

原 著

ラットにおける行動抑制と条件回避反応
に及ぼすエタノールの効果

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)

EFFECTS OF ETHANOL ON THE CONDITIONED AVOIDANCE
RESPONSE AND THE BEHAVIORAL
DEPRESSION IN RATS

Hiroshi NAKAGAWA

Department of Legal Medicine, Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof Kinjiro NODA)

NAKAGAWA, H. *Effects of ethanol on the conditioned avoidance response and the behavioral depression in rats.* Shinshu Med. J., 29: 106-112, 1981

The intensity of the behavioral depression determined by the scores of passivity, righting reflex, staggering gait, pain response and conditioned avoidance response in F344/DuCrj (Fischer) rats, after oral administration of 30-percent aqueous solution of ethanol (1.16ml/100g of body weight), were counted on the scheduled time course. In this experiment it was found that 30-percent ethanol produced a marked difference in the intensity and duration of behavioral depression among rats, from near non-influence in avoidance to appearance of the ataxic gait, disappeared righting reflex, decreased pain response and absence of conditioned avoidance response, and then comparatively high correlations between the score of general behaviors and the conditioned avoidance rate were recognized. However, their correlation line was not straight, the ability of avoidance learning was maintained with high rate in spite of a fairly severe depression degree of general behavior. It was thought that those results showed a pharmacological characteristic of ethanol and the strength of conditioning on the avoidance response.

(Received for publication; October 11, 1980)

Key words ; エタノール (ethanol)

条件回避反応 (conditioned avoidance response)

行動抑制 (behavioral depression)

I ま え が き

アルコールに関する基礎的研究のうち、中毒や、耐性、依存性などに関する研究は、すでに膨大な研究資料となっているが、行動薬理学的な研究資料は意外に乏しい。特に学習能に関する研究、なかでも条件回避学習に関する研究は Reynold (1960)¹⁾の報告が初めてと考えられ、その後の報告例をあまり見ない。Reynold の研究によれば、32%エタノールを1~5 ml/350g, ラットに経口投与し、1 ml で回避反応の促進を、4~5 ml で著明な低下を見ている。著者は、アルコールの条件回避反応におよぼす影響について、さらに詳細な検討を行うため、エタノールをラットに経口投与し、その後の一般行動の変化とともに、シャトルボックスを用いて条件回避行動の推移を観察し、エタノールのおよぼす行動抑制作用と条件回避反応への影響について、若干の知見を得たので報告する。

II 実験方法

A 使用動物

用いたラットは、先に著者が行った「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」²⁾(以下前報(I)とする)で行った条件回避学習訓練と同様の方法によって予め条件づけを成立させた F344/DuCrj (Fischer) の雄性(体重250~300 g) 4 匹と、雌性(体重160~200 g) 8 匹、それぞれ13週令で、エタノール投与の16時間前より絶食させ水だけを与えた。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ワイヤーケージに単独収容し水および飼料(CE-2, 日本クレア)を与え、温度 $21 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、湿度40~60%、照明時間を12時間(午前8時から午後8時まで)、換気回数を14回/時間としたバリアシステム室で飼育した。

B 回避実験装置

条件回避反応の観察に用いた装置は、著者らが製作したシャトルボックスタイプのもので、詳細は前報(I)に述べた。

C エタノールの投与量

予め、同系のラットを3匹用いて、体重100 g 当たり、10%エタノールを3.4 ml、30%エタノールを1.16 ml、および40%エタノールを0.87 ml、それぞれ1回経口投与し、その後の一般症状の観察を行った。その結果より、死亡が認められず、かつ中枢抑制作用が行動において明らかであった30%エタノール、1.16 ml/100 g

を適量と認め、本実験ではこの量を用いることとした。なお、投与は金属性ゾンデを介して1回、強制的に胃内へ行った。

D 観察項目および方法

エタノール投与の直後、およびその後5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 120, 240分と24時間後について、行動抑制効果を数量化するため、Fig. 1 に図案化して示したように、受動性、正向反射、よろめき歩行および疼痛反応を以下にしたがって観察した。

1) 受動性: Irwin²⁾によって提唱されたマウスでの手法により、ラットを不自然な体位に置いた時に生ずるものがき行動の有無により以下に分類した。すなわち、垂直にした時の消失はスコアを2とし、後向きにし水平にした時の消失はスコアを4とし、後肢を持って吊り下げた時の消失はスコアを6とし、前肢を持って吊り下げた時の消失をスコア8とした。

2) 正向反射: Irwin による手法を参考として、ラットの尾を持って、5回、30~40 cm 上方へほうり投げた時、横になって落下した場合にはその回数によってスコアを1~3とし、背から落下した場合にはその回数によってスコアを4~6までとした。またラットを背位にした時の正向復帰が鈍い場合にはスコアを7とし、これがまったく消失した時をスコア8とした。

3) よろめき歩行: ラットをグリッド上に置き、その時のよろめき歩行程度を次に分類した。すなわち、後肢を時々グリッド線の間に落下させ歩行する場合にはスコアを2とし、前肢、後肢ともに時々落下させる場合にはスコアを4とし、落としたり前肢、後肢をものがかせるがほとんど戻せない場合をスコア6とし、落としたりまままったく動かない場合をスコア8とした。

4) 疼痛反応: ラットの尾基幹部をピンセットで強く挟んで吊り上げた時、上体を持ち上げピンセットを噛もうとする場合は正常でスコアを0とし、上体を反らしてもがく程度をスコア2とし、まったく無反応をスコア4とした。

行動抑制スコア観察後直ちに、ラットをシャトルボックス内に入れ、条件回避反応を調べた。この時の回避スケジュールは待ち時間を10秒、ブザー音(2,000 Hz, 25 dB)を5秒、電撃(100 V, 3 mA)を10秒とし、各測定時間ごとに15回試行させ成績を出した。

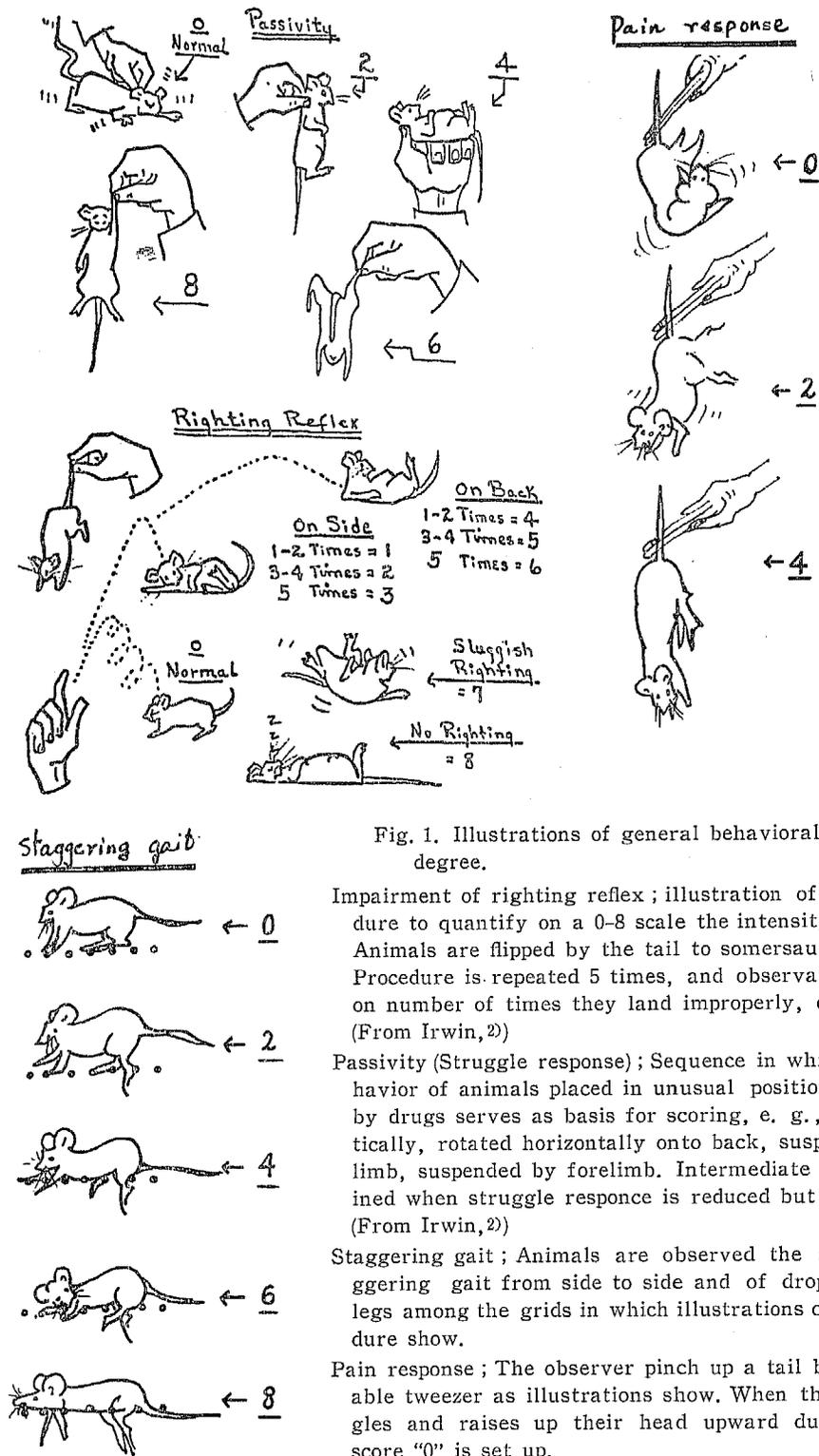


Fig. 1. Illustrations of general behavioral depression degree.

Impairment of righting reflex; illustration of scoring procedure to quantify on a 0-8 scale the intensity of drug effect. Animals are flipped by the tail to somersault 2 or 3 times. Procedure is repeated 5 times, and observations are made on number of times they land improperly, on side or back. (From Irwin, 2)

Passivity (Struggle response); Sequence in which struggle behavior of animals placed in unusual positions is abolished by drugs serves as basis for scoring, e. g., suspended vertically, rotated horizontally onto back, suspended by hindlimb, suspended by forelimb. Intermediate scores are obtained when struggle response is reduced but not abolished. (From Irwin, 2)

Staggering gait; Animals are observed the attitude of staggering gait from side to side and of dropping out their legs among the grids in which illustrations of scoring procedure show.

Pain response; The observer pinch up a tail base with a suitable tweezers as illustrations show. When the animal struggles and raises up their head upward due to the pain, score "0" is set up.

条件回避反応に及ぼすエタノールの効果

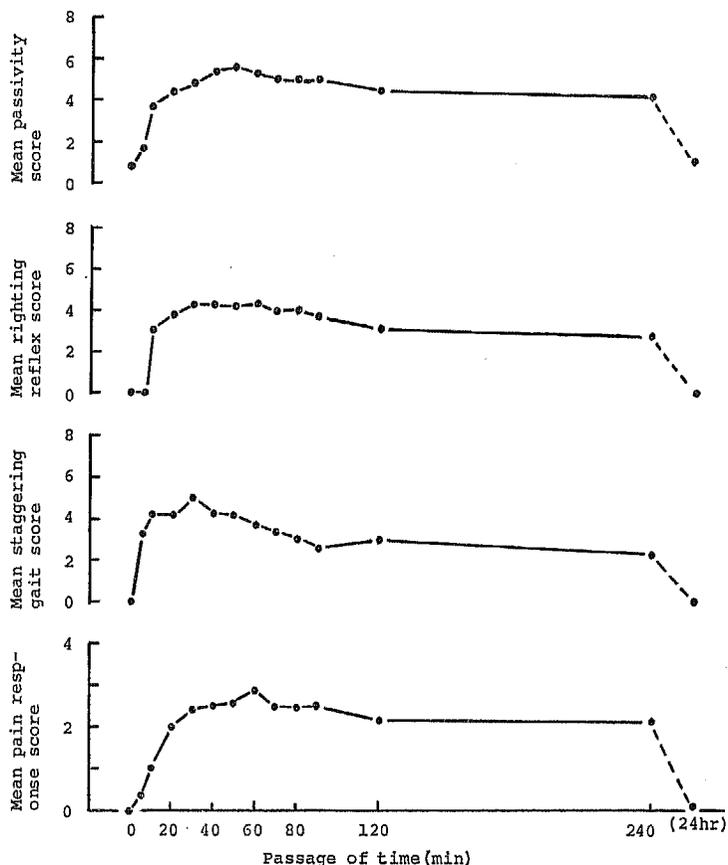


Fig. 2. Changes of general behavioral depression scores in rats after administration of 30-percent aqueous solution of ethanol

III 実験成績

エタノール投与後の受動性、正向反射、よろめき歩行、および疼痛反応のスコアの変化は、Fig. 2 が示すように、相互にほぼ一致した動きが示されたので、それぞれのスコアを個体ごとに集計し（最少0より最大28まで）、投与後5分から4時間値の平均スコアの小さい個体順に、その成績を Table 1 に記載した。また、その個体ナンバーにしたがって、条件回避率を Table 2 に示した。

これらの成績が示すように、エタノール投与による行動抑制効果のピーク発現時期には著しい個体間の差異が認められ、投与後5～60分のみ、軽度スコアの上昇を見たもの（No. 1～4）、5分後より次第にスコアが上昇し、4時間までほとんど最高値（スコア、28）に近い数値が連続的に見られたもの（No.

7～12）、およびその中間型を示したもの（No. 5およびNo. 6）があった。また、行動抑制効果の強さについても、投与後5分から4時間まで各個体の平均スコアを見ると、No. 1～4では4.6～7.0、No. 5～6では8.8～11.9、No. 7～12では18.9～22.2と著しい個体差が認められた。

一方、条件回避反応成功率は、No. 1～4のグループにおいてはピーク発現時に若干の低下が見られるものの、その時期を除けばほとんど100%を示し、平均回避率は94.5～97.7%と、ほとんど投与による影響が認められなかった。しかし、No. 7～12のグループでは、回避のまったく不可能な個体もあり、行動抑制のスコアとほぼ一致して長時間にわたる低下が認められ、平均回避率は17.2～67.7%と、ばらつきが大きく、かつ低率であった。

行動抑制スコアと回避率を、それぞれの個体の平

Table 1. General behavioral depression score* in rats after oral administration of 30-percent aqueous solution of ethanol

No.	Sex	Time after administration												Mean score (5min-4hr)		
		minutes										hours				
		0	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	2	4	24	
1	M	2	4	12	8	8	7	3	3	2	2	2	2	2	3	4.6
2	M	2	4	7	8	13	13	7	6	6	4	3	2	2	2	6.3
3	F	0	4	12	14	12	9	8	8	5	3	3	0	0	0	6.5
4	F	2	8	16	17	12	8	7	5	3	2	2	2	2	2	7.0
5	M	2	5	13	11	11	12	12	12	7	7	6	6	4	2	8.8
6	F	0	7	12	14	20	17	17	15	14	10	9	4	4	0	11.9
7	M	0	3	7	13	16	21	22	24	23	24	24	25	25	0	18.9
8	F	0	10	14	11	12	13	19	23	23	26	27	26	24	4	19.0
9	F	0	2	8	17	22	19	22	24	25	25	25	25	20	0	19.5
10	F	0	7	16	24	27	27	28	22	21	21	19	14	11	0	19.8
11	F	2	8	13	17	21	25	26	26	26	26	24	24	18	2	21.2
12	F	0	2	11	16	21	25	27	28	28	28	28	28	24	0	22.2
Mean score		0.8	5.3	11.8	14.2	16.3	16.3	16.5	16.3	15.3	14.8	14.3	13.2	11.3	1.3	

* Each value represents the number added up each score of the passivity, righting reflex, staggering gait and pain response.

Table 2. Conditioned avoidance rate (%) in rats after oral administration of 30-percent aqueous solution of ethanol

No.	Sex	Time after administration												Mean rate (%) (5min-4hr)		
		minutes										hours				
		0	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	2	4	24	
1	M	93	87	67	100	80	100	100	100	100	100	100	100	100	100	94.5
2	M	93	100	88	100	93	93	100	100	100	100	100	100	100	100	97.3
3	F	100	87	100	87	93	93	100	100	100	100	100	100	100	100	95.6
4	F	100	93	93	100	100	100	93	93	100	100	100	100	100	100	97.7
5	M	93	93	93	93	93	93	73	87	93	60	87	93	100	100	88.2
6	F	93	67	87	87	38	80	73	80	80	73	100	100	100	100	80.4
7	M	100	80	93	93	87	67	67	80	33	20	33	40	44	100	61.4
8	F	93	73	80	93	80	53	20	27	9	9	0	13	19	100	39.7
9	F	100	93	86	100	90	100	93	77	0	0	0	80	93	100	67.7
10	F	80	40	33	0	0	0	0	20	7	47	27	47	80	100	25.1
11	F	100	93	83	93	60	73	40	33	0	33	47	47	67	100	55.8
12	F	93	40	33	60	13	0	0	0	0	0	0	10	50	100	17.2
Mean rate (%)		95.4	78.3	77.9	83.9	69.0	71.0	62.1	66.4	51.8	53.5	57.8	69.2	79.0	100	

条件回避反応に及ぼすエタノールの効果

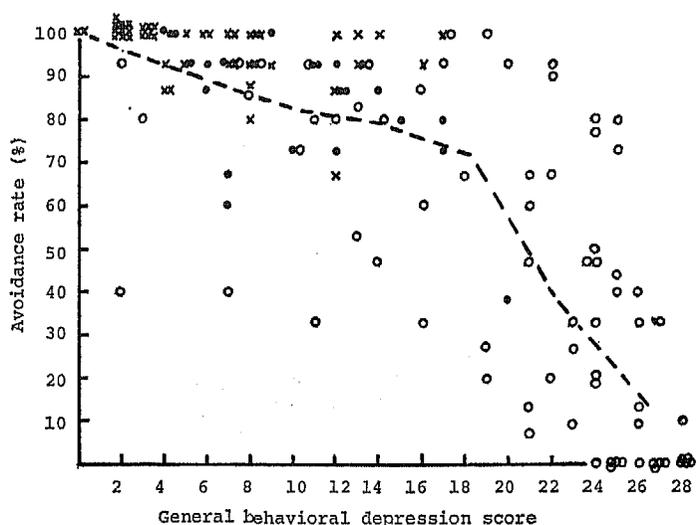


Fig. 3. Correlations between the avoidance rate and the general behavioral depression scores in rats treated with 30-percent aqueous solution of ethanol.

- ×.....A group consists of four rats showed slight behavioral depressions
-A group consists of two rats showed moderate behavioral depressions
-A group consists of six rats showed remarkable behavioral depressions
- Mean correlation line

均値において比較すると、行動抑制効果が弱い個体では回避率は高く、行動抑制効果が強く見られる個体では回避率は低い傾向にあり、両者の間には $r = 0.695$ の負の相関係数が示された。しかし、Fig. 3 が示すように、両者の関係は直線的ではなく、平均回避率が、行動抑制スコアの 0~18 に至るまでは 100% より 72% と、比較的緩やかな低下であったが、18 から 28 までの間では 72% から 13% と急墜し、個体差も大きくなる傾向が示された。

IV 考 察

エタノールの持つ中枢神経作用は、血中濃度が 0.02% に達すると視力障害や骨格筋運動失調をもたらし、0.1% 以下で光、音の刺激に対する感覚反応が鈍り、言語障害をきたす³⁾ ことが一般的に知られている。また、マウス、ラット、ネコ、イヌなどで 0.2% になると歩行困難に陥り、0.4% で昏睡状態に、0.6~0.8% で死に至る⁴⁾ ことが判っている。今回の実験で用いた 30% エタノール、1.16ml/100g は 60kg のヒトに対して約 700ml の投与量に相当するものであったが、ラットに対する一般行動抑制スコアおよび条件回避行動から判断されるエタノールの作用時間、作用強度には

著しい個体差が認められ、投与後、10~60 分の間のみならず、ほとんど条件回避成績に影響しない程度の軽度な抑制が見られるものから、数時間におよび著しい歩行失調や条件回避不能を見るものまでがあった。一般的に、ヒトにおいては耐酒性による、同量のアルコールに対する身体的症状の個人差についてはよく知られた事実であり、また、飲酒経験の有無に関係なく、いわゆる酒の強い人、弱い人の差もよく経験するところである。動物実験ではさらに、系統による差⁵⁾、性および日齢による差⁶⁾ などアルコールの代謝速度に関する差異、あるいは日中変動による急性中毒症状の差異⁷⁾ などの報告があるが、これらの差異の生ずる原因として、アセトアルデヒド脱水素酵素量の差とするもの⁸⁾、アルコールの生体での拡散機能、肝機能の差とするもの¹⁰⁾ などのほか、気温や活動性などの差異によるもの⁹⁾ などが知られている。しかし、今回のように同一実験条件下で一回投与による、しかも近交系集団内でこのような著しい行動レベルでの個体差が見られたという事実は、いわゆる酩酊に対する個人差の原因が複雑であることを推測させる。今回、血中濃度と行動変化とを本実験において対比させることはできなかったが、ウサギに 10% エタノールを 10ml/kg 経口投与した例で

は、投与後60分をピークとし、その後漸次低下して4時間ではピーク時のおよそ半分の血中濃度となる¹⁰⁾。この成績と対比すると、今回得られた行動抑制効果の推移はこれにほぼ一致するか、やや血中濃度消失が先行するように思えるが、個体差の比較は明らかではなかった。

一方、エタノール投与によって生ずる行動抑制作用と条件回避学習との関係について、今回の成績から次のようなことが考えられる。すなわち、行動抑制効果を示す受動性、正向反射、よろめき歩行、および疼痛反応のスコアと回避反応には比較的高い相関が認められたが、両者はかならずしも直線的関係にはなく、行動抑制スコアが18、すなわち受動性、正向反射、よろめき歩行の平均スコアが5で、疼痛反応スコアが2ないし4を越えると、回避反応が急激に鈍化する傾向にあり、それ以前では比較的高い回避率が示されていた。このことは予め行われた回避条件づけの持つ学習強度を現しており、かなり重度の行動抑制がある場合でも、シャトルボックスによる回避学習行動はよく保持されていることを示唆するものであった。またこの結果は、エタノールの条件回避学習に対する行動薬理学的な特性を示しているものと考えられた。

V 要 約

30%エタノール(1.16ml/100g)をF344/DuCrj(Fischer)ラットに経口投与し、その後経時的に受動性、正向反射、よろめき歩行、疼痛反応および条件回避反応への行動抑制強度を観察した。その結果、ほとんど回避反応に影響しないものから、歩行失調や正向反射の消失、疼痛反応の減少、条件回避不能に至るまで、30%エタノール投与によって著しい個体差が認められた。また、行動抑制スコアと条件回避率の間には比較的高い相関が示されたが、それらの関係は直線的ではなく、かなり重度の行動抑制に対しても回避学習能はよく保持されることがわかった。これらの結果は、条件回避反応におけるエタノールの薬理学的特性を示すとともに、回避条件づけの強さを現しているものと考えられた。

稿を終わるに当たり、御指導、御校閲を賜った野田

金次郎教授、ならびに信州大学耳鼻咽喉科学教室の田口喜一郎教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本研究に終始御協力下さった(株)信州動物実験センターの研究員の方々に厚く御礼申しあげます。

文 献

- 1) Reynold, G. S. : Effects of ethyle alcohol on avoidance behavior. *Science*, 132 : 42-43, 1960
- 2) Irwin, S. : In "Animal and clinical pharmacological techniques in drug evaluation, Nodine, J. H. and Siegler, P. E. (eds.), Chapt 4, pp. 36-54, Year book medical publishers, Chicago, 1964
- 3) 羽野 寿 : 新応用薬理学, p. 79, 永井書店, 大阪, 1970
- 4) 八木 颯 : 動物実験II, p. 152, 東京大学出版会, 東京, 1975
- 5) 遠藤 克, 塚本昭次郎, 須藤孝子, 西川溟八, 上野 佐 : アルコール代謝におけるマウスの系統差について. *アルコール研究*, 12 : 21-22, 1977
- 6) 遠藤 克, 横山英世, 西川溟八, 塚本昭次郎, 須藤孝子, 上野 佐 : アルコール代謝におけるマウスの性差および日齢差について. *アルコール研究*, 13 : 147-148, 1978
- 7) 高橋日出彦 : くすりの毒性, p. 64, 南江堂, 東京, 1975
- 8) 中川博司 : 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. *信州医誌*, 29 : 98-105, 1981
- 9) 安倍弘彦, 原田宏一, 谷川久一, 横山敏登, 佐藤晋昭 : アルコール不耐症者の血中エタノールおよびアセトアルデヒドの動態. *アルコール研究*, 13 : 183-184, 1978
- 10) 四方一郎, 清原 統, 幸田博文, 秦 礼 : 血液中アルコール濃度の変動に関する研究, アルコール連続投与の血液中アルコール濃度の推移におよぼす影響. *アルコール研究*, 1 : 192-211, 1966

(55.10.11 受稿)