

ラットの尾状核損傷における情動性の検討

氏田 麻美・楮原 麻花・水田 敏郎

仁愛大学人間学部

A study of emotionality in rats with caudate nucleus lesions

Asami UJITA, Asaka KOZUHARA & Toshiro MIZUTA

Faculty of Human Studies, Jin-ai University

Emotions are known to be controlled by certain brain regions, such as the hypothalamus and frontal lobe. Striatum consists of the caudate nucleus and putamen, and the caudate nucleus is known to be involved in mental functions such as emotions. This study examined whether thigmotaxis is observed in rats with caudate nucleus lesions and whether it was caused by emotional changes. The results indicated that the frequency of head dips in the lesioned group was smaller than in the control group, and the time before the first head dip was longer. Based on the results above, it is considered that the frequency of head dips decreased in the lesioned group because of emotional changes and the increase in anxiety caused by the destruction of the caudate nucleus. Moreover, the total moving distance and the total ratio of moving distance was larger in the lesioned group, compared to the control group.

keywords : emotion, caudate nucleus, thigmotaxis, rat

本研究の背景と目的

1. 情動とは

ヒトは、日常生活において「楽しい」や「悲しい」など様々な感情を抱く。そのうち喜びや驚きなどの喜怒哀楽といったような一時的で激しいものを情動 (emotion) と呼び、これは感情の基本的な種類を示すものである。ヒトの情動のうち、不安と恐怖は同じものようにみえるが、心理学的には区分されるものであり、精神身体反応を引き起こす原因となる明確な対象が存在しない場合が不安、明確な対象が存在する場合は恐怖とされる。

2. 情動と脳

情動に関与していると考えられる脳部位として、視床下部 (hypothalamus) や前頭葉が挙げられる。視床下部には、心臓血管系や消化器官系などの生体の内部環境を統合的に維持するシステムや、摂食行動などの生物として生存していくために最低限必要とされる調

整システムが備わっているほか、生物の基本情動である快・不快情動を担っているとされる (福田, 2003)。視床下部からの情報は脳辺縁系 (limbic system) のほか、脳基底核 (basal ganglia) の主要な構成要素の1つである線条体 (corpus striatum) に入力される。

線条体は、尾状核 (caudate nucleus) とレンズ核 (被殻 (putamen) と淡蒼球 (globus pallidus) の灰白質と、これらにはさまれた内包の白質の混じった線条模様を呈する部分を示している。また情動の他に運動機能への関与が最もよく知られているため、錐体外路系運動中枢ともいわれる。マウスを用いた研究において、片側の線条体破壊を行うと、その側方向または反対方向に偏って実験装置内を周回するといった旋回行動が確認されている (福田・宮本・成実・永井・島・名川, 1979)。情動に関しては意思決定や依存、快楽の神経過程に関わると考えられている。

また線条体は尾状核と被殻とに大きく分けることができ、尾状核は視床下部からの入力を受け取っている

とされる。機能としては尾状核が情動などの精神系機能、学習と記憶のフィードバック処理に強くかかわっていると示唆されており、被殻が運動系機能、強化学習に役割をもっていると考えられている。

線条体をカイニン酸投与によって脱落させたラットを用いてモリス水迷路による空間学習の実験を行ったところ、線条体損傷ラットはプールの壁沿いを回るように泳ぎ、プール中央部への進入が見られない走触性 (thigmotaxis) が確認された (高濱・一谷, 2000)。走触性は不安や恐怖の行動指標とされ、一方で損傷なしラットの方にはその様子が見られなかった。このことから、線条体損傷によってラットの情動性が変化した可能性が考えられた。しかし、この走触性は空間学習障害が一因であるとも考えられるため、水迷路による判断は困難であり、別の実験方法による検証が必要であるとされた。

高濱・一谷 (2000) の研究において行われたのは線条体の細胞の脱落であり、線条体の機能としては情動の他に運動機能が挙げられる。よって運動機能障害が原因とも考えられる。先行研究での走触性の要因が情動性の変化であるならば、線条体のうち精神系機能に強くかかわっている尾状核のみを損傷させた場合においても同様の行動が確認できると考えられる。

3. ヒト以外の動物の情動

ヒトにおいて、不安と恐怖は区分されるものであると述べたが、ヒト以外の動物において不安と恐怖はいずれも不快刺激に対する情動反応であるとされる。不安と恐怖は交感神経興奮症状などの生理学的反応と、回避・逃避行動などといった、例えば実験装置の壁伝いに移動して装置の中心部への進入が見られない走触性などの行動学的反応とを引き起こす。実験における不安・恐怖の動物モデルは実験動物に薬理学的操作などを行って作製されるか、または不安を誘発させる手段として様々な実験的ストレスを与えることで作製される。その実験ストレスの代表例として電撃などの罰刺激の負荷などが挙げられる。一方で、罰刺激や学習訓練の実施を必要としない、生得的・潜在的に示す不安や恐怖を利用してストレスを与える方法も数多く開発されている。例としてオープンフィールド試験や

social interaction試験、高架式十字迷路試験、ホールボード試験などが挙げられる (山口・吉岡, 2007)。これらの評価方法は抗不安薬の薬効評価のために開発され、現在では不安関連行動のテストバッテリーにも応用されている。本研究では、これらの課題の中からホールボード試験に注目し、実験を行った。

ホールボード試験とは、オープンフィールドの床にマウスやラットの頭部が入る程度の穴を中央から等距離に4~16個設けた装置を用いて行う試験である。装置内を自由に探索行動させ、穴のぞき行動 (以降ヘッドディップ) 回数、時間及び潜時などを測定し、不安の評価を行う。動物の不安状態が低いほどヘッドディップは増加し、高いほど抑制されると考えられる。ヘッドディップは抗不安薬などのベンゾジアゼピン系化合物や、ストレス刺激に対して高い感受性を有することが判明している (辻・宮川・竹内・武田, 2007)。またホールボードはオープンフィールドと同じ形状をしているため、走触性や空間学習能力についても観察を行うことが期待できる。

4. 本研究の目的

高濱・一谷 (2000) の先行研究において、線条体損傷ラットに水迷路課題を行った結果、走触性がみられた。しかしその原因が情動性の変化であるのか空間学習障害であるのかを判断することはできなかった。そこで本研究では、ラットの線条体の中でも情動を司っているとされる尾状核損傷を行い、先行研究同様の走触性はみられるか、またそれが情動性の変化によるものであるかどうかを検討するため実験を行った。先行研究において水迷路以外の実験による検証が必要であると述べられていたため、本研究では情動性だけでなく走触性や空間学習能力についても観察することが期待できるホールボード試験を用いて実験を行った。

方法

1. 被験体

被験体はWistar系雄ラットを統制群、偽損傷群、損傷群に分け、各8匹の計24匹用い、実験開始時に90日齢であった。全ての被験体は12時間の明暗サイクル (明期: 7:45-19:45) で飼育され、餌 (固形飼料 DC-

8, 日本クレア株式会社) と水は自由摂取であった。なお、本実験は仁愛大学動物実験委員会の承認を得て行った(承認番号4)。

2. 実験装置

実験装置は50(W)×50(L)×40(H) cmのオープンフィールドの底面へ、等間隔に16個の穴(直径30mm)を開けた自製のホールボード装置(底面:黒色の板, 壁面:透明のアクリル板)を用いた。装置はプラスチックダンボールで作成した同サイズのオープンフィールドを用いて地面から高さ40cmをとり、ヘッドディップを行いやすいように作成した。

3. 手続き

尾状核損傷手術

損傷群のラットは電気破壊法によって両側の尾状核を破壊した。被験体はペントバルビタールナトリウム(30mg/kg, 腹腔内投与)による麻酔を行ったあと、脳定位固定装置(NARISHIGE製)に頭部を固定した。Paxinos & Watson (1998) の脳アトラスに従い、AP: -0.26mm, ML: ±3.0mm, DV: -3.6mmの位置に高周波電流装置を挿入し、温度を80°Cに設定して5分間電流を流した。電流を流した後は電流装置の針を抜き、縫合して手術を終了した。被験体は損傷手術後1週間経過してから実験に用いた。偽損傷群は破壊群と同様の箇所に針の挿入のみを行い、電流は流さなかった。

ホールボード試験

被験体をホールボード装置の中心に置き、自由に装置内を探索させ、5分間の行動観察を行った。観察中の被験体の行動は、装置底面が水平になるよう側面に設置したデジタルカメラ(DMC-TZ3, Panasonic製)と、三脚を用いてホールボード装置真上に設置したビデオカメラ(HDR-CX560V, SONY製)で記録した。どの被験体も行動観察は1度のみであった。

4. 分析

測定指標

ホールボード装置内の移動軌跡、全体の移動距離、

ヘッドディップの回数、初発ヘッドディップまでの時間を測定指標とした。また走触性の観察のため、ホールボード装置内を外側の8個の穴より二分割し、それぞれoutside領域とinside領域とした(図1)。実験終了後に全体の移動距離からoutside領域の移動距離と、outside領域にいた時間を算出した。移動軌跡と移動距離、outside領域の移動距離及び滞在時間については、Smart(Ver. 2.5, Bioresearch社)を用いて分析を行った。ヘッドディップの回数と初発ヘッドディップまでの時間については撮影した映像を再生し、目視で2回測定したデータの平均値とした。

損傷部位の確認

行動観察終了後、ペントバルビタールナトリウム深麻酔下において、心臓の左心室から総頸動脈を通じて生理食塩水を注入し、血液を取り除いた。その後、同様に4%ホルマリン溶液を注入し、脳を灌流固定して摘出した。摘出した脳は、摘出した日から2日間、4%ホルマリン溶液に浸した後に20%サッカロース液に浸して冷蔵保存した。その後、クリオスタット(ライカ製)を用いて-20°C下で厚さ30µmの連続凍結切片を作製した。作製した切片は0.1Mリン酸緩衝液に浸し、生理食塩水内でゼラチンコーティングされているスライドガラスに直接貼り付けた。切片が乾燥したのを確認した後、クレシルバイオレットによるニッスル染色を行った。染色後はスライドガラスを封入し、十分に乾燥させた後、損傷位置や損傷の程度について生物顕微鏡LABOPHOT(NARISHIGE製)を用いて視察判定及び写真撮影を行った。

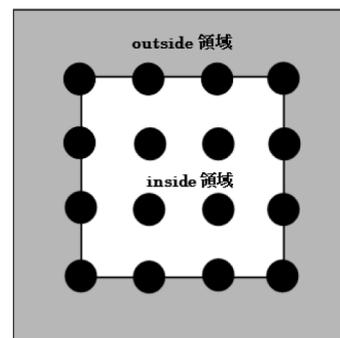


図1 ホールボード装置

統計分析

統計分析にはSPSS Statistics (Ver. 23, IBM社) を用い、全体の移動距離、outside領域の移動距離とoutside領域の滞在時間、ヘッドディップの回数、初回ヘッドディップまでの時間のそれぞれについて1要因のANOVAを行った。

結果

1. 移動距離

図2にホールボード試験中の平均総移動距離と標準偏差を示した。縦軸は5分間の平均移動距離、横軸は群を示している。平均移動距離について1要因の分散分析を行ったところ、群の主効果がみられた ($F(2,21) = 4.85, p < .05$)。さらにBonferroni法による多重比較の結果 ($p < .05$)、偽損群と破壊群の間に有意な差がみられた。また、統制群と破壊群の間に有意な傾向がみられた ($p < .10$)。

2. ヘッドディップ回数

図3に各群の平均ヘッドディップ回数と標準偏差を示した。縦軸は平均ヘッドディップ回数、横軸は群を示している。損傷群は6.38回、偽損傷群は9.0回、統制群は12.88回であり、1要因の分散分析を行ったところ、群の主効果がみられた ($F(2,21) = 4.40, p < .05$)。多重比較を行ったところ ($p < .05$)、損傷群と統制群の間に有意な差がみられた。

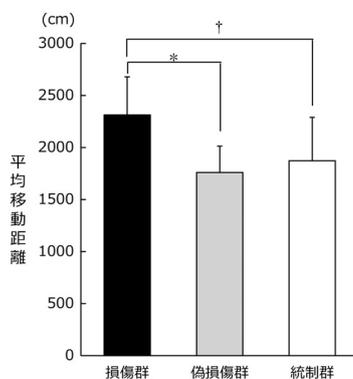


図2 平均総移動距離(±SD)
(†: $p < .10$, *: $p < .05$)

3. 初発ヘッドディップまでの時間

図4にホールボード試験中、初めてヘッドディップを行うまでにかかった時間の平均時間と標準偏差を示した。縦軸は初発ヘッドディップまでの平均時間、横軸は群を示している。偽損傷群の被験体のうち、1匹はヘッドディップを行わなかったためデータ分析から除外し、7匹分の平均値を用いた。結果、損傷群は100.25秒、偽損傷群は52.86秒、統制群は51.38秒であり、損傷群が他の群よりも初発ヘッドディップまでの時間が長かった。1要因の分散分析を行ったところ、群の主効果が有意傾向であった ($F(2,20) = 3.16, p < .10$)。

4. outside領域の滞在時間 (比率)

図5にホールボード装置のoutside領域にいた時間を比率に換算し、平均時間と標準偏差を示した。縦軸は平均滞在時間 (比率)、横軸は群を示している。1要因の分散分析を行ったところ、群の主効果はみられなかった ($F(2,21) = 2.99, n.s.$)。よって、どの群もoutside領域にいた時間の比率に差はなかったといえる。

5. outside領域の移動距離 (比率)

図6にoutside領域の移動距離を比率に換算し、平均移動距離と標準偏差を示した。縦軸は平均移動距離 (比率)、横軸は群を示している。それぞれの群がホールボード装置のoutside領域で移動していた距離の比率は、損傷群が82.48%、偽損傷群が82.98%、統制群

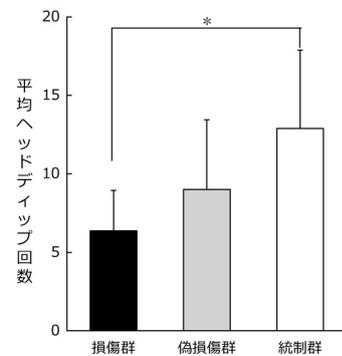


図3 平均ヘッドディップ回数(±SD)
(*: $p < .05$)

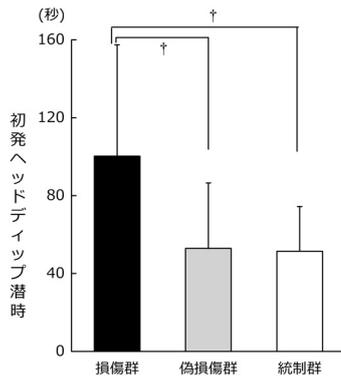


図4 初発ヘッドディップまでの時間(±SD)
(†: $p < .10$)

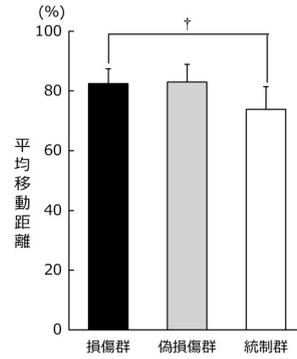


図6 outside領域の平均移動距離比率(±SD)
(†: $p < .10$)

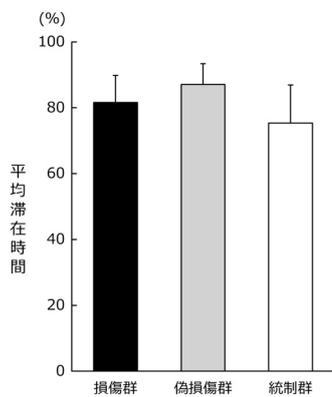


図5 outside領域の平均滞在時間比率(±SD)

が73.85%であり、統制群と比較して損傷群と偽損傷群の比率が高かった。1要因の分散分析を行ったところ、群の主効果がみられた ($F(2,21) = 4.65$, $p < .05$)。さらに多重比較を行ったところ、統制群と偽損傷群の間に有意な差がみられた ($p < .05$)。また、統制群と損傷群の間に有意な傾向がみられた ($p < .10$)。

考察

本実験ではラットの線条体に注目し、その中でも情動を司っているとされる尾状核損傷を行うことで先行研究同様の走触性はみられるのか、またそれが情動性の変化によるものであるかどうかを検証することを目的として実験を行なった。先行研究において、水迷路以外の実験による検証が必要であると述べられているため(高濱・一谷, 2000)、情動性だけでなく走触性や空間学習能力についても観察することが期待できるホールボード試験を用いて実験を行った。

実験の結果、ホールボード試験中の移動距離は損傷

群が有意に多かった。このことは線条体を損傷する事によって情動の変化が起きた可能性と、線条体を損傷することで多動な行動をとるようになった可能性が考えられる。また、ヘッドディップ回数を測定したところ、統制群よりも損傷群の方がヘッドディップをした回数が少なく、さらに初めてヘッドディップするまでの時間も損傷群が最も長かった。これは頭部の傷口が原因とも考えられるが、同じ状態であった偽損傷群の結果と比較すると統制群との有意な差がみられないことから、損傷群の情動性が変化し不安状態が高くなったためにヘッドディップが抑制されたと考えられる。

移動距離やそれぞれのエリア滞在時間を1分ごとに分けて分析を行った結果、outside領域とinside領域の滞在時間には有意差がみられたが、群間の差はなかった。よって、どの群も時間経過に伴い移動距離が減少しており、このことから空間記憶が形成されずに絶えず装置内を動き回っていた様子は見られなかったため空間学習障害は起きていなかったと考えられる。

outside領域における移動距離や滞在時間を測定時間全体で分析したところ、滞在時間の比率では群間に差は見られなかった。しかし移動距離の比率においては損傷群が統制群よりも移動距離が多かった。よって損傷群がoutside領域において、よりたくさんの移動を行っていたと考えられ、これは予想していた走触性であった可能性が考えられる。

損傷部位の確認において、統制群や偽損傷群に尾状核の損傷はみられず、また損傷群には尾状核以外の損傷はみられなかった。このことから、損傷群にみられた行動やそれぞれの結果の差は尾状核損傷によるもの

であると考えられる。

本実験の結果より、統制群よりも損傷群においてヘッドディップ回数が抑制されていることから、損傷群は不安が高くなったと考えられ、また1分ごとの移動距離はすべての群において時間経過による減少がみられたことや、エリア滞在時間にはどの群も差がみられなかったことから、空間学習障害が考えられないことが明らかとなった。今回の実験で損傷群にみられた走触性は、尾状核損傷によって情動性が変化し、不安が高くなったために見られた可能性が示唆された。

過去の実験において、他の脳内部位と同様に尾状核についてもその機能と行動における役割について明らかにしようという試みが様々な手法を用いて行われてきた。ごく初期の実験では、尾状核および被殻が運動や抑制に関与していることを示そうとしたものが多かったが、最近の報告においては線条体、とくに尾状核へ大脳新皮質や大脳辺縁系などからの興奮性入力があることが明らかになってきたために、記憶や学習、情動などに関与していると考えられている前頭葉 (frontal lobe) や海馬 (hippocampus) などとの役割が比較されることが多くなってきた。

Winocur & Mills (1969) は、2つに分けられた箱を用いた尾状核損傷実験において、電撃を回避する一方向の回避学習への阻害がみられなかったことを報告した。その後Winocur (1974) は、同じ側の尾状核でも背側部の損傷は阻害効果が無いのに対し、腹側部では阻害効果がみられたという結果報告を行った。よって、尾状核は部位によって働きが異なっていることが判明した。また、尾状核の頭部と中心部では入力を受けている視床の核が異なっていることが報告されている (Sato, Itoh & Mizuno, 1979)。このことから、今回の実験結果を考えると、滞在時間などにおいて統制群と損傷群に明確な差が出なかったのは、損傷部位が尾状核内で微妙に異なっていたことによる抑制などの効果の違いではないかと考えられる。よって今後の実験を実施する際は、損傷部位に大きな差がない被験体のデータを用いて分析することが好ましいと考えられる。

引用文献

- Amalric, M., & Koob, G.F. (1987). Depletion of dopamine in the caudate nucleus but not nucleus accumbens impairs reaction-time performance in rats. *The Journal of Neuroscience*, 7, 2129-2134.
- 福田正治 (2003). 感情を知る 感情学入門. ナカニシヤ出版.
- 福田尚久・宮本政臣・成実重彦・永井康雄・島高・名川雄児 (1979). Thyrotropin-releasing hormone (TRH) : 一側線条体破壊動物におけるDopamine性旋回運動増強ならびにTRH自体の旋回運動作用 日本薬理学雑誌, 75, 251-270.
- Kamei, J., Ohsawa, M., Tsuji, M., Takeda, H., & Matsumiya, T. (2001). Modification of the Effects of Benzodiazepines on the Exploratory Behaviors of Mice on a Hole-Board by Diabetes. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 86, 47-54.
- Masuda, Y., & Iwasaki, T. (1984). Effects of caudate lesions on radial arm maze behavior in rats. *Japanese Psychological Research*, 26, 42-49.
- Packard, M. G., Cahill, L., & McGaugh, J. L. (1994). Amygdala modulation of hippocampal-dependent and caudate nucleus-dependent memory processes. *Neurobiology of learning and memory*, 91, 8477-8481.
- Packard, M. G., & McGaugh, J. L. (1996). Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of learning and memory*, 65, 65-72.
- Paxinos, G., & Watson, G. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. New York: Academic Press.
- Sato, M., Itoh, K., & Mizuno, N. (1979). Distribution of thalamo-caudal neurons in cat as demonstrated by horseradish peroxidase. *Experimental Brain Research*, 34, 143-153.
- 高濱祥子・一谷幸男 (2000). 線条体カイニン酸損傷ラットのモリス水迷路学習障害 心理学研究, 70, 469-476.
- 辻稔・宮川和也・竹内智子・武田弘志 (2007). 一般行動および抑うつ様行動の評価法 日本薬理学雑誌, 130, 97-104.
- Winocur, G., & Mills, J. A. (1969). Effects of caudate lesions on avoidance behavior in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 68, 552-557.
- Winocur, G. (1974). Functional dissociation within the caudate nucleus of rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*

Psychology, 86, 432-439.

Yamaguchi, K., Nabeshima, T., & Kameyama, T. (1986).

Role of dopaminergic and gabaergic mechanisms in discrete brain areas in phencyclidine-induced locomotor stimulation and turning behavior. *Journal of Pharmacology-Bio-Dynamics*, 9, 975-986.

山口拓・吉岡充弘 (2007). 不安関連行動の評価法 日本薬理学雑誌, 130, 105-111

山本昌司 (1987). インビボ・ポルタメトリーによるペンチレンテトラゾール誘発発作中の脳内神経伝達物質の経時的変動に関する研究 岡山医学会雑誌, 99, 33-47.

要 約

情動とは、客観的に捉える事が出来る感情の下位概念の事であり、情動を司る脳部位として、視床下部や前頭葉が挙げられる。線条体は尾状核と被殻に分類され、尾状核が情動などの精神系機能に関与していると考えられている。本実験の目的は、線条体の中でも尾状核を損傷し走触性が見られるか、またそれが情動性の変化によるものかどうかを検討した。実験の結果、損傷群は統制群よりもヘッドディップ回数が少なく、初めてヘッドディップするまでの時間が長かった。実験結果より、尾状核破壊によって情動性が変化し、不安状態が高くなった為にヘッドディップの回数が少なくなったと考えられる。また、総移動距離と総移動距離比率は、統制群よりも損傷群の方が多かった。しかし、滞在時間や滞在比率に群間の差は見られなかったことから、損傷群が外側エリアに多くおり、そこでの移動によって走触性が見られたと考えられる。

キーワード：情動，尾状核，走触性，ラット

