

マウスにおける2レバーオペラント弁別学習

筑波大学大学院(博)心理学研究科 乙部 貴幸

筑波大学心理学系 牧野 順四郎

Operant discrimination learning for two levers in mice

Takayuki Otohe and Junshiro Makino (*Institute of Psychology, University of Tsukuba, Tsukuba 305-8572, Japan*)

Mice were trained in a two-lever operant discrimination task with a food reinforcer. The mice received a food pellet if they pressed one of two levers when illuminated by a lamp. None of the mice used in experiment 1 acquired this discriminative response. By introducing a correction procedure to prevent response-perseverance in experiment 2, all the mice acquired the discrimination response within 22 days. In experiment 3, we attempted to inhibit impulsive responses before presentation of the discriminative stimuli in the mice by introducing a DRL schedule. In experiment 4, the mice were required to approach the levers and press one after first pressing a start lever on the opposite wall and turning to face the presented discriminative stimuli. As a result, two-lever discrimination learning progressed quickly. These results indicate that prevention of response-perseverance, of impulsive starts, and of continuous lever-pressing, as well as having the mice face the discriminative stimuli are essential for this kind of discrimination learning in mice.

Key words: operant, discrimination, positive reinforcement, learning, mice

現在、遺伝研究は急速な進歩を遂げている。分子遺伝学における遺伝子欠損技術の発明は、様々な病態に関する遺伝子の役割を塩基レベルで解析することを可能にし、その研究は行動形質に関わる遺伝子の単離にまで及んできている(e.g. Fisch et al., 1999; Heyser et al., 2000; Weeber et al., 2000)。一方、1960年代初期におこった行動遺伝学の分野でも、初期の近交系比較法、選択交配法、及び他の計量遺伝学的方法に加えて、特定の行動形質に関連する遺伝子座の解析を行うQTL法(quantitative trait loci method; e.g. Owen et al., 1997; Wehner et al., 1997)や、遺伝子操作動物の利用によるより直接的な遺伝解析などが行われるようになった。Plomin et al.(1994)は、複雑な行動の解明には遺伝子の単離から出発する分子遺伝学とQTLアプローチを用いる計量遺伝学の合流が必要であると述べており、

こうした視点のもと、行動形質の遺伝研究は今後ますます発展していくものと思われる。

マウス(*Mus Musculus*)は遺伝学研究において最も多用されている哺乳類であり、行動の遺伝的基礎を明らかにするような研究において最も重要な被験体である。しかし、行動実験の中心を担ってきたラット(*Rattus Norvegicus*)に比べると、その行動学的研究は少ない。特にオペラントパラダイムを用いた学習研究をみると、電気ショックなどの嫌悪性刺激を用いているものがほとんどであり(e.g. 森・牧野, 1994; Renzi & Sansone, 1971; 堤・牧野, 1990)、食物や水などの欲求性強化子を用いたものは非常に少ない。一般に、罰子を用いた嫌悪性の学習と欲求性の報酬を用いた学習では脳生理学的な機序も異なっていると考えられているため、マウスにおける報酬性の学習行動に関する研究も行動遺伝学的研究

において不可欠であろう。しかしながら、オペラント箱を用いた欲求性の学習課題による研究が行われ始めているものの(Fisch et al., 1999; Heyser et al., 2000), マウスのための訓練手続きが確立されているとは言い難いのが現状である。

本研究の目的は、マウスを用いて食物強化子によるオペラント弁別訓練を行い、マウスの弁別訓練における有効な手続きを確立することである。本研究では、オペラント箱を用いた2レバーによる同時弁別訓練を対象とした。実験1, 2ではこの弁別学習のための有効な訓練手続きを探り、実験3, 4では、訓練をより効率的にするために、より短期間で獲得可能な訓練手続きを探ることを目的とした。

実験 1

オペラント弁別課題をマウスと正強化という組合せで行った研究は非常に少ない。給餌制限の方法や学習が成立するかどうかといったことに関する報告もほとんど見られない。そこで、実験1は2レバー式のオペラント箱を用いた単純な離散試行型の同時弁別学習がマウスにおいて成立するかどうかをみることを目的として行われた。

方 法

被験体

実験未経験のICR雄マウス4匹(ICR01~04)。レバー押し形成時におよそ16週齢。集団飼育され、訓練終了後2時間の自由摂食による給餌制限により、レバー押し形成時に自由摂食時体重の80~90%に維持された。

装置

マウス用2レバーオペラント箱(180×120×150mm, 小原医科産業製, Fig. 1)。床はステンレス・グリッドからなり、天井及び側面の壁は透明塩化ビニール製であった。前面及び後面の壁は黒色の金属板製で、前面の壁にはステンレス製のレバー(24×66mm)が2枚、グリッド面から70mmの高さから取り付けられた。また各レバーの取り付け部から19mm上に3Wの白熱球が1つずつ取り付けられた。グリッド面から8mmの高さに餌皿(25×16×12mm)が突き出していた。追加訓練において使用された仕切り版は、前面の壁のランプ及びレバーの中間に、天井面から93mm、前面の壁から50mm突き出るように取り付けられた。各レバーを3g重で押すことによって反応がカウントされ、20mgのマウス用餌ペレット(小原医科産業製)が餌皿に排出された。

手続き

10日間の給餌制限の後、連続強化(CRF)によるレバー押し形成訓練が、1セッション30分として6セッション行われた。CRFの間は、一方のレバーのみで強化され、他方のレバーにはカバーがかけられた。強化を行うレバーの位置はセッションごとにランダムにされた。CRF終了後、以下の2つのレバーを用いた弁別訓練を行った。

マウスを装置内に投入してから40秒後に、試行開始を予告するブザーが3秒間鳴らされ、そのあとに2つのレバーの上にあるランプのいずれかがランダムに点灯した。ランプが点灯した方のレバーに反応した場合には餌ペレットが1つ与えられ、点灯していない方に反応した場合には何も与えられなかつ

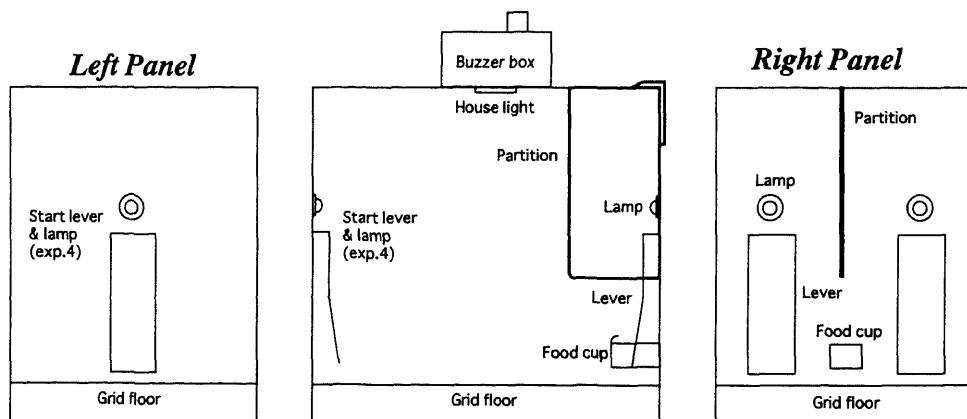


Fig. 1 Illustration of the operant chamber designed for mice. In experiment 4, a start lever and a lamp were attached on the left-side panel.

た。反応後に両方のランプが消され40秒間の試行間隔に戻った。これを1試行とし、1セッション40試行として、10日間、計10セッションこの訓練を行った。

結果と考察

正答率がチャンスレベルから有意に高いレベルである72.5% (直接確率計算, $p < .01$) に達するかどうかを学習基準とした。実験1における全ての個体で、学習基準は満たされなかった。全個体の正答率は10セッションを終了してもチャンスレベルに留まった。

反応の内訳を見てみると、弁別刺激の位置に関わりなく、全ての個体が左右いずれか一方のレバーに反応を固着させていたことがわかった。反応の位置固着が起これば、この弁別課題の学習にとって致命的な障害になるため、これを取り除くことが不可欠である。そのため、同じ被験体を用いて追加訓練を試みた。まず弁別刺激提示前のブザーは弁別刺激とは関係のない反応を増加させると考えられたため、除去された。次にランプとレバーの連合を強めることを目的として片方のレバーのみを提示して単純な明暗弁別を行った。その後、2つの弁別刺激の位置関係を明瞭に区別させるため、2つのランプの間に仕切り板を取り付け、さらに反応の固着を取り除くために修正法(correction procedure)を用いて訓練を行った。修正法とは、誤反応が生じた場合には、正反応が起きるまで同じ試行を何度でも繰り返す手続きである。この手続きのもとでは、被験体は必ず反応を反転させないと強化が得られない。

以上の訓練の結果、正答率は若干上昇傾向が見られたものの、全ての個体が学習基準を満たすには到らず、反応の固着傾向も残った。このことから、訓練の最初から反応固着を起ささないような手続きを用いて訓練する必要があることがわかった。

実験2

実験2では、1レバーによる単純な明暗弁別を

行った後に、反応固着の生起を防ぐための手続きとして修正法を導入して訓練を行った。また、実験1において行われた時間による給餌制限では、体重の変動が日によっても個体によっても大きかったため、実験2では個体ごとに量を調整して給餌制限を行うことにした。

方法

被験体

実験未経験のICR雄マウス4匹(ICR05~08)。レバー押し形成時におよそ16週齢。個別飼育され、個別に給餌量を調整した給餌制限により、レバー押し形成時に自由摂食時体重の80~85%に維持された。

装置

実験1と同様。

手続き

実験1と同様のCRFによるレバー押し形成訓練の後に、1レバーによる明暗弁別訓練、それに続いて2レバーによる弁別訓練が行われた。

1レバー明暗弁別訓練

マウスが装置内に投入されてから平均40秒後にレバーの上にあるランプが点灯された。ランプ点灯から30秒以内に反応した場合にのみ、1個の餌ペレットが与えられた。光刺激提示中に反応が生じるか、30秒間反応がなされないまま経過すると、光刺激は消され、平均40秒間の試行間隔に戻った。1つのセッションは被験体が40個の餌ペレットを得たときに終了した。セッションごとに左右いずれかのレバーにカバーがかけられ、提示されたレバーのみで強化が行われた。これを10セッション行った。刺激提示のダイアグラムをFig. 2に示した。

2レバー弁別訓練

左右いずれか一方のレバーに光刺激が提示され、そのレバーに対して反応すると20mgの餌ペレットが与えられた。試行が失敗に終わると、修正法の手続きに従って正反応が生じるまで同じ試行が繰り返された。その他は1レバー明暗弁別訓練と同様であった。これを20セッション行った。

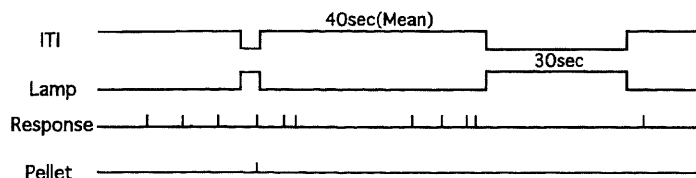


Fig. 2 Diagram of relations between inter-trial interval (ITI), discriminative stimuli, responses, and reinforcement. Upward displacement of lines indicates the onset of event.

結果と考察

1レバー明暗弁別訓練における試行間隔中の反応数は、全ての個体で有意に減少した($p < .01$)。2レバー弁別訓練における正答率は、40回の試行における正解試行の割合とした。学習基準は実験1と同様であり、安定基準は5セッション連続して学習基準を満たすこととした。訓練の結果、全ての個体で学習基準、安定基準の両方が満たされ、用いられた全ての個体で弁別学習の獲得がなされた。全ての個体が安定基準を満たしたのは明暗弁別訓練をあわせて22セッションであり、平均17.8セッション($SD = 3.10$)であった。それぞれのセッションにおける各個体の正答率をFig.3に示した。以上の結果は、反応の反転を要求する修正法の使用がマウスの弁別学習に必須であることを示している。

しかし一方では、弁別刺激提示の前後において、マウスは明らかに左右に関わりなく目前のレバーを連続的に押し続けてしまうという、いわば「衝動的な」反応を起こしやすいことが観察された。Perkinson & Elsmore(1989)は、ラットを用いた遅延見本合わせ(delayed matching to sample; DMTS)課題において、修正法を用いることに加えて、試行間隔の最後に DRL(differential reinforcement of low rate)スケジュールを挿入し、弁別刺激提示直前のレバー押しを抑制すると、獲得が早くなることを報告している。彼らは、DRLスケジュール挿入によって、弁別の獲得にとって不適切な、動物の「衝動的な」反応を抑制しようとしたのである。このような衝動的反応を抑制することにより、弁別学習がさらに促進されることは十分に考えられる。

実験3

目的

DRLスケジュールの挿入によって、「衝動的な反応」を抑え、一定時間左右のレバーに正しく定位すること、言い換えれば、両方のレバーに等しく注意を払うことをマウスに要求した。ここでも実験2と同様に修正法を用いることにする。

方法

被験体

実験未経験のICR雄マウス8匹(ICR09~16)。レバー押し形成時におよそ16週齢で、個別給餌により体重を自由摂食時の80~85%に維持された。

装置

実験2と同様。

手続き

実験1, 2と同様の手続きでレバー押しを形成した後、2レバーによる弁別訓練が行われた。ここでは40秒に固定された試行間隔のうち、最後の35秒

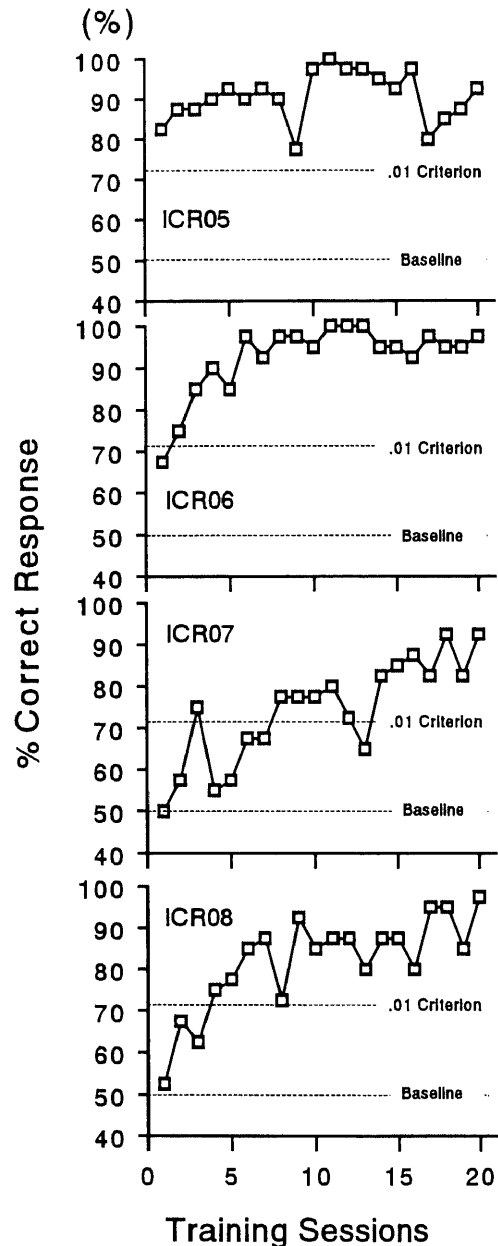


Fig. 3 Percent correct responses of 4 subjects in each training session of experiment 2. The upper and lower horizontal dotted lines indicate learning criterion ($p < .01$) and baseline, respectively.

から40秒までの間に反応をすると刺激提示が5秒間延期されるDRLスケジュールが挿入された。従って、マウスは試行間隔終了直前に少なくとも5秒間レバー押しを抑制しなければ、弁別刺激も提示されず、報酬を得る機会も与えられなかった。それ以外は全て実験2の2レバー弁別訓練と同様であった。この訓練は安定基準を満たすまで行われた。20セッションに達しても安定基準が満たされなかった場合には、そこで訓練が終了された。

結果と考察

学習基準、安定基準ともに実験2と同じであった。訓練の結果、全ての被験体が学習基準に到達し、1個体を除いて全ての被験体が20セッション以内に安定基準を満たした。学習基準を満たした7個体が安定基準に達するのに平均11.3セッション(SD=3.45)を要した。得られた各セッションにおける平均正答率をFig. 4に示した。

実験3が実験2と異なっていたことは、1レバーの明暗弁別訓練を行わないこと、および試行間隔の最後にDRLスケジュールを挿入したことであった。1レバーの明暗弁別訓練によって、ある程度学習成績が向上することは実験2で示唆されているが、それを省いても、実験3において弁別が獲得され、しかもより短期間で訓練が終了した。従って、1レバーによる明暗弁別訓練は必要ではないことが示された。

実験3では、DRLスケジュールの挿入によって弁別刺激提示直前の「衝動的な」反応が不可能になり、その結果、弁別の獲得は促進されたといえるだ

ろう。しかし、DRLスケジュールを導入したとしても、DRLタイマーの終了時にいずれか一方のレバーの付近にいて、結局、弁別刺激提示時にそのレバーを「衝動的に」押してしまう。すなわち、DRLスケジュールによって反応を抑制していたマウスが、抑制が解除されると、目前のレバーに衝動的に反応してしまうことがありうる。

このような衝動的反応を防止するには、弁別刺激を提示するときに、被験体が弁別刺激から離れていて、かつ弁別刺激に定位しやすい位置に移動させるようにすればよい。具体的には、弁別刺激とレバーが取り付けられている壁面の反対側にもう1つのレバーを追加し、そのレバーを押すことによって試行が開始され、反対側の弁別刺激が提示されるようにすることが考えられる。この手続きは、DRLスケジュールと同様に弁別刺激提示直前の衝動的反応を不可能にし、かつDRLスケジュールに適用時に比べて、マウスを弁別刺激に対してより定位しやすくするという利点がある。

実験 4

実験4では、試行開始のためのレバーを追加することによって、弁別の獲得がどの程度改善されるかについて検討することを目的とした。また、ICRマウスは体が比較的大きく、摂食量も多いため、30分間のCRF訓練中に60個前後の20mgペレットを消費することができる。このことを考慮し、1セッションあたりの試行数を増加させることにした。

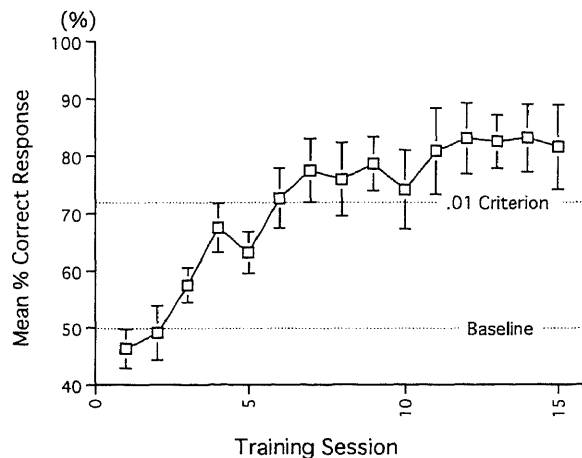


Fig. 4 Mean percent correct responses in Exp. 3. The upper and lower horizontal dotted lines indicate learning criterion ($p < .01$) and baseline, respectively.

方法

被験体

実験未経験のICR雄マウス10匹(ICR17~26)。レバー押し形成時におよそ16週齢で、体重を自由摂食時の80~85%に維持された。

装置

実験1, 2で使用された装置を改良し、餌皿及び2つのレバー(選択レバー)がある側とは反対の側にもう1つのレバー(開始レバー)とそのレバー上部にランプが取り付けられた(Fig. 1, 左パネル参照)。

手続き

実験1, 2, 3と同様にCRFによるレバー押しを形成した後, 2レバーの弁別訓練を行った。マウスを装置内に投入してから40秒後に開始レバー上のランプが点灯した。開始レバーに反応がなされると, 反対側にある2つの選択レバーのいずれか一方のランプが点灯した。ランプが点灯した方のレバーに反応すると1個の餌ペレットが得られた。ここでも実験2, 3と同様に修正法が用いられた。1セッションは60試行から成り, 1日1セッション行われた。

結果と考察

学習基準は正答率が68.3%(直接確率計算, $p < .01$)に達することとし, 安定基準は実験2, 3と同じであった。訓練の結果, 全ての個体が学習基準, 安定基準をともに満たした。全ての個体が安定基準を満たすのに平均7.2セッション($SD=2.30$)を要した。各セッションにおける平均正答率をFig. 5に示した。

実験4では, 実験3に比べてより短期間で弁別が獲得された(Fig. 6)。ほとんどの試行において, 実験

4の正答率は実験3よりも有意に高かった($p < .01$)。実験3での平均正答率が学習基準に達したのは240試行であり, 実験4では180試行であった。従って, 刺激提示の直前に反応を抑制する目的で導入したDRLスケジュールと, 実験4における試行開始レバーの追加の間では, 学習速度は後者の方が速く, 実験4の手続きの方がより弁別を促進する有効な手続きであるといえる。

全体的考察

本研究の目的は, マウスにおいて正の強化子を用いた2レバーによるオペラント弁別が獲得されるかどうかを確かめること, およびその獲得を促進する訓練手続きを探ることであった。

実験1から実験4までの結果を総合すると, 実験1では全ての個体が弁別を獲得できなかったが, 実験2~4では, ほとんど全ての個体が2レバーオペラント弁別学習を獲得した。実験2の結果から, マウスに2レバーによるオペラント弁別課題を獲得させるには, 修正法を用いて反応の固着が生じないようにすることが重要であることがわかった。

実験3ではDRLスケジュールを導入することによって, 一定時間レバー押し反応そのものを抑制しようと試みた。この手続きによって学習は促進され, その有効性が明らかになったが, 一方で, 抑制時間が解除されると, マウスは弁別刺激の提示位置に関わりなく目前のレバーを衝動的に押してしまう傾向が残った。従って, 2つの弁別刺激に正しく定位させ, 刺激に対応するレバーを選択的に押させる

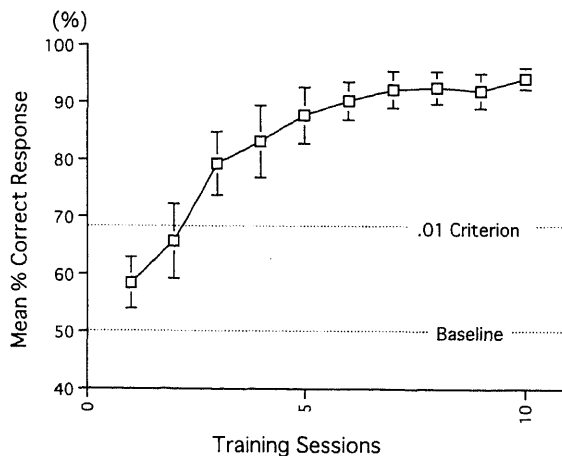


Fig. 5 Mean percent correct responses in Exp. 4. The upper and lower horizontal dotted lines indicate learning criterion ($p < .01$) and baseline, respectively.

ためには、DRL スケジュールの導入は不十分であると考えられた。

実験4では、弁別刺激とレバーが取り付けられている壁面の反対側にもう1つのレバーを取り付け、直上のランプの点灯後にこのレバーに反応しないと弁別訓練の試行が開始されないようにした。すなわち、マウスをまずこの試行開始レバーに反応させ、そのあとに向きなおって弁別刺激とレバーに正対させるように、装置と手続きを改変した。その結果、実験2, 3に比べて2レバー弁別学習がさらに促進された。

要約すると、第一に位置弁別学習にとって致命的な障害となる反応固着を防ぐこと、すなわち修正法の導入が2レバーオペラント弁別学習に必要なことが示された(実験2)。第二に弁別刺激の提示位置に関わりなく、目の前のレバーを押してしまうという衝動的な反応を抑制することが必要なこと、第三に反応する前に2つの弁別刺激の提示位置を見比べることができる環境が必要なことが明らかになった。実験4の手続きは、全ての条件を満たしていたために、非常に有効な手続きであった。

今後、遺伝学的アプローチによる、マウスを用いた行動形質に関する研究はますます盛んになるであろう。本研究において用いられた訓練パラダイムは、それ自体が弁別学習の訓練パラダイムの1つであると同時に、DMTSといった記憶に関わる訓練パラダイムなどへ応用できる可能性を持っており、これからの学習や記憶に関する遺伝学的アプローチにおいて有効に利用されることが期待される。

要 約

マウスが餌強化子による2レバーオペラント弁別課題において訓練された。マウスは2本あるレバーのうち、点灯しているランプの直下のレバーを押すことで、餌ペレットを得ることができた。実験1で用いられた全てのマウスは弁別反応を獲得しなかった。実験2では反応固着を防ぐ修正法を導入することによって全てのマウスが22日の訓練期間で弁別を獲得した。実験3では、DRL スケジュールを導入し、弁別刺激提示の直前の衝動的な反応を抑制しようと試みた。その結果、学習は促進されたものの、反応の抑制解除直後には、衝動的な反応が生じることがわかった。実験4では、マウスは試行開始レバーを押し、向きなおって提示された弁別刺激に正対してから、レバーに近づき、反応しなければならないようにした。その結果2レバー弁別学習が急速に進むことがわかった。以上の結果から、マウスにおけるこの型の弁別学習にとって、反応固着の防止、レバー押し反応の衝動的な開始と続行の防止、そして弁別刺激へ正対させることが重要であることが示された。

引用文献

Fisch, G.S., Hao, H.K., Bakker, C. & Oostra, B.A. 1999 Learning and memory in the FMR1 knockout mouse. *American Journal of Medical Genetics*, **84**, 277-282.

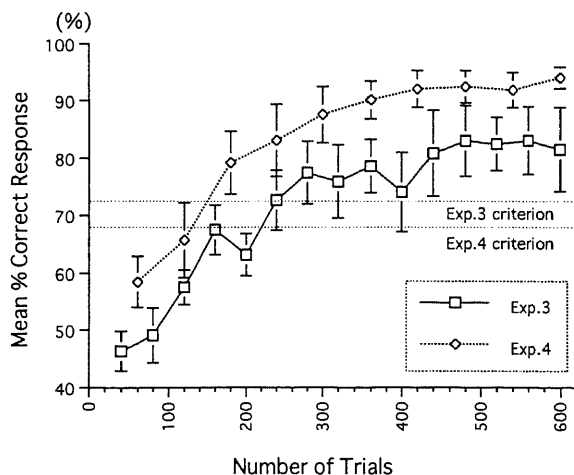


Fig. 6 Mean percent correct responses as a function of trials in experiment 3 and 4. The upper and lower horizontal dotted lines indicate learning criteria in experiment 3 and 4, respectively.

- Heyser, C.J., Fienberg, A.A., Greengard, P. & Gold, L.H. 2000 DARPP-32 knockout mice exhibit impaired reversal learning in a discriminated operant task. *Brain Reserch*, **867**, 122-130.
- 森 俊之・牧野順四郎 1994 近交系マウスにおける電撃に対する反応型と回避学習. 心理学研究, **65**, 295-302.
- Owen, E.H., Christensen, S.C., Paylor, R. & Wehner, J.M. 1997 Identification of quantitative trait loci involved in contextual and auditory-cued fear conditioning in BXD recombinant inbred strains. *Behaviral Neuroscience*, **111**, 2, 292-300.
- Parkinson J.K. & Elsmore, T.F. 1989 A delayed discrimination procedure for rats. *Bulletin of the Psyconomic Society*, **27**, 1, 49-51.
- Plomin, R., Owen, M.J., McGuffin, P. 1994 The genetic basis of complex human behaviors. *Science*, **17**, 264, 5166, 1733-1739.
- Renzi, P. & Sansone, M. 1971 Discriminated lever-press avoidance behavior in mice. *Communications in Behavioral Biology, Part A*, **6**, 315-321.
- 堤 幸一・牧野順四郎 1990 2 反応選択場面における近交系マウスの逃避—回避学習. 心理学研究, **61**, 255-262.
- Weeber, E.J., Atkins, C.M., Selcher, J.C., Varga, A.W., Mirnikjoo, B., Paylor, R., Leitges, M. & Sweatt, J.D. 2000 A role for the beta isoform of protein kinase C in fear conditioning. *Journal of Neuroscience*, **20**, 16, 5906-5914.
- Wehner, J.M., Radcliffe, R.A., Rosmann, S.T., Christensen, S.C., Rasmussen, D.L., Fulker, D.W. & Wiles, M. 1997 Quantitative trait locus analysis of contextual fear conditioning in mice. *Nature Genetics*, **17**, 3, 331-334.

—2000. 9. 29 受稿—