

ラットにおけるモーション・ラインを用いた 方向弁別課題の予備的検討

飯尾優一郎・坂田 省吾

広島大学大学院総合科学研究科

Preliminary Study of Direction Discrimination Task Using Motion Lines in Rats

Yuichirou IIO and Shogo SAKATA

Graduate School of Integrated Arts and Sciences, Hiroshima University

Abstract: Motion lines (MLs) are an effective technic for illustrating dynamic events such as fast movement of an object in a still picture. This study explored whether MLs have the same effect for human and animals. First, we had a task to discriminate the motion direction of circles using touchscreen method in rats. After rats showed high performance of direction discrimination, we tested with MLs probe stimulus. Only one rat showed good results in direction discrimination; however, its performance in MLs probe showed chance level. Second, we trained another group of rats to discriminate the direction of MLs stimulus. Two rats achieved learning criterion in MLs direction discrimination. Then we tested the probe of moving directions, the results showed only chance level performance. These results of this study suggest that we should conduct discrimination task with easily stimulus.

Keywords: motion lines, direction discrimination, rats

序論

モーション・ラインとは絵画で用いられる動きの速さの表現方法である。モーション・ラインは日本語ではスピード線とも表現される。ヒトにおいてはマンガ等で日常的に見受けられる表現であり、ヒトはこれらを容易に理解できる (Kawabe & Miura, 2006; Kawabe & Miura, 2008)。実験的には動きが見えるか見えないかを言語的に回答してもらうことによって、どの程度の速さの動きの知覚が生じるのかを検討することができる。モーション・ラインの長さを長くすると速く動いているように見え、モーション・ラインが短いとゆっくりと動いているように感じられる (Kawabe & Miura, 2008)。

動物においてはこのようなモーション・ラインによる動きの知覚が生じるのであろうか？また、動きの速い-遅いの区別ができるのであろうか？チンパンジーの先行研究では、スピード線の長さや本数を操作することによって運動方向知覚にどのような影響を及ぼすか検討したところ、スピード線の本数の効果は顕著ではなく、長さの効果の

みが強く認められたと報告されている (Tomonaga, 2011)。

ラットは、近年のタッチスクリーンを用いた研究手法の普及に伴い視覚研究に使用されることが増えている実験動物の一種である。これまでの研究では、2次元の図形弁別 (Cook, Geller, Zhang, & Gowda, 2004; Bussey, Padain, Skillings, Winters, Morton, & Saksida, 2008) や画像弁別 (Bussey et al., 2008; Winters, Bartko, Saksida, & Bussey, 2010; Petruno, Clark, & Reinagel, 2013), 格子の傾斜の弁別 (Petruno et al., 2013), ディスプレイ全体を運動するドットの運動方向弁別 (Reinagel, 2013; Petruno et al., 2013) など、様々な視覚課題に対して十分なパフォーマンスを発揮することが示されている。また、比較的高次の視覚機能である3次元図形に対する物体認知の恒常性を有することも明らかにされている (Zoccolan, Oertelt, DiCarlo, & Cox, 2009)。以上のことから、ラットも視覚研究の動物モデルとして十分有用である可能性が示唆されている。もし、ラットもヒトと同様にモーション・ラインから運動を知覚することができるのであれば、視覚研究の動物モデルとしてのラットのさらなる有用性を提起することができるだろう。これまでラットにおいて運動する刺激の方向弁別ができたとする報告は非常に少なく、ディスプレイ画面上のランダムドットが全体としてどの方向に動くかを弁別した報告がされている程度である (Reinagel, 2013)。

本研究ではラットにディスプレイ画面上に表示される左右への運動方向の弁別課題を学習させて、方向弁別学習成立後にモーション・ラインを提示したときに、ヒトと同様の知覚が生じるのかを検討することを目的とする。研究の方向性としてはディスプレイ画面上に表示される白色円刺激の運動方向弁別を学習させた後に、静止画のモーション・ライン刺激を提示して、同じ左右方向の弁別反応が生じるのかを検討した。

また、逆方向の学習として、静止画のモーション・ライン刺激の方向弁別を学習させた後に、実際に動く白色円刺激の方向弁別反応を求めた。以下、モーション・ラインをMLsとして表示する。

方法

被験体

雄のLong-Evans系ラット12匹を用いた。すべての個体は広島大学内の実験動物施設内で出産・生育され、実験の訓練開始時点で約4～6か月齢であった。実験動物飼育施設内は、室温・湿度が管理され、12時間の明暗サイクル (明期は08:00～20:00) が保たれていた。実験期間中は個別のケージで飼育され、体重が自由摂食時の85-90%となるように食餌制限された。水は自由摂取であった。訓練及び実験はすべて明期に行われた。本実験は広島大学動物実験委員会の承認を得て行われた。

装置

実験には、Figure 1に示したようなタッチスクリーンを取り付けた1レバーのオペラントボックス (260 × 300 × 250 mm, ENV-007CT, Med Associates Inc.) を用いた。赤外線式のタッチスクリーン (株式会社イーアイティー) はコンピュータディスプレイに装着され、オペラントボックスの短辺側の壁を取り外すことで設置した。タッチスクリーンの対面の壁には、床から高さ15 cmの位置に格納式のレバーを設置した。その上部にハウスライト (28 V, 0.5 W) とスピーカー (2000 Hz, 75 dB) を、下部には強化子の45 mgペレット餌 (Dustless Precision Pellets, Bio-Serv) を与えるための餌皿を設置した。また、天井には、ハウス



Figure 1. 本実験に用いたオペラント箱とタッチスクリーンを装着したディスプレイ。

ライトが消灯している期間のラットの行動を把握するために赤色ライト（100 V, 5 W）を設置した。オペラントボックスは換気扇の付いた恒温槽内に置かれ、実験の様子は恒温槽内のモニターカメラによって観察された。実験装置の制御及び反応の記録は恒温槽の外部に設置されたコンピュータ（MT7500, EPSON）よりMATLAB7.1（MathWorks）を使用して行われた。

刺激

方向弁別刺激

ディスプレイ画面上に、10 cm/sで左右のどちらかに運動する20個の白色円刺激（Figure 2）もしくはMLsを伴う20個の白色円刺激画像（Figure 3）の2種類を提示した。各円刺激の直径は1 cmであった。刺激に用いられたMLsは、約0.1 × 2.0 cmの平行な線3本から構成されており、各線の間隔は0.2 cmであった。6匹のラットに対しては前者の刺激で方向弁別課題の学習が行われ（運動刺激学習群）、別の6匹のラットに対しては後者のMLs刺激で方向弁別課題の学習が行われた（MLs刺激学習群）。

プローブ刺激

プローブ課題では、方向弁別課題で経験した学

習刺激の他に、これまでにラットが経験したことのない4種類の刺激をプローブ刺激として導入した。運動刺激学習群に対しては、方向弁別刺激である10 cm/sで左右のどちらかに運動する20個の白色円刺激に加え、プローブ刺激①としてMLs刺激学習群に対して学習課題で使用されたMLsを伴う20個の白色円刺激画像を用い、反対にMLs刺激学習群に対しては方向弁別刺激であるMLs画像刺激に加え、プローブ刺激①として運動刺激学習群に対して方向弁別課題で使用された運動刺激を用いた。プローブ刺激②、③、④は両学習群で同一の刺激が使用され、プローブ刺激②として、MLsを伴う20個の白色円刺激画像を1フレーム100msの動画として提示するMLs動画刺激、プローブ刺激③として、20個の白色円刺激の左右に半分長のMLsを伴った画像刺激（Figure 4）、プローブ刺激④として、MLsを伴わない白色円刺激（Figure 5）を用いた。

各刺激の提示比率は、学習刺激が96試行（約73%）、プローブ刺激①と②が各16試行（約12%）、プローブ刺激③と④が各2試行（約1.5%）であった。各セッションの最初の10試行は必ず学習刺激が提示され、プローブ試行が2試行連続で提示されることはなかった。

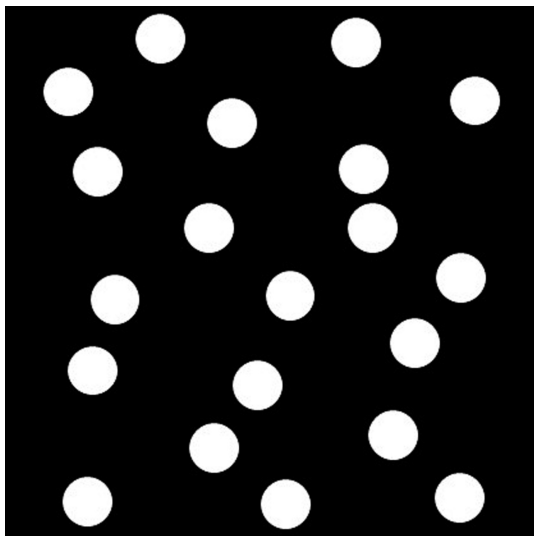


Figure 2. 方向弁別課題でディスプレイ画面上に提示された20個の白色円刺激。この白色円刺激が10 cm/sで左右のどちらかの方向に運動した。

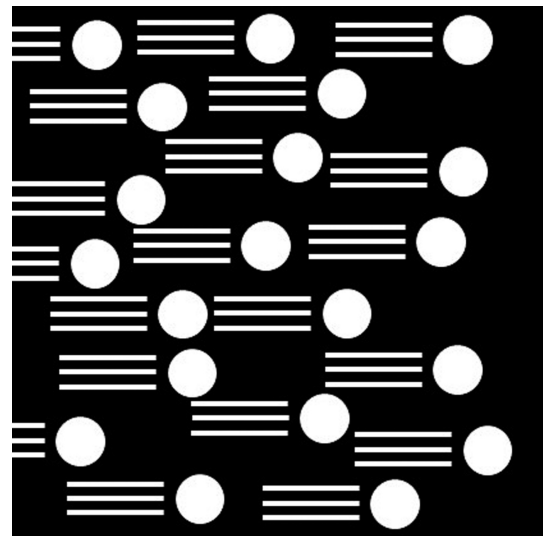


Figure 3. 運動刺激学習群に対してプローブ刺激として用いたプローブ刺激①。右方向の刺激例。プローブ刺激②はこの図が1フレーム100msの動画として提示されたMLs動画刺激。

手続き

実験箱馴化, タッチスクリーン反応形成, レバー反応形成, 明暗弁別課題を行った後に, 運動刺激及びMLs画像刺激を用いた方向弁別課題を実施した。各トレーニングは1日1セッション行われ, 各トレーニングの達成基準を満たすことによって次の段階のトレーニングへと移行した。

実験箱馴化

ラットをオペラントボックスに馴化させるために, 30分間の自由探索を行わせた。この間, ハウスライトは常に点灯していた。ディスプレイの中央には白色の正方形の視覚刺激 ($18 \times 18 \text{ cm}$) が表示されており, ボックス後方ではレバーが提示されていた。これらに反応することで, ラットには, 強化音とともに45 mgペレット餌が1粒与えられた。

タッチスクリーン反応形成

このトレーニングでは, ラットにタッチスクリーンへの反応を学習させた。このトレーニングの間, レバーは格納状態で, ディスプレイ中央には白色の正方形の視覚刺激 ($18 \times 18 \text{ cm}$) が提示されていた。この刺激へ触れることによってラットは強化音の提示とともに強化子の45 mgペレット餌1粒を得ることができた。また, このトレーニングの第一セッションでのみ, 固定時間 (Fixed Time: FT) 60秒で強化音とともに45 mgペレット

餌を1粒与えた。このトレーニングは1セッションが60分経過, あるいは, タッチスクリーンへの反応が100回強化されることによって終了した。2セッション連続で60分以内に100強化を得ることを達成基準とした。

レバー押し反応形成

このトレーニングでは, ラットにボックス後方のレバーへの反応を学習させた。このトレーニングの間, ディスプレイ上には何も表示されなかった。このトレーニングの1試行は, レバーの提示によって始まり, ラットがレバー押し反応を行うことによって, レバーが格納し, 強化音の提示とともに強化子の45 mgペレット餌が与えられた。そして, 5秒間の試行間隔 (inter trial interval: ITI) の後, 再度レバーが提示され, 次試行が開始された。このトレーニングは1セッションが60分経過, あるいは, レバー押し反応が100回強化されることによって終了した。2セッション連続で60分以内に100強化を得ることを達成基準とした。

明暗弁別課題

このトレーニングでは, ラットに明 (白色) 刺激と暗 (黒色) 刺激の弁別を行った。この課題の1試行は, レバーの提示によって始まり, ラットがレバー押し反応を行うことによって, レバーが格納され, ディスプレイの両端に明 (白色) 刺激

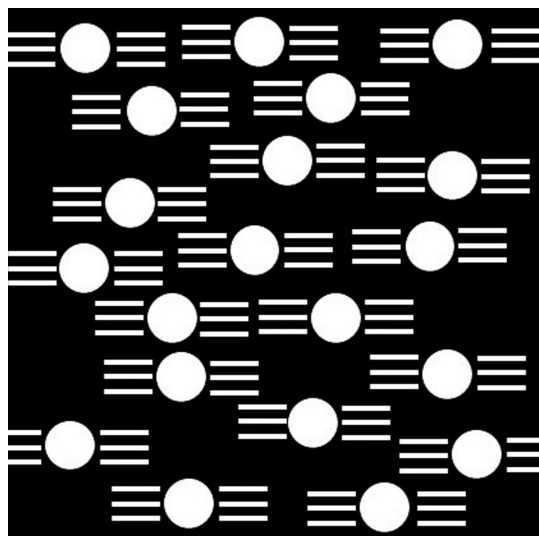


Figure 4. プローブ刺激③はこの静止画像がテスト刺激として使用された。

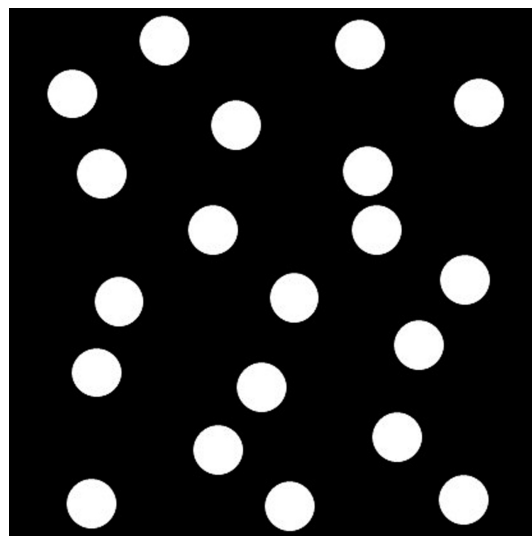


Figure 5. プローブ刺激④はこの静止画像がテスト刺激として使用された。

と暗（黒色）刺激（各 6.5×17 cm）が表示された。ラットが明刺激側のタッチスクリーンへ反応した場合、ディスプレイ上の両刺激が消失し、強化音の提示とともに強化子の45 mgペレット餌が与えられ、20秒間のITIの後に次の試行が開始された。ラットが暗刺激側のタッチスクリーンに反応した場合、ディスプレイ上の両刺激が消失し、5秒間のタイムアウトが課され、20秒間のITIの後に次の試行が開始された。タイムアウト期間中はハウスライトが消灯していた。この課題の1セッションは100試行から構成されており、明暗刺激がディスプレイのどちら側に表示されるかは左右で等回数となるように擬似乱数的に決められた。ただし、ディスプレイの同じ側に3試行以上連続で同じ刺激が提示されることはなかった。正反応率80%以上となることを本課題の達成基準とし、すべての個体が5セッション以内に達成した。

方向弁別課題

ラットに視覚刺激の左右方向弁別課題を行った。この課題の1試行は、レバーの提示によって始まり、ラットがレバー押し反応を行うことによって、レバーが格納され、ディスプレイの中央に正解反応位置の手掛かりとなる方向弁別刺激が、その刺激の左右に黒色の反応領域（各 6.5×17 cm）が表示された。ラットが正反応側の反応領域へ反応した場合、ディスプレイ上の刺激が消失し、強化音の提示とともに強化子の45 mgペレット餌が与えられ、20秒間のITIの後に次の試行が開始された。ラットが正反応とは逆側の反応領域へ反応した場合、ディスプレイ上の刺激が消失し、ハウスライトの消灯を伴う5秒間のタイムアウトが課され、20秒間のITIの後に矯正試行が開始された。矯正試行では、前試行で誤反応となった刺激と同一の刺激が再度提示され、正反応を行うまでラットに反応を求めた。この課題の1セッションは100試行から構成されており、左右の反応領域のどちら側が正解の反応領域となるかは左右で等回数となるように擬似乱数的に決められた。ただし、同じ側の反応領域が3試行以上連続で正解となることはなかった。5セッション連続で正反応率が80%以上となることを達成基準とし、最大60セッションが実施された。

プローブ課題

方向弁別課題で学習基準を達成したラットに対してはプローブ課題が実施された。プローブ課題は、一定の割合で4種類のプローブ試行が導入された点と、1セッションが132試行から構成された点以外は方向弁別課題と同一の手続きであった。プローブ試行では、提示された刺激に対してどちらの反応領域へ反応を行っても報酬の45 mgのペレット餌が与えられず、反応後はすぐに20秒間のITIに移行し、次の試行が開始された。プローブ課題は5セッション実施された。

分析

方向弁別課題では、セッションごとに各ラットの正反応率と、反応バイアスを確認するために右反応率を算出した。プローブ課題では、セッションごとに各ラットの正反応率を算出した後、プローブ刺激ごとに5セッションを通した平均右反応率を算出した。プローブ刺激に対する右反応率が学習刺激に対する右反応率と同様の傾向を示すことによってMLsによる運動錯視が生じたと判断した。

結果

方向弁別課題

Figure 6に方向弁別課題において学習基準を達成したラットの学習曲線を示した。運動刺激学習群では、6匹中1匹のラット（個体番号D-3）が学習基準を達成し、34～38セッションにかけて80%を超える正反応率を維持した（Figure 6）。個体番号D-3以外の5匹のラットでは左右選択反応のチャンスレベルである50%付近の正反応率であり、学習基準に達することがなく、方向弁別学習が成立したとはみなされなかった。

また、運動刺激を方向弁別刺激として用いた運動刺激学習群と逆の学習を行わせた別のラット6匹のMLs刺激学習群の結果をFigure 7に示す。MLs刺激学習群では、6匹中2匹のラット（個体番号E-1及びE-4）が学習基準を達成し、それぞれ34～38セッション、26～30セッションにかけて80%を超える正反応率を維持していた（Figure 7）。

プローブ課題

Figure 8, 9にプローブ課題を行った5セッションの各ラットの正反応率の推移を示した。

プローブ試行の導入によって、正反応率の僅かな低下が見られたが、すべてのラットで概ね80%を維持しており、学習課題での学習が維持されていることが確認された。

Figure 10, 11に各ラットのプローブ刺激に対する平均右反応率を示した。右反応率は右方向を正解とした学習成績であり、この逆が左反応率になる。ここでは以下、すべて右反応率で示した。運動刺激学習群のD-3ラットは、左右の運動刺激に

対してそれぞれ16%と78%の平均右反応率を示しており、学習課題での学習が維持できていることが示された。一方、左右への運動を表現するMLs画像刺激に対しては、それぞれ58%と40%、MLs動画刺激に対しては、それぞれ35%と45%の平均右反応が示され、運動刺激とは異なる反応傾向が得られた。また、左右にMLsを伴う刺激に対しては左に偏った反応傾向が、MLsを伴わない刺激に対しては右に偏った反応傾向が示された。

MLs刺激学習群のE-1ラットは、左右への運動を表現するMLs画像刺激に対してそれぞれ20%と76%の平均右反応率を示しており、学習課題での学習が維持できていることが示された。一方、左右の運動刺激に対しては、それぞれ45%と53%、MLs動画刺激に対しては、それぞれ48%と28%の平均右反応が示され、MLs画像刺激とは異なる反応傾向が得られた。また、左右にMLsを伴う刺激

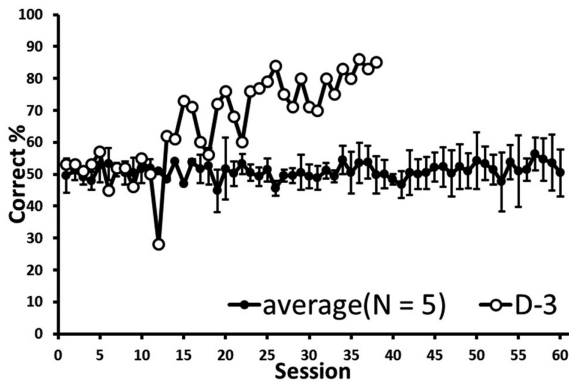


Figure 6. 運動刺激学習群D-3ラットの学習曲線
方向弁別課題において10cm/sで運動する20個の円刺激を用いて学習が行われたD-3ラットの学習曲線と同群の他の5匹のラットの平均学習曲線。エラーバーは標準偏差を示す。

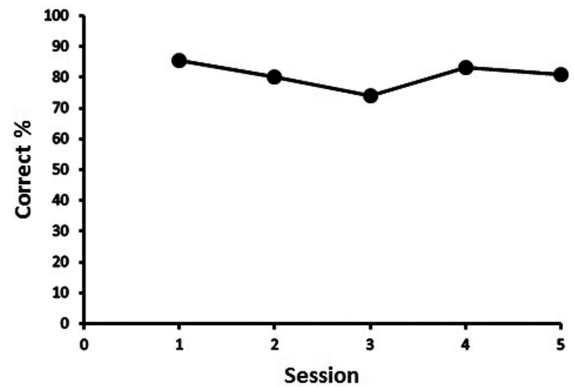


Figure 8. 運動刺激学習群D-3ラットのプローブ課題5セッションにおける正反応率の推移。

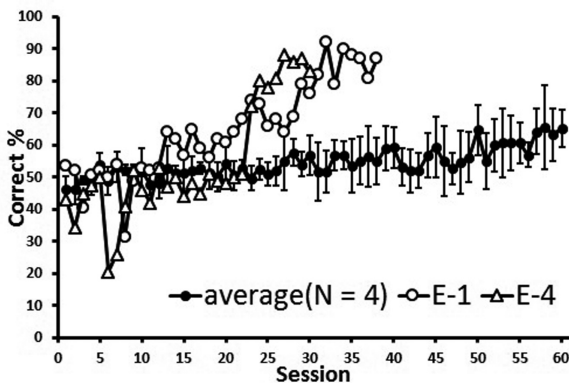


Figure 7. MLs刺激学習群E-1, E-4ラットの学習曲線
方向弁別課題においてMLsを伴う20個の円刺激画像を用いて学習が行われたE-1(○), E-4(△)ラットの学習曲線と同群で学習が成立しなかった他の4匹のラットの平均学習曲線。エラーバーは標準偏差を示す。

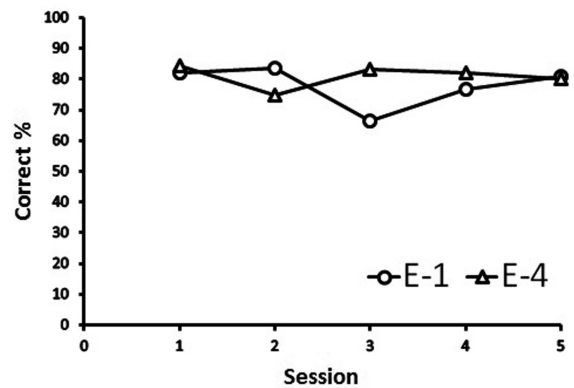


Figure 9. MLs刺激学習群E-1, E-4ラットのプローブ課題5セッションにおける正反応率の推移。

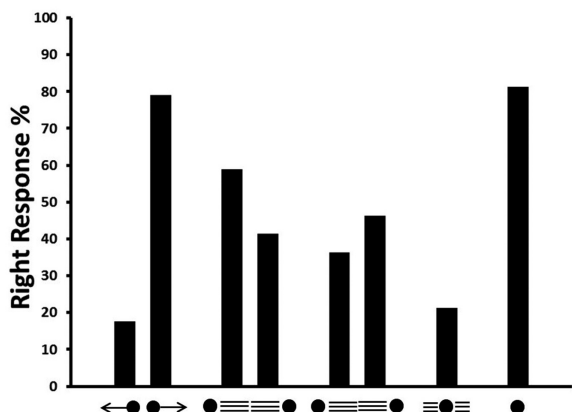


Figure 10. プローブ刺激に対するD-3ラットの右反応率

プローブ課題で用いられた各刺激に対する運動刺激学習群D-3ラットの右反応率を示す。各棒グラフは、左から順に左右への運動刺激(学習刺激), 左右への運動を表現するMLs画像刺激, 左右への運動を表現するMLs動画刺激, 左右にMLsを伴う刺激, MLsを伴わない刺激に対する右反応率を示す。

及びMLsを伴わない刺激に対しては共に右に偏った反応傾向が示された。

MLs刺激学習群のE-4ラットは、左右への運動を表現するMLs画像刺激に対してそれぞれ18%と79%の平均右反応率を示しており、学習課題での学習が維持できていることが示された。一方、左右の運動刺激に対しては、それぞれ28%と38%、MLs動画刺激に対しては、それぞれ23%と33%の平均右反応が示され、MLs画像刺激とは異なる反応傾向が得られた。また、左右にMLsを伴う刺激に対しては左右に反応の偏りは見られず、MLsを伴わない刺激に対しては右に偏った反応傾向が示された。

考察

本研究はヒトにおいて生じるMLsによる運動方向の知覚がラットにおいても生じるかどうかを検討することを目的として実施した。運動刺激の方向弁別を学習させたラットに対して、MLs画像刺激を提示し反応を求め、また、逆にMLs画像刺激の方向弁別を学習させたラットに対して運動刺激

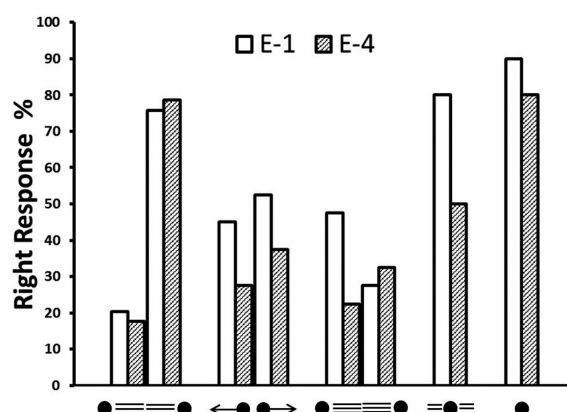


Figure 11. プローブ刺激に対するE-1, E-4ラットの右反応率

プローブ課題で用いられた各刺激に対するMLs刺激学習群E-1(白い棒グラフ), E-4(斜線の棒グラフ)ラットの右反応率を示す。各棒グラフは、左から順に左右への運動を表現するMLs画像刺激(学習刺激), 左右への運動刺激, 左右への運動を表現するMLs動画刺激, 左右にMLsを伴う刺激, MLsを伴わない刺激に対する右反応率を示す。

を提示し反応を求めた。

その結果、運動刺激学習群では6匹中1匹のラットが学習基準を達成した。数少ない先行研究のReinagel (2013)の研究では画面全体のランダムドットがどの方向に動くのかを弁別させたものであり、MLsによる運動方向の知覚を検討するには適さない刺激である。本研究で用いたような直径1 cmの円刺激の動きを弁別した研究は見当たらない。このような大きな画像刺激の方向弁別学習が成立することを報告した研究は筆者の知る限り本研究が初めてである。

MLs刺激学習群では6匹中2匹のラットが学習基準を達成した。MLs刺激を用いた静止画像刺激に対する弁別においても、左右の弁別ができたとする報告は筆者の知る限りこれまでに全くなされていない。

今回の実験では運動刺激学習群同様に、MLs刺激学習群においても、プローブ課題を実施することができた。しかし、プローブ課題においては、運動刺激学習群の1匹のラットに対するプローブ刺激であるMLs画像刺激に対する反応は安定していなかった。また同様にMLs刺激学習群において

学習が成立した2匹のラットにおいても、プローブ刺激として用いた動画刺激に対する反応傾向は安定した傾向を示さなかった。

本実験の最大の問題点としては、課題が難しくすぎて前提とした方向弁別学習課題の学習基準を達成したラットが12匹中3匹と非常に少なかったことが挙げられる。明暗弁別課題は十分に学習しており、レバー押し反応からタッチスクリーンへの反応という一連の行動が獲得されていたことを考慮すると、この原因は方向弁別課題で使用された刺激が弁別困難なものであったためと考えられる。運動刺激は、円の大きさや数、速さなど様々な変数を有した刺激であるため、今回の実験で使用した変数の組み合わせがラットにとって弁別が困難であった可能性が考えられる。そのため、今後はこれらの変数を調整することによってラットにより弁別しやすい刺激を用いる必要がある。また、MLs刺激はFigure 3, 4に示されるように、それぞれのMLsを伴う円刺激が非常に密集していた。そのため、表示されているMLsが左右どちらの円に付随するものであるかが不明瞭であった可能性があり、刺激数を減らすなどして密集度の程度を緩和する必要もあるだろう。

プローブ課題において、全てのラットで運動刺激とMLs画像刺激及び動画刺激の間に同様の反応傾向を得ることはできなかった。この結果は、ラットではヒトと異なりMLsによる運動方向の知覚が生じない可能性を示唆している。しかし、前述したように、学習課題におけるラットの学習率の低さを考慮に入れると、これはMLsによる運動方向の知覚が生じないというよりは、そもそもプローブ刺激として提示された左右への運動を表現するMLs画像刺激や、左右へ運動する運動刺激の弁別ができなかったためと考えるのが妥当だろう。

また、プローブ刺激④として提示されたMLsを伴わない刺激に対して全てのラットで右への反応の偏りが見られた。3匹のラットにはレバーへの反応後、反時計回りにディスプレイに向かう傾向が見られた。これにより、MLsを伴わない静止した円刺激が相対的に右へ運動しているように知覚された可能性がある。もしこの仮説が正しいとすれば、運動刺激学習群のD-3ラットの右に偏った

反応は学習通りの反応であり、MLs刺激学習群の2匹のラットの右に偏った反応はMLsによる運動方向の知覚が反映された結果といえるかもしれない。

今後はより多くの個体でプローブ課題を実施するために、もっと容易な刺激を用いて学習を試みる必要があるだろう。

引用文献

- Bussey, T. J., Padain, T. L., Skillings, E. A., Winters, B. D., Morton, A. J., & Saksida, L. M. (2008). The touchscreen cognitive testing method for rodents: How to get the best out of your rat. *Learning & Memory*, **15**, 516-523.
- Cook, R. G., Geller, A.I., Zhang, G. R., & Gowda, R. (2004). Touchscreen-enhanced visual learning in rats. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, **36**, 101-106.
- Kawabe, T., & Miura, K. (2006). Representation of dynamic events triggered by motion lines and static human postures. *Experimental Brain Research*, **175**, 372-375.
- Kawabe, T., & Miura, K. (2008). New motion illusion caused by pictorial motion lines. *Experimental Psychology*, **55**, 228-234.
- Petrino, S. K., Clark, R. E., & Reinagel, P. (2013). Evidence that primary visual cortex is required for image, orientation, and motion discrimination by rats. *PLoS ONE*, **8**(2): e56543.
- Reinagel, P. (2013). Speed and accuracy of visual motion discrimination by rats. *PLoS ONE*, **8**(6): e68505.
- Tomonaga, M. (2011). How the chimpanzees perceive motion lines. *Proceedings of The 27th Congress Primate Society of Japan*, Session ID: P-30.
- Winters, B. D., Bartko, S. J., Saksida, L. M., & Bussey, T. J. (2010). Muscimol, AP5, or scopolamine infused into perirhinal cortex impairs two-choice visual discrimination learning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, **93**, 221-228.
- Zoccolan, D., Oertelt, N., DiCarlo, J. J., & Cox, D. D. (2009). A rodent model for the study of invariant visual object recognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **106**(21), 8748-8753.