

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2013

課題番号：22500294

研究課題名(和文)オペラント行動の発現に側坐核コアの神経伝達が果たす役割

研究課題名(英文)Roles of the nucleus accumbens core on development of matching behavior

研究代表者

甲斐 信行(Kai, Nobuyuki)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：50301750

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：動物の選択行動にはマッチングの法則と名付けられた規則性が見出されている。本研究では、この法則に従った行動(マッチング行動)の発達に、前脳深部の側坐核コア領域がどのように関与しているのかを調べるため、コアを破壊されたラットにおけるマッチング行動の発達を調べた。その結果、コア破壊群のラットではマッチング行動の発達が亢進すると共に、片方のレバーから他方にレバー押しを交代する頻度が低下していることを見出した。この結果から、コア破壊はレバー押しの交代反応の頻度を低下させるために、マッチング行動の発達を早めている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Given two options with different reinforcement rates, animals match their relative rate of responding to the relative rates of reinforcement (i.e., matching behavior). A previous study has shown that the nucleus accumbens core (AcbC) is involved in the performance of matching behavior in trained animals. However, the role of the AcbC in the acquisition of matching behavior has not been addressed. We conducted a series of experimental sessions to examine the role of the AcbC on the development of matching behavior. Lesions of the AcbC accelerated the development of matching behavior compared to the sham-operated group. The AcbC rats showed smaller probabilities of switching behavior between alternatives than shams. Our results suggest that the AcbC plays a regulatory role in the development of matching behavior through switching probabilities rather than perception of reward magnitude.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：マッチングの法則 マッチング行動 オペラントマッチング 側坐核 ラット 交代反応 強化後休止 自発的回復

1. 研究開始当初の背景

動物がある目的を持った行動を開始する前には、例えば闘争と退避の選択のように、異なる目的を持った他の行動との選択過程を脳内で経ている場合が多い。また、例えば採餌の場所を選択するときのように、同じ目的を達するため、複数の行動手段からの選択を行う場合もある。従って、動物が環境への適応度を高めるためには選択行動の発達には必須であり、そのためには周囲の環境に対する知覚と学習経験のくり返しの両方が、重要な役割を担っていると考えられる。しかし、学習経験のくり返しがどのようなメカニズムを介して選択行動の発達に関わっているのかについての、神経科学的な解明はまだ進んでいない。

その一方で生態学や行動分析学の分野では、動物が環境への適応度を高めるために行動を選択する際の方略についての研究が進んでおり、多くの知見が得られている。その中で、動物の選択行動にはマッチングの法則と名付けられた規則性が見出されている。動物がレバーを押すとある頻度で報酬の餌が与えられる実験装置を用いて、報酬頻度の異なる二つのレバーを動物に自由に選択させて押させる事ができる。そのとき、動物が二つのレバーのどちらかを選ぶ頻度の割合は、各レバーからそれまでに得られた報酬の割合に、ほぼ一致する。この規則性に従った行動をマッチング行動と呼ぶ。この実験の経験を十分に積んだ動物は、実験の途中でレバーの報酬頻度を変えても直ちにレバー押しの頻度を修正してマッチング行動を維持することが知られていた。しかし、この実験を初めて経験する動物が、マッチング行動をどのように発達させているのかについて、その神経回路メカニズムの研究はこれまで行われていなかった。

2. 研究の目的

前脳深部に位置する側坐核コア領域は、ヒトや動物が意思決定・行動選択を行う際に、報酬の価値を評価する神経回路メカニズムで重要な役割を果たすことが、過去の研究から知られている。さらに、側坐核コアの神経細胞を破壊した後にはマッチング行動の訓練を充分受けた動物は、同じ訓練を受けた対照の偽手術群よりも、より強いマッチング行動を示すことが報告されている。これらの知見より、コアは選択行動の発達過程に関わる可能性が高いと考えられた。そこで本研究では、環境に対する適応度を高めるための行動選択が、学習経験のくり返しによってどのようなメカニズムで発達するのかを明らかにする目的で、マッチング行動の発達に側坐核コアがどのように関与しているのかを、ラットを用いて調べた。

3. 研究の方法

(1) コア破壊ラットの作成

実験材料に用いたラット (Long-Evans、雄性、4ヶ月齢、24匹) は、3匹を1ケージで飼育し、軽度の摂食制限により体重を400~500gに制御したが、飲水は自由に行わせた。レバー押し実験用のオペラント行動実験装置 (Med Associates社製) にラットを入れ、最初に連続強化スケジュール (レバーを押すたびに必ず報酬が得られる) によるレバー押し反応の形成を行った。全てのラットがレバー押し反応を学習した後、半数のラットについて興奮性神経毒であるイボテン酸を脳定位的に側坐核コアに局所注入して神経細胞を破壊した (コア破壊群、**図1**)。残りのラットには生理食塩水を注入した (対照群)。

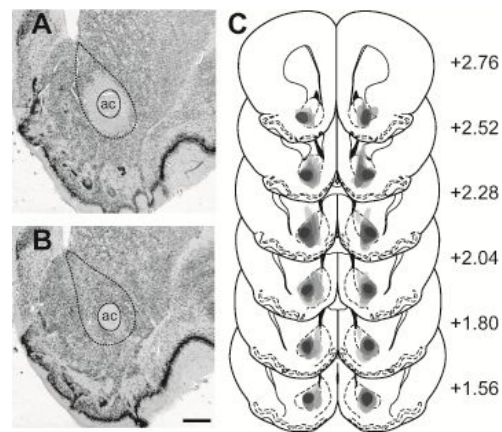


図1. 側坐核コアの破壊

神経細胞特異的抗原である NeuN に対する免疫組織化学染色法により、コアの神経細胞の破壊を確認した。(A) の破壊群でコア (点線の囲み内) の神経細胞が消失したが、(B) の対照群では消失は認められない。(C) は破壊の範囲を示す。ac: 前交連線維

(2) 行動実験

ラットが手術からの回復期間 (2週間) を経た後に、並列不定時スケジュール (conc. VI) によるレバー押しの選択実験を開始した。装置内部に二つ左右に並んだレバーの片方は平均8秒に一回の頻度でレバー押しに対応して報酬 (50mgのシュークロースペレット) が与えられ (VI 8)、もう片方のレバーは平均72秒に1回の頻度で報酬が与えられる (VI 72)。ラットは1日1回 (30分間) この装置に入れられて自由にレバー押しを行った。左右のどちらのレバーを報酬頻度の高い VI 8 の設定にするかは各ラット個体毎に毎日の実験ごとにランダムに変更したが、一日のセッションの中では変更せずに固定した。セッション終了後はホームケージに戻し、全てのラットが一日のセッションを終えてから給餌した。セッションは土日を除く12日間連続して行った。全日程の終了後にラットに対して深麻酔をかけ、灌流固定を行った後に脳を取り出した。実験に用いた全てのラットについて側坐核を含む脳切片を作成し、NeuNの免疫染色による破壊範囲の確認を行った。

4. 研究成果

(1) マッチング行動の発達亢進

2セッションを一つのブロックとして、セッションのくり返しによるマッチング行動の発達をコア破壊群と対照群で比較すると、破壊群のラットは対照群よりも早くマッチング行動を発達させることが分かった(図2A)。また、一回のセッション内におけるマッチング行動の発達に対照群との有意差は認められなかった(図2B)。以上の結果から、コアはセッションをまたいだマッチング行動の発達に対して抑制的に働く可能性が示唆された。これまでの知見から、マッチング行動の訓練を十分に行ったラットに対し、ある日を境に高報酬のレバーを右から左に切り替えると、変更後の最初のセッションでは以前高報酬だったレバーを優先的に押し続ける結果、マッチングからのずれが大きくなることが分かっている。そこで、コア破壊ラットで今回認められた、セッションをまたいだマッチング行動の発達亢進が、高報酬レバーが前日と当日で変わった場合にも起こるのか否かを、変わった場合と変わらなかった場合でデータを分けて比較して調べた。その結果、レバーの切り替えが起きなかった日には、全てのセッションのデータをまとめた全体として破壊群は対照群よりも良いマッチングを示す一方、切り替えが起きた日は破壊群と対照群の間でマッチングの程度に有意差がないことが分かった(図2C)。

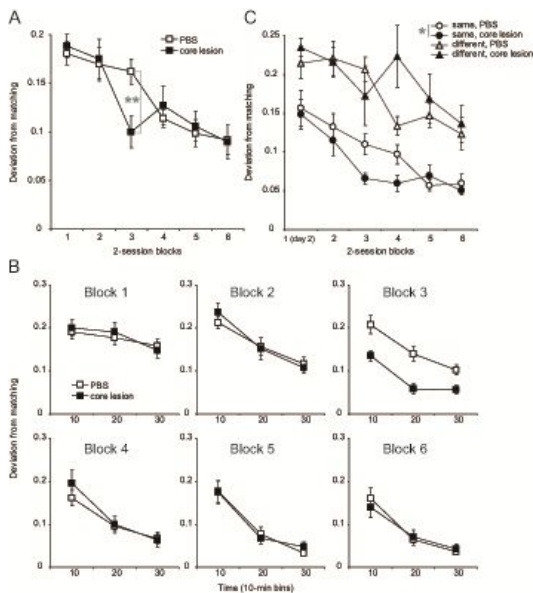


図2. マッチング行動の発達に対するコア破壊の効果

グラフ縦軸はマッチングからのずれを示し、値が小さいほど良いマッチングを意味する。白抜きは対照群、黒抜きはコア破壊群を示す。** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

(2) 交代反応の低下

コア破壊群で認められたマッチング行動の発達亢進のメカニズムをさらに詳細に検討するため、ラットがセッション中に行った交代反応(例えば右のレバーを押した後に左のレバーを押すこと)の頻度を破壊群と対照群で比較した。その結果、コア破壊群では交代反応の頻度も対照群に比べて早く低下していることが分かった(図3A)。マッチング行動の発達と同様に、高報酬レバーの切り替えの有無で交代反応の頻度にも違いがあるかどうかを検討したところ、有意差は認められなかった(図3B)。

(3) レバー押し反応の成績

破壊群と対照群の間でレバー押し反応の遂行そのものに違いがあるか否かを検討した。セッション毎の左右のレバー押し回数合計(図3C)や得られた報酬の数(図3D)に有意さは認められず、レバー押し反応の成績には違いがないことが分かった。

(4) 強化後休止

ラットが報酬を得た後に、次のレバー押し反応を開始するまでの潜時は強化後休止と呼ばれ、この値はこれまでに得られた報酬の大きさや、次のレバー押し反応で得られることが期待される報酬の大きさについての知覚によって変化することが知られている。コア破壊群でこれらの知覚に変化が起きているかどうかを明らかにするため、強化後休止の値(潜時)を破壊群と対照群で比較した。その結果、値に有意な差は認められず、破壊群では報酬の強度や報酬の期待の知覚に対照群との違いはないことが示唆された(図3E)。

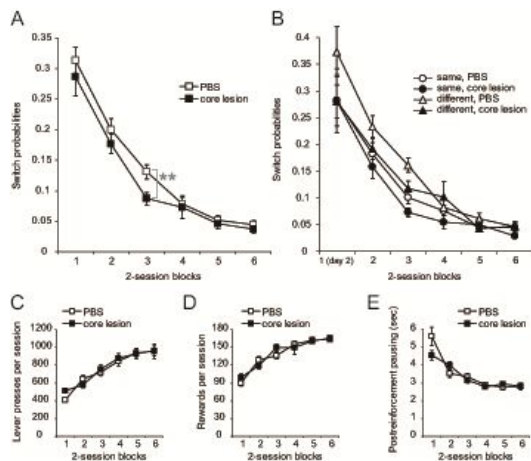


図3. レバー押し反応の遂行と強化後休止に対するコア破壊の影響

パネルA,Bの縦軸は図2と同様マッチングからのずれを示す。パネルC,Dの縦軸はそれぞれレバー押しの回数と得られた報酬数を示す。パネルEの縦軸は休止の潜時(秒)を示す。凡例は図2と同じ。** $p < 0.01$

(5) 考察

以上の結果から、コア破壊はマッチング行動

の発達を早めることが分かったが、そのメカニズムとして、破壊群で報酬の強度(大きさ)に対する知覚が亢進しているために、報酬頻度の高いレバーをより優先的に押すことによって、マッチングの発達が早く起きた可能性がまず考えられる。しかし強化後休止を調べた結果はこの仮説を支持しなかった。なぜなら強化後休止の値には破壊による変化が認められず、報酬の強度に対する知覚に変化が起きているとは言えないからである。さらに破壊群はレバー押しの回数や得られた報酬数にも対照群との有意差は認められず、両者の間で反応数と報酬数の関係に違いがあるとは言えない。その一方で、破壊群ではマッチングの発達亢進に加えてレバー押しの交代反応の頻度の低下が認められた。これらの結果は、交代反応が低下した結果、スイッチング反応の発達が亢進したことを示しているのかも知れない。交代反応の頻度が低下することは、ラットがレバーの前に止まり続ける平均的な時間がより長くなっていることを意味する。しかし破壊群で認められるこの平均滞在時間の延長は、二つのレバーで均等に起こるのではなく、高報酬が得られる側のレバーでより顕著に起きているのかも知れない。その結果、破壊群では高報酬レバーから得られる報酬数と反応数の両方が対照群よりも増えて、マッチングの発達亢進を招くと考えられる。破壊群におけるこの不均等な滞在時間の延長(=交代反応頻度の低下)を仮定することで、今回の結果を説明することができると考えられた。また、コア破壊が交代反応の頻度を低下させたことから、コアは交代反応の遂行に可能性があると考えられた。

(6) まとめ

本研究により、側坐核コアの破壊はマッチング行動の発達を亢進させることが明らかになった。このことは、コアは選択行動の発達制御に関わることを示している。さらに、レバー押しの交代反応もコア破壊群では低下しており、このことは破壊群におけるマッチングの発達亢進の主な原因として、交代反応の低下があることを示唆する。

(7) 得られた結果の国内外における位置づけとインパクト、今後の展望

本研究の結果は査読付英文学術誌に掲載され、査読者からも論文の手直しをほとんど必要としない高い評価を得た。側坐核コアの機能に関するこれまでの研究では、この領域が報酬性の学習にどのような役割を果たしているのかについて研究者間で見解が異なり、学習に果たす役割が不確かであった。しかし本研究で明らかにされた交代反応を促進させる(破壊で低下する)というコアの役割は、報酬性の学習におけるコアの役割についての異なる見解を統一的に説明できる可能性がある。交代反応に関するコアの役割の研究

を進展させることで、脳科学の分野で最近特に関心が高まっている、意思決定・行動選択にの場においてヒトや動物が一見不合理な選択を起こすメカニズムについての理解がより深まることが予想される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

Kai N, Tsusui Y, Kobayashi K. Lesions of the nucleus accumbens core modulate development of matching behavior. (2014). *BMC Neuroscience* 2014 15:55. 査読有
DOI:10.1186/1471-2202-15-55

Tsutsui Y, Nishizawa K, Kai N, Kobayashi K. (2011). Lever pressing responses under a fixed-ratio schedule of mice with 6-hydroxydopamine-induced dopamine depletion in the nucleus accumbens. *Behavioural Brain Research* 217: 60-66. 査読有
DOI: 10.1016/j.bbr.2010.10.002

[学会発表](計 2件)

Kai N, Kobayashi K. "The development of operant matching is regulated by the Nucleus Accumbens core." The Society for Neuroscience annual meeting, 2011, Washington, DC

Kai N, Tsutsui Y, Kobayashi K. "The development of operant matching is regulated by the Nucleus Accumbens core." 第34回日本神経科学大会 2011, 横浜

[図書](計 1件)

Kobayashi K, Okada K, Kai N. (2012). Functional circuitry analysis in rodents using neurotoxins/ immunotoxins. In *Neuromethods, Controlled Genetic Manipulations* chapter 10, pp. 193-205. Humana Press Inc., New York, 2012.

[その他]

ホームページ等

researchmap.jp/read0080396/

6. 研究組織

(1)研究代表者

甲斐 信行 (KAI, Nobuyuki)

獨協医科大学・解剖学(組織)講座・助教
研究者番号: 50301750