研 究

ラットの物体探索行動と空間探索行動の発達的变化¹⁾

関西大学 関口理久子

Ontogeny of object exploration and reaction to spatial changes in the rat.

RIKUKO SEKIGUCHI

Department of Psychology, Faculty of Sociology, Kansai University

ABSTRACT

Sprague-Dawley rats ($n=96$) from postnatal 17-day-old to 24-day-old were compared for their exploration of 4 objects in an open-field, locomotor activity, object exploration time, habituation, and exploration time to the spatial change. As the locomotor activity increased, 23-day-old and 24-day-old rats explored the objects more than any other rats of the age groups. All rats showed habituation. It was not until the rats were 21-day-old that they re-explored the spatially changed object. 21-day-old rats more frequently investigated the object than older (22-day-old, 23-day-old, 24-day-old) rats. These results suggest that the exploration for objects precedes developmentally that of spatially changed object, and that 21-day-old rats begin to acquire informations about the spatial relationship in the environment.

Key words : object exploration, open-field, juvenile rats

動物は、新奇な環境におかれると、動き回ったり、特定の刺激対象物に接近したりする反応を示す。このような動物の探索行動は、環境の構造の情報を収集し記憶することにより、環境を熟知し、その変化をいち早く察知し、採餌、回避、逃避などの行動に役立てると考えられる。新奇な刺激対象がオープンフィールド内に存

在すると、成体ラットは、対象物の付近を多く動き回ったり、接近して刺激対象物に対して頻繁に鼻先を接触させる行動を示す (Dai & Carey, 1994)。このような行動は時間とともに減衰し、馴化 (habituation) を示す。しかし、対象物の空間位置が変わると、異なる場所へ移動した物体に対する探索行動は再び増加する (Poucet, 1989)。このように、刺激対象物そのものが探索済みのものであっても、空間位置が変化すると探索行動が増加することは、動物が

1) 本論文の作成にあたり、貴重な御教唆と多大な励ましをいただきました愛媛大学法文学部山口正弘先生に厚く感謝いたします。

探索行動を通じて環境内の対象物の空間位置関係を相対的にとらえていることを示している。すなわち、環境内に“なにがあるか”についてだけでなく、“どこにあるか”についての情報を探索行動中に獲得していくのである (Renner, 1987; Poucet, Chapuis, Durup, & Thinus-Blanc, 1986)。

環境内の対象物そのものについての情報の処理系と、対象物の空間位置関係に関するいわゆる認知地図的情報の処理系は、それぞれ異なる神経的な基盤をもつことが知られている (O'Keefe & Nadel, 1978)。動物の行動発達の観点から考えると、これら2つの処理系のうち、一方の処理系を必要とする学習課題だけが遂行できる年令があるという報告 (Altman & Bulut, 1976; Rudy, Stadler-Morris, & Albert, 1987; Coulter, 1979) から、これらの2つの情報処理系が異なる神経的基盤をもつだけでなく、それぞれの処理系の神経的成熟の速度が異なり、その結果、認知能力の発達段階に相当する現象を発現させていると考えられる。幼若ラットの物体探索行動は、生後1, 2週間以内のラットではみられないが、16日～24日令のラットでは次第に多くみられ、とくに個体内では19日令から22日令にかけて突然増加する (Nadel, Wilson, & Kurz, 1993)。また、それとほぼ同じ時期 (生後17～23日令) に、モリス型水迷路において、ラットはプラットホームに視覚的手がかりがある場合 (手がかり課題) ではそこに泳ぎ着くことを学習できる。しかし、視覚的手がかりを除いて水面下にプラットホームがある場合 (位置課題) では、20日以降の日令のラットは学習できるが、17日～19日令のラットは学習できない (Rudy et al., 1987; Nadel, 1990)。

モリス型水迷路における手がかり課題と位置課題との間で、学習が可能な日令が異なることは、物体探索行動と発達的に関連が深いと考えられる。すなわち、物体探索行動を通して物体の空間位置関係を獲得できる日令段階になっ

て、はじめて位置学習が可能になると考えられる。したがって、生後17～23日令のラットにおいて、物体探索行動と空間探索行動を検討すると、発達の異なる時期にこれら2つの行動が出現すると仮定できる。おそらく対象物に対する物体探索行動は、17日令頃から出現するが、一方、空間の位置変化に対する空間探索行動は、20日令以後でなければ出現しないであろうと仮定できる。これらの仮説から、本研究では、オープンフィールド内の物体探索行動を通して、生後17日令～23日令のラットの空間探索行動の発達を検討することを目的とした。

方 法

被験体 Sprague-Dawley系ラット96匹 (オス48匹, メス48匹)。出産日を第1日として、17から24日令まで1日令ごとに異なる8群を作った。各群は、それぞれオスメス各6匹計12匹からなる。各群には、5ないしは6リターから原則としてリターあたりオスメス1匹ずつ抽出して割り当てた。交配はペアで行い、出産48時間後にオスを分離した。離乳は、21日令に行った。ラットは、ホームケージ内では水・餌の摂取は自由であり、湿度約50%、温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ の飼育室で飼育された。実験は、昼夜サイクル (8:00～20:00 明 / 20:00～8:00 暗) の暗期 (20:00～23:00) に行われた。

装置 内部を黒く塗装された木製円形オープンフィールド (直径100 cm, 壁面の高さ40 cm)。その四方 (高さ $166 \times 136 \times 146$ cm) をアングルで囲み、オープンフィールド外の環境刺激を均一の状態にするため、白色のカーテンをつるした。さらに装置床上176 cmの高さ2カ所に60 Wの電球を2個設置し、オープンフィールドを照らした。オープンフィールドの真上176 cmにカメラ (ナショナル CCD カメラ) を設置し、ラットの行動はビデオデッキ (ナショナルシステムビデオ 6300) により記録された。対象物刺激として、4つの同一材質の円筒形のガラス瓶 (直径7.3 cm, 高さ8.2 cm) を用い

た。オープンフィールドの一方の壁面に沿って、壁上端から高さ 35 cm、幅 50 cm の黒白の縦じま（幅 2.5 cm）のパネルを 1 枚設置した。

手続き 各日令群のラットは、飼育室内でホームケージから母ラットと実験されないリターメイトを他のケージに移した後に、ホームケージのまま実験室に運ばれてテストされた。仔ラットは、実験開始と同時に実験者により取り出され、オープンフィールド内に入れられた。母ラットから分離されている時間は、約 60 分～90 分であった。ハンドリングは全く行っていない。ラットは、円形オープンフィールド内の中央に 4 方向のうちのどこかに、壁に向けて置かれた。1 日 1 セッションとし、1 セッションは 4 試行とした。各日令群のラットは、その日令に達した日に、1 セッションのオープンフィール

ド内探索を行った。手続きは以下の通りである（Fig. 1 参照）。試行 1：物体探索行動テスト。4 つの対象物を中央付近に正方形に置いた。試行 2：試行 1 と同じ。試行 3：空間探索行動テスト。対象物を 1 つだけ壁面から 10 cm の所へ移動した。試行 4：試行 3 と同じ。1 セッションは約 30 分、試行間隔は 5 分間、試行間間隔は約 3 分間であった。

データの分析 活動量：オープンフィールドを同面積の 16 区画に分け、ビデオテープに記録された行動から、区画横断回数を活動量（locomotor activity）の指標とし、各被験体の各試行における横断回数を計測した。

探索時間：対象物の中央から直径 10 cm 以内（対象物壁面から 1.35 cm 以内）に鼻先が入っている時間を、対象物への探索時間（object exploration time）の指標とし、各被験体について、各試行における各対象物に対しての探索時間（秒）を測定した。さらに、各群において、位置を変えた対象物と位置を変えない対象物への探索時間を別々に平均した。分析は次の 3 点について行った。[1] 馴化：第 1 試行の探索時間と第 4 試行での探索時間の差。第 3 試行で対象物の位置変化が生じるため、新奇な環境内に最初におかれた第 1 試行の平均探索時間と最後の試行である第 4 試行の平均時間の差を検討した。[2] 第 2 試行における平均探索時間：物体探索行動がさかんな第 1 試行を省き、第 2 試行の平均探索時間を空間位置変化前のベースライン試行とし、それと、変化後の第 3 および第 4 試行の平均探索時間を比較することで、空間位置変化に対して探索時間が増加したかどうかを検討することができる。第 2 試行をベースライン試行とできるかどうかを検討するため、第 2 試行において、位置を変えた対象物と位置を変えない 3 個の対象物の間に有意な差がないかどうかを確かめた。[3] 空間位置変化に対する再探索行動：位置を変えた対象物への平均探索時間、位置を変えない 3 個の対象物への平均探索時間のそれぞれにおいて、変化後の平均探索時

Fig. 1 Schematic representation of the apparatus and the objects configuration over successive trials.

間(第3, 4試行)から変化前の平均探索時間(第2試行)をひいた差を, 各被験体ごとに計算した。この差を用いて, 空間位置変化に対する再探索行動を検討した。第3試行と第4試行の探索時間を平均したのは, 第3試行で空間位置変化対象物に対する探索が生じないが第4試行で探索行動を表す個体があったためである。各群の各被験体が, 位置を変えた対象物に対して再探索が生じていれば, この値は正の値になり, 再探索が生じなければ負の値になる。

Fig. 2 Locomotor activity displayed by 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, and 24-day old rats during the session (from Trial 1 to Trial 4), as measured by the mean number of crossing.

結 果

活動量 各群の平均活動量を Fig. 2 に示した。全体として, 試行の進行につれて活動量が低下していた ($F(3, 264) = 37.05, p < .005$)。しかし, 17, 18, 19 日令群の活動量は 4 試行を通じて低水準で, 試行による差はなかった。また, 日令によって活動量がことなることもわかった ($F(7, 88) = 3.52, p < .005$)。下位検定によると, 24 日令群が 18, 19, 20 日令群よりも, 23 日令群が 17 日令群よりも有意に活動量が高かった ($p < .05$)。ただし, これも最初の 2 試行のみで, 3, 4 試行になるとどの群でも活動量に差はみられなかった ($F(21, 264) = 5.16, p < .005$)。第 1 試行では, 17 日令は, 23 日令と 24 日令にくらべると有意に活動量が少ない。また 18 日令と 19 日令は, 24 日令に比べると有意に活動量が少ないことがわかった。

探索時間 各日令群において, 第 1 試行から第 4 試行までの各群の平均探索時間を Table 1 に示した。第 3 試行で位置を変えた対象物(Displaced object; DO)と, 位置を変えない 3 個の対象物(Non-displaced object; NDO)に対する平均探索時間を, 別々に示した。

[1] 馴化: どの日令群においても, 第 4 試行での平均探索時間が第 1 試行での平均探索時間より減少し, 馴化を示した ($F(1, 88) = 4.44$,

Table 1 Mean exploration time (sec $\pm$ SE) per object in each group for Trial 1-4.

AGE	Displaced object				Non-displaced objects			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
DAY17	0.60 $\pm$ 0.62	0.79 $\pm$ 0.73	0.96 $\pm$ 1.18	0.31 $\pm$ 0.47	0.69 $\pm$ 0.48	0.72 $\pm$ 0.41	1.43 $\pm$ 0.95	1.19 $\pm$ 1.16
DAY18	0.86 $\pm$ 1.01	2.71 $\pm$ 1.92	1.77 $\pm$ 1.36	1.31 $\pm$ 1.05	2.78 $\pm$ 1.02	2.76 $\pm$ 1.62	2.07 $\pm$ 1.19	1.56 $\pm$ 1.01
DAY19	0.86 $\pm$ 0.84	1.56 $\pm$ 1.22	1.24 $\pm$ 1.54	0.75 $\pm$ 0.85	1.54 $\pm$ 0.83	0.93 $\pm$ 0.45	1.87 $\pm$ 1.30	1.28 $\pm$ 1.09
DAY20	4.38 $\pm$ 2.48	2.83 $\pm$ 1.77	1.40 $\pm$ 1.30	3.92 $\pm$ 3.02	3.43 $\pm$ 1.57	2.57 $\pm$ 1.27	0.96 $\pm$ 0.71	1.80 $\pm$ 1.21
DAY21	1.35 $\pm$ 1.35	1.20 $\pm$ 1.08	6.21 $\pm$ 5.42	4.66 $\pm$ 3.68	2.49 $\pm$ 1.39	1.25 $\pm$ 0.85	1.89 $\pm$ 1.23	1.60 $\pm$ 0.81
DAY22	3.16 $\pm$ 2.21	2.36 $\pm$ 1.71	3.43 $\pm$ 4.11	4.68 $\pm$ 3.42	4.00 $\pm$ 1.98	2.27 $\pm$ 1.19	0.48 $\pm$ 0.49	0.72 $\pm$ 0.51
DAY23	3.12 $\pm$ 2.00	3.09 $\pm$ 2.23	7.25 $\pm$ 5.50	1.93 $\pm$ 1.56	3.36 $\pm$ 1.95	4.63 $\pm$ 2.82	1.09 $\pm$ 0.57	0.76 $\pm$ 0.58
DAY24	5.79 $\pm$ 2.45	1.90 $\pm$ 1.06	2.38 $\pm$ 2.02	4.11 $\pm$ 3.80	6.79 $\pm$ 2.26	3.50 $\pm$ 1.98	1.65 $\pm$ 1.17	0.92 $\pm$ 1.04

$p < .05$)。[2]第2試行における平均探索時間：第2試行の平均探索時間について分散分析を行った結果、群、対象物、群×対象物の交互作用いずれも有意差は見られなかった。第2試行において、4つの対象物のどれか1つに特に探索を行うという行動傾向は見られなかった。また、群間差も見られなかったことから、第2試行の平均探索時間をベースライン試行とし、第3、4試行の平均探索時間と比較することができることが示された。[3] 空間位置変化に対する再探索行動：Fig. 3に、各群のDOに対する探索時間の差(秒)を示した。また、Fig. 4に各群のNDOに対する探索時間の差(秒)を示した。NDOに比べてDOに対して有意に探索時間が多かった($F(1,88) = 32.62$, $p < .005$)。分散分析を行った結果、群×対象物の交互作用($F(7,88) = 5.34$, $p < .005$)が有意であり、下位検定の結果、21日令から24日令群のラットでは、DOに対して再探索行動を示すが、17日令群から20日令群では再探索行動を示さなかった。また、22日令から24日令群では、NDOに対して有意に再探索行動が減少したが、17日令群から

20日令群では減少しなかった。とくに、21日令では、DOにもNDOにも再探索行動を示すが、DOに対する再探索行動が、NDOにたいする探索行動よりも多かった。

考 察

新奇な環境内にはじめて置かれた第1試行において、17、18、19、20日令のラットでは、24日令に比べて活動量が少なかった結果から、これらの日令のラットでは、運動系の発達が未成熟である可能性が考えられる。しかしながら、オープンフィールド内での観察において16日令のラットは、21日令のラットより歩行や後肢立ちが多く見られるという報告(Bronstein, 1979)、モリス型水迷路において17日令以降では視覚的手がかりのあるプラットフォームへ泳行できるという報告(Rudy et al., 1987)、能動的回避学習において18日令以降ではショックのない場所に移動することができるという報告(Gandelman, 1992)などから、運動系の発達が未成熟であるためだとは考えられない。むしろ、ホームケージ外の新奇恐怖(neophobia)が、活

Fig. 3 Re-exploration for the displaced object (DO). The histogram represents the difference in mean exploration time (sec) for DO between the postchange trials (Trials 3 and 4) and the prechange trial (Trial 2) for each age group.

Fig. 4 Re-exploration for the non-displaced objects (NDO). The histogram represents the difference in mean exploration time (sec) for NDO between the postchange trials (Trials 3 and 4) and the prechange trial (Trial 2) for each age group.

動量を抑制した (Nadel et al., 1993) と考えられる。

23, 24 日令の物体探索行動は、それまでの日令群に比べるとかなり増加する。したがって、活動量の結果とあわせて考えると、活動量と、環境内の新奇な対象物を積極的に探索する行動とは、対応して増加すると考えられる。各日令群の横断的な比較では、23 日令と 24 日令のラットで有意な探索行動の増加が生じることが報告されているが (Nadel et al., 1993), 本実験の結果はこれとも一致する。

探索行動の総量は異なるにもかかわらず、各日令群で馴化を示したことから、20 日令以前の群のラットにおいても探索行動は少ないながらも生じており、探索行動を通じて環境内の対象物についての情報獲得が生じ、その結果、新奇な環境は見慣れた環境に変化したと考えられる。

空間位置変化に対する再探索行動は、21 日令のラットで最も活発に行われ、それ以後の日令群でも生じるが、17~20 日令のラットでは生じない。この差異は、単に物体探索行動が生じなかったかどうかによるのではなく、物体探索行動を通じて“どこにその物体があるか”，すなわち、相対的な空間位置関係についての情報を獲得していたかどうかを反映していると考えられる。本実験において、17~20 日令のラットは物体探索行動を示すが、すでに探索した対象物が位置変化した場合に、それらの対象物の相対的な空間位置関係に対してはあまり注意を払わなかった。ところが、21 日令以後のラットでは、特に位置を変えた対象物に注意し、再探索行動が現れたと考えられる。このような空間探索行動の出現する日令は、モリス型水迷路での位置課題の学習可能日令と一致するだけでなく、オープンフィールドにおいて成体ラットと同様の行動パターンを示す日令 (Bronstein, 1979) とも一致する。位置を変えた対象物に対する探索行動の増加したことは、空間位置を変えない対象物に対して再探索行動が減少した結果とも

対応している。しかしながら、本実験では、21 日令のラットは、位置を変えた対象物と位置を変えない対象物に対する再探索行動がどちらも増加し、しかも位置を変えた対象物に対する探索行動が有意に多いことが示された。21 日令のラットは、22 日令以後のラットのように、空間位置変化した対象物にのみ探索行動を示すのではなく、対象物の空間位置変化にともない対象物全てに対する探索行動を起こしたことを示している。したがって、この行動傾向は、相対的な空間位置関係が不十分にしか獲得されていないため、非選択的に探索行動を示したと考えられる。22 日令以後のラットは、DO のみに選択的に探索行動を起こすことを考えると、21 日令が相対的な空間位置関係を獲得できる臨界期であること (Nadel et al., 1993) を示唆する。

成体ラットにおいて、空間位置探索は、海馬の電氣的損傷により阻害され (Save, Poucet, Buhot, & Foreman, 1992), さらにモリス型水迷路における位置課題学習も海馬損傷により阻害される (Morris, Garrud, Rawlins, & O'keefe, 1982)。海馬損傷によるこのような行動的解離は、幼若ラットにおける神経的発達と空間位置探索行動の出現日令との対応に重要な示唆を与える。すなわち、20 日令以前では海馬の神経発達が未成熟であることが、空間探索行動が発現しないことと関連があると考えられる。神経学的な研究から、ラットの海馬の歯状回の顆粒細胞は、生後 16 日令頃に約 87% に達し (Altman & Bayer, 1975), また歯状回の分子層のシナプスは 11~25 日令の間に形成される (Crain, Cotman, Tayler, & Lynch, 1973) ことが明らかになっている。このような海馬、特に歯状回の神経発達は、この時期に現れる行動の発達のな変化と対応すると予測される。また、ラットのコリン作動系は、18 日令から 21 日令頃に成熟し、コリン作動系を阻害するスコポラミン投与による受動的回避学習への影響は、18 日令以後でなければ示されない (Gandelman, 1992)。とくに、受動的回避学習においては海馬における

コリン作動系の関与が示されている (Brozovski & Hennocq, 1982)。本実験による空間探索行動の発達的变化は、これらの海馬における神経成熟や生化学的な成熟期と対応するものと考えられる。

要 約

本研究では、対象物に対する鼻先接触行動を探索行動の指標とし、生後 17 日～24 日令までの Sprague-Dawley 系ラット (96 匹) の物体探索行動と空間探索行動の発達の変化を横断的に検討した。すなわち、各日令のラットを、4 つの対象物を正形状に配置した 16 区画に分割された木製円形オープンフィールド内に入れ、対象物に対する探索行動を観察した。区画を横断する数により活動量を測定した。また、対象物の一つを移動してその対象物に対する探索時間により、空間探索行動を測定した。物体探索行動は、23, 24 日令ではそれまでの日令群に比べるとかなり増加し、活動量の増加に対応して生じる。物体探索が少ない低日令であっても、馴化は生じていた。空間位置変化にともなう再探索行動は、21 日令をピークとしてそれ以後も生じるが、17～20 日令では生じない。この差異は、物体探索行動が生じなかったかどうかではなく、物体探索行動を通じて物体の位置の情報の獲得を反映していると考えられる。

これらの所見から、物体探索行動は空間探索行動に先行して発現し、空間探索行動の発現は生後 21 日令頃であることが示された。これらの結果は、ラットにおける空間探索行動の発達と脳の特定の部位 (海馬) の神経発達との対応を示唆するものと考えられる。

REFERENCES

Altman, J., & Bayer, S. 1975 Postnatal development of the hippocampal dentate gyrus under normal and experimental conditions. In R. L. Isaacson & K. H. Pribram (Eds.), *The hippocampus: Structure and development*.

(Vol. 1). New York: Plenum Press. Pp. 95-122.

Altman, J., & Bulut, F. G. 1976 Organic maturation and the development of learning capacity. In M. R. Rosenzweig & E.L. Bennett (Eds.), *Neural mechanisms of learning and memory*. Cambridge, Mass.: MIT Press. Pp. 236-252.

Bronstein, P. M., 1979 The stimulus control of locomotor persistence in rat pups. In N. E. Spear & B. A. Campbell (Eds.), *Ontogeny of learning and memory*. Hillsdale, N. J.: Lawrence Erlbaum Associates, Publisher. Pp. 57-66.

Brozovski, D., & Hennocq, N. 1982 Effects of antimuscarinic cholinergic drugs injected systemically or into the hippocampal-entorhinal area upon passive avoidance learning in young rats. *Psychopharmacology*, **76**, 351-358.

Crain, B., Cotman, C., Tayler, D., & Lynch, G. 1973 A quantitative electron microscopic study of synaptogenesis in the dentate gyrus of the rat. *Brain Research*, **63**, 195-204.

Coulter, X. 1979 The determinants of infantile amnesia. In N. E. Spear & B. A. Campbell (Eds.), *Ontogeny of learning and memory*. Hillsdale, N. J.: Lawrence Erlbaum Associates, Publisher. Pp. 245-270.

Dai, H., & Carey, R. J. 1994 The NMDA antagonist MK-801 can impair attention to exteroceptive stimuli. *Behavioral Brain Research*, **62**, 149-156.

Gandelman, R. 1992 *Psychobiology of behavioral development*. New York: Oxford University Press.

Morris, R. G. M., Garrud, P., Rawlins, J. N. M., & O'Keefe, J. 1982 Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, **297**, 681-683.

- Nadel, L. 1990 Varieties of spatial cognition : Psychobiological consideration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **608**, 613-636.
- Nadel, L., Wilson, L., & Kurz, E. M. 1993 Hippocampus : Effects of alterations in timing of development. In G. Turkewitz & D. A. Devenny (Eds.), *Developmental time and timing*. Hillsdale, N. J. : Lawrence Erlbaum Associates, Publishers. Pp, 233-252.
- O'Keefe, J. & Nadel, L. 1978 The hippocampus as a cognitive map. Oxford, England : Clarendon Press.
- Poucet, B. 1989 Object explorations, habituations, and response to spatial change in rats following septal or medial frontal cortical damage. *Behavioral Neuroscience*, **103**, 1009-1016.
- Poucet, B., Chapuis, N., Durup, M., & Thinus-Blanc, C. 1986 A study of exploratory behavior as an index of spatial knowledge in hamsters. *Animal Learning and Behavior* **14**, 93-100.
- Renner, M. J. 1987 Experience-dependent changes in exploratory behavior in the adult rat (*Rattus Norvegicus*): Overall activity level and interaction with objects. *Journal of Comparative Psychology*, **101**, 94-100.
- Rudy, J. W., Stadler-Morris, S., & Albert, P. 1987 Ontogeny of spatial navigation behavior in the rats : Dissociation of "proximal"-and "distal"-cue-based behaviors. *Behavioral Neuroscience*, **101**, 62-73.
- Save, E., Poucet, B., Buhot, M.-C., & Foreman, N. 1992 Object Exploration and reaction to spatial and nonspatial changes in hooded rats following damage to parietal cortex or hippocampal formation. *Behavioral Neuroscience*, **106**, 447-456.

(1995.9.20 受稿, 1996.6.4 受理)