

令和3年度 博士論文

ラットにおけるリスク志向性の個体差に関する行動学的研究

人間総合科学研究科 感性認知脳科学専攻

201830352 高橋克匡

指導教員：山田一夫先生

目次

第1章	序論	1
1.	はじめに	
2.	意思決定および薬物依存の動物モデル	
2-1.	意思決定の評価法	
2-2.	薬物依存の評価法	
3.	リスク志向性の個体差を生み出す要因	
3-1.	意思決定プロセスの性差	
3-2.	幼少期ストレスの影響と性差	
4.	メタンフェタミン (METH) の薬理学的作用機序	
5.	意思決定プロセスと依存との関連	
5-1	薬物依存とリスク志向性	
5-2	ギャンブル依存とリスク志向性	
第2章	本研究の目的と一般的方法	22
1.	本研究の目的	
2.	一般的方法	
第3章	新生仔期ストレスがリスク志向性に及ぼす影響【実験1】	41
第4章	リスク志向性と薬物依存への脆弱性の関連 (空間学習課題) 【実験2】	54

第5章	リスク志向性と薬物依存への脆弱性の関連（オペラント学習課題）【実験3】	70
第6章	メタンフェタミン急性投与によるリスク志向性への影響【実験4】	80
第7章	総合的考察	92
概要		
引用文献		104
謝辞		122

第 1 章

序論

1. はじめに

2016年12月に、国会でカジノを含む統合リゾート（IR）推進法案が可決された。この法案は地域の経済活動の活性化と外国人観光客の集客を狙ったものであるが、治安の悪化や犯罪組織への資金流入など多くの問題が指摘されており、なかでも最も懸念されているのがギャンブル依存症患者の増加である。

2009年の厚生労働省による研究調査結果によれば、日本の成人男性の9.6%、女性の1.6%、全体平均で5.6%にギャンブル依存症のリスクがあり、アメリカの0.6%、マカオの1.78%などと比較して極めて高い数値であることが指摘されている（石井，2009）。これは、公営ギャンブルである競馬や競艇などに加えて、実質ギャンブルと言えるパチンコやスロットが身近に存在することから、気軽にギャンブルに興じることができる日本独特の状況とも関係しているだろう。さらに、近年増えてきたインターネットによるソーシャルゲームの「ガチャ」もギャンブルの要素を多分にもっており、これらを含めればギャンブル依存者の割合はさらに増えると考えられる。しかしながら、その一方で、ギャンブル依存症の治療においては認知行動療法が中心となっており、未だ薬理的に確立された治療法はなく、神経メカニズムの解明と治療薬の開発が望まれている。

本来、依存症とは、対象となる事物を繰り返し乱用することで、その事物に対する欲求の自己コントロールを失った状態のことである。世界保健機構（World Health Organization; WHO）の診断基準である

「疾病及び関連保健問題の国際統計分類」(International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems; ICD)には、「ある物質あるいはある種の物質使用が、その人にとって以前により大きな価値をもっていた他の行動より、はるかに優先するようになる一群の生理的、行動的、認知的現象」であり、「依存症候群の中心となる記述的特徴は、精神作用物質(医学的に処方されたものであってもなくても)、アルコールあるいはタバコを使用したいという欲望(しばしば強く、時に抵抗できない)である」と定義されている。ここで言う「物質」には、覚醒剤やコカイン、ニコチン、アルコールといった向精神薬が含まれるが、前述したギャンブルやポルノ、インターネットのような「行為」についても依存性がみられることは周知のとおりである。

2013年に改訂されたアメリカ精神医学会の発行する精神障害の診断と統計マニュアル(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition; DSM-5)では、従来用いられてきた「乱用」と「依存」が「使用障害」として統合され、向精神薬の乱用・依存は「物質使用障害」と名付けられた。また同時に、「行為」の依存としてのギャンブル依存は、物質に関連しない障害である「ギャンブル障害(gambling disorder)」として正式に採用された。ここでギャンブル障害は、「臨床的に意味のある機能障害または苦痛を引き起こすに至る持続的かつ反復性の問題ギャンブリング」と定義されている。ただし本稿では、科学研究分野でより一般的に用いられている「薬物依存」および「ギャンブル依存」という用語を用いることとする。

序論の流れとして、まず薬物・ギャンブル依存の患者が示す意思決定障害を検出するために使用されるギャンブル課題について解説し、ギャ

ンブル依存や薬物依存の動物モデルに対する評価方法を概観する。次に、このギャンブル課題の成績に影響する要因として、性別と幼少期ストレスに焦点を当て、ヒトやラットを対象とした先行研究を挙げることで、性別や幼少期ストレスが具体的に成体期の意思決定にどのような影響を及ぼすのか説明する。最後に、具体的な依存症とギャンブル行動の関係を紹介するために、薬物やギャンブルに対する依存とリスク選択行動の関連について、代表例を挙げて解説する。

2. 意思決定および薬物依存の動物モデル

薬物およびギャンブル依存の生物学的基盤を知るためには、ラットやマウスなどのげっ歯類を用いた動物実験が有用とされている。薬物依存の動物モデルに関しては、これまでに薬物自己投与パラダイムや条件性場所選好といった課題が考案され、特に精神依存の側面について数多くの研究知見が報告されている。

一方、ギャンブル依存の動物モデルも同様に、ギャンブル行動の生物学的基盤の理解や薬理学的治療法の開発に有用であるが、ギャンブル依存の動物モデルを用いた研究は今黎明期にある。ヒトで臨床的な研究に用いられている代表的な意思決定課題にアイオア・ギャンブル課題

(Iowa gambling task; IGT) がある。IGTは、ヒトにおける現実世界の意思決定を模倣した課題であり、精神医学や神経学などの分野での研究、特に精神疾患をもつ患者を対象とした研究で用いられることが多い。具体的な内容では、提示された4つのカードの山から毎回どれか1枚を取っていき、その裏に書いてある金額が多くなるようにデッキを選ばせるというものである。このデッキは、うち2つが賞金は多いが罰金も多く結果的に損失となり、残り2つが賞金は少ないが罰金も少なく結

果的に利得となるよう設定されており，健常者であれば次第に利得となるデッキを選ぶようになる。意思決定に異常がある場合は損失を被る，つまり，リスクのあるデッキを選び続けることが知られており，実際，ギャンブル依存症患者は IGT においてリスクをより好むことが示されている (Cavedini et al., 2002)。この課題について，古くは 1994 年に Bechara らが，実験室において実生活に即した意思決定を評価できるように作成したものであり，彼らは前頭皮質に障害をもつヒトに対する研究を行った (Bechara et al., 1994)。この研究では，当時から意思決定に不可欠であると言われていた前頭前野を損傷した患者に，報酬や罰の量や不確実性を考慮した課題を行わせることで，健常者とは異なり，患者は自分の行動による将来的な結果に気づかず，目先の結果のみで行動している可能性が示された。

近年になって，この IGT をラットに適応させたラットギャンブリング課題 (rat gambling task ; rGT) が考案され，薬物依存と意思決定プロセスとの関係が生物学的レベルで研究されるようになった。

2-1. 意思決定の評価法

一般的に，依存症は意思の力で治癒できる (止められる) と考える人は多いが，実際のところ，薬物依存の状態にある人の脳のドーパミン神経などには変化が生じており (Volkow & Morales, 2015)，自力で依存状態から脱却することを困難にさせている。そのような脳の生物学的変化は，その人の意思決定プロセスを変容させる。薬物やギャンブルに限らず，依存症の背景には通常から逸脱した意思決定プロセスがあると考えられている。すなわち，生活の破綻や人間関係の崩壊など負の結果 (= リスク) を導くことが明白であるにも関わらず，薬物に手を染める

人、あるいはギャンブルにのめり込む人がいるが、そこには共通して合理的な選択ができなくなるような不適応的な意思決定プロセスが関係している。ここでいう意思決定プロセスとは、自分の持ちうる選択肢を評価し、特定の行動を選択・実行、そして得られた結果を評価することで選択肢を再評価して学習するという一連の流れのことを指す。

ヒトの意思決定を評価する方法の1つに、前述したIGTがあるが、Bosら(2006)は、IGTをラットに応用して意思決定の評価を試みた。その後、呼び名や方略が多少異なるrGTがいくつか考案されてきたが、そのいずれもヒトのIGTを基礎としている。そこでの基本的な手続きは、報酬は少ないが長期的にみると結果的に報酬が多くもらえる選択肢と、稀に大量の報酬がもらえるが長期的にみると利得が減少したり罰を受けたりする選択肢をラットに提示し、どちらの選択肢をより多く選択するのかが測定される。しかし、IGTにおける負の選択肢が損失を与えるようなものであるのに対し、動物では損失の概念を理解させることが困難なために罰を伴う選択肢が設定されており、この点で両者に差異が見られる。また、選択反応としては、レバー押しやノーズポッキングといったオペラント反応や放射状迷路の走路(アーム)選択など様々なものが用いられる。

このような動物を用いた実験課題の開発により、リスク選択や衝動性といった意思決定プロセスの研究において、ヒトでは難しいより詳細な神経メカニズムの検討や多くのサンプルサイズを必要とする個体差の研究が可能となった。

2-2. 薬物依存の評価法

薬物が行動に及ぼす影響について研究する分野である行動薬理学にお

いて、薬物依存の代表的な動物モデルが薬物自己投与法である。これはオペラント条件づけを応用したもので、ラットやサルが自らレバーを押して、静脈や脳の特定の部位に埋め込まれたカニューレを通して自身に薬物を投与させる実験方法であり、被験体の薬物に対する自発的な渴望性を直接評価することができることが特徴である。また、薬物が得られるまでのレバー押し回数を一定の比率で増やしていき、どこまで押し続けるのかを測定する比率累進試験法を使うことで、薬物ごとの依存の強さを評定することができる。この実験法で、ニコチンやアルコール、メタンフェタミン (Methamphetamine; METH) やコカインなど、様々な乱用薬物の高い報酬性が証明されてきた。高い報酬性が依存に直結するとは断言できないが、薬物自己投与法におけるメリットの一つに被験体が自ら薬物を求めて行為を行うことがあり、ヒトが薬物を摂取するパターンと対応していることから、動物モデルとしての表面的妥当性が高いと言える。最近の研究 (Smith et al., 2014) ではレバーを2つ提示する実験もあり、そこでは1つが本来の目的である強化スケジュールで報酬を与えるレバー (active lever) で、もう1つがいくら押しても報酬が出ないレバー (inactive lever) とされる。inactive lever に対する反応を同時に測定することで、被験体の薬物への渴望 (active lever に対する反応) を正しく評価できる。

これまでに薬物自己投与法を用いて、フットショックなどの物理的ストレスや隔離飼育などの社会的ストレスが、METH やコカインといった中枢興奮薬やアルコールなどの依存性薬物に対する依存形成を促進し (Piazza & Le Moal, 1998)、さらにこれらのストレスは、すでに習得した自己投与行動を増強することが報告されている。また薬物依存の再燃実験においても、フットショックや低用量の薬物の priming

shot などにより自己投与行動が誘発されていることが示されている。

薬物自己投与法は、カニューレを挿入する手術やレバー押しの習得訓練を必要とするが、高い妥当性をもつ実験方法である。

薬物の報酬性を測定する実験方法として、薬物自己投与の他に条件性場所選好(conditioned place preference; CPP)が挙げられる。CPPは主にラットやマウスを対象とした場所条件づけであり、薬物の強化効果を評価できる。実験装置としては、白色と黒色の2つのコンパートメントで構成されているものや、中央に中立刺激としての灰色コンパートメントを挟んだものが一般的であり、特に白色および黒色のコンパートメントは壁の色だけでなく、床の質感を変えることで環境刺激の差異が強調される。条件づけの具体的な手続きとしては、まず被験体に薬物を投与した後、被検体を一方のコンパートメント（以後、薬物コンパートメント）に一定時間閉じ込める。次に同じ被験体に生理食塩水のような溶媒を投与し、今度はもう片方のコンパートメントに閉じ込める。この手続きを繰り返した後にテスト試行を行う。テスト試行では薬物を投与しないで被験体を装置内に入れて探索させ、薬物コンパートメントでの滞在時間や、各コンパートメントへの進入回数を測定することで、薬物の強化効果や活動性への影響を評価することができる。CPPは前述した薬物自己投与法と比べて非常に簡便であることから、短期間で多くの被験体を用いて実施することでき、且つ外科的処置を施した被験体でも負担が少ない。さらに薬物を投与していない状態でテスト試行を行えることも大きな利点であり、つまりその薬物の報酬性の測定に他の要因の影響が入りにくく、運動機能に障害を与える薬物でも使用可能である。一方で、CPPのテスト試行での動物の行動は、薬物の報酬性と文脈との連合記憶に基づいており、薬物によって直接的に強化されな

いという点で薬物自己投与と比べて信頼性が低いというデメリットもある。

薬物自己投与方法と同様に，CPPを用いた再燃実験の研究も行われており，そこではまず条件付けが完了した後，何も投与しない，もしくは溶媒のみを投与した状態で被験体を各コンパートメントに閉じ込めることを数試行実施し，消去を学習させる。そしてテスト試行で薬物コンパートメントへの選好性が消失したことを確認した後，プライミング刺激を与えてもう一度テスト試行を行い，薬物コンパートメントへの選好性が回復するかどうかを見ることで再燃が評価される。

3. リスク志向性の個体差を生み出す要因

意思決定場面において，リスクを容認して利得を追求するか，リスクを回避して安定的な結果を得るかのどちらかを選択する機会は数多くある。こうした場面に直面したときの選択は，たとえ同様の場面であっても，人によって異なる。この差異を決める要因は，身体的な特徴（性別，疾患など）や経験（文化，養育環境など），パーソナリティ（性格，認知，感情など）に大きく分けられる。そして，これらの要因は互いに影響し合いながら，その人が高いリスクを負ってでも大きな利得を獲得しようとする程度，つまり，その人の「リスク志向性」を規定している。このリスク志向性は，IGTを始めとした多くの意思決定課題で評価されており，臨床や実験を問わず，多くの知見が得られている。

なお，本稿におけるリスクとは広義の意味で用いており，具体的には，自らの行動に付随して“確率的に与えられるネガティブな結果”（損失，罰など）のことを意味している。そして，リスクの程度には「確率」と「強度」の二軸が存在しており，例えばIGTはこの二軸がそれぞれ異

なる四つの選択肢によって構成されている。しかし本研究で使用した課題では、特にリスクの「確率」の影響を観察するため、課題中に与えられるリスクの「強度」は統一し、「確率」のみを操作した。

3-1. 意思決定プロセスの性差

身体的構造だけでなく、様々な心理的機能にも性差が見られることは広く知られている。例えば、視空間認知能力を測定する心的回転課題では、女性よりも男性の方が成績が良い (Voyer et al., 1995)。また、13か国の6歳から12歳の男児と女児の絵を比較した研究では、全体的に男児は寒色系の色を使い、乗り物や武器、スポーツといったものを描くことが多く、一方、女児は男児より多くの色を使用して描く傾向があった (Alter-Muri & Vazzano, 2014)。

意思決定プロセスにも、性差がみられることが報告されている。例えば、前述したヒトの意思決定プロセスを評価するIGTにおいて、男女で成績に差がある。標準的な100回の試行回数において、男性の方が女性よりも長期的に有利なデッキを多く選択したことが明らかとなっている (Reavis et al., 2001; Stoltenberg & Vandever, 2010)。つまり、これらの研究では、男性は女性よりも長期的な利得を重視する傾向があることが示唆された。この結果に対して、van den Bosら

(2013)は、男性と比較し、女性は一時的な損失に敏感である可能性を挙げている。IGTにおいて女性は、長期的に不利だが利益を獲得する確率の高いデッキを男性より多く選んでいる。たとえ長期的に有利なデッキでも損失を発生させることがあるため、女性はこの損失を受けて選択を変更した結果、有利なデッキへの選択が減少したと考えられる。女性の方が否定的な結果に対して敏感であるとする先行研究もあり

(Eriksson & Simpson, 2010), この解釈を支持している。

また、神経学的研究においても、陽電子放出断層撮影 (Positron Emission Tomography; PET) を使って IGT 中の脳活動を観察したとき、主に、眼窩前頭皮質 (orbitofrontal cortex; OFC) や前頭皮質 (prefrontal cortex; PFC) の活動で性差がみられている (Bolla et al., 2004)。

ラットを用いた研究でも、意思決定の性差を示す証拠は数多く存在する。Islas-Preciado ら (2020) では、確実に小報酬を獲得できる安定した選択肢か、ブロックごとに大報酬を獲得できる確率が変動する、リスクのある選択肢の 2 つのうち 1 つを選ばせる確率割引課題を実施した。その結果、雌と比べて、雄は特に低確率のブロックでよりリスクのある選択肢を選んだ。またこのとき、雌雄両方で性ホルモンの影響はほとんど確認されなかった。また、報酬や罰に対する行動の性差をみた研究では、報酬誘導型の連合学習では差が見られなかったが、罰回避型の学習は雌の方が早かった。そして学習後の確率的な罰に対しても、雄より雌の方が罰に敏感であることが示唆された (Chowdhury et al., 2019)。以上の結果から、ヒトとは異なり、確率割引課題で雄の方が長期的に不利な選択肢を選んだのは、雌が報酬を得られないという否定的な結果を避けて確実な結果を選んだことにより、相対的に雄のリスク選択が増えたように見えたと考えられる。これは、放射状迷路課題を用いた、すべての選択肢において不確実な罰を伴う IGT において、雄が雌よりも有利な選択肢を選ぶという結果からも支持される (van den Bos et al., 2012)。

以上のように、リスクを伴う意思決定の性差の研究において、ラットでもヒトと類似した傾向がみられているが、動物実験の大きな利点で

ある神経学的操作に関して、いまだ知見が少ないのが現状である。

3-2. 幼少期ストレスの影響と性差

幼少期の生育環境は、将来の正常な発達に大きな影響力を持つことは周知の事実である。なかでも、親から子への虐待は、社会的な問題として長らく議題に上ってきた。殴る蹴るといった身体的な虐待から、脅迫や家族への暴力を目撃させるなどの心理的な虐待、食事を与えない、不潔なまま放置するといったネグレクトにいたるまで、その危険性は言うまでもなく生死に直結し、そうでなくても、その後の人生に悪影響を与えることが知られている。

先行研究では、幼少期に虐待やネグレクトといったストレスを受けると、成人後にうつ病や不安障害、薬物依存を示すリスクが高まることがわかっている (Heim & Nemeroff, 2001)。身体的・心理的虐待を受けている場合は高レベルの脅威に曝されることで、またネグレクトの場合は身体的・情動的な発達をするための経験がはく奪されることで、このような異常が生じている可能性がある (Bick & Nelson, 2016)。

幼少期ストレスは、学習や記憶、判断などに関連する認知機能にもネガティブな結果をもたらす (Krugers et al., 2017)。幼少期に虐待を受けた青年期のヒトに対して、道具的学習と認知的柔軟性への影響を検証した研究では、学習課題自体は習得できたものの、健常者よりも学習速度が遅く、認知的柔軟性も著しく低下していた (Harms et al., 2018)。また、同じように虐待を受けた子供は、感情調節機能が低下しており、仲間関係や社会的判断、意思決定の根底にある認知プロセスに障害が生じている可能性が指摘されている (Kim-Spoon et al.,

2013)。例えば幼少期に強いトラウマを経験した実験参加者は、IGTの成績が有意に低下していた (Stoltenberg et al., 2011)。

また、幼少期ストレスは成人期の脳にも影響を与えている。幼少期ストレスに曝された子供とそうでない子供に対し、磁気共鳴画像 (Magnetic Resonance Imaging; MRI) を撮像して海馬と扁桃体の体積を計測し、学校での問題行動との関連をみた研究では、ストレスを受けていた子供の海馬と扁桃体は小さくなっており、そのサイズと問題行動には関連があった (Hanson et al., 2015)。

ラットを用いた幼少期ストレスの研究でも、ヒトのものと同様の結果が示されている。ラットの母親は通常、離乳まで仔を守るために常に自分の近くに置いておく習性がある。ラットにおける幼少期ストレスモデル、特にネグレクトの代表的なモデルである新生児期母仔分離では、離乳までの期間において、仔は一日数時間母親から強制的に離される。母仔分離によるグルココルチコイドやカテコールアミンのようなストレス介在物質の反復活性が、成体期まで持続する長期的な行動学および神経学的な表現型の変容を引き起こす。母仔分離を用いた先行研究では、明暗箱や高架式十字迷路の結果から不安様行動が増加すること (Jin et al., 2018)、T字迷路や Social interaction test の結果から作業記憶や社会的行動に障害されることまでが報告されている (Yang et al., 2017)。また、母仔分離によって、内側前頭前皮質 (medial prefrontal cortex; mPFC) や海馬でのセロトニン 1A 受容体の減少、側坐核 (nucleus accumbens; NAc) や海馬でのドパミン D2 受容体の減少がみられたことから、母仔分離は、上記と同様の受容体の減少を示している不安障害や統合失調症の動物モデルとしての利用も考えられている (Li et al., 2013)。

意思決定と幼少期ストレスとの関連を検証した唯一ともいえる Cao ら（2016）の研究では、母仔分離をしたラットに対し、オペラントチャンバーを使用して、報酬をペレット、罰をタイムアウトの時間に設定した rGT を実施した。その結果、母仔分離によって適応的な意思決定をした個体（good decision-maker）の割合が減少し、不適応的な意思決定をした個体（poor decision-maker）の割合が増加した。また、電気生理学的な結果から、扁桃体基底外側核（basolateral amygdala; BLA）と前帯状皮質（anterior cingulate cortex; ACC）との機能的結合の障害が、母仔分離ラットの行動調節不全に寄与していることが示唆された。

ここまでみて来たように、幼少期の虐待は、先進国において脳の異常な発達のリスク要因として認識されているが、これがそれぞれ男性と女性の神経発達や精神病理にどのような影響を与えているかの理解については不足している。しかし、行動学的・神経学的に性差が存在する以上、幼少期ストレスに対する反応にも性差が存在すると考えられる。事実として、これまでの臨床的な研究から、幼少期ストレスの影響における性差の存在を示す結果は数多く報告されている。しかし、その結果は一貫しておらず、幼少期の虐待に対して、男性の方が敏感であるとする研究もあれば、女性の方が敏感であるとする研究もある（White & Kaffman, 2019）。また、成人期と青年期の両方で幼少期ストレスに対する性差に焦点を当てているレビューでは、男性では青年期で幼少期ストレスによる悪影響が出やすく、一方女性では、成人期でその悪影響が出やすいことが示されている（Gershon et al., 2008）。これらの研究が示すところは、幼少期ストレスによる影響の性差は、身体的・心理的などの性質や発達段階などとの交互作用によって違いが生じる可能性

があるということである。

ラットを用いた研究は、このような様々な要因を分離して検証できる点で有効であると言える。Prusator & Greenwood-Van Meerveld (2016) は、ラットに三種類の異なる幼少期ストレスを与えて、痛みに対する行動の変化を検証した。幼少期ストレスとしては、母仔分離、床敷きがない等の悪環境での養育、および予期できない電気ショックへの暴露であった。その結果、母仔分離と悪環境での養育において、雄は内臓及び体性の痛みに対してより過敏になったが、雌は統制群と差がみられなかった。また、予期しない電気ショックに曝された雌は、予測可能な電気ショック（特定のニオイ刺激とあらかじめ連合学習させた）を受けた雌と比べて内臓の痛みに関与する神経に敏感であったが、雄にはそのような影響はみられなかった。このように、ラットにおいても幼少期ストレスの影響の性差が報告されているが、意思決定に及ぼす幼少期ストレスの影響にも性差がみられるかどうかについては未だ検討されていない。

4. メタンフェタミン (METH) の薬理学的作用機序

METH (Methamphetamine) は依存性薬物の一種であり、アンフェタミンやコカインといった中枢興奮薬としても知られている。日本では覚せい剤とも呼ばれ、その検挙人員は他の違法薬物を抑えて10年間トップを維持している (厚生労働省, 2021)。この傾向は世界の国々の状況からみても異質であるが、この原因の根底には第2次世界大戦でMETHが製造・使用されていた歴史がある。「ヒロポン」と名付けられたこの薬物は、疲労回復や眠気覚ましとして使われていたが、その依存性に関してはまだ知られておらず、広く普及した。そのため、終戦後には軍保有のものが数多く放出され、薬物使用者が拡散してしまったこと

が発端となっている。

METH は間接型アドレナリン受容体アゴニストとしての作用をもち、中枢神経におけるモノアミン系神経伝達物質の遊離を増加させる。その具体的な作用機序は大きく分けて3つあることがわかっている。一つ目は、前シナプスにある小胞型モノアミントランスポーター2 (Vesicular Monoamine Transporter 2; VMAT-2) に作用して、小胞体の貯蓄を阻害することにより、細胞質におけるモノアミン系神経伝達物質の濃度を上昇させることである。二つ目は神経終末部に存在するトランスポーターとの相互作用により、神経伝達物質の再取り込みを阻害し、シナプス間隙における神経伝達物質の蓄積の促進させることである (Kim et al., 2020)。そして3つ目は、モノアミン酸化酵素 (Monoamine Oxidase; MAO) を阻害することで、モノアミン系神経伝達物質の不活性化が障害され、結果として物質の遊離する量が増加することである (Kitanaka et al., 2006)。また、モノアミン系神経伝達物質の中でも、依存性を引き起こす主な原因とされているのがドパミンである (Fig1.)。中脳にある腹側被蓋野 (Ventral Tegmental Area; VTA) から NAc や mPFC への投射は報酬系と呼ばれ、これが主にドパミン神経系で構成されており、快感情を生み出している。

これらの作用をもつことから、急性投与では記憶や分割的注意、反応速度においてそのパフォーマンスを向上させ (Hart et al., 2002)、ナルコレプシーやうつ病、統合失調症のような精神疾患の治療にも有用であると考えられている。しかし、長期の使用となると、依存性はもちろん、幻視や幻覚の症状を呈することが広く知られている。動物を用いた実験では、METH の神経毒性と行動への影響を検証した実験が数多く存在し、薬物の慢性投与が自発的運動や衝動性の増加を示した実験

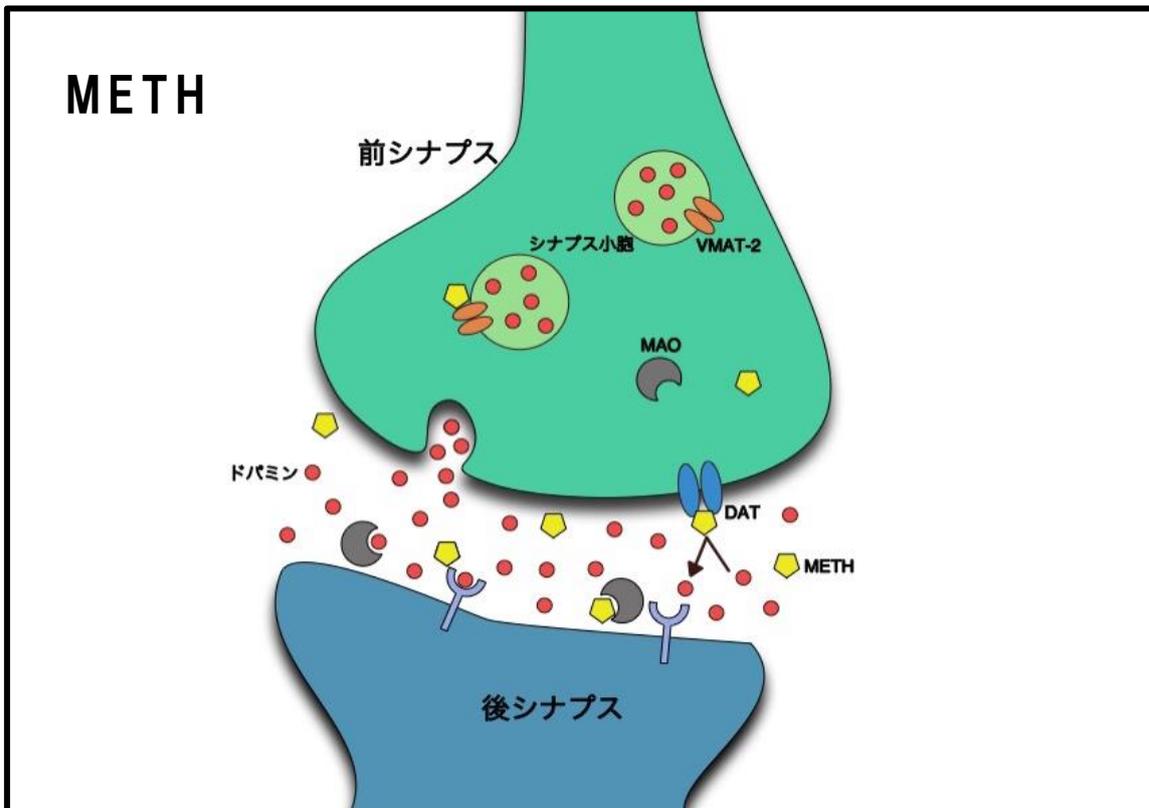
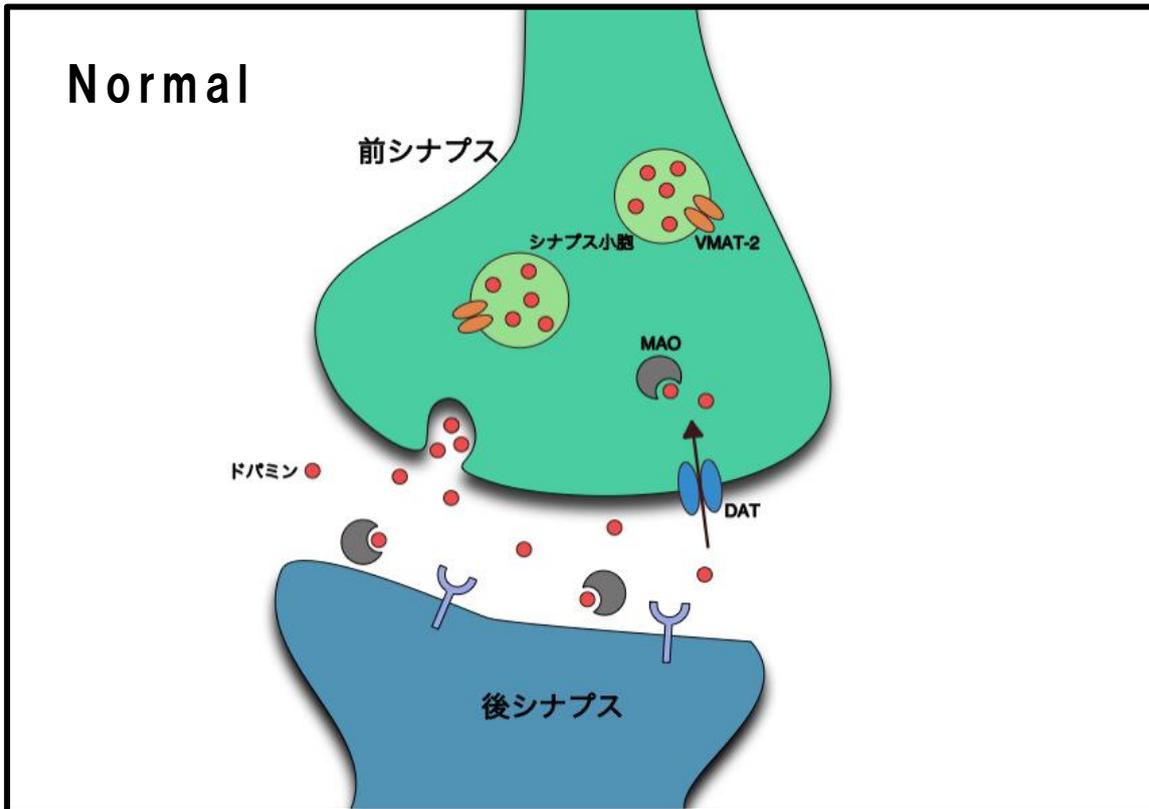


Fig. 1 通常時と METH 投与時におけるドパミン放出の模式図

(Xue et al., 2018) や, METH 投与によって 3 週間後の NAc のドパミントランスポーター (Dopamine transporter; DAT) と PFC のセロトニントランスポーター (Serotonin transporter; 5-HTT) を減少させ, それぞれ物体探索や驚愕反応と相関・逆相関していたことを示した実験などがみられる (Bortolato et al., 2009)。

5. 意思決定プロセスと依存との関連

5-1. 薬物依存とリスク選択

薬物依存者は高リスク・高リターンの選択を好むといったリスク志向性が高いことや, 安定した小さな報酬よりも目先の大きい報酬を選択する近視眼的意思決定などの特徴を持っている (Ernst & Paulus, 2005)。また, 覚せい剤やコカインといった中枢興奮薬の使用は, 意思決定をよりリスクを好むように変化させる (Dom et al., 2005)。さらに IGT の成績において, コカイン依存者は健常者と比べて自分が結果的に損となる選択をするようになる (Kjome et al., 2010)。

Mizoguchi ら (2015) は放射状迷路でのギャンブル課題を用いて, METH の慢性投与が意思決定プロセスに与える影響を検討している。彼らの研究では, METH (4 mg/kg) を 1 日 1 回, 30 日間にわたって腹腔内投与した後のギャンブル課題での選択傾向が生理食塩水を投与された統制群と比較され, METH 慢性投与によってラットがより High risk - High reward(H-H) の選択を行うようになることが示された。また METH 慢性投与ラットが統制群に比べて, Low risk - Low reward(L-L) を選択したにも関わらず報酬が得られなかった際に次の選択を H-H 側に変更する Lose-shift 行動をより多く示した。この Lose-shift 行動は負の予測誤差に基づいて生起すると考えられ,

METH 慢性投与がアーム選択に対するラットの方略を近視眼的なものに変えてしまう可能性を示した。さらに彼らは薬理遺伝学的手法 (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drug; DREADD) を用いて島皮質の神経細胞を一時的に活性化させると、健常ラットの H-H の選択率が增加する一方で、逆に抑制すると METH 依存ラットの H-H の選択率が減少することを示した。さらに、VTA や NAc といった報酬系や、線条体、mPFC が意思決定プロセスに関係していることを指摘している先行研究 (Simon et al., 2011; Sharp, et al., 2012) から、覚せい剤の慢性投与による意思決定プロセスの異常には、島皮質-線条体システムの過活動が関与していることが示唆されている。

一方で、生得的にリスクを好むラットは、適切な意思決定を行うラットよりも、コカインの自己投与においてレバー押しの頻度が有意に多く、薬物への渴望が高い (Ferland & Winstanley, 2016)。またこの研究では、コカインの自己投与中断から 30 日後に行われた手がかり誘発性の再燃の程度と rGT でのリスク志向性の強さの間に正の相関がみられたことから、個体が生得的に有するリスク志向性と薬物依存への脆弱性には関係があることが明らかとなった。さらに他のラットの研究 (Mitchell et al., 2014) では、思春期 (出生後 55 日) でのリスク志向性が強いと、成体期 (出生後 76 日) における自己投与でのコカイン摂取量も多いこと、また成体期でのコカイン自己投与の経験は 6 週間の断薬後に実施された rGT でリスク志向性の上昇を引き起こすことが示された。また、彼らの研究では、思春期におけるリスク志向性の強さが線条体ドパミン D2 受容体 mRNA 発現の低下と関連していることも明らかにされた。

ヒトでの研究においては、すでに意思決定プロセス評価におけるリスク志向性から薬物依存への脆弱性と再燃を予測する研究も行われており、機能的磁気共鳴画像 (functional magnetic resonance imaging; fMRI) によって測定した意思決定中の脳活動から、METH 依存者の再燃レベルを予測できるかが検討されている。結果として、断薬中に再燃が起こった患者では、背外側前頭前皮質、頭頂皮質および側頭皮質と、意思決定プロセスに関与していると考えられている島皮質での活動低下が認められた (Paulus, et al., 2005)。

以上の知見から、高リスクの意思決定と薬物依存の関係は双方向であり、それぞれが互いに影響し合っているとと言える。さらに、個体の有するリスク志向性の強さを評価することで、同時に薬物依存への脆弱性も評価できる可能性が考えられる。

5-2. ギャンブル依存とリスク選択

ギャンブル依存症患者は、当然、高リスク・高リターンな選択肢をより好むように思われるが、リスク志向性が高いからといって必ずしもギャンブル依存に陥るわけではない。なぜ生活を破綻してまでギャンブルに熱中する人と単なる遊びで済ませられる人がいるのか、その違いは何なのかという疑問に対する明確な答えは未だ存在しない。

これまで、ギャンブル依存症の病態生理に寄与する因子としては、セロトニン作動性、ノルアドレナリン作動性およびドパミン作動性神経の機能不全が指摘されている (Ibáñez et al., 2003)。またギャンブル依存症患者は、報酬予測時における報酬系と島皮質の活動が健常者と比べて低下しており、特にその傾向は左脳の島皮質において顕著であり、ギャンブル依存症に長く罹患しているほど、島皮質の活動はより低下し

ている (Tsurumi et al., 2014)。したがって、報酬予測時の島皮質の活動からギャンブル依存の進行度を推測できることが示唆される。

またギャンブルに熱中してしまう原理として、たとえギャンブルに勝って報酬が得られなかったとしても、惜しい状況（ニアミスやリーチなど）で報酬の獲得を期待しただけの場合でも、脳内でドパミンが放出されることが知られている (Clark et al., 2009 ; Schultz, 2004)。

薬物依存でみられた意思決定プロセスの変容は、ギャンブル依存においても同様にみられる。Fujimotoら (2017) は、ギャンブル依存症患者と健常な男性にギャンブル課題での L-L と H-H の選択を繰り返させて、目標得点達成の難易度毎にリスク志向性の差異を検証した。その結果、ギャンブル依存症患者は目標得点の難易度にかかわらずリスク選択が多く、状況に応じて戦略を変更する機能が弱まっていると考えられた。またその生物学的背景として、課題中に実施した fMRI の結果から、戦略最適化の符号化に関与していると考えられている背外側前頭前皮質の機能低下が指摘された。

これまでギャンブル依存の研究は主にヒトを対象に行われてきたが、有効な治療薬の開発のためには、動物実験による詳細な神経メカニズムの解明が必要である。またギャンブル依存症は多くの場合、薬物依存やうつ病、統合失調症や心的外傷後ストレス障害 (Post Traumatic Stress Disorder; PTSD) などと併存することが知られており、7割以上のギャンブル依存患者がこれら他の精神疾患に罹患していることが報告されている (Dowling et al., 2015)。したがって、ギャンブル依存症の背景にある生物学的因子は併存する他の精神疾患と共通している可能性が高く、すでに長年にわたって動物研究が扱ってきたうつ病や統合失調症の神経メカニズムに関する知見に基づいて、ギャンブル依存

症の生物学的因子を探索するアプローチも有用であると考えられる。

第 2 章

本研究の目的と一般的方法

1. 本研究の目的

我々が日常で意思決定を行うとき、実施可能な複数の選択肢に対してそれらの価値を予測することは不可欠なステップである。しかし、得られる結果が同一であったとしても、必ずしもすべての人が同じ選択をすることはない。なぜなら、自らの選択による結果に対する価値は、自分の経験や性格などによって異なり、それが行動の多様性を生み出す要因となっている。また序論でも述べたように、意思決定には性差があることが指摘されており、また幼少期のストレス経験も意思決定に影響する可能性も考えられる。

意思決定の個人差を研究する上で、個人の経験の影響を考慮する場合、ヒトを対象にした研究ではその統制は困難であり、縦断的研究を行うにしてもそのコストは大きい。一方、動物を使用した研究は、行動表現型の解釈が難しいものの、実験対象の経験を統制できる点で非常に優れており、神経活動の直接操作・記録を可能とするような侵襲性の高い神経科学的な手法をも適用できることから、そのメリットは計り知れない。しかし、これまでに動物を使用して意思決定の個体差を検証した研究はそれほど多くない。

動物、特にげっ歯類を用いた意思決定の研究では、これまで報酬や罰への感受性や、衝動性といった要因に焦点が当てられてきたが、近年、薬物依存への脆弱性とリスク選択行動（意思決定）との関連が注目されるようになり、両者に共通して、不適応的な意思決定過程の関与が指摘されている（Ferland & Winstanley, 2016）。ヒトにおいて、生

活の破綻や人間関係の崩壊など負の結果を導くことが明白であるにも関わらず、薬物に手を染める人、ギャンブルにのめり込む人がいるが、薬物依存やギャンブル依存の脆弱性には個人差が存在している。すなわち、依存性薬物の使用を単なる遊びで済ませられる人もいれば、たった一度の経験で常習化しまい、抜けられなくなる人もいる。動物を使用した薬物依存への脆弱性とリスク選択行動の個人差の背景にある要因の解明は、薬物依存やギャンブル依存のメカニズムの解明、さらには薬物・ギャンブル依存予防や治療法の開発に有用であると考えられる。そのためには、疾患予防の観点で、依存そのもののメカニズムだけでなく、ギャンブル行動傾向の個体差を生み出すメカニズムに関する研究が必要である。VTA や NAc を含む脳内報酬系は快情動の中核として知られているが、その過剰な活性化はリスク選択行動を増加させると同時に、薬物依存を引き起こすことが示されている (Verharen et al., 2018)。

本研究ではまず、ラットでの放射状迷路を用いたギャンブルリング課題を作成し、幼少期ストレスとしての母仔分離が意思決定にどのような影響を及ぼすのか、また、その影響に性差はみられるのかを検討した【実験1】。続いて、放射状迷路とオペラントチャンバーを使用したギャンブル課題でのリスク選択に個体差がみられるのかどうか検証し、さらに同一個体を用いて、METHによる条件性場所選好の習得、消去および再燃過程を比較することで、リスク志向性と薬物依存への脆弱性の関係について検討した【実験2・3】。最後に、METHを急性投与によって、リスク選択にどのような変化が生じるのかを検証した【実験4】。

2. 一般的方法

1. 被験体

被検体として、Long-Evans系ラットを用いた（（財）動物繁殖研究所より購入）。実験開始の前に1週間前の環境馴化の期間を置いてから、実験終了時まで個別飼育を行った。被験体は12時間の明暗スケジュール（明期；8:00-20:00）下で飼育された。基本的に餌と水は自由に摂取させたが、放射状迷路を用いたギャンブル課題では体重が自由摂取時の85～90%になるように食餌制限を行い、オペラント課題では体重を自由摂取時の85～90%になるまで食餌制限をし、それ以降は毎日15gの餌を与えた。実験は、放射状迷路を用いたギャンブリング課題を暗期、条件性場所選好を明期に行った。飼育室ならびに実験室の室温は $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ で保たれていた。すべての実験は、筑波大学の動物実験倫理委員会の承認を得て行われた。

2. 装置

2-1. 放射状迷路

装置は灰色塩化ビニール製高架式8方向放射状迷路を用いた（Fig. 2）。迷路は、中央プラットフォーム及び、そこから放射状に延びた8本のアームで構成されていた。中央プラットフォームの直径は35cm、各アームの長さは60cm、幅12cmであった。各アームの先端には報酬ペレット（45mg, Bioserv, USA）を入れる溝（直径3cm、深さ1cm）が設置されていた。プラットフォームと各アームは、透明プレキシガラス製のギロチンドアで区切られており、各ドアは天井から吊るされた釣り糸で実験者が個別に開閉することができた。迷路は床から50cmの高さに設置されていた。迷路の周りには、ポスター、机、ぬいぐるみ等の視



Fig. 2 本研究で用いられた 8 方向放射状迷路と周囲の視覚的手がかり

覚的手がかりが設置されていた。また，中央プラットホームの照度は 280lx であった。

2-2. 母仔分離

装置は，室温を $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ に設定された部屋に置かれたプラスチックケージ ($17.0\times 32.0\times 20.0\text{ cm}$) を 2 つと，保温マットを用いた (Fig. 3)。個体の体温が下がらないように保温マットを敷き，その上にプラスチックケージを置いた。ケージ内は不透明な白色の仕切り板で 6 つに仕切られ，お互いを視認できないようにした。2 つのプラスチックケージの間にも，同様の仕切り板を用いた。

2-3. 条件性場所選好

CPP に関しては，3 つのコンパートメントで構成された place preference test chamber ($23.0\times 78.5\times 27.0\text{ cm}$, MED Associates INC, USA) を用いた (Fig. 4)。アクリル製のこの装置は，左右の両端に白色・黒色コンパートメント ($21.0\times 27.5\times 27.0\text{ cm}$) と，その間にある比較的小さな灰色コンパートメント ($21.0\times 12.0\times 27.0\text{ cm}$) で構成され，各コンパートメントはギロチンドアで実験者によって仕切ることができた。白色コンパートメントの床は $1.5\times 1.5\text{ cm}$ の金網であるが，黒色コンパートメントの床は 2 cm 間隔のステンレス鋼製のグリッドで，灰色コンパートメントの床に関しては壁と同色の灰色でアクリル製の平坦なものである。すべてのコンパートメントの天井は，実験者によって自由に開閉できる透明なアクリル製の蓋で，白色・黒色コンパートメントの床下には金属製の受け皿があり，実験手続き中に被験体が排泄した場合は，排泄物がその受け皿に落



Fig. 3 本研究で用いられた母子分離の装置

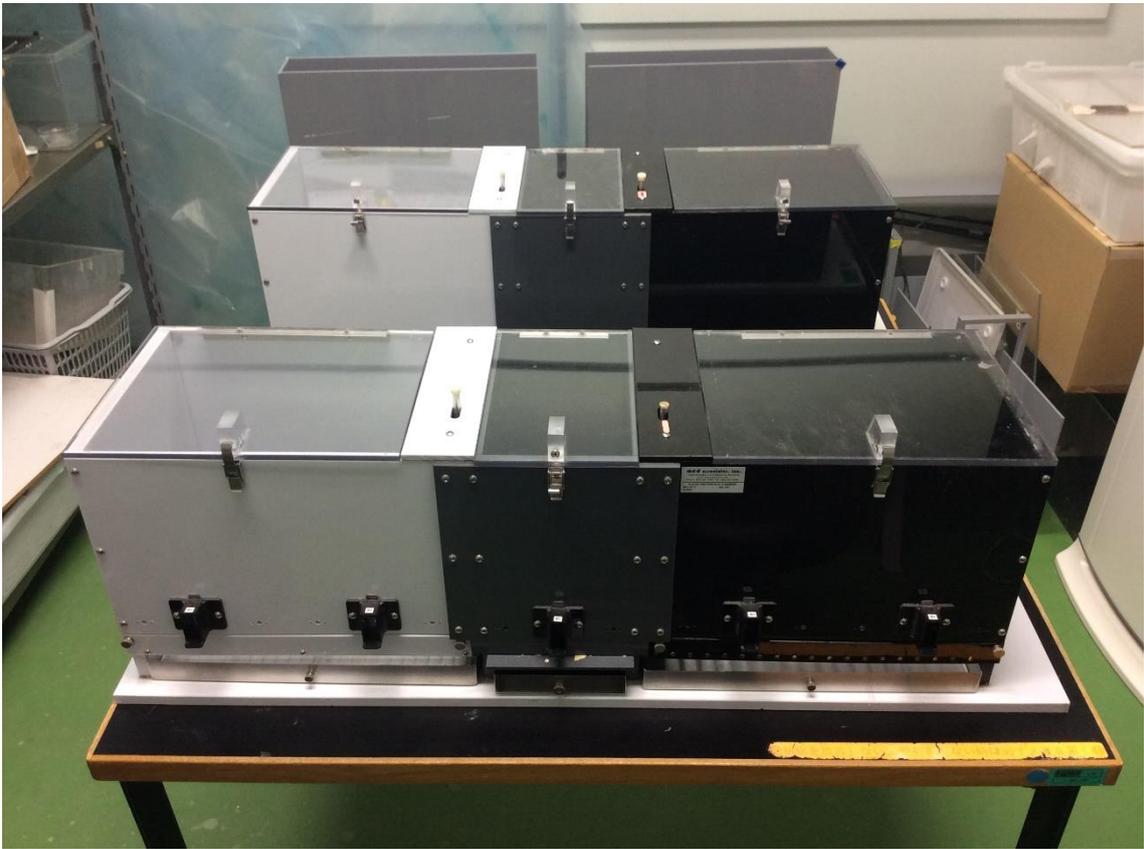


Fig. 4 本実験で用いられた place preference test chamber

ちるようになっている。なお、被験体 1 匹の実験手続きが終了するたびに、70%エタノールで床、壁、天井、ギロチンドア、受け皿を拭き、匂いや汚れが残らないようにした。

2-4. オペラント箱

行動課題で使用されたオペラントチャンバー（30.5×24.1×29.2 cm, MED Associates INC, USA）（Fig. 5）は並列で 2 台使用され、それぞれ、内側に防音材を貼った木製の箱の中に収められた。この箱は、周囲の雑音を最小限にしつつ、ファンを搭載したことによって換気ができた。各チャンバーは、グリッドの床、2つのリトラクタブルレバーと、それに対応したレバーライト（100mA）が2つ、その反対側の壁の上部にハウスライト（100mA）が1つあり、音刺激を発生させるものとして、クリック音用と、音刺激・ホワイトノイズ用のスピーカーがそれぞれ1つずつ配置された。報酬ペレットは放射状迷路を使用したギャンブル課題のときと同じものを使用した。報酬ペレットの受け取り口は2つのレバーの間に配置され、そこへヘッドエントリーした回数は赤外線センサーで検出できた。全実験のデータは、インターフェースを通してチャンバーと接続されたコンピュータによって計測された。

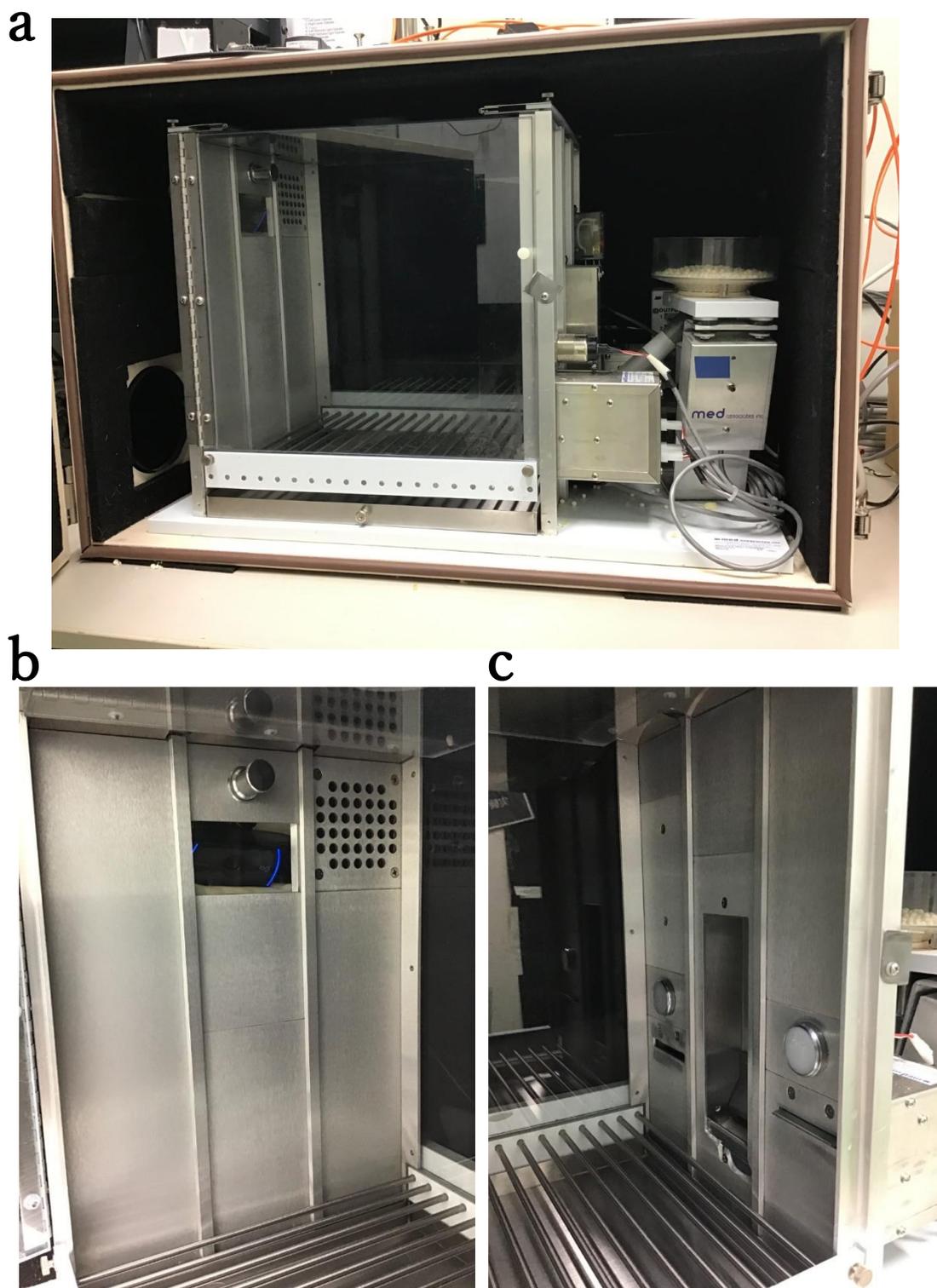


Fig. 5 本実験で使用されたオペラントチャンバー (a) と
その内部の左側面 (b), 右側面 (c)

3. 手続き

3-1. ギャンブル課題（放射状迷路）

3-1-1. ハンドリング・装置馴化

行動実験に先立って、5分間のハンドリングを2日間行った。さらに並行して、装置馴化を1週間行った。最初の2日間はハンドリング後に装置馴化を行い、放射状迷路の8本のアームのうち、十字になるような4本のアームを使用した。各アームに対応したギロチンドアを解放したまま、1度に最大6匹まで迷路内を20分間自由探索させた。なお、迷路内には1匹あたり20個の報酬ペレット（45 mg）を全体的に設置した。後の5日間は、4つのアームのうちの1つをスタート地点として固定し、残り3つのアームのそれぞれに報酬ペレットを7個ずつ、アームの先端の溝に設置した。報酬ペレットをすべて得る、もしくは20分経過で終了した。

3-1-2. ギャンブル課題

装置馴化で使用したアームと同様のアームを用いた。この4つのアームのうち1つをスタート地点とし、その対面を常にペレットのないアーム（empty arm）、そして残り2つのアームを、ペレットを報酬、キニーネ（Wako, JP）でコーティングされたペレット1個を罰とした High risk-High reward（H-H arm）と Low risk-Low reward（L-L arm）のアームと設定した。なお、各アームの位置は全体を通して固定であり、ギロチンドアは解放したままであった。被験体は、スタート地点から出発し、報酬か罰のどちらかを得たときを1試行として計測された（Fig. 6）。empty armへ進入した場合は再試行を行い、試行数に入れなかった。1試行終了後、待機ボックスに移して10

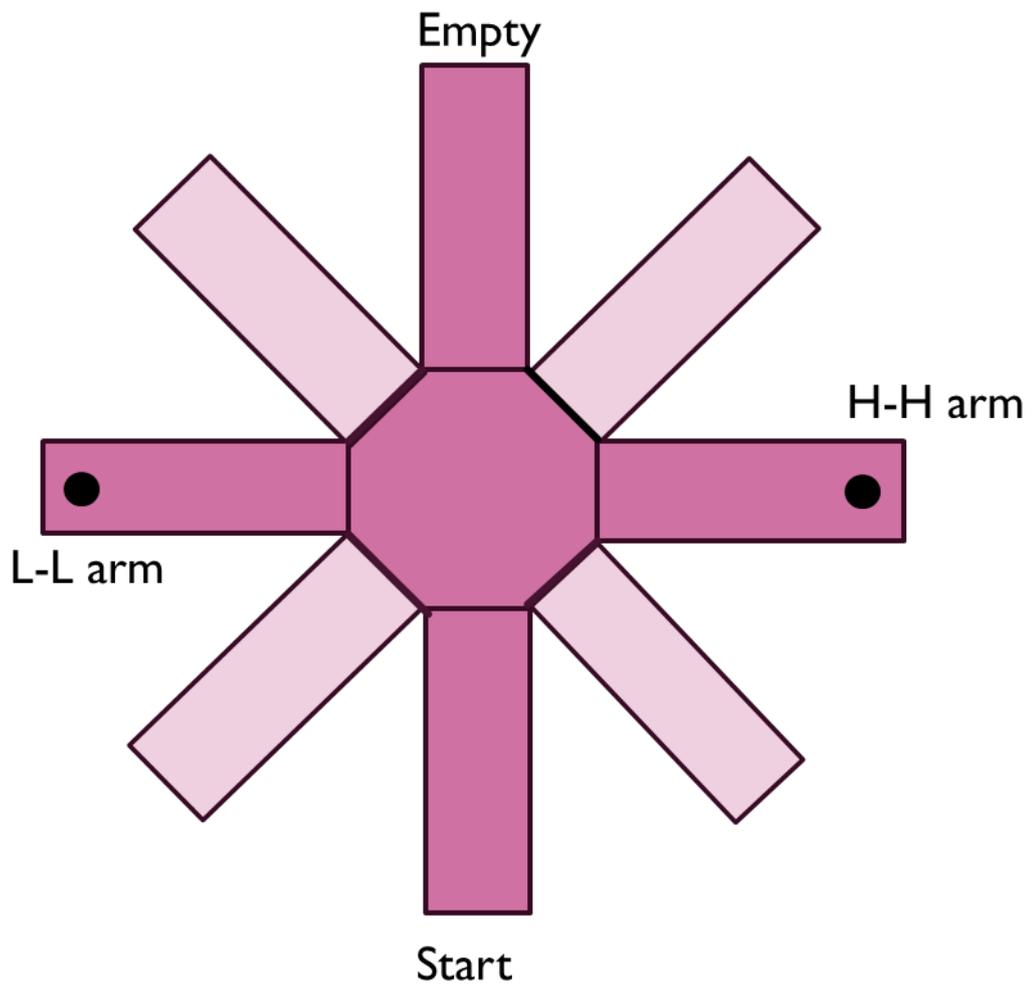


Fig. 6 ギャンブル課題における実験の模式図

(色の濃い部分のみ移動可能)

秒間経過したのち、次の試行を開始した。これを1日16試行で2週間行い、タイムアウトは3分とした。H-H armは報酬が16試行中2試行の12.5%で、報酬価はペレット270mg(45mg*6)であり、L-L armは報酬が16試行中14試行の87.5%で、報酬価はペレット45mgであった。各アームの残りの試行では罰が与えられた。16試行中の報酬と罰の配置は、前半8試行、後半8試行でそれぞれH-H armの報酬とL-L armの罰が1回ずつになるようにした。すべての被験体でスタートと空のアームの位置は固定だが、L-L armとH-H armの位置はカウンターバランスをとった。さらに、報酬や罰の感受性の影響を検証するため、Win-stay / Lose-shift行動を観察した。

3-2. 母仔分離

生後2日目から14日間、1日3時間を明期(16:00-19:00)に実施した。1つのケージ内を白色の板で6つに仕切り、完全に他個体が見えないようにした。母仔分離群(MS群)は、仕切りで区切られたこの空間に1匹ずつ個体を入れた。ケージの下には体温を保つための保温マットを敷いた。実験場所は飼育室とは異なる部屋で行った。統制群(CON群)は母親とともに飼育ケージとは異なるケージに移し、MS群とは異なる部屋に置いた。その日の母仔分離が終了すると、両方の群は、母親と共に、飼育ケージに戻された。14日間の母仔分離が終了した後、3週齢から同一の性別でまとめた2~3匹で、新しいケージを使って飼育した。

3-3. CPP

3-3-1. 装置馴化

装置への馴化を2日間連続して行った。被験体を灰色コンパートメントに置き、すぐに白色・黒色コンパートメントにつながるギロチンドアを2つ同時に開け、15分間自由に装置内を探索させた。

3-3-2. ベースライン測定

3日目から2日間、各コンパートメントに対する生得的な選好を把握するため、ベースライン測定を行った。被験体は装置馴化の手続きと同様に、灰色コンパートメントに置かれた後、すぐに白色・黒色コンパートメントの2つのギロチンドアを同時に開き、被験体が15分間自由に装置内を探索できるようにした。白色・黒色コンパートメントに2本ずつ、灰色コンパートメントに1本設けたフォトビームセンサーが被験体の動作を感知することで、そのコンパートメントへの進入と見なした。行動はコンピュータに記録され、行動解析ソフト CPP Monitor (小原医科産業株式会社, JP) または、ANY-maze (Stoelting inc, USA) によって、各コンパートメントの滞在時間と進入回数を測定した。各コンパートメントの滞在時間が得られたあと、選好率を算出した。この選好率とは、白色・黒色コンパートメントでの滞在時間の合計から、白色ないし黒色コンパートメントのそれぞれの滞在時間を比べ、百分率で表した値である。2日間の選好率の平均値を算出し、その値が低い方のコンパートメントと薬物 (METH) を条件づけるため、選好率を下記のように表される。

$$\text{選好率(\%)} = \frac{\text{薬物と条件づけられたコンパートメントの滞在時間(s)}}{\text{黒と白のコンパートメントの総滞在時間(s)}} \times 100$$

3-3-3. 場所条件づけ

条件づけは、1日1セッションを6日間、計6セッションから構成された。手続きとして、被験体は生理食塩水(SAL)か METH(0.5 mg/kg)を腹腔内投与され、白色あるいは黒色コンパートメントに30分間閉じ込められた。なお、使用した METH 溶液は、METH を生理食塩水に溶解して作成した。また、バイアス法を用いたため、ベースライン測定によって算出された2日間の選好率の平均値の内、選好率が低い方のコンパートメントに条件づけられた。要するに、ベースライン測定時における白色コンパートメントの選好率が低い場合、白色コンパートメントは METH と条件づけられ、別の日に黒色コンパートメントと SAL が条件づけられた。条件づけ初日に SAL と METH のどちらを先に投与するかは、被験体ごとにカウンターバランスを取った。

3-3-4. 条件づけ後の選好テスト (テストI)

選好テストは、条件づけ手続き終了後の翌日に、ベースライン測定時と同様の手続きで行われた。実験後、それぞれ選好率を算出し、「テストIにおける METH と条件づけられたコンパートメントへの選好率がベースライン測定時より10%以上増加したこと」を習得基準とした。この基準を満たさず被験体のみ、翌日から次の消去試行に進んだ。一方で、基準を満たさなかった被験体は翌日から2日間、追加の条件づけを受けた。追加の条件づけが終了した翌日に、再度テストIを実施し、習得基準に満たしていれば消去試行に進み、まだ習得基準を満たしていなければもう一度追加の条件づけを行った。ただし2回の追加の条件づけ後も、習得基準を満たさなかった被験体は実験から除外した。

3-3-5. 消去

消去の手続きは腹腔内投与を行わないこと以外は条件づけと同様であり、テストIの翌日から6日間行った。

被験体は、1日ごとに交互で、白色もしくは黒色のコンパートメントに30分間閉じ込められた。腹腔内投与はSAL・METH共に行わなかった。

3-3-6. 消去後の選好テスト（テストII）

6日間の消去の翌日、テストIと同様の手続きで15分間のテストを行い、各コンパートメントの滞在時間から選好率を算出した。消去基準は「テストIIにおけるMETHと条件づけられたコンパートメントへの選好率が、ベースライン測定の10%以内であること」と設定した。この基準を満たした被験体は、次の再燃テストに進むことができた。一方、基準を満たなかった被験体は、翌日からの2日間で追加の消去を受けた。追加の消去が終了した翌日に、再度テストIIを実施し、習得基準に満たしていれば再燃テストに進み、まだ習得基準を満たしていなければもう一度追加の消去を行った。ただし2回の追加の消去後も、習得基準を満たさなかった被験体は実験から除外した。

3-3-7. 再燃テスト

再燃テストでは、ベースライン測定や各テストと同じく被験体に15分間自由探索させたが、テストを行う直前に薬物の再燃を引き起こす刺激としてpriming-shotを行った。被験体は、METH(0.1mg/kg)を腹腔内投与された後、すぐにCPPの装置に入れられ、15分間各コンパー

トメントでの滞在時間を測定された。そして、その滞在時間からこれまでと同様に選好率を算出した。

3-4. ギャンブル課題（オペラント箱）

3-4-1. 馴化とマガジントレーニング

ラットに報酬ペレットを馴化させるために、ガラスの容器に報酬ペレットを10個用意し、ラットのホームケージの中に入れて、ペレットをすべて消費するか、30分以上経過するまで放置した。その後、オペラントチャンバーへの馴化をするため、ペレットの受け取り口にあらかじめ10個のペレットを用意し、ラットをチャンバー内に配置した。ラットには、20秒、30秒、40秒の間隔でペレットが1個提供された（ペレットを獲得するまで時間は経過しない）。60分以内に20個の提供されたペレットを獲得するように訓練し、2日目以降にこの基準に到達できれば、次の段階に進んだ。

3-4-2. シェイピング

レバー押し行動を形成させるために、オペラントチャンバーは、以下のようにプログラムされた。①ハウスライトが点灯し、左右のレバーのうちどちらかが伸展して、それに対応するライトも点灯する。②レバーが押されるか、10分経過したときにレバーが戻り、ハウスライトとレバーライトが消灯する。③10秒の試行間隔（Intertrial Interval; ITI）の後、再度同じ試行を繰り返す。レバーの伸展する順番はランダムであった。実験者は、ラットがレバーに近づき、探索行動をしたときにマニュアルでペレットを提供できた。60分以内に20個のペレットを獲得するように訓練され、2日目以降にこの基準を達成できた個体は

次の段階に進んだ。

3-4-3. レバー押しトレーニング

レバー押し行動を時間制限内で行うことと、レバーを押してもペレットが提供されないことに慣れさせること、そして、ギャンブル課題の進行の仕方に慣れさせることを目的として、以下のようにプログラムされた。全体は計2ブロックで形成され、1ブロックごとにレバーが1つしか提示されない **Forced choice** と、レバーが2つ提示されて選択可能となる **Free choice** の2つに分けられた。1試行は、①ハウスライトと音刺激 (**white noise or 3kHz**) が提示される。②レバーの伸展とそれに対応したライトが点灯する。③レバーが押されると、中に戻り、対応したライトも消え、報酬ペレットが50%の確率で1つ提供される。④報酬獲得時の **Head Entry** が検出されてから5秒後に、ハウスライトと音刺激が消える。レバー伸展後10秒間押されなかったときは、**omission** としてカウントし、ハウスライトと音刺激が消える。1試行は40秒で固定され、**Forced choice** は16試行、**Free choice** は20試行で設定され、1セッション計72試行であった。音刺激と、**Forced choice** でのレバー伸展の順番はランダムであった。**Free choice** での各レバーの選択回数と、**Head Entry** の回数はコンピュータによって記録された。

3-4-4. ギャンブル課題トレーニング

ギャンブル課題における各レバーの報酬確率と、それと条件づけられる音刺激を学習させるため、以下のようにプログラムされた。全体は2ブロックで構成されているが、**Free choice** がなくなり、**Forced**

choiceのみで実施した。1試行の流れは、各ブロックでの報酬確率の違い以外、レバー押しトレーニングとほぼ同様であった。報酬確率は、Low risk-Low reward (L-L) のレバーと、High risk-High reward (H-H) のレバーで異なり、L-Lはセッションを通して、87.5%の確率で報酬ペレットが1つ獲得できた。H-Hは報酬ペレットを4個(0.5秒ごとに1個提供)獲得できたが、ブロックごとに12.5% (Poor Odds) か50% (Good Odds) の確率であった。H-Hの報酬確率と音刺激の順番はランダムであり、こういった各レバーの性質は、実験全体を通して固定されていた。1ブロックは36試行で、1セッションで計72試行あった。

3-4-5. ギャンブル課題

1ブロックが、Forced choiceとFree choiceの2つに分けて構成されている以外は、ギャンブル課題トレーニングと同様である (Fig. 7)。H-Hの報酬確率やそれに条件づけられる音刺激は、前のトレーニングと同じものが提示された。Free choiceでのH-Hを選択した回数やHead Entryの回数などはコンピュータによって記録され、Bryceら(2020)の論文を参考に、3日間のH-H選択率のデータに2要因分散分析を行い、Oddsの主効果が $p < .05$ であり、且つdaysとOdds×Daysの交互作用が $p > .10$ になった時を成績が安定したとみなした。

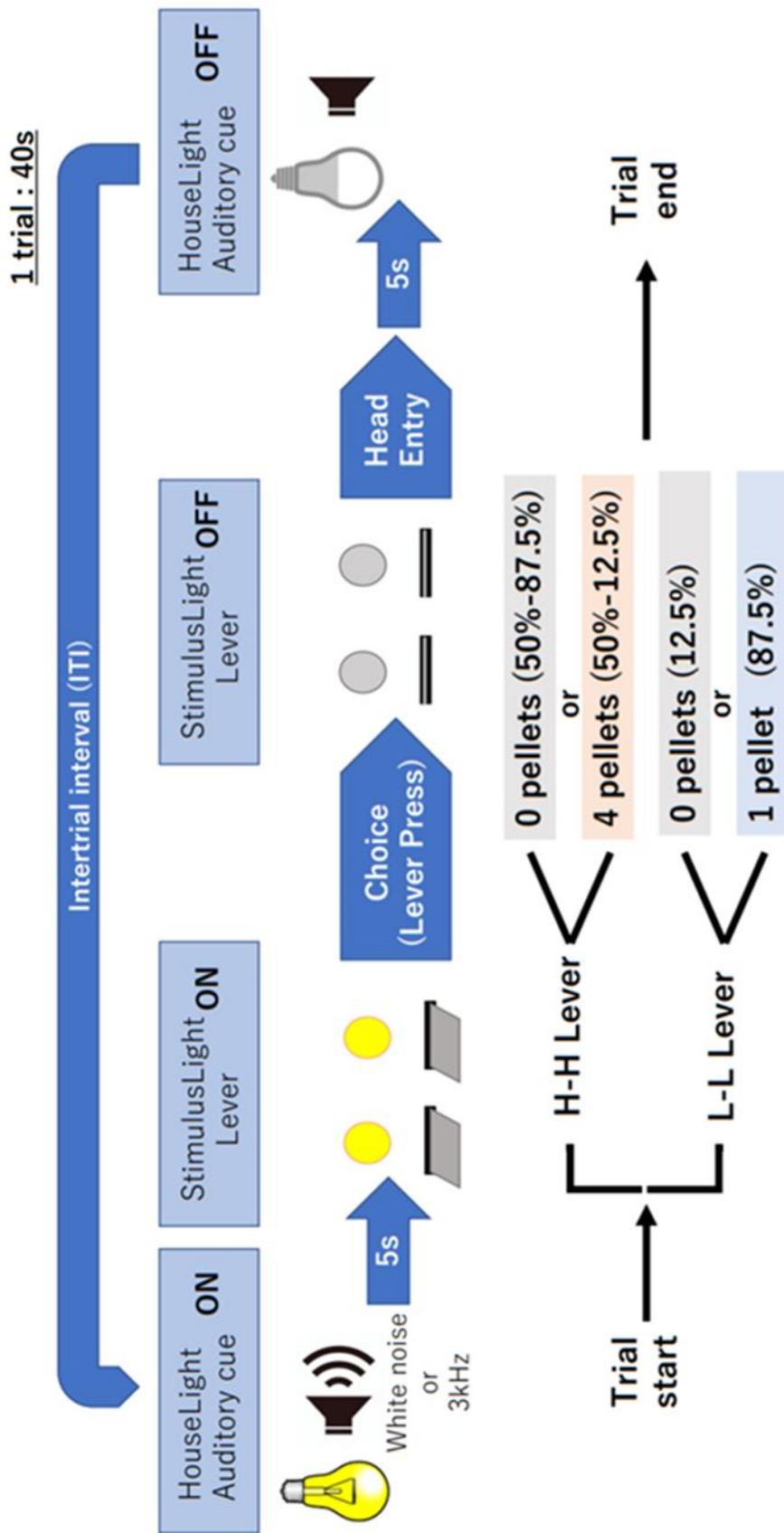


Fig. 7 ギャンブル課題における1試行の流れ

第 3 章

新生仔期ストレスがリスク志向性に及ぼす影響【実験 1】

目的

序論でも述べた通り，Cao ら（2016）の研究によって，幼少期ストレスはギャンブル課題での不適応な意思決定と関連していることが報告されている。また，意思決定自体に性差があると同時に，幼少期ストレスの影響に関しても性差が存在するが，幼少期ストレスと性差の関係は非常に複雑である。これまでの幼少期ストレスの研究の多くが，雄を対象としたものであり，雌を含めた性差まで検証した研究はほとんどない。

そこで本研究では，幼少期ストレスの動物モデルである新生仔期母仔分離を用いて，幼少期ストレスが成人期の雌雄ラットのリスク選択行動に及ぼす影響を検証した。

方法

被験体

妊娠 14～17 日目の Long-Evans 系雌ラット 6 匹を購入し，生まれたラット計 40 匹（雄：20 匹，雌：20 匹）を用いた。

母仔分離

母ラットの出産日を PND（postnatal day）0 と設定し，PND 1 において，生まれた仔ラットの数によって栄養に偏りが出ないように，1 ケージにつき母ラット 1 匹と仔ラット 10 匹（雄：5 匹，雌：5 匹）となるように数を制限した。PND 2 から母仔分離を開始し，PND 15 まで実施した。MS 群と CON 群のケージは，それぞれ別の部屋に置かれ，母

親の鳴き声が，MS群に聞こえないようにした。詳細は第2章，一般的方法のとおりであった。

ギャンブル課題

放射状迷路を用いたギャンブル課題を14日間実施し，2日間のH-H arm選択の平均をまとめて1ブロックとして，分析に使用した。詳細は第2章，一般的方法のとおり。

結果

Fig.8はギャンブル課題におけるempty armの進入回数の経過を示している。訓練の初期段階では，ラットは報酬がおかれていないempty armに複数回進入していたが，日を追う毎に進入回数は減少していき，7～8日目あたりでほぼ漸近線レベルに達している。3要因分散分析を行ったところ，訓練日数の主効果が有意であり ($F(6,216)=100.94, p<.001$)，Bonferroni法による多重比較の結果，7～8日目以降は訓練最終日の14日目との間で有意差が認められなかった。したがって，訓練7～8日目においてラットがギャンブル課題でのルール（特定のアームにのみ報酬が置かれている）を習得したと判断した。

Fig.9-a, 9-bとFig.10-a, 10-bは，それぞれCON群とMS群における性差と，雄と雌における母仔分離の影響を，14日間のH-H armの選択率を使用して示している。どの図に関しても，訓練が進むにつれて，H-H armの選択率が低下していった。また，雄が14日間かけてH-H armの選択率を下げていき，安定したのに対して，雌は一週間ほどで安定したように見える。ストレス条件と性別と訓練日数で3要因分散分析

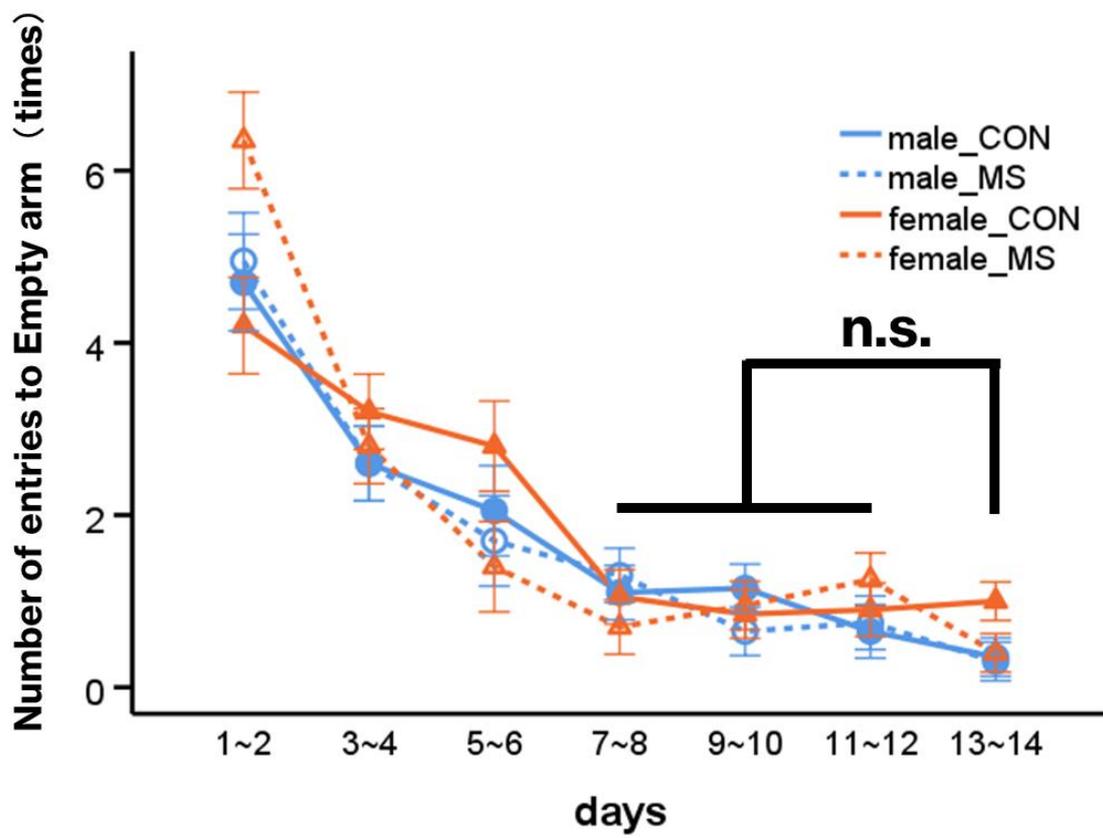


Fig. 8 ギャンブル課題における empty arm への進入回数
 (エラーバーは標準誤差)

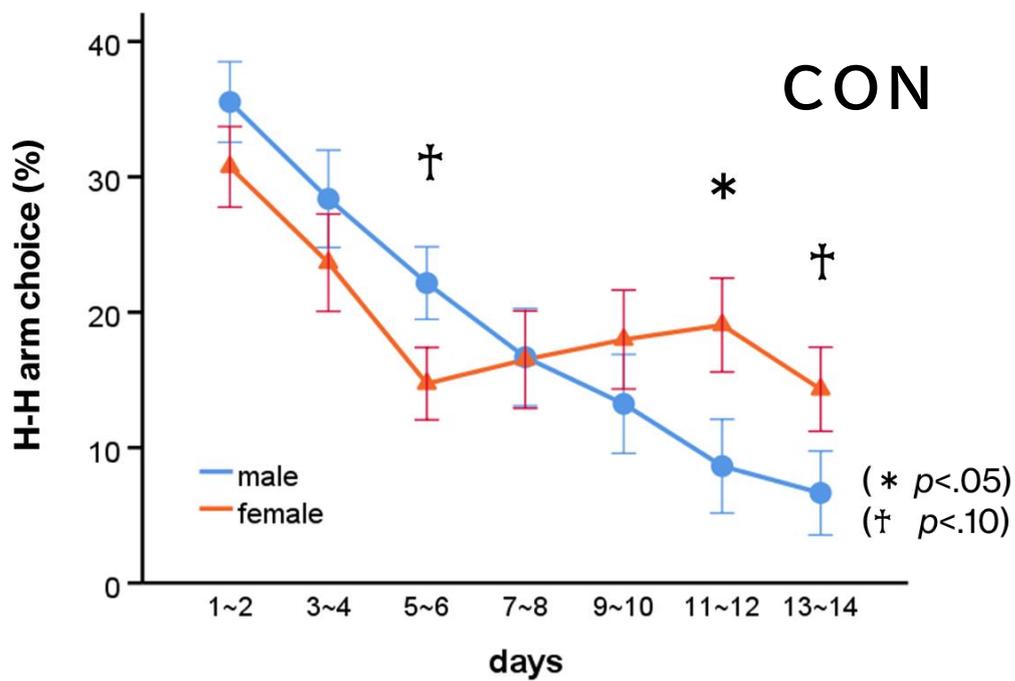


Fig. 9-a ギャンブル課題における CON 群の H-H arm の選択率
(エラーバーは標準誤差)

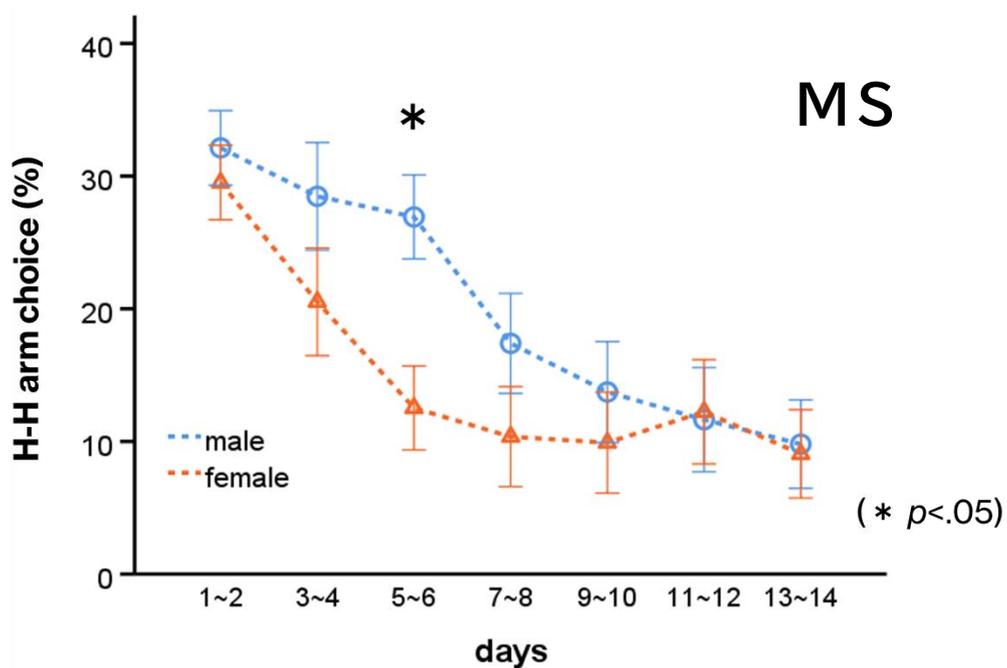


Fig. 9-b ギャンブル課題における MS 群の H-H arm の選択率
(エラーバーは標準誤差)

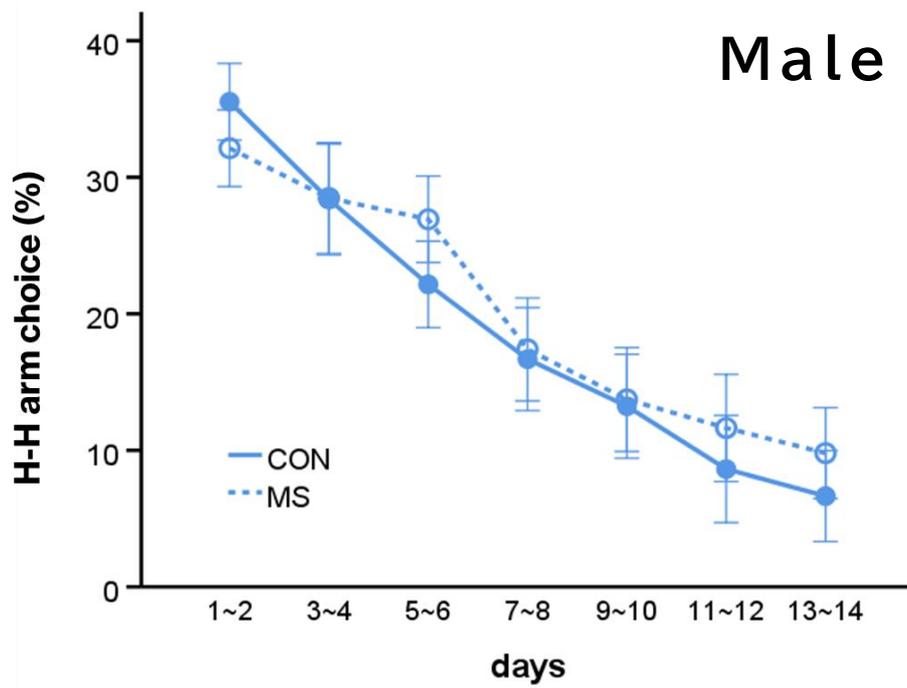


Fig. 10-a ギャンブル課題における雄の H-H arm の選択率
(エラーバーは標準誤差)

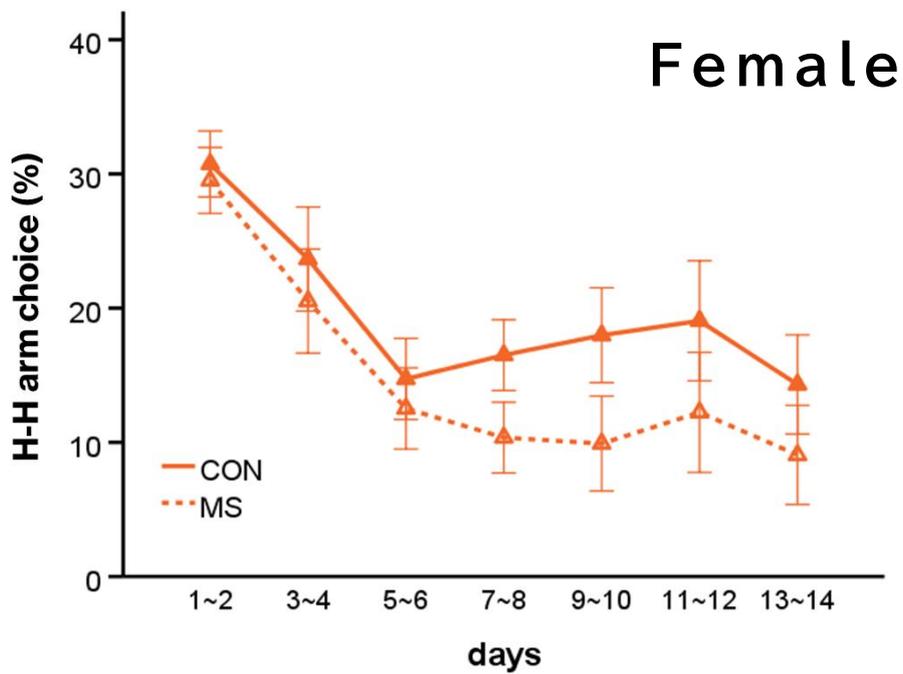


Fig. 10-b ギャンブル課題における雌の H-H arm の選択率
(エラーバーは標準誤差)

を行ったところ，訓練日数の主効果 ($F(6,216)=36.74, p<.001$) 及び，訓練日数×性別の一次交互作用 ($F(6,216)=4.55, p<.001$) が有意であった。そこで，訓練日数×性別で単純主効果の検定を行った。雄における訓練日数 ($F(6,228)=29.54, p<.001$) と雌における訓練日数 ($F(6,228)=13.61, p<.001$)，訓練 5～6 日目における性別 ($F(1,38)=12.08, p<.001$) で有意差が見られた。Bonferroni 法による多重比較の結果，最終日である 13～14 日目と有意差が見られなくなる日数は，雄は 9～10 日目，雌は 5～6 日目からであった。さらに，CON 群と MS 群のそれぞれについて，訓練日数と性別の 2 要因分散分析を行った。CON 群に関して，訓練日数 ($F(6,108)=16.32, p<.001$) と交互作用 ($F(6,108)=3.19, p<.01$) で単純主効果が有意であった。Bonferroni 法による多重比較の結果，訓練日数の 5～6 日目で雄の方が高い有意傾向が見られ ($p<.10$)，11～12 日目で雌の方が有意に高く ($p<.05$)，13～14 日目で雌の方が高い有意傾向が見られた ($p<.10$)。MS 群に関して，訓練日数 ($F(6,108)=21.91, p<.001$) と交互作用 ($F(6,108)=2.32, p<.05$) で単純主効果が有意であった。Bonferroni 法による多重比較の結果，5～6 日目で雄の方が有意に高かった ($p<.05$)。

Fig.11 は，各群の訓練 7 日目以降の Lose-shift 行動の出現率を示している。なお，Win-stay 行動は，発生確率が低く，サンプルサイズが足りなかったため，考慮しなかった。Lose-shift 行動は，一般的に，選択した結果において期待される報酬より下回った場合において，次の選択を変更する行動と定義される。そのため本実験では，L-L arm で罰を得たときに，次の試行で H-H arm を選択する行動を Lose-shift 行動とし，その確率を算出した。対応のない 2 要因分散分析を行った結

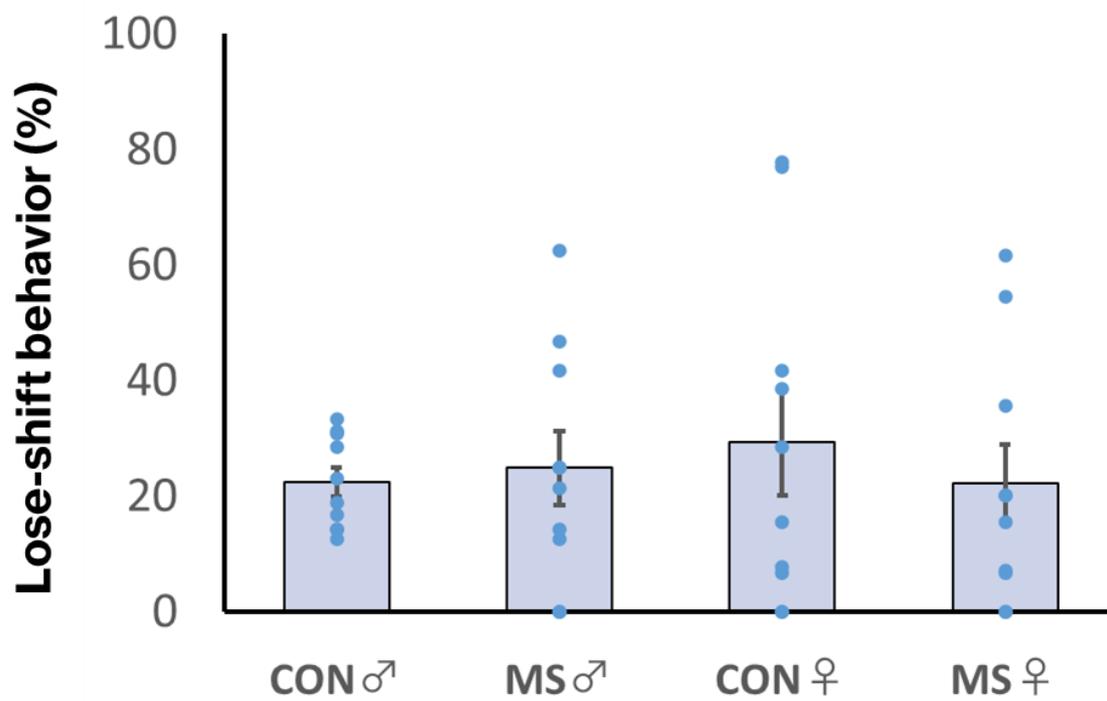


Fig. 11 性別ごとの Lose-shift 行動における母仔分離の影響
(エラーバーは標準誤差)

果，性別，ストレス条件，交互作用のどれにも有意差はみられなかった。

Fig.12 は，各群の訓練 7 日目以降の Win-stay 行動の出現率を示している。Win-stay 行動は，一般的に，選択した結果において期待される報酬より上回った場合において，次の選択を変更しない行動と定義される。そのため本実験では，H-H arm で大報酬を得たときに，次の試行で再度 H-H arm を選択する行動を Win-stay 行動とし，その確率を算出した。対応のない 2 要因分散分析を行った結果，性別，ストレス条件，交互作用のどれにも有意差はみられなかった。

考察

本実験では，リスク志向性における，性別と幼少期ストレスの影響を検討するために，まず幼少期ストレスのモデルとして雄と雌の両方に対して母仔分離を実施し，成体期に放射状迷路を用いたギャンブル課題で個体のリスク志向性を評価した。なおギャンブル課題において，empty arm への進入が訓練 7～8 日目以降でほとんどみられなくなったことから，ラットはこの時点でギャンブル課題のルールについて習得したと判断した。

ギャンブル課題における H-H arm の選択率は CON 群において，ルールの習得前である 1 日目から 6 日目までは雄の方が高い傾向にあったが，習得後である 7 日目以降からこの傾向は逆転し，雌の方が H-H arm を選択するようになった。このような雄と雌のリスク選択の変化は，いくつかの先行研究の結果と類似している。たとえば Stoltenberg と Vandever (2010) の研究では，ヒトの男性と女性を対象として IGT を行った。彼らは，全 100 回のカード選択を 5 ブロックに分け，有利なデッキをどの程度選んだのかを示す IGT net score (有利なデッキ

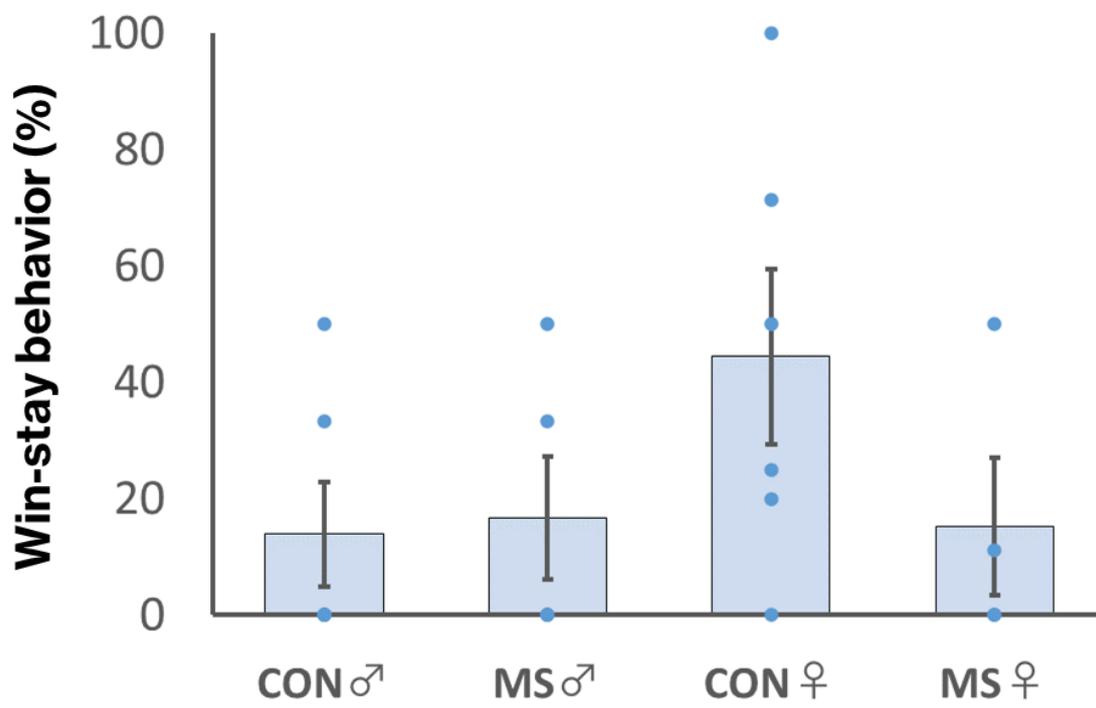


Fig. 12 性別ごとの Win-stay 行動における母仔分離の影響
(エラーバーは標準誤差)

選択—不利なデッキ選択）の性差をみたところ、最初のブロックでは女性より男性の方が成績は低かったが、最後のブロックでは逆転し、男性の方が成績は高かった。つまり、課題初期では男性の方がリスク選択をする傾向があり、後期になってくると、このリスク選択は女性を下回るようになることが明らかとなった。また、ラットを用いた Georgiou ら（2018）研究では、IGT のように 4 つの選択肢のうちから 1 つを選ばせる、ラットギャンブル課題が使用された。この課題で選べる選択肢は、それぞれ設定された確率で報酬（ペレット）か罰（タイムアウト）が提示され、最終的に得られる報酬量が異なっていた。結果として、セッション前半では雄は 4 つの選択肢のうち二番目に報酬量が多くなる選択肢への反応率が高く、逆に後半では雌の方がその選択肢に対する反応率が高くなっていた。Georgiou ら（2018）の研究では、4 つの選択肢のうち得られる報酬量が少ない 2 つの選択肢を訓練の中でラットはほぼ選択しないようになったことから、それらの選択肢は本研究での empty arm に対応すると考えられる。また、彼らの研究での報酬量が最も多い選択肢を本研究での L-L arm、二番目に報酬量が多い選択肢を H-H arm と仮定すると、前半と後半で雌雄の成績が逆転するという本実験でみられた傾向は、彼らの研究での二番目に報酬量が多い選択肢への反応率と類似していると言える。また、本研究では、雌は雄よりもギャンブル課題の成績がより早く安定する（選択反応が一方の選択肢に固定化する）ことを示したが、これは、van den Bos ら（2013）の主張と一致している。これらのことから、本実験で用いたラットギャンブル課題でみられた性差は、ヒトにおける意思決定の性差と同様の傾向を示しており、本ギャンブル課題の表面的妥当性が確認できたと言える。

また、近視眼的な行動の指標である、Lose-shift 行動と Win-stay

行動の結果に関しては、Chowdhury ら (2019) によると、一般的に雌は雄よりもネガティブな結果に敏感であり、それがその後の行動に影響しやすいことが指摘されていることから、本実験でも Lose-shift 行動と Win-stay 行動に性差がみられることが期待された。最近、Islas-Preciado ら (2020) でも、確率割引課題において、雌の方が雄よりも Lose-shift 行動を多く示すことが報告されている。しかし本研究では、Lose-shift 行動と Win-stay 行動に有意な性差は認められなかった。その理由の一つとして、ヒトを含む先行研究 (van den Bos et al., 2013) のギャンブル課題では、罰が仮想のお金が失われる損失であったり、餌が一定時間もらえなくなったりする間接的なものであったが、本実験では、苦みのあるキニーネをまぶしたペレットを提示する直接的な罰を用いた。したがって、罰の強度が直接的で強すぎると、罰に対する感受性の性差は消失してしまうのかもしれない。しかしその一方で、確率割引課題の Large/Risky において、大報酬が確実にもらえる代わりに罰 (フットショック) の確率変動する Risky decision making 課題で、雌ラットが罰の確率が高くなるほどリスク選択をしなくなるという報告 (Orsini et al., 2016) もあり、この可能性は低いと考えられる。

一方で Win-stay 行動は、CON 群の雌において、雄よりも高い傾向がみられた。このことから、本実験では、雌はネガティブな結果 (罰) ではなく、ポジティブな結果である大報酬に影響されやすいことが示唆された。したがって、ギャンブル課題の進行に応じて変化する性差は、情報処理の違いに起因しているのかもしれない。つまり、雄は長期的な視点で選択する傾向が強いため、学習までに時間がかかる一方で、雌は短期的な結果を判断基準に加えて選択するため、長期的な視点を雄ほど

重視しておらず，学習までにかかる時間も少ないと考えられる。

また，本実験の雌では個体差が雄よりもかなり大きく，このことが Lose-Shift 行動の性差を検出できなかった原因なのかもしれないが，この背景として性周期の影響が考えられる。Georgiou ら（2018）の研究では，意思決定課題の成績に対する雌の性周期の影響は認められておらず，また Verharen ら（2019）の研究でも同様に，雌の性周期はギャンブル課題の成績にほとんど影響を与えなかったが，発情期においてポジティブなフィードバック（報酬による強化）が行動に与える影響が小さくなっていった。発情期は，性ホルモンであるプロゲステロンやエストラジオールのレベルがピークとなり，餌への動機づけが低下するという報告がある（Yoest et al., 2019）。したがって，本実験で観察された雌での Win-stay 行動の個体差は，性周期の違いがその要因の一つとして働いていた可能性がある。しかし一方で Verharen ら（2019）は，罰による行動の影響に性周期による違いは検出できなかったとしており，同様に，罰の確率が意思決定与える影響を検証した Orsini ら（2016）の研究でも，性周期による影響は観察されていない。本実験でリスクとして用いたキニーネという比較的強い罰に対する感受性に性周期が影響するかどうかは不明であるが，Lose-Shift 行動に性周期が影響を与えた可能性は少ないと考えられる。

幼少期ストレスの影響に関しては，統計的に有意な差はなかったものの，雌のみにおいて MS 群の H-H arm 選択率が CON 群と比べて見かけ上低くなっていた。加えて，CON 群で見られた H-H arm 選択率の性差が MS 群で消失したことから，雌において幼少期ストレスの影響は存在する可能性がある。一方雄に関しては，母仔分離によって不適応な意思決定をする個体が増加した Cao ら（2016）の研究とは異なり，

母仔分離による影響はみられなかった。本実験と Cao ら (2016) の結果が異なる理由としては、母仔分離の長さの違いが考えられる。本実験での母仔分離の期間は 2 週間であったが、Cao ら (2016) の母仔分離は 3 週間であった。母仔分離に関する先行研究は数多く存在するが、それらで用いられている母仔分離の期間は様々であり、母仔分離が生育後の個体の行動に及ぼす影響も一貫していない。たとえば、PND2~14 で母仔分離を行った研究では、高架式十字迷路におけるオープンアームの滞在時間が変化しなかったのに対し (Øines et al., 2012)、PND1~21 で母仔分離を行った研究では、オープンアームの滞在時間が減少した (Jin et al., 2018)。したがって、意思決定課題における幼少期ストレスの影響を観察するには、より長い母仔分離期間を用いて再検証する必要がある。

第 4 章

リスク志向性と薬物依存への脆弱性の関連（空間学習課題）

【実験 2】

目的

本実験の目的は、ラットのギャンブル課題における H-H 選択の個体差が、CPP の薬物と条件づけられたコンパートメントへの滞在時間に及ぼす影響を評価することで、リスク選択の個体差による METH への脆弱性の影響を図ることである。薬物依存やギャンブル依存のような依存症患者は、意思決定において高いリスク選好性や衝動性を示すことが知られている。このような傾向はラットでもみられ、慢性的な依存性薬物の摂取によって、その個体のリスク選択行動は増加する。しかし、逆に、個体のもつ生得的なリスク選択の傾向が、薬物依存への脆弱性に影響を及ぼしているかについては、未だ不明瞭な点が多い。

そこで本実験では、ラットを用いたギャンブル課題を作成し、そこで得られたリスク選択行動の個体差の程度が、後の METH を使用した CPP の結果とどのような関連を示すのか、検討した。

方法

被験体

Long-Evans 系雄ラット 32 匹を用いた。

ギャンブル課題

放射状迷路を用いたギャンブル課題を 14 日間実施し、成績が安定してから H-H arm 選択の平均を分析に使用した。詳細は第 2 章、一般

的方法のとおり。

CPP

ギャンブル課題終了後，自由摂食に戻し，1週間の期間を設けてから実験を開始した。詳細は第2章，一般的方法のとおり。行動解析ソフトはCPP Monitorを使用した。

結果

実験に用いた32匹の被験体中，CPPにおいて条件づけできなかった1匹と，消去できなかった6匹に関しては実験から除外し，残る25匹について以下の分析を行った。

1. ギャンブル課題

Fig. 13は，ギャンブル課題におけるempty armの進入回数の経過を示している。訓練の初期段階では，ラットは報酬がおかれていないempty armに複数回進入していたが，日を追う毎に進入回数は減少していき，7日目あたりでほぼ漸近線レベルに達している。対応のある1要因分散分析を行ったところ，訓練日数の主効果が有意であり($F(13,312)=43.37, p<.001$)，Bonferroni法による多重比較の結果，9日目以降は訓練最終日の14日目との間で有意差が認められなかった。したがって，訓練9日目においてラットがギャンブル課題でのルール（特定のアームにのみ報酬が置かれている）を習得したと判断し，その後の分析には9日目以降のデータを使用することとした。

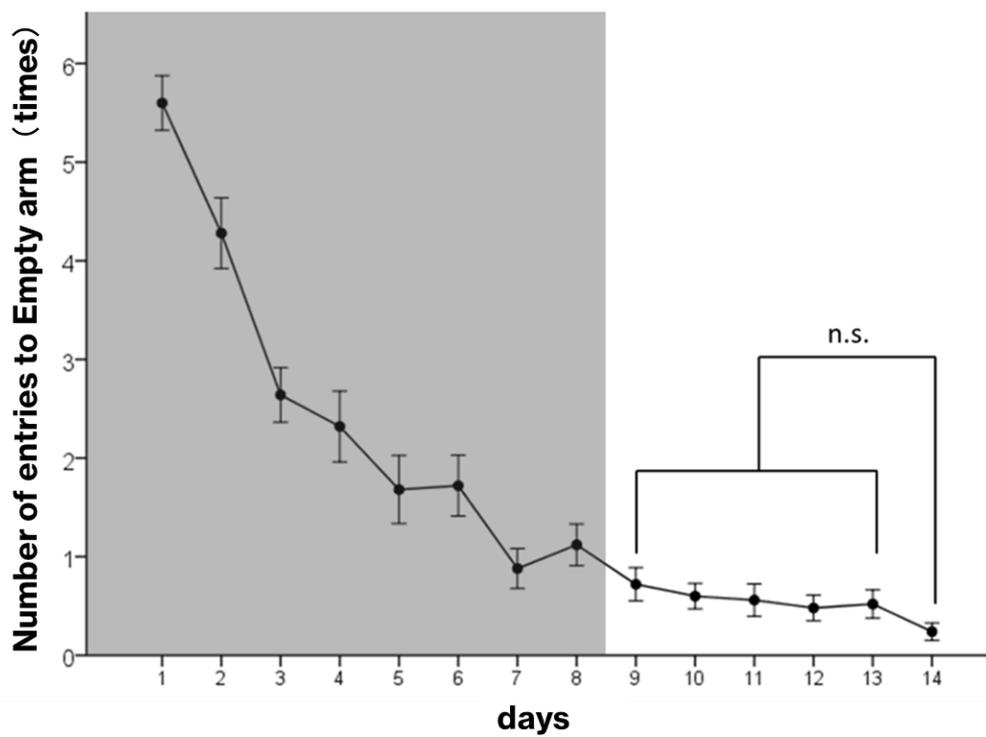


Fig. 13 ギャンブル課題における empty arm の進入回数
(エラーバーは標準誤差)

まずリスク選択行動について、H-H arm の選択率から、リスク選択群とリスク回避群の 2 群に振り分けた。先行研究 (Ferland & Winstanley, 2016) からリスク嗜好ラットは全集団の約 20% 存在すると推定し、9 日目以降の H-H arm の平均選択率に基づいて、その上位・下位 25% をそれぞれリスク選択群およびリスク回避群とした (リスク選択群 7 匹, リスク回避群 7 匹)。

Fig. 14-a, 14-b と Fig. 15-a, 15-b は、それぞれ H-H arm と L-L arm における全体と各群の 14 日間の選択率を示している。どちらの選択率についても、訓練の初期段階ではリスク選択群とリスク回避群で同程度の選択率を示していたが、訓練が進むにつれて、2 群間に差がみられるようになってきた。特に H-H arm の選択率に関しては、リスク回避群で急速に低下していったのに対して、リスク選択群では訓練の後半においても高いレベルを維持したままであった。また L-L arm の選択率に関しては、両群とも増加傾向を示しているが、リスク回避群のほうがより急速に増加していることがわかる。2 要因混合計画の分散分析を行ったところ、H-H arm 及び L-L arm の両方で群 (H-H arm ; $F(1, 12)=32.72, p<.001$, L-L arm ; $F(1, 12)=22.63, p<.001$) 及び訓練日数 (H-H arm ; $F(13, 156)=7.47, p<.001$, L-L arm ; $F(13, 156)=23.34, p<.001$) の主効果がそれぞれ有意であった。また、交互作用においても有意であった (H-H arm ; $F(13, 156)=3.11, p<.001$, L-L arm ; $F(13, 156)=3.09, p<.001$)。

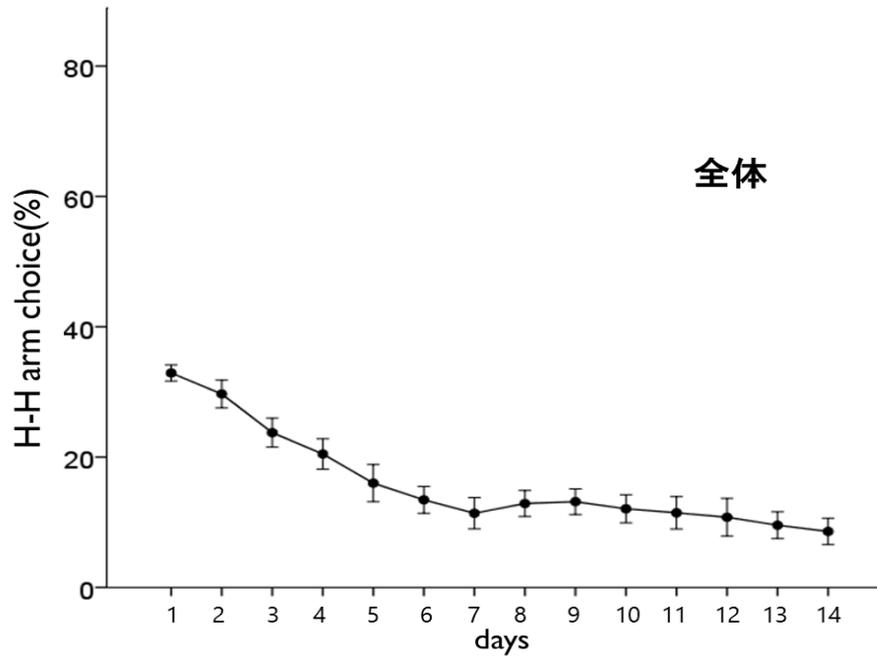


Fig. 14-a ギャンブル課題における全体の H-H arm の選択率
(エラーバーは標準誤差)

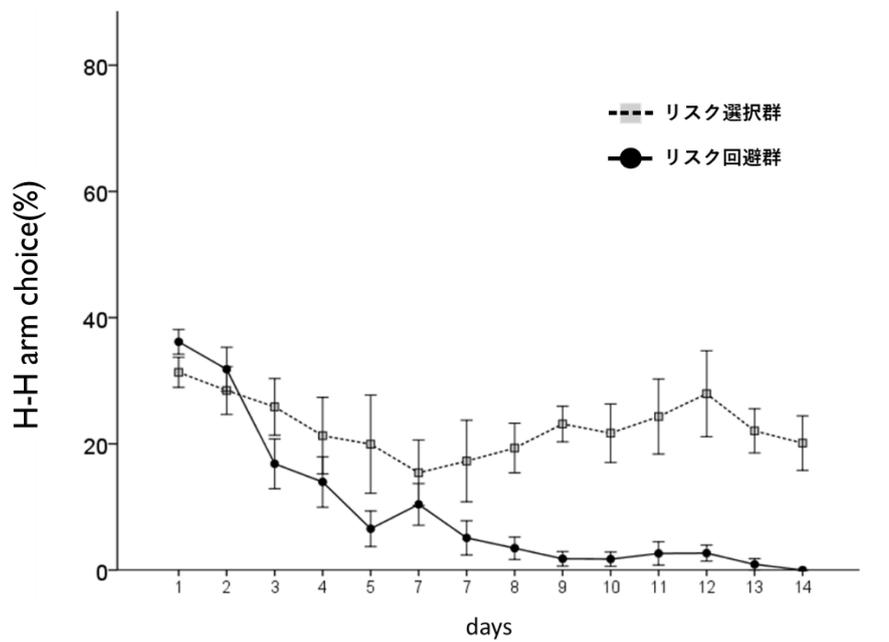


Fig. 14-b ギャンブル課題における各群の H-H arm の選択率
(エラーバーは標準誤差)

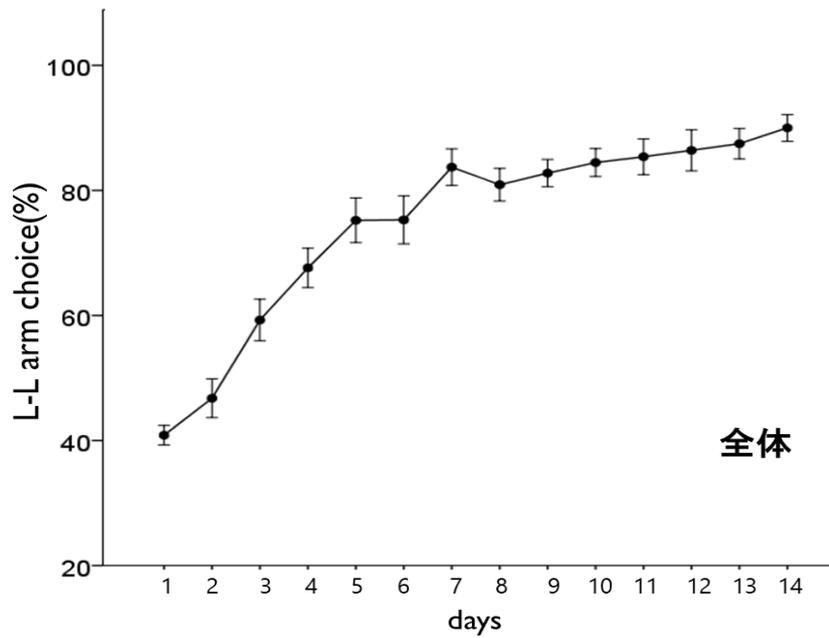


Fig. 15-a ギャンブル課題における全体の L-L arm の選択率
(エラーバーは標準誤差)

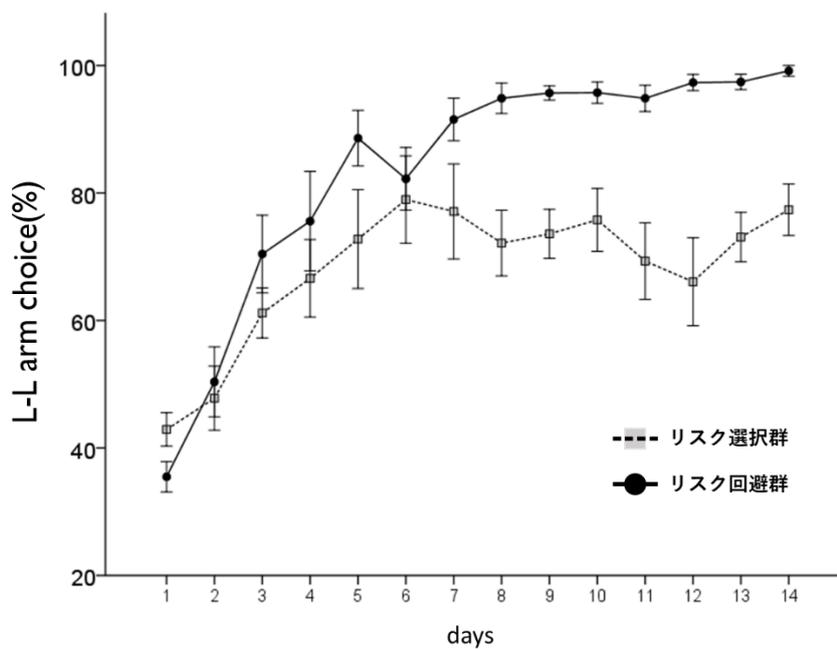


Fig. 15-b ギャンブル課題における各群の L-L arm の選択率
(エラーバーは標準誤差)

Fig. 16 は、各群の訓練 9 日目以降の Lose-shift 行動の出現率を示している。なお、Win-stay 行動は、発生確率が低く、サンプルサイズが足りなかったため、考慮しなかった。Lose-shift 行動は、一般的に、選択した結果において期待される報酬より下回った場合において、次の選択を変更する行動と定義される。そのため本実験では、L-L arm で罰を得たときに、次の試行で H-H arm を選択する行動を Lose-shift 行動とし、その確率を算出した。リスク回避群では Lose-shift 行動がほとんどみられなかったのに対して、リスク選択群では 30% 程度の Lose-shift 行動がみられた。対応のない t 検定を行ったところ、群間に有意差が認められ ($t(6, 51)=4.70, p<.01$)、Lose-shift 行動の出現率は、リスク選択群のほうがリスク回避群よりも有意に高かった。

2. CPP

Fig. 17 は、METH と対提示されたコンパートメントに対する選好率の変化を各テストごとに示している。なお消去において、追加試行を行っても消去条件に達しなかった個体（6 匹）は分析から除外したが、追加試行によって基準に達した個体については最終的な選好率をここでの分析対象とした。

ベースレベル時では 40% 程度であった選好率は、条件づけ後に約 60% まで増加したが、消去によってベースレベルと同程度まで減少した。またその後、再燃手続きによって、選好率は条件づけ時と同程度まで増加していた。対応のある 1 要因分散分析を行った結果、テスト時期の主効果が認められた ($F(3, 72)=51.75, p<.001$)。そこで Bonferroni 法による多重比較を行ったところ、条件づけ後に行った

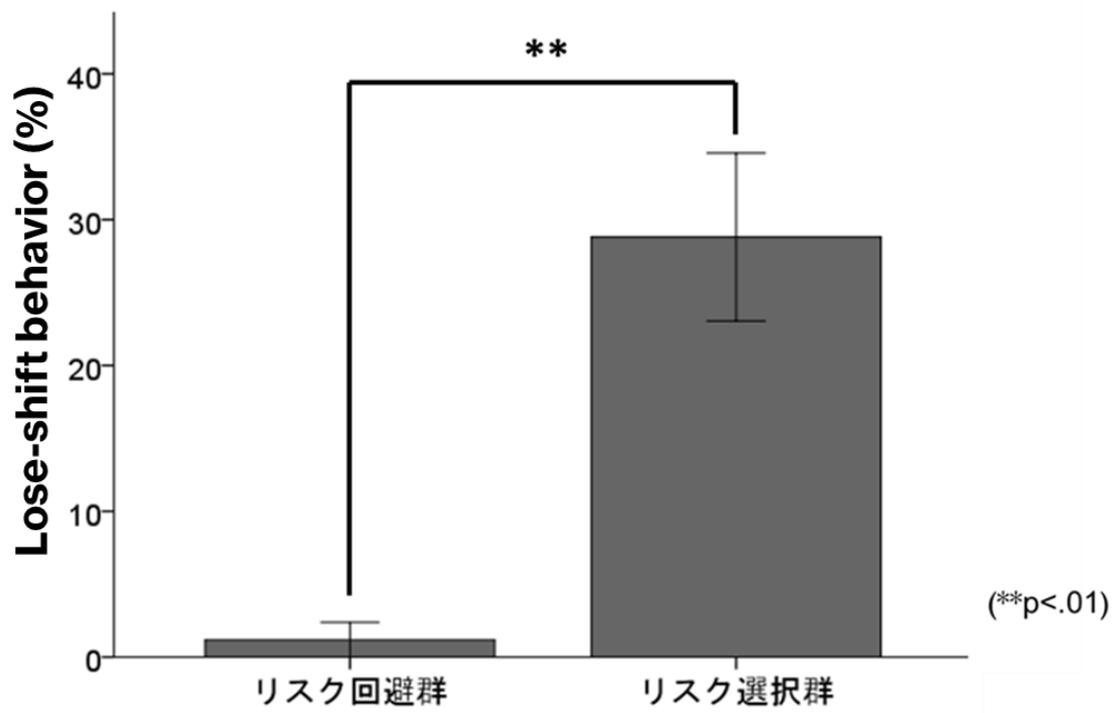


Fig. 16 リスク回避群とリスク選択群の Lose-shift 行動
 (エラーバーは標準誤差)

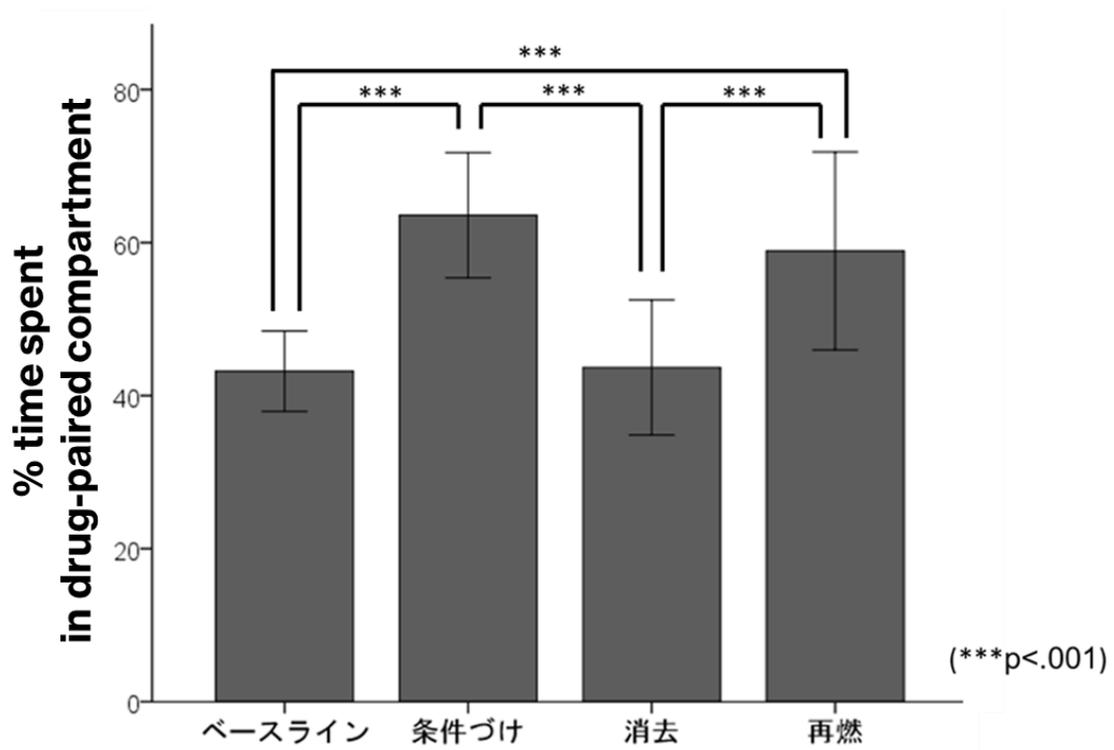


Fig. 17 テストタイミングごとの、METH と条件づけられた
コンパートメントに対する選好率の変化
(エラーバーは標準誤差)

テストIの選好率は、ベースライン ($p < .001$) と消去後に行ったテストII ($p < .001$) よりも有意に高かった。さらに、再燃テストの選好率においても、ベースライン ($p < .001$) と消去後に行ったテストII ($p < .001$) よりも有意に高かった。

Fig. 18, 19, 20 はそれぞれ、ギャンブル課題での H-H arm の選択率と CPP での条件づけ時の選好率、消去時の選好率および再燃時の選好率との相関図である。なお、ここでは Fig. 8 と異なり、条件づけと消去試行の回数を統制するために、追加試行を行った個体においても、6 日間の消去試行後の選好率を分析対象とした。ギャンブル課題での H-H arm の選択率と CPP での各テストでの選好率の関係性を検証するために、Pearson の積率相関係数を算出したところ、CPP の条件づけ時においてのみ H-H arm の選択率との有意な正の相関関係が認められた ($r = 0.53$, $p < .01$)。しかしながら、CPP の消去時および再燃時においてはどちらも H-H arm の選択率との有意な相関関係は認められなかった。

考察

本実験では、同一個体におけるリスク志向性と薬物依存への脆弱性の関連を検討するために、まず放射状迷路を用いたラット版ギャンブル課題で個体の H-H arm の選択率を評価した後に、METH による条件性場所選好を測定した。なおギャンブル課題において、empty arm への進入が訓練 9 日目以降でほとんどみられなくなったことから、ラットはこの時点でギャンブル課題のルールについて習得したと判断し、9 日目以降のデータを分析対象とした。

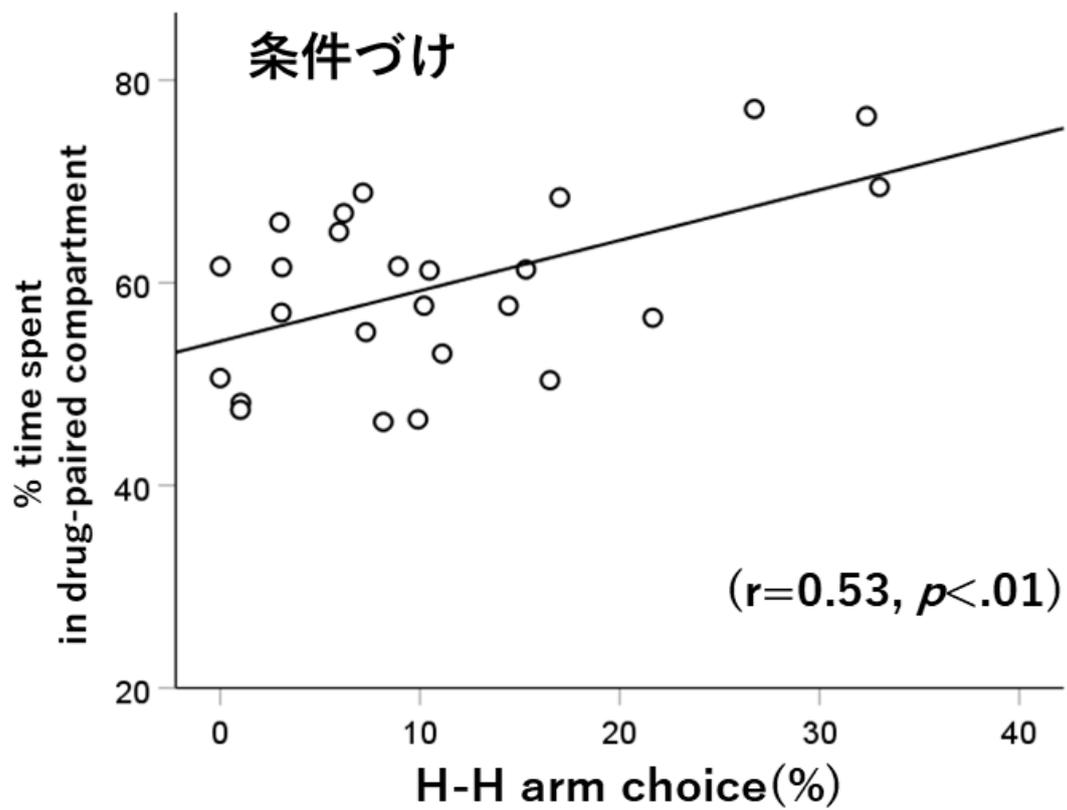


Fig. 18 ギャンブル課題での H-H arm の選択率と
CPP の条件づけの選好率の相関図

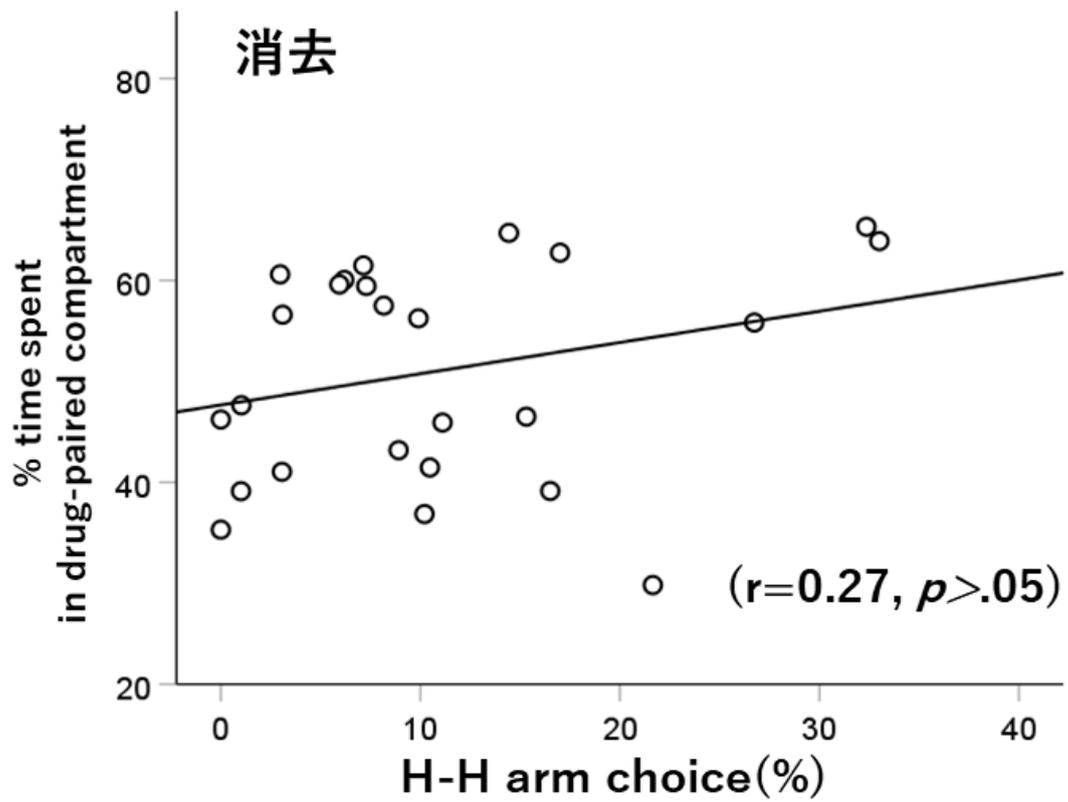


Fig. 19 ギャンブル課題での H-H arm の選択率と
CPP の消去の選好率の相関図

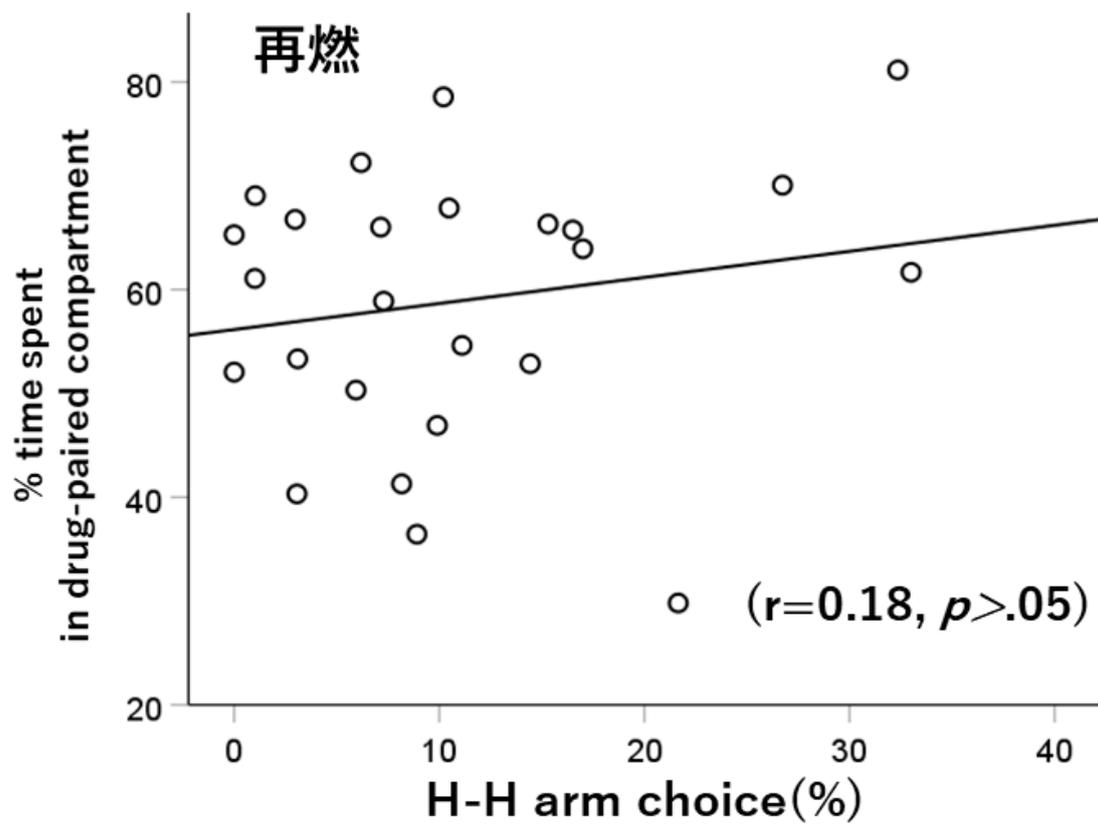


Fig. 20 ギャンブル課題での H-H arm の選択率と
CPP の再燃の選好率の相関図

訓練 9 日目から 14 日目の 6 日間の H-H arm の平均選択率から、上位および下位 25% を基準として、リスク選択群とリスク回避群の 2 群に振り分けた。本研究と同様にラットのリスク選択を評価している先行研究においても、その判断基準として、よりネガティブな結果が期待される選択肢の選択率が用いられている (Mizoguchi et al., 2015; Zeeb et al., 2009)。また、H-H arm の選択率から群分けをした結果として、L-L arm の選択率に関しても 2 群間に差が認められたことから、本研究で用いたギャンブル課題においてリスク選択の個体差が検出できたと言える。

CPP においては、ベースラインと比較して、条件づけ後と再燃時の選好率が有意に高く、消去時では有意な差は認められなかった。また、消去時と比較すると、条件づけ時と再燃時の選好率が有意に高かった。これらの結果は、① METH による CPP が本研究で採用した条件づけ手続きによって十分に成立した、② 消去手続きによって CPP は消去された、③ いったん消去された CPP が再燃手続きによって再燃した、ということを示している。

さらに、リスク選択と薬物への脆弱性の関係を検証するため、ギャンブル課題での H-H arm の選択率と、CPP での条件づけ・消去・再燃での各選好率との間の相関係数を算出した。結果として、H-H arm の選択率と条件づけ後の CPP の間で有意な正の相関が認められ、リスク選択が高いほど、METH に対する精神依存がより強いということが示唆された。一方で、消去時と再燃時の CPP においてはリスク選択行動との相関はみられなかった。

条件づけにおいて正の相関がみられたことから、リスクを好む個体は、より METH に対して依存性を示すことが明らかになった。この結果は

Ferland & Winstanley (2016) の研究知見と一致しており、彼らはコカインの自己投与を指標に精神依存性を評価し、オペラント反応を用いたギャンブル課題でのリスク選択行動との関係を検証している。その結果、リスク選択ラットは、適応的な選択をする個体と比べて有意に薬物自己投与の習得が早いことを示した。したがってコカインだけでなく、METH に対する精神依存への脆弱性に関しても、リスク志向性と関連があることが明らかになった。

一方で、Ferland & Winstanley (2016) では、コカインの自己投与の再燃についても、リスクを選択する個体とそうでない個体間で差がみられているが、本研究では再燃での CPP とリスク志向性との間には相関が認められなかった。この結果の違いは、用いた薬物が異なっていることの他に、再燃現象を生起させる手続きの違いに起因している可能性が考えられる。本研究では、再燃の前に、消去手続きを6日間から最大10日間まで行うことで、METH による CPP をベースレベルまで減少させた。このような手続きで、リスク志向性の高い個体だけではなく、それ以外の個体においても再燃が認められた。一方、Ferland & Winstanley (2016) の研究では、自己投与の習得から30日間休薬することでオペラント反応の消去を行っており、このような長期間にわたる消去期間をおいた場合にはリスクを選択しない個体では再燃がほとんどみられていない。薬物依存の再燃を扱った他の先行研究 (Li et al., 2002) でも、習得から6週間経過後に再燃テストを行っていることを考え合わせると、本研究での CPP の消去は期間が十分ではなかった可能性がある。

さらに、本研究の消去手続きでは、溶媒である生理食塩水の投与もせずラットを装置に閉じ込めた。条件づけ時にラットが経験した注射

(腹腔内投与)による痛みが文脈手がかりの一つとなる可能性を考慮すると、再燃テストでは投与された低用量の薬物による効果に加えて、注射による痛みもまた手がかりとして作用し、より強く再燃が生起した可能性も考えられる。今後、消去手続き期間の延長や消去中の溶媒投与等、消去がより確実になるように手続きを変更した上で、リスクを志向する個体とそうでない個体の間で再燃を比較する必要があるだろう。

ギャンブル課題において Lose-shift 行動を観察したところ、リスク選択群がリスク回避群と比べて有意に高いことが確認された。Lose-shift 行動とは、一般的に、選択した結果において期待される報酬より下回った場合において、次の選択を変更する行動と定義される。そのため本実験では、L-L arm で罰を得たときに、次の試行で H-H arm を選択する行動を Lose-shift 行動とした。このことから、リスク選択群はより直前の結果に左右されやすい、近視眼的な意思決定をもつことが示唆された。薬物依存者や慢性的に薬物を投与された動物は近視眼的な意思決定をもつ傾向があることが知られているが (Ernst & Paulus, 2005)、薬物依存の有無にかかわらず、近視眼的な意思決定をする傾向をもつ個体が一定の割合で存在し、それが、リスク選択の個体差につながる可能性がある。だが、この Lose-shift 行動の要因を特定することは難しく、罰への感受性が高いためにその選択肢を避けるようになった可能性なども考慮しなければならないだろう。

第 5 章

リスク志向性と薬物依存への脆弱性の関連

(オペラント学習課題)【実験 3】

目的

【実験 2】では、放射状迷路を用いたギャンブル課題において、リスク志向性と依存性薬物への脆弱性の関連を実証した。しかし先行研究で用いられたラットギャンブル課題にはいくつかの種類が存在し、具体的な手続きも様々である。課題としては放射状迷路以外にも、レバー押しやノーズポークによるオペラント課題を用いたものがあり、リスク（罰）に関してはキニーネをまぶしたペレットやタイムアウト、フットショックなど、多岐にわたる。そのため、ある課題で効果のあった操作が、別の課題では異なる効果をもつことがある (Winstanley & Floresco, 2016)。したがって、放射状迷路を用いたギャンブル課題でみられたリスク志向性と依存性薬物への脆弱性の関係が、他のタイプのギャンブル課題においてもみられるのかどうかを検証する必要がある。

特に【実験 2】では、リスクとしてキニーネという直接的な罰が提示されており、この罰への感受性の違いがリスク選択行動に影響を及ぼしているかもしれない。さらに、放射状迷路も CPP も空間記憶を利用する課題であり、【実験 2】の結果が空間学習能力を反映している可能性を否定できないことから、直接的な罰や空間記憶に頼らないギャンブル課題で確認する必要がある。

また、ヒトやサルなどの対象を問わず、特定の行動に関わる脳活動を研究する上でこれまでに多くの手法が開発されてきた。ここ 2,30 年

での技術革新は目を見張るものが多く、特に、fMRI やオプトジェネティクスなど高い時間分解能を備える実験手法は、行動と脳活動の関係に関する新たな知見をもたらしている。ラットにおいても、ギャンブル課題のような意思決定課題を実行しているときの脳活動をミリ秒単位で操作・測定できる、オプトジェネティクスやカルシウムイメージングなどを使用した研究によって、phasic な神経活動が意思決定に重要な役割を持つことが明らかにされている (Bercovici et al., 2018; Braunscheidel et al., 2019)。しかしそのような研究には、ラットの活動範囲が広い放射状迷路は不向きであり、オペラント箱のような活動範囲が限られ、脳の操作や観察のためのヘッドフィックスも可能である装置を用いた課題が適している。

そこで本実験では、【実験 2】の放射状迷路でのギャンブル課題でみられたリスク志向性の個体差をオペラント箱でのギャンブル課題で再現し、METH による CPP との関係を検討することを目的とした。

方法

被験体

Long-Evans 系雄ラット 12 匹を用いた。

ギャンブル課題

オペラント箱を使用したギャンブル課題を実施した。詳細は第 2 章、一般的方法を参照。放射状迷路でのギャンブル課題との違いは、大きく分けて 3 つある。1 つ目は、セッションの最初に強制選択ブロックである Forced choice を加えたことである。これによって、課題の訓練初期に存在した各レバーにおける報酬獲得経験の偏りを減らし、選択肢の

正しい価値を学習させるようにした。2 つ目は、ラットに対する直接的な罰（キニーネ）を採用しなかったことである。実験装置の都合上、キニーネをまぶしたペレットを使用できなかったことも理由として挙げられるが、最大の理由は選択行動に影響する要因を減らすことである。

【実験 2】で行った課題は、報酬を獲得できるかどうかは不確実であり、獲得できなかった場合、負の結果として直接的な罰であるキニーネと、間接的な罰である報酬予測誤差（期待していた報酬を獲得できない）の両方が影響している可能性があった。そのため、本実験の課題では、報酬が得られなかったという負の結果のみを提示した。3 つ目は、H-H 選択の報酬確率を増やしたことである。ギャンブル課題の性質上、L-L と H-H の選択肢では、L-L の方が長期的にみて総報酬量が高く設定されているため、選択が L-L の選択肢に偏ってしまい、各選択肢の性質を理解して選択しているかがわかりづらいところがあった。そこで、本実験の課題では、各ブロックで総報酬量が多いレバーが左右に異なるように設定した。これにより、ラットが各レバーの性質を理解して選択できているかを確認できた。

CPP

ギャンブル課題終了後、食餌制限を解除し、1 週間後に実験が行われた。詳細は第 2 章、一般的方法のとおりである。【実験 2】では、条件づけでのみ正の相関が見られたことから、消去と再燃のパラダイムは実施しなかった。行動解析ソフトは ANY-maze を使用した。

結果

1. ギャンブル課題

Fig.21 は、ギャンブル課題における各 Odds の H-H lever の選択率を示している。訓練の初期段階では Good Odds（報酬確率：50%）も Poor Odds（報酬確率：12.5%）もあまり差がないように見えるが、訓練が後半に差し掛かると Good Odds ではより H-H lever を選択するようになり、Poor Odds ではより H-H lever を選択しないようになった。2 要因分散分析の結果、Odds ($F(1,11)=47.41, p<.001$), Days ($F(14,154)=3.37, p<.001$), 交互作用 ($F(14,154)=8.78, p<.001$) のすべてで主効果が有意であった。なお、訓練終了の目安である獲得基準は、第 2 章、一般的方法にあるとおり、3 日間で 2 要因分散分析を行い、Days や交互作用ではなく、Odds でのみ主効果が有意であったときを成績の安定とみなした。その結果、訓練開始から 13 日目から 15 日目までの H-H lever の選択率において、この獲得基準に到達した (Odds: $F(1,11)=51.67, p<.001$)。よって、13 日目から 15 日目のデータの平均を使用して分析を行うこととした。

また、H-H lever において、期待される総報酬量は Odds によって異なっているが、Good Odds の場合は H-H lever を選択することがより多く報酬が得られる、つまり適応的な行動であると言える。そのため、リスク選択行動を観察するには、Poor Odds の場合における H-H lever の選択率が分析に使用された。

2. CPP

Fig. 22 は METH と対提示されたコンパートメントに対する選好率の変化を示している。ベースライン時では 40% 程度であった選好率は、

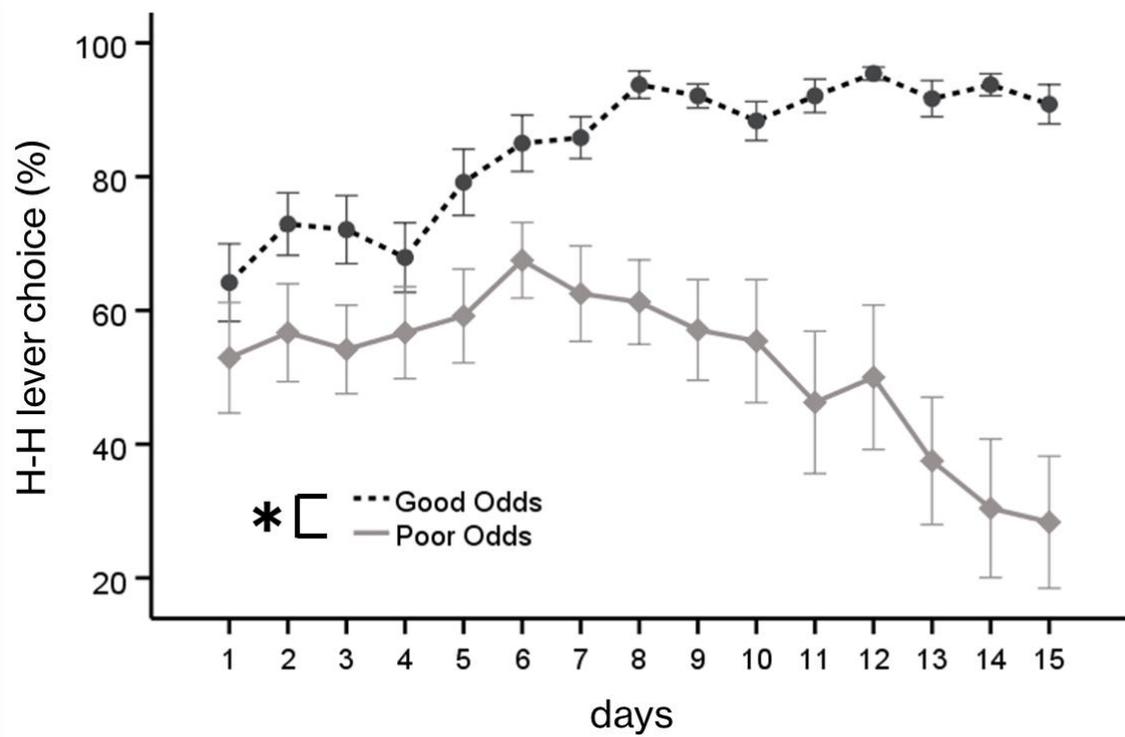


Fig. 21 ギャンブル課題における全体の H-H lever の選択率
 (エラーバーは標準誤差)

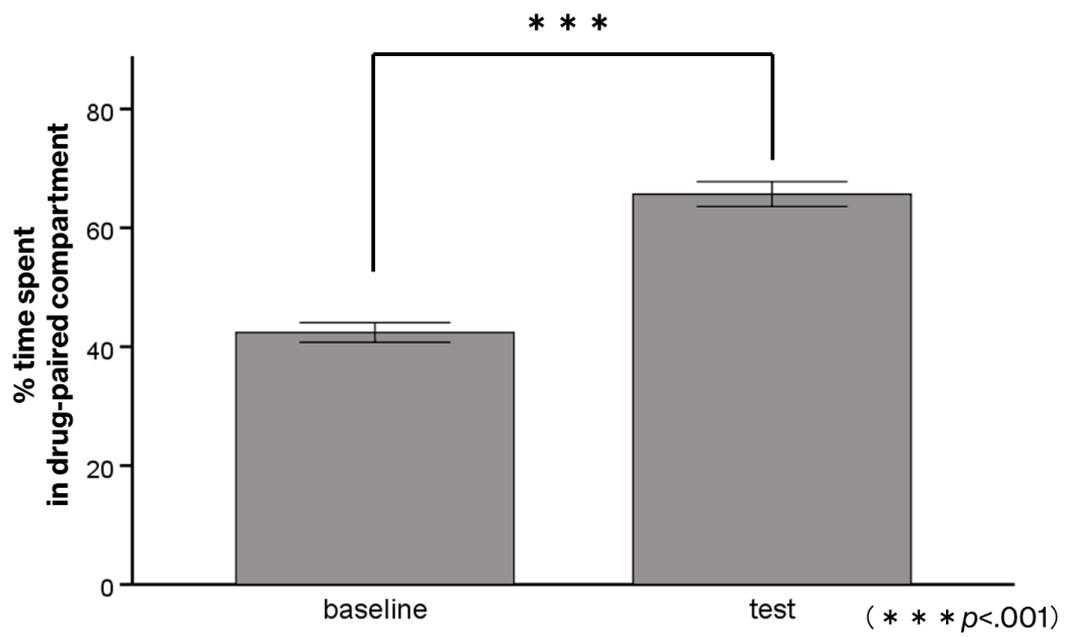


Fig. 22 METH と条件づけられたコンパートメント
 に対する選好率の変化
 (エラーバーは標準誤差)

条件づけ後のテストで約 60%まで増加した。対応のある t 検定を行った結果、条件づけテストの選好率は、ベースラインのものと比較して有意に高かった ($t(11)=17.76, p<.001$)。

しかし、この実験で得られたデータは、【実験 1】と比べてサンプルサイズ（【実験 1】 $n=25$ →【実験 2】 $n=12$ ）が小さく、標準化すると細かい数値の違いが反映されず、ばらつきも小さくなってしまうので、ギャンブル課題と組み合わせて個体差を見るときに検出し辛くなる可能性がある。そこで、ローデータをを使用した、CPP スコア（テストにおける滞在時間 (s) - ベースラインにおける滞在時間 (s)）を利用して、ギャンブル課題で得られた H-H lever の選択率との間の関係性を検証するために、Pearson の積率相関係数を算出した。その結果、【実験 1】と同様に、条件づけテストでの CPP スコアとギャンブル課題での H-H lever の選択率の間に正の相関関係が認められた ($r=0.615, p<.05$) (Fig. 23)。

考察

本実験では、オペラント箱を使用したギャンブル課題を開発し、リスク選択を計測できるかを確認した。そして、【実験 2】で行われた放射状迷路を使用したギャンブル課題で明らかとなった、リスク選択と METH への脆弱性における正の相関が、オペラント箱を使用したギャンブル課題におけるリスク選択行動でも、同様に観察されるかを検討した。

訓練 13 日目からの 3 日間で成績が安定したため、本実験は訓練 15 日目で終了した。これは、同じ獲得基準を用いた確率割引課題の研究と同様の訓練期間を要しており (Bryce et al., 2020)、【実験 2】の全体

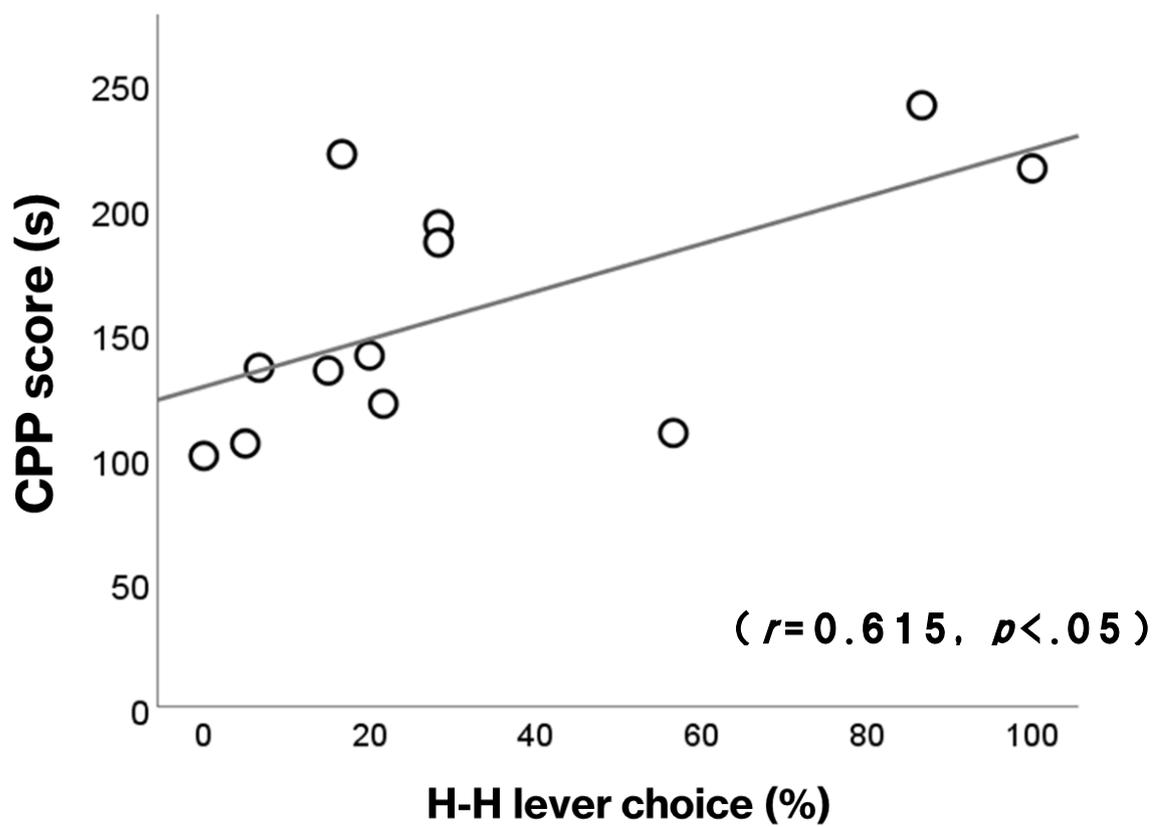


Fig. 23 ギャンブル課題での H-H lever の選択率と
条件づけテストの CPP スコアの相関図

の訓練期間とも近かったため、ギャンブル課題の成績が安定するためには2週間ほどの時間を要することが考えられる。H-H lever の選択率において、各 Odds 条件で適応的な選択をするためには、ブロック間で左右の異なるレバーを押す必要があるが、全体の Odds の主効果が有意であったことから、ラットは各レバーの報酬確率の違いを理解して選択行動ができていたと言える。

CPP においては、METH と条件づけられたコンパートメントの滞在率を算出した結果、ベースラインと比較して、テストで有意に増加したため、METH での条件づけは成立したとみなされた。

さらに、リスク選択と METH への脆弱性の関係が、【実験 2】で観察されたように正の相関を示すかを検証するため、ギャンブル課題での H-H lever の選択率と、CPP での条件づけされたコンパートメントにおけるテスト時の滞在時間とベースラインの滞在時間の差との間の相関係数を算出した。結果として、両者の間では正の相関がみられ、【実験 2】で示された結果と同じ結果になることが示された。

以上のことから、オペラント箱を使用したギャンブル課題は【実験 2】と同様のリスク選択を計測できていることが示唆された。本実験で行われたギャンブル課題は、【実験 2】のものとは、① CPP と同じ空間学習を利用したものではなかった点、そして、②直接的な罰ではなく、期待される餌が提供されないという間接的な罰によって構成されていた点の2点で異なっていた。このことは、リスク志向性と依存性薬物に対する脆弱性の間の相関関係にとって、課題や罰の性質の違いは重要ではないことを示唆している。空間学習の影響や罰の性質とは関係ないことを示唆している。一方で【実験 2】と【実験 3】のギャンブル課題で共通していたところは、選択の結果として不確実な報酬が提示されていた点で

ある。不確実な報酬の獲得と METH の投与は、共にポジティブなフィードバックをもたらし、中脳ドパミン系を活性化させる。不確実な報酬呈示は、その手がかりとともに VTA の報酬予測誤差のシグナルによって価値が符号化されていることが知られているが (Schultz, 2015), METH の作用機序であるモノアミン系、特にドパミン放出の増加と合わせて考えると、罰の可能性を内包している大報酬への感受性を反映している可能性がある。ラットに対し、1~3 個のペレットを確実にもらうか、50% の確率で何ももらえない代わりに 50% の確率で倍の個数ももらえるかを選択させる、*Betting task* を使用した研究では、不安定な大報酬である「賭け」への感受性が高いほど、背側線条体の D2/3 受容体密度が低くなることが報告されている (Cocker et al., 2012)。つまり、不確実な大報酬を選択するような個体は背側線条体の D2/3 受容体の密度が高いことを示しており、背内側線条体のドパミン取り込み率がコカインへの動機づけを予測するという先行研究 (Shaw et al., 2021) と合わせて、本実験で観察された相関は、背側線条体ドパミンの感受性を反映している可能性がある。*Risky decision making* 課題を用いた研究においても、内側前脳束から NAc shell へのドパミン放出とリスクのある意思決定の間に正の相関が認められ、リスク選択がドパミンの感受性と関係していることが示唆されていることから (Freels et al., 2020), ギャンブル課題中における選択前の熟慮の期間や報酬獲得時でのドパミンの放出量や、投射先の受容体の量を計測するような、大報酬に対する予期や快感情の大きさを測るような研究が、これから必要となるだろう。

第 6 章

メタンフェタミン急性投与によるリスク志向性への影響

【実験 4】

目的

序論でも述べたように、ギャンブル依存症に寄与する要因として、セロトニンやノルアドレナリン、ドパミン神経系の機能不全が挙げられている (Ibáñez et al., 2003)。このことから、ギャンブル依存症と強い関連のあるリスク選択行動にも、これらの神経系が関与している可能性が高い。セロトニンやノルアドレナリン、ドパミンといったモノアミン系の働きを增強させる METH において、その依存性への脆弱性とリスク選択に正の相関をもつことが示された【実験 2】及び【実験 3】の結果は、リスク選択行動におけるモノアミン神経系の関与を支持する。DAT のノックダウンによりドパミン神経系を活性化されたマウスではリスク選択が多くみられ、衝動性も増加するという報告

(Milienne-Petiot et al., 2017) や、ギャンブル課題訓練期間中に VTA のドパミン神経系を抑制すると、雄ではリスク選択が減少し、雌は逆に増加するという報告 (Hynes et al., 2021) もまた、リスク選択におけるドパミン神経系の関与を示唆している。

また、物質使用障害の患者が意思決定に障害を持つことは広く知られており (Dom et al., 2005; Kjome et al., 2010; Mallorquí-Bagué et al., 2016)、ラットを用いた研究でも、METH やコカインなどの依存性薬物の慢性投与によって、意思決定課題の成績が障害されることが報告されている (Mizoguchi et al., 2015; Burton et al., 2017)。アンフェタミンや METH の急性投与の影響を検証した研究も

行われており，確率割引課題を使用した研究では，報酬獲得の確率が低い場合においてリスク選択が増加した (Islas-Preciado et al., 2020; Yates et al., 2020)。一方で，Risky decision making 課題を使用した研究では，罰の確率が高い場合においてアンフェタミンの急性投与によってリスク選択が減少しており (Orsini et al., 2016)，課題によってその効果は異なる。

そこで本実験では，【実験3】で確立したオペラント行動を指標としたギャンブル課題において，METH 急性投与がリスク選択にどのような影響を及ぼすのかについて検討した。

方法

被験体

9 週齢の Long-Evans 系雄ラット 10 匹を用いた。

ギャンブル課題

オペラント箱を使用したギャンブル課題を実施した。詳細は第 2 章，一般的方法を参照。ギャンブル課題での選択反応が安定したことを確認した後，すべての被験体は，別の実験のために AAV5-hSyn-mCherry を両側の背外側被蓋野に投与された。手術終了後の再学習で選択反応が安定したことを確認した後，ギャンブル課題の 15 分前に SAL を腹腔投与した状態で，さらに 3 日間成績が安定するまで訓練を続けた。ギャンブル課題の成績が安定したことを確認した翌日から二日間，METH (0.5 mg/kg) あるいは METH (1.0 mg/kg) のいずれかを腹腔内投与した 15 分後にギャンブル課題を行った。なお，METH 投与の順番はカウンターバランスをとった。

結果

被験体のうち 2 匹は、METH (0.5 mg/kg) 投与時のギャンブル課題において間違ったプログラムを作動させてしまったため、METH (0.5 mg/kg) の影響に関する分析からは除外した。

Fig.24 は、手術を実施する前のギャンブル課題における各 Odds の H-H lever の選択率を示している。訓練 11 日目から 13 日目で成績が安定した (Odds: $F(1,17)=36.07$, $p<.001$)。

再学習でギャンブル課題の成績が安定したことを確認した後 ($F(1,17)=84.08$, $p<.001$)、SAL の代わりに METH を 0.5 mg/kg と 1.0 mg/kg 投与し、そのときの各 Odds の H-H lever 選択率を 2 要因分散分析し、その結果を Fig.25 に示した。Odds の主効果が有意であり ($F(1,5)=13.88$, $p<.05$)、Odds と薬物条件の交互作用が有意傾向であった ($F(2,10)=3.30$, $p<.10$)。SAL 条件と METH(0.5 mg/kg)条件でのみ、大報酬 (ペレット 4 個) がもらえる確率が低くなった場合に H-H 選択率が有意に低下した ($p<.05$)。

さらに、報酬確率変動による H-H lever 選択率の変化がみられなかった METH 高用量(1.0 mg/kg)条件に関して、Odds の順番、つまり報酬確率の変動条件 (12.5%-50%; Ascending, 50%-12.5%; Descending) ごとに分析した (Fig.26)。2 要因分散分析の結果、Ascending 条件では Odds の主効果のみ有意傾向であり

($F(1,3)=7.52$, $p<.10$)、Descending 条件では、Odds の主効果が有意であり ($F(1,3)=10.77$, $p<.05$)、薬物条件の主効果は有意傾向であった ($F(1,3)=7.00$, $p<.10$)。続いて、薬物投与下での 1 セッションを、前半 (1st ブロック) と後半 (2nd ブロック) に分けて、それぞ

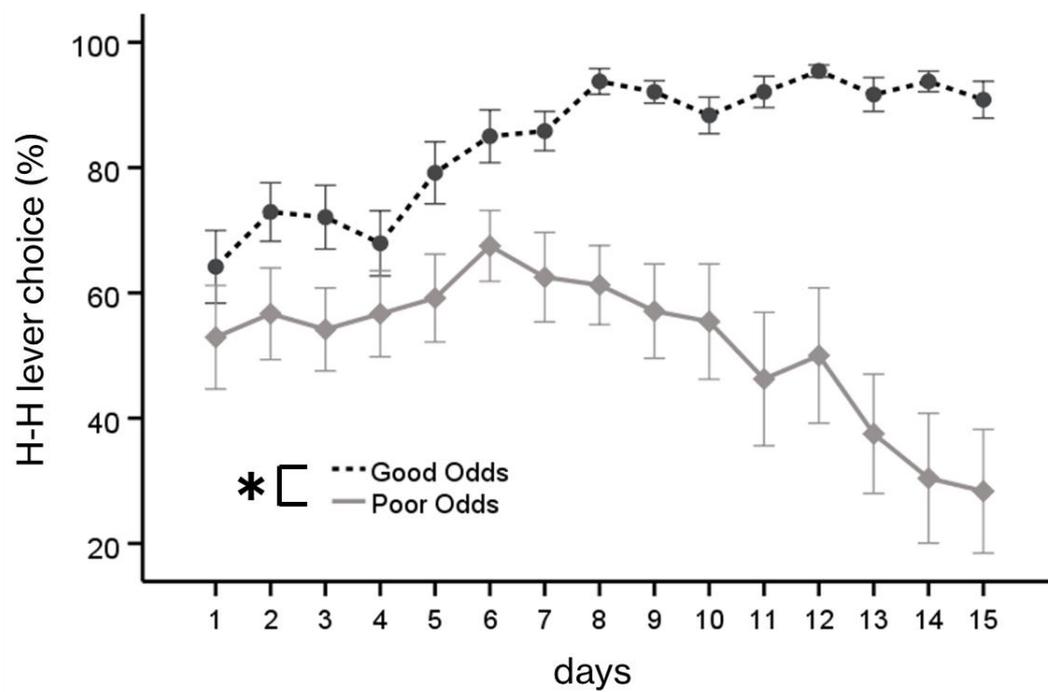


Fig. 24 ギャンブル課題における各 Odds の H-H lever の選択率

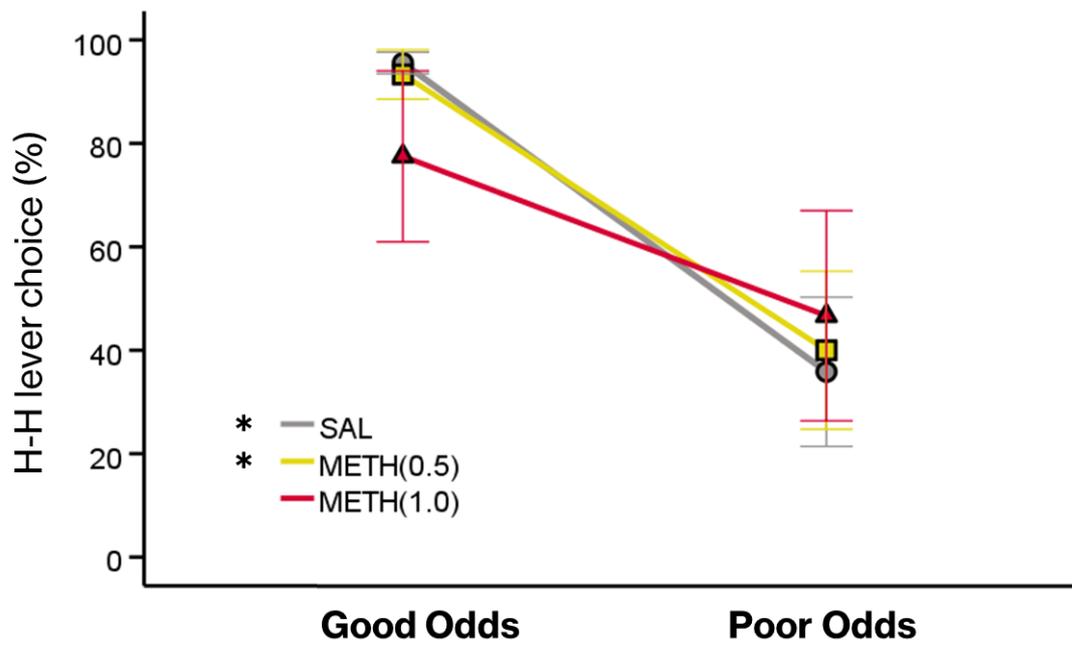


Fig.25 各 Odds における H-H lever 選択率への METH の効果
 (* p<.05 50% vs. 12.5%)

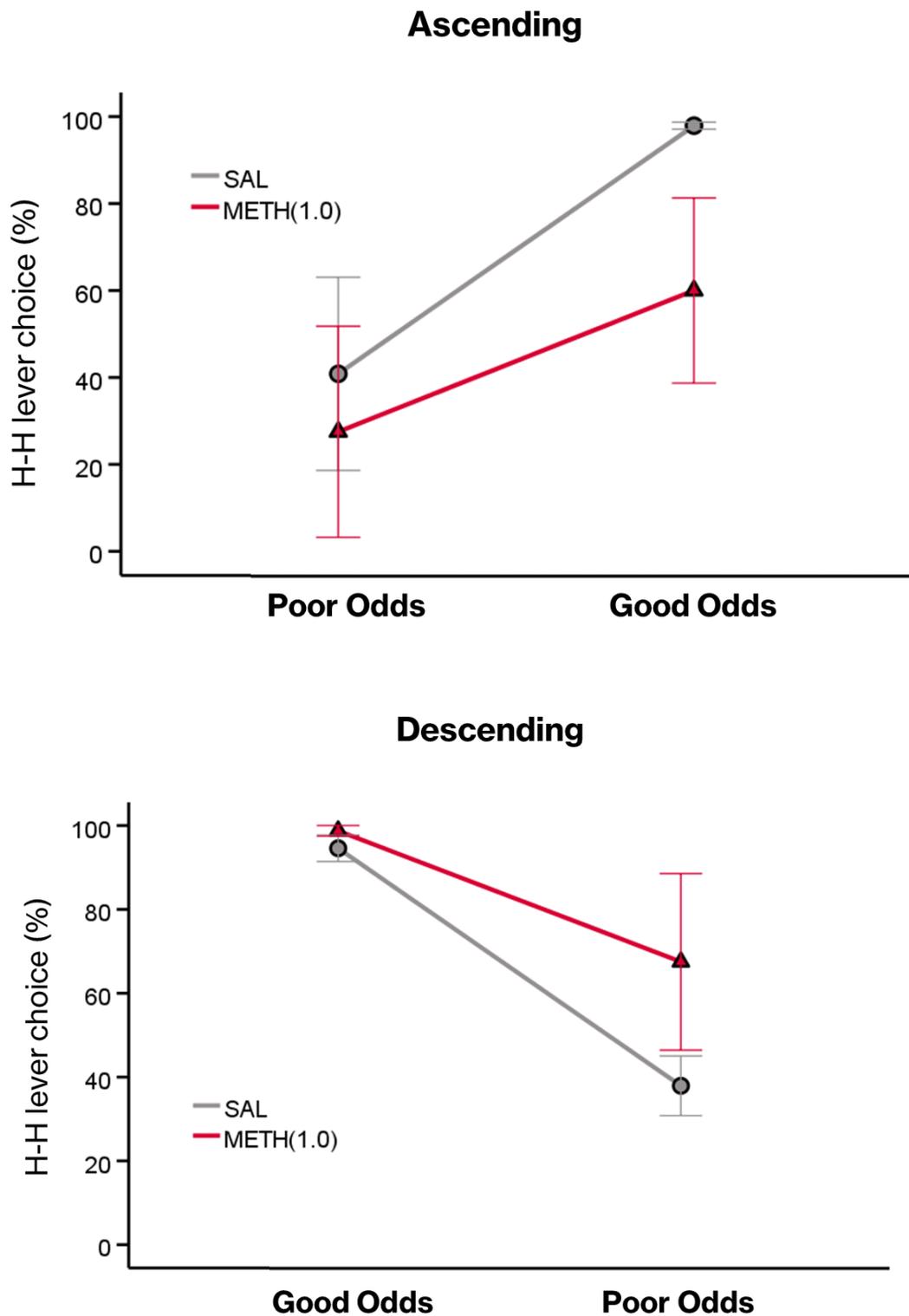


Fig.26 METH 投与における H-H lever 選択率の変化と Ascending と Descending での結果

れでの SAL 条件と METH 条件の H-H lever 選択率の差を比較した (Fig.27)。t 検定の結果, SAL 条件と METH 条件の H-H lever 選択率の差は, 1st ブロックよりも 2nd ブロックの方が有意に大きかった ($t(7)=-2.57, p<.05$)。

Fig.28 は, 各薬物条件時のレバー押しまでの Latency 及びヘッドエントリーの回数を示している。ヘッドエントリーの回数においては, METH の用量依存的に減少する傾向がみられたが, レバー押しまでの Latency 及びヘッドエントリーの回数のいずれにおいても有意差は認められなかった。

考察

本実験では, ギャンブル課題におけるリスク選択行動に対する METH 急性投与の影響について検討した。その結果, SAL 条件と METH 低用量 (0.5 mg/kg) 条件では, ラットは Odds に応じて H-H lever 選択率を変化させ, Good Odds 条件に比べて Poor Odds 条件での H-H lever 選択率の有意な低下を示した。一方, METH 高用量 (1.0 mg/kg) 条件では, そのような Odds の違いによる H-H lever 選択率の変化について統計的な有意差はみられなかった。これらの結果は, 確率割引課題での研究 (Yates et al., 2020) と一致しており, 高用量 METH の影響下にあるラットは, Odds に応じた適応的なリスク選択ができなくなることが明らかになった。

ギャンブル課題を含む意思決定課題においては, 報酬価値や報酬への動機づけの強さが選択行動に直接的な影響を及ぼす。たとえば, devaluation によって報酬の価値が下げられた状態でギャンブル課題を行った場合, ラットは選択や報酬獲得までの Latency が長くなり,

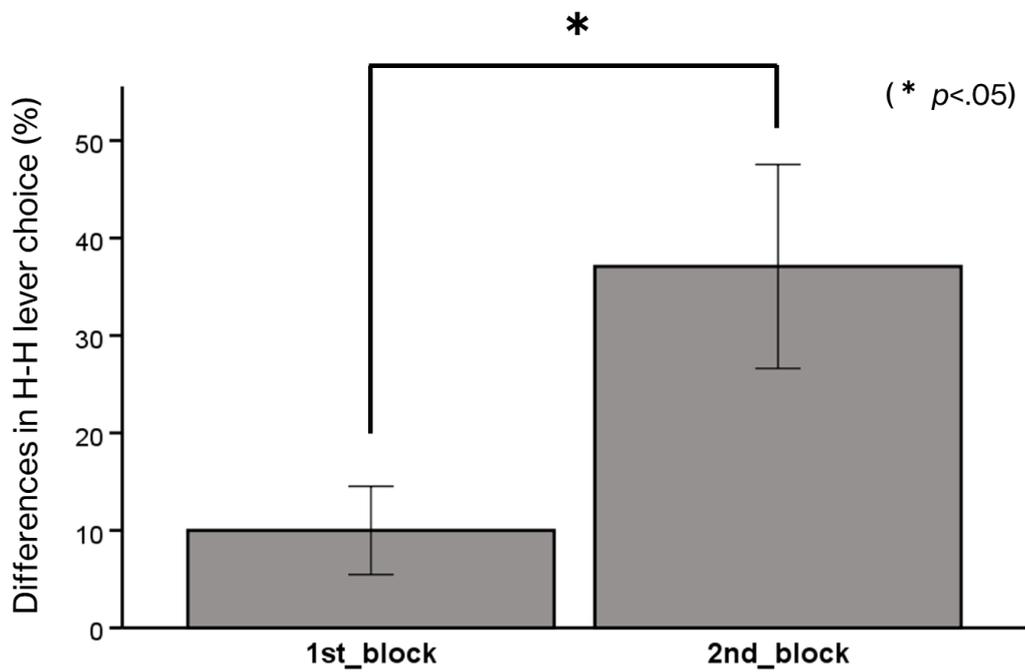


Fig.27 1stブロックと2ndブロックにおけるSAL条件とMETH条件のH-H lever選択率の差

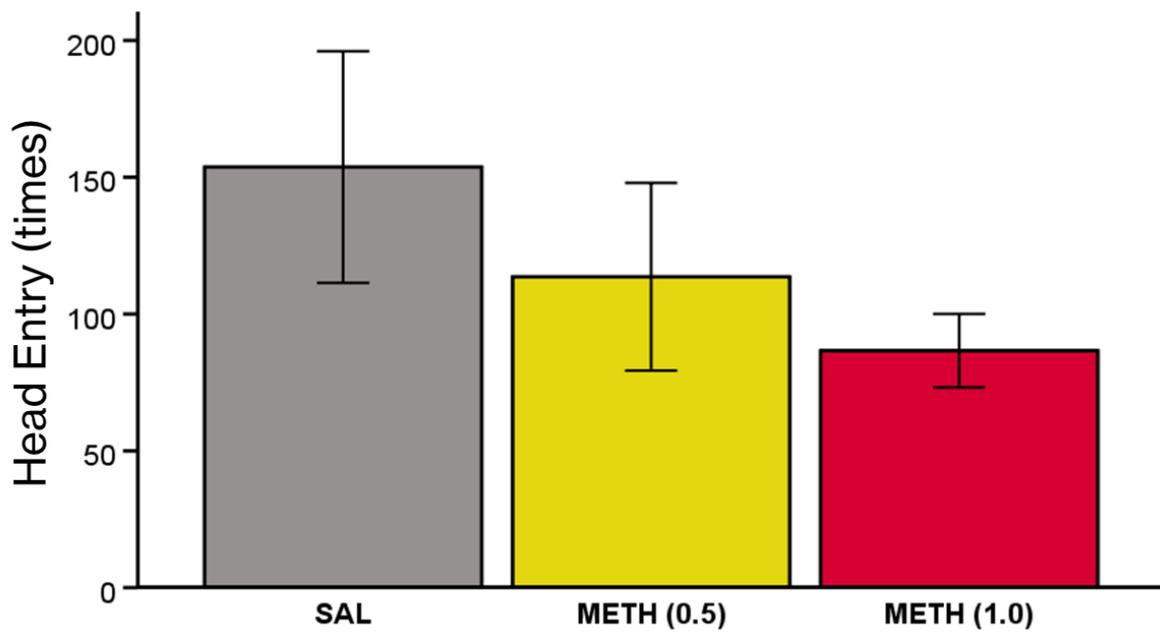
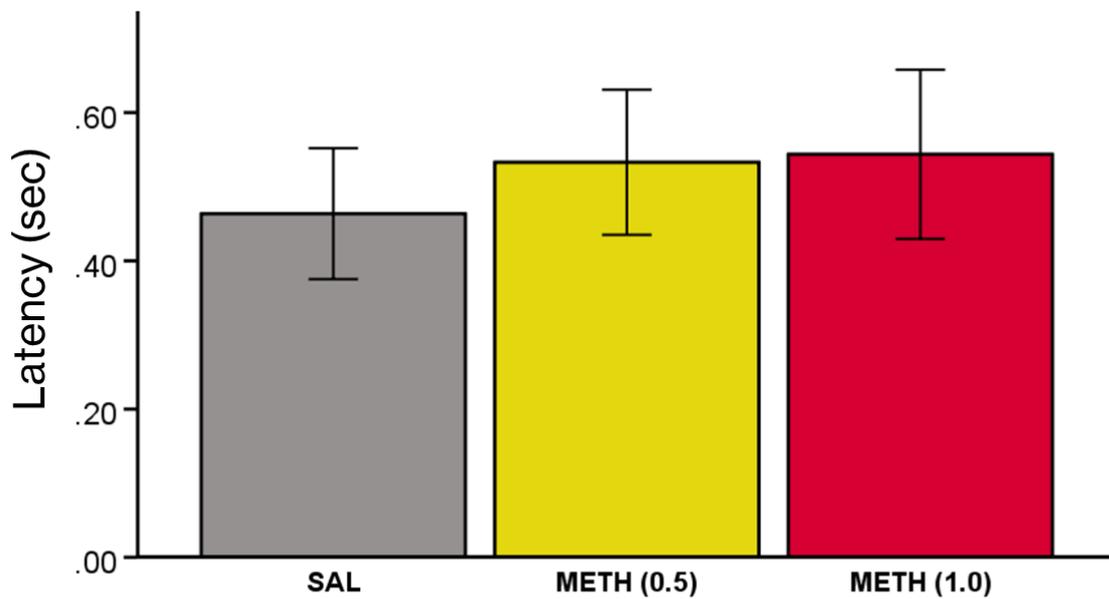


Fig.28 レバー伸展後から押すまでの Latency と、
受け取り口への Head Entry の回数

omission や衝動性も増加する (Zeeb et al., 2013)。したがって、METH 急性投与が報酬価値や報酬への動機づけに影響したことで、間接的にリスク選択にも影響が出た可能性がある。しかしながら本実験では、レバー押しまでの Latency とヘッドエントリー回数に対する METH 急性投与の効果はみられなかったことから、METH 高用量条件でのリスク選択の異常は、METH による報酬価値や報酬への動機づけの変化に起因する可能性は排除できると考えられる。

また本実験では、セッションの前半と後半での Odds の呈示順はカウンターバランスをとったことにより、1セッション内での Good Odds (50%) と Poor Odds (12.5%) の呈示順は個体によって異なっていた。そこで Odds の呈示順 (Ascending あるいは Descending) が各薬物条件下でのリスク選択に影響するかどうかを確認したところ、Odds の呈示順自体には有意な影響はみられなかったが、SAL 条件と METH (1.0mg/kg) 条件の間の H-H lever 選択率の差は、セッションの前半よりも後半でより大きくなっていった。このことは、SAL 条件では前半と後半の Odds の違いのよってリスク選択を変化させたことに対して、METH 条件では前半でのリスク選択が後半まで維持されたことに起因すると考えられる。したがって、METH 急性投与がもたらす不適応な意思決定の背景として、固執のような行動傾向が示唆された。St. Onge ら (2010) は、確率割引課題におけるアンフェタミン急性投与の影響を検証した結果、全体的なリスク選択が Ascending 条件では減少し、Descending 条件では増加することを示している。また、遅延割引課題を用いた Tanno ら (2014) は、アンフェタミンの投与によって、大報酬を選択する確率が、遅延時間が延長していく Ascending 条件では上昇する一方で、遅延時間が短縮していく

Descending 条件では低下することが示された。本実験の結果はこれらの先行研究と一致しており、METH の急性投与は、ラットのリスク選択行動の切り替えを障害すると考えられる。

さらに、METH の慢性投与によるモノアミン系の枯渇が固執行動を引き起こし、認知的柔軟性を障害することが示されている (Son et al., 2013; Cox et al., 2016)。本実験の結果は、METH の急性投与によっても、慢性投与と同様の認知的柔軟性の障害を引き起こすことを示した。しかし、METH の慢性投与はその細胞毒性の影響によりモノアミンを枯渇させるのに対して、急性投与はモノアミンの放出量を一時的に増加させることから、認知的柔軟性の障害の背景にある神経メカニズムは異なると考えられる。また、本実験で観察された急性投与による認知的柔軟性の障害は、1 セッション内での選択の変化から導き出された結果であるのに対して、先行研究で観察された慢性投与による認知的柔軟性の障害は、セッション間での選択の変化から導き出された結果である。これらの違いから、METH の急性投与と慢性投与では、障害される「選択の切り替え」の性質がことなっているかもしれない。

METH 急性投与による「選択の切り替え」障害の背景にある神経メカニズムに関して、最も有力な仮説は、METH によるノルアドレナリンの増加である。確率割引課題や遅延割引課題を使用した先行研究では、 $\alpha 2$ 受容体の拮抗薬であるヨヒンビン (yohimbine) を投与することで、セッション内での選択バイアスを阻害され、本実験の METH 投与時にみられたような固執行動を生じさせた (Montes et al., 2015)。ヨヒンビンは前シナプスの終末部にある $\alpha 2$ 受容体に作用することで、ネガティブフィードバックを阻害し、ノルアドレナリンの放出を促進することから (Crespi., 2009), METH による作用と一部重複している。ノル

アドレナリンの受容体は、主に $\alpha 1$ と $\alpha 2$, β の 3 種類に分けられるが、それぞれの受容体サブタイプに対する 3 種類の拮抗薬を投与して遅延割引課題の成績を比較した研究では、 $\alpha 2$ (ヨヒンビン) の拮抗薬のみ選択行動の切り替えに障害が生じ、残りの二つの拮抗薬ではこのような変化が生じなかった (Schwager et al., 2014)。また逆にノルアドレナリンの放出を抑制する $\alpha 2$ の作動薬を投与した場合も、選択行動には影響がみられないことから、過剰なノルアドレナリンの放出が、認知的柔軟性を損なう主な原因だと考えられる。

第 7 章

総合的考察

本研究は、利得や損失といった様々な価値が付随する複数の選択肢のうち、どれか一つを選ぶような意思決定場面において、その判断の傾向を評価できるギャンブル課題を使用して、個体のリスク志向性に影響を及ぼす代表的な要因である性別、幼少期ストレス、依存性薬物の3つの側面から、それらの効果を検証した。【実験1】では、性別と幼少期ストレスが、ギャンブル課題で得られるリスク選択行動にどのような違いをもたらすのかを検証した。【実験2】及び【実験3】では、個体のリスク志向性と METH 依存への脆弱性との関連を検証した。さらに【実験4】では、METH の急性投与が与えるギャンブル課題での行動への影響も併せて観察した。

本研究で用いたギャンブル課題は、ヒトの研究で使用されている IGT をもとに作成した。【実験1】で得られたリスク選択行動の性差は、ヒトの IGT でみられる性差と一致しており、ギャンブル課題の学習初期では雄の方が雌よりもリスク志向性が高いが、学習が進んでいくにつれて雌の方が高いリスク志向性を示すようになった。この行動の性差は、ラットを用いた他のギャンブル課題でもみられている (Georgiou et al., 2018)。また、成績が安定するまでにかかるセッション数についても、雌の方が雄より少なく、この傾向もヒトの研究と一致している。(van den Bos et al., 2013)。以上の結果は、ラットでもヒトと同様のリスク志向性の性差がみられることを明らかにしたと同時に、本研究で用いた放射状迷路でのギャンブル課題のモデル妥当性を証明している。

さらに幼少期ストレスの影響に関しては、母仔分離によるリスク選

扱への影響を検討したが、雌雄ともに明らかな影響はみられなかった。本実験の結果は、雄における母仔分離の影響を報告した Cao ら (2016) とは一致しないが、その理由として、母仔分離の手続きの違いが挙げられた。【実験 1】の考察で述べた母仔分離期間の違い（先行研究では 3 週間だが、本実験では 2 週間）に加えて、仔の分離方法の違いも影響した可能性もある。本実験では、仔を母親から分離している間、仕切りを隔てただけでお互いに近い位置に置いていた。このような方法では、母親からの干渉は除去できたが、同腹の仔同士間の影響は排除できていなかったのかもしれない。母親から離された仔ラットでは超音波発声 (ultrasonic vocalization; USV) が確認されているが、同腹の仔との接触や匂いがこの USV を減少させる (Hofer & Shair, 1980)。したがって、たとえ母親から離された状態にあっても仔ラットが馴染みのある社会的仲間を認識し、それによって母仔分離のストレスが軽減されている可能性もあり、母仔分離が幼少期ストレスとして十分に機能しなかったのかもしれない。母仔分離の影響には性差があり、特に雌においてその影響は強いという報告もある (Desbonnet et al., 2008; Renard et al., 2007)。幼少期ストレスの影響については、今後、母仔分離の手続きを見直した上で再検討する必要がある。

リスク志向性と薬物依存への脆弱性の関係に関しては、【実験 2】及び【実験 3】において、放射状迷路とオペラント箱を用いたギャンブル課題のいずれにおいても、CPP によって評価された METH 依存への脆弱性とリスク志向性との間に正の相関が認められた。放射状迷路でのギャンブル課題とオペラント箱でのギャンブル課題では、リスクの質が異なっていた。放射状迷路ではキニーネが罰として用いられ、オペラント箱では期待される報酬が得られないことが罰であった。このようなリス

クの違いがあるにもかかわらず、どちらの課題においても同様の相関がみられたという結果は、リスク志向性と薬物依存への脆弱性との関係において、リスクという否定的な結果ではなく、獲得できる報酬への感受性が反映されていることを示していると考えられる。報酬獲得時及び METH 投与時には、VTA を含む脳内報酬系のドパミン神経が活性化される。本研究では行動指標のみを扱ったため、脳内報酬系のドパミンレベルの変化は測定していないが、【実験4】での METH の急性投与は、ラットの脳内報酬系のドパミンレベルを一時的に上昇させていたと推定され、固執行動のような不適応な意思決定を生じさせた。McCutcheon ら (2009) は、新奇環境での自発運動の違いから、ラットを高反応群と低反応群に分け、コカイン自己投与時の神経活動の変化が低反応群よりも高反応群で持続することを示した。Freels ら (2020) の研究においても、内側前脳束から NAc shell へのドパミン放出とリスク選択の間に正の相関が認められており、リスク選択が脳内報酬系のドパミン神経の活性と関係していることが示唆されている。ヒトの研究でも、ドパミン D2 受容体の活動レベルには個人差があり、報酬の期待値との間に正の相関がみられることが分かっている (Dang et al., 2018)。以上のことから、ギャンブル依存と薬物依存の両方に共通した神経メカニズムとして、報酬系である中脳ドパミン系は極めて重要な役割を担っている可能性が高い。

依存性薬物は脳に働きかけて、直接神経を興奮させることができるため、報酬系のドパミン感受性が依存へのなりやすさを反映するという仮説は正しいように思える。しかし、ギャンブルに関しては、獲得した報酬に対する感受性だけでなく、報酬に対する期待値やネガティブな結果などにも影響されると考えられる。中でも BLA は、ネガティブな結果

のフィードバックに対して重要な役割を果たしていることがいくつかの先行研究によって指摘されている。Larkinら（2016）は、BLAにD2受容体作動薬であるキンピロール（quinpirole）を局所投与したところ、Lose-shift行動が増加し、リスク選択を好む個体において確率割引課題における低確率時のLarge/Risky選択を減少させることを明らかにした。また、Orsiniら（2017）の研究では、Risky decision making課題において、オプトジェネティクスを用いてBLAを選択的に抑制したところ、罰呈示のときのみでリスク選択が増加したことが示された。BLAは依存性薬物であるコカインの探索行動にも影響を与えており（See et al., 2001）、特にBLA-NAc間の投射は報酬関連行動の制御に重要な役割を果たしていることから（Stuber et al., 2011）、報酬系のシステム以外の脳領域にも視野を広げて考慮していく必要があるだろう。

またリスク志向性の性差に関しては、性ホルモンが関与している可能性が強く、中でもテストステロンはその代表例である。これまで研究者たちはヒト（van Honk et al., 2004）やヒト以外の哺乳類（Wood., 2004）において、テストステロンが罰に対する感度を下げ、報酬に対する感度を上げる役割をもつと主張してきた。ギャンブル課題を用いた実験においても、この主張を支持するような研究はいくつか行われている。ヒトのテストステロン濃度が、リスク選択行動とどのような関連があるか検証した研究では、性別にかかわらずテストステロン濃度が高いと、よりリスクのある選択肢を好むことが明らかとなった（Stanton et al., 2011）。また、テストステロンを急性投与した場合でも、ヒト（van Honk et al., 2004）とラット（Wallin-Miller et al., 2018）において課題の成績の低下がみられた。基本的にテストステロンは男性

に多く分泌しているホルモンであり，これまでの先行研究の結果を踏まえると，男性の方がリスク志向性が高くなると考えられる。しかし，本研究で得られた結果は逆であり，メスの方がリスク志向性が高かった。テストステロンだけでなく，女性に多いホルモンであるエストラジオールが大報酬の感度を下げることが示唆する研究もあることから (Orsini et al., 2020)，単にテストステロンの量ではなく，他のホルモンとのバランスがリスク志向性の性差を形作っているのかもしれない。

そしてテストステロンは，性差だけでなく，METH への脆弱性とも関連している。単回投与した METH の神経毒性は，テストステロンによってさらに悪化することが知られており，特に線条体の VMAT-2 とドパミンの量をより減少させている (Buletko et al., 2012)。また METH による神経毒性は，METH の報酬効果を増強させる (Gehrke et al., 2003)。以上を考慮すると，本実験の CPP における条件付けで複数回 METH を投与された個体もある程度神経毒性の影響を受けており，その個体のテストステロン濃度によって条件付け時の報酬効果に影響を与えていた可能性は否定できない。

本研究の知見から，リスク志向性には性差があること，さらにリスク志向性と METH 依存への脆弱性には関連があることが示され，それらの背景には報酬や罰に対する感受性の違いがあることが推察されたが，METH の急性投与によるリスク志向性の変化に関しては，また別のメカニズムの関与が考えられた。METH を含む中枢興奮薬の慢性投与によって，直前の選択の結果（報酬や罰）に左右されやすくなり，リスク志向性が増強することを示す先行研究 (Mizoguchi et al., 2015; Mizoguchi et al., 2019; Cocker et al., 2020) がある一方で，それら薬物の急性投与によるリスク志向性への影響に関してはまだ不明な

点が多い。【実験4】でのMETH急性投与では、ギャンブル課題の初期の段階の成績には薬物投与の影響がみられず、後半において前半で選択したレバーに固執するような行動が示されたことから、METHの急性投与により一時的に脳内報酬系のドーパミンレベルが増加したとしても、獲得できる報酬や罰を考慮した選択方略の変化は見られなかったと考えられる。しかし以前より、アンフェタミンが逆転学習を促進させるといった研究もみられることから (Evenden & Robbins, 1985; Weiner & Feldon, 1985), METH慢性投与と違い、ドーパミンやノルアドレナリンを増加させる急性投与は、選択肢の価値が相対的に変化するとき、報酬や罰を考慮した選択方略に複雑な影響を及ぼし、神経活動のパターンに支障をきたしている可能性がある。

まとめると、リスク志向性における“個体差”，つまり成体期でのリスク選択行動の程度の違いは、自らの行動によって得られた報酬や罰といった結果に対する評価の違いが大きな役割をもつと考えられる。しかし本実験のデザインでは、報酬への感受性が変化したのか、罰への感受性が変化したのかを判別することは困難である。今後、リスクの「確率」だけでなく、「強度」も考慮する必要があるだろう。

本研究は、動物におけるリスク志向性に関する研究の中でも数少ない行動学的個体差について幅広く扱った研究として位置づけられる。今後、個体のリスク志向性や、それに伴う「依存」に関する脳内基盤を探るにあたり、本研究はその基礎として貢献するだろう。

概要

我々が日常で意思決定を行うとき、実施可能な複数の選択肢に対してそれらの価値を予測することは不可欠なステップである。しかし、得られる結果が同一であったとしても、必ずしもすべての人が同じ選択をすることはない。なぜなら、自らの選択による結果に対する価値は、自分の経験や性格などによって異なるからであり、それが行動の多様性を生み出す要因となっている。また、意思決定には性差があることが指摘されており、幼少期のストレス経験も意思決定に影響する可能性も示唆されている。

動物、特にげっ歯類を用いた意思決定の研究では、これまで報酬や罰への感受性や、衝動性といった要因に焦点が当てられてきたが、近年、薬物依存への脆弱性とリスク選択行動（意思決定）との関連が注目されるようになり、両者に共通して、不適応的な意思決定過程の関与が指摘されている。

本論文では、ヒトの成人期でのリスク志向性に影響を及ぼす要因である、性別や幼少期ストレス、依存性薬物に焦点を当て、これらの違いがラットの成体期でのリスク志向性の個体差にどのような影響を及ぼすのかを検討している。ヒトで臨床的な研究に用いられている代表的な意思決定課題にアイオア・ギャンブル課題（Iowa gambling task; IGT）があり、精神医学や神経学などの分野での研究、特に精神疾患をもつ患者を対象とした研究で用いられることが多い。近年になって、このIGTのラット版であるラットギャンブリング課題（rat gambling task; rGT）が考案され、薬物依存と意思決定プロセスとの関係が生物学的レベルで研究されるようになった。

本研究ではまず、ラットでの放射状迷路を用いたギャンブル課題を作成し、幼少期ストレスとしての母仔分離が意思決定にどのような影響を及ぼすのか、また、その影響に性差はみられるのかを検討した【実験1】。続いて、放射状迷路とオペラントチャンバーを使用したギャンブル課題でのリスク選択に個体差がみられるのかどうか検証し、さらに同一個体を用いて、METHによる条件性場所選好の習得、消去および再燃過程を比較することで、リスク志向性と薬物依存への脆弱性の関係について検討した【実験2・3】。最後に、METHを急性投与によって、リスク選択にどのような変化が生じるのかを検証した【実験4】。

【実験1】では、幼少期ストレスの動物モデルである新生仔期母仔分離を用いて、幼少期ストレスが成人期の雌雄ラットのギャンブル課題に及ぼす影響を検証した。

ギャンブル課題は、装置馴化で使用したアームと同様のアームを用いた。この4つのアームのうち1つをスタート地点とし、その対面を常にペレットのないアーム(empty arm)、そして残り2つのアームを、ペレットを報酬、キニーネでコーティングされたペレットを罰としたHigh risk-High reward(H-H arm)とLow risk-Low reward(L-L arm)のアームと設定した。なお、各アームの位置は全体を通して固定であり、ギロチンドアは解放したままであった。被験体は、スタート地点から出発し、報酬か罰のどちらかを得たときを1試行として計測された。empty armへ進入した場合は再試行を行い試行数に入れなかった。1試行終了後、待機ボックスに移して10秒間経過したのち、次の試行を開始した。これを1日16試行で2週間行い、タイムアウトは3分とした。H-H armは報酬が16試行中2試行の12.5%で、報酬価はペレット270mg(45mg*6)であり、L-L armは報酬が16試

行中 14 試行の 87.5%で、報酬価はペレット 45mg であった。各アームの残りの試行では罰が与えられた。16 試行中の報酬と罰の配置は、前半 8 試行、後半 8 試行でそれぞれ H-H arm の報酬と L-L arm の罰が 1 回ずつになるようにした。すべての被験体でスタートと空のアームの位置は固定だが、L-L arm と H-H arm の位置はカウンターバランスをとった。

母子分離は、生後 2 日目から 14 日間、1 日 3 時間を明期に実施した。統制群 (CON 群) は母親とともに飼育ケージとは異なるケージに移し、MS 群とは異なる部屋に置いた。その日の母子分離が終了すると、両方の群は、母親と共に、飼育ケージに戻された。14 日間の母子分離が終了した後、7 週齢まで同一の性別でまとめた 2 ~ 3 匹で、新しいケージを使って飼育した。

【実験 1】の結果として、ギャンブル課題における H-H arm の選択率は CON 群において、ルールの習得前である 1 日目から 6 日目までは雄の方が高い傾向にあったが、習得後である 7 日目以降からこの傾向は逆転し、雌の方が H-H arm を選択するようになった。幼少期ストレスの影響に関しては、統計的に有意ではなかったものの、雌のみにおいて MS 群の H-H arm 選択率が CON 群と比べて低い傾向がみられた。加えて、CON 群で見られた H-H arm 選択率の性差が MS 群で消失したことから、雌において幼少期ストレスの影響は存在する可能性がある。

【実験 2】と【実験 3】では、放射状迷路とオペラント箱の 2 つのタイプのギャンブル課題でみられたリスク志向性の個体差が、後の METH を使用した CPP の結果とどのような関連を示すのか、検討した。

放射状迷路を用いたギャンブル課題は【実験 1】の通りだが、オペラント箱を用いたギャンブル課題は、全体は計 2 ブロックで形成され、1

ブロックごとにレバーが1つしか提示されない Forced choice と、レバーが2つ提示されて選択可能となる Free choice の2つに分けられた。1試行は、①ハウスライトと音刺激 (white noise or 3kHz) が提示される。②レバーの伸展とそれに対応したライトが点灯する。③レバーが押されると、中に戻り、対応したライトも消え、報酬ペレットが提供される。④報酬獲得時の Head Entry が検出されてから5秒後に、ハウスライトと音刺激が消える。レバー伸展後10秒間押されなかったときは、omissionとしてカウントし、ハウスライトと音刺激が消える。1試行は40秒で固定され、Forced choice は16試行、Free choice は20試行で設定され、1セッション計72試行であった。報酬確率は、Low risk-Low reward (L-L) のレバーと、High risk-High reward (H-H) のレバーで異なり、L-Lはセッションを通して、87.5%の確率で報酬ペレットが1つ獲得できた。H-Hは報酬ペレットを4個(0.5秒ごとに1個提供)獲得できたが、ブロックごとに12.5% (Poor Odds) か50% (Good Odds) の確率であった。音刺激と、Forced choice でのレバー伸展の順番はランダムであった。Free choice での各レバーの選択回数と、Head Entry の回数はコンピュータによって記録された。

CPPは、各コンパートメントに対する生得的な選好を把握するため、ラットに15分間装置内を自由探索させ、ベースライン測定を行った。条件づけは、1日1セッションを6日間、計6セッションから構成された。手続きとして、被験体は生理食塩水(SAL)か METH(0.5mg/kg)を腹腔内投与され、白色あるいは黒色コンパートメントに30分間閉じ込められた。選好テストは、条件づけ手続き終了後の翌日に、ベースライン測定時と同様の手続きで行われた。消去の手続

きは腹腔内投与を行わないこと以外は条件づけと同様であり、テストIの翌日から6日間行った。消去テストで獲得基準を満たした個体は再燃テストに進み、ベースライン測定や各テストと同じく被験体に15分間自由探索させたが、テストを行う直前に薬物の再燃を引き起こす刺激として priming-shot を行った。

【実験2】及び【実験3】の結果として、リスク志向性と薬物依存への脆弱性の関係に関しては、放射状迷路とオペラント箱を用いたギャンブル課題のいずれにおいても、CPPによって評価されたMETH依存への脆弱性とリスク志向性との間に正の相関が認められた。放射状迷路でのギャンブル課題とオペラント箱でのギャンブル課題では、リスクの質が異なっていた。放射状迷路ではキニーネが罰として用いられ、オペラント箱では期待される報酬が得られないことが罰であった。このようなリスクの違いがあるにもかかわらず、どちらの課題においても同様の相関がみられたという結果は、リスク志向性と薬物依存への脆弱性との関係において、リスクという否定的な結果ではなく、獲得できる報酬への感受性が反映されていることを示していると考えられる。

【実験4】では、【実験3】で確立したオペラント行動を指標としたギャンブル課題において、METH急性投与がリスク選択にどのような影響を及ぼすのかについて検討した。

オペラント箱を用いたギャンブル課題の成績が安定した後、ギャンブル課題の15分前にSALを腹腔投与した状態で、さらに3日間成績が安定するまで訓練を続けた。ギャンブル課題の成績が安定したことを確認した翌日から二日間、METH (0.5 mg/kg) あるいはMETH (1.0 mg/kg) のいずれかを腹腔内投与した15分後にギャンブル課題を行った。

【実験4】の結果として、SAL条件とMETH低用量（0.5 mg/kg）条件では、ラットはOddsに応じてH-H lever選択率を変化させ、Good Odds条件に比べてPoor Odds条件でのH-H lever選択率は低かった。一方、METH高用量（1.0 mg/kg）条件では、そのようなOddsの違いによるH-H lever選択率の変化はみられなかった。これらの結果は、確率割引課題での先行研究と一致しており、高用量METHの影響下にあるラットは、Oddsに応じた適応的なリスク選択ができなくなることが明らかになった。

本研究は、動物におけるリスク志向性に関する研究の中でも数少ない行動学的個体差について幅広く扱った研究として位置づけられる。今後、個体のリスク志向性や、それに伴う「依存」に関する脳内基盤を探るにあたり、本研究はその基礎として貢献するだろう。

引用文献

- Alter-Muri, S. B., & Vazzano, S. (2014). Gender typicality in children's art development: A cross-cultural study. *Arts in Psychotherapy, 41*(2), 155–162.
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5th (DSM-5)*. Arlington, VA: *American Psychiatric Publishing*.
- Bechara, A., Damasio, A. R., Damasio, H., & Anderson, S. W. (1994). Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. *Cognition, 50*(1–3), 7–15.
- Bercovici, D. A., Princz-lebel, O., Tse, M. T., Moorman, D. E., & Floresco, S. B. (2018). Optogenetic Dissection of Temporal Dynamics of Amygdala-Striatal Interplay during Risk / Reward Decision Making. *eNeuro, 5*(6).
- Bick, J., & Nelson, C. A. (2016). Early adverse experiences and the developing brain. *Neuropsychopharmacology, 41*(1), 177–196.
- Bolla, K. I., Eldreth, D. A., Matochik, J. A., & Cadet, J. L. (2004). Sex-related differences in a gambling task and its neurological correlates. *Cerebral Cortex, 14*(11), 1226–1232.
- Bortolato M., Frau R., Piras A. P., Luesu W., Bini V., Diaz G., Gessa G., Ennas M. G., & Castelli M. P. (2009).

Methamphetamine Induces Long-Term Alterations in Reactivity to Environmental Stimuli: Correlation with Dopaminergic and Serotonergic Toxicity. *Neurotoxicity Research*, 15, 232–245.

- Braunscheidel, K. M., Okas, M. P., Hoffman, M., Mulholland, P. J., Floresco, S. B., & Woodward, J. J. (2019). The abused inhalant toluene impairs medial prefrontal cortex activity and risk/reward decision-making during a probabilistic discounting task. *Journal of Neuroscience*, 39(46), 9207–9220.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1674-19.2019>
- Bryce, C. A., Adalbert, A. J., Claes, M. M., van Holstein, M., & Floresco, S. B. (2020). Differential effects of corticotropin-releasing factor and acute stress on different forms of risk/reward decision-making. *Neurobiology of Learning and Memory*, 169(January).
- Buletko, A. B., Dluzen, D. E., McDermott, J. L., Darvesh, A. S., & Geldenhuys, W. J. (2012). Markers associated with testosterone enhancement of methamphetamine-induced striatal dopaminergic neurotoxicity. *Neurotoxicology and Teratology*, 34(3), 338–343.
- Burton, A. C., Bissonette, G. B., Zhao, A. C., Patel, P. K., & Roesch, M. R. (2017). Prior cocaine self-administration increases response–outcome encoding that is divorced from actions selected in dorsal lateral striatum. *Journal*

of Neuroscience, 37(32):7737–7747.

- Cao, B., Wang, J., Zhang, X., Yang, X., Poon, D. C. H., Jelfs, B., ... Li, Y. (2016). Impairment of decision making and disruption of synchrony between basolateral amygdala and anterior cingulate cortex in the maternally separated rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 136, 74-85.
- Cavedini, P., Riboldi, G., Keller, R., D'Annuncci, A., & Bellodi, L. (2002). Frontal lobe dysfunction in pathological gambling patients. *Biological psychiatry*, 51(4),334-341.
- Chowdhury, T. G., Wallin-Miller, K. G., Rear, A. A., Park, J., Diaz, V., Simon, N. W., & Moghaddam, B. (2019). Sex differences in reward- and punishment-guided actions. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*, 19(6), 1404–1417.
- Clark, L., Lawrence, A.J., Astley-Jones, F., & Gray, N. (2009). Gambling near-misses enhance motivation to gamble and recruit win-related brain circuitry. *Neuron*, 61(3),481-490.
- Cocker, P. J., Dinelle, K., Kornelson, R., Sossi, V., & Winstanley, C. A. (2012). Irrational choice under uncertainty correlates with lower striatal D2/3 receptor binding in rats. *Journal of Neuroscience*, 32(44), 15450–15457.

- Cocker, P. J., Rotge, J. Y., Daniel, M. L., Belin-Rauscent, A., & Belin, D. (2020). Impaired decision making following escalation of cocaine self-administration predicts vulnerability to relapse in rats. *Addiction Biology*, 25(3), 1–9.
- Cox, B. M., Cope, Z. A., Parsegian, A., Floresco, S. B., Aston-Jones, G., & See, R. E. (2016). Chronic methamphetamine self-administration alters cognitive flexibility in male rats. *Psychopharmacology*, 233(12), 2319–2327.
- Crespi, F. (2009). Anxiolytics antagonize yohimbine-induced central noradrenergic activity: A concomitant in vivo voltammetry-electrophysiology model of anxiety. *Journal of Neuroscience Methods*, 180(1), 97–105.
- Dang, L. C., Samanez-Larkin, G. R., Castellon, J. J., Perkins, S. F., Cowan, R. L., & Zald, D. H. (2018). Individual differences in dopamine D2 receptor availability correlate with reward valuation. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*, 18(4), 739–747.
- Desbonnet, L., Garrett, L., Daly, E., McDermott, K. W., & Dinan, T. G. (2008). Sexually dimorphic effects of maternal separation stress on corticotrophin-releasing factor and vasopressin systems in the adult rat brain. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 26(3–4), 259–268.
- Dowling, N.A., Cowlshaw, S., Jackson, A.C., Merkouris,

- S.S., Francis, K.L., & Christensen, D.R. (2015). Prevalence of psychiatric co-morbidity in treatment-seeking problem gamblers: A systematic review and meta-analysis. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 49(6),519-539.
- Dom, G., Sabbe, B., Hulstijn, W., & van den Brink, W. (2005). Substance use disorders and the orbitofrontal cortex: systematic review of behavioural decision-making and neuroimaging studies. *British Journal of Psychiatry*, 187,209-220.
- Eriksson, K., & Simpson, B. (2010). Emotional reactions to losing explain gender differences in entering a risky lottery. *Judgment and Decision Making*, 5(3), 159–163.
- Ernst, M., & Paulus, M.P. (2005). Neurobiology of decision making: a selective review from a neurocognitive and clinical perspective. *Biological Psychiatry*, 58(8),597-604.
- Evenden, J. L., & Robbins, T. W. (1985). The effects of d-amphetamine, chlordiazepoxide and alpha-flupenthixol on food-reinforced tracking of a visual stimulus by rats. *Psychopharmacology*, 85(3), 361–366.
- Ferland, J.N., & Winstanley, C.A. (2016). Risk-preferring rats make worse decisions and show increased incubation of craving after cocaine self-administration. *Addiction biology*, 22(4),991-1001.

- Freels, T. G., Gabriel, D. B. K., Lester, D. B., & Simon, N. W. (2020). Risky decision-making predicts dopamine release dynamics in nucleus accumbens shell. *Neuropsychopharmacology*, 45(2), 266–275.
- Fujimoto, A., Tsurumi, K., Kawada, R., Murao, T., Takeuchi, H., Murai, T., & Takahashi, H. (2017). Deficit of state-dependent risk attitude modulation in gambling disorder. *Translational psychiatry*, 7(4), e1085
- Gehrke, B. J., Harrod, S. B., Cass, W. A., & Bardo, M. T. (2003). The effect of neurotoxic doses of methamphetamine on methamphetamine-conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology*, 166(3), 249–257.
- Georgiou, P., Zanos, P., Bhat, S., Tracy, J. K., Merchenthaler, I. J., McCarthy, M. M., & Gould, T. D. (2018). Dopamine and stress system modulation of sex differences in decision making. *Neuropsychopharmacology*, 43(2), 313–324.
- Gershon, A., Minor, K., & Hayward, C. (2008). Gender, victimization, and psychiatric outcomes. *Psychological Medicine*, 38(10), 1377–1391.
- Hanson, J. L., Nacewicz, B. M., Sutterer, M. J., Cayo, A. A., Schaefer, S. M., Rudolph, K. D., ... Davidson, R. J. (2015). Behavioral problems after early life stress: Contributions of the hippocampus and amygdala. *Biological Psychiatry*, 77(4), 314–323.

- Harms, M. B., Shannon Bowen, K. E., Hanson, J. L., & Pollak, S. D. (2018). Instrumental learning and cognitive flexibility processes are impaired in children exposed to early life stress. *Developmental Science*, 21(4), 1–13.
- Hart C. L., Haney M., Foltin R. W., & Fischman M. W. (2002). Effects of the NMDA antagonist memantine on human methamphetamine discrimination. *Psychopharmacology*, 164:376–384.
- Heim, C., & Nemeroff, C. B. (2001). The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: Preclinical and clinical studies. *Biological Psychiatry*, 49(12), 1023–1039.
- Hofer, M. A., & Shair, H. (1980). Sensory processes in the control of isolation-induced ultrasonic vocalization by 2-week-old rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 94(2), 271–279.
- Hynes, T. J., Hrelja, K. M., Hathaway, B. A., Hounjet, C. D., Chernoff, C. S., Ebsary, S. A., ... Winstanley, C. A. (2021). Dopamine neurons gate the intersection of cocaine use, decision making, and impulsivity. *Addiction Biology*, (June 2020), 1–15.
- Ibáñez, A., Blanco, C., Perez de Castro, I., Fernandez-Piqueras, J., & Sáiz-Ruiz, J. (2003). Genetics of pathological gambling. *Journal of gambling studies*, 19(1), 11–22.

- 石井 裕正. (2009). わが国における飲酒の実態ならびに飲酒に関連する生活習慣病、公衆衛生上の諸問題とその対策に関する総合的研究. 厚生労働科学研究成果データベース, 200825026A.
- Islas-Preciado, D., Wainwright, S. R., Sniegocki, J., Lieblich, S. E., Yagi, S., Floresco, S. B., & Galea, L. A. M. (2020). Risk-based decision making in rats: Modulation by sex and amphetamine. *Hormones and Behavior*, 125(June), 104815.
- Jin, S., Zhao, Y., Jiang, Y., Wang, Y., Li, C., Zhang, D., ... Sun, L. (2018). Anxiety-like behaviour assessments of adolescent rats after repeated maternal separation during early life. *NeuroReport*, 29(8), 643–649.
- Kim B., Yun J., & Park B. (2020). Methamphetamine-Induced Neuronal Damage: Neurotoxicity and Neuroinflammation. *Biomolecules and Therapeutics*, 28(5), 381-388.
- Kim-Spoon, J., Cicchetti, D., & Rogosch, F. A. (2013). A Longitudinal Study of Emotion Regulation, Emotion Lability-Negativity, and Internalizing Symptomatology in Maltreated and Nonmaltreated Children. *Child Development*, 84(2), 512–527.
- Kitanaka J., Kitanaka N., & Takemura M. (2006). Modification of Monoaminergic Activity by MAO Inhibitors Influences Methamphetamine Actions. *Drug Target Insights*, 1:19-28.
- Kjome, K.L., Lane, S.D., Schmitz, J.M., Green, C., Ma, L., Prasla, I., Swann, A.C., & Moeller, F.G. (2010).

- Relationship between impulsivity and decision making in cocaine dependence. *Psychiatry Research*, 178,299-304.
- 厚生労働省. (2021). 第5次薬物乱用防止5か年戦略.
- Krugers, H. J., Arp, J. M., Xiong, H., Kanatsou, S., Lesuis, S. L., Korosi, A., ... Lucassen, P. J. (2017). Early life adversity: Lasting consequences for emotional learning. *Neurobiology of Stress*, 6, 14–21.
- Larkin, J. D., Jenni, N. L., & Floresco, S. B. (2016). Modulation of risk/reward decision making by dopaminergic transmission within the basolateral amygdala. *Psychopharmacology*, 233:121–136
- Li, M., Xue, X., Shao, S., Shao, F., & Wang, W. (2013). Cognitive, emotional and neurochemical effects of repeated maternal separation in adolescent rats. *Brain Research*, 1518, 82–90.
- Li, S.M., Ren, Y.H., & Zheng, J.W. (2002). Effect of 7-nitroindazole on drug-priming reinstatement of D-methamphetamine-induced conditioned place preference. *European journal of pharmacology*, 443(1-3):205-206.
- Mallorquí-Bagué, N., Fagundo, A. B., Jimenez-Murcia, S., De La Torre, R., Baños, R. M., Botella, C., ... Fernández-Aranda, F. (2016). Decision making impairment: A shared vulnerability in obesity, gambling disorder and substance use disorders? *PLoS ONE*, 11(9), 1–11.
- McCutcheon, J. E., White, F. J., & Marinelli, M. (2009).

- Individual differences in dopamine cell neuroadaptations following cocaine self-administration. *Biological Psychiatry*, 66(8), 801–803.
- Milienne-Petiot, M., Geyer, M. A., Arnt, J., & Young, J. W. (2017). Brexpiprazole reduces hyperactivity, impulsivity, and risk-preference behavior in mice with dopamine transporter knockdown—a model of mania. *Psychopharmacology*, 234(6), 1017–1028.
- Mitchell, M.R., Weiss, V.G., Beas, B.S., Morgan, D., Bizon, J.L., & Setlow, B. (2014). Adolescent risk taking, cocaine self-administration, and striatal dopamine signaling. *Neuropsychopharmacology*, 39(4), 955–962.
- Mizoguchi, H., Katahira, K., Inutsuka, A., Fukumoto, K., Nakamura, A., Wang, ... Yamada, K. (2015). Insular neural system controls decision-making in healthy and methamphetamine-treated rats. *PNAS*, 1418014112.
- Mizoguchi, H., Wang, T., Kusaba, M., Fukumoto, K., & Yamada, K. (2019). Nicotine and varenicline ameliorate changes in reward-based choice strategy and altered decision-making in methamphetamine-treated rats. *Behavioural Brain Research*, 359(June 2018), 935–941.
- Montes, D. R., Stopper, C. M., & Floresco, S. B. (2015). Noradrenergic modulation of risk/reward decision making. *Psychopharmacology*, 232(15), 2681–2696.
- Øines, E., Murison, R., Mrdalj, J., Grønli, J., & Milde, A. M.

- (2012). Neonatal maternal separation in male rats increases intestinal permeability and affects behavior after chronic social stress. *Physiology and Behavior*, 105(4), 1058–1066.
- Orsini, C. A., Blaes, S. L., Hernandez, C. M., Betzhold, S. M., Perera, H., Wheeler, A. R., ... Setlow, B. (2021). Regulation of risky decision making by gonadal hormones in males and females. *Neuropsychopharmacology*, 46(3), 603–613.
- Orsini, C. A., Hernandez, C. M., Singhal, S., Kelly, K. B., Frazier, C. J., Bizon, J. L., & Setlow, B. (2017). Optogenetic inhibition reveals distinct roles for basolateral amygdala activity at discrete timepoints during risky decision making. *The Journal of Neuroscience*, 37(48), 2344–17.
- Orsini, C. A., Willis, M. L., Gilbert, R. J., Bizon, J. L., & Setlow, B. (2016). Sex differences in a rat model of risky decision making. *Behavioral Neuroscience*, 130(1), 50–61.
- Paulus, M.P., Tapert, S.F., & Schuckit, M.A. (2005). Neural activation patterns of methamphetamine-dependent subjects during decision making predict relapse. *Archives of General Psychiatry*, 62(7), 761-768.
- Piazza, P.V., & Le Moal, M. (1998). The role of stress in drug self-administration. *Trends in pharmacological*

sciences, 19(2):67-74.

Prusator, D. K., & Greenwood-Van Meerveld, B. (2016). Sex-related differences in pain behaviors following three early life stress paradigms. *Biology of Sex Differences*, 7(1), 1–12.

Reavis, R., & Overman, W. H. (2001). Adult sex differences on a decision-making task previously shown to depend on the orbital prefrontal cortex. *Behavioral Neuroscience*, 115(1), 196–206.

Renard, G. M., Rivarola, M. A., & Suárez, M. M. (2007). Sexual dimorphism in rats: effects of early maternal separation and variable chronic stress on pituitary-adrenal axis and behavior. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 25(6), 373–379.

Schultz, W. (2004). Neural coding of basic reward terms of animal learning theory, game theory, microeconomics and behavioural ecology. *Current opinion in neurobiology*, 14(2), 139-147.

Schultz, W. (2015). Neuronal reward and decision signals: From theories to data. *Physiological Reviews*, 95(3), 853–951.

Schwager, A. L., Haack, A. K., & Taha, S. A. (2014). Impaired flexibility in decision making in rats after administration of the pharmacological stressor yohimbine. *Psychopharmacology*, 231(20), 3941–3952.

See, R. E., Kruzich, P. J., & Grimm, J. W. (2001). Dopamine, but not glutamate, receptor blockade in the basolateral amygdala attenuates conditioned reward in a rat model of relapse to cocaine-seeking behavior.

Psychopharmacology, 154(3), 301–310.

Sharp, C., Monterosso, J., & Montague, P.R. (2012).

Neuroeconomics: A bridge for translational research.

Biological Psychiatry, 72(2), 87–92.

Shaw, J. K., Pamela Alonso, I., Lewandowski, S. I., Scott, M. O., O'Connor, B. M., Aggarwal, S., ... España, R. A. (2021). Individual differences in dopamine uptake in the dorsomedial striatum prior to cocaine exposure predict motivation for cocaine in male rats.

Neuropsychopharmacology, 46(10), 1757–1767.

Simon, N.W., Montgomery, K.S., Beas, B.S., Mitchell, M.R., LaSarge, C.L., ... Setlow, B. (2011). Dopaminergic modulation of risky decision-making. *Journal of Neuroscience*, 31(48), 17460–17470.

Smith, M.A., Lacy, R.T., & Strickland, J.C. (2014). The effects of social learning on the acquisition of cocaine self-administration. *Drug and alcohol dependence*, 141:1-8

Son, J. H., Kuhn, J., & Keefe, K. A. (2013). Perseverative behavior in rats with methamphetamine-induced neurotoxicity. *Neuropharmacology*, 67, 95–103.

- Stanton, S. J., Liening, S. H., & Schultheiss, O. C. (2011). Testosterone is positively associated with risk taking in the Iowa Gambling Task. *Hormones and Behavior*, 59(2), 252–256.
- Stoltenberg, S. F., & Vandever, J. M. (2010). Gender moderates the association between 5-HTTLPR and decision-making under ambiguity but not under risk. *Neuropharmacology*, 58(2), 423–428.
- Stoltenberg, S. F., Lehmann, M. K., Anderson, C., Nag, P., & Anagnopoulos, C. (2011). Serotonin transporter (5-HTTLPR) genotype and childhood trauma are associated with individual differences in decision making. *Frontiers in Genetics*, 2(JUNE), 1–9.
- St. Onge, J. R., Chiu, Y. C., & Floresco, S. B. (2010). Differential effects of dopaminergic manipulations on risky choice. *Psychopharmacology*, 211(2), 209–221.
- Stuber, G.D., Sparta, D.R., Stamatakis, A.M., van Leeuwen, W.A., Hardjoprajitno, J.E., ...Bonci, A. (2011). Excitatory transmission from the amygdala to nucleus accumbens facilitates reward seeking. *Nature*, 475(7356), 377-380.
- Tanno, T., Maguire, D. R., Henson, C., & France, C. P. (2014). Effects of amphetamine and methylphenidate on delay discounting in rats: Interactions with order of delay presentation. *Psychopharmacology*, 231(1), 85–95.

- Tsurumi, K., Kawada, R., Yokoyama, N., Sugihara, G., Sawamoto, N., ...Takahashi, H. (2014). Insular activation during reward anticipation reflects duration of illness in abstinent pathological gamblers. *Frontiers in psychology*, 5,1013
- van den Bos, R., Homberg, J., & de Visser, L. (2013). A critical review of sex differences in decision-making tasks: Focus on the Iowa Gambling Task. *Behavioural Brain Research*, 238(1), 95–108.
- van den Bos, R., Jolles, J., Van der Knaap, L., Baars, A., & De Visser, L. (2012). Male and female Wistar rats differ in decision-making performance in a rodent version of the Iowa Gambling Task. *Behavioural Brain Research*, 234(2), 375–379.
- van den Bos, R., Lasthuis, W., den Heijer, E., van der Harst, J., & Spruijt, B. (2006). Toward a rodent model of the Iowa gambling task. *Behavior research methods*, 38(3),470-478.
- Van Honk, J., Schutter, D. J. L. G., Hermans, E. J., Putman, P., Tuiten, A., & Koppeschaar, H. (2004). Testosterone shifts the balance between sensitivity for punishment and reward in healthy young women. *Psychoneuroendocrinology*, 29(7), 937–943.
- Verharen, J. P. H., De Jong, J. W., Roelofs, T. J. M., Huffels, C. F. M., Van Zessen, R., Luijendijk, M. C. M.,

- ... Vanderschuren, L. J. M. J. (2018). A neuronal mechanism underlying decision-making deficits during hyperdopaminergic states. *Nature Communications*, 9(1), 1–15.
- Verharen, J. P. H., Kentrop, J., Vanderschuren, L. J. M. J., & Adan, R. A. H. (2019). Reinforcement learning across the rat estrous cycle. *Psychoneuroendocrinology*, 100, 27–31.
- Volkow, N.D., & Morales, M. (2015). The Brain on Drugs: From Reward to Addiction. *Cell*, 162(4):712-725.
- Voyer, D., Voyer, S., & Bryden, M. P. (1995). Magnitude of sex differences in spatial abilities: A meta-analysis and consideration of critical variables. *Psychological Bulletin*, 117(2), 250–270.
- Wallin-Miller, K., Li, G., Kelishani, D., & Wood, R. I. (2018). Anabolic-androgenic steroids alter decision making in a balanced rodent model of the Iowa Gambling Task. *Behavioral Neuroscience*, 132(3), 152–160.
- Weiner, I., & Feldon, J. (1986). Reversal and nonreversal shifts under amphetamine. *Psychopharmacology*, 89(3), 355–359.
- White, J. D., & Kaffman, A. (2019). The Moderating Effects of Sex on Consequences of Childhood Maltreatment: From Clinical Studies to Animal Models. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 1–16.

- Winstanley, C. A., & Floresco, S. B. (2016). Deciphering Decision Making: Variation in Animal Models of Effort- and Uncertainty-Based Choice Reveals Distinct Neural Circuitries Underlying Core Cognitive Processes. *Journal of Neuroscience*, 36(48), 12069–12079.
- World Health Organization. (2016). International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision. Version:2016, Volume 1.
- Xue Z., Siemian J. N., Johnson B. N., Zhang Y., & Li J. (2018). Methamphetamine-induced impulsivity during chronic methamphetamine treatment in rats: effects of the TAAR 1 agonist RO5263397. *Neuropharmacology*, 129: 36-46.
- Yang, Y., Cheng, Z., Tang, H., Jiao, H., Sun, X., Cui, Q., ... Li, B. (2017). Neonatal Maternal Separation Impairs Prefrontal Cortical Myelination and Cognitive Functions in Rats Through Activation of Wnt Signaling. *Cerebral Cortex*, 27(5), 2871–2884.
- Yates, J. R., Ph, D., Prior, N. A., Chitwood, M. R., Day, H. A., Jonah, R., ... Wells, E. E. (2020). Using a dependent schedule to measure risky choice in male rats: Effects of d-amphetamine, methylphenidate, and methamphetamine. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 28(2), 181–195.
- Yoest, K. E., Cummings, J. A., & Becker, J. B. (2019). Ovarian Hormones Mediate Changes in Adaptive Choice

and Motivation in Female Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13, 1–16.

Zeeb, F.D., Robbins, T.W., & Winstanley, C.A. (2009).

Serotonergic and dopaminergic modulation of gambling behavior as assessed using a novel rat gambling task.

Neuropsychopharmacology, 34(10), 2329–2343.

Zeeb, F. D., & Winstanley, C. A. (2013). Functional

disconnection of the orbitofrontal cortex and basolateral amygdala impairs acquisition of a rat gambling task and disrupts animals' ability to alter decision-making

behavior after reinforcer devaluation. *Journal of Neuroscience*, 33(15), 6434–6443.

謝辞

はじめに、この博士論文を作成するにあたってお世話になったすべての方々に感謝いたします。特に指導教員であった山田先生には、本研究のために多くのご助力を賜り、また多くのご心配をおかけいたしました。そして、途中までではありましたが、一谷先生には修士の頃から様々なアドバイスをいただき、小澤さんにはオプトジェネティクスから学振の書き方まで大変お世話になりました。

研究室の同期である下田君は、論理的な指摘からユーモア溢れる冗談まで、たくさんの言葉で支えてくれました。後輩である豊島君は、よく夜遅くまで話に付き合ってくれました。また、彼らをはじめとして、中澤君や王さん、加瀬田君、長谷川君といった院生の方々には、研究室全体を盛り上げていただき、おかげで自分の研究も活気づきました。

主査・副査の先生方にも、長期にわたる審査の中で多くのことをご指導いただき、大変感謝しております。

最後となりましたが、実験でその命を使わせてくれた多くのラットに深い感謝と哀悼の意を込めまして、本論文の謝辞とさせていただきます。

高橋克匡