

持続時間 (corner visit, nosepoke and lick)、マウス ID とコーナーID が、RFID-動物個体識別、赤外線センサーと Lickometers を通して、自動的に記録される。

### (3)acclimation

3つの研究室で、セッションの回数や時間といった小さな条件以外は、同じプロトコルを使用した。プロトコルは UT で開発されて使われていたもので、JMU と UZH はそれを変更して用いた (図 2)。彼らは、複雑な一連の決められた動作を、グラフィックプログラミングを提案する IntelliCage designer program を使用してプログラムした。

RFID タグがついたマウスは、IntelliCage に入れられ、3日間自由に全てのコーナーを探索して、好きに水を飲むことが出来るようにした。

次に、計6日間で nosepoke をして水が飲めるようになる。水ボトルの前の全てのゲートは最初閉じており、マウスがゲートを開け水を飲むためには nosepoke をする必要があるようにした。チャンバーのコーナーに入った後、最初の nosepoke 反応でゲートは開き、4秒後に閉まるようにした。初日は、マウスが nosespoke をすることによって、いつでも水を飲むことができる。その後は、22:00~1:00 までの3時間以外の時間帯に nosepoke をしてもゲートは開かない。この3時間の間、ケージの外側に取り付けた LED の青

色の発光ダイオードを薄暗く点灯させて、水が飲める時間を知らせる。同様に、マウスがコーナーに来た時、LED の赤色の発光ダイオードがコーナーで点灯する。この条件に4つの順応する間、どのマウスも4つのどのコーナーでも水が飲める。各コーナーに対する嗜好性は20~30% (chance level は25%) で、これは、どのマウスも全てのコーナーに均等に出入りすることを示唆している。

### (4)初期学習

#### (reward-driven corridorshutling task)

acclimation 後、4つのコーナーの位置を利用した空間学習課題、'reward-driven corridorshutling task' が動物に課された。この課題は、IntelliCage システムの graphic task designer program を使ってプログラムした。全てのコーナーの全てのゲートは閉じられ、そのシステムは、1日の3時間 (22:00-1:00)だけ nosepoke に反応する。マウスは、プロトコルに従って正しく実行したときのみ、水を獲得できる。この課題は、ケージのマウスの数に依存して平衡を保つので、特定のコーナーにマウスが集中しないようにした (つまり、ケージ内の12匹の中で、うち6匹はコーナー1、3が正解。他の6匹はコーナー2、4が正解なので、カウンターバランスがとれている)。

報酬である水(最初に nosepoke した後の4秒間)は、正解として配置され

たコーナーにマウスが入ったときのみ与えられる。次に正解として配置されたコーナーは、対角線上に反対側のコーナーで、マウスは同じ場所に再度入ったり近くのコーナーに入ったりすると報酬を得られない。マウスが続けて報酬としての水を飲むためには、対角線上に反対側のコーナー間を行ったり来たりすることを学習しなければならない。このルールは、マウスが一つのコーナーに留まって報酬を得るという戦略を持つことを防ぐので、このプロトコルの1つの重要な特徴である。このようにして、‘reward-driven corridor shuttling task’は、7セッション行われた。UZHでは、動物保護規定によって、12時間以上水を与えないことが許されないので、プロトコルを1日に2セッション（11:00-12:00 と 16:00-17:00）に変更しなければならなかった。

#### (5)反復逆転課題(serial reversal task)

その後、一連の reversal 課題をマウスに課した。報酬の対角線上空間パターンや報酬のないコーナーは、全ての4セッションないし7セッションごとに繰り返し逆転させた。このように、マウスは、2つの対角線上間で入れ替わることを学習しなければならなかった。UTでは、最初の空間学習課題の7セッションと11 serial reversal セッションを含む、合計57セッション（1日1セッション）が実験に導入された。JMUでは、合計14と29セッ

ションが B6-JMU と ICR-JMU それぞれに実行された(各、3と4 serial reversal)。UZHでは、40セッション（1日2セッション）が行われた（4serial reversals）。

#### (6)行動試験の測定項目

本研究では、マウスの corner visit は、nosepokeに関わらず chamber のコーナーに入ることと定義する。各セッションの記録は、次のスコアを計算するために使われる。Discrimination error rate = (number of incorrectly visiting the never-rewarded two corners within the first 100 choices in each session) x 100; Alternation score = (number of alternative visits within the specific diagonal (rewarded or never-rewarded) / total visits in a session or choice block) x 100. (図3, 図7(B)と参照図3参照)。

Discrimination index =  $10 - (\text{number of errors within ten choices}) \times 10$ 。このインデックスは、within-session learningの動力の解析を目的とする。

上に述べられた学習スコアは、UZHでは各セッションの全 visit のデータを用いて計算したが、UTとJMUでは各セッションが長時間になることから生じるやる気の無い反応を最小限にするために、最初の100回の visits から計算した。

#### (7)統計解析

対数曲線や  $R^2$  value は、Excel 2002 (Microsoft) を使って計算した。行動

スコアの平均値の差の統計解析は、SAS を使って行った。セッション中の訓練の被験者間効果を評価するために、要因としての反応のブロックもしくはセッションを重複測定分散分析法 (ANOVA) で解析した。多重比較は、Dunnett's test を用いて行った。P-values 0.5, 0.01, 0.001 の統計的有意差を考慮した。

## C 研究結果

### (1) 初期学習の獲得

Reward-driven corridor shuttling task では、空間学習能力が2つの指標で表される。一つは、2つの対角線上の空間パターンを識別することによるもの (discrimination error rate) で、もう一つは win-shift strategy の獲得であるシャトル行動によるもの (alternation score) である。

Discrimination error に関して、discrimination error rate が明らかに線形に下がる傾向が B6-UT で見られた (Fig.3A) ( $F=49.77$ ,  $df=6/49$ ,  $p<0.0001$ , repeated measure ANOVA)。Error rate における明らかな減少がセッション2から4まで起こり (ANOVA, Dunnett,  $p<0.001$ .)、セッション6と7では、error rate は10%以下まで落ちた (図3A と5A)。シャトル行動に関しては、この課題で特定の対角線の2つのコーナー間で行き来するという行動が向上することが分かった。その alternation score は、徐々に伸びて、セッション7では、約75%に達した (図

3B)。

われわれは、異なる3つのそれぞれの研究室で、違う系統の違う週齢の8集団マウス全てが、明らかな学習曲線を表し、明らかに error が線形に減少する傾向することを見出した ( $p<0.05$ , respectively, one-way repeated measures ANOVA with session as a factor) (参照図1参照)。最初の3セッションの Error の減少は系統や年齢や研究室によって変化するが、セッション4以降は、全ての集団のマウスで高く有意に減少することが分かった (参照図1)。

### (2) 反復逆転課題

マウスの逆転課題への適応は、discrimination error rate (50% chance error) を用いて表すことができる。われわれは、まず、セッション間のパフォーマンスを分析した (図4)、これは、3つの研究室の3つの B6 マウス集団の示した代表的なデータである (他の集団の参照図2も参照)。獲得フェーズの最後のセッションと最初の reversal フェーズの最初のセッションとの比較において (Rev 1)、discrimination errors は大幅に約60%増加しており、それは chance level の50%を超えている (セッション8, 9 と5はそれぞれ図.4 (A), (B), と (C))。しかし、全ての集団は、最初の学習フェーズで見られるように、Rev1 において、次のセッションの間に、明らかな error の減少を示した。この error の減少の学習曲線は、その後の reversal

フェーズで必ず見られた。

さらに、各 reversal フェーズの最初のセッションでの discrimination error の継続的な向上が、一連の reversal の繰り返し訓練の効果を示している漸進的な reversal フェーズでも観察される。図 6 に示したように、一連の反復逆転課題におけるこの漸進的な弁別行動 (discriminative performance) では、Rev.2 とその後のフェーズから全ての 8 集団で、明らかな線形の error 減少傾向が観察される ( $p < 0.05$ , respectively, repeated measures ANOVA)。

次に、セッション内のパフォーマンスを詳しく分析した。図 5A には、B6-UT マウスの特定のセッションの最初の 100 visits での error 累積数を示した (参照図 3 参照)。われわれは、獲得フェーズの最初のセッション (セッション 1) 中の行動のばらつき (変動性) が緩やかに増加していることを見出した。これは恐らく個体差を反映しているが、error 数は、chance value (=50, green line) の下で留まっていた。これに対し、Rev 1 の最初のセッション (セッション 8) 中では、error 数が chance value を超えている。次の reversal フェーズ (Rev 2) の最初のセッション (セッション 15) では、セッションの最初の半分の error 累積数は、chance value を超えたままで、次の半分では chance value の下まで減少している。さらに、alternation score は、マウスの順応過程を明らかにしている (参照図 3)。セッション 15 の最初の

数十もの反応で、マウスは never-rewarded diagonal corridor でシャトル行動を示したが、セッションの最後の半分では rewarded diagonal に切り替えるようになった。

次にわれわれは、各 reversal フェーズの最初のセッション内の弁別指標スコア (discrimination index score) を示した (図 5B)。漸進的な向上は、reversal フェーズが進むにつれて、うまく裏付けられる。さらに、対数曲線は、reliable  $R^2$  value が高い一連の reversal フェーズ (Rev 1,3,5,7,9,と 11) の初日の各セッション内における向上したパフォーマンスをモデル化するための弁別指標 (discrimination index) と一致している。Rev 9 の最初では、マウスはまだ間違ったコーナーを訪れているが、最初の 10 回では、discrimination error rate はすでに明らかに減少している (図 7)。新しい reward diagonal でのシャトル行動もすぐに始まることが分かった (図 7B と参照図 4, 3 参照)。

## D 考察

本研究で、われわれは IntelliCage を用いてマウスの空間認知と行動の柔軟性 (Behavioral flexibility) を評価する全自動の行動テストプロトコルを確立した。このテストは、“reward-driven corridor shuttling task” (RCST) と名付けられた空間識別学習とその一連の reversals から構成されている。その結果、マウスの学習能力は、

これまでの研究方法よりもより短期間で、ほとんどばらつきなく評価することができることが分かった。特に、その顕著な成果は、われわれがこれまでうまく評価できなかったマウスにおける行動の柔軟性 (behavioral flexibility) 評価系を確立し、マウスの反復逆転課題に対する順応性は、反復逆転の最後まで向上し続けることを見出したことである。さらに、この課題の信頼性は、異なる系統の異なる週齢のマウスを使用した研究室間の比較によって検証された。

## 1.空間学習、behavioral flexibility と reversal learning-set の行動指標

### 1.1 空間学習

RCST において、マウスは、短期間にほとんどばらつきなく、報酬のある2つのコーナー (rewarded corners) と報酬のないもう2つのコーナー (never-rewarded corners) との場所を区別した。その課題の "shuttling rule" は、その理由を説明するために重要である。一度マウスが1つの報酬のあるコーナーで報酬を獲得すると、そのコーナーは、“機能しない”状態になり、同時に、その対角線上の反対側の報酬のあるコーナーが、“機能する”状態になる。このように、マウスはいつも、報酬を獲得するためには、近くの報酬のないコーナーに入ることを避けて、離れた場所にある報酬を獲得できるコーナーとの間を行き来しなければ

ならない。このルールは、マウスにとって複雑そうだが、マウスのシャトル行動自体が数セッションで明らかに形成されていくことにより、空間学習が容易になるということが分かった。

対照的に、場所が固定された1つだけの報酬コーナーを選択することが要求されるといった、これまでの IntelliCage を用いた空間学習は、マウスにとっては簡単そうに見えるが、実際は学習に時間がかかる (Mechan et al., 2009)。他の空間学習パラダイムと比較すると、種や実験計画や指標が異なるにもかかわらず、RCST の学習曲線は、Morris の水迷路 (e.g. Gass et al. 1998; Plath et al. 2006; Chen et al. 2007) や他の迷路課題 (e.g. Lewejohann et al. 2004; Dillon et al. 2008) で観察されたものと似ている。しかし、後述のように、現在 IntelliCage を使用した空間学習課題は、全自動システムでマウスに早く学習させることができるという明らかな利点がある。

### 1.2 Behavioral flexibility

行動の柔軟性 (もしくは認知的柔軟性) behavioral (or cognitive) flexibility は、変化した「行動と結果の随伴性」 (action-outcome contingency) に対し、その行動の傾向を素早く再構成する能力と定義される (Harries et al., 1998; Clarke et al., 2004)。

これは代表的な知的行動の機能的要素であるため、多くの研究者たちは人間やサルでこれを集中的に研究し

た(Miller and Cohen, 2001; Badre 2008; Johnston et al., 2007)。げっ歯類の behavioral flexibility の似たような報告は、ラットでよくみられるが(e.g. Birrell and Brown, 2000; Stalnaker et al., 2007; Boulougouris and Robbins, 2010)、マウスでは極めて少ない(e.g. Vyssotski et al., 2002)。この RCST パラダイムでは、われわれは一連の reversal 学習として報酬のあるコーナーと報酬のないコーナーの空間パターンを交互に繰り返している。

図4に示したように、パターンを逆転した直後は、マウスの error rate が劇的に増えるので、それはマウスが前のルールに固執していることを示している。しかし、その後の数セッションでは、error rate は減少を続けており、それはマウスの行動が新しい空間パターンに柔軟に適応したことを表している。特に、この明らかな動的な適応行動は、ほとんどばらつきがなく反復逆転課題の過程で繰り返し見られる。Behavioral flexibility がうまく機能していない状態は、げっ歯類が脳を損傷した後によく観察されているが、実験で正常なマウスを定量化することは難しい。例えば、水迷路のプラットホームの位置を移動させると海馬に損傷のあるマウスは、ほとんど識別できない。しかし、正常なマウスでは、個体ごとに異なる反応を示す。何匹かは以前にプラットホームが置かれていた場所を長い間探しており、他のマウス、特に B6 マウスでは素早く以前

にプラットホームが置かれていた場所を探すことをやめて、他の探索方法を採用する(Vootele et al., 2004)。空間記憶の消滅と behavioral flexibility の両方を含むこのような水迷路行動は、どちらかのプロセスに留意するので、測定の解釈に曖昧さが残る。

対照的に、IntelliCage プロトコールは、familiar spatial framework でテストを行っている。このプロトコールの reversal procedure は、空間記憶の消去を要求しない。このように、reversal leaning プロセスを測定する上で、spatial reversal performance の継続的な観察は、より優れていると思われており、かつ時間的に制御可能なアプローチだと思われる。実際、図5に示される error の累積数によって明らかにされるように、逆転課題の初期では、マウスはあらかじめ学習した行動と結果の随伴性(action-outcome contingency)によって学習した内容をより選択し、そしてそれは後から抑えられていく。このように、獲得や RCST の reversal の際の累積 error の学習曲線は、マウスの行動の behavioral flexibility に対し、便利で測定しやすい time-lapsing'-like index を提供し、それは後に続く反復逆転課題の中でさらに精密なものになっていく。われわれは、これが behavioral flexibility の機能障害を検出するのに極めて有効な新しい指標である。

### 1.3 Reversal learning-set

今回得られた中で最も興味をそそる指標は、rule learning を反映している、「逆転課題への適応が漸進的に増大すること」を示したものである。実際、B6-UT データに繰り返し示されるように、マウスは最初の 10 から 20 回の選択の間に、新しい空間パターンに迅速に適応する (図 7A と参照図 4)。この現象は reversal learning-set の形成を反映していると考えられる。

‘learning-set’ という言葉は、サルなどに見られる、物の識別と同時に起こる学習率の漸進的な向上、として定義される。一度サルがそれを獲得すると、サルは新しい物の形状の識別に関して優れた能力を発揮する (Harlow 1949, Reid and Morris 1993)。これは、サルが課題を特徴づけるルールを理解したことを示している。特に、reversal learning-set は、一連の reversal 課題に対して異種間でも見られる漸進的な向上として記述される現象である。それは、サル (Schusterman, 1964; Schrier, 1974)、アシカ (Schusterman, 1966)、鳥 (Bond et al., 2007; Ward et al., 2008) やラット (van der Plasse & Feenstra, 2008) で報告されている。われわれの知る限り、この報告は、マウスが reversal-learning-set の形成を証明した最初の報告である。

すなわち、knowledge-based learning の発展は、マウスが新しい状況に対して以前学習したルールを用いることを可能にする、ということである。

## 2. 研究室間の比較

異なる研究室から得られた結果を比較することによって、われわれは空間学習、逆転課題、反復逆転課題の際の反応が、すべての研究室のすべての系統で、再現できることを示すことができた。全ての研究室に共通することは、reversal set の初期の高い error に続く RCST を獲得している間の error score が減少すること (参照図 1) と、反復逆転課題に対する適応反応も向上し続けていること (図 6) である。

しかし、特にチューリッヒ大学では、他の研究室と比較すると、学習過程の basic dynamics は保持されたが、若干成績の向上に問題があった。チューリッヒ大学では動物保護の観点から水を奪う時間が制限されたので、プロトコールの変更を余儀なくされた。チューリッヒ大学の成績は、マウスのモチベーションが下がったことに起因するのかもしれない。On must な状態は、試行の最初の 100 visit の値を基にしている。それに続くマウスの visit では、もはや喉がかわいておらず、各コーナーの探索行動を単純に反映している (それは報酬のない条件下でも自然に起こる)。このように、十分な断水時間は使用されたプロトコールにおいて、重要な要素となる。

日本の研究室間における軽微な差異にはもっと繊細な理由があるかもしれない。可能性としては、報酬が与えられる時間帯を示すために、外から光シグナルを与えたことが、UT にお

けるマウスの最小誤差がとても小さかったことに貢献したと考えられる。これらの追加シグナルは MJU や UZH の実験では存在しない。この実験は研究室間での比較を評価する（全てのマウスを同じ場所で育てるとか、一緒に仕入れるとか、また他で詳細に記述されているような要求事項（参照）などの、より実施上の努力を要するといったようなこと）ために意図されたものではない。むしろ、我々はプロトコルの頑強さや誤差の可能性を知るため、特定の環境の変化を維持することに興味をもって行った。

総合すれば、我々の示したこの新しいプロトコルはかなり頑健で、ケージの場所や数、テストルームで外からのシグナルから遮断するといったような環境の標準化を厳格に行うことで、より良い matching score が可能であるともいえる。言うまでもないことだが、そのような同質性は通常のマウス実験では実現されていない(Wolfer et al, Nature, Krackow et al., GBB)。

### 3 IntelliCage の利点

伝統的な手法や個々のマウスに対する半自動化されたテストと比べると、IntelliCage を使用した場合、われわれの試験プロトコルは明確な利点を持っている。まず、全自動化されたシステムは、以下の可能性を改善させる：(1)マウスのハンドリングは最小化される。マウスは人間のハンドリングに対してネガティブに反応する

ので、この手続きは行動テストでの結果をかなり悪化させる（後述）。(2)マウスは社会的文脈でテストされる。同系交配のマウスの中においても新しい試験装置に単体で置かれたときには行動的な反応にはかなりの差異がある。逆に IntelliCage 内のマウス行動は、反応が非常に少なく、ケージの中の出来事に集中する。社会的文脈は社会的階層により行動のばらつきを誘発するかもしれないが、それについては詳細にデザインされた研究室間比較の実験により重要性は低いということが示されている(Krackow et al, 2010)。主テストの再現性については、3つの研究室にまたがった実験の結果において一致している。(3)個々の行動特性のばらつきは、日々偶然起こりうる行動のばらつきと区別できる。なぜならこのシステムは継続的に繰り返し、それぞれのマウスを観察しているからである。このように、長く持続する遺伝的、後生的な個性はいち早く認識され、実行される学習に対する影響はここに示す通り定量化可能である。(4)最後に、IntelliCage のシステムは非常に効率的である。なぜなら、完全に自動でかつ多くのマウスを同期して人間の監督なしで実験することが可能であり、またここで示されているよりもっと長期間の実験も可能だからである。自動化された単一の装置であっても、このプロトコルでテストされたパラダイムを、この実験と同じような数のマウスを使用して実験する

ことは不可能だった。

ケージ以外の環境といった環境の標準化によって、さらに標準化できるかもしれないが、それは実質的理由としてはおそらくそれほど重要ではない。全体の実験手続きは、テスト結果の継続的なオンライン観察に結びついた完全自由化のために、非常に信用でき、また効率的である。今後われわれや他の研究室で行われる解析では、それはもっと短くなるだろう。それらは別の血統の、遺伝子操作されたマウスを用いた、より高度な行動/認知プロセスの分析や、実験的環境的操作の影響を診断する上で有用である。

## E 結論

1. どの研究室にも適用可能な IntelliCage プロトコールを用いることにより、場所記憶の獲得や Dynamics を含めたマウスの認知の計測が可能になる。このように、このプロトコールによりユニークで詳細な統制条件での場所記憶能力や、behavioral flexibility や、(これまではマウスでの評価が難しかった) さらにハイレベルな認知プロセスに対する、分析を行うことができる。

2. このプロトコールは、3つの異なる研究室での実験で、意図的にもしくは法的要件から環境が異なっている中で、共通した (B6) マウスと他の血統のマウス (D2 と ICR) の両方

を用いて実験をした結果、類似したパターンの学習が得られたことから示された通り、非常に信頼がおけるものである。

## F 参考文献

Bond A, Kamil A, Balda R. Serial reversal learning and the evolution of behavioral flexibility in three species of North American corvids (*Gymnorhinus cyanocephalus*, *Nucifraga columbiana*, *Aphelocoma californica*). *J Comp Psychol*, 2007; 121: 372-9.

Chen G, Chen K, Kobayashi D, Barbour R, Motter R, Games D, Martin S, Morris R. Active beta-amyloid immunization restores spatial learning in PDAPP mice displaying very low levels of beta-amyloid. *J Neurosci*, 2007; 27: 2654-62.

Chudasama Y, Robbins T. Functions of frontostriatal systems in cognition: comparative neuropsychopharmacological studies in rats, monkeys and humans. *Biol Psychol*, 2006; 73: 19-38.

Clarke H, Dalley J, Crofts H, Robbins T, Roberts A. Cognitive inflexibility after prefrontal serotonin depletion. *Science*, 2004; 304: 878-80.

Colacicco G, Welzl H, Lipp H, Würbel H.

- Attentional set-shifting in mice: modification of a rat paradigm, and evidence for strain-dependent variation. *Behav Brain Res*, 2002; 132: 95-102.
- Crabbe J, Wahlsten D, Dudek B. Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science*, 1999; 284: 1670-2.
- Dillon G, Qu X, Marcus J, Dodart J. Excitotoxic lesions restricted to the dorsal CA1 field of the hippocampus impair spatial memory and extinction learning in C57BL/6 mice. *Neurobiol Learn Mem*, 2008; 90: 426-33.
- Douglas RJ. Cues for spontaneous alternation. *J. Com. Physiol Psychol*, 1966; 62:171-183.
- Dudchenko PA, Davidson M. Rats use a sense of direction to alternate on T-mazes located in adjacent rooms. *Anim Cogn*, 2002; 5:115-118.
- Galsworthy M, Amrein I, Kuptsov P, Poletaeva I, Zinn P, Rau A, Vyssotski A, Lipp H. A comparison of wild-caught wood mice and bank voles in the Intellicage: assessing exploration, daily activity patterns and spatial learning paradigms. *Behav Brain Res*, 2005; 157: 211-7.
- Gass P, Wolfer D, Balschun D, Rudolph D, Frey U, Lipp H, Schütz G. Deficits in memory tasks of mice with CREB mutations depend on gene dosage. *Learn Mem*; 5: 274-88.
- Gerlai R. Phenomics: fiction or the future? *Trends Neurosci*, 2002; 25: 506-9.
- Goulding E, Schenk A, Juneja P, MacKay A, Wade J, Tecott L. A robust automated system elucidates mouse home cage behavioral structure. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008; 105: 20575-82.
- Harlow H. The formation of learning sets. *Psychol Rev*, 1949; 56: 51-65.
- Harries M, Samson N, Cilia J, Hunter A. The profile of sabcomeline (SB-202026), a functionally selective M1 receptor partial agonist, in the marmoset. *Br J Pharmacol*, 1998; 124: 409-15.
- Hill E. Executive dysfunction in autism. *Trends Cogn Sci*, 2004b; 8: 26-32.
- Knapska E, Walasek G, Nikolaev E, Neuhäusser-Wespy F, Lipp H, Kaczmarek L, Werka T. Differential involvement of the central amygdala in appetitive versus aversive learning. *Learn Mem*; 13: 192-200.
- Lewejohann L, Skryabin B, Sachser N,

- Prehn C, Heiduschka P, Thanos S, Jordan U, Dell'Omo G, Vyssotski A, Pleskacheva M, Lipp H, Tiedge H, Brosius J, Prior H. Role of a neuronal small non-messenger RNA: behavioural alterations in BC1 RNA-deleted mice. *Behav Brain Res*, 2004a; 154: 273-89.
- Mechan A, Wyss A, Rieger H, Mohajeri M. A comparison of learning and memory characteristics of young and middle-aged wild-type mice in the IntelliCage. *J Neurosci Methods*, 2009; 180: 43-51.
- Onishchenko N, Tamm C, Vahter M, Hökfelt T, Johnson J, Johnson D, Ceccatelli S. Developmental exposure to methylmercury alters learning and induces depression-like behavior in male mice. *Toxicol Sci*, 2007; 97: 428-37.
- Plath N, Ohana O, Dammermann B, Errington M, Schmitz D, Gross C, Mao X, Engelsberg A, Mahlke C, Welzl H, Kobalz U, Stawrakakis A, Fernandez E, Waltereit R, Bick-Sander A, Therstappen E, Cooke S, Blanquet V, Wurst W, Salmen B, Bösl M, Lipp H, Grant S, Bliss T, Wolfer D, Kuhl D. Arc/Arg3.1 is essential for the consolidation of synaptic plasticity and memories. *Neuron*, 2006; 52: 437-44.
- Reid I, Morris R. The enigma of olfactory learning. *Trends Neurosci*, 1993; 16: 17-20.
- Schusterman R. Serial discrimination-reversal learning with and without errors by the California sea lion. *J Exp Anal Behav*, 1966; 9: 593-600.
- Schusterman R. Successive discrimination-reversal training and multiple discrimination training in one-trial learning by chimpanzees. *J Comp Physiol Psychol*, 1964; 58: 153-6.
- Shad M, Tamminga C, Cullum M, Haas G, Keshavan M. Insight and frontal cortical function in schizophrenia: a review. *Schizophr Res*, 2006; 86: 54-70.
- van der Plasse G, Feenstra M. Serial reversal learning and acute tryptophan depletion. *Behav Brain Res*, 2008; 186: 23-31.
- Ward R, Kynaston A, Bailey E, Odum A. Discriminative control of variability: effects of successive stimulus reversals. *Behav Processes*, 2008; 78: 17-24.
- Wolfer D, Crusio W, Lipp H. Knockout mice: simple solutions to the problems of genetic background and flanking genes. *Trends Neurosci*, 2002; 25: 336-40..
- G. 図の説明

図 1. IntelliCage 装置の概略.

図 2. 実験計画.

図 3. 初期学習 (空間学習) の成績. (A) B6-UT マウスの初期学習 (セッション 1~7) の error 率を示した (他のコホートについては参照図 1). Error は、マウスがまったく報酬が得られないコーナーにアクセスしたことを示す。よって、chance value は 50 となる。(B) alternatively rewarded corners (交互に正解となる 2 つのコーナー) でのシャトル行動のパーセンテージ。\*は  $p < 0.05$  を示す。

図 4. 反復逆転課題での成績. 代表例として UT(A)、UZH(B)、JMU(C) の C57BL/6 マウスの error rate を示す。

図 5. 反復逆転課題の解析例. (A) セッション 1 と 7 (初期学習の初日と最終日)、8、15 (1 回目と 2 回目の逆転課題の初日) の 'time-lapsing-like' 曲線 (累積誤答数)。点線は chance value を示す (100 反応中 50 error)。 (B) 弁別指標スコア (discrimination index score)。log 曲線が高い信頼性でプロットにフィットしている。

図 6. 逆転課題の繰り返しによる漸進的な成績向上. (A) B6-UT; (B) young B6-UZH; (C) aged B6-UZH; (D) B6-JMU; (E) D2-UT; (F) young

D2-UZH; (G) aged D2-UZH; (H) ICR-JMU; (I) female B6-UT の全コホートの結果を示した。(A)(B)(D)は図 4 のデータを再計算したものの。

図 7. マウスにおける reversal learning set. (A) 第 1、第 2、第 8、第 9 逆転課題 (Rev 1,2,8,9) における、最初の 30 反応 (B6-UT)。各バーは 5 反応ごとの error を示す。(B) Rev9 初日におけるシャトル行動。不正解側 (黒丸) と正解側 (白丸) でのシャトル行動成功率。参照図 3,4 も参照されたし。

参照図 1. (A) young B6-ZRH, (B) aged B6-ZRH, (C) B6-JMU, (D) young D2-UZH, (E) aged D2-ZRH, aged ICR-JMU における初期学習の error rate.

参照図 2. (A) UT-B6 マウスのセッション 2、4、6 の 'time-lapsing-like' 曲線 (累積誤答数)。 (B) UT-B6 マウスの初期学習獲得時の正解コーナーへのアクセス率。緑の点線は chance value (=25%) を示す。

参照図 3. セッション 1 と 7 (初期学習の初日と最終日)、8、15 (1 回目と 2 回目の逆転課題の初日) におけるシャトル行動成功率 (B6-UT)。 alternative choices = (number of alternative behavior in either 'alternatively rewarded corners' or incorrect corners) / (total responses in choice blocks) X100.

参照図 4. セッション1と7(初期学習の初日と最終日)、8、15、47(1回目と2回目、9回目の逆転課題の初日)における、マウス毎の反応.

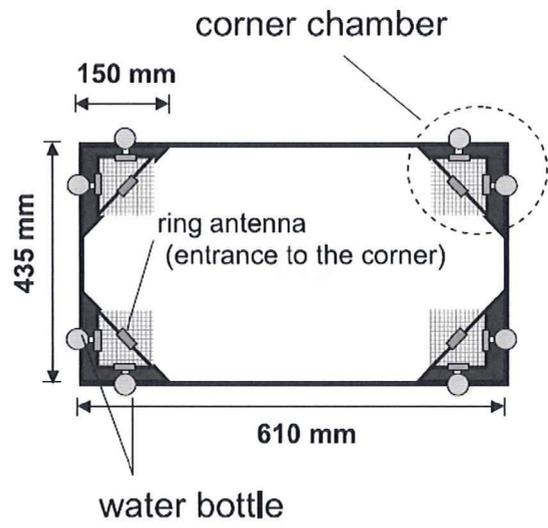


图 1.

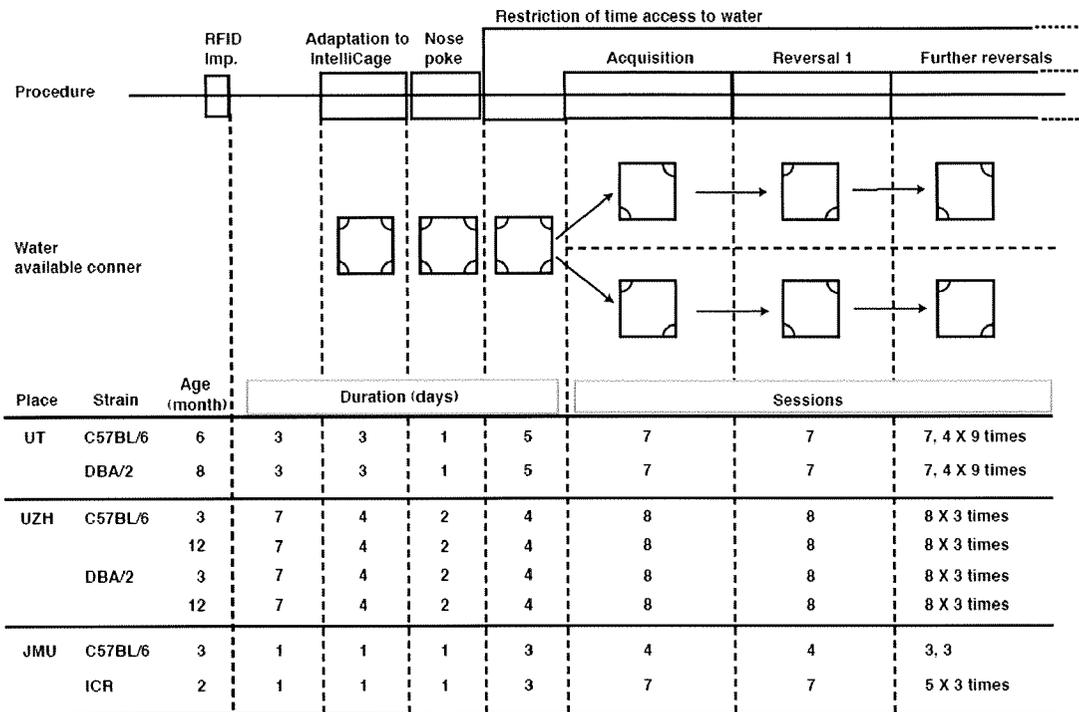
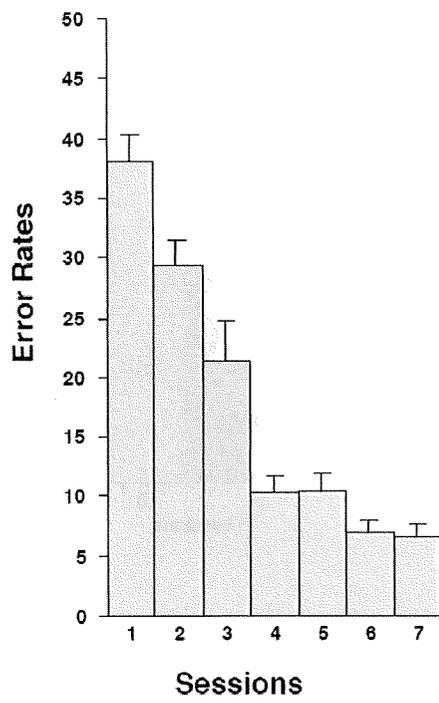


图 2

(A)



(B)

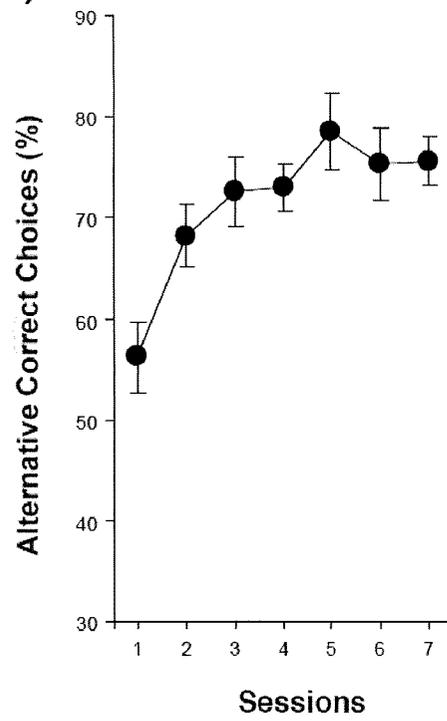


Figure 3

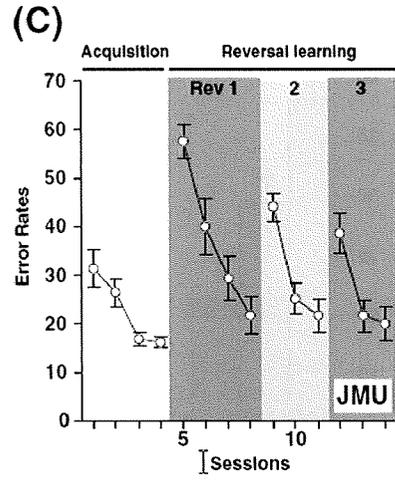
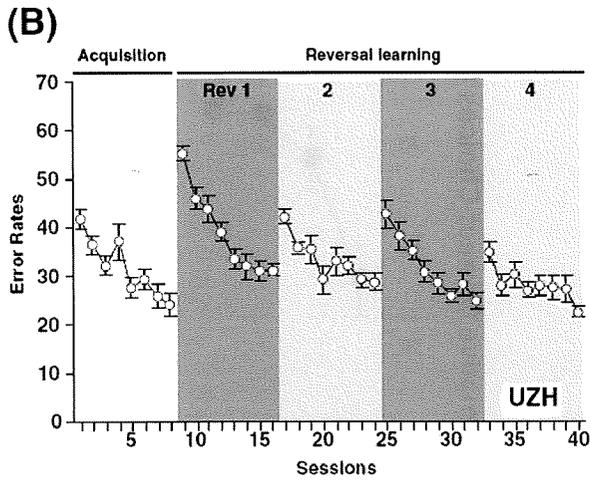
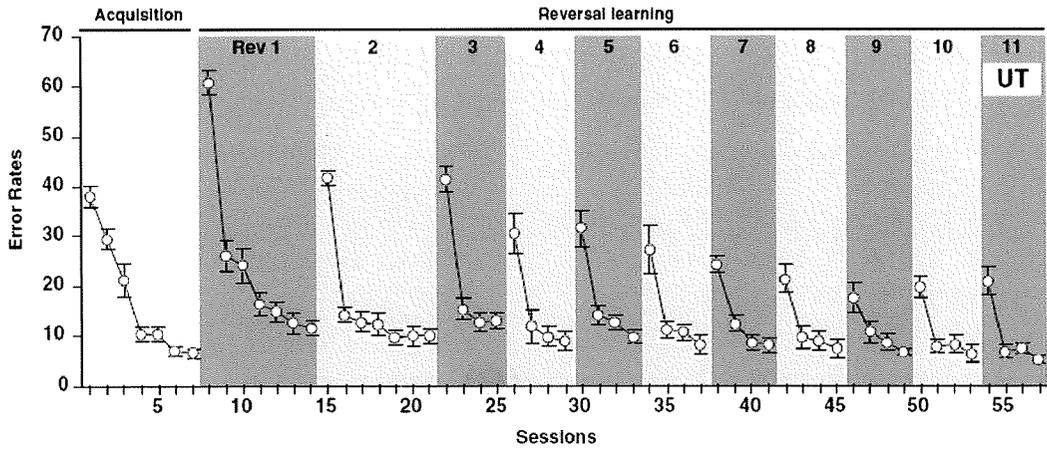


图 4

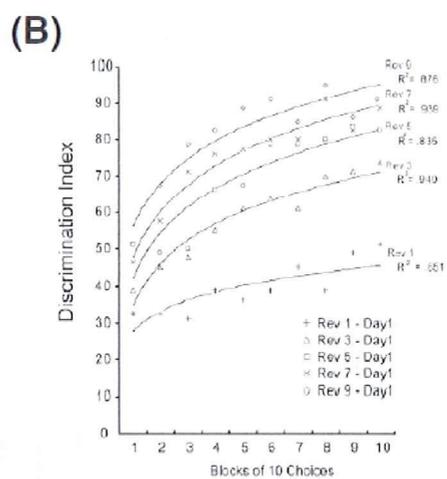
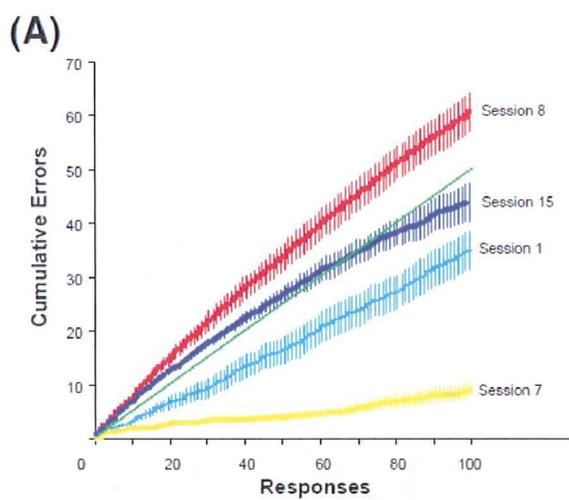


图 5

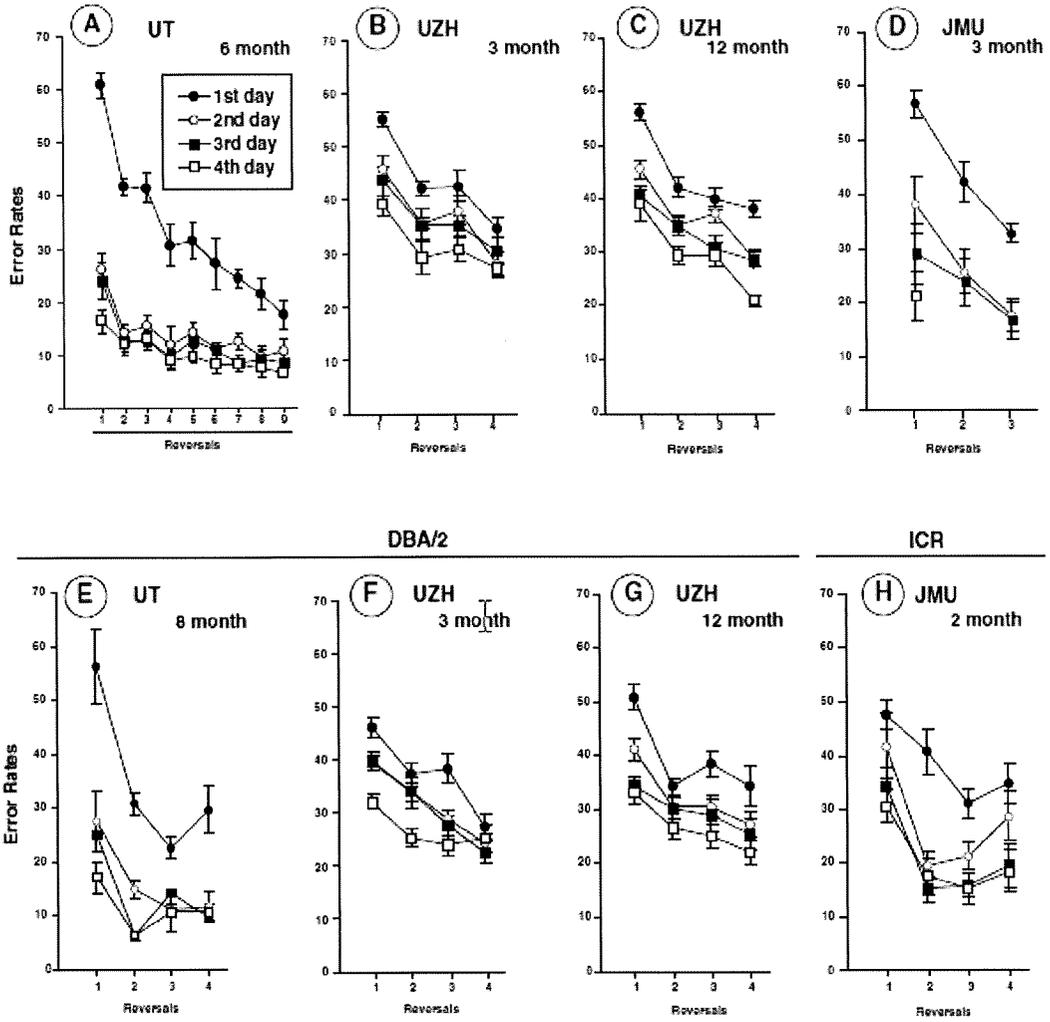
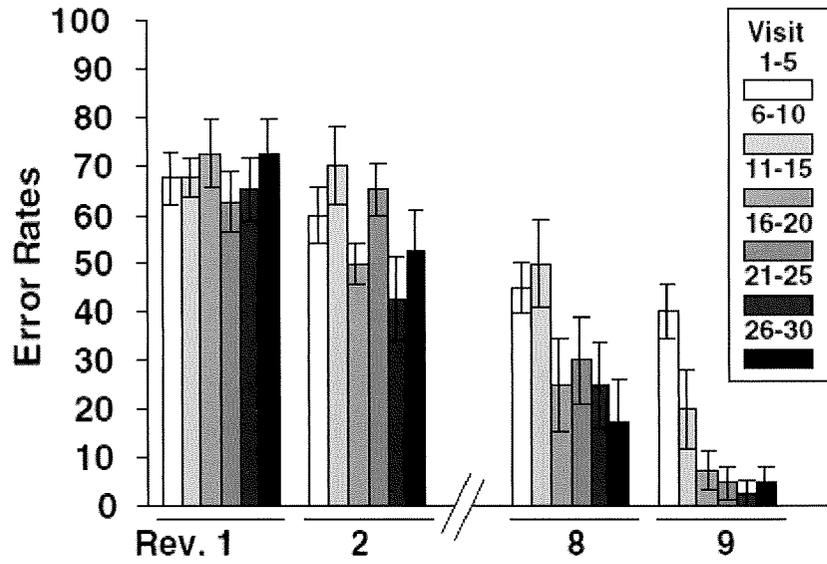


图 6

(A)



(B)

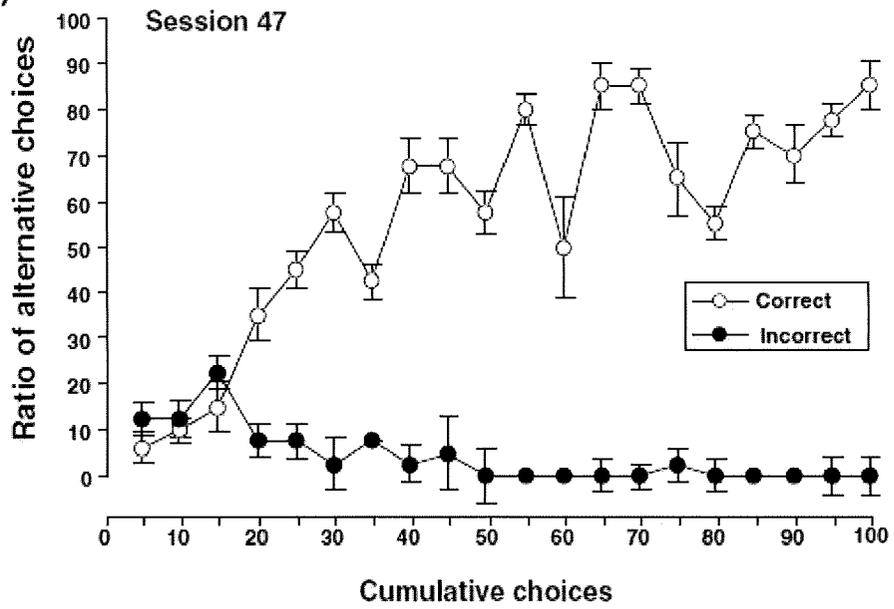


图 7