

タッチスクリーンシステムを用いた
マウスにおける主観的輪郭の知覚能力評価

奥山 史

奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科 神経機能科学
(塩坂 貞夫 教授)

平成 28 年 2 月 22 日提出

目次

第1章 序論・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・4

- 1-1. 行動神経科学における主観的輪郭の位置づけ
- 1-2. 主観的輪郭の神経機構
 - 1-2-1. ヒトを対象とした脳活動測定の課題
 - 1-2-2. 実験動物を対象とした脳活動測定の課題
- 1-3. げっ歯類を用いた視知覚研究と本研究の目的
- 1-4. 視覚研究におけるマウス系統と雑種強勢

第2章 材料と方法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・10

- 2-1. 被検体
- 2-2. タッチスクリーン式学習装置の作製
- 2-3. 二画像弁別課題
 - 2-3-1. 予備訓練
 - 2-3-2. 選択訓練
 - 2-3-3. 二画像弁別課題
- 2-4. 主観的輪郭知覚課題
 - 2-4-1. 基本図形の検討
 - 2-4-2. 課題手順
 - 2-4-3. 主観的輪郭誘導図形とコントロール図形
 - 2-4-4. inducer 欠如図形と角度変更図形
 - 2-4-5. エッジコントラスト低下図形
 - 2-4-6. Interruption 型と Phase-shift 型
 - 2-4-7. 系統ごとの視覚学習
- 2-5. データ解析

第3章 結果・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・19

- 3-1. タッチスクリーン式学習装置の作製
- 3-2. 二画像弁別課題
- 3-3. 主観的輪郭知覚課題
 - 3-3-1. 基本図形の検討
 - 3-3-2. 主観的輪郭誘導図形と非誘導図形の弁別率
 - 3-3-3. inducer 欠如図形と角度変更図形の弁別率
 - 3-3-4. エッジコントラスト低下図形の弁別率
 - 3-3-5. Interruption 型と Phase-shift 型の弁別率

3-3-6. 系統ごとの視覚学習成績

第4章 考察 24

4-1. タッチスクリーン式学習装置を用いた二画像弁別課題

4-2. マウスはカニツツア型主観的輪郭を知覚する

4-2-1. 基本図形の検討

4-2-2. inducer による主観的輪郭知覚の影響

4-2-3. エッジのコントラスト低下に伴う主観的輪郭知覚の低下

4-2-4. Interruption 型と Phase-shift 型の課題

4-2-5. 系統ごとの視覚学習

4-2-6. 学習基準と動因

4-3. 今後の展開

図表 31

謝辞 64

参考文献 65

第 1 章 序論

1-1. 行動神経科学における主観的輪郭の位置づけ

外界のどこに何が存在しているのか探索する際、我々はしばしば視覚に頼っている。視覚は五感のひとつ眼を受容器として取得される感覚で、画像の中に何かがあるのかを発見する役割を担っている。視覚研究はこの画像を分析するための情報処理方法の解明だけにはとどまらない。イギリスの神経科学者 David Marr は著書「ビジョンー視覚の計算理論と脳内表現ー (1987)」の序論で下記のように述べている。

“視覚は単に処理過程としてだけではとらえられない。なぜなら、もし我々が外界のどこに何かがあるかを知ることができるのなら、我々の脳は何らかの方法でこの情報を（色、形、美しさ、動き等を豊富に）表現する (representing) ことができるに違いないからである。(中略) 画像から我々にとって有用な外界のさまざまな側面を抽出する方法だけでなく、同時にその内部表現 (internal representation) の性質をも研究しなければならない。”

実際、我々はとらえた視覚情報をありのままに「見て」いるわけではない。このことに気づかせてくれるものが、トリックアート・だまし絵とも呼ばれる錯視図形である。19世紀後半から20世紀前半にかけて、数々の錯視図形が心理学者らによって考案されている。例えば、二本の水平線の長さが同じにもかかわらず、両端に付けられた矢羽根の方向によって長さが異なる知覚が得られる「ミュラー・リヤー錯視 (Müller-Lyer, 1889, Fig. 1A)」や、複数の同心円が螺旋状に繋がっているように知覚される「フレイザー錯視 (Fraser, 1908, Fig. 1B)」があげられる。このように錯視は、実際の物理的付置とは裏腹に、色や形の変容や補完といった奇妙な知覚がもたらされ、しかも誰でも同じように感じられる頑強な知覚である。これは視覚情報を処理している脳で、共通した修飾が行われているからに他ならない。錯視はこの脳独特の情報処理の一端が表出されたものであると言える。

網膜の視細胞から受容された視覚情報は、視神経を通じて視床を經由し、大脳皮質後頭葉視覚野の初期視覚野へと伝えられる。V1、V2野と名づけられた領域は初期視覚野と呼ばれ、ここからさらに、形・色・位置・動きといった視覚属性ごとに異なる視覚領域へと振り分けられる。さらに、それぞれの視覚領域において分析と修飾を受けながら情報処理が行われ、最終的に情報は統合され、視知覚へといたるとされる (Kandel *et al.*, 2012)。しかし、複数の領域で分散処理された異なる視覚属性が、どこでどのように矛盾無く統合され、ひとつの視覚世界に収まっているのかはわかっていない。この未だ解決されていない問題は「結びつけ問題 (バインディング問題)」と呼ばれ、認知神経科学における重要なテーマのひとつとされる。錯視の知覚もまた、このバインディング問題の基本的なあらわれであると考えられている (Whitney, 2009)。そこで、これらの問題を解き明かすために、本研究では以下の理由から

錯視図形に着目した。錯視は統合失調症患者などをのぞく視覚健常者のほとんどが見ることができる頑強な知覚である (Levitin, 2002, Notredame *et al.*, 2014)。中でも、錯視の一種である主観的輪郭は極めて短時間の間に起こることから、限られた視覚領域内で発生していることが想定されている (Lee and Nguyen, 2001)。さらに錯視を引き起こす条件が限定的で、視覚刺激図形もシンプルであることから (Kanizsa, 1976)、実務的利点も勘案し主観的輪郭を実験に用いることとした。

主観的輪郭とは、輪郭線が存在しているように知覚される錯視であり、その要素を抽出したものの代表例に「カニツツアの三角形 (Kanizsa, 1976, Fig. 1C)」があげられる。この図形は物理的には扇形と V 字の線画が 3 つずつ並べられているだけであるが、中央に白い三角形が存在しているように知覚される。この Kanizsa 型のほかにも Interruption 型、Phase-shift 型が考案されており、どの場合においても強く輪郭線が知覚される (Fig. 2)。この本来存在しない輪郭線が周囲の視覚情報を手がかりに知覚されてしまう能力は、情報が混在し複雑な見かけを呈する周囲環境の中から、正確かつ迅速に特定の物体が何であるのか察知するために獲得されたものであると考えられている。自然界において、物体は別の物体に遮蔽されている場合がほとんどであり、ただ能動的に輸入された視覚情報を分析するだけでなく、積極的に欠損している視覚情報を補完する必要がある。もし生命活動に必要な食物や捕食者の発見が遅ければ、自分の身を危険にさらしかねない。主観的輪郭は激しい生存競争の中、視覚探索のために獲得された能力であり、カニツツアの三角形はその能力の発露であると考えられている。事実、主観的輪郭の知覚に関しても、ヒトだけでなく、数々の動物種で報告がされている。例えばヒトと近縁な霊長類アカゲザル (*Macaca mulatta*, Zimmermann, 1962, Peterhans and von der Heydt, 1991) や、古くから視覚研究に用いられてきた小型哺乳類のネコ (*Felis silvestris catus*, Bravo *et al.*, 1988) で知覚されていることが明らかとなっている。綱が異なるがヒト同様、視覚系が優位であることから比較認知研究に用いられてきた鳥類メンクロウ (*Tyto alba*, Nieder and Wagner, 1999)、ハト (*Columba livia*, Niu *et al.*, 2006)、ニワトリ (*Gallus gallus domesticus*, Zanforlin, 1981) さらには魚類でも報告されており、キンギョ (*Carassius auratus*, Wyzisk and Neumeyer, 2007)、淡水熱帯魚のハイランドカープ (*Xenotoca eiseni*, Sovrano and Bisazza, 2009)、イヌザメ (*Chiloscyllium griseum*, Fuss *et al.*, 2014)、そして節足動物のミツバチ (*Apis mellifera*, van Hateren *et al.*, 1990, Horridge *et al.*, 1992) に至るまで視覚システムが異なっている種でも主観的輪郭が知覚されていることが明らかとなっている。Table 1 に主観的輪郭を知覚していることが報告されている動物と実験に用いられた主観的輪郭のタイプをまとめた。

このことから主観的輪郭は生存に直結した自然環境からの選択圧の結果、系統発生的に早期の段階から獲得されていた能力であると考えられている (Sovrano and Bisazza, 2009)。そのため実験動物を用いた比較認知研究を通じて主観的輪郭の神経基盤を明らかにした上でヒトの心理物理学研究と比較し、主観的輪郭の内部表現を検討することは極めて有意義であると考えられる。さらにカニツツアの三角形からは、境界知覚ばかりでなく、明るさの変容、奥

行きの変異といった複数の感覚が惹起される。これらの現象特性は、同一のメカニズムによって発生するのではなく別のメカニズムによるものであると推測されているが(Watanabe and Oyama, 1988)、成立順序も含め詳しい神経メカニズムは明らかとされていない。

1-2. 主観的輪郭の神経機構

1-2-1. ヒトを対象とした脳活動測定の課題

ヒトを対象とした脳活動計測法の代表的なものに、磁気共鳴機能画像法 (functional magnetic resonance imaging; fMRI)、脳磁図計測法 (Magnetoencephalography; MEG) があげられる。fMRI は血流中の酸化型ヘモグロビンと還元型ヘモグロビンの磁性状態変化を計測し、特定領域の相対濃度変化を測定することで、神経活動の亢進により酸素が消費された領域を活動部位 (信号源) として可視化する技術である (Kim and Ogawa, 2012)。また、MEG は神経細胞が発する微弱な電流によって生じた磁場を測定することで信号源を同定する技術である

(Hämäläinen *et al.*, 1993)。信号源の時間的、空間的推定精度を左右する解像度は fMRI の場合、ミリメートル単位の空間解像度と、秒単位の時間分解能を持つ。MEG は fMRI より時間分解能にやや劣りミリからセンチメートル単位の空間解像度と、fMRI より高いミリ秒単位の時間分解能を持つ。Fig. 3 には主要な脳活動測定法とそれぞれの空間解像度および時間分解能を示した (宮内, 2013)。fMRI と MEG は緑色で示された非侵襲的計測法であるが、縦軸左に示されるように、数から 10 ミリメートルの空間解像度では、数 10 マイクロメートルの大きさである神経細胞の集団から成る機能カラム構造の観察にとどまることになる。これらは人体に対して非侵襲であるという点で優れた計測法であるが、頭皮上から測定するため絶縁効果の高い頭皮・頭蓋骨・脳硬膜を経て信号源を推定しなければならないという点、磁場の形成されやすさが神経細胞種によって異なることに起因した計測が困難な領域が存在する点といった技術的課題も存在する。

前述した fMRI や MEG を用いた研究から、主観的輪郭の最初期発生は初期視覚野である V1、V2 野で起こるという説 (von der Heydt *et al.*, 1984) と、Lateral occipital cortex (LOC) で発生した後 V1、V2 野へフィードバックされるという説 (Mendola *et al.*, 1999) が提唱されてきた。しかし、ヒトを対象とした現在の計測技術では、空間解像度・時間分解能の限界から決定的なエビデンスは得られていない。

1-2-2. 実験動物を対象とした脳活動測定 of 課題

比較認知科学は、ヒトと他種の生物の特定の認知機能を比較し、共通点および相違点を見出すことで、その認知機能を獲得する根幹となる基本的なメカニズムとその起源を系統発生

学的視点から明らかにすることを目的とした学術領域である。この考えに基づき、ヒトを対象とした実験では倫理的側面等から成し得ない、電気生理学的手法や分子生物学的手法を実験動物に適用することでヒトの認知機能の解明を目指しており、主観的輪郭の知覚に関しても数々の動物で報告がされている。

サルを用いた電気生理学実験では、主観的輪郭に反応する神経細胞は V1、V2 野と、V4 野で記録されている (Pan *et al.*, 2012)。各神経細胞が反応する視界領域のことを受容野と呼ぶが、この受容野の広さは高次視覚野になるほど大きくなる。V4 野の神経細胞の受容野は V1、V2 野の細胞の 4 から 7 倍大きく、初期視覚野からボトムアップ的に入力された視覚情報を統合処理している場であると考えられている (Desimone and Schein, 1987)。麻酔下においたサルに二光子励起カルシウムイメージング法を用いた研究では、V1、V2 野に存在する小さい受容野を持つ細胞が検出した局所の方位情報が V4 野の細胞に至るまでに統合され、広域の主観的輪郭の検出が行われているのではないかと考えられている (Pan *et al.*, 2012)。しかし実際に主観的輪郭を形成する神経細胞の最少単位は未だ明らかとなっていない。これは生体内における視覚野領域間および層間連絡の神経機構を明らかにするために単一神経細胞レベルから神経細胞集団レベルまでスケールの異なる活動計測が必要であるということと、知覚強度との関連を調べるためには神経活動を人為的に操作するための遺伝子改変技術が必要であるため、脳サイズが大きく遺伝子改変が困難なマカクサルを対象とするには現技術では限界があると考えられる。近年、サル研究において体重 300g 程度と小型の新世界ザルのコモン・マーモセットが注目されている。霊長類で初となる遺伝子改変系統が作出されており (Sasaki *et al.*, 2009)、全ゲノム配列情報が読了されたばかりである (Sato *et al.*, 2015)。脳機能地図に関しては知見の統合が進められているところであるため (Hashikawa *et al.*, 2015)、今後の神経活動計測の技術革新により更なる分子基盤の解明が期待される。

1-3. げっ歯類を用いた視知覚研究と本研究の目的

マウス (*Mus musculus*) は約 20 から 30 グラムの体重で、受精から誕生まで 20 日間程度、誕生から性成熟までが約 6 週間と世代サイクルが哺乳類の中でも短く、繁殖能力に優れた動物である。そのため数多くの近交系統 (近親交配を 20 世代以上重ねることで遺伝子的バックグラウンドが揃えられた集団) が樹立・維持されてきた実験動物の一種である。全ゲノム塩基配列の解読により塩基配列情報がオンラインで一般に公開されており (All organism genome/NCBI, Complete Genomes/EBI 等)、特定の遺伝子を挿入または欠損させたトランスジェニックマウスを作製する技術によって遺伝学の発展に多大な寄与をしてきた。

脳科学研究においてもマウスは主要な実験動物である。マウスの大脳新皮質は、平均的に厚さ 0.8 から 0.9 mm という比較的薄い組織であるため (Braitenberg and Schüz, 1998)、不透明な生体脳の深部を観察するための光化学的アプローチが可能である。フェムト秒オーダーの

超短パルスレーザーを用いて光子密度を上昇させ、光子の衝突に伴う励起状態（二光子励起）を引き起こすことで、脳深部であっても共焦点顕微鏡と同等の解像度を持つ画像を得ることができる。この原理をシステム化した二光子励起顕微鏡を用いて、リアルタイムに神経細胞集団の活動計測を行う *in vivo* カルシウムイメージング技術が確立された (Stosiek *et al.*, 2003)。また、電気生理学的手法と併用することで、特定の神経細胞の電氣的活動計測（特定細胞選択的記録法；*in vivo* TPTP 法）が可能である (Komai *et al.*, 2006)。さらに、2000 年代に入り光遺伝学（オプトジェネティクス）と呼ばれる研究分野が発展してきた。緑藻類クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) から単離された光駆動性のロドプシンファミリータンパク質であるチャネルロドプシンやハロロドプシン、アーキロドプシンを遺伝子操作によりマウスの特定の神経細胞に発現させ、特定波長の光を照射するだけで、対象の神経細胞の活動の亢進および抑制を高い時間分解能で制御することが可能となった (Nagel *et al.*, 2003, Schobert and Lanyi, 1982, Chow *et al.*, 2010)。

視覚能力的側面から考えると、マウスの視覚解像度は霊長類と比べて劣っている (Prusky *et al.*, 2000, Wong and Brown, 2006)。しかしながら、視覚研究にしばしば用いられるサルやネコと同等の視覚認知能力をマウスは持っていることが近年明らかとなってきた。例えば、視覚野には応答特性が似通った神経細胞が垂直方向に集合する機能カラム構造が存在する。これは迅速に視覚情報を処理するために形成されたと考えられているが、マウス視覚野第V層においても柱状クラスターが発見され、小規模な神経回路が存在していることが示唆されている (Maruoka *et al.*, 2011)。さらに方位選択性幅がサルやネコとほぼ同等であること (Ringach, 2002)、受容野の形と刺激検出機構が共通していることが明らかとされてきた (Niell and Stryker, 2008)。これらはマウスの視覚情報処理能力が大型哺乳類と共通していることを示唆しており、視覚認知機構の基本メカニズムを明らかにするためのモデル動物としてマウスが有用であると考えられている (Huberman and Niell, 2011)。

以上のことから、オプトジェネティクスと神経生理学的計測法、行動学を併用することが可能であるマウスを主観的輪郭研究に用いることができれば、今まで相関関係が示されてきた主観的輪郭の発生機序から、より詳細な因果関係の証明に繋がり、これまでの仮説に決着をもたらすことが可能となると考えられる (Fig. 4)。そこで本研究では、主観的輪郭がマウスに知覚されているかどうか明らかにすることで、視覚情報の内部表現解明の可能性を探るための第一歩になりうる、動物実験モデルの確立を目的とした。

1-4. 視覚研究におけるマウス系統と雑種強勢

前述したとおりマウスを実験動物の対象とする際には、実験系に適した系統の選択が重要である。トランスジェニックマウス作製時に用いられる ICR 系や BALB 系マウスは発育が良好で温順な性格であるが、脈絡膜の色素を欠乏したアルビノであるため、眼球内で光が散乱

し視力が低い (Wong and Brown, 2006)。また、有色系であっても C3H/He 系マウスは加齢に伴い先天性の網膜変性が生じるため視覚実験には不向きである (Iseki *et al.*, 1989)。淡チョコレート色被毛を持つ DBA/2J 系は黒毛の C57BL/6 系マウスと同等の視力を持ち、自発運動量が C57BL/6 系より高い (Rogers *et al.*, 1999, Wong and Brown, 2006)。さらに視覚弁別学習を行った研究では、0.17 cycles/degree の格子状視覚刺激に対する弁別率が 70%以上に達するまでの日数が C57BL/6J に比べて有意に早いことが報告されている (Wong and Brown, 2006)。

実験に適したマウスを選定するためには、雑種強勢を利用する方法もある。雑種強勢とは、2つの異なる品種または系統間での交配で生まれた雑種第一代 (F₁) が両親より優れた形質を示すことである。特に系統間交雑においては F₁ 世代の繁殖能力や発育、病気の抵抗性が向上し斉一性が上がることから農畜産業分野で広く利用されている。例えば豚肉は、繁殖豚 (母豚) に大ヨークシャー種とランドレース種の雑種が一般的に用いられている。この雑種の産仔数は両血統より 1 割程度多くなることが知られているため、この母豚に発育が早く赤肉量の多いデュロック種の雄が交配される。その結果、3 種の純粋種を掛け合わせて生まれた子豚は発育が早く赤肉量の多い優れた豚肉となる (三元交雑豚)。同様にマウスの系統間においても雑種強勢の報告が存在する。BDF₁ は、C57BL/6 雌と DBA/2J 雄から生まれた F₁ である。毛色は C57BL/6 と同じ黒毛であるが、親の近交系より環境適応力が高く、体重が重く寿命が長い (Yamate *et al.*, 1999)。視覚が関与する行動実験研究では、実験空間の 4 方に固定されたオブジェクトを目印に、相対的な自分の位置を把握する能力を測定するモリスの水迷路試験において DBA/2J より有意に高く C57BL/6 と同等の空間認知結果が報告されている (Owen *et al.*, 1997, Crawley *et al.*, 1997)。同様に 8 本のアームが放射状に伸びた迷路を用いた放射状迷路試験では、両親系統より高い空間認知能力が観察されている (Roulet and Lassalle, 1995) ことから、視覚認知能力において両近交系の表現系より優れ、長い時間を要する視覚学習実験に適している可能性が考えられた。Table 2 に C57BL/6、DBA/2J、BDF₁ の報告をまとめた。

第2章 材料と方法

2-1. 被検体

8週齢のC57BL/6、DBA2およびBDF₁ (Japan SLC, Inc., Shizuoka, Japan) マウス雄を用いた。本学動物実験施設にて12時間の Light/Dark サイクル (明期: 8:00 - 20:00) の下、 $24 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ の環境下で飼育した。予備訓練開始の3日前から、実験動物配給会社がHPで公開している体重変化曲線に基づき、個々の系統の予測体重曲線を作成し体重に応じて給餌制限を行い、飢餓動因を高めた。毎実験後に体重を測定し、予想体重の85%を下回らないよう与える餌の量を調整した。また水は自由摂取させた。

本研究に係る一切の実験動物の取り扱い「国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学動物実験等の実施に関する規定 (承認番号 1204, 1302)」および細則を遵守した。

2-2. タッチスクリーン式学習装置の作製

本研究で行う視覚学習は長期間に渡るため、被検体への負担を極力低減する必要がある。そのために本研究ではタッチスクリーンを用いて自動化した実験系を確立することで被検体にストレスをかけず、学習の強化をすることが可能な学習装置の作製を行った。用いた視覚弁別課題のシステムはマウス用オペラントチャンバー、タッチスクリーン、チャンバーランプ、ブザー、電磁バルブ、給餌口ランプ、赤外線センサー、給餌器、環境統御用暗箱、および制御用コンピュータから成る (Fig. 5A, B)。このシステムは Bussey らが 2001 年に開発したシステムを参考に構築したもので、以下に詳細を述べる。

マウス用オペラントチャンバー (W16.5 x H13.5 x D13.5 cm, Knosys Olfactometers Inc., Florida, USA) は当研究室にて構築した Go - No go 嗅覚学習試験装置を改変したものをを用いた。条件づけの随伴性を高める報酬としてペレット (14 mg, F05684, Bio-serv, Inc., New Jersey, USA) を自動供給する給餌器 (ペレットディスペンサー: Muromachi Kikai Co. Ltd., Tokyo, Japan) をチャンバー横に併置した。さらに給餌口に試行が開始されたこと、もしくはペレットが供給されたことを知らせる給餌口ランプ、試行開始時における姿勢統制を行うためにマウスの口吻 (鼻先にあたる部分) を感知することができる赤外線センサー、試行の開始を知らせるクリック音を発生させるための電磁バルブ、ペレットが得られたことを知らせるブザー、不正解を知らせるチャンバーランプを用い、視覚学習時のチャンバー内の明るさを統制するためにチャンバーと給餌器を暗箱に入れ、外部からの余剰光を遮断した (Fig. 5B)。

視覚刺激の提示とマウスの口吻が接触した位置を感知するためのタッチスクリーンを作製するため、日東電工株式会社より貸与された 51 本の赤外線を張り巡らせた多赤外線センサー

フレーム (W10 x H6 cm, Nittodenko Corp., Osaka, Japan) を用いた (Fig. 6A)。圧力感知式のタッチスクリーンを用いなかった理由としては、マウスの口吻による接触面積が小さくかつ接触圧が非常に小さいことから感知に不十分である可能性が考えられたためである。このフレームに合わせて液晶 3.5 インチミニモニター (Castrade Co., Ltd., Tokyo, Japan) を組み合わせることとした。このモニターはカーナビゲーションシステム用に開発されたものであったため、AC100V 電源に AC/DC アダプターを用いることで出力電圧を DC12V に変換し、電圧の安定的供給を行った。

また、二画像弁別課題を行うため黒アクリル板に 2 つの矩形窓 (W3.5 x H5 cm) を開けたものをフレームに接着し、モニターを隣接する 2 画面に分割した。窓の高さは床から 2 cm に据え、さらに窓下部に透明アクリル棒を接着することで、尾がスクリーンに接触するといった偶発的な誤作動による学習妨害の可能性を排除した。

多赤外線センサーフレームの発光素子は本来電池による電源供給方式で設計されていたが、常時供給と強弱調整を可能にするためパワーサプライ (ATTO Corp., Tokyo, Japan) を接続し 10 から 11V の電圧を供給した。受光素子の電圧は DAQ デバイスのシールド I/O 端子台 (NI SCB-68, National Instruments Japan Corp., Tokyo, Japan) を介して供給した (Fig. 6B)。こうして作製したタッチスクリーンは、給餌口の正面の壁に向かい合わせにして設置した。最終的にチャンバー内におけるマウスの自由行動領域は、W12 x H11.5 x D12 cm であった。

行動装置に用いたデジタル I/O ボードは NI-6520 (National Instruments Japan Corp., Tokyo, Japan) を使用した (Fig. 7A, B)。NI-6520 デバイスでは正論理が使用されている。リレー信号の説明は Table 3, 4 に記載した。デバイスが正常に稼動しているかどうかは Measurement and Automation Explorer (National Instruments Japan Corp., Tokyo, Japan) を用いて確認を行った。装置および弁別課題のシーケンス等の制御はアプリケーションソフトウェア LabVIEW

(National Instruments Japan Corp., Tokyo, Japan) で行った。装置と弁別課題のシーケンス内容については後述する。

2-3. 二画像弁別課題

マウスをはじめとした実験動物の知覚や認知を評価する際には、実験者が定量評価できるよう、刺激や反応など操作的に異なる二種の事象を関連づけて学習させる連合学習が用いられる。これには古典的条件づけとオペラント条件づけがあり、古典的条件づけは、特定の刺激 (条件刺激) に伴って反射や本能行動 (無条件刺激) を生起させる方法である。例として「パブロフの犬」として知られる、ベルの音を条件刺激としたイヌの唾液の分泌亢進があげられる。一方、オペラント条件づけは条件刺激によってレバー押しやタッチパネルへの接触など本来動物の生活環境では獲得されない後天的行動を自発的に引き起こさせる方法である。このオペラント条件づけでは「シェイピング」と呼ばれる、学習すべき行動を細分化しひと

一つひとつを段階的に学ばせることで、複雑な手続きを達成させる技法が用いられる (Skinner, 1953)。この方法を用いることでラットの視覚的探索方法が変化すること (Vermaercke and Beeck, 2012)、マウスおよびラットに部分的に遮蔽された物体を面として補完するアモーダル補完の能力があること (Kanizsa *et al.*, 1993, 吉田ら, 2012) など、げっ歯類の持つ視覚認知能力の一端が明らかにされてきた。

本実験ではまず、Bussey らによって報告された二画像弁別課題の再現を目指したことから、論文に即したオペラント条件づけとシェイピング方法を用いて段階的に訓練を行った (Izquierdo *et al.*, 2006)。

2-3-1. 予備訓練

被検体に画像弁別課題を遂行させるにあたり、実験装置の周辺環境に慣れさせることを目的とした 1 日 20 分の予備訓練を 2 日間行った。あらかじめタッチスクリーンのモニター電源をオフにし、給餌口ランプを常時点灯した状態でペレット 10 粒を置いておき、自由探索中に摂取させた。これは、ランプが点灯されていることとペレットが存在していることを関連づけるためである。2 日目にペレットを全て摂取したことを確かめ、次の選択訓練へ移行した。もしペレットが残されていた場合は翌日同様の訓練を繰り返し行った。

2-3-2. 選択訓練

次に、学習課題の基本的な手続きを学習させることを目的とした 1 日 30 試行の選択訓練を行った。基本的な試行のシーケンスをフローチャートとしたものを Fig.8 に示す。画像を選択する際の手続きを学習させる訓練はステージ 1 から 4 までの 4 ステージからなり、試行間間隔 (Intertrial interval ; ITI) は 15 秒とした。学習を正に強化する報酬として与えたペレットは、画像が提示された窓を被検体が口吻接触により選択した際、画面を灰色画像に変えると同時に 1 粒を供給した。同時に 1 秒のブザー音を提示し、給餌口ランプを 3 秒点灯した。画像が提示されていない窓を選択した場合、画面を灰色画像に転換することは共通しているが、その後の応答はステージごとに異なるため後述する。

この選択訓練で視覚刺激として用いた画像は、黒 (コントラスト 0%) 背景に白 (コントラスト 100%) 図形を配置した 35 種類である (Fig. 9A)。この訓練では、刺激の形状そのものを覚えさせるのではなく、刺激の有無を判断させ、報酬と関連づけさせることを目的としているため、それぞれの画像は図形や明暗分布を多様に設定した。

ステージ 1. Pavlovian (Pav)

タッチスクリーンに触れると報酬が得られることを学習させるため、ランダムに二つの窓どちらか一方に画像を提示し接触があるまで待機した。報酬取得への動機の低下を抑えるためどちらの画像を選択しても必ず報酬を与えた。ただし画像の提示されていない窓を選択した場合 15 秒の待機時間後に報酬を供給した。

ステージ 2. Must touch (MT)

被検体に画像の存在を認識して窓を選択するよう学習させるため、画像非提示の窓を選択した場合は一切報酬を与えなかった。その他の手順はステージ 1 と共通である。

ステージ 3. Must initiate (MI)

このステージではトリガー行動を学ばせることを目的とした。トリガー行動とはマウスが口吻を給餌口内に入れる行動で、試行開始時の場所と体勢を揃え画像弁別の過程を統制した。

試行が開始されると同時に給餌口ランプを点灯し、被検体がトリガー行動を取ると同時に消灯した。さらに口吻が抜かれると電磁バルブによるクリック音を鳴らし、窓に画像を提示した。トリガー行動は給餌口内に設置した赤外線センサーで検出した。

ステージ 4. Punishment (Pun)

ステージ 3 と同様の試行に加えて、被検体が図形の提示されていない誤った窓を選択した際、それを知らせるためにハウスライトを 5 秒点灯しチャンバー内の明暗環境を変化させ、さらに ITI の 5 秒の遅延を課した。

ステージ 1 から 3 では 30 試行を 60 分以内に終わられた時、被検体の学習が成立したとみなし次のステージへ移行した。ステージ 4 では画像が提示された窓の選択回数が 30 試行中 23 回以上、かつ 20 分以内に終わることを 2 セッション連続で達成できた時をもって選択訓練を終了した (Table 5)。

2-3-3. 二画像弁別課題

選択訓練を終えた C57BL/6 マウス雄を 8 匹用い、両方の窓で同時に二種類の図形を提示した。図形は先行研究によってマウスに視覚弁別が可能であることが報告された星形とバブル形を用いた (Bussey *et al.*, 2001, Fig. 9B)。本研究では星型を報酬図形 (ターゲット)、バブル型を非報酬図形 (非ターゲット) とし、1 試行ごとにターゲットおよび非ターゲットを窓の左右にランダムに提示した。被験体がターゲット選択を誤った場合は、ターゲットを選択するまで同じ試行を繰り返す Correction trial (再試行) によって学習強化を行った。これを 1 日

40 試行課し、1セッションとしてその都度正解率を算出した。なお試行回数には再試行が何度行われていたとしても数に加えなかった。また、各ステージは最長 20 セッションとし、20 セッション以内に学習基準に達しなかったマウスはデータから削除した。

学習成立の基準として 2 セッション連続で正解率が 80%を超えたときとした (Table 6)。マウス個別の正解率の推移を定量化するため、学習基準に達するまでの学習曲線を作成した。またセッションの経過に要した時間と正解率に相関があるかどうかを調べるために、セッションを最初、中間、最後の 3 段階にわけた。最初のセッションは 1 セッション目、最後のセッションは終了時のセッションのデータを用い、中間は要した全セッションの中間に位置するセッションのデータを用いた。偶数セッション目で終了したものは、その中間に位置する 2 セッションの平均を算出して用いた。さらにそれぞれの個体が要した時間とその正解率、そして 8 個体の平均を算出した。

2-4. 主観的輪郭知覚課題

主観的輪郭がマウスに知覚されているかを評価するため、前述した予備訓練、選択訓練、そして二画像弁別課題を使って段階的に図形学習を遂行した。これは主観的輪郭が見えるように学ばせるためのものではなく、見えているかどうかを報告する手続きを学ばせることが目的である。具体的には、あらかじめ特定の図形をもう一方の図形と識別して選択するよう学習させておき、その後、特定の図形が誘導される主観的輪郭図形を見せた。もしもマウスに主観的輪郭が知覚されているのであれば、報酬を期待して学習図形に類似した図形を選択すると考えられるので、特定の主観的輪郭図形に偏った弁別率が観察されることが予想される。一方マウスに主観的輪郭が知覚されていないのであれば、学習図形に類似した図形が知覚されないためランダムに図形を選択する行動をとることとなり、結果 50%に近い弁別率が観察されることが予想される。この仮説に基づき、主観的輪郭誘導図形と主観的輪郭を誘導しないコントロール図形の刺激条件、および図形が複雑になることが予想されたため事前に学習させる図形の形と学習課題内容の検討を行った。テストではバー形を誘導するカニッツァ型図形を主に用いることとし、まず学習効率の良い刺激図形の条件検討を行った。

2-4-1. 基本図形の検討

学習が成立しやすいバーの比率を検討するために、1:4、1:5、1:7 の縦横比を持つバー (Fig. 10) を用い、水平方向から 90 度と 0 度に回転させた二画像を弁別課題の学習基準に達するまで試行を繰り返し、総試行数を計測した。バーの最大長は矩形窓に合わせて約 3 cm であった。1:4 は 6 匹、1:5 は 4 匹、1:7 は 5 匹の C57BL/6 マウスを用いた。

また、ターゲットの形によって被検体の嗜好性に偏りがあるか（偏好性）調べるため、ターゲットが垂直方向のバー形の群（V群, n=7）と水平方向のバー形である群（H群, n=7）に分け、学習基準に達するまでのセッション数を比較した。

2-4-2. 課題手順

この課題はステージ1から4までの4ステージから成る（Fig. 11A, Table 6）。1：4の縦横比のバーを基本図形としそれらに徐々に周辺図形を付加することで段階的に学習を行わせていき、最後に主観的輪郭誘導図形を提示するテストセッションを行った。被験体に行わせる基本的な学習手続きは前述した二画像弁別課題と同じである。テストセッションを除いて1セッションあたり40試行を行った。学習基準は2セッション連続で正解率が80%以上を達成した時とした。

被験体としたBDF₁マウスは10匹用いて5匹ずつ二群にわけ、バー形が垂直方向の図形をターゲットとする群（V群）とバー形を90度回転させ、水平方向にした図形をターゲットとする群（H群）とした。

ステージ1.

基本図形であるバーを弁別させた（Fig. 11B）。ターゲット図形を選択した際に報酬を与え随伴性の強化を行った。非ターゲット図形を選択した際は報酬を与えず、再試行を行った。

ステージ2.

基本図形の両側に扇形の誘導図形（inducer）と同じ扇形であるが主観的輪郭を誘導しないもの（非 inducer）を配置した図形を弁別させた（Fig. 11C）。

ステージ3.

ステージ2で用いた図形のバー形の上下に誘導図形と同じ図形を用いて弁別させた（Fig. 11D）。

ステージ4.

ステージ3で用いた図形に加え、バー形を認識して識別するように白黒反転図形を加えランダムに提示した（Fig. 11E）。

テストセッション

ステージ4と同様の試行を10から14試行行い正解率が80%以上となった時、その直前の試行でターゲットが提示された窓と異なる側の窓に学習させたターゲット図形を誘導するテスト図形を一度提示した。そのため、1テストセッションは合計11から15試行からなる。どのテスト図形の非inducerも、ステージ4までで学ばせた図形と異なる角度を用いた。さらに、テスト図形そのもので正解・不正解を学ぶことがないよう被検体がどちらの図形を選択しても正解・不正解の合図は与えなかった。

2-4-3. 主観的輪郭誘導図形とコントロール図形

テストセッションにおいて、カニツァ型の主観的輪郭誘導図形(SC)を用いた(Fig. 12A)。コントロールとして、主観的輪郭誘導図形と同じ構成図形であるが、inducerを45度ずつ時計周りに回転させることで基本図形を誘導しない非主観的輪郭誘導図形(non SC)を用いた(Fig. 12B)。各図形を用いて20テストセッションずつ行い、被検体ごとに弁別率を算出した。テストセッションにおける具体的なセッションのフローチャートをFig. 12Cに示した。10から14試行行った後、テストとして主観的輪郭誘導図形もしくは非誘導図形をただ1度提示した。この際マウスの選択に関わらず正解・不正解の合図は与えなかった。

2-4-4. inducer 欠如図形と角度変更図形

マウスが図形の一部から正誤を判別している可能性を検討するため、inducerの片方を欠如した図形(Lack)とinducerの片方を時計周りに45度回転させた図形(Rot)を用いて同様のテストを行った(Fig. 13A)。また、提示した図形同士を2グループに分けた。inducerもしくは非inducerが二画像の上部に同時提示されている刺激の組み合わせ(Up)と二画像の下部に同時提示されている刺激の組み合わせ(Low)を用いた(Fig. 13B)。それぞれを20テストセッションずつ行い、弁別率を比較した。

2-4-5. エッジコントラスト低下図形

主観的輪郭の知覚には、図形が持つ背景とのコントラストの強さ、特に図形の縁(エッジ)が知覚に影響を及ぼすという報告がある(Kennedy, 1976a, Minguzzi, 1987)。そこで、主観的輪郭誘導図形のエッジコントラストを低下させることで、マウスの弁別率に影響が及ぼされるかを検討するため、ガウシアンフィルターを利用して画像の輝度値を平滑化した。画像を平滑化する際、対象画素近辺に位置する複数画素の輝度情報を元に、対象画素の輝度を再計

算していく。その計算に平均 0、分散 σ の正規分布（ガウス関数）を用いて対象画素からの相対距離に応じた勾配をかけ、輝度を算出する方法がガウシアンフィルターである。この処理を行うための画像処理ソフトウェアとして GIMP 2（GNU Image Manipulation Program, GIMP Development Team, <http://www.gimp.org/>）を用い、高平滑化画像（HGF）および低平滑化画像（LGF）を作成した。それぞれの平滑化処理の半径は HGF20 ピクセル、LGF10 ピクセルとし、そこからもとめられた σ 値はそれぞれ 9.6、5.0 であった（Fig. 14）。

2-4-6. Interruption 型と Phase-shift 型

前述のとおり、主観的輪郭に分類される Interruption 型および Phase-shift 型刺激図形についても、評価可能な図形条件を検討する必要があると考え、2 匹の C57BL/6 マウスを用いて予備実験を行った。Interruption 型は隣接する線との狭間に主観的輪郭が知覚される図形であるが、この隙間が広くなるにつれ背景との明暗のコントラストがつきやすく、線の途切れた場所を見なくとも明暗差で形が知覚されてしまう問題点がある。また Phase-shift 図形は、縞周期の位相をずらすことで知覚される特性上、幅の大きい図形を使用しづらいという制約がある。これらの理由から基本図形として 1 : 7 の細いバー形を用いて弁別課題を行った（Fig. 15A）。弁別課題の学習成立条件は 75%以上の正解率を 2 セッション連続で達成することとした。2 匹が学習基準に達した後、Interruption 型（Fig. 15B）および Phase-shift 型（Fig. 15C）の主観的輪郭誘導図形を知覚できるか確かめるテストセッションを行った。テストセッションはそれぞれ Interruption 型が 16 回、Phase-shift 型は 18 回行い、それぞれの弁別率を算出した。

2-4-7. 系統ごとの視覚学習

系統ごとの弁別率の傾向に違いがあるか調べるため、C57BL/6、DBA2 および BDF₁を用いて 1:4 のバー形の二画像弁別学習を遂行した。C57BL/6 は 13 匹、DBA2 は 3 匹、BDF₁は 22 匹を用いて比較を行った。学習基準は 80%以上の正解率を 2 セッション連続で達成することとした。

2-5. データ解析

全ての図表データは平均値 \pm SEM として表示した。グループ間での統計処理は、同一標本で 2 群間の比較をする際は Paired Student *t* test を用いて、3 群以上の場合には Dunnett の多重比較検定を用いて nonSC もしくは SC を対照群として比較を行った。また、独立 2 標本の検定

を行った際は、分散に差があるかどうか F 検定を行い、差が無かった場合は等分散と仮定し Unpaired Student t test を用いた。有意水準は 5%として調査項目を吟味した。統計処理は統計分析ソフト R を用いた (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org/>)。

第3章 結果

3-1. タッチスクリーン式学習装置の作製

マウスに効率良く視覚学習を行わせることを目的に、赤外線感知式タッチスクリーンを導入した学習装置を作製した。多赤外線センサーの検出状況は LabVIEW を用いた計測制御システムソフトウェアによってリアルタイムにモニターし、赤外線が遮られた時の座標の特定を行った。これによりサイズの小さなマウスの口吻でもその位置を検出することができた (Fig. 16)。Fig.16 黄色矢印に示すように、モニター中瞬間的な光強度の微弱な低下が見られたが、被験体のヒゲや体毛、もしくは外部周辺装置の電源から混入したノイズと考えられた。今回の実験では装置のエラー評価は行っていないが、ヒゲや体毛の場合はアプリケーション上で入力値の閾値を上げることで、外部周辺装置等から入力されるランダムノイズの場合はパワーサプライからの供給電圧値を上げることによって実験者が対応し、学習を妨害する影響を低減させた。

3-2. 二画像弁別課題

作製したタッチスクリーン式学習装置の性能を評価するために、まず先行研究を再現することを目的とした二画像弁別課題を行った。最初の選択訓練では被験体 8 匹全てが全ての学習ステージを終え、学習基準に達することができた。Fig. 17A に選択訓練ステージ 4 の個体別学習曲線を示す。横軸はセッション数、縦軸は正解率を示した。1 セッションを 20 分以内に終了し、80%の正解率を 2 セッション連続で達成するという学習成立条件を全ての被験体は 10 セッション内に達成した。赤の破線で示した Criteria は学習基準のひとつとして設定した正解率 80%である。セッションを経るごとに正解率の上昇が見られ、さらにセッションを経るごとに 1 セッションあたりに費やす時間の短縮が見られた (Fig. 17B)。これにより視覚刺激の有無を知覚弁別することが可能であることが示された。

次に選択訓練を終えたマウスを用いて、課題の難易度を上げ、テスト課題遂行のために星形とバブル形の二画像を用いた弁別学習を行わせた。基本訓練と同じく全ての個体において、セッションが経過するに従って正解率の向上が見られた (Fig. 18A)。学習成立条件として設定した、80%の正解率を 2 セッション連続で達成する条件を、全てのマウスは 19 セッション以内に達成することができ、その平均は 13.1 ± 1.7 セッションであった (Fig. 18B)。また、セッションを経過にしたがって 3 期間に分け (First, Middle, Last) 正解率と要した時間を比較したところ、セッションの経過によってその正解率は上昇し、要する時間は短縮される強い負の相関が認められた ($r = -0.99$, Fig. 18C)。それぞれのセッション期間と正解率の間には強い

正の相関 ($r = 0.99$, Fig. 18D)、要した時間との間に強い負の相関が認められた ($r = -0.98$, Fig. 18E)。これらのことから同学習装置を用いて二画像弁別課題の学習が成立することが示され、これまでのところマウスにおいてもこれらの視覚課題を遂行することが可能であることが示された。以降は 20 セッションを過ぎても学習基準に達しなかったマウスは学習遅延が起こったとし、データから除外した。

3-3 主観的輪郭知覚課題

3-3-1. 基本図形の検討

次にマウスが主観的輪郭を知覚しているかを評価するため、基本図形となるバーの形を検討した。大きさや形によって視覚学習の成立し易さが変わることが想定されたことから、バーの縦横比の違いによって視覚学習の成立が異なるかどうか検討を行った。その結果、短辺対長辺の長さの比が 1 : 7 の図形は 600 試行を経過しても成立にいたらなかった ($n = 5$, Fig. 19A)。一方、より太い 1 : 4 ($n = 6$) および 1 : 5 ($n = 4$) では、それぞれ 373.3 試行と 397.5 試行でバーの弁別学習が成立した (Fig. 19 B, C, D)。両群には分散に差は見られなかったため、等分散と仮定し t 検定で比較したところ有意な差は得られなかった ($F(5,3) = 5.31, p = .41$)。しかし比較に用いる n 数が少ないこと、1 : 4 の群の約半数の個体は 1 : 5 より学習成立が早かったこと、1 : 7 の結果からバーの幅が広い程学習が成立しやすい可能性が考えられたことから、1 : 5 より早期の学習成立が期待される 1 : 4 のバー形を基本図形候補とすることとした。

次に、課題で使用される 1 : 4 の比率のバー形の特定の角度に対してマウスに先天的な好みである偏好性が無いことを確かめるため、ターゲットが垂直方向のバーの群 (V 群, $n = 7$) と水平方向のバーである群 (H 群, $n = 7$) に学習を行わせ、学習成立の早さに差が見られるか検証した。その結果、学習成立セッション数は V 群が 10.3 ± 1.7 セッション (Fig. 20A)、H 群が 14.0 ± 1.9 セッションであった (Fig. 20B)。両群の分散に差は見られなかったため、等分散と仮定して t 検定を行ったところ、両群において成立基準に達した平均セッション数に有意な差は見られなかった ($F(6,4) = 1.14, p = .088$, Fig. 20C)。また、H 群のうち 2 個体が 20 セッションを超えても学習成立に至らなかったため、データには加えなかった。

この結果から 1 : 4 の比率のバー形の角度にマウスの偏好性は無いと考えられ、マウスはバーの形に依らず視覚学習をすることが可能であることが示唆されたため、以降は 1 : 4 のバー形を基本図形として用いることとした。

3-3-2. 主観的輪郭誘導図形と非誘導図形の弁別率

主観的輪郭がマウスに知覚されているか検討するため、あらかじめターゲット図形を基本形から段階的に修飾した図形まで順を追って学ばせた。これは前述したシェイピング技法に基づくもので、画像を弁別する際の手続きを学ばせるためと、特定の図形に対して概念を形成させ、その概念に基づいた主観的輪郭知覚課題を遂行させることを目的としたものである。ステージ1から4までのシェイピングの過程における弁別学習曲線を Fig. 21 A, B, C, D に示した。全ての個体において、学習成立基準である弁別率 80%を2セッション連続で達成することが確認された。

ステージ4までが終了した後、主観的輪郭によってターゲット類似図形が誘導される SC 図形を用いて、V 群および H 群合わせた 10 個体の被験体に 20 回ずつテストセッションを行った。その結果、両群の平均弁別率は $73.0 \pm 2.5\%$ であった。コントロールとして主観的輪郭が誘導されない nonSC 図形を用いて同様のテストを行ったところ、その平均弁別率は $47.5 \pm 3.1\%$ であった。この値はランダム選択を行った場合に推定される値 50% とほぼ等しい。そこで両群の弁別率を検定したところ、その平均弁別率に有意な差が認められた ($p < .0001$, Fig. 22A)。なお、V 群および H 群それぞれ 5 個体を用いて SC 図形の平均弁別率 (V 群: $70.0 \pm 6.7\%$, H 群: $74.0 \pm 3.0\%$) と nonSC 図形の平均弁別率 (V 群: $43.0 \pm 4.4\%$, H 群: $52.0 \pm 1.9\%$) を比較したところ、同様の有意な差が認められた (V 群: nonSC vs SC $p = .02$, H 群: nonSC vs SC $p < .001$, Fig. 22B)。このことより、主観的輪郭が知覚される場合ターゲットが誘導される図形に対し、それが垂直か水平かを被験体は明確に弁別できていること、そして主観的輪郭が誘導されない図形では両者を弁別できていないことが示唆された。

3-3-3. inducer 欠如図形と角度変更図形の弁別率

被験体が図形を識別する際に主観的輪郭を誘導する inducer が知覚にどのように影響しているかを検討するため、対となる inducer のうち片方が欠如した図形 (Lack) と、片方を回転させた図形 (Rot) を用いて、V 群と H 群合計 10 個体のそれぞれの弁別率を算出した。その結果、Lack の平均弁別率は $44.0 \pm 3.9\%$ 、Rot の平均弁別率は $59.5 \pm 3.5\%$ であった。nonSC における弁別率と比較した場合、Lack との間に差は認められなかったが、Rot に差が認められた ($p = .037$, Fig. 23A)。また V 群と H 群のそれぞれの群内で 5 個体分のデータを用いて平均弁別率を比較したところ、nonSC と SC との間に差が認められていたが、Rot、Lack との比較では差は認められなかった (V 群: nonSC vs Rot $p = .30$, nonSC vs Lack $p = .94$, H 群: nonSC vs Rot $p = .06$, nonSC vs Lack $p = .06$, Fig. 23B)。

さらに inducer の位置が弁別率に影響を及ぼすかどうか検討するため Lack および Rot の inducer 位置によって弁別率を算出した (Fig. 23C)。まず、Lack の Up における弁別率は $47.5 \pm 4.7\%$ 、Low は $57.2 \pm 3.5\%$ であり、nonSC との間に差は認められなかった (nonSC vs Up Lack p

= 1.0, nonSC vs Low Lack $p = .18$)。一方 Rot の Up は $60.4 \pm 3.0\%$ 、Low は $61.5 \pm 3.2\%$ の弁別率であり、nonSC との間に差が認められた (nonSC vs Up Rot $p = .046$, nonSC vs Low Rot $p = .03$)。

以上をまとめると、片方の inducer が欠如している Lack において残された inducer は弁別率の向上に寄与していないと考えられた一方、inducer が両方とも揃っている Rot においては一方の inducer が回転されていても弁別率は高く、それは正しい方向を向いている inducer がどの位置にあっても変わらないことがわかった。

3-3-4. エッジコントラスト低下図形の弁別率

次に、ヒトで報告されている図形のエッジのコントラスト低下によって主観的輪郭の知覚低下が引き起こされるという現象が、マウスにおいても同様に見られるか検討を行った。SC 図形にガウシアンフィルターを適用し、強弱二段階の平滑化処理を行い HGF、LGF とした図形を用いてその弁別率を算出した。試行中、H 群の 1 個体において選択率の低下と選択時間の遅延が見られ、3 日を経ても向上が見られなかったことからこの個体に学習遅延が起こったと考え、そのデータをエッジコントラスト検討実験から除いた。その結果、HGF の平均弁別率は $57.2 \pm 3.0\%$ 、LGF は $62.8 \pm 3.6\%$ 、SC は $72.2 \pm 2.6\%$ 、nonSC は $46.7 \pm 3.3\%$ であった ($n = 9$)。また SC の弁別率と比較すると、HGF との間に有意差が認められたが ($p = .006$)、LGF との間には認められなかった ($p = .11$, Fig. 24)。

3-3-5. Interruption 型と Phase-shift 型の弁別率

Interruption 型と Phase-shift 型図形の予備実験を行うため、まずは 1:7 の基本図形を用いた画像弁別課題を行った。その結果、Fig.19A と同様に成績の上昇が不安定な学習曲線が得られ、学習成立の平均は 23 セッションと学習の長期化が見られた (Fig. 25A)。さらにテストセッションでは Interruption 型および Phase-shift 型のターゲット弁別率はそれぞれ 62.5% と 55.6% であり、どちらもランダムな選択である場合の弁別率 50% を上回っていたものの、カニツツア型図形の弁別率を下回っていた。(Fig. 25B)。2 個体による結果であるため SEM および検定は算出しなかった。

3-3-6. 系統ごとの視覚学習成績

マウス系統によって視覚学習の進行に違いが生じるかどうかを検討するために、C57BL/6、DBA2 および両系統の F₁ 世代である BDF₁ を用いてバー形の弁別学習中の過程を比較した。

DBA2 群は 3 匹中 2 匹が 20 セッションを越えても学習の成立が確認されなかった(Fig. 26A)。一方 BDF₁ 群 22 匹は平均 9.3 ± 0.6 セッション、C57BL/6 群 13 匹は平均 10.7 ± 1.0 セッションで、全ての個体が 20 セッション以内に学習基準に達した (Fig. 26B)。両群に差は認められなかった ($F(12,21) = 1.65, p = .21$)。

第4章 考察

本研究では、バイオリソースが豊富であるマウスが主観的輪郭を知覚しているか評価を行うことを目的とした。まずタッチスクリーン式学習装置を含めたシステムを作製し、先行研究で報告されている画像を用いて本装置でもマウスに二画像弁別課題が遂行できるかどうかを検討した。次に、主観的輪郭を誘導する図形の基本要素となる図形の刺激条件を検討した。そしてカニツァ型の主観的輪郭が誘導される図形と複数のコントロール図形を用いて、各図形に対するマウスの平均弁別率を測定することで視知覚を定量化し、弁別率を統計的に比較した。その結果、マウスはカニツァ型の主観的輪郭によって誘導される図形を高い弁別率で区別していることを示唆するデータが得られた。このことはマウスが主観的輪郭を知覚する能力を持っていることを支持しており、視覚情報が脳内でどのような情報処理のもと補間が行われているのかを検討する認知課題にマウスを用いる可能性を見出したといえる。

4-1. タッチスクリーン式学習装置を用いた二画像弁別課題

マウスに視覚学習課題を遂行させるため、口吻接触座標と潜時を自動で測定するタッチスクリーン式学習装置を作製した。この装置で二画像弁別学習が可能であるかを検討するため、Bussey らによる先行研究で報告されたマウスに識別可能な星型とバブル型の二画像を用いて弁別課題を遂行した。二画像弁別学習中、全てのマウスにおいてセッションの経過に伴う正解率の上昇が見られ、同時に1セッションに費やす時間が短縮された (Fig. 18A, C)。正解率と試行（消費）時間に強い負の相関が見られたことは課題を繰り返すことによって学習記憶が蓄積され、正確な判断に要する時間の短縮が起こったためと考えられる (Fig. 18C, D, E)。これらの結果は、本研究で作製したタッチスクリーン式学習装置においても二画像弁別課題が可能であることを示している。

また、二画像弁別課題では学習基準に達するまで平均 13.1 ± 1.7 セッションであった。今回用いたオペラントチャンバーの自由行動領域は $W12 \times H11.5 \times D12$ cm であり、タッチスクリーンから報酬までの距離が近いため、事象間の連合学習の強化が行われやすくなると考えられた。一方で、学習過程において被験体の尾や体の一部がセンサーに接触する様子が時折観察された。尾を上げる姿勢は学習早期段階において一過的に高まった不安によるものであると考えられるが、学習過程時のエラーによって学習成立が阻害されていたことが考えられるため、今後マウスの学習効率を高めるために、今回設置した透明アクリル棒以外にも、チャンバーを広くすることや窓枠に尾が入り込まないようにしエラーを最小限にとどめる工夫が必要である。

現在市販されているタッチスクリーン式学習装置 (The Bussey-Saksida touch screen chambers, Campden instruments ltd.) は、大型モニターを設置した据え置き型の装置である。またチャンバーの形が不等辺四角形の構造に固定されているため形の異なるチャンバーや別の装置と併用することが困難である。本研究で使用したフレームは W10 x H6 cm の大きさで持ち運びが可能であるため、迷路試験と併用するといった拡張性が高い。さらに多赤外線センサーを用いているため、口吻に反応しヒゲには反応しないといった感知接触表面積を調整することが可能である。これにあわせフレームに固定された赤外線発光素子と受光素子の位置を調節することで、直接パネルに接触せずとも近づくだけでも反応することが可能となる。

タッチスクリーン式学習装置を用いた研究は幅広い分野で行われている。視覚に基づいた空間認知や画像の逆転学習によって海馬における記憶の形成過程や、海馬損傷後の記憶回復の評価が行われている (Clelland *et al.*, 2009)。近年では統合失調症をはじめとした精神疾患モデルマウスの行動評価を可能とする新しい行動バッテリーの提案が行われ、疾患機序の解明につながることを期待されている (Bussey *et al.*, 2012)。タッチスクリーンを今まで視知覚や認知研究にあまり用いられてこなかったげっ歯類に用いることによって、今後神経機構解明の発展につながることを期待される (O'Connor *et al.*, 2009, Huberman and Niell, 2011)。

4-2. マウスはカニツァ型主観的輪郭を知覚する

4-2-1. 基本図形の検討

主観的輪郭を形づくるための基本図形の条件を調べるため、1:4、1:5、1:7 のバー形について検討を行った。その結果、1:4 のバー形の学習成績が良かったことから候補とすることにした。そこで、0度と90度それぞれをターゲットとした群 (H群、V群) で学習成立セッション数を比較したところ、両群の間に有意な差が見られなかった。その結果より1:4のバー形そのものに先天的な偏好性は無く弁別学習を阻害しない可能性が示唆されたことから (Fig. 20C)、本研究では基本図形に設定した。

4-2-2. inducer による主観的輪郭知覚への影響

ステージ1から4までのシェイピングの過程でターゲット図形の概念を段階的に形成させた後、カニツァ型-主観的輪郭誘導図形課題を遂行した。その結果、BDF₁マウス10個体において、SC (73.0 ± 2.5%) と non SC (47.5 ± 3.1%) の平均弁別率の間に有意な差が認められた (Fig. 22A)。V群H群の両群においても同様の有意な差が得られた (Fig. 22B)。各テストセッションでは、テスト図形を提示する10から14試行の弁別課題を行っており、その弁別率は常に80%以上であることを確認している。そのためこのSCの弁別率の高さは、被験体が

バー形との類似性を SC 図形から見出している可能性が考えられる。一方 SC と同じ構成の視覚刺激を用い、両 inducer の角度のみが異なる nonSC を提示したテストを行った結果、その弁別率は $47.5 \pm 3.1\%$ とランダムに選択した時と同じ 50% に近い値であった。このことから被験体は nonSC を弁別できていないと考えられる。また、学習段階での 80% の弁別率と比較して SC は 73% と約 7% の低下が見られた。この原因として考えられるのは、テストセッションを繰り返す中で無報酬の図形であることを被験体が学習し、積極的に選択しようというモチベーションが減弱した可能性である。この影響は事前に考えられたため、11 から 15 試行に 1 度だけ無報酬課題を行っていた。もしそうであるなら、ターゲット画像との違いを認識しながらも、その中から報酬につながるターゲットの要素を被験体が SC から見出していたと考えられる。この低下率はキンギョを用いてカニツァ型-主観的輪郭誘導図形を弁別させた先行研究では約 8% とほぼ一致している (Wyzisk and Neumeyer, 2007)。このことから被験体は、SC から学習図形の基本要素であるバー形を知覚し弁別していたことが示唆される。nonSC では高い弁別率が見られなかったことから、我々ヒトの知覚と一致している。

しかし SC の弁別率の高さの原因として、局所の視覚情報 (例えば inducer。非 inducer に関しては、テスト図形に新規の角度を用いたため、弁別の手がかりとはならないため言及しない。) を手がかりに判断していた可能性が考えられる。さらに、ステージ 3, 4 において inducer に似た図形が含まれた図形を学習させている点も考慮する必要がある (Fig. 11D,E)。そこで、inducer の一方が欠如した Lack と、一方を回転させた Rot の両図形を用いて、前課題と同じ被験体を用いて平均弁別率を比較した。もし被験体が主観的輪郭を知覚しているのでは無く、前段階で学んだ inducer の形だけを手がかりに選択を行っているなら、Lack と Rot の弁別率は等しくなるか、Rot が持つ回転した inducer という間違いを引き起こす手がかりが無い Lack の弁別率が高くなることが予想される。他方で、inducer 両方がそろえられることがバー形の知覚に必要なのであれば、Rot の弁別率の方がより高くなると考えられる。

検討の結果 Lack では、inducer がバー形を正しく構成する角度 (正 inducer) であるにもかかわらず、その弁別率は主観的輪郭が誘導されない nonSC と同等のものであった ($44.0 \pm 3.9\%$, Fig. 23A, B)。一方、ふたつの inducer を揃えた Rot は nonSC と比べ有意に高い弁別率が認められた (Fig. 21A)。しかし、V 群、H 群各 5 個体ずつで比較を行うと nonSC との間に有意な差は認められなかった。群ごとに詳細な比較を行うにはサンプル数が少なかったため、今後更にサンプル数を増やし検討を行う必要があるだろう。また、1:4 のバーでの比較結果

(Fig.20C) と、SC および nonSC の両群の結果 (Fig. 22B) からは有意な差が認められなかったことから、ターゲットの形に依存しない学習が行われていることが示唆されるため、両群を合わせて検定を行っても影響は無いと考えられる。以上のことから、被験体は正 inducer が存在していても片方の inducer が欠如していた場合、学習図形との類似性を見出し弁別することができず、ランダム選択になった可能性が示され、ふたつの inducer が存在することが弁別率を向上させることが示唆された。

さらに正 inducer の提示位置の違いによる弁別率への影響を検討した。その結果特定の位置依存的に弁別率が向上するという傾向は見られなかった (Fig. 23C)。ラットの視覚弁別研究では、四角形と三角形の形状弁別中に図形をランダムに部分遮蔽した場合、図形の下部の視覚情報を手がかりに弁別を行っていることが報告されている (Vermaercke and Beeck, 2012, Cruz-Martín and Huberman, 2012)。しかし本研究では下部に inducer が出現していてもその弁別率は上部のものとの差が見られなかった。先行研究では被検体から 24 cm の距離に 24 インチモニター 2 台を設置し弁別課題を行わせており、視覚探索面積が本研究と比べて広がったことで探索行動に負担が生じていた可能性が考えられる。

inducer の一方を回転させた Rot を提示した時の全被験体の平均弁別率は、nonSC と比較して有意に高い弁別率であったが、SC の弁別率より低かった ($59.5 \pm 3.5\%$, Fig. 23A)。この結果から、被検体は Rot からバー形を nonSC および Lack より強く知覚しているが、SC ほど強く認知されていないと考えられる。もしくは、マウスの低い視覚解像度にとって、正しい方向を向いている inducer と 45 度回転している inducer の間にズレが生じているという認識が困難であった可能性も考えられる。そのため、今回は正位置の inducer に対して 45 度回転させた図形のみを用いたが、正位置の inducer とのズレによってバー形の知覚に影響が出るかどうかを検討するために、さらに 60 度や 80 度の条件での弁別率を検討する必要があるだろう。また、前段階で学んだ inducer 類似図形を手がかりに判断している可能性は否定できないため、inducer の形状を矩形部分は残したまま、丸ではなく四角や三角などに変更するなど明確な区別をつける必要もあるかもしれない。上述したこの inducer の角度により主観的輪郭の知覚強度が影響を受けることはヒトでも報告されており (Barlasov-Ioffe and Hochstein, 2008)、マウスもヒト同様に主観的輪郭を知覚している可能性を示唆するものと考えられる。

4-2-3. エッジのコントラスト低下に伴う主観的輪郭知覚の低下

主観的輪郭の形成過程においてその誘導図形と背景のコントラストは知覚に影響を及ぼす。本研究では、ガウシアンフィルターで平滑化処理を行いエッジのコントラストを減弱させたところ、平滑化効果の低い LGF では平均 $62.8 \pm 3.6\%$ 、高い HGF では平均 $57.2 \pm 3.0\%$ と強度が強くなるほどに、SC と比べて有意に弁別率が低下した (Fig. 24)。ヒトを対象にした研究では、誘導図形にフィルターをかけ平滑化を適用した場合や輝度を低下させることによって、その知覚の閾値が低下することが報告されている (Kennedy, 1976a, Minguzzi, 1987)。この結果は、ヒト同様マウスにおいてもコントラストの強弱が弁別率に影響していることを示していると考えられる。

4-2-4. Interruption 型と Phase-shift 型の課題

今回の Interruption 型および Phase-shift 型の予備実験で用いた背景の縞刺激は、モニターに映し出された条件下で、線幅 1.75 mm、間隔 0.44 mm であった (Fig. 15 B,C)。マウスの視力は 0.5 cycles per degree (cpd) であると報告されている (Prusky *et al.*, 2000)。cpd とはサイン波状に輝度に変化する縞模様を用いて、弁別可能な限界周期数を測定することで定量化された、視力をあらゆる単位のひとつである (Frisén and Glansholm, 1975)。ヒトでは約 50cpd とされているので、マウスは 1/100 程度の視覚解像度を持つといえる (Russ, 2007)。そのため、Interruption 型および Phase-shift 型-主観的輪郭誘導図形課題の弁別率が低かったことは、マウスの視覚解像度が低いことに起因していた可能性が考えられる。これは今回用いた図形では、図地の区別がしづらいことを意味し、前段階で学習した基本図形との類似性を見いだすことが困難だった可能性が考えられる。基本図形として用いたバーの縦横比率が 1 : 7 より 1 : 4の方が学習の成立が早かったことから、マウスにとって細かな図形は知覚しづらいということが示唆される (Fig. 19A,C)。今後は、背景の縞の間隔と区別し易いサイズの図形の条件を検討することで、よりマウスに視認しやすい Interruption 型および Phase-shift 型図形を考案する必要がある。他にも今回はバー形の視覚画像を用いたが、ハイランドカーブを用いた先行研究のように、三角形や正方形といった形状を用いることで視認性が上がる可能性もある (Sovrano and Bisazza, 2009)。また、今回は 2 個体でのみ検討を行っているため、個体数も増やす必要がある。

4-2-5. 系統ごとの視覚学習

マウス視覚学習課題で用いられる視覚解像度が等しい 2 系統とその雑種第一代を用い、バーの 2 画像弁別学習課題における学習成立の違いを比較した。BDF₁ と C57BL/6 は全ての個体が学習を成立させたのに対し、DBA/2 は学習成立が 20 セッション内に終わらなかった個体が見られ、学習成立の長期化が示唆された (Fig. 26A)。また DBA/2 は学習中、C57BL/6 や BDF₁ には見られなかったディスプレイに前肢で接触する行動や、せわしなくチャンバー内壁に飛びつく行動が見られた。これは自発行動量が C57BL/6 より高いことを報告した先行研究と一致する (Rogers *et al.*, 1999)。一方、学習の長期化は DBA/2 が C57BL/6 より有意に早く学習成立に達することを報告した Bussey らのグループによる先行研究と異なる (Izquierdo *et al.*, 2006)。先行研究では各系統 14 - 17 個体を用いており、比較させた図形の難易度も異なるため、系統間の比較は今後更なる検証が必要である。今後は例数を増やすこと、複数の難易度の二図形を用いること、そして DBA/2 を視覚学習に使用する場合は随伴性を高めるため体重制限を厳密に管理し、より効果的な強化子を検討する必要があると考えられる。また、C57BL/6 においてバー形の弁別に要する日数は BDF₁ と変わらなかったことから、視知覚能力については BDF₁ と同等の能力を持っていることが考えられる。よって、本研究課題で考案した視覚課題に C57BL/6 をバックグラウンドとする遺伝子改変マウスを用いて高次視知覚能力を検討することが可能であることが考えられる。

4-2-6. 学習基準と動因

本研究では学習基準として、正解率 80%を連続 2 セッション達成することと定めた。学習基準は被験体の系統や学習の難度、スケジュールにも依るが、マウスの視覚学習課題では 80% から 85%とした報告が一般的であるため (Bitanirwe *et al.*, 2011, Izquierdo *et al.*, 2006) 先行研究に準じた。さらに、Interruption 型および Phase-shift 型-主観的輪郭誘導図形課題は予備実験としての意味合いが強く、難易度の高い 1 : 7 のバー形を用いたことから弁別課題の学習の長期化が想定されたため達成基準を 75%に設定したが、今後再検討するにあたっては 80%まで学習可能な図形を用いる必要があると考えられる。また、本研究では強化子としてペレットを用い、正解するたびに被験体へ一定量を与える連続強化スケジュールを採用した。先行研究では、実験者が設定した条件（一定回数の反応条件を設定し、試行が進むほど要求反応数が増加する等）を満たさなければ強化子を与えられない部分強化スケジュールによって、より強固な学習が形成されることが知られている (Hodos, 1961)。また、嗜好性の高い甘味のあるショ糖を用いて強化子価値を上げることでオペラント学習の増強が見られることが報告されている (Rescorla, 1990)。今後、学習の早期達成をさせるためにはこのような条件を検討していく必要がある。

4-3. 今後の展開

本研究では、主観的輪郭を形成する神経メカニズムを探るため、マウスに主観的輪郭を認知する能力があるかどうか、複数の視覚刺激画像を用いて視覚弁別課題によって評価を行った。マウスは実験動物の中でも視覚優位でない動物とされてきたが、近年、基本的な視覚認知機能は、サルやネコと共通することが示されてきた (Huberman and Niell, 2011)。さらにマウスの暗順応下における視細胞（錐体細胞および桿体細胞）の感度はヒトの網膜周辺部の感度に近いという報告もされている (Naarendorp *et al.*, 2010)。そのため、暗所におけるマウスの視覚認知はヒトと類似している可能性があり、マウスの視覚認知能力について見直される時期に来ている。

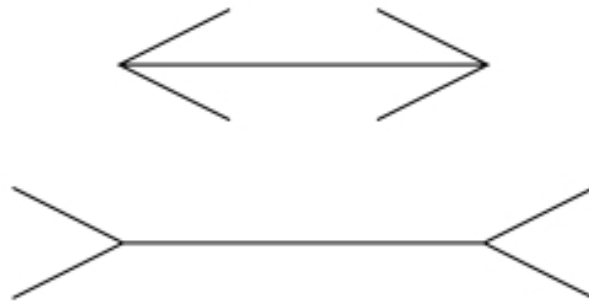
マウスの視覚野には初期視覚野の他に約 10 の機能的結合領域が存在することが、複数の蛍光デキストランを用いた神経回路標識方法で報告されている (Wang and Burkhalter, 2007)。マウスを用いた初期視覚野における研究は多く、二光子カルシウムイメージング法や電気生理学的手法、電子顕微鏡画像により、方位選択性や方向選択性を獲得するための神経機構が明らかとされてきた (Glickfeld *et al.*, 2013)。さらに、3D レーザースキャニング技術の革新によって、より大規模な神経細胞群の活動を短時間に測定することが可能となった (Göbel *et al.*, 2007)。そのため近年では、マウスのより詳細な視覚野研究が進められてきている。例えば、形状を判別する機能を持つ視覚野として初期視覚野腹側に位置する Lateromedial 領域など複

数の領域が同定されている (Marshel *et al.*, 2011)。この視覚領域は、ヒトやサル研究で報告されている対象物の認識や形や色を手がかりにその物が何であるのかを分析する経路と考えられている腹側視覚路、“What 経路”に含まれる領域であることが示唆されている (Niell, 2011)。ヒトやサルで報告されている主観的輪郭図形に応答する V4 領域はこの視覚路中に位置していることから、マウスにおける研究でも候補領域となると考えられる。また、複数の皮質領域の神経活動状態を一度に観察するには、フラビン蛋白蛍光イメージングが適用可能である (Tohmi *et al.*, 2006)。主観的輪郭の形成機構は、複数の領域間で形成されていることが示唆されているため、このような手法を用いて観察することで、主観的輪郭の形成に関わる視覚領域の特定につなげられると考えられる。

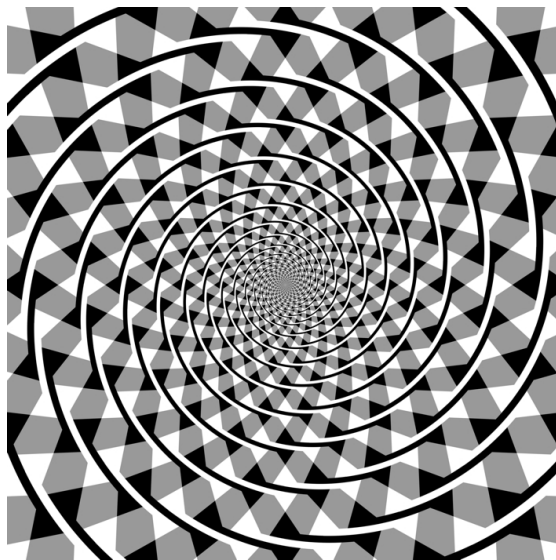
近年、確立された光遺伝学的手法を用いてチャンネルロドプシン-2 やハロロドプシン、アーキロドプシン-3 を特定の細胞に発現させることで、細胞の活動を抑制または亢進させることが可能となることは先述した。視覚情報の符号化において抑制性神経細胞が興奮性神経細胞に与える制御は重要な構成要素であり、複数のサブタイプが存在する (Markram *et al.*, 2004)。中でもパルブアルブミン陽性細胞の発火頻度を光遺伝学的に増加させると、興奮性神経細胞の方位選択性と周囲の神経細胞の方向選択性が強まり、さらに覚醒マウスの方位識別能の有意な向上が起こることが報告されており (Lee *et al.*, 2012)、抑制性神経細胞の活動は図形の形状認識に重要な役割を担っていると示唆されている。また、パルブアルブミン陽性細胞は、統合失調症の認知機能障害に関与することが示されているが (Georgiev *et al.*, 2014)、患者は錯視の認知強度が低いことが報告されている。例えば、序論で紹介したミュラー・リヤー錯視や (Weckowicz *et al.*, 1960)、顔の形状が凹面であっても凸面だという認識過誤を引き起こすホロウマスク錯視 (Dima *et al.*, 2009) があげられる。そして、カニツツア型錯視においても症状の度合いと関連して主観的輪郭形成の低下が見られることが報告されている (Keane *et al.*, 2014)。統合失調症患者は、局所の視覚情報に注意が向き、大域的な抽象概念を形成する過程に障害があるとされる。主観的輪郭の知覚に関しても、抑制性神経細胞による抑制制御が輪郭線の形成に影響を及ぼす可能性が考えられるため、光遺伝学的手法を用いる際の有力な制御候補として検討する必要があるだろう。

本研究では、錯視図形の一つである主観的輪郭を題材に、その内部表現を明らかとするためのモデル動物としてマウスが使用できる可能性を示した。今後、マウスにおける主観的輪郭の視覚情報処理の神経基盤を明らかにした上で、ヒトの心理物理学研究や非侵襲的脳活動計測法の研究成果と比較することで、主観的輪郭の内部表現を明らかにすることが可能になると期待される。

A



B



C

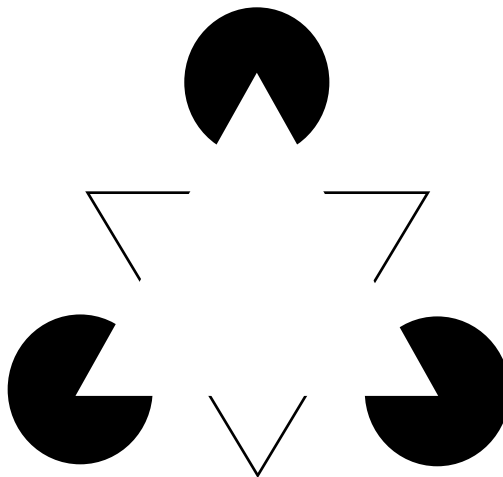


Fig. 1 錯視図形

A: ミュラー・リヤー錯視 (Müller-Lyer, 1889) B: フレイザー錯視 (Fraser, 1908) C: カニツアの三角形 (Kanizsa, 1976)

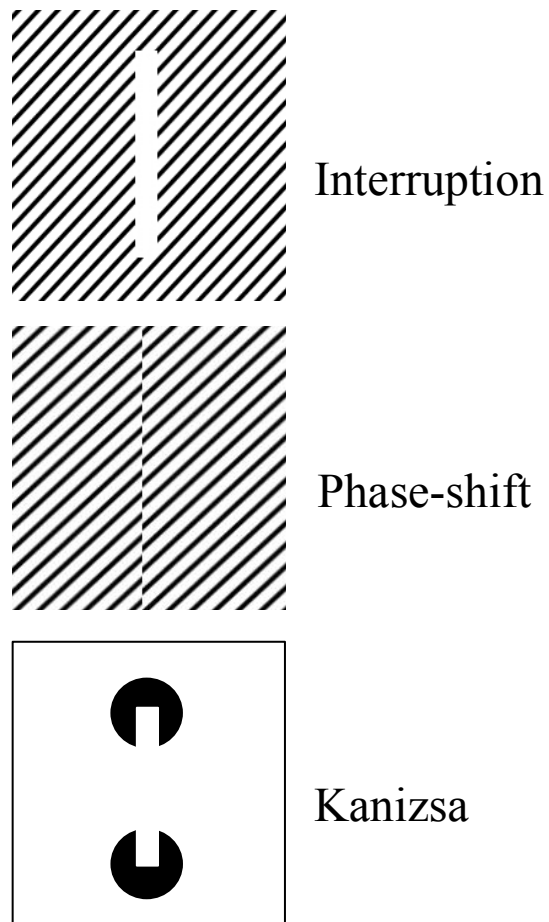


Fig. 2 主観的輪郭に分類される 3 種類のタイプ

扇形の手がかり刺激が並べられた Kanizsa 型の他に、線間にギャップが設けられた Interruption 型、位相がずらされた Phase-shift 型が考案されている。

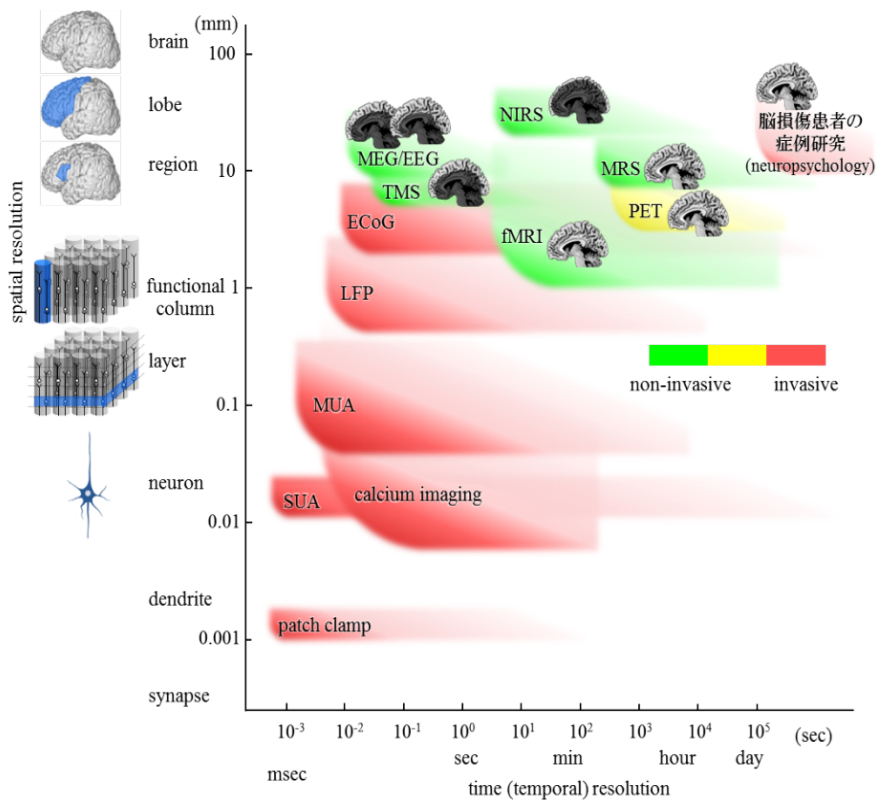


Fig. 3 代表的な脳活動計測法

脳活動計測法それぞれの空間分解能、時間分解能、侵襲性および計測可能な脳領域を示している。非侵襲的手法(緑)は総じて空間解像度・時間解像度が低く、神経細胞ネットワークの測定に課題が残る。(宮内哲(2013). 脳を測る 一改訂 ヒトの脳機能の非侵襲的測定— 心理学評論 56, 414-454. pp. 418より)

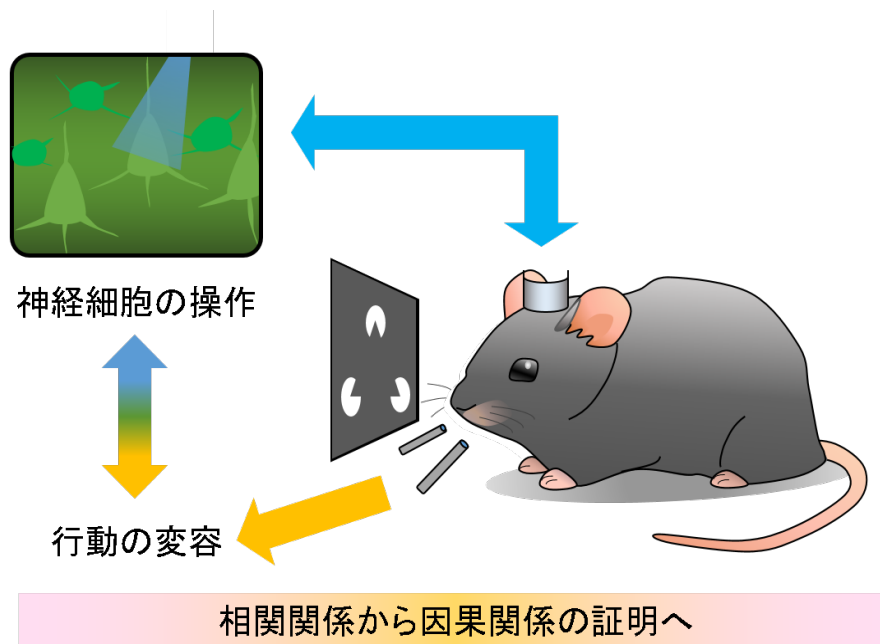
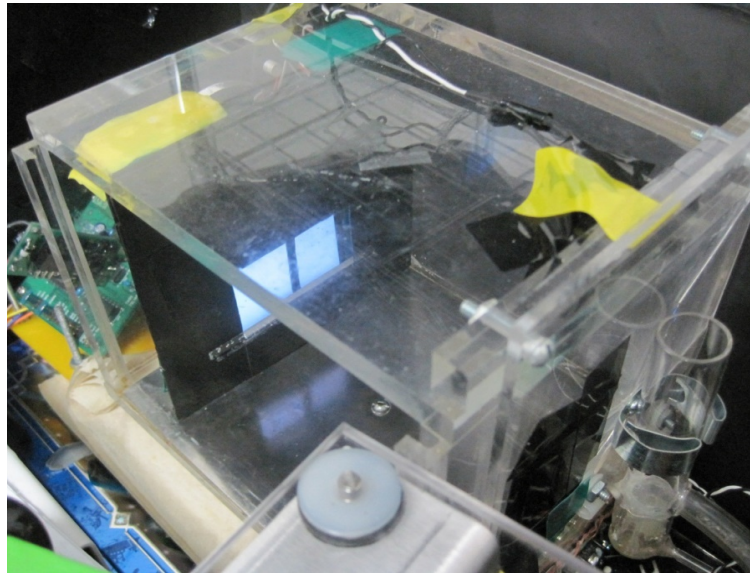


Fig. 4 マウスを主観的輪郭研究に用いる意義

マウスは遺伝子改変による神経細胞の操作、神経細胞集団イメージング、そして条件づけによる行動計測を同時に行うことが可能な実験動物である。主観的輪郭研究に用いることができれば、ヒト研究で提唱されてきた発生機序について、神経細胞集団レベルの相関関係から、より詳細な神経細胞同士の因果関係の証明へ繋がることが期待される。

A



B

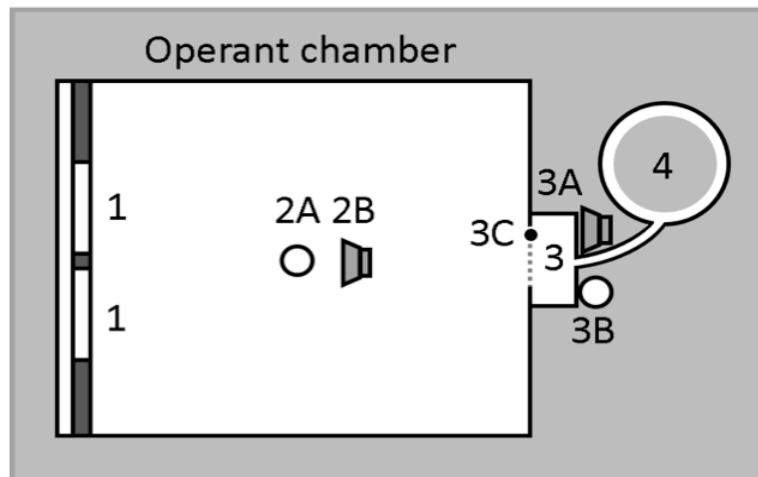
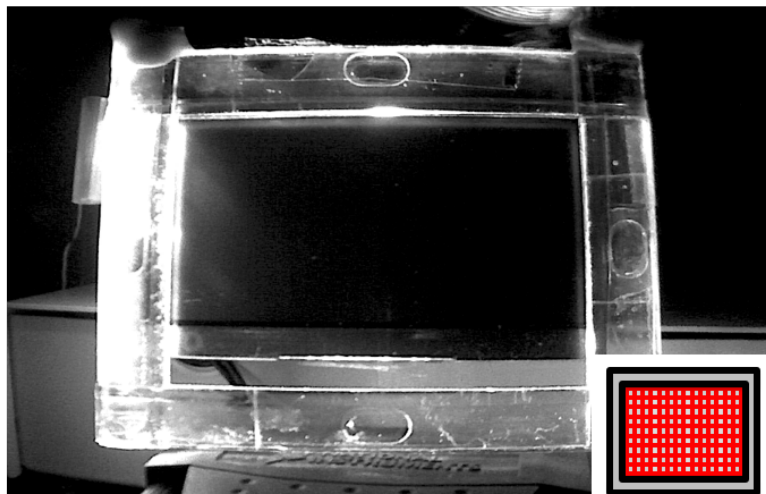


Fig. 5 タッチスクリーン認識学習装置

A : 装置外観。B : オペラントチャンバー概略図。1 : タッチスクリーンのモニターウインドウ、2A : チャンバーランプ、2B : ブザー、3 : 給餌口、3A : 電磁バルブ、3B : 給餌口ランプ、3C : 赤外線センサー、4 : 給餌器 (ペレットディスペンサー)。オペラントチャンバーは環境統制用暗箱内に設

A



B

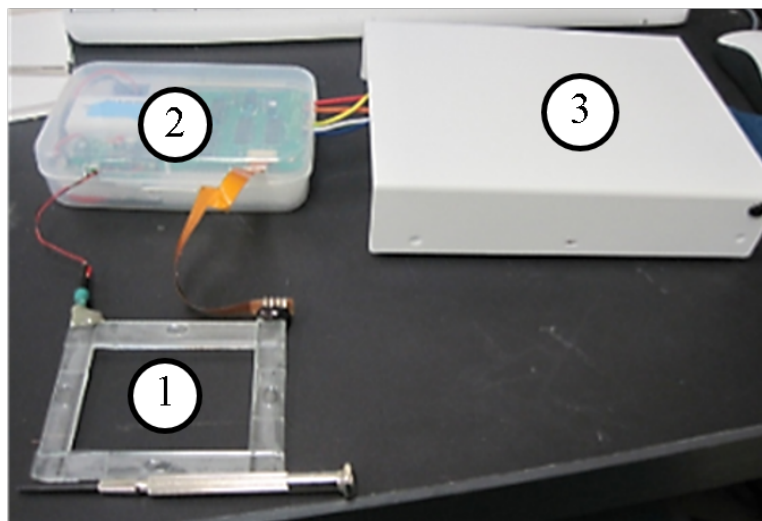


Fig. 6 多赤外線センサーフレームと DAQ デバイス

A：赤外線カメラで捉えた多赤外線センサーフレームが発光している様子。フレームの X、Y 軸で合計 51 セットの発光素子と受光素子が設置した。右下の概略図はフレーム内に赤外線が格子状に張り巡らされている様子を示した。B：多赤外線センサーフレームの基本的構成。1：多赤外線センサーフレーム。2：光源スイッチ。パワーサプライを介して赤外光発光素子側の電圧が供給した。3：68 ピンコネクタ付き DAQ デバイスのシールド I/O 端子台 (NI SCB-68)。受光素子側はこの端子台を介して PC から電圧を供給し、センサー情報を伝達した。

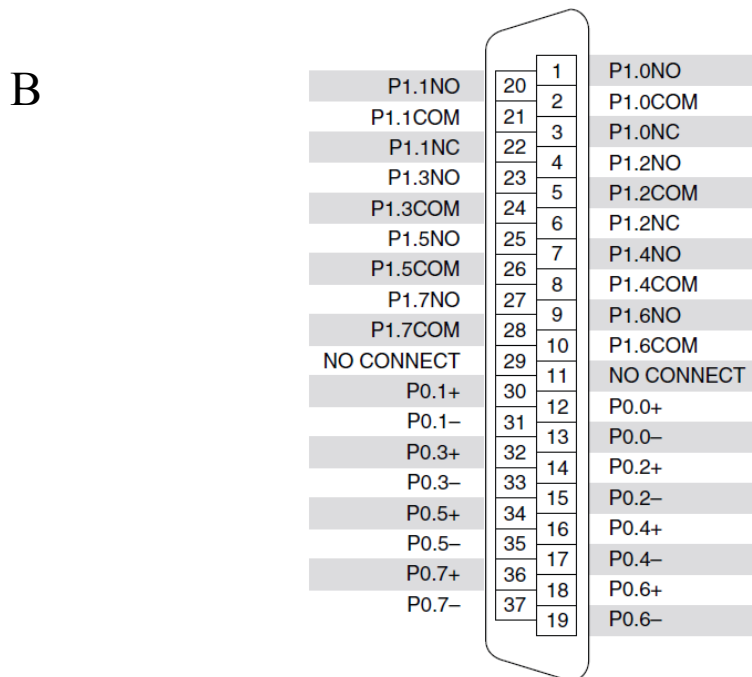
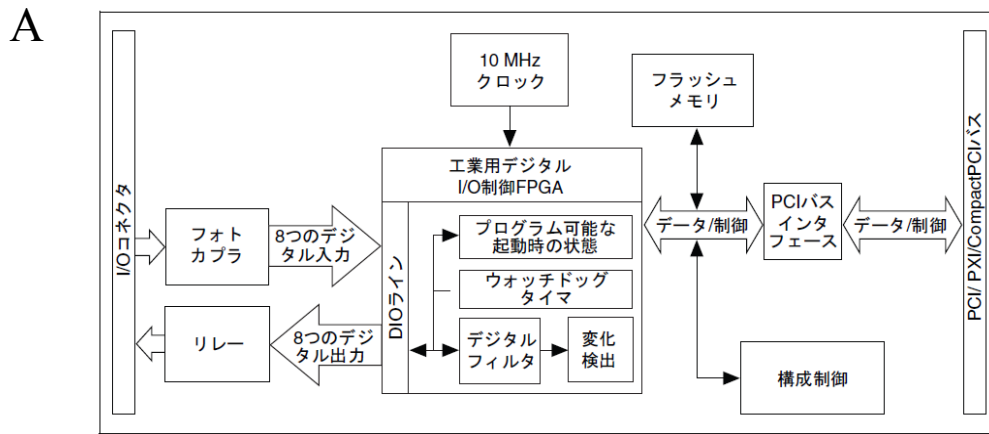


Fig. 7 NI-6520 デバイス

A: デバイスの主要な機能コンポーネントを示すブロックダイアグラム。B: 37ピンDINコネクタピンの割り当て。2種のポートからそれぞれ8種の絶縁デジタル入力と8種のリレー出力を使用できる。

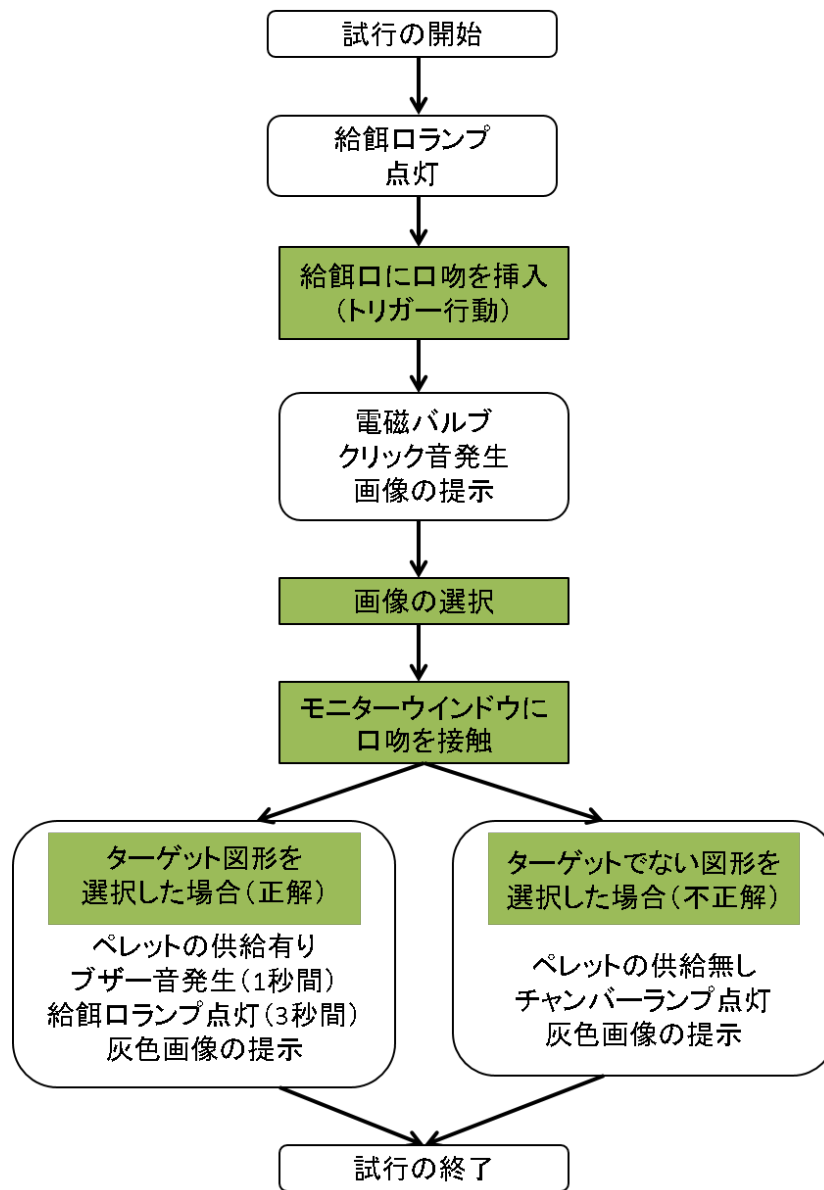


Fig. 8 1 試行のフローチャート

試行開始から終了までの基本的なオペラントチャンバー内の機器の動作内容とマウスの学習行動を示した。白地図形が機器の動作内容、緑時図形がマウスの行動内容。トリガー行動はステージ3以降に学ばせた。

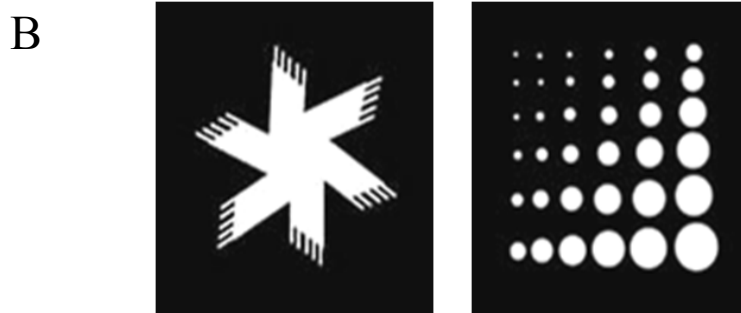
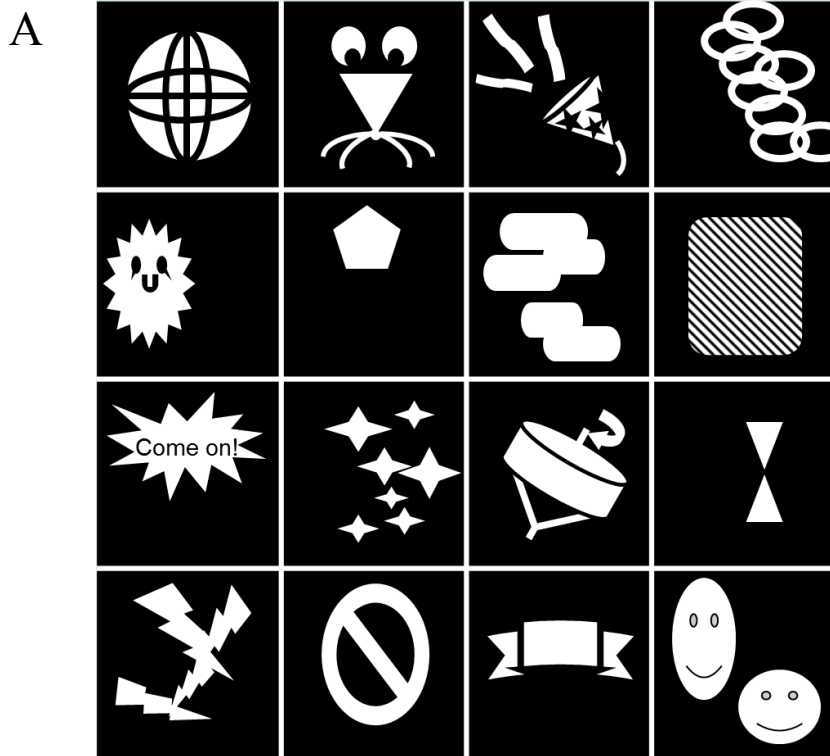


Fig. 9 課題で使用した画像

A: 選択訓練で用いた図形。全 4 ステージで用いた図形 35 種のうちの一部。マウスが特定の図形を覚えないう明暗の配置や形を多様に作成した。B: 二画像弁別法で使用した図形。左が星型、右がバブル型。本実験では星型を報酬としてペレットを与える図形(ターゲット)とした。

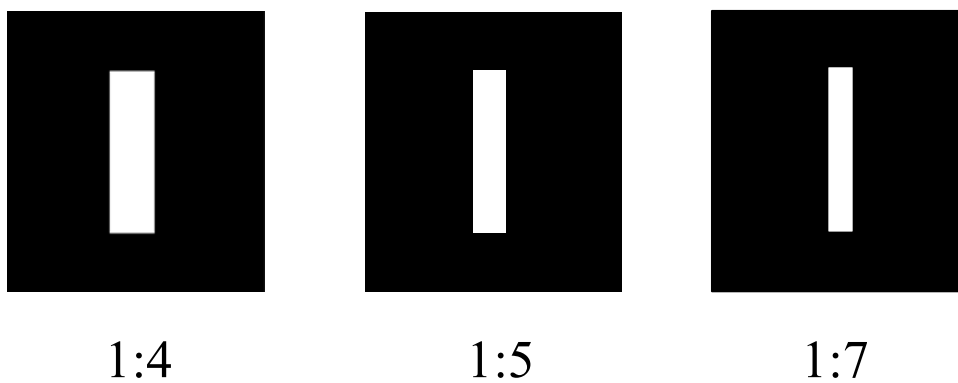


Fig. 10 基本図形の検討

左よりそれぞれ 1 : 4、1 : 5、1 : 7 の縦横比を持つバー形を用いた。

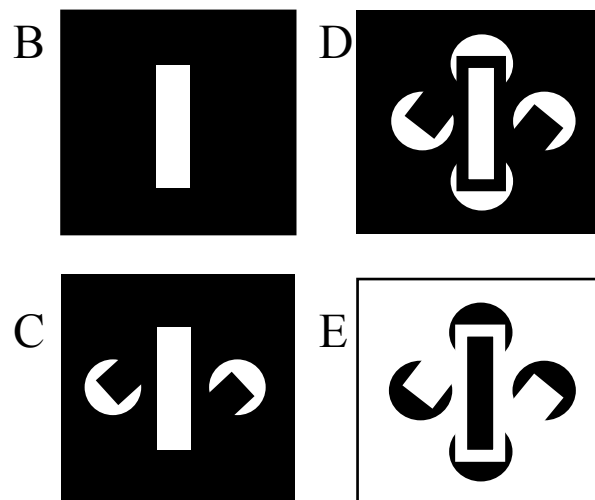
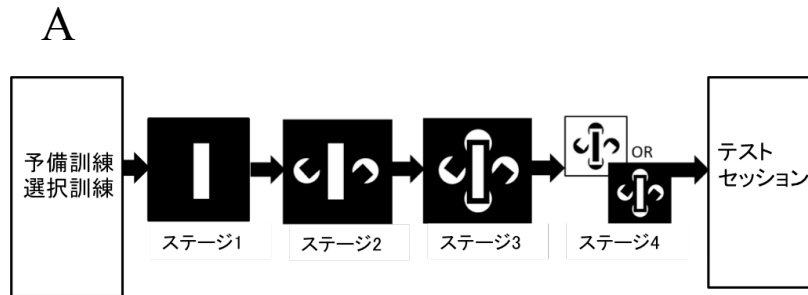


Fig. 11 課題に用いた図形

- A : 全ステージの一連のフローチャート。
- B : ステージ1で基本図形としたバー形。
- C : ステージ2で用いた図形。
- D : ステージ3で用いた図形 (ステージ4でも使用)。
- E : ステージ4で用いた図形。

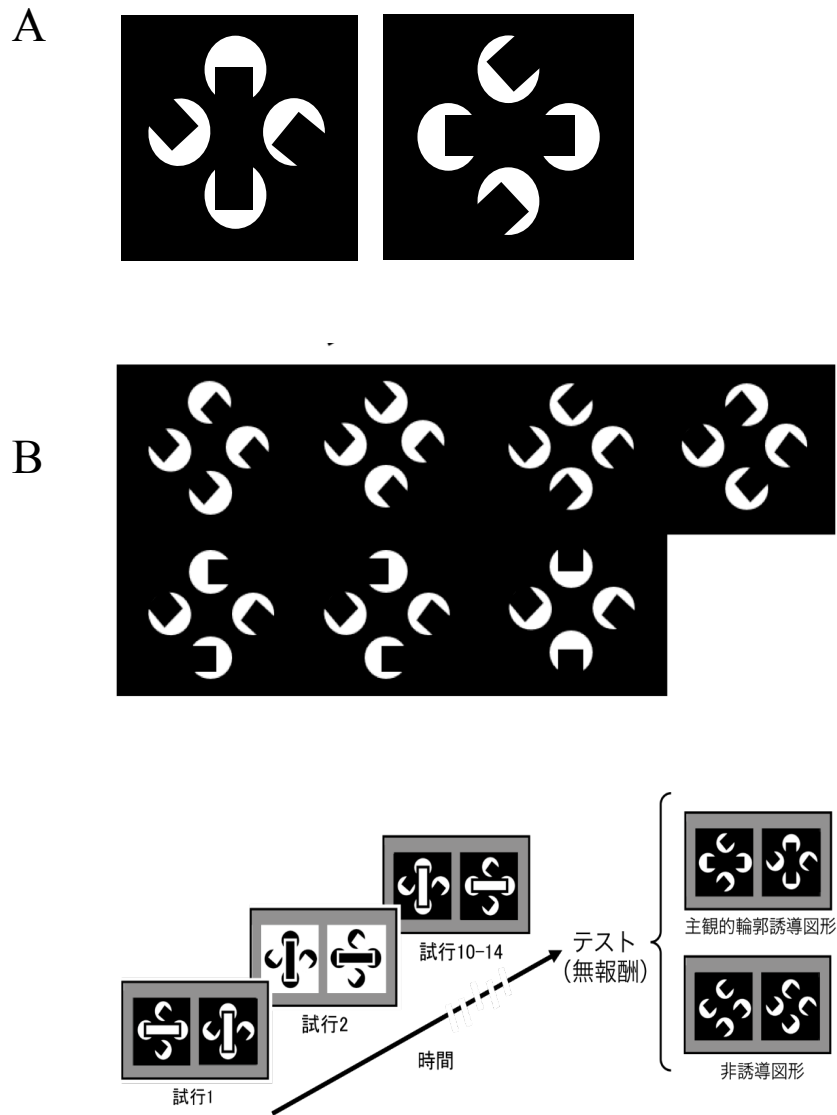


Fig. 12 カニツツァ型-主観的輪郭誘导图形

A : 90 度および 0 度のバー形ターゲット図形を誘導する主観的輪郭誘导图形 (SC)。B : ターゲット図形を誘導しない主観的輪郭図形 (non SC)。inducer を 45 度ずつ回転した 7 種類を用いた。C : テストセッションのフローチャート。10-14 試行行った後、テストとして主観的輪郭誘导图形もしくは非誘导图形を 1 度提示した。この際マウスの選択に関わらず報酬は与えなかった。

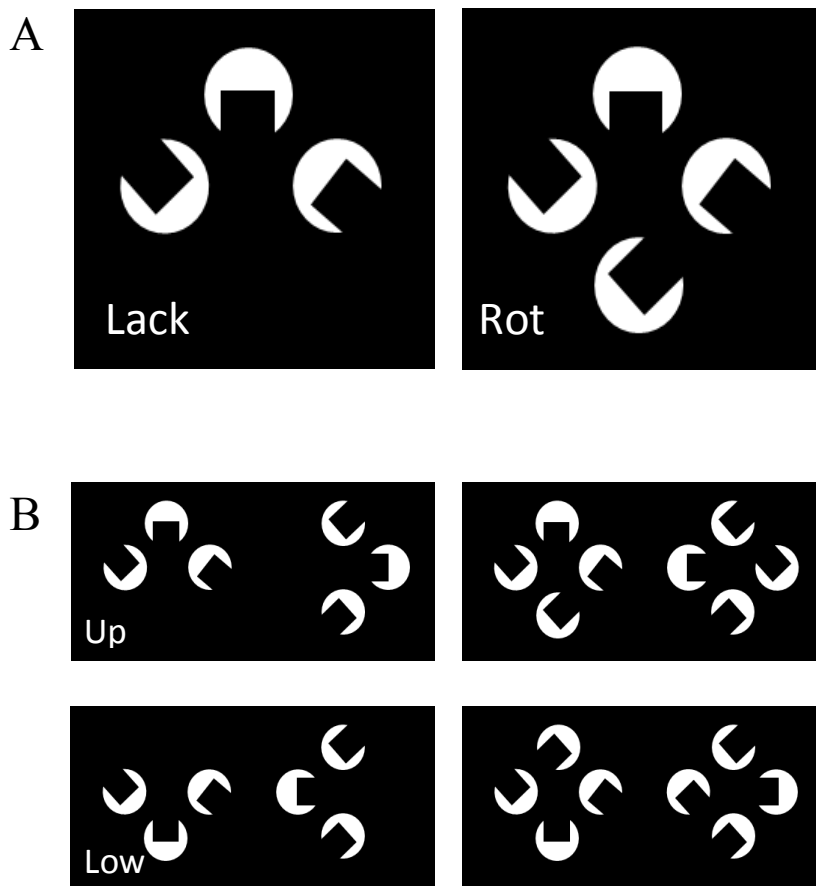


Fig. 13 inducer 欠如図形と角度変更図形

A : 使用した inducer 欠如図形 (Lack) と角度回転図形 (Rot)。

B : 上段は画面上方に inducer が両対揃っている刺激の組み合わせ (Up、左 Lack、右 Rot)。下段は画面下方に inducer が両終揃っている刺激の組み合わせ (Low)。

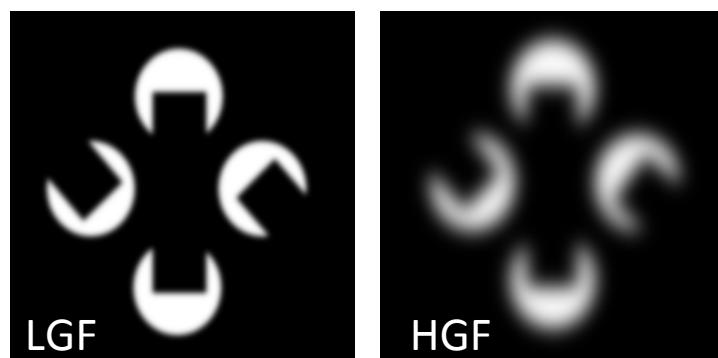


Fig. 14 エッジコントラスト低下図形

SC 図形にガウシアンフィルターを適用し、コントラストを低下させた。
左：低平滑化画像 (LGF) 右：高平滑化画像 (HGF)。

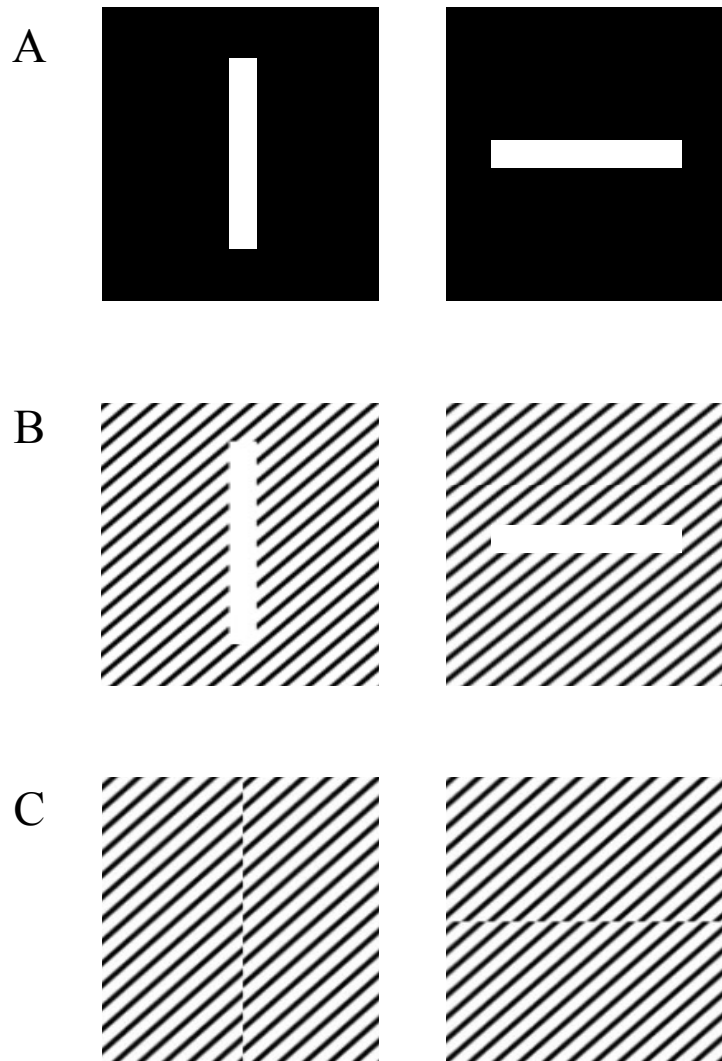


Fig. 15 Interruption 型および Phase-shift 型-主観的輪郭

誘導図形課題

A : 二画像弁別課題用基本図形。B : Interruption 型図形。C : Phase-shift 型図形。

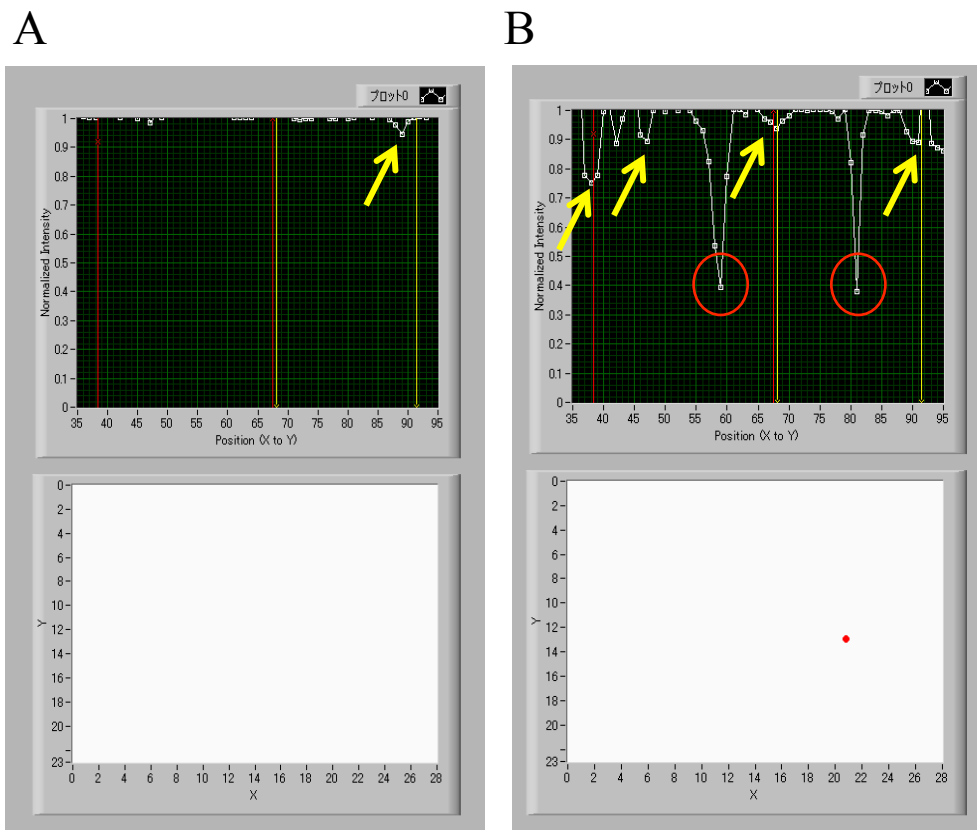


Fig.16 アプリケーション上で多赤外線センサーが座標を検出する様子

A：赤外線をマウスの口吻が遮断していない時。上段グラフの縦軸は各素子で検出された赤外線の強度を示し、横軸はフレーム上の X 軸から Y 軸までの座標を示した。赤丸は検出されたシグナルの相対位置。赤、黄色線はそれぞれ X 軸と Y 軸の境界線を示した。下段はスクリーン全体の座標。黄色矢印は観測されたノイズ。B：赤外線をマウスの口吻が遮断した時の様子。下段の赤点は検出強度が 65%を下回った座標であり、スクリーン上の接触位置を特定することが可能。

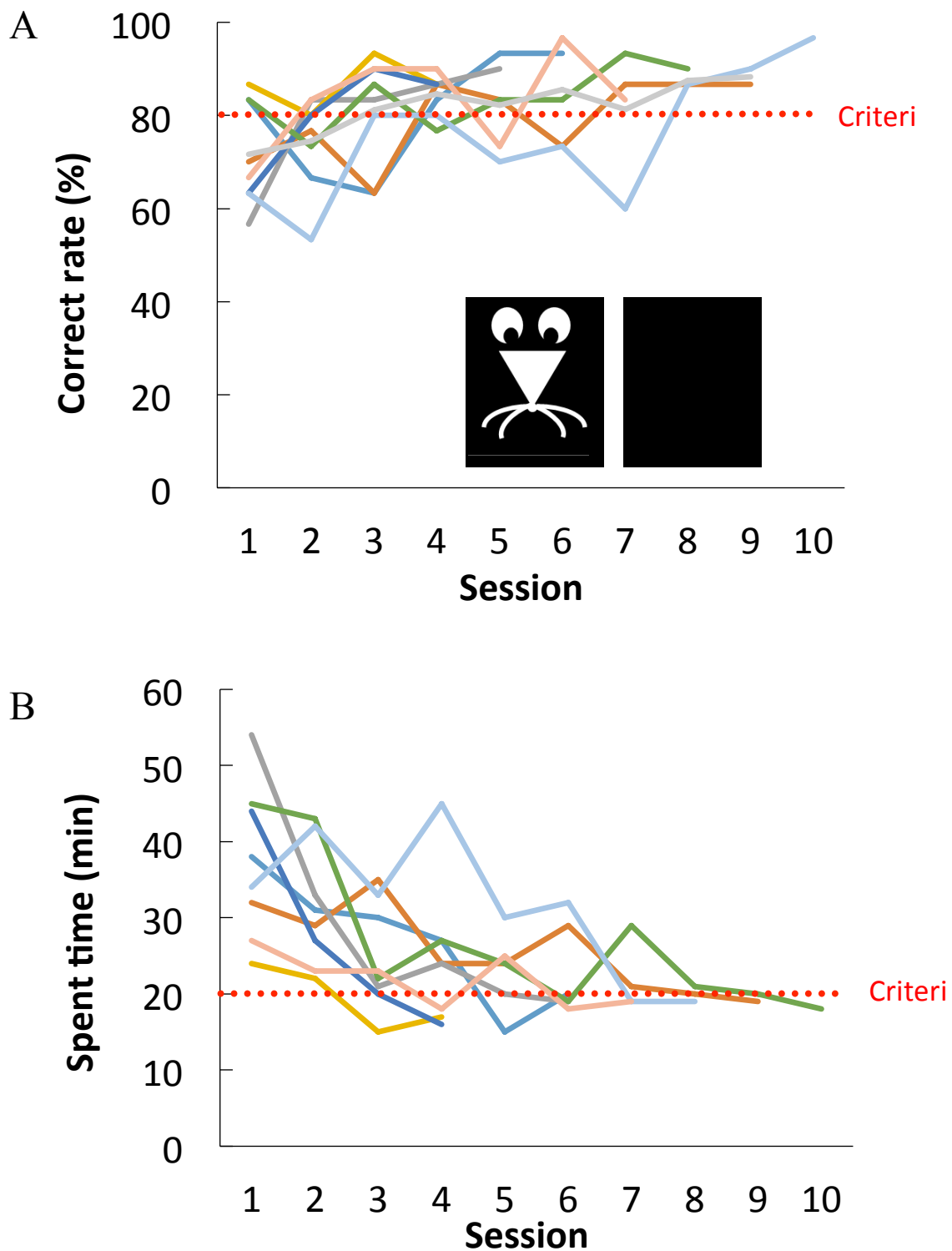
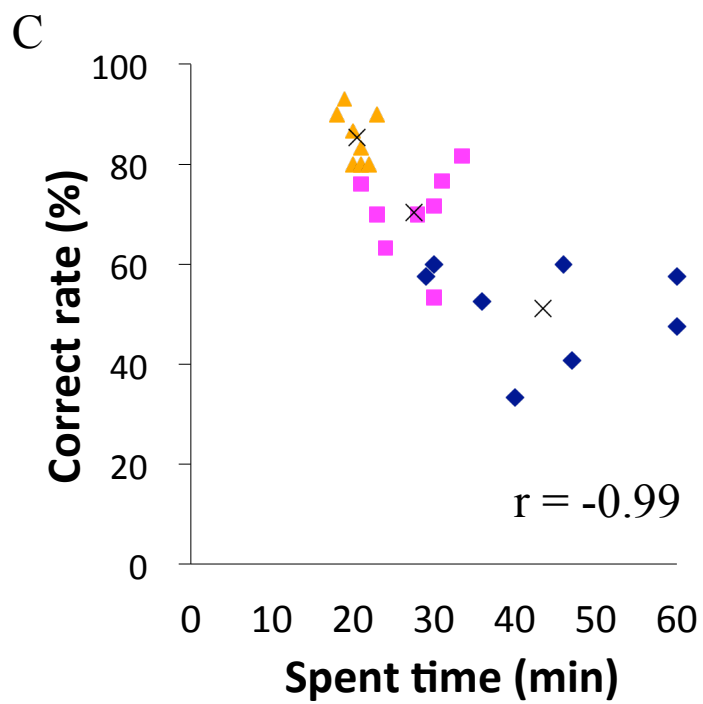
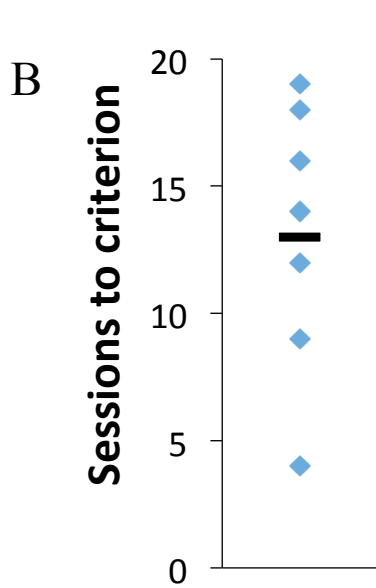
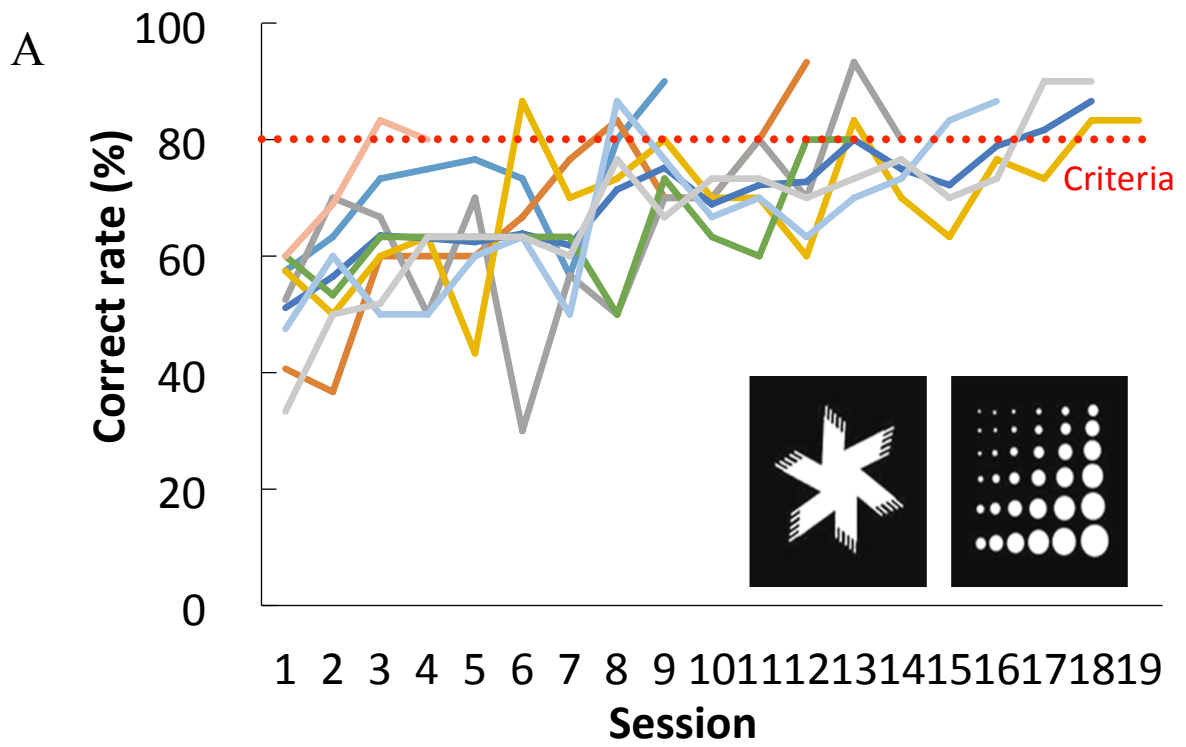


Fig.17 選択訓練におけるマウス個別 ($n = 8$)の学習曲線

A : ステージ4におけるマウス個別の学習曲線。X軸にセッション数を、Y軸に正解率を示す。Criteriaは学習基準のひとつ正解率80%。

B : ステージ4におけるマウス個別の学習曲線。X軸にセッション数を、Y軸に費やした時間を示す。Criteriaは学習基準のひとつである20分を示した。



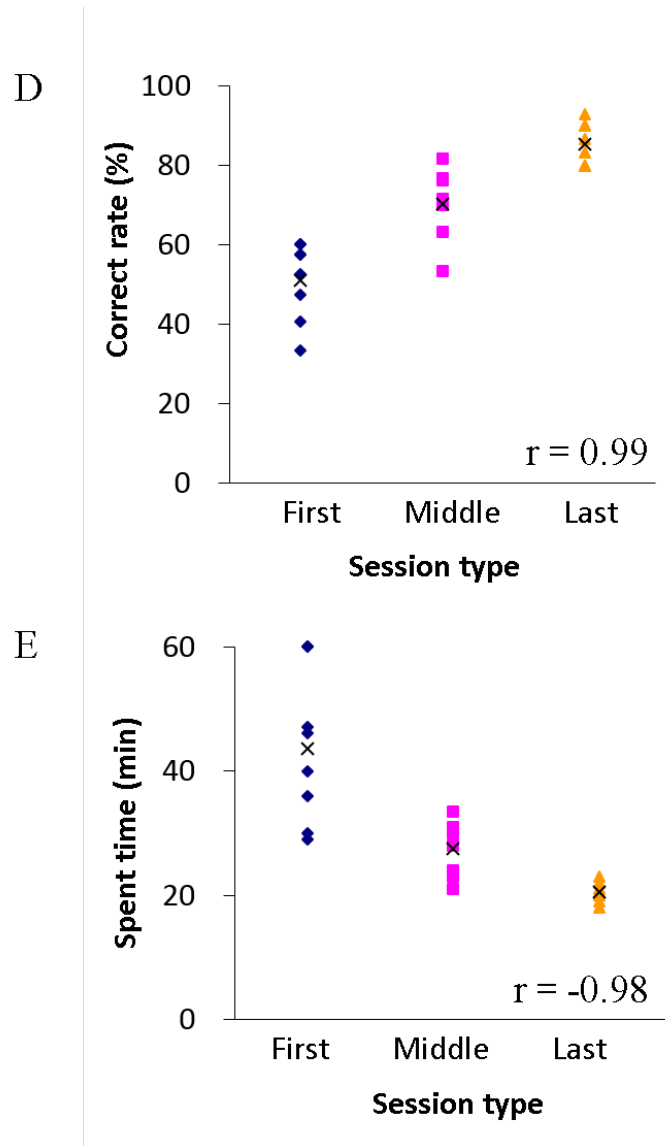
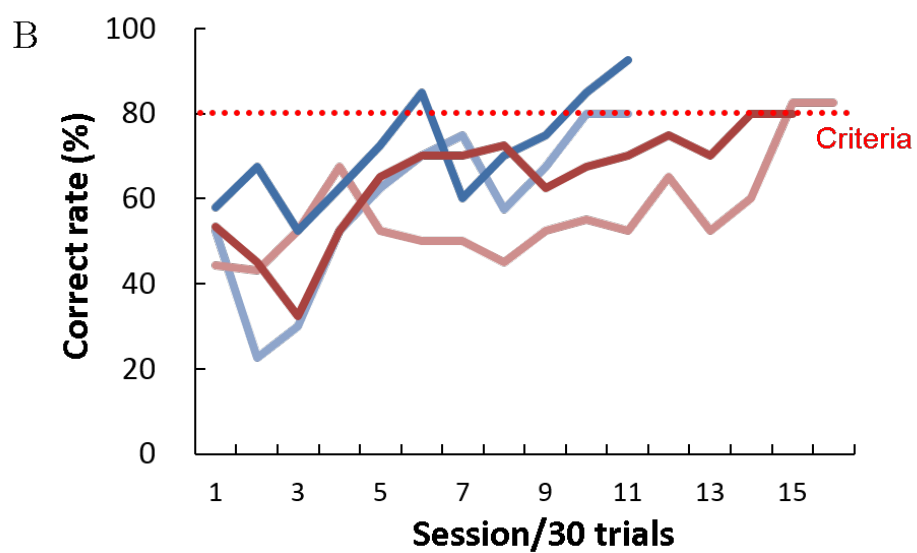
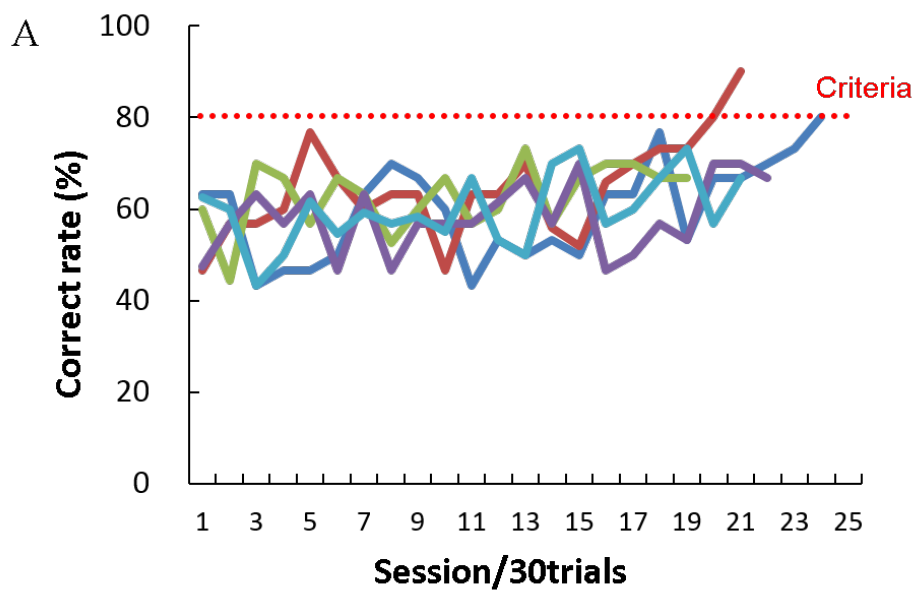


Fig.18 二画像弁別課題におけるマウス個別 ($n = 8$)の学習曲線

A : 二画像弁別課題におけるマウス個別の学習曲線。B : 学習成立基準に達するまでのセッション数。バーは平均の 13.1 セッション。C : 各マウスのそれぞれ最初のセッション (ダイヤ型)、中間のセッション (四角形)、最後のセッション (三角形)の時に要した時間と正解率の散布図。クロスはそれぞれのセッションの平均。正解率と費やした時間に強い負の相関が見られた ($r = -0.99$)。D : 各マウスのそれぞれのセッションと正解率の散布図。両者の間に強い正の相関が見られた ($r = 0.99$)。

E : 各マウスのそれぞれのセッションと要した時間の散布図。両者の間に負の相関が見られた ($r = -0.98$)。



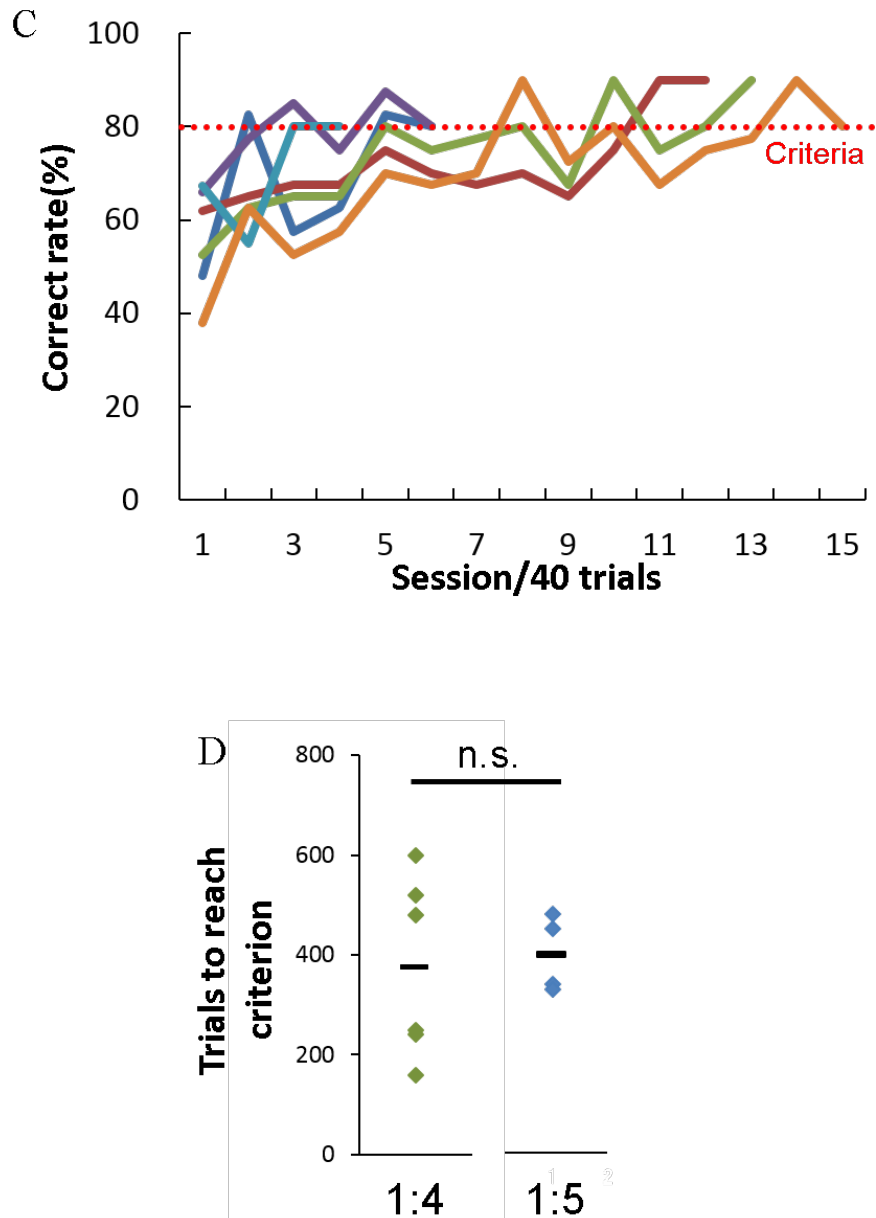
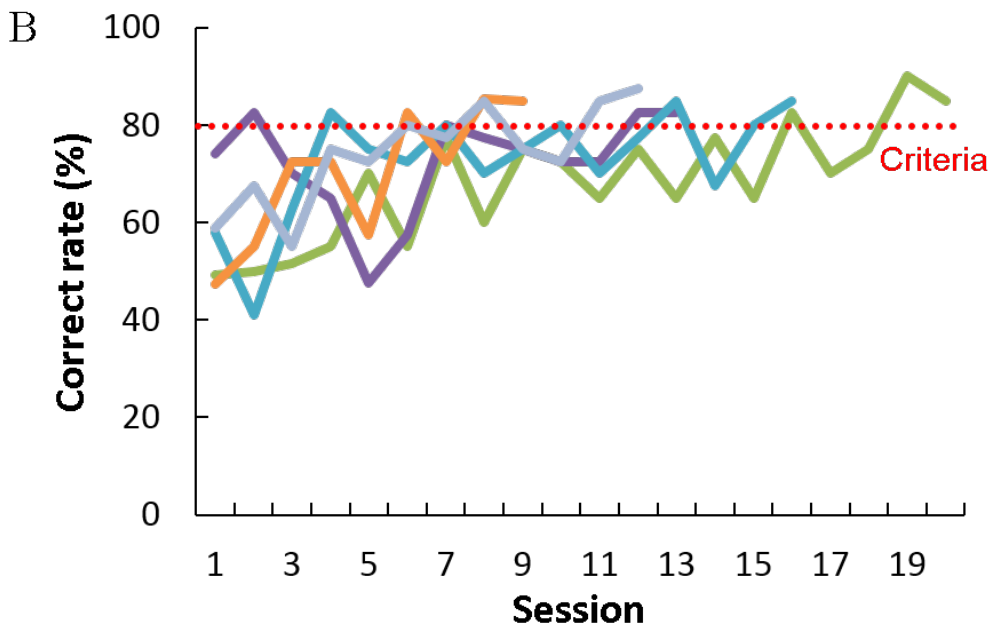
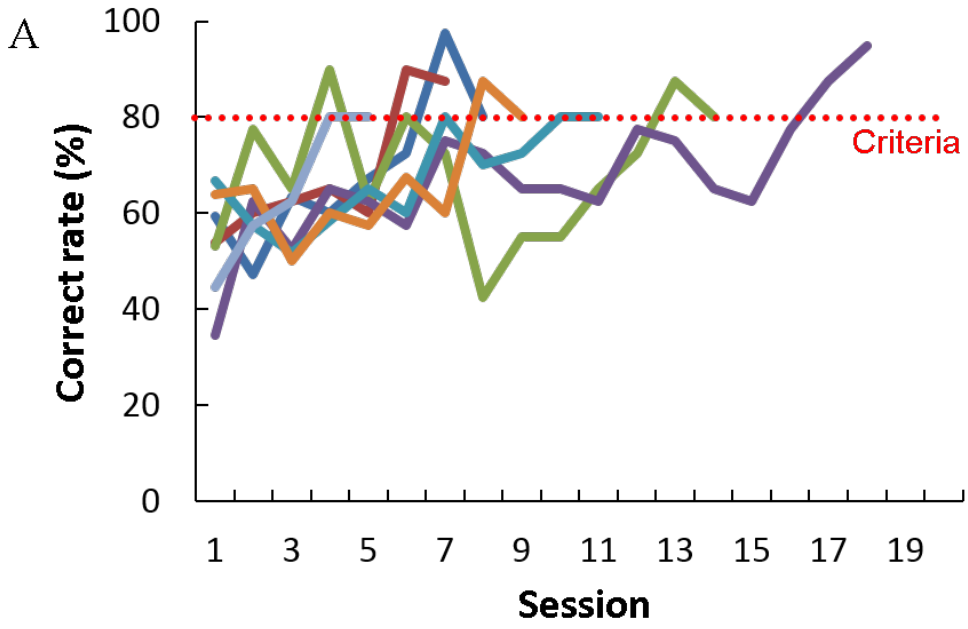


Fig. 19 カニツツア型-主観的誘導図形課題における基本図形の

検討

A : 1 : 7 のバーとその弁別学習曲線。赤破線は学習基準の正解率 80%。B : 1 : 5 のバーとその弁別学習曲線。C : 1 : 4 のバーとその弁別学習曲線。D : 1 : 4、1 : 5 のバーと学習成立基準に達したトライアル数とその平均。それぞれ 373.3 トライアル (n = 6) と 397.5 トライアル (n = 4) で差は見られなかった ($p = 0.41$)。



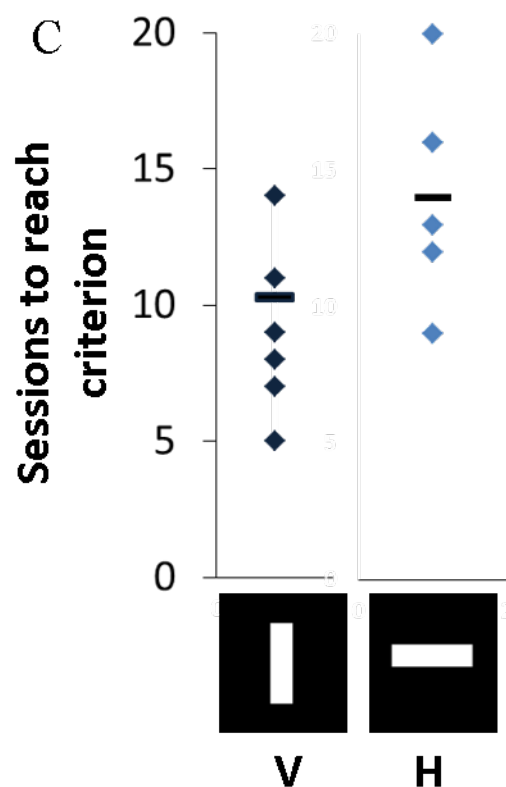


Fig. 20 1 : 4 のバーを基本図形とした場合の学習成績

A : 1 : 4 のバーを用いた時のマウス個別の弁別学習曲線。ターゲットが垂直図形 (V) の群。B : 1 : 4 のバーを用いた時のマウス個別の弁別学習曲線。ターゲットが水平図形 (H) の群。C : ターゲット別学習成立までのセッション数の比較。V 群平均 10.3 セッション (n = 7)、H 群平均 14 セッション (n = 5)。有意差は認められなかった ($p = 0.088$)。

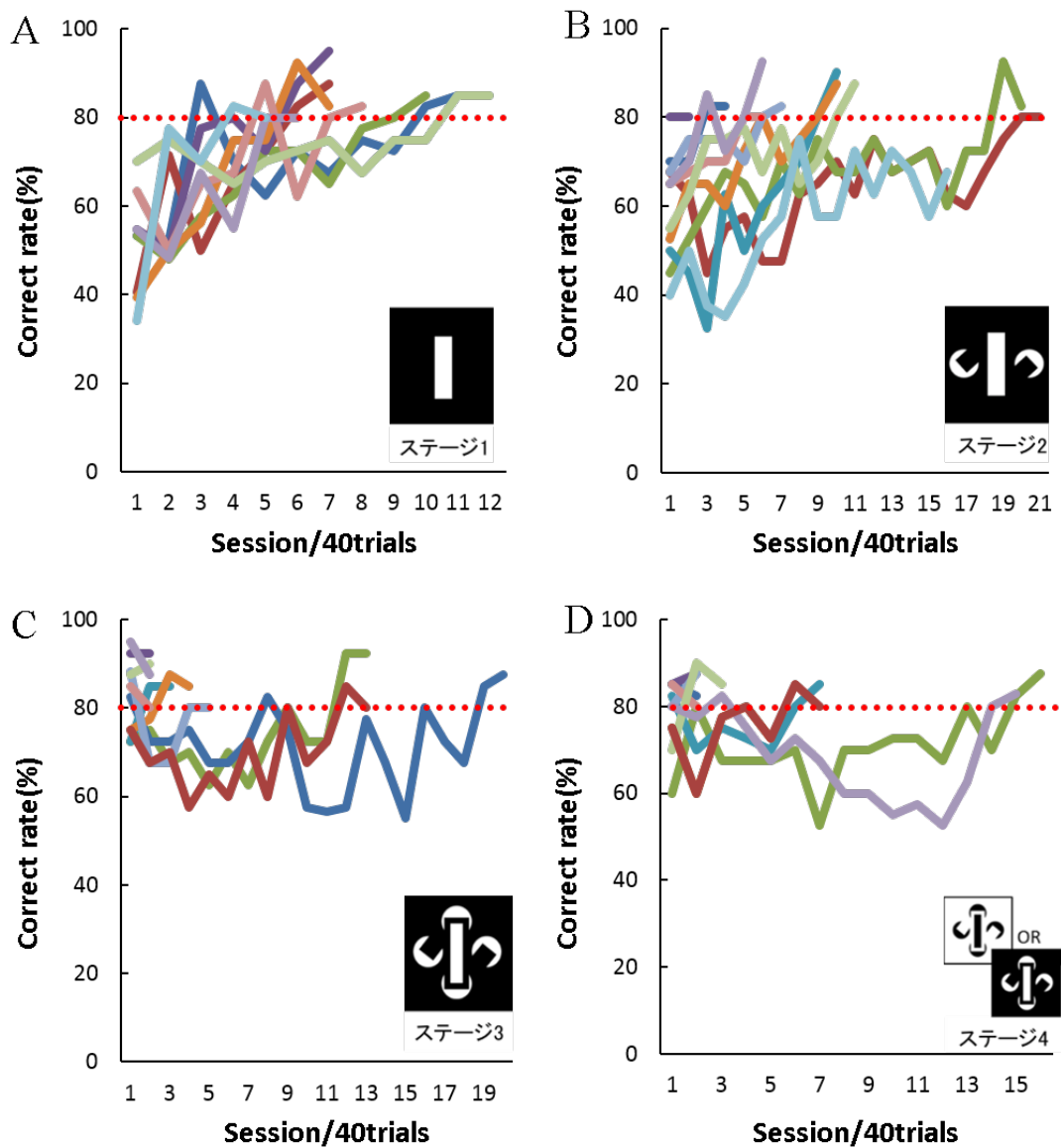


Fig. 21 ステージ 1 から 4 までの学習曲線 (n = 10)

A : ステージ 1 の弁別学習曲線。赤破線は学習基準の正解率 80%。B : ステージ 2 の弁別学習曲線。C : ステージ 3 の弁別学習曲線。D : ステージ 4 の弁別学習曲線。

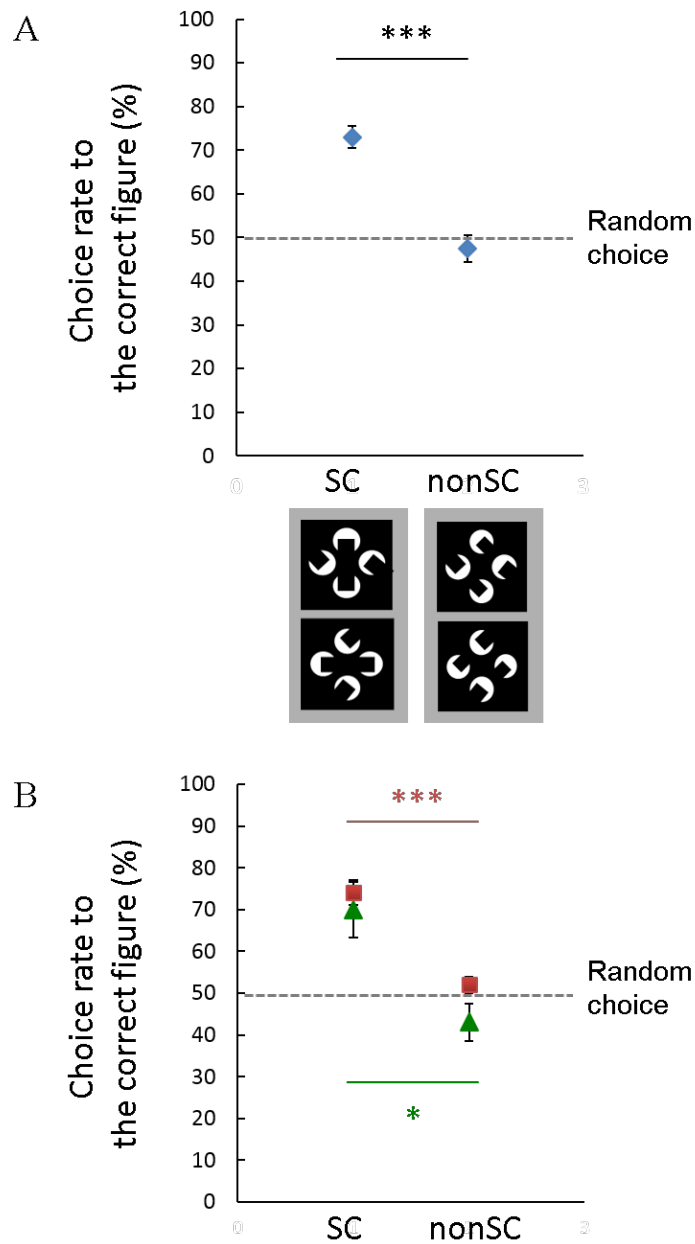
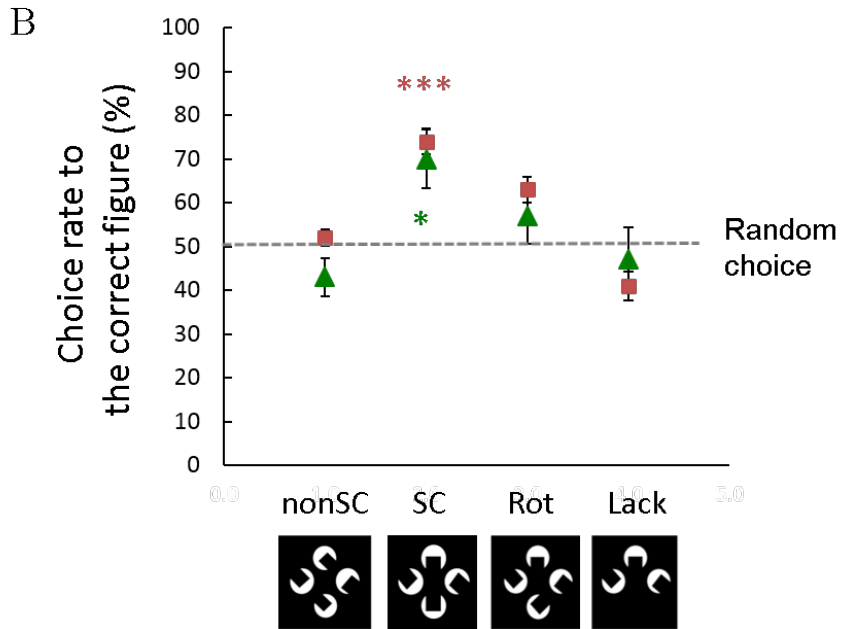
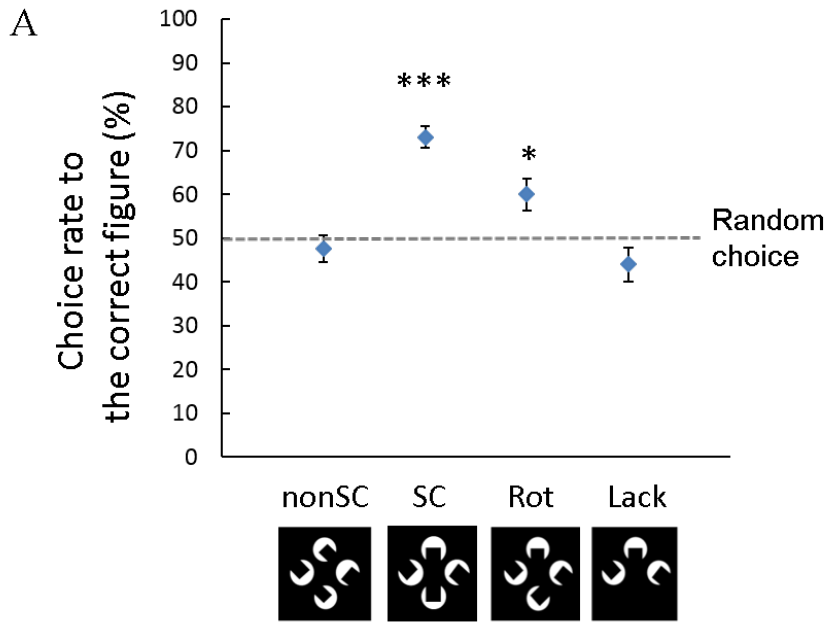


Fig. 22 主観的輪郭図形とコントロール図形の平均弁別率

A : 同じ個体群 (n = 10) によるバー形の主観的輪郭が誘導される図形 (SC) の弁別率 ($73.0 \pm 2.5\%$) とバー形の主観的輪郭が誘導されない図形 (nonSC) の弁別率 ($47.5 \pm 3.1\%$) の間に有意な差が認められた。B : ターゲットが垂直図形の V 群 (緑・三角形, n = 5) と水平図形の H 群 (赤・四角形, n = 5) の比較。nonSC と SC との間に有意な差が認められた。灰色破線はランダム選択の 50%。エラーバーは SEM。* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$



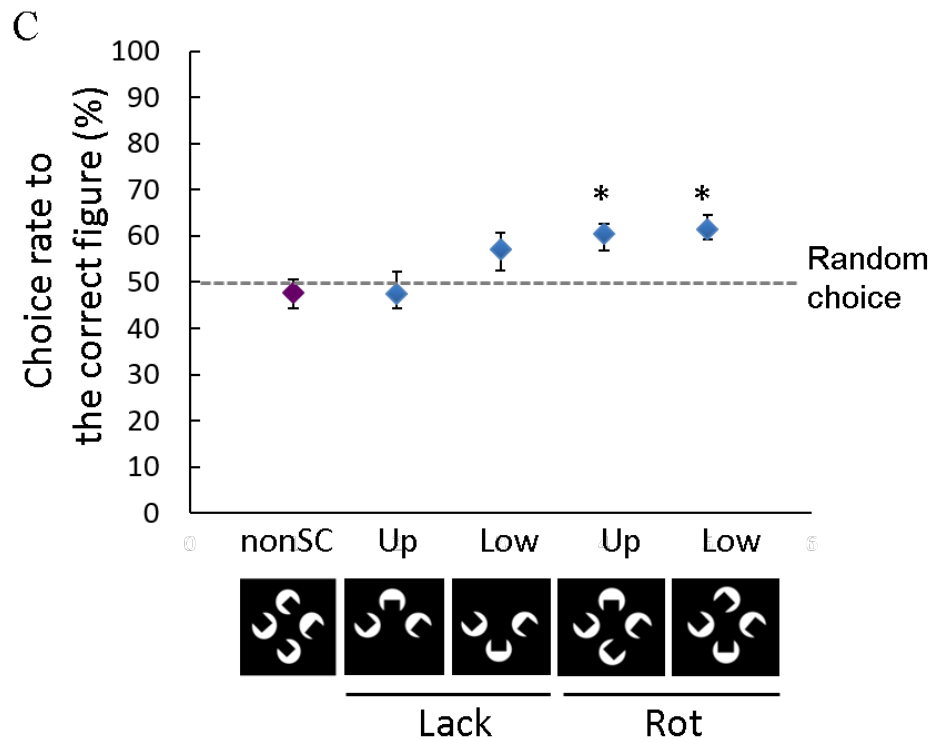


Fig. 23 inducer 欠如図形と角度変更図形のそれぞれの弁別率

A: 同じ個体群 (n = 10) による Rot (59.5 ± 3.5%)、Lack (44.0 ± 3.9%) と SC、nonSC の弁別率の比較。nonSC と Lack の弁別率間以外に有意な差が認められた。B: ターゲットが垂直図形の V 群 (緑・三角形, n=5) と水平図形の H 群 (赤・四角形, n = 5) の比較。nonSC との間には有意な差は認められなかった。C: nonSC、Lack、Rot それぞれ Up、Low の弁別率。nonSC と RotUp および Low に有意な差が認められた。灰色破線はランダム選択の 50%。エラーバーは SEM。* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$

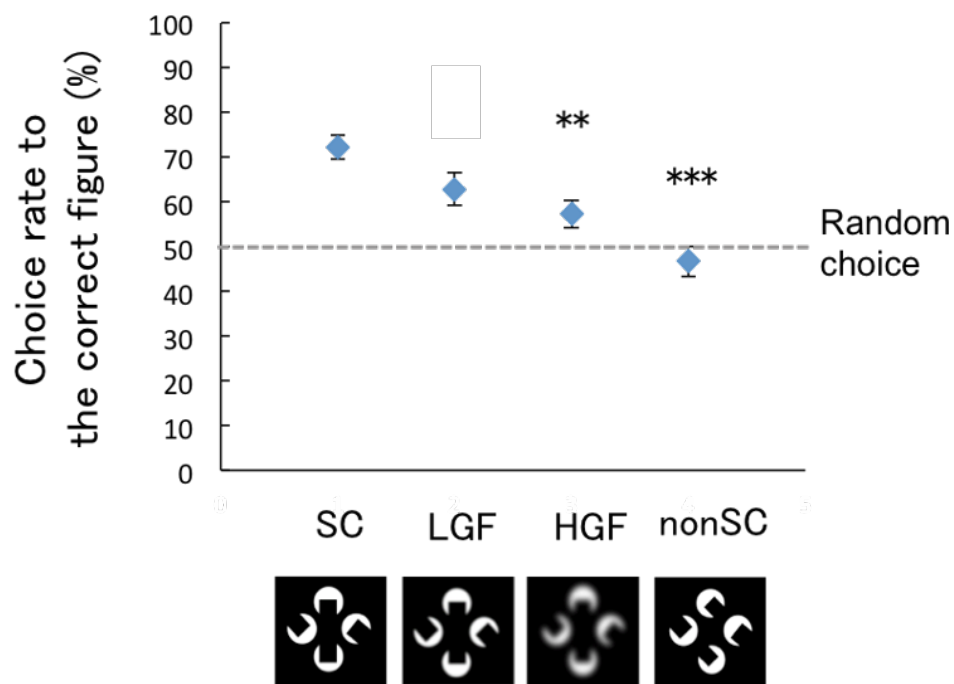


Fig. 24 エッジコントラスト低下図形の弁別率 (n = 9)

ガウシアンフィルターを適用し SC 画像に平滑化処理を行った。左から SC (72.2 ± 2.6%)、平滑化効果の低い LGF (62.8 ± 3.6%)、平滑化効果の高い HGF (57.2 ± 3.0%)、nonSC (46.7 ± 3.3%) の弁別率を示した。灰色破線はランダム選択の 50%。エラーバーは SEM。 ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

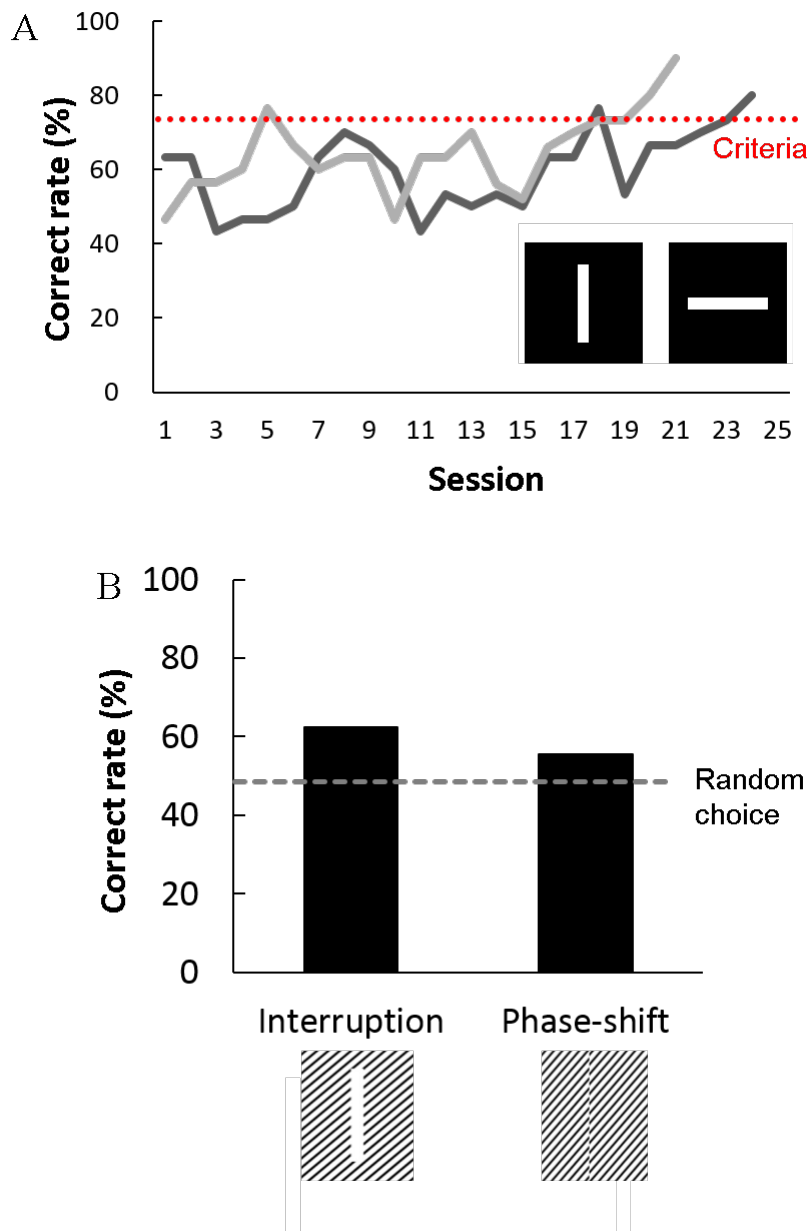


Fig.25 Interruption 型および Phase-shift 型-主観的輪郭誘導図

形課題 (n = 2)

A : 1 : 7 のバー形を用いた弁別課題のマウス個別の学習曲線。学習成立まで平均 23 セッションを要し、学習の長期化が見られた。B : テストセッションにおける Interruption 型と Phase-shift 型の選択率。それぞれ 62.5%、55.6%。灰色破線はランダム選択の 50%。n = 2 であるため SEM は算出していない。

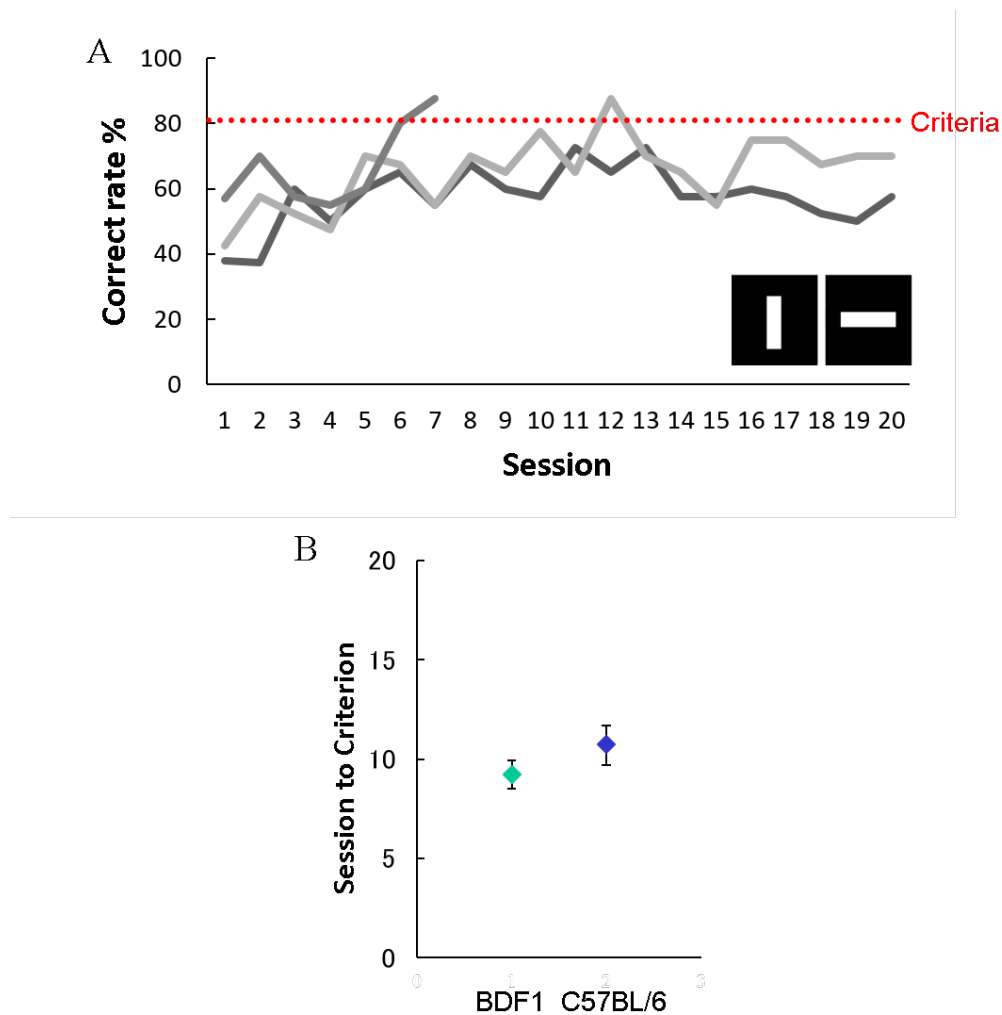


Fig.26 1:4 バー形弁別の学習曲線の系統比較

A : DBA/2 の結果。3 個体中 2 個体が 20 セッション経過しても学習が成立しなかった。B: BDF₁ と C57BL/6 の学習基準に達するまでのセッション数。BDF₁ (n = 22) は平均 9.3 ± 0.6 セッション、C57BL/6 (n = 13) は平均 10.7 ± 1.0 セッションで差は見られなかった ((F(12,21) = 1.65, p = 0.21)。

Subject	Kanizsa	Interruption	Phase-shift	Reference
Monkey	○	○	○	Zimmermann (1962), Peterhans and von der Heydt (1991)
Cat	○	○	○	Bravo <i>et al.</i> (1988)
Bird	○	○	○	Zanforlin (1981), Nieder and Wagner (1999), Niu <i>et al.</i> (2006) Wyzisk and Neumeyer (2007), Sovrano and Bisazza (2009), Fuss <i>et al.</i> (2014)
Fish	○	○	○	Fuss <i>et al.</i> (2014)
Bee	○	○	○	van Hateren <i>et al.</i> (1990), Horridge <i>et al.</i> (1992)
Mouse	-	-	-	-

Table 1 主観的輪郭を知覚する動物とそのタイプ

行動実験によって主観的輪郭が知覚されている動物種と主観的輪郭のタイプを示した。

Strain	Visual ability	Visual acuity threshold (cycles/degree)	Day(s) to reach criterion in pattern discrimination task	Morris water maze task	Radial arm maze task
C57BL/6J	Normal	0.375	8	Good	Good
DBA/2J	Normal	0.375	5	Poor	Good
BDF1	-	-	-	Good	Good
Reference	Wong and Brown (2006)			Owen <i>et al.</i> (1997) Crawley <i>et al.</i> (1997)	Roulet and Lassalle (1995) Crawley <i>et al.</i> (1997)

Table 2 マウス系統による視覚に関連した能力の知見

複数の系統の視覚能力を比較している論文をまとめた。Morris water task および Radial arm maze は Crawley *et al.* (1997)にて用いられた表現を使用した。

ピン	信号名	説明
1, 20, 4, 23, 7, 25, 9, 27	NO.<7..0>	ノーマリオープンリレーのノーマリオープン端子。
3, 22, 6	NC.<2..0>	ノーマリクローズリレーのノーマリクローズ端子。C 接点式リレーのデフォルトの状態です。
2, 21, 5, 24, 8, 26, 10, 28	COM.<7..0>	コモンリレーのコモン端子。
12, 30, 14, 32, 16, 34, 18, 36	P0.<7..0>+	絶縁入力ポート、正端子—信号入力に使用される端子。この端子には、入力信号の正と負のどちらの端でも接続できます。
13, 31, 15, 33, 17, 35, 19, 37	P0.<7..0>-	絶縁入力ポート、負端子—信号入力に使用される端子。この端子には、入力信号の正と負のどちらの端でも接続できます。

Table 3 NI-6520 のピンとその特性

NI-6520 デバイスにあらかじめ設定されているピンそれぞれの出入力信号の内容を示した。

ピン	ポート	ライン	装置
1,2	1	0	電磁バルブ
4,5	1	2	給餌口ランプ
7,8	1	7	給餌器
23,24	1	3	ハウスライト
27,28	1	4	スピーカー
32,33	0	3	赤外線センサー

Table 4 I/O ボードのピン割り当ての内容

NI-6520 に接続した装置の内容とピン番号、ポート、ラインの番号をまとめた。

Stage	Max Time (min)	Trials	ITI (sec)	Criterion
1. Pav	60	30	15	Completion
2. MT	60	30	15	Completion
3. MI	60	30	15	Completion
4. Pun	60	30	15	23/30 x2 ses., <20mins
Discrimination	60	40	15	32/40 x2 ses.

Table 5 基本行動課題のスケジュール

基本課題ステージ1-4と二画像弁別課題を示した。左よりステージ名、最大時間、1セッションあたりのトライアル数、各トライアルの間隔時間 (ITI)、そのステージを終えるための条件である。

Stage	Max Time (min)	Trials	ITI (sec)	Criterion
1	60	40	15	80% x2 ses.
2	60	40	15	80% x2 ses.
3	60	40	15	80% x2 ses.
4	60	40	15	80% x2 ses.
Test session	60	11 - 15	15	Completion

Table 6 主観的輪郭課題のスケジュール

ステージ1-4とテストセッションを示した。

謝 辞

本論文は、奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 神経機能科学研究室在籍中に行った研究をまとめたものである。

本研究を遂行するにあたり、貴重な研究環境を賜りました、塩坂 貞夫 教授に厚く感謝申し上げます。また直接のご指導を賜りました、駒井 章治 准教授に心より深謝いたします。

本論文をまとめるにあたり、副査として数多くの貴重なご意見、ご討議を賜りました、別所 康全 教授、稲垣 直之 教授、京都大学 高橋 淑子 教授、九州大学 中島 欽一 教授、愛知県立大学 作村 諭一 准教授、九州工業大学 柴田 智広 教授、株式会社国際電気通信基礎技術研究所佐藤匠徳特別研究所 佐藤 匠徳 特別研究所長に深謝申し上げます。

タッチスクリーンシステム作製にあたり、University of Cambridge, Professor of Behavioural Neuroscience, Dr. Timothy J. Bussey 氏と Dr. Lisa M. Saksida 両氏には短期滞在をご快諾頂き、また同研究室 Dr. Chris Heath 氏にシステムと実験手技についてご教授頂きました。多くの知見を得て帰国できたことを深く感謝申し上げます。

学生生活後半にお世話になり、研究に携わる様々なキャリア像を教えてくださいました、丸山 敦子 博士、本田 麻喜 秘書、高橋 利香 技術員に感謝の意を表します。

最後に、古都奈良での学生生活に惜しみない支援と激励をくださいました両親、夫に心より感謝いたします。ありがとうございました。

参考文献

- Barlasov-Ioffe, A. and Hochstein, S. (2008). Perceiving illusory contours: figure detection and shape discrimination. *J. Vis.* 8, 1–15.
- Bitanirwe, B.K., Dubroqua, S., Singer, P., Feldon, J. and Yee, B.K. (2011). Sensorimotor gating and vigilance-dependent choice accuracy: a within-subject correlative analysis in wild-type C57BL/6 mice. *Behav. Brain Res.* 217, 178–187.
- Braitenberg, V. and Schüz, A. (1998). *Cortex: Statistics and Geometry of Neuronal Connectivity*. 2nd ed. (New York, NY: Springer), pp. 169.
- Bravo, M., Blake, R. and Morrison, S. (1988). Cats see subjective contours. *Vision Res.* 28, 861–865.
- Bussey, T.J., Saksida, L.M. and Rothblat, L.A. (2001). Discrimination of computer-graphic stimuli by mice: A method for the behavioral characterization of transgenic and gene-knockout models. *Behav. Neurosci.* 115, 957–960.
- Bussey, T.J., Holmes, A., Lyon, L., Mar, A.C., McAllister, K.A., Nithianantharajah, J., Oomen, C.A. and Saksida, L.M. (2012). New translational assays for preclinical modelling of cognition in schizophrenia: the touchscreen testing method for mice and rats. *Neuropharmacology* 62, 1191–1203.
- Chow, B.Y., Han, X., Dobry, A.S., Qian, X., Chuong, A.S., Li, M., Henninger, M.A., Belfort, G.M., Lin, Y., Monahan, P.E. and Boyden, E.S. (2010). High-performance genetically targetable optical neural silencing by light-driven proton pumps. *Nature* 463, 98–102.
- Crawley, J.N., Belknap, J.K., Collins, A., Crabbe, J.C., Frankel, W., Henderson, N., Hitzemann, R.J., Maxson, S.C., Miner, L.L., Silva, A.J., Wehner, J.M., Wynshaw-Boris, A. and Paylor, R. (1997). Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacology* 132, 107–124.
- Clelland, C.D., Choi, M., Romberg, C., Clemenson, G.D. Jr., Fragniere, A., Tyers, P., Jessberger, S., Saksida, L.M., Barker, R.A., Gage, F.H. and Bussey, T.J. (2009). A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science* 325, 210–213.

- De Weerd, P., Desimone, R. and Ungerleider, L.G. (1996). Cue-dependent deficits in grating orientation discrimination after V4 lesions in macaques. *Vis. Neurosci.* *13*, 529–538.
- Desimone, R. and Schein, S.J. (1987). Visual properties of neurons in area V4 of the macaque: sensitivity to stimulus form. *J. Neurophysiol.* *57*, 835–868.
- Dima, D., Roiser, J.P., Dietrich, D.E., Bonnemann, C., Lanfermann, H., Emrich, H.M. and Dillo, W. (2009). Understanding why patients with schizophrenia do not perceive the hollow-mask illusion using dynamic causal modelling. *Neuroimage* *46*, 1180–1186.
- Fraser, J. (1908). A new visual illusion of direction. *Br. J. Psychol.* *2*, 307–337.
- Frisén, L. and Glansholm, A. (1975). Optical and neural resolution in peripheral vision. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* *14*, 528–536.
- Fuss, T., Bleckmann, H. and Schluessel, V. (2014). The brain creates illusions not just for us: sharks (*Chiloscyllium griseum*) can "see the magic" as well. *Front. Neural. Circuits* *8*: 24.
- Göbel, W., Kampa, B.M. and Helmchen, F. (2007). Imaging cellular network dynamics in three dimensions using fast 3D laser scanning. *Nat. Methods* *4*, 73–79.
- Glickfeld, L.L., Histed, M.H. and Maunsell, J.H. (2013). Mouse primary visual cortex is used to detect both orientation and contrast changes. *J. Neurosci.* *33*, 19416–19422.
- Hämäläinen, M., Hari, R., Ilmoniemi, R.J., Knuutila, J. and Lounasmaa O.V. (1993). Magnetoencephalography—theory, instrumentation, and applications to noninvasive studies of the working human brain. *Rev. Mod. Phys.* *65*, 413–497.
- Hashikawa, T., Nakatomi, R. and Iriki, A. (2015). Current models of the marmoset brain. *Neurosci. Res.* *93*, 116–127.
- Hodos, W. (1961). Progressive ratio as a measure of reward strength. *Science* *134*, 943–944.
- Horridge, G.A., Zhang, S-W. and O'Carroll, D. (1992). Insect perception of illusory contours. *Phil. Trans. R. Soc. B.* *337*, 59–64.
- Huberman, A.D. and Niell, C.M. (2011). What can mice tell us about how vision works? *Trends. Neurosci.* *34*, 464–473.

- Iseki, S., Kondo, H., Kuo, C.H. and Miki, N. (1989). A longitudinal study on the expression of the opsin gene in the degenerating retina of C3H/He mice. *Arch. Histol. Cytol.* 52, 197–200.
- Izquierdo, A., Wiedholz, L.M., Millstein, R.A., Yang, R.J., Bussey, T.J., Saksida, L.M. and Holmes, A. (2006). Genetic and dopaminergic modulation of reversal learning in a touchscreen–based operant procedure for mice. *Behav. Brain Res.* 171, 181–188.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M., Siegelbaum, S.A. and Hudspeth, A.J. (2012). *Principles of Neural Science*. 5th ed. (New York, NY: McGraw–Hill Education), pp. 621–637.
- Kanizsa, G. (1976). Subjective contours. *Sci. Am.* 234, 48–52.
- Kanizsa, G., Renzi, P., Conte, S., Compostela, C. and Guerani, L. (1993). Amodal completion in mouse vision. *Perception* 22, 713–721.
- Keane, B.P., Joseph, J. and Silverstein, S.M. (2014). Late, not early, stages of Kanizsa shape perception are compromised in schizophrenia. *Neuropsychologia* 56, 302–311.
- Kennedy, J.M. (1976a). Sun figure: An illusory diffuse contour resulting from an arrangement of dots. *Perception* 5, 479–481.
- Kim, S-G. and Ogawa, S. (2012). Biophysical and physiological origins of blood oxygenation level-dependent fMRI signals. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 1188–1206.
- Komai, S., Denk, W., Osten, P., Brecht, M. and Margrie, T.W. (2006). Two–photon targeted patching (TPTP) *in vivo*. *Nat. Protoc.* 1, 647–652.
- Lee, S.H., Kwan, A.C., Zhang, S., Phoumthippavong, V., Flannery, J.G., Masmanidis, S.C., Taniguchi, H., Huang, Z.J., Zhang, F., Boyden, E.S., Deisseroth, K. and Dan, Y. (2012). Activation of specific interneurons improves V1 feature selectivity and visual perception. *Nature* 488, 379–383.
- Lee, T. S. and Nguyen, M. (2001). Dynamics of subjective contour formation in the early visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 1907–1911.
- Levitin, D.J. (2002). *Foundations of Cognitive Psychology: Core Readings*. (Cambridge, MA: MIT Press) pp. 570.

- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G. and Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 793–807.
- Marshel, J.H., Garrett, M.E., Nauhaus, I. and Callaway, E.M. (2011). Functional specialization of seven mouse visual cortical areas. *Neuron* 72, 1040–1054.
- Maruoka, H., Kubota, K., Kurokawa, R., Tsuruno, S. and Hosoya, T. (2011). Periodic organization of a major subtype of pyramidal neurons in neocortical layer V. *J. Neurosci.* 31, 18522–18542.
- Mendola, J.D., Dale, A.M., Fischl, B., Liu, A.K. and Tootell, R.B. (1999). The representation of illusory and real contours in human cortical visual areas revealed by functional magnetic resonance imaging. *J. Neurosci.* 19, 8560–8572.
- Minguzzi, G.F. (1987). Anomalous figures and the tendency to continuation. *The Perception of Illusory Contours*. Petry, S., Meyer, G.E., eds. 1st ed. (New York, NY: Springer), pp. 71–75.
- Müller-Lyer, F.C. (1889). Optische urteilstäuschungen. *Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiologische Abteilung*, 2(Supplement), 263–270.
- Naarendorp, F., Esdaille, T.M., Banden, S.M., Andrews-Labenski, J., Gross, O.P. and Pugh, E.N. Jr. (2010). Dark light, rod saturation, and the absolute and incremental sensitivity of mouse cone vision. *J. Neurosci.* 30, 12495–12507.
- Nagel, G., Szellas, T., Huhn, W., Kateriya, S., Adeishvili, N., Berthold, P., Ollig, D. Hegemann, P. and Bamberg, E. (2003). Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 13940–13945.
- Nieder, A. and Wagner, H. (1999). Perception and neuronal coding of subjective contours in the owl. *Nat. Neurosci.* 2, 660–663.
- Niell, C.M. and Stryker, M.P. (2008). Highly selective receptive fields in mouse visual cortex. *J. Neurosci.* 28, 7520–7536.
- Niell, C.M. (2011). Exploring the next frontier of mouse vision. *Neuron* 72, 889–892.
- Niu, Y-Q., Xiao, Q., Liu, R-F., Wu, L-Q. and Wang, S-R. (2006). Response characteristics of the pigeon's pretectal neurons to illusory contours and motion. *J. Phys.* 577, 805–813.

- Notredame, C.E., Pins, D., Deneve, S. and Jardri, R. (2014). What visual illusions teach us about schizophrenia. *Front. Integr. Neurosci.* 8: 63.
- O'Connor, D.H., Huber, D. and Svoboda, K. (2009). Reverse engineering the mouse brain. *Nature* 461, 923–929.
- Owen, E.H., Logue, S.F., Rasmussen, D.L. and Wehner, J.M. (1997). Assessment of learning by the Morris water task and fear conditioning in inbred mouse strains and F₁ hybrids: implications of genetic background for single gene mutations and quantitative trait loci analyses. *Neuroscience* 80, 1087–1099.
- Pan, Y., Chen, M., Yin, J., An, X., Zhang, X., Lu, Y., Gong, H., Li, W. and Wang, W. (2012). Equivalent representation of real and illusory contours in macaque V4. *J. Neurosci.* 32, 6760–6770.
- Peterhans, E. and von der Heydt, R. (1991). Subjective contours--bridging the gap between psychophysics and physiology. *Trends Neurosci.* 14, 112–119.
- Prusky, G.T., West, P.W. and Douglas, R.M. (2000). Behavioral assessment of visual acuity in mice and rats. *Vis. Res.* 40, 2201–2209.
- Rescorla, R.A. (1990). Instrumental responses become associated with reinforcers that differ in one feature. *Anim. Learn. Behav.* 18, 206–211.
- Ringach, D.L. (2002). Spatial structure and symmetry of simple-cell receptive fields in macaque primary visual cortex. *J. Neurophysiol.* 88, 455–463.
- Rogers, D.C., Jones, D.N.C., Nelson, P.R., Jones, C.M., Quilter, C.A., Robinson, T.L. and Hagan, J.J. (1999). Use of SHIRPA and discriminant analysis to characterise marked differences in the behavioural phenotype of six inbred mouse strains. *Behav. Brain Res.* 105, 207–217.
- Roulet, P. and Lassalle, J.M. (1995). Radial maze learning using exclusively distant visual cues reveals learners and nonlearners among inbred mouse strains. *Physiol. Behav.* 58, 1189–1195.
- Russ, J.C. (2007). *The image processing handbook*. 5th ed. (Boca Raton, FL: CRC Press) pp. 94.
- Sasaki, E., Suemizu, H., Shimada, A., Hanazawa, K., Oiwa, R., Kamioka, M., Tomioka, I., Sotomaru, Y., Hirakawa, R., Eto, T., Shiozawa, S., Maeda, T., Ito, M., Ito, R., Kito, C., Yagihashi, C., Kawai, K., Miyoshi, H., Tanioka, Y., Tamaoki, N., Habu, S., Okano, H. and Nomura, T. (2009). Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature* 459, 523–527.

Sato, K., Kuroki, Y., Kumita, W., Fujiyama, A., Toyoda, A., Kawai, J., Iriki, A., Sasaki, E., Okano, H. and Sakakibara, Y. (2015). Resequencing of the common marmoset genome improves genome assemblies and gene-coding sequence analysis. *Sci. Rep.* 5: 16894.

Skinner, B.F. (1953). *Science and Human Behavior*. (Oxford, England: Macmillan), pp. 92–93.

Sovrano, V.A. and Bisazza, A. (2009). Perception of subjective contours in fish. *Perception* 38, 579–590.

Stosiek, C., Garaschuk, O., Holthoff, K. and Konnerth, A. (2003). In vivo two-photon calcium imaging of neuronal networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 7319–7324.

Tohmi, M., Kitaura, H., Komagata, S., Kudoh, M. and Shibuki, K. (2006). Enduring critical period plasticity visualized by transcranial flavoprotein imaging in mouse primary visual cortex. *J. Neurosci.* 26, 11775–11785.

van Hateren, J.H., Srinivasan, M.V. and Wait, P.B. (1990). Pattern recognition in bees: orientation discrimination. *J. Comp. Physiol. A* 167, 649–654.

Vermaercke, B. and Op de Beeck, H.P. (2012). A multivariate approach reveals the behavioral templates underlying visual discrimination in rats. *Curr. Biol.* 22, 50–55.

von der Heydt, R., Peterhans, E. and Baumgartner, G. (1984). Illusory contours and cortical neuron responses. *Science* 224, 1260–1262.

Wang, Q. and Burkhalter, A. (2007). Area map of mouse visual cortex. *J. Comp. Neurol.* 502, 339–357.

Watanabe, T. and Oyama, T. (1988). Are illusory contours a cause or a consequence of apparent differences in brightness and depth in the Kanizsa square? *Perception* 17, 513–521.

Weckowicz, T.E. and Witney, G. (1960). The Müller-Lyer illusion in schizophrenic patients. *J. Ment. Sci.* 106, 1002–1007.

Whitney, D. (2009). Neuroscience: Toward Unbinding the Binding Problem. *Curr. Biol.* 19, 251–253.

Wong, A.A. and Brown, R.E. (2006). Visual detection, pattern discrimination and visual acuity in 14 strains of mice. *Genes Brain Behav.* 5, 389–403.

Wyzisk, K. and Neumeier, C. (2007). Perception of illusory surfaces and contours in goldfish. *Vis. Neurosci.* 24, 291–298.

Yamate, J., Tajima M., Kudow, S. and Sannai, S. (1999). Background pathology in BDF1 mice allowed to live out their life–span. *Lab. Anim.* 24, 332–340.

Zanforlin, M. (1981). Visual perception of complex forms (anomalous surfaces) in chicks. *Italian J. Psychol.* 8, 1–16.

Zimmermann, R.R. (1962). Form generalization in the infant monkey. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 55, 918–923.

デビッド・マー (1987). ビジョン—視覚の計算理論と脳内表現—. 乾 敏郎, 安藤 広志 訳, 産業図書 p. 3.

宮内哲 (2013). 脳を測る —改訂 ヒトの脳機能の非侵襲的測定—. *心理学評論*, 56, 414–454.

吉田 崇将, 小澤 克也, 加藤 英之 (2012). 二光子励起イメージング法を用いた ラットの遮蔽された物体に対する視覚的認知の研究. *電子情報通信学会技術研究報告. NC, ニューロコンピューティング III*, 335–340.