

NAIST-IS-DD1061013

博士論文

反応選択処理の競合に伴う  
動作配列への干渉の神経行動学的意義

鈴木 裕輔

2013年9月18日

奈良先端科学技術大学院大学  
情報科学研究科 情報生命科学専攻

本論文は奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科に  
博士(工学) 授与の要件として提出した博士論文である。

鈴木 裕輔

審査委員：

池田 和司 教授 (主指導教員)

金谷 重彦 教授 (副指導教員)

駒井 章治 准教授 (副指導教員)

# 反応選択処理の競合に伴う 動作配列への干渉の神経行動学的意義\*

鈴木 裕輔

## 内容梗概

環境の多様性は、そこに置かれた生物に多くの可能な行動の選択肢を提供する。そのため、環境からの刺激に応じて適切な反応を選択する処理（反応選択処理）は、ヒトを含めた生物にとって極めて重要な機能である。一方で、環境からは絶えず複数の刺激が入力されていて、それぞれに対する反応選択処理は常に競合状態にある。そのため、しばしば、それらの処理の間に干渉が発生し、実行中の行動は停止され、新たな行動が選択される。本研究では、心理学および神経行動学的アプローチから、反応選択処理の競合から生じる干渉が行動をどのように分岐させるのかを検証し、その意義を考察した。第2章では、ヒトを対象とした心理実験から、反応選択処理の競合および干渉が、それが無いときと比較してどのように行動を変化させるのかを示した。第3章では、行動を複数の単純な動作の配列に細分化することで、現在実行中の行動のどの動作で干渉が発生し、どのような動作配列に分岐するかを検証した。ラットを対象とした行動実験では、個体が危険を知覚した際に選択される動作配列を通常時のそれを比較し、両者の分岐点となった動作と、危険を知覚した際に特有の動作が示された。特に、後者に特有の動作では、個体を危険源から遠ざけるような動作が促進される一方、その場に留まるような動作が抑制された。本研究を通して、反応選択処理の干渉は、環境に対して個体がより瞬時に適応的な振る舞いをするために重要な意義を持つと結論された。

---

\* 奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 情報生命科学専攻 博士論文, NAIST-IS-DD1061013, 2013年9月18日.

キーワード

本能行動，行為選択，干渉，動作分割，立体高次局所自己相関，混合因子分析

# Neuroethological significance in interruption from response selection processing to ongoing motion sequence\*

Suzuki, Yusuke

## Abstract

Enriched environment affords a set of alternatives of potentially available actions. Therefore, response selection processing that chooses an appropriate response parallel to an input stimulus from the environment is critically significant for organisms. However, we continuously perceive multiple stimuli from the environment, thereby response selections for each stimulus compete between them, and particular interruption arises. Consequently, currently running action is often terminated, and then alternative action is newly selected. In this study, from psychological and neuroethological perspective, a significance in such interruption was sought, through to examined how it divaricates the action properties. In Chapter 2, psychological experiment for human revealed how competition between response selection processing interrupt currently and subsequently executed action. In Chapter 3, an action was further segmented into a sequence constituted from multiple but simpler motions on time series. This motion segmentation analysis enabled to detect when particular motions in the sequence were interrupted, and how subsequent sequence divaricated. In behavioral experiment for rats, a motion sequence selected in particular threatening scene was compared to that in

---

\* Doctoral Dissertation, Department of Bioinformatics and Genomics, Graduate School of Information Science, Nara Institute of Science and Technology, NAIST-IS-DD1061013, September 18, 2013.

neutral scene. As a result, it was suggested that specific motions markedly arose in the threatening scene, and another motion played a “turning point” between the motion sequences in the threatening scene and that in the neutral. Especially in the threatening scene, some motions like shutting rats away from a threatening source was boosted, while others like keeping stay on-site was inhibited. Through this study, it would be concluded that interruption from response selection processing to currently and/or subsequently executed motions is significant so that organisms rapidly and adaptively behave under ever-changing environment.

**Keywords:**

instinctive behavior , action selection, interruption, motion segmentation, Cubic Higher-order Local Auto-Correlation, Mixtures of Factor Analyzers

# 目次

第1章	はじめに	1
第2章	反応選択処理の競合が 行動に与える干渉の特性 —心理学的アプローチ—	3
1.	序論	3
2.	PRP 効果の計測	3
2.1	材料と方法	4
2.2	結果と考察	7
3.	tDCS 実験	10
3.1	材料と方法	11
3.2	結果と考察	11
第3章	反応選択処理の競合が 動作配列に与える干渉の特性 —神経行動学的アプローチ—	14
1.	序論	14
2.	動作分割解析	18
2.1	特徴抽出; 立体高次局所自己相関特徴量	19
2.2	多変量解析; 混合因子分析	22
3.	自発的跳躍課題	24
3.1	実験動物	24
3.2	材料と方法	24
3.3	解析	31

3.4	結果	33
4.	20-kHz USS に対する自律神経応答の計測	45
4.1	実験動物	45
4.2	材料と方法	45
4.3	解析	46
4.4	結果	46
5.	20-kHz USS に対する PAG の神経活動履歴の計測	51
5.1	実験動物	51
5.2	c-Fos 免疫染色	51
5.3	結果	52
6.	考察	54
6.1	自発的跳躍課題	54
6.2	20-kHz USS に対する自律神経応答と PAG の神経活動履歴の計測	57
<b>第 4 章 総合考察</b>		<b>59</b>
<b>第 5 章 今後の展望</b>		<b>62</b>
	付録	64
A.	EM アルゴリズムを用いた MFA のパラメータ推定	64
B.	業績リスト	66
B.1	査読付学術論文	66
B.2	査読付国際会議発表	66
	謝辞	67
	参考文献	69

# 目次

2.1	生物の行動生成モデルと PRP モデル	5
2.2	本実験で用いた PRP パラダイム	6
2.3	PRP による行動への干渉特性とそのモデル	9
2.4	PMD への anodal tDCS による PRP 効果の軽減	13
3.1	本能行動の階層構造	16
3.2	CHLAC 特徴抽出における局所領域と動作型のサンプル	21
3.3	因子分析と混合因子分析の生成モデル	22
3.4	跳躍台の概観	26
3.5	馴化の流れと実際の胴長計測	27
3.6	本実験で用いた自発的跳躍パラダイム	30
3.7	GD と訓練日数が跳躍行動に及ぼす影響	36
3.8	GD と 20-kHz USS が跳躍行動に及ぼす影響	39
3.9	20-kHz USS と Neutral における動作配列の比較	42
3.10	20-kHz USS と Neutral における各動作の持続時間の比較	43
3.11	ムービークリップから確認された各動作の特徴	44
3.12	20-kHz USS が心拍数に与える影響	48
3.13	20-kHz USS が呼吸数に与える影響	49
3.14	20-kHz USS が酸素飽和度に与える影響	50
3.15	20-kHz USS 提示後に vlPAG で観察された c-Fos 陽性細胞	53

# 第1章 はじめに

環境の多様性は、そこに置かれた生物に多くの可能な行動の選択肢を提供する。そのため、環境からの刺激に応じて適切な反応を選択する処理（反応選択処理）は、ヒトを含めた生物にとって極めて重要な機能である。例えば、異性の存在は交尾行動を、食物の存在は摂食行動を、危険の存在は防御行動を誘発するが、我々はその都度、膨大な選択肢の中から適切な行動を選択し、それ以外を抑制することが要求される (Cisek, 2007; Redgrave, Prescott, & Gurney, 1999)。一方で、環境からは絶えず複数の刺激が入力されていて、それぞれに対する反応選択処理は常に競合状態にある (Cisek, 2007)。そのため、しばしば、それらの処理の間に干渉 (interruption) が発生し、実行中の行動は停止され、新たな行動が選択される (Redgrave et al., 1999)。これが、どのようなアーキテクチャで実装されていて、どのような行動として現れるのかは、心理学および神経行動学 (neuroethology) の分野で、行為選択 (action selection) の問題として定式化され、活発に研究されてきた (Cisek, 2007; Redgrave et al., 1999)。一方、工学の分野では、この問題は例えば、フレーム問題をいかに解決するかという問題に置き換えられる。ロボットが適切な行為を選択し、適切でないものを抑制するための認知的な枠組みを設計することは非常に困難である。これは、ある問題を解く際に、適切“でない”行為の選択肢が無数に想定されるためである。しかし、生物が備える行為選択のためのルール、例えば包摂アーキテクチャや強化学習、を模したロボットのいくつかは、環境や自分自身の状態に応じて反応選択処理間の支配関係 (dominance relationships) を更新させることで、適応的に振る舞うことに成功している (Brooks, 1994; Doya & Uchibe, 2005)。

本研究では、心理学および神経行動学的アプローチから、反応選択処理の競合から生じる干渉が行動をどのように分岐させるのかを検証し、その意義を考察し

た．第 2 章では，反応選択処理の競合および干渉が，それが無いときと比較して，現在および将来実行される行動をどのように変化させるのかを示した（次章参照）．第 3 章では，行動を複数の単純な動作の配列に細分化することで，現在実行中の行動のどの動作で干渉が発生し，どのような動作配列に分岐するかを検証した．ラットを対象とした行動実験で，個体が危険を知覚した際に選択される動作配列を通常時のそれを比較し，両者の分岐点となった動作と，危険を知覚した際に特有の動作を示した．最後に，後者に特有の動作が，危険に対してどのように適応的であったのかを議論した．

# 第2章 反応選択処理の競合が 行動に与える干渉の特性 —心理学的アプローチ—

## 1. 序論

反応選択処理の干渉は、心理的不応期 (psychological refractory period; PRP) と呼ばれる、ヒトを対象とした心理実験から示される (De Jong, 1993)。この実験では、参加者は異なる 2 つの認知課題を実行し、各課題では、刺激 (stimulus; S) に対応する適切な反応 (response; R) を、可能な限り素早くかつ正確に実行することが求められる。第 1 課題における刺激 (S1) と第 2 課題における刺激 (S2) が提示される時間差 (stimulus onset asynchrony; SOA) が非常に短い条件では、R1 の反応時間 (reaction time 1; RT1) に比べ、R2 の反応時間 (reaction time 2; RT2) が遅延すること知られており、これは PRP 効果と呼ばれる。日常的には、スポーツ場面におけるフェイントが、この効果を活かした例と言える。

## 2. PRP 効果の計測

PRP 効果の心理学的モデルでは、S が入力されてから R が出力されるまでに、S の知覚処理、S と適切な R を対応付ける反応選択処理、その選択された R の実行処理、の 3 つの脳情報処理過程を想定する (図 2.1 a)。このうち、反応選択処理では、複数の課題に対する並列処理を要求されたとき、各反応選択処理の間に競合が発生する。そして、反応選択処理は、現在実行中の処理が完了するまで、次の処理を開始させないことで、この競合を解決しようとする。この干渉効果は、

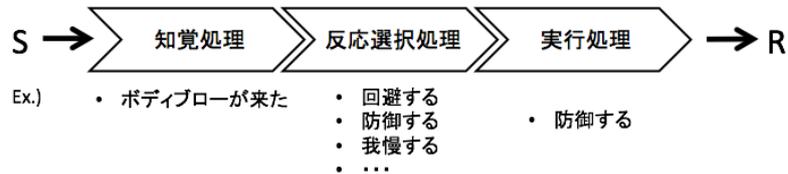
最終的に RT2 の遅延という形で観察される (Marois & Ivanoff, 2005) . PRP パラダイムでは , 第 1 課題における S1 と , 第 2 課題において S2 が , 非常に短い時間差で提示されることで , 反応選択処理 1 と 2 の並列処理を要求されていると考えられる . そのため , 反応選択処理 1 が完了するまで反応選択処理 2 を開始できず , これが “ボトルネック” となって PRP 効果が生じる (図 2.1 b) . このことから , 反応選択処理それ自体の処理時間と SOA の両方が , PRP 効果の大きさを左右すると予想できる .

## 2.1 材料と方法

筆者らは , 上記の PRP パラダイムにおいて , 反応選択処理の処理時間の異なる 2 つの反応方略 , 単純反応方略と選択反応方略 , を比較し , PRP 効果が , 後者で大きくなることを確認した (Suzuki Naito, 2012) . 単純反応方略では , 参加者は第 1 課題 , 第 2 課題とも , S に関係なく常に 1 択の R が要求され , 選択反応方略では , 予め教示された S と R の複数の対応関係の中から , 現在入力されている S に応じた適切な R の選択が要求された . 参加者は , PC モニタ上の “+” を注視し , スロットマシンのように , 注視点の左右のボックス内に 150 ms 間隔で出現するランダムな図柄の中から , 予期できないタイミングで出現する S1 , S2 に対して , それぞれ R1 , R2 を , 可能な限り正確に素早く実行するよう求められた (図 2.2) . このとき SOA は , 50 , 150 , 500 , 1000 ms の中からランダムに設定された . 両方略とも , S として “赤の 7” あるいは “緑の 7” の 2 種類が提示されたが , 選択反応方略では , “赤の 7” に対応する R として右手人差し指で “N” キーを押下することを求められたのに対し , “緑の 7” では右手中指による “M” キーの押下が , 第 1 , 第 2 課題それぞれで要求された (図 2.2) . 一方 , 単純反応方略では , S の種類に関係なく , 第 1 課題で “N” キー , 第 2 課題で “M” キーの押下が要求された (図 2.2) . 刺激の提示からキーの押下までの時間を反応時間 (RT) として , RT1 , RT2 を計測した . 実験には , 23 歳から 42 歳までの 8 名の右利きの参加者 (男性 7 名 , 女性 1 名) が参加した . 本研究は , 独立行政法人 情報通信研究機構の倫理委員会の承認を得て実施され , 全ての参加者に対しインフォームト Consent が実施された . 実験はヘルシンキ宣言 (1975) に準拠して実施さ

れた。

(a)



(b)



図 2.1 生物の行動生成モデルと PRP モデル

(a) 環境から刺激 S が入力されてから、それに対応する反応 R が実行されるまでの脳情報処理過程を示す。この例では、相手の提示するボディブロー (S) が知覚された後、反応選択処理は、可能な反応 R のセットの中から、適切なものを 1 つ選択している。(b) (a) のモデルに基づく一般的な PRP モデルを示す。PRP は、非常に短い時間差で個別の S が入力された時、最初に入力された S に対する反応選択処理が実行されている間、次の S に対する反応選択処理の実行は先送りされるために、後者に対する反応が遅延するために生じると考えられている。先の例では、ボディブロー (S1) に対する反応を選択したために、ストレート (S2) に対する反応の選択が遅れることが予想される。

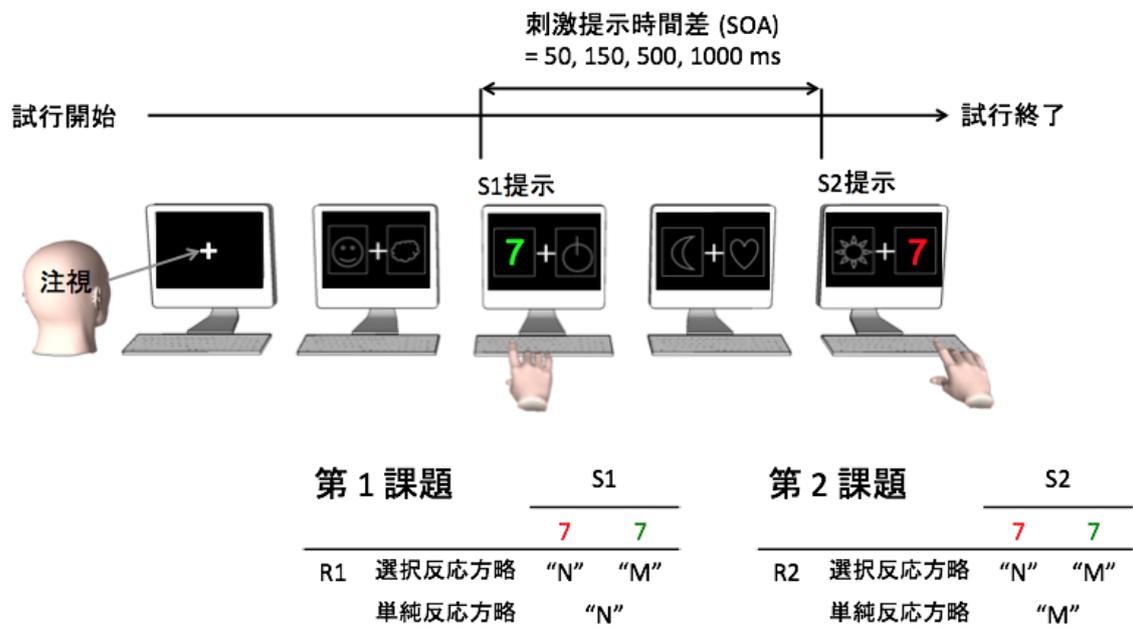


図 2.2 本実験で用いた PRP パラダイム

## 2.2 結果と考察

RT1 は、SOA に関係なく、単純反応方略よりも、選択反応方略で有意に長かった (図 2.3 a) . これは、RT1 についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [反応方略 (単純反応, 選択反応; 2) × SOA (50, 500ms; 2)] における、反応方略の要因の主効果から示された [ $F(1, 7) = 42.3, p < .05$ ] . この結果は、単純反応方略に比べて、選択反応方略で、単一課題の RT が長くなるという先行研究からも支持される (Donders, 1969) . 一方、単純反応, 選択反応方略のいずれでも、SOA = 50 ms のときには、RT1 に比べて RT2 が遅延した (図 2.3 a) . RT1 に対する RT2 の遅延量 (= PRP 効果) として各 SOA での RT1 と RT2 の差を算出し、これを反応方略間で比較すると、SOA = 50 での RT1 に対する RT2 の遅延が、単純反応よりも選択反応方略で顕著であった (図 2.3 b) . これは、RT1 と RT2 の差についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [反応方略 (単純反応, 反応選択; 2) × SOA (50, 500 ms; 2)] における、両要因の交互作用 [ $F(1, 7) = 26.3, p < .05$ ] から示された . この結果は、反応選択処理が、少なくとも 500 ms 以下の時間差で並列処理が要求されたとき、PRP 効果を増大させる要因となることを示す . すなわち、単純反応方略に比べてより複雑な選択反応方略は、反応選択処理に長い時間を要するため、短い SOA のもとでは、反応選択処理 1 が完了するまでの反応選択処理 2 の待機時間が長くなり、PRP 効果が増大したと考えられる (Donders, 1969; Marois & Ivanoff, 2005; Pashler, 1994; Sigman & Dehaene, 2005; Sigman & Dehaene, 2008; Spence, 2008; Suzuki & Naito, 2012) (図 2.3 a, c) .

PRP 効果に関するこれまでの多くの研究では、上述のような短い SOA での、反応選択処理 1 から反応選択処理 2 への干渉を報告しており、反応選択処理 1 は干渉を受けないと考えられてきた . しかし興味深いことに、本実験では、短い SOA ではこれが長い時と比較して、僅かではあるが RT1 も遅延することを示した (図 2.3 a) . これは繰り返しのある 2 要因分散分析 [反応方略 (単純反応, 選択反応; 2) × SOA (50, 500 ms; 2)] で、SOA の主効果が示されたことから示された [ $F(1, 7) = 10.4, p < .05$ ] . この結果は、第 1 課題の前には先行する課題がないことから、従来の反応選択処理の“先送り” (postpone) 説では説明できない (図 2.1) . むしろ、第 2 課題での反応選択肢の数や、重要度に依存して RT1 の遅延が

増加するように (Miller, 2006; Schumacher et al., 2001; Smith, 1969), 反応選択処理 2 から 1 への干渉と考えるほうが自然であるように思われる (図 2.3 c). 実際, 単純反応 (18 ms) よりも選択反応方略 (34 ms) で RT1 の遅延がより顕著であった (図 2.3 a). 以上の行動実験の結果から, 反応選択処理が, 入力された刺激に対して適切な反応を選択する処理を実行しており, 刺激が複数入力され, それぞれに対して適切な反応を選択しなければならない場合, 反応選択処理が競合し, これによる干渉の影響は各反応の遅延として表出することが理解できる.

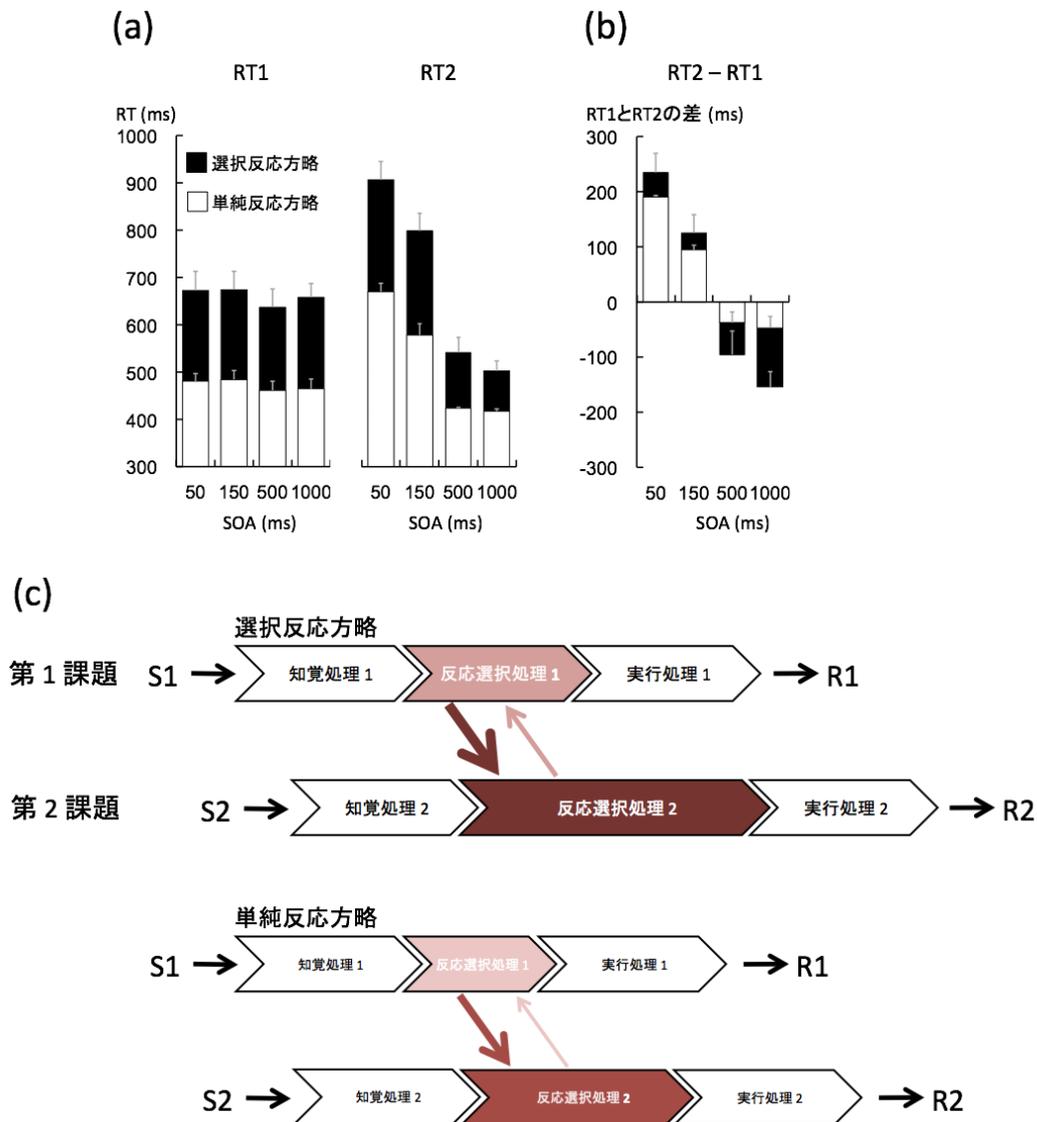


図 2.3 PRP による行動への干渉特性とそのモデル

選択反応，単純反応方略の SOA = 50, 150, 500, 1000 ms における参加者の平均 RT (a)，および，RT1 と RT2 の差 (b) を示した．(a) の左側のパネルは，RT1，右側は RT2 を示した．エラーバーは標準偏差を示し，縦軸は RT (ms) を示した．(a)，(b) とも，白色と黒色のバーはそれぞれ単純反応方略と選択反応方略を示した (両方略とも，N = 8)．(b) (a) の結果から，SOA が短い条件では，RT1，RT2 両方の遅延が観察され，反応選択処理間の競合が，それぞれで選択された行動に干渉する可能性が示された．さらに，その影響は，可能な反応の選択肢が多い条件 (選択反応方略) で顕著になった．(b) では，干渉の方向を矢印の向きで，干渉の大きさを矢印の太さと色の濃度で示した．

### 3. tDCS 実験

PRP 効果が観察される時、前頭-頭頂ネットワークからなる広範囲の脳領域が活動するが (Sigman & Dehaene, 2008)、その中でも特に、運動前野背側部 (dorsal premotor cortex; PMD) が、PRP 効果の神経基盤の 1 つとして注目されている (Ivanoff, Branning, & Marois, 2009; Koechlin, Ody, & Kouneiher, 2003; Koechlin & Summerfield, 2007; Marois & Ivanoff, 2005; Marois, Larson, Chun, & Shima, 2006)。PMD は、ヒトの反応選択処理に關与する脳領域の 1 つであり、反応選択肢が増加すると、その活動も増加することから、反応選択処理に關与する脳領域の 1 つである (Koechlin et al., 2003)。PRP パラダイムにおいては、各タスクで反応選択肢の数が増加することで PRP 効果が増大したとき、これに伴って PMD の活動も増加する (Marois & Ivanoff, 2005; Marois et al., 2006)。以上の報告は、PRP における反応選択処理間の競合および干渉が、PMD で発生している可能性を示す。しかし、これが PMD におけるどのような神経活動の結果発生したのか、具体的には、各反応選択処理に割り当てられた神経活動が不足であるために発生したのか、それとも過剰であるために発生したのかは明らかではなかった。

これを検証するため、筆者らは、経頭蓋直流電気刺激 (transcranial direct current stimulation; tDCS) で PMD の活動を修飾した際の、上述の PRP パラダイムにおける参加者の成績を比較した。tDCS は、頭皮上に設置した陽極 (anodal electrode) と陰極 (cathodal electrode) から微弱な直流電気刺激を非侵襲的に与えることで、細胞膜電位を修飾し、電位依存性のチャネルの活動や、入力刺激に対する発火閾値を変化させる (Hummel & Cohen, 2006; Nitsche & Paulus, 2000) (図 2.4 a)。刺激領域の直上に陽極を設置した場合 (anodal tDCS)、その領域の神経活動を促進し、これによって、神経生理学的な応答のみでなく、様々な認知・運動課題が促進される。一方、陰極を設置した場合 (cathodal tDCS)、当該領域の神経活動を抑制すると考えられている (Hummel & Cohen, 2006; Nitsche & Paulus, 2000)。PRP 効果に伴う PMD の活動が、反応選択処理に寄与する神経活動の不足を示すのであれば、PMD への anodal tDCS によって PRP 効果が軽減される、すなわち、RT の短縮が観察されるはずである。一方、それが過剰を示すならば、cathodal tDCS で RT が短縮されると予想できる。

### 3.1 材料と方法

上述の PRP 効果の計測と同じ参加者が、単純反応または選択反応方略で、合計 4 つのセッションに参加した (図 2.4 b)。1 つのセッションは、2 つのブロックから構成された。両ブロックは、同日内に実施されたが、各セッションはそれぞれ異なる日に実施された。いずれのセッションでも、ブロック 1 はベースラインとし、常に tDCS のプラセボ刺激が与えられた。このプラセボ tDCS では、anodal tDCS もしくは cathodal tDCS を、試行開始から短時間続けた後、参加者に予期できないタイミングで終了した。ブロック 2 では、anodal, cathodal, プラセボ tDCS のいずれかが与えられた。anodal, cathodal tDCS は、参加者が課題を実行している間、オンラインで与えられた (約 20 min)。一方、プラセボ tDCS はブロック 1 と同様の方法で与えられた。なお、参加者は、与えられた tDCS を区別できなかった。

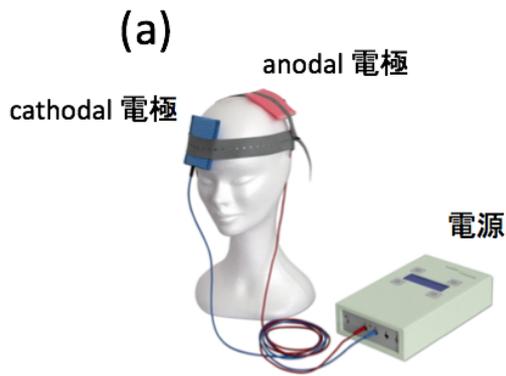
### 3.2 結果と考察

tDCS による RT の効果を検証するために、各セッション内でのブロック 1 とブロック 2 の RT の差を算出した結果、選択反応方略の SOA = 50 ms でのみ、anodal tDCS が RT1, RT2 の両方を約 60 ms 短縮した (図 2.4 c)。これは、SOA = 50 ms における RT についての、tDCS (anodal, cathodal, プラセボ) と課題順序 (RT1, RT2) の、繰り返しのある 2 要因分散分析が、tDCS の主効果 [ $F(2, 14) = 3.94, p < .05$ ] を示したことから支持された。この効果は、SOA = 500 ms では観察されず、sham, cathodal tDCS ではいずれの SOA においても観察されなかった。また、この効果は、単純反応方略に比べ、選択反応方略で顕著であった (図 2.4 c)。この結果は、反応方略 (単純反応, 選択反応) と反応順序 (RT1, RT2) の、繰り返しのある 2 要因分散分析における、反応方略の要因の主効果から示された [ $F(1, 7) = 22.291, p = .05$ ]。

以上の結果は、PRP 効果が発生している際の PMD の神経活動で、反応選択処理に割り当てられる神経活動が不足している可能性を支持する。PMD が反応選択処理に関与していること、anodal tDCS が刺激領域の神経活動を促進すること

から、PMD への anodal tDCS は、PMD の反応選択処理に關与する神経活動を促進していたと考えられる。しかし、SOA = 500 ms ではこの効果が観察されなかったことから、anodal tDCS が単純に反応選択処理を促進していたとは考えにくい。SOA = 50 ms のもとでの選択反応方式は最も複雑な反応選択処理が要求され、最も PMD の反応選択処理に割り当てられる神経活動が最も不足する条件だったことから、このような条件で、anodal tDCS が最も効果を示した可能性がある。一方、SOA = 500 ms では、反応選択処理の不足は生じておらず、従って、anodal tDCS が反応選択処理を促進して RT を短縮する余地が殆どなかった可能性がある。PMD への anodal tDCS が RT を短縮したのに対し、cathodal tDCS がこれと逆の効果を示さなかったのは、anodal tDCS と cathodal tDCS の神経修飾効果が非対称であることに起因する可能性がある。初期の tDCS 研究では、anodal tDCS は神経活動を促進し、cathodal tDCS は抑制すると考えられていた (Hummel & Cohen, 2006; Nitsche & Paulus, 2000)。しかし、近年、cathodal tDCS の効果は、生理学的にも心理学的にも anodal tDCS ほどロバストに観察されるわけではないことが報告されている (Boros, Poreisz, Munchau, Paulus, & Nitsche, 2008; Nitsche et al., 2005; Wassermann & Grafman, 2005)。そのため、anodal tDCS と cathodal tDCS が神経系に及ぼす作用が、正反対の関係にはなっていない可能性がある。実際、anodal tDCS は対象となる脳領域を中心に、局所的に GABA の放出を抑制するが、cathodal tDCS は広範囲に渡る GABA の抑制に加え、グルタミン酸作動性シグナル伝達を抑制する (Stagg et al., 2009)。加えて、PMD に存在する神経細胞種の分布によっても、この効果は変わってくるのが予想される。そのため、今回の tDCS 実験では単純に、cathodal tDCS の効果が観察されなかった可能性がある。

第 2 章の実験から、環境から複数の刺激がほとんど同時に入力されると、各刺激に対する反応選択処理が競合し、その干渉効果は各反応の遅延という形で表出する可能性が示された。また、tDCS 実験から、これが PMD での各反応選択処理に割り当てられる神経活動の不足から生じることが示唆された。



(b)

反応方式	ブロック 1	ブロック 2
選択反応	■ 薄い灰色	■ 濃い灰色
選択反応	■ 濃い灰色	■ 黒
選択反応	■ 黒	■ 黒
単純反応	□ 薄い灰色	□ 薄い灰色

(c)

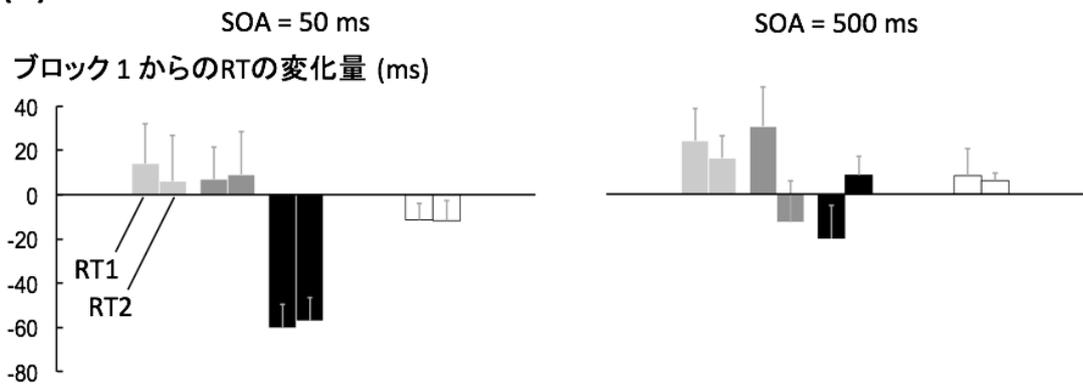


図 2.4 PMD への anodal tDCS による PRP 効果の軽減

(a) に、経頭蓋直流電気刺激の概観、(b) に tDCS 実験のデザイン、(c) に、PMD への anodal tDCS による PRP 効果の軽減を示した。左側のパネルは、SOA = 50 ms での選択反応方略における anodal tDCS (黒色のバー, N = 8)、cathodal tDCS (濃い灰色のバー, N = 8)、プラセボ tDCS (薄い灰色のバー, N = 8)、および単純反応方略での anodal tDCS (白色のバー, N = 8) による RT への効果を示し、右側は、SOA = 500 ms での結果を示した。

# 第3章 反応選択処理の競合が 動作配列に与える干渉の特性 —神経行動学的アプローチ—

## 1. 序論

動物行動学者のニコ・ティンバーゲンは、トゲウオの本能行動の観察を通して、生殖や防御などの本能行動は階層的に保存され、特定の環境から特定の信号刺激 (sign stimulus) が入力された際に、この階層構造の中から対応する本能行動を選択し、出力 (release) すると主張した (Anderson, 2012; Tinbergen, 1996) (図 3.1)。例えば、20-30 kHz は、ラットが捕食者等の危険源からの信号刺激を知覚した際の“警戒声”で使用される周波数帯域であり、この帯域の音声刺激は、他個体に嫌悪刺激として知覚され、生得的な防御行動を誘発する (Beckett, Aspley, Graham, & Marsden, 1996; Beckett, Duxon, Aspley, & Marsden, 1997; Brudzynski, 2001)。上記のモデルに基づけば、20-kHz の超音波刺激 (20-kHz ultrasonic stimulation; 20-kHz USS) が提示されると、ラットは最初に防御行動を選択した後、その下位に位置する複数のより単純な防御行動の中から適切なものを選択し、最終的にその行動は微細動作の配列として表出されると予想できる。

ティンバーゲンは、この階層構造に対応する神経回路、および個別の本能行動を処理する神経核の存在を予見していた (Anderson, 2012; Tinbergen, 1996)。その仮説によると、各神経核は相互に抑制しあっており、ある行動を選択する一方で、それ以外の行動を抑制し、“XOR” のように機能するとされる (Anderson, 2012; Lin et al., 2011; Mongeau, Miller, Chiang, & Anderson, 2003; Tinbergen, 1996)。ティンバーゲンはこれを作業仮説として見なしていたが、最近の神経行動

学の研究から，様々な階層の本能行動を処理する神経核が，同じ階層の別の行動を処理する神経核の活動を抑制するように働き，これが，ヒトを含む多くの種に共通して保存されていることが実証されている (Anderson, 2012; Lin et al., 2011; Mongeau, Miller, Chiang, Anderson, 2003) . 例えば，嫌悪刺激で誘発されるマウスの防御行動のうち，すくみ行動と逃避行動は，いずれも中隔核と視床下部の神経核間および神経核内の相互抑制によってスイッチされており，その発現頻度は負の相関を示す (Mongeau et al., 2003) . このとき，いずれの防御行動が観察されているかに関わらず，生殖行動に關与する神経核の活動は抑制される (Mongeau et al., 2003) . 同様に，マウスの生殖行動のうち，攻撃行動と交尾行動もまた相互抑制を示す (Lin et al., 2011) (下記参照) .

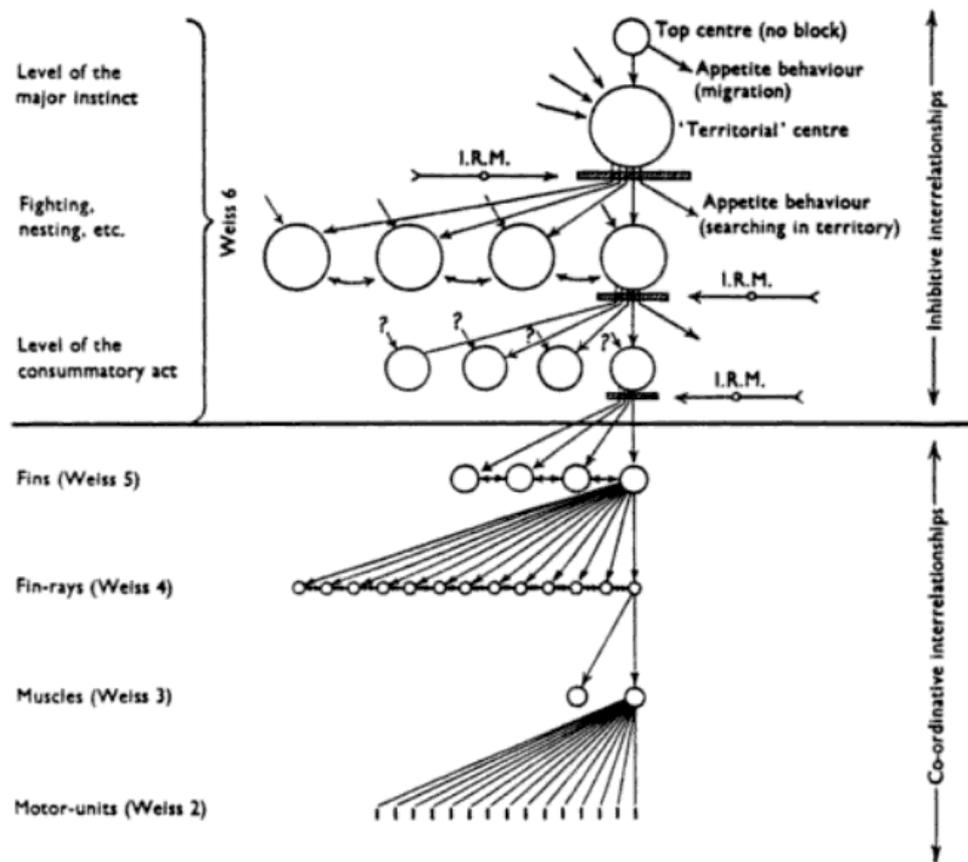


図 3.1 本能行動の階層構造

トゲウオの生殖行動を例に、本能行動とそれに対応する神経核が階層的に保存されている可能性を示した概念図 (Tinbergen, 1996)。各生殖行動に対応する神経核がノードとして表現され、より下位の行動に対応する神経核への出力がリンクで表現されている。この出力は、各神経核直下の太い黒線で遮られているように、普段は抑制されている。しかし例えば、オスのトゲウオが生殖行動を誘発する特定のテリトリーに侵入した時、生得的解放機構 (innate releasing mechanism; 図中の I.R.M) が、生殖行動に関連する最上位の神経核を脱抑制し、それより下位の神経核を活動させる。その結果、闘争、造営、交尾等のより具体的な生殖行動が選択される。しかし、それらを誘発する信号刺激が入力されるまで、そこから更に下位の神経核への出力はまだ抑制されている。例えば、そのテリトリーへのメスの侵入を検知した場合、交尾行動が選択され、次にそれを構成するより単純な動作が選択される。これらの動作に対応する神経核 (図中の、Weiss 5 以下、Fins, Fin-rays など) は、信号刺激なしで活動し、異なる動作に対応する神経核と協調的に働く (図中のノード間の水平な相互矢印)。一方で、上位の神経核間は、相互抑制の関係にあり、交尾行動が選択実行されている間は、攻撃行動や造営行動等は抑制されている (ノード間のアーチ型の相互矢印)。

しかし、環境からは常に複数の刺激が入力されているため、それぞれに対する各神経核の反応選択処理が競合し、実行中の行動が何らかの干渉を受けることが予想される (Redgrave et al., 1999) . 現状では、マウスを対象とした光遺伝学的研究から、生殖行動のうち、攻撃行動と交尾行動はそれぞれ異なる信号刺激で誘発されるが、交尾行動時には攻撃行動が神経核レベルで抑制されていることを報告している (Lin et al., 2011) . すなわち、攻撃行動は視床下部腹外側部への光刺激によって誘発されるが、これが一連の交尾行動の特に性器挿入時に最も抑制された (Lin et al., 2011) . また、ヒトを対象とした fMRI 実験からは、嫌悪刺激に対する生得的な防御反応が実行中の行動に干渉する可能性が示されている (Mobbs et al., 2009) . この実験では、パックマンに類似したゲームをプレイし、プレイヤーは追尾するモンスターに追いつかれると電気ショックを与えられた . 追いつかれる確率が高い条件では、低い条件と比較して、モンスター接近時の操作ミス (壁への衝突) の頻度が増加し、これに伴って中脳水道周囲灰白質 (periaqueductal gray; PAG) の活動が増加した . PAG は、入力された嫌悪刺激に対して防御行動を選択する処理を実行し (Fanselow, 1991; Fanselow, 1994) , 同領域への電気刺激で、ヒト、ラット共にパニック様の防御行動、および特有の自律神経応答が誘発される (Moers-Hornikx et al., 2011; Nashold, Wilson, & Slaughter, 1969; Schenberg, Bittencourt, Sudré, & Vargas, 2001) . このように、本能行動は現在実行中の行動に対し、階層構造内の支配関係 (dominance relationships) に基づいて干渉することが理解できる (Redgrave et al., 1999) .

しかし、行動が、複数のより単純な動作の配列から構成されていることを考えると、このような干渉が、実行中の行動のどの時点で発生し、どのような行動に変化させたかを知るには、従来の行動レベルでの検証から、行動を動作のレベルにまで分解して検証することが求められる (Benjamini, Fonio, Galili, Havkin, & Golani, 2011) . 加えて、従来の実験者によるアノテーションに頼った行動分類では、実験者の分類能を超えた微細動作や、これまでに発見されていない新規な行動を見落とす可能性がある (Steele, Jackson, King, & Lindquist, 2007; Tecott & Nestler, 2004) . 遺伝子改変技術や光遺伝学的技術等によって神経細胞の活動を微細なレベルで制御できるようになった現在では、それに対応する微細動作を検

出できるような、定量的かつハイスループットな行動解析手法が求められている (Goulding et al., 2008; Jhuang et al., 2010) .

そこで第 3 章では、動物の行動を記録した動画像内の統計的特徴のみから、行動を時系列上の複数の動作の配列に分割する手法 (次節参照) を提案し、これによって上記の問題を検証した。自発的跳躍課題では、ラットがある距離の間隙を跳躍する動作を録画し、通常時の動作配列を、20-kHz USS が提示された条件でのものと比較した。20-kHz USS は、ラットに嫌悪刺激として知覚され、特定の防御行動を誘発することから、もし、この刺激に対する反応選択処理が実行中の跳躍行動に干渉するならば、跳躍行動を構成する動作配列の一部あるいは全てが、防御行動を構成する動作に変化すると予想できる。実験の結果、20-kHz USS と通常時における跳躍行動の動作配列は、両条件に共通して発生する 1 つの動作から分岐した可能性が示された。20-kHz USS は、通常時の跳躍行動で観察される 2 つの動作を抑制し、別の 2 つの動作を促進した。促進された動作は、抑制された動作に比べ、20-kHz USS の音源から個体を遠ざけるように働いていた。一方、抑制された動作は、その場に留まるように働いていた。以上の結果は、防御行動間の相互抑制が、個体が環境の変化に対して瞬時に反応することを可能にするように (Fanselow & Lester, 1988)、実行中の動作配列への反応選択処理からの干渉は、個体が環境の変化に対してより適応的に振る舞うために重要であるとの観点を支持する。なお、予備実験からは、20-kHz USS に伴う、PAG での神経活動 (第 3 章, 第 5 節)、および対応する自律神経応答 (第 3 章, 第 4 節) が確認され、自発的跳躍課題でのそれが生得的な嫌悪刺激として機能していたことが支持された。

## 2. 動作分割解析

動作分割解析は、特徴抽出と多変量解析の 2 つの処理から構成された。序論で触れたように、行動の選択が階層的に実行されるとすれば、ある神経核がある行動を選択した後、より多数の下位の神経核がそれを構成する動作を選択し、最終的に、その行動は、より単純な複数の動作の配列として時系列上に表現できる。

本実験では，20-kHz USS から危険を知覚した時と通常時で異なる行動が観察された場合，危険を知覚した際に特有の動作配列では，通常時で促進されていた動作の抑制，通常時で抑制されていた動作の促進，あるいは両者に共通の動作が観察され，その背後には各動作を選択した神経核が存在すると予想できる．動作分割解析では，これらの動作が，CHLAC 特徴量の 251 種の動作型の特定のパターンで観察されると考え，これを行動が記録された動画像から抽出した．次に，危険を知覚した時の動作および対応する神経核を潜在因子に想定し，CHLAC 特徴量を観測変数として，混合因子分析 (Mixtures of Factor Analyzers; MFA) を行った．

## 2.1 特徴抽出; 立体高次局所自己相関特徴量

立体高次局所自己相関特徴量 (cubic higher order local auto-correlation, CHLAC) は，動画像中の参照画素の隣接点と時間方向から構成される局所領域において，251 種類の動作型について自己相関特徴量を計算し，これを動画像全体に渡って積分することで得られる統計的特徴量である (Kobayashi & Otsu, 2004)．CHLAC 特徴量は，次式で示されるように，動画像処理にとって好ましい 3 つの性質，すなわち，位置不変性，加法性，汎用性を持つ (Kobayashi & Otsu, 2004)．位置不変性は，対象がフレーム内のどこにいても，最終的な特徴量は変化しないことを示す．加法性は，フレーム内に複数の対象がいたとしても，最終的な特徴量は各対象の特徴量の和として表現できることを示す．そのため，集団行動を想定した実験にも応用しやすいことが予想される．そして，CHLAC 特徴量は，環境や動作についてのモデルを仮定しないことから，実験環境や動物の個体差などの変動に対しても頑健であることが予想され，高い汎用性が期待できる．以上の理由から，特徴抽出処理では，CHLAC 特徴量を抽出した．

2 値化された動画像の，参照点  $r$  の輝度値を  $f(r)$  とし，参照点近傍の  $N$  個の近傍点を  $a_1, \dots, a_N$  とすると， $N$  次の CHLAC 特徴量は次式で表現される．

$$x(a_1, \dots, a_N) = \int f(r)f(r + a_1) \dots f(r + a_N)dr. \quad (3.1)$$

参照点  $r$ , 近傍点  $a$  は画像内の  $xy$  座標および時間を成分とする 3 次元ベクトルで, 時間方向の積分範囲は, どの程度の時間方向の相関を取るかのパラメータである. 一般に, 近接する画素間の局所的な相関の方が重要であると考えられるため, CHLAC 特徴では, 通常, 次数を 0 次から 2 次までとする. 従って, 近傍点の取りうる座標は, 参照点に隣接する  $3 \times 3 \times 3$  画素から構成されるキューブ内に限定され, 平行移動して等価なものを除くと, 全部で 251 通りになる (図 3.2 a). 参照点と近傍点から構成される各パターンは特定の動作型に対応する (図 3.2 b). 具体的には, 動画像内の連続する 3 フレームからキューブを 1 つ取り出し, ある動作型の参照点と近傍点で指定された画素の輝度値の積を算出した時, その動作型と一致していれば 1, そうでなければ 0 になる. これを抽出したフレーム, および時間窓全体に渡って積分すると, その時間窓内の動作が 251 次元ベクトルの CHLAC 特徴量で表現される. 以降の各時間窓でこの手順を繰り返すと, 最終的に, CHLAC 特徴量は,  $251 \times W$  (時間窓の数) 行列で表現される.

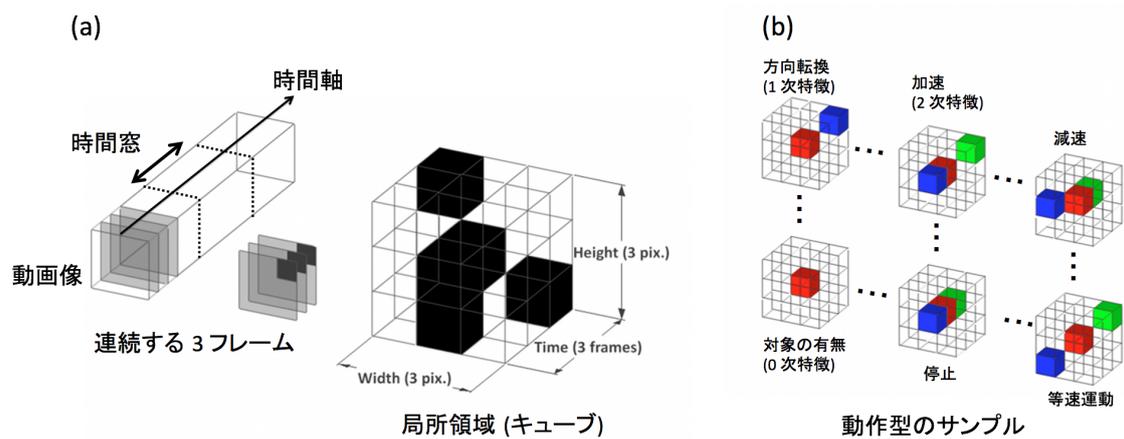


図 3.2 CHLAC 特徴抽出における局所領域と動作型のサンプル

CHLAC 特徴量を抽出する際に参照する局所領域のサンプル (a) と、動作型のサンプル (b) を示した。局所領域は、参照点のあるフレームとその前後 2 フレームから、参照点を中心とした縦 3 pix.、横 3 pix.、時間方向に 3 pix. から構成されるキューブで示される。自己相関は、動作型の参照点と近傍点でそれぞれ指定される局所領域中の画素の輝度値の積から算出される。(b) で示した動作型の赤色の位置で参照点を、緑色と青色で近傍点を示し、それらの組み合わせは、特定の形態や運動を示す。参照点のみの場合、参照点と局所領域での自己相関特徴を算出した後、これを抽出された 3 フレーム、および設定された時間窓全体に渡って積分する。

## 2.2 多変量解析; 混合因子分析

混合因子分析 (mixtures of factor analyzers; MFA) は潜在変数モデルであり, 因子分析 (factor analysis; FA) の拡張として理解される (Ghahramani & Hinton, 1996; Görür, Rasmussen, Tolias, Sinz, & Logothetis, 2004). FA では, 観測変数の生成モデル (図 3.3 a) は, 次式で与えられる.

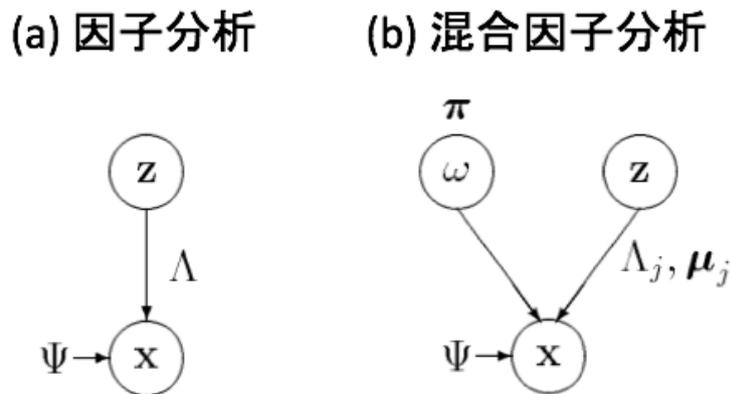


図 3.3 因子分析と混合因子分析の生成モデル

$$\mathbf{x} = \Lambda \mathbf{z} + \mathbf{u}. \quad (3.2)$$

これは,  $p$  次元の観測変数  $\mathbf{x}$  は,  $p$  よりも十分に小さい  $k$  次元の潜在因子  $\mathbf{z}$  が, 因子負荷量  $\Lambda$  だけ重み付けられ, これに誤差  $\mathbf{u}$  の影響を加えた結果, 生成されることを示している. 潜在因子は,  $\mathcal{N}(0, \mathbf{I})$  のガウス分布に従い,  $\mathbf{I}$  は  $k \times k$  の単位行列を示す. 誤差  $\mathbf{u}$  は,  $\mathcal{N}(0, \Psi)$  のガウス分布に従い,  $\Psi$  は  $p \times p$  の対角行列を示す. そのため, FA では, 潜在因子が与えられたとき, 観測変数間が互いに独立であると仮定し, 観測変数は次式に従う.

$$p(\mathbf{x}) = \mathcal{N}(0, \Lambda \Lambda^T + \Psi). \quad (3.3)$$

FA では、この対数尤度関数を最大にする、すなわち観測されたデータの共分散構造を最も説明するパラメータとして、共分散行列  $\Lambda\Lambda^T + \Psi$  の最尤推定値を、EM アルゴリズム等を用いて数値的に求める。しかし上記のように、FA では、観測変数が 1 つのガウス分布でしか表現されないため、複雑な構造の観測変数を適切に捉えられない可能性がある。

これに対応するため、MFA が提案された。FA では観測変数の平均値は大きな意味を持たず、実際、平均値はこのモデルを当てはめる前に 0 に調整される。一方、MFA では、観測変数の生成モデル (図 3.3 b) は、次式のように  $M$  個の FA の線形和で表現され、FA 毎に異なる平均値を割り当てることで、データへのより良い当てはめを可能にする。

$$p(\mathbf{x}) = \sum_{i=1}^M \pi_i \mathcal{N}(\mu_i, \Lambda_i \Lambda_i^T + \Psi). \quad (3.4)$$

これは、観測されたデータの各部分が、各 FA で当てはめられていることを示す。混合系数 (mixing coefficient)  $\pi_i$  は、 $\pi_i \geq 0$ 、 $\sum_{i=1}^M \pi_i = 1$  を満たし、全データ点のうち、その FA に割り当てられたデータ点の割合を示す。また、このモデルでは、潜在因子  $z$  に加え、指示変数  $\omega$  が潜在変数に想定されている。 $\omega$  は、0 か 1 の値を取り、 $\omega_i = 1$  であれば、そのデータ点が  $i$  番目の FA から生成されたことを示す。

FA と同様に MFA でも、共分散行列の各パラメータ  $\mu_i, \Lambda_i, \Psi, \pi_i$  の最尤推定値を、EM アルゴリズムで求める。

1. 各パラメータを初期化し、対数尤度の初期値を算出する。
2. E ステップ; パラメータのセット  $\theta^{old}$ 、指示変数  $\omega$  が与えられたもとでの、潜在変数の分布  $Q(\mathbf{x}|\omega_i)$ 、および  $\theta$  についての完全データ対数尤度の期待値  $Q(\theta, \theta^{old})$  をそれぞれ算出する。

3. Mステップ; パラメータの更新則は, 各パラメータについての平均対数尤度の微分係数を 0 とおき, その線形方程式を解くことで求められる.<sup>1</sup>
4. 対数尤度関数の増加分が設定された閾値を下回ったかどうかで, アルゴリズムが収束したかどうか判定し, 条件を満たしていなければ E ステップに戻る.

### 3. 自発的跳躍課題

#### 3.1 実験動物

7 匹の Long-Evans rat (8-12 週齢, メス, Japan SLC, Inc.) を使用した. 各個体は, シングルケージ (幅 = 345 mm, 奥行き = 403 mm, 高さ = 177 mm, CLEA Japan, Inc.) において, 午前 8 時から午後 8 時までの 12 時間明暗周期, 室温 (23-24°C, 相対湿度 (50-70%), 自由給水および自由給餌 (pellets; Japan SLC, Inc.) のもと, 個別に飼育された. すべての行動実験は, 明期に実施された. なお, 飼育環境および実験が実施された時間帯は, 以降のすべての実験でも同様であった. この実験は, 奈良先端科学技術大学院大学動物実験委員会の承認を受けて実施された (承認番号 1004).

#### 3.2 材料と方法

本実験は, ハンドリング, 馴化, 胴長計測および赤外線センサ感度チューニング, 訓練, 試験から構成された. ハンドリングは, 以降のパートにおいて, 装置への搬送, あるいは薬剤投与等の取り扱いに動物を慣れさせる目的で実施された. 本実験では, そのため, 実験動物へのストレスが他の手法と比較して軽微なことが報告されている, Tunnel handling method を採用した (Hurst & West, 2010). 今回のハンドリングでは, ラットは透明なアクリル円筒 (外径 = 100 mm, 内径 = 90 mm, 高さ = 250 mm) 内に 30 s の間待機した後, ホームケージに搬送され,

---

<sup>1</sup> 詳細な導出は付録及び (Ghahramani Hinton, 1997) を参照.

そこで 60 s の間休息した．これを 1 試行として 6 試行 / 日 で実施し，これを 3 日間継続した．

馴化は、以降の訓練と試験で使用する装置 (下記参照) のある環境に慣れさせるために実施された。ラットは、ホームケージから、跳躍台 (TAKAYOSHI KINZOKU CO., LTD, Osaka, Japan) (図 3.4) のホームプラットフォームまで、ハンドリングで使ったものと同じアクリル円筒で搬送された。馴化時には、ホーム、およびターゲットプラットフォーム間の間隙距離 (gap distance; GD) は 0 mm に設定された。跳躍台のゲートへの配置後、ラットがターゲットプラットフォームのホーム側から見て遠端に到達した場合、アクリル円筒によってホームケージに搬送され、60 s の間休息した (図 3.5 a) 。上記の過程を 1 試行、5 試行 / セッションとし、5 セッション / 日 で実施した。以降の訓練と試験でも、ホームケージと跳躍台間のラットの搬送には、この方法を用いた。

胴長計測は、馴化の後、同じ日に実施された。ラットは再度ホームケージからホームプラットフォームにアクリル円筒で搬送された。その後、GD = 220 mm にセットされ、両プラットフォーム間はアクリル円筒で連結されていた。ラットがホームプラットフォームからこの円筒内を渡って、ターゲットプラットフォームに到達するまでを、高速マイクロスコープ (VW-6000, VW-Z1, KEYENCE CO., Osaka, Japan) で録画した。計測時の設定は、shutter speed = 1 / 4000 s, 500 frame per second (fps) であった。録画時間は最大約 20 s で、それ以降は古いフレームから順に上書き保存された。なお、この設定は、以降の訓練、試験でも保持された。録画終了後、動画の中から、ラットの胴長が計測可能な 1 フレームを選定した。基準長を GD = 220 mm としたときの、対応する pixel 数から、空間解像度が算出され (0.81 mm / pix.)、これによって胴長が計測された (図 3.5 b) 。胴長は尾の基部から鼻の先端までと定義し、この範囲の幅を持つ物体が通過した時のみ赤外線センサ (下記参照) が反応するように、実サイズのラットを用いて感度をチューニングした。

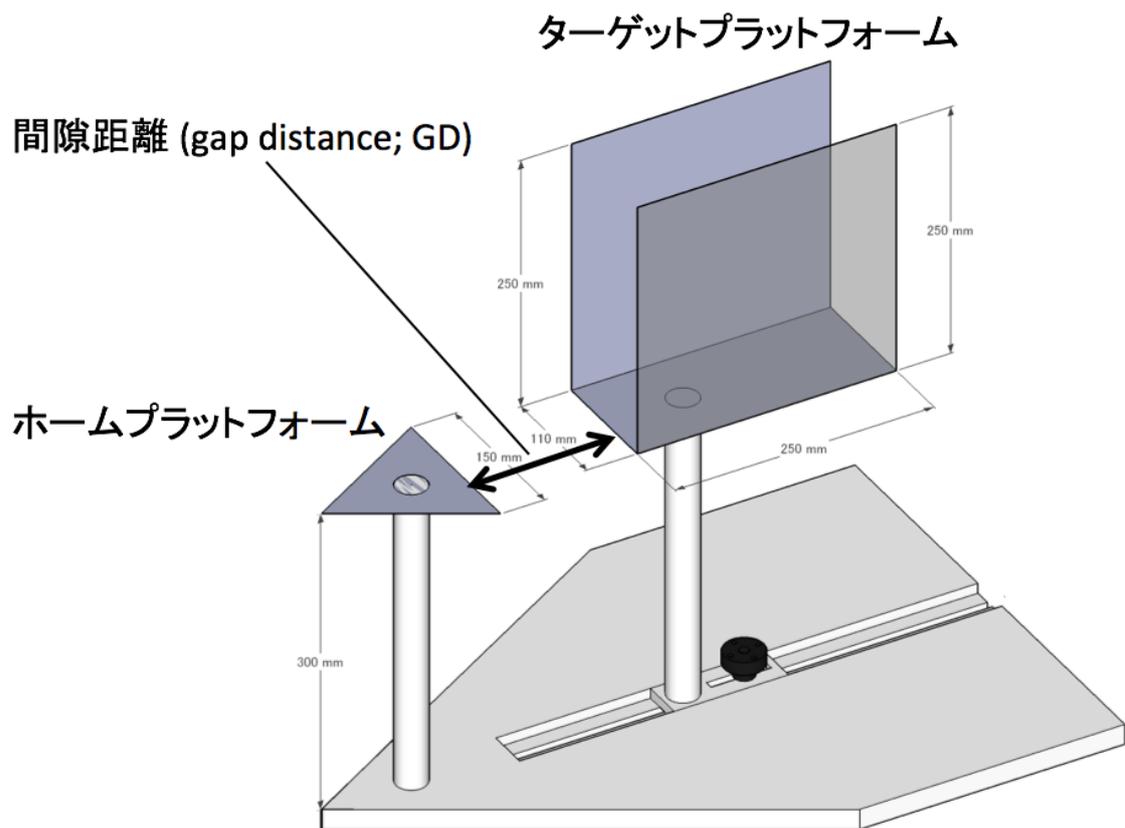
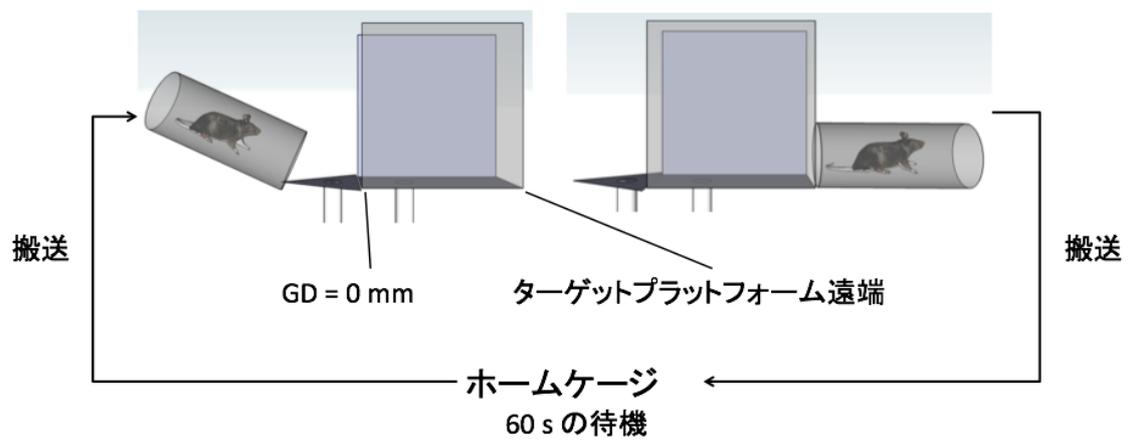


図 3.4 跳躍台の概観

### (a) 馴化



### (b) 胴長計測



図 3.5 馴化の流れと実際の胴長計測

訓練は、様々な長さの GD において、ホームからターゲットプラットフォームまで渡れるかどうかの判断を下し、それを実行するための技能を学習させるために設けられた (Pang et al., 2011; Voigts, Sakmann, & Celikel, 2008) . 本実験では、跳躍行動が GD によって異なるかどうか、また、各 GD での跳躍行動が訓練の経過と共にどの程度変動するかを確認した . 各試行の開始時に、ターゲットプラットフォームを移動させて、胴長の  $4/8$  ( $\times 4/8$ ) ,  $5/8$  ( $\times 5/8$ ) ,  $6/8$  ( $\times 6/8$ ) ,  $7/8$  ( $\times 7/8$ ) ,  $8/8$  ( $\times 8/8$ ) 倍の 5 段階の中のいずれか 1 つを GD に設定した (図 3.6 a, c) . その後ラットは、ホームケージからアクリル円筒によってホームプラットフォームに搬送され、両プラットフォームを隔てるゲートが開くまで待機した (図 3.6 a, c) . ゲートが開いた後、ラットがそこを通過すると赤外線センサ (LV-H300, KEYENCE CO., Osaka, Japan) によって検知され、録画の開始がトリガーされた (図 3.6 a, c) . またこの時点から、試行中のセンサの ON, OFF それぞれの回数と持続時間が計測された (図 3.6 a, c) . ラットが 20 s 以内に、ホームプラットフォームから全肢が離れた状態でターゲットプラットフォームに到達した場合は跳躍成功とし、先の円筒によってホームケージに搬送され、そこで 60 s の間休息した . 20 s 以内に到達できなかった場合は、ゲートは閉じられ、次の試行までホームプラットフォーム上で 60 s の間待機した . 到達判定が困難だった場合は、録画された動画をスロー再生することで判定し、上記の条件を満たしていなかった場合は、ターゲットプラットフォームに到達していた場合であっても、ホームプラットフォームに搬送された . 上記の過程を 1 試行として、5 試行 / セッションで実施した . なお、各 GD は 1 セッションで 1 度しか出現せず、その出現順序は、セッション内の試行数の増加に従って GD も増加するような規則のもと、ランダム化された . これは、ラットが十分な学習を経ていない段階で長い GD に直面し、課題に失敗することで、以降の訓練が忌避されることを防ぐためであった . 5 セッション / 日で、連続して 5 日間実施された .

試験では、20-kHz USS を提示した際の跳躍行動が、Neutral と比較して、どのように変化するかを検証し、それが最も顕著に観察される GD を確認した . 試行数、セッション数は、20-kHz USS が提示される可能性があることと、セッション内の GD の出現順序が試行経過に関係なく完全にランダム化されたことを除い

て，訓練と同じであり，連続して2日間実施された．試験のうち一方は，20-kHz USS が初日に提示され翌日は無音 (Neutral) であり，もう一方はこれとは逆であった．各ラットは，この2通りのうちいずれか一方にランダムに割り振られた．20-kHz USS は，録画と同期して提示された．すなわち，赤外線センサからのトリガー入力を受けて，サウンドジェネレータプログラムで生成され，オーディオインターフェース (QUAD-CAPTURE, Roland CO., Shizuoka, Japan) で中継された後，ホームプラットフォーム後方 30 cm に配置されたスピーカー (GX-77M, Onkyo CO., Osaka, Japan) から 20 s の間提示された (図 3.6 b, c) ．このとき音圧は，ホームプラットフォーム上で 70-80 dB であった．訓練，試験における，録画開始・終了，聴覚刺激の生成・提示，赤外線センサの ON・OFF の回数と持続時間の計測は，LabVIEW (National Instruments Japan CO, Tokyo, Japan) で制御した (図 3.6 b, c) ．

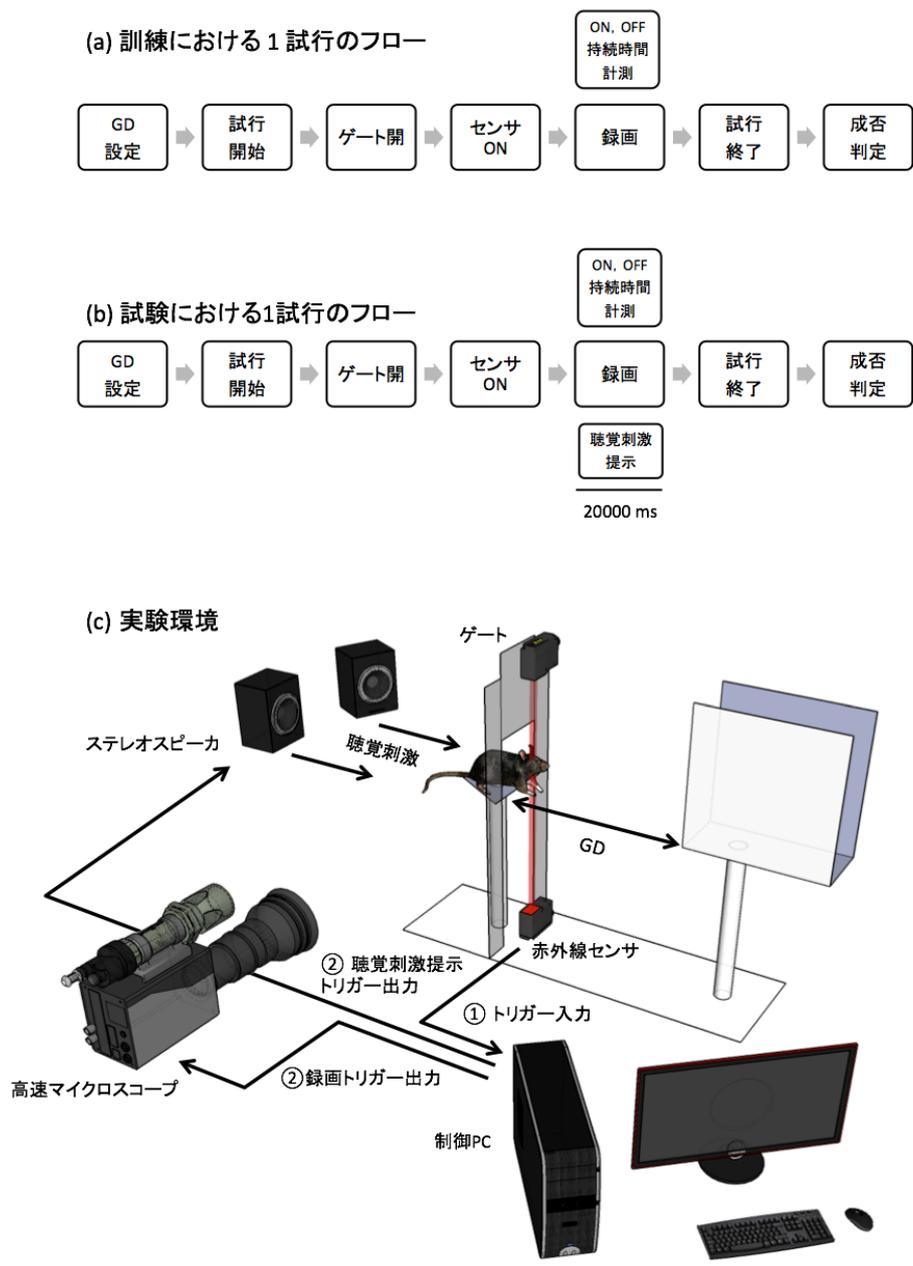


図 3.6 本実験で用いた自発的跳躍パラダイム

### 3.3 解析

試行毎に跳躍の成否を計測した。また，赤外線センサの ON と OFF 状態の累積回数とそれぞれの持続時間は，ゲート付近での行動を知る有用な指標となるので，それぞれ計測した。試行内での ON の持続時間の総和を累積回数で割ることで，ON 1 回あたりの平均持続時間を算出した。また，ON，OFF の持続時間から，跳躍までの潜時を概算した。これは，計測開始から，センサが ON の状態と OFF の状態を交互に繰り返していることから，跳躍が成功した場合には，制限時間の 20 s から最後の OFF の持続時間（ホームプラットフォームを離れてからの持続時間）を引くことで求めた。一方，失敗した場合は潜時は上限の 20 s とした。検定における有意水準は，.05 とし， $.05 \leq p < .1$  を有意傾向 (trend toward significance) とした。また，効果量として  $\eta_G^2$  を算出した。効果量は，サンプルサイズに依存しない，実験的操作 (experimental manipulation) の効果や変数間の関係についての強さ (strength of association) を表す指標である (Cohen, 1988)。 $\eta_G^2$  は，本実験のような反復測定を含む，被験者内計画や混合要因計画にも適用できる (Olejnik & Algina, 2003)。一般的なガイドラインでは，効果量の大きさは，小 ( $> .01$ )，中 ( $> .06$ )，大 ( $> .14$ ) として評価される (Cohen, 1988)。

#### 訓練

訓練日で，跳躍の成功率と潜時，ON 状態の累積回数と総持続時間，および 1 回当たりの平均持続時間の計 5 種の行動指標について，個体平均および群平均を算出した。その後，各指標についての，訓練日数の要因 (Day 1, Day 2, Day 3, Day 4, Day 5) と，GD の要因 ( $\times 4/8$ ,  $\times 5/8$ ,  $\times 6/8$ ,  $\times 7/8$ ,  $\times 8/8$ ) の，繰り返しのある 2 要因分散分析を行った。

#### 試験

20-kHz USS および Neutral において，上記の行動指標の個体平均，群平均を算出した。その後，各指標について，聴覚刺激の要因 (20-kHz USS, Neutral) と，

GDの要因 ( $\times 4/8, \times 5/8, \times 6/8, \times 7/8, \times 8/8$ ) の、繰り返しのある 2 要因分散分析を行った。

### 動作分割解析

解析には、試験の際の GD =  $\times 8/8$  の動画を使用した。これは、この条件では、訓練による跳躍動作の変動が少なく、かつ 20-kHz USS が跳躍の動作に与える効果が最も顕著に観察されたためである (結果参照)。また、各試行の録画時間は 20 s であったが、動画ファイルは、その容量が 2 GB を超える度に、分割保存された。処理の高速化のため、動画の時間と領域の一部を削減し、最終的に、Neutral と 20-kHz USS における GD =  $\times 8/8$  の 1 試行目の動画が解析に使用された。各動画は合計  $5642 \pm 2$  フレーム (1 試行目の録画開始から 2 GB 分  $\approx 11284$  ms) から構成され、各フレームは、 $500 \times 240$  pix. の範囲にリサイズされた。

特徴抽出では、251 個の動作型のうち、ノイズに対しても応答しやすいと考えられる 0 次と 1 次のテンプレートを削除し、動作を最も多彩に表現できる 2 次の型のみを用いた (廣瀬, 渡辺, personal communication)。また、この時の時間窓は、300 ms に設定された。これは、マウスの行動を判定するための最良の時間窓は、25 fps で計測したとき少なくとも約 300 ms であることが先行研究で報告されているためである (Burgos-Artizzu, et al., 2012)。

MFA では、潜在変数として 6 つの動作を想定した。これは、defensive response として、5 つの動作 (Immobility, Torroting, Galloping, Running, Jumping) が、報告されており (Schenberg et al., 2001)、上記の 5 つの動作とそれ以外の動作を想定したためである。FA の適正な数に関しては、これを示す文献が得られなかったため、暫定的に動作数と同じ 6 に設定した。これは、各 FA によって 1 つの動作が表わされると想定したためである。MFA によって跳躍行動が時系列上に 6 種の動作の配列に分割された後、個体毎に各動作の持続時間を求め、Neutral, 20-kHz USS の群平均を算出した。その後、持続時間についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz USS, Neutral)  $\times$  動作 (動作 1, 動作 2, 動作 3, 動作 4, 動作 5, 動作 6)] を行った。

### 3.4 結果

#### 訓練

跳躍の成功率は、GD の増加に伴って減少したが、その差は訓練の経過とともに変化した (図 3.7 a) . これは、成功率についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [訓練日数 (Day 1, Day 2, Day 3, Day 4, Day 5) × GD (× 4/8, × 5/8, × 6/8, × 7/8, × 8/8)] における、訓練日数と GD の交互作用から示された [ $F(16, 96) = 1.79, p < .05, \eta_G^2 = .09$ ] . 訓練日毎に GD 間の成功率を比較すると、Day 1 では、GD = × 4/8 は × 6/8 以上の GD と比較して、GD = × 5/8 は × 7/8 以上と比較して、そして GD = × 6/8 は × 8/8 と比較して、高い成功率を示した ( $p < .05$ ) . Day 2 では、GD = × 4/8, × 5/8 の両方が、× 7/8 以上の GD と比較して高い成功率を示した ( $p < .05$ ) . Day 3 では、前日の結果に加え、GD = × 6/8 が、× 8/8 に比べて高い成功率を示した ( $p < .05$ ) . Day 4 では、GD = × 6/8 以下の全ての GD が、× 8/8 に比べて高い成功率を示した ( $p < .05$ ) . Day 5 では、GD = × 4/8, × 5/8 が × 8/8 に比べて高い成功率を示した ( $p < .05$ ) . 次に、GD 毎に訓練日間の成功率を比較すると、× 6/8 以上の GD における訓練日数の単純主効果が認められた ( $p < .05$ ) . GD = × 6/8 では、Day 4, 5 の両方における成功率が、Day 1 に比べて高かった ( $p < .05$ ) . 一方、GD = × 7/8, × 8/8 では訓練日間の差を示さなかった .

跳躍の潜時は、GD に伴って増加したが、その差は訓練の経過とともに変化した (図 3.7 b) . これは、潜時についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [訓練日数 (Day 1, Day 2, Day 3, Day 4, Day 5) × GD (× 4/8, × 5/8, × 6/8, × 7/8, × 8/8)] における、訓練日数と GD の交互作用から示された [ $F(16, 96) = 1.89, p < .05, \eta_G^2 = .08$ ] . 訓練日毎に GD 間の潜時を比較すると、Day 1 では、GD = × 4/8 は × 6/8 以上の GD と比較して、GD = × 5/8 は × 7/8 以上と比較して、そして GD = × 6/8 は × 8/8 と比較して、短い潜時を示した ( $p < .05$ ) . Day 2 では、GD = × 4/8, × 5/8 の両方が、× 7/8 以上の GD と比較して短い潜時を示した ( $p < .05$ ) . Day 3 では、GD = × 4/8, × 5/8 の両方が × 6/8 以上の全ての GD と比較して、GD = × 6/8 は × 8/8 と比較して、短い潜時を示した ( $p < .05$ ) . Day 4 および Day 5 では、GD = × 4/8, × 5/8 の両方が、× 7/8 以上の GD と比較

して、GD = × 6/8 は × 8/8 と比較して短い潜時を示した ( $p < .05$ )。次に、GD 毎に訓練日間の潜時を比較すると、GD = × 4/8 から × 7/8 までで、訓練日数における単純主効果を示し ( $p < .05$ )、GD = × 8/8 ではその有意傾向が示された ( $p < .1$ )。GD = × 6/8 では、Day 4, 5 の両方における潜時が、Day 1 に比べて短かったものの ( $p < .05$ )、これ以外の GD では、訓練日間の差を示さなかった。

跳躍時における ON 状態の総持続時間も、潜時と同様に、GD に伴って増加したが、その差は訓練の経過とともに変化した (図 3.7 c)。これは、総持続時間についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [訓練日数 (Day 1, Day 2, Day 3, Day 4, Day 5) × GD (× 4/8, × 5/8, × 6/8, × 7/8, × 8/8)] における、訓練日数と GD の交互作用から示された [ $F(16, 80) = 4.01, p < .05, \eta_G^2 = .21$ ]。訓練日毎に GD 間の総持続時間を比較すると、Day 1 では、GD = × 4/8 は × 6/8 以上の GD と比較して、GD = × 5/8 は × 7/8 と比較して、短い総持続時間を示した ( $p < .05$ )。Day 2 から Day 4 にかけて、GD = × 4/8, × 5/8 の両方が、× 7/8 以上の GD と比較して、GD = × 6/8 が × 8/8 と比較して短い総持続時間を示した ( $p < .05$ )。Day 5 では、GD = × 4/8 が × 8/8 と比較して、GD = × 5/8, が × 7/8 以上の GD と比較して、短い総持続時間を示した ( $p < .05$ )。次に、GD 毎に訓練日間の総持続時間を比較すると、GD = × 8/8 を除く全てで、訓練日数の単純主効果を示した ( $p < .05$ )。GD = × 6/8 では Day 4, 5 の、GD = × 7/8 では Day 5 の総持続時間が Day 1 よりも短かったが ( $p < .05$ )、これ以外の GD では、訓練日間の差を示さなかった。

ON 1 回当たりの平均持続時間も、総持続時間と同様に、GD に伴って増加したが、その差は訓練の経過とともに変化した (図 3.7 d)。これは、平均持続時間についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [訓練日数 (Day 1, Day 2, Day 3, Day 4, Day 5) × GD (× 4/8, × 5/8, × 6/8, × 7/8, × 8/8)] における、訓練日数と GD の交互作用から示された [ $F(16, 80) = 2.08, p < .05, \eta_G^2 = .17$ ]。訓練日毎に GD 間の平均持続時間を比較すると、Day 4 のみで、GD = × 4/8 と × 5/8 の両方が、× 6/8 以上の全ての GD と比較して、短い総持続時間を示した ( $p < .05$ )。次に、GD 毎に訓練日間の平均持続時間を比較すると、GD = × 4/8 から × 6/8 までが、訓練日数における単純主効果を示したが ( $p < .05$ )、いずれも

訓練日間の差を示さなかった。

ON 状態の累積回数は，GD に伴って増加したが，その差は訓練の経過とともに変化した (図 3.7 e) . これは，累積回数についての，繰り返しのある 2 要因分散分析 [訓練日数 (Day 1, Day 2, Day 3, Day 4, Day 5) × GD (× 4/8, × 5/8, × 6/8, × 7/8, × 8/8)] における，訓練日数と GD の交互作用の有意傾向から示唆された [ $F(16, 96) = 1.71, p < .1, \eta_G^2 = .09$ ] . 訓練日毎に GD 間の累積回数を比較すると，Day 1 では，GD 間で ON 状態の累積回数に有意な差は検出されなかった . しかし，Day 2 では，GD = × 4/8, × 5/8 の両方が，× 7/8 以上の GD と比較して少ない ON 状態の累積回数を示した ( $p < .05$ ) . Day 3 および Day 4 では，前日の結果に加え，GD = × 6/8 が × 7/8 以上の GD と比較して，少ない ON 状態の累積回数を示した ( $p < .05$ ) . Day 5 では，Day 3 と同様の結果が得られた ( $p < .05$ ) . 次に，GD 毎に訓練日間の累積回数を比較すると，GD = × 7/8 を除く全てで，訓練日数における単純主効果を示した ( $p < .05$ ) . GD = × 4/8 では，Day 5 の累積回数は，Day 2 と比較して少なかったが ( $p < .05$ ) ，これ以外の GD では，訓練日間の差を示さなかった .

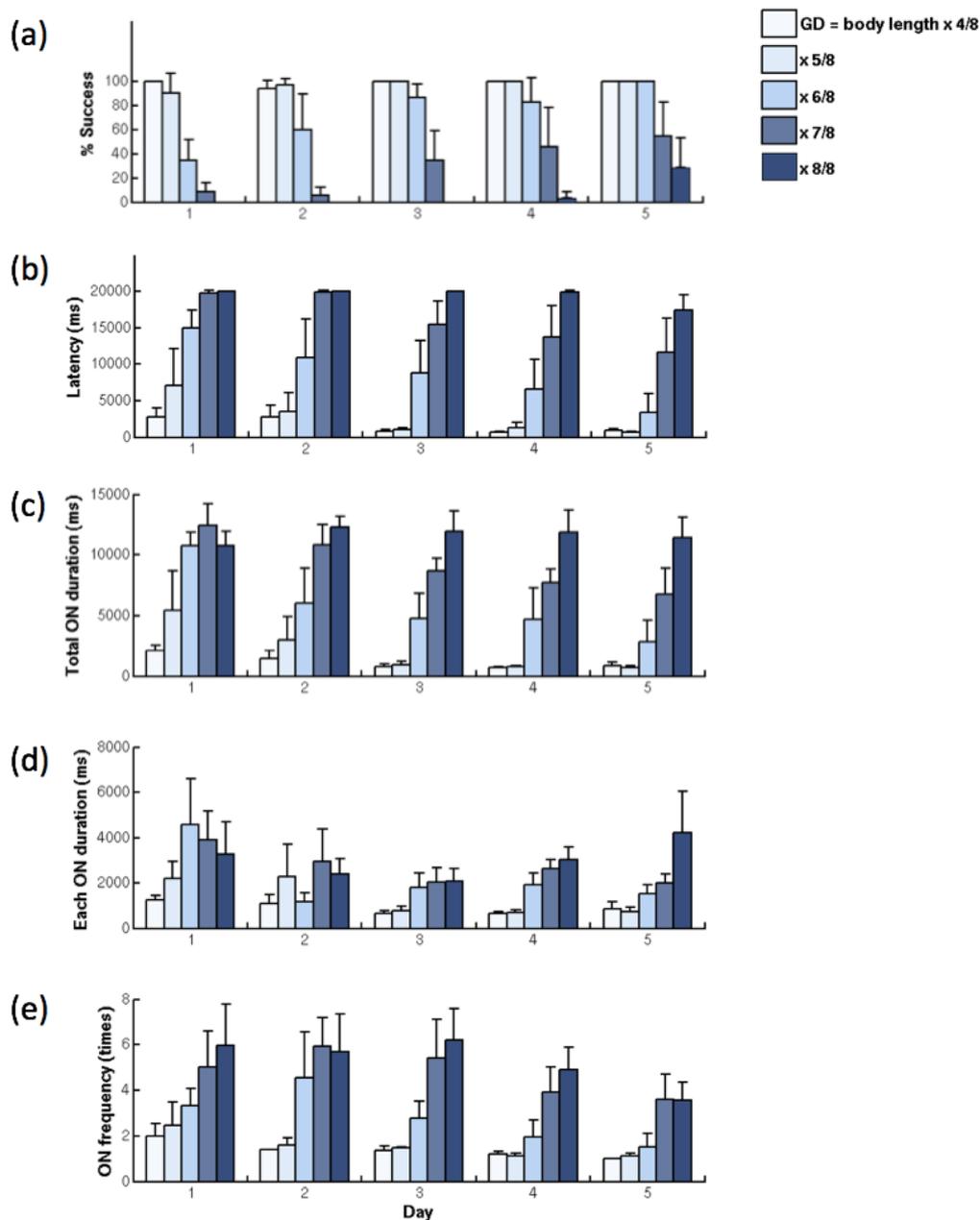


図 3.7 GD と訓練日数が跳躍行動に及ぼす影響

GD と訓練日数が、跳躍行動の成功率 (a) と潜時 (b), 赤外線センサが ON の状態の総持続時間 (c), ON 1 回当たりの平均持続時間 (d), ON 状態の累積回数 (e) に及ぼす影響を示した。GD の大きさは、カラーバーの色の濃度に対応しており、GD =  $\times 4/8$  を最も薄い水色、GD =  $\times 8/8$  を濃紺で示した (各バーは、 $N = 8$ )。横軸に訓練日数を示した。(a) の縦軸は成功率 (%), (b) の縦軸は潜時 (ms), (c), (d) の縦軸は持続時間 (ms), (e) の縦軸は回数 (回) を示した。エラーバーは、95% 信頼区間を示した。

## 試験

跳躍の成功率は、GD に伴って低下したが、聴覚刺激の効果は観察されなかった (図 3.8 a) . すなわち、成功率についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz USS, Neutral)  $\times$  GD ( $\times$  4/8,  $\times$  5/8,  $\times$  6/8,  $\times$  7/8,  $\times$  8/8)] は、GD の主効果のみを示した [ $F(4, 24) = 7.78, p < .05, \eta_G^2 = .29$ ] . 下位検定の結果、いずれの GD 間にも成功率についての有意な差は検出されなかった .

跳躍までの潜時は、GD に伴って増加したが、聴覚刺激の効果は観察されなかった (図 3.8 b) . すなわち、潜時についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz USS, Neutral)  $\times$  GD ( $\times$  4/8,  $\times$  5/8,  $\times$  6/8,  $\times$  7/8,  $\times$  8/8)] が、GD の主効果のみを示した [ $F(4, 24) = 13.51, p < .05, \eta_G^2 = .40$ ] . 下位検定の結果、GD =  $\times$  4/8,  $\times$  5/8 の両方が、聴覚刺激に関係なく、 $\times$  8/8 と比較して短い潜時を示した ( $p < .05$ ) .

一方、ON 状態の総持続時間は、Neutral に比べて 20-kHz USS で短縮されたが、その差は GD に伴って増加した (図 3.8 c) . これは、総持続時間についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz USS, Neutral)  $\times$  GD ( $\times$  4/8,  $\times$  5/8,  $\times$  6/8,  $\times$  7/8,  $\times$  8/8)] における、聴覚刺激と GD の間の交互作用の有意傾向から示唆された [ $F(4, 24) = 2.54, p < .1, \eta_G^2 = .04$ ] . 聴覚刺激毎に GD 間の総持続時間を比較すると、Neutral では、GD =  $\times$  4/8,  $\times$  5/8,  $\times$  6/8 のそれぞれが、 $\times$  7/8 以上の GD と比較して、短い総持続時間を示したのに対し ( $p < .05$ ) , 20-kHz USS では、これらの差が消失した . 次に、GD 毎に聴覚刺激間の総持続時間を比較すると、いずれの GD でも、聴覚刺激の単純主効果を示さなかった .

ON 1 回当たりの平均持続時間も、総持続時間の結果と同様に、Neutral に比べて 20-kHz USS で短縮されたが、その程度は GD の増加に伴って顕著に観察された (図 3.8 d) . これは、平均持続時間についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz USS, Neutral)  $\times$  GD ( $\times$  4/8,  $\times$  5/8,  $\times$  6/8,  $\times$  7/8,  $\times$  8/8)] における、聴覚刺激と GD の間の交互作用から示された [ $F(4, 24) = 3.04, p < .05, \eta_G^2 = .05$ ] . 聴覚刺激毎に GD 間の平均持続時間を比較すると、20-kHz USS で、GD =  $\times$  5/8 が GD =  $\times$  7/8 と比較して短かったことを除き、いずれの聴覚刺激条件でも GD 間の差は同程度であった . 次に、GD 毎に聴覚刺激間の平均持続時

間を比較すると、特に GD = × 7/8, × 8/8 における平均持続時間が、Neutral にくらべて 20-kHz USS で短縮されていた。これは、両 GD における聴覚刺激の単純主効果の検定における、有意傾向から示唆された（それぞれ、 $p < .1$   $\eta_G^2 = .02$ ,  $p < .1$   $\eta_G^2 = .11$ ）。

ON 状態の累積回数は、GD に伴って増加したが、聴覚刺激の効果は観察されなかった（図 3.8 e）。すなわち、累積回数についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz USS, Neutral) × GD (× 4/8, × 5/8, × 6/8, × 7/8, × 8/8)] は、GD の主効果のみを示した [ $F(4, 24) = 8.57$ ,  $p < .05$ ,  $\eta_G^2 = .37$ ]。下位検定の結果、いずれの GD 間にも ON 状態の累積回数についての有意な差は検出されなかった。

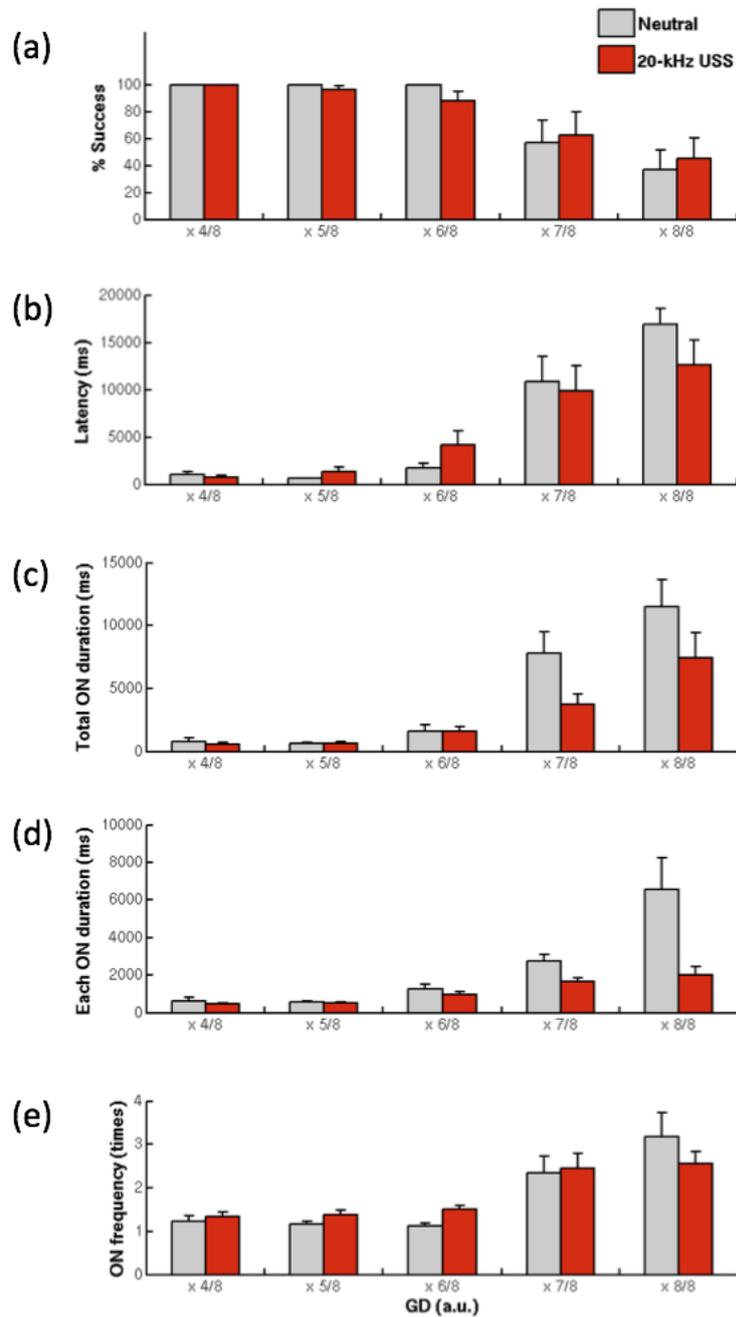


図 3.8 GD と 20-kHz USS が跳躍行動に及ぼす影響

GD と 20-kHz USS が、成功率 (a), 潜時 (b), ON 状態の総持続時間 (c), ON 1 回当たりの平均持続時間 (d), ON 状態の累積回数 (e) に及ぼす影響を示した。20-kHz USS では、ON 状態の総持続時間と 1 回当たりの平均持続時間が顕著に短縮された。20-kHz USS (N = 7) を赤色の、Neutral (N = 7) を灰色のカラーバーで示した。横軸に GD を示した。(a) の縦軸は成功率 (%), (b) の縦軸は潜時 (ms), (c), (d) の縦軸は持続時間 (ms), (e) の縦軸は回数 (回) を示した。エラーバーは、95% 信頼区間を示した。

## 動作分割解析

20-kHz USS および Neutral における跳躍行動が、6 種類の動作に分割され、それらの配列として時系列上に表現された (図 3.9)。両条件に共通して、跳躍行動は、動作 1 から開始され、同程度持続した (図 3.9)。一方、動作 2 は、20-kHz USS では観察されなかった (図 3.9 b)。動作 3 は、20-kHz USS と Neutral で、その発生時点が共通していた (図 3.9)。興味深いことに、この動作を起点として、以降の動作配列が条件間で分岐した。すなわち、Neutral では、動作 3 に続いて動作 4、5 が発生したのに対し、20-kHz USS では、動作 3 がより長く持続した後、動作 6 が発生した (図 3.9 b)。このとき、動作 3 に分類される割合が低下するのに伴い、動作 6 に分類される割合が増加した (図 3.9 b)。

実際に、各動作は、Neutral か 20-kHz USS かで持続時間が異なった (図 3.10)。これは、各動作の持続時間についての、繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz USS, Neutral) × 動作 (動作 1, 動作 2, 動作 3, 動作 4, 動作 5, 動作 6)] における、聴覚刺激と動作の間の交互作用から示された [ $F(5, 25) = 6.80, p < .05, \eta_G^2 = .35$ ]。下位検定の結果、動作 5, 6 における聴覚刺激の単純主効果が示された ( $p < .05$ )。すなわち、動作 5 の持続時間は、Neutral と比較して 20-kHz USS で短縮され、動作 6 ではその逆であった (図 3.10)。また、動作 4 の持続時間は、Neutral と比較して 20-kHz USS で短縮され、動作 3 ではその逆であった (図 3.10)。これは、動作 3, 4 における単純主効果の有意傾向から示唆された ( $p < .1$ )。

各動作が具体的にどのような動作であったのかを可能な範囲で記述するため、各動作が発生した際の動画を確認した。Neutral, 20-kHz USS の両方で観察された動作 1 のムービークリップでは、13 匹中 9 匹で、後肢の踏み出しを伴う前進動作が観察された (図 3.11)。Neutral で顕著に観察された動作 2, 4, 5 のクリップを、20-kHz USS でのそれと比較すると、これらの動作はホームプラットフォームから身を乗り出した状態で頸部を上下に動かす等の動作が観察された (図 3.11)。実際に、動作 2 のクリップ中でこれを示していたのは、Neutral では 6 匹中 3 匹であったのに対し、20-kHz USS では 7 匹中 2 匹であった。同様に、動作 4, 5 のクリップでこの動作を示した個体は、それぞれ、Neutral では 5 匹だったのに対し、20-kHz USS では 2 匹のみであった。しかし、動作 2, 4, 5 のクリップのみ

から、それぞれを分類することは困難であった。20-kHz USS で長い持続時間を示した動作 3 のクリップを、Neutral のそれと比較すると、動作 3 は、成否に関わらず跳躍直前の動作、すなわち前肢をホームプラットフォームから離す動作を示すと考えられる (図 3.11)。20-kHz USS では、3 匹が跳躍の際に、1 匹が落下の際にこの動作を示したが、Neutral では、1 匹のみがこれを示した。また、別の個体では、繰り返し前肢がホームプラットフォームから離れるものの、その持続時間は短かった。同様に、20-kHz USS で顕著に観察された動作 6 のクリップを Neutral のものと比較すると、動作 6 はフレーム内の個体の有無を示していると考えられる (図 3.11)。これは、20-kHz USS では、録画開始から 8 s 以内に、落下した 1 匹および跳躍に成功した 4 匹が、撮影範囲外に移動していた一方で、Neutral では、4 匹がホームプラットフォーム上に残っていたためである。

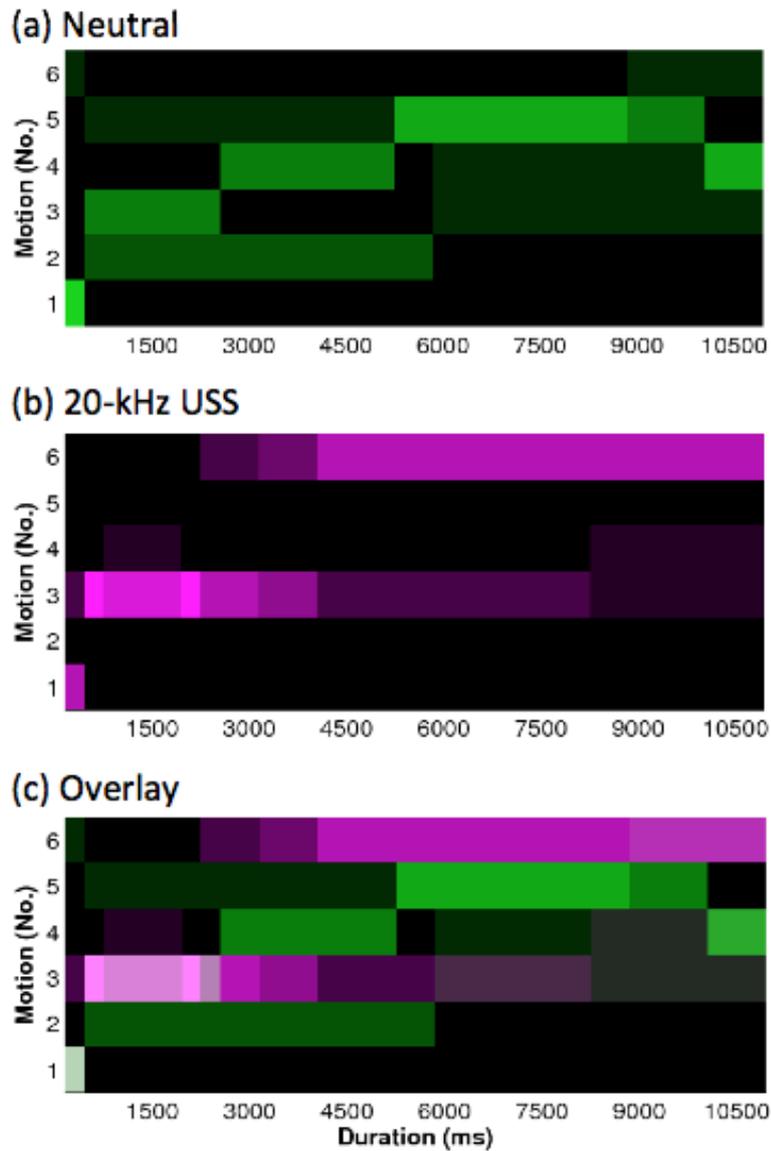


図 3.9 20-kHz USS と Neutral における動作配列の比較

Neutral (a) と 20-kHz USS (b) での跳躍行動が、6 種の動作からなる配列として時系列上に分割された。これは、各データ点における、混合要素 FA の事後確率の分布で示され、各データ点で 6 種の動作がそれぞれの FA によってどの程度捉えられたかを示している。また、両群において 7 匹のラットの動作配列の平均を算出し、色の濃度が高いほど、多くの個体でその動作が同時刻に発生したことを示した。(c) で、Neutral と 20-kHz USS の動作配列を直接比較するため、それらを重ね合わせた。色が白色に近いほど、両条件で同程度その動作が発生していたことを示す。縦軸は動作、横軸は時間軸、時間軸上の各データ点は 300 ms の時間窓を示した。

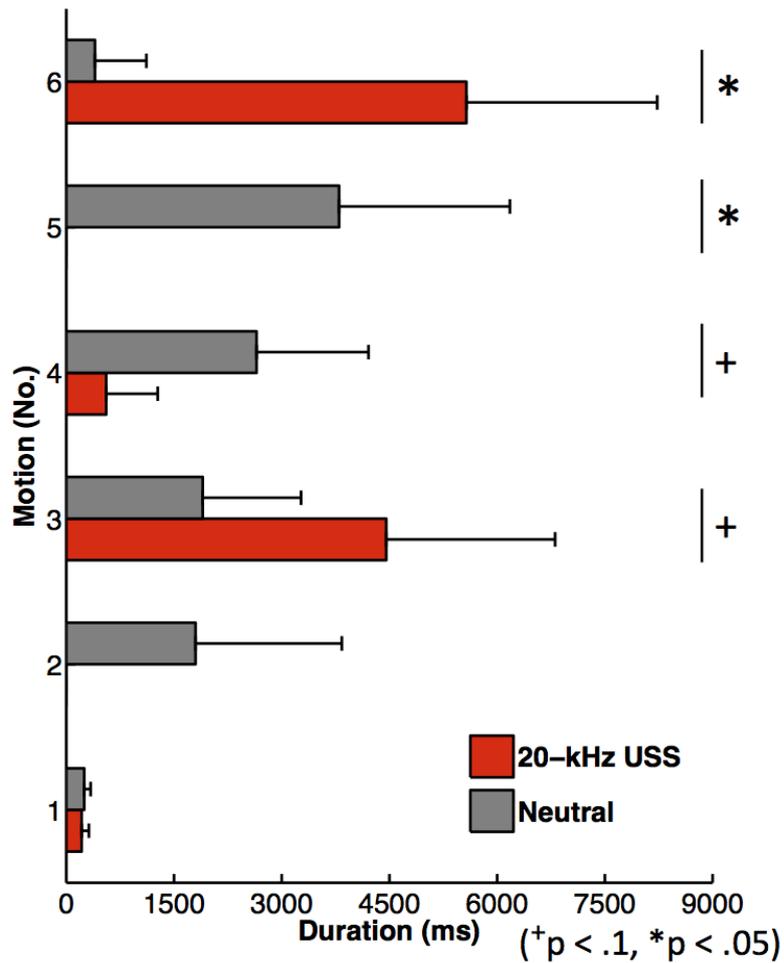


図 3.10 20-kHz USS と Neutral における各動作の持続時間の比較

20-kHz USS が、分割された各動作の持続時間に及ぼす影響を示した。20-kHz USS では、Neutral と比較して、動作 3 と 5 の持続時間を増加させ、動作 4 と 5 のそれを短縮した。20-kHz USS (N = 7) を赤色の、Neutral (N = 7) を灰色のカラーバーで示した。縦軸に動作を示し、横軸に持続時間 (ms) を示した。エラーバーは、95 % 信頼区間を示した。 $+p < .1$ ,  $*p < .05$ 。

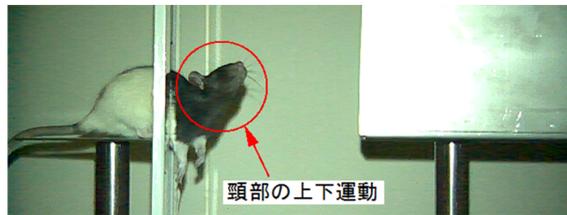
動作 1



動作 2, 4, 5



動作 2, 4, 5



動作 3



動作 6



図 3.11 ムービークリップから確認された各動作の特徴

## 4. 20-kHz USS に対する自律神経応答の計測

### 4.1 実験動物

7 匹の Long-Evans rat (15 週齢以下, メス, Japan SLC) を使用し, 上記に記載したものと同様の環境で飼育された。この実験は, 奈良先端科学技術大学院大学動物実験委員会の承認を受けて実施された (承認番号 1004)。

### 4.2 材料と方法

本実験は, ラットの頭部と定位固定装置を接合させるヘッドプレートの装着手術, 回復期間, 試験の 3 つの部分から構成された。ヘッドプレート装着手術の直前に, 体重 200 g 当たり, Ketamine (130  $\mu$ l), Xylazine (70  $\mu$ l), distilled water (720  $\mu$ l), 10  $\times$  saline (80  $\mu$ l) から構成された混合麻酔を腹腔内に注射した。この状態から, 頭頂部および頸部を除毛し, 定位固定装置上に固定した後, 頭蓋とヘッドプレートをセメントで接合した。なお, 手術の途中でラットが覚醒状態に戻るたびに, 麻酔が最初の 20% の量で追加投与された。その後, 定位固定装置からラットを一旦取り外してホームケージ内に戻し, 2 日間の回復期間が設けられた。

試験は連続して 2 日間実施された。初日の試験の開始直前に, ラットは上記の量の麻酔を投与された後, 頸部にパルスオキシメータ (MouseOx Plus, STARR Life Sciences) のクリップセンサーを装着し, 定位固定装置に固定された。覚醒後, 酸素飽和度, 心拍数, 呼吸数の 3 種の生理指標を, 60 s の間, 15 Hz のサンプリングレートで計測した。最初 (Pre) と最後 (Post) の 20 s の間は刺激は提示されなかったが, 20 s から 40 s の間 (ON) では, ラットの左右の耳から 10 cm の距離に配置されたステレオスピーカー (GX-77M, Onkyo CO., Osaka, Japan) から, 20-kHz USS あるいはホワイトノイズ (WN) が 30-40 dB で提示された。Post の終了後 15 min の間待機し, ここまでを 1 試行とした。計測開始のトリガー, および聴覚刺激の生成・提示は LabVIEW で制御された。3 試行 / 日を実施し, 全試行で同一の聴覚刺激が提示された。2 日目の試験は, 1 日目とは逆の聴覚刺

激が提示されたことを除き，前日と同様のスケジュールで実施された．

### 4.3 解析

試行毎に，20-kHz USS および WN の，Pre，ON，Post の各フェイズにおける酸素飽和度，心拍数，呼吸数それぞれの個体平均を算出した．次に，Pre に対する各生理指標の変化を示すため，Pre フェイズと各フェイズの平均値の差を算出した後，その群平均を算出した．この過程で，群平均に対して標準偏差の  $\pm 2$  倍の値を示した個体は，外れ値として除外した．聴覚刺激の要因 (20-kHz USS，WN) とフェイズの要因 (ON，Post) が，各生理指標に与える影響について，繰り返しのある 2 要因分散分析を行い，効果量として  $\eta_G^2$  を算出した．また，20-kHz USS と WN のそれぞれについて，個体毎に各試行における各指標の最大値までの潜時を求め，それぞれを計測開始から終了までの 10 s 毎のビンのいずれかに振り分けた．全個体に対してこれを行い，各指標の最大値までの潜時のヒストグラムを作成した．

### 4.4 結果

いずれの生理指標も，20-kHz USS 条件下では，WN と比較して特徴的な変化が観察された．心拍数は，1 試行目において，WN と比較して 20-kHz USS で減少したが，その差はフェイズによって異なった (図 3.12, a)．心拍数についての繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz USS, WN; 2)  $\times$  フェイズ (ON, Post; 2)] における，聴覚刺激とフェイズの交互作用の有意傾向から示唆された [ $F(1, 5) = 5.21, p < .1, \eta_G^2 = .02$ ]．聴覚刺激の単純主効果の検定の結果，ON では有意傾向 ( $p < .1$ )，Post で有意な効果を示した ( $p < .05$ )．しかし，以降の試行では，聴覚刺激，フェイズ共に心拍数に影響しなかった．心拍数の最大値が，20-kHz USS 提示中に出現したのは，全体のうち約 15% 程度であった (図 3.12, b)．

呼吸数は，3 試行目において，WN と比較して 20-kHz USS で増加した (図 3.13, a)．これは，呼吸数についての繰り返しのある 2 要因分散分析 [聴覚刺激 (20-kHz

USS, WN; 2) × フェイズ (ON, Post; 2)] における, 聴覚刺激の主効果から示された [ $F(1, 5) = 9.97, p < .05, \eta_G^2 = .25$ ]. この効果は, 1-2 試行目では観察されなかったものの, 試行全体で, 呼吸数の最大値までの潜時の約 40% が, 20-kHz USS 提示中に現れた (図 3.13, b) .

酸素飽和度は, いずれの試行においても, 聴覚刺激, フェイズの要因に影響されなかった (図 3.14, a) . しかし, 試行全体で, 酸素飽和度の最大値までの潜時の約 40% が, 20-kHz USS 提示中に現れた (図 3.14, b) .

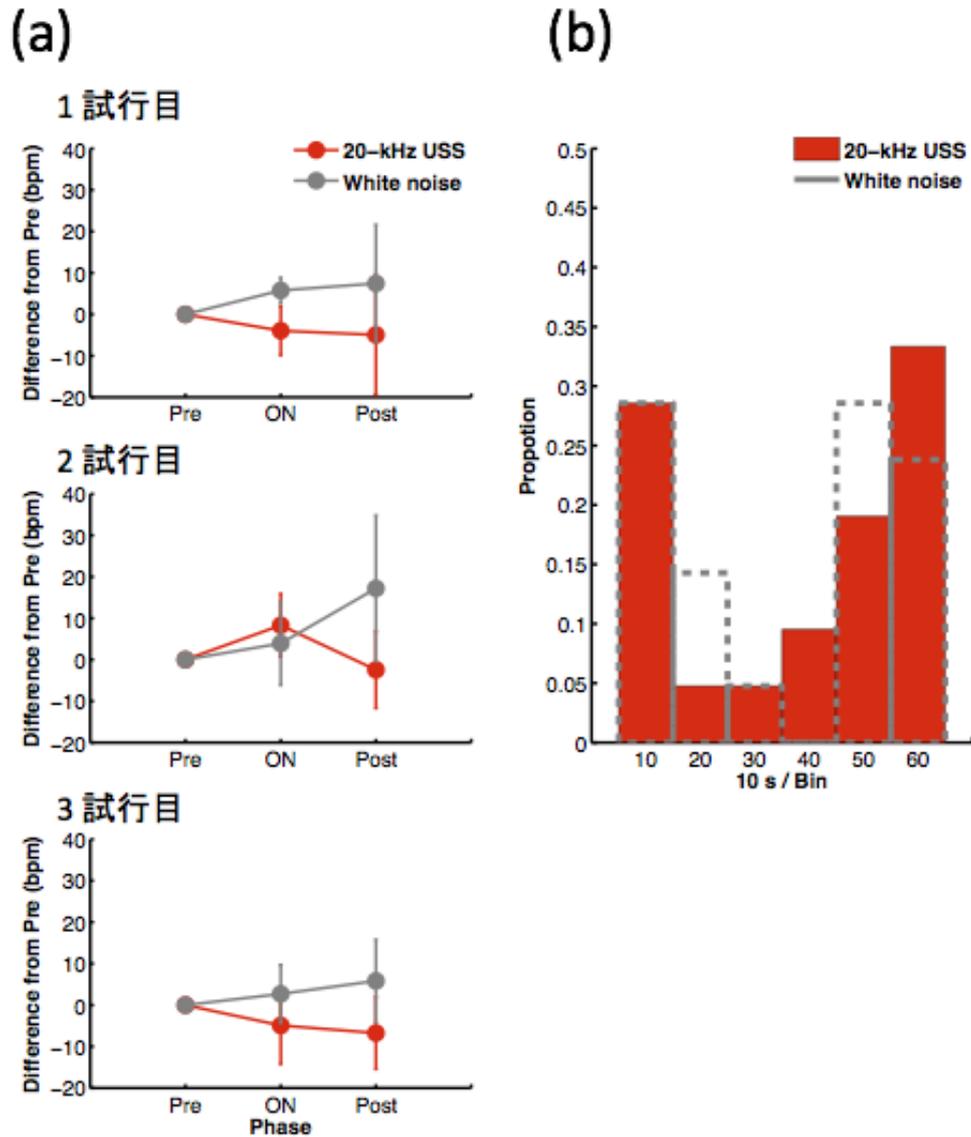


図 3.12 20-kHz USS が心拍数に与える影響

聴覚刺激提示 1 回目から 3 回目における、刺激提示前 (Pre) からの心拍数の変化を示した (a), 20-kHz USS ( $N = 7$ ) を赤色, WN ( $N = 7$ ) を灰色で示し, 縦軸に心拍数の Pre からの変化量 (bpm), 横軸にフェイズを示した. また, 最大値までの潜時のヒストグラムを示した (b). 20-kHz USS は赤色のバーで示され, WN は灰色の点線で示された. 横軸は, 10 s 毎のピンを示し, 縦軸に比率を示した.

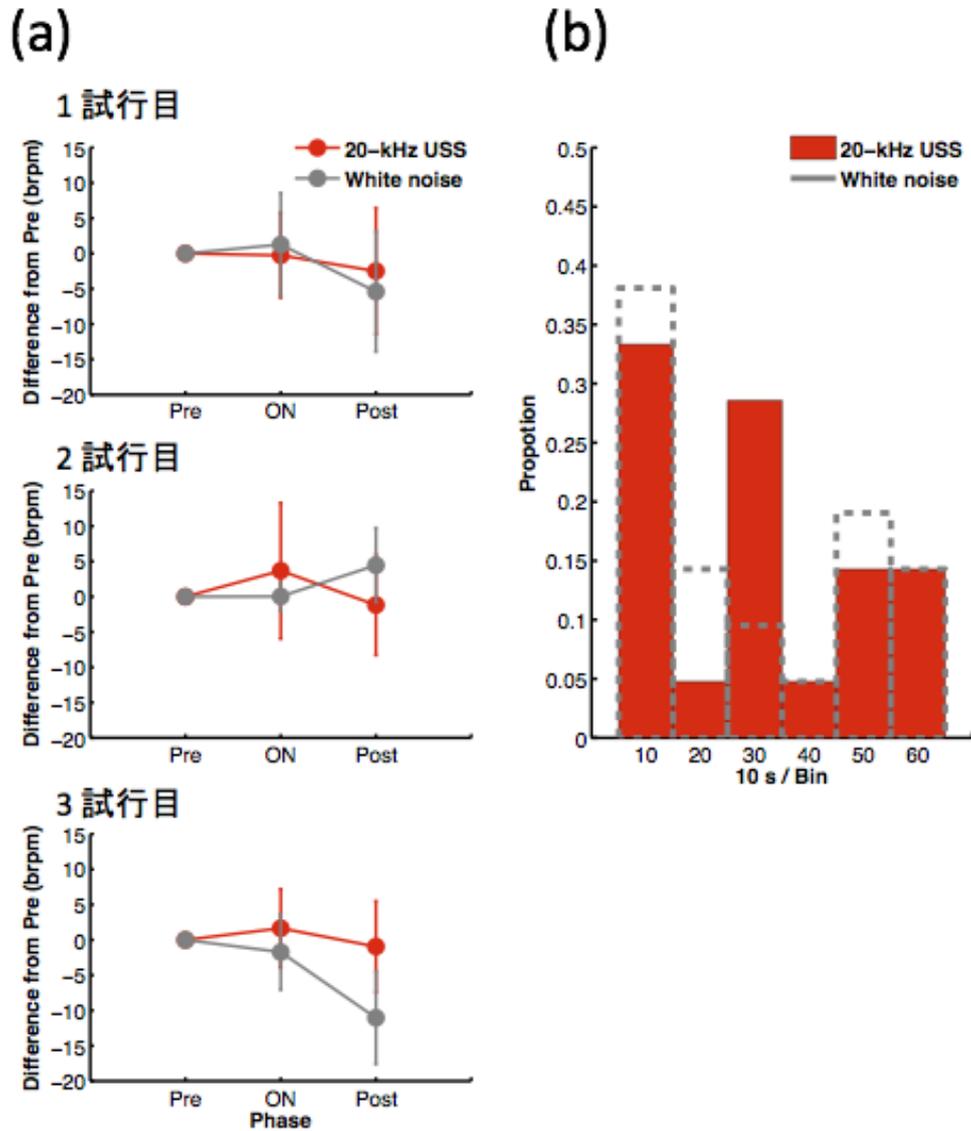


図 3.13 20-kHz USS が呼吸数に与える影響

聴覚刺激提示 1 回目から 3 回目における, Pre からの呼吸数の変化を示した (a), 20-kHz USS (N = 7) を赤色, WN (N = 7) を灰色で示し, 縦軸に呼吸数の Pre からの変化量 (brpm), 横軸にフェイズを示した. また, 最大値までの潜時のヒストグラムを示した (b). 20-kHz USS は赤色のバーで示され, WN は灰色の点線で示された. 横軸は, 10 s 毎のビンを示し, 縦軸に比率を示した.

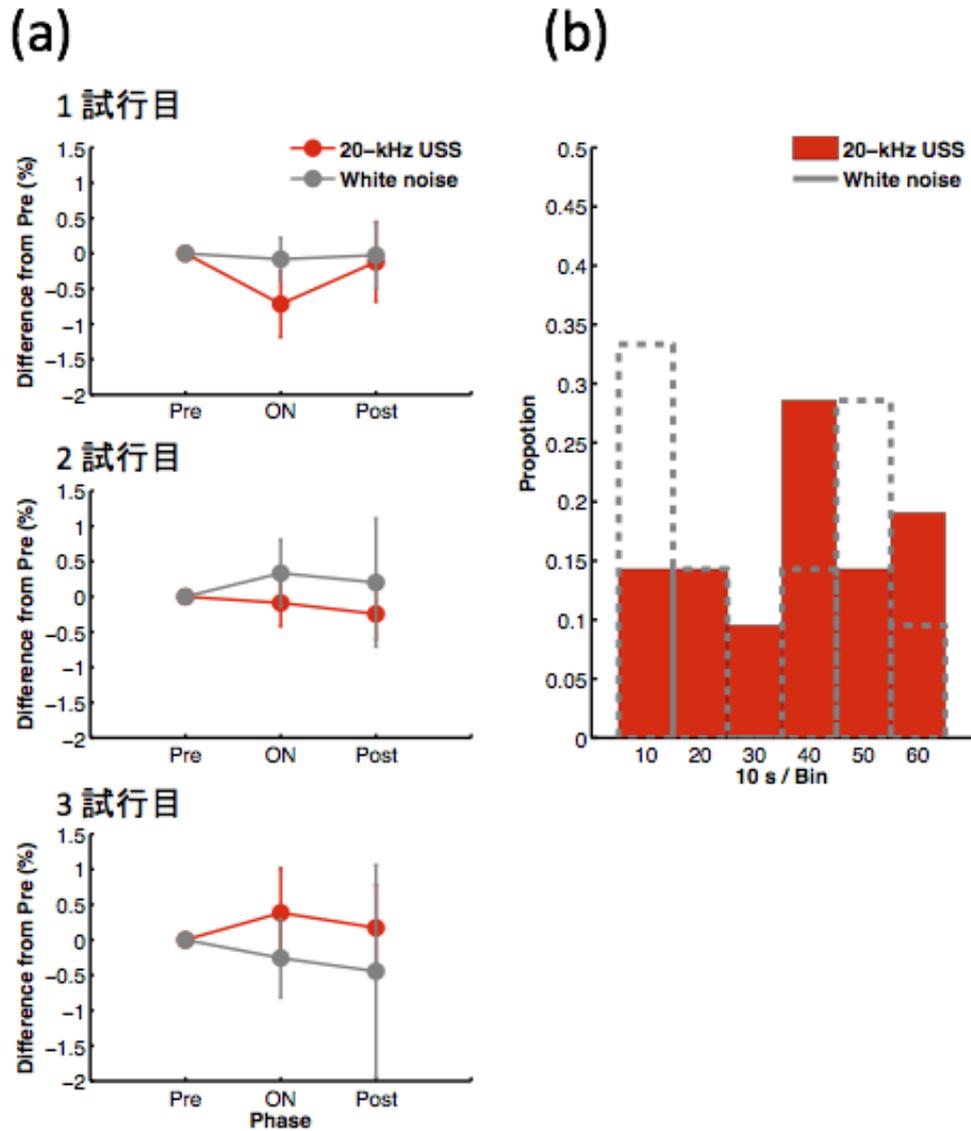


図 3.14 20-kHz USS が酸素飽和度に与える影響

聴覚刺激提示 1 回目から 3 回目における, Pre からの酸素飽和度の変化を示した (a), 20-kHz USS (N = 7) を赤色, WN (N = 7) を灰色で示し, 縦軸に酸素飽和度の Pre からの変化量 (%), 横軸にフェイズを示した. また, 最大値までの潜時のヒストグラムを示した (b). 20-kHz USS は赤色のバーで示され, WN は灰色の点線で示された. 横軸は, 10 s 毎のビンを示し, 縦軸に比率を示した.

## 5. 20-kHz USS に対する PAG の神経活動履歴の計測

### 5.1 実験動物

1 匹の Long-Evans rat (8 週齢, メス, Japan SLC, Inc.) を使用し, 上述の環境下で飼育された。この実験は, 奈良先端科学技術大学院大学動物実験委員会の承認を受けて実施された (承認番号 1004)。

### 5.2 c-Fos 免疫染色

ラットは, ホームケージからアクリル円筒で跳躍台のホームプラットフォームに搬送された。ターゲットプラットフォームおよびゲートは撤去されており, ホームプラットフォーム外への移動は制限されていた。ホームプラットフォームへの到着から 1 分間後, 20-kHz USS を 60 s の間提示し, ホームケージに搬送した。

c-Fos 免疫染色は本研究室のプロトコルに基づいて実施された (桃田, 2012; 清水, 2010)。ホームケージへの搬送から 90 分後, 各ラットに, 20% カルバミド酸エチル (2000  $\mu$ l/200 g) を投与し麻酔下においた。その後, Saline で脱血し, 固定液を用いて灌流固定を行った。脳を摘出した後, 固定液中に入れ, 4°C で 1 晩インキュベートした。その後, 30% スクロース溶液中に移し, 4°C で 2 晩インキュベートした。脳が容器の底に沈殿するのを確認にした後, 尾側を上に向けた状態で木片上に垂直に配置し, tissue teck で接着した。その後これをドライアイス中で 20 min の間インキュベートし凍結させた。凍結した脳をクリオスタットの台に固定し, PAG の座標 (Bregma -4.84 mm) を中心に 1 枚と前後枚, 計 5 枚の 40  $\mu$ m 厚の冠状断切片を作成し, PBS を入れた 24 穴プレートに回収した。

1 日目はこれらに対し, 0.3% Triton-X100 in PBS (PBST) で洗浄 (10 min  $\times$  3 回) した後, 10% BSA-PBST によるブロッキングを常温で 2 h 行った。その後, 1 次抗体 (rabbit anti-c-Fos 抗体) を, 4°C で一晩反応させた。2 日目は, PBST による洗浄の後, 2 次抗体 (ビオチン化 anti-rabbit 抗体) を, 4°C で一晩反応させた。3 日目は, PBS による洗浄後, ペルオキシダーゼ処理 (PBS, 70%; MeOH, 30%; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 1%) を常温で 15 min の間行った。PBS による洗浄後, ABC 溶液 (PBS:A

液, B液 =50:1:1, ABCkit) 用いて, 常温で 2 h 反応させた. PBS による洗浄後, 0.05 M Tris-HCl 溶液内で 5 min の間静置し, 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を加えた DAB 溶液で 5min の間反応させた. DAB 溶液は, DAB 1 錠を 0.05 M Tris-HCl 溶液 20 mL で溶解後, フィルター濾過して作成された. Tris-HCl 溶液で反応を止めたのち, 切片をゼラチンコートしたスライドガラスに張り付けた. 切片が乾燥したことを確認後, 70, 80, 90, 95, 100, 100% EtOH で脱水し, Hemo-De 置換を 1 min の間行った後, ENTELLAN neu を用いてカバーガラスで封入した. これが完全に乾燥した後, 顕微鏡で観察し, 組織画像を保存した. 計 5 枚の組織画像から, 中脳水道周囲灰白質の腹外側部 (ventrolateral periaqueducatl gray; vlPAG) と背外側部 (dorsolateral periaqueducatl gray; dlPAG) のそれぞれの領域を抽出し, 2 値化した後, 半径 1 pix. 以上の白点を c-Fos 陽性細胞数としてカウントした.

### 5.3 結果

vlPAG に c-Fos 陽性細胞が観察された (図 3.15). その数は  $200 \mu\text{m}^3$  当たり  $5.60 \pm 4.35$  個であった. 特に, PAG の中心 (Bregma -4.84 mm) から 0.004 mm 尾側の切片では,  $40 \mu\text{m}^3$  当たり 25 個の細胞が観察された. 一方, dlPAG ではどの切片にも c-Fos 陽性細胞は観察されなかった.

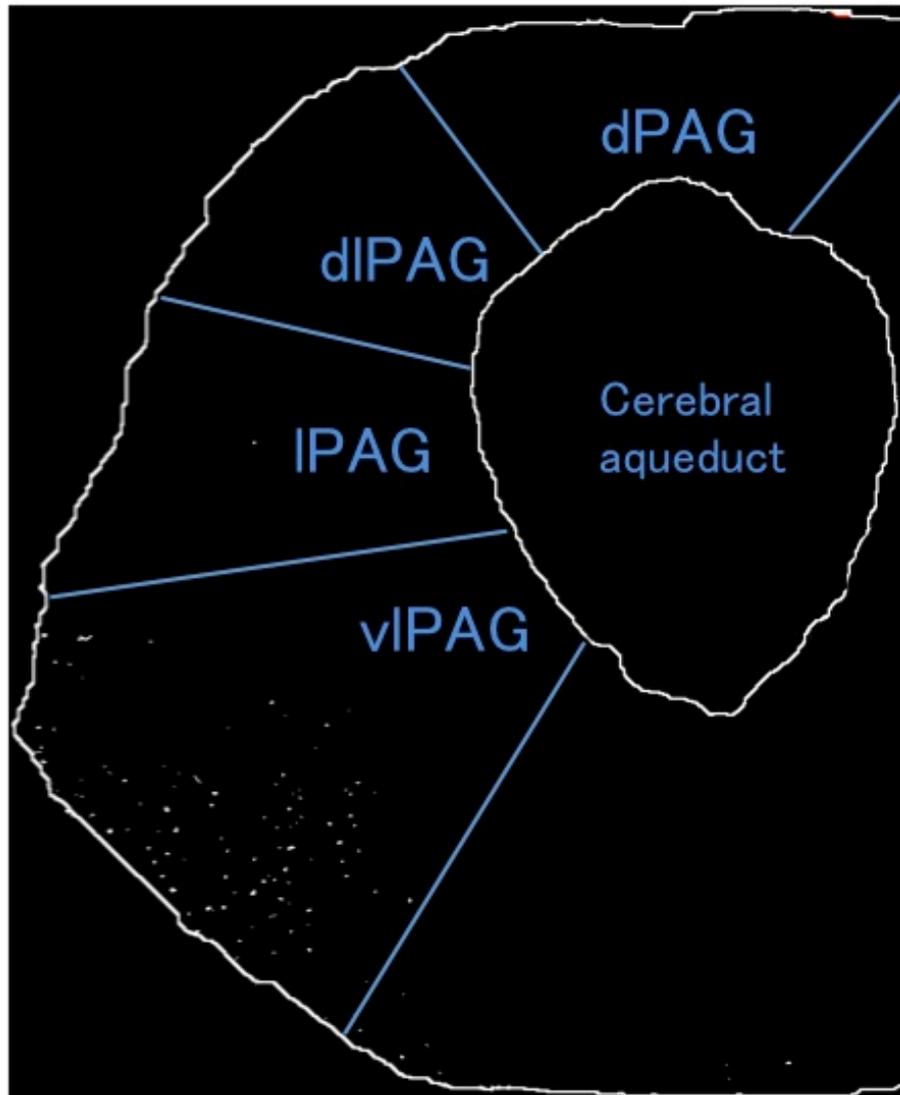


図 3.15 20-kHz USS 提示後に vlPAG で観察された c-Fos 陽性細胞  
解剖学的に定義された PAG の 4 つの領域 (dPAG , dlPAG , vPAG , vlPAG) における c-Fos 陽性細胞を示した . Cerebral aqueduct は中脳水道を示した . 陽性細胞は vlPAG で観察され , その他の領域では皆無だった . 陽性細胞は画像中の 1 pix. 以上の範囲を持つ白色の点で定義された .

## 6. 考察

### 6.1 自発的跳躍課題

訓練では、跳躍行動の成功率、完了までの潜時、赤外線センサの ON 状態の累積回数、総持続時間、および 1 回あたりの平均持続時間の 5 つの行動指標をもとに、跳躍行動が GD によって異なるかどうかを確認した。また、各 GD における跳躍行動が訓練の経過と共にどの程度変動するかも確認した。赤外線センサが設置されていた位置から (図 3.6 c)、これが ON 状態のときは、跳躍に関連する行動、すなわち、ホームからターゲットプラットフォームに向けて、センサを通過するように身体を位置する行動を示すと想定した。その結果、GD の増加に伴って跳躍の成功率が減少し、潜時、累積回数、総持続時間が増加することが示された (図 3.7 a, b, c, e)。一方、ON 1 回あたりの平均持続時間は、Day 4 を除く全ての訓練日において GD 間で同等であった (図 3.7 d)。これは、一度の跳躍関連行動に要する時間は GD に関係なくほぼ一定である可能性を示す。その結果、GD が短い条件では (例えば、GD = × 4/8)、この行動をほぼ一度実行するだけで跳躍を完了できるのに対し、GD が長い条件では (例えば、GD = × 8/8)、これを完了するまで何度か繰り返すために、潜時、累積回数、総持続時間が増加する。GD が長い条件で、ラットが何の跳躍関連行動も示さずに単にホームプラットフォーム上のゲート付近で静止していた可能性は考えにくい。もしそうなら、累積回数は 1 回に近づき、平均持続時間は短い GD のものとは比べて顕著に増加すると予想されるためである。

5 日間の訓練日数で、跳躍行動の各指標が顕著に変化したのは、GD = × 6/8 のみだった (図 3.7)。一方、最も変化が少なかったのは、GD = × 8/8 であるように思われる (図 3.7)。実際、GD = × 8/8 で訓練日数の単純主効果を示した指標は、成功率と ON 状態の累積回数の 2 つのみで、これは、全ての GD の中で最も少なかった (結果参照)。ただし、GD = × 8/8 の成功率は、訓練初日ではほぼ 0% だったのに対し、最終日では 30% に増加したことから (図 3.7 a)、訓練日数を 5 日間以上にすれば、他の指標にも変化があらわれる可能性はある。

試験では、上記の指標をもとに、20-kHz USS を提示した際の跳躍行動が、Neu-

tral と比較して、どのように変化するかを検証し、それが最も顕著に観察される GD を確認した。その結果、ON の総持続時間と平均持続時間の両方が、20-kHz USS で短縮され、その差は GD の増加に伴い、特に  $GD = \times 8/8$  で最も顕著に現れた (図 3.8 c, d)。実際、Neutral における総持続時間は、 $GD = \times 4/8$ ,  $\times 5/8$ ,  $\times 6/8$  のそれぞれが、 $GD = \times 7/8$ ,  $\times 8/8$  と比較して短かったにも関わらず、20-kHz USS ではこれらの差が消失した (結果参照)。これは、後者の条件における  $GD = \times 7/8$ ,  $\times 8/8$  で、総持続時間が短縮されたためであると考えられる (図 3.8 c)。また、この可能性は、各 GD は聴覚刺激の単純主効果の効果量が、 $GD = \times 4/8$  から  $\times 7/8$  では .03 から .04 だったのに対し、 $GD = \times 8/8$  では、.12 と最も高い聴覚刺激の効果を示したことから支持される (結果参照)。

ON 1 回当たりの平均持続時間は、訓練の結果から予想されるように、Neutral では GD 間で同程度であった (結果参照)。しかし興味深いことに、20-kHz USS では、 $GD = \times 7/8$ ,  $8/8$  のみで、平均持続時間が短縮され (図 3.8 d)、両 GD における聴覚刺激の単純主効果の効果量は、それぞれ .02, .11 であった (結果参照)。すなわち、GD の増加に伴って、20-kHz USS での跳躍 1 回あたりの持続時間が、Neutral でのそれと比較して短縮され、これが試行内で累積した結果、ON の総持続時間も減少したと考えられる。

跳躍の成功率と潜時が、 $GD = \times 7/8$ ,  $\times 8/8$  とともに、聴覚刺激間で差がなかったことから (図 3.8 a, b)、GD が長い条件では、ON の持続時間の減少に伴って、ホームプラットフォーム上での OFF 状態、すなわち跳躍完了前の、ON 状態の時とは異なるホームプラットフォーム上での行動の持続時間が増加していたと考えられる。実際、OFF の総持続時間は、Neutral では、 $GD = \times 4/8$  から  $\times 6/8$  までが、 $GD = \times 7/8$  または  $\times 8/8$  よりも長かったのに対し ( $p < .05$ )、20-kHz USS ではこの差が消失した。これは、20-kHz USS での  $GD = \times 7/8$  および  $\times 8/8$  における OFF の総持続時間が、 $\times 6/8$  までの GD と同程度まで増加していた可能性を示すと考えられる。

以上をまとめると、訓練の結果から、跳躍行動は、GD の増加とともに成功率が低下し、潜時および ON 状態の累積回数、総持続時間が増加することが示された。これは、1 回あたりの跳躍関連行動は GD 間で同等であるものの、GD が長

い条件では短いときと比較して、跳躍の完了までにその関連行動を繰り返す回数が増加するためであると考えられる。そして、5日間の訓練日数で、この跳躍関連行動が最も安定して観察されたのが、GD = × 8/8であった。また、試験の結果から、GD = × 8/8で、20-kHz USSのときの跳躍関連行動が、Neutralのそれから最も顕著に変化することが示された。このとき、ON状態で示される跳躍関連行動の減少および、OFF状態でのその増加が認められた。これは、20-kHz USSを受けて選択された防御に関連する行動と、現在実行中の跳躍行動が競合し、どこかの時点の動作に干渉した結果、通常時と異なる跳躍行動が発生した可能性を示す。

動作分割解析で、20-kHz USSとNeutralでの跳躍行動を、時系列上の6つの動作に分割し、その配列を比較した結果、両条件に共通する動作、異なる動作、およびそれらの分岐点を示された(図 3.9)。全体として、20-kHz USSではNeutralと比較して、動作間の遷移が少なかった(図 3.9)。共通する動作としては、録画開始から300 msまでの後肢の踏み出しを伴う前進動作(動作1; (図 3.9 c), (図 3.10), (図 3.11))と、その次の、前肢をホームプラットフォームから離す動作(動作3; (図 3.9 c), (図 3.10), (図 3.11))が観察された。しかし、この動作は、20-kHz USSではNeutralと比較して持続時間が3000 ms程度長かった(図 3.10)。その後、Neutralでは前述の動作に加え、頸部を上下に動かす等ホームプラットフォームでの3つの動作(動作2, 4, 5; (図 3.9 a), (図 3.11))が現れたのに対し、20-kHz USSではそれらの代わりに撮影範囲外への移動を示した(動作6; (図 3.9 b), (図 3.11))。そのため、動作3が、20-kHz USSとNeutralの跳躍行動の分岐点であったと考えられる。特に、20-kHz USSで顕著に観察された動作3, 4は、Neutralで顕著に観察された動作2, 4, 5に比べて、個体がスピーカーから遠ざかるように働いているように思われる。これは、20-22 kHzの超音波が、その音源からラットを遠ざけるように働くことを報告した先行研究からも支持される(Brudzynski, 2001; Burgdorf et al., 2008; Sadananda, Wöhr, & Schwarting, 2008)。

動作分割解析の結果をON, OFF状態の持続時間の結果と照合すると、ホームプラットフォームから身を乗り出した状態で頸部を上下に動かす等の動作(動作2, 4, 5)の持続時間に伴って、ONの持続時間も増加すると考えられ、これは、両

方の持続時間が，20-kHz USS と比較して Neutral で長かった結果と一致する ((図 3.8 c), (図 3.10)) . 一方，撮影範囲外に滞在している時間に伴って，OFF の持続時間も増加すると考えられ，両方の持続時間が，Neutral と比較して 20-kHz USS で長かった結果と一致する ((図 3.10), 上記参照) . しかし，前肢をホームプラットフォームから離す動作は，ON の状態と OFF の状態の両方を含んでいる可能性があるため，センサの状態のみから，この動作が 20-kHz USS と Neutral の跳躍行動の分岐点であることを見出すのは困難であったと思われる .

本実験から，嫌悪刺激に対して選択された防御動作が，現在実行中の跳躍行動のうち，前肢をホームプラットフォームから離す動作とそれ以降の動作に干渉した結果，通常時と異なる跳躍行動に分岐した可能性が示された . そして，この干渉によって発生した動作は，個体を危険源から遠ざけるように働く動作を促進する一方で，その場に留まるように働く動作を抑制することが示唆された .

## 6.2 20-kHz USS に対する自律神経応答と

### PAG の神経活動履歴の計測

2 つの追加実験から，20-kHz USS が行動以外の神経・生理学的防御応答を誘発することが確認され，この刺激がラットにとって嫌悪刺激として知覚されていたことが支持された . ラットは，嫌悪刺激に対し，逃避可能な状況では逃避行動を，逃避不可能な状況では不動状態を示し，それぞれに対し dlPAG，vlPAG が神経活動を示す (Berton et al., 2007; Keay & Bandler, 2002) . 加えて，両領域の活動は，それぞれ特有の自律神経応答を誘発することが報告されている (Bandler & Shipley, 1994; Berton et al., 2007; Keay & Bandler, 2002) . 自由行動下での 20-kHz USS の提示は，逃避行動を誘発し，dlPAG の神経活動を増加させ (Nicolas, Klein, & Prinssen, 2007) ，心拍数の増加を誘発するが (Klein et al., 2010) ，本実験では，音源に対するラットの方向を一定に保ち，運動による自律神経応答への影響を排除するために，拘束あるいは移動を制限した逃避不可能な状況で，20-kHz USS を提示したことから，vlPAG の神経活動と，これに随伴する自律神経応答が観察されると予想した . その結果，逃避不可能な状況での嫌悪刺激が vlPAG での神経

活動を増加させ、dlPAG でのそれを抑制するように (Berton et al., 2007), 本研究でも, 逃避不可能な状況での 20-kHz USS が, dlPAG よりも vlPAG での神経活動を誘発することを確認した (図 3.15)。また, 20-kHz USS はホワイトノイズと比較して, 顕著な心拍数の低下と呼吸数の上昇を示した ((図 3.12), (図 3.13))。呼吸数の上昇は, ラット, ヒト共にパニック様状態で生起する生理状態と見なされていることから, 20-kHz USS がこの状態を誘発した可能性が示された。一方, 先行研究から, パニック様状態のときには, 心拍数の増加が予想されるが (Klein et al., 2010; Meuret et al., 2011), 本実験ではその顕著な低下を示した (図 3.12)。これは, vlPAG の神経活動に伴う徐脈を示すものと考えられる。vlPAG への電気刺激が徐脈を誘発することが, 先行研究で報告されている (Bandler & Shipley, 1994; Keay & Bandler, 2002)。しかし, 20-kHz USS による心拍数の低下は, 1 試行目で観察されたのに対し, 呼吸数の増加は 3 試行目で観察された。これは, 20-kHz USS が両生理指標への効果を示すまでの潜時に違いがあることが予想されるが, 今後, より精緻な実験が必要とされる。

## 第4章 総合考察

本研究では、心理学および神経行動学的アプローチから、反応選択処理の競合によって生じる干渉が、行動をどのように分岐させるのかを検証し、その意義を考察した。第2章ではヒトを対象とした心理実験から、反応選択処理の競合が、現在実行中の行動の僅かな遅延と後続の行動の大幅な遅延の形で干渉することを示した(図2.3)。さらに、これは、PMDにおける各反応選択処理に寄与する神経活動の割り当ての不足によって生じる可能性が示された。実際、tDCS実験では、tDCS刺激領域の神経活動を促進するanodal tDCSが、これを抑制するcathodal tDCSやプラセボtDCSに比べ、各行動の実行時間を短縮した(図2.4)。この神経活動の割り当てにおける支配関係が、各行動の重要度で変化する可能性(Miller, 2006; Schumacher et al., 2001; Smith, 1969)も考慮すると、上記の結果は、PMDでは、複数の反応選択処理が競合した場合、重要な行動を可能な限り素早く実行させるように、その反応選択処理への神経活動の割り当てを増加させる一方で、それ以外の反応選択処理への割り当てを減少させるように働く可能性を示す。

第3章では、神経行動学的アプローチに基づき、反応選択処理の競合で発生する干渉が、行動内の特定の動作を分岐点として、それが無い時とは異なる動作配列に分岐させることを示した。行為選択における階層構造を予想したティンバーゲンの神経行動学的仮説に基づき(序論参照)、ラットを対象とした自発的跳躍パラダイムでは、嫌悪刺激として知覚される20-kHz USSの提示時と、通常時の跳躍行動で、異なる動作配列が観察されると予想した。そのため、両条件での跳躍行動の動画像に対し動作分割解析を行い、それを時系列上により単純な複数の動作の配列に分割することで、行動のどの動作で干渉が発生し、どのような配列に分岐するかを検証した。その結果、20-kHz USSでの跳躍行動の動作配列と、通常時のそれが、共通する1つの動作から分岐したことが示された(図3.9)。さら

に、20-kHz USS では通常時に比べ、その音源から個体を遠ざけるような動作の促進と、その場に留まるような動作の抑制が観察された (図 3.10, 3.11) . 以上の結果は、嫌悪刺激が入力された際に、それに対応する防御行動を選択するための反応選択処理と、通常時に実行されている行動の反応選択処理が競合し、行為選択における特定の支配関係に基づいて、生存価の高い動作を選択する一方、生存価の低い動作を除外するように干渉する可能性が示された .

本実験では、20-kHz USS で観察された一連の動作配列の背後に、配列中の各動作を選択した特定の神経核の存在を想定し、その候補の1つとして、中脳水道周囲灰白質 (periaqueductal gray; PAG) の関与を予想した . これは、PAG は、入力された嫌悪刺激に対する反応選択処理を実行する領域であることに加え (Fanselow, 1991; Fanselow, 1994) , この領域が、行為選択の階層構造モデルにおける生得的解発機構に対応する領域と見なせるためである (序論参照) . 先行研究から、PAG は、入力された嫌悪刺激と個体が置かれた環境に応じて特定の防御行動を選択する、すなわち、逃避可能な状況で提示される嫌悪刺激に対しては逃避行動を、逃避不可能な状況では不動状態が選択され、前者に対して dlPAG、後者に対して vlPAG が神経活動を示す (Berton et al., 2007; Keay Bandler, 2002) . 加えて、両領域の活動は、それぞれ特有の自律神経応答を誘発することが報告されている (Bandler Shipley, 1994; Berton et al., 2007; Keay Bandler, 2002) . 実際、予備実験から、逃避不可能な状況で提示される 20-kHz USS が vlPAG での神経活動を誘発し (図 3.15) , 同領域が活動することで誘発される特有の自律神経応答、すなわち呼吸数の増加と心拍数の減少が確認された (図 3.13, 3.14) . 一方、自発的跳躍課題では、逃避可能な状況で 20-kHz USS が提示されたため、この時に観察された動作のいくつかは、dlPAG で選択された逃避行動に含まれると予想できる . しかし通常、防御行動を誘発するニューロン群は、PAG の GABA 作動性の介在ニューロンによって抑制されている (Reichling, 1991) . PAG では、この GABA 作動性の抑制性介在ニューロンが主要な役割を担っていると考えられており (Reichling, 1991; Park et al., 2010) , 実際、PAG の背側、腹外側、腹側では、全ニューロンのうち最大で半数が、生合成の過程で GABA に分解されるグルタミン酸デカルボキシラーゼ (glutamic acid decarboxylase; GAD) によってラベリングされる

(Reichling, 1991) . 嫌悪刺激が提示された際には , PAG に投射するオピオイド作動性抑制性ニューロンが , PAG の GABA 作動性抑制性介在ニューロンを抑制することで , 防御行動を誘発するニューロンを脱抑制し , 防御行動が誘発されると考えられている (Reichling, 1991) . これは , PAG への GABA<sub>A</sub> 受容体の拮抗薬の微小投与によって , 同領域の神経活動履歴の増加と共に , 特定の防御行動が観察されることから示される (Reichling, 1991) . そのため今後の研究では , 20-kHz USS で観察された動作配列のどの成分が , dlPAG の GABA 作動性介在ニューロンによってコードされているかを検証していく必要がある . PAG , 視床下部の各神経核や扁桃体からなる “hard-wired” な神経回路は , 異なる信号刺激に対する本能行動間の相互抑制を実装し (Lin et al., 2011; Mobbs et al., 2007; Mobbs et al., 2009; Mongeau et al., 2003) , 個体が環境の脅威に対して瞬時に適応することを可能にする (Fanselow Lester, 1988) . この仮説に着想されるように , 本研究では , 環境から絶えず入力される刺激に対して反応選択処理が常に競合し , 実行される行動に干渉できることは , 個体が環境の変化に対してより適応的な振る舞いをするために重要な意義を持つと結論する .

## 第5章 今後の展望

第3章で提案した動作分割解析は、動画像の統計的特徴のみから、対象の行動を時系列上により単純な複数の動作の配列に分割することで、行動レベルから動作レベルの解析を可能にした。実際、動作分割解析は、特徴抽出と、多変量解析の2つの処理から構成され、実験環境や対象の行動に関する事前知識を必要としない。しかし、この解析をより高い精度で多くの動作に適用することを考えた時、両処理段階において複数の解析手法を組み合わせることができるプラットフォームが求められる。対象の行動を記述する特徴量は、今回採用したCHLAC以外にも多くの特徴量が提案されており、それぞれが長所短所を持つ。例えば、今回使用したCHLAC特徴量の抽出アルゴリズムは、輝度値のフレーム全体に渡る積和演算を含むため、撮影範囲内の特定の位置で特定の動作を表現した場合も、ランダムな位置でその動作を表現した場合でも、同じ特徴量が出力される。また、カメラに向かって前進した場合、同じ前進動作でも位置によって特徴量が異なってしまうといった短所を持つ。そのため、複数の相補的な特徴量をスタックし、Multiple Kernel Learning (MKL) 等を用いて、ある動作を分類するための各特徴量の最適な重みを計算し、それらを統合して使用することが望ましい。同時に、より良い特徴量が発見される度に、それを上記にスタックしていくことも必要となる。

多変量解析で使用したMFAでは、想定した潜在変数(動作)が、先行研究に基づいて決定されており、適切であったかどうかには議論の余地がある。そのため、今後は、先行研究の知見を踏まえながらも、ノンパラメトリックベイズ法を用いた、よりデータに忠実な動作数の推定が必要である。また、特徴量の場合と同様に、解析手法毎に長所短所があるため、幾つかの異なる解析手法、例えば、exponential principal component analysis (e-PCA) 等と比較の上、データの構造をより正確に記述できる手法を使用することが望ましい。今回の解析では、各動

作間の類似度や遷移パターンを定量化するには至らなかったが、今後は、ハミング距離やマルコフモデル、逆相関法等も多変量解析に加え、それらを精査したい。

最後に、第 3 章で実施した自発的跳躍パラダイムから、20-kHz USS がラットにとって嫌悪刺激として知覚され、恐らく dlPAG で、それに対応する特定の動作が選択された可能性が示された。しかし、dlPAG が 20-kHz USS に対してこれらの動作を選択したことを示す直接的な証拠を示すには至らなかった。そのため今後の実験では、dlPAG を電気生理学的あるいは光遺伝学的手法で直接刺激することで、今回と同様の動作が観察されるかどうかを検証する必要がある。そのため、無線通信規格の 1 つである ZigBee を用いた、無線神経刺激装置を作成中である。これは、既存の実験系への組み込みが容易で、例えば、赤外線センサから制御 PC へのトリガー入力後に、リモートで PAG への電気刺激が可能になると期待できる。さらに、PAG における GABA 作動性抑制性介在ニューロンと、その入力を受けて PAG 外の領域に出力する非 GABA 作動性のニューロンの役割とを切り分けるには (上記参照)、光遺伝学的手法を用いて、各サブタイプのニューロン毎に光感受性イオンチャネルの ChR2 や Arch を発現させ、その活動性を制御することで観察される行動表現形を検証する必要がある。

## 付録

### A. EM アルゴリズムを用いた MFA のパラメータ推定

MFA の各パラメータ  $\mu_i, \Lambda_i, \Psi_i, \pi_i$  の推定値は, EM アルゴリズムの M ステップにおいて, 次式で示される対数尤度関数の期待値  $Q$  を各パラメータに関して微分し, その極大を求めることで得られる.

$$Q = E \left[ \ln \prod_i \prod_j \left\{ (2\pi)^{\frac{p}{2}} |\Psi|^{-\frac{1}{2}} \exp \left\{ -\frac{1}{2} [\mathbf{x}_i - \boldsymbol{\mu}_j - \Lambda_j \mathbf{z}]' \Psi^{-1} [\mathbf{x}_i - \boldsymbol{\mu}_j - \Lambda_j \mathbf{z}] \right\} \right\}^{\omega_j} \right].$$

平均  $\boldsymbol{\mu}_j$  と因子負荷量  $\Lambda_j$  を同時に推定するため, 因子  $\mathbf{z}$  を,

$$\tilde{\mathbf{z}} = \begin{bmatrix} \mathbf{z} \\ 1 \end{bmatrix}$$

に固定し,  $\Lambda_j$  を

$$\tilde{\Lambda}_j = \begin{bmatrix} \Lambda_j \\ \boldsymbol{\mu}_j \end{bmatrix}$$

に固定すると,  $Q$  は,

$$\begin{aligned} Q &= E \left[ \ln \prod_i \prod_j \left\{ (2\pi)^{\frac{p}{2}} |\Psi|^{-\frac{1}{2}} \exp \left\{ -\frac{1}{2} [\mathbf{x}_i - \tilde{\Lambda}_j \tilde{\mathbf{z}}]' \Psi^{-1} [\mathbf{x}_i - \tilde{\Lambda}_j \tilde{\mathbf{z}}] \right\} \right\}^{\omega_j} \right] \\ &= c - \frac{n}{2} \ln |\Psi| - \sum_{i,j} \frac{1}{2} h_{ij} \mathbf{x}_i' \Psi^{-1} \mathbf{x}_i - h_{ij} \mathbf{x}_i' \Psi^{-1} \tilde{\Lambda}_j E[\tilde{\mathbf{z}} | \mathbf{x}_i, \omega_j] \\ &\quad + \frac{1}{2} h_{ij} \text{tr} \left[ \tilde{\Lambda}_j' \Psi^{-1} \tilde{\Lambda}_j E[\tilde{\mathbf{z}} \tilde{\mathbf{z}}' | \mathbf{x}_i, \omega_j] \right] \end{aligned}$$

と表現できる. ここで,  $c$  は定数を示す.

$\tilde{\Lambda}_j^{\text{new}}$  は,  $Q$  を  $\Lambda$  に関して微分し, 0 とおくことで推定できる.

$$\frac{\partial Q}{\partial \tilde{\Lambda}_j} = - \sum_i h_{ij} \Psi^{-1} \mathbf{x}_i E[\tilde{\mathbf{z}} | \mathbf{x}_i, \omega_j]' + h_{ij} \Psi^{-1} \tilde{\Lambda}_j^{\text{new}} E[\tilde{\mathbf{z}} \tilde{\mathbf{z}}' | \mathbf{x}_i, \omega_j] = 0.$$

$$[\Lambda_j^{\text{new}} \boldsymbol{\mu}_j^{\text{new}}] = \tilde{\Lambda}_j^{\text{new}} = \left( \sum_i h_{ij} \mathbf{x}_i E[\tilde{\mathbf{z}} | \mathbf{x}_i, \omega_j]' \right) \left( \sum_l h_{lj} E[\tilde{\mathbf{z}} \tilde{\mathbf{z}}' | \mathbf{x}_l, \omega_j] \right)^{-1}.$$

ここで,

$$E[\tilde{\mathbf{z}}|\mathbf{x}_i, \omega_j] = \begin{bmatrix} E[\mathbf{z}|\mathbf{x}_i, \omega_j] \\ 1 \end{bmatrix}$$

$$E[\tilde{\mathbf{z}}\tilde{\mathbf{z}}'|\mathbf{x}_i, \omega_j] = \begin{bmatrix} E[\mathbf{z}\mathbf{z}'|\mathbf{x}_i, \omega_j] & E[\mathbf{z}|\mathbf{x}_i, \omega_j] \\ E[\mathbf{z}|\mathbf{x}_i, \omega_j]' & 1 \end{bmatrix}.$$

また,  $\Psi^{\text{new}}$  についてもこれと同様の方法で推定できる.

$$\frac{\partial Q}{\partial \Psi^{-1}} = \frac{n}{2} \Psi^{\text{new}} - \sum_{ij} \frac{1}{2} h_{ij} \mathbf{x}_i \mathbf{x}_i' - h_{ij} \tilde{\Lambda}_j^{\text{new}} E[\tilde{\mathbf{z}}|\mathbf{x}_i, \omega_j] \mathbf{x}_i' + \frac{1}{2} h_{ij} \tilde{\Lambda}_j^{\text{new}} E[\tilde{\mathbf{z}}\tilde{\mathbf{z}}'|\mathbf{x}_i, \omega_j] \tilde{\Lambda}_j^{\text{new}'} = 0.$$

$$\Psi^{\text{new}} = \frac{1}{n} \text{diag} \left\{ \sum_{ij} h_{ij} \left( \mathbf{x}_i - \tilde{\Lambda}_j^{\text{new}} E[\tilde{\mathbf{z}}|\mathbf{x}_i, \omega_j] \mathbf{x}_i' \right) \right\}.$$

混合比  $\pi_j^{\text{new}}$  の推定には, 次式で示される定義を用いる.

$$\pi_j = p(\omega_j) = \int p(\omega_j|\mathbf{x}) p(\mathbf{x}) d\mathbf{x}.$$

$h_{ij} = p(\omega_j|\mathbf{x}_i)$  であり,  $p(\mathbf{x})$  の推定値としてデータの経験分布を用いることで,  $\pi_j^{\text{new}}$  は次式のように表現できる.

$$\pi_j^{\text{new}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n h_{ij}.$$

上記の通り, Mステップで更新されたパラメータのセット  $\theta$  は, 次のEステップで用いられ, この手続は対数尤度関数の増加が収束するまで反復される.

## B. 業績リスト

### B.1 査読付学術論文

1. Yusuke Suzuki & Eiichi Naito. **Neuro-modulation in dorsal premotor cortex facilitates human multi-task ability.** Journal of Behavioral and Brain Science, Vol. 2 No. 3, 2012, pp. 372-379. doi: 10.4236/jbbs.2012.23042, 博士論文第 2 章内容に相当 .

### B.2 査読付国際会議発表

1. Yusuke Suzuki, Kazushi Ikeda & Shoji Komai. **Motion segmentation of a gap-crossing action under panic-like state in rats.** Neuro2013, 2013 年 6 月 20 日, 博士論文第 3 章内容に相当.
2. Yusuke Suzuki, Kazushi Ikeda & Shoji Komai. **Motion segmentation of a gap-crossing action under an emergency situation in rats.** The 35th Annual Meeting of Japan Neuroscience Society, 2012 年 9 月 19 日, 博士論文第 3 章内容に相当 .
3. Shoji Komai, Kazushi Ikeda, & Yusuke Suzuki. **Motion segmentation system to associate microscopic motion with its neuronal processing.** The 35th Annual Meeting of Japan Neuroscience Society Symposia, New Methods for Neurophysiology: From Molecule to Device, 2012 年 9 月 19 日, 博士論文第 3 章内容に相当.
4. Yusuke Suzuki Eiichi Naito. **Transcranial direct current stimulation to human dorsal premotor cortex facilitates processing of dual reaction time tasks requiring response selection.** Neuro2010 International Social for Young Researchers, 2010 年 9 月 3 日, 博士論文第 2 章内容に対応 .

## 謝辞

NAISTでの5年と半年の研究生活で、多くの“選択”をし、その度に多くの人に支えられました。ここでは、その感謝の意とともに、これまで御支援頂いた分以上の今後の貢献に向けた意思を記しておきたいと思います。

最初に、本稿の査読を引き受けて頂いた、情報科学研究科 数理情報学研究室 池田和司 教授，計算システムズ生物学研究室 金谷重彦 教授，バイオサイエンス研究科 神経機能科学研究室 駒井章治 准教授，に感謝致します。池田和司 教授には前期課程から，金谷重彦 教授，駒井章治 准教授には，後期課程からにもかかわらず，査読を引き受けて頂きました。

池田和司 教授には，入学から現在までお世話になりました。特に後期課程1年途中からのテーマ変更という，私の中での大きな選択を受け入れ，その後も変わらず御支援頂き，それもあって生涯向き合うべき研究分野を見つけることができました。度々，そこに至る前後を振り返ることがありますが，やはり，この選択が私にとって良かったように思います。

駒井章治 准教授には，上記の選択を受け入れ，研究チームのメンバーとして迎えて頂きました。そして，そこから初まった新たな研究の構想，実験，解析，考察，執筆の全ての段階で必要とされる，私自身ほとんど持ち合わせていなかった知識や技術について，多大な御指導，御鞭撻を賜りました。特に，クリティカル・シンキングに基づく，当該分野の現状把握と動向予測は大いに鍛えさせて頂きました。心より深謝致します。

NICT 脳情報通信融合研究センター 脳情報通信融合研究室 研究マネージャー 内藤栄一 博士には，第1章で行った研究を通してお世話になりました。この時期に，研究活動に必要なベースを構築させて頂けたことと，研究することの意義を見い出せたことは，私にとって非常に幸運なことでした。

パナソニック株式会社 バイオ技術開発室 生体生理第二チーム 下野健 先生には，第2章の実験にあたり，実験装置の提供から，実験手技の習得，装置開発まで広くお世話になりました。今後は，共同研究の進展にも尽力させて頂くつもりです。

神経機能科学研究室のメンバーからは，ミーティングでのディスカッションに

加えて、日々の些細な会話の端々でも、研究につながるインスピレーションが得られました。

最後に、実施した実験の全ては、参加してくれた多くのボランティアの方や実験動物なしでは成立しませんでした。ここに感謝致します。

## 参考文献

Anderson, D. J. (2012). Optogenetics, sex, and violence in the brain: Implications for psychiatry. *Biological Psychiatry*, 71(12), 1081-1089.  
doi:10.1016/j.biopsych.2011.11.012; 10.1016/j.biopsych.2011.11.012

Bandler, R., & Shipley, M. T. (1994). Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray: Modules for emotional expression? *Trends in Neurosciences*, 17(9), 379-389.

Beckett, S. R., Aspley, S., Graham, M., & Marsden, C. A. (1996). Pharmacological manipulation of ultrasound induced defence behaviour in the rat. *Psychopharmacology*, 127(4), 384-390.

Beckett, S. R., Duxon, M. S., Aspley, S., & Marsden, C. A. (1997). Central c-fos expression following 20kHz/ultrasound induced defence behaviour in the rat. *Brain Research Bulletin*, 42(6), 421-426.

Benjamini, Y., Fonio, E., Galili, T., Havkin, G. Z., & Golani, I. (2011). Quantifying the buildup in extent and complexity of free exploration in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl 3, 15580-15587.  
doi:10.1073/pnas.1014837108; 10.1073/pnas.1014837108

Berton, O., Covington, H. E., 3rd, Ebner, K., Tsankova, N. M., Carle, T. L., Ulery, P., Bhonsle, A., Barrot, M., Krishnan, V., Singewald, G. M., Singewald, N., Birnbaum, S., Neve, R. L., Nestler, E. J. (2007). Induction of deltaFosB in the periaqueductal gray by stress promotes active coping responses. *Neuron*, 55(2), 289-300.  
doi:10.1016/j.neuron.2007.06.033

Boros, K., Poreisz, C., Munchau, A., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2008). Premotor transcranial direct current stimulation (tDCS) affects primary motor excitability in humans. *The European Journal of Neuroscience*, 27(5), 1292-1300. doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06090.x

Brooks, R. A. (1994). Coherent behavior from many adaptive processes. *From Animals to Animats*, 3, 22-29.

Brudzynski, S. M. (2001). Pharmacological and behavioral characteristics of 22 kHz alarm calls in rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25(7-8), 611-617.

Burgdorf, J., Kroes, R. A., Moskal, J. R., Pfaus, J. G., Brudzynski, S. M., & Panksepp, J. (2008). Ultrasonic vocalizations of rats (*rattus norvegicus*) during mating, play, and aggression: Behavioral concomitants, relationship to reward, and self-administration of playback. *Journal of Comparative Psychology* (Washington, D.C.: 1983), 122(4), 357-367. doi:10.1037/a0012889; 10.1037/a0012889

Cisek, P. (2007). Cortical mechanisms of action selection: The affordance competition hypothesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 362(1485), 1585-1599. doi:10.1098/rstb.2007.2054

Cohen, J. (1988). *Statistical power analysis for the behavioral sciences* Routledge.

De Jong, R. (1993). Multiple bottlenecks in overlapping task performance.

Journal of Experimental Psychology. Human Perception and Performance, 19(5), 965-980.

Donders, F. (1969). On the speed of mental processes. *Acta Psychologica*, 30, 412-431.

Doya, K., & Uchibe, E. (2005). The cyber rodent project: Exploration of adaptive mechanisms for self-preservation and self-reproduction. *Adaptive Behavior*, 13(2), 149-160.

Fanselow, M. S. (1991). The midbrain periaqueductal gray as a coordinator of action in response to fear and anxiety. *The midbrain periaqueductal gray matter* (pp. 151-173) Springer.

Fanselow, M. S. (1994). Neural organization of the defensive behavior system responsible for fear. *Psychonomic Bulletin & Review*, 1(4), 429-438.

Fanselow, M. S., & Lester, L. S. (1988). A functional behavioristic approach to aversively motivated behavior: Predatory imminence as a determinant of the topography of defensive behavior.

Ghahramani, Z., & Hinton, G. E. (1996). The EM Algorithm for Mixtures of Factor Analyzers,

Görür, D., Rasmussen, C. E., Tolias, A. S., Sinz, F., & Logothetis, N. K. (2004). Modelling spikes with mixtures of factor analysers. *Pattern recognition* (pp. 391-398) Springer.

Goulding, E. H., Schenk, A. K., Juneja, P., MacKay, A. W., Wade, J. M., &

Tecott, L. H. (2008). A robust automated system elucidates mouse home cage behavioral structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(52), 20575-20582.  
doi:10.1073/pnas.0809053106; 10.1073/pnas.0809053106

Hummel, F. C., & Cohen, L. G. (2006). Non-invasive brain stimulation: A new strategy to improve neurorehabilitation after stroke? *Lancet Neurology*, 5(8), 708-712.  
doi:10.1016/S1474-4422(06)70525-7

Hurst, J. L., & West, R. S. (2010). Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods*, 7(10), 825-826. doi:10.1038/nmeth.1500; 10.1038/nmeth.1500

Ivanoff, J., Branning, P., & Marois, R. (2009). Mapping the pathways of information processing from sensation to action in four distinct sensorimotor tasks. *Human Brain Mapping*, 30(12), 4167-4186.  
doi:10.1002/hbm.20837; 10.1002/hbm.20837

Jhuang, H., Garrote, E., Mutch, J., Yu, X., Khilnani, V., Poggio, T., Steele, A. D., Serre, T. (2010). Automated home-cage behavioural phenotyping of mice. *Nature Communications*, 1, 68.  
doi:10.1038/ncomms1064; 10.1038/ncomms1064

Keay, K. A., & Bandler, R. (2002). Distinct central representations of inescapable and escapable pain: Observations and speculation. *Experimental Physiology*, 87(2), 275-279.

Klein, S., Nicolas, L. B., Lopez-Lopez, C., Jacobson, L. H., McArthur, S. G., Grundschober, C., & Prinssen, E. P. (2010). Examining face and construct va-

lidity of a noninvasive model of panic disorder in lister-hooded rats. *Psychopharmacology*, 211(2), 197-208.

Kobayashi, T., & Otsu, N. (2004). Action and simultaneous multiple-person identification using cubic higher-order local auto-correlation. *Pattern Recognition*, 2004. ICPR 2004. Proceedings of the 17th International Conference on, , 4 741-744.

Koechlin, E., Ody, C., & Kouneiher, F. (2003). The architecture of cognitive control in the human prefrontal cortex. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5648), 1181-1185.

doi:10.1126/science.1088545

Koechlin, E., & Summerfield, C. (2007). An information theoretical approach to prefrontal executive function. *Trends in Cognitive Sciences*, 11(6), 229-235.

doi:10.1016/j.tics.2007.04.005

Lin, D., Boyle, M. P., Dollar, P., Lee, H., Lein, E. S., Perona, P., & Anderson, D. J. (2011). Functional identification of an aggression locus in the mouse hypothalamus. *Nature*, 470(7333), 221-226.

doi:10.1038/nature09736; 10.1038/nature09736

Marois, R., & Ivanoff, J. (2005). Capacity limits of information processing in the brain. *Trends in Cognitive Sciences*, 9(6), 296-305.

doi:10.1016/j.tics.2005.04.010

Marois, R., Larson, J. M., Chun, M. M., & Shima, D. (2006). Response-specific sources of dual-task interference in human pre-motor cortex. *Psychological Research*, 70(6), 436-447.

doi:10.1007/s00426-005-0022-6

Meuret, A. E., Rosenfield, D., Wilhelm, F. H., Zhou, E., Conrad, A., Ritz, T., & Roth, W. T. (2011). Do unexpected panic attacks occur spontaneously? *Biological Psychiatry*, 70(10), 985-991.

doi:10.1016/j.biopsych.2011.05.027; 10.1016/j.biopsych.2011.05.027

Miller, J. (2006). Backward crosstalk effects in psychological refractory period paradigms: Effects of second-task response types on first-task response latencies. *Psychological Research*, 70(6), 484-493.

doi:10.1007/s00426-005-0011-9

Mobbs, D., Marchant, J. L., Hassabis, D., Seymour, B., Tan, G., Gray, M., Petrovic, P., Dolan, R. J., Frith, C. D. (2009). From threat to fear: The neural organization of defensive fear systems in humans. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(39), 12236-12243.

doi:10.1523/JNEUROSCI.2378-09.2009; 10.1523/JNEUROSCI.2378-09.2009

Mobbs, D., Petrovic, P., Marchant, J. L., Hassabis, D., Weiskopf, N., Seymour, B., Dolan, R. J., Frith, C. D. (2007). When fear is near: Threat imminence elicits prefrontal-periaqueductal gray shifts in humans. *Science (New York, N.Y.)*, 317(5841), 1079-1083.

doi:10.1126/science.1144298

Moers-Hornikx, V. M., Vles, J. S., Lim, L. W., Ayyildiz, M., Kaplan, S., Gavilanes, A. W., Hoogland, G., Steinbusch, H. W., Temel, Y. (2011). Periaqueductal grey stimulation induced panic-like behaviour is accompanied by deactivation of the deep cerebellar nuclei. *Cerebellum (London, England)*, 10(1), 61-69.

doi:10.1007/s12311-010-0228-z; 10.1007/s12311-010-0228-z

Mongeau, R., Miller, G. A., Chiang, E., & Anderson, D. J. (2003). Neural correlates of competing fear behaviors evoked by an innately aversive stimulus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(9), 3855-3868.

Nashold, B. S., Jr, Wilson, W. P., & Slaughter, D. G. (1969). Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. *Journal of Neurosurgery*, 30(1), 14-24.  
doi:10.3171/jns.1969.30.1.0014

Nicolas, L. B., Klein, S., & Prinssen, E. P. (2007). Defensive-like behaviors induced by ultrasound: Further pharmacological characterization in lister-hooded rats. *Psychopharmacology*, 194(2), 243-252.  
doi:10.1007/s00213-007-0838-4

Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of Physiology*, 527 Pt 3, 633-639.

Nitsche, M. A., Seeber, A., Frommann, K., Klein, C. C., Rochford, C., Nitsche, M. S., Fricke, K., Liebetanz, D., Lang, N., Antal, A., Paulus, W., Tergau, F. (2005). Modulating parameters of excitability during and after transcranial direct current stimulation of the human motor cortex. *The Journal of Physiology*, 568(Pt 1), 291-303.  
doi:10.1113/jphysiol.2005.092429

Olejnik, S., & Algina, J. (2003). Generalized eta and omega squared statistics: Measures of effect size for some common research designs. *Psychological Methods*, 8(4), 434-447.

doi:10.1037/1082-989X.8.4.434

Pang, R. D., Wang, Z., Klosinski, L. P., Guo, Y., Herman, D. H., Celikel, T., Dong, H. W., Holschneider, D. P. (2011). Mapping functional brain activation using [14C]-iodoantipyrine in male serotonin transporter knockout mice. *PloS One*, 6(8), e23869.

doi:10.1371/journal.pone.0023869; 10.1371/journal.pone.0023869

Pashler, H. (1994). Dual-task interference in simple tasks: Data and theory. *Psychological Bulletin*, 116(2), 220-244.

Redgrave, P., Prescott, T. J., & Gurney, K. (1999). The basal ganglia: A vertebrate solution to the selection problem? *Neuroscience*, 89(4), 1009-1023.

Reichling, D. B. (1991). GABAergic Neuronal Circuitry in the Periaqueductal Gray Matter. *The midbrain periaqueductal gray matter* (pp. 329-344) Springer.

Sadananda, M., Wohr, M., & Schwarting, R. K. (2008). Playback of 22-kHz and 50-kHz ultrasonic vocalizations induces differential c-fos expression in rat brain. *Neuroscience Letters*, 435(1), 17-23.

doi:10.1016/j.neulet.2008.02.002; 10.1016/j.neulet.2008.02.002

Schenberg, L. C., Bittencourt, A. S., Sudré, E. C. M., & Vargas, L. C. (2001). Modeling panic attacks. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(7), 647-659.

Schumacher, E. H., Seymour, T. L., Glass, J. M., Fencsik, D. E., Lauber, E. J., Kieras, D. E., & Meyer, D. E. (2001). Virtually perfect time sharing in dual-task performance: Uncorking the central cognitive bottleneck. *Psychological Science*, 12(2), 101-108.

Sigman, M., & Dehaene, S. (2005). Parsing a cognitive task: A characterization of the mind's bottleneck. *PLoS Biology*, 3(2), e37.

doi:10.1371/journal.pbio.0030037

Sigman, M., & Dehaene, S. (2008). Brain mechanisms of serial and parallel processing during dual-task performance. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(30), 7585-7598.

doi:10.1523/JNEUROSCI.0948-08.2008

Smith, M. C. (1969). The effect of varying information on the psychological refractory period. *Acta Psychologica*, 30, 220-231.

Spence, C. (2008). Cognitive neuroscience: Searching for the bottleneck in the brain. *Current Biology : CB*, 18(20), R965-8.

doi:10.1016/j.cub.2008.08.039

Stagg, C. J., Best, J. G., Stephenson, M. C., O'Shea, J., Wylezinska, M., Kincses, Z. T., Morris, P. G., Matthews, P. M., Johansen-Berg, H. (2009). Polarity-sensitive modulation of cortical neurotransmitters by transcranial stimulation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(16), 5202-5206.

doi:10.1523/JNEUROSCI.4432-08.2009

Steele, A. D., Jackson, W. S., King, O. D., & Lindquist, S. (2007). The power of automated high-resolution behavior analysis revealed by its application to mouse models of huntington's and prion diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(6), 1983-1988.

doi:10.1073/pnas.0610779104

Suzuki, Y., & Naito, E. (2012). Neuro-modulation in dorsal premotor cortex facilitates human multi-task ability. *Journal of Behavioral and Brain Science*, 2, 372-379.

Tecott, L. H., & Nestler, E. J. (2004). Neurobehavioral assessment in the information age. *Nature Neuroscience*, 7(5), 462-466.  
doi:10.1038/nn1225

Tinbergen, N. (1996). The hierarchical organization of nervous mechanisms underlying instinctive behaviour. *Foundations of Animal Behavior: Classic Papers with Commentaries*, , 406-413.

Voigts, J., Sakmann, B., & Celikel, T. (2008). Unsupervised whisker tracking in unrestrained behaving animals. *Journal of Neurophysiology*, 100(1), 504-515.  
doi:10.1152/jn.00012.2008; 10.1152/jn.00012.2008

Wassermann, E. M., & Grafman, J. (2005). Recharging cognition with DC brain polarization. *Trends in Cognitive Sciences*, 9(11), 503-505.  
doi:10.1016/j.tics.2005.09.001

清水, 洋平. (2010). フェロモンにより惹起されるマウス性行動の解析. 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科修士論文 ; 2010年3月.

桃田, 菜央. (2012). 味覚嗜好性におけるマウス結合腕傍核の情報処理機構の解明. 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科修士論文 ; 2012年3月.