

ランウェイ・テストを指標としたラットの 情動反応性の選択交配：3 — 生物学的適応 —

筑波大学心理学系 加藤 宏

Selection for high and low emotional reactivity based on the runway test in the rat: 3
— Biological fitness —

Hiroshi Katoh (*Institute of Psychology, University of Tsukuba, Ibaraki 305, Japan*)

The purpose of the present study is to investigate some indices of biological fitness of the Tsukuba High (THE) and Low Emotionality (TLE) strains of rats. THE was heavier than TLE in body weight in both sexes at 59 days of age. Mean litter size at weaning was not different two lines over all generations, but both lines had their litter size declined from G_0 to G_{10} because of inbreeding depression, and then recovered. The proportion of mated females giving birth was larger in TLE, and the TLE strain showed larger fluctuation from generation to generation. Time from mating to birth was longer in TLE than THE. Proportion of pups dying before testing was equal in two lines. Mean number of pups surviving until testing per mated female was not different. Finally, biological fitness of two lines was discussed.

Key Words: behavior genetics, inbreeding depression, emotional reactivity, selection experiment, fitness

1972年に藤田により開始されたラットの情動反応性に関する選択交配実験は1986年9月現在選択第38世代(以降 G_{38} のように略す)を数えるに至っている。この選択交配の過程におけるランウェイ・テスト各指標スコアの世代間の推移については中村(1981)に詳しい。中村には G_{18} までの選択実験の結果がまとめられているが、その概略を述べれば、 G_{18} までの期間に選択指標である通過区画数では、始め性差のみ見られていたのが、次第に系統差が顕著になり両系の通過区画数のスコアの重なりは殆どみられない状態にまで分離していた。すなわち、高情動反応性系の低移動活動(フリージング)、低情動反応性系の高移動活動という選択特性は、両系とも強い遺伝的規定をうけており、この特性については母親交換などの初期経験要因操作によっても、また薬物投与などの実験操作によってもほとんど影響を受けないことが確認されている(藤田ら, 1980)。

ランウェイ・テスト場面で得られたその他の測度には、従来の研究で情動反応性の指標とされてきたものも含まれているが、これらの測度についても、世代が進むにつれてその系統差は顕著になり、しかもその変化の方向は過去の選択実験と一致していた(Hall, 1951, Broadhurst, 1960)。特に排便数については、藤田は情動反応性の選択指標としてランウェイ・テストでの移動活動量を用いたのに対し、HallもBroadhurstもオープン・フィールドでの排便を直接選択指標としているが、これら3研究とも排便数と情動反応性の関係が一致したことは興味深い。すなわち、情動喚起場面における高情動系の高頻度排便、低情動系の低頻度排便の現象である。また、上記3研究では、いずれも高情動系の方が体重が重かった。身体的特性である体重と情動反応性との間に実験装置も異なる複数の研究で同方向の相関関係が得られたことは、行動特性と生物学的適応の

関連の問題の上からも重要である。

さらに、藤田は1984年にこの二系のラットをそれぞれ THE : Tsukuba High Emotionality (従来 H 系と呼ばれていたもの) と TLE : Tsukuba Low Emotionality (同 L 系) と命名し登録した (Fujita, 1984)。また、その行動特性については、種々の実験事態における系統比較研究から、中村 (1980) により、THE 系は種々の情動事態において閉鎖的、受動的にその環境に対処しており、一方 TLE 系は情動事態でも環境に積極的かつ外向的に対処する傾向を示すと総括されている。現在、両系のもつ系統特異的な特性については、50 をこえる行動比較実験と生理・生化学的側面・遺伝学的側面についての比較研究が行われ、その生物学的側面についても分析が進められている。本研究では、体重、産仔数、妊娠率、適応度といった両系の基本的な生物学的適応について選択交配実験の進行を追って検討することを目的とする。さらに、選択交配、兄弟交配によって近交弱勢 (inbreeding depression) がひき起こされているかについても考察する。

方法

被験体

基礎集団 (G_0) としては遺伝的にできるだけヘテロジェニックな集団であることが望ましいので 2 軒の動物商から購入したウイスター系ラットと実験室で維持してきたウイスター系ラットとを無作為交配してできた仔の中から無作為に雌 70 匹、雄 70 匹を抽出したものを基礎集団とした (中村, 1981)。1986 年 9 月現在両系とも選択第 39 世代に達しており、 G_1 から G_{38} の間で交配雌は 2674 匹、出産雌は 2018 匹、離乳時まで生存した仔の総数は 13964 匹、さらにランウェイ・テストは G_{35} まで行われたが、テストを終了した被験体の総数は 11991 匹であった。ランウェイ・テストでは発育不良のもの、その他障害のみとめうるものは除外された。

装置

黒色のランウェイ装置 (150×20×45cm)。ふたをされた暗い出発箱と明るい走路 (85lx) からなる (藤田ら, 1980)。ランウェイ装置は G_0 から G_{30} までは木製のものが用いられたが、 G_{31} 以降はアクリル樹脂製に変更された。移動活動の測定も実験者による観察法から 7 対の赤外線ビーム投受光器と実験制御用マイクロ・コンピューター (Commodore 社, VIC1001) と自作インターフェイスからなる自動測定システムに変更された。自動測定への変更にあたっては、特に選択指標である移動活動量について、

あらかじめ実験者による観察法との一致がほぼ 100 パーセントになることが確かめられた。

手続き

被験体は生後 21 日齢で離乳、1 ケージ 4 ~ 6 匹でコイトロン内で飼育された。室温は $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、照明は 0800 - 2000 が明の 12 時間交替の明暗サイクル。餌水は自由摂取条件で与えた。ラットは 59 日齢でランウェイ・テストのためのマーキングと体重測定が行われた。テストは 60 日齢から連続 3 日間実施された (中村, 1981)。ただし、飼育条件については G_{33} 進行中にコイトロンを解体したため、以降の世代は交配・飼育ともに飼育室内で行なった。飼育室では実験者が随時出入りしていた。しかし、照明・温度等の条件はコイトロン内と同じに保たれた。

選択交配

選択交配はランウェイ・テストでの 3 日間の通過区画数の合計値を指標にした。次世代の親となるものの選抜には family selection と within-family selection (Falconer, 1960) をコンバインした方法を用いた。交配には約 90 日齢でペアリングを行なった。交配はできるだけ早く近交系を得るという目的のために兄妹交配を実施した。 G_{36} 以降は選択のためのランウェイ・テストは行わず兄妹交配によるインブリーディングに変更した。

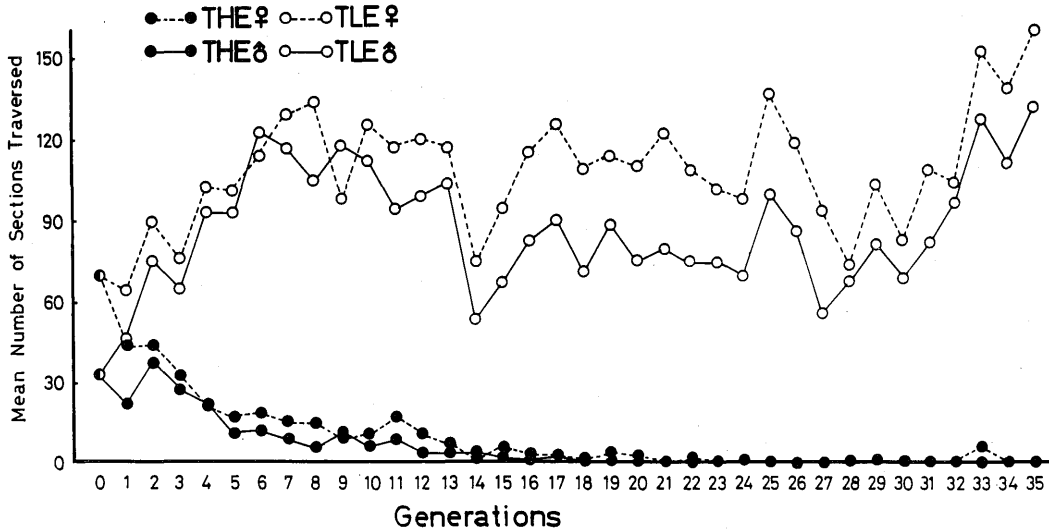
結果

結果はランウェイ・テストに関するものは G_{35} まで、その他生物学的適応に関するデータについてはそれぞれデータが得られている世代までで集計された。

移動活動量

選択交配が停止された G_{35} の各群における平均移動活動量は THE 雌 ; 1.54 ± 6.131 , THE 雄 ; 0.45 ± 2.831 , TLE 雌 ; 161.68 ± 46.327 , TLE 雄 ; 132.02 ± 44.038 であった。両系の分離は Fig. 1 から明らかである。母集団では性差のみ有意であったが、選択実験開始後数世代で系性が顕著になっていることがわかる。

次に G_{31} から自動測定に変更されたことの影響を検討した。このため、 $G_{29 \cdot 30}$ と $G_{31 \cdot 32}$ の差異を各群について Scheffe の方法で多重比較した。THE 雌では自動測定変更前後の差は 1% 水準で有意であり、 $G_{29 \cdot 30} > G_{31 \cdot 32}$ と自動測定になってから活動量は減少している。THE 雄でもやはり、自動測定になってから活動量は減少していた。TLE 系では雌雄と

Fig. 1 Ambulation scores of two lines in $G_0 - G_{38}$.

もに自動測定による活動量の変化はなかった。自動測定は G_{31} から G_{35} まで行われたが、この間の G_{33} ではコイトロンの解体があり、この前後の世代でランウェイ・テスト以前の飼育環境に相当の変化があったと思われる。この処置では、交配ケージ、出産ケージ、離乳後の飼育ケージともに飼育室内の柵に移動された。このことにより、実験者の飼育室への出入りなどにより母親ラットがディスターブされることによる母親行動を介しての影響、仔への直接的な環境変化の影響などがあったと考えられる。そこで、解体時に交配・出産期が重なりリターごとの初期環境条件が一定ではない G_{33} を除き、 $G_{31} \cdot 32$ と $G_{34} \cdot 35$ の間の差異を Scheffe の方法で多重比較した。結果は THE 系雌雄、TLE 系雌雄の全ての群でコイト解体前後の差は 1% 水準で有意であり、その方向も $G_{31} \cdot 32 < G_{34} \cdot 35$ と全群で活動量が増大していた。

体重

体重はランウェイ・テスト開始前日 (59日齢) 時とテスト終了時 (62日齢) に測定されたが、ここでは 59日齢の体重について分析された (Fig. 2)。

G_{35} での各群の平均体重はそれぞれ THE 雌； 197.64 ± 18.008 ，THE 雄； 245.60 ± 31.038 ，TLE 雌； 163.74 ± 12.005 ，TLE 雄； 221.50 ± 22.432 となっている。ちなみに、 G_0 では雌； 164.43 ± 26.853 ，雄； 219.93 ± 33.705 であった。

また、系×性×世代を変動因とする分散分析では、系 ($F=2067.782$ ， $df=1/11890$ ， $p<.01$)，性 ($F=11220.11$ ， $df=1/11890$ ， $p<.01$)，世代 ($F=58.695$ ，

$df=34/11890$ ， $p<.01$)，系×世代 ($F=21.891$ ， $df=34/11890$ ， $p<.01$)，性×世代 ($F=4.552$ ， $df=34/11890$ ， $p<.01$)，系×性×世代 ($F=2.732$ ， $df=34/11890$ ， $p<.01$) が有意であった。すなわち THE 系は TLE 系より重く、雄は雌よりも重い傾向にあった。

また世代間では選択が進むにつれて増大傾向にあることが示された。

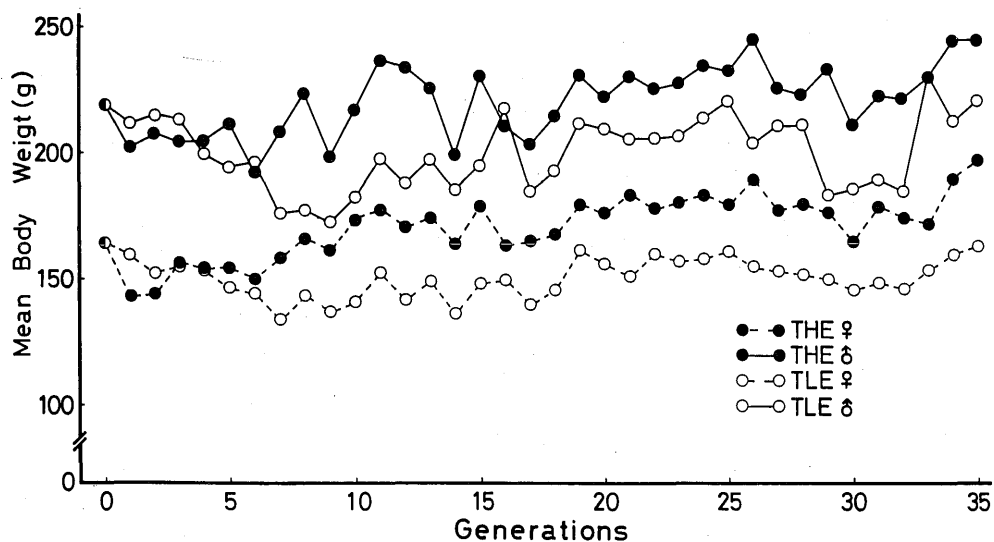
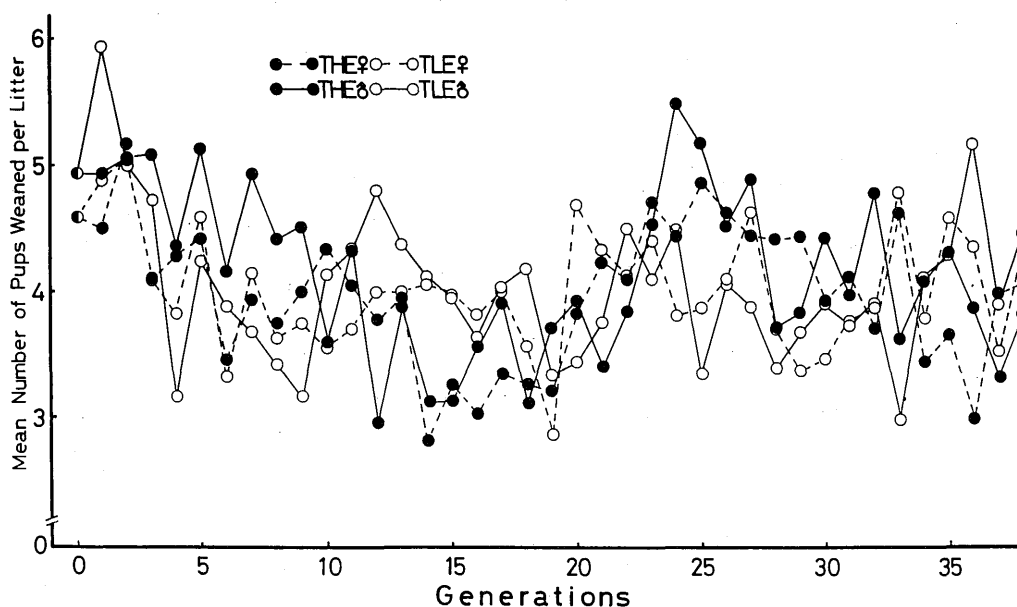
産仔数

出産した雌 1 匹あたり雄雌何匹の仔を産んだかが産仔数である (Fig. 3)。ただし、ここでは離乳時のリターサイズをもとに集計した。すなわち、出産後離乳までに全部の仔が失われたリターは集計に含めず、また、その一部が失われたものについては、離乳時に生存していた匹数をデータとした。

G_0 から G_{38} までの産仔数について系×性×世代を変動因として分散分析を行なったところ世代 ($F=1.715$ ， $df=37/1584$ ， $p<.01$)，系×世代 ($F=2.009$ ， $df=37/1584$ ， $p<.01$) が有意であった。系差 ($F<1$)，仔の性比 ($F<1$) は有意ではなかった。世代をおっての傾向では、産仔数は、 G_0 から G_{20} あたりまでは一貫して減少傾向にあり、その後回復して、 G_{30} 以降ではほぼ一定している。 G_{38} の各群の産仔数は THE 系では 1 リター平均で雌 4.08，雄 3.83，TLE 系では雌 4.35，雄 4.48 であった。

出産率

妊娠・出産の指標としては交尾率・妊娠率・受胎

Fig. 2 Body weight at 59 days of two lines in $G_0 - G_{35}$.Fig. 3 Litter size of two lines in $G_0 - G_{38}$.

率・出産率・新生仔生存率(石原ら, 1984)などがあるが, ここでは, 交配した雌の総数を分母に, 生存仔を出産した総雌数を分子とした割合を求め, これを出産率とした。Fig. 4 には出産率の推移を G_0 から G_{38} まで示した。

出産率(パーセント)を角変換し, 系×世代を変動

因とする分散分析を行なったところ, 系 ($\chi^2 = 4.085$, $df=1$, $p < .05$), 世代 ($\chi^2 = 158.787$, $df=37$, $p < .01$), 系×世代 ($\chi^2 = 138.680$, $df=37$, $p < .001$) が有意であった。すなわち, 系では G_0 から G_{38} までの全体では TLE 系の出産率が THE 系より高い傾向がみられた。ただし, TLE 系については,

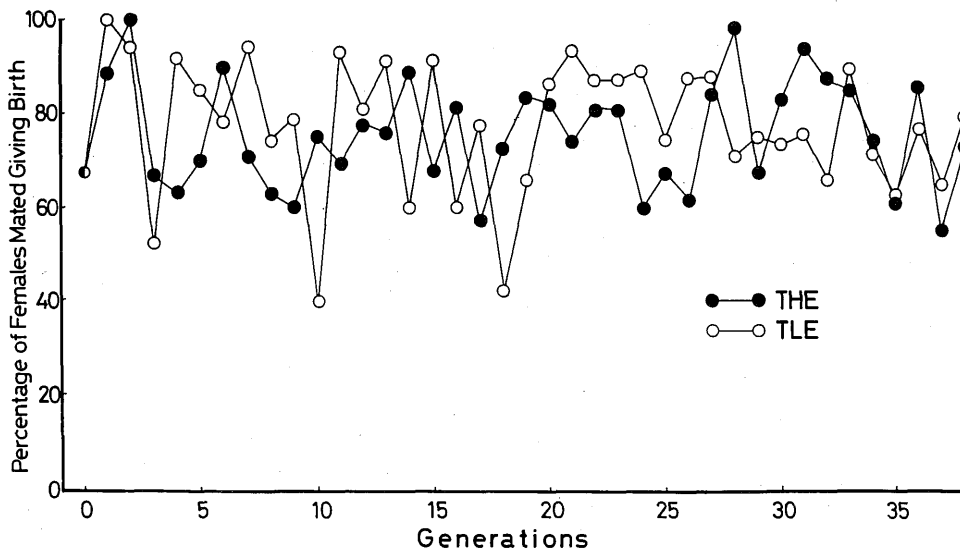


Fig. 4 Proportion of females mated giving birth of two lines in G₀ - G₃₈.

数世代おきに極端に出産率が低下する現象がみられ、一概に TLE 系の出産率が THE 系の出産率より高いとはいえない。また、出産が確認されなかったものの中には、流産等により出産が確認できなかったもの、あるいは出産直後の母親による仔の食殺によって仔の生存が確認できなかった例などが含まれていることが考えられる。これらケースを区別してデータはとられていないので、これが両系の繁殖力を表す直接的な指標にはなっていないことに注意しなければならない。世代の効果も有意ではあったが、その傾向に単調関数的な傾向は認められなかった。むしろ、産仔数の場合のように選択初期の inbreeding depression が顕著にあらわれていないことが注目される。

交配から出産までの日数

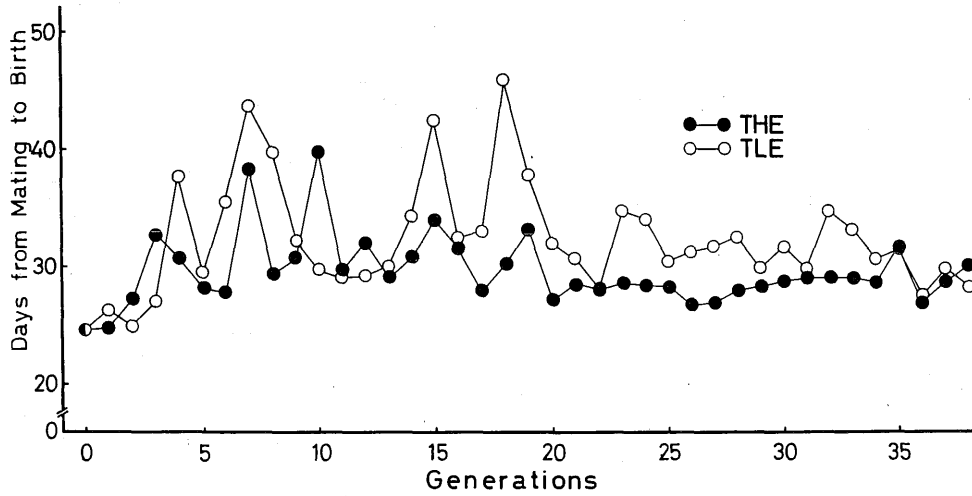
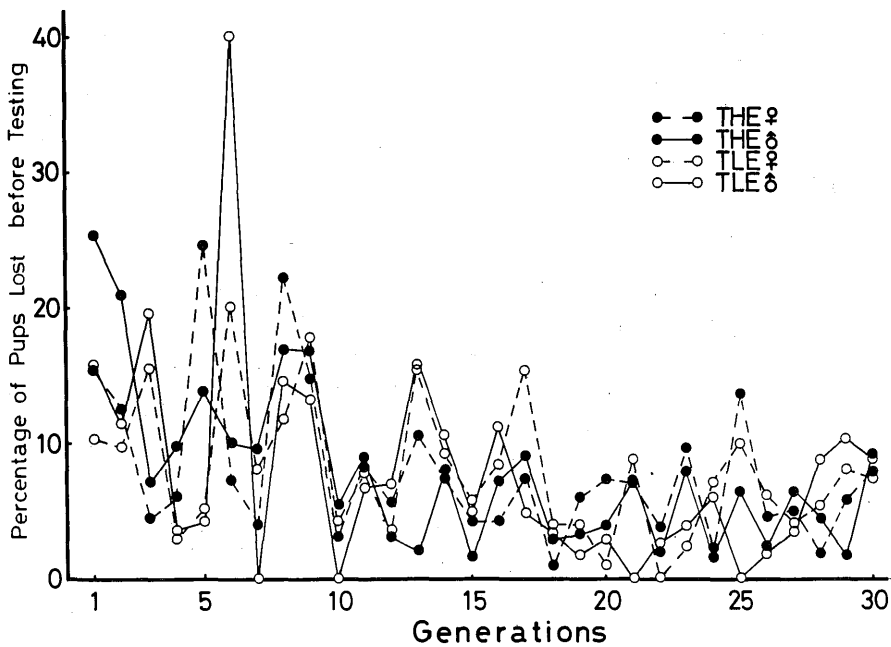
交配はランウェイ・テスト終了後、その成績をもとに通常約90日齢で実施した。ペアリングは雄1に対し、雌1～3匹で行った。ここでは、各リターのペアリングから出産までの日数について検討する。なお、出産にいたらなかったものについてはペアリング期間の上限日数を割り当て集計するという事はせず、そのペアをデータから除外した。

ペアリングの日を0日として、出産日までにかかった日数を系×世代を変動因に分散分析を行なったところ、系 ($F=51.938$, $df=1/1947$, $p<.01$)、世代 ($F=7.790$, $df=37/1947$, $p<.01$)、系×世代 ($F=3.502$, $df=37/1947$, $p<.01$) についてそれぞ

れ有意であった (Fig. 5)。すなわち、系統としては TLE 系の方が交配から出産までの日数をより多く要するという傾向がみられた。ただし、上述したようにペアリング期間には上限は設けられていなかったため、世代によりペアリングが打ち切られるまでの日数が異なっていたため、この結果のみからは TLE 系の方が妊娠しにくいということを意味しない。世代間の変化では G₀ から G₇ あたりまでは日数が増加し、その後再び減少し、G₂₀ 以降では両系とも安定した横ばい状態をたどっていることがわかる。出産率では TLE 系の方が出産率は高い。しかし、同時に TLE 系では世代間における変動が大きいという傾向がみられる。THE 系でも選択初期には世代間の変動が大きく、世代間の変動を生み出す原因については、G₂₀ 以降では両系とも安定していることから、選択実験初期ではまだ遺伝的な分散が大きいことに関連があると考えられる。

離乳時からランウェイ・テスト開始時までの欠損率

Fig. 6 は離乳時の個体数に対して離乳時からランウェイ・テスト終了までの期間に死亡したもの、および発育不良 (59日齢で体重100g以下のものは実験から除外した)、その他の理由によりテストを受けなかったものの割合を示したものである。なお、自動測定に変更以降は測定装置の故障等により、すなわち、そのラットのもつ生物学的特性以外の理由によりデータを失う場合もあったので、ここでは、G₁ から G₃₀ までのデータについて分析した。

Fig. 5 Time from mating to birth of two lines in $G_0 - G_{38}$.Fig. 6 Proportion of pups lost before testing of two lines in $G_1 - G_{30}$.

欠損率(パーセント)を角変換し, Cochran の法により系×性×世代を変動因として分散分析をしたところ, 世代 ($\chi^2=74.545$, $df=29$, $p<.001$) のみ有意であった. すなわち, 欠損率は両系ともに選択実験開始から G_{10} あたりまで減少し続け, その後は10

パーセントあたりで一定している. しかし, この欠損率では人為的なものも含め, いかなる理由で実験時に欠損したのかが区別できない. また, 仔の死亡についても, この指標にとりあげたもの以外, 流産等妊娠中に死亡したもの, 出産後離乳以前に死亡し

たもの(これはおもに母親に食べられた場合)、離乳後死亡したもの全てにわたって、その個々の死亡率を調べることは困難である。そこで、次に総合的な適応度(フィットネス)をあらわす測度として交配した雌1匹あたり実験完了まで生存した個体を何匹残したかという指標を考案して、これについて分析した。

フィットネス

この測度は交配に用いた全雌匹数を分母とし、分子にはその世代においてランウェイ・テストを完了した仔の総数をあてはめた。すなわち、その意味するところは雌1匹あたり次世代の選択のための母集団となりうる個体を子孫としてどれだけ残すことができるかというものである。生物学的定義におけるフィットネスは、本来は、これとは異なり生殖可能な次世代をどれほど残すかという意味であるが、われわれの選択交配実験では、ランウェイ・テストを終了したものの中から次世代の親となるものを選択しているので、この測度をもってフィットネスと呼ぶことにした。

フィットネスに関する G_1 から G_{30} までの系×世代を変動因とする分散分析の結果は、世代($F=6.046$, $df=29/2033$, $p<.01$), 系統×世代($F=2.023$, $df=29/2033$, $p<.01$)がそれぞれ有意であった。 G_1

から G_{30} までの平均でTHE系の交配雌1匹は平均4.756匹の次世代親の候補としての仔を残し、TLE系の交配雌1匹では4.437匹を残した。世代間の変化では選択開始から G_{10} あたりまでは減少し、その後は再びゆるやかに上昇してきていることがFig. 7からわかる。

まとめ

中村(1981)の報告では、移動活動量はTHE系では、ほぼ G_7 で選択限界に達していたが、今回も G_{15} 以降はほとんどの個体の3日間の移動活動量の合計が0になっており、THE系が選択限界に達していることが確認された。ただし、情動反応性と関連の高い排便数ではその後も選択による分離はなお進行を続けており(藤田, 1983)、移動活動量が選択限界に達したことは情動反応性が選択限界に達したことを意味するのではなく、移動活動量という指標の測定限界を表しているにすぎないとも考えられる。一方TLE系も G_8 を最大として、その後筑波大学への以降時であった G_{14} に一時大きく後退したものの再び活動量は増大し G_{30} までは横這い状態であった。 G_{31} から自動測定にかわったことの影響はTHE系では移動活動量の減少方向に作用したが、TLE系では変化がなかった。自動測定によって変更した点は実験者は測定室にはいないという点である。実験場

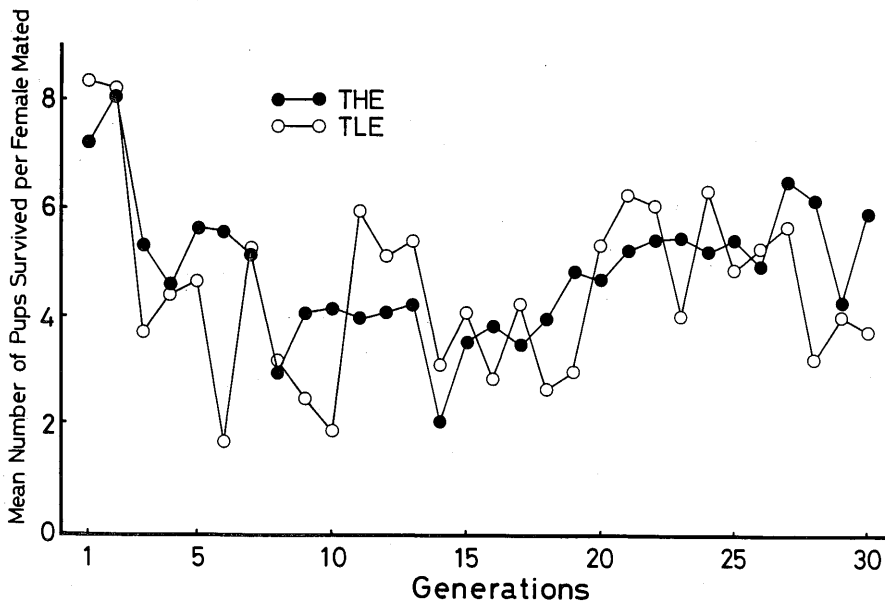


Fig. 7 Fitness of two lines in $G_1 - G_{30}$.

面における実験者の存在は捕食者として動物に認識されているという報告はスナネズミ (Clark & Galef, 1979), ニワトリ (Suarez & Gallup, 1982) で知られている。実験者=捕食者モデルの仮説では自動測定によってランウェイの情動喚起刺激としての性質は減少するはずである。コイトロン解体の効果を含め G₃₃以降では TLE 系の移動活動量が増大傾向にあることはランウェイ場面の情動喚起力が低下していることを示唆している。THE 系については指標の測定限界に達しているため効果があらわれないとも考えられる。また、選択実験中に起った実験環境の変化としては、G₃₃の時にコイトロンが解体され、飼育環境が変化したことがあげられる。この処置では離乳前環境とその影響による母親行動の変化が起こったと考えられるが、両系ともコイトロン解体後に移動活動量は増大した。すなわち、成育環境における刺激増大はその後の情動反応性を低下させる (藤田, 1977) という初期経験研究の多くの知見と一致する。コイトロンの解体によってもたらされた環境変化は、実験者との接触回数、防音・空調・照明のコントロールがより緩やかであることから実験室外からの環境変化の影響を受けやすいこと等、ラットの生涯にわたっての環境刺激の変化の増大という影響をもたらした。両系の情動反応性におよぼす初期経験の効果については既に養母交換法により検討されており、ここでは情動反応性、その他の行動に初期経験の効果は有意ではなかった。コイトロンの解体による環境の変化は、より大きいものであったと考えられる。

生物学的適応について

体重については、種々の選択交配実験において高情動系の方が重いという傾向が得られていたが (Broadhurst 1975, 1978), Tsukuba 情動系ラットについても同様の傾向が得られた。ただし、Maudsley 系などに比べると二系の体重差はより少ないといえる。Maudsley 系の選択にはオープン・フィールド場面での排便という自律系反応が指標とされ、Tsukuba 情動系ではランウェイでの移動活動という行動指標が使用されたにもかかわらず、両実験で情動反応性と体重の間に正の遺伝相関が示唆されたことは興味深い。また、体重差が少ないということは体内各器官の重量差も少ないことを示唆しており、この点から Tsukuba 情動系ラットは情動にかかわる脳内物質の生化学的分析などの生理学的研究にも適した実験動物であるといえる。

産仔数・出産率・交配から出産までの日数という繁殖にかかわる指標では有意な系統差が得られたも

のもあるが、移動活動量および体重の場合のような顕著な系統差は見られなかった。中村 (1981) は移動活動量以外の行動諸制度について世代をおっての変動をまとめているが、そこではいずれの測度についても顕著な系統差が示されていた。体重を除く生物学的指標ではむしろ顕著な系統差がみられなかったことが特筆できる。繁殖にかかわる指標で注目されるのは選択実験開始後の10世代あたりまでに顕著な近交弱勢である。すなわち、全体的傾向として産仔数は減少し、妊娠率は低下し、交配から出産までの日数は延びている。

離乳からテストまでに欠損した仔の比率においても、またより総合的なフィットネス指標についても、系統差は有意でなかった。近交弱勢はフィットネスにも示されたが欠損率ではむしろ近交化が進むにつれて減少傾向にあった。すなわち離乳からテストまでの死亡率は選択が進むにつれて減少した。これは近交化の過程で致死遺伝子が欠落していったためと考えられる。

行動形質によるラットの選択交配実験では選択のかなり初期の段階から兄妹交配によって維持されている場合が多く (Altman & Katz, 1979), しかも通常この場合同時に行動による選択は停止されている。そのため、その選択動物が当初の行動形質を保有しているか疑問の持たれる選択系も多い (Harrington, 1981)。Tsukuba 情動系ラットにおいては選択は G₃₅まで続けられ、この時点での高・低両系ラットの選択指標についての分離は明白であり、その差異が強い遺伝的基盤を持つことも確認されている。現在では両系は兄妹交配のみで維持されているが、今後は数世代おきに行動指標とその他の生物学的指標の変化について追跡調査していくことが必要となる。

引用文献

- Altman, P.L. & Katz, D.D. (Eds) 1979 *Inbred and genetically defined strains of laboratory animals. Part I Mouse and Rat*, Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda, Maryland.
- Broadhurst, P.L. 1960 Experiments in psychogenetics. In H.J. Eysenck (Ed.), *Experiments in personality* Vol.1. *psychogenetics and psychopharmacology*, London: Routledge and Kegan Paul. Pp 3-102.
- Broadhurst, P.L. 1975 The Maudsley Reactive and Nonreactive strains of rats: A survey. *Behavior Genetics*, **5**, 299-319.
- Broadhurst, P.L. 1978 *Drugs and the Inheritance of Behavior: A Survey of Comparative Psychopharmacogene-*

- tics. New York: Plenum Press.
- Clark, M.M. & Galef, B., Jr. 1979 A sensitive period for the maintenance of emotionality in Mongolian gerbils. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **93**, 200-210.
- Falconer, D.S. 1960 *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman London.
- Fujita, O. 1984 "Tsukuba Emotionality"; new selected rats. *RAT NEWS LETTER* No.13 July, 31.
- 藤田統 1977 動物における初期経験 異常行動研究会(編) 基礎と臨床の心理学1 初期経験と初期行動 誠信書房 Pp.3-59.
- 藤田統・中村則雄・宮本邦雄・片山尊文・鎌塚正男・加藤宏 1980 選択交配により作られた高・低情動反応性系ラットの行動比較 筑波大学心理学研究, **2**, 19-31.
- Hall, C.S. 1951 The genetics of behavior. In S.S.Stevens (ed.) *Handbook of experimental psychology*. New York, John Wiley and Sons, 304-329.
- Harrington, G.M. 1981 The Har strains of rats: Origins and characteristics. *Behavior Genetics*, **11**, 445-468.
- 石橋正彦・高橋寿太郎・菅原七郎・安田泰久(編) 1984 実験動物学 ラット 講談社サイエンティフィック
- 中村則雄 1981 ランウェイ・テストを指標としたラットの情動反応性の選択交配：2 -選択基準とその他の測度との関係- 筑波大学心理学研究, **3**, 33-38.
- Suarez, S.D. & Gollup, G.G.Jr. 1982 Open-field behavior in chinkens : The experimenter is a predator. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **96**, 432-439.

-1986. 9.30 受稿-