

原 著

報酬性のUSを用いた
古典的条件づけの行動指標について
—オペラント学習の要素を排除した手続きの考案—

田積 徹¹, 西条寿夫¹, 岡市広成²

¹⁾ 富山医科薬科大学・医学部・生理学

²⁾ 同志社大学・文学部・心理学

Behavioral index of appetitive classical conditioning
—Design of a procedure not including element of operant learning—

Tooru TAZUMI¹, Hisao NISHIJO¹, Hiroshige OKAICHI²

¹ Department of Physiology, Toyama Medical and Pharmaceutical University,
Toyama 930-0194, Japan

² Department of Psychology, Doshisha University, Kyoto 602-8580, Japan

Key words : behavioral index, appetitive classical conditioning,
CS-US association learning

Running Head : 報酬性のUSを用いた古典的条件づけの指標

要 旨

本研究は、刺激と刺激の連合学習の脳内メカニズムを解明するため、オペラント学習の要素を排除した報酬性の刺激を用いた古典的条件づけの手続きを考案することを目的とした。ラットの条件刺激（CS）への接近反応（立ち上がり反応）の生起を阻止する装置を用いて、CSと報酬性の無条件刺激（US）を対呈示する条件づけを行なったラット（COND群）および同装置を用いたが対呈示しなかったラット（RAND群）を、自由に動くことができるテスト条件下でCSへの接近反応が生じるかどうかを検討した。その結果、COND群はCSに対する立ち上がり反応の回数が大きく増加したが、RAND群は増加しなかった。これらの結果から、COND群のCSへの接近反応

の増加は、オペラント学習や時間経過によるものではなく、CSとUSの対呈示によって増加したと考えられる。したがって、オペラント学習の要素を排除したCSへの接近反応が、報酬をUSとした古典的条件づけの指標になることが確かめられた。

Pavlov¹⁾によって開発された古典的条件づけの手続きを用いて、CS-USの連合学習の脳内メカニズムを解明する研究が数多くなされてきた^{2) 3) 4) 5)}。CS-USの連合学習の脳内メカニズムの解明にとって、報酬性のUSと嫌悪性のUSを用いた古典的条件づけに関与するメカニズムが同じであるかどうかを明らかにすることは興味深い問題の1つである。しかし、これら研究において、報酬性のUSは嫌悪性のUSに比べてあまり用いられていない。この理由として、CSと報酬性のUS

方 法

を対呈示する古典的条件づけの手続きを用いた場合、オペラント学習の要素が含まれているため、ある脳部位がどちらの学習に関係しているのかを分離できないからであると考えられる。本研究では、CS-USの連合学習の脳内メカニズムの解明に寄与するために、オペラント学習の要素を排除した報酬性のUSを用いた古典的条件づけの手続きを考案した。

古典的条件づけにおいて、被験体の嫌悪性USの受容過程にはグリッド床から呈示される電気ショックに対する無条件反応だけが含まれる。一方、報酬性のUSである餌や砂糖水の受容過程には、味やうま味などの刺激と摂食するための行動が含まれる⁶⁾。したがって、CSと報酬性のUSを対呈示する古典的条件づけの手続きには、刺激(CS)-反応(オペラント)-刺激(US)といった3項随伴性⁷⁾が含まれる。たとえば、Burns, Everitt, & Robbins⁸⁾は、ラットを被験体にして、CSに光、USに蔗糖液を用いて実験を行った。ラットは光が点灯している間(CS期)にパネルを押すと蔗糖液を得ることができるが、それ以外の期間にパネルを押すとCSの開始が遅れる条件を設定した。条件づけの指標はCS期とそれ以外の期間のパネル押しの比率を用いた。また、Gallagher, Graham, & Holland⁹⁾は、CS(光)とUS(ペレット)の対呈示中に、CSへの立ち上がり反応とCS期中のペレット呈示装置への接近反応を条件づけの指標に用いた。これらの研究において、条件づけの指標として用いられたCS期でのパネル押し行動やペレット呈示装置への接近反応は、オペラント反応である。また、CSが誘因価を獲得するため、CSに対する立ち上がり反応を条件づけの指標になりうるが、条件づけ中にも接近反応が生じており、オペラント学習の要素を含んでいる可能性がある。

そこで、本研究では、Gallagherらの実験条件下での、オペラント学習の要素を排除したCSへの接近反応が古典的条件づけの指標になりうるか検討した。ラットの身体運動を制限する装置を用いてCSとUSを対呈示する条件づけを行い、自由に動くことができる条件下で、CSへの接近反応が生じるかどうかを検討した。

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58日齢であり、平均体重は248.5g ($SD=9.1g$)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°C)で飼育した。

装置および刺激

条件づけを行う装置(図1)は、上部(幅1.7cm)を除き外側に白い紙を巻いた透明アクリル製の円筒(直径6.5cm×長さ23cm)で、円筒の一方の先端にラットの尻尾がでるようにスリットを切ったスライド式の扉を取付け、ラットの入り口とした。もう一方の先端にはペレットディスペンサーと接続した餌皿を取付け、USとして用いる1粒45mgのチーズ味のペレット(BIO-SERV製)の呈示位置とした。餌皿を取付けた円筒の先端から5cm上に、CS呈示用の白熱灯(5W)を取付けた。この装置を使用することで、条件づけ中にCSへ接近するための立ち上がり反応の生起を阻害した。CSとUSの呈示の制御はSYSMAC C-40P(オムロン製)で行った。

条件づけの前後にCSへの接近や立ち上がり反



図1 条件づけ装置

応を測定するためにテスト箱を用いた。テスト箱は幅60cm×奥行き23cm×高さ23cmであり、長い方の側面が透明アクリル製で、短い方の側面がアルミ製であった。床には1.3cm間隔で直径4mmのステンレス製グリッドを設置した。片面が白く、もう片面が黒いアクリル製の仕切り板によって、テスト箱を中央で分け（片側は幅30cm×奥行き23cm×高さ23cm）、一方の部屋の側壁と天井を白いアクリル板で覆い（以下、白い部屋）、もう一方の部屋を黒いアクリル板で覆った（以下、黒い部屋）。仕切り板に、片面が白く、もう片面が黒いアクリル製のギロチンドア（10cm×10cm）を取付けた。各部屋の天井中央部に条件づけ装置に取付けたCSと同じ5Wの白熱灯を設置した。白熱灯は複数の穴のあいた透明プラスチックのカバー（直径4cm×高さ4cm）で覆い、白い部屋の白熱灯だけ点灯した。実験は、マスキングノイズ（ホワイトノイズ, 70dB）下で、暗闇の実験室で行った。

手続き

1日5時間のハンドリングを5日間行った。その後、ラットの体重が400gに達してから給餌制限を行い、85%まで体重が減少した時点で実験を開始した^{※1}。実験は以下の4種類のセッションを1日1セッションで10日間連続で行った。実験中は85%の体重を維持した。

馴致セッション（1日目～4日目） 1日目は、馴れによりペレット（US）に対する摂食反応を生起させるために、ホームケージ内でペレットを与えた。シャーレにペレットを15g入れ、ホームケージに置いた。2日目と3日目は条件づけ装置において、ペレットに馴れさせた。あらかじめ餌皿にペレットを20粒貯めてから、ラットを条件づけ装置に入れ、CSは点灯せずに10分間放置した。4日目はテスト箱に馴れさせた。白い部屋のCSだけを点灯させてから、ラットをテスト箱の黒い

部屋に入れ、ギロチンドアを上げたままにし、5分間両方の部屋で自由に行動させた。

ベースラインセッション（5日目） 5日目はベースラインセッションで、条件づけ前のCSに対する接近反応をテスト箱において測定した。ギロチンドアを閉めた状態でラットを黒い部屋に入れ、5秒後にギロチンドアを開けた。そして、ギロチンドアを開けたまま5分間、白い部屋のCSに鼻をつけるために立ち上がった回数と、ラットが白い部屋に滞在した時間を測定した^{※2}。

訓練セッション（6日目～9日目） ベースラインセッションにおいて、CSに対して立ち上がった回数でカウンターバランスをとり、ラットをCSとUSを対呈示する群8匹（以下、COND群）と対呈示しない群8匹（以下、RAND群）に配分した。COND群には、CS（持続時間10秒）点灯後3秒経過してから、USを1粒呈示する試行を1日40試行行った。試行間間隔は平均45秒（30秒～60秒）で行なった。RAND群では、COND群と同じ数のCSとUSを任意の時間間隔で呈示し、対呈示を行なわなかった。

テストセッション（10日目） 10日目はテストセッションで、条件づけ後のCSに対する接近反応をテスト箱において測定した。手続きはベースラインセッションと同じ方法を用いた。

結 果

図2-Aにベースラインとテストセッションにおける各群のCSへの立ち上がり反応の平均回数を示した。COND群はベースラインセッションと比較して、テストセッションにおいて立ち上がり反応の回数が大きく増加した。一方、RAND群はそのような増加を示さなかった。CSへの立ち上がり反応の回数について、群（COND群とRAND群）を被験体間要因とし、セッション

^{※1} ラットが条件づけ装置で方向転換を行うことができないようにするために、体重が400gに達してから給餌制限を行った。

^{※2} ラットは通常黒い部屋に選好を示す。この性質を利用して、テストセッションにおける白い部屋のCSへの接近反応が、単なる探索反応の増加によるものではなく、誘因価を獲得したCSに対する接近反応であることを示すために、テスト箱に黒い部屋を設けた。

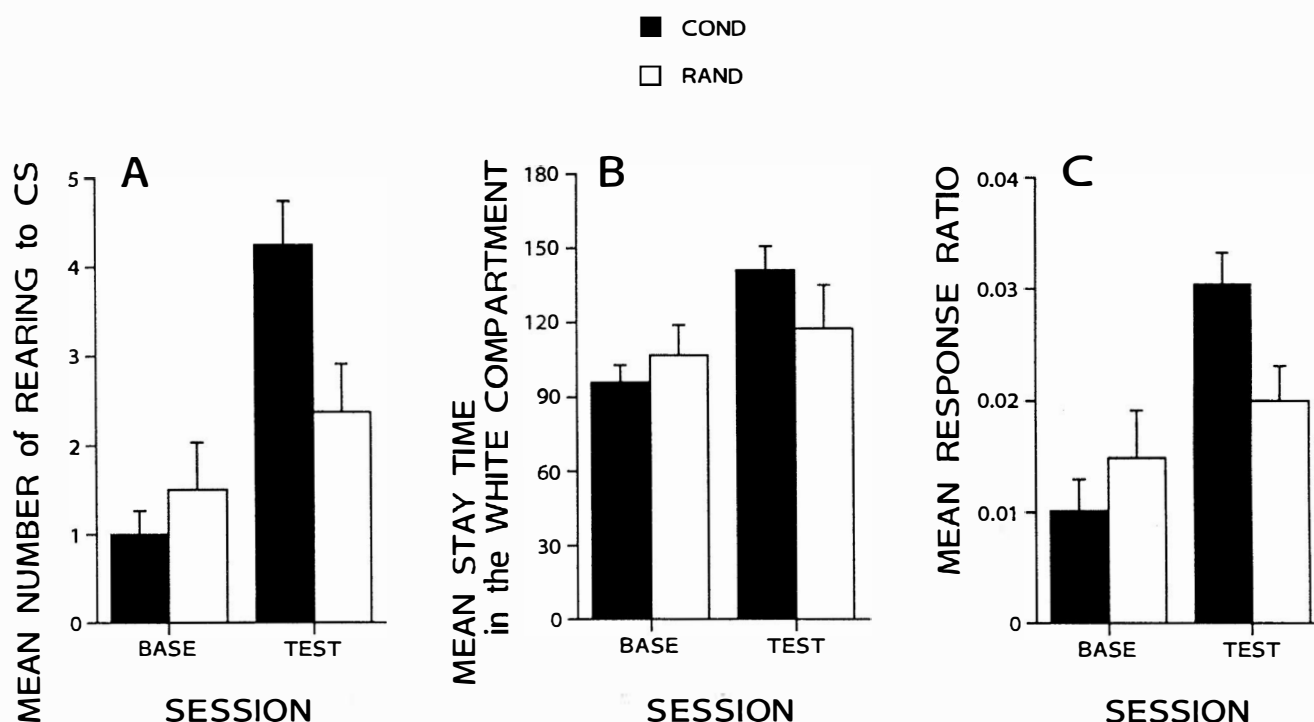


図2 ベースラインとテストセッションにおける各群の反応

A : CSへの立ち上がり反応の平均回数

B : 白い部屋での平均滞在時間

C : CSへの立ち上がり反応率の平均

(ベースラインとテスト)を被験体内要因とする2要因の分散分析を行った結果、群の主効果のみ有意ではなかったが、セッションの主効果と群×セッションの交互作用が有意であった ($F(1,14)=31.37, p<.05$; $F(1,14)=10.40, p<.05$)。下位検定の結果、テストセッションにおける群の単純主効果と、COND群におけるセッションの単純主効果が有意であった。

図2-Bにベースラインとテストセッションにおける各群の白い部屋での平均滞在時間を示した。COND群はベースラインセッションと比較して、テストセッションにおいて白い部屋での滞在時間が増加した。一方、RAND群はそのような増加を示さなかった。白い部屋での滞在時間について、同様の分散分析を行った結果、セッションの主効果のみ有意であったが ($F(1,14)=6.82, p<.05$)、群の主効果および群×セッションの交互作用は有意ではなかった。

テストセッションにおけるCSへの立ち上がり

反応の回数の増加は、白い部屋での滞在時間の増加による影響であることを取り除くために、滞在時間あたりのCSへの立ち上がりの反応率を算出した。図2-Cにベースラインとテストセッションにおける各群のCSへの立ち上がりの反応率の平均を示した。COND群はベースラインセッションと比較して、テストセッションにおいて立ち上がりの反応率が大きく増加した。一方、RAND群はそのような増加を示さなかった。CSへの立ち上がりの反応率について、同様の分散分析を行った結果、群の主効果のみ有意ではなかったが、セッションの主効果と群×セッションの交互作用が有意であった ($F(1,14)=19.86, p<.05$; $F(1,14)=7.04, p<.05$)。下位検定の結果、COND群におけるセッションの単純主効果が有意であった。また、テストセッションにおける群の単純主効果に有意な傾向が認められた。

考 察

本実験の目的はオペラント学習の要素を排除したCSへの接近反応が古典的条件づけの指標になるかを確認することである。

立ち上がることができない条件づけ装置でCSとUSを対呈示されたラット（COND群）は、自由に動くことができるテスト条件下において、CSへの接近反応である立ち上がり反応が増加した。一方、対呈示されたラットと同数のCSとUSを呈示したが、対呈示されなかったラット（RAND群）では、そのような増加は認められなかった。これらの結果から、対呈示されたラットのテスト条件下でのCSへの立ち上がり反応の増加は、オペラント学習や探索反応の増加、時間経過によるものではなく、CSとUSの対呈示によって増加したと考えられる。したがって、オペラント学習の要素を排除したCSへの接近反応が、報酬をUSとした古典的条件づけの指標になることが確かめられた。

自由に動くことができるテスト条件下において、白い部屋に滞在する時間もCSとUSの対呈示によって増加し、この測度も古典的条件づけの指標と考えられるかもしれない。この予測と一致して、CSとUSを対呈示されたラットは、テスト条件下において白い部屋での滞在時間が増加した。一方、対呈示されなかったラットはそのような増加を示さなかった。しかし、条件づけにおいて、ラットは餌皿に対して前後の移動反応を行うことができるため、CS点灯後、USを食べるために餌皿に移動するという水平方向の運動が生じていた可能性がある。この水平方向の運動はオペラント反応であり、テスト条件下で白い部屋に入るという反応に影響を及ぼす可能性がある。したがって、白い部屋での滞在時間の増加は古典的条件づけの指標としては妥当ではないと考えられる。

白い部屋での滞在時間について分散分析を行った結果、群の主効果と群×セッションの交互作用は有意ではなかった。本実験から、有意な効果が認められなかった原因はわからない。しかし、CSとUSを対呈示されたラットと対呈示されなかったラットにおいて、白い部屋での滞在時間に違い

が認められなかったことから、テスト条件下における両ラットのCSへの立ち上がり反応の違いが、白い部屋での滞在時間の違いによるものではないと考えられる。

また、白い部屋での滞在時間について分散分析を行った結果、セッションの主効果は有意であった。この結果から、CSとUSを対呈示されたラットのテスト条件下におけるCSへの立ち上がり反応の増加が、白い部屋での滞在時間の増加によるものかもしれない。しかし、滞在時間あたりのCSへの立ち上がりの反応率を算出した結果(図2-C)、CSとUSを対呈示されたラットはテスト条件下においてCSへの立ち上がりの反応率が大きく増加した。したがって、CSとUSを対呈示されたラットのテスト条件下におけるCSへの立ち上がり反応の増加が、白い部屋での滞在時間の増加によるものではないと考えられる。

古典的条件づけにおいて、報酬性のUSである餌や砂糖水の受容過程には、味やうま味などの刺激と摂食するためのオペラント行動が含まれている⁶⁾。一方、受容過程に行動が含まれない報酬性のUSとして、中隔野や内側前脳束などの報酬系の脳部位への電気刺激（報酬系脳内刺激）がある¹⁰⁾。この報酬系脳内刺激をUSに用いて古典的条件づけを行い、CSへの接近反応を指標にすれば、オペラント学習の要素を排除した古典的条件づけの手続きとなるであろう。しかし、報酬系脳内刺激は餌や水などの自然報酬と関連した脳内の報酬系だけを賦活するだけではなく、動因系をも賦活すると考えられている¹¹⁾。さらに神経生理学的研究において、蔗糖液と対呈示された音と、報酬系脳内刺激と対呈示された音に対するニューロンの応答パターンが異なることが報告されている¹²⁾。また、自然界において、報酬系と動因系が同時に賦活されることはないと推測される。したがって、自然界で起こる現象に介在する脳内メカニズムの解明という観点からみると、本研究で考案した自然報酬を用いた古典的条件づけの手続きによって、CS-USの連合学習の脳内メカニズムを検討する方法が妥当であると考えられる。

引用文献

- 1) Pavlov I P: Conditioned reflexes. Oxford University Press, Oxford, 1927.
- 2) Davis M: The role of the amygdala in conditioned and unconditioned fear and anxiety. In : The amygdala: Second edition a Functional analysis (Aggleton J P. ed.): 213-287. Oxford University Press, New York, 2000.
- 3) Everitt B J, Cardinal R N, Hall J et al: Differential involvement of amygdala sub-systems in appetitive conditioning and drug addiction. In: The amygdala: Second edition a Functional analysis (Aggleton J P. ed.): 353-390. Oxford University Press, New York, 2000.
- 4) Kapp B S, Silvestri A J, Guarraci F A: Vertebrate models of learning and memory. In: Neurobiology of learning and memory (Martinez J L, Kesner R P eds.): 289-332. Academic Press, San Diego, 1998.
- 5) LeDoux J: The amygdala and emotion: A view through fear. In: The amygdala: Second edition a Functional analysis (Aggleton J P. ed.): 289-310. Oxford University Press, New York, 2000.
- 6) Premack D: Toward empirical behavior laws: I. Positive reinforcement. Psychol. Rev.66: 219-233, 1959.
- 7) Skinner B F: Contingencies of reinforcement: A theoretical analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, 1969.
- 8) Burns L H, Everitt B J, Robbins T W: Intra-amygdala infusion of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5 impairs acquisition but not performance of discriminated approach to an appetitive CS. Behav. Neural Biol. 61: 242-250, 1994.
- 9) Gallagher M, Graham P W, Holland P C: The amygdala central nucleus and appetitive Pavlovian conditioning: Lesions impair one class of conditioned behavior. J. Neurosci. 10: 1906-1911, 1990.
- 10) Olds J : Self-stimulation of the brain: Its use to study local effects of hunger, sex, and drugs. Science. 127: 315-324, 1958.
- 11) Deutsch J A, Howarth C I: Some tests of a theory of intracranial self-stimulation. Psychol. Rev.70: 444-460, 1963.
- 12) Nakamura H, Tanaka A, Nomoto Y, Ueno Y, Nakayama Y: Emotional and behavioral correlates of the anterior cingulate cortex during associative learning in rats. Neuroscience. 93:1271-87, 1999.

summary

The present study was designed to develop a procedure of appetitive classical conditioning which did not include elements of operant learning, to contribute to elucidation of the brain mechanism mediating associative learning between conditioned (CS) and unconditioned (US) stimuli. Using an apparatus which blocked approach behavior (rearing) toward a CS (5W light, 10 sec), rats received 40 pairings of CS and US (a cheese flavor pellet, 45 mg) on 4 successive days (COND group). Other rats received random presentation of same number of the CS and US (RAND group). On the following day, the CS was presented to both groups of the rats in a free moving situation to observe whether rats displayed rearing behavior toward the CS. The results indicated that the COND rats showed more rearing behavior toward the CS than the RAND rats. These results suggest that increase in rearing behavior toward the CS in a free moving situation in the COND rats was not due to operant learning or a laps of time but to the CS-US pairings. Thus, approach behaviors toward the CS, which were not elements of operant learning, serve as index of appetitive classical conditioning.