

# ラットの長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習と腹側海馬の関連性 —短期痕跡条件づけとの比較—

TSENG SZU CHIAO

学習と記憶は動物の最も重要な高次脳機能の一つであり、動物が千変万化する環境に適応して生存していくためには必須の過程だと考えられる。動物は、外部および自身の身体からの内部情報を連合させて学習し、記憶という形で脳に保存し、それを適切なタイミングで参照・再生しつつ、学習した行動を行う。記憶は保持時間の長さにより分類され、本研究のテーマである味覚嫌悪学習では、味への嫌悪性長期記憶を形成し、数日から数年にわたり、その味が忌避・回避されることがある。

味覚嫌悪学習とは、パブロフの犬に代表される古典的条件づけの一種であり、生態学的には、潜在的な有害な呈味物質を再び摂食しないよう行動変容することで個体の生存確率を向上させる学習である。新奇な味刺激（条件刺激, conditioned stimulus, CS）を摂取した後、内臓不快感（無条件刺激, unconditioned stimulus, US）を経験することで、動物は CS と US を連合学習し、再び CS に遭遇した場合に CS の摂取を避けるようになる。この過程で、CS の味覚情報への長期的な嫌悪記憶が形成される。さらに、味覚嫌悪学習では、CS と US の時間間隔が数時間という非常に長い状況であっても形成される特性を有する特異な連合学習であり、味への嫌悪性痕跡記憶が形成されている。

嫌悪などの情動に関連する脳領域には、感覚情報への情動評価や情動学習に直接関連する扁桃体と、その扁桃体と密な神経連絡を有する他の脳部位がある。味覚嫌悪学習には、扁桃体の関与は多くの先行研究から示唆されているが、宣言的記憶に関与する海馬は背側領域も腹側領域も味覚嫌悪学習には関与しないという報告がある (Yamamoto et al., 1994)。一方、Koh et al. (2009) は、味覚嫌悪学習の多くの研究で用いられている CS-US 時間間隔 (例、即時や 15 分後) よりも長い間隔 (CS-US 時間間隔; 3 時間) を用いた長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習では、海馬の破壊によってその学習が障害されることを示唆した。しかしながら、その研究では、海馬が長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習の形成、保持、CS-US の連合、そして、嫌悪記憶の再生のいずれの過程に関与するのかが不明であった。さて、腹側海馬は、扁桃体と密な神経連絡を持つとともに、不安などの情動にも関与が示唆されつつある脳部位である。以上から、本研究では長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習における腹側海馬の関与について調べることを目的とした。Koh et al. (2009) では不可逆的な神経機能阻害法を用いていたため、上記のような課題が残っている。そこで、本研究では、腹側海馬を薬理的操作で一時的に機能阻害することで味覚嫌悪学習の保持や再生時点への影響を排除しつつ、腹側海馬が長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習にどのように関与するのかを調べることを目的とした。その目的のため、以下の 3 つの実験を行った。

## ■実験1： 一瓶法を用いた長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習

給水制限下で飲水訓練を経験した Wistar 系雄性ラットに CS としてサッカリン溶液を一瓶法によって呈示し、その 3 時間後に US として 0.15 M 塩化リチウム (LiCl) を体重の 2% 量腹腔内投与して長期痕跡条件づけを行った。CS 呈示前に GABA-A 受容体の作動薬であるムシモール、もしくは溶媒 (生理食塩水) を腹側海馬に脳内微量投与した。そのムシモール脳内投与によって、投与近傍領域に存在する神経細胞の電気活動は 1 時間半ほど抑制される。条件づけ前後でのサッカリン溶液摂取量から算出した CTA 指数を分析したところ、腹側海馬の抑制群では溶媒投与された対照群に比べて味覚嫌悪学習が妨害された。しかしながら、実験 1 では実験手続きとの関連から、ラットの飲水欲求が不安定であったため、飲水欲求が強いため一見して嫌悪学習の成績が減弱したのかどうかを特定できなかった。さらに、薬理的な神

経活動抑制の用量依存性は不明であった。

### ■実験2：二瓶法を用いた長期痕跡条件づけ型味覚嫌悪学習への阻害効果

飲水欲求の変動による効果を排除しつつ、条件づけ操作前後での安定した溶液摂取が得られるように二瓶法を用いた。二瓶法では、蒸留水とCSが同時に呈示されるため、強い飲水欲求があっても、ラットは味覚嫌悪学習で形成された記憶を参照しながら摂取する溶液を選択できる。実験1と同様の手続きによって、ムシモールの低用量と高用量を脳内投与し、阻害効果の用量依存性も調べた。給水制限下での飲水訓練によって飲水量が安定した後、Wistar 系雄性ラットにサッカリンをCSとして呈示した。その3時間後にLiClを腹腔内投与した(US呈示)。CS呈示の前に実験1と同様にムシモール、または溶媒を腹側海馬に局所投与した。条件づけ前後では、二瓶法による総水分摂取量には群間差はみられたが、群内では安定していた。条件づけ後の初回のテスト試行(テスト1)では、低用量ムシモールを投与されたラットでは、溶媒群に比べて有意に多くのサッカリンを摂取した。4日間のテスト期間(テスト1~4)において、飲水量とCS摂取量から算出された嫌悪指数を分析したところ、低用量ムシモール投与によって嫌悪記憶は30%程度、高用量ムシモール群でも15%程度の減弱がみられ、群間に有意差がみられた。

### ■実験3：二瓶法を用いた短期痕跡条件づけ型味覚嫌悪学習への阻害効果

腹側海馬が長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪に特異的に関与するのかどうかを調べるために、実験2と同様に二瓶法を用いた短期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習への腹側海馬の薬理的機能抑制効果を調べた。実験1・2と同じく飲水訓練後にラットにCSとしてサッカリン溶液を呈示し、すぐにLiClを腹腔内投与した(US呈示)。ムシモール投与群と溶媒投与群において、条件づけ前後でのサッカリン溶液の摂取量には有意な群間差はみられなかった。すなわち、短期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習には腹側海馬は関与しないこと、もしくは関与する程度が極めて低いと考えられる。

■総合論議：以上の結果から、腹側海馬は、短期痕跡条件づけ型ではなく、長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習の神経機序に関連することが明らかとなった。また、短期、および長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習での嫌悪指数を比較したところ、テスト1での記憶想起では短期型に比べて長期痕跡条件づけ型での学習性嫌悪は10%程度弱かった。そのため、長いCS-US時間間隔は、記憶の形成に干渉するのではなく主に記憶の保持に影響すると示唆される。さらに、腹側海馬は味覚嫌悪記憶において長いCS-US時間間隔での痕跡条件づけ型の連合学習の記憶の形成および嫌悪の強度に関連するが、記憶の保持に関与しないと示唆される。ムシモールの低用量投与がより効果的に嫌悪記憶を妨害し、高用量投与では弱い妨害効果が見られたことから、過剰な抑制による反動効果が行動に何らかの影響を及ぼした可能性がある。実験2の嫌悪指数の大小を脳内局所投与部位に基づいてマッピングしたところ、腹側海馬のCA3領域にムシモールが微量投与された場合に嫌悪指数がより低下していた。すなわち、長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習には、腹側海馬のCA3領域の機能が関与することが示唆される。腹側海馬におけるサブ領域の役割分担の解明のためには、同様のマッピングデータがさらに必要である。本研究では、腹側海馬の機能阻害をCS呈示前に行ったため、その機能阻害の時間枠はCS情報処理の時間タイミングと重なっていたと考えられる。さらに、先行研究から、腹側海馬は新奇恐怖との関連が報告されている。本研究の結果と先行研究の知見をまとめると、腹側海馬はUSが到来するまでの長いCS-US時間間隔においてCSの新奇性情報を保持させる機能を持ち、その機能を通じて長期痕跡条件づけ型の味覚嫌悪学習の形成に関与することが示唆される。一方、腹側海馬がUS情報処理や長いCS-US時間間隔中での神経機序に関与するのかどうか、腹側海馬のサブ領域には機能分担があるののかなどは未解明な課題である。(行動生理学)