

近交系マウスの Open-Field 移動活動の長時間測定¹

筑波大学心理学系 原 正 隆

A long-term measurement of open-field ambulation of the mice of two inbred strains

Masataka Hara (*Institute of Psychology, University of Tsukuba, Ibaraki, 305*)

The mice of two strains were tested to investigate the strain differences in ambulation in an open-field for a long-term of over 72 hours. The strain differences were found in the first 30 minutes in which C57BL strain were high in activity and low in defecation, while BALB strain were low in activity and high in defecation. These findings are consistent with precedent researches. In a long-term open-field test, C57BL strain was more active than BALB. There was within-day decrement of the ambulations in both strains but between-days decrease of ambulations was found in only BALB strain. The within-day decrement of ambulations suggested that the circadian rhythm of the activity was involved. Why the between-days decrement was found in BALB and not in C57BL could not be explained, because test sessions were not discrete.

Key words : BALB mice, C57BL mice, open-field ambulation, open-field behavior, long-term measurement, strain differences, decrement of ambulations.

ラットやマウスのようなゲッ歯類を用いた Open-Field (以下OFと略す) 場面での諸行動は、Hall 以来、動物の情動性の指標として広く用いられて来た。Hall (1934) は、脱糞と排尿を情動性の指標としたが、その後、研究量が増すと共に、移動活動など、メジャーの種類が増し (Walsh & Cummins, 1976)、副腎や血漿中のコルチコステロイドのような生化学的メジャー (Pare & Cullen, 1965) や海馬θ波のような生理学的メジャー (Lát & Gollová-Hemon, 1969) も用いられるようになった。ところが、Hall が OF 行動を情動性の指標として用いたのに反して、OF 行動は情動性を反映しないという考えがある (Archer, 1973, 藤田, 1975)。藤田 (1975) は、強制探索場面に慣れるにつれて、恐怖や不安が減り、移動活動が増加するはずであるのに、逆に、時間経過と共に減少することを指摘し、情動性の指標として適当でないとしている。藤田の言うように、強制探索事態での移動活動の減少は数多く報告されている (ラットでは、Broadhurst & Eysenck, 1967, Woods 他, 1960 など、マウスでは、Manosevitz, 1970, Nagy & Holm, 1970 など)。特に、マウスでは、一貫して日間減少が見られる (Walsh & Cummins, 1976)。しかし、測定時間が場面に慣れるほど十分長いかどうかは問題である。一般的には、1回の測定

時間は短く (Krsiak & Junku, 1971)、長くても 60 分 (Block & Essman, 1965) であり、24 時間間隔で数回しか測定されない。したがって、数時間、数日間連続して OF 場面に入れたままで測定し続けても移動活動が減少するかどうかは、問題として残されている。

一方、マウスを用いた OF 行動の研究で、さまざまなメジャーで近交系間の系統差が報告されている。例えば、アルビノの BALB 系マウスは移動活動が少なく脱糞が多いのに対して、黒色の C57BL 系マウスは、BALB 系と逆で、高活動低脱糞であることが知られている (例えば、Blizard & Bailey 1979, DeFries & Hegman 1970, Henderson 1967, Thompson 1953 など)。しかし、これらの研究も、一般的に測定時間が短く、測定時間を長くしても、系統差があるかどうかは問題である。

本研究では、BALB, C57BL の 2 系統の近交系マウスを用いて、OF における移動活動を長時間測定し、時間経過と共に移動活動が減少するかどうか、また、両系統間に移動活動の系統差が見られるかどうかを検討し、さらに、被験体を OF 場面に入れた直後の 30 分間の諸行動を測定し、上述のような 2 系統間の系統差があるかどうかを調べるのを目的とする。

ところが、動物の行動を数日間、あるいは、それ以上にわたって測定する場合、いわゆる日周性の問

1 本研究は昭和 54 年度筑波大学学内プロジェクト研究 (奨励研究) によって行なわれた。

題を考慮せねばならない。マウスなどのゲッ歯類は夜行性で、夜間は高活動で昼間は低活動であることが知られている。例えば、関口ら(1976)は、マウスの回転活動が夜間に多く、昼間は少ないと報告した。この他にも、Richter(1971)の回転活動、などで、日周性が報告されている。関口ら(1976)の報告では、系統(C3H系は例外であるが)によって違いがあるが、夜間の初めに活動が最高で、以後減少する。したがって、夜間活動の日内減少について考察する場合、この点にも留意せねばならない。

方 法

被験体 BALB/6cとC57BL/cAnLの2系統の近交系マウスを用いた。いずれも、筑波大学心理学系動物実験室で兄妹交配によって維持されてきたものである。各系統とも、すべてオスで、1系統15匹ずつ、計30匹である。実験開始時の日令は、約10週令であった。被験体は、OF行動を測定する時まで、系統別に数匹ずつコイトロン内で集団飼育された。コイトロン内は、午前8時点灯、午後8時滅灯の12時間明暗サイクルになっている。

装置 横、縦とも60cm、高さ30cmの鉄製で黒色のopen-fieldを用いた。床の白線によって1区画20cm平方の計9区画に分けられている。床の白線に合わせて4対の光電スイッチを装置の壁の外に取り付け、被験体が白線を横切った時に、光電スイッチが作動し、その作動回数をデジタルカウンターでカウントし、1分または30分ごとに自動的に印字するようになっている。装置の照明は、実験室の天井の蛍光灯によって与えられ、装置中央で約200ルクスであった。実験室の蛍光灯は、午前8時点灯、午後8時滅灯で、飼育条件と同じ明暗サイクルを用いた。装置の隣合せの2隅に、それぞれ、通常飼育に用いているエサ箱と水ビン装置の床上約5cmの高さに吊るし、被験体が自由に摂食飲水できるようにした。

手続 午前11時～午後5時の範囲のちょうど時刻に測定を開始した。測定は、エサ箱、水ビンのない隅の区画に被験体を置いた時から開始し、以後96時以上測定した。測定開始後30分間は、後述する行動を1分ごとに測定記録し、その後は、移動活動を30分ごとに自動的に記録した。分析は、最初の30分については1分ごと、あるいは、5分間の合計で分析し、その後の移動活動については、第1日目の午後8時から第3日目の午後8時までの72時間を1時間ごとの合計について分析した。また、午後8時から翌日の午後8時までを1日とし、午後8時から午前8時までを夜間、午前8時から午後8時まで

を昼間とした。

測定項目 a) 移動活動(ambulation)：装置の項で述べた光電スイッチのカウント数をそのまま用いた。b) 後肢立ち(rearing)：前肢を床から離して装置の壁につけている反応、あるいは、装置の中央で壁に前肢をつげずに後肢のみで立っている反応で、持続時間に関係なく、両前肢が床につくまでを1回とした。c) 洗顔回数(face washing)：両前肢で洗顔のような動作をする反応で、持続時間に関係なく、約1秒以上中断するか、他の行動に移るまでを1回とした。d) 毛づくろい(grooming)：口で体の側部や生殖器分をためる反応で、1回の基準は洗顔回数と同じである。e) 脱糞数(defecation)：大きさに関係なく、排泄した糞の数である。

結 果

72時間の移動活動と最初の30分間の諸行動に分けて述べる。

1 72時間の移動活動について

第1日の午後8時から第3日目の午後8時までの72時間の移動活動を1時間ごとに合計して分析した(Fig. 1)。午後8時より午前8時を夜間、午前8時より午後8時までを昼間とし、両者を合せて1日とした。

Fig. 1から、次のようなことが言える。a) C57BL系の方がBALB系より移動活動が多い。b) 両系統とも、昼間より夜間の移動活動が多い。c) 両系統とも、夜間の移動活動が時間とともに減少する。d) BALB系では、夜間の移動活動の日間減少が見られるが、C57BL系では、それがあまりはっきりしない。e) BALB系では、昼間の終了間近かで移動活動の増加が見られる。f) C57BL系の夜間の移動活動は午前3時まで減少し、その後ゆるやかに増加するが、BALB系では、そのようなパターンははっきりしない。

分散分析の結果、a) については、系統差($F=5.69$, $df=1/28$)が有意であり、b) についても、昼・夜間の要因が有意($F=312.76$, $df=1/28$)であった。c) についても、昼・夜間×時間の交互作用が有意($F=39.95$, $df=11/308$)であったことによって支持される。d) については、系統×日の交互作用が有意($F=6.97$, $df=2/56$)であること、系統別の分散分析で、BALBの日間減少が有意であるのに対して、C57BLのそれが有意でなかったことから支持される。e)、f) については統計的分析をしていない。しかし、e) については、BALB系の結果個別別に図示すると、数匹の移動活動が昼間直前に急激に増加していた。

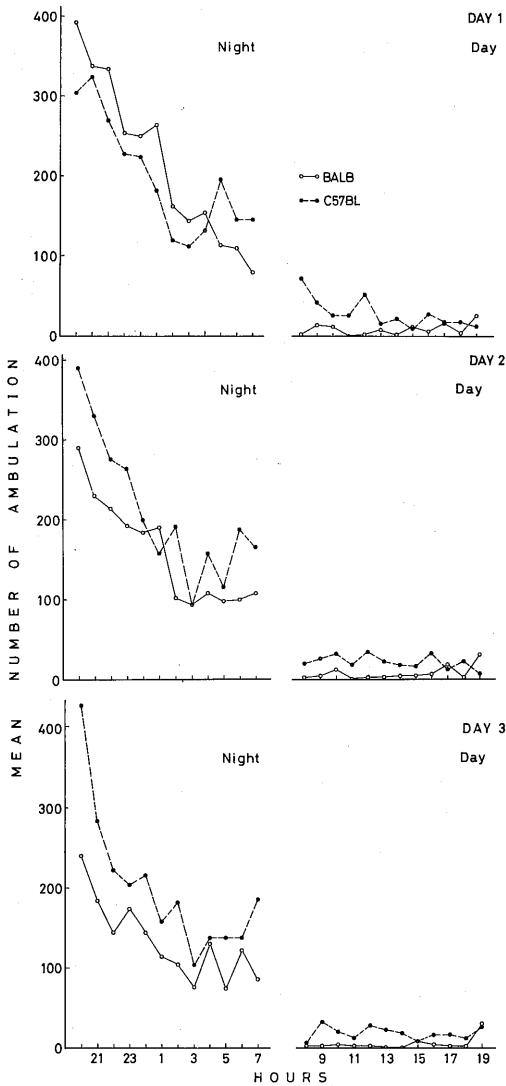


Fig. 1 Mean number of ambulations of BALB and C57BL strains mice per one hour for 72 hours. The figures of abscissa mean the start times of one hour.

2 30分間の諸行動について.

移動活動：Fig.2に、最初の30分間の移動活動の結果を図示した。図より、C57BL系の移動活動が30分間を通じてBALB系のそれより多く系統差が見られた($F=64.07$, $df=1/28$)。30分間で、BALB系は増加傾向、C57BL系は減少傾向を示すが、これは有意でなかった ($F=0.94$, $df=29/812$)。

後肢立ち：後肢立ちについては、系統差($F=91.51$, $df=1/28$)、時間($F=3.93$, $df=29/812$)、系統×時間の交互作用($F=1.75$, $df=29/812$)、が有意であっ

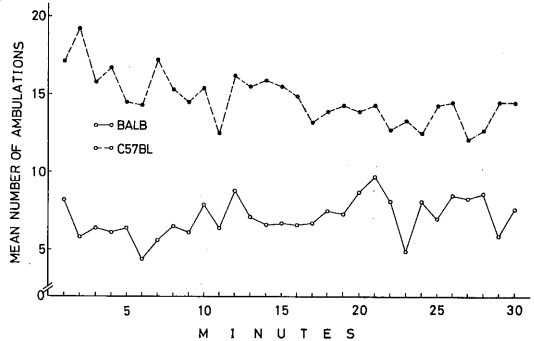


Fig. 2 Mean number of ambulations of two inbred strains mice for 30 minutes.

た。これから、C57BL系の方がBALB系より後肢立ちが多いといえる。一方、時間の要因については、Fig.3のようにあまりはっきりしないが、C57BL系では、最初の4分間に増加していること、BALB系では、最初の2分までに増加していることによるようだ。また、系統×時間の交互作用の意味は、はっきりしないが、C57BL系が4分以後は、ほぼ一定しているのに対して、BALB系では、わずかに増加傾向を示していることによるのかもしれない。

洗顔回数：洗顔回数は、全体的に数が少ないので、5分間の結果を合計して、6ブロックについて分析した(Fig.4)。Fig.4のように、系統差はなく、ブロックの要因 ($F=3.56$, $df=5/140$) のみが有意であった。これは、第1ブロックから第2ブロックまでの増加によると思われる。

毛づくろい回数：これも、全体的に少ないので、5分を1ブロックとして分析した。分散分析の結果、系統差 ($F=24.07$, $df=1/28$)、ブロック ($F=8.70$, $df=5/140$)、系統×ブロック ($F=4.89$, $df=5/140$) が有意であった。BALB系の毛づくろい回数がC57BL系のそれより多く、BALB系のそれが時間と共に増加する (Fig. 5)。

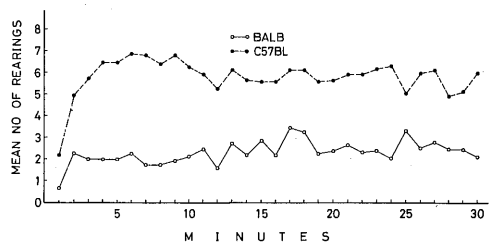


Fig. 3 Mean number of rearing responses of two inbred strains mice for 30 minutes.

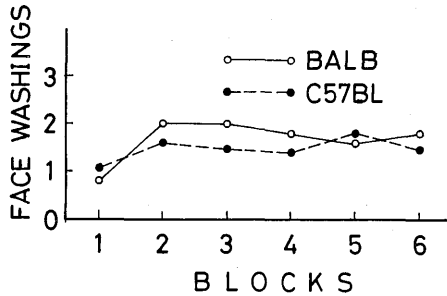


Fig. 4 Mean number of face washings of two inbred strains mice per 5 minutes blocks.

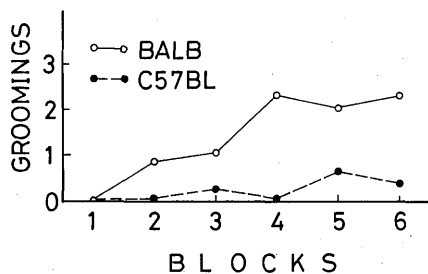


Fig. 5 Mean number of grooming responses of two inbred strains mice per 5 minutes blocks.

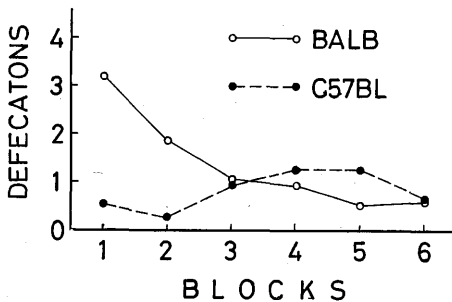


Fig. 6 Mean number of defecations of two inbred strains mice per 5 minutes blocks.

脱糞数：これについても5分ごとのブロックで分析した。Fig. 6を見ると、系統差があり、BALB系の方がC57BL系より脱糞数が多い。また、BALB系の脱糞数は、時間と共に減少するのに対して、C57BL系のそれは、増加傾向を示している。分散分析の結果は、系統差($F=9.32$, $df=1/28$)、ブロック($F=3.15$, $df=5/140$)、系統×ブロックの交互作用がすべて有意であった。

考 察

本研究の第1の目的は、OF場面に長時間被験体を入れたままで移動活動を測定した場合に、短時間測定の場合のように移動活動の減少が見られるかどうかを調べることであった。

OF行動の研究では、一般的に、1日1セッション(5分~30分)を24時間間隔で数回繰り返す。前者を便宜的にセッション内、後者をセッション間とする。これらは、それぞれ、日内、日間とすることもできる。マウスでは、一貫して、セッション間の移動活動の減少が見られる(Walsh & Cummins 1976)。マウスの移動活動のセッション内変動については、Walsh & Cummins (1976)は記述していない。これは、多分、セッション内の結果の報告が少なかったせいであろう。一方、本研究の場合、セッション内とセッション間の分離は無理であるが、便宜的に、午後8時から翌日の午後8時までを1日とし、日内、日間に分けてみることにする。すると、BALB系では日間減少が見られるのに対して、C57BL系では、そのような減少が見られない(Fig. 1)。つまり、BALB系は、従来の結果と一致しているが、C57BL系では一致していない。このことが、C57BL系特有なことであるのか、あるいは、先に述べたように、恣意的に日内、日間を分けたことによるのか不明である。ただ、原(1981)は、C3H系で日間減少が見られないことを報告している。このことを考えると、全ての系統のマウスが日間減少を示すとは言えず、C57BL系も日間減少を示さないことが考えられる。しかし、このC3Hの結果も、ディスクリートの事態であるので、本研究のような非ディスクリートの場合とは違う事態であると言えるので、結論づけは早計であると言える。一方、夜間の移動活動の日内減少が明白である(Fig. 1)。しかし、これについても、恣意的な日内、日間の分離をしているので、問題と言える。また、関口ら(1976)結果と一致している。この点でも、OFの移動活動の日内減少であるのが、単に、活動性の日周性の表出であるのか問題である。このように、少なくとも日間減少について明白な結論を下すには、1日の測定時間を長くして、かつ、日間をディスクリートにする必要がある。最後に、午前0時から午後12時を1日として分析しても、ほぼ同じ結果であったことを付言しておく。

次に、長時間測定の場合の移動活動のBALB系とC57BL系の系統差について述べる。短時間の場合、すでに述べたようにC57BL系の方がBALB系より移動活動が多い。本実験の結果も後述のように、こ

れらと一致していた。この C57BL系の方が BALB系より移動活動が多いという系統差は、測定を 72 時間にしても見られると言える。これは、分散分析で系統差があったことによって支持される。また、BALB系の移動活動が多かったのは、初日の最初の 9 時間のほかは、わずかな時間帯であり、特に、夜間では、第 2 日目に、BALB系が多くなるのが見られるだけであるので、全体的に、C57BL系が多いと言える。今後、さらに時間を長くして、この結論が支持されるかどうかの検討が必要であろう。BALBと C57BL系のもう 1 つの違いである脱糞数については、最初の 30 分間しか測定していないので、長時間の場合にも系統差があるかどうか不明である。

次に、最初の 30 分間の OF の諸行動について述べる。最初の 30 分間では、測定したメジャーの内、1 つ（洗顔回数）の例外を除いて、すべてのメジャーに系統差が見られた。Fig.2, Fig.6は、C57BL系が高活動で、低脱糞の系統であり、BALB系が低活動で高脱糞の系統であることを示している。また、移動活動と高い相関のあるメジャーである後肢立ちについても同様な結果であった。ところが、一般的には、移動活動に日内減少があるのだが、奇妙なことに、本研究では、両系統とも移動活動が 30 分間で減少しなかった。Walsh & Cummins (1976) は、ラットの移動活動については、日内減少の報告が最も多いと述べているが、マウスについては述べていない。日間減少は一貫した結果であっても、マウスでは、日内減少は、系統、測定条件によって一貫していないのであろう。原 (1981) は、I20系マウスは、日内減少を示すが、C3H系は、有意ではないが増加傾向を示すことを報告している。

最初の 30 分間で、脱糞数の増減傾向は、BALB系と C57BL系で逆であった。すなわち、C57BL系では増加傾向（有意ではない）であるのに、BALB系では減少した。日内での脱糞数の増減の報告は少なく、一貫していないので、この点もさらに検討が必要である。

最後に、夜間に移動活動が多く、昼間にはそれが少ないという日周性が見られた。さらに、夜間では、時間の経過とともに移動活動が減少してゆくのが 3 日間共通して見られた。つまり、夜間に関しては、減少してゆくという日周性であると言える。したがって、前述した移動活動の日内減少は、日内減少ではなく、日周性の成分の表われであろう。

要 約

マウスの OF の移動活動の長時間測定を通じて、移動活動の減少が見られるかどうか、また、BALB

と C57BL系の移動活動の系統差が長時間測定でも見られるかどうかを調べるため、2 系統のマウス（各系統 15 匹）を用いて、30 分間の OF の諸行動の測定と 4 日間連続して移動活動の測定を行なった。結果は以下の通りである。

1. 移動活動については、両系統に日内の減少が見られ、BALB系のみは日間の減少が見られた。日内、日間の分け方が恣意的であるが、日内の減少は日周性の反映であると考えられ、また、C57BL系に日間減少が見られないのは、系統特有性の可能性も考えられる。
2. 全体的に、BALB系と C57BL系に系統差が見られ、長時間測定でも、移動活動の系統差はなくなる。30 分間の測定で、C57BL系が高活動で低脱糞、BALB系が低活動で高脱糞の系統であった。
3. 夜間の移動活動が多く、昼間のそれが少ないという日周性が両系統に見られた。

引用文献

- Archer, J. 1973 Test for emotionality in rats and mice : A review. *Animal Behavior*, **21**, 205-235.
- Blizard, D. A. & Bailey, D. W. 1979 Genetic correlation between open-field activity and defecation : Analysis with the CXB recombinant-inbred strains. *Behavior Genetics*, **9**, 349-357.
- Block, J. B. & Essman, W. B. 1965 Groth hormone administration during pregnancy : A behavioral difference in offspring rats. *Nature*, **205**, 1136-1137.
- Broadhurst, P. L. & Eysenck, H. J. 1964 Interpretations of exploratory behavior in rat. IN H. J. Eysenck (ed.) *Experiments in motivation*. Elmsfold, New York : Pergamon Press.
- DeFries, J. C. & Hegmann, J. P. 1970 Genetic analysis of open-field behavior. In Lindzey, G. & Thiessen, D. D. (Eds.) *Contributions to Behavior Genetic Analysis : The Mouse as a Prototype*. Applrton-Century-Crofts, New York.
- 藤田 統 1975 Open-field 行動とは何か 東京教育大学教育学部紀要, **21**, 45-51.
- Hall, C. S. 1934 Emotional behavior in the rat : Defecation and urination as measure of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **18**, 384-403.
- 原 正隆 1981 マウスの Open-Field Behavior の系統差とそれに及ぼす養母交換の効果 筑波大学心理学研究, **4**, 27-31.

- Henderson, N. D. 1967 Prior treatment effects on open-field behavior of mice—a genetic analysis. *Animal Behavior*, **15**, 264-376.
- Krsiak M. & Junku, I. 1971 Measurement of pharmacological depression of exploratory activity in mice : A contribution to problem of time economy and sensitivity. *Pharmacologia*, **21**, 118-130.
- Labarba, R. C. & White, J. L. 1971 Litter size variation and emotional reactivity in BALB/c mice. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **75**, 254-257.
- Lát, J. & Gollová-Hemon, E. 1969 Permanent effects of nutritional and endocrinological intervention in early ontogeny on the level of non-specific excitability and on lability (emotional stability) . *Annals of the New York Academy of Science*, **159**, 710-720.
- Manosevitz, M. 1970 Early enviromental enrichment and mouse behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **71**, 459-466.
- Nagy, Z. & Holm, M. 1970 Open-field behavior of C57BL/6J mice : Effect of early handling, field illumination and age at testing. *Psychonomic Science*, **19**, 273-275.
- Pare, W. P. & Cullen, J. W. 1965 Emotional behavior and adrenal fuction in the rat. *Psychological Reports*, **16**, 283-286.
- Richter, C. P. 1971 Inborn nature on 24-hour clock. *Journal of Comparayive and Physiological Psychology*, **75**, 1-4.
- 関口茂久 牧野順四郎 阿部元子 1976 マウスの回転活動周期性と明暗サイクル 動物心理学年報, **26**, 1-11.
- Thompson, W. R. 1953 The inheritance of behavior : Behavioral differences in fifteen mouse strains. *Canadin Journal of Psychology*, **7**, 145-155.
- Walsh, R. W. & Cummins, R. A. 1976 The open-field test : A critical review. *Psychological Bulletin*, **6**, 191-200.
- Woods, P. J., Puckelhaus, I. & Bowling, D. M. 1960 Some effects of "free" and "restricted" enviromental rearing conditions upon adult behavior in the rat. *Psychological Reports*, **6**, 191-200.