

第65世代 Tsukuba 情動系ラットの ランウェイテストにおける移動活動

日本学術振興会 中津山 英子

筑波大学心理学系 牧野 順四郎

Ambulation of the 65th generation of Tsukuba Emotional strain rats in the runway test

Eiko Nakatsuyama (*Research Fellow of the Japan Society for the Promotion of Science*) and
Junshiro Makino (*Institute of Psychology, University of Tsukuba, Tsukuba 305-8572, Japan*)

The runway test was conducted for the 65th generation of Tsukuba High Emotional strain rats (THE) and Tsukuba Low Emotional strain rats (TLE). The ambulation score was reliably higher in TLE than THE. However, the score was lower than the score for the 50th generation. This experiment was different from the 50th test in the following two ways. First, while the 50th generation test was measured automatically without the presence of the experimenter, the measurement was done by the experimenter in the present test. Second, although the selective breeding was conducted every 5th generation from the 35th to the 50th generation, 15 generations have passed without selection since the last selective breeding. The decrement in ambulation of the 65th generation in both strains might be due to the first stated reason. The second reason seems inapplicable because the increment of generation gap of selective breeding to the 50th generation led to a relatively higher ambulation in THE.

Key words: THE and TLE, Runway test, ambulation, selection interval.

ランウェイテストの移動区画数を指標とするラットの情動性に関する選択交配は藤田により1972年に開始され、25年が経過した1997年9月現在、Tsukuba High Emotional strain (THE), Tsukuba Low Emotional strain (TLE)は第65世代に達している。

選択交配は、THEでは移動区画数の少ないリターから、TLEでは移動区画数の多いリターから、それぞれ選択された個体が兄妹交配される形で行われてきた。第0世代から第30世代までは、実験者が装置付近から直接観察、記録する方法でランウェイテストが実施され、選択交配は毎世代なされた。第31世代以降では、装置付近で実験者が直接観察し記録する方法から、装置にラットを出し入れする時以外は実験者が別室にいる自動測定（赤外線投受光器と実験制御用 Commodore VII001 コンピュー

ターと自作インターフェースからなる自動測定システム）に移行した。その結果、第31世代から35世代までの移動区画数は、TLEで直接観察時に比べて漸増した。THEでもわずかに上昇がみられたがすぐに低い値に戻り安定した。特にTLEで顕著だった漸増現象は、自動測定では付近に実験者が存在しないので情動喚起刺激強度が低下したことと、雑音が比較的少ないコイトロンという飼育室の解体され、ラットがそこから出されたという2つの理由により生じたと解釈された（加藤，1987）。解体は第33世代の出生時期に行われたので、第33世代でみられた移動区画数のわずかな上昇は後者による可能性が強い。

選択交配の間隔に関しては、毎世代選択は第35世代が最後で、それ以降は5世代ごとの選択交配に切

り替えられた。すなわち、第40, 45, 50世代以外ではランウェイテストは行われず、兄妹交配が行われたただけだった。5世代ごとのランウェイテストの結果をみると、その移動区画数はTLEでは第31~35世代で高くなった値が第36世代以降でも維持され、THEでは漸増し0より大きい値が得られる傾向がみられた(安念・中津山・和田・藤田, 1992; Fujita, Annen, & Kitaoka, 1994)。THEの移動区画数の漸増現象は、毎世代選択を停止し5世代ごと選択に切り替えたために生じた遺伝的ドリフトであると解釈された(北岡, 1991)。この上昇傾向は、野外における巣穴に相当する出発箱に5分間とどまる行動は、ラットにとって極度に厳しいものであることを示しているかもしれない(安念ら, 1992)。

ここまでをまとめると、第0~30世代では直接観察で毎世代選択、第31~35世代では自動測定で毎世代選択、第36~50世代では自動測定で5世代ごとの選択がそれぞれ行われてきた。その結果、TLEでは自動測定に切り替えられたことにより、THEでは5世代ごとの選択交配に切り替えられたことで、それぞれ移動区画数の上昇がみられたと解釈されてきた。

5世代ごとの選択交配以降、THEの移動区画数に上昇がみられたものの、両系の移動区画数の開きには大きな差異は生じなかった。そこで5世代ごとの選択交配は第50世代を最後に、第65世代まで兄妹交配により維持された。すなわち、選択交配がなされずにこれまでで最長の15世代が経過した。本研究はランウェイテストの移動区画数を中心に、両系の行動が第50世代までのそれと比較してどのように変化したかを検討することを目的として行われた。第50世代までに、5世代ごとの選択交配によりTHEの移動区画数の漸増現象がみられたので、その傾向が維持されるか、あるいは15世代経過によってさらに若干の上昇がみられるかもしれない。ただし、諸般の事情により今回の第65世代のランウェイテストは自動測定でなく直接観察によりなされたので、その影響を考慮しなければならない。

方法

被験体 筑波大学で維持されてきたTHE, TLE両系第65世代のすべてのラットを用いた。THEは93匹(雌44匹, 雄49匹), TLEは138匹(雌70匹, 雄68匹), 計231匹であった。被験体は実験開始時に57~60日齢であり、実験開始7日前にあらかじめメチレンブルーでマーキングされた。

装置 走路部125×20×45cm, 出発箱25×20×45cm

のランウェイ装置を用いた。出発箱には黒色の蓋(26×21cm)がついており、出発箱内は暗くされた。床面は黒色に塗装されたベニヤ板、側面と蓋は黒色アクリル板製であった。出発箱と走路部の間には7×7cmの出入り口があり、そこをふさぐギロチンドアが取り去られると、ラットは出発箱と走路部の間を自由に往復できた。走路部床面には25cmごとに線がひかれた。

手続き ランウェイテストは通常は60日齢時から3日間行われるが、第65世代では同じ出生日の被験体が極端に多く、60日齢時からすべての被験体のランウェイテストを行うことが不可能だったため、57~60日齢時から3日間(57~62日齢時)の間にランウェイテストを行った。手続きは以下の通りだった。ラットはホームケージから取り出され、体重を測定された後に出発箱に入れられ、走路部との仕切りのギロチンドアを閉じた状態で出発箱に30秒間とじこめられた。次にギロチンドアを開けて5分間のラットの行動を観察し、以下について記録した。(1)走路部を25cmごとに1区画と数え、5分間中に移動した区画数(ambulation), (2)出発箱と走路部それぞれの排便数(defecation), (3)出発箱から頭を出して走路部をのぞく行動(peeping)が生じるまでの潜時(のぞき潜時: peeping latency), (4)出発箱を出るまでの潜時(出発潜時: start latency), (5)一番遠い区画に達するまでの潜時(E区画潜時: end-section latency), (6)のぞき行動の持続時間(のぞき時間: peeping time)。5分間出発箱から移動しなかった場合には、出発潜時およびE区画潜時として300秒を記録した。57~59日齢で実験を行った個体については、翌日もういちど体重を測定し、60日齢時の体重を記録した。また、ラットがケージから取り出されるとき発声の有無も3日間記録した。

結果と考察

(1) 移動区画数の3日間の合計

Fig. 1に、第0世代から第65世代までの移動区画数の変化を示した。第65世代の平均値はTHE雌で10.39, 雄で0.53, TLE雌で99.54, 雄で81.81であり、THEよりもTLEのほうが多かった($F=333.07$, $df=1, 227$, $p<.01$)。直前の第50世代と比較すると、第65世代の移動区画数は両系ともに低下し、それは特にTLEに顕著に見られた。

第65世代のランウェイテストは、(1)自動測定から直接観察に転じ、また(2)選択の世代間隔が5世代から15世代にのびたという2点で前回の第50世代と異なった。5世代間隔の選択で見られた上昇が、

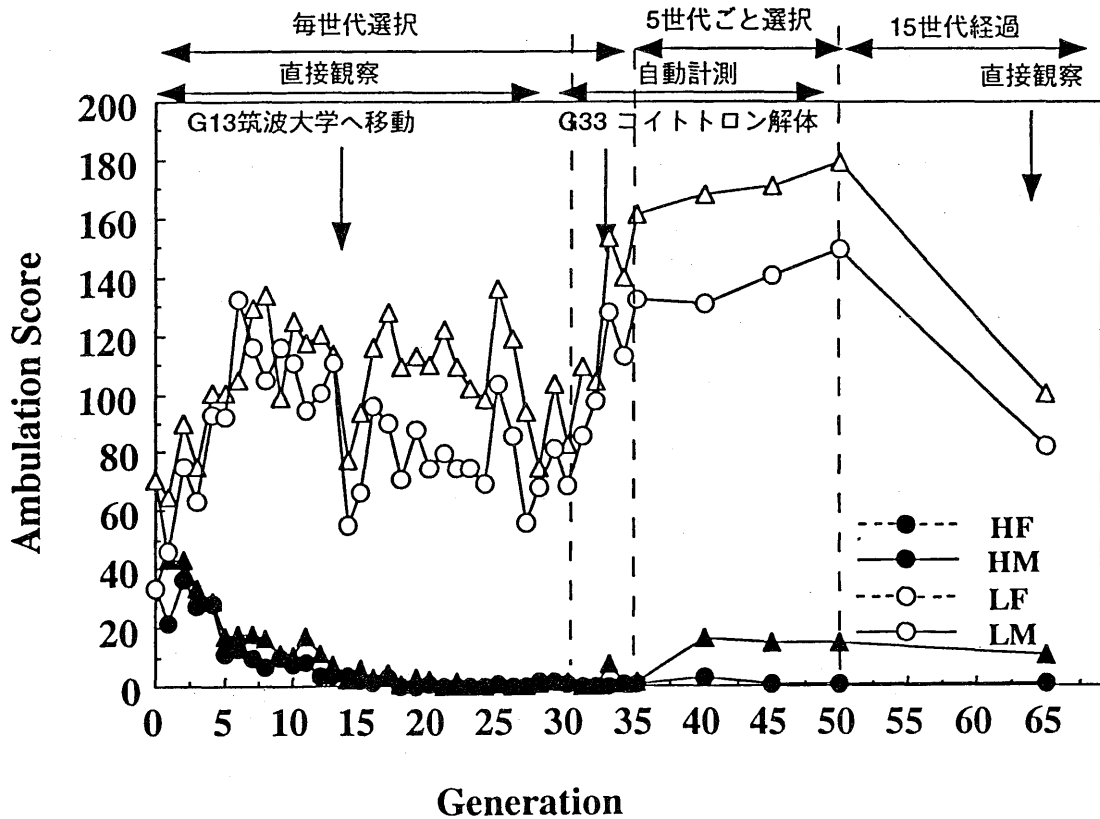


Fig. 1 第0～65世代THE, TLEの移動区画数の3日間計. HはTHE, LはTLE, Fは雌, Mは雄をそれぞれ表す.

15世代間隔に変わったことにより低下に転じるとは考えにくい. 加えて, 第65世代で得られた値は, 直接観察で得られた第30世代の値に近かったことから考えて, (1)の測定法の変更による情動喚起刺激の増大が大きく影響したと解釈すべきであろう.

加藤(1987)が指摘する第33世代のコイトロン解体による初期刺激作用の影響は考慮に入れないければならないものの, 自動測定が導入された初期の第31～35世代までに特にTLEで顕著に見られた移動区画数の上昇は, 部分的には情動喚起刺激としての実験者が装置付近にいない自動測定の影響により生じた, いわば見かけ上の上昇であった可能性がある. この解釈は, 自動測定がなされた第31～50世代では特にTLEの移動区画数が高く, 直接観察がなされた第30世代以前と第65世代ではそれよりは低いという結果と矛盾しない.

(2) 移動区画数の3日間の合計の分布

Fig. 2に, 第0世代から第65世代までの3日間の移動区画数の分布を示した. 第65世代のTHEの分

布は0～90, TLEは0～210であった. THEでは移動区画数が0だった個体が最も多く, TLEでは91～120に位置した個体が最も多かった. 先に述べたように恐らく測定法の差異から, 両系の移動区画数の分布図は第50世代と比較して全体として低下の方向に寄った. またTLE系ではその分布はやや偏平になり, THEとTLEの重なりは, 0, 1～30, 31～60, 61～90の4階級にわたった. この重なりは第40世代を除く他のどの5世代ごとの分布よりも多かった.

TLEでは第35～50世代に比較して全般的に低下の方向に移動したが, THEでは最大値が1階級低下しただけであったことを示す分布図からも, 第35世代以降のTHEの移動区画数の上昇は測定法の差異よりも選択世代間隔の延長により生じた(安全ら, 1992)ことがうかがえる.

(3) 移動区画数の日内, 日間変化

移動区画数は両系ともに日間で増大し($F=96.27$, $df=1, 227$, $p<.01$), 1日目よりも2日

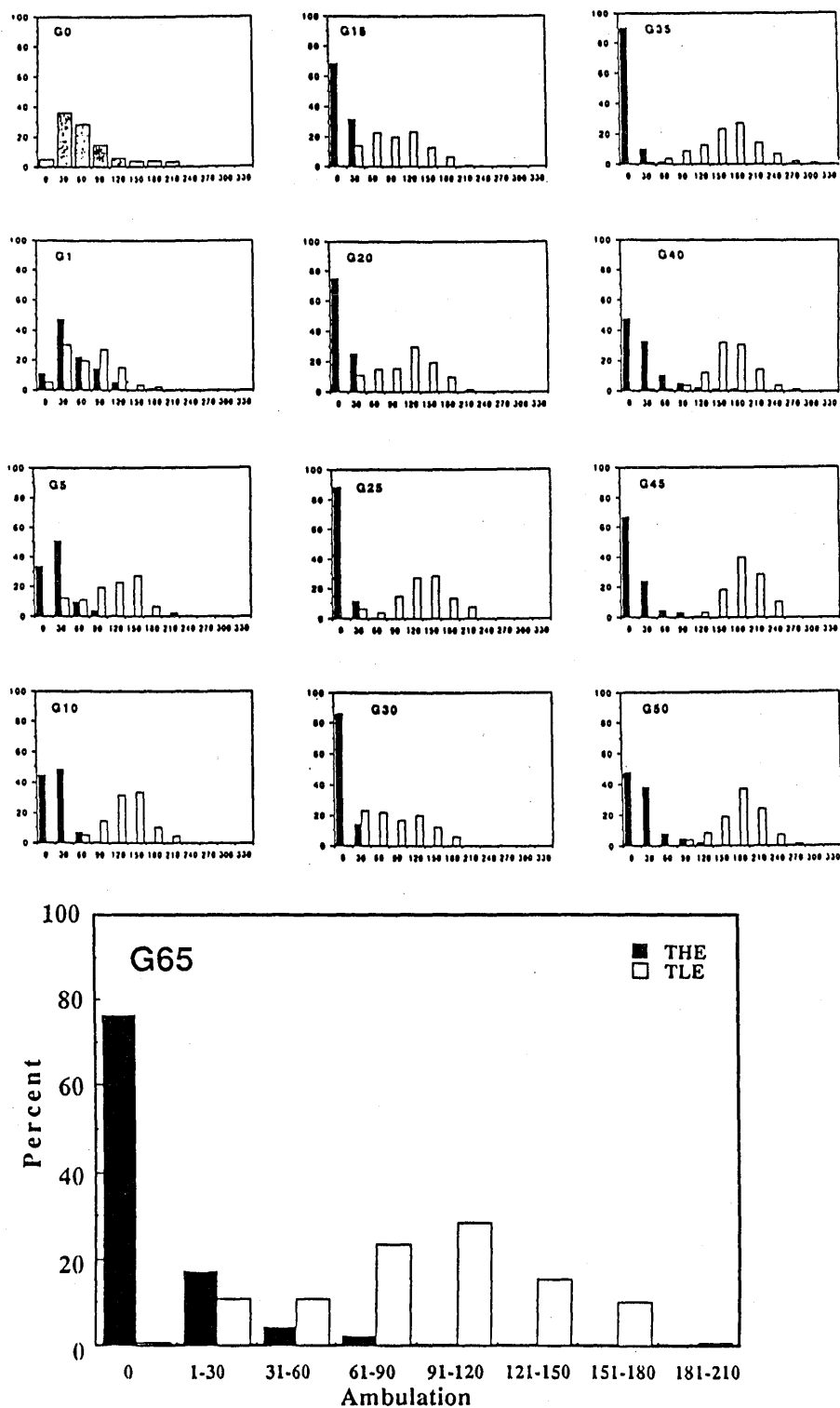


Fig. 2 第0～50世代までの5世代ごとの、および65世代THE, TLEの移動区画数の3日間計の分布.

目、3日目で上昇した。また移動区画数は日内でも増大した($F=12.80$, $df=1$, 227 , $p<.01$)。特に1日目に時間経過に伴い上昇し、2, 3日目で1分目から比較的高い値をとる形で日内、日間の交互作用も認められた($F=2.07$, $df=8$, 1816 , $p<.05$)。これらの結果は、自由探索場面ではラットが刺激場面に慣れるにしたがって恐怖が減少して行動が活発になるという解釈(藤田, 1975)と一致した。

(4)のぞき時間と頻度、外へ出発にかかわる系統差
Table 1 に示したように、3日間の平均のぞき時間はTHEよりもTLEで長く($F=42.71$, $df=1$, 227 , $p<.01$)、特にTHEの雄で少ないという特徴が見られた。この系統差は第18世代までと同じだった。第18世代ではのぞき時間がTHEでは雌で長く、TLEでは雄で長かったことから、この系統差は単純に移動区画数の系統差に起因するとは言えないとされた(中村, 1980)。

しかしこの差異が移動数の差異に起因しないかどうかは、のぞき行動をとまなう移動を除外して検討しない限り不明である。これまでは、のぞき行動に続いてラットが外へ出発したか否かにかかわらず出発箱と外との境の出入り口のビームを横切った時間がのぞき時間として測定され、本実験でもその方法に準じて測定を行った。しかしながら、のぞき行動に続くラットの行動は、(1)出発箱にとどまる(peep-stay)、(2)stretching(後肢を固定し、上半身を伸ばして出発箱の外に出す姿勢)の後、出発箱にとどまる(peep-stretch-stay)、(3)stretchingの後、外へ出発する(peep-stretch-go)、(4)外へ出発する(peep-go)という4つに分けられる。このうち(3)、(4)の、出発に転じたのぞき行動の時間を除いてもTHEよりもTLEののぞき時間が長ければ、その差異は移動の副産物ではないといえる。

それぞれの行動の様相を知るために、頻度と持続時間について述べる。Table 1 に示した両系のそれぞれの頻度の3日間の平均値の内訳をみると、他の3つと比較してpeep-stayが圧倒的に多いことがわかる。実際に移動に転じたpeep-go($F=133.85$, $df=1$, 227 , $p<.01$)、およびpeep-stretch-go($F=25.26$, $df=1$, 227 , $p<.01$)はTHEよりもTLEで多かった。一方、のぞいた後に出発箱にとどまった2つのうち、peep-stayの頻度には両系で差異が見られず、peep-stretch-stayはTHEで多かった($F=12.18$, $df=1$, 227 , $p<.01$)。

peepに続いてstay, goに分かれる比率と、peep-stretchに続いてstay, goに分かれる比率を算出すると、peepではTHEで97%対3%、TLEで74%対26%、peep-stretchではTHEで81%対19%、TLEで34%対66%であった。peep-stretchが生じた場合には、それに続く行動としてTHEでは出発箱にとどまる行動が、TLEでは外へ移動する行動が優勢だった。

次に、それぞれの持続時間の3日間の平均値(peep-stretch-stayおよびpeep-stretch-goではのぞき時間とstretch時間の合計)を見ると、peep-stretch-stay以外の3つの持続時間について、THEよりもTLEで長かった(peep-stay: $F=8.67$, $df=1$, 227 , $p<.01$, peep-stretch-go: $F=27.78$, $df=1$, 227 , $p<.01$, peep-go: $F=100.62$, $df=1$, 227 , $p<.01$)。peep-stretch-stayに関しては、系統差はみられなかった。

以上のことから、peep-stretch-go, peep-goという移動に転じたのぞき時間を除外しても、THEよりもTLEののぞき時間が長いことがわかった。特にpeep-stayに関しては頻度に系統差がみられず、持続時間がTLEで長いことが確かめられたので、TLEで1回あたりののぞき時間がTHEより長いこ

Table 1 3日間の平均のぞき時間、頻度と時間の内訳。PS: peep-stay, PStS: peep-stretch-stay, PStG: peep-stretch-go, PG: peep-go.

Strain sex	peeping	frequency				duration			
	time	PS	PStS	PStG	PG	PS	PStS	PStG	PG
THE Female	33.03	6.00	0.83	0.20	0.33	23.00	6.50	2.20	2.20
Male	18.65	4.33	0.27	0.07	0.00	15.00	3.00	1.10	0.00
mean	25.46**	5.12	0.53**	0.13**	0.16**	18.84**	4.66	1.62**	1.04**
TLE Female	41.70	5.00	0.20	0.30	2.17	23.00	3.80	4.80	11.00
Male	44.22	5.33	0.17	0.47	1.53	26.00	2.00	5.90	11.00
mean	42.94	5.16	0.18	0.38	1.85	24.48	2.91	5.34	11.00

** は系統差 ($p<.01$) を示す。

とがわかった。したがって、TLEでのぞき時間が長いことは単純にTLEの移動行動の多さに帰属できないという中村(1980)の指摘は妥当であり、のぞき時間がTLEの視覚的探索レベルの高さを反映する可能性が示唆された。

ところで、ラットが発箱の外へ移動するときには、peep-go, peep-stretch-go以外に、頭部を出入り口で止めて外をのぞくことなしに移動する行動(no peep-go)も見られた。移動行動を示さなかった個体を除き、外へ移動した個体に限ってその比率を算出すると、peep-stretch-go, peep-go, no peep-goの比率は、THEではそれぞれ37.88, 39.39, 22.73%, TLEでは20.99, 48.17, 30.84%であった。移動を示した場合でも、THEでは情動的反応とみられるstretchingをとまなう比率がTLEよりも高いことがうかがえる。

(5)その他

Table 2に、両系雌雄の3日間の総排便数、のぞき潜時、出発潜時、E区画潜時、体重のそれぞれの3日間の平均、3日間の総発声個体数を示した。これらすべてに、TLEよりTHEで大きい値をとる形で系統差がみられ(排便数： $F=166.84$, $df=1$, 227, $p<.01$, のぞき潜時： $F=116.92$, $df=1$, 227, $p<.01$, 出発潜時： $F=280.66$, $df=1$, 227, $p<.01$, E区画潜時： $F=290.55$, $df=1$, 227, $p<.01$, 体重： $F=177.58$, $df=1$, 227, $p<.01$, 発声： $F=28.55$, $df=1$, 227, $p<.01$)、これまでの傾向と同様であることが確かめられた。なお、排便は出発箱でのみ見られ、走路部では見られなかった。

性差について簡単にふれると、排便数、のぞき潜時、出発潜時、E区画潜時、体重は、雌よりも雄で

大きい値が得られた。逆に、移動区画数、peep-stay, peep-stretch-stay, peep-goの頻度、peep-stretch-stayの持続時間、発声は雄よりも雌で大きい値をとった。peep-stretch-goの頻度、およびpeep-stay, peep-stretch-go, peep-goのそれぞれの持続時間については、性差がみられなかった。

最後に、第50世代以降、THE, TLEの両系は筑波大学心理学研究科大学院生の和田由美子、細川裕士、磯部聡各氏の多大な尽力により維持された。

要 約

第65世代に達したTHE, TLE両系のランウェイテストを行った。その結果、移動区画数はこれまでと同様に明らかにTLEで高くTHEで低いという差異が認められたが、両系ともに前回の第50世代よりも低かった。第65世代のテストは、選択交配の間隔が5世代ごとから15世代ごとに延長したことと、実験者が装置付近にいない自動測定から、実験者が装置付近にいる直接観察に変更したという2点で、第50世代までとは異なった。選択交配の間隔を毎世代から5世代にのばした時点でTHEの移動区画数がやや増大したので、さらに15世代にのばしたことで減少に転じたとは考えにくい。したがって両系ともに移動区画数が減少したことは、むしろ直接観察に転じたため情動喚起刺激が増大したことによると解釈された。のぞき時間がTHEよりもTLEで長かったことは、TLEの移動が多いことの副産物ではなく、TLEの視覚探索レベルの高さを反映することが示唆された。

Table 2 各系の排便数の合計、のぞき潜時、出発潜時、E区画潜時、体重、および発声個体数。排便数は3日間の合計値、それ以外は3日間の平均値を示す。

Strain sex	defecation	latency (sec)			body	
		peeping	start	E-section	weight (g)	vocalization
THE Female	2.66	37.75	244.08	287.63	213.86	37.00
Male	3.47	56.84	294.84	300.00	295.61	6.00
mean	3.09**	47.81**	270.82**	294.15**	256.93**	20.67**
TLE Female	0.00	9.05	67.82	120.83	167.36	12.00
Male	0.00	10.08	86.44	140.32	247.28	0.00
mean	0.00	9.56	77.00	130.43	206.74	6.09

** は系統差($p<.01$)を示す。

文 献

- 安念保昌・中津山英子・和田由美子・藤田統 1992
Tsukuba 情動系20年間の家系図 筑波大学心理学
研究, **14**, 1-13.
- 藤田 統 1975 Open-field 行動とは何か 東京教
育大学紀要, **21**, 45-51.
- Fujita, O., Annen, Y., & Kitaoka, A. 1994 Tsukuba
High- and Low-Emotional strains of rats (*Rattus
norvegicus*): An overview. *Behavior Genetics*, **24**,
389-415.
- 加藤 宏 1987 ランウェイ・テストを指標とした
情動反応性の選択交配：3－生物学的適応－ 筑
波大学心理学研究, **9**, 57-65.
- 北岡明佳 1991 生態場面と実験室場面における
ラットの情動性の研究 筑波大学博士論文
- 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.
- －1997. 9. 30 受稿－