

141. 快・不快を司る神経回路メカニズムの解明

人羅 菜津子

北海道大学 大学院薬学研究院 薬理学研究室

Key words : 神経科学, 扁桃体, 報酬学習

緒 言

生物は、絶えず揺れ動く情動とともに生きている。栄養価の高い食べ物を食べると喜びを感じ、危険なものや有害なものに遭遇すると恐怖を感じる。このように、生存に有利な状況（報酬刺激）は快情動と、生存に不利な状況（嫌悪刺激）は不快情動と結び付き、生物が適応的に生存するための原動力となっている。

扁桃体外側基底核（BLA）は情動に関わる情報伝達において重要な脳領域である。BLA は報酬学習にも嫌悪学習にも関与することが知られている。形成する神経回路や遺伝子発現パターンなどによって区別可能な BLA 内の異なる細胞集団が、快あるいは不快情動を担うことが示唆されているが、結論には至っていない^{1,2)}。本研究は、報酬学習時の神経活動をリアルタイムで観察・解析し、BLA の神経活動がどのように変化するかを解明することを目的とした。

方 法

1. 行動実験課題

前日から食事制限をおこなったマウスにおいて、手がかりとなる音（CS、1000Hz or 8000Hz、4 秒）と報酬（スクロース水）の関係を学習させた。報酬学習においては、片方の音（CS+）の鳴った 0.5 秒後にポートからスクロース水を与えた。他方の音（CS-）の後にはスクロース水を与えなかった。テストにおいては、CS+ の鳴った後にスクロース水を与えず、音が報酬の手がかりではなくなったことを学習させた。赤外線センサーにより licking 行動を計測した。CS 後 0.5 秒以内であれば anticipatory licking、0.5 秒後以降であれば consummatory licking とした。

2. ファイバーフォトメトリー法

BLA に AAV-Syn-GCaMP6m を投与し、BLA および側坐核（NAc）の上部に光ファイバーを埋め込んだ。4 週間後に行動試験をおこなった。470 nm の波長の光を照射してカルシウムイオン濃度依存的な蛍光を観察し、410 nm の波長の光を照射して得られるカルシウムイオン濃度非依存な蛍光に対する比を算出した³⁾。

結 果

1. 報酬学習により、CS+ に対して licking 行動を示した

音と報酬の条件づけ学習をおこなった。マウスに 2 種類の音を聞かせ、一方の音（CS+）の鳴った 0.5 秒後にスクロース水を与えた。他方の音（CS-）の後にはスクロース水を与えなかった。学習が成立すると、マウスはスクロース水が与えられることを予測して、CS+ の直後（0.5 秒以内）に anticipatory licking 行動を示すようになった。CS- に対する anticipatory licking 行動の割合は CS+ に比べて低かった。CS+ において観察された 0.5 秒後以降の licking はスクロースを摂取するための consummatory licking であると考えられる（図 1）。

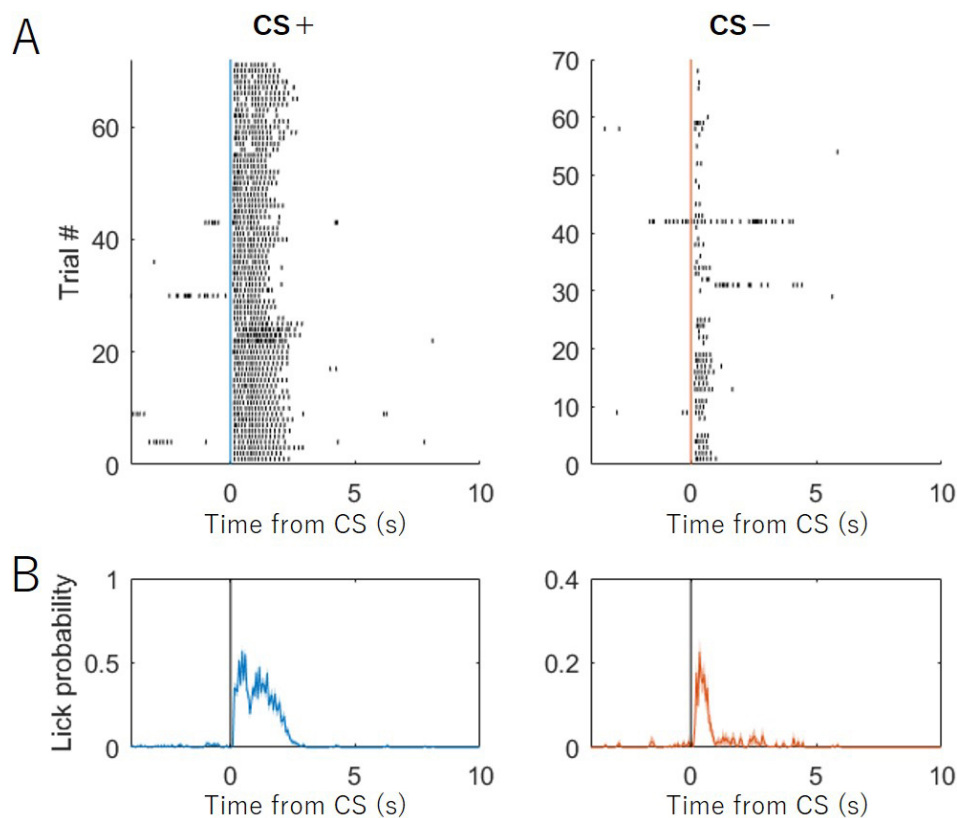


図 1. 報酬学習時の licking 行動

- A) CS+ および CS- に対する各トライアルでの licking 行動のラスタープロット。
 B) CS+ および CS- に対する licking 行動の確率。

2. 扁桃体神経細胞は音に対して活性化した

報酬学習時の BLA 神経細胞の活動をファイバーフォトメトリー法により観察した (図 2A)。CS+ に対しては、anticipatory licking および consummatory licking のタイミングと一致する 2 つのピークが認められた。CS- に対しては consummatory licking のタイミングと一致する 2 つ目のピークは認められず、anticipatory licking のタイミングと一致する 1 つ目のピークの大きさは CS+ に比べて小さかった。さらに、同一個体の NAc において蛍光強度を測定することにより、BLA-NAc 経路の活動を観察した (図 2B)。BLA-NAc 経路においても、CS+ に対して 2 つのピークが認められた。

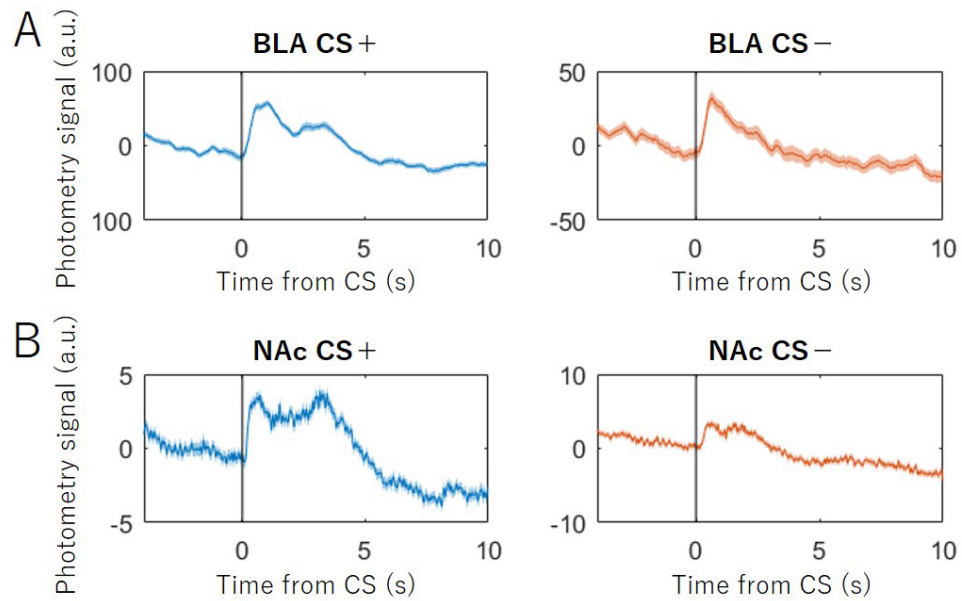


図2. 報酬学習時の神経活動

A) CS+ (左) および CS- (右) 提示時の BLA 細胞の活動。

B) CS+ (左) および CS- (右) 提示時の NAc における BLA 神経終末の活動。

3. テスト時にも扁桃体神経細胞は音に対して活性化した

学習成立後に、CS+ を聞かせるがスクロースは与えないというテストセッションをおこなった。テスト初期の Trial では anticipatory licking を示したが、trial を重ねるとマウスはスクロースが与えられないことを新たに学習し、licking をおこなわなくなった (図 3A)。この時、BLA 神経細胞および BLA-NAc 経路は CS に対して anticipatory licking のタイミングと一致するタイミングで活動が認められた (図 3C、D)。

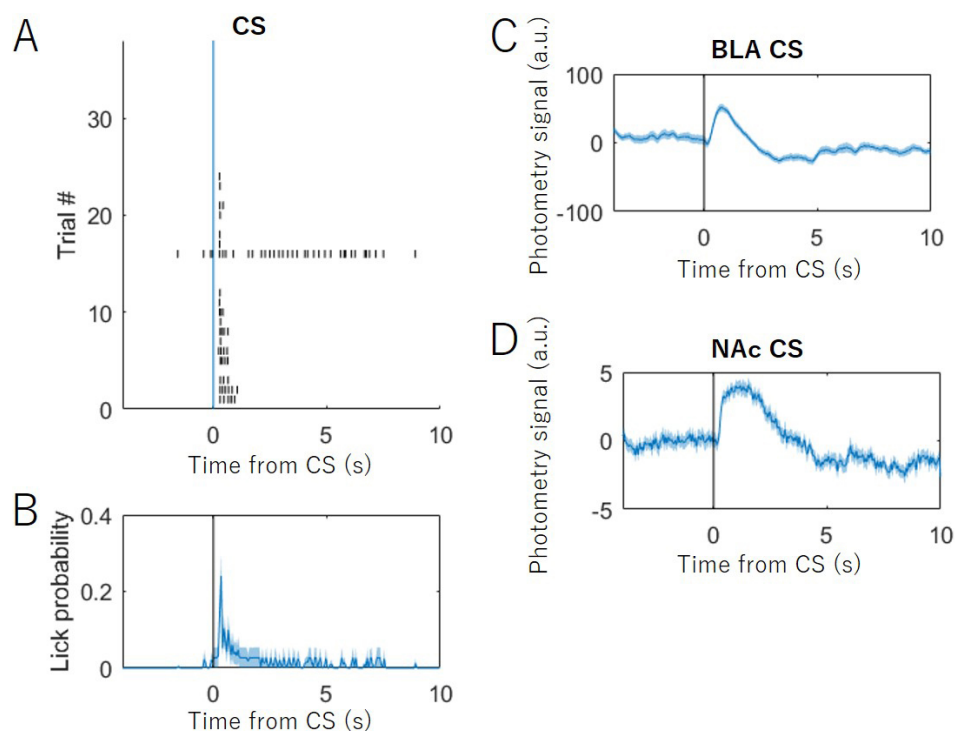


図 3. テスト時の licking 行動と神経活動

- A) CS に対する各トライアルでの licking 行動のラスタープロット。
- B) CS に対する licking 行動の確率。
- C) CS 提示時の BLA 細胞の活動。
- D) CS 提示時の NAc における BLA 神経終末の活動。

考 察

本研究から、報酬学習時に扁桃体が anticipatory licking および consummatory licking に対応した神経活動を示すことが示唆された。今後は、神経回路あるいは遺伝子発現パターンに基づいて細胞集団を区別し、学習時の神経活動を明らかにしていく予定である。

共同研究者

本研究の共同研究者は、米国 Massachusetts Institute of Technology, The Picower Institute for Learning and Memory の Kay Tye 博士である。本稿を終えるにあたり、本研究を御支援いただきました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Namburi P, Beyeler A, Yorozu S, Calhoon GG, Halbert SA, Wichmann R, Holden SS, Mertens KL, Anahtar M, Felix-Ortiz AC, Wickersham IR, Gray JM, Tye KM. A circuit mechanism for differentiating positive and negative associations. *Nature*. 2015 Apr 30;520(7549):675-8. doi: 10.1038/nature14366. PubMed PMID: 25925480; PubMed Central PMCID: PMC4418228.
- 2) Kim J, Pignatelli M, Xu S, Itohara S, Tonegawa S. Antagonistic negative and positive neurons of the basolateral amygdala. *Nat Neurosci*. 2016 Dec;19(12):1636-1646. doi: 10.1038/nn.4414. Epub 2016 Oct 17. PubMed PMID: 27749826.
- 3) Kim CK, Yang SJ, Pichamoorthy N, Young NP, Kauvar I, Jennings JH, Lerner TN, Berndt A, Lee SY, Ramakrishnan C, Davidson TJ, Inoue M, Bito H, Deisseroth K. Simultaneous fast measurement of circuit dynamics at multiple sites across the mammalian brain. *Nat Methods*. 2016 Apr;13(4):325-8. doi: 10.1038/nmeth.3770. Epub 2016 Feb 15. PubMed PMID: 26878381.