

## 論文の内容の要旨

氏名：小林 理 美

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Multiple neuromodulatory systems activated by acquiring conditioned taste aversion in alert rats revealed by positron emission tomography

（条件付き味覚嫌悪を獲得した覚醒ラットにおける活性化脳領域の PET による検索）

条件付き味覚嫌悪（CTA）とは、腹痛、嘔気、嘔吐など不快な摂取体験によって惹き起こされる特定の味を避ける動物の行動であり、生存のための生物学的防御機構として重要なものの一つである。CTA は、獲得、維持、消去から成る過程から構成される。CTA の情報処理には様々な脳領域が関与しており、グルタミン酸と GABA に加えて、中枢神経系の神経修飾物質であるアセチルコリンやノルアドレナリン、セロトニン、ドパミンの関与が報告されている。例えば島皮質（IC）では、アセチルコリン、扁桃体ではノルアドレナリン、側坐核（NAc）と IC におけるドパミンなど、神経修飾物質の放出量の変化が一連の CTA の過程に寄与している。先行研究では、CTA と神経修飾物質との関係について豊富な知見が報告されている一方、脳全体の活動の包括的な理解に焦点を当てた研究はほとんどない。陽電子放射断層撮影法（PET）は神経活動の全体像を把握できる非侵襲的な脳機能イメージング技術の一つであり、同じ動物を何度も撮像することが可能である。<sup>18</sup>F-フルオロデオキシグルコース（FDG）は PET の活動マッピング用放射性標識物質の一種であり、興奮したニューロンに活動依存的に取り込まれると、少なくとも 1 時間は細胞内にとどまる。したがって、FDG を静脈内に投与してから数十分から 1 時間程度の神経活動を全脳的に検索することができる。すなわち、FDG-PET を用いて記録を行うことで、頭部固定を行うことなく、自由行動下で摂食行動中に活性化した脳部位を検出することが可能となる。本研究では、FDG-PET の利点を生かし、覚醒ラットの全脳画像をスキャンすることで、CTA に応答して活性化される脳領域を可視化し、神経修飾物質を産生する神経核について検索することを目的とした。

実験には、体重 200-250 g の Wistar 系雄ラット（n = 36）を用いた。イソフルラン麻酔下にてラットに片側性に口腔内カニューレを設置した。PET 撮像に先立ち、ラットは 1.5% イソフルランと亜酸化窒素/酸素（7:3）の混合麻酔下で尾静脈に留置針を設置した。1 時間以上回復させた後、ラットは自由に運動できる状態で FDG（70-75 MBq/0.4 ml）の静脈内投与を受けた。同時に、口腔内カニューレからは 5 mM のサッカリン溶液（IOAS; 0.5 ml/分）を 5 分間、10 分間隔で 3 回にわたり投与した。PET は、投与開始から 45 分後、ラットを 1.5% イソフルランと亜酸化窒素/酸素（7:3）で再度麻酔し、FDG 注入 55 分後に 30 分間の撮像を行った。取得した画像データは、実験条件に応じて、サブトラクション法を用いて解析した。

本研究では、ラットに対して、カニューレを介した IOAS を条件刺激（CS）、腹痛を誘発する LiCl の腹腔内注射を無条件刺激（US）とした。Day1 に IOAS、Day2 に IOAS + 生理食塩水の腹腔内注射、Day3 に IOAS を適用した群を SHAM 群とした（n = 16）。Day1 に IOAS、Day2 に IOAS + 0.14 M LiCl の腹腔内注射、Day3 に IOAS を適用した群を CTA 群とした（n = 11）。SHAM 群および CTA 群では Day1 と Day3 の IOAS 適用後に撮像を行った。また、LiCl 群（n = 11）および NaCl 群（n = 7）では、それぞれ Day1 の LiCl および生理食塩水の腹腔内注射直後に撮像した。また、IOAS のみを Day1、Day2 および Day3 まで適用した群を IOAS 群として撮像した。

まず、CTA 群の Day3 画像から SHAM 群の Day3 画像を差し引いた差分画像から、CTA が確立したラットとされなかったラットの IOAS に対する応答の差を求めた。孤束核（Sol）、視床下部内側核と不確体、マイネルト基底核（NBM）、黒質、視床後部核群、海馬傍回（PaS）は、CTA 群で SHAM 群よりも有意に FDG 取り込み量が多く、より強く活性化されたと考えられた。後脳では、腹側被蓋野、脚側被蓋野、背内側被蓋野を含む被蓋野、背側縫線核（DR）、腕傍核（PB）、および青斑核（LC）で FDG の取り込み量が多かった。これらの脳領域には、ノルアドレナリンやドパミンを含むカテコラミンやセロトニンなどのモノアミンを放出するニューロンが豊富に存在すると考えられている。また、興味深いことに、CTA 群では侵害刺激が加えられていないにも関わらず、侵害情報を想起すると考え

られる Sol, PB, IC を含む領域が活性化した。この結果から, Day2 に行った LiCl 腹腔内注射によって惹起された疼痛を含む情動が, Day3 において IOAS によって現れたと考えられる。

次に, CTA 群の Day3 画像から Day1 画像を差し引くことで CTA 関連領域について検討した。その結果, 大脳辺縁系の中でも海馬, PaS, 前海馬支脚, 後海馬台で有意に大きな FDG の取り込み増加を示した。大脳皮質では, 内嗅皮質 (Ent) も活性化された。後脳では, DR と PB が活性化された。なお, Ent は海馬と相互に投射があり, 海馬と同様に記憶に関与している。すなわち, これらの差分画像は, サッカリン摂取によって, 内臓痛覚の記憶を想起させ, 実際に LiCl による侵害刺激がなくても, 脳内の疼痛関連領域を活性化させたことを示唆している。

CTA 群—SHAM 群の Day3 の差分画像で検出された領域は, CTA 群が Day2 において IOAS と共に LiCl を腹腔内に注射されたことによって経験した侵害刺激, 吐き気, 倦怠感などの LiCl 誘発反応に関連している可能性がある。そこで, LiCl によって惹き起こされる内臓痛に関連する部位を同定するため, LiCl または生理食塩水を腹腔内注射した直後に撮像を行い, LiCl 腹腔内注射後から生理食塩水腹腔内注射後の差分画像を作成した。NaCl 群に比べて LiCl 群の FDG の取り込みが増加したのは, 一次体性感覚野 (SI) と二次体性感覚野 (SII) の腹側部であった。加えて IC も, NaCl 群に比べ, LiCl 群で FDG の取り込みが増加した。大脳皮質に加え, PB も NaCl 群に比べ LiCl 群で FDG の取り込みが増加した。これらの結果から, 確かに LiCl によって疼痛関連領域が活性化することが明らかになった。

最後に, サッカリン摂取への馴化に関連した領域の同定のため, IOAS 群の Day3 画像から Day1 画像を差し引いた。その結果, Day3 に FDG の取り込み増加を示した領域は SI, 淡蒼球, PaS, 下丘であった。したがって, サッカリン摂取時の感覚や記憶に関与していると考えられた。

以上の結果より, IOAS に対して CTA を示すラットでは, 神経修飾物質を産生する脳領域の神経活動が亢進していることが示された。また, CTA を示すラットでは, 侵害刺激を受けていないにもかかわらず, 疼痛関連領域が活性化したことから, CTA を想起する際には, 神経修飾物質を産生する脳領域が協調的に活性化されることが示唆された。