

氏 名（本籍）	太 田 亮（神奈川県）
学 位 の 種 類	博士（獣医学）
学 位 記 番 号	獣医博乙第36号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年3月14日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 題 目	シャトルボックス高および低回避ラットの作出と 行動奇形学への応用
審 査 委 員	主査 東京農工大学 教授 田 谷 一 善 副査 帯広畜産大学 教授 齊 藤 篤 志 副査 岩 手 大 学 教 授 小 林 晴 男 副査 東京農工大学 教授 小久江 栄 一 副査 岐 阜 大 学 教 授 外 崎 肇 一

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

行動奇形学の分野で使用されているシャトルボックス回避学習試験では、試験成績に大きな個体差がみられ、結果の解釈が難しい例がしばしば認められる。そこで、申請者は、特定の行動形質を指標に選抜された近交系ラットを行動奇形学に応用することで、個体差によって隠され、見過ごされる可能性のある薬物の影響を鋭敏に検出できるものと推察して、シャトルボックス試験の回避率を指標に Sprague-Dawley (SD)系ラットから選抜交配を行い、高および低回避ラットの分離育成に成功した。本研究は、高および低回避ラットの生理学的特徴、ならびに各種薬物毒性試験への応用性について検討したものである。

第3章では、回避行動を指標に分離した高および低回避ラットを用いて、行動奇形学の分野で実施されているシャトルボックス試験以外の行動試験（オープン・フィールド試験、回転ケージによる自発運動量測定および Biel 型水迷路学習試験）を行い、この両系がどのような行動特性を有しているかを検討した結果、両系間には自発運動量および迷路学習においても系統差が認められることを明らかにした。

第4章では、さらに生殖発生毒性試験において実施されている身体発達（上顎切歯萌出、外耳道開通、開眼）と行動発達（立ち直り反射、断崖落下回避反応、ビボッティング、背地走性）の検査および若齢期におけるオープン・フィールド試験を行い、両系の離乳前の行動特性について検討した。その結果、身体発達、行動発達および情動性にも系統差のあることが判明した。

第5章では、両系の行動特性が母性行動の影響を受けているか否かを検討するために、養母交換法を用いて実験を行った。すなわち、両系には行動発達、水迷路、オープン・フィールド、シャトルボックス回避および回転ケージによる自発運動量の各検査結果に系統差がみられたことから、これらの検査結果が養母交換により変化するか否かを検討した。その結果、両系にみられる行動特性の差はいずれも養母交換によって変化しなかったことから、両系の行動特性は、哺育期の母性行動に左右されない遺伝的要因によるものと判断された。

第6章では、両系の行動特性の中で、特に顕著な差が認められる自発運動量に注目して詳細な検討を行った。その結果、高および低回避ラットの自発運動量は、選抜交配していないSDラットに比べて個体差が小さいこと、両系の運動量の差は若齢（3および5週齢）においても認められること、新生児活動量の測定では、両系の活動量の差は生後5日から認められることが明らかとなった。また、両系には、アポモルヒネ投与後の自発運動量にも系統差が認められたことから、自発運動に関する系統差はドーバミン受容体に関連したものであろうと推察された。回避率を指標に選抜された両系は、自発運動に関する形質についても均一化されたことから、両系は薬物の自発運動量に対する影響を評価する際にも、有用なモデル動物になると考えられた。

第7章では、両系の自発運動量に顕著な系統差がみられたことから、回避行動と運動量には何らかの関連性があると推察されることから、シャトルボックス試験における運動量の指標となる試行間反応数を測定した。その結果、両系の試行間反応数には明らかな系統差は認められなかった。しかし、両系には副腎の大きさに明らかな差があることから、シャトルボックス試験中の血中副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）およびコルチコステロン濃度を測定した結果、高回避ラットは、低回避ラットに比較してシャトルボックス試験中のACTH分泌量が増加していることが判明した。この結果は、両系が内分泌反応の差によっても分離されている可能性を示唆し、回避行動と内分泌反応との間には何らかの相関性があると推察された。

第8章では、高および低回避ラットの哺育行動を観察して、産児の体重増加と母ラットの養育活動との関係について検討した結果、低回避ラットは、高回避ラットに比較して児の回集に長時間を要し、また乳汁の分泌量が少ないことが判明した。これらの結果は、低回避ラットの母性行動が高回避ラットに比べて劣っていることを明確に示しており、産児の体重増加にみられる系統差の裏づけとなった。また、今回の結果は、母動物の児に対する“動機づけ”と母動物のオキシトシン分泌に係わる機序が、児の成長に重要な影響を及ぼすことを示したものである。

第9章では、高および低回避ラットを用いて、メチルニトロソウレア（MNU）を胎児期に投与して作出した小頭症児の行動について検討した。その結果、MNUの投与により脳重量が対照群の約半分に低下し、小頭症児の迷路学習能は両系共に抑制されたが、回避学習における消去抵抗は高回避系のみで増加し、回転ケージによる自発運動量は高回避系の雄および両系の雌で抑制された。これらの結果から、胎児期の薬物投与が出生児の行動に及ぼす影響は検査に用いる系統によって異なることが明らかとなった。

第10章では、両系の母性動物に低用量のメチルアゾキシメタノール（MAM）を投与し、出生児の行動奇形学的検査を実施した。その結果、脳重量は対照群の85%に低下したが、回避学習および回転ケージによる自発運動量にMAM投与の影響は認められなかった。しかし、小頭症児の迷路学習は両系で抑制され、オープン・フィールド試験における移動距離は低回避系のみで減少した。

第11章では、第10章と同様にMAMを投与して、小頭症児のオープン・フィールド試験における血中ホルモン濃度の測定を行った。その結果、低回避系の小頭症児では第10章と同様にオープン・フィールド試験における移動距離が減少したが、オープン・フィールド試験における血中ACTHおよびコルチコステロン濃度には変化は認められなかった。一方、高回避系の小頭症児では、オープン・フィールド試験での行動には変化は認められなかったが、血中ACTH濃度は有意に低下した。

以上のごとく、行動奇形学的実験を個体差の少ない系統で実施することを目的として、シャトルボックス試験の回避率を指標にして作出した高および低回避ラットは、シャトルボックス試験の回避率を指標に選抜したが、自発運動量、迷路学習、情動性、行動発達、身体発達、母性行動に明らかな系統差が認められた。また、養母交換の実験から両系の行動特性の差は母動物の哺育行動に左

右されない遺伝的要因によることが判明した。さらに、両系には副腎の大きさに明らかな差が認められること、また、シャトルボックス試験中の血中ホルモン濃度が異なっていたことから、嫌悪刺激（ストレス）に対する内分泌反応に違いのあることが示唆された。両系を用いた小頭症児の行動奇形学的実験では、異常行動に系統差のあることを示し、両系を用いることで軽度の小頭症を呈した産児においても行動異常を検出することが出来た。この様に、特定の行動形質を指標に作出した高および低回避ラット（Hatano ラット）は、行動奇形学的実験に極めて有用なモデル動物であることが判明した。

## 審 査 結 果 の 要 旨

精神活動の基礎になるのは記憶である。すなわち、動物が思考し、推理し、次に起こるであろう出来事を予測すること、現在置かれている状況を的確に判断し、行動することなど、それぞれの動物が過去に経験し、学習した内容が脳の中に刻み込まれた記憶に基づいている。このような記憶がどのような生物学的な過程で脳に刻み込まれるのか、また、どのような過程で記憶が消失するのかについては、未解決の問題が多い。また、このような動物の記憶力には、個体差があり、動物個体により明らかな差が認められる。従って、脳による記憶あるいは記憶障害の生物学的過程を詳細に研究するためには、優れた動物モデルが必要である。本研究は、シャトルボックス回避学習試験の成績により Sprague-Dawley (SD) 系ラットを選抜交配し、高回避系と低回避系ラットの分離育成を行い、この高および低回避ラットを用いて、各種の生理的特徴を調べ、行動奇形学的実験に有用なモデル動物となることを明らかにしたものである。

### 1. 高および低回避ラットの行動特性

高および低回避ラットがどのような行動特性を有しているかを検討するために、行動奇形学の分野で実施されている行動試験（Biel 型水迷路学習試験、回転ケージによる自発運動量測定、オープン・フィールド試験）、身体発達および行動発達の検査を行った結果、低回避系は、高回避系に比べて迷路試験でのエラー数は多いが、自発運動量は少なく、身体および行動発達が遅延する事実が明らかとなった。

### 2. 高および低回避ラットを用いた養母交換実験

両系には回避学習、迷路学習、自発運動量、身体発達および行動発達の各検査結果に差が認められたことから、これらの検査結果に対する養母交換の影響を検討した。その結果、発育は養母交換により影響を受けたが、行動特性はいずれも変化が認められなかったことから、両系の行動特性は、哺育期の母性行動に左右されない遺伝的要因によるものと推察された。

### 3. 高および低回避ラットの自発運動量

両系の自発運動量について、新生児活動量の測定およびアボモルヒネ投与実験を行った。その結果、両系の自発運動量は選抜交配を行っていない SD ラットに比べて個体差が小さいこと、両系の活動量の差は生後 5 日令から認められること、さらにアボモルヒネに対する感受性は、高回避系の方が高いことが明らかとなった。

### 4. 回避学習と内分泌反応

両系では副腎の大きさに差のあることが見出されたことから、シャトルボックス試験中の血中副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）およびコルチコステロン濃度を測定した結果、高回避系は低回避系に比較してシャトルボックス試験中の血中 ACTH 濃度が高いことが判明した。

### 5. 高および低回避ラットの母性行動

児の体重増加と母ラットの養育活動との関係を明らかにする目的で、高および低回避ラットの母

性行動（ケージ内行動、営巣状況、産児回集、泌乳量）を観察した。その結果、ケージ内行動および営巣状況には系統差が認められなかったが、低回避系は高回避系に比べて児を回集する時間が著しく遅延すること、並びに、乳汁の分泌量が少ないことが判明した。この乳汁分泌量の低下は、低回避系母ラットのオキシトシン分泌低下によるものであり、児の発育不全の原因と推察された。

## 6. 小頭症ラットの行動特性

高および低回避ラットを用いて、メチルニトロソウレア（MNU）およびメチルアゾキシメタノール（MAM）を胎児期に投与して作出した小頭症児の行動について比較検討した。その結果、MNUの投与では両系とも脳重量が対照群の約半分にまで低下し、迷路学習におけるエラー数はいずれの系においても増加した。しかし、回避学習における消去抵抗は高回避系のみで、また、回転ケージによる自発運動量には、高回避系の雄および各系統の雌でMNU投与の影響が認められた。

次いで、MAMを投与して作出した小頭症児の行動について比較検討した。その結果、脳重量は対照群の85%に低下したが、回避学習および回転ケージによる自発運動量に影響は認められなかった。しかし、オープン・フィールド試験における移動距離は低回避系のみで減少した。さらに、小頭症児のオープン・フィールド試験時における血中ホルモン濃度、低回避系の小頭症児では血中ACTHおよびコルチコステロン濃度に変化は認められなかったが、高回避系の小頭症児ではオープン・フィールド試験中の血中ACTH濃度が低下した。

以上の結果から、胎児期における薬物の行動奇形学的影響は、使用する動物の系統によって異なり、高および低回避ラットは、それぞれの系統内では均一で、系統間では異なる行動特性を有することから、行動奇形学的実験に有用なモデル動物になると考えられた。また、記憶や記憶障害に関する機構を研究するためのモデル動物としても有用と考えられた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値のある内容であるものと認めた。

## 学位論文の基礎となる学術論文

1. Ohta,R., Shirota,M., Adachi,T., Tohei,A. and Taya,K. Plasma ACTH levels during early, two-way avoidance acquisition in high- and low-avoidance rats (Hatano strains). *Behavior Genetics* 29, 137-144, 1999.
2. Ohta,R., Matsumoto,A., Sato,M., Shirota,M., Nagao,T., Tohei,A. and Taya,K. Postnatal behavior in Hatano high- and low-avoidance rats following prenatal exposure to low-dose methylazoxymethanol. *Neurotoxicology and Teratology* 2000, in press.

## 既発表学術論文

1. Ohta,R., Matsumoto,A., Hashimoto,Y., Nagao,T. and Mizutani,M. Behavioral characteristics of rats selectively bred for high and low avoidance shuttlebox response. *Congenital Anomalies* 35, 223-229, 1995.
2. Ohta,R., Matsumoto,A., Hashimoto,Y., Nagao,T. and Mizutani,M. Behavioral characteristics of micrencephalic rats in high and low shuttlebox avoidance lines. *Neurotoxicology and Teratology* 19, 157-162, 1997.

3. Ohta,R., Matsumoto,A., Nagao,T. and Mizutani,M. Comparative study of behavioral development between high and low shuttlebox avoidance rats. *Physiology and Behavior* 63, 545-551, 1998.