

論文

ラットのオープンフィールド行動に及ぼす 扁桃体中心核損傷の効果

Effects of lesions in the central nucleus of
the amygdala on open-field behavior in rats

田積 徹*・岡市広成**

Tooru Tazumi & Hiroshige Okaichi

* 聖泉大学人間学部人間心理学科

**同志社大学文学部心理学科

要 約

本研究は、扁桃体中心核が無条件性（非学習性）恐怖反応の表出に関係するのかを明らかにすることを目的とし、無条件性恐怖の指標であるオープンフィールド中央部での活動性を扁桃体中心核損傷ラット ($n=8$, AMY-C群) と統制ラット ($n=8$, CONT群) で比較した。その結果、オープンフィールド中央部での滞在時間や進入回数において、AMY-C群とCONT群に有意な差は認められなかった。この結果は扁桃体中心核が無条件性の恐怖反応の表出に関係しないことを示唆する。扁桃体中心核損傷により恐怖条件づけの獲得が障害されることを報告している先行研究と本研究の結果に基づいて、恐怖条件づけにおける扁桃体中心核の役割について考察する。

Key Words : 扁桃体中心核, 恐怖の古典的条件づけ, 無条件性の恐怖反応

ラットやウサギなどを被験体に用いて、恐怖の古典的条件づけに関する脳内経路が明らかにされてきた (Kapp, Silvestri, & Guarraci, 1998などを参照)。この脳内経路を構成する脳部位の中で、扁桃体中心核は恐怖反応の表出に関するさまざまな脳部位に学習性の情報を中継すると考えられている (Berg & Davis, 1985; Davis, Campeau, Kim, & Falls, 1995; LeDoux, 1998)。

たとえば, LeDoux, Iwata, Cicchetti, & Reis (1988) は, フリージング反応に関する中脳中心灰白質の損傷後に恐怖条件づけを行うと, CSの呈示に対してフリージング反応は生じないが, 血圧は増加すると報告している。反対に, 血圧の増加に関する視床下部外側野を損傷すると, 血圧は増加しないが, フリージング反応は生じると報告している。一方, 恐怖条件づけの前あるいは後に扁桃体中心核を損傷すると, 心臓血管系の反応 (Kapp, Frysinger, Gallagher, & Haselton, 1979; Sananes & Campbell, 1989) やフリージング反応 (Kim, Rison, & Fanselow, 1993; McNish, Gewirtz, & Davis, 1997) が生じないと報告されている。これらの結果は, 中脳中心灰白質や視床下部外側野は恐怖反応の表出に関係し, 中脳中心灰白質と外側の視床下部の両部位に投射する扁桃体中心核 (Beitz, 1982; Morgenson & Calaresu, 1973; Post & Mai, 1980) が学習性の情報の中継に関係することを示唆する。しかしながら, これらの結果だけでは, 扁桃体中心核が学習性の情報の中継に関係すると結論づけることはできない。なぜなら, 扁桃体中心核が恐怖反応の表出に中枢的な役割を果たしているかもしれないからである。また, 行動学的研究は, 扁桃体中心核の損傷によってフリージング反応や心臓血管系の反応以外の条件性恐怖反応の獲得も妨げられると報告している (LeDoux, 1998などを参照)。しかし, これらの結果も扁桃体中心核が学習性の情報の中継に関係するという証拠としては不十分である。なぜなら, 扁桃体中心核の損傷によって恐怖反応の表出が障害されていれば, 条件性恐怖を獲得していたとしても, 恐怖反応は表出しない。逆に, 条件性恐怖の獲得が障害されていれば, 恐怖反応の表出が可能であっても, 条件性恐怖反応は表出しないと考えられるからである。

恐怖条件づけにおいて、扁桃体中心核が学習性の情報の中継に関係するのか、それとも恐怖反応の表出に関係するのかを明らかにするには、無条件性の恐怖反応が生じる事態で扁桃体中心核損傷ラットの行動を調べる必要がある。最近、非常に明るい光刺激（約50000 lux）をラットに呈示した後に、大きな音を与えた時に起こる驚愕反射の強度が、それほど明るくはない光刺激（約50 lux）を呈示したときに誘発された驚愕反射の強度よりも増加し、この増加は無条件性の恐怖反応と考えられている（Richardson, 2000; Walker & Davis, 1997a）。そして、Walker & Davis (1997b)はこのパラダイムを用いて、扁桃体中心核が無条件性の恐怖反応の表出に関係しないことを明らかにしている。しかしながら、扁桃体中心核が無条件性の恐怖反応の表出に関係しないと結論を下すには、無条件性の恐怖反応が表出するさまざまな事態において扁桃体中心核損傷の効果を検討する必要がある。Treit & Fundytus (1989)は、抗不安薬（ジアゼパム、クロルジアゼポキシド、ペントバルビタール）をラットに投与し、オープンフィールドでの行動を調べた。その結果、一般的な活動性（運動、立ち上がり行動、匂い嗅ぎ行動）は低下せず、オープンフィールドの側壁周辺以外の中央部での滞在時間が増加した。この結果は、オープンフィールドの中央部での活動性が無条件性の恐怖の指標になることを示唆する。

そこで本研究では、オープンフィールドの中央部での活動性に対する扁桃体中心核損傷の効果を調べ、恐怖の古典的条件づけにおいて、扁桃体中心核が学習性の情報の中継に関係するのか、それとも恐怖反応の表出に関係するのかを明らかにすることを目的とした。

方 法

被 験 体

実験経験のないWistar系albinoラットの雄16匹を使用した。各ラットは実験開始時には生後約60日齢であり、平均体重は241.3g ($SD=9.9g$)であった。実験期間中、各ラットを水と餌が自由に摂取できるケージに個別に入れ、12

時間ごとの明暗サイクル（午前7時に点灯，午後7時に消灯）の飼育室（室温25℃）で飼育した。

装 置

底面が60cm×60cmで，高さが40cmの木製のオープンフィールドを使用した。底面を縦横ともに10cmごとの区切り線で分けし（計36区画），壁沿いの区画を周辺区画（20区画），それ以外を中央区画（16区画）とした。ラットの行動を記録するために，ビデオカメラを使用した。

手 続 き

1日5分間のハンドリングを5日間行った2日後に，体重でカウンターバランスをとり，扁桃体中心核損傷群8匹（以下，AMY-C群），無処置統制群8匹（以下，CONT群）に配分した。AMY-C群には扁桃体中心核の損傷手術を行った。3～4日間の回復期間の後，オープンフィールドセッションを開始し，1日1セッションで，3日間連続で行った。1セッションは，オープンフィールドの四隅の区画の1つにラットを置き，10分間自由に行動させることであった。

測度および信頼性の検討

実験者がビデオテープを見て，ラットの行動を数量化した。両前脚が区切り線を越えれば区画移動行動とし，中央区画での滞在時間と進入回数を測定した。さらに，活動量として移動した総区画数を数えた。実験者が数量化した測度の信頼性を確かめるために，実験者以外の評定者に数量化させ，それぞれの測度について，実験者と評定者間のピアソンの積率相関係数を算出した。その結果，中央区画での滞在時間，進入回数，総移動区画数のそれぞれの相関係数は， $r=.94$ ， $.96$ ， $.99$ であった。

手 術

AMY-C群には扁桃体中心核を熱破壊する手術を行った。被験体をsodium pentobarbital（50mg/kg）の腹腔内注射により麻酔した後，atropine sulfate（.10mg）を腹腔内注射し，bregmaとlambdaを水平にして頭部を脳定位固定装置（David Kopf社製）に固定した。扁桃体中心核の熱破壊は，bregmaか

ら AP = -1.9mm, LM = ±3.8mm, 硬膜面から DV = -7.4mm と AP = -2.5mm, LM = ±4.1mm, DV = -7.4mm の 4箇所 に電極を刺入し, 脳損傷装置 (Radionics社製 RFG-4A) により, 電極先端部 (直径0.5mm, 長さ1.0mm) を 48°C で 60秒間保ち損傷した。電極を差し込む位置は, Paxinos & Watson (1997) の脳図譜を参考にして決定した。

実験終了後, 被験体を 20% 抱水クロラール投与による深麻酔下におき, 10%ホルマリンで灌流を行い, 脳を摘出した。脳をゼラチン処理した後, 滑走式電気凍結マイクロトームを用いて凍結薄切し, 40 μm の冠状切片を得た。その切片をニッスル染色法で染色し, 標本を作成した後, 光学顕微鏡下で損傷部位の検索を行った。

結 果

組織学的結果

AMY-C群のすべてのラットにおいて, 両側とも損傷が扁桃体中心核に及んでいたが, 損傷の広がり方は異なっていた。Figure 1 は最大と最小の損傷例を Paxinos & Watson (1997) の脳図譜上に示したものである。扁桃体以外の脳部位への損傷は, 尾状核, 外側と内側の淡蒼球, 内包, 視床の網様核, 視神経などの一部に広がっていた。さらに, 中心核以外の扁桃体神経核への損傷は, 内側核の吻側部と尾側部の背側領域に及んでいた。

行動学的結果

Figure 2 の A-C は, 各群の中央区画での滞在時間, 中央区画への進入回数および総移動区画数の平均値を示したものである。中央区画での滞在時間 (Figure 2-A) では, 第 1, 第 2 セッションにおいて, AMY-C群は CONT群よりも中央区画での滞在時間が長かった。第 3 セッションでは AMY-C群よりも CONT群の方が長く中央区画に滞在した。群 (AMY-C群と CONT群) を被験体間要因とし, セッション (第 1 ~ 第 3 セッション) を被験体内要因とする 2 要因の分散分析を行った結果, 群とセッションの主効果, および群 × セッションの交互作用は有意ではなかった。中央区画への進入回数 (Figure

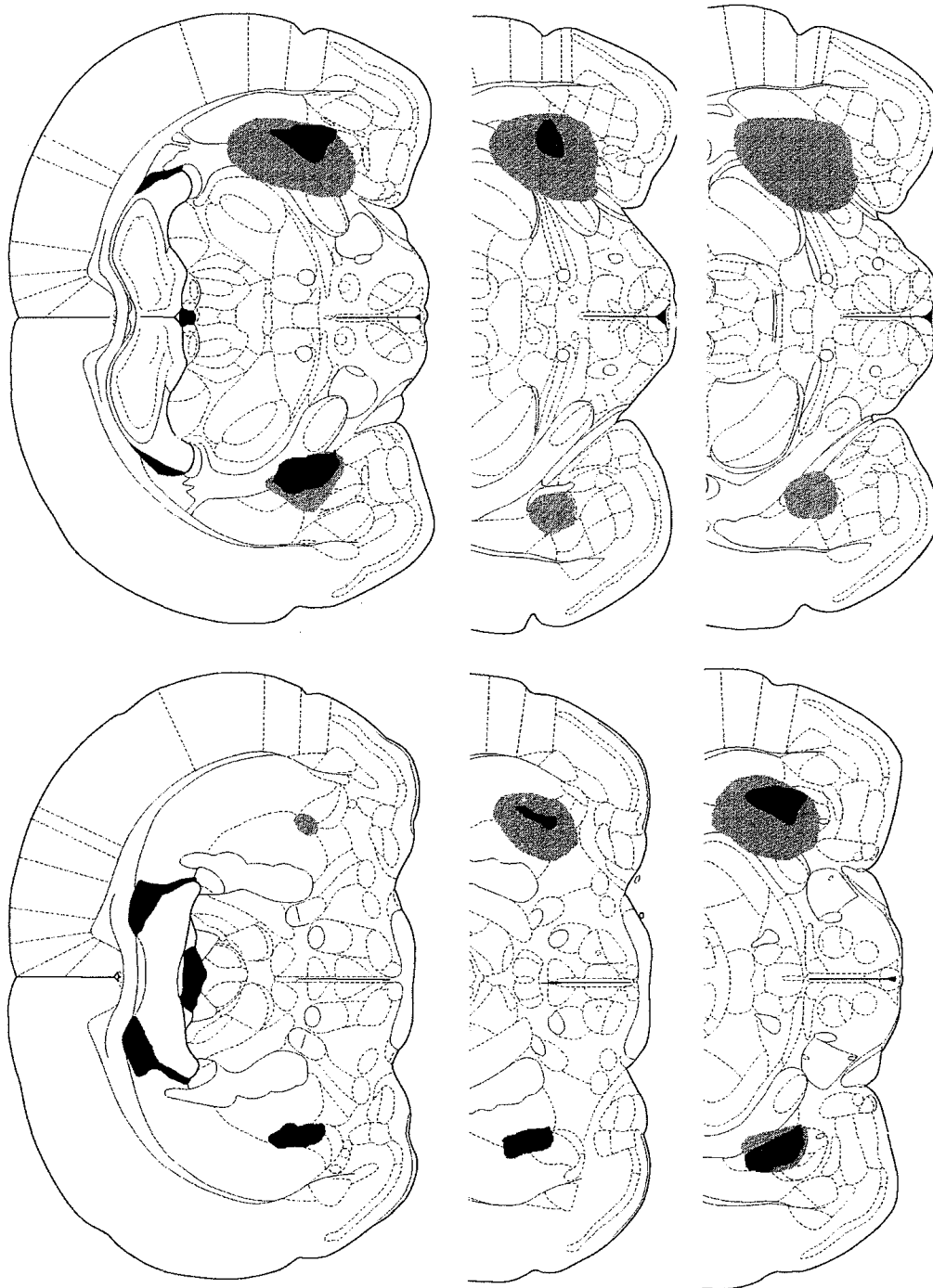


Figure 1 Minimal (black) and maximal (grey) extent of the lesions in the central nucleus of the amygdala. Serial plates were taken from the atlas of Paxinos & Watson (1997).

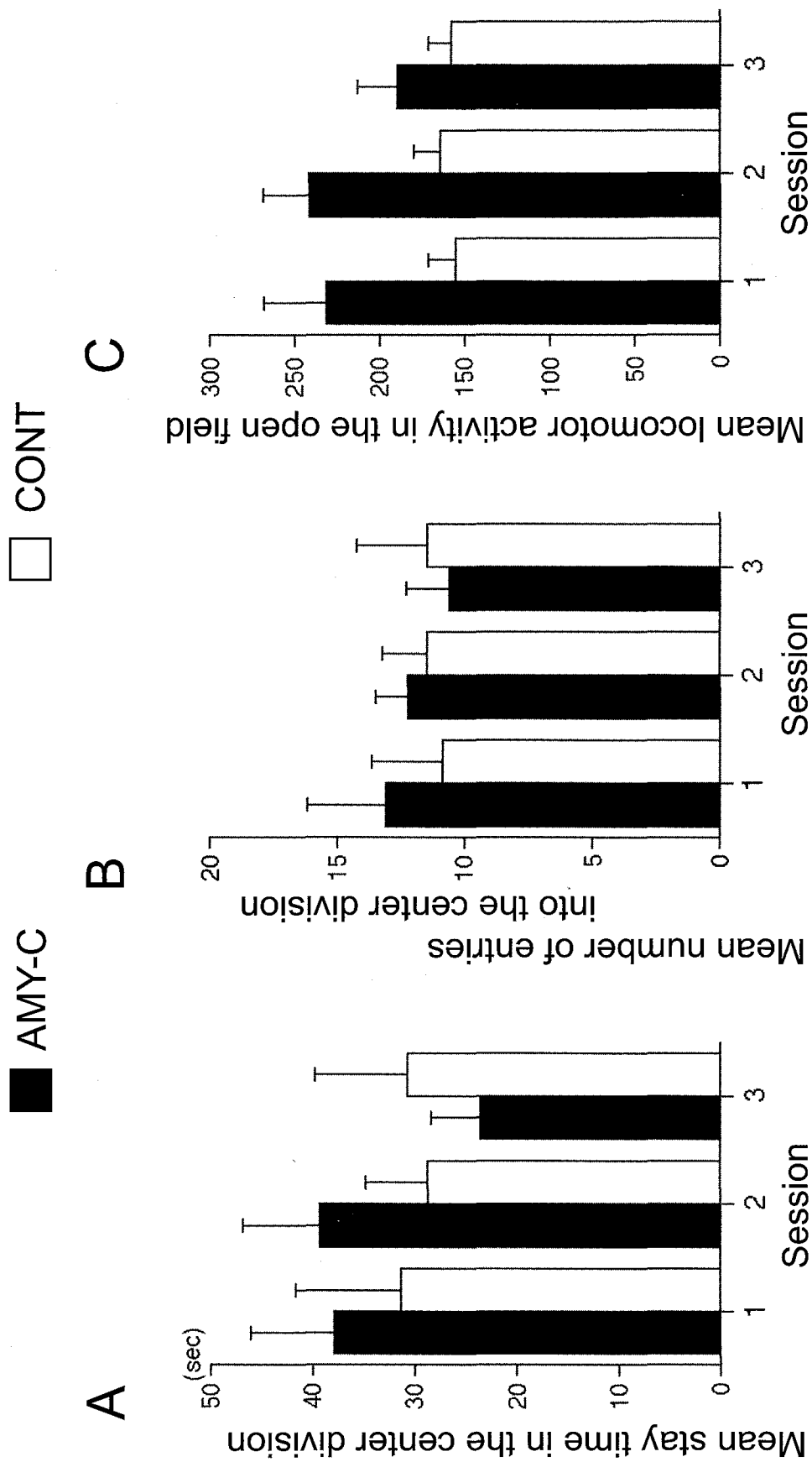


Figure 2 Comparison of open field behaviors between the rats with the lesions in the central nucleus of the amygdala (AMY-C) and control rats (CONT). A: stay time in the center division of the open field (mean \pm SEM). B: number of entries into the center division (mean \pm SEM). C: locomotor activity in the open field (mean \pm SEM).

2-B) では、第1セッションにおいて、AMY-C群はCONT群よりもわずかに進入回数が多かった。第2, 第3セッションでは群間に進入回数に違いはなかった。分散分析を行った結果, 主効果, 交互作用ともに有意ではなかった。

一方, 総移動区画数 (Figure 2-C) では、第1, 第2セッションにおいて、AMY-C群はCONT群よりも移動した区画数が多かった。第3セッションにおいても、AMY-C群はCONT群よりも移動した区画数がわずかに多かった。分散分析を行った結果, 群とセッションの主効果に有意な傾向が認められた ($F(1,14) = 4.41, p < .06$; $F(2,28) = 2.52, p < .10$) が, 交互作用は有意ではなかった。

考 察

本研究では、不安や恐怖の指標と考えられているオープンフィールド中央部での滞在時間や進入回数において、扁桃体中心核損傷ラットと統制ラットに違いは認められなかった。これは、扁桃体中心核が無条件性の恐怖反応の表出に関係しないことを示唆する。本研究の結果は、扁桃体中心核のAMPA型レセプターが無条件性の恐怖反応の表出に関係しないことを指摘している先行研究 (Walker & Davis, 1997b) の示唆を、単に扁桃体中心核のAMPA型レセプターのみならず、扁桃体中心核そのものが無条件性の恐怖反応の表出に関係しないということにまで拡張したといえる。本研究と先行研究 (Walker & Davis, 1997b) の結果から、扁桃体中心核損傷ラットの恐怖の古典的条件づけの障害が無条件性の恐怖反応の表出障害によるものではなく、学習性の情報の中継が障害されたことが原因である可能性が高いと考えられる。

オープンフィールドでの移動区画数について、扁桃体中心核損傷ラットは統制ラットよりも活動量が多く、多動性を示す傾向が認められた。この結果は、扁桃体損傷ラットがオープンフィールドにおいて、多動性を示すと指摘している先行研究の結果 (Corman, Meyer, & Meyer, 1967; Schwartzbaum & Gay, 1966) と一致した。先行研究では、扁桃体全体を損傷している。こ

のことから、本研究において損傷の効果が有意な傾向にとどまったのは、扁桃体中心核だけを損傷したためかもしれない。

Blanchard & Blanchard (1972) は、ラットにとって生得的な恐怖誘発刺激であるネコを用いて、扁桃体の皮質核と内側核が損傷されたラットがネコと対峙したときの行動を調べた。その結果、損傷ラットはネコと対峙してもフリージング反応を示さず、ネコに対して接触行動を示したと報告している。この結果は、扁桃体の皮質核と内側核が無条件性の恐怖反応の表出に関係するのかもしれない。一方、Walker & Davis (1997b) は、無条件性の恐怖反応と考えられている非常に明るい光刺激に対する驚愕反射強度の増加において (Richardson, 2000; Walker & Davis, 1997a), 基底外側核群にAMPA型レセプターのアンタゴニストであるNBQX (2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulphamoylbenzo (F)-quinoxaline) を投与したラットが驚愕反射強度の増加を示さなかったと報告している。加えて、基底外側核群は、恐怖反応の表出に関係するさまざまな脳部位と神経連絡を持つ分界条の床核に投射すると報告されている (Alheid, De Olmos, & Beltramino, 1995)。これらの結果は、扁桃体の基底外側核群が無条件性の恐怖反応の表出に関係することを示唆する。これらの先行研究と本研究の結果から、無条件性の恐怖反応の表出に扁桃体中心核は関係しない可能性が高いと考えられるが、それに関係する扁桃体神経核については、一致した結果が得られておらず、結論を下すことはできない。しかしながら、無条件性の恐怖刺激が視覚的なものであるのか、それとも嗅覚的なものであるのかといった刺激のモダリティーの違いが、このような結果をもたらしたと推測することは可能である。たとえば、ラットを捕食する動物の匂いが、ラットに無条件性の恐怖反応を引き起こす刺激として作用する可能性が指摘されている (Richardson, 2000; Wallace & Rosen, 2000)。そして、扁桃体の皮質核と内側核は嗅覚情報を受けとる (上野・小野, 1997)。このことから、Blanchard & Blanchard (1972) の実験において、扁桃体の皮質核と内側核を損傷したラットがネコに対して接触行動を示したのはネコの匂いに対して無条件性の恐怖反応を示さなかったことが原因かも

しれない。一方, Walker & Davis (1997b) の実験において, 基底外側核群にNBQXを投与したラットが, 非常に明るい光刺激に対して驚愕反射強度の増加を示さなかったのは視覚情報の扁桃体への伝達が阻害されたことが原因かもしれない。今後, さまざまなモダリティーの無条件性の恐怖刺激を用いて, 無条件性の恐怖反応の表出に及ぼす扁桃体神経核損傷の効果を検討する必要がある。

引用文献

- Alheid, G. F., De Olmos, J. S., & Beltramino, C. A. (1995). Amygdala and extended amygdala. In G. Paxinos (Ed.) , *The rat nervous system*. London: Academic Press. Pp.495-578.
- Beitz, A. J. (1982). The organization of afferent projections to the midbrain periaqueductal gray of the rat. *Neuroscience*, 7, 133-159.
- Berg, W. K., & Davis, M. (1985). Associative learning modifies startle reflexes at the lateral lemniscus. *Behavioral Neuroscience*, 99, 191-199.
- Blanchard, D. C., & Blanchard, R. J. (1972). Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 81, 281-290.
- Corman, C. D., Meyer, P. M., & Meyer, D. R. (1967). Open- field activity and exploration in rats with septal and amygdaloid lesions. *Brain Research*, 5, 469-476.
- Davis, M., Campeau, S., Kim, M., & Falls, W. A. (1995). Neural systems of emotion: The amygdala's role in fear and anxiety. In J. L. McGaugh, N. M. Weinberger, & G. Lynch (Eds.) , *Brain and memory: Modulation and mediation of neuroplasticity*. New York: Oxford University Press. Pp. 3-40.
- Kapp, B. S., Frysinger, R. C., Gallagher, M., & Haselton, J. R. (1979). Amygdala central nucleus lesions: Effect on heart rate conditioning in

- the rabbit. *Physiology and Behavior*, **23**, 1109-1117.
- Kapp, B. S., Silvestri, A. J., & Guarraci, F. A. (1998). Vertebrate models of learning and memory. In J. L. Martinez & R. P. Kesner (Eds.) , *Neurobiology of learning and memory*. San Diego: Academic Press, Pp. 289-332.
- Kim, J. J., Rison, R. A., & Fanselow, M. S. (1993). Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short- and long-term contextual fear. *Behavioral Neuroscience*, **107**, 1093-1098.
- LeDoux, J. E. (1998). *The emotional brain: The mysterious underpinnings of emotional life*. London: Weidenfeld & Nicolson.
- LeDoux, J. E., Iwata, J., Cicchetti, P., & Reis, D. J. (1988). Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *Journal of Neuroscience*, **8**, 2517-2529.
- McNish, K. A., Gewirtz, J. C., & Davis, M. (1997). Evidence of contextual fear after lesions of the hippocampus: A disruption of freezing but not fear-potentiated startle. *Journal of Neuroscience*, **17**, 9353-9360.
- Morgenson, G. J., & Calaresu, F. R. (1973). Cardiovascular responses to electrical stimulation of the amygdala in the rat. *Experimental Neurology*, **39**, 166-180.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1997). *The rat brain in stereotaxic coordinates. 3rd ed.* New York: Academic Press.
- Post, S., & Mai, J. K. (1980). Contribution to the amygdaloid projection field in the rat. A quantitative autoradiographic study. *Journal of Hirnforsch*, **21**, 199-225.
- Richardson, R. (2000). Shock sensitization of startle: Learned or unlearned fear? *Behavioural Brain Research*, **110**, 109-117.
- Sananes, C. B., & Campbell, B. A. (1989). Role of the central nucleus

- of the amygdala in olfactory heart rate conditioning. *Behavioral Neuroscience*, **103**, 519-525.
- Schwartzbaum, J. S., & Gay, P. E. (1966). Interacting behavioral effects of septal and amygdaloid lesions in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **61**, 59-65.
- Treit, D., & Fundytus, M. (1989). Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **31**, 959-962.
- 上野照子・小野武年 (1997). 感情(情動)記憶のメカニズム 神経研究の進歩, **41**, 574-589.
- Walker, D. L., & Davis, M. (1997a). Anxiogenic effects of high illumination levels assessed with the acoustic startle response in rats. *Biological Psychiatry*, **42**, 461-471.
- Walker, D. L., & Davis, M. (1997b). Double dissociation between the involvement of the bed nucleus of the stria terminalis and the central nucleus of the amygdala in startle increases produced by conditioned versus unconditioned fear. *Journal of Neuroscience*, **17**, 9375-9383.
- Wallace, K. J., & Rosen, J. B. (2000). Predator odor as an unconditioned fear stimulus in rats: Elicitation of freezing by trimethylthiazoline, a component of fox feces. *Behavioral Neuroscience*, **114**, 912-922.