

【共同研究】

プラナリアのオペラント条件づけ

田積 徹* 溝口 大和* 阿孫 さや香*
大足 彩月* 工藤 裕輝* 星野 菜々子* 渡邊 みなみ*

Operant Conditioning of Planarians

Toru TAZUMI, Yamato MIZOGUCHI, Sayaka ASON
Satsuki OASHI, Hiroki KUDO, Nanako HOSHINO, Minami WATANABE

Planarians have the basic brain structure of an animal and, like mammals, their brain produces a variety of neurotransmitters, suggesting that they have a learning and memory function. Based on a previous study (Chicas-Mossier & Abramson, 2015), six students in seminar of the 3rd year examined the effects of shaping in the acquisition of operant conditioning by planarians. Results indicated that planarians trained by shaping acquired operant conditioning earlier than planarians not trained by shaping and that training led them to display stable operant behavior. In contrast, planarians that were not trained by shaping were slow to acquire operant behavior and they did not display stable operant behavior. The current work compared the results of this experiment to those of previous studies and it discussed the possibility that the behavioral measures used to gauge operant behavior may differ depending on the protocol and the species of planaria used. Moreover, this work discussed the feasibility of introducing operant conditioning experiments with planarians in lessons such as seminars and laboratory classes.

Keywords : operant conditioning, planarians, shaping, invertebrates

オペラント条件づけ、プラナリア、シェイピング、無脊椎動物

序 論

ヒト以外の動物を使った心理学の研究の95%はラットやマウス、ハト、霊長類を使用しているとされている (American Psychological Association, 1993)。一方、ミミズ (e.g., Reyes-

Jiménez, Abad, & Paredes-Olay, 2019) やタコ (e.g., Messenger, Wilson, & Hedge, 1973)、アメフラシ (e.g., Castellucci, Pinsker, Kupfermann, & Kandel, 1970)、ミツバチ (e.g., Blaser, Couvillon, & Bitterman, 2006)、ナメクジ (e.g., Sekiguchi, Suzuki, Yamada, & Kimura, 1999) などの無脊椎動物の学習や行動を調べた研究も行な

-
- * たづみ とおる 文科大学人間科学部心理学科
 - * みぞぐち やまと 文科大学人間科学部心理学科
 - * あそん さやか 文科大学人間科学部心理学科
 - * おおあし さつき 文科大学人間科学部心理学科
 - * くどう ひろき 文科大学人間科学部心理学科
 - * ほしの ななこ 文科大学人間科学部心理学科
 - * わたなべ みなみ 文科大学人間科学部心理学科

われている。比較認知科学においては、動物種間の学習や行動を比較することで、ヒトや動物の心の独自性や他の動物との共通性といった心の進化の過程が明らかになると考えられている（川合, 2006）。また、ヒト以外の動物の学習や記憶を調べる行動学的・生理心理学的研究は、学習原理の普遍性の確認や心理臨床・医療臨床の発展に貢献すると述べられている（Mazur, 2017; 田積, 2010）。心理臨床・医療臨床の発展のためには、哺乳類以外の動物で研究を行う必要性はあまりないと思われるが、心の進化の過程の解明や学習原理の普遍性の確認には、多細胞動物の系統発生関係の仮説図（和田・佐藤, 1993）が示されていることから、脊椎動物だけでなく無脊椎動物を使った研究が必要であろう。

プラナリア¹は左右対称の神経系を持ち（Agata et al. 1998; Buttarelli, Pellicano, & Pontieri, 2008）、そのような神経系を持つ動物門の中では、系統発生上脊椎動物など大部分の動物を含む左右相称動物の共通の祖先から最初に分岐した無脊椎動物である（和田・佐藤, 1993）。プラナリアは動物の脳の基本型となる脳構造を持ち（Agata et al. 1998; Agata, & Umesono 2008; Pagán, 2014）、ほ乳類の動物と同様、各種神経伝達物質を産生していることから（西村・北村・阿形, 2008; Nishimura, Kitamura, Taniguchi, & Agata, 2010）、学習・記憶の機能を有していると考えられる。このような系統発生・生物学上の特徴から、プラナリアの学習能力を調べる行動学的研究は学習原理の普遍性の確認のためにも必要であろう。

これまでに、プラナリアは短期馴化（short-term habituation）や長期馴化（long-term habituation）を示すことが報告されている（Owren & Scheuneman, 1993; Prados, Fisher, Moreno-Fernández, Tazumi, & Urcelay, 2020; Walter, 1907）。さらに、プラナリアは馴化のような1つの刺激に対する学習だけではなく、刺激間の関係性の学習も獲得できることが示されている。たとえば、プラナリアは光刺激をCS、電気ショックをUSに用いた古典的条件づけを獲得できる（Baxter & Kimmel, 1963; Jacobson, Horowitz, & Fried, 1967）とともに、古典的条件づけにおけ

る阻止（blocking）や隠蔽（overshadowing）という現象も示すことが報告されている（Prados et al., 2013）。また、プラナリアはスクロースと対呈示された場所の手掛かりを好む条件性場所選好（conditioned place preference）や、ヒスタミンと対呈示された場所の手掛かりを忌避する条件性場所嫌悪（conditioned place aversion）を示す（Mohammed Jawad, Hutchinson, & Prados, 2018; Adams & Byrne, 2019）。くわえて、プラナリアは他の個体が傷ついたときに身体から出る化学物質を忌避するが、中性刺激であるsunfishの匂いがついた液体とその化学物質が対呈示された後に、sunfishの液体を忌避することが報告されている（Wisenden & Millard, 2001）。

プラナリアは古典的条件づけとともに基本的な学習の普遍原理であるオペラント条件づけを獲得できることが報告されている。Lee（1963）は、プラナリアがある領域を横切ると嫌悪刺激である点灯光が一定時間オフになるというタイムアウト法を用いたオペラント条件づけを獲得できることを報告した。その後に行なわれた追試研究でも、プラナリアがオペラント条件づけを獲得することが示された（Crawford, 1968; Krantz, 1964; Crawford & Skeen, 1967）が、1970年代以降はプラナリアを用いたオペラント条件づけの系統的な研究は報告されていない。一方、最近、半円シャーレに少量の水とプラナリアを入れて、シャーレの円弧の側面を下にして、ヒトが手でそのシャーレを傾けてプラナリアを水滴から遠ざけ、プラナリアがそこから水滴にたどり着くオペラント行動を獲得できることが報告された（Chicas-Mosier & Abramson, 2015）。具体的には、プラナリアと水滴の距離を徐々に伸ばすシェイピングが行なわれたプラナリアは、プラナリアと水滴の距離が5 cmである本試行12試行中に水滴にたどり着くまでの移動スピードが増加し、シェイピングが行なわれなかったプラナリアよりも移動スピードが早かった。また、Chicas-Mosier & Abramson（2015）は、学部複数の授業で学生がこの実験を行っても約70匹のプラナリアが水滴までの5 cmの距離を移動できるように条件づけが成立したと報告した。これらの結果は学習心理学や比較心理学の教育に

として有用である (Chicas-Mosier & Abramson, 2015)。なぜなら、ラットやハトなどがスキナーボックスでレバー押し反応を行っている編集された映像を見るよりも、学生自身がプラナリアを用いて実験することによって、動物がオペラント行動を獲得していく過程を直に観察する方がオペラント条件づけの基本原則が動物の行動の獲得に関与していることを実感として理解できると思われるからである。

本論文では、第1著者が担当した3年次開講の演習科目において、履修生6人がChicas-Mosier & Abramson (2015) の手続きに基づいて行なったプラナリアのオペラント条件づけの実験結果を報告し、演習や実験科目などの授業への導入可能性について考察する。

方 法

被験体

本論文で示すデータは、アメリカツノウズムシ (*Girardia dorotocephala*)² 21匹から得られたものである。この21匹のプラナリアは1匹から繁殖させたコロニーから、およそ同じ大きさのものがランダムに選ばれた。コロニーは縦29cm×横22.3cm×高さ8cmの透明のプラスチックコンテナで飼育された。コロニーは、3:00から18:00の間は蛍光灯が点灯し、庫内温度が21℃、18:00から3:00の間は蛍光灯が消灯し、庫内温度は19℃に設定されたインキュベータ (PHC株式会社製 MIR-154PJ) 内で維持された。コロニーは1週間に1回約4時間豚レバーを与えたあと水を交換した。また、給餌後3日目にも水を換えた。コロニーや実験で使用した水は水道水を6日間汲み置きしたものをを使用した。

装 置

直径9cm、高さ1.5cmの円形のポリスチレン製の未滅菌シャーレを使用した。水滴がシャーレ内で1つの塊になるように、研磨剤入りスポンジでシャーレ全体を擦った後にガラスコーティング剤をシャーレ内部に塗布した。シャーレの底面と側面の境界部に1cm間隔で目印を20cm分マジックペ

ンで描いた。5cmごとの目印は赤色で側面に及ぶように描き、その他の目印は黒で描いた。さらに0.5cm間隔の目印も側面に及ぶように青色で書いた。実験者は6人で、2人1組となり、各組にプラナリア1匹に対して1台のシャーレと、ストップウォッチ1個、スポイト1本、適量の水、複数の綿棒、記録用紙を割り当てた。

手続き

2日前に給餌したコロニーから個別の容器に移しインキュベータで維持されたプラナリアを、演習開始の約3時間前にインキュベータから演習室に個別の容器ごと移動させた。

プラナリアはシェイピングを行う実験条件 (10匹:シェイピング群) とシェイピングを行わない統制条件 (11匹:統制群) のいずれかの条件で訓練された。1回目と2回目の演習では、2人1組の実験者は各組2匹の計12匹の実験を行ない (いずれの組もシェイピング群と統制群を1匹ずつ)、3回目は各組3匹の計9匹の実験を行なった (シェイピング群2匹と統制群1匹が1組、シェイピング群1匹と統制群2匹が2組)。いずれの条件から実験を行なうのかは、3回の演習を通してカウンターバランスを取るように各組間で調整した。

実験の準備ができた組から、シャーレの底面を手で持ち上げて、底面と側面の境界部に机に触れた状態で、スポイトを使用してシャーレに水を入れ、赤色の目印を中心にして2cm幅に水滴を広げた状態でシャーレを保持した。次に、筆を使って個別の容器に入ったプラナリア1匹をシャーレの水滴に挿入した。プラナリアを最初にシャーレに挿入したときには、180秒間シャーレを動かさないうで装置に馴致させた。

シェイピング群では、馴致期間の180秒が経過したのち、水滴の縁がプラナリアの尻尾から0.5cm離れたところに来るようにプラナリアの尻尾の方向にシャーレを動かした。プラナリアがターンして尻尾があった位置から水滴の方向に0.5cm動けば水滴に到達して強化された。水滴とは逆の方向に移動した場合、強化は与えなかった。これを1試行とし、プラナリアが0.5cm動いて強化受け

たら、次の試行では水滴をプラナリアから1.0cmの距離に離れた。試行間間隔は少なくとも60秒とし、その間プラナリアは水滴の中に入れてままたした。プラナリアが水滴までの距離を移動した場合には、次の試行では0.5cmずつ距離を伸ばして2.5cmに到達するまでこの手続きでシェイピングを行った（シェイピング試行）。プラナリアと水滴までの距離が2.5cmとなった試行（本試行）は、連続そのままの距離で12試行を行った。統制群では、プラナリアはシェイピングの手続きを受けずに、馴致期間の180秒が経過したのち、水滴の縁がプラナリアの尻尾から2.5cm離れたところに来るようにプラナリアの尻尾の方向にシャーレを動かした。そして、本試行を12試行行なった。

試行を進めて行く中で、水滴の塊が複数できた場合は適宜綿棒で余分な水滴を取り除いた。水滴を取り除いた場合は、水量が2cm幅になるよう適宜スポイトで水を補充した。試行開始後180秒が経過しても強化を得ることが出来なかった場合はその試行を中止して、実験者がシャーレを動かして水滴をプラナリアに移動させた。そして、60秒経過後に次の試行を開始した。3試行連続でプラナリアが動かずに尻尾があった位置にターンをしなかった場合はそのプラナリアでの実験を中止した。

シャーレを保持する学生とペアになる学生は、ストップウォッチを用いて試行の開始から強化を得るまでの時間を計測するとともに、その試行で設定したプラナリアと水滴の距離を記録した。また、各試行において、水滴を動かしてからプラナリアがターンをして尻尾があった位置に到達するまでの時間（潜時）も計測して記録した。中止した試行ではプラナリアの尻尾があった位置を起点として、そこから水滴方向へ移動した距離を記録した。その際、プラナリアの頭の先端が0.5cm間隔の目印の間にあった場合は目測で四捨五入した。

データ処理

本試行について プラナリアがターンせずに尻尾があった位置に到達しないで180秒経過した場合、潜時は欠損値とした。また、尻尾があった

位置から水滴までの移動にかかった時間を所要時間とした。ターンをして尻尾があった位置に到達したけれども水滴に到達できずに試行開始から180秒経過した場合は所要時間を180秒とした。さらに、プラナリアの尻尾があった位置を起点として、そこから水滴方向へ移動した距離を所要時間で割って移動速度を算出した。水滴に到達できなかった試行では、180秒から潜時を引いた時間を用いて移動速度（cm/sec）を算出した。ターンして尻尾があった位置に到達したが水滴まで到達せず、試行開始から180秒経過した時点で尻尾のあった位置から水滴とは反対の方向にプラナリアが位置していた場合、移動速度は欠損値とした。

シェイピング試行について シェイピング群では、本試行と同様にシェイピング試行においても潜時と移動速度を算出した。

データ分析

シェイピング群の1匹のプラナリアは13試行のシェイピングを行なっても本試行に進めなかったため、すべてのデータ分析から除外した。したがって、シェイピング群9匹と統制群11匹のデータを分析の対象とした。

潜時、所要時間、移動速度の3つの測度においては、4試行を1ブロックとし、1試行あたりの平均値を算出した。4試行全てにおいて欠損値となっているブロックがあった場合、そのプラナリアのデータはその測度での分析から除外した。シェイピング試行において、水滴までに到達せずに同じ距離の試行を複数回行なった場合、潜時と移動速度はそれら複数試行の平均値をその距離での測度とした³。

いずれの測度も、1試行あたりの平均値について、ブロック1～ブロック3（ブロック）を被験体内要因とし、シェイピング群と統制群（群）を被験体間要因とした2要因の分散分析を行なった。

結果

潜時

Figure 1はシェイピング試行と本試行におけ

る潜時を4試行1ブロックとして各群の平均値を示したものである。シェイピング群では、シェイピングブロックと比較して、ブロック1で潜時が増加したが、ブロックを通じて変化がなかった。統制群では、ブロック1の潜時はシェイピング群とほぼ同じであったが、ブロックが進むにつれて潜時が増加した。

2要因の分散分析を行なった結果、ブロックの主効果と群×ブロックの交互作用が有意であった ($F[2, 34]=6.665, p<.005; F[2, 34]=4.211, p<.05$)。下位検定の結果、ブロック3において群の単純主効果が有意傾向であった ($F[1, 51]=3.848, p<.06$)。また、統制群において、ブロックの単純主効果が有意であった ($F[2, 34]=10.519, p<.00005$)。統制群の各ブロックの平均値について、ライアン法による多重比較を行なった結果、すべてのブロック間で有意差が認められた。

Table 1は、各ブロックにおいて、試行開始後ターンせずに尻尾があった位置に到達しないで180秒経過し欠損値として処理された試行が1試

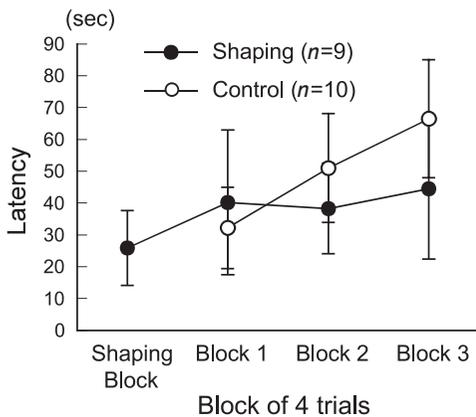


Figure 1. Group average latency to reach the tail position line by blocks of four trials during the shaping and training for shaping and control planarians. The error bars represent 95% confidence intervals.

Table 1. The number of planarians that did not reach the tail position after starting more than one trial in each block.

	Block 1	Block 2	Block 3
Shaping ($n=9$)	0	1	3
Control ($n=11$)	1	3	6

行以上あったプラナリアの数を示している。ブロック1と2では、群間で大きな違いは認められなかったが、そのような行動を示すプラナリアは統制群の方がシェイピング群よりも早いブロックで出現し、個体数の増加も早かった。

所要時間

Figure 2は本試行における水滴に到達するまでの所要時間を4試行1ブロックとして各群の平均値を示したものである。ブロック1ではシェイピング群は統制群よりも早く水滴に到達した。一方、統制群はブロック2ではブロック1と比べて所要時間が短縮したが、ブロック3では所要時間が増加し、ブロック1と同程度となった。シェイピング群はブロック2ではブロック1と比べて所要時間が増加したが、ブロック3では所要時間が減少した。

2要因の分散分析を行なった結果、群×ブロックの交互作用が有意であった ($F[2, 34]=4.358, p<.05$)。下位検定の結果、ブロック1において群の単純主効果が有意傾向であった ($F[1, 51]=2.977, p<.10$)。また、統制群において、ブロックの単純主効果が有意であった ($F[2, 34]=3.722, p<.05$)。統制群の各ブロックの平均値について、ライアン法による多重比較を行なった結果、ブロック1とブロック2、ブロック2とブロック3

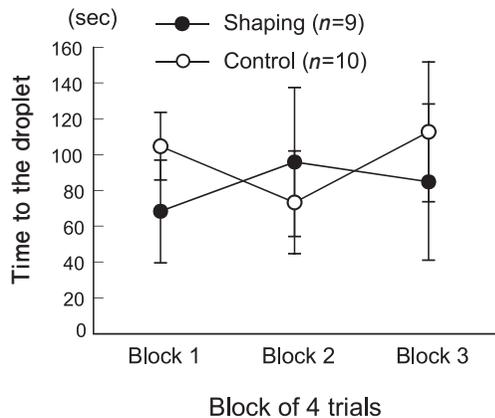


Figure 2. Group average time taken from the tail position line to the droplet by blocks of four trials during the training for shaping and control planarians. The error bars represent 95% confidence intervals.

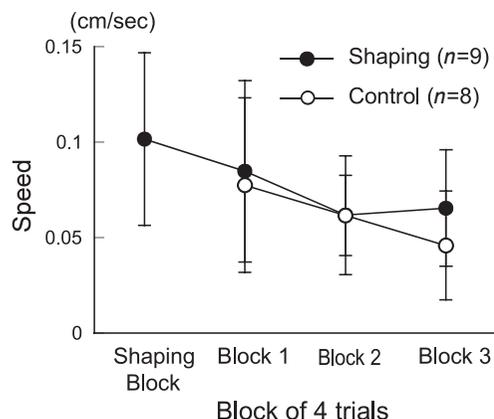


Figure 3. Group average speed which was calculated by distance covered by planarians away from the tail position line toward the droplet divided by the time. The error bars represent 95% confidence intervals.

の間で有意差が認められたが、ブロック 1 とブロック 3 の間には有意差が認められなかった。

移動速度

Figure 3 はシェイピング試行と本試行における移動速度を 4 試行 1 ブロックとして各群の平均値を示したものである。いずれの群もブロックが経過するにつれて、移動速度が下がっていった。2 要因の分散分析を行なった結果、ブロックの主効果が有意傾向であった ($F[2, 30]=2.610, p<.10$)。

考 察

本実験の結果の解釈と先行研究との比較

本実験では、Chicas-Mosier & Abramson (2015) の手続きに基づき、円形シャーレの側面の円弧を使用して、水滴の縁をプラナリアの尻尾から離し、プラナリアがターンして尻尾があった位置から水滴の方向に動いて水滴に到達すれば強化が与えられた。その結果、シェイピングが行なわれなかったプラナリアは、本試行開始後にターンして尻尾があった位置に到達するまでの潜時がブロックの経過にともなって増加したが、シェイピングが行なわれたプラナリアはブロックを通して変化がなく、ブロック 3 ではシェイピングが行なわれなかったプラナリアよりも潜時が有意に短い傾向

であった。また、尻尾があった位置から水滴までの移動にかかった所要時間では、ブロック 1 において、シェイピングが行なわれたプラナリアはそれが行なわれなかったプラナリアよりも所要時間が有意に短い傾向であり、その後のブロックにおいて所要時間がブロック 1 よりも有意に増加しなかった。シェイピングが行なわれなかったプラナリアはブロック 2 における所要時間はブロック 1 から有意に減少したが、ブロック 3 ではブロック 2 から有意に増加した。これらの結果は、シェイピングが行なわれたプラナリアは本試行の開始時点においてすでにオペラント条件づけを獲得し、本試行を通して安定したオペラント行動を遂行したことを示唆する。一方、シェイピングが行なわれなかったプラナリアはオペラント行動の獲得が遅く、また、オペラント行動の遂行が不安定であったことを示唆する。

試行開始後に尻尾があった位置に到達せず、欠損値として処理された本試行が 1 試行以上あったプラナリアは、統制群ではシェイピング群よりも早いブロックで出現し、個体数の増加も早かった。一方、シェイピング群では、ブロック 1 ではそのような行動を示したプラナリアはおらず、ブロック 2 から 3 にかけて統制群と同じ匹数のプラナリアがそのような行動を示した。これらの結果も、シェイピング経験の有無によって生じたオペラント行動の遂行の安定性の違いから生じたのかもしれない。

シェイピングが行なわれなかったプラナリアはブロック 1 からブロック 2 にかけて潜時が増加した。本実験では、試行開始から 180 秒経過した時点で試行を中止するという手続きであったため、シェイピングが行なわれなかったプラナリアは、潜時が増加したブロック 2 では尻尾があった位置から水滴に到達するまでの制限時間がブロック 1 と比べて減少する。したがって、水滴に到達する前に試行中止となる可能性が増加する。試行を中止した場合の所要時間を 180 秒としたにもかかわらず、シェイピングが行なわれなかったプラナリアではブロック 2 における所要時間がブロック 1 から有意に減少した。これらの結果からも、プラナリアはシェイピングがなくても不安定な遂行で

はあるがオペラント条件づけを獲得できることを示唆する。

シェイピングが行なわれたプラナリアと、それが行なわれなかったプラナリアで示されたオペラント行動の遂行の安定性の違いをもたらした別の要因として、シェイピングが行なわれなかったプラナリアはブロック1での水滴までの所要時間が長かったために、水に晒されていないことによって衰弱した可能性が考えられる。しかしながら、シェイピングが行なわれたプラナリアは少なくとも4試行は水に晒されていないシェイピング試行をブロック1に入る前にすでに経験しており、1試行あたりの水に晒されていなかった時間をシェイピングブロックとブロック1で合計して平均値を求めたところ、シェイピングが行なわれなかったプラナリアのブロック1でのそれよりも長かった (data not shown)。このことから、シェイピングが行なわれなかったプラナリアは衰弱によってオペラント行動の遂行が不安定になったのではなく、シェイピング訓練を受けなかったことによって不安定になったと考えられる。

本実験の手続きの参考とした先行研究 (Chicas-Mosier & Abramson, 2015) は、アメリカツノウズムシとアメリカナミウズムシ (*Girardia tigrina*) を用いて、水滴が位置する方向に関係なく、設定した距離をプラナリアが移動すれば水滴に到達しなくても水滴を移動させて強化を与える手続きを行い、徐々に距離を伸ばすシェイピング群とシェイピングなし群の本試行12試行の移動速度の平均値を検討した。その結果、シェイピングなし群はいずれの種においても6試行で実験中止となった。一方、シェイピング群では、アメリカナミウズムシは試行が進むにつれて移動速度が上がりオペラント条件づけを獲得したが、アメリカツノウズムシでは移動速度は全試行にわたり大きな変動がなかった。本実験では、アメリカナミウズムシで実験を行っていないが、所要時間と潜時の結果はシェイピングを行なった場合も行なわれなかった場合も (後者ではオペラント行動の遂行は不安定であったが)、アメリカツノウズムシがオペラント条件づけを獲得したことを示唆する。また、本実験のアメリカツノウズムシの移動速度

は、シェイピングの有無に関係なく、ブロックが進むにつれて移動速度が低下する傾向であった。Martinez et al. (2021) は、アメリカナミウズムシ、ヨーロッパ産のプラナリア2種 (*Schmidtea mediterranea*と*Schmidtea polychroa*) の計3種のプラナリアを用いて、自発運動や負の走光性などの行動を調べた。その結果、*Schmidtea polychroa* は他の2種よりも活動性が低く、光を最も忌避するなど、プラナリアは種によって行動が異なることを報告した。Chicas-Mosier & Abramson (2015) では移動速度以外の行動指標が報告されていないけれども、Martinez et al. (2021) で報告された知見から、本実験で使用したアメリカツノウズムシのオペラント行動の遂行が潜時や所要時間に優位に現れるのに対して、Chicas-Mosier & Abramson (2015) で使用されたアメリカナミウズムシのオペラント行動の遂行は移動速度に優位に現れるのかもしれない。また、本実験と先行研究 (Chicas-Mosier & Abramson, 2015) では、使用したシャーレの円弧の曲率や手続きが異なっていた。本実験では、曲率が大きく急カーブのシャーレを用いて、シェイピング試行は水滴に到達すればその距離を0.5cm刻みで次のステップに進め、本試行ではその距離が2.5cmであった。一方、Chicas-Mosier & Abramson (2015) では、曲率が小さく緩やかなカーブのシャーレを用いて、シェイピング試行は2試行連続で設定した距離をプラナリアが移動すれば1.0cm刻みで次のステップに進め、本試行ではその距離が5.0cmであった。これらの実験装置や手続きの違いも、オペラント行動の遂行に影響を与えるとともに、本実験と先行研究 (Chicas-Mosier & Abramson, 2015) でのアメリカツノウズムシの移動速度の結果が一致しなかった要因かもしれない。

本実験では、プラナリアに獲得させたオペラント行動は、尻尾の位置までターンしてからその先にある水滴まで移動する行動であった。そのため、水滴の縁がプラナリアの尻尾から離れたところに来るようにシャーレを動かして試行を開始した後に、プラナリアがターンをせずにそのまま頭の方角に移動した (シャーレを登った) 場合には強化を与えなかった。また、ある試行では尻尾の位置

までターンしたけれども、水滴に到達せずに180秒経過後には尻尾の位置で静止していたり、尻尾の位置から水滴の方向とは逆の方向の位置に静止していたプラナリアも各群に数匹いた。このような手続き上の制約やプラナリアの行動特性にもかかわらず、本実験ではプラナリアがオペラント行動を獲得した。プラナリアは重力に感受性があることが明らかとなっており (Adell, Saló, Van Loon, & Auletta, 2014)、先行研究 (Chicas-Mosier & Abramson, 2015) と比較して曲率が大きく急カーブのシャーレを使用したことで、上記の手続き上の制約の影響やプラナリアの行動特性の出現が少なく抑えられたと考えられる。プラナリアにとって報酬性であるスクロース水を用いることで、そのような制約の影響や行動特性の出現をさらに抑えることができるかもしれず、今後の検討課題である。

実験動物としてプラナリアを使用する意義

日本では、2006年の法律改正により「動物の愛護及び管理に関する法律」に、実験動物の愛護に関する基本理念である3Rの原則⁴が盛り込まれた。これらの原則のうち、Replacement (代替) は意識・感覚のない低位の動物種の使用、in vitro実験への代替、重複実験の排除などが該当する。プラナリアは、心理学の研究で主として用いられているラットやマウス、ハト、霊長類よりも低位の動物種である。この原則に基づけば、プラナリアを使用した実験が推奨されるということになり、また、それが高次の動物を使ったいくつかの実験の代替が可能であることも指摘されている (Nayak et al., 2016)。しかしながら、プラナリアと上記の動物とは行動レパトリーの多様性 (登る、飛び越える、押す、引く、引っぱる、つつくなど) に違いがあり、また、高次の動物は行動レパトリーとして持ち得ない行動も訓練によって獲得できる (後藤・牛谷, 2008; 山崎, 2008)。動物を用いて学習と行動の研究を行なう際には、動物がもつ豊富な行動レパトリーが学習能力を行動学的に検出する際に極めて重要となってくるため (Cf. Lashley, 1951)、容易に低位の動物種を使った研究に代替することは難しいかもしれない。

一方で、本論文で報告したように、演習科目において履修生が手を動かしながらシェイピングを行い、自分の手で行なった実験で学習の普遍原理を確かめるといった教育的な目的においては、プラナリアを使用することで代替の原則を実現できると考えられる。ラットなどの飼育施設がある大学であれば、演習や実験の授業で学生に基本的な学習実験を行なわせる際にわざわざプラナリアを使用しなくても、その施設で維持しているラットを用いてスキナー箱でレバー押し行動の学習をさせるであろう。しかしながら、プラナリアはペットショップからインターネットで購入することが可能であり、コロニーを維持して飼育繁殖をしなくても授業で行なう実験のためのプラナリアを入手することはそれほどハードルは高くない。最低限、プラナリアを実験期間中に維持するためのインキュベータは必要となるが、小型で場所は取らないし、パソコンを購入するぐらいの価格で購入することができる。まとめると、研究のためには高次の動物を使用して、教育のためには低位の動物を使用するといった使い分けが、心理学での動物使用におけるReplacement (代替) の原則を現実的なものにすると考えられる。

本実験で報告したプラナリアでのオペラント条件づけ実験を心理学実験に導入できる可能性について考察する。1つのテーマに割り当てる時限数を2時限連続で3週を1クールとした場合に、第1週の1時限目にオペラント条件づけの講義や先行研究の解説を行い、2時限目にシャーレの作成や、すでに実験で使用したプラナリアを筆で扱って本実験と同じ手続きで実験を行ない、手続きや測定、記録などをスムーズに行えるように履修生に練習してもらおう。第2週は1時限目と2時限目で本実験を行なう。本論文で報告した実験では、各ペアは1時限中にシェイピング群1匹と統制群1匹の実験を終えることができた。もし1クラス10人の場合には5ペアで実験を行ない、2時限合計でシェイピング群と統制群のそれぞれで10匹のデータが集まることになる。第3週の1時限目はデータ分析を行ない、2時限目は結果の解釈や先行研究との比較について討議させる。このようにスケジュール上は導入可能であるが、学習の普遍

原理を確かめるという教育的な目的のために重要なことは、実験に必要なスキルを持っていない学生が心理学実験の授業で簡単な練習後に実験を行なってもプラナリアがオペラント条件づけの獲得を示すという頑健な結果が得られるかどうかである。本論文で報告した実験の追試を行なうとともに、プラナリアにとって最適な手続きやシャーレの曲率などを今後さらに検討していく必要がある。

本論文はプラナリアがオペラント条件づけの獲得を示すデータを報告したが、これらのデータは、最初の実験ですぐに得られたものではなかった。当初の手続きはChicas-Mosier & Abramson (2015)と同じで、シェイピング試行は設定した距離を2試行連続でプラナリアが移動すれば1.0cm刻みで次のステップに進めたが、多くのプラナリアが不動状態となり本試行に進めない事態となった。また、シャーレの撥水性は試行が進むにつれて弱くなり、実験者が水滴を移動させても水の軌跡が残り、プラナリアがその軌跡を辿って移動したり、あるいは、そこに留まり水滴まで移動しなかったりという事態が生じ、この事態が群間で偏って生じた。このような事態に直面してどうすればプラナリアが不動になる前に予定した試行を行なうことができるか、交絡要因を除外しシェイピングの効果を検討できるかを履修生と議論を重ね、手続きの変更や装置の工夫を行なった。心理学実験では、時間的な制約や学習の普遍原理を確かめるという教育目標との関係から、このようなプロセスを学生に体験させることはできないが、卒業研究を行なう前の3年次開講の演習科目では可能であろう。

近年、課題解決型の能動的学修 (Active Learning) を中心とした学士課程教育への転換が必要であると指摘されている (文部科学省中央教育審議会大学教育部会, 2012)。課題解決型の能動的学修の中心的手法は、問題解決型学習 (Problem-Based Learning) とプロジェクト型学習 (Project-Based Learning) である (竹田・井草・安田, 2020)。前述のプラナリアのオペラント条件づけ実験で生じた問題は、履修生が自ら発見した問題や課題ではないが、実験に取組む中で浮かび

上がってきた問題を解決するために手続きの変更や装置の工夫によって実験を遂行でき、かつ、プラナリアがオペラント条件づけの獲得を示すデータを得られたことは、オペラント条件づけの基本原則が動物の行動の獲得に関与することを理解してもらえただけではなく、問題解決型学習によって課題や問題に直面したときに能動的に取組む行動を涵養できたと考えられる。学生が社会に出たときに必ず直面する他の課題や問題に対しても、そのような行動が取れるように効率的に般化するにはどうすれば良いのかを明らかにしていくことが今後の課題であろう。

引用文献

- Adams, K., & Byrne, T. (2019). Histamine alters environmental place preference in planaria. *Neuroscience letters*, **705**, 202–205. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.04.061>
- Adell, T., Saló, E., van Loon, J. J., & Auletta, G. (2014). Planarians sense simulated microgravity and hypergravity. *BioMed research international*, **679672**. <https://doi.org/10.1155/2014/679672>
- Agata, K., & Umeson, Y. (2008). Brain regeneration from pluripotent stem cells in planarian. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **363**, 2071–2078. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.2260>
- Agata, K., Soejima, Y., Kato, K., Kobayashi, C., Umeson, Y., & Watanabe, K. (1998). Structure of the planarian central nervous system (CNS) revealed by neuronal cell markers. *Zoological science*, **15**, 433–440. <https://doi.org/10.2108/zsj.15.433>
- American Psychological Association (APA). (1993). Research with animals in psychology. Retrieved from <https://www.apa.org/research/responsible/research-animals.pdf>
- Baxter, R., & Kimmel, H. D. (1963). Conditioning and extinction in the planarian. *The American*

- Journal of Psychology*, **76**, 665-669. <http://dx.doi.org/10.2307/1419718>
- Blaser, R. E., Couvillon, P. A., & Bitterman, M. E. (2006). Blocking and pseudoblocking: New control experiments with honeybees. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, **59**, 68-76. <http://dx.doi.org/10.1080/17470210500242938>
- Buttarelli, F. R., Pellicano, C., & Pontieri, F. E. (2008). Neuropharmacology and behavior in planarians: translations to mammals. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology*, **147**, 399-408. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.01.009>
- Castellucci, V., Pinsker, H., Kupfermann, I., & Kandel, E. R. (1970). Neuronal mechanisms of habituation and dishabituation of the gill-withdrawal reflex in *Aplysia*. *Science*, **167**, 1745-1748. <https://doi.org/10.1126/science.167.3926.1745>
- Chicas-Mosier, A. M., & Abramson, C. I. (2015). A new instrumental/operant conditioning technique suitable for inquiry-based activities in courses on experimental psychology, learning, and comparative psychology using planaria (*Dugesia dorotocephala* and *Dugesia tigrina*). *Comprehensive Psychology*. <https://doi.org/10.2466/09.IT.4.6>
- Crawford, F. T. (1968). Operant rate of planarians as a function of time out from photic stimulation. *Psychonomic Science*, **11**, 257-258. <https://doi.org/10.3758/BF03327688>
- Crawford, F. T., & Skeen, L. C. (1967). Operant responding in the planarian: A replication study. *Psychological Reports*, **20**, 1023-1027. <https://doi.org/10.2466/pr0.1967.20.3c.1023>
- 後藤和宏・牛谷智一 (2008). 動物心理学における「比較」論争の整理と展望. *動物心理学研究*, **58**, 77-85. <https://doi.org/10.2502/janip.58.1.7>
- Jacobson, A. L., Horowitz, S. D., & Fried, C. (1967). Classical conditioning, pseudoconditioning, or sensitization in the planarian. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **64**, 73-79. <http://dx.doi.org/10.1037/h0024808>
- 川合伸幸 (2006). 心の輪郭－比較認知科学から見た知性の進化－. 北大路書房
- 川勝正治・西野麻知子・大高明史 (2007). プラナリア類の外來種. *陸水学雑誌*, **68**, 461-469.
- 川勝正治・鶴田大三郎・木村知之・茅根重夫・村山均・山本清彦 (2008). 日本の平地水域のプラナリア類—在來種と外來種の手引き. <http://www.riverwin.jp/pl/flatland/Flatland%20FPs%202008%20Shibuki-%20tsubo%20in%20Jap.pdf> (2022年3月15日)
- Krantz, M. L. (1964). Operant conditioning of planarians. *Bios*, **35**, 139-141. <http://www.jstor.org/stable/4606546>
- Lashley, K. S. (1951). The problem of serial order in behavior. In L. A. Jeffress (Ed.). *Cerebral mechanisms in behavior*. New York: Wiley. pp. 112-146.
- Lee, R. M. (1963). Conditioning of a free operant response in planaria. *Science*, **139**, 1048-1049. <https://doi.org/10.1126/science.139.3559.1048>
- Martinez, O., Sire, S., Saunier, A., Malgouyres, J., Fournier, A., & Vignet, C. (2021). Behavioral responses of three freshwater planaria species to light, visual and olfactory stimuli: Setting the stage for further ecotoxicological studies. *Behavioural Processes*, **183**, 10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beproc.2020.104295>
- Mazur, J. E. (2017). *Learning and Behavior*. 8th ed. New York, Routledge/Taylor & Francis Group.
- Messenger, J. B., Wilson, A. P., & Hedge, A. (1973). Some evidence for colour-blindness in octopus. *Journal of Experimental Biology*, **59**, 77-94. <https://doi.org/10.1242/jeb.59.1.77>
- Mohammed Jawad, R. A., Hutchinson, C. V., & Prados, J. (2018). Dissociation of place preference and tolerance responses to sucrose using a dopamine antagonist in the planarian. *Psychopharmacology*, **235**, 829-836. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4801-8>

- 文部科学省中央教育審議会大学教育部会 (2012). 第11回配付資料1：大学教育部会の審議のまとめについて（素案）. https://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/chukyo/chuko4/015/attach/1318247.htm (2022年3月15日)
- Nayak, S., Roberts, A., Bires, K., Tallarida, C. S., Kim, E., Wu, M., & Rawls, S. M. (2016). Benzodiazepine inhibits anxiogenic-like response in cocaine or ethanol withdrawn planarians. *Behavioural pharmacology*, **27**, 556-558. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000236>
- 西村周泰・北村佳久・阿形清和 (2008). プラナリアにおける脳再生の分子機構とドパミン神経ネットワークの再構築. *神経研究の進歩*, **60**, 307-317. <https://doi.org/10.11477/mf.1416100251>
- Nishimura, K., Kitamura, Y., Taniguchi, T., & Agata, K. (2010). Analysis of motor function modulated by cholinergic neurons in planarian *Dugesia japonica*. *Neuroscience*, **168**, 18-30. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.038>
- Owren, M. J., & Scheuneman, D. L. (1993). An inexpensive habituation and sensitization learning laboratory exercise using planarians. *Teaching of Psychology*, **20**, 226-228. http://dx.doi.org/10.1207/s15328023top2004_6
- Pagán, O. R. (2014). *The first Brain: the neuroscience of planarians*. 1st ed. New York, Oxford University press.
- Prados, J., Alvarez, B., Howarth, J., Stewart, K., Gibson, C. L., Hutchinson, C. V., Young, A. M., & Davidson, C. (2013). Cue competition effects in the planarian. *Animal cognition*, **16**, 177-186. <https://doi.org/10.1007/s10071-012-0561-3>
- Prados, J., Fisher, C. T. L., Moreno-Fernández, M. M., Tazumi, T., & Urcelay, G. P. (2020). Short- and long-term habituation of photonegative and exploratory responses in the flatworm planaria. *Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition*, **46**, 354-365. <http://dx.doi.org/10.1037/xan0000256>
- Reyes-Jiménez, D., Abad, M. J. F., & Paredes-Olay, C. (2019). Classical conditioning in earthworms employing an odorous conditioned stimulus. *Behavioural Processes*, **164**, 214-216. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beproc.2019.05.014>
- Sekiguchi, T., Suzuki, H., Yamada, A., & Kimura, T. (1999). Aversive conditioning to a compound odor stimulus and its components in a terrestrial mollusc. *Zoological Science*, **16**, 879-883. <https://doi.org/10.2108/zsj.16.879>
- 高橋櫻 (2020). プラナリアの再生. 日本生態学会第67回全国大会講演要旨 <https://esj.ne.jp/meeting/abst/67/PH-13.html> (2022年3月15日)
- 竹田英司・井草剛・安田俊一 (2020). 問題解決型学習の実践と成果－地域経済学を通じた認知能力の涵養－. *経済教育*, **39**, 130-142. https://doi.org/10.24476/eoedu.39.39_130
- 田積徹 (2010). 恐怖の古典的条件づけの消去に關係する神経機構－心理臨床応用への示唆－. *行動科学*, **49**, 31-51.
- 手代木涉 (1987). 種類と生態 手代木涉 (編) プラナリアの生物学－基礎と応用と実験－ (pp. 10-35) 共立出版株式会社
- Walter, H. E. (1907). The reactions of planarians to light. *Journal of Experimental Zoology*, **5**, 35-162. <http://dx.doi.org/10.1002/jez.1400050104>
- Wisenden, B. D., & Millard, C. M. (2001). Aquatic flatworms use chemical cues from injured conspecifics to assess predation risk and to associate risk with novel cues. *Animal Behaviour*, **62**, 761-766. <https://doi.org/10.1006/anbe.2001.1797>
- 山崎由美子 (2008). サルの脳にヒト認知進化の要素と過程を再現する. *動物心理学研究*, **58**, 69-71. <https://doi.org/10.2502/janip.58.1.12>
- 和田洋・佐藤矩行 (1993). 多細胞動物の誕生と脊椎動物への道. *科学*, **63**, 230-237.

謝 辞

本実験は2021年度に交付された文教大学競争的教育研究支援資金による教育改善の取り組みの一環で実施された。また、本研究の一部は令和2年～令和5年度日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(C) (課題番号20K03502, 研究代表者 田積徹) の補助を受けた。

注

- ¹ プラナリアという用語は、扁形動物門のウズムシ綱(類)において区別されている13目のうち、中・大型の動物群を指す総称である(川勝・西野・大高, 2007)。あるいは、三岐腸目の中の淡水産に区分される淡水生三岐腸亜目の動物を指す場合もある(手代木, 1987)。
- ² 川勝・鶴田・木村・茅根・村山・山本(2008)や高橋(2020)の知見に基づいて、プラナリアの頭部の形態、胴体の色、コロニーでの繁殖力、汚濁水に対する耐性からアメリカツノウズムシ(*Girardia dorocephala*)と判断した。
- ³ シェイピング群のプラナリアでシェイピングを5試行行なったのは2匹だけであった。
- ⁴ Replacement(代替):「できる限り動物を供する方法に代わり得るものを利用すること」、Reduction(削減):「できる限りその利用に供される動物の数を少なくすること」、Refinement(改善):「できる限り動物に苦痛を与えないこと」の3つの原則で、頭文字をとって3Rの原則と呼ばれる。

[抄録]

プラナリアは動物の脳の基本型となる脳構造を持ち、ほ乳類の動物と同様、各種神経伝達物質を産生していることから学習・記憶の機能を有していると考えられる。本論文では、3年次開講の演習科目において、履修生6人が先行研究(Chicas-Mosier & Abramson, 2015)の手続きに基づいて、プラナリアのオペラント条件づけの獲得におけるシェイピングの効果を検討した。その結果、シェイピングが行なわれたプラナリアは、それが行なわれなかったプラナリアよりもオペラント条件づけを早く獲得し、訓練を通して安定したオペラント行動を遂行した。一方、シェイピングが行なわれなかったプラナリアはオペラント行動の獲得が遅く、また、オペラント行動の遂行が不安定であった。本実験と先行研究の結果を比較し、手続きや使用したプラナリアの種の違いによって、オペラント行動の遂行が現れる行動測定度が異なる可能性について考察した。さらに、プラナリアを用いたオペラント条件づけ実験を演習や実験などの授業への導入可能性について考察した。
