ラットの時間弁別行動に与える海馬採-脳弓損傷の効果¹

同志社大学² 畑敏道³・岡市広成

Effects of fimbria-fornix lesion on the temporal discrimination revealed by peak interval procedure in rats

Toshimichi Hata and Hiroshige Okaichi (Department of Psychology, Faculty of Letters, Doshisha University, Karasuma Imadegawa, Kamigyo-ku, Kyoto 602-8580)

When temporal discrimination is examined by a peak interval (PI) procedure in rats, a shortening of peak time is induced by the fimbria-fornix (FF) lesion. The aim of this research is to investigate the extent of peak time shortening induced by FF lesion and the acquisition process of temporal discrimination. In FF lesioned rats, the peak time was very short (about 13 sec) in earlier phase, then became longer as the training progressed and reached a steady level, which was approximately 20% shorter than control rats. These results suggest that the "non-timing process" is involved in addition to the "timing process" in FF lesioned rats.

Key words: peak interval procedure, fimbria-fornix lesion, rats.

ピークインターバル (peak interval; 以下PIと記述) 手続き (Roberts, 1981) は、動物の時間弁別研究において広く用いられている課題である。この手続きでは、離散試行型 (discrete trial) のFIスケジュールでの訓練中に、無強化試行をある割合で挿入する。無強化試行ではいずれの反応にも強化が与えられず、FI設定時間を超えても一定期間試行が継続する。無強化試行での反応率を試行開始からの経過時間の関数として分布させると、反応率は試行開始後徐々に増加し、設定時間付近で最大となり、その後減少する。反応率が最大となる時点をピークタイムと呼ぶ。

Meck, Church, & Olton (1984) や Meck (1988) は、FI設定時間が20秒であるPI20秒の獲得における海馬損傷の効果について検討した。その結果、海馬採-脳弓 (FF) 損傷群は、統制群と同様に釣鐘型の反応率分布を示したが、その分布は全体に小さな時間値のほうに偏り、ピークタイムも統制群より約20%早い時点にあらわれた。また、FI設定時間が異なる課題 (PI40秒) の保持においても短縮の程度は約20%であることが報告されている (Olton, Meck, & Church,

1987)。これらの結果は、獲得・保持の違いやFI設定時間にはかかわらず、FF損傷によって約20%のピークタイムの短縮が生じることを示唆している。

ところで、Meck, Church, Wenk, & Olton (1987) は、海馬に投射する多くの線維連絡をもつ内側中隔を損傷したラットでは、PI40秒の保持課題において、約10%のピークタイムの短縮しか生じないことを報告した。短縮の程度が獲得・保持の違いやFI設定時間にはかかわらないとすれば、これらの相違は、損傷部位によってピークタイムの短縮の程度が異なることを示唆している。そしてこの相違は、測時行動における内側中隔と海馬との機能分化を示唆しており、PI手続きが両部位の心理学的な機能を分離するための有効な課題となりうることを示している。

一方、関口 (1990) もPI20秒の獲得に与える海馬損傷の効果について検討し、FF損傷ラットのピークタイムが統制群よりも早い時間にあらわれると報告したが、その値は統制群よりも約7%短いだけであった。これは、内側中隔損傷の場合 (Meck et al., 1987) よりもさらに小さい値である。損傷部位によってピークタイムの短縮の程度が異なるか否かについて論じるには、ある部位の損傷によってどの程度の短縮が生じるのかについての一貫した結果が必要であるが、FF損傷ラットについてはそのような一貫性が得られていない。

¹ 本研究の一部は第60回日本心理学会 (立教大学) で発表された。

² 現所属：畑 敏道は日本学術振興会 (同志社大学)。

³ 本研究の実施にあたって大畑素郎氏の協力を得ました。記して感謝します。

また、従来の研究 (Meck et al., 1984; Meck, 1988) では、実験者が任意に定めた訓練の最終段階での成績を比較しており、獲得過程については示していない。このため、統制群と FF 損傷群とのピークタイムの差が長期間訓練することによって生じたのか、あるいは訓練当初から生じていたのかについては明らかでない。また、FF 損傷ラットが統制ラットと同様の速さで時間弁別を形成できるか否かについても明らかではない。

以上のように、FF 損傷によって生じるピークタイムの短縮がどの程度であるのかについて十分に明らかにされたとはいいがたい。また、従来の研究では時間弁別の獲得過程について、FF 損傷ラットと統制ラットとの比較がなされてこなかった。本研究では、ピークタイムが FF 損傷によって短縮する程度について、特に弁別の獲得過程を含めて検討することを目的としている。

方 法

被験体

実験経験のない約 3 か月齢の Wistar 系アルビノラットの雄 17 匹を被験体とし、個別ケージで飼育した。飼育室の温度は $23 \pm 1^\circ\text{C}$ に維持し、明期・暗期の開始時刻はそれぞれ 7:00 と 19:00 であった。被験体は体重でカウンターバランスし、FF 損傷群 (以下 FF 群; $n=8$)、手術統制群 (以下 Sham 群; $n=4$)、無手術統制群 (以下 Intact 群; $n=5$) に割り当てた。実験期間中の体重は自由摂食時の 85% を維持した。

装 置

オペラント箱 ($220 \times 235 \times 235$ mm) を防音箱内に設置した。オペラント箱の床面にはステンレス製の棒 (直径 4 mm) を 15 mm 間隔で敷設した。床面から 40 mm の高さに設置された引込式レバー (Gerbrands corporation 製 model G6311) を押し下げることによって、フードディスペンサー (Gerbrands corporation 製 model G5120) から餌皿に 45 mg の強化用ペレット (A Holton Industries 社製 Results) が 1 粒供給された。レバー押し反応は 0.1 秒単位で記録したが、直前の反応から 0.4 秒未満に生じた反応は記録しなかった。防音箱内は 25 W の白熱球によって常に照明し、ファンで換気を行った。天井にはブザーを設置した。実験の制御と記録にはオムロン社製 SYSMAC・C40P および日本アセンブラ社製タイマーボードを組み込んだ NEC 社製パーソナルコンピュータ PC-9801DS および同 BX3 を用いた。

手続き

手術および組織学的方法 FF 群および Sham 群の

ラットを sodium pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) により麻酔し、atropine sulfate (0.1 ml, i.p.) を投与した後、脳定位固定装置 (David Kopf 社製) に固定した。FF 群のラットには損傷用電極を bregma より AP-2.1 mm, ML ± 1.2 mm と ± 2.7 mm, 硬膜面より DV-3.8 mm の 4 点に刺入し、脳損傷装置 (Radionics 社製, model RFG-4) によって電極に通電し、先端温度を 56°C で 60 秒間保ち、損傷した。Sham 群のラットにも FF 群のラットと同じ部位に電極を刺入したが、通電せずに 60 秒間保った。実験終了後、FF 群のラットは sodium pentobarbital による深麻酔下におき、心臓血管系を 10% ホルマリンで灌流し、脳を摘出した。脳を 10% ホルマリンに 24 時間、次いで 10% ゼラチン液に 24 時間以上浸し、滑走式電気冷凍ミクロトームを用いて 40 μm の冠状切片を得、ニッスル染色法によって染色し、標本を作成した後、光学顕微鏡下で損傷部位を同定した。

行動学的方法

前訓練：装置への馴致およびレバー押し反応を獲得させるために、本訓練開始前に前訓練を行った。前訓練は、連続強化スケジュールで 60 回のレバー押し反応が生起するまで、あるいは訓練開始から 30 分経過するまでを 1 セッションとした。30 分以内に 60 回のレバー押し反応が 3 セッション連続することを基準に本訓練に移行した。

本訓練：各ラットごとに以下に述べる PI 20 スケジュールで 1 日 1 セッション・25 日間の訓練を行った。オペラント箱にラットを入れてから 10 秒後にセッションを開始した。すべての試行は、信号刺激 (2 440 Hz, 80 dB のブザー音) の提示と同時に引込式レバーをオペラント箱内に挿入することによって開始された。本訓練セッションは、強化試行と無強化試行からなる。強化試行 (計 42 試行) では、試行開始から 20 秒経過後の最初の反応に対してのみペレットが与えられ、それと同時にブザー音が終了し、レバーが引き込まれ、試行間間隔に移行した (離散試行型の FI スケジュール)。無強化試行 (計 18 試行) でも強化試行と同様に試行が開始されたが、ブザー音とレバーの提示は試行開始から 60 秒間継続され、この試行中の反応にはペレットは与えられなかった。60 秒経過後ブザー音の終了とともに、レバーが引き込まれ、試行間間隔に移行した。この 2 種類の試行が 7:3 の割合で出現する連続 10 試行の試行提示順序のパターンを 6 種類作成し、この 6 パターンを 25 日間の各セッションごとにランダムな順序で割り当てることによって、強化試行と無強化試行との提示順序を疑似ランダムになるように操作した。また、各セッションの最初の試行は常に強化試行とした。試行間間隔は 50 $\pm$ 10 秒の範囲でランダムに変化した。

データの処理：各セッションの無強化試行のうち、

はじめの3試行を除いた15試行のデータを分析に用いた。無強化試行を試行開始からの経過時間によって0-3秒、1-4秒と1秒ずつずれる3秒間隔の期間(bin)に分けた。1試行中のbinの数は0-3秒に始まり、1-4秒、2-5秒、57-60秒までの58個となる。各binでの反応数を個体ごとに1セッション15試行分合計し、そのbinでの合計反応数を求め、式(1)によって毎分当りの単位反応数に換算した。

$$\text{各 bin での単位反応数} = \frac{\text{各 bin での反応数}}{3(\text{s})} \times 60(\text{s}) \quad (1)$$

次に、個体ごとの反応数の違いを相殺するために、式(2)によって個体ごとの最大の単位反応数を100%とする各binでの反応率を求めた。

$$\text{各 bin での反応率} = \frac{\text{各 bin の単位反応数}}{\text{最大単位反応数}} \times 100 \quad (2)$$

弁別指標(DI)：反応率をもとに、式(3)により、弁別指標(discrimination index; 以下DI)を求めた。

$$\text{1セッションの弁別指標} = \frac{100(\%)}{58 \text{ 個の bin の反応率の平均}} \quad (3)$$

この指標の値が大きくなればなるほど、尖度が大きくなり、より時間弁別がなされていることを示す(Meck & Church, 1987)。結果の分析には5セッションを1ブロックとした被験体ごとの平均DI値を用いた。

ピークタイム：反応率をもとに、5セッションを1ブロックとして被験体ごとに各binの平均反応率を求めた。この値が最大となるbinの中央の時間値(たとえば19-22秒のbinでは20.5秒)をそのブロックでのピークタイムとした。

結 果

組織学的結果

損傷が最も吻側部まで及んでいたものと最も尾側部に及んでいたものの損傷例を、König & Klippel (1967)を改訂した脳地図上で検索し、Figure 1に示した。海馬采-脳弓損傷群ではすべてのラットで海馬采-脳弓から背側海馬にかけて損傷されていた。最も吻側では外側中隔の後部にまで損傷が及んでいたが、内側中隔は損傷されていなかった。海馬以外では、新皮質、脳梁交連、視床背側部、髄条および分界条の一部も損傷されていた。また、ラットによっては側脳室の拡大が認められた。

行動学的結果

Sham群の1匹の被験体については他のIntact群およびSham群のラットと比較して、反応率分布全体が横軸方向で大きな値の方にずれ、試行後半の反応率の減少も他と比較して小さいなど、他のラットの遂行とは著しく異なっていたため、結果の分析から除外した。これによってSham群の被験体数は3匹となった。Sham群とIntact群の反応率分布には顕著な違いが認められなかったため、以下の分析では両群を含めて統制群(以下Cont群と記述)とした。統計的検定

Figure 1. Representative lesion samples in animals with an FF lesion (■ represents the case that was lesioned most rostrally, and □ represents the case that was lesioned most caudally).

Figure 2. Distribution of mean response rate as a function of elapsed time from the start of non-food trials.

4 分母は各binの秒数である。第一のbinについては引込式レバーが挿入されるまでの時間を考慮し、分母を2.7とした。

の有意水準はすべて5%とした。

反応率 Figure 2に、試行開始からの経過時間の関数として、第1ブロックと第5ブロックでの群別の平均反応率を示す。Cont群では、第1ブロックから第5ブロックにかけて分布の尖度が大きくなったが、ピークの移動は認められなかった。一方FF群では、第5ブロックの分布の尖度が大きくなったことに加えて、第1ブロックのピークが第5ブロックよりも横軸方向で小さな値の方にあらわれた。

DI Figure 3に、群別の平均DI値を示す。反応率分布の尖度が大きいほどDI値が大きくなることから、DI値が大きいほど時間弁別がよくなることを意味する。両群とも第1ブロックの約1.5から第3ブロックで約2.3に達し、その後第5ブロックまでその水準が維持された。群を被験体間、訓練ブロックを被験体内要因とする分散分析の結果、訓練ブロックの主効果 ($F(4, 56)=39.52$) のみが有意であった。

ピークタイム Figure 4に、群別の平均ピークタイ

Figure 3. Mean DI value as a function of training session for Cont and FF groups.

Figure 4. Mean peak time as a function of training session for Cont and FF groups.

ムを示す。Cont群では、19.5秒から21.5秒でほぼ変化しなかった。一方FF群では、第2ブロックまでは13.0秒程度であったが、第3ブロック以降17.0秒へと大きく変化した。分散分析の結果、群 ($F(1, 14)=12.84$) と訓練ブロック ($F(4, 56)=3.43$) の両主効果が有意であったが、交互作用は認められなかった。

ピークタイムに対する反応率分布 第5ブロックの反応率分布の横軸を、各群のピークタイムに対する試行開始からの経過時間の割合に変換し、Figure 5に示した。すなわち、各群のピークタイム (Cont群では21.1秒、FF群では17.5秒) を1.0とすれば、横軸の上限とした2.0はCont群では42.2秒、FF群では35.0秒に相当する。通常、このような変換を行えば、異なったFI設定時間で訓練し、異なったピークタイムと分散をもつ正常ラットの反応率分布を、ほぼ等しい分布として再プロットすることができる (考察も参照)。したがって、異なったピークタイムと分散をもつCont群とFF群の反応率分布がほぼ重ね合わされるならば、両群がそれぞれ異なったFI設定時間で訓練を行っているのと等しい状態にあると結論するための有力な必要条件の一つが満たされることになる。Cont群ではピークタイムを中心にほとんど左右対称な反応率分布となった。一方FF群では、ピークタイム以前の反応率がCont群に比べて大きかった。

考 察

FF群の反応率分布は、Cont群と同様に、釣鐘型を示し、分布の尖度は訓練にともなって大きくな

Figure 5. Distribution of mean response rate as a function of relative ratio to the mean peak time. The ratio of 1.0 corresponds to 21.2 s. and 17.5 s. for Cont group and FF group respectively. Hence, 2.0 corresponds to 42.2 s., and 35.0 s., respectively. According to scalar expectancy theory (Gibbon, 1977), through the above translation, the distributions of response rate taken from different FI requirement can be superimposed as almost the same distribution.

た。また、FF 群の DI 値は訓練の進行にともなって Cont 群と同様に上昇した。これらのことは、FF 群のラットも時間弁別行動を獲得することができることを示している。しかし、両群のピークタイムが安定した第3ブロック以降、FF 群のピークタイムは Cont 群に比べて約4秒、すなわち約20%短い値となった。DI 値は両群で同様の変化を示していることから、両群の時間弁別の程度には差がないと考えられる。したがって第3ブロック以降の両群のピークタイムの差は、弁別成績の違いによって二次的に生じたものではないことを示唆している。また、弁別の獲得過程においても、両群のピークタイムに違いが認められた。すなわち、Cont 群ではブロックを通じて約20–22秒であったが、FF 群では、第2ブロックまでは約13秒であり、第3ブロック以降に約17秒で安定した。この値は Cont 群よりも約20%小さな値であり、Meckらの結果に近い。関口(1990)では約7%であったが、統制群・海馬損傷群で被験体数が各2匹と少なく、標本誤差の成分が大きいかとは否めないであろう。FF 群の弁別の獲得過程について、以下に考察する。

FF 群は、Cont 群と比較して以下の2点において異なっていた。第一の相違点は、ピークタイムが第2ブロックまでは約13秒であり、第3ブロック以降に約17秒で安定したことである。このような推移は、Cont 群と同様の時間弁別の獲得過程に加えて、次のような過程を考えることによって説明されうる。Gibbon (1977) のスカラー期待理論 (scalar expectancy theory) によると、PI 手続きでは、ピークタイムと反応率分布の標準偏差の比が一定となる。そしてこの関係が成り立つ場合、ピークタイムのあらわれた時点を基準とする割合で反応率分布をプロットすると、たとえ異なった FI 設定時間で異なったピークタイムが得られたとしても、通常分布はほぼ重ね合わせられる。しかし Figure 5 に示したように、FF 群では試行開始から0.5まで（つまりピークタイムまでの時間経過の半分の時間経過）の反応率が Cont 群よりも大きかった。これは通常の PI 手続きによる時間弁別行動にはみられない現象であり、他の何らかの過程が FF 群の反応に影響しているものと考えられる。

海馬損傷動物では、活動性が増大すると報告されている (Douglas, 1967; Kimble, 1968)。FF 群にみられた通常の反応率分布からの逸脱は、損傷によって生じた活動性の昂進が、レバーへの反応傾向の増加としてあらわれることによって生じた可能性がある。このようなレバーへの反応傾向の増大は、本課題でどのような行動に反映されるのだろうか。Wearden (1985) は、FI スケジュールの FI 設定時間と強化後休止 (post reinforcement pause) との関係について論じ、通常の FI スケジュールでは、強化後休止が“測時に

よる過程 (timing process)”か“測時によらない過程 (non-timing process)”のどちらかによって終了すると主張した。ここで“測時によらない過程”とは、単に反応を開始する傾向のことを指す。通常の FI スケジュールでの強化後休止の終了は、離散試行型の FI スケジュールでは、各試行での初発反応時間に相当すると考えられる。もし海馬損傷によってレバーへの反応傾向が増大したならば、それは“測時によらない過程”によって生起させられた反応であるといえる。これらのことから、FF 群の第1・第2ブロックでのピークタイムは、主に“測時によらない過程”によって生じた反応の開始傾向を反映しており、第3ブロック以降では時間弁別が形式されてきたことを受けて、“測時による過程”が顕著にみられるようになったことを反映していると考えられる。

第二の相違点は、ピークタイムが安定した段階では、FF 群は Cont 群よりも約20%小さな値となったことである。時間弁別行動を説明するための有力なモデルである情報処理モデル (Gibbon & Church, 1984; Church, Meck & Gibbon, 1994) では、このような結果を、参照記憶に貯蔵された基準となる時間値がより小さくなることによって時程が過大評価されたと解釈している (Meck, 1988)。しかし前述のように、FF 群では最終ブロックにおいても、“測時によらない過程”によって生じた反応が持続している可能性がある。この過程によって生じた反応は、ピークタイムを短縮させるような性質をもつ可能性がある。したがって、FF 群におけるピークタイムの短縮が、従来議論されてきたように、参照記憶としての時間値が小さくなったために生じた時程の過大評価を反映していると結論するには、“測時によらない過程”が持続していないこと、あるいは持続していてもピークタイムの短縮には影響しないことを確認する必要がある。

要 約

本研究の目的は、PI 手続きでのピークタイムの短縮に与える FF 損傷の効果の程度について、特に弁別獲得過程を含めて検討することである。その結果、1) FF 群のピークタイムは訓練当初には約13秒と短い、訓練にともなって長くなること、2) 最終的に統制群より約20%小さな値で安定することが明らかになった。これらの結果は、FF 損傷によって、従来議論されてきた“測時による過程”に加えて、“測時によらない過程”に媒介された反応が多くなったことによって生じた可能性があることを示唆している。

引用文献

Church, R. M., Meck, W. H., & Gibbon, J. 1994
Application of scalar timing theory to individual

- trials. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, **20**, 135-155.
- Douglas, R. J. 1967 The hippocampus and behavior. *Psychological Bulletin*, **67**, 416-442.
- Gibbon, J. 1977 Scalar expectancy theory and Weber's law in animal timing. *Psychological Review*, **84**, 279-325.
- Gibbon, J., & Church, R. M. 1984 Sources of variance in an information processing theory of timing. In H. L. Roitblat, T. G. Bever, & H. S. Terrace (Eds.), *Animal cognition*. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates. Pp. 465-488.
- Kimble, D. P. 1968 Hippocampus and internal inhibition. *Psychological Bulletin*, **70**, 285-295.
- König, J. F. R., & Klippel, R. A. 1967 *The rat brain*. New York: Robert, E. Krieger Publishing Co. Inc.
- Meck, W. H. 1988 Hippocampal function is required for feedback control of an internal clock's criterion. *Behavioral Neuroscience*, **102**, 54-60.
- Meck, W. H., Church, R. M., & Olton, D. S. 1984 Hippocampus, time, and memory. *Behavioral Neuroscience*, **98**, 3-22.
- Meck, W. H., & Church, R. M. 1987 Cholinergic modulation of the content of temporal memory. *Behavioral Neuroscience*, **101**, 457-464.
- Meck, W. H., Church, R. M., Wenk, G. L., & Olton, D. S. 1987 Nucleus basalis magnocellularis and medial septal area lesions differentially impair temporal memory. *Journal of Neuroscience*, **7**, 3505-3511.
- Olton, D. S., Meck, W. H., & Church, R. M. 1987 Separation of hippocampal and amygdaloid involvement in temporal memory dysfunctions. *Brain Research*, **404**, 180-188.
- Roberts, S. 1981 Isolation of internal clock. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, **7**, 242-268.
- 関口理久子 1990 ピーク法を用いた時間情報の記憶について——適応過程における目標指向性と文脈依存性—— 昭和 62, 63, 平成 1 年度科学研究費補助金 (一般 A)・研究成果報告書 181-194.
- Wearden, J. H. 1985 The power law and Weber's law in fixed-interval postreinforcement pausing: A scalar timing model. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, **37B**, 191-211.

——1997. 7. 1 受稿, 1998. 3. 14 受理——