

老齡カニクイザルにおける 視覚弁別学習の能力減衰

Attenuation in Acquisition of Visual Pattern
Discrimination Task
by Aged Macaque Monkeys.

東京大学大学院 新領域創成科学研究科
先端生命科学専攻 細胞応答化学分野

相澤 憲

目次

0. 要旨 (Abstract)	3
1. 序論	4
2. 実験方法	10
2-1. 実験動物	
2-2. 実験機器	
2-3. プレトレーニング	
2-4. 視覚弁別学習課題	
2-5. ROC ダイアグラム	
2-6. MRI 撮影	
2-7. データ解析法	
3. 結果	23
3-1. 学習課題 1	
3-2. 学習課題 2	
3-3. 性別による成績の差	
3-4. ROC ダイアグラム	
3-5. MRI 画像所見	

- 4-1. プレトレーニングと学習効果
- 4-2. 課題遂行のために用いられた戦略性
 - 4-2-1. 視覚弁別課題で用いられた主認知機能
 - 4-2-2. 視覚弁別課題の解決戦略
 - 4-2-3. カニクイザルの認知機能の流動性（課題解決戦略の変更）
- 4-3. 視覚弁別課題における性差
- 4-4. 視覚弁別課題成績の加齢による影響
 - 4-4-1. 動物の認知機能を観察する各種学習課題
 - 4-4-2. カニクイザルにおける加齢性の機能変化
 - 4-4-3. 加齢性認知機能変化研究の困難性
 - 4-4-4. 老化が及ぼす認知機能の流動性への影響
 - 4-4-4. 認知機能の流動性は観察可能か（連続実験のデメリット）
- 4-5. 視覚弁別学習に関与する脳部位
 - 4-5-1. 側頭葉（海馬）
 - 4-5-2. 側頭葉（海馬近傍構造）
 - 4-5-3. 視覚弁別に関与するその他の脳部位
 - 4-5-4. 脳部位から検討する視覚弁別課題の実験条件
 - 4-5-5. 学習活動の機能限局性について
- 4-6. 加齢に伴う脳生理学的な諸変化
- 4-7. 加齢による脳機能連絡性の変化

要旨

ヒトにおいて、加齢に伴い様々な認知機能への影響が現れるようになる。例えば記銘力・想起力の低下や認知機能の流動性などが挙げられる。しかしながらこうした現象の背景は詳しくわかっていないことが多い。そこで本研究では非ヒト霊長類であるカニクイザルの老齢個体を用いて視覚弁別課題を行い、若年個体との成績を比較した。学習課題1として計13枚の異なる図形記号が示されているカードを用意し、そのうちの1枚を報酬カードとし、これを選択するよう給餌にて強化した。その結果、老齢カニクイザルでは課題の遂行により多くの期間を要することが判明した。また、続く学習課題2でも視覚弁別課題を行ったが、報酬カードを12枚として、実験1と実験手続きは同様でもカードの関係が逆になるようにした。この実験でも老齢個体は学習により多くの期間を要したが、最終的な学習そのものは行うことは可能だった。このことから本実験で用いた老齢カニクイザルはヒトの加齢に伴うモデルとして有用であり、加齢による学習能力の低減が示された。

//// Abstract ////

Aged humans may experience significant declines in several cognitive domains, including the ability to remember events, to acquire information, and to retain cognitive flexibility. To test these issues using aged *Macaca fascicularis*, we set up a modified visual discrimination task with Wisconsin General Test Apparatus (WGTA). First, subjects learned to select one rewarded visual pattern from the other twelve non-rewarded patterns in pairs. The results provided the aged required a longer training period than the young. Next, subjects learned not to select one non-rewarded pattern from the other twelve rewarded patterns, which were different from the first task. Although aged monkeys still required a longer training period, they finally performed as well as the young monkeys. From the results, attenuation of learning performance was clearly demonstrated in aged monkeys. Further more, these aged macaques could be used as aged cognitive model.

序論

現代社会において、医療技術の発達、環境衛生の向上や食生活の改善などにより、高齢化が史上見られなかった速度で進んでいる。

老化に伴い、身体的にさまざまな加齢性変化が現れることが知られているが、同様の変化は脳にも生じうる。例として、脳活動領域の変化 (Cabeza et al., 1997; Reuter-Lorenz et al., 2000; Lamar et al., 2004;)、エネルギー代謝の変化 (Eberling et al., 1995)、組織学的脳変化 (Uemura, 1980; Finch, 1993; Smith et al., 2004)、神経伝達物質系の変化 (Goldman-Rakic and Brown, 1981; Wenk et al., 1989)、レセプターの変化 (Arnsten et al., 1994; Arnsten et al., 1995)、トランスポーター系の変化 (Moore et al., 2005)、電気生理学的応答の変化 (Barnes, 1994; Froc et al., 2003) などをあげることができる。しかしながら、これらの変化が生み出す最終的に重要な加齢性変化として、高次認知機能の変化を特に取り上げることができる。神経系に関与して、高次認知機能という場合、通常は末梢神経系の神経反応は含めず、中枢神経系の反応を取り上げることが多い。さらに中枢神経系の中でも、大脳皮質と呼ばれる部分に焦点が当てられる。大脳皮質は主に大脳表層を覆う6層の細胞群のことを指す。高次認知機能と呼ばれるものとして、記憶、学習、運動、行動決定、予測反応などがある。これらの機能は大脳皮質系内にある程度機能局在が見られる。そのため、一般的に特定の脳領域に傷害を受けるなどすると、それと関連の深い機能障害を呈することが多い。疾病などによっては、障害をもたらす脳領域が限定されるものがあるため、上述のような高次認知機能に特定した機能障害を呈するものがある。有名なものとして、アルツハイマー症候群、パーキンソン病、脳血管系の傷害である脳梗塞や脳出血、てんかん、コルサコフ症候群などがある。

こうした疾病は、加齢によって罹患率が著しく高まることが知られている。その原因として、より長期にわたり生物的代謝活動を行ってきたことによる生理学的な疲弊や、

身体に障害をもたらす環境要因に長く晒されてきたことによる影響が大きい。したがって、社会が高齢者を多く擁するようになってきた現代において、加齢に伴う脳機能の障害・疾病罹患率は年々増加傾向にある。こうした疾患は人間として社会活動を営む上で重要な、認知という活動に影響を与えるため、その対策を講じることは、高齢者の QOL (Quality of Life) の向上を考える上で非常に重要な課題となっている。

一方で、こうした深刻な疾病や障害を経験せずとも、老化に伴って種々の高次認知機能が悪化する（減衰する）ことがある。年とともに物覚えが悪くなったり、新しいスキルを身につけたりするのが困難になったりすることは一般によく言われることである。これらの「正常な」加齢性脳機能減衰は、Mild Cognitive Impairment (MCI) と呼ばれ、近年研究者の注目が集まっている。MCI では、アルツハイマー症候群などに見られる機能変化と重症度は異なるものの、症例的には非常に良く似ていることが指摘されている。事実、医学的に罹患していると認められていない高齢者の認知機能の減衰程度からアルツハイマー症候群などの発症可能性を探る研究もなされており、両者の間にはある程度の相関が見られる (Flicker et al., 1993)。したがって、「正常な」加齢性脳機能減衰を示す高齢者においても特定の脳領域において、何らかの変化が生じている可能性がある。そして、その脳領域は関連する疾病罹患、被傷害患者のものと対応関係にあると考えられる。

しかしながら、「正常な」老化過程にある高齢者において、特定の脳領域のみが大きく変化しているということはあまりない。確かに老化に伴い、加齢による影響を受けやすい脳部位・受けにくい脳部位というものは存在している。例えば、前頭葉や海馬は特に加齢に伴う影響を受けやすく、早い段階で萎縮が始まるが、視覚情報の初期処理を行うとされている第一次視覚野では加齢による影響はあまり見られない (Hedden and Gabrieli, 2004 [Review])。その他の部分については、従来行われてきたような剖検例による解剖学・組織学的研究に加えて、近年では MRI などの非侵襲的な画像撮像技術

を用いた研究によって多くの報告がなされているが、意見の一致しないものもあり、議論の余地が残されている。しかしながら、現在までに判明している事実は、加齢性の脳器質変化はある程度の領域選択性は認められるとはいえ、全体的に生じる傾向にあり、アルツハイマー症候群などの神経病理組織に見られるような非常に限局した領域変化であることはほとんどないということを示している (Ohnishi et al., 2001)。他にも、代謝反応において、アルツハイマー症候群と MCI では大きな違いがあるとする論文もある (De Santi et al., 2001)。したがって、「正常な」老化に伴う加齢性の「マイルドな」認知機能の変化は、疾病などの例と相同性はあるものの、根幹で異なる神経学的変化が生じている可能性がある。さらに追記すれば、組織学的に明らかな変化が認められる高齢者や、脳腫瘍などにより脳実質に多大なダメージを受けた患者であっても、重篤な認知機能変化をもたらさないケースもあり、単純に機能限局した脳部位が、老化によって影響を受けることに原因を求めることはできない。

以上のように、老化に伴う高次認知機能の変化は、障害例や臨床例で報告される変化と、発症メカニズムが異なる可能性がある。臨床例に基づく脳機能研究は非常に有用なものではあるが、「正常な」老化に伴う変化のメカニズムを解析していくことも重要になってくる。なぜならば、増え続ける高齢者全てが先に述べたような神経科学的な疾病や障害に見舞われるとは言えず、むしろ漸次的な機能減衰をいかに抑制・改善するか注目が集まると思われるからである。しかしながらこうした「正常な」加齢性脳機能変化を追った研究は非常に少なく、その発症メカニズムの解明には至っていない。

認知機能の老化現象を的確に捉えた理論研究がまだまだ発展途上にある理由のひとつとして、加齢による認知機能の変化を研究する上での困難性を指摘することができる。というのも、老齢被験体を若齢被験体と比較するという事は、その時間的な差の間に他の意図しない要素が多く関与する可能性も高くなっているということである。したがって、若齢被験体と老齢被験体との間に何らかの機能的差異が見つかったからといって、

それがそのまま加齢に特有の付随現象であると断定することはできない。こうした研究にあたっては、なるべく加齢に関する要因だけを考慮するべく、過去に脳梗塞の罹患経験のあるものや高血圧のものなどを除いて研究がなされているが、それでも予期しない要素が関与する可能性はある。特にヒトを対象とした実験の場合では、そうした要素は統制不可能であるため、ここにヒトのモデル動物の価値が生じてくる。これを受けて、種々の認知課題を用いて、動物における加齢に伴う認知機能の低下について多くの報告がなされている。しかしながらこのような報告の多くはラットやマウスを用いた研究がほとんどである。こうした小動物を用いて加齢性の脳変化を解析する研究は確かに有用である。しかし、ラットなどの動物の脳は形態的にも機能的にもヒトのものとは大きく異なっている (John et al., 1997)。ラットとサルでさえ大きく異なる部分があるくらいである (Berger et al., 1991)。したがって、ラットなどの動物実験がひとつの指針となることはなっても、完全なヒトのモデル動物とはなりえない。特に記憶など高次の脳機能を対象とする場合において、小動物の行動がヒトの機能をどれだけ反映しているかは疑問の残るところである。ラットでよく用いられる「モリスの水迷路」実験法に近似した実験パラダイムをヒトに適用した研究で、老齢ラットと同様の機能減衰が高齢者で観察されたという研究もある (Driscoll et al., 2003) が、それがそのままラットとヒトの脳で同じことが起こっていることの証明にはならない。生理代謝的に近似してはいるものの、最終的にはどうしても解剖学的な構造の差を議論せざるを得なくなってしまう。ここにヒトの脳機能モデルとしての非ヒト霊長類の有用性が提起される。

ラットやマウスなどの実験小動物に対して、非ヒト霊長類の脳は解剖学的な構造を初め、機能地図、脳活動、物質代謝経路などがヒトの脳と極めて近似している。さらに、行動学的にもラットなどの実験動物と比較して、よりヒトの認知課題に近い高度な課題を遂行可能である。ヒトのモデル動物として、利点の多い非ヒト霊長類だが、単純にサルを使った実験結果がそのままヒトに適応されるものでもないことも確かである。例と

して、嗅周囲皮質を対象とした研究では、ヒトとサルでは解剖学的に同じ対象部位の障害であっても、生じる認知機能に差が見られることが、視覚弁別課題を用いた実験で示されている (Stark et al., 2000)。しかしながら、将来的なヒトへの応用還元を目指した研究を行うためには、ヒトとの相違に十分留意しながら、非ヒト霊長類の高い有用性を生かした研究を行っていく事が必要不可欠であるし、人類社会への還元性を考えると、その有用性は計り知れない (Gallagher and Rapp, 1997 [Review])。

そこで本研究では、脳に明らかな病変や器質変化が見られず、臨床的にも「正常」である高齢者において、どのような神経科学的变化が生じているのかを明らかにするべく、非ヒト霊長類であるカニクイザルを用いて実験を行った。動物実験を行う重要な意義のひとつは、ヒトでは適用不可能である組織化学的解析、電気生理学的な手法、薬物投与による検定評価を行うことが実験動物では可能になり、脳の老化の本質に一層迫ることができるようになる点が挙げられる。更に、ヒトの場合、これまでさらされてきた環境条件などの統制をとることが非常に難しい。特に高齢者を対象とした研究を行う場合、それだけ外部環境にさらされてきた時間も長くなり、関与する要素全てを統一管理することはまず不可能である。その一方で、実験動物として管理飼育された個体を用いることによって、環境条件をかなり統制することが可能となる。それにより得られた結果は、ヒトを対象とした場合と比較して、より年齢に依存した結果を反映していると考えられる。また、将来的にヒトへの応用を目指し、社会に還元するためには、マウスやラットといった小動物を用いるよりも、解剖学的にも機能学的にもよりヒトに近く、高度な認知行動を営むサル類を対象とした研究を行う必要がある。そのため、本研究では、出生から現在に至るまで厳密に管理飼育された若齢・老齢カニクイザルを比較することで、加齢性の高次認知機能変化を解析することにした。

一口に高次認知機能といっても、冒頭で述べたように、記憶の固定や想起、学習や判断・決定行動など、非常に多岐にわたる。そこで今回は、サル類でも実験観察可能かつ

高次の認知活動であると考えられている学習機能を取り上げて研究を行った。学習という場合、条件刺激と無条件刺激との結び付けに見られるような連合学習に始まり、ヒトにおけるスキーマの構成まで幅広いものが含まれる。今回は、学習の中でも記憶過程を要する必要があるものを対象とすることにした。つまり、「ある外部刺激が与えられたときに、その刺激情報を特定の（自己に有益な）事項と関連付けて記憶し、その後の経験に適応可能な状態にする」認知メカニズムを取り上げた。そこで本研究では、サルの記憶実験として一般的に用いられている、図形パターンを用いた視覚弁別課題を採用した。視覚弁別課題は、異なる特徴を持つ物体を動物に対して複数個同時呈示し、特定の法則にしたがってどちらかを選択させる課題である。本研究では、サルでも比較的学習が容易であるとされ、特によく用いられている、2物体の視覚弁別課題を行った。更に今回は、単純な連合学習の可能性を避け、より高度な学習行動を観察することを意図し、連続した2実験系からなる改良型の視覚弁別課題を考案した。この改良型視覚弁別課題を若齢カニクイザルと老齢カニクイザルにそれぞれ適用し、その学習成績から老化が学習機能に及ぼす影響を解析し、老齢カニクイザルのヒト加齢モデルへの応用可能性を考察した。

実験方法

2 - 1. 実験動物：

本実験では、非ヒト霊長類である、カニクイザル(*Macaca fascicularis*)を実験動物として用いた。若齢個体として、4頭の成体カニクイザルを、そして老齢個体として、6頭の成体カニクイザルを実験に用いた。カニクイザルの性別、年齢をまとめたものを表1 [pp.11]にまとめて記す。

カニクイザルは主に東南アジアに生息するマカク属に分類されるサルである。カニクイザルでは、性成熟を4歳時に迎え、寿命は30年ほどである。また、カニクイザルの年齢の約3倍がヒトの対応年齢とされている。したがって、今回用いたカニクイザルは、若齢個体がヒト12～15歳の青年期、老齢個体がヒト60歳前後の老年期モデルとみなすことができる。実験で用いた個体はすべて、筑波霊長類医科学研究センターにて出生育成・管理がなされている動物を使用した。また、全ての個体において、以前に認知課題実験を経験したものはなく、今回の実験が初めての認知課題実験であった。実験は、米国 National Institutes of Health による “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” と、東京大学による “東京大学動物実験実施規則” に従って行った。

表 1 実験動物 (*Macaca Fascicularis*) 一覧

# 個体番号	年齢(才) ^{*1}	性別	実験年
若齢個体 (Young): Mean 4 (S.D. =1.2)			
#Y001	5	Male	2004
#Y002	5	Male	2004
#Y003	3	Female	2005
#Y004	3	Female	2005
老齢個体 (Aged): Mean 21.5 (S.D. =2.0)			
#A001	18	Female	2004
#A002	22	Female	2004
#A003	24	Male	2005
#A004	21	Male	2005
#A005	22	Female	2005
#A006	22	Female	2005

*1 実験時の年齢.

2 - 2. 実験機器：

本実験では、ウィスコンシン一般検査装置、Wisconsin General Test Apparatus（以下 WGTA）と呼ばれる実験機器を用いた。WGTA には、動物の入れられたケージが、刺激呈示用のトレーを挟んで実験者と対面する形に設置できるようになっている（図 1） [pp.13]。今回用いた WGTA は、図 1 [pp.13]のように、上下に稼動可能な前方の不透明スクリーンとハーフミラーを装備してある。不透明スクリーンを閉めた状態にした場合、動物から実験者および、トレーを見ることはできない配置になっている。また、ハーフミラーは実験者側から動物の行動を観察することは可能であるが、動物の側から実験者を見ることはできないような一方向可視性のスクリーンである。これにより、動物が実験者の微妙な動きから刺激の選択を行う「賢馬ハンス効果」の可能性を除去できる。いずれのスクリーンも、実験者側から操作することができるようになっていた。

実験は、音のない静かな、暗くした部屋で行った。ただし、刺激呈示用のトレー上部に設置された蛍光灯は点灯しておいたため、トレー上に置かれた視覚刺激（後述）は明瞭に識別できるようになっていた。

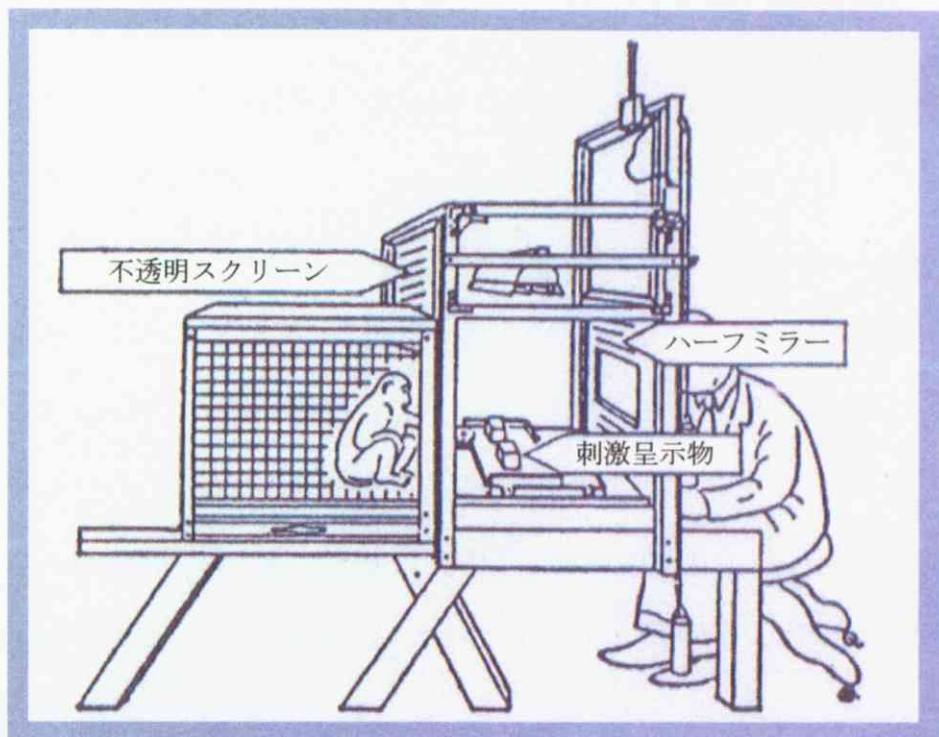


図1 Wisconsin General Test Apparatus (WGTA)

図はHalowが開発したWGTAの概略図を改変したものであるが、本研究で用いたものも基本構造は同じである。実験者とサルが対面する形になり、その間にある刺激呈示用のトレーの上に視覚刺激（アクリルカード）を置くことで実験を行う。不透明スクリーンを利用し、サルの視界に入らないところで視覚刺激をセットする。サルが反応している間はハーフミラーを用いることにより、実験者側からの一方向性の観察を可能にしてある。これにより、動物が実験者の動きなどから特定の選択を行う「賢馬ハンス効果」をなくすことができる。WGTAは暗室で用いるが、刺激呈示用のトレー上部には蛍光灯が設置してあるため、呈示された視覚刺激は明瞭に判別することが可能である。

2-3. プレトレーニング :

今回用いた全ての個体は、いかなる認知課題も未経験であった。そのため本実験の前にプレトレーニングを行う必要があった。プレトレーニングでは、サルホームケージをWGTAに接触させ、器械類に慣れさせることから始めた。サルが環境に慣れたら、WGTAトレー上にケージ内から手を伸ばさせることを学習させた。WGTAトレーの左右には、深さ1cmの穴が明けられており、そこにリンゴ片を入れ、サルに自由に取らせることにより、馴化を行った。続いて視覚刺激への馴化を行った。プレトレーニングで用いた視覚刺激として、本番用の実験で用いたような単純図形模様が描かれていない、白色の亚克力カードを用いた。WGTAトレーの左右に明けられた穴のうち、どちらか一方をランダムに使用して、その中にリンゴ片を入れた。さらに、その上に白色カードをかぶせ、サルにカードをずらしてその下にある餌を取らせることを学習させた。餌に対する白色カードのかぶせ方は、初めは餌が完全に見える状態から始め、次第にカード全体を餌にかぶせるように段階を踏んでいった。これにより、サルは視覚刺激をずらすことを学習した。この後、WGTAトレーの穴に餌を入れることなく、不透明スクリーンを下ろしてサルから見えない状態にして白色カードをセットし、スクリーンが開いたら視覚刺激をずらすことを学習させた。このとき、視覚刺激はWGTAトレー中央に1枚だけ置き、サルが選択したらリンゴ片を与えて強化した。以上のことをサルがスムーズにできるようになったのを確認してから、データ採取用の学習課題実験に入った。

プレトレーニングに要する期間は特に規定しなかったが、平均して1頭につき1ヶ月程度のプレトレーニング期間を必要とした。

2 - 4. 視覚弁別学習課題 Visual Pattern Discrimination Task :

今回行った実験課題である視覚弁別学習は、動物に異なる単純図形模様が印刷された60×60×3mmの亚克力製カード（以下視覚刺激）を2枚1組にして対呈示することから構成されている。本実験は、連続した学習課題実験1, 2からなるが、サルがなすべき基本的なパラダイムは以下のように共通していた（図2） [pp.16]。

WGTAの不透明スクリーンが下がった状態で、異なる図面が印刷された視覚刺激を、WGTA中のトレイ部分に20cm間隔で左右に1枚ずつ、2枚1組でセットした。次にWGTAのハーフミラーを閉じてから不透明スクリーンを上げ、サルに対して2枚組のカードが対呈示した。このとき、不透明スクリーンは開放されているため、サルから視覚刺激を見ることは可能であるが、ハーフミラーのため、実験者側をうかがうことはできないようになっていた。サルは2枚の視覚刺激のうち、報酬によって強化されたどちらか一方の視覚刺激を手で動かすことによって選択する。強化はブロック状にカットしたリンゴ片を給餌することにより行った。視覚刺激の選択1回を1試行としてカウントした。

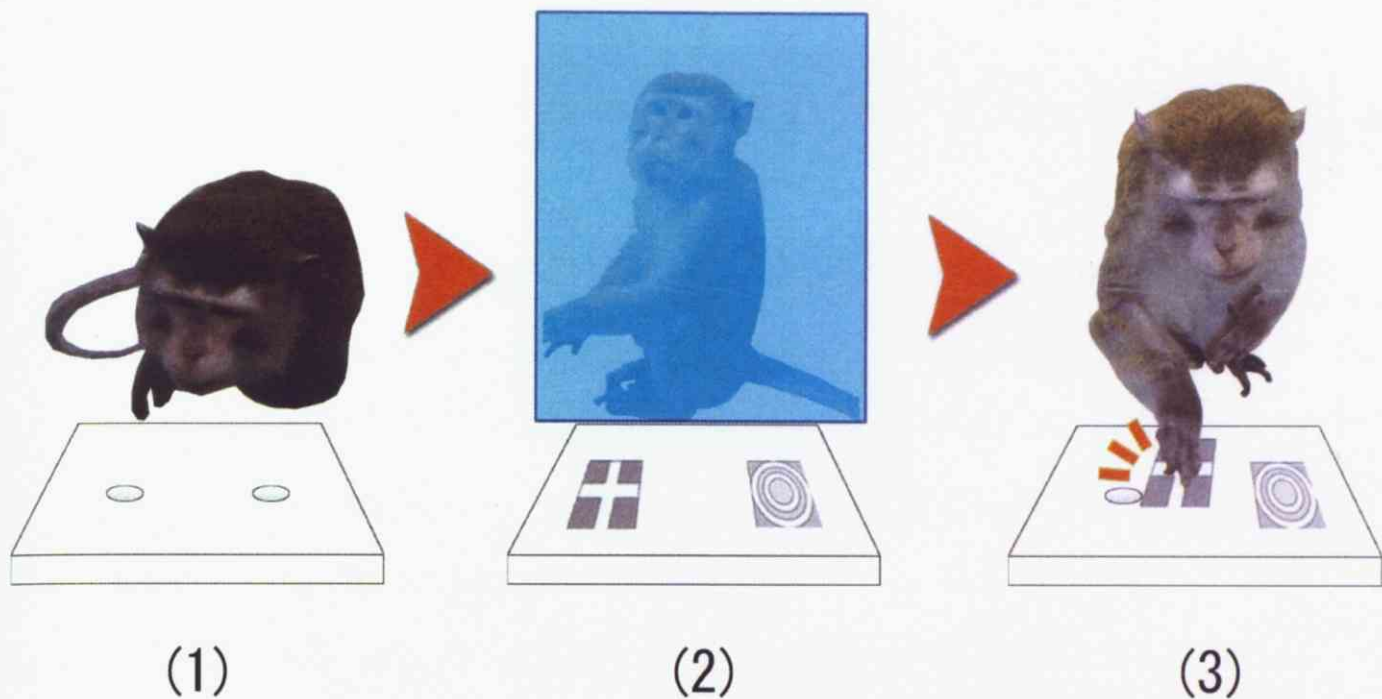


図2 視覚弁別学習課題の実験手順

本研究で行った学習課題1, 2は、共に次のような実験手順で進行した。

- (1) サルがWGTA内に設置された視覚刺激呈示用トレーに注目したのを確認する。
- (2) 不透明スクリーンを下ろしてサルの視界からトレーを遮断する。その間に視覚刺激（報酬カードと中性カード）をトレーに等間隔で左右に設置する。
- (3) ハーフミラーを下ろしてサル側から実験者が見えないようにしてから（図中にハーフミラーは描いていない）、不透明スクリーンを上げて、サルに視覚刺激を同時対呈示する。サルが一方の視覚刺激を選択する。正反応の場合は給餌による報酬を与え、誤反応の場合はそのまま(1)へ戻り、次の試行へ移る。

2 - 4 - 1. 学習課題 1 :

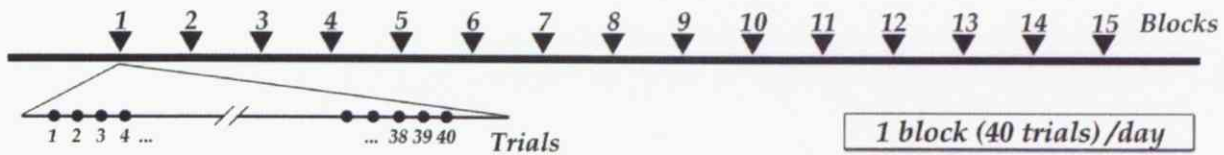
異なる図形模様が描かれた視覚刺激を 13 枚用意した。そのうち 1 枚を報酬カード (Reward Card) とし、残り 12 枚を中性カード (Neutral Card) とした。学習課題 1 では、[図 3b \[pp.18\]](#)にあるように、十字模様のカードを報酬カードとして定義した。これら計 13 枚の視覚刺激を 2 枚ずつ組み合わせてサルに呈示した。学習課題 1 では、毎試行ごとに必ず報酬カードが含まれるようにした。したがって、対呈示される視覚刺激は常に報酬カード (1 種類) と中性カード (12 種類) が 1 枚ずつになる。視覚刺激の組み合わせはランダムにした。また、右か左かという刺激の呈示位置もランダムにしたが、報酬カードが左と右に等数ずつ呈示されるように考慮した。したがって、後述するように、最終的に学習課題 1 は 600 試行分実施したので、左右 300 回ずつ報酬カードが呈示された事になる。

視覚刺激を対呈示されたサルには、2 枚のうちどちらか一方を手で動かし、選択することが要求された。サルが報酬カードを選択した場合には、報酬としてリンゴ片による給餌が行われた。しかしながら、サルが中性カードを選択した場合には、報酬は与えられず、WGTA のスクリーンが閉じられ、次の試行へ移った。

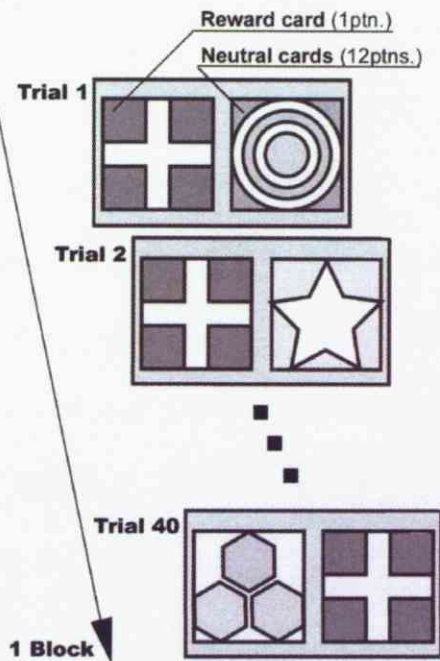
1 回の視覚刺激の対呈示を 1 試行とカウントし、1 頭のサルに対し、1 日 40 試行 (これを 1 ブロックとする) を行った。この課題を連続して 15 日間 (15 ブロック分)、計 600 試行行った ([図 3a](#)) [\[pp.18\]](#)。その間にサルが報酬カードを選択した割合を、日ごとに算出し、これを正反応率 (Correct %) として学習曲線を描いた。

*) 正反応率 (Correct %) = (報酬カードを選択した回数) / (1 日の試行数 40)

(a)



(b)



(c)

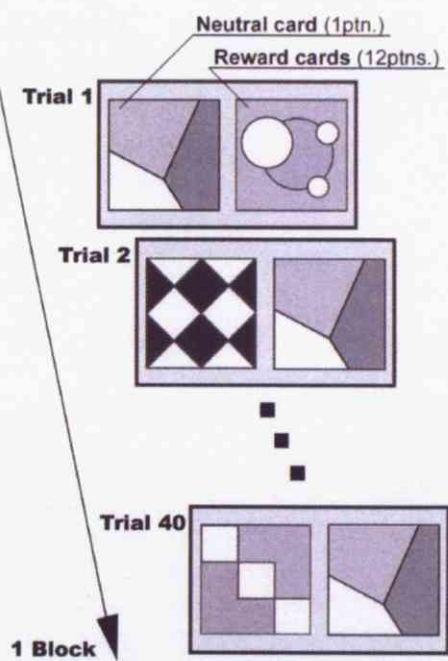


図3 視覚弁別学習;学習課題1, 学習課題2の実験方法

- (a) 学習課題1, 学習課題2の実験タイムスケジュール。視覚刺激の対呈示1回を1試行(1 trial)とし、1日40試行(1ブロック;1 block)行った。学習課題1が15ブロック終了した後、連続して学習課題2へ進んだ。したがって、サル1頭につき30ブロックの連続試験を行っている。
- (b) 学習課題1の実験概要。図面の異なるアクリルカード(視覚刺激)を対呈示した。視覚刺激は、1種類の報酬カードと12種類の中性カードから構成されていた。対呈示するカードは必ず報酬カードと中性カード1枚ずつの組にし、左右の呈示位置はランダムになるようにした。報酬カードの選択時にのみ給餌による正強化を行った。
- (c) 学習課題2の実験概要。学習課題1と図面の異なる新たな視覚刺激を用いた。視覚刺激は、12種類の報酬カードと1種類の中性カードからなる。対呈示するカードは、左右ランダムに報酬カードと中性カード1枚ずつの組になるようにした。報酬カードの選択時にのみ給餌による正強化を行った。

2-4-2. 学習課題 2:

学習課題 1 で用意したものと図面の異なる視覚刺激を新たに 13 枚用意した (図 3c) [pp.18]。学習課題 2 では、そのうち 12 枚を報酬カード(Reward Card)とし、残り 1 枚を中性カード(Neutral Card)とした。したがって、学習課題 1 では「当たり」が 1 枚だったのに対して、学習課題 2 では「はずれ」が 1 枚という関係になっていた。これら計 13 枚の視覚刺激を 2 枚ずつ組み合わせてサルに呈示した。学習課題 2 では、毎回試行ごとに必ず中性カードが含まれるようにした。したがって、対呈示される視覚刺激は常に報酬カード (12 種類) と中性カード (1 種類) が 1 枚ずつになる。視覚刺激の組み合わせはランダムにした。また、右か左かという刺激の呈示位置もランダムにしたが、中性カードが左と右に等数ずつ呈示されるように考慮した。したがって、これも学習課題 1 と同様に、最終的に 600 試行分実施したので、左右 300 回ずつ中性カードが呈示された事になる。

学習課題 1 と同様に、視覚刺激を対呈示されたサルには、2 枚のうちどちらか一方を手で動かし、選択することが要求された。サルが報酬カードを選択した場合には、報酬としてリンゴ片による給餌が行われた。一方でサルが中性カードを選択した場合には、報酬は与えられず、WGTA のスクリーンが閉じられ、次の試行へ移った。

1 回の視覚刺激の対呈示を 1 試行とカウントし、1 頭のサルに対し、1 日 40 試行 (これを 1 ブロックとする) を行った。この課題を連続して 15 日間 (15 ブロック分)、計 600 試行行った (図 3a) [pp.18]。その間にサルが報酬カードを選択した割合を、日ごとに算出し、これを正反応率(Correct %)として学習曲線を描いた。つまり正反応率算出式は 2-4-1 の*式と同じである。

2 - 5. ROC ダイアグラム :

ROC (Receiver operating characteristic) ダイアグラムの原理は、Spevack と Pribram (Spevack and Pribram, 1973) によって提案されたもので、1 対の弁別刺激 (今回は S+ と N) と、左右の位置との組み合わせによる 4 種の刺激に対する反応の割合を指標として、学習曲線を描くものである。今回の実験では、1 ブロックにつき、報酬カードを左右 20 回ずつ呈示した。そこで、横軸に右の視覚刺激を選択して間違えた率 ([中性カード選択回数 (右側)]/20) を、縦軸に右の視覚刺激を選択して正解した率 ([報酬カード選択回数 (右側)]/20) をブロックごとにプロットした (図 4) [pp.21]。

ちなみに、「報酬カードを左右 20 回ずつ呈示した」という条件は、学習課題 1 と学習課題 2 共通であるので、どちらの学習課題についても、同様の手法により ROC ダイアグラムのプロットを行った。したがって、ROC ダイアグラム図 4 [pp.21]において、A, B, C の領域は、チャンスレベルの成績にあり、領域 D に達した時点で、ほぼ課題を遂行できているとみなすことができる。さらに、領域 D のうち、ポイント(0, 1)の点は、正反応率が 100%であり、完全に学習を理解している状態である。また、領域 A にあるときは、右を強く好んで選択しており、一方で領域 C にあるときは、左を強く好んで選択していることを示している (位置嗜好性; Position Preference)。言い換えれば、領域 A, C にとどまっている動物では、カードの図面による弁別ではなく、左か右かというカードの置かれた位置関係により視覚刺激の選択を行っている事になる。ROC ダイアグラムにより、動物の課題遂行過程の軌跡を分析可能である。これを若齢個体群、老齢個体群ともに、個体ごとに 1 ブロック目から 15 ブロック目までプロットした。したがって、若齢個体群では 60 個のプロット、老齢個体群では 90 個のプロットがなされた。ただし、実際の作図にあたり、重複するプロットは図の簡略化を考えて、任意のプロット 1 つだけを記述した。

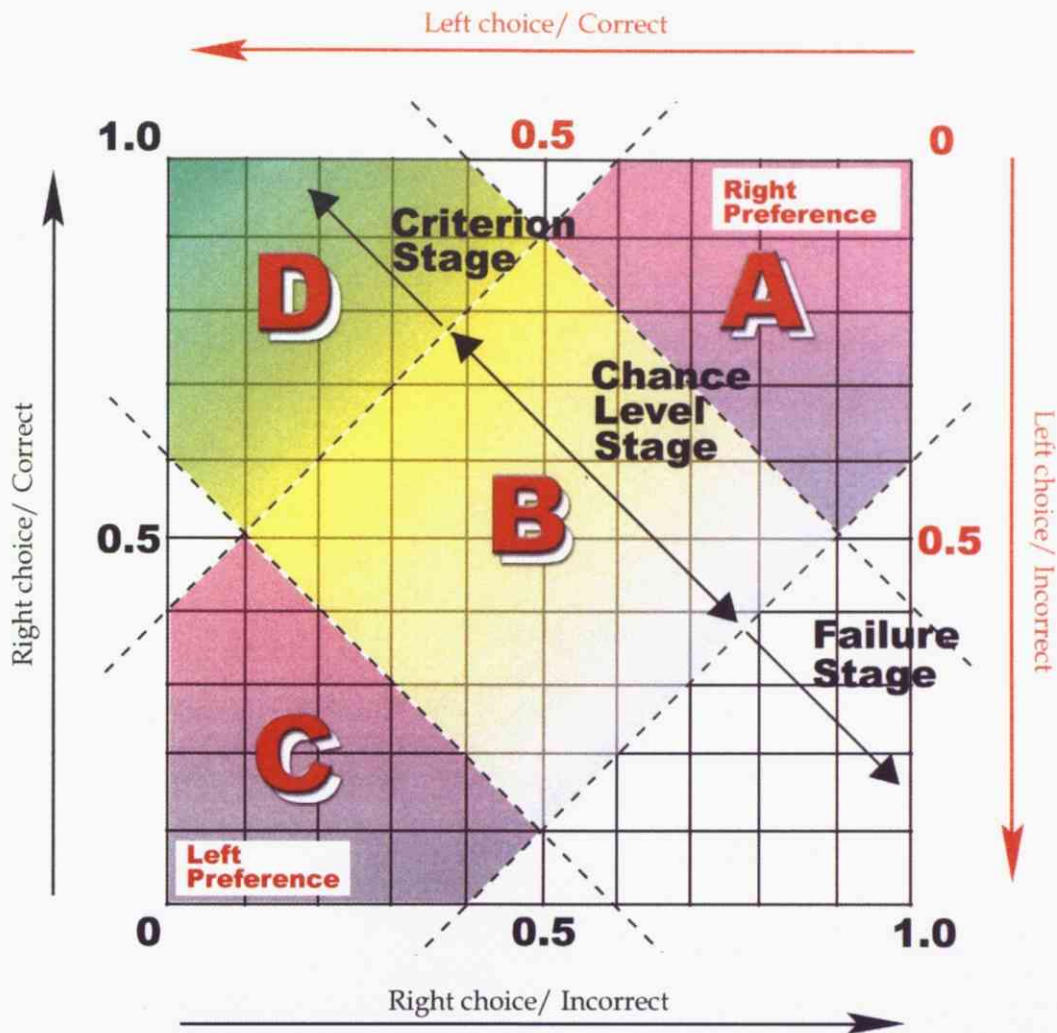


図4 ROCダイヤグラムの原理図

視覚弁別学習課題遂行がどのような戦略に基づいて行われていたのかを明らかにするために、ROCダイヤグラムを作図した（「実験方法」参照）。ブロックごとに向って右側の視覚刺激を選択して間違えた率を横軸に、向って右側の視覚刺激を選択して正答した率を縦軸にプロットする。よって、ダイヤグラム右上に近いほど右側の視覚刺激を選択する傾向があり、ダイヤグラム左下に近いほど左側の視覚刺激を選択する傾向があることを示す。さらに、点(1, 0)は課題正答率がそのブロックにおいて0%であったことを示し、点(0, 1)は課題正答率がそのブロックにおいて100%であったことを示す。1ブロックにつき1プロット描くことができるため、サル1頭につき15プロットを描くことができる。その推移を追うことでサルの課題遂行の戦略を把握することができる。

- 領域A, B, C: チャンスレベルの成績に。Aに留まる時、右方向への位置偏好性があり、Cに留まる時、左方向への位置偏好性がある。
- 領域D: サルが課題をほぼ理解し、高正反応率で課題遂行が可能になったことを表す。

2 - 6. MRI 撮影 :

カニクイザルの MRI 撮像は、3T の MRI 装置 (MAGNETOM Allegra; Siemens, Erlangen, ドイツ) を用いて行った。動物には、硫酸アトロピンの前投与後、50mg/ml 濃度の塩酸ケタミンを 0.1ml/kg で筋注し、麻酔下においた状態にした。キシロカイン噴霧後、気管挿管を行い、撮像中はイソフルレンによるガス麻酔を続けた。撮像は、動物を腹臥位に補綴した状態で行った。麻酔下撮像中の動物の状態は、生体モニター (S/5 Compact Anesthesia Monitor, Datex Ohmeda, アメリカ) で、心電図、血圧、脈拍、血中酸素飽和度 (SpO_2) を常時観察し、正常値にあるよう配慮した。全ての動物につき、T1 強調 3D 画像 (TR=2500ms; TE=3ms; Slice thickness=1mm; FoV=150mm×150mm)、T2 強調画像 (TR=4000ms; TE=19ms; Slice thickness=2mm; FoV=150mm×150mm) を撮像した。T1 強調 3D 画像では、灰白質が灰色、白質部分が白色に撮像される。一方 T2 強調画像では灰白質が白色、白質部分が黒色に撮像される。T1 強調 3D 画像によって、カニクイザルの 3 次元的な脳所見を観察した。構造学的な差異の比較に T1-3D の画像を用い、病理学的な所見の検討には主に T2 画像を用いた。

2 - 7. データ解析法 :

得られた弁別学習の成績データは、群間において、分散分析 (ANOVA) を用いて有意差の検定を行った。本研究においては、2 群間以上より多くのサンプルにおける有意差検定は行っていない。したがって、F 検定法による等分散解析の結果に合わせて、Student の t 検定法か Welch の検定法を用いた。

結果

3 - 1. 学習課題 1 :

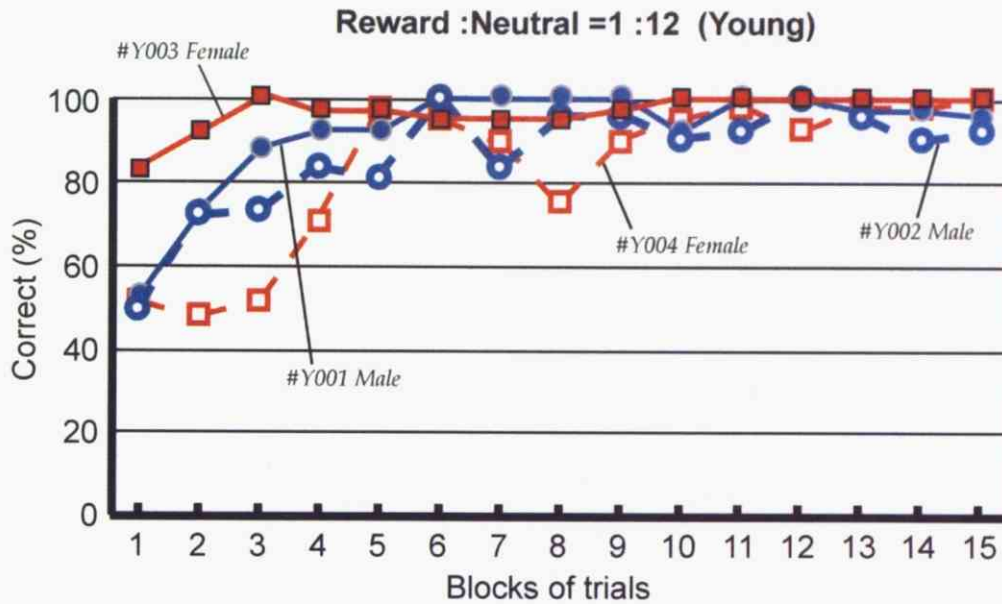
若齢、老齢カニクイザルのうちどの個体も、実験では新規に見る視覚刺激を対呈示された。したがって、実験開始時において、動物はランダムに左右どちらかの視覚刺激をまず選択する傾向が見られた。よって、視覚刺激対呈示の開始時は 50%前後の正反応率を示した。しかしながら、個体によっては、初めの数回の対呈示で、報酬カードを学習することができたため、1 試行終了時の正反応率が 50%を大きく上回るものもあった (図 5a ; 例 #Y003) [pp.24]。ただし、全体としては若齢群、老齢群共に、ほぼ 50%前後からのスタートとなった。

試行数ごとに正反応率をプロットしたものが図 5a, b [pp.24]である。若齢群では、どの個体も、4 ブロック (160 試行後) ほど訓練を行えば、80%の学習基準値に達した。一方で老齢群では、#A005 を除いた 5 頭のサルは、80%の学習基準値に達するまでに、8 ブロック (320 試行後) という、学習期間の約半分もの時間を費やす必要があった。

この結果を、年齢群別にまとめて表したものを図 6a [pp.25]に示す。若齢個体群 (平均年齢 4 才; n=4; SD=1.2)、老齢個体群 (平均年齢 21.5 才; n=6; SD=2.0) である。若齢群では 3 ブロック (120 試行後) という比較的早い段階で学習基準値 80%に到達しているのに対して、老齢群では 9 ブロック (360 試行後) に初めて 80%の基準値に達した。ブロックごとに比較した場合、課題の前半部分 (4, 5, 6 ブロック) において、老齢個体群で統計的に有意な正反応率の低値を示した。ただし有意差は無かったものの、7, 9 ブロック目にも老齢群で学習速度の遅れをうかがわせる結果が得られた (7 ブロック目 ; P=0.064、9 ブロック目 ; P=0.065)。

最終的には若齢個体群、老齢個体群共に 80%の学習基準値に到達し、課題の学習をすることは可能であった。これをもって課題 1 の学習は完了したと判断した。

(a)



(b)

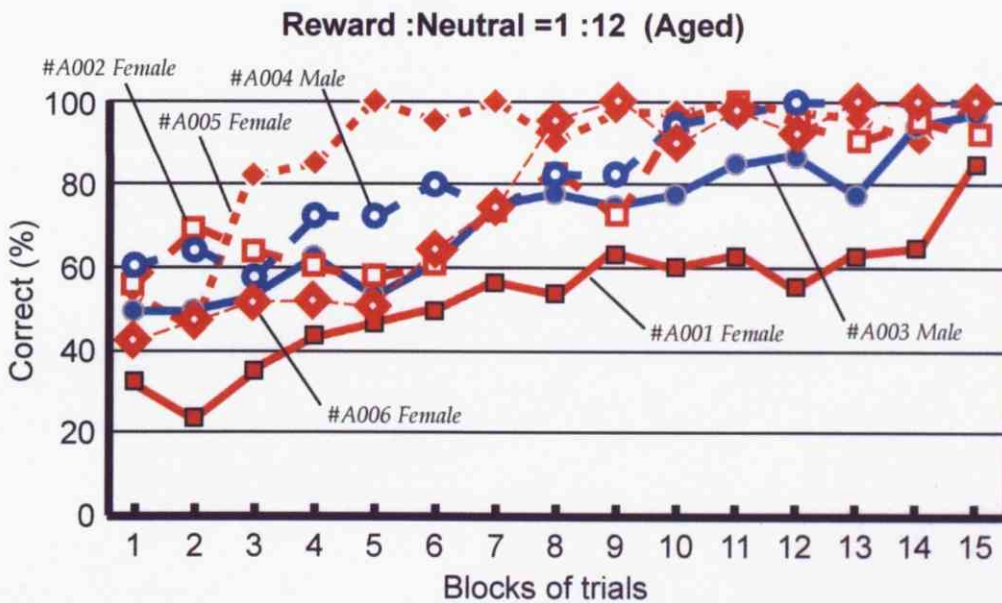


図5 学習課題1の結果（動物個別別）

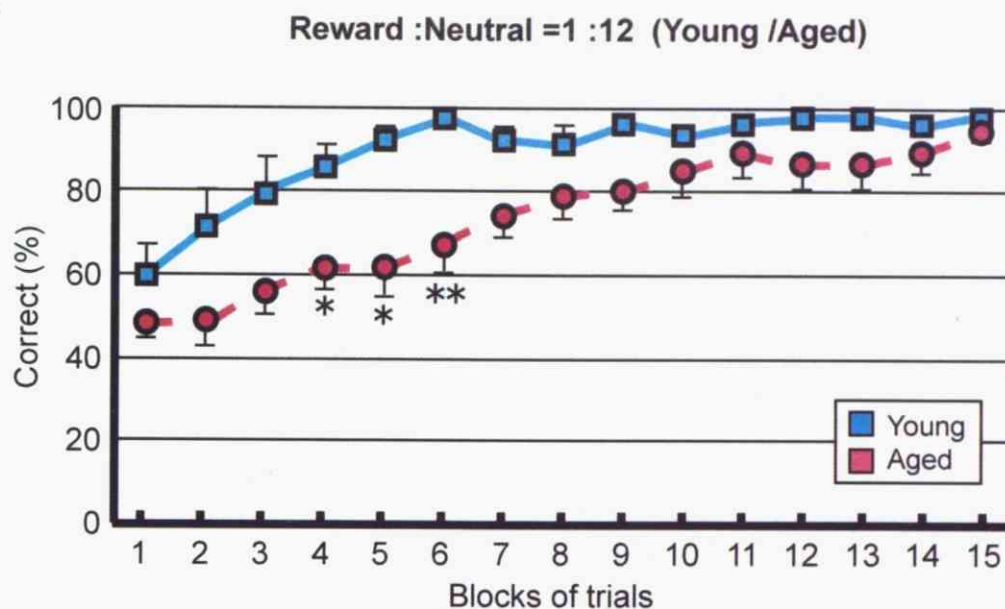
学習課題1（報酬カード[Reward]:中性カード[Neutral]=1:12）について、動物個別別に、課題ブロックごとの正反応率推移を学習曲線として表した。

図(a), (b)共に、円形プロット（青）は雄個体、角形プロット（赤）は雌個体を表している。個々の動物の情報については表1を参照のこと。

(a) 若齢サル（平均年齢4才；n=4；SD=1.2）の学習曲線。

(a) 老齢サル（平均年齢21.5才；n=6；SD=2.0）の学習曲線。

(a)



(b)

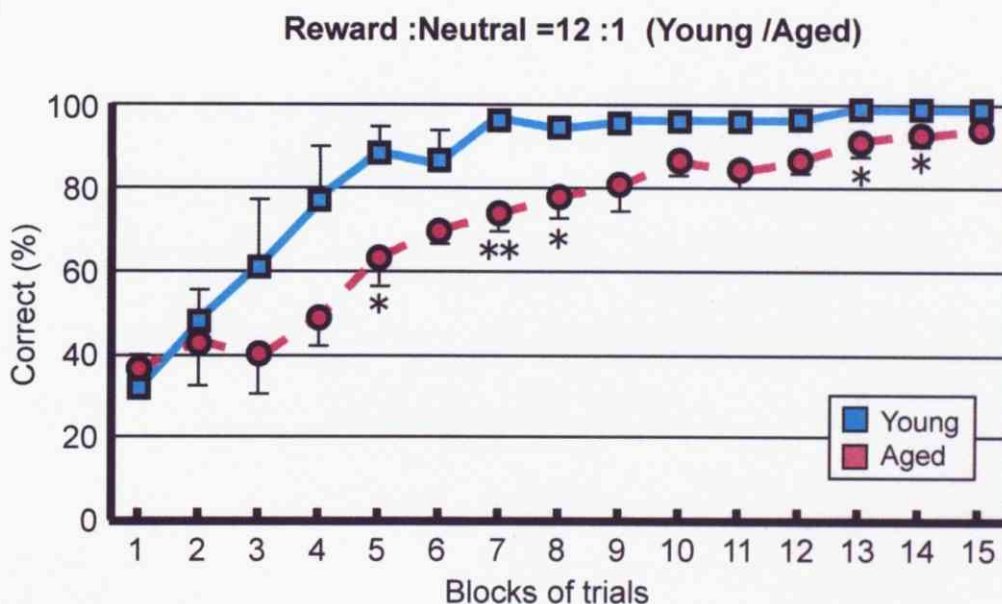


図6 学習課題1, 2の結果 (年齢群別)

学習課題1, 2について、動物年齢群別に、若齢個体群 (平均年齢4才; n=4; SD=1.2) と老齢個体群 (平均年齢21.5才; n=6; SD=2.0) で正反応率をまとめて学習曲線を表した。図(a), (b)共に、角形プロット (青) は若齢個体群、円形プロット (赤) は老齢個体群を表している。bar=S. E.

* P<0.05, ** P<0.01

(a) 学習課題1の学習曲線。老齢個体群で有意に学習の遅れが見られた。

(a) 学習課題2の学習曲線。老齢個体群で有意に学習の遅れが見られた。

3 - 2. 学習課題 2 :

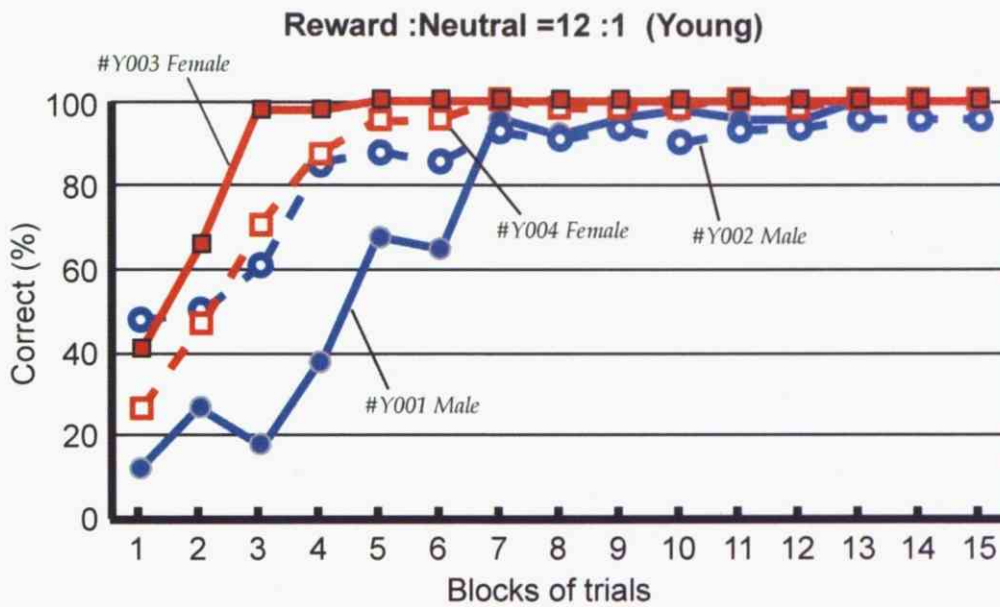
学習課題 1 の正反応率が 80% に達したのを確認した後、続けて学習課題 2 を行った。2 枚 1 組の視覚刺激のうち、どちらか一方を選択するという実験パラダイムそのものについては、学習課題 1 で理解できていたため、どの動物も実験開始時から視覚刺激の選択を問題なく行うことが可能であった。しかしながら、学習課題 1 と異なり、ランダムに視覚刺激を選択する傾向が見られず、実験開始時の正反応率は 50% を割る動物が多かった (図 7a, b) [pp.27]。「毎回試行に共通して現れる視覚刺激を選択する」という選択方式をサルが採用していたためと思われる。ただし、この実験でも動物による個体差があり、スタート時の正反応率に個体差が見られた。

若齢、老齢のどちらの群においても、スタート時の正反応率が 50% 以下であった個体があった。ただし、その後の正反応率の上昇は、若齢個体群で大きい傾向があり、老齢個体群では、個体によりばらつきはあるものの、比較的プラトーの期間が長かった。スタート時の成績にかかわらず、若齢個体では、あるとき急激な成績の上昇に転じる傾向が見られたが、老齢個体では、漸次的な成績の推移傾向が見られた。

結果を若齢個体群 (平均年齢 4 才; $n=4$; $SD=1.2$)、老齢個体群 (平均年齢 21.5 才; $n=6$; $SD=2.0$) 別にまとめたものが図 6b [pp.25] である。若齢群では 4~5 ブロック (160~200 試行後) で学習基準値 80% に到達しているのに対して、老齢群では 9 ブロック (360 試行後) に初めて 80% の基準値に達した。ブロックごとに比較した場合、5, 7, 8, 13, 14 ブロックにおいて、老齢個体群で統計的に有意な正反応率の低値を示した。ただし、統計的有意差はなかったものの、8 ブロックで老齢群での学習速度の遅れが見られた (11 ブロック目 ; $P=0.074$ 、12 ブロック目 ; $P=0.082$)。

最終的に若齢個体群、老齢個体群共に 80% の学習基準値に到達し、課題の学習を行うことができた。

(a)



(b)

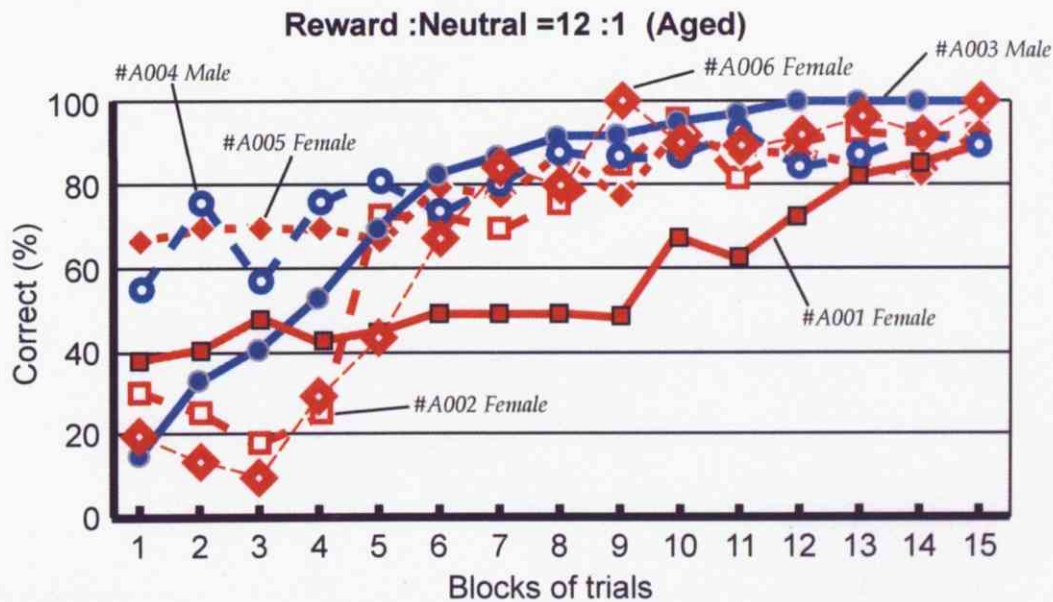


図7 学習課題2の結果（動物個体別）

学習課題2（報酬カード[Reward]:中性カード[Neutral]=12:1）について、動物個体別に、課題ブロックごとの正反応率推移を学習曲線として表した。図(a), (b)共に、円形プロット（青）は雄個体、角形プロット（赤）は雌個体を表している。個々の動物の情報については表1を参照のこと。

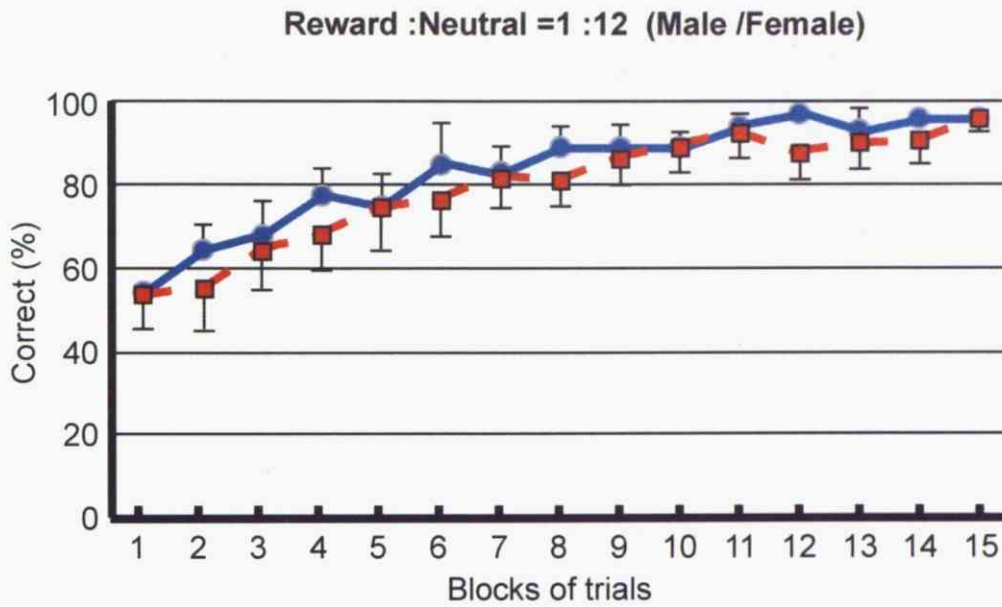
(a) 若齢サル（平均年齢4才；n=4；SD=1.2）の学習曲線。

(a) 老齢サル（平均年齢21.5才；n=6；SD=2.0）の学習曲線。

3 - 3. 性別による成績の差 :

年齢別に見たときに現れた学習成績の差異が、実験に用いた動物群の偏りに基づくものであるかどうかを検討するため、年齢群別比較に加えて、雌雄別での成績比較を行った。今回実験で用いたカニクイザルは、表 1 [pp.11]にあるように、雄 4 頭、雌 6 頭であった。これを性別で分類する 2 群に分け、各々の学習曲線の平均を元に、成績推移を学習曲線で比較したものが図 8a,b [pp.29]である。雄個体群（平均年齢 13.8 才; n=4; SD=10.2）と雌個体群（平均年齢 15 才; n=6; SD=9.4）の性別群間における平均年齢に統計的な有意差は認められなかった（ $P=0.847$; スチューデントの t 検定）。また、雄、雌それぞれの正反応率の推移においても、学習課題 1、2 ともに性別による統計的な有意差は認められなかった。

(a)



(b)

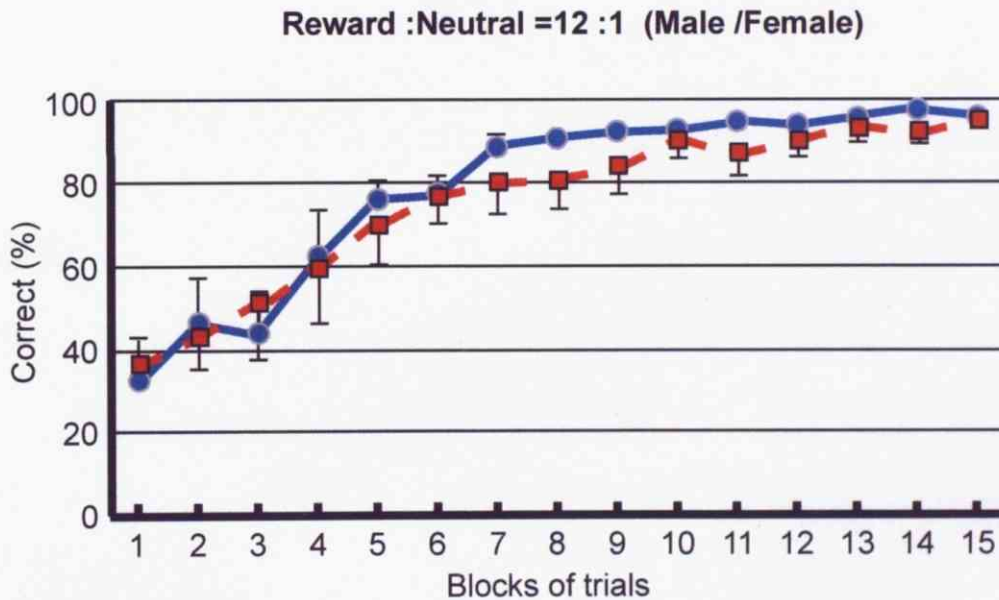


図8 学習課題1, 2の結果 (雌雄群別)

学習課題1, 2について、動物雌雄群別に、雄個体群 (平均年齢13.8才; n=4; SD=10.2) と雌個体群 (平均年齢15才; n=6; SD=9.4) で正反応率をまとめて学習曲線を表した。図(a), (b)共に、円形プロット (青実線) は雄個体群、角形プロット (赤破線) は雌個体群を表している。bar=S. E.

(a) 学習課題1の学習曲線。学習曲線に統計的に有意な性差はなかった。

(a) 学習課題2の学習曲線。学習曲線に統計的に有意な性差はなかった。

3 - 4. ROC ダイアグラム :

課題の学習に当たって、動物ごとに課題の解決方略が異なる可能性、また課題の達成がどのようになされていたかを検証するため、ROC ダイアグラムを描いた (図 4) [pp.21]。

3 - 4 - 1. 学習課題 1 :

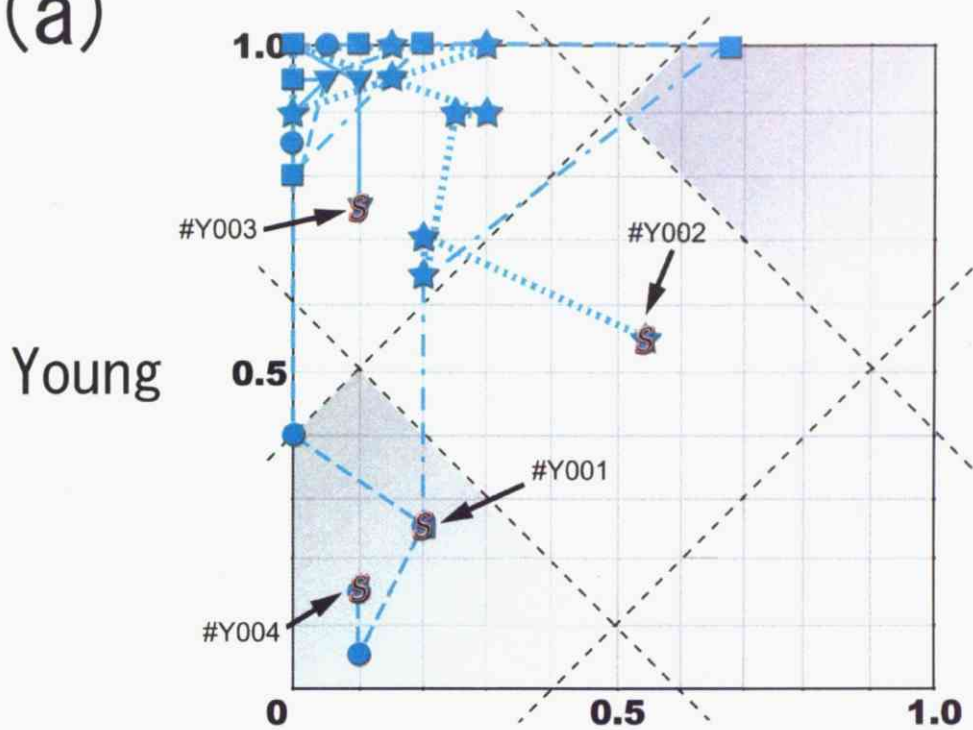
A) 若齢個体 :

図 9a [pp.31]に見られるように、個体#Y004 が実験初期において左への位置偏好性を示す (領域 C) 傾向にあった。しかしながら 4 ブロック目には位置偏好性からの脱却が見られた。他の若齢個体においては、1 ブロック目にはチャンスレベルからのスタートではあるものの、強い位置偏好性は見られず、速やかに学習完成 (領域 D) がなされている傾向にあった。

B) 老齢個体 :

老齢個体では、実験初期において、#A001, #A002, #A005 が特に強い位置偏好性を示した。#A001 では右方向への位置偏好性、#A002, #A005 では左方向への位置偏好性によって視覚刺激の選択を行っていた (図 9b) [pp.31]。また、若齢個体と比較して、位置偏好性の状態から脱却するのに要する期間が長くなる傾向にあった。さらに、老齢個体群では、領域 D に到達したあとも、成績が(0, 1)のポイント (位置偏好性がまったく見られず、学習が完全に成立した状態) に収束するものが少なく、多くは領域 D 内に分散した。

(a)



(b)

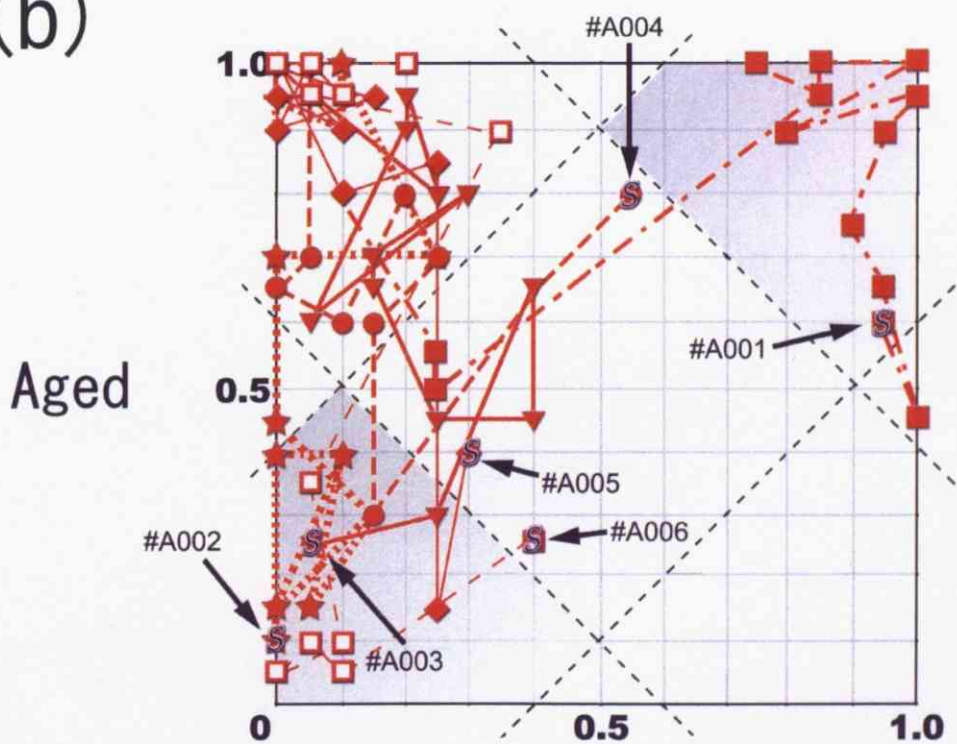


図9 ROCダイアグラム (学習課題1)

学習課題1 (報酬カード: 中性カード=1:12) におけるROCダイアグラム図。
 図の見易さを考慮し、重複する点については任意の一点を示すにとどめた。
 1ブロック目のプロットをSの文字で示す。個々の動物の情報については表1参照。

- (a) 若齢個体のROCダイアグラム。位置偏好性はあまり見られず、スムーズに領域Dに移行し、学習完成が進んでいることがわかる。
- (a) 老齢個体のROCダイアグラム。強い位置偏好性が見られ、領域A, Dに多数のプロットが見られる。また、ばらつきが多く、成績が安定しない。

3-4-2. 学習課題 2 :

A) 若齢個体 :

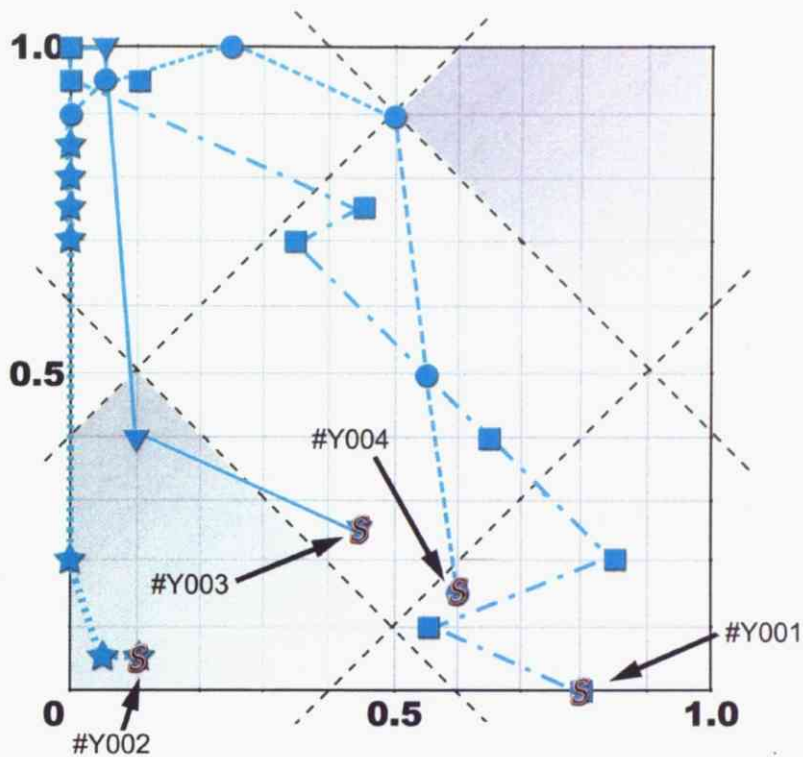
図 10a [pp.33]より、実験初期において、#Y002 が左側への位置偏好性を示したが、その後すぐに学習完成へとスムーズに進行していったことがわかった。他の 3 個体についても、学習が第 1 に比べて、初めは低成績の領域からスタートしたものの、位置偏好性を示すことなく、速やかに領域 D へ達し、学習の完成に至った。また、一度成績が(0, 1)のポイントへ収束した後は、成績がばらつくことなく、安定して好成績を示した。

B) 老齢個体 :

図 10b [pp.33]に見られるように、老齢個体でも若齢個体のように、学習課題 1 と比較して低い正反応率からのスタートを示した。しかしながら、若齢個体と異なり、学習途中では、位置偏好性を示す傾向が見られた。ただしこの傾向は#A001 に強く観察されたもので、他の 5 頭に関しては、図 10b [pp.33]が示すように、学習課題 1 と比較して、それほど強い位置偏好性は示してはいなかった。特に右側への位置偏好性を示したものは 1 頭もいなかった。領域 A, C に長期間とどまることなく、比較的迅速に領域 D へと到達し、学習の完成へ向う傾向にあった。しかし、領域 D 内において、学習課題 1 のときと同様、老齢個体では安定した成績を示さず、プロットが分散する傾向にあった。

(a)

Young



(b)

Aged

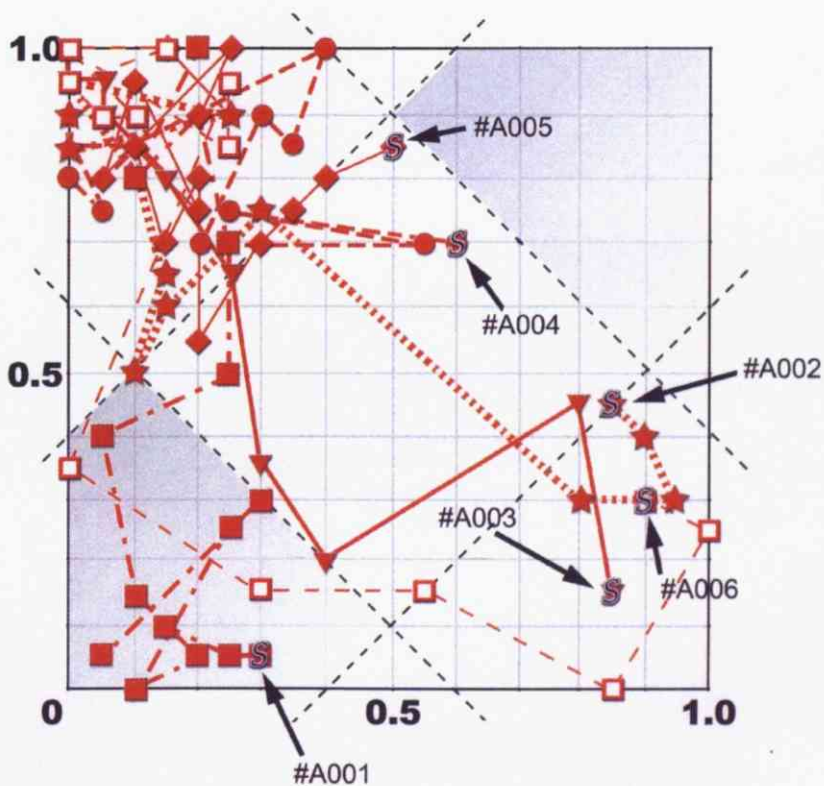


図10 ROCダイアグラム (学習課題2)

学習課題2 (報酬カード:中性カード=12:1) におけるROCダイアグラム図。

図の見易さを考慮し、重複する点については任意の一点を示すにとどめた。

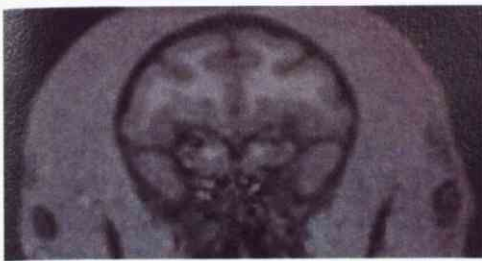
1ブロック目のプロットはSの文字を入れた。個々の動物については表1を参照。

(a) 若齢個体のROCダイアグラム。学習課題1に比較して課題初期の成績低下が目立つものの、位置偏好性なく迅速に学習完成が進んでいた。

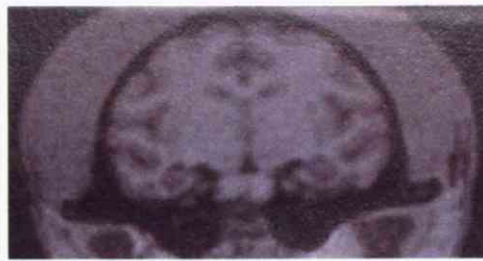
(a) 老齢個体のROCダイアグラム。位置偏好性がやや見られるものの、学習課題1ほどではなかった。しかしプロットがばらつき、成績が安定しない。

3 - 5. MRI 画像所見：

撮影した T1 強調画像、T2 強調画像ともに、信号強度の明瞭な異常は見られなかった (図 11) [pp.35]。特に T2 強調画像では、組織傷害などが明瞭に判別できることを考えると、今回の MRI 所見から若齢、老齢個体共に明らかな解剖学的な傷害変化が起こっていなかった。ただし、頭蓋表面の筋肉組織の厚さや、脳室などの大きさなどに肉眼的な個体差が認められた。図 11 [pp.35]では、前交連 (anterior commissure; AC) を基準に、前頭前野の主溝 (principle sulcus; PS) と海馬構造が観察できる部位を表記したが、地理的には同一部位でも構造学的には個体差がみられた。これは、サルによる個体差があることに加えて、今回の撮影条件では、撮像組織厚が T1 強調画像では 1mm、T2 強調画像では 2mm であったため、AC0mm の点に、画像による誤差があったためだと思われる。



(a1)



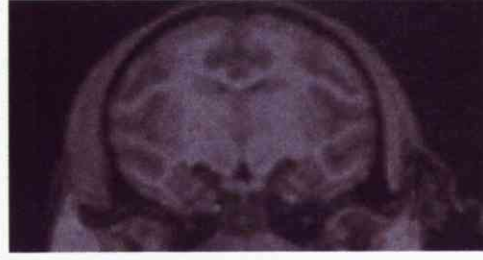
(a2)



(a')



(b1)



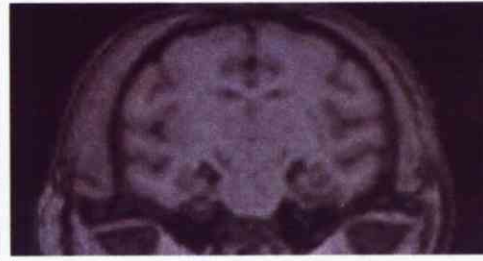
(b2)



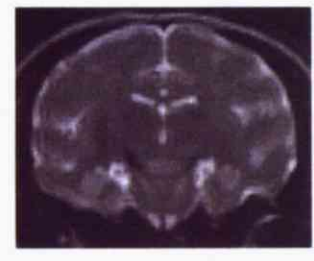
(b')



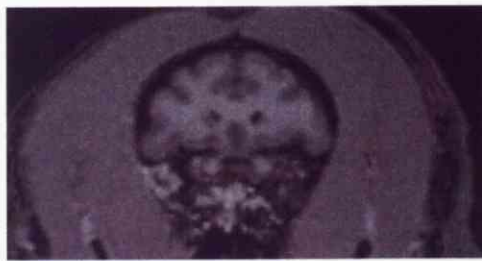
(c1)



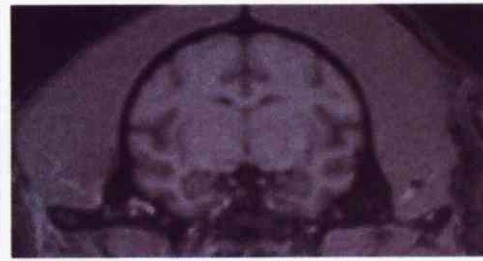
(c2)



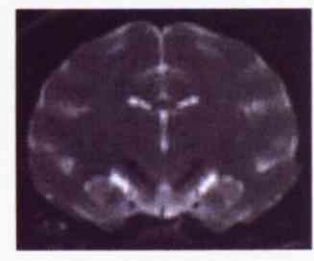
(c')



(d1)



(d2)



(d')

図11 カニクイザルMRI所見

見出し(x1):T1強調撮影。前交連(anterior commissure;AC)より+9mm(AC+9mm)。

Principle sulcus近傍の前頭前野が見える。

見出し(x2):T1強調撮影。AC-7mm。海馬構造が見える。

見出し(x'):T2強調撮影。AC-6mm。

頭蓋筋肉厚などの個体差はあったが、明確な解剖組織学的な異状は認められなかった。図には全個体10頭のうち代表して若齢、老齢個体2頭ずつの画像を示した。

(a1-2, a'):#Y001、(b1-2, b'):#Y003

(c1-2, c'):#A002、(d1-2, d'):#A004

考察

4-1. プレトレーニングと学習効果

今回の学習課題を行うにあたり、動物に対して事前にトレーニングを行う必要があった。なぜならば、今回用いた実験動物は全て霊長類医科学センターにて出生時から飼育管理されている動物であり、今回行ったような認知課題実験に対してナイーブであったためである。逆にいうなれば、今回の実験では、実験前に行われていたいかなる課題実験の影響も排除可能であるということである。したがって、今回の学習課題では、年齢群別による比較が可能であった。プレトレーニングでは、実験方法にあるように、段階を踏んで実験に必要なレベルまでサルをトレーニングしていく必要があった。この一連のトレーニングによって、カード（視覚刺激）を触るとということと、報酬（リンゴ片）が与えられるということの連合学習が成立したと考えられる。したがって、厳密にいうなれば、本実験に入る前にすでにひとつの「学習」を行っていたことになる。しかしながら、この「先行学習」によるその後の本実験への影響は考えなくても良いと思われる。その理由として、まず初めに、プレトレーニングで用いられた視覚刺激が白色のカードであったという点が挙げられる。本実験では異なる単純図形が描かれたカードを用いた。また、そのカードの中に白色のカードは含めなかったため、このカードはプレトレーニング内でしか選択が許されていなかった。したがって、プレトレーニングを行うことにより、特定の視覚刺激（この場合白色カード）に対して、給餌との連合学習が成立し、選択率に偏りが現れるということは無かったと考えられる。ただし、本実験で用いた視覚刺激のうち、印刷が少なく、白色領域の多いものもいくつか含まれていた。そのため、そうした視覚刺激への選択率の増加も考えられたが、同じデザインで、全体の明度を変化させたカードを使用した場合でも、正しく反応することができた（データ非掲載）ので、プレトレーニングによる偏りの効果は無かったと推測される。次にプレトレーニング

グでは、カードの呈示位置が常にトレーの中心一箇所に限られていたことが挙げられる。このことにより、プレトレーニングによって、位置偏好性が誘発されたという可能性は無かったと考えて良い。また、本番の学習課題実験でカードを対呈示した際に、視覚刺激の置かれていないその中央部分を選択するという事も無かったことから、プレトレーニングの段階で動物は、位置による連合学習を行ったのではなく、視覚刺激の選択との連合を学習したのだと考えて良い。

今回の実験では、プレトレーニングに期間の制限は設けなかった。なぜならば、視覚刺激に触れるという動作一つを取ってみても、個体差が大きく、習得までにかかなりの時間差があったためである。白色カードという視覚刺激に触れることと給餌との連合学習のステップの前に、トレーに呈示された視覚刺激を認識し、それに触れるという動作を習得する必要があるが、この段階の学習では個体の気質がかなりの影響をあたえていた。警戒心が強く、臆病な気質の個体では、実験者に対面する形になるトレーへの接近すら拒否するものが多かったため、必然的にプレトレーニングに要する期間は長くなった。一方で人に対して警戒心が薄く、好奇心の強い個体は、プレトレーニングに要する期間は短くなった。ただし、好奇心の強すぎる個体では、逆に呈示された視覚刺激以外のものに気をとられてしまうことなどもあった。したがって、結果的にプレトレーニングに要した期間は、個体によって大きな差があった。今回の研究では、視覚刺激の確実な選択が実験遂行のための第一条件となるため、プレトレーニングの期間を統一してしまうと、スタート時の成績が正しく反映されない可能性が極めて高かった。つまり、全ての個体が同じ開始条件にあるわけではないという可能性が生じてしまう。そのため、動物の確実なトレーニング習得を確認した後で実験に移す必要性があった。なお、こうした気質の差は若齢群、老齢群といった年齢による差異は特に見られなかった。また、プレトレーニングに要した期間は、老齢群でやや長い傾向があったが、年齢による差というよりも気質による影響が多分に大きい要素であった。

4 - 2. 課題遂行のために用いられた戦略性

4 - 2 - 1. 視覚弁別課題で用いられた主認知機能

本研究で用いた視覚弁別課題は主に記憶能力を測定する検査になっている。なぜならば、今回の課題では、学習課題 1, 2 とともに、どの視覚刺激が報酬と関連するのかを記憶しておく必要があるからである。なぜなら図面を記憶していない限り、課題開始時から正しい選択を行う事はできないはずだからである。例えば学習課題 1 においては、十字型の模様が印刷された視覚刺激を記憶し、選択し続ける必要性がある。

そこで次に、記憶の種類にはいくつかの異なる形態がある (Squire, 2004) ことを考えると、今回の視覚弁別課題において、どのような記憶形態に依存して課題を遂行していたかが問題となる。遅延反応課題など、反応までの間に一定の遅延時間を設けるような課題では、短期記憶、中でもワーキングメモリ (作動記憶) と呼ばれる記憶が活用されるということが指摘されている (Takeda and Funahashi, 2004)。今回の実験では、試行間隔は 10 秒ほどであったため、このワーキングメモリに基づいた戦略を使用していたことも考えられる。つまり、学習が進むにつれて、直前の試行が正反応であった場合、それを次の試行までの間、短期的に記憶しておき、それを利用して連続的に正反応を続けていくという戦略を採用していたという可能性である。しかしながら、本実験で、課題の学習が進み後半のブロックに近づくにつれ、毎ブロックごとの実験において第 1 試行目から正しい選択が可能であったということを考えると、動物は視覚刺激の図面を長期記憶として記録していた可能性が高い。また、この後の考察「視覚弁別課題の解決戦略」の項で述べるような事実とあわせて判断すると、短期的な記憶というよりも、長期記憶を主に使用する記憶学習課題であったといえる。

4 - 2 - 2. 視覚弁別課題の解決戦略

動物側にとって、課題を遂行するにあたり使用可能な戦略は主に2通りある。以下に学習課題1を例に挙げて議論する。第一に、1種類の報酬カードを記憶してそれを選択し続ける戦略がある。そして第二に、12種類の中性カードを記憶してそれを避け続けるという戦略である。この場合、前者の戦略のほうが、認知的な付加は小さくなるため、学習も容易に進むと考えられる。そこで、サルが実際にはどちらの戦略を採用しているのかを明らかにするために、学習が完成した後（15ブロックの実験終了後）に、12枚の中性カードに含まれていない新規のデザインの中性カードと共に、報酬カードを対呈示してみた。学習完成後にこの観察を行った理由は、この追加実験を行う事による本試験への干渉効果を排除するためである。その結果、どの個体も反応潜時はやや延長したものの、100%に近い割合で報酬カードを選択可能であることがわかった（データ非掲載）。これは、動物が1枚の報酬カードを記憶し、それを選択するという戦略を採用していることを示唆している。なぜならば、12枚の中性カードを記憶してそれを回避しているのであれば、新規に加えられた中性カードを回避することはできないからである。また、報酬カードを対呈示せず、2枚とも中性カードを使った対呈示を行うと、動物は常動行動を初めとするストレス性の反応を強く示した。以上の議論から、今回の実験では、動物はより認知付加の少ない戦略を採用していた可能性が高い。ただし、動物が上記2つの戦略を併用して使用していた可能性は否定できない。認知負荷はそれだけ増大するが、その分確実な反応が保障されることを考慮すれば、どちらか1つの戦略に固執せず、複数の戦略を適宜利用していた可能性もありえるからである。その場合、老齢個体で記憶容量そのものが低減している（Moss, 1988）という事実は、認知負荷の増大が老齢群での弁別学習に時間を多く要したことのひとつの要因であると思われる。

4-2-3. カニクイザルの認知機能の流動性（課題解決戦略の変更）

本研究では、ROC ダイアグラムの解析により、老齢個体では視覚刺激の図面ではなく、刺激のおかれた位置に基づいて選択を行う、位置偏好性がみられる傾向があることが明らかになった。若齢個体でも課題遂行初期にはこうした傾向が見られることがあったが、比較的すぐに位置に基づく判断から脱却することができた。しかしながら老齢個体では位置偏好性の状態に長くとどまる傾向が見られ、一種の固執性（perseveration）が伺われた。そして今回さらにこの傾向をより明確な形で比較できるようにするために、次のような解析も行った。図 12 [pp.44]のように、ROC ダイアグラムの位置偏好性を表す領域である領域 A, C 内を、5つのブロックに細分し、各エリアに図 12 [pp.44]のように点数を振り当てた。こうすることによって、同じ領域 A, C 内にあるプロットについても、さらにどれだけ位置偏好性に違いがあるかを明確にすることができる。つまり、図 9, 10 [pp.33, 35]で示された ROC ダイアグラムにおけるプロット分布だけからでは、同一領域 A に 2点(0.3, 0.3)と(0,0)がある場合、どちらも左方向への位置偏好性を表しているが、後者の点のほうがより強い位置偏好性を示していることが差異となって反映されない。そこで、図 12 [pp.44]のように、右方向への位置偏好性は横軸方向へ行くほど強いということから、ダイアグラム右外側に向ってエリアを細分し、外側ほど高い得点を割り振った。また、左方向への位置偏好性は縦軸下方向ほど強いということから、ダイアグラム下方向に向ってエリアを細分し、外側ほど高い得点を割り振った。これにより、領域内における位置偏好性強度の差異を数値化することができる。先の例であれば、前者が 2点、後者が 5点となり、後者のほうがより強い左位置偏好性を示すプロットであったことがわかる。このような方法で、学習課題 1 と 2 について領域 A, C 内にあるプロットに得点付けを行い、個体ごとにその総和を求めた。これを「位置偏好性強度指数（Position preference degree）」と定義し、縦軸に再プロットしたものが図 13(a, b) [pp.45]である。この方法で、より統計学的方法で、位置偏好性を検定することに

した。

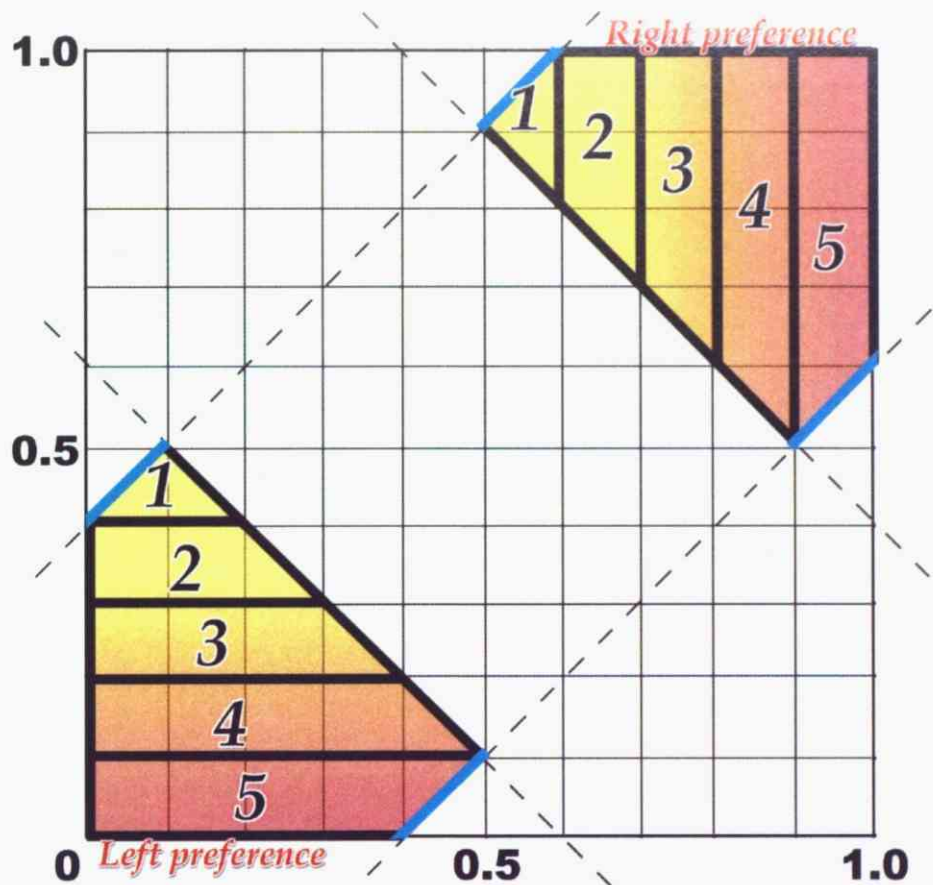
学習課題 1 において、図 9, 10 [pp.33, 35]の ROC ダイアグラムからは、老齢個体群においてより多くのプロットが位置偏好性を示すエリアである、領域 A, C に分布しているように見えた。しかし、上述した方法で算出した位置偏好性強度指数の比較では、老齢群においてやや位置偏好性が強い傾向が見られたものの、統計学的な有意差を見出すには至らなかった ($P=0.192$; Welch の検定) 図 13a [pp.45]。そして学習課題 2 においても、若齢個体と老齢個体間において明らかな有意差は認められなかった ($P=0.542$; Welch の検定) 図 13b [pp.45]。P 値から評価すると、学習課題 2 においては、学習課題 1 に見られたような位置偏好性の違いの傾向もなかったとあって良い。

図 9, 10 [pp.33, 35]の ROC ダイアグラムからは一見、老齢個体での位置偏好性が強まっている様子が明瞭であるようであったが、これが位置偏好性強度指数の差として反映されなかった原因のひとつとして、同じ年齢群内での分散が大きくなってしまったということが挙げられる。つまり、若齢個体群においても老齢個体群においても、位置偏好性を示した個体と示さなかった個体がばらついて存在していたということである。しかも今回のような検定方法を用いると、領域 A, C にまったくプロットが存在しない場合は、位置偏好性強度指数が 0 点となるのに対して、1 プロットでも領域 A, C に入ってしまうえば、高い強度指数を表すことになってしまい、ここでも分散が大きくなってしまわざるを得ない。例として#Y004 を挙げれば、学習課題 1 においてプロット自体は 3 点ほど、つまり 3 ブロックほどで位置偏好性から脱却しており、他の老齢個体のように長期間位置偏好性のエリアにとどまっていることがなかった。しかしながら、1 プロットあたりの位置偏好性強度指数の値が大きくなってしまいうため、結局若齢個体群全体の指数値を上昇させてしまうのである。このことは老齢個体群においても当てはまることであるし、学習課題 2 においても同様であった。こうしたばらつきがもたらす統計学的評価への影響は、動物の個体数を増やすことにより、ばらつきが解消されより

明確な形で位置偏好性の影響を判定できると思われる。

次に連続した学習課題において、何らかの成績への影響があったのかを判定する指標のひとつとして、同一年齢群内において学習課題 1 と学習課題 2 との間で、位置偏好性強度指数の平均値を比較してみた。その結果学習課題 1, 2 の前後において、位置偏好性は若齢群よりも老齢群において、やや改善傾向があることが明らかとなった（若齢群 : $P=0.782$ [Student の t 検定]、老齢群 : $P=0.460$ [Student の t 検定])。このことは、後述するように、先行する類似学習経験がその後の学習課題遂行を加速した背景に、位置偏好性からの脱却が大きく関わっていることを示唆している。しかしながら、位置への固執性の改善傾向が見られたとはいえ、依然として老齢個体群で若齢個体群よりもやや位置偏好性の強い傾向が見られたという事実は、加齢と共に変化する認知機能が、ある程度の可逆性を持つものの、臨界的な水準を含みうる可能性があることを示している。このような老齢個体に見られる固執性は、他の研究者も報告しており (Itoh et al., 2001)、今回の結果はそれに近いものと考えられる。こうした固執性は、誤反応を抑制するなどの過程を経て消去されていくと考えられる。課題の成功・失敗の情報に基づいて、次の反応を変化させていく流動的な認知機能は、主に前頭前野がかかわっていると思われる (Baddeley, 1992; Curtis and D'Esposito, 2003)。ヒトの症例でも、前頭前野に傷害を受けた患者では、ウィスコンシンカードソーティングテスト (WCST) などの課題において、固執傾向が強まることが報告されている (Craik et al., 1990)。これは後述するように (考察 : 「視覚弁別学習に関与する脳部位」参照)、特定の反応を抑制することができなくなっているために起こると考えられている。例えば老齢個体では、Go/No-Go 課題において、No-Go 試行で成績が落ちることが報告されている (Itoh et al., 2001)。実際に、脳の解剖学的な加齢変化において前頭前野は影響を受けやすく、最も萎縮の進行しやすい箇所でもあることが知られている (Hedden and Gabrieli, 2004)。これらのことから老齢個体で位置偏好性に固執する理由のひとつとして、加齢に伴う前

頭前野の組織学的な変化により活動の低下を招き、誤反応に結びつく行動を抑制することが行われにくくなっていることが考えられる。しかしながら今回実験に用いた老齢ザルの MRI 所見からは器質的な異常変化は観察されなかった。ただしより鮮明な MRI 画像を撮影し、精密な ROI 検定評価を行うことで、前頭前野において若齢個体と差が見つかる可能性は大きく、次への課題として残されている。



$$\text{Position Preference Degree} = \sum_{i=1}^5 (i \times x)$$

i : point score

x : plot numbers in ROC sub-area

図12 位置偏好性強度指数の算出方法

位置偏好性の度合を数値化して比較検定するため、次のようにして位置偏好性強度指数を定義・算出した。位置偏好性を示す、色付領域に含まれているプロットについて、図のように得点付けによる差異を設けた。左偏好性(Left preference領域)ではダイアグラム下方に近く、右偏好性(Right preference領域)では横軸に近いほど強い位置偏好性があることを示すため、それぞれ対応する軸に近いほうが高い得点となるように、1~5点までの5領域(sub-area)に分割する。次に、図9, 10においてこの領域に含まれている点について得点の総和を算出する。隣接するsub-areaにあるプロットについては、より得点の低いほうを採用する。例えばプロット(0.4, 0.1)ならば4点である。ただし、図中青実線で示された部分にあるプロットについては、チャンスレベルを超えた成績のプロットであるとみなし、位置偏好性強度指数算出には含めなかった。