

総説特集 味覚に関する ISOT サテライトシンポジウム

離乳期のフレーバー学習について

—うま味溶液を用いたラットでの研究—

山本 隆

(畿央大学 健康科学部 健康栄養学科)

食物摂取時に生じる快感、不快感はその食物の香り（フレーバー）に対する嗜好性を左右する。離乳期のラットは、単独の MSG や IMP と連合したフレーバーには嗜好学習を獲得しないが、MSG と IMP の混合液を用いることにより、連合されたフレーバーに対して嗜好性を獲得し、長く保持することが示された。この作用は、内臓性ではなく味覚性の快感によると思われる。生後早い時期に食べ物に含まれる MSG と IMP の相乗的味覚効果を経験することは、その食べ物の香りを手がかりとして、成長後の食嗜好形成に好ましい影響を及ぼすものと思われる。

キーワード：MSG、IMP、味覚、鼓索神経応答、食嗜好

はじめに

食行動にかかわる基本的な学習には、嗜好学習と嫌悪学習がある。ある食物を摂取したときに生じる快感、不快感とその食物のもつ属性とを多くの場合無意識に結びつけて学習し、その食物の特徴を記憶に留めることにより、食物を好ましいものと避けるべきものにラベル付けし、以後の食物選択に反映させる学習である。要するに、快感を呈したものは好きになり、摂取が促進されるのに対し、不快感を呈したものは嫌いになり、避けるのである。これらの学習は特定の食物を認知するための学習ではあるが、快・不快という情動発現が基本となる本能的な学習であることから、情動学習に分類される。この学習により、野生の動物は生存に適したものを摂取し、毒物等の体に害になるものの摂取を避けるという食物選択行動が生じるものと考えられる。

食物選択行動に際しての食物の属性としては、味と匂いが主役で、テクスチャーなどの体性感覚も食

物に特徴的であれば準主役になりうるが、温度など変わりうるものは脇役である。味覚と嗅覚が食物選択学習に重要であることから、嗜好学習には味覚嗜好学習と嗅覚嗜好学習が、嫌悪学習には味覚嫌悪学習と嗅覚嫌悪学習があり、それぞれこれまでに数多くの研究がなされてきた¹⁾。

匂いの嗜好性

味には生得的に好まれるもの（甘味、体液中の塩分濃度に近い塩味、適度な濃度のうま味）と嫌われるもの（酸味、苦味）がある。匂いにもそのような生得的な嗜好性があるかどうかは議論のあるところで、Steiner²⁾は新生児の顔の表情から生得的な嗜好性の存在に言及しているが、鼻粘膜を刺激する刺激臭（嗅神経ではなく三叉神経を介する）を防御反射的に嫌ったり、天敵の匂いを本能的に忌避するような場合は別として、匂いの生得的な嗜好性に関しては明確ではないように思える。むしろ、母親の摂取

Flavor learning by ingestion of umami substances in weanling rats

Takashi Yamamoto : Department of Nutrition, Faculty of Health Sciences, Kio University, 4-2-2 Umami-naka, Koryo, Kitakatsuragi, Nara 635-0832, Japan ; ta.yamamoto@kio.ac.jp ; Tel: 0745-54-1601 ; Fax: 0745-54-1600

山本 隆

する香りの影響が胎盤、羊水を介して胎児に影響し、出生後には母乳を介して作用し、新生児はそのような香りを嗜好するようになるという報告³⁾や、きわめて嫌悪性の発酵食品の香りに対して幼少期から経験した地元民は病みつきになるほど好きになるのだが、経験のない人はあまりに強烈ないやな香りのためどうしても好きになれないといった食文化ともかわる事例も報告されている⁴⁾。すなわち、生後間もなくは匂いに対する嗜好性は中立的であるが、母親からの影響や、ある時期までの食経験の有無で以後の嗜好性が決定されるものと考えられる。

匂い嗜好性の生得性が弱いということは、学習によりその嗜好性が決められやすいことを示唆している。特に幼若期の学習が重要で、成長後の匂い嗜好性に影響を及ぼす可能性がある。それが食べ物の匂いであれば、成長後の食行動にも影響を及ぼす可能性がある。

フレーバー嗜好学習

我々は、幼若期の食経験が成長後の食行動にいかに関与を及ぼすかに関心を持ち、条件づけフレーバー嗜好（フレーバー嗜好学習、conditioned flavor preference, CFP）を用いた研究を進めている。この学習は、快感を呈する味刺激や内臓からの情報（無条件刺激、unconditioned stimulus, US）と連合した香り（フレーバー）（条件刺激、conditioned stimulus, CS）を好ましく思うようになる学習ととらえることができる。そのための動物モデル実験として離乳直後（3週齢）の幼若ラットを用いている。快感を生じるショ糖溶液と連合した香りに対してフレーバー嗜好学習を獲得し、その学習が成長後も保持することをすでに報告している⁵⁾。離乳期ラットを用いてのこのような研究は十分になされているとはいえ、また、数多くの研究がなされている成熟ラットでの結果と異なる特徴的な性質を持つ可能性もある。

なお、フレーバー（flavor）という言葉は、味覚と嗅覚の複合感覚としての「風味」と定義されるのが一般的であるが、本文研究では、嗅覚学習として欧米の研究者が共通に用いている flavor learning に合わせる意味で、フレーバーを香りや匂いとして用いている。

うま味によるフレーバー嗜好学習

うま味に富む食物（食品）は世界中で古くからそのおいしさのために嗜好されてきた。ただし、問題点として、うま味食品はその土地独特の食材や、発酵技術など食文化と関連することもあり、おいしさとは別に特有の匂いを有するという特徴があり、食べ慣れていない人や食文化の異なる人からは敬遠される要素も持っている。和食がユネスコの国際無形文化遺産に登録され、世界的にうま味（umami）が浸透しつつあるが、我々日本人にとってなじみのおいしい味噌汁が初めて経験する外国人の中にはその香りになじみがなく好まないという話もよく耳にする。納豆、漬物、くさや、なれずし、などの発酵食品もその独特の香りのため未経験者には嫌われがちである。外国人に限らず、食経験のないまま育った最近の若い日本人の中にも、昆布、かつお節からのだし（出汁）や発酵食品をその香りのために敬遠する人がいるのも事実である。この克服のためには、幼児期に食経験を重ね、その特有の匂いに慣れさせ、願わくは嗜好性を抱かせることが必要である。この点を科学的に検証するため、離乳直後（3週齢）のラットをモデルとして用いて、うま味によるフレーバー嗜好学習が獲得されるか否かを調べた。

実験法の概略

1. 実験には、Wistar 系雄性ラット（3週齢）を用い、エサと水は自由に与えた。実験は、フレーバー学習を獲得させる学習期、学習成果の有無を確認するためのテスト期から成る。また、香りと連合する味溶液の嗜好性を調べるための2ビン法による選択実験も行った。
2. 測定期間中は、前日の18時から翌日の10時までの16時間ラットを絶水条件下におき、1日15分間、飼料を取り除いた状態で6日間連続の学習獲得操作、その後4日間のテスト、2日間の嗜好性の選択実験を行った。
3. 学習期には、グレープとチェリーの2種類の香りを条件刺激（CS）として用い、うま味溶液に添加したいずれかの香りをCS+、水に添加したもう一方の香りをCS-とした。従って、CS+の香りを持つうま味（umami）溶液はCS+U、CS-の香りをつけた水はCS-Wと表すことができる。ラットをAとBの2群に分け、奇数日のA群には、種々の

離乳期のフレーバー学習について—うま味溶液を用いたラットでの研究—

うま味溶液にグレープの香りづけをした溶液、すなわちCS+Uを与え、B群のラットには水(蒸留水)にグレープの香りづけをした溶液CS-Wを与えた。偶数日には、香りをチェリーに変え、B群のラットにはうま味溶液にチェリーの香りづけをした溶液CS+Uを与え、A群のラットには水(蒸留水)にチェリーの香りづけをした溶液CS-Wを与えた。このように、ラットには交互にCS+UとCS-Wを提示し、6日間与えた。すなわちフレーバー嗜好学習がうまく獲得できれば、A群はグレープの香りに嗜好性を示し、B群はチェリーの香りに嗜好性を示すようになることが期待される。

うま味溶液としては、0.05M、0.1M、0.3MのMSG、0.01Mイノシン酸ナトリウム(IMP)、0.05M MSGと0.01M IMPの混合溶液を用いた。

4. テスト期では、CS+に対するフレーバー嗜好学習獲得の有無を調べた。16時間の絶水後、うま味溶液と連合した香りの水(CS+W)と水と連合した香りの水(CS-W)を同時に2本与えて選択させる2ピン法を用い、1日15分間、4日間の摂取量を測定した。位置に対する嗜好性が出ないように、1日毎に左右のピンの位置を入れ換えた。
5. うま味溶液そのものの嗜好性を調べるために、16時間の絶水後、うま味溶液と水を15分間同時に提示し、2ピン選択法による嗜好性のテストを2日間行った。
6. 混合溶液の胃内投与による条件づけ、鼓索神経からの記録実験も行った。
7. 本研究は畿央大学動物委員会の動物実験計画の審

査を受け、承認を得た後に実施した。

結果

1. 2ピン法によるうま味溶液の嗜好性

3週齢ラットに0.05Mと0.1MのMSG、0.01M IMP、0.05M MSGと0.01M IMPの混合溶液のいずれかと水を同時に15分間提示し、嗜好性を調べた結果、すべてのうま味溶液は水に比べて有意に好まれることがわかった。しかし、0.3M MSGの摂取量は水摂取量より有意に少なく、嫌悪性であることがわかった。

2. うま味溶液によるフレーバー嗜好学習の獲得

0.05M MSG、0.1M MSG、0.01M IMPのそれぞれと連合したCS+の香りと水と連合したCS-の香りで平均摂取量に有意な差は認められなかった。すなわち、フレーバー嗜好学習は獲得できなかったが、0.05M MSGと0.01M IMPの混合溶液を用いた場合、CS+Wに対する摂取量は、CS-Wに対する摂取量より有意に($P < 0.05$)多くなったことから、混合溶液と連合した香りに対しては嗜好学習が獲得されることが示された(図1-A)。

3. 20週齢まで成長させた後のフレーバー学習の保持

前述の0.05M MSGと0.01M IMPの混合溶液でフレーバー嗜好学習を獲得したラットをyoung adultと考えられる20週齢まで成長させた後のテスト期の結果を図1-Bに示す。この間、ラットは個別の

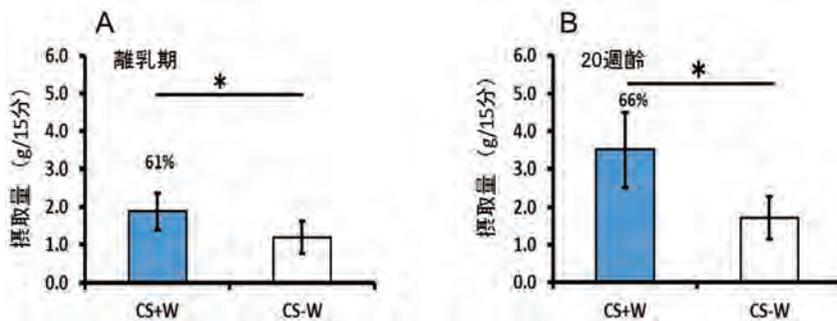


図1 MSG + IMPを摂取したときのフレーバー学習効果。離乳期のテスト(A)では、うま味溶液と連合した香りの水(CS+W)を水と連合した香りの水(CS-W)より有意に多く摂取し(嗜好率:61%)、20週齢まで成長させたときのテストでもその嗜好性を保持していた(嗜好率:66%)。* $P < 0.05$

山本 隆

ケージで水と固型食を与えるのみで、フレーバーの提示などは行っていない。3週齢の結果と同様に、嗜好学習を保持していることが示された ($P < 0.05$)。成熟期まで学習効果は持続したことを意味している。

4. 胃内投与法によるフレーバー嗜好学習

幼弱ラットがうま味の混合液を摂取したとき、口腔での味覚的なおいしさによりフレーバー嗜好学習が獲得されたのか、摂取後の消化管での作用の結果獲得されたのかを検討するため、胃内投与実験を行った。まず、前記と同様に15分間香りづけをした水を提示した後ただちに、コントロール群には0.5 mlの蒸留水を胃内に注入した。注入前に摂取した香りつきの水はCS-Wということになる。実験群には0.5 mlのうま味混合液を注入したが、その濃度は注入前に与えた香りつきの水 (CS+W) の摂取量をもとに算出し、希釈されて0.05M MSG+0.01M IMPになる濃度とした。このように味覚刺激なしで直接消化管にうま味混合溶液を投与した場合、図2に示すように、両フレーバー (CS+WとCS-W) の間で有意な差が認められず、フレーバー嗜好学習は獲得できなかった。

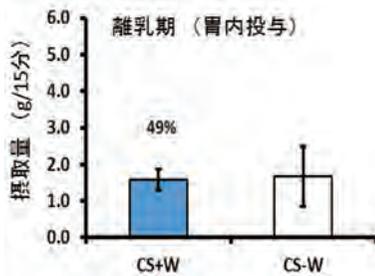


図2 MSG + IMPを胃内投与したときのフレーバー学習効果。うま味溶液と連合した香りと水と連合した香り嗜好性には差が認められなかった (嗜好率: 49%)。

5. 鼓索神経応答の記録

離乳期ラットの鼓索神経 (舌前部部の味蕾を支配する味覚神経) からの味応答の分析から、MSGとIMPの混合溶液は相乗的に応答が増大することを確認した。MSG濃度を上げて混合溶液の応答ほど大きくはならないこと、刺激後の舌の洗浄で混合溶液の応答は速やかに基線に戻るのに対し、MSG

応答は戻るのに時間がかかることから、相乗的な応答とMSG応答は質的に異なることが示唆された (図3)。

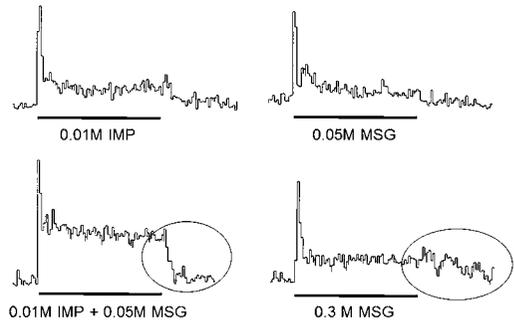


図3 離乳期ラットの鼓索神経応答。低濃度のMSG + IMPに対する応答は、高濃度のMSGに対する応答より大きいにもかかわらず、ベースラインへの戻りは速やかである。各溶液の刺激時間は30秒である。

強い味覚性快感を生じるMSG + IMPの相乗効果

離乳期の幼若ラットはいずれのうま味物質溶液に対しても味の嗜好性を示すが、フレーバー嗜好学習はうま味の混合溶液 (MSG + IMP) と連合した香りについてのみ獲得することが示された。胃内に種々の化学物質を投与し、下位脳幹部でのFOS発現を調べた研究⁶⁾では、うま味の相乗効果は消化管受容体では生じないことが示されていて、本研究においてもカニューレを用いて胃に直接うま味混合溶液を注入する方法ではフレーバー嗜好学習獲得されなかった。これらの結果は、幼若期におけるうま味による学習獲得には、摂取後の効果よりも口腔内の刺激 (うま味の相乗効果) が重要であることを示唆するものである。口腔からの味覚情報により、脳内報酬系が活性化されたものと思われる。

2%という低濃度ショ糖溶液やノンカロリーの0.1%サッカリン溶液は摂取後効果より味覚効果によって好まれると考えられるが、これらの溶液を用いて離乳期のラットが獲得したフレーバー嗜好学習は、20週齢までは保持できなかった^{5,7)}。それに対して、本実験で示したようにMSGとIMPの混合溶液を用いての学習効果は20週齢においても持続し

離乳期のフレーバー学習について—うま味溶液を用いたラットでの研究—

ていたという事実は、相乗効果によるうま味の快感は、そのとき連合された香りを成長後も嗜好させるほど強いものであることを示唆している。

MSG + IMP に対する神経応答の特性

ラットでは、MSG と IMP の混合溶液は、単独の MSG や IMP の高濃度溶液より大きな鼓索神経応答を示すにもかかわらず、刺激後の舌の洗浄で速やかに自発活動レベルに戻る。また、すでに報告したように、げっ歯類の甘味物質応答を抑制するグルマリンの作用で、MSG + IMP の鼓索神経応答は大きく減弱する⁸⁾。古く Sato ら⁹⁾は、ラットのうま味相乗効果は糖に応じる神経線維に特異的に認められると報告している。これらの知見により、ラットでは MSG 単独「うま味」発現とは異なり、MSG + IMP は「甘味」発現に結びつき、そのため強い嗜好性を発現したのと考えられる。事実、MSG + IMP に味覚嫌悪条件づけをするとシヨ糖溶液に汎化し、シヨ糖溶液に条件づけをすると MSG + IMP に汎化する⁸⁾。MSG + IMP は単に MSG の応答を増強したものではなく、質的に変化しているものと考えられる。事実、より大きな応答を生じさせるために高濃度 (0.3M) の MSG を用いて、フレーバー嗜好学習の獲得の有無を調べたところ、味覚自身が嫌悪性であることもあり、フレーバー嗜好学習ではなくフレーバー嫌悪学習を獲得した。

離乳期ラットと成熟ラットの相違

MSG を用いたフレーバー嗜好学習はすでにいく

つかの報告¹⁰⁻¹⁴⁾があるが、すべて成長したラットやマウスを用いたものである。離乳期ラットを用いた本研究結果とは異なり、うま味 (味覚) との連合ではなく、迷走神経を介する消化管からの情報との連合により、フレーバー嗜好学習が獲得されるとしている。ただし、かつおだしを用いた実験では、フレーバー嗜好学習そのものが獲得できないという報告¹⁵⁾もあり、濃度にもよるのだろうが、かつおだしのみではフレーバー嗜好学習を生じるほど強い作用はないと考えられる。一番だしのような合わせだしを使ってみればもっと異なった結果が得られたかもしれない。

畝山¹⁶⁾の総説によると、MSG は、口腔内では、うま味を生じ、おいしさを高め、唾液分泌を促し、咀嚼や嚥下の円滑化に寄与する一方、胃腸内では、飽満感、満腹感、満足感などの内臓感覚で食欲や食嗜好に影響を与え、迷走神経を介した情報により消化管機能を高め、消化吸収の円滑化と胃腸粘膜保護に寄与するとしている。本研究で用いた離乳期ラットにおいても同様のことが基本的には起こっているが、MSG 単独では口腔、胃腸からの情報による嗜好性は低く、MSG + IMP を用いることにより口腔感覚情報による嗜好性がフレーバー嗜好学習を獲得させるに十分な強さとなるが、内臓感覚の嗜好性は低いままであると言えよう。離乳期ラットの嗜好性は内臓感覚より味覚に大きく依存しているものと思われる (図4 参照)。我々のこれまでの研究から、離乳期ラットは、成長したラットが好む高濃度 (30%) のシヨ糖⁵⁾や果糖 (未発表) を嫌って、むしろ嫌悪学習

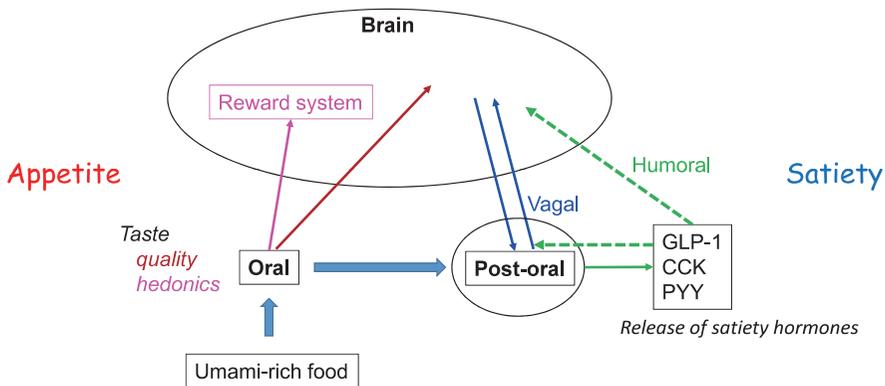


図4 食物中のうま味物質に対して口腔と胃腸から脳に送られる情報のまとめ。幼若ラットでは、味覚情報が脳内報酬系を活性化して快情動を発現するものと考えられる。

山本 隆

を獲得すること、また高濃度のブドウ糖 (30%)¹⁷⁾やサラダ油 (10%, 50%) (未発表) には嗜好性を示さず、フレーバー嗜好学習も獲得しないことが示された。幼若期には穏やかな濃度の味溶液に嗜好性を示すものと思われる。

結 論

以上のことから、生後の早い時期に食べ物に含まれる MSG + IMP の相乗的味覚効果を経験することは、その食べ物の香りを記憶に留め、成長後の食嗜好に重要な影響を及ぼすことが示唆された。嗅覚記憶と情動の結びつきを支える脳内の神経回路に関しては近年研究が進んでいる¹⁸⁾。脳のいかなる部位でフレーバー学習が生じ、どこに記憶が保持されているかは、我々も関心を持ち研究を進めているところであり、今後の研究進展と共に報告していく予定である。

本研究結果がヒトにも適応できるとすれば、奇異な、時には嫌悪性の香りを有する食べ物であっても、幼児期にうま味の相乗効果を活用したおいしい味と連合されれば、その香りの嗜好性が高まり、しかもそれが長く記憶されることにより、食嗜好性が高まり、豊かな食生活に結びつくものと思われる。

文 献

- 1) Yamamoto T and Ueji K: Brain mechanisms of flavor learning. *Front. Syst. Neurosci.* 5, 76 (2011)
- 2) Steiner JE: Biological responses to taste and odor stimuli. In *Oral-Facial Sensory and Motor Functions* (Kawamura Y and Dubner, R eds), Quintessence Publishing Co, Tokyo, pp. 331-345 (1981)
- 3) Mennella JA, Jagnow CP and Beauchamp GK: Prenatal and postnatal flavor learning by human infants. *Pediatrics* 107, E88 (2001)
- 4) Yamin-Pasternak S, Kliskey A, Alessa L, Pasternak I and Schweitzer P: The rotten renaissance in the Bering Strait loving, loathing, and washing the smell of foods with a (re)acquired taste. *Curr Anthropol* 55, 619-646 (2014)
- 5) Ueji K and Yamamoto T: Flavor learning in weanling rats and its retention. *Physiol Behav* 106, 417-422 (2012)
- 6) Yamamoto T and Sawa K: *c-Fos* immunoreactivity

in the brainstem following gastric loads of various chemical solutions in rats. *Brain Res* 866, 135-143 (2000)

- 7) Ueji K, Minematsu Y, Takeshita D and Yamamoto T: Saccharin taste conditions flavor preference in weanling rats. *Chem. Senses* 41, 135-141 (2016)
- 8) Yamamoto T, Matsuo R, Fujimoto Y, Fukunaga I, Miyasaka A and Imoto T: Electrophysiological and behavioral studies on the taste of umami substances in the rat. *Physiol Behav* 49, 919-925 (1991)
- 9) Sato M, Yamashita S and Ogawa H: Potentiation of gustatory response to monosodium glutamate in rat chorda tympani fibers by addition of 5' - ribnucleotides *Jpn J Physiol* 20, 444-464 (1970)
- 10) Uematsu A, Tsurugizawa T, Kondoh T and Torii K: Conditioned flavor preference learning by intragastric administration of L-glutamate in rats. *Neurosci Lett* 451, 190-193 (2009)
- 11) Uematsu A, Tsurugizawa T, Uneyama H and Torii K: Brain-gut communication via vagus nerve modulates conditioned flavor preference. *Eur J Neurosci* 31, 1136-1143 (2010)
- 12) Ackroff K and Sclafani A: Flavor preferences conditioned by post-oral infusion of monosodium glutamate in rats. *Physiol Behav* 104, 488-494 (2011)
- 13) Ackroff K and Sclafani A: Flavor preferences conditioned by oral monosodium glutamate in mice. *Chem Senses* 38, 745-758 (2013)
- 14) Ackroff K and Sclafani A: Flavor preferences conditioned by intragastric monosodium glutamate in mice. *Chem Senses* 38, 759-767 (2013)
- 15) Ackroff K, Kondoh T and Sclafani A: Dried bonito dashi: a preferred fish broth without postoral reward actions in mice. *Chem Senses* 39, 159-166 (2014)
- 16) 畝山寿之: うま味物質の健康価値 グルタミン酸ナトリウムの生理機能. *化学と生物* 53, 432-440 (2015)
- 17) 上地加容子, 山本 隆: 幼若ラットにおけるフレーバー学習の特質とその要因に関する研究. *日本味と匂誌* 19, 389-392 (2012)
- 18) 山口正洋: 匂いの学習記憶 覚醒睡眠サイクルと情動の役割. *生体の科学* 67, 61-65 (2016)

謝 辞

実験によるデータ採得とその処理をしていただいた上地加谷子畿央大学教授、卒研生に感謝いたします。一連の研究は、科研費（23500986, 25350165, 15K00900）と畿央大学研究所プロジェクト研究費の支援により行われた。

<著者紹介>

山本 隆

1968年 大阪大学歯学部卒業
1972年 大阪大学大学院博士課程修了
1972年 同大学歯学部助手、その後、講師、助教授を経て
1974年 モネル化学感覚研究所研究員
1991年 大阪大学人間科学部教授
2007年 定年退職、大阪大学名誉教授
2008年 畿央大学健康科学部健康栄養学科教授
2012年 畿央大学研究所所長
現在に至る

