

原 著

シャトルボックス型装置による二系統  
ラットの条件回避反応の観察

中 川 博 司  
信州大学医学部法医学教室  
(指導 : 野田金次郎教授)

OBSERVATIONS OF THE CONDITIONED AVOIDANCE  
RESPONSE IN TWO STRAIN-RATS EXAMINED  
WITH A SHUTTLE BOX

Hiroshi NAKAGAWA  
Department of Legal Medicine, Shinshu University School of Medicine  
(Director : Prof. Kinjiro NODA)

NAKAGAWA, H. *Observations of the conditioned avoidance response in two strain-rats examined with a shuttle box.* Shinshu Med. J., 29 : 98-105, 1981

The conditioned avoidance response in Fischer and Sprague Dawley rats were observed by using a newly developed shuttle box, equipped a rolling bar into a divider between two compartments, following a method which has been applied into the grid a extremely faint electric current in order to find the position of a rat. (one session of trial consists of an intertrial interval of 30 seconds and a warning duration of 5 seconds)

In results, significant strain differences were observed in the processes of the acquisition of avoidance response. Fischer rats showed the high average avoidance rate up to 90 percentage at the 2nd and 3rd session of training periods. Sprague Dawley rats indicated the avoidance rate less than 50 percentage at the 2nd session, and 70 percentage at the 3rd session. Furthermore, population variables of the avoidance response and extinction of learning memory in Fischer rats were smaller than those of Sprague Dawley rats. It was concluded that, compared to that of previous works, the excellent conditioned avoidance result in this experiment was obtained in the combination of the apparatus and Fischer rats.

(Received for publication ; October 11, 1980)

Key words ; 条件回避反応 (conditioned avoidance response)

シャトルボックス (shuttle box)

Fischer ラット (Fischer rat)

系統差 (strain difference)

## I まえがき

動物実験における学習行動の観察手段としてのオペラント条件づけ学習法は、心理学研究分野から普及し、1960年代以降、薬理学領域、特に精神薬理学、あるいは行動薬理学の発展とともに、その基礎的研究に欠くべからざる実験法となっている。この中で、回避学習法は、特に小動物での実験にもっとも汎用されている手法であり、その基本的原理は、嫌悪刺激を主とする無条件刺激 (unconditioned stimulus UCS) と、その接近を予報する信号 (条件刺激 (conditioned stimulus, CS)) を基本として、予め UCS の生起を阻止しようとする行動の学習である<sup>1)</sup>が、特に向精神薬の学習行動に対する効果に関する研究の中で多く利用されている<sup>2)9)</sup>。回避学習に用いられる代表的な実験装置として、現在、スキナーボックスやシャトルボックス、あるいはボールクライミングなどが知られ、研究目的に応じて様々なプログラミングが作り出され、利用されている。また、本学習実験に用いられるラットは、Myers (1959)<sup>10)</sup>が系統差による学習成績の差異について報告して以来、Nakamura と Anderson (1962)<sup>11)</sup>、Bignami (1965)<sup>12)</sup>、Kuribare ら (1976, 1980)<sup>13)14)</sup>によっても報告され、回避学習を行う場合には、学習成立の早い、個体間のばらつきの少ない系統で行うことが、研究の信頼性をより高めることになることが指摘されている<sup>1)15)</sup>。

今回、この条件回避学習法をさらに発展させるため、新しいタイプのシャトルボックス装置を考案、製作し、それを用いて、近年、小型であり自然発生腫瘍が少なく、かつ寿命が長い<sup>16)~20)</sup>と言われ、長期の毒性試験に有用性が認められつつある<sup>21)~23)</sup>近交系の Fischer ラット、およびクローズドコロニーの Sprague Dawley ラットの二系統による条件回避学習訓練を行い、若干の知見を得たので報告する。

## II 実験方法

### A 実験装置

使用した装置は Photo 1 に示したように自動判定や刺激発生を行うための制御機と、ブザー、スピーカー、電撃グリットなどを入れたアクリル樹脂性のボックス (34.2×47.0×20.5cm)、および音の周波数を制御するオージェネレーターから成り、条件刺激 (以下 CS) として 25dB, 1,000Hz のブザー音を、無条件刺激 (以下 UCS) としてステンレス製グリットに

直流、100V, 3~8mA の電撃を使用した。本装置の特長は、ボックス中間に左右への動物移動を容易ならしめ、かつ CS によらない移動を極力抑えるためローラーを取り付けたこと、さらに動物の位置判定法として、「グリット上に微電流 (100V, 50 $\mu$ A) を生じせしめ、動物の有無によっておきる電流差による検出」を採用し行ったこと、などである。制御機には、回路説明 Fig. 1 に示すように、それぞれの設定条件を可変とするためのタイマーや位置標示ランプを取り付け、さらに CS 回数、移動回数、電撃を受けた回数、電撃を受けた時間が、それぞれデジタル表示できるようにした。これにより、学習過程はすべて自動的に行われ、ラットをボックス内に投入後は、何ら人為的影響を受けることがないようにした (Photo. 1)。

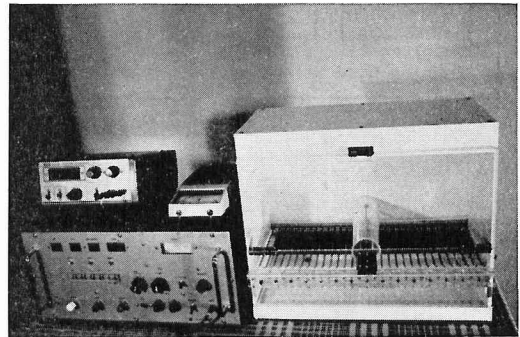


Photo 1, Apparatus used in the conditioned avoidance learning of rats

### B 使用動物

用いたラットは F344/DuCrj (Fischer, 雄 280~350 g, 雌 180~220 g, 18 週令) および CRJ: CD (Sprague Dawley, 雄 500~600 g, 雌 300~350 g, 18 週令)、それぞれ雌雄 10 匹で、飼料は市販ラット用飼料 CE-2 (日本クレア(株)) を用い、水 (水道水) とともに自由摂取させた。なお、予備飼育期間 (7 日間) および実験期間を通して、ラットはステンレス製スチールケージを単独収容し、温度  $21 \pm 0.5^\circ \text{C}$ 、湿度 40~60%/hr に、照明時間を 12 時間、換気回数 12 回制御したバリアースシステム飼育室で飼育した。

### C 訓練方法

CS, UCS および待ち時間 (intertrial interval, 以下 ITI とする) についてのスケジュールプログラムを Fig. 2 に示した。すなわち、ITI を 30 秒、CS 提示を 5 秒、UCS を 10 秒と設定し、これを 1 試行と

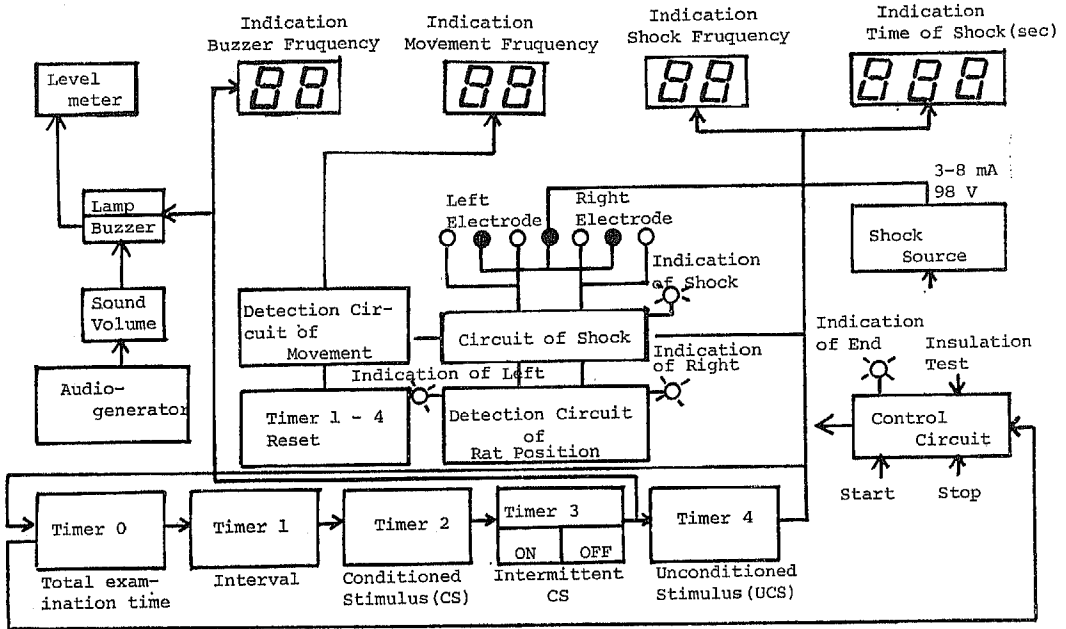


Fig. 1. Explanations on the circuit of apparatus

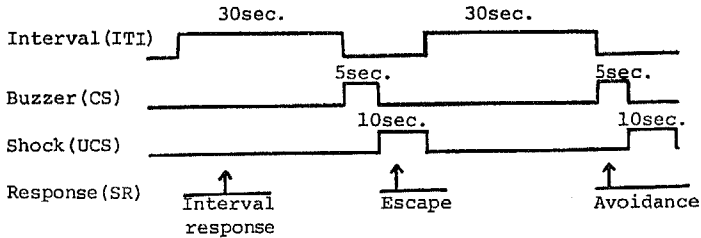


Fig. 2. Experimental schedule of Shuttle box avoidance learning

した。しかし、この間に動物が、ITI→CS→UCS のどの時点でローラーを越えて隣室へ移動しても、その位置から再び ITI→CS→UCS が始まるように制御した。訓練は1セッションを60分間とし<sup>24)</sup>、これを3日間連続的に行った。なお、各セッションの試行前に約1分間、ラットを予めボックス内に放置し馴化させてから訓練を開始した。さらに、これらの訓練はすべて自家製防音箱 (68.5×99.0×60.0cm) 内で実施した。

### III 成 績

判定装置に表示された CS 回数、電撃を受けた回数および秒数、移動回数を10分ごとに記録し、回避回数は (CS 回数から電撃を受けた回数を引いたもの) で求め、回避率は  $\frac{\text{回避回数}}{\text{CS回数}} \times 100$  で表した。それらの成

績は Fig. 3 の 1~4 に示した。

訓練第1日目 (セッション1) は、ラットをボックス内に入れると目新しい環境のためか、初期に警戒した探索行動を示し、ブザー音とそれに続く電撃のため著しく敏感となり、音に対して強い驚愕反応を示した。Fischer 系では平均して5分後(約8回目の試行)に初めて回避し、その後急速に回避率が上昇し、60分後にはほとんどの個体が100%に達した。Sprague Dawley 系では、回避率の上昇は緩慢で、かつ個体差が著しく、60分後には100%を示すものがあつたが、60分間まったく回避できない個体もあつた。セッション1における平均回避率は Fischer 系の雄で66.4%、雌で72.3%、Sprague Dawley 系の雄で22.0%、雌で14.3%であつた。

ラットの条件回避反応の観察

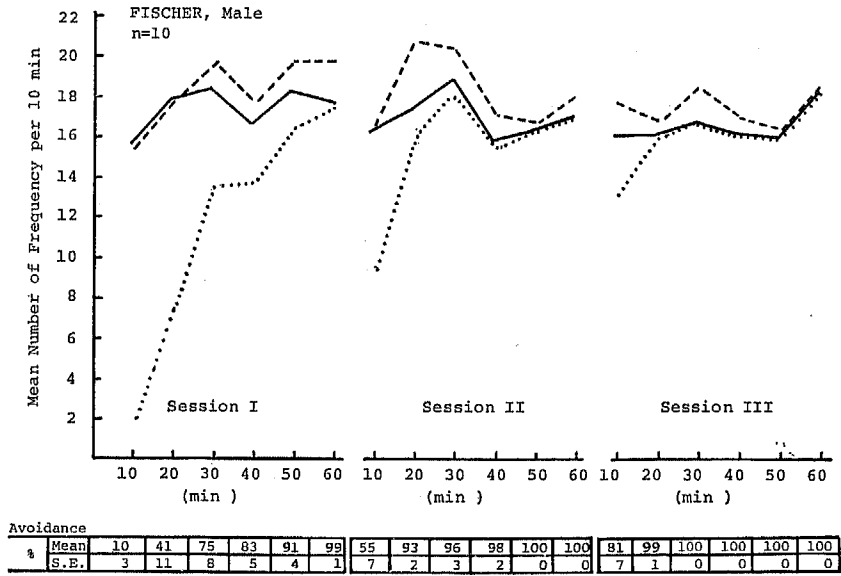


Fig. 3-1.

Fig. 3-1. The processes of the acquisitions of conditioned avoidance responses in two strain-rats examined with a shuttle box.

- Movement between two compartments
- Conditioned stimulus
- ..... Avoidance

Fig. 3-2~3-4. belong to upper explanation.

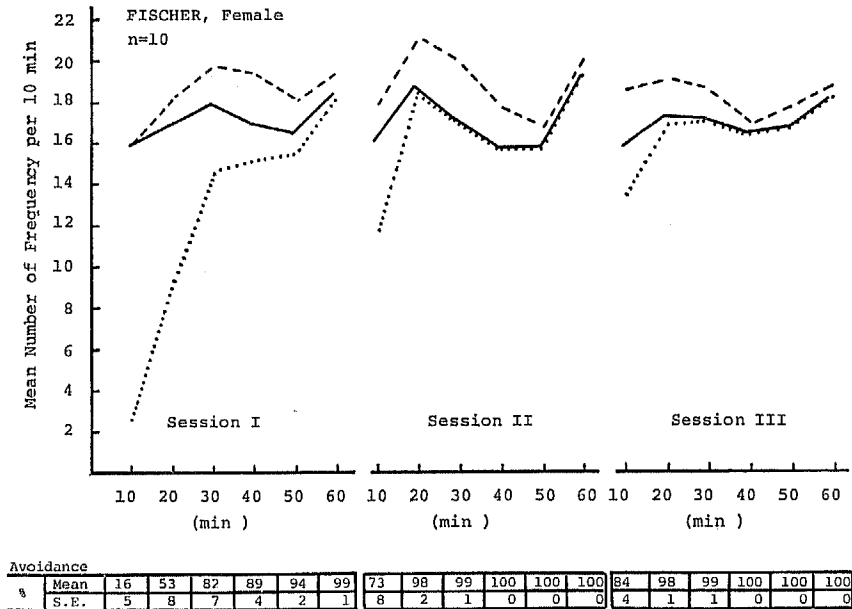


Fig. 3-2.

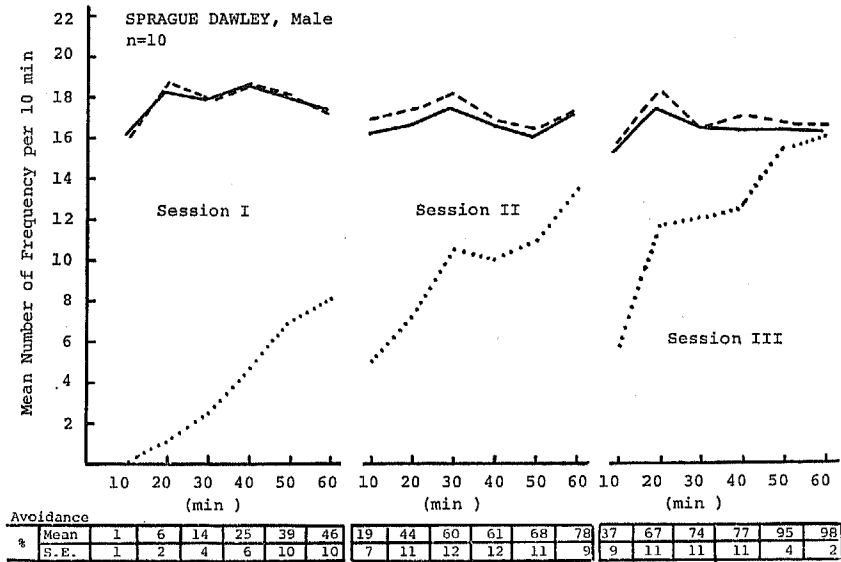


Fig. 3-3.

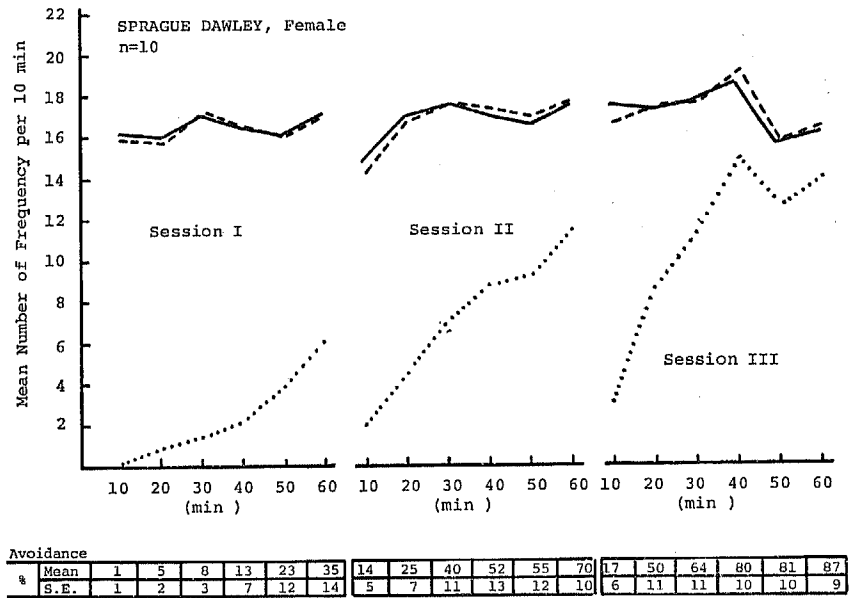


Fig. 3-4.

第2日目(セッション2)の訓練では、両系統のいずれの個体も第1回目の試行は回避できず、最初の10分間の訓練には消去(記憶忘れ)が認められたが、その後は第1日目の経過よりも急速に回避率が上昇した。Fischer系では30~40分後にはほぼ100%の回避率に達したが、Sprague Dawley系では60分後においても平均して雄で78.4%、雌で70.3%と低率であった。なお、第2日目の平均回避率はFischer系の雄で90.6%、雌で94.9%、Sprague Dawley系の雄で55.0%、雌で42.6%であった。

第3日目(セッション3)では、第2日目と同様に、初めは消去が見られたが、Fischer系は20~30分後にすべての個体が100%の回避率を示したのに対し、Sprague Dawley系では60分後においてもなお、100%に達するものは少なかった。3日目の平均回避率はFischer系の雄で96.7%、雌で96.9%、Sprague Dawley系の雄で74.4%、雌で63.0%であった。

訓練期間中のCS回数と移動回数との関係を経時的に見ると、Fischer系では3日間に3つのそれぞれ意味の異なるパターン、すなわち、(I)訓練初期におけるCS(ブザー)またはUCS(電撃)によるものでCS回数と一致した移動、(II)訓練中期におけるCS→UCSを予知した神経質なCS回数を上回る移動、および(III)訓練後期のCS→Movementを明確に認識し、落ちついたCS回数と一致した移動、が観察された。一方、Sprague Dawley系では、3日間の訓練中のパターンは前述した(I)の状態にあり、(II)および(III)は認められなかった。

また、学習効果に対する記憶の保持について、特に第3日目の最初の10分間の訓練において、前日の最終成績と比較すると、Sprague Dawley系では雄で78.4%→36.5%、雌で70.3%→17.0%であったのに対し、Fischer系では雄で100%→81.3%、雌で100%→84.2%と、Sprague Dawley系に比較し有意に消去は小さかった。

なお、本学習成績において、両系統ともに性差は示されなかった。

#### IV 考 察

条件回避学習成立の時間的關係にふれて、林<sup>15)</sup>はスキナーボックスによる弁別回避学習において、Wistar系を用いた実験では、100%に近い回避率を示すようになるのに10時間、10セッションの訓練を必要とすると述べ、また同様の方法でWistar系とFischer

系を比較検討した栗原<sup>14)</sup>の成績は、訓練の各セッションの消去部分を集計から除外しているにもかかわらず、80%以上の回避率を示すようになるまでにWistar系で10時間以上を、Fischer系で5時間以上を要している。また、用いた系統は明らかではないが、シャトルボックスによるラットの回避学習訓練を行った宇高<sup>25)</sup>の報告によれば、被験動物の30~35%が2~3週間で学習能を持った、としている。今回の成績では、Fischer系においては2時間で90%以上、3時間で96%以上を示し、Sprague Dawley系でも3時間で63%以上の平均回避率(消去部分も含める)を示し、従来の成績に比較し著しく短時間で学習が成立する傾向を認めた。この理由として、使用した条件回避装置の基本的な学習訓練方法の相違、すなわちUCSによる訓練初期の被ショック経験から、その後の回避行動につながるきっかけの難易度によるもの、あるいは条件回避スケジュールプログラムの差異、などが考えられる。今回のスケジュールプログラムは、いわゆるSidman型と弁別型を組み合わせた回避訓練、すなわちラットがCSによらない左右のコンパートメントへの移動を行った場合にもUCSは回避される設定にした。成績が示すようにこの種の無駄動きは少なく、また訓練の進行とともに消失する傾向にあった。このことは今回の優れた成績が疑いなく回避学習能獲得によるものであることを裏付けている。

また、ラットの系統差による条件回避成績の差異についての最近の報告<sup>13)14)</sup>を総括すると、弁別学習成立の早さにおいて、Fischer>Wistar $\geq$ Holzman>Sprague Dawleyの關係が認められ、特にSprague Dawley系は本学習訓練には不適であると言われていた<sup>15)26)</sup>。今回の成績においても、Fischer系に比較すれば著しく回避率が劣り、学習消去も大きく個体差が著しかった。一方、Fischer系は、その学習成立のスピードにおいて従来の報告にない早さを示し、学習消去も個体差も小さく、訓練に安定性が認められた。今後、何らかの条件づけを必要とする研究を行う場合に、Fischer系では本装置を用いて、ほとんど何らの前操作の必要もなく、1日に60分間、これを3日間学習訓練すれば条件づけを完了するものと考えられる。

また、近交系であるFischer系と、クローズドコロニーのSprague Dawley系の条件回避成績の差異は、この学習能が強く遺伝的支配を受けていることを示唆するものであったが、Bignami<sup>12)</sup>が回避学習の

早さを基に Wistar 系からの系統分離を試みたのと同じように、Fischer 系の個体変異の中からさらに優秀な系統を作出することができる可能性も考えられた。

### V 要 約

われわれが考案製作した新しいタイプのシャトルボックス、すなわち二つのコンパートメントの間に回転するローラーを取り付け、動物の位置判定法をグリット上に微電流を生じせしめ、導体の有無によっておこる電流差によって判定する方式を用いて、Fischer および Sprague Dawley の二系統のラットの条件回避学習訓練を行った。その結果、回避学習反応の獲得過程に系統間の差異がめられ、Fischer 系では訓練期間（1日60分を1セッションとして、3セッション連日）の第2および第3セッションで90%以上の高い平均回避率を示した。一方、Sprague Dawley 系では第2セッションでは50%以下の、第3セッションでは70%以下の平均回避率であった。さらに Fischer 系では Sprague Dawley 系に比較し、回避率の個体差、および学習記憶の消去が小さかった。以前の報告に比較し、今回の実験における優れた回避成績は、使用した本装置と Fischer 系ラットの組合せに起因するものと推察された。

稿を終るに当たり、シャトルボックス装置の製作に多年にわたり御甚力を賜ったイノン研究所の篠原梅治所長、北沢バルブ(株)の山本 誠技師、および動物供給に御協力下さった日本チャールスリバー(株)、さらに本研究に御協力下さった(株)信州動物実験センターの各位に深く感謝の意を表します。また終始御指導と御校閲下さいました野田金次郎教授ならびに信州大学医学部耳鼻咽喉科学教室の田口喜一郎教授に厚く御礼申し上げます。

### 文 献

- 1) 八木 颯：動物実験 I, p. 162, 東京大学出版会, 東京, 1975
- 2) Ader, R. and Clink, D. W. : Effects of chlorpromazine on the acquisition and extinction of an avoidance response in the rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 121 : 144-148, 1957
- 3) Verhave, T. : The effect of methamphetamine on operant level and avoidance behavior. *J Exp Anal Behav*, 1 : 207-219, 1958
- 4) Cook, L. and Weidley, E. : Behavioral effects of some psychopharmacological agents. *Ann NY Acad Sci*, 66 : 740-752, 1957
- 5) Posluns, D. : An analysis of chlorpromazine-induced suppression of the avoidance response. *Psychopharmacology*, 3 : 361-373, 1962
- 6) Stone, G. C. : Effects of drugs on nondiscriminated avoidance behavior. *Psychopharmacology*, 6 : 245-255, 1964
- 7) Souskova, M., Benesova, O. and Roth, Z. : The effect of chlorpromazine, phenmetrazine, imipramine and physostigmine on the exploratory and conditioned avoidance reaction in rats with different excitability of the central nervous system. *Psychopharmacology*, 5 : 447-456, 1964
- 8) Gupta, B. D. and Holland, H. C. : An examination of the effects of stimulant and depressant drugs on escape/avoidance conditioning in strains of rats selectively bred for emotionality/non-emotionality ; A multivariate analysis of the effects of drugs on conditioned avoidance responses and intertrial activity. *Neuropharmacology*, 11 : 23-30, 1972
- 9) Smith, A. A. and Calhoun, W. H. : Scopolamine : Effects on conditioned suppression. *Neuropharmacology*, 11 : 347-350, 1972
- 10) Myers, A. K. : Avoidance learning as a function of several training conditions and strain difference in rats. *J Comp Physiol Psychol*, 52 : 381-386, 1959
- 11) Nakamura, C. Y. and Anderson, N. H. : Avoidance behavior differences within and between strains of rats. *J Comp Physiol Psychol*, 55 : 740-747, 1962
- 12) Bignami, G. : Selection for high rates and low rates of avoidance conditioning in the rat. *Anim Behav*, 13 : 221-227, 1965
- 13) Kuribara, H., Ohashi, K. and Tadokoro, S. : Rat strain differences in the acquisition of conditioned avoidance responses and in

- the effect of diazepam. *Jpn J Pharmacol*, 26 : 725-735, 1976
- 14) 栗原 久 : F344/DuCrj (Fischer) 系ラットの行動特性 : 自発運動および条件回避反応習得過程について. *実験動物*, 29 : 327-333, 1980
- 15) 林 哲 : オペラント条件づけを利用したラットの学習行動観察方法. ICIS 講座 E-11 : 1-18, 1979
- 16) Sass, B., Rabstein, L. S., Madison, R., Nims, R. M., Peters, R. L. and Kelloff, G. J. : Incidence of spontaneous neoplasms in F344 rats throughout the natural life-span. *J Natl Cancer Inst*, 54 : 1449-1456, 1975
- 17) Knox, W. E., Linder, M. and Friedell, G. H. : A series of transplantable rat mammary tumors with graded differentiation, growth rate, and glutaminase content. *Cancer Res* 30 : 283-287, 1970
- 18) Coleman, G. L., Barthold, S. W., Osbaldiston, G. W., Foster, S. J. and Jonas, A. M. : Pathological changes during aging in barrier-reared fischer 344 male rats. *J Gerontol* 32 : 258-278, 1977
- 19) Kampschmidt, R. F. and Upchurch, H. F. : Daily variation of body temperature, liver catalase activity, and plasma iron concentration in normal and tumor-bearing rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 134 : 527-529, 1970
- 20) 日本チャールス・リバー 株式会社 : 近交系 Fischer ラットカタログ, 神奈川, 1979
- 21) Luthra, Y. K., Rosenkrantz, H., Heyman, I. A. and Braude, M. C. : Differential neurochemistry and temporal pattern in rats treated orally with  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol for periods up to six months. *Toxicol Appl Pharmacol*, 32 : 418-431, 1975
- 22) Rosenkrantz, H., Sprague, R. A., Fleischman, R. W. and Braude, M. C. : Oral  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol toxicity in rats treated for periods up to six months. *Toxicol Appl Pharmacol*, 32 : 399-417, 1975
- 23) Hebert, J. A., Kerkhoff, L., Bell, L. and Lopez-s, A. : Effect of exercise on lipid metabolism of rats fed high carbohydrate diets. *J Nutr* 105 : 718-725, 1975
- 24) Kurubara, H., Okuizumi, K. and Tadokoro, S. : Analytical study of acquisition on free-operant avoidance response for evaluation of psychotropic drugs in rats. *Jpn J Pharmacol*, 25 : 541-548, 1975
- 25) 宇高奎二 : 医薬品の生殖試験における学習能力試験法の実際. ICIS 講座 E-7 : 2, 1979
- 26) 田所作太郎, 小川治克 : 行動薬理試験, 一とくにオペラント行動を中心に. *薬理と治療*, 2 : 1189-1204, 1974

(55. 10. 11 受稿)