

学 位 論 文 題 名

トレッドミルによる強制運動が味覚嫌悪学習に与える影響

学位論文内容の要旨

【目 的】

近年、有酸素運動を行うことにより、脳血流量の増加や脳由来神経栄養因子 (Brain Derived Neurotrophic Factor, BDNF) の産生が増加することが、神経科学的手法を用いた研究により明らかにされている。食行動は新規味覚を学習し、記憶することにより調節を受ける。上述のような最近の知見から、運動を行うことにより味覚の記憶やそれに基づいた食行動が変化する可能性が考えられるが、これを明らかにした研究はない。そこで、本研究は、運動が味覚嫌悪学習 (Conditioned Taste Aversion, CTA) の獲得とその後の安全学習に対して与える影響を調べ、食行動制御に関わる味覚や内臓感覚の記憶と全身運動との連関を明らかにすることを目的として行った。

【材料と方法】

実験動物としてSD系雄性ラット (160～230g) を使用した。ラットを運動群、非運動群に分類し、運動群のみ、回転型のトレッドミルを用いて強制運動を行わせた。速度は5～10 m/分の低速回転で行わせ、1日1回30分とし、2週間の運動期間を設定して6日間/週のペースで実施した。運動条件は、運動の脳機能への効果が期待でき、ラットにストレスを与えにくいと考えられる強度とした。運動8日目より、20時間の絶水後に脱イオン水を20分間呈示して飲水トレーニングを7日間行い、20分間の飲水量が一定となることを確認し、味覚条件付けを行った。味覚条件付けの際には、20時間の絶水後に20分間、新奇味覚として0.1%サッカリン溶液 (条件刺激: conditioned stimulus, CS)

を与え、その後、塩化リチウム（2%体重量, 0.15M）を腹腔内に投与して内臓不快感を誘発させ、無条件刺激（unconditioned stimulus, US）とした。脱イオン水呈示時、サッカリン溶液呈示時ともに、1本の給水瓶で行う方法（1ボトル法）を用いた。味覚条件付け2日後よりCTA測定期間を7日間設定し、この期間中は20時間の絶水後に20分間サッカリン溶液を呈示し、各測定日のサッカリン摂取量を計測した。また、条件付け当日のサッカリン摂取量を基準として、サッカリン摂取率を算出した。サッカリン摂取率は、各測定日のサッカリン摂取量を条件付け当日のサッカリン摂取量で除した値とした。CTA測定終了翌日より、運動群ラットを用いて、その後の2週間に継続して運動を行わせた群と運動を行わせなかった群とを作成した。この間は脱イオン水を摂取させ、運動期間終了翌日に、20時間の絶水を行った後に0.1%サッカリン溶液を20分間呈示して摂取量を測定した。データは全て平均値±SEMで表示し、統計ソフトRにてStudent's *t* testを行い、有意水準はいずれも5%以下とした。

【結果と考察】

CTA獲得前後の運動群（ $n=11$ ）、非運動群（ $n=7$ ）のサッカリン摂取量の変化をみたところ、両群ともに、CTA条件付け日と比較してCTA測定1日目のサッカリン摂取量の有意な減少が観察され、サッカリンに対する味覚嫌悪学習の獲得が示された。両群間におけるサッカリン摂取量の変化率に有意差は認めなかった。次に、CTA獲得から安全学習獲得過程に至るサッカリン摂取率を、各測定日において両群間で比較したところ、両群間に有意差は認められなかった。以上の結果より、本研究で用いた運動負荷はCTAの獲得および安全学習獲得のいずれに対しても影響を及ぼさないことが示唆された。サッカリンに対する安全学習獲得後、ラットを2週間にわたり脱イオン水のみを飲水させて飼育し、2週間後に0.1%サッカリン溶液を呈示したときの各群の体重当たりサッカリン摂取量（g/100g体重）を測定し、CTA測定7日目のサッカリン摂取量と比較した。安全学習後に2週間強制運動を行わせた群（ $n=5$ ）では、CTA測定7日目のサッカリン摂取量と比較して、サッカリン摂取量は有意に少ない値を示したが、運動を行わせなかった群（ $n=6$ ）においてはサッカリン摂取量に有意差は認められなかった。これより、安全学習後に

継続して運動させることにより、嫌悪記憶の自発的回復が促進されることが明らかになった。

これまで運動によって脳機能の向上を認めた報告が数多くあるが、その運動条件は実験により異なり、効果的な運動条件についての統一見解は得られていない。また、激しい運動は実験動物に対してストレスになることが懸念されるため、自発運動を行わせて運動の効果をみる報告が多くみられるが、本研究においては、運動負荷を定量的に与えられること、強度と時間を調整できること、ヒトの運動に近いことなどの利点を考慮し、強制運動を選択した。また、先行研究において、ラットがストレス反応を示す速度は20 m/分付近であったとの報告がみられたが、本研究では5~13 m/分の運動負荷としたため、ストレスのかかりにくい条件下で運動が行われたと考えられた。

味覚嫌悪学習はただ一度の経験で強固に獲得され、消去抵抗性が強いことから、記憶や学習の神経機構について研究を行う実験モデルとして有用である。CTAを獲得すると、条件付けられた味刺激に対する扁桃体基底外側核ニューロンの反応性が上昇し、側坐核が活性化することによって摂食行動を抑制していると考えられている。また、CTA獲得後に条件刺激となる食物を摂取すると、不安や精神的ストレスと関連のある乳頭体上核におけるc-Fos発現が上昇することが確認されている。海馬はCTAの獲得には関与しないことが示唆されているが、文脈恐怖学習において海馬の関与が認められていることから、CTA獲得後の行動表出においても、海馬の関与が推測される。先行研究においては、海馬を除去したラットでは、CTA獲得後の安全学習の獲得に遅延が生じたとの報告も見られる。安全学習獲得後にしばらく間隔を空けてから条件刺激となる味刺激を呈示すると、自発的回復が生じることが知られているが、この現象には背側海馬や中脳水道周囲灰白質の関与が示唆されている。このようにCTAの各過程においては、異なったメカニズムが関与することが明らかにされているが、その詳細についてはまだ不明な部分が多い。本研究で示した運動が味覚嫌悪の自発的回復を促進する現象については、上述のCTAを制御する中枢神経系のいずれかの部位の関与が推測されたが、その詳細については今後の課題となった。

【結 論】

味覚条件付け前に2週間の強制運動を負荷しても、味覚嫌悪学習の獲得やその安全学習の獲得過程には影響を及ぼさないが、安全学習獲得後に2週間の強制運動を負荷することで、運動後に味覚嫌悪の自発的回復が促進される可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	船橋	誠
副査	特任准教授	野谷	健治
副査	教授	鈴木	邦明

学位論文題名

トレッドミルによる強制運動が味覚嫌悪学習に与える影響

審査は、審査委員全員出席の下に行われた。申請者から研究内容について口頭発表が行われ、審査委員から学位申請者に対して学位論文の内容とそれに関連した学科目について口頭試問が行われた。

1) 学位論文の概要

ある特定の食物の味が快の情動と結びついた場合はその食物の嗜好性が高くなり、逆に不快の情動と結びついた場合には嫌悪性が高くなることがよく知られている。また近年、神経科学の進歩によって、全身運動が脳機能に及ぼす影響が次々と明らかにされており、全身運動を行うことにより味覚の記憶やそれに基づいた食行動が変化する可能性が考えられるが、これを明らかにした研究はこれまでになかった。そこで学位申請者は、全身運動が味覚嫌悪学習 (CTA) の獲得およびその後の安全学習、自発的回復に対して影響を与えるのか否かを調べて、食行動制御に関わる味覚や内臓感覚の記憶と全身運動との連関を明らかにすることを目的としてラットを用いた動物実験を企画立案してこれを行った。実験動物に強制歩行運動を負荷するために回転式のトレッドミルを用いて、運動群と非運動群が設定された。各群の実験動物に対して、新奇味覚である 0.1% サッカリン溶液を用いた甘味摂取後に、内臓不快感を誘発する 0.15M 塩化リチウムを腹腔内に投与する方法を用いて、味覚嫌悪条件付けを行い、サッカリンの甘味に対する CTA 獲得と、CTA 獲得後に継続してサッカリン溶液を摂取させた場合に起こる CTA の消去学習またはサッカリンに対する安全学習と呼ばれる行動変化について計測が行われた。これらの行動変化を評価する指標として各過程におけるサッカリン摂取率が用いられた。上述の実験 (実験 1) により、運動群および非運動群ともに同程度の CTA を獲得し、その後の安全学習についても両群間において有意差を認めないこと、また、CTA を獲得した実験動物は両群ともに、7 日間の安全学習期間においてサッカリン摂取量が漸次増加するものの、条件付けを行わなかったコントロール群が示すサッカリン溶液に対する嗜

好性増強のレベルまでには至らないことが示された。申請者はこの結果を踏まえて、次に、安全学習獲得後、間隔を空けて条件刺激（サッカリンの甘味）を経験した場合に生じる嫌悪記憶の再想起（CTA の自発的回復）に対する運動の影響を検討した。実験 1 で用いたものと同じ動物を実験 2 に供し、実験 1 の運動群と非運動群について、各々その後の 2 週間に運動を行わせた群と運動を行わなかった群の合計 4 群（運動-運動群、運動-非運動群、非運動-運動群、非運動-非運動群）を作成した。実験 2 では運動期間中、脱イオン水を摂取させて、2 週間の運動が終了した翌日に 1 回だけサッカリン溶液を呈示して摂取量を測定した。その結果、実験 2 において運動を行わせた群においてのみ、実験 2 におけるサッカリン摂取量が、実験 1 における安全学習後のサッカリン摂取量と比べて有意に少ない値となり、嫌悪記憶の自発的回復がより強く生じることが示された。以上より、1) 強制運動を行わせることにより、CTA の獲得と安全学習の獲得過程は変化しないこと、2) 強制運動は一旦獲得された嫌悪記憶の自発的回復には促進的に作用することが明らかにされた。

2) 質疑内容

- ① 運動を行うことによって増加する脳由来神経栄養因子の作用について
- ② 塩化リチウムによる嘔気誘発の機序、CTA 条件付けの成否について
- ③ CTA 条件付けに際して、注射自体が無条件刺激となる可能性について
- ④ 無条件刺激の定義について
- ⑤ 2 週間の運動期間が運動の効果を見る上で適切かどうかについて
- ⑥ 自発的回復が生じる機序と、そこに運動が及ぼす影響について
- ⑦ 本実験から運動は記憶の想起に関与すると考えるか否かについて

これらの質問に対して、学位申請者から適切かつ明確な回答および説明が得られ、申請者が本研究の一連の実験および分析を主体的に遂行し、得られた結果について科学的考察を行い、それらを論理的に表現し他者に伝達する能力を有することが確認された。

本論文は、強制運動が内臓不快感と連合した場合に生じる味覚嫌悪学習とその記憶に対してどのような影響があるのかを明らかにするための独創的な実験を計画し、世界に先駆けて研究に着手したものである。研究成果には新規性があり、情動行動を制御する記憶と運動との連関についての考察を可能にし、また、今後の歯科医学研究の発展に大いに資するものであることについて、審査委員全員の賛同が得られた。以上より、申請者の学位論文について、北海道大学博士（歯学）の学位授与に値するものと認めた。