

睡眠中の古典的条件付けによる音嗜好性の操作

曾我遼, 高橋宏知講師

Rat, Preference, Classical Conditioning, Sleep, Reward System

1. 序論

嗜好性は生物の豊かな個性を生む。一方で、過度に偏った嗜好性は日常生活へ支障をきたすため、治療を必要とするが、一部の治療法は患者の心理的負担が大きいことが問題視されている。例えば恐怖症では、特定の感覚刺激に対する患者の過度な恐怖を治療するために、対象刺激を繰り返し提示するため心理的負担が高く、離脱率が高い。こうしたことから我々は、睡眠中に感覚刺激への嗜好性を操作できれば、心理的負担が軽い治療法の開発に貢献すると考えた。

げっ歯類を用いた先行研究で、特定の場所を表す刺激と、報酬系への電気刺激とを睡眠中に連合させると、場所への嗜好性を増加できることが報告されている[1]。場所への嗜好性は意識的に陳述できるが、音やにおいといった感覚刺激への嗜好性は、意識的に陳述できないとされている。さらに感覚刺激は、睡眠中の報酬刺激との連合で、嗜好性が操作できるか否かも調べられていない。

こうしたことから本研究では、ラットをモデル動物とし、報酬刺激として中脳ドーパミン報酬系の腹側被蓋野 (ventral tegmental area; VTA) への電気刺激 [2] を用いて、睡眠中の音と報酬刺激の連合により、音への嗜好性を増加するか検証する。そのため第一に、音への嗜好性を定量化するための行動実験系を構築し、評価する。第二に、睡眠中に音と VTA 刺激を用いた古典的条件付けを施し、音への嗜好性の変化を定量的に調べる。

2. 手法

2.1 嗜好性評価系の概要

複数の選択肢からの選択行動には、嗜好性が反映される。こうしたことから、先行研究[3]を参考に、ラットの嗜好性を調べるために、複数の音条件に対する、ラットの

の選択聴取行動から、音への嗜好性を定量化する実験系を構築した (図 1A)。

行動実験装置の中央に設置した柱の周囲を、8つの仮想的な小領域に区切り、4種類の音条件、具体的には、(i) 音提示無し (無音)、(ii) 10 kHz、(iii) 20 kHz、(iv) 40 kHz の純音 (60 dB SPL) を2領域ずつに割り当てた。行動装置上部のカメラで30 msごとに画像を取得してラットの重心位置を検出し、ラットが滞在している小領域に対応する音条件を提示した (図 1B)。20秒間を1試行として、試行間をホワイトノイズ (30 dB SPL) で区切り、1日24または25試行した (図 1C)。

音に対するラットの嗜好性を調べるため、各評価試行開始時の音条件 (Start; S) と終了時の音条件 (Goal; G) との関係から、各音条件 (X) に対する嗜好性尺度 (Preference Index; PI) を、次式のように定義した。

$$PI(X) = \Pr(S = X | G = \bar{X}) - \Pr(S = \bar{X} | G = X) \quad (1)$$

なお、PIは1日毎に、各音条件に対して算出した。

2.2 嗜好性評価系の検証

構築した実験系を2つの点から評価した。第一に、ラットは無音環境を好む [4] ことから、未条件付けのラットに対して、無音条件で音よりもPIが高いかを調べた。第二に、古典的条件付けで特定の音に対するラットの嗜好性を操作し、PIが変化するかを調べた。

図 1D に実験の流れを示す。41匹のウィスターラットに対して嗜好性評価を行い、無音条件でのPIと純音に対するPIを比較した。さらに2日間、嗜好性評価を行ったのち、ラットを3群 (報酬連合群、恐怖連合群、曝露群) に分け、20 kHz の純音を条件刺激 (conditioned stimulus; CS) として、覚醒中に音と報酬または罰との古典的条件付け、あるいは音への曝露を施した。報酬連合群 (n=12)

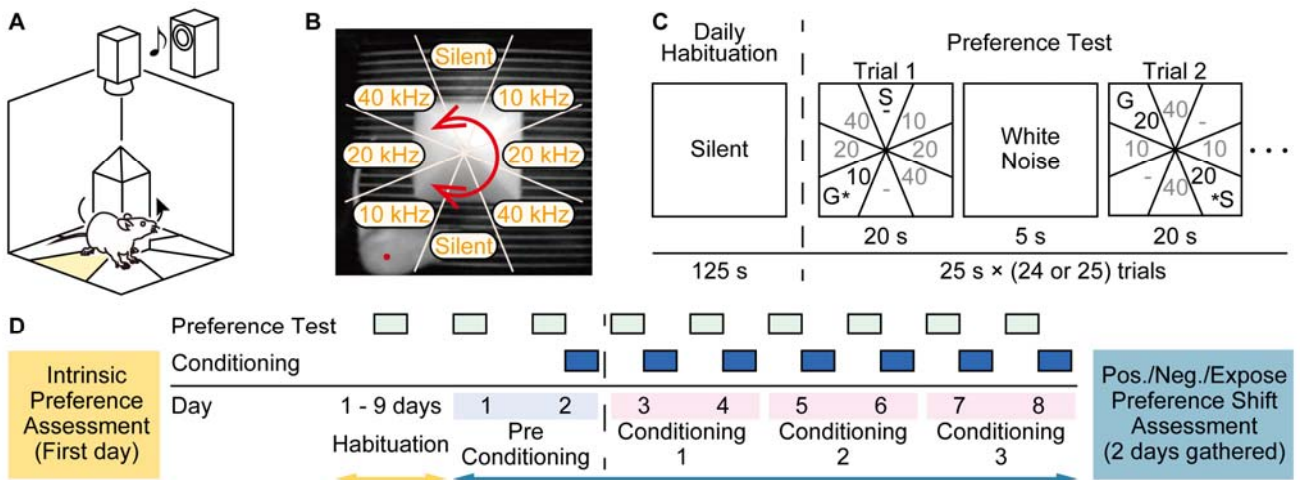


Figure 1. Procedure of the preference test.

A. Whole sketch of the experimental chamber for the preference test. B. Protocol of the preference test. C. Daily protocol. D. Schedule for the preference test and the conditioning. Abbreviations; S, start position; G, goal position.

では、VTA 刺激を無条件刺激 (unconditioned stimulus; US) として、CS と US との組合せを 200 回提示した。恐怖連合群 (n=7) では、四肢への電気ショックを US として、CS と US を 40 回提示した。曝露群 (n=4) は、CS のみを 200 回提示した。条件付けまたは曝露と、嗜好性評価を 6 日間行い、PI の変化を調べた。

2.3 睡眠学習と嗜好性評価

4 匹のラットでは、睡眠中に、20 kHz の純音と VTA 刺激との組み合わせを 200 回提示して、古典的条件付けを施した。条件付けと嗜好性評価を 6 日間施して、PI の変化を調べた。

3. 結果と考察

3.1 嗜好性評価系の検証

3.1.1 無音に対する生来の嗜好性の検出

嗜好性評価における、未条件付けラットの代表経路を図 2A に示す。試行終了時に無音条件の小領域への滞在が多いことがわかる。実際に、嗜好性評価の初日では、無音条件の PI が、他の 3 つの純音条件の PI よりも有意に高かった。この結果は、本評価系が、無音に対するラットの嗜好性を検出できたことを示唆する。

3.1.2 嗜好性の変化の検出

各音条件について、条件付けまたは曝露期間の PI から、条件付けまたは曝露前 2 日間の PI の平均値を減算した値を、 Δ PI として定量化した。さらに各群で、条件付

けまたは曝露開始から 2 日ごとに、CS と CS 以外の音条件の Δ PI を比較した。その結果、報酬連合群では条件付け後 3-4 日で CS の Δ PI が CS 以外の音条件よりも有意に高く、恐怖連合群では、条件付け後 1-2 日で CS の Δ PI が CS 以外の音条件よりも有意に低かった (図 3A, B)。一方曝露群ではそのような変化はみられなかった (図 3C)。これらの結果は、本評価系が、ラットの嗜好性の変化を検出できたことを示唆する。

3.2 睡眠学習による嗜好性の変化

睡眠中に CS と VTA 刺激との報酬による古典的条件付けを施したところ、条件付け後 3-4 日で CS の Δ PI が CS 以外の音条件よりも有意に高かった (図 3D)。この結果は、睡眠中の音と VTA 刺激との連合により、20kHz の音に対するラットの嗜好性が増加したことを示唆する。

4. 結論

本研究では、睡眠中の音と報酬刺激の連合により、ラットの音への嗜好性が増加するか検証することを目的とした。そのためにまず、ラットの選択聴取行動から、音への嗜好性を定量化するための実験系を構築し、本実験系が、(1) 無音に対する生来の嗜好性を検出できること、(2) 古典的条件付けによる嗜好性の変化を検出できることを、それぞれ検証した。さらに、腹側被蓋野への電気刺激を報酬刺激とした古典的条件付けにより、睡眠中に音と報酬を連合して、嗜好性の変化を調べた。その結果、条件刺激音への嗜好性尺度が有意に高くなった。これらの結果は、睡眠中の感覚刺激と報酬との連合が、感覚刺激への嗜好性を増加させることを示唆する。

参考文献

- [1] G. De Lavilléon *et al.*, "Explicit memory creation during sleep: a causal role of place cell on navigation," *Nat. Neurosci.*, Vol. 18, No. 4, pp. 1-39, 2013.
- [2] E. T. Rolls *et al.*, "The relative attenuation of self-stimulation, eating and drinking produced by dopamine-receptor blockade.," *Psychopharmacologia*, Vol. 38, pp. 219-230, 1974.
- [3] S. Roux *et al.*, "Place preference test in rodents.," *Curr. Protoc. Neurosci.*, Chapter 9, Unit 9.15, 2003.
- [4] J. E. Polston *et al.*, "Music-induced context preference following cocaine conditioning in rats.," *Behav. Neurosci.*, Vol. 125, No. 4, pp. 674-680, 2011.

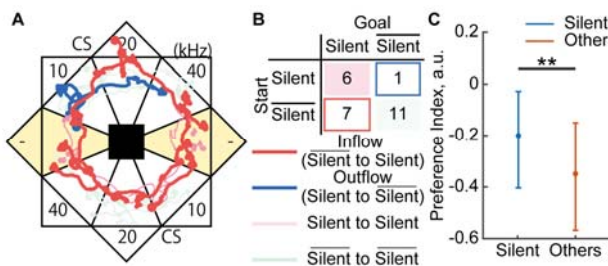


Figure 2. Changes of behavioral indices in the tone preference test of intrinsic preference assessment.

A, B. Representative paths of a pre-conditioning rat in the preference test. C. Preference index for silent and other conditions. Error bars indicate the interquartile range and lines indicate the median. Asterisks indicate statistical significance; **, $p < 0.01$ (Wilcoxon's two-sided rank sum test).

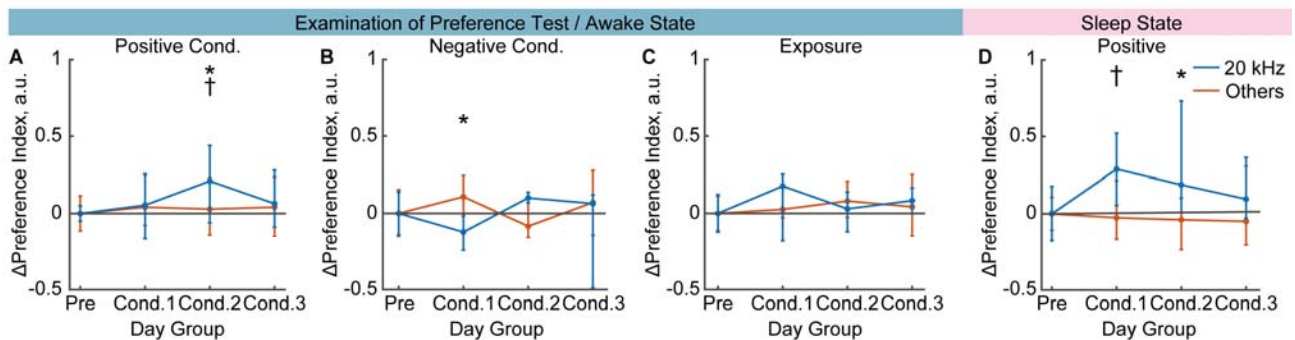


Figure 3. Changes of behavioral indices in the tone preference test.

A-C. Changes of preference index for 20 kHz and other sound conditions after (A) positive, (B) negative classical conditioning and (C) sound exposure. D. Changes of preference index after positive classical conditioning during sleeping. Error bars indicate the interquartile range and lines indicate the median in each day groups. Daggers and asterisks indicate statistical significance; †, $p < 0.05$ (Wilcoxon's two-sided signed rank test); *, $p < 0.05$ (Wilcoxon's two-sample, two-sided rank sum test).