

近交系マウスの自発的諸活動に及ぼす電撃の効果

筑波大学心理学系

牧野 順四郎

筑波大学大学院(博)心理学研究科

堤 幸一

現在まで 200 種類以上作られてきた近交系マウスは、遺伝学・免疫学・ガン研究などの領域で必須の材料として多用され豊富な情報が得られている。近交系は系統内の遺伝的変異が極端に小さく、ある系統内の個体はいずれもいわばコピーなので遺伝要因の分析には不可欠なのである。

心理学ではラットを用いた学習研究が伝統的であったが、近年行動の遺伝的基礎に関する研究が盛んになるにつれ、様々な近交系マウスが用いられるようになった。そして多くの系統比較研究から、種々の心理過程が遺伝的基礎を持つことが報告されている。

たとえば、従来から心理学の中心の問題であった、学習や記憶という生体にとって重要な心理機能に、遺伝的な要因が関与することが Bovet ら (1969) によって報告された。彼らは C3H/He と DBA/2J の 2 近交系マウスを用い、回避学習の結果から、C3H/He が短期記憶に優れ DBA/2J は長期記憶に優れていることを見出し、記憶のメカニズムの分析に近交系が有力な武器になり得ることを示した。

しかしながら、記憶という心理機能は、ある学習場面における被験動物の成績 (performance) に反映され、我々はそこからしか記憶の分析に進むことができないとするならば、学習場面における成績の系統による差異をそのまま学習能力や記憶能力の差異とするには問題がある。なぜなら学習成績や獲得の速度は、連合能力だけでなく情動性の差異やその場面で用いられる刺激に対する反応性の差異などによって影響をうけており、これらの要因が系統間の差異と交絡しているからである。

実際、Duncan ら (1971) は、Bovet らの結果を記憶能力の差ではなく、音と光という異なるモダリティの CS への反応性の系統差であると主張しているし、同様に Royce (1972) も適切な刺激条件を用いれば C3H と DBA/2J の学習成績には差のないことを報告している。これらの結果は、学習成績の差異を正当に評価するためには、それぞれの系統が生得的に持つ刺激への反応性や行動プロフィールの差異を考慮する必要があることを示している。

ところで、Bovet らや Duncan らが用いた回避学習場

面には US として電撃が使用されているが、電撃は生体にとって強い有害な刺激のひとつであり、それに対する反応が系統ごとに異なることは充分考えられる。Duncan はこの点に関して Bolles (1970) の提唱した種特有の防衛反応 (Species-Specific-Defence-Reaction, SSSR) の概念が、近交系にも適用されると述べている。すなわち、電撃等の強いストレス刺激に対して、ある近交系の特有の防衛反応が「走行反応」であるとすれば、能動的回避場面において優れた成績を示すと予想され、逆にそれが「すくみ」であるならば、受動的回避場面において優れた成績を示すと予想されるのである。一方 Bindra (1961) は、学習を課題遂行に関係した反応 (relevant response) の出現頻度が増し、遂行と拮抗する無関係な反応 (irrelevant response) の出現頻度が減少する過程であると主張し、学習の分析には個体の様々な活動のプロフィールを確立する必要があると述べた。この考え方は先に述べた Bolles の主張に通じる部分があり、また電撃を含む環境からの様々な刺激に対する反応型が系統によって異なり、それが学習成績に影響するという我々の主張にも共通する。

本実験は、回避学習の成立機構に関する分析に先立ちその基礎的資料を得るために、代表的な数系統の近交系マウスを用いて、非学習場面における様々な自発活動の各成分を観察法により測定し、系統ごとに得られたプロフィールが電撃導入によってどのように変化するかを検討することを目的として行なわれた。

方 法

(1)被験体 異なる起源をもつ代表的な 5 近交系 (BALB/c, C3H/He, C57BL/6, DBA/2J, I20) の雄雌をそれぞれ電撃群と統制群の 2 群に分け、各々 10 匹合計 200 匹を用いた。被験体は 21 日令で離乳した後、雄雌別に 1 ケージあたり 3—4 匹で実験終了まで飼育した。餌・水はアドリブで与えられており、飼育室の照明は午前 8 時明・午後 8 時暗の 12—12hr 周期であった。なお、実験開始時に各被験体は平均 9 週令であった。

(2)装置 観察装置は全面透明アクリル板製で、床は直径 1.8 m のグリッドが 1 cm 間隔に設けられたもので中

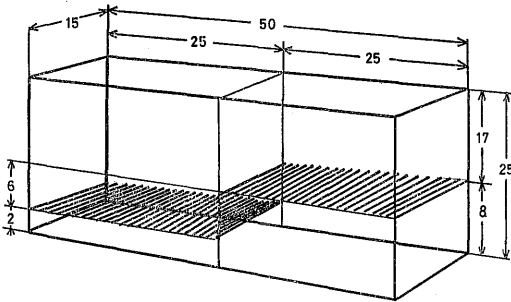


FIG. 1 APPARATUS FOR OBSERVATION(cm)

央に6 cmの段差をもつ (FIG. 1). 装置は装置上方21cmの100 V・30Wの白熱電球2個で照明された。足電撃には定電流電撃装置が用いられた。

(3)手続き 統制群の各被験体は1日10分間連続3日行動観察だけが行なわれた。電撃群では被験体を装置へ入れた直後より5分間観察を行ない、0.8 mAの電撃を2秒間与える。そしてひき続き5分間観察した。これを連続3日間繰り返した。

(4)行動観察法 行動観察は van Abeelen (1963) を参考に Table 1 の12項目を採用し、2秒間1回の Time-Sample 法により記録した。

Table 1 LIST OF BEHAVIORAL COMPONENTS

1. NUZZLING (N)	鼻部をグリッドにつつまむ行動
2. GRID-BITING (B)	グリッド等をかむ行動
3. UP & DOWN (U)	段差の昇降
4. STRETCHING (T)	段差での伸び上り・伸び下り
5. AIR-SNIFFING (A)	空中への嗅ぎ
6. FREEZING (F)	すくみ・不動状態
7. GROOMING (G)	毛づくろい(毛なめ、毛かき)
8. REARING (R)	後肢による立ち上り
9. LOCOMOTION (L)	四肢による移動活動
10. OBJECT-SNIFFING(S)	物体(グリッド・壁)への嗅ぎ
11. JUMPING	跳躍
12. TAIL RATTLING	尾部の先端を振らす行動

結 果

(1)結果の整理 結果は各行動項目別にチェック数を数え、前半5分・後半5分で集計した。観察は2秒1単位だから前後半それぞれで最高点は150となる。統計分析

は特徴的変化のみられた OBJECT-SNIFFING, AIR-SNIFFING, LOCOMOTION, FREEZING, REARING, GROOMING の6行動項目についてのみ行なった。

(2)主要項目の出現頻度によるプロフィール 行動項目のうち低頻度であった TAIL-RATTLING と JUMPING を除いた10項目の第1日目の出現頻度の分布を示したものが FIG. 2 である。第1日前半では各系統とも頻度分布は電撃・統制群間に差はみられないのは当然だが、系統間には明白に異なるパターンが示された。すなわち、BALB/c と C3H/He では OBJECT-SNIFFING が顕著で、C57BL/6 は移動活動が多く、DBA/2J は OBJECT-SNIFFING, REARING が多い。I20/F は GROOMING が最も多く他の系統とははっきり異なっている。このように同一の新奇場面におかれてから5分間の間に放出される自発活動には明らかに系統差がみられる。第1日後半では最初の2秒間、電撃群では逃避不能

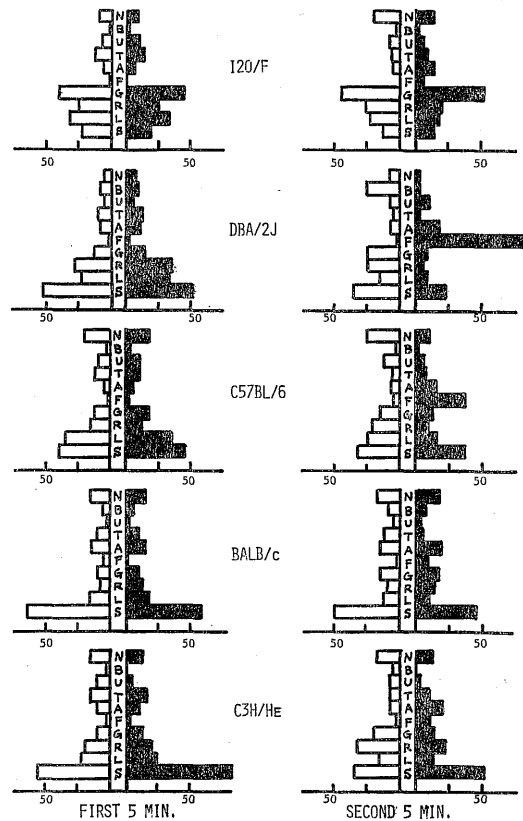


FIG. 2 DISTRIBUTIONS OF 10 BEHAVIORAL COMPONENTS OF SPONTANEOUS ACTIVITY IN 5 STRAINS ON DAY 1 (□.....CONTROL : ■.....SHOCK GROUP)

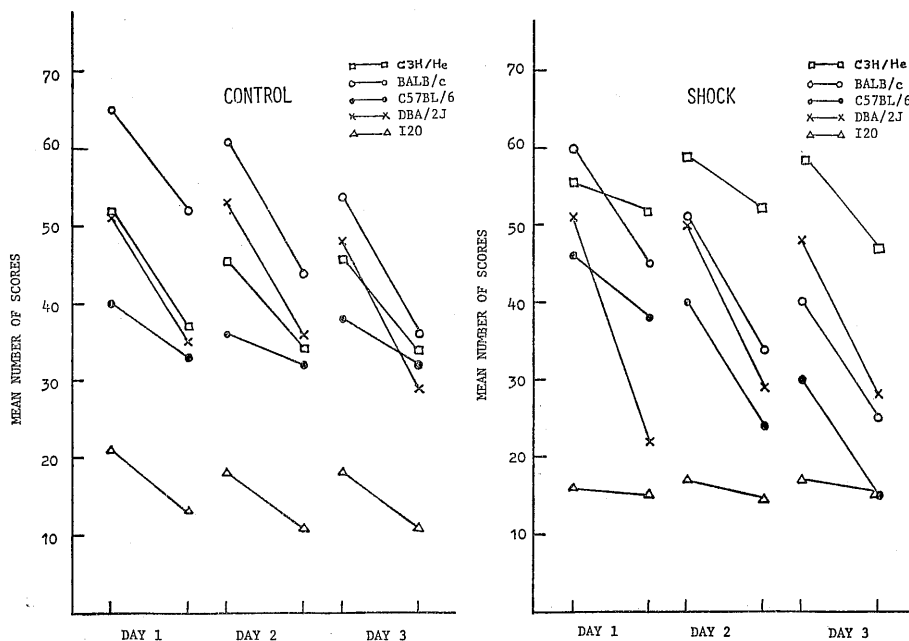


FIG. 3 OBJECT SNIFFING (LEFT : NO-SHOCK, RIGHT : SHOCK)

の電撃を受けた。従って FIG. 2 の右側の電撃群はこの影響により統制群との差がみられることになった。BALB/c, C3H/He, I20/F では電撃の効果は明白でないのに対し、C57BL/6 とDBA/2J においては顕著にLOCOMOTION が減少し、FREEZING が増加した。第2日以降をみると、電撃群ではどの系統でもFREEZINGの割合が高くなり、最終の第3日では全系統とも前半後半を通じて電撃によるFREEZING が最も高頻度に出現する。しかしながら前日に比べて実際に増えたのはC57BL/6 とBALB/C だけで、I20/F, C3H/He, DBA/2J ではむしろ減少することが判った。3日間を通じると、電撃は各系統のマウスに対してFREEZINGを増加させるという共通した効果をもつことが明らかである。そのため他の行動、特にOBJECT-SNIFFINGやLOCOMOTION が減少した。これに対してGROOMING, AIR-SNIFFING などは電撃により顕著な影響を受けなかった。各系統ごとにその特徴を述べるとするとC3H, BALB はOBJECT-SNIFFING, C57BL/6 はLOCOMOTION とOBJECT-SNIFFING, DBA/2J はREARING, OBJECT-SNIFFING, I20/F はGROOMING が電撃によって強く抑制されるようである。従って電撃という強い有害刺激に対してさえ、系統によって影響を受ける行動成分は異なるといえる。

(3)各行動項目の分析

①OBJECT-SNIFFING (FIG. 3) 統制群の結果は、

この行動項目が明らかに日間 ($F=14.6, df=2/144, P<.01$) および日内 ($F=189.7, df=1/72, P<.01$) で減少することを示している。また出現頻度は系統によって異なっており ($F=41.7, df=3/72, P<.01$)、特にI20の出現頻度の低さが目立つ。この系統の日間減少は明確でない。C57BL/6 は出現頻度は多いが、日間減少がみられない点でI20と同じ特徴を持つ。電撃は各系統のOBJECT-SNIFFING を大幅に抑制している ($F=6.1, df=1/144, P<.05$)。しかし、I20は電撃導入後も変化を示さず、さらにC3Hはむしろ頻度は日間で増加を示した。

②LOCOMOTION (FIG. 4) 統制群の結果から、全体的にみて、第1日前半にLOCOMOTION が最も多い傾向があるが、顕著なのは、C57BL とI20のみで、他の系統では必ずしもそういえない。たとえばBALBは最も頻度が低く、日内でわずかな減少を示すだけで、日間では変化がみられない。C3Hも日内減少は明らかにみられるものの、やはり日間変化は認められない。DBA/2Jに至っては、日間・日内の変化は一貫していない。

電撃はLOCOMOTION を全体的には大きく低下させる ($F=45.5, df=1/144, P<.01$) が、この効果は第1日で顕著であるものの、日を経るに従って明確でなくなってゆく。しかし、電撃群は統制群と異なり日内および日間の減少傾向が全系統一貫してみられる。

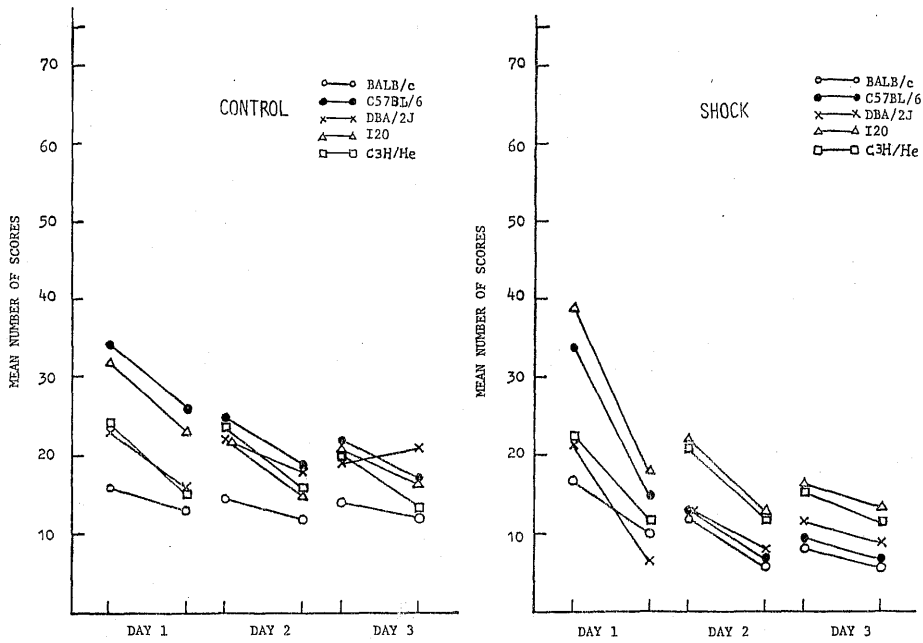


FIG. 4 LOCOMOTION (LEFT : NO-SHOCK, RIGHT : SHOCK)

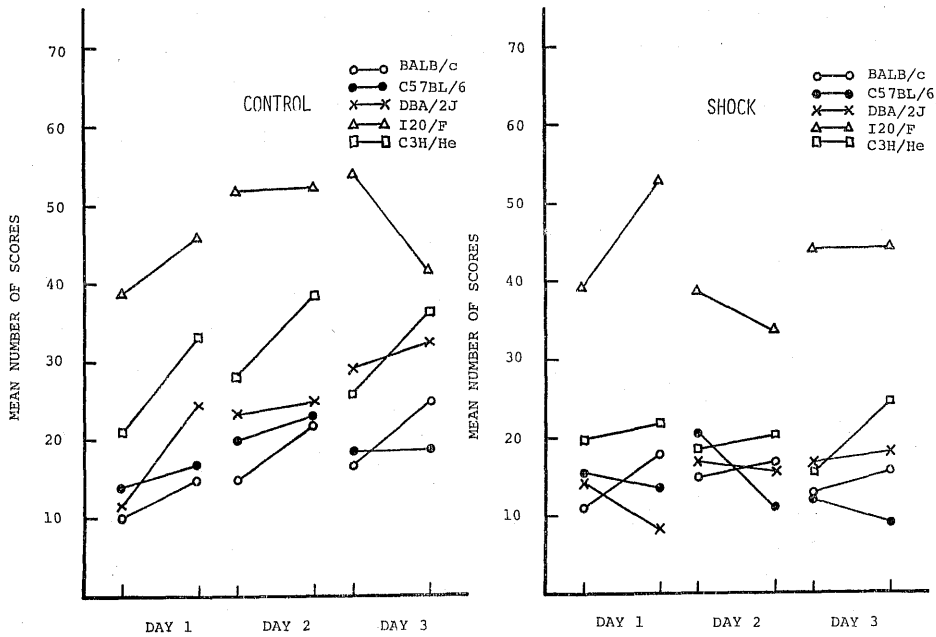


FIG. 5 GROOMING (LEFT : NO-SHOCK, RIGHT : SHOCK)

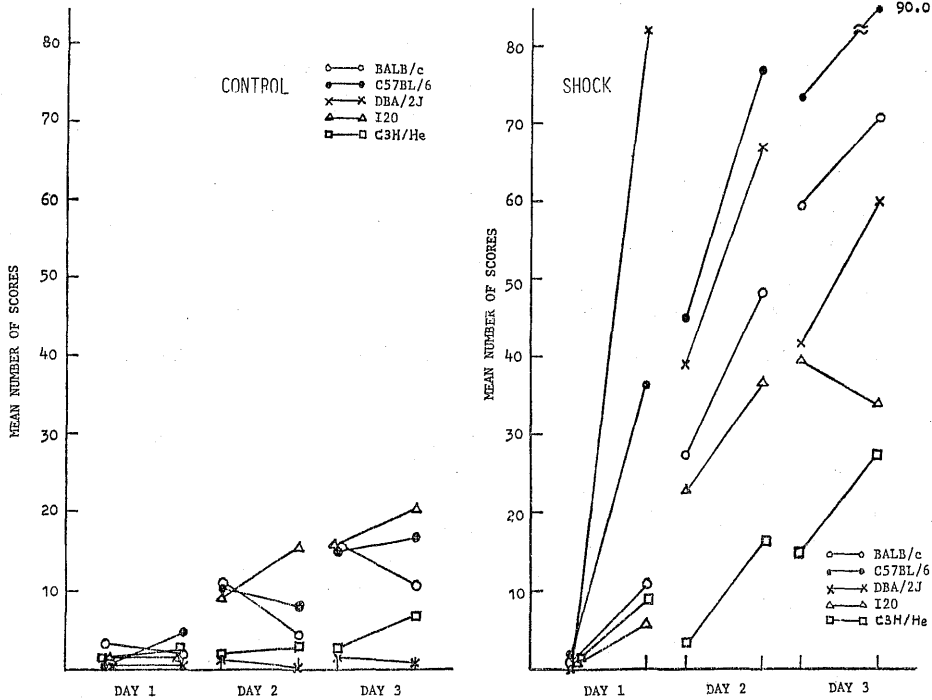


FIG. 6 FREEZING (LEFT: NO-SHOCK, RIGHT: SHOCK)

ここで統制群が日内・日間で示した LOCOMOTION の減少については従来の Open-field 等で示された知見と一致しており、(Nagy, 1970; McClearn, 1960; Foshee, 1965; Brookshire, 1967; Defries, 1970), また電撃による減少については Baron (1964) の結果と一致している。

③GROOMING (FIG. 5) 統制群では、I20の第3日を除けば全系統でこの行動項目は前半よりも後半5分で多く出現するようになる ($F=6.9, df=1/72, P<.01$). また日間の増加が有意であった ($F=10.6, df=2/144, P<.01$). 一方、電撃群ではこの日内増加がみられない。電撃により出現頻度が抑制されるとはいえないが、統制群の結果からみると明らかに GROOMING の時間経過に伴う増加が抑えられている。

④FREEZING (FIG. 6) 観察した全行動項目中最も顕著に電撃の効果が示された、全系統とも、電撃導入によって FREEZING は明らか増大する ($F=150.4, df=1/144, P<.01$). しかし、日間・日内の電撃の効果は系統によって特徴的な変化が示された。DBA/2J は1回目の電撃によってほとんど不動状態となり、C57BL も大幅な FREEZING の増加を示したが、C57BL が日間で増々 FREEZING するようになるのに対し、DBA は日間の増加はみられず前日の水準よりかなり回復してい

る。しかし、一度電撃が与えられると再び顕著な FREEZING の増加が示された。I20, C3H, BALB/c は出現頻度はそれぞれ異なるが、日間で増加するという C57BL と同じ傾向を示した。

⑤AIR-SNIFFING (FIG. 7) 統制群では全系統とも日内・日間の変化はみられなかった。電撃も初回の効果が明らかだけで2日目以降は顕著な変化はなかった。しかし全体として電撃導入後、この行動項目の出現頻度は有意に上昇した ($F=12.8, df=1/144, P<.01$).

⑥REARING (FIG. 8) 統制群の結果からみて、日内の変化は各系統によって異なり共通の特徴は認められなかった。DBA, I20, BALB は日を経るに従って日内で増加を示し C57, C3H は日間・日内とも大きな変動はみられなかった。電撃はどの系統でも REARING を有意に抑えた ($F=54.8, df=1/144, P<.01$). しかし統制群の結果からみて、DBA が最も電撃の効果を受けているのみで、他の系統はそれぞれ特徴的な影響を受けたとはいえない。

以上各行動項目別に分析してきたが、全体的に指摘されるのは、電撃の効果は抑制的に作用したことである。増加した行動項目は、AIR-SNIFFING と FREEZING であるが、FREEZING は本来抑制的なものであることを考えれば、一層電撃の抑制効果ははっきりする。また

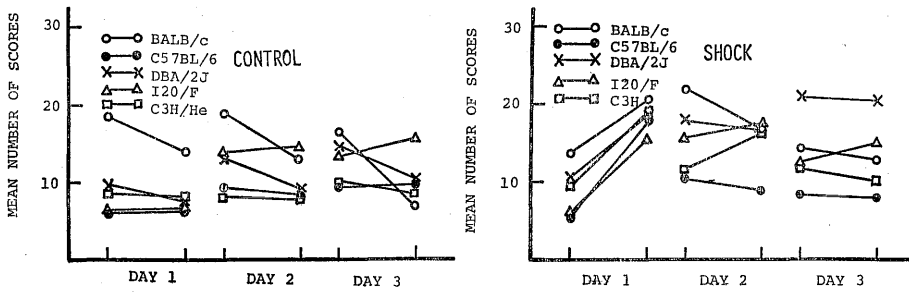


FIG. 7 AIR SNIFFING (LEFT : NO-SHOCK, RIGHT : SHOCK)

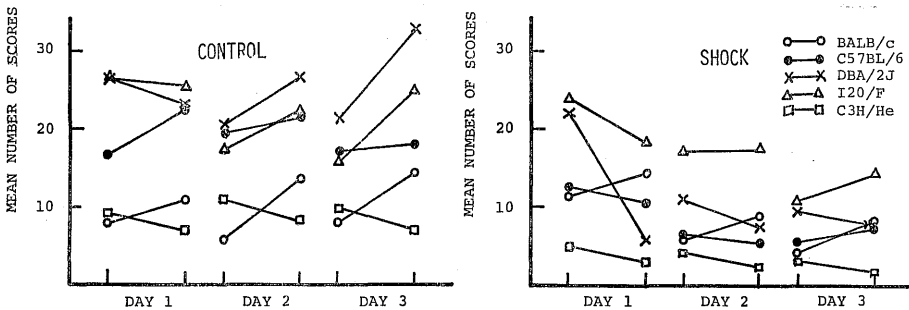


FIG. 8 REARING (LEFT : NO-SHOCK, RIGHT : SHOCK)

ほとんどの行動項目について全体的出現頻度は系統によって有意に異なっており、さらに電撃によって各行動項目も系統ごとに特有の変化を示すことがわかった。

考 察

各系統のマウスの自発活動の諸成分は、それぞれ特徴的な頻度で放出されるため FIG. 2 に示されたような系統ごとに特徴的なプロフィールが得られた。そして、この形は日間・日内で比較的安定していた。系統に特徴的なパターンで自発活動が放出されることは、自発活動が遺伝的基礎の上に構成される部分を持つこと、すなわち系統特有の遺伝組織に基づいていることを示している。

ここで行なわれたように学習場面における非強化反応の詳細を一般活動性の成分として分析することの重要性は、Bindra (1961) が既に指摘している。しかし、学習・非学習場面を問わず、この線に沿った研究はこれまでほとんどなされていないため、Bindra の指摘を評価できる現状ではない。本研究結果はそのための一つの基礎資料として意味があるが、この種の資料はさらに蓄積される必要がある。

FIG. 2 に得られた各系統のプロフィールは電撃導入によって大きく変化する。一般的な特徴は、すべての系統で FREEZING が増加することであり、その他の自発

活動成分の変化はそれに比べると少なかった。これは Duncan の示唆した「系統特有の防衛反応」が支持されないことを示している。しかし、結果をよく見ると、FREEZING のような項目でも各系統それぞれ特有の日内・日間の変化を示し、DBA のように日間変化があまりみられない系統、BALB や C57BL のように日間の FREEZING の増加が著しい系統や C3H のようにあまり大幅には電撃による FREEZING の増加を示さない系統がある。これが、たとえば Bovet らの実験結果にそのまま反映されているとは考えられないが、Bindra や Duncan の指摘が全く真実でないというも現時点では不当な断定であろう。

しかしながら Duncan らの示唆もそのままは受け入れられない。DBA/2J が電撃に対して日内で最も FREEZING した事実は、DBA/2J が Jumping type の系統であるとした Duncan らの示唆とは矛盾しているからである。この点に関しては、本研究に用いられた観察法と手続きが最良のものであったか否かという問題は残されている。事実、我々の観察時の印象とデータから再編成された DBA の特徴とは必ずしも一致しない。視察によれば、DBA のすくみは震えを伴う容易に活動的となるタイプのものであり、C57BL の高い緊張状態のいわゆるすくみとは異なるものと思われる。これは電撃強度に関係し

ており、Duncan らは 1.7-3.0mA, Bovet らも 2-3mA の電撃を用いていた。一方本実験では 0.8mA と比較的弱いものであって、DBA/2J を無条件で Jump させるための閾値よりも低かったとも考えられる。これはより強い電撃強度を導入して検討される必要がある。

Bindra (1961) の指摘が正しいとすれば、電撃によるプロフィールの変化を知ることは、電撃を含む学習事態での各系統の遂行の予測に役立つ。今回の結果からは、BALB, C57BL は FREEZING により有利となる受動的回避場面で、DBA/2J は JUMP により有利となる JUMP-UP 型能動的回避場面で、I 20 は立上りによる能動的回避場面でそれぞれ他系統より好成績を示すと予測される。しかし各行動項目間には複雑な関係があり、単一の行動項目だけからの予測は必ずしも絶対的妥当性を持つとはいえない。この点は今後多変量解析のような多変数間の関係を把握する方法により検討を進めることも必要であるが、学習において、各系統の成績が純粋に連合能力のみの差異を反映するとはいえない以上、本研究結果に基づいて自発活動の系統差異が、学習成績にどのように反映されるかを探る試みは重要であると思われる。

REFERENCE

- van Abeelen, J. H. F. Mouse mutant studied by means of ethological methods. I. Ethogram. *Genetica*, 1963, **34**, 79-94.
- Baron, A. Suppression of exploratory behavior by aversive stimulation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1964, **57**, 299-301.
- Bindra, D. A time-sample method for measuring general activity and its components. *Canadian Journal of Psychology*, 1958, **12**, 74-76.
- Bindra, D. Components of general activity and analysis of behavior. *Psychological Review*, 1961, **68**, 205-215.
- Bolles, R. C. Species-specific defence reactions and avoidance learning. *Psychological Review*, 1970, **77**, 32-48.
- Bovet, D., Bovet-Nitti, F., & Oliverio, A. Genetic aspects of learning and memory in mice. *Science*, 1969, **163**, 139-149.
- Brookshire, K. H., and Riesser, T. C. Temporal course of exploratory activity in three inbred strain of mice. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1967, **63**, 549-551.
- Defries, J. C., Wilson, J. R., & McClearn, G. E. Open-field behavior in mice: Selection response and situational generality. *Behavior Genetics*, 1970, **1**, 195-211.
- Duncan, N. C., Grossen, N. E., & Hunt, E. B. Apparent memory differences in inbred mice produced by differential reaction to stress. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1971, **74**, 383-389.
- Foshee, D. P., Vierck, C. J. Jr., Meier, G. W., & Federspiel, C. Simultaneous measure of general activity and exploratory behavior. *Perception and Motor Skills*, 1965, **20**, 445-451.
- Gray, J. A. A time-sample study of the components of general activity in selected strains of rats. *Canadian Journal of Psychology*, 1965, **19**, 74-82.
- McClearn, G. E. Strain differences in activity in mice: Influence of illumination. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1960, **53**, 142-143.
- Royce, J. R. Optimal stimulus parameters in avoidance conditioning of inbred strains of mice. *Multivariate Behavioral Research*, 1966, **1**, 209-217.
- Royce, J. R., and Convington, M. Genetic differences in the avoidance conditioning of mice. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1960, **53**, 196-200.
- Royce, J. R. Avoidance conditioning in nine strains of inbred mice using optimal stimulus parameters. *Behavior Genetics*, **2**, 1, 107-110.
- Sprott, R. L. Passive-avoidance conditioning in inbred mice: Effects of shock intensity, age, and genotype. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1972, **80**, 327-334.
- Wimer, R. E., Symington, L., Farmer, H., & Schwartkroin, P. Differences in memory processes between inbred mouse strain, C57BL/6J and DBA/2J. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 1968, **65**, 126-131.

SUMMARY**The Effects of an Electric Shock on the Spontaneous
Activity in Inbred Strains of Mice**

Junshiro Makino and Koichi Tsutsumi
The University of Tsukuba

Recently, a number of workers have reported that there are many strain differences in various behavior of inbred mice strains. In this study, some behavioral components of spontaneous activity of five inbred strains of mice were observed and the effects of an electric shock, which is usually used as US in active-avoidance learning, on the components were examined. Forty mice in each of 5 strains; BALB/c, C3H/He, C57BL/6, DBA/2J, I20/F were divided into two groups; the experimental group were given a two seconds 0.8 mA shock and the control group with no shock. Animals were observed individually by a time-sample method for 10 minutes a day over successive 3 days, the daily shock was given at the end of first 5

minutes.

Results were as follows;

1) It was found that there are great differences among strains. Specially C3H/He and BALB/c showed many OBJECT SNIFFING, C57BL/6 locomoted much, DBA/2J showed many REARING and I20/F frequently showed GROOMING before and after the shock was introduced.

2) It was found that the electric shock increased FREEZING in all strains and suppressed other activity components after shock were clearly different among the strains. It was suggested that these informations may be helpful to predict the performances of some strains in such tasks as active or passive avoidance learning.