

論文の内容の要旨

農学国際専攻
平成 16 年度年度博士課程進学
宮成 愛
指導教員：相良 泰行 教授

嗅覚刺激に応答するヒト脳内神経ネットワークにおける情報処理機序の解明

研究の背景および目的

香りによって食物の在処を知ったり、交尾相手や天敵の居場所を把握するという、動物の本能的な嗅覚の役割は以前から言われてきた。今まで、動物を対象とした嗅覚の研究では、嗅球から 40Hz 周波数帯域の波が計測され、アカゲザルにおいては、大脳前頭葉眼窩部に嗅覚中枢が発見された。また、2004 年には、Buck と Axel 博士が嗅覚レセプターの遺伝子群を同定し、ノーベル生理学・医学賞を受賞している。視覚や聴覚に関するノーベル賞は 2、30 年前に発表されたが、嗅覚に関する研究では、近年、分子生物学や電気生理学、さらには光学測定法などの手法を用い、やっと受容体レベルで基本的なメカニズムが把握されるようになってきた。したがって、ヒトが香りを感じ、快・不快といった情動を発現するメカニズムは未だ解明されておらず、脳のどの部位でどのような処理が行われているかはほとんど分かっていない現状である。以前は、ヒトにおいても前頭葉眼窩野が嗅覚中枢であろうと言われてきた。しかし近年、MEG や fMRI といったような非侵襲的な脳計測技術を用いて、梨状葉が第 1 次嗅覚野であり、前頭葉眼窩野は第 2 次嗅覚野であるという見解が出始めている。

これまで、ヒトを対象とした嗅覚に関する研究では、ニオイ紙法、ニオイ瓶法、もしくはオルファクトメーター装置等を利用し、ヒトがニオイを嗅ぐといった臭素提示法が一般的だった。しかし、上記提示法では鼻腔内の空気対流により三叉神経をも刺激し、純粋に嗅神経だけを刺激することが困難である。また、嗅ぐという運動をも喚起する。日本の研

究者により開発された、TPD (アリナミン®、武田薬品工業株式会社) および TTFD(アリナミン F®、武田薬品工業株式会社)静脈注射による臭素提示法は、嗅神経を純粋に刺激する方法として、日本の耳鼻科では中枢性の嗅覚障害の診断に一般的に使われている。両供試材料は、ビタミン B1 にニオイ成分を添加したもので、静脈注射後約 10 秒前後から特異的なんにく臭を喚起する。普通、ヒトがニオイを感じる時は吸気を感じるが、静脈注射による刺激法では呼気にニオイを感じる。また、TTFD は、TPD のニオイ成分の側鎖を置換し、ニオイの程度を抑えたものであり、薬理作用は TPD と全く同じである。さらに、TPD 静脈注射による臭素提示法は、日本でのみ行われている方法であり、これまでには脳波を用いた報告があるだけで、MEG や fMRI を用いた研究の報告はない。従って、欧米諸国からみれば非常にオリジナリティーの高い方法であり、上記のような嗅覚研究の現状を打破する方法として有効な臭素提示方法と期待できる。

本研究では、ニオイ強度の異なる TPD と TTFD を静脈点滴する方法をニオイ刺激として用い、律動的活動や脳内活動部位の特定に有利な MEG および fMRI とを併用する方法に着目した。本研究の目的は、嗅覚刺激に関連した①周波数帯域別の特徴、②反応部位、③ニオイ強度による差異を明らかにすることにある。

研究手法

刺激条件：ヒトがニオイを嗅ぐという行為により発生する三叉神経の活動を抑え、純粋に嗅神経だけを刺激するために、TPD(thiamine propyl disulfide)および TTFD(thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide monohydrochloride)を静脈点滴するという刺激提示法を用いた。

データ解析法：MEG を経時的に計測しつつ、被験者に TPD および TTFD を点滴滴下すると、ニオイ刺激によって賦活された脳部位の信号強度の変化が観測される。MEG データの解析には、SAM(synthetic aperture magnetometry)法を適用し、事象関連同期 (ERS:Event-Related Synchronaization) と事象関連非同期 (ERD:Event-Related Desynchrnaization) を表す脳内マップを得た ($P<0.001$, $t=4.5$)。ここで、様々な刺激や運動に伴いある周波数帯域の振動が増えることを事象関連同期といい、ある周波数帯域の振動が減ることを事象関連非同期という。また、fMRI データの解析には、MATLAB (Math Works, Sherborn, Massachusetts)上で動く、statistical parametric mapping(SPM2; Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK)を使用した。SPM では、どの脳部位も血流の増加はないという仮説に基づき、何もニオイを感じていない時と感じた時の脳全体の血流データを比較し、この仮説を $P<0.001$ で棄却するような脳部位を同定した。

研究結果

MEG による実験結果：TPD (強いニオイ刺激)と TTFD(弱いニオイ刺激)両供試材料ともに優位に見られた律動的变化 (ERD：事象関連非同期) は、以下の脳部位における周波数帯域であった。(1) β 波帯域 (13-30Hz)：中心前回 (右)、上前頭回 (両側)、中前頭回 (両

側)、(2)low γ 波帯域 (30-60Hz) : 上前頭回 (左)、上頭頂小葉 (左)、中前頭回 (両側)、(3)high γ 波帯域 2 (100-200Hz) : 下前頭回 (右)。また、TPD による強いニオイ刺激においては、左半球の頭頂葉、側頭葉、後頭葉に事象関連非同期が見られたのに対し、TTFD による弱いニオイ刺激においては、右半球の頭頂葉、側頭葉、後頭葉に事象関連非同期が見られた。

fMRI による実験結果 : グループ解析 (12 名、 $P < 0.001$ (uncorrected)) において、両供試材料共に、優位に血流量の増加が見られた部位は前頭葉であった。最も活動した領域は、前頭葉眼窩野(左) (Brodmann's Area: BA 11) [x = -22, y = 48, z = -12; Talairach coordinates]である。TPD (強いニオイ刺激) による主な血流量の増加は、前頭葉、視床下核、島に見られた。最も活動した領域は、視床下核 (左) [x = -16, y = -8, z = -6]である。さらに、中心前回(右) (BA 6) [x = 30, y = -5, z = 48]や島(右) [x = 34, y = 12, z = 16]にも血流量の増加が見られた。TTFD (弱いニオイ刺激) による主な血流量の増加は、上前頭回と小脳に見られた。最も活動した領域は、上前頭回(右) (BA 11) [x = 16, y = 56, z = -11]である。また、全体的に、血流量の増加は、第 2 次嗅覚野には見られたものの、第 1 次嗅覚野には見られなかった。

なお、動物の研究により、第 1 次嗅覚野は梨状葉、嗅上皮質、そして海馬を含む領域(BA 28, 34)であり、第 2 次嗅覚野は前頭葉眼窩野(BA10, 11, 32, 47)であると言われている。

考察

嗅球から観測される 40Hz の波は、動物を対象とした先行研究において良く報告されてきた。また、嗅覚刺激に応答する脳の律動的変化に関する研究は、これまでヒトにおいては脳波を用いて行われてきた。しかし、結果にばらつきがあるために一致した見解が得られていない。脳波は、ニューロンの活動により発生する電場を見るものである。大脳新皮質と頭表の間には、頭皮、頭蓋骨、脳脊髄液という導電率の違う三層が存在する。その比率は大脳新皮質を 1 とすると、約 1 対 1/80 対 3 である。したがって、電場は大脳新皮質と頭表の間にある組織の導電率の違いにより、頭表に現れるまでに減衰する。つまり、透磁率が一定な磁場を計測する MEG に比べて空間分解能が低い。そのため、比較的深部にあり、広がりを持って活動すると考えられる嗅覚に関連した脳部位の特定およびその律動的変化の解析において、ばらつきがあったと考えられる。MEG は、ニューロンの活動により発生する磁場を見るため、透磁率が一定であり、歪むことなく頭表に現れる。したがって、MEG は、脳波に比べて空間分解能が高いという利点を持ち、数ミリ単位で同定できる。すなわち、ニオイ刺激に応答する脳神経細胞活動に伴うわずかな律動的変化とその部位を、より正確に捉えることができるのである。

fMRI 脳計測装置を用い、第 1 次嗅覚野および第 2 次嗅覚野を捉えようとする試みは、他の感覚野同様、近年盛んに行われている研究テーマである。第 2 次嗅覚野に関してはその活動を捉えやすいものの、第 1 次嗅覚野の活動は捉え難く、例え捉えることができたとしても、非常に小さな反応かもしくは安定した活動ではなかった。いくつかの論文では、この現象を第 1 次嗅覚野の「habituation : 慣れ」もしくは「desensitization: 感受性鈍磨」として

表現している。梨状葉（第 1 次嗅覚野）における瞬時の慣れの現象は、電気生理学的な手法を用いたネズミの研究で報告されている。fMRI の研究においては、第 2 次嗅覚野の活動は捉えられたものの、第 1 次嗅覚野の活動は捉えることができなかった。これは、上記のような先行研究を考慮すれば、第 1 次嗅覚野に慣れの現象が生じたためと考えるのが妥当である。言い換えれば、第 1 次嗅覚野は慣れの現象を生じやすいため、MR のスキャナではその時間分解能に限界があり、可視化することが難しい。

また、Sobel ら (Sobel et al., 1998) は、被験者が能動的にニオイを嗅ぐという「sniffing method」を用い、ニオイのあるなしに関係なく梨状葉（第 1 次嗅覚野）と前頭葉眼窩野（第 2 次嗅覚野）の活動を報告した。さらに、受動的にニオイを嗅ぐ方法「smelling method」では、前頭葉眼窩野の活動のみを報告している。つまり、第 1 次嗅覚野が活動するためには、受動的な smelling ではなく、「嗅ぐ」という行為自体が重要ではないかと考えられる。

静脈注射による嗅覚刺激では、注射後 10 分経過した後も呼気にニオイ物質が残留することが分かっている。静脈注射による嗅感覚の機序は、肺に届いたニオイ物質が呼気に排出されると同時に、後鼻腔から直接嗅上皮を刺激する。従って、静脈注射による嗅覚刺激は、結果的に長時間のニオイ刺激提示と同じであり、また、嗅感覚は sniffing ではなく smelling で始まると考えられる。以上のことをまとめると、第 1 次嗅覚野が活動するためには、能動的にニオイを嗅ぐという行為が必要であり、また、慣れの現象を生じる前の早い時間帯であることが重要である。