The Development of Water Maze-Learning Ability in Rats; (2) Effect of Pretraining with the Water Filled Straight Channel

Norio HASEGAWA, Kazunori SHIMAMURA, Katsushi SUZUKI*,
and Tomonori IMAMICHI*

*Research Laboratories, Torii and Co., Ltd., 3-14-3, Minamiyawata, Ichikawa-shi,
Chiba 272, Japan, and *Department of Physiology, Nippon Veterinary and
Zootechnical College, 1-7-1, Kyonan-cho, Musashino-shi, Tokyo 180.*

(Received 3 October 1986/Accepted 14 January 1987)

To determine whether pretraining with the water-filled straight channel affects learning acquisition, we studied the water filled multiple T-maze learning ability in 8-weeks-old SPF Wistar-Imamichi rats. The performance time for the straight channel was markedly shortened at the 2nd and 3rd trial compared to the time at the 1st trial on the 1st day. But at subsequent trials on days 2 and 3 it was longer than at the 3rd trial on day 1. At the 1st trial on day 1, the performance time of the group unexperienced in the straight channel was more than three times that of the experienced group. In subsequent trials, however, both groups showed similar performance times. More errors were observed in the unexperienced group than in the experienced group at the 1st trial on day 1. No difference was found between the two groups in subsequent trials. These results indicate that the learning acquisition was largely influenced by pretraining in the straight channel at the 1st trial on day 1.

ラット学習能の発達に関する研究 (2) 直線水路前処置の水迷路 学習に及ぼす影響

長谷川徳雄・島村和位・鈴木勝士*・今道友則*

鳥居薬品株式会社研究所
* 日本獣医畜産大学生理学教室

Biel 型の water filled multiple T-maze [1] に関しては、Butcher ら [2-6] が薬物の行動学習に及ぼす影響を調べるのに多用していることもあって、わが国でも薬物の安全性試験の際に多く用いられている。この迷路学習に関して、水温や試行条件等が学習成績に及ぼす影響はすでに検討されている。

すなわち、水温に関しては研究者により20℃から30℃まで幅がある [1-11] が、一般に24℃前後の水温は動物にとってマイルドな嫌悪刺激となり、かつ一定の条件を保つのに適しているといわれている。また、試行条件についても研究者によって若干異っており、1日3～5回の試行で、試行日数も2～3日間と規定されている [1-

11]。さらに、試行回数および日数については、一定の条件下で行われた場合には主として錯誤数の減少という形で学習の成立することが認められている。

一方、水環境に慣れさせるために、予め動物を直線水路でトレーニングすることは常識になっているが、実際には直線水路での訓練がどのように迷路学習ならびに水環境に対する慣れに影響するのかについては詳しく調べられていない。そこで本実験では、前回行った我々の実験と同じく水温 24℃、試行回数 1 日 3 回、3 日間と規定し、このような試行条件による事前の直線水路での訓練の有無が、いかに学習成績に影響を及ぼすかについて検討した。

材料および方法

使用動物：実験には 動物繁殖研究所より入手した SPF の 8 週齢の Wistar-Imamichi ラットを用い、一群雌雄各15匹とした。これらのラットは実験時以外は温度 24±1℃、湿度 55±5 % の飼育室内で群飼育（1 ケージ 5 匹）により維持され、ラット用固型飼料(日本クレア：CE-2) および水道水を自由摂取させた。

装置：実験に用いた水迷路は厚さ10mmの塩化ビニール製 water filled multiple T-maze (Fig. 1) であり縦、横各130cm、深さ30cm、水路の幅13cmのT迷路を配したものである。目標点には、水面に対し斜めに入り込む形で金網を配し、ラットが水中から自力で上れるようにした。また、直線水路での実験には、水迷路の一部である130cmの直線水路を使用した。

実験条件：すべての実験は飼育室内と同一条件（温度 24±1℃、湿度50±5%）の室内で行った。迷路および直線水路に関しては水深 20cm、水温 24±2℃に設定した。直線水路、水迷路ともに出発点から目標点に到達するまでの所要時間を記録し、水迷路については錯誤数についても記録した。水迷路に動物を入れる際には、頭を進行方向に対し逆向きに入れ、遊泳中に動物の肩が盲路に入った場合に錯誤と判定した。また、ラットは目標点に到達するまでは水槽から取り出さず、ラットが目標点に到達したのちは、直ちにタオルで水をふき取って、ホームケージにもどした。

実験は、直線水路での未経験群(A)、1 日経験群(B)、3 日経験群(C)の 3 群に分けて行った。

A 群は直線水路での訓練を実施せず、直接第 1 日目より 3 日間にわたり水迷路学習実験を10、13、16時の 3 時間間隔で 1 日 3 回、計 9 回の試行を実施した。B 群は予

Fig. 1. Schematic representation of the water filled multiple T-maze. Areas surrounded by the solid line represent the water-filled maze. S: starting point. G: goal. Numbers represent the length of each wall in cm.

Table 1. Time score of straight channel performance.

Trial\Group	A	B	C
1st	—	31.3±4.8	36.3±5.8
2nd	—	9.5±1.3	7.5±1.5
3rd	—	4.8±1.0	5.0±0.8
4th	—	—	15.8±5.3
5th	—	—	22.5±5.3
6th	—	—	19.5±4.5
7th	—	—	17.8±3.3
8th	—	—	19.0±5.0
9th	—	—	22.5±5.3

Each value represents time in seconds to reach the goal (mean ± standard error N=30).
A : No pretest practice
B : Pretest practice for 1 day
C : Pretest practice for 3 days
—: Nontrial
*: Significant difference at p<0.05 between bracketed groups.
**: Significant difference at p<0.01 between bracketed groups.

め、水迷路学習実験開始前日に10時から 3 時間間隔で 1 日 3 回直線水路での訓練を実施し、翌日から A 群と同様に、水迷路での学習能を調べた。C 群は予め、3 日間に

*: Significant difference at $p < 0.05$ between day 2 and day 3.

**: Significant difference at $p < 0.01$ between day 1 and day 2 or day 2 and day 3.

Fig. 2. Mean number of errors in the water T-maze for male rats under 3 different pretest conditions. Each column and bar represents a mean $\pm$ standard error for 15 rats.

わたり、10時から3時間間隔で1日3回9試行の直線水路での訓練を実施し、翌日より他の群と同様の条件で水迷路学習実験を行った。

統計処理：到達時間および錯誤数のいずれについても、Student の t 検定により群間の比較を行った。有意水準は $p < 0.05$ ならびに $p < 0.01$ とした。

成 績

1. 直線水路での到達時間

BおよびC群における出発点から目標点に到達するまでの所要時間を Table 1 に示した。なお、到達時間に雌雄差が認められなかったため、ここでは雌雄の成績を一括して示した。

*: Significant difference at $p < 0.05$ between day 2 and day 3.

**: Significant difference at $p < 0.01$ between day 1 and day 2 or day 2 and day 3.

Fig. 3. Mean number of errors in the water T-maze for female rats under 3 different pretest conditions.

Each column and bar represents a mean $\pm$ standard errors from 15 rats.

第1日目の成績では、B、C群ともに所要時間が第1試行時に比し第2試行時で ($p < 0.01$)、また、第2試行時に比し第3試行時で ($p < 0.05$ および $p < 0.01$) 有意に短縮し変動も減少した。

しかし、直線水路で3日間訓練を継続したC群での2日目、3日目の成績では、いずれの試行においても第1日目の第3試行時よりも時間を要し、かつ変動も大きくなった。また、第2および第3日目での各試行における所要時間には、有意な差はみられなかった。

2. 水迷路学習試験

Fig. 2, 3 にA、BおよびC群の水迷路学習での錯誤数を示した。

いずれの実験群においても、試行日毎の錯誤数は、第1日目に比し第2日目で ($p < 0.01$)、また、第2日目に比し第3日目で ($p < 0.05$ および $p < 0.01$) 有意に減少

Fig. 4. Changes in mean number of errors in the male rats under 3 different pretest conditions.

Each column and bar represents a mean $\pm$ standard errors for 15 rats.

Fig. 5. Changes in mean number of errors in the female rats under 3 different pretest conditions.

Each column and bar represents a mean $\pm$ standard errors for 15 rats.

し、雌雄間および各群間に差を認めなかった。また、3日間の総錯誤数に関しても、雌雄間および各群間の差は認められなかった。

Fig. 4, 5 に試行時ごとの錯誤数を示した。A群の第

1日目の第1試行時の成績は、雄の場合BおよびC群の成績と比較して錯誤数が有意 ($p < 0.05$) に多く、雌の場合も雄と同様にC群と比較して錯誤数が有意 ($p < 0.05$) に多かった。

Table 2. Average time score in each water T-maze trial in male rats under different pretest conditions.

Trial\Group	A	B	C
1st	264.9±90.4	82.3±16.8*	72.0±13.5*
2nd	85.8±32.1	82.6±8.8	72.6±7.0
3rd	52.7±18.7	54.7±7.9	60.0±9.2
4th	49.0±18.4	46.5±7.6	53.7±9.5
5th	37.1±3.8	44.2±5.8	46.1±7.1
6th	32.7±2.3	39.4±5.6	39.6±5.0
7th	34.0±3.1	45.0±6.7	41.3±8.1
8th	32.8±4.1	39.8±4.3	33.2±2.4
9th	32.3±3.5	39.8±5.9	39.4±7.8

Each value represents time in seconds to reach the goal (mean ± standard error N=15).

A: No pretest practice

B: Pretest practice for 1 day

C: Pretest practice for 3 days

*: Significant difference from A group at $p < 0.05$

Table 3. Average time score in each water T-maze trial in female rats under different pretest conditions.

Trial\Group	A	B	C
1st	268.7±45.9	75.5±13.7**	62.5±8.5**
2nd	62.1±11.5	53.7±9.9	60.0±8.5
3rd	33.1±3.9	37.3±5.6	71.3±17.2
4th	32.9±4.9	31.0±5.0	56.8±12.5
5th	26.2±3.2	31.0±4.3	36.6±7.1
6th	23.8±4.8	21.5±2.9	21.1±4.7
7th	25.0±4.8	21.8±3.5	25.2±5.4
8th	17.1±1.9	21.2±6.3	20.8±4.1
9th	18.5±1.7	23.0±3.8	15.2±2.2

Each value represents time in seconds to reach the goal (mean ± standard error N=15).

A: No pretest practice

B: Pretest practice for 1 day

C: Pretest practice for 3 days

**: Significant difference from A group at $p < 0.01$.

C群の雌の第1日目、第2および第3試行の錯誤数は、他の群と比較して多い傾向にあり、とくに第2試行時の錯誤数は、B群のものより有意 ($p < 0.05$) に多かった。

水迷路学習における所要時間を Table 2, 3 に示した。A群の第1日目の第1試行時の所要時間は雌雄ともにBおよびC群の3～4倍と有意 ($p < 0.05$ および $p < 0.01$) に長かった。しかし、それ以降の1日目の第2、第3試行ならびに第2、第3日目の試行においては各群間に大

きな差異はみられなかった。

考 察

Water filled multiple T-maze を用いた水迷路学習に対して事前の直線水路での訓練がどのような影響を及ぼすかについて、出発点からゴールまでの到達時間および錯誤数を指標として検討した。

まず、到達時間についてみると、直線水路での所要時間は、第1日目においては試行回数を増すごとに短縮したのに対し、2日目以降では試行回数に伴った変化は見られなかった。これは、第1日目ではラットを水に入れた際、すぐに泳いで目標点を探す行動を起こしたが、第2日目以降では水に入れた際すぐに泳がず、出発点近くで浮いている動物が多く認められたことによるものであった。この現象は、第1日目の訓練により水環境への馴化が生じたものと考えられる。

今回の成績には示さなかったが、同様の水環境への馴化は、水迷路学習実験でも認められ、直線水路を経験した群では迷路の出発点または途中で水に浮いたまま泳がない現象としてみられた。この傾向は雌よりも雄で顕著であった。また、直線水路未経験群の第1日目の第1試行時には、直線水路経験群の3～4倍の時間を必要としたが、それ以降の所要時間は直線水路経験群とほぼ同様な経過をたどった。このことは、水環境への馴化は直線水路の経験がなくても行われたことを示唆している。初日に直線水路未経験群の到達時間が長くなったのは、目標への接近脱出という経験をもたなかったことによるものであろう。また、直線水路での訓練は水環境に対する馴化と、ゴールでの金網の傾斜を利用した脱出法を学習した効果とみなされる。

錯誤数についてみると、直線水路未経験群における第1日目の第1試行時の錯誤数は直線水路経験群より多かったが、これはいたるところから脱出しようとする行動およびゴールでの金網からの脱出法を知らなかったことが原因であろう。しかしながら、第1日目の第2試行以降、第2および第3日目の試行における錯誤数およびその減少傾向には各群間の差は認められなかった。

従来、直線水路での訓練に関しては水泳能力の指標 [6, 7, 9] とする報告があるが、到達時間およびゴールからの脱出行動に影響を及ぼすという報告はない。

今回の実験では、水迷路学習における事前の直線水路での訓練の有無は、第1日目の第1試行の到達時間および錯誤数にのみ大きな差異を生ずるが、それ以後の学習

成立の過程には何ら影響を及ぼさないことが明らかになった。第1日目の第1試行でみられた直線水路未経験群と経験群との差は水環境への馴化および金網からの脱出法の学習の有無によってもたらされたものと推察される。

したがって、ゴールへの到達時間および錯誤数、とくに後者を指標として行う水迷路学習試験における直線水路での訓練は第1日目の第1試行のバラツキをなくし、試験結果の評価を容易にするという意味で有益であると考えられる。

要 約

ラットの水迷路学習において事前の直線水路での訓練の有無が学習の成立にどのように影響を与えるかについて検討する目的で、8週齢の Wistar-Imamichi ラットを対象に water filled multiple T-maze による学習実験を行った。その結果、直線水路の完泳に要した所要時間は、第1日目では第1試行時に比べ第2、第3試行時に顕著に短縮し、第2日目以降、継続して試行を行うと第1日目の第3試行時に比べ所要時間は顕著に延長した。水迷路学習におけるゴール到達時間は直線水路未経験群の第1日目、第1試行時に直線水路経験群に比べ3倍以上の所要時間を要したが、それ以後の試行における到達時間は直線水路経験群とほぼ同様な推移を示した。また、錯誤数においても直線水路未経験群では第1日目、第1試行時に直線水路経験群に比し多かったが、それ以後の試行においては各群間に差異はみられなかった。以上のことから、水迷路学習における事前の直線水路での訓練の有無は第1日目の第1試行時に大きな影響を及ぼすことが明らかになった。

文 献

- [1] Biel, W. C. (1940). Early age differences in maze performance in the albino rat. *J. Genet. Psychol.*, **56**, 439-453.
- [2] Butcher, R. E., Vorhees, C. V., and Berry, H. K. (1970). A learning impairment associated with induced phenylketonuria. *Life Sci.*, **9**, 1261-1268.
- [3] Butcher, R. E., Stutz, R. M., and Berry, H. K. (1971). Behavioral abnormalities in rats with neonatal jaundice. *Am. J. Ment. Defic.*, **75**, 755-759.
- [4] Butcher, R. E., Brunner, R. L., Roth, T., and Kimmel, C. A. (1972). A learning impairment associated with maternal hypervitaminosis-A in rats. *Life Sci.*, **11**, 141-145.
- [5] Butcher, R. E., Vorhees, C. V., and Kimmel, C. A. (1972). Learning impairment from maternal salicylate treatment in rats. *Nature New Biol.*, **236**, 211-212.
- [6] Butcher, R. E., Scott, W. J., Kazumaier, K., and Ritter, E. J. (1973). Postnatal effects in rats of prenatal treatment with hydroxyurea. *Teratology*, **7**, 161-166.
- [7] 長谷川徳雄・古岡鏖二郎・青山卓夫・今道友則 (1980). ラット学習能の発達に関する研究 (1)正常動物における水迷路学習能の発達と脳重量推移について. *実験動物*, **29**, 401-407.
- [8] 石崎 綸 (1978). 水迷路におけるラットの学習行動について. *実験動物*, **27**, 9-12.
- [9] Kimmel, C. A., Butcher, R. E., Vorhees, C. V., and Schumacher, H. J. (1974). Metal-salt potentiation of salicylate-induced teratogenesis and behavioral changes in rats. *Teratology*, **10**, 293-300.
- [10] Shiota, K. (1976). Postnatal behavioral effects of prenatal treatment with PCBs (polychlorinated biphenyls) in rats. *Okajimas Folia Anat. Jpn.*, **53**, 105-114.
- [11] Vorhees, C. V., Brunner, R. L., McDaniel, C. R., and Butcher, R. E. (1978). The relationship of gestational age to vitamin A induced postnatal dysfunction. *Teratology*, **17**, 271-276.