によってその前提は覆されることになった。彼らの実験では、飲み口をなめると光が点滅し音が鳴る装置内で甘いサッカリン溶液をラットに摂取させ、その後肢への電気ショックあるいは内臓不快感を催させる処置（X線照射や塩化リチウムの腹腔内注射）を行った。テスト時には、なめると音や光が随伴する水あるいは音や光は伴わない甘いサッカリン溶液をラットに提示し、ラットが摂取するかどうかを測定した。その結果、無条件刺激として電気ショックを受けたラットは、甘いサッカリン溶液は摂取したが、音や光を伴う水を摂取しなくなった。一方、内臓不快感を催すような処置を行われたラットは、音や光を伴うが味はしない水を摂取することはできたが、サッカリン溶液を摂取することはなかった。

Garcia と Koelling の実験は、「刺激は如何なる生得的反射とも連合させることができる」(Pavlov, 1927) とする古典的条件付けの前提を脅かす実験であり、その後学習心理学の分野において大きな論争を引き起こすことになった。細かな考え方の違いはあるが、Garcia の belongingness、Seligman の preparedness、Bolles の species-specific defense reaction (SSDR) という概念はすべて、「学習には生物学的な制約がある」という結論を導くものになった。別の言葉で述べると、「生物は生態学的に妥当な刺激を効率よく処理することが出来る機構を生まれながらに持っている」という言葉で表現できよう。このような考え方は、「環世界論」を唱えたユクスキュル (1950) や「生態学的知覚論」を唱えたギブソン (1966) などの考えに通ずるものである。このような観点から生物を観ることにより、人工知能研究の大きな壁の一つであるフレーム問題の解決にも役に立つのではないだろうか。

このような性格を備えていることから味覚嫌悪学習において「生物学的あるいは神経回路的な基盤の存在」が仮定されている (Seligman, 1970; Rozin and Kalat, 1971)。にも拘わらず、現在までこのような観点からの神経科学的研究はなされていなかった。そこで、まずこの連合特異性を支える神経基盤を明らかにすることから、本研究を進めることにした。

味覚嫌悪学習において有効な無条件刺激となり得るのは、X線照射や体の回転、鬱病の治療に使われていた塩化リチウムの注射、催吐剤 (アポモルフィンや硫酸銅) など人間に処置すると、嘔吐あるいは吐き気を催させるような刺激である (例えば Pelchat ら, 1983)。ところが、人間や動物では耽溺性が報告され

ているモルヒネやアンフェタミン、コカインなどの薬物も味覚嫌悪学習の無条件刺激となりうるということが報告されている (Hunt and Amit, 1987)。これらの処置が味覚嫌悪学習の無条件刺激として効果的なのか、無条件刺激に関わる神経基盤はどのようなものかということ調べる研究を実験 1 で行った。研究の進め方としては、それぞれの処置を行って味覚嫌悪学習が獲得できるかどうかを調べる破壊行動実験とそれぞれの処置によって脳のどの部位が興奮するかを調べる神経機能解剖学的実験とを合わせて行った。

その結果、結合腕傍核外部外側垂核に存在する細胞群の活動と獲得された味覚嫌悪学習の強さとの間に有意な相関が見られた。結合腕傍核は脳幹の橋に位置しており、脳幹の橋は魚類から哺乳類にいたるまでの全ての脊椎動物に共通して存在すると考えられている (俣野, 1995)。このような結合腕傍核が無条件刺激の中継点として大きな役割を果たしているということは、脊椎動物に広く共通する基本的な神経基盤が味覚嫌悪学習を支えている可能性を示唆するものである。味覚嫌悪学習は中毒などから生体を守るという大きな意味を持っており、すべての動物に共通して見られる基本的な現象の一つである。本研究は生態学的な行動の相似が神経系の機能に基づくものであることを実証した点において有意義なものである。

さらに実験 2 において、結合腕傍核の外側部 (外部外側垂核を含む) を破壊されたラットは、味覚嫌悪学習を獲得出来なくなることが分かった。これらの動物は破壊前に獲得していた味覚嫌悪の想起や味覚に対する生得的な反応は正常に行うことが出来たので、味覚の感受性を損なったあるいは味溶液の摂取抑

制が出来なくなったためではなく、味覚嫌悪学習の獲得に結合腕傍核の外側部が深く関わっていることが示唆される。一方、味覚の第二次中継核である結合腕傍核の内側部を破壊されたラットは、味覚嫌悪学習の獲得のみならずその保持にも障害を持った。さらに、これらの動物は味刺激に対する正常な行動を行うことも出来なかったため、結合腕傍核内側部を破壊すると味覚に対する行動が一般的に障害される可能性が考えられる。

ヒトを対象とした研究からも味覚嫌悪学習には認知的な要素が入りにくいことが知られている（例えば Schafe and Bernstein, 1996）ので、脳幹部で味覚嫌悪学習が獲得されると考えることも出来る。ところが、Grill と Norgren (1978b) は、中脳の上丘前端部で脳を切断され下部脳幹部のみを有するラットは、味覚刺激に対する生得的な反応は正常であるにも拘わらず、味覚嫌悪学習を獲得することが出来ないという結果を得ている。さらに、扁桃体を破壊されたラットは、味覚嫌悪学習を獲得出来なくなることを支持する研究も多い (Nachman and Ashe, 1974; Simbayi, Boakes and Burton, 1986; Bermudez-Rattoni and McGaugh, 1991; Yamamoto, Fujimoto, Shimura and Sakai, 1995)。そこで結合腕傍核から扁桃体への投射経路を探るために、実験 3 を行った。

実験 3 では、結合腕傍核から扁桃体基底外側核への投射を調べるために神経解剖学的実験を行い、その中継核の役割を調べるために破壊行動実験を行った。神経解剖学的実験と従来の知見より結合腕傍核→不確帯→視床正中部→扁桃体基底外側核という経路と結合腕傍核→視床味覚野→大脳皮質味覚野→扁桃体基

底外側核という 2 つの経路が存在することが示唆された。また、扁桃体中心核に逆行性の WGA-HRP を注入した場合に結合腕傍核の外側部に多くのラベルされた細胞が見られた。そこで、不確帯や視床正中部、大脳皮質味覚野、扁桃体中心核を破壊された動物が味覚嫌悪学習を獲得できるか否かを破壊行動実験により検証した。その結果、扁桃体基底外側核を破壊された動物のみが味覚嫌悪学習の獲得に障害を生じていた。Yamamoto ら (1995) は視床腹側部を大きく破壊すると、扁桃体基底外側核を破壊した時と同じように味覚嫌悪学習の獲得が障害されることを発見している。彼等の破壊部位には視床味覚野と視床正中部とが含まれていた。そこで、神経解剖学的に存在が示唆された上記の経路の中継核の複合破壊を行うことにした。その結果、大脳皮質味覚野と不確帯とを同時に破壊された動物は、扁桃体基底外側核や結合腕傍核を破壊したときと同程度に味覚嫌悪学習の獲得に障害を生じていた。この結果から、味覚嫌悪学習の獲得時には、結合腕傍核→不確帯→視床正中部→扁桃体基底外側核という経路と結合腕傍核→視床味覚野→大脳皮質味覚野→扁桃体基底外側核という 2 つの経路が相補的に機能している可能性が示唆された。大脳皮質味覚野のみ、あるいは不確帯のみを破壊されても、残りのルートが代償的に活性化されるので、味覚嫌悪学習が獲得できるのであろう。この結果から、大脳皮質味覚野には味覚嫌悪条件づけによってその応答を変化させる細胞が存在している (Yamamoto, Matsuo, Kiyomitsu and Kitamura, 1989) にも拘わらず、大脳皮質を破壊しても味覚嫌悪学習の獲得には影響がないという矛盾点を解明出来るかもしれない。

扁桃体中心核は結合腕傍核外側部からの大量の投射を受けているにも拘わらず、味覚嫌悪学習の獲得に関与しているということを支持する結果を得ることが本実験においては出来なかった。しかしながら、扁桃体中心核には、味覚嫌悪学習の獲得に伴ってその応答を変化させる細胞の存在が報告されている (Yasoshima, Shimura and Yamamoto, 1995)。扁桃体中心核は心臓血管系の制御に関係しており、恐怖の条件づけパラダイムを用いた実験において、恐怖を感じると心拍の上昇が見られることに関わっていることが示唆されている (Davis, 1992)。扁桃体中心核の味覚嫌悪学習獲得時の機能については不明なままであるが、味覚嫌悪学習の想起時における自律神経系の制御に関わっているのかも知れない。

風味条件づけ

実験 1～実験 3 では、動物に与える刺激は味溶液であった。しかしながら、動物や人が生態環境内で経験する食べ物には、嗅覚や味覚、触覚など様々な感覚要因を含んでいる。「おいしさ」を取り扱った本や論文では、「食べることを通じて、食べ物のモノとしての性質を味覚、嗅覚、視覚、触覚、聴覚の五感によって総合的に受け止めている。この総合された感覚情報が広義の食味であるが、この食味が快適な満足感を与えてくれる場合、我々はその食べ物を美味しいと判断 (遠藤, 1997)」すると述べているものが多い。このような考えのもとに、実験 4 ではラットに味覚と嗅覚との連合学習を行わせ、その連合学習に関わる脳部位を調べることを目的とした。嗅覚に関する食餌性の学習課題には、

味覚による嗅覚嫌悪増強や風味-栄養学習などのパラダイムが従来では用いられてきた。味覚による嗅覚嫌悪増強パラダイムでは、ラットに匂いつきの味溶液を摂取させ、塩化リチウムと対提示すれば、ラットはその匂いのする水を摂取しなくなるという現象を利用している。条件づけ時に匂いのする水を提示した場合には（つまり味がしない場合には）、匂いに対する忌避を条件づけることが出来ないので、味覚による嗅覚嫌悪増強と呼ばれている（例えば Garcia, Hankins and Rusiniak, 1974）。このパラダイムでは、味覚と嗅覚との相互作用が起こったのか、嗅覚と内臓感覚との直接の連合学習が起こったのかを区別することは難しい。最近の研究では、後者、すなわち嗅覚と内臓不快感とが直接連合されていることを支持する研究が提出されている（Slotnick, Westbrook and Darling, 1997; Ferry and Di Scala, 1997）。また、風味-栄養学習は、匂い物質を蔗糖などカロリーを含む溶液と対提示することによって匂いに嗜好を条件づけるというパラダイムである（Sclafani, 1991; Capaldi, 1996）。この場合にも、嗅覚と味覚との間に連合学習が起こったのか、嗅覚とカロリー（内的満足感）との間に連合学習が起こったのかを区別することは難しい。その点、実験 4 で採用したパラダイムは、甘いカロリーはないサッカリン溶液と匂いという組み合わせと苦いが中毒を起こすわけではないキニーネ溶液と匂いという組み合わせとを対提示し、ラットに匂いに対する嗜好あるいは嫌悪を味との連合によって獲得させることを目的とするものであった。まず最初に、本実験で用いた匂い物質（バナナ臭あるいはアーモンド臭）がラットにとって刺激として適当であるかどうかを調べるために、味覚による嗅覚嫌悪増強を行わせた。

その結果、ラットはそれぞれの匂いに対して嫌悪を獲得することが出来、それぞれの匂いに対する嫌悪を別の刺激に般化させないことが分かった。つまりラットは、それぞれの匂いを知覚し、それぞれについての嫌悪学習を獲得することが出来、それぞれの匂いを区別出来ているのである。そこで、この 2 種類の溶液をサッカリン溶液あるいはキニーネ溶液と対提示し、それぞれの匂いに対する嗜好あるいは嫌悪を獲得できるかどうかを調べた。その結果、ラットはキニーネ溶液と対提示された匂いは忌避することができたが、サッカリンと対提示された匂いに対する嗜好を獲得することはできなかった。

このような嗅覚-味覚間の学習に関わる脳部位を調べるために、破壊行動実験を行った。嗅覚と味覚との両方に応答するニューロンが発見されている眼窩前頭葉皮質 (Rolls, 1997) や味覚や嗅覚の情動的側面を司ると考えられている扁桃体 (Azuma, Yamamoto and Kawamura, 1984) を破壊された動物はこの学習の獲得に障害を持ったが、大脳皮質味覚野は破壊しても効果が見られなかった。しかしながら、眼窩前頭葉皮質や扁桃体を破壊された動物も対提示の回数を多くすると嗜好の変化が見られるので、実験 3 で示したような神経系の代償作用が存在する可能性も示唆された。

なおこの実験では、帯状回を破壊されたラットにも味溶液と匂い刺激との対提示を行った。その結果、対提示の回数が少ない時は学習が障害されたが、対提示の回数を多くするとその破壊効果は見られなくなった。人を対象とした実験から、帯状回は弁別課題における注意の処理を行っていることが示唆されている (Posner and Raichle, 1994)。また、ラットを用いた破壊行動実験から、

帯状回は行動の抑制に関わっていることが示唆されている (Muir, Everitt and Robbins, 1996)。これらの結果から考えると、帯状回を破壊されたラットは注意機能の障害から弁別課題の遂行に困難を生じたか、あるいは忌避すべき匂いのする水を、その匂いを感じているにも拘わらず、摂取抑制を行うことに障害を受けたかによって、風味条件づけを獲得することが出来なかったが、条件づけの回数を増やすことによって代償作用によって他の部位のニューロンあるいは残っていた帯状回のニューロンが機能し、学習を獲得できるようになったという仮説を提唱することができる。この仮説の検証には多くの学習実験が必要になるが、このような学習課題を開発することは脳の高次機能についての研究の発展に貢献できると思う。

受動的回避学習

実験 5 では、実験 3 や実験 4 で見られた行動の変化が、情動に関わる一般的なものかあるいは味覚あるいは嗅覚に対する嫌悪行動のみに関わるものかということ調べるために、それぞれの動物に対して受動的回避をトレーニングし、脳部位の破壊が受動的回避学習の獲得に及ぼす効果を調べることを目的とした。さらに、文献的 (例えば Ambrogio Lorenzini, Baldi, Bucherelli, Sacchetti and Tassoni, 1997) に受動的回避に関わっていることが知られている海馬破壊群を追加した。扁桃体基底外側核や海馬を破壊されたラットは受動的回避の獲得に障害を受けたものが多かった。また、大脳皮質味覚野を破壊したときにも、扁桃体基底外側核や海馬を破壊したときよりも少数であるが、受動的回避を獲得

することが出来ない個体がコントロール群に比べて有意に多かった。その他の破壊群の行動には、コントロール群との有意な差は見られなかった。この結果より、扁桃体基底外側核を破壊すると味覚に対する嫌悪だけではなく嗅覚に対する嫌悪や受動的回避も獲得することが出来なくなるので、扁桃体基底外側核が嫌悪条件づけ全般に関わる部位である可能性が示唆された。実際に、ラットの恐怖条件づけパラダイムにおいて、扁桃体基底外側核が学習の形成に大きな役割を果たしていることが示唆されている (Maren and Fanselow, 1996)。さらに、ヒトを対象とする研究からも、扁桃体が恐怖に関する情報処理に関わっていることが示唆されている (Phillips, et al., 1997)

また、一見すると何の関係もなさそうな大脳皮質味覚野を破壊されたラットが受動的回避を獲得できなかったことについては、Bermudez-Rattoni と McGaugh (1991) も同様の結果を得ている。ただし、彼らの論文では、大脳皮質味覚野を含む島皮質を大きく破壊している。文献的に考察した結果、島皮質が情動に関わる内臓運動系に関わっていること (van der Kooy ら, 1982)、扁桃体との相互的なつながりを持っていること (Pascoe and Kapp, 1987) 等から今回の実験結果は理解できることがわかった。ヒトの島皮質は、痛みなどの嫌悪的な刺激によって活性化されることも報告されている (Casey et al., 1994)。本研究で行った大脳皮質味覚野破壊には島皮質の別の構造も含まれていた可能性を示唆するものである。

まとめ

本研究では、ラットの味覚嫌悪学習および風味試行学習に関わる脳部位を検索した。その結果、ラットの食物選択行動には情動や学習に関わると考えられている扁桃体が大きな役割を果たしていることが分かった。このことから、ラットの食物選択行動には、学習性の要因や情動性の要因が深く関わっていることが示唆される。

序でも述べたように、ラットはヒトと同じ雑食性の動物であり、社会行動を営む動物である。食行動においても、味覚嫌悪学習を始めとして、他のラットと一緒に食べた食物に対する嗜好が見られたり (Duncan, Buxbaum and Tordoff, 1985)、観察学習と考えることが出来るような現象が見られたり (Galef, 1988) とヒトの食行動に共通するところは多い。ラットの食行動におけるこのような側面を解明することによって、ヒトの食行動の理解が進むであろうと私は考える。

本論文の要旨

本研究において、味覚嫌悪学習と風味嗜好学習ならびに受動的回避学習の形成に関わる脳部位についての行動神経科学的実験を行った。

味覚嫌悪学習

第一実験として、味覚嫌悪学習 (CTA) の形成に関わる無条件刺激についての研究を行った。Garcia と Koelling の実験 (1966) では、CTA においては、条件刺激と無条件刺激との間に連合選択性があることを示唆する結果を得ている。その後の研究から、CTA において有効な無条件刺激となり得るのは、X 線照射や体の回転、塩化リチウムの注射 (鬱病の治療に使われていた)、催吐剤 (アポモルフィンや硫酸銅) など人間に処置すると、嘔吐あるいは吐き気を催させるような刺激であることが分かった。ところが、人間や動物では耽溺性が報告されているモルヒネやアンフェタミン、コカインなどの薬物も CTA の無条件刺激となりうるということが報告されている。これらの処置が CTA の無条件刺激として効果的なのか、無条件刺激に関わる神経基盤はどのようなものかということ調べる研究を実験 1 で行った。研究の進め方としては、それぞれの処置を行って CTA が獲得できるかどうかを調べる破壊行動実験とそれぞれの処置によって脳のどの部位が興奮するかを調べる神経機能解剖学的実験とを合わせて行った。その結果、結合腕傍核外部外側垂核に存在する細胞群の活動と獲得された CTA

の強さとの間に有意な相関が見られた。

実験 2 において、結合腕傍核 (PBN) の外側部 (外部外側垂核を含む) を破壊されたラットは、CTA を獲得出来なくなることが分かった。これらの動物は破壊前に獲得していた CTA の想起や味覚に対する生得的な反応は正常に行うことが出来たので、味覚の感受性を損なったあるいは味覚溶液の摂取抑制が出来なくなったためではなく、CTA の獲得に PBN の外側部が深く関わっていることが示唆される。一方、味覚の第二次中継核である PBN の内側部を破壊されたラットは、CTA の獲得のみならずその保持にも障害を持った。さらに、これらの動物は味覚刺激に対する正常な行動を行うことも出来なかったため、PBN 内側部を破壊すると味覚に対する行動が一般的に障害される可能性が考えられる。

実験 3 では、PBN から CTA の獲得に必要であると考えられている扁桃体基底外側核 (BLA) への投射を調べるために神経解剖学的実験を行い、その中継核の役割を調べるために破壊行動実験を行った。神経解剖学的実験と従来知見より PBN→不確帯→視床正中部→BLA という経路と PBN→視床味覚野→大脳皮質味覚野→BLA という 2 つの経路が存在することが示唆された。そこで、不確帯や視床正中部、大脳皮質味覚野を破壊された動物が CTA を獲得できるか否かを破壊行動実験により検証した。その結果、BLA を破壊された動物のみが CTA の獲得に障害を生じていた。Yamamoto ら (1995) は視床腹側部を大きく破壊すると、BLA を破壊した時と同じように CTA の獲得が障害されることを発見している。彼等の破壊部位には視床味覚野と視床正中部とが含まれていた。そこで、

神経解剖学的に存在が示唆された上記の経路の中継核の複合破壊を行うことにした。その結果、大脳皮質味覚野と不確帯とを同時に破壊された動物は、BLA や PBN を破壊したときと同程度に CTA の獲得に障害を生じていた。この結果から、CTA の獲得時には、PBN→不確帯→視床正中部→BLA という経路と PBN→視床味覚野→大脳皮質味覚野→BLA という 2 つの経路が相補的に機能している可能性が示唆された。

風味条件づけ

実験 1～実験 3 では、動物に与える刺激は味溶液であった。しかしながら、動物や人が生態環境内で経験する食べ物には、嗅覚や味覚、触覚など様々な感覚要因を含んでいる。そこで、実験 4 では匂いと甘いのがカロリーはないサッカリン溶液という組み合わせと匂いと苦いのが中毒を起こすわけではないキニーネ溶液という組み合わせとを対提示し、ラットに匂いに対する嗜好あるいは嫌悪を味との連合によって獲得させることを目的とする研究を行った。最初に、本実験で用いた匂い物質（バナナ臭あるいはアーモンド臭）がラットにとって刺激として適当であるかどうかを調べるための実験を行った。その結果、ラットはそれぞれの匂いを知覚し、それぞれについての嫌悪学習を獲得することが出来、それぞれの匂いを区別出来ていることがわかった。そこで、この 2 種類の溶液をサッカリン溶液あるいはキニーネ溶液と対提示し、それぞれの匂いに対する嗜好あるいは嫌悪を獲得できるかどうかを調べたところ、ラットは匂いと味の

連合学習を行うことが出来ることが分かった。このような嗅覚-味覚間の学習に関わる脳部位を調べるために、破壊行動実験を行った。嗅覚と味覚との両方に応答するニューロンが発見されている眼窩前頭葉皮質や味覚や嗅覚の情動的側面を司ると考えられている BLA を破壊された動物はこの学習の獲得に障害を持ったが、大脳皮質味覚野は破壊しても効果が見られなかった。しかしながら、眼窩前頭葉皮質や BLA を破壊された動物も対提示の回数を多くすると嗜好の変化が見られるので、実験 3 で示したような神経系の代償作用が存在する可能性も示唆された。

受動的回避学習

実験 5 では、実験 3 や実験 4 で見られた行動の変化が、情動に関わる一般的なものかあるいは味覚あるいは嗅覚に対する嫌悪行動のみに関わるものかということ調べるために、それぞれの動物に対して受動的回避課題 (PA) をトレーニングし、脳部位の破壊が PA の獲得に及ぼす効果を調べることを目的とした。BLA を破壊されたラットは PA の獲得に障害を受けたものが多かった。また、大脳皮質味覚野を破壊したときにも、BLA を破壊したときよりも少数であるが、PA を獲得することが出来ない個体がコントロール群に比べて有意に多かった。その他の破壊群の行動には、コントロール群との有意な差は見られなかった。この結果より、BLA を破壊すると CTA だけではなく嗅覚に対する嫌悪や PA も獲得することが出来なくなるので、BLA が嫌悪条件づけ全般に関わる部位であ

る可能性が示唆された。

これらの研究から得られた結果は、ヒトの食行動における食物選択に関わる感覚的・情動的な因子に関する研究から得られたデータと合致する部分が多い。そこで、ラットの食物選択における感覚的・情動的研究を進めていくことは、ヒトの食行動の研究にも大きな貢献ができると考えられる。

付録：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。味覚行動の中枢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 トレーサーによる線維連絡

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出来るのは、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（軸索をのぼしているのか）、あるいは、どの部位から情報をうけているのか、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 **Marcki** 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。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、凍結切片を作成した後、**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。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、免疫組織学的手法（後述）を用いる。

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。

B 神経機能解剖学

a 2DG 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(2DG)を利用する方法がある。放射性元素を含んだ 2DG 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（2DG 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 ら 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 ら 1994)、味覚嫌悪学習にともなう神経興奮性の可塑的变化 (Yamamoto ら 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。たとえば、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、電気生理学の実験によると、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 (Suemori ら 1994)。

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 *zif268* (*egr-1*、*Krox24*、*NGF-IA*) という遺伝子が学習に深く関わっている、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、*zif268* 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 ら 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。この呈色反応には幾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ジン（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ジンに結合している 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出来るように考えてある）。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。

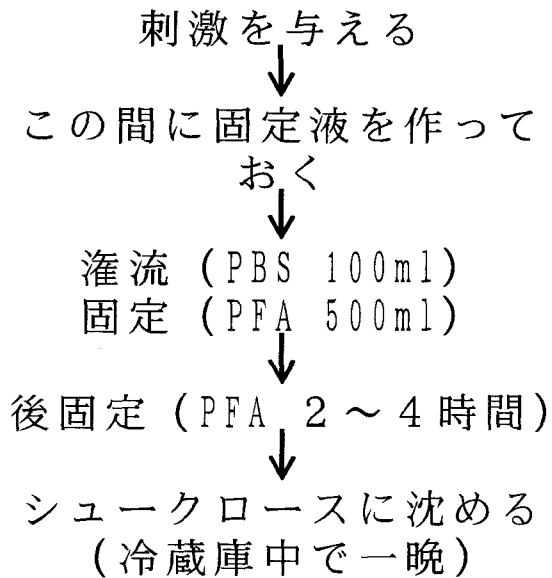
D トレーサー法と免疫組織化学法との融合（二重染色法）

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は、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 and 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。

付録2 : *c-fos*免疫組織化学 (実験1)

1・灌流



灌流液 : 0.02M PBS

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

0.72g

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

5.51g

NaCl

8.50g

蒸留水を加えて1リットルにする。

固定液 : 4% PFA

三角フラスコにdwを800ml取り、ガスコンロで70~80°Cまで熱する。温めている間にPFAを100g量り、スターラーでかき混ぜながら溶かす。このときにNaOHを2~3ml滴下すると完全に溶かすことができる。とけたらろ過。蒸留水でメストアップし、最終的に1リットルにする。以上が10% PFAである。使うときには以下の割合で4% PFAを作成する。

10% PFA : dw : 0.2MPB =

4 : 1 : 5

0.2MPB

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 7.2g

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 55.1g

以上をdwに溶かし、1リットルにする。

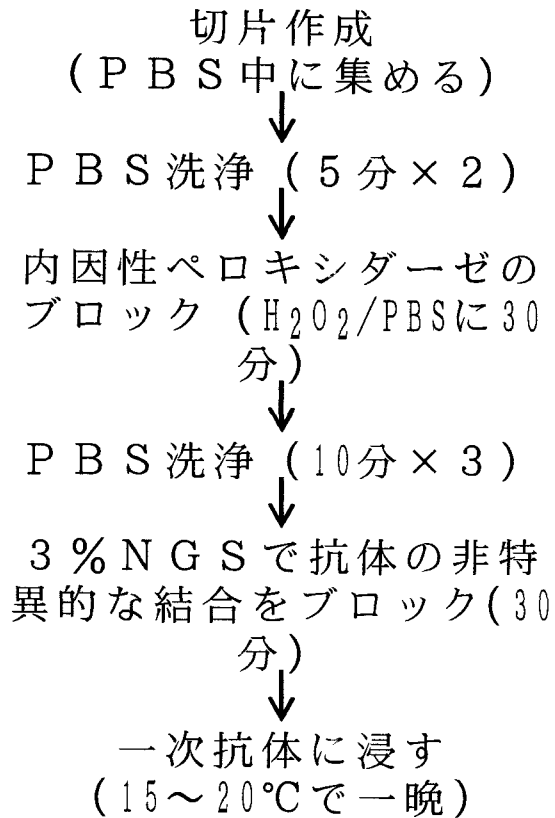
シュークロース

0.2M PB 100ml

sucrose 60g

dwを加え、200mlにする。

2・一次反応



PBS洗浄液

NaH₂PO₄ · 2H₂O
0.72g

Na₂HPO₄ · 12H₂O
5.51g

NaCl
8.50g

蒸留水を加えて1リットルにする。

H₂O₂ / PBS

3% H₂O₂ 40μl

0.02M PBS 200ml

PBS希釈用液

NaH₂PO₄ · 2H₂O
0.72g

Na₂HPO₄ · 12H₂O
5.51g

NaCl
8.50g

精製水を加えて1リットルにする。

3%NGS

NGS (冷凍庫中) 6ml

PBS (希釈用) 194ml

c-fos抗体

PBS (希釈用) 198ml

Triton X 1ml

NGS (冷凍庫) 2ml

c-fos抗体 200μl

3・二次反応

PBS 洗淨 (10分×3)
↓
3%NGSで非特異的な結合をブロックする (30分)
↓
二次抗体で反応させる (B-GAR: 2時間)
↓
PBS 洗淨 (10分×2)
↓
TBS 洗淨 (10分×2)
↓
アビジン-ビオチン反応 (A-HRP: 1時間)
↓
TBS 洗淨 (10分×3)
↓
DAB前処理 (DAB-NAS: 20分)
↓
DAB反応 (DAB-NAS/H₂O₂) (約10分)
↓
TBS 洗淨
↓
PBSにつけかえてスライドガラスに貼り付け
↓
キシレンで透徹しカバーする

二次抗体

PBS (希釈用)	198ml
Triton X	1ml
NGS (冷凍庫)	2ml
B-GAR	200 μ l

TBS

トリスベース	1.39g
トリスHCl	6.06g
NaCl	8.50g

蒸留水を加えて1リットルにする。

A-HRP

TBS	200ml
A-HRP	200 μ l

DAB反応液

TBS	300ml
DAB	120mg
NAS	240mg

以上300mlをスターラーにかけ、溶けたらろ過。150mlは前処理に、残り150mlには1% H₂O₂を200 μ l加え反応液とする。反応は顕微鏡下で観察しながらTBSにつけかえることで停止させる。

付録3 TMB-ST 法 (実験 3a)

Y. GU, Y. Chen, L. Ye

Electron microscopical demonstration of horseradish peroxidase by use of tetramethylbenzidine as chromogen and sodium tungstate as stabilizer (TMB-ST method): a tracing method with high sensitivity and well preserved ultrastructural tissue.

Journal of Neuroscience Methods, 42 (1992) 1-10

利点

- 1・かなり高い感度を持っている。
- 2・高い pH (pH6.5) で反応可能。(免疫染色と 2 重染色ができる)
- 3・10 ヶ月以上安定である (neutral red との対比染色)

procedure

- a: PBS で洗浄する。(30 秒×3 回)
- b: 反応液で前処置 (15-20°C, 20min, 暗室) *1
- c: 反応 (15-20°C, 1hr) *2
- d: 0.1M PB(pH 6.5 以下)で洗浄する。5 分×3 回
- e: 卵白アルブミンスライドグラスに貼り付ける。
- f: ニュートラルレッドで対比染色する。

*1 2g ST (Na₂WO₄ 2H₂O) を 94ml の dw に溶かし、ろ過。
100ml の 0.2M PB (pH 5.0-5.4)
2-3ml 1N HCl
3ml TMB solution (14mg TMB を 1ml アセトン, 2ml アルコール)

*2 0.3% H₂O₂ を 1.4ml ずつ 10 分ごとに加える。

Phosphate buffer (リン酸緩衝液)

0.1M PB (pH 6.0) 1l

NaH₂PO₄ 2H₂O = 26.52g, Na₂HPO₄ 12H₂O = 10.74g

0.2M PB (pH 5.0-5.4) 1l

NaH₂PO₄ 2H₂O = 30.07g, Na₂HPO₄ 12H₂O = 2.58g

付録 4 Biotin Dextran Amine の LSAB 法による染色

LSAB 法：ビオチンに強い親和結合を持つストレプトアビジンにパーオキシダーゼ酵素（HRP）を結合させることによって、ビオチンを可視化することができる。このような方法を採用した免疫組織化学的手法を LSAB 法という。LSAB 法は、従来法（PAP 法、ABC 法など）に比べて高感度でバックグラウンド染色が少なく、しかも簡便で短時間で染色操作が完了する（例えば神経科学研究の先端技術プロトコール、厚生社）ので、本実験では Biotin Dextran Amine を可視化するためにこの LSAB 法を用いた。

手順

- A: PBS で洗浄する。（5分×3回）
- B: TritonX-100 で前処置（15-20℃, 3時間）*1
- C: PBS で洗浄する（5分×3回）。
- D: LSAB 反応（15-20℃, 1hr）*2
- E: PBS で洗浄する（5分×3回）。
- F: DAB/H₂O₂ 反応（20分程度）*3。
- G: PBS で洗浄する。5分×3回
- H: 卵白アルブミンスライドガラスに貼り付ける。
- I: ニュートラルレッドで対比染色する。

*1 198ml の PBS（pH7.2-7.4）に 2ml の TritonX-100 をスターラーでかき混ぜながら加える。

*2 200ml の PBS に 200 μ l の LSAB（DAKO 社）を加えた液に浸漬させる。

*3 200ml の PBS に DAB を 100mg、NAS を 200mg 加え、スターラーでかき混ぜる。溶解したらろ過する。この液に 1% H₂O₂ を 200 μ l 加え反応液とする。反応は顕微鏡下で観察しながら行い、適当な反応産物が観察できたら PBS につけかえることで反応を停止させる。

文献

Aguero, A., Arnedo, M., Gallo, M. and Puerto, A. (1993) The functional relevance of the lateral parabrachial nucleus in lithium chloride-induced aversion learning.

Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 45, 973-978.

Aguero, A., Gallo, M., Arnedo, M., Molina, F. and Puerto, A. (1996) Effects of lesions of the medial parabrachial nucleus (PBNm): Taste discrimination and lithium-chloride-induced aversion learning after delayed and contiguous interstimulus intervals.

Psychobiology, 24, 265-280.

Ambrogio Lorenzini, C.G., Baldi, E., Bucherelli, C., Sacchetti, B. and Tassoni, G. (1997) Role of ventral hippocampus in acquisition, consolidation and retrieval of rat's passive avoidance response memory trace. *Brain Research*, 768, 242-248

青木 宏 (1994) 食品の嗜好。 *日本食品工業学会誌*, 41, 77-83

Azuma, S., Yamamoto, T. and Kawamura, Y. (1984) Studies on gustatory responses of amygdaloid neurons in rats. *Experimental Brain Research*, 56, 12-22

Bear, M.F., Connors, B.W. and Paradiso, M.A. (1995) *NEUROSCIENCE: Exploring the brain*. Williams & Wilkins Baltimore

Bechara, A., Martin, G.M., Pridger, A. and van der Kooy, D. (1993) The parabrachial nucleus: a brain stem substrate critical for mediating the aversive motivational effects of morphine. *Behavioral Neuroscience*, 107, 147-160

Berger, B.D. (1972) Conditioning of food aversions by injections of psychoactive drugs. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 81, 21-26

Bermudez-Rattoni, F. and McGaugh, J.L. (1991) Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition on inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain Research*, 549, 165-170

Bermudez-Rattoni, F., Ormsby, C.E., Escobar, M.L. and Hernandez-Echeagaray, E. (1995) The role of the insular cortex in the acquisition and long lasting memory for aversively motivated behavior. In *Plasticity in the central nervous system: Learning and memory*. (McGaugh, J.L., Bermudez-Rattoni, F. and Prado-Alcala, R.A. Eds) pp.67-82, Lawrence Erlbaum Associates, New Jersey.

Bernstein, I.L. (1978) Learned taste aversions in children receiving chemotherapy. *Science*, 200, 1302-1303

Bernstein, I.L. (1991) Flavor aversion. In *Smell and Taste in Health and Disease*, (eds. Getchell, T.V., Doty, R.L., Bartoshuk, L.M. and Snow, Jr, J.B.) , pp.417-428, Raven Press, New York

Bernstein, I.L. and Borson, S. (1986) Learned food aversion: A component of anorexia syndromes. *Psychological Review*, 93, 462-472

Bernstein, I.L. and Webster, M.M. (1980) Learned taste aversions in humans. *Physiology and Behavior*, 25, 363-366

Block, E. (1994) Food artifacts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 692

Block, C.H. and Hoffman, G.E. (1987) Neuropeptide and monoamine components of the parabrachial pontine complex. *Peptides*, 8, 267-283

Blomquist, A.J. and Antem, A. (1967) Gustatory deficits produced by medullary lesions in the white rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 63, 439-443.

Boakes, R. (1984) *From Darwin to behaviourism: Psychology and minds of animals*, Cambridge University Press

Brennan, P.A. and Keverne, E.B. (1997) Neural mechanisms of mammalian olfactory learning. *Progress in Neurobiology*, 51, 457-481

Bures, J., Buresova, O. and Krivanek, J. (1988) *Brain and Behavior. Paradigms for research in neural mechanisms*, John Willy & Sons, Academia, Praha, Czechoslovakia

Capaldi, E.D. (1992) Conditioned food preferences. *The Psychology of Learning and Motivation*, 28, 1-33

Capaldi, E. D. Ed. (1996) *WHY WE EAT WHAT WE EAT*. American psychological association, Washington DC

Capaldi, E. D. (1996) Conditioned food preferences. In *WHY WE EAT WHAT WE EAT* (Ed. Capaldi, E.D.). American psychological association, Washington DC, pp. 53-82

Casey, K.L., Minoshima, S., Berger, K.L., Koeppe, R.A., Morrow, T.J. and Frey, K.A. (1994) Positron emission tomographical analysis of cerebral structures activated specifically by repetitive noxious heat stimuli. *Journal of Neurophysiology*, 71, 802-807

Cechetto, D.F. (1987) Central representation of visceral function. *Federation Proceedings*, 46, 17-23

Cechetto, D.F. and Saper, C.B. (1987) Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 262, 27-45

Davis, M. (1992) Analysis of aversive memories using the fear-potentiated startle paradigm. In *Neuropsychology of memory* (Squire, L.R. and Butters, N. Eds.) The Guilford Press, New York, pp. 470-484

DeSilva, P. and Rachman, S. (1987) Human food aversions: Nature and acquisition. *Behavioral Research and Therapy*, 25, 457-468

DiLorenzo, P.M. (1988) Long-delay learning in rats with parabrachial pontine lesions. *Chemical Senses*, 13, 219-229

Duffy, V.B and Bartoshuk, L.M. (1996) Sensory factors in Feeding. In *WHY WE EAT WHAT WE EAT* (ed. E.D. Capaldi) pp. 145-172, American psychological association, Washington DC

Duncan, H.J., Buxbaum, A. and Tordoff, M.G. (1987) Rats eating together prefer the taste of their food. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 510, 263-264

Dunn, L.T. and Everitt, B.J. (1988) Double dissociations of the effects of amygdala and insular cortex lesions on conditioned taste aversion, passive avoidance, and neophobia in the rat using excitotoxin ibotenic acid. *Behavioral Neuroscience*, 102, 3-23

Elizalde, G and Sclafani, A. (1990) Flavor preferences conditioned by intragastric Polycose infusions: A detailed analysis using an electronic esophagus preparation. *Physiology and Behavior*, 47, 63-77

遠藤金次 (1997) 食べ物と嗜好。In. 食生活論－「人と食」のかかわりから－ (遠藤金次・橋本慶子・今村幸生 編集) 南江堂、pp.103-114

Engen, (1982): 匂いの心理学 (吉田正昭訳) 西村書店

Fanselow, M.S. and Birk, J. (1982) Flavor-flavor associations induce hedonic shifts in taste preference. *Animal Learning and Behavior*, 10, 223-228

Ferry, B. and Di Scala, G. (1997) Bicuculline administration into basolateral amygdala facilitates trace conditioning of odor aversion in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 67, 80-83

Flaherty, C.F., Capobianco, S. and Hamilton, L.W. (1973) Effect of septal lesions on retention of negative contrast. *Physiology and Behavior*, 11, 625-631

Flaherty, C.F. and Rowan, G.A. (1986) Successive, simultaneous, and anticipatory contrast in the consumption of saccharin solutions. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 12, 381-393

Flynn, F.W., Grill, H.J., Schwartz, G.J. and Norgren, R. (1991a) Central gustatory lesions: I .Preference and taste reactivity tests. *Behavioral Neuroscience*, 105, 933-943

Flynn, F.W., Grill, H.J., Schulkin, J. and Norgren, R. (1991b) Central gustatory lesions: II.Effects on sodium appetite, taste aversion learning, and feeding behaviors. *Behavioral Neuroscience*, 105, 944-954

Fulwiler, C.E. and Saper, C.B. (1984) Subnuclear organization of the efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research Reviews*, 7, 229-259

Galef, B.G. Jr. (1988) Communication of information concerning distant diets in a social, central-place foraging species: *Rattus norvegicus*. In *Social Learning: Psychological and biological perspectives* (Zentall, T.R. and Galef, B.G. Jr. Eds.) Lawrence Erlbaum, New Jersey, pp. 119-139

Gamzu, E., Vincent, G. and Boff, E. (1985) A pharmacological perspective of drugs used in establishing conditioned food aversions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 443, 231-249

Garb, J.L. and Stunkard, A.J. (1974) Taste aversions in man. *American Journal of Psychiatry*, 131, 1204-1207

Garcia, J., Hankins, W.G. and Rusiniak, K.W. (1974) Behavioral regulation of the Milieu Interne in man and rat. *Science*, 185, 824-831

Garcia, J. and Koelling, R. (1966) Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic Science*, 4, 123-124

Garcia, J., Kovner, R. and Green, K. (1970) Cue properties versus palatability of flavors in avoidance learning. *Psychonomic Science*, 20, 313-314

Garcia, J., McGowan, B. and Green, K. (1972) Biological constraints on conditioning. In *Classical Conditioning II: Current Research and Theory*. (Black, A.H. and Prokasy, W.F. Eds.) Appleton Century Crofts

Grill, H.J. and Norgren, R. (1978a) The taste reactivity test. II. mimetic responses to gustatory stimuli in chronic thalamic and chronic decerebrate rats. *Brain Research*, 143, 281-297

Grill, H.J. and Norgren, R. (1978b) Chronically decerebrate rats demonstrate satiation but not bait shyness. *Science*, 201, 267-269

Groenewegen, H.J., Berendse, H.W., Wolters, J.G. and Lohman, A.H.M. (1990) The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Progress in Brain Research*, 85, 95-118

Hamilton R.B. and Norgren, R. (1984) Central projections of gustatory nerves in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 222, 560-577

Hankins, W.G., Garcia, J. and Rusiniak, K.W. (1973) Dissociation of odor and taste in baitshyness. *Behavioral Biology*, 8, 407-419

長谷川智子 (1996) 幼児期の食行動。食べる－食行動の心理学 (中島義明・今田純雄編) 朝倉書店、79-97

長谷川芳典 (1991) おいしさの起源。 *異常行動研究会誌*、31、5-13

長谷川芳典 (1996) 食物の好みと嫌悪の形成。食べる－食行動の心理学 (中島義明・今田純雄編) 朝倉書店、166-185

Herbert, H., Moga, M. and Saper, C.B. (1990) Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 293, 540-580

Hermann, G.E. and Rogers, R.C. (1985) Convergence of vagal and gustatory afferent input within the parabrachial nucleus of the rat. *Journal of Autonomic Nervous System*, 13, 1-17

Hikami, K., Hasegawa, Y. and Matuzawa, T. (1990) Social transmission of food preferences in Japanese monkeys (*Macaca fuscata*) after mere exposure or aversion training. *Journal of Comparative Psychology*, 104, 233-237

Hill, D.L. and Almi, C.R. (1983) Parabrachial nuclei damage in infant rats produces residual deficits in gustatory preferences/aversions and sodium appetite. *Developmental Psychobiology*, 16, 519-533

Houpt, T.A., Berlin, R. and Smith, G.P. (1997) Subdiaphragmatic vagotomy does not attenuate *c-Fos* induction in the nucleus of the solitary tract after conditioned taste aversion expression. *Brain Research*, 747, 85-91.

Hunt, T. and Amit, Z. (1987) Conditioned taste aversion induced by self-administered drugs: Paradox revisited. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 11, 107-130

今田 寛 (1982) 嫌悪刺激を用いた学習。現代基礎心理学 5. 学習 I (佐々木正伸編) pp. 169-182、東京大学出版会

今田純雄（1992）食べる一日常場面における人間の食行動に関する心理学的考察。 *心理学評論*, 35, 400-416

今田純雄・山下 光（1989）食行動に関わる心理学的研究（2）：ヒトの嘔吐誘発性食物嫌悪。 *広島修大論集*, 29, 127-146

石倉俊治（1992）食品のおいしさの科学。南山堂

Ivanova, S.F. and Bures, J (1990a) Acquisition of conditioned taste aversion in rats is prevented by tetrodotoxin blockade of a small midbrain region centered around the parabrachial nuclei. *Physiology and Behavior*, 48, 543-549

Ivanova, S.F. and Bures, J. (1990b) Conditioned taste aversion is disrupted by prolonged retrograde effects of intracerebral injection of tetrodotoxin in rats. *Behavioral Neuroscience*, 104, 948-954

河合雅雄（1997）幸島のニホンザル自然群で新たに獲得されたプレカルチュア的行動。 *現代のエスプリ*, 359（行動の伝播と文化）、35-74

川島隆太、木之村 重男、福田 寛（1997）ポジトロン CT によるヒト味覚関連領野の研究。 *最新味覚の科学*（佐藤昌康・小川 尚編） pp. 190-197

Kiefer, S.W. and Grijalva, C.V. (1980) Taste reactivity in rats following lesions of the zona incerta or amygdala. *Physiology and Behavior*, 25, 549-554

Kobashi, M., Ichikawa, H., Sugimoto, T. and Adachi, A. (1993) Response of neurons in the solitary tract nucleus, area postrema, and lateral parabrachial nucleus to gastric load of hypertonic saline. *Neuroscience Letters*, 158, 47-50

小林彰夫 (1994) 食品の嗜好と匂い。日本食品工業学会誌、41、165-171

Krukoff, T.L., Harris, K.H. and Jhamandas, J.H. (1993) Efferent projections from the parabrachial nucleus demonstrated with the anterograde tracer *Phaseolus vulgaris* Leucoagglutinin. *Brain Research Bulletin*, 30, 163-172

Logue, A.W. (1979) Taste aversion and the generality of the laws of learning. *Psychological Bulletin*, 36, 276-296

Logue, A.W., Logue, K.R. and Strauss, K.E. (1983) The acquisition of taste aversions in humans with eating and drinking disorders. *Behavioral Research and Therapy*, 21, 275-289

Logue, A.W., Ophir, I. and Strauss, K.E. (1981) The acquisition of taste aversions in humans. *Behavioral Research and Therapy*, 19, 319-333

Maren, S. and Fanselow, M.S. (1996) The amygdala and fear conditioning: Has the nut been cracked? *Neuron*, 16, 237-240

松沢哲郎 (1997) チンパンジーの知性と文化。現代のエスプリ、359 (行動の伝播と文化) 、75-84

McCartney, W. (1968) *Olfaction and Odours*. Springer-Verlag, New York.

McGlone, J.J., Ritter, S. and Kelley, K.W. (1980) The antiaggressive effect of lithium is abolished by area postrema lesion. *Physiology and Behavior*, 24, 1095-1100

McNew, J.J. and Thompson, R. (1966) Role of the limbic system in active and passive avoidance conditioning in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 61, 173-180

Mehiel, R. (1991) Hedonic-shift conditioning with calories. In *The Hedonics of Taste* (Bolles, R.C. Ed.) pp. 107-126

Menetrey, D., Gannon, A., Levine, J.D. and Basbaum, A.I. (1989) Expression of *c-fos* protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic, articular, and visceral stimulation. *Journal of Comparative Neurology*, 285, 177-195

Mennella, J.A. and Beauchamp, G.K. (1996) The early development of human flavor preferences. In WHY WE EAT WHAT WE EAT (Ed. Capaldi, E.D.). American psychological association, Washington DC, pp. 83-112

Midkiff, E.E. and Bernstein, I.L. (1985) Targets of learned food aversions in humans. *Physiology and Behavior*, 34, 839-841

Motulsky, H. (1997) Intuitive Biostatistics. Oxford University Press. (数学いらずの医科統計学：津崎晃一監訳：メディカル・サイエンス・インターナショナル)

Muir, J.L., Everitt, B.J. and Robbins, T.W. (1996) The cerebral cortex of the rat and visual attentional function: Dissociable effects of mediofrontal, cingulate, anterior dorsolateral, and parietal cortex lesions on a five-choice serial reaction time task. *Cerebral Cortex*, 6, 470-481

Nachman, M. and Ashe, J.H. (1973) Learned taste aversions in rats as a function of dosage, concentration, and route of administration of LiCl. *Physiology and Behavior*, 10, 73-78

Nachman, M. and Ashe, J.H. (1974) Effects of basolateral amygdala lesions on neophobia, learned taste aversions, and sodium appetite in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 87, 622-643

Nader, K., Bechara, A. and van der Kooy, D. (1996) Lesions of the lateral parabrachial nucleus block the aversive motivational effects of both morphine and morphine withdrawal but spare morphine's discriminative properties. *Behavioral Neuroscience* 110, 1496-1502.

中島義明 (1992) いま実験心理学は。誠信書房

中島義明 (1996) 食の人間行動学。食べる－食行動の心理学 (中島義明・今田純雄編) 朝倉書店、1-9

根ヶ山光一 (1996) 離乳期までの食行動。食べる－食行動の心理学 (中島義明・今田純雄編) 朝倉書店、66-78

Nijjima, A. and Yamamoto, T. (1994) The effects of lithium chloride on the activity of the afferent nerve fibers from the abdominal visceral organs in the rat. *Brain Research Bulletin*, 35, 141-145

Norgren, R. (1976) Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *Journal of Comparative Neurology*, 166, 17-30

Norgren, R. (1978) Projections from the nucleus of the solitary tract in the rat. *Neuroscience*, 3, 207-218

Norgren, R. (1984) Central mechanisms of taste. In *Handbook of Physiology: Sec. I The nervous system: Vol. 3. Sensory Processes*, chapter 24, 1087-1128, Bethesda, American Physiology Society

Ogawa, H. (1994) Gustatory cortex of primates: anatomy and physiology. *Neuroscience Research*, 20, 1-13

Ogawa, H. and Nomura, T. (1987) Response properties of thalamocortical relay neurons responsive to natural stimulation of the oral cavity in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 510, 532-534

小野武年 (1994) 生物学的意味の価値評価と認知。岩波講座認知科学 6 情動、岩波書店

小野田法彦 (1993) 嗅覚 [III] *ブレインサイエンス*, 4, 93-102

Parker, L.A. (1995) Rewarding drugs produce taste avoidance, but not taste aversion. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 19, 143-151

Pascoe, J.P. and Kapp, B.S. (1987) Responses of amygdaloid central nucleus neurons to stimulation of the insular cortex in awake rabbits. *Neuroscience*, 21, 471-485

Paxinos, G. and Watson, C. (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York

Pelchat, M.L., Grill, H.J., Rozin, P. and Jacobs, J. (1983) Quality of acquired responses to taste by *Rattus norvegicus* depends on type of associated discomfort. *Journal of Comparative Psychology*, 97, 140-153

Pelchat, M. and LaChaussee, J.L. (1994) Food cravings and taste aversions in the elderly. *Appetite*, 23, 193

Pelchat, M.L. and Rozin, P. (1982) The special role of nausea in the acquisition of food dislikes by humans. *Appetite*, 3, 341-351

Phillips, M.L., Young, A.W., Senior, C., Brammer, M., Andrew, C., Calder, A.J., Bullmore, E.T., Perrett, D.I., Rowland, D., Williams, S.C., Gray, J.A. and David, A.S. (1997) A specific neural substrate for perceiving facial expressions of disgust. *Nature*, 389(6650), 495-498

Pliner, P. and Chaiken, S. (1990) Eating, social motives, and self-presentation in women and men. *Journal of Experimental Social Psychology*, 26, 240-254

Pliner, P., Rozin, P., Cooper, M. and Woody, G. (1985) Role of specific postingestive effects and medicinal context in the acquisition of liking for tastes. *Appetite*, 6, 243-252

Posner, M.I. and Raichle, M.E. (1994) *Images of Mind*. Scientific American Library (脳を観る。養老孟司・加藤雅子・笠井清登 訳、日経サイエンス社 1997)

Prado-Alcala, R.A. (1995) Serial and parallel processing during memory consolidation. In *Plasticity in the central nervous system: Learning and memory*. (McGaugh, J.L., Bermudez-Rattoni, F. and Prado-Alcala, R.A. Eds) Lawrence Erlbaum Associates, New Jersey, pp.57-66

Reilly, S., Grigson, P.S. and Norgren, R. (1993) Parabrachial nucleus lesions and conditioned taste aversion: Evidence supporting an associative deficit. *Behavioral Neuroscience*, 107, 1005-1017

Riley, A.L. and Tuck, D.L. (1985) Conditioned food aversions: A bibliography. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 443, 272-292

Ritter, S., McGlone, J.J. and Kelley, K.W. (1980) Absence of lithium-induced taste aversion after area postrema lesion. *Brain Research*, 201, 501-506

Rolls, E.T. (1997) Taste and olfactory processing in the brain and its relation to the control of eating. *Critical Reviews in Neurobiology*, 11, 263-287

Rozin, P. (1982) "Taste-smell confusions" and the duality of the olfactory sense. *Perception and Psychophysics*, 31, 397-401

Rozin, P. and Kalat, J.W. (1971) Specific hungers and poison avoidance as adaptive specialization of learning. *Psychological Review*, 78, 459-486

相良泰行 (1997) 食品感性工学の提唱。生活とアメニティの科学 (東京大学農学部編)、朝倉書店、1-17

Sahgal, A. (1993) Passive avoidance procedures. In *Behavioural Neuroscience* (A. Sahgal Ed.), Oxford University Press, New York, 49-56

Sakai, N. and Yamamoto, T. (1997) Conditioned taste aversion and *c-fos* expression in the rat brainstem after administration of various USs. *Neuroreport*, 8, 2215-2220.

Sakai, N. and Yamamoto, T. (in press) Role of the medial and lateral parabrachial nucleus in acquisition and retention of conditioned taste aversion in rats. *Behavioural Brain Research*

Saper, C.B. (1982) Reciprocal parabrachial-cortex connections in the rat. *Brain Research*, 242, 33-40

Saper, C.B. (1995) Central autonomic system. In *The Rat Nervous System* Second Edition (Paxinos, G. Ed.) Academic Press, pp.107-135

Saper, C.B. and Loewy, A.D. (1980) Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Research*, 197, 291-317

Scalera, G., Spector, A.C. and Norgren, R. (1995) Excitotoxic lesions of the parabrachial nuclei prevent conditioned taste aversions and sodium appetite in rats. *Behavioral Neuroscience*, 109, 997-1008.

Schafe, G.E. and Bernstein, I.L., Taste aversion learning. In E. D. Capaldi (Ed.), *Why we eat what we eat*, American Psychological Association, Washington DC, 1996, pp. 31-51.

Sclafani, A. (1991) Conditioned food preferences. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 29, 256-260

Scott, T.R., Karadi, Z., Oomura, Y., Nishino, H., Plata-Salaman, C.R., Lenard, L., Giza, B.K. and Aou, S. (1993) Gustatory neural coding in the amygdala of the alert macaque monkey. *Journal of Neurophysiology*, 69, 1810-1820

Seligman, M.E.P. (1970) On the generality of the laws of learning, *Psychological Review*, 77, 406-418

Seligman, M.E.P. and Hager, J.L. (1972) *Biological Boundaries of Learning*. Appleton Century Crofts, New York, 480 pp.

Shapiro, R. E. and Miselis R. R. (1985) The central neural connections of the area postrema of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 234, 344-364

Shepherd, G.M. (1994) *Neurobiology*. Oxford University Press, New York

Shimura, T., Grigson, P.S. and Norgren, R. (1997) Brainstem lesions and gustatory function: I. The role of the nucleus of the solitary tract during a brief intake test in rats. *Behavioral Neuroscience*, 111, 155-168.

Simbayi, L.C., Boakes, R.A. and Burton, M.J. (1986) Effects of basolateral amygdala lesions on taste aversions produced by lactose and lithium chloride in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 100, 455-465

Slotnick, B.M., Westbrook, F. and Darling, F.M.C. (1997) What rat's nose tells the rat's mouth: Long delay aversion conditioning with aqueous odors and potentiation of taste by odors. *Animal Learning and Behavior*, 25, 357-369

Spector, A.C., Norgren, R. and Grill, J. (1992) Parabrachial gustatory lesions impair taste aversion learning in rats. *Behavioral Neuroscience*, 106, 147-161

Spector, A.C. (1995) Gustatory parabrachial lesions disrupt taste-guided quinine responsiveness in rats. *Behavioral Neuroscience*, 109, 79-90

Steiner, J.E. (1974) Innate, discriminative human facial expressions to taste and smell stimulation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 237, 229-233

Steiner, J.E. (1994) Behavior manifestations indicative of hedonics and intensity in chemosensory experience. In *Olfaction and Taste XI*, eds. Kurihara, K., Suzuki, N, Ogawa, H., Springer-Verlag, Tokyo, pp.284-287

鈴木 潔編 (1981) 動物実験手技 I - マウス・ラット - 講談社

鈴木正成 (1982) 食生活をデザインする。講談社ブルーバックス

Suzuki, H. and Azuma, M. (1976) A glass-insulated "elgiloy" microelectrode for recording unit activity in chronic monkey experiments. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 41, 93-95.

Swank, M.W., Schafe, G.E. and Bernstein, I.L. (1995) c-Fos induction in response to taste stimuli previously paired with amphetamine or LiCl during taste aversion learning. *Brain Research*, 673, 251-261

Tanabe, T., Yarita, H., Iino, M., Ooshima, Y. and Takagi, S.F. (1975) An olfactory projection area in orbitofrontal cortex of the monkey. *Journal of Neurophysiology*, 38, 1269-1283

Terreberry, R.R. and Neafsey, E.J. (1983) Rat medial frontal cortex: a visceral motor region with a direct projection to the solitary nucleus. *Brain Research*, 278, 245-249

Thorndike, E.L. (1965) *Animal Intelligence* (facsimile of 1911 edition), Hafner publishing company, New York

遠山正彌 (1987) 嗅覚。化学的神経機能解剖学 (遠山正彌・塩谷弥兵衛編)、厚生社、pp. 457-472

Turner, B.H. and Herkenham, M. (1991) Thalamoamygdaloid projections in the rat: A test of the amygdala's role in sensory processing. *Journal of Comparative Neurology*, 313, 295-325

van der Kooy, D., McGinty, J.F., Koda, L.Y., Gerfen, C.R. and Bloom, F.E. (1982) Visceral cortex: A direct connection from prefrontal cortex to the solitary nucleus in rat. *Neuroscience Letters*, 33, 123-127

Yamamoto, T. (1993) Neural mechanisms of taste aversion learning. *Neuroscience Research*, 16, 181-185

山本 隆 (1997) 脳と味覚。共立出版

Yamamoto, T., Fujimoto, Y., Shimura, T. and Sakai, N. (1995) Conditioned taste aversion in rats with excitotoxic brain lesions. *Neuroscience Research*, 22, 31-49

Yamamoto, T., Matsuo, R., Kiyomitsu, Y. and Kitamura, R. (1989) Taste responses of cortical neurons in freely ingesting rats. *Journal of Neurophysiology*, 61, 1244-1258

Yamamoto, T., Shimura, T., Sakai, N. and Ozaki, N. (1994a) Representation of hedonics and quality of taste stimuli in the parabrachial nucleus of the rat. *Physiology and Behavior*, 56, 1197-1202

Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Azuma, S., W.-Zh. Bai and Wakisaka, S. (1992) *C-fos* expression in the rat brain after intraperitoneal injection of lithium chloride. *Neuroreport*, 3, 1049-1052

Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Sakai, N., Tanimizu, T. and Wakisaka, S. (1993) *C-Fos* expression in the parabrachial nucleus after ingestion of sodium chloride in the rat. *Neuroreport*, 4, 1223-1226

Yamamoto, T., Shimura, T., Sako, N., Yasoshima, Y. and Sakai, N. (1994) Neural substrates for conditioned taste aversion in the rat. *Behavioural Brain Research*, 65, 123-137

Yamamoto, T., Yuyama, N., Kato, T. and Kawamura, Y. (1985) Gustatory responses of cortical neurons in rats. II. Information processing of taste quality. *Journal of Neurophysiology*, 53, 1356-1369

Yarita, H. Iino, M., Tanabe, T., Kogure, S. and Takagi, S.F. (1980) A transthalamic olfactory pathway to orbitofrontal cortex in the monkey. *Journal of Neurophysiology*, 43, 69-85

Yasoshima, Y., Shimura, T. and Yamamoto, T. (1995) Single unit responses of the amygdala after conditioned taste aversion in conscious rats. *Neuroreport*, 5, 2424-2428

Yasui, Y., Breder, C.D., Saper, C.B. and Cechetto, D.F. (1991) Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 303, 355-374

Zahorik, D.M. and Maier, S.F. (1969) Appetitive conditioning with recovery from the thiamine deficiency as the unconditional stimulus. *Psychonomic Science*, 17, 309-310

Zald, D.H. and Pardo, J.V. (1997) Emotion, olfaction, and the human amygdala: Amygdala activation during aversive olfactory stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 94, 4119-4124

Zellner, D.A. (1991) How foods get to be liked: Some general mechanisms and some special cases. In *Hedonics of Taste* (Bolles, R.C. Ed.), pp. 199-218

Zellner, D.A., Rozin, P., Aron, M. and Kulish, C. (1983) Conditioned enhancement of human's liking for flavor by pairing with sweetness. *Learning and Motivation*, 14, 338-350

謝辞

学部生として何も知らなかった私をこのような論文が書けるほどにまで御指導・御教示いただきました山本 隆教授に心より感謝申し上げます。わがままな私を7年間も嫌な顔をせずに親切に辛抱強く御援助下さいました。本当にありがとうございました。

また、志村 剛講師には研究計画から統計手法までいろいろと教えて頂きました。厚くお礼を申し上げます。

実験の計画から本論文の提出まで、公私に渡る数多くの御援助をいただきました碓 哲崇助手、生物学の考えから神経生理学についての基本的な考え方を教えて頂きました八十島 安伸助手には大変感謝しております。

朝日大学助教授投石保廣先生には、生理心理学、学習心理学の基本について教えて頂きました。記して感謝申し上げます。

神経解剖学的手法につきましては、島根医科大学教授安井幸彦先生、大阪大学歯学部第一口腔解剖学講座脇坂 聡助教授、同第二口腔解剖学講座吉田 篤助教授に御教示いただきました。本当にありがとうございました。

大阪大学歯学部口腔生理学講座助教授の松尾龍二先生には、X線照射などの実験に協力して頂きました。厚く御礼申し上げます。

最後になりましたが、大阪大学人間科学部行動生理学講座の在学生並びに卒業生の皆様、ご援助・御協力大変ありがとうございました。

平成九年十二月二五日

坂井信之