

学びの生化学：鳥類の学習（インプリンティング）をモデルとした“脳力”獲得の分子機構

本間 光一, 山口 真二, 青木 直哉

「少年老い易く学成り難し」という諺からの教訓は、若いときはすぐに過ぎ去るから歳をとる前に一生懸命勉強せよ、ということであろうが、その裏には、“ある年齢に達すると高度な学習の習得が難しくなる”，そしてその“時期”を逃すともはや取り戻すことはできない，といった宿命的な学問習得の限界点が隠されているように思える。確かに学習のあるものには，その時期でしか達成することが難しい臨界期，あるいは感受性期と呼ばれるものが存在する。我々も経験から，言語の習得など，幼少の時期でしか習得することが困難な学習があることを知っている。本稿では，鳥類の学習（インプリンティング）をモデル系として，学習臨界期の開始を決定する因子の生化学的な解析と，学習の階層構造について考察する。このような因子を利用すれば，臨界期を人為的に操作することが可能となる。さらに臨界期を有する他の学習システムと比較し，“脳力”獲得のヒントについて論じる。

1. はじめに

学習 (learning) には，その時期にしか習得できない臨界期 (critical period)，あるいは感受性期 (sensitive period) と呼ばれるものがあることが知られている¹⁾。しかし，その分子機構，特に時期を決定する因子の存在については，明らかにされてこなかった。アヒルやニワトリなどの離巢性の鳥に見られる刷り込み (インプリンティング, imprinting) は，親子間の社会的な愛着を形作る上で必要な過程であると考えられている²⁻⁴⁾。刷り込みは，孵化後最初の数日間のみ限定して起こることから，刷り込みの臨界期は孵化後2, 3日間であると言える。刷り込みはいわゆる

早期学習 (early learning) の一つであり，未熟なヒナにとって，母親からの保護を確実に受けながら生きていくために必須の学習である。刷り込みは実験室内でも起こすことが可能であり，ニワトリヒナは1~3時間の刷り込み学習を通じて，母鳥あるいはレゴブロックなどの動体を記憶する⁵⁾。我々は最近，甲状腺ホルモン (3,5,3'-トリヨードチロニン: T₃) が，臨界期の開始を決定するホルモンであることを発見した⁶⁾。刷り込み学習のトレーニングを開始すると直ちに，血中を循環している血漿チロキシン (T₄) が，大脳を取り巻く血液脳関門に存在する血管内皮細胞に取り込まれる。T₄ は血管内皮細胞内の Dio2 (ヨードチロニン脱ヨウ素酵素タイプ2) によって T₃ に変換され，脳内に急激に流入する。このようにして脳内へ放出された T₃ が神経細胞に作用することで，刷り込み臨界期の扉が開かれる。これは遺伝子発現に依存しない作用 (non-genomic action) であり，わずか数10分後には，刷り込みが習得可能な状態となる。また，この状態を経ると刷り込みのみならず，他の学習の習得効率が大幅に上昇する。我々は，この学習能力を賦与する作用をメモリープライミング (Memory Priming: MP) と名付けた。すなわちプライミングを賦与する分子的な実体が，甲状腺ホルモン (T₃) というこ

帝京大学薬学部生命薬学講座病態分子生物学 (〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1 大学棟本館 9F (901))

A primer for learning: Thyroid hormone is a determining factor to start the sensitive period of filial imprinting of domestic chicks

Koichi J. Homma, Shinji Yamaguchi, and Naoya Aoki (Laboratory of Molecular Biology, Department of Life and Health Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University, 2-11-1 Kaga, Itabashi-ku, Tokyo 173-8605, Japan)

とになる。普段は刷り込み学習すると同時に T_3 が脳内に流入するので、 T_3 によるプライミングは、刷り込みとリンクしており、分離されることはない。しかし、刷り込み学習をせずに臨界期が閉じてしまったヒナに対して、外から T_3 を脳内に直接、あるいは足の静脈に注射することで、その後ヒナを刷り込み可能にできることを見いだした。つまり、刷り込みを習得可能にする能力は、刷り込みのトレーニングという感覚情報を必要とせず、 T_3 によるプライミング作用のみで獲得され得るのである。さらに T_3 によるプライミングが一旦成立すると、孵化後1週間以上経過したヒナに対しても刷り込み可能であることがわかり、あたかも臨界期が半永久的に開いたまま閉じなくなったようにも見える。ローレンツ (Konrad Lorenz) により有名になった刷り込みは、これまで孵化直後の特殊な学習であり、後の学習との関連性はないとされてきたが⁷⁾、色の弁別と水の報酬をリンクさせた強化学習課題を用いて解析すると、刷り込みを経験したヒナでは、強化学習を効率よく習得することができるが、刷り込みを経験しないヒナは、強化学習をうまくこなすことができない。すなわち刷り込みには、後の学習を可能にするプライミングの機能を果たす働きがあることがわかった。これらの結果は、学習には階層性があり、刷り込みに始まる早期学習が、ホルモンを介して次の学習をプライミングするという学習階層構造の存在を示唆する。本稿では、以上の我々の知見を中心に、学習臨界期の生理的意義と、学習能力獲得に果たすプライミングの重要性について考察する。

2. 刷り込みとは

孵化直後に親への追従行動として現れる刷り込み (刻印付け、インプリンティング) は、離巢性のニワトリやアヒルを中心に精力的な研究がなされてきた³⁾。巣を持たないトリにとって、孵化後に親を記憶してそのあとに付いていくことは、その生存を保障するためにも重要なことと考えられる。実際キンカチョウなどの就巢性のトリと比較すると、孵化後にすぐに立ち上がり羽毛も生えているヒヨコは、足の筋肉もよく発達している。刷り込みはいわゆる早期学習 (early learning) の一つであり、未熟なヒナにとって、母親からの保護を確実に受けながら生きていくために必須の学習である⁷⁾。刷り込みは実験室内でも起こすことが可能であり、ニワトリヒナは1~3時間の刷り込み学習を通じて、母鳥あるいはレゴブロックなどの動体を記憶する。さて、刷り込み様の学習に関する文献は、1872年のスパルディング (Douglas Spalding) によるものが最初とされる⁸⁾。その後、動物行動学の真の創始者ともいわれるハイロス (Oskar Heinroth) によって現在の意味での刷り込みという言葉が用いられた研究がなされた (1911年)⁹⁾。しかし、刷り込みを有名にしたのは、間違いなく

ローレンツである²⁾。彼は1935年に発表した論文で、刷り込みについて詳しく記述している。彼は野生の鳥とともに暮らし観察し、そして記述した。彼の記述の多くは今でも通用するものであるが、一度親を記憶するとほぼ忘れることのない強い記憶である点や、場合によっては、ヒトを自分の親と記憶してしまう点など、その特殊性が強調されて、刷り込みは、他の学習や記憶とは性質の大きく異なるものとして認知、定着することとなる。現在においても、多くの人は、孵化したばかりのヒナが、目の前にあるものを何でもかんでも瞬時に記憶して追いかけるようになると誤解している。確かに孵化したばかりのヒヨコやアヒルのヒナは、目を引く動くものを追いかけるが、それは、言わば刷り込みのトレーニング (つまり学習中) であって、覚えたわけではない。別のものを提示すれば新しい対象を追いかけるようになる。記憶として定着させるためには、時間をかけた繰り返しの刺激が必要である。実験室内で我々がヒヨコに刷り込み学習を習得させるためには、休憩を挟んだ1~3時間のトレーニングが必要である⁵⁾。自然条件下では普通、記憶する対象は母親であるので、ヒナは母鳥からの継続的な視覚的および聴覚的な刺激を受けることによって刷り込みが成立する。

研究室での実験条件下では、レゴブロックのような無生物であっても刷り込み対象になり得る^{5,10)}。また必ずしも聴覚刺激は必要なく、視覚刺激のみで刷り込み可能である。ヒナは刷り込み対象を追いかけている間に、その物体の色と形を覚え、愛着を持つようになる。これまで刷り込みは、いわゆる臨界期 (あるいは感受性期) の間にしか起こらないと言われてきた。例えばヒヨコやアヒルのヒナの場合、孵化後数日間が臨界期にあたる¹¹⁾。この臨界期の開始や終結といったタイミングに関する仮説はいくつかあるが、実際に臨界期を決定する因子については知られていない。我々は最近甲状腺ホルモン (T_3) が臨界期の開始を決定する因子であることを示す結果を得た⁶⁾ (後述)。

実験室内と異なる自然条件下での刷り込みは、母鳥からの視覚と聴覚両方からの継続的な刺激により成立すると考えられる。ヒナ脳における IMM (Intermediate Medial Mesopallium) 領域 (終脳連合野) は、視覚刷り込みに重要な役割を果たしている。左右両側の IMM を破壊すると刷り込みは妨げられ、刷り込み対象への好みは生じない¹²⁾。電子顕微鏡を使った研究では IMM のシナプスの形態が刷り込みにより変化することが示されている¹³⁾。さらに、刷り込みの獲得段階では、全体的な RNA 合成が IMM で増加する¹⁴⁾。これは IMM での遺伝子発現が刷り込みの成立に関与することを示唆する。脳の他の領域では、MNM (Medio-rostral Nidopallium/Mesopallium) が聴覚刷り込みに関与する領域として同定されている¹⁵⁾。そして、幼い時に一緒に生活していた動物を性的に成熟した時の相手

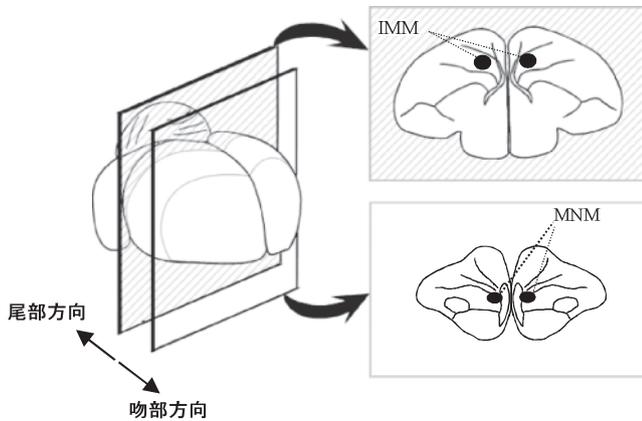


図1 鳥類(ニワトリ)の刷り込みに関与する大脳領域 IMM と MNM

大脳における IMM と MNM の位置を黒丸で示した。IMM 領域(終脳連合野, Intermediate Medial Mesopallium)は、視覚刷り込みに重要な役割を果たしている。左右両側の IMM を破壊すると刷り込みは妨げられ、刷り込み対象への好みは生じない。MNM (Medio-rostral Nidopallium/Mesopallium)は、聴覚刷り込みに関与する領域として同定されている。幼い時に一緒に生活していた動物を性的に成熟した時の相手として選ぶ性的刷り込みには、MNMが必要であることがキンカチョウにおいて確かめられている。

として選ぶ性的刷り込みには、MNMが必要であることがキンカチョウにおいて確かめられている¹⁶⁾。このように視覚と聴覚刷り込みが同時に機能し合うことで広い意味での刷り込みは成立し、IMM や MNM さらに大脳の他の領域¹⁷⁾を含めた機能的な神経ネットワークが形成されていくものと考えられる(図1)。

3. 刷り込みに必要な甲状腺ホルモン

アヒルやニワトリなどの離巢性の鳥に見られる刷り込みは、親子間の社会的な愛着を形作る上で必要な過程であると考えられている。刷り込みは、臨界期、または感受性期とよばれる孵化後、最初の数日間のみ限定して起こると長く信じられてきた。しかし、その分子機構、特に時期を決定する因子の存在については明らかにされてこなかった。我々は、視覚刷り込みさせるためのトレーニング手順(図2)によって、刷り込みの臨界期で起こる分子レベルでの事象を知るべく一連の実験を行った。以前我々は、cDNA マイクロアレイと RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) を組み合わせた網羅的な解析によって、刷り込みトレーニング開始6時間後のヒナの IMM で、発現が上昇する遺伝子群を同定した¹⁸⁾。さらに我々は、刷り込み臨界期の開始を制御する分子メカニズムを明らかにするために、より早期に発現変化する遺伝子を単離すべく、刷り込みトレーニング開始1時間後において発現量に違いのある遺伝子群を以下の方法で同定した。孵化後1日目のヒナに対して1時間の刷り込みトレーニング

を行った後、大脳全体から RNA を抽出し、cDNA マイクロアレイと定量的 RT-PCR を行った。その結果、刷り込みに伴って発現上昇する 18 個の遺伝子を同定した⁶⁾。その中には Dio2 が含まれていた。Dio2 は、甲状腺ホルモンの前駆体チロキシン (T_4) から活性型トリヨードチロニン (T_3) への脱ヨウ素化を触媒する酵素である¹⁹⁾。甲状腺ホルモンは甲状腺で T_4 として合成され、血管中を循環し脳毛細血管の内皮細胞に到達する。これまで離巢性の鳥において、血漿中の甲状腺ホルモンの濃度が孵化の時期にピークを迎えることが報告されているが²⁰⁾、脳内での濃度変化に関する報告はなかった。*in situ* ハイブリダイゼーションを行うと、刷り込まれたヒナの脳内では、Dio2 の mRNA が、IMM を含む大脳全体で増加していることがわかった。詳しく見るとその発現は、脳毛細血管に限局していた。実際に免疫組織化学的な解析を行うと、Dio2 は脳血管内皮細胞のマーカーである P 糖タンパク質と共局在することがわかった(図3A~C)。また、抗 Dio2 抗体を用いたウエスタンブロットティングでも、Dio2 は毛細血管画分に検出された(図3D)。Dio2 はまた、聴覚刷り込みに関与する脳領域 MNM の毛細血管でも発現が増加していた。これは刷り込みの成立に視覚刺激と聴覚刺激が連携して作用する可能性を示唆する。

以上の結果は、脳血管内皮細胞が血中由来の T_4 を取り込み、細胞内に存在する Dio2 が T_3 に変換したあと T_3 が脳内に流入し、神経細胞に作用することを示唆する。この可能性をさらに検証するために、Dio2 阻害剤であるイオパノ酸 (IOP) やフロレティンを静脈注射したところ、やはり刷り込みが阻害された(図3E, F)。そこで実際に、Dio2 によって T_4 から T_3 へ変換されたかどうかを確認するために、¹²⁵I 標識した T_4 を静脈に注射した。その結果、¹²⁵I 標識された T_3 は脳内のほぼ全域で検出されたのに対して、¹²⁵I 標識された T_4 は、脳内ではほとんど検出されなかった。このとき IOP をあらかじめ静脈注射しておくことによって、脳内の¹²⁵I 標識された T_3 量は大幅に減少した。以上のことから、脳血管内皮細胞に存在する Dio2 によって T_4 は T_3 へと変換され、変換された T_3 が脳内に流入して神経細胞に作用すると結論した。また、脳の Dio2 の mRNA は孵化する3日前から徐々に増加し、孵化時にピークを迎え、その後横ばいになり孵化後5日まで定常状態に保たれることがわかった。ノザンブロットティングによれば、孵化後の Dio2 の遺伝子発現は、脳や肺に強く見られる。また、Dio2 の発現上昇は、IMM, MNM を含めたヒナの脳の広域において認められることから、孵化の時期に刷り込みを含む多様な脳の機能に関与すると考えられる。

さて、ニワトリヒナの IMM が視覚刷り込みにおいて重要な役割を果たすことは、細胞破壊実験の結果からも示さ

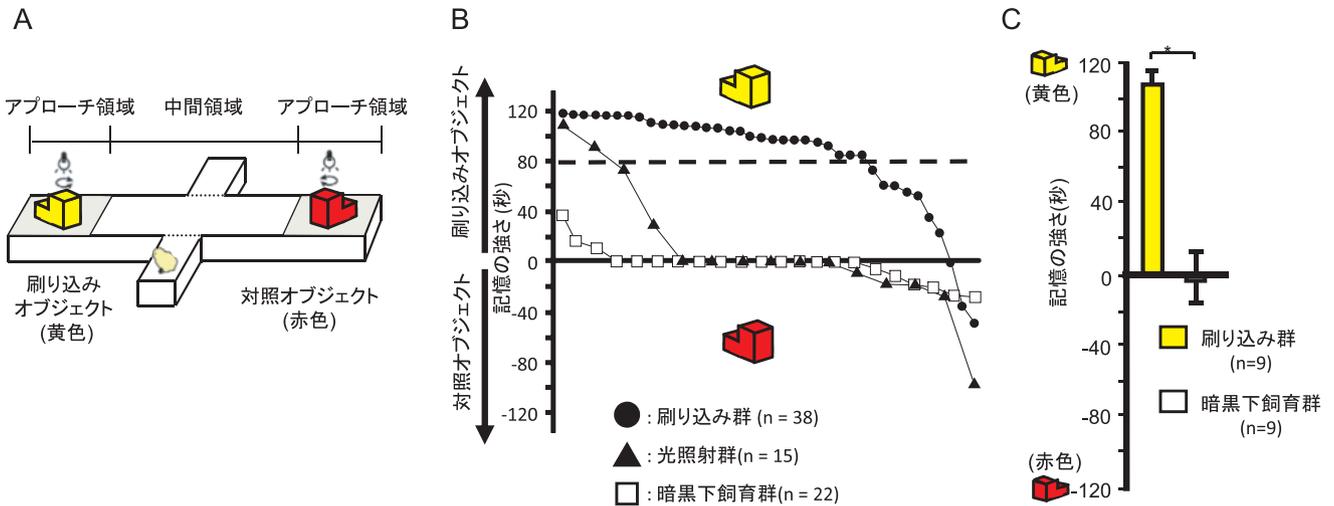


図2 実験室内でのヒヨコの刷り込み学習

(A) 刷り込みテスト装置。刷り込みトレーニングをさせたあとのテストは120秒間行う。ヒヨコは中間領域の中央からスタートさせ、刷り込みオブジェクト(黄色)と対照オブジェクト(赤色)のアプローチ領域の滞在時間をそれぞれ計測した。記憶の強さ(秒)は「刷り込みオブジェクト領域の滞在時間」-「対照オブジェクト領域の滞在時間」により算出した。(B) 刷り込み群、光照射群、暗黒下飼育群の記憶の強さ(秒)。一つのシンボルは1個体を表し、記憶の強い個体の順で示した。(C) 刷り込み群は、暗黒下飼育群と比べ刷り込みオブジェクトを強く記憶していた。

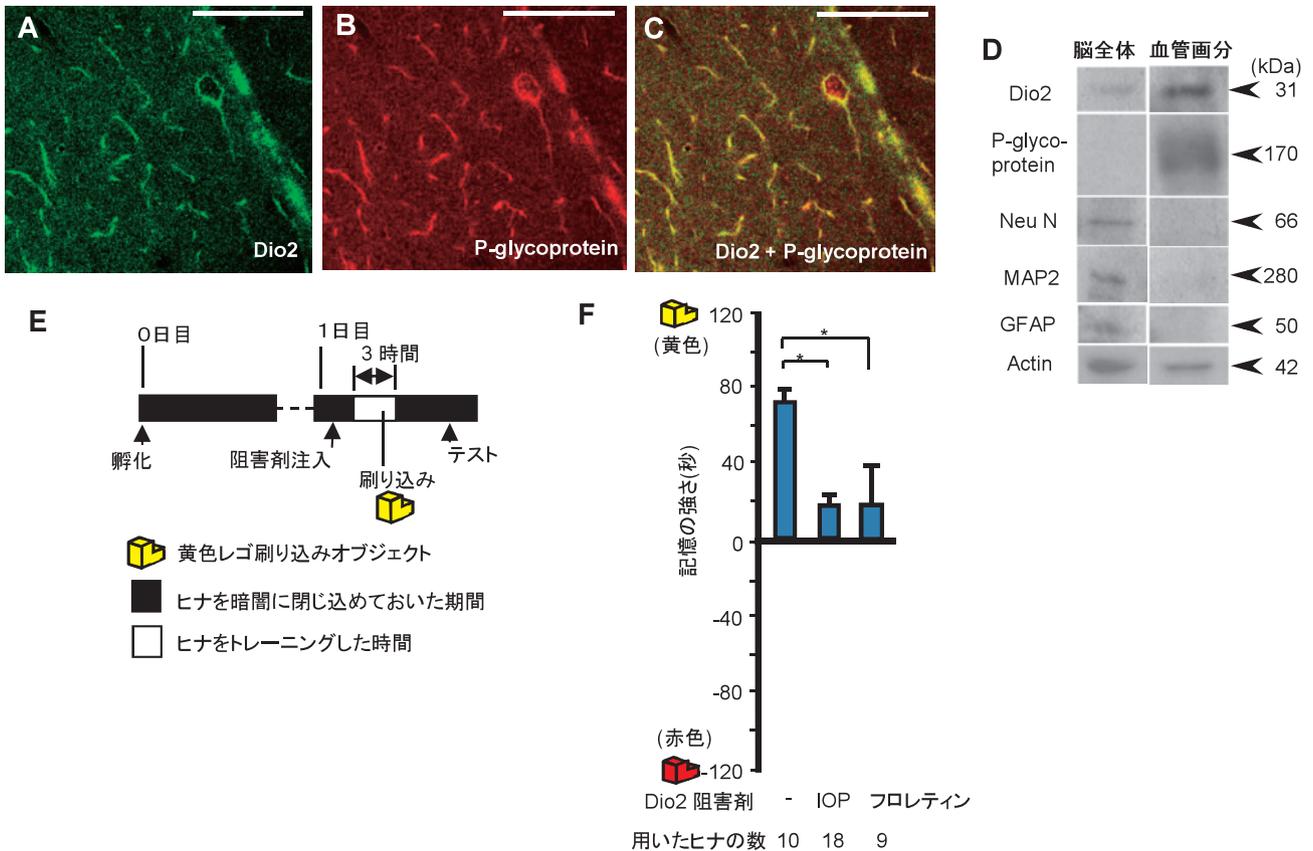


図3 Dio2の脳血管内皮細胞での発現と刷り込みへの関与

(A~C) Dio2の脳血管内皮細胞での発現を免疫染色により示した(A; 抗Dio2抗体, B; 抗P糖タンパク質抗体, C; AとBを重ねたもの。スケールバーは、200μmを示す)。Dio2は、血管内皮細胞のマーカータンパク質であるP糖タンパク質の局在とよく一致していた。(D) Dio2タンパク質は血管画分に画分された。(E) 刷り込みトレーニングとテストの実験計画を示した。孵化1日後にDio2阻害剤を静脈から注入し、その後、刷り込みのトレーニング、テストを行った。(F) Dio2阻害剤(IOP:イオパノ酸, フロレチン)の注入により、刷り込みが阻害された。

れている¹²⁾。我々も独自にイボテン酸を用いて局所的に細胞破壊実験を行った⁶⁾。すると、両側のIMM破壊によって刷り込みは阻害され、ヒナは刷り込み対象に対する好みを示さなくなった。T₃による作用メカニズムとして考えられることは、血管内皮細胞のDio2によってT₄から変換されたT₃が脳内へ流入し、神経細胞またはグリア細胞に存在するモノカルボン酸トランスポーターにより細胞内に取り込まれたのち、細胞質に存在する甲状腺ホルモン(T₃)受容体と結合すると推定される。実際、刷り込みは各種甲状腺ホルモンシグナリングの阻害剤(IOP: Dio2阻害剤, bromosulphthalein: BSP, モノカルボン酸トランスポーター阻害剤, NH-3: 甲状腺ホルモン受容体アンタゴニスト)をIMMへ注入することにより阻害された。

次に発達段階での胚とヒナを使い、脳と血清中における甲状腺ホルモン(T₃, T₄)の濃度を定量した。すると脳においては、T₃は孵化の6日前から徐々に増加し、孵化時にピークに達し、孵化から5日後にはバックグラウンドレベルに下降した(図4A)。T₄は脳内ではほとんど検出されなかった。一方、血清中では、T₄とT₃ともに孵化時にピークに達する濃度変化が検出された。さらに刷り込みト

レーニングを行ったヒナの脳内のT₃量は、対象群のヒナに対して1.7倍以上に増加した(図4B)。つまり孵化直後の脳内T₃量は、内在的な濃度上昇に加えて、刷り込みによる上昇分が付加されることになる(図8参照)。このとき、血清中の甲状腺ホルモン量(T₃, T₄)は、刷り込みトレーニングによって有意な差が認められなかったことから、脳内での刷り込みによるホルモン量の増加(T₃)は、血清中から脳内への取り込み量の増加を反映していることがわかった。

また、刷り込みトレーニングの時間を短くすることによって、good learner(覚えの良いヒナ)とpoor learner(覚えが悪いヒナ)を適度な割合に得ることができる。すると脳内のT₃量はgood learnerの方が多く、poor learnerの方が少ないことがわかった。すなわち、脳内での甲状腺ホルモン量(T₃)と、刷り込み学習の習得度の間には正の相関があるということである。このような結果からも、刷り込みには脳内への甲状腺ホルモン(T₃)の急速な流入が重要であることがわかる。

次に我々は、甲状腺ホルモン(T₃)の一過的な上昇が刷り込みに必要であるかどうかを調べる実験を行った。もし

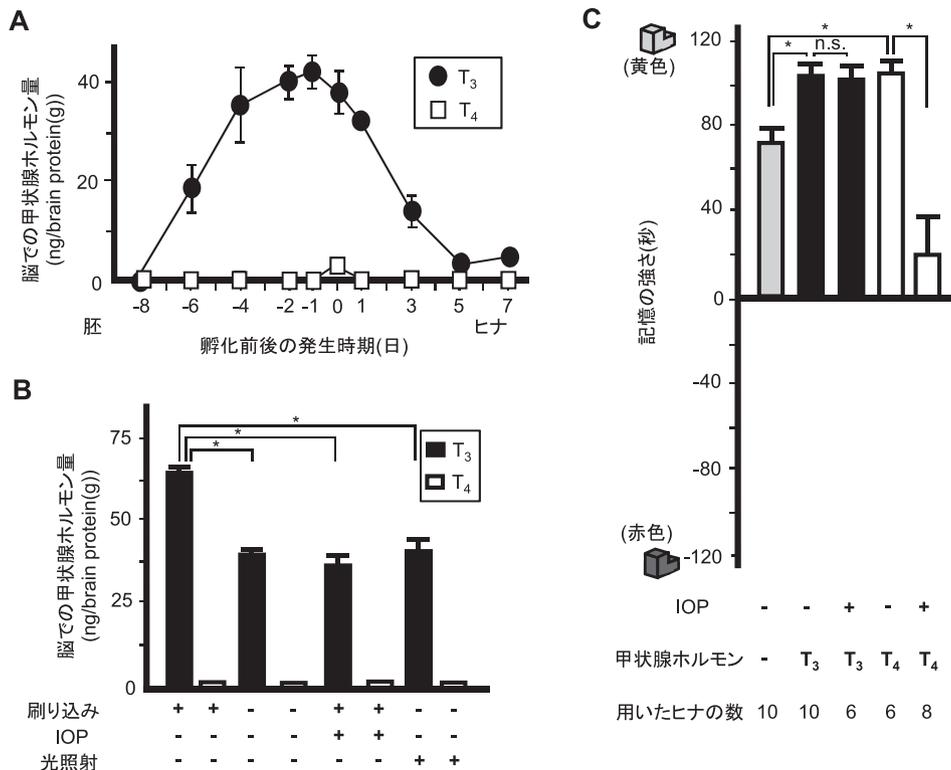


図4 甲状腺ホルモンの刷り込みへの関与

(A) 孵化前後のニワトリヒナ脳内の甲状腺ホルモン量を、ラジオイムノアッセイにより定量した。孵化前後で脳内のT₃量がピークを迎えたのに対し、T₄はほとんど検出されなかった。(B) 刷り込みにより脳内のT₃量は、孵化前後のピークからさらに増大した。(C) 孵化後1日目のヒナに対する甲状腺ホルモンの刷り込み学習への影響を解析した。IOP: イオパノ酸。

T_3 の一過的な濃度上昇が刷り込みに必要ならば、注射などによって脳内のホルモン濃度を一時的に高めてやれば、刷り込みの習得度が上昇するのではないか？ このような予想の下、孵化後1日目のヒナに T_4 を静脈注射するとヒナの刷り込み習得度は促進された(図4C)。そして、この促進効果はIOPの存在下で低下した。 T_3 を静脈注射してもヒナの刷り込みは促進されるものの、IOPの影響を受けなかった。IOPは、Dio2の T_4 から T_3 への触媒活性を阻害するので、生理的な条件下ではDio2によって T_4 から変換された T_3 が、刷り込みに必要な因子としての役割を果たすことが示唆された。

我々は次に、 T_3 の作用メカニズムについて検討した。これまで脳の発生過程では、 T_3 が欠乏すると学習や記憶に影響することが報告されている²¹⁾。その作用は発生段階で T_3 が長期間欠乏することによる遺伝子発現を介した(genomic)作用機構によるものと考えられる。

しかし最近、 T_3 の短時間での遺伝子発現に依存しない作用(non-genomic action)に関する報告が出てきている。例えば甲状腺ホルモン受容体によるシグナル情報伝達の下流に存在するPI3キナーゼ(phosphoinositide 3-OH kinase)/Akt経路が、素早いnon-genomic actionにより、心血管系に作用することが報告されている²²⁾。刷り込みの場合を考えると、静脈注射やIMMに直接注入された T_3 は30分以内に効果を示すことから、この場合も恐らくnon-

genomic actionを介して作用すると考えられた。そこで我々はPI3キナーゼの阻害剤であるワートマニン(wortmannin)をIMMに注入し、 T_3 の作用に及ぼす影響を調べた。その結果、 T_3 の静脈注射前にあらかじめワートマニンを注入しておく、 T_3 による作用が阻害されることがわかった。これは T_3 による急速なnon-genomic actionが、刷り込み学習の促進効果に必要であることを示す。

4. 刷り込みの臨界期を開始させる甲状腺ホルモン

我々は次に T_3 が刷り込みの臨界期に影響するかどうかを調べた。まず我々は、刷り込みの臨界期がいつ閉じるのかを解析した。ニワトリヒナの刷り込み臨界期の期間は、孵化後数日間と考えられる¹¹⁾。我々の解析の結果、刷り込みが起こるのは孵化後3日目までに限られ、4日目になると刷り込みが起こらないことがわかった。すなわち刷り込みの臨界期は4日目に閉じると言える。ところが、 T_3 をあらかじめ刷り込み学習の30分ほど前に静脈注射されたヒナは、孵化後4日目、6日目であっても刷り込みが起こることがわかった(図5)。これは甲状腺ホルモンが臨界期の扉を開く決定因子として作用できることを示す。すなわち T_3 は、一度失ったはずの学習能力を回復させたと考えられる。しかし、孵化後8日目や10日目になると、 T_3 を作用させてももはやヒナを刷り込み可能にすることはなかった。これは、これまで想像されてきたものとは異なる

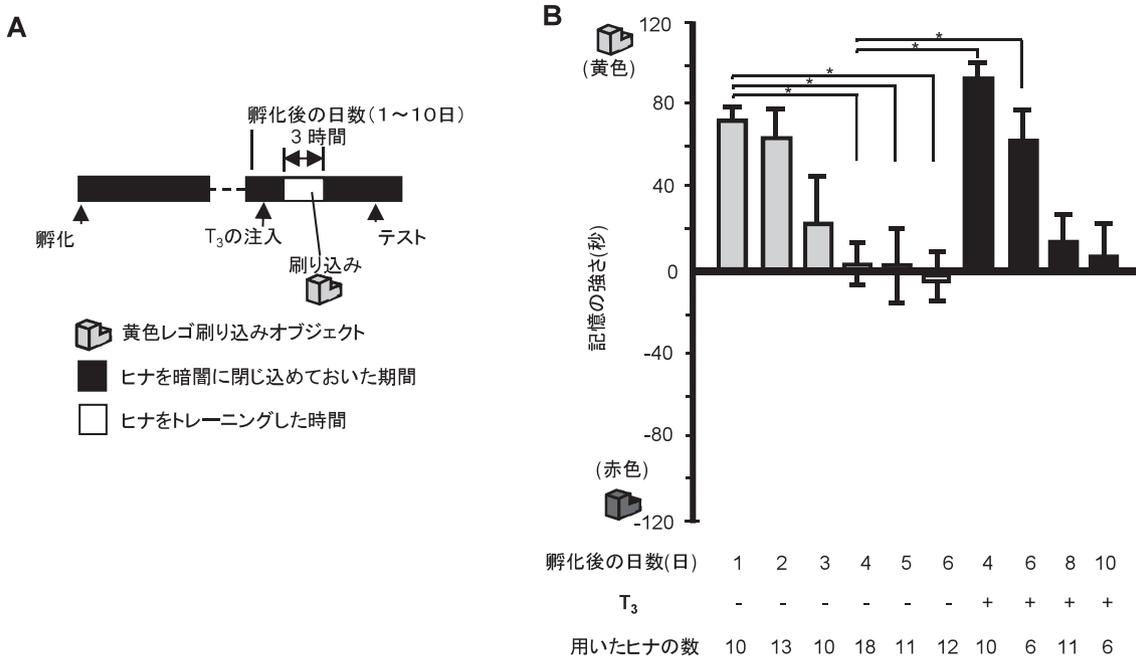


図5 甲状腺ホルモンによる臨界期の決定

(A) T_3 が刷り込みの臨界期に影響するかどうかを調べる実験計画を示した。(B) 孵化後のヒナを暗黒下で飼育後、図中に示した孵化後の日数で刷り込みトレーニングとテストを行った。刷り込みは、孵化後4日目には起こらず臨界期は閉じる。ところが、 T_3 をあらかじめ静脈注射されたヒナは、孵化後4日目、6日目であっても、刷り込みが起こることがわかった。

臨界期を閉じる因子の存在を示唆する。ここで重要なことは、 T_3 によって再び開いたと考えられる臨界期の意味である。これまで孵化後数日間を過ぎると刷り込みが起らなくなることから、一度閉じた臨界期の扉は再び開くことはないと考えられていた。臨界期という強い言葉が使われる場合があるのはこのためである。よって、孵化後4日目に降に T_3 によって臨界期が開くということは、これまでの常識から外れるものである。

一方で、ヒナを暗黒条件下で飼育することによって臨界期が伸びるという報告がある²³⁾。つまり生理的条件下では刷り込みは孵化後1日目に起こるが、暗黒条件下でヒナを飼育すると孵化後3日目までは何とか刷り込むことが可能であるというものである。しかし、一見暗黒条件下で引き起こされたかに見える臨界期の延長作用というものに我々は大いに疑問を呈したい。なぜならばヒナを暗黒条件下に置かずに光照射される条件下で飼育した場合であっても、孵化後3日目までは刷り込み可能であるからである。つまり刷り込みの学習臨界期は、あくまで学習の有無に依存し、暗黒下であろうが光条件下であろうが孵化後3日目までである、というのが正しい解釈と思われる。このような観点からも、臨界期が閉じた孵化後4日目で、 T_3 が臨界期を再開させるという作用は、これまでにない特異なものということができる。孵化後4日目において作用する T_3 の有効濃度は、孵化後1日目のヒナで起こる生理的な刷り込み条件から検出される T_3 の濃度と一致していた。これらの結果から我々は、刷り込みの臨界期の扉は、 T_3 というわずか一つのホルモンによって開かれると結論した。

次に我々は、孵化後4日目において施した T_3 の作用様式が、甲状腺ホルモン受容体(TR)を介した non-genomic action であるかどうかを調べた。すると、 T_3 の静脈注射の30分前に IMM へワートマニンを注入しておくこと、 T_3 の作用が阻害されたことから、 T_3 の作用様式は短期で、かつ TR を介した non-genomic action であることが示唆された。さらに、4日目のヒナに対する T_3 の作用は、甲状腺ホルモン受容体アンタゴニスト(NH-3)とモノカルボン酸トランスポート 8 阻害剤(BSP)を IMM へ注入することによって阻害されることがわかった。また、IOP を IMM へ注入することによっても、4日目ヒナに対する T_4 の作用は阻害された。これは、 T_4 から変換された T_3 によって、一度閉じた臨界期が再び開いたことを示す。

T_3 によって臨界期が開かれる作用は、いったいどの程度特異的なものと言えるのであろうか？ この答えの示唆を得るために、いくつかの対照実験を行った結果を以下に示す。たとえばノルエピネフリン、テストステロン、カフェイン、セロトニン、ドパミンといった薬物を IMM に注射しても、4日目のヒナが刷り込み可能になることはなかった。つまり、神経伝達、興奮、活動性等を誘導する薬

物であっても、 T_3 で見られたような効果は見られないということである。これは臨界期の開始を決定するという T_3 の作用が特異的なもので、一般的な興奮、活動性の高まりなどからもたらされたものではないことを示唆する。また、孵化後4日目のヒナに対する T_3 の作用は、刷り込みトレーニングは行わずに光照射下で継続的に飼育したヒナに対しても見られたことから、臨界期の決定因子として働く T_3 は、明暗の飼育状態によらず作用できることが示された。さらに IMM を破壊すると孵化後4日目のヒナに対する T_3 の作用が見られなくなることから、 T_3 の作用は孵化後1日目のヒナと同様に IMM を経由していることがわかった。

5. T_3 によるメモリープライミング(MP)

さらに我々は、1日目に一度刷り込みをされたヒナが、4日目に別の刷り込み対象に刷り込まれることを見いだした(図6A, B)。もちろん1日目に刷り込みトレーニングをしなければ、臨界期が閉じるので4日目での刷り込みは起こらない。この現象は、初めの刷り込みがヒナの二度目の刷り込みのプライミング(点火薬、起爆薬)となることを示唆する。このプライミングは記憶の内容(形、色)に関係なく引き起こされ、ヒナは新しい形、新しい色を覚えることができた。しかし、ヒナは二度目の物体を覚えた後も初めの物体を忘れてはなかった。すなわち刷り込みに対する記憶容量は飽和していない。これまで刷り込みの特徴として、一つのことを記憶して学習が成立すると新しいものに対する興味が減るということから、刷り込みの記憶容量には限界がある、という考え方が示されてきた²⁴⁾。我々の結果はそれに反するものかも知れない。おそらく自然界では孵化後しばらくの間、ヒナは母鳥と離れることがないために新しい親に興味に向かないだけで、何らかの理由で母鳥がいなくなれば、他の母鳥や兄弟などの仲間に愛着を示すようになるものと考えられる。

さて、おもしろいことに1日目の刷り込みによるプライミング効果は、孵化後4日目の刷り込みトレーニングの直前に NH-3(甲状腺ホルモン受容体アンタゴニスト)を IMM へ注入したり、IOP(Dio2 阻害剤)を静脈注射しても阻害されなかった(図6A, B)。これらのデータは、1回目の刷り込みによって引き起こされた T_3 の増加によるプライミングだけで、2回目の刷り込み能力を獲得するのに十分であったことを示す。実際、孵化後4日目に2回目の刷り込み学習をしても T_3 の濃度は上昇せず低いままであったことは、この予想を支持するものであった(図6C)。

このような実験結果と合致するかのようになり、今度は孵化後1日目に刷り込み学習をさせずに、代わりに T_3 を注射してその後4日目に刷り込み学習させると、ヒナはしっかりと刷り込まれた(図7A, B)。そしてやはり、 T_3 による

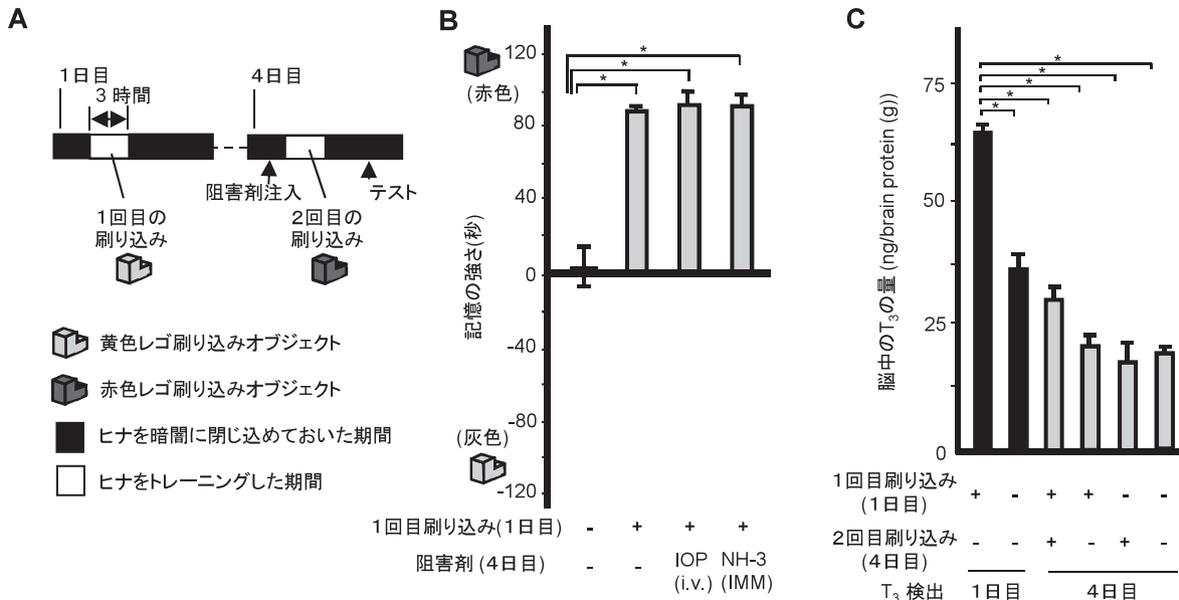


図6 1回目の刷り込みによる2回目の刷り込みのプライミング

(A) 1回目の刷り込みが、2回目の刷り込みに与える影響を検討する実験計画を示した。孵化後1日目のヒナに黄色のレゴブロックで刷り込みトレーニング(1回目)を行い、4日目に赤色のレゴブロックで刷り込みトレーニング(2回目)を行った。(B) 1日目に刷り込まれたヒナは、4日でも別の色のレゴブロックに刷り込まれた。一方、1日目に刷り込みトレーニングを行わなかった対照群のヒナは、4日目では刷り込まれなかった。(C) 4日目に刷り込みトレーニングを行っても、1日目のトレーニングの有無に関わらず、脳内の T_3 量は上昇しなかった。すなわち、孵化後1日目の刷り込みによる T_3 量の増加によって引き起こされたプライミングだけで、2回目の刷り込みを可能にする能力が獲得されるためには十分であったことを示す。

このプライミング効果は、孵化後4日目のトレーニング前のNH-3の注入によっては阻害されなかった。これは孵化後1日目の視覚経験(刷り込み)がなくても、 T_3 量がある閾値を一度超えてしまえば、その数日後のヒナを刷り込み可能にするには十分であることを示す。これは T_3 の注入によって臨界期が延長され、事実上あたかも、学習(刷り込み)がいつでも習得可能になったかのように見える。実際、1日目に T_3 を注射してプライミングしておけば、1週間を超えて孵化後8日目であっても刷り込みが可能であった(図7C, D)。我々は T_3 により与えられるこの能力をメモリープライミング(MP)と命名した。また臨界期が閉じた孵化後4日目の T_3 の注入であっても、8日目の刷り込みは可能であった。以上の結果は、一度MPを獲得すれば、そのプライミング効果はかなり永続的で、しかも実際の感覚情報による経験は必要ないことを示す。

これらの実験結果から我々は、 T_3 によるプライミング効果が、刷り込み以外の学習にも及ぶのではないかと考えた。するとやはりその答えはYesであった。孵化後1日目に T_3 を注入されるか、または刷り込みされたヒナは、その後4日目に色の識別に基づいた強化学習をさせると格段に効率よく習得できることがわかったのである⁶⁾。これはホルモンによるプライミング効果の及ぼす影響が、刷り

込みといった一部の早期学習のみならず、後の学習にまで及んでいる可能性を示唆する点で興味深い。

6. 脳の発達可塑性との比較

脳の発達可塑性に関してははっきりとした臨界期を有するものが、いくつか知られている¹⁾。ネコヤサルの大脳一次視覚野のIV層では、右眼ないしは左眼からの入力を選択的に受ける細胞同士が集まって縞状の分布を示している。このような構造は眼優位性カラム(ocular dominance column)とよばれるが、このカラム形成にも臨界期が存在し、単眼遮蔽することによる異常な発達をした場合には、立体視ができなくなる²⁵⁾。眼優位性カラムの形成に関する研究は、ヒューベル(David Hubel)とウィーゼル(Torsten Wiesel)によるネコを使った研究²⁶⁾が有名であり、単眼遮蔽の効果が現れるかどうかは、目が開いた後の臨界期の間に遮蔽したかどうかによる。眼優位性カラムの臨界期の開始は、視覚野のGABAニューロンを介した伝達系の成熟を阻害することにより遅らせることができる²⁵⁾。これは眼優位性カラムの臨界期の開始が、抑制性伝達系の適度なレベルに依存することを示唆する。同様な観点から、ヒナの刷り込みにおいて甲状腺ホルモンのシグナリングとGABAシグナリングとの関係性を研究することは興味深い。しかし、眼優位性カラムの臨界期の開始に大きな影響を及ぼす

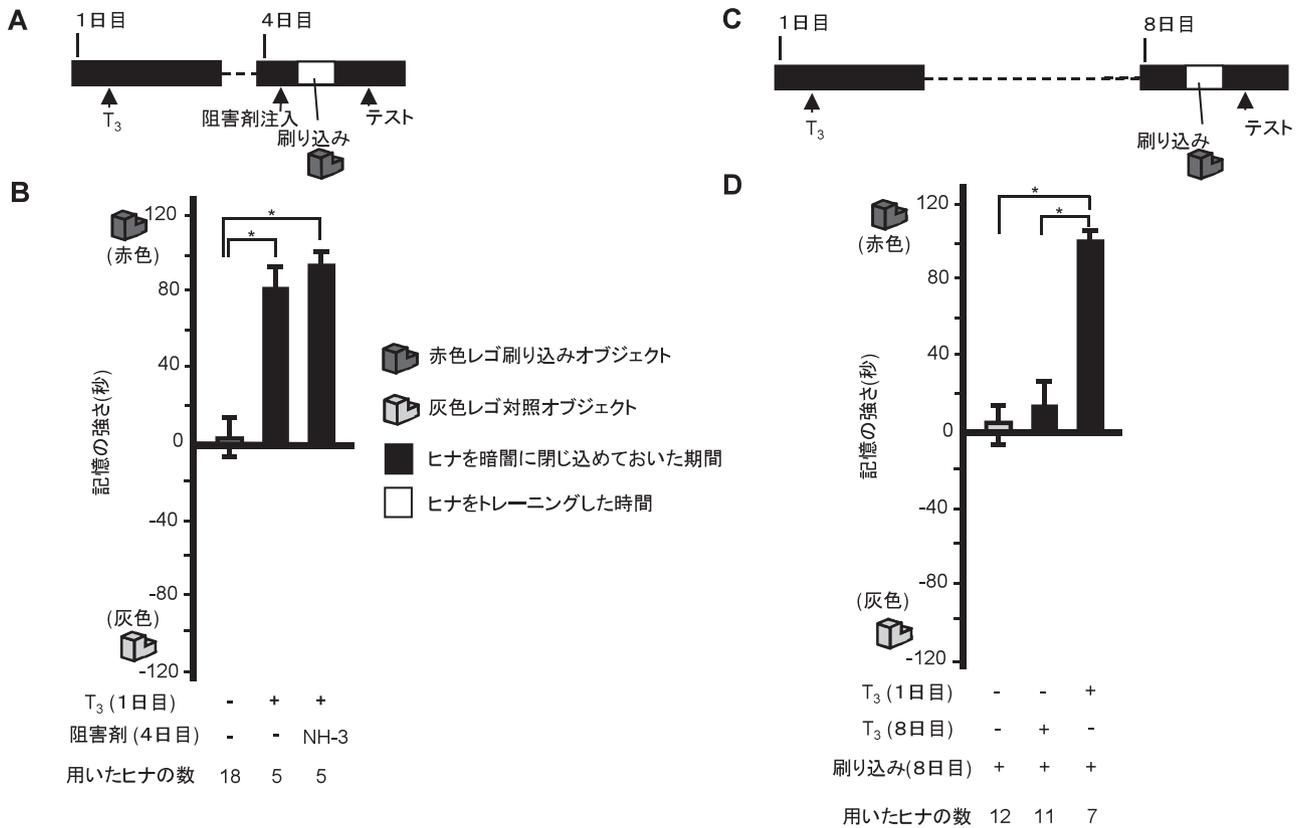


図7 甲状腺ホルモンによる刷り込みのプライミング

(A, C) 1日目に静脈注射した甲状腺ホルモン (T₃) による孵化後4日目での刷り込み, または8日目での刷り込みに与える影響を検討する実験計画を示した図. 1日目にT₃を注射したヒナを4日目まで (または8日目まで) 暗黒下に飼育し, その後刷り込みトレーニングを行った. (B, D) 孵化後4日目ではすでに臨界期を過ぎており, 刷り込みトレーニング前にT₃を注射しなければ刷り込みは起こらない. 8日目ではT₃を刷り込みトレーニング前に注射してももはや刷り込みは起こらない (対照群のヒナ, 図5参照). このような条件下で1日目にT₃を注射したヒナは, 4日目でも8日目でも刷り込みが成立した. これは孵化後1日目に与えたT₃量の増加によってメモリープライミング (MP) が引き起こされ, 刷り込みが可能になったことを示す. MPは, 刷り込みトレーニング前に甲状腺ホルモン受容体アンタゴニスト (NH-3) を注射しても阻害されないため, 一度MPが与えられれば, 刷り込みの実行過程でのT₃によるシグナリングは必要ないことがわかる.

GABA アゴニストの効果は, 刷り込みの場合には見られないし, またプライミング活性もないことから (未発表データ), 両者の分子メカニズムはかなり異なっているものと思われる. 眼優位性カラムの形成と刷り込みは, 両者とも経験依存の神経可塑性を示す例として比較されてきた経緯があるが, 前者は数週間を要する脳神経系の発生可塑性が主な問題であるのに対し, 後者はわずか30分程度の脳の機能的な変換あるいは成熟が主な問題であるといえる. よって刷り込みを研究対象とした場合, 学習の習得や記憶の成立など, より機能的な変化に注目した解析に比重を置くべきであろう. 一方, 臨界期が閉じるメカニズムに関してはどうであろうか? マウスにおける眼優位性カラムの形成に関する臨界期は, 神経のミエリン化によって神経回路の機能的な可塑性が阻止されることが原因となって閉じるという報告がある²⁷⁾. 刷り込みにおいても, 神経のミエリン化が進むと, T₃による作用メカニズムに対して抑制的に働いていく可能性がある.

シナプスタグ仮説²⁸⁾によれば, 一つのシナプスへの強いテタヌス刺激は局所的なタグの位置を決定し, 可塑性関連タンパク質 (PRPs) が合成される. mRNAをシナプスに運ぶPRPsは, タグのついたシナプスに捉えられ, その結果形成される複合体は, 後期長期増強 (late-LTP) の維持に必要とされる. シナプスレベルでのこのような分子の動きが, 記憶形成の基盤となっているか否かについては不明だが, T₃の下流でシナプスタグのような分子メカニズムがあるとすれば, 刷り込みにおいて学習が成立するための記憶形成が, このようなシナプスの永続的な分子変化を基盤としている可能性が考えられる.

甲状腺ホルモンは, 細胞の分化や代謝, および個体の成長において重要な役割を果たすことが知られている¹⁹⁾. 例えばヒトの脳の発達中でT₃が欠乏すると, 学習と記憶の障害を含む不可逆的な精神障害や重篤な神経障害を起こすことが報告されている²¹⁾. この場合, T₃は遺伝子発現を介して機能する (genomic action) と考えられる. しかし,

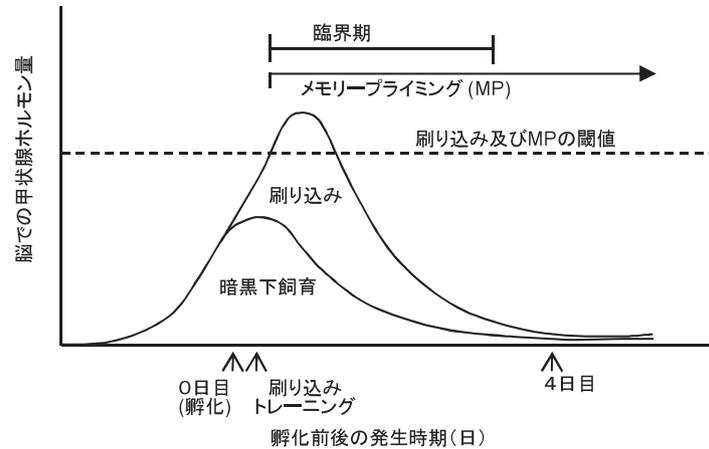


図8 甲状腺ホルモンによる臨界期とメモリープライミングの開始
脳内の甲状腺ホルモン量は、刷り込みトレーニングにより上昇する。
甲状腺ホルモン量がある閾値を超えることで刷り込みの臨界期が開始
され、メモリープライミングが引き起こされる。

今回我々が示したような刷り込みにおいては、 T_3 は神経細胞の細胞質でTRと結合した後、遺伝子発現に依存しない作用(non-genomic action)を介して作用していると考えられる。これは刷り込みにおける T_3 の作用が、これまでよく知られてきたgenomic actionとは異なる特徴を有していることを意味する。我々の結果によれば、刷り込みに必要な脳領域であるIMMにおいては、閾値を超えた T_3 の波が脳内へ流入すると、non-genomicな作用様式を介したメカニズムによって脳がプライミングされる(図8)。non-genomicな作用は、一過的にわずか数10分で細胞内へシグナルを伝達する。このことから、 T_3 の作用は、脳の機能的な変換を促すことで学習の効率上昇に寄与するのであって、慢性的で病的な異常興奮状態を引き起こしているのではないと考えられる。実際、 T_3 を注射されたトリは、運動性が向上しているわけでも興奮性が高まっているわけでもない。トリをよく観察すると刷り込み対象に対する好みの判断が、早くて確となり、その決断にブレが少なくなっているように見える。このようないわゆる“冴えた”状態は、カフェインなど興奮性を高める薬物をヒナに与えても見られるものではない。

メタ可塑性(metaplasticity)といわれる概念がある。主に細胞レベル、あるいはスライス切片を用いた実験から、一回目の活動刺激によって神経やシナプスの電気生理学的状態が変化し、二回目の刺激によって、長期増強(LTP)や長期抑制(LTD)が導かれるというものである²⁹⁾。現在のところ、学習とメタ可塑性の関係性は明らかでないが、我々は T_3 の一過的な濃度上昇がプライミング因子としての役割をもたらし、臨界期が閉じたあとでも学習能力が得られることを示した。MPはメタ可塑性の*in vivo*での典型的な例と言えるかも知れない。MPは一度動物が獲

得すれば長い期間維持されるもので、もしかすると生涯その効果が維持されるものかもしれない。刷り込みの記憶としての強さや、忘れにくいという不可逆性も、MPによって説明できる部分がある。

これまでも刷り込みの臨界期に影響するホルモンの例がいくつか報告されている。例えばアヒルのヒナにおけるコルチコステロン濃度の上昇が、臨界期の終結を導くのではないかという報告がなされた。しかし、その後コルチコステロンによる作用は間接的であり、副次的に臨界期が閉じたと考えられた³⁰⁾。 T_3 の作用に見られたような、一度閉じた臨界期を開き、刷り込みを可能にした物質は今回が初めてである。これは刷り込みにおける臨界期の始まりが、わずかに一種のホルモンの制御されることを示す。 T_3 によってプライミングされると、シナプスレベルでの永続的な電気生理学的あるいは形態的变化が引き起こされ、可塑的な状態が維持されている可能性がある。神経回路が学習によって、迅速かつ永続的に変化することは以前より予想されてきたことでもある。プライミングの影響が、例えば棘突起の数や形態変化に及ぶことで脳力の獲得の基盤となっていることが考えられる。

7. 学習の階層性に関する考察

我々は、刷り込み学習を習得することが、その後の学習の習得過程にも影響すると考えている。我々のデータから、甲状腺ホルモンによってMPが賦与されることで、後の学習をプライミングし、学習習得能力を確立させていくという流れが示唆される。しかし、これまでの刷り込み研究からこのような学習の階層性が指摘されることはなかった。例えば、我々の解析している親子関係の刷り込みとは異なるが、性的刷り込み(将来の伴侶を決める刷り込み)

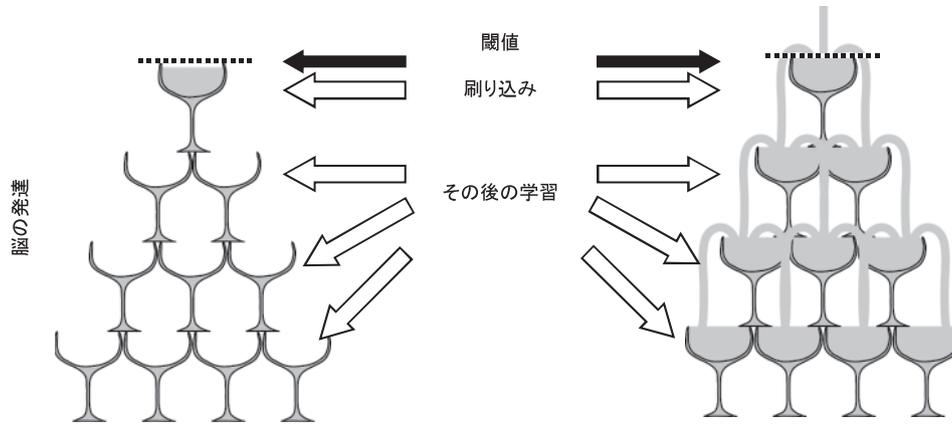


図9 シャンパンタワーを使った学習の階層的モデル

頂点のグラスは刷り込み学習を示し、二段目以下のグラスはその後の学習を示す。シャンパンは刷り込み (T_3) によってもたらされる MP の流れを示す。グラスの容量はそれぞれ学習の閾値を示す。(左) MP の流れが閾値に達しないと刷り込みは成立せず、その後の学習もできない (学習臨界期が閉じる)。(右) MP の流れが頂点のグラスから溢れると、二段目以下のグラスも順々に満たされる。つまり MP の流れが閾値を超えると、その後の学習をプライミングできるようにする (学習臨界期は閉じない)。学習臨界期は、MP が発達の適切な時期に閾値を超えるだけの量を与えられなかった時に閉じると考えられる。

においては、多くの空箱からなる一つの学習の記憶容量が、刷り込み学習によって徐々に消費されていくと仮定され、ボールで表される学習の頻度によってつぎつぎと空き箱が満たされていくという学習モデルが提案されている²⁴⁾。空き箱がボールですべて満たされると、もうさらなる記憶はできないというモデルである。新たな記憶を避け、これまでの記憶を強く固定するということを説明するのに適したモデルと考えられる。しかし、このモデルにプライミングの特徴を取り入れ、さらに第二の刷り込みが起こるといふ我々のデータをこのモデルで説明することは難しい。我々は現在、「シャンパンタワー (どうやら日本が発祥らしい)」を用いた学習モデルを提案している (図9)。このモデルにおいては、シャンパングラス (それぞれのグラスが学習を表す) はピラミッド状に積み、シャンパン (プライミング因子 T_3 によってもたらされる MP の流れ) は頂点のグラス (刷り込み) へ注がれ、それが溢れると下の層のグラス (後の学習) へ滴り落ちる。シャンパンが限られた時間内にそれぞれのグラスを満たさないと、臨界期は終わる。MP は明確な閾値を持ち、それはグラスの容量に対応する。もしシャンパンのレベルがグラスの容量を超えたら、溢れた MP は次の層のグラス (後期学習) に注がれる。我々のモデルによれば、学習は大小の違いはあるものの固有の臨界期をもち、発達初期からレベル別に階層上に配置されている。一つのグラスから注がれる MP の流れは、複数の下層のグラスに注がれることとなる。また、一つの学習にも複数の学習由来の MP が流れ込む可能性がある。すなわちある学習の習得を可能とするポテンシャルは、複数の学習から由来する場合があるということであ

る。恐らく MP を生み出すプライミング因子も、 T_3 のみではなく他にも存在すると考えられる。この学習モデルは、よく巷でいわれるようなホップ、ステップ、ジャンプという表現で階段を一つずつ上がっていく学習モデルとは異なり、一度グラスが MP で満たされてしまえば、その後はその学習はいつでも実現可能であることが表現されている。刷り込みの忘れにくさ (不可逆性) も MP によって説明されると考えられる。もし階層的に上位の学習によらなくても、人為的に MP を与えることができれば、下位に位置する学習の習得が可能となる。

我々の結果は、MP が動物の発達、特に早期の段階において重要であり、後の学習のプライマー (点火薬、起爆薬) となることを示唆する。刷り込みという学習は、 T_3 というホルモンを介して MP を生み出す早期学習の一つとして捉えることが可能である。我々は MP が脳に賦与されると、神経回路レベルでの変更をもたらすと考えている。しかし回路全体に影響する変更なのか、局所的な変化なのかは不明である。プライミングの分子機構自体には、視覚経験などの感覚情報は必要でないが、プライミングが賦与される時のきっかけは、経験と連動することによって与えられると考えられる。そして、一度プライミング状態を獲得すれば、学習の臨界期が始まり、その扉は開いたままとなる。刷り込みのケースでは、MP が学習経験 (刷り込みトレーニング) と同時に与えられることから、これまで MP という概念が独立した実体として見えてこなかったものと考えられる。しかし刷り込みの MP が T_3 によって与えられることが明らかになった今、その姿を明確に捉え、その分子機構を解析することが可能となった。MP を賦与

できる第二、第三の因子が今後見つかっていくことも考えられる。

ところで、果たして臨界期が閉じるということに合目的な意味はあるのだろうか？ 自然環境下では、ヒナは親や兄弟の助けを借りながら自発的に学習し、MPを獲得すると考えられる。MPが獲得されると臨界期は開いたままとなるので、学習臨界期は普通の生理的な状態では閉じないと考えることが適当である。そうであるならば、MPが発達の適切な時期に与えられなかった時のみ臨界期は閉じると言える。その意味で臨界期とは、病的な条件下でのみ出現する人工的な状態と言えるかも知れない。言い換えれば、学習によって臨界期の扉が開かれ、ひとたび習得すれば閉じることはない。一方、学習しなければあたかも開いていた臨界期の扉が閉じたように見えるが、実は臨界期はそもそも始まっていなかったという見方である。なぜなら学習こそが、臨界期の扉を開く存在であるからである。これまで刷り込みなど学習そのものに対して、臨界期、あるいは感受性期という言葉が用いられてきたが、我々の結果から、プライミングにも臨界期という言葉で定義して与えることが可能となった。つまり、刷り込みの場合、学習(刷り込み)臨界期は、孵化後3日間だが、プライミングの臨界期は、孵化から6(8)日目までと定義することができる。学習臨界期がプライミング臨界期より短いのは、孵化後の時間が経過すると、学習に依存しない内在的な T_3 濃度が低下して、学習による T_3 量の上積みをもってしてもプライミングに必要な有効濃度(閾値)に達しなくなるからと解釈できる。学習臨界期が閉じた(あえてここではこのように表現する)直接的な生化学的理由は、内在的なホルモン量が低下してプライミング賦与能力を失ったため、ということになる。学習を“実行や行為”に例えるならば、プライミングは、“ポテンシャルや潜在能力”に例えることができる。学習(刷り込み)する生理的な意義は、プライミング能力を賦与すること、という新しい考え方を提案したい。最近では、単一の物質(遺伝子)の変化が動物の行動変化をもたらすという報告も増えてきているが、本研究は、行動(刷り込み学習)自体が物質の変化を誘起することで、次の行動(学習)を獲得する能力を賦与する、という興味深い例と言える。学習の構造がこのような階層的な側面を有していることは、動物の生存や種の維持のために必須であった訳ではないかもしれない。しかし、学習能力の高低は、高等な動物になればなるほど知性の発達とも絡み、重要になっていくと思われる。学習がホルモンを介して学習をプライミングしていく分子機構を明らかにしていくことは、動物“種”としてではなく、“個”としての成熟過程を見ていくことに他ならない。我々が、学習を生化学的に解析していくことの意義としてこだわり続ける理由もここにある。

8. おわりに

臨界期を有する学習では、孵化直後の親子間の刷り込みの他にも、将来の伴侶を探す性的刷り込み、ソングバードにおける歌学習がある。ヒトにおいても、言語の習得、絶対音感、社会性やストレスへの適切な対応能力の獲得など、幼若期で習得することが不可欠な学習が存在する。今回の我々の研究成果は、臨界期の分子基盤を明らかにするとともに、学習の臨界期を逃しても、再び臨界期を人為的にもたらすことが可能であることを示した。さらに、学習を先延ばしにしたとしても、あらかじめプライミングしておくことによって、いつでもその後の習得を保証するような薬の開発など、これまでになく新しい研究アプローチを開拓する端緒となることが期待される。

文 献

- 1) Knudsen, E.I. (2004) *J. Cog. Neurosci.*, **16**, 1412-1425.
- 2) Lorenz, K. (1935 (in German)) *J. Ornithol.*, **83**, 137-213; 289-413.
- 3) Horn, G. (2004) *Nat. Rev. Neurosci.*, **5**, 108-120.
- 4) Matsushima, T., Izawa, E., Aoki, N., & Yanagihara, S. (2003) *Zoolog. Sci.*, **20**, 395-408.
- 5) Izawa, E., Yanagihara, S., Atsumi, T., & Matsushima, T. (2001) *Neuroreport*, **12**, 1743-1747.
- 6) Yamaguchi, S., Aoki, N., Kitajima, T., Iikubo, E., Katagiri, S., Matsushima, T., & Homma, K.J. (2012) *Nat. Commun.*, **3**, 1081.
- 7) Bolhuis, J.J., de Vos, G.J., & Kruijt, J.P. (1990) *Q.J. Exp. Psychol.*, **42B**, 313-329.
- 8) Spalding, D.A. (1872) *Nature*, **6**, 485-486.
- 9) Heinroth, O. (1911) in *Verhandlungen des V. Internationalen Ornithologen-Kongresses in Berlin. Beiträge zur Ethologie, namentlich der Ethologie und Psychologie der Anatiden* (Schalow, H. ed.), Vol. 30, pp. 589-702, Deutsche Ornithologische Gesellschaft, Berlin.
- 10) Horn, G. (1998) *Trends Neurosci.*, **21**, 300-305.
- 11) Hess, E.H. (1959) *Science*, **130**, 733.
- 12) McCabe, B.J., Horn, G., & Bateson, P.P. (1981) *Brain Res.*, **205**, 29-37.
- 13) Horn, G., Bradley, P., & McCabe, B.J. (1985) *J. Neurosci.*, **5**, 3161-3168.
- 14) Horn, G., McCabe, B.J., & Bateson, P.P. (1979) *Brain Res.*, **168**, 361-373.
- 15) Maier, V. & Scheich, H. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 3860-3864.
- 16) Rollenhagen, A. & Bischof, H.J. (2000) *Neurobiol. Learn. Mem.*, **73**, 101-113.
- 17) Nakamori, T., Sato, K., Atoji, Y., Kanamatsu, T., Tanaka, K., & Ohki-Hamazaki, H. (2010) *J. Neurosci.*, **30**, 4467-4480.
- 18) Yamaguchi, S., Fujii-Taira, I., Katagiri, S., Izawa, E., Fujimoto, Y., Takeuchi, H., Takano, T., Matsushima, T., & Homma, K.J. (2008) *Brain Res. Bulletin*, **76**, 275-281.
- 19) Yen, P.M. (2001) *Physiol. Rev.*, **81**, 1097-1142.
- 20) McNabb, F.M. (2006) *Gen. Comp. Endocrinol.*, **147**, 93-101.
- 21) DeLong, G.R. (1989) in *Observations on the Neurology of En-*

- demic Cretinism (DeLong, G.R., Robbins, J., & Condliffe, P.G. eds.). pp. 231-238, Plenum Press.
- 22) Klein, I. & Ojamaa, K. (2001) *N. Engl. J. Med.*, **344**, 501-509.
- 23) Bolhuis, J.J. (1999) *Behav. Brain Res.*, **98**, 245-252.
- 24) Bischof, H.J. (1985) in *Brain Plasticity, Learning, and Memory: Advances in Behavioral Biology* (Will, B.E., Schmitt, P., & Dalrymple-Alford, J. eds.). Vol. 28, pp. 51-59, Plenum Press.
- 25) Hensch, T.K. (2005) *Nat. Rev. Neurosci.*, **6**, 877-888.
- 26) Hubel, D.H. & Wiesel, T.N. (1998) *Neuron*, **20**, 401-412.
- 27) McGee, A.W., Yang, Y., Fischer, Q.S., Daw, N.W., & Strittmatter, S.M. (2005) *Science*, **309**, 2222-2226.
- 28) Redondo, R.L. & Morris, R.G. (2011) *Nat. Rev. Neurosci.*, **12**, 17-30.
- 29) Abraham, W.C. (2008) *Nat. Rev. Neurosci.*, **9**, 387-399.
- 30) Weiss, J., Kohler, W., & Landsberg, J.W. (1977) *Dev. Psychobiol.*, **10**, 59-64.
-