A Comparison between Wheel-running and Ambulatory Activities in Young, Adult and Old Rats Based on Long-term Observation

Motoo SHINODA and Toyohiko MIURA

*Institute of Experimental Animal Research, Gunma University, School of Medicine,
3-39-22 Showa-machi, Maebashi-shi, Gunma 371, Japan*

(Received 26 May 1993/Accepted 17 August 1993)

It has been considered that spontaneous motor activity (SMA) represented by wheel-running activity (WRA) or ambulatory activity (AA) is one of the most basic indicators in the behavioral-pharmacological test in small rodents. Since various differences are noticeable between WRA and AA in their characteristics or drug responses, both activities may be not considered as the same category of SMA. The main purpose of this study was to elucidate the background difference between WRA and AA in three different aged groups, based on their long-term observation. AA data obtained by Gundai type Ambulo-drinkometer were applied for comparison with WRA data obtained by Wheel-drinkometer. WRA, AA and drinking behavior all showed clear diurnal rhythms characterized by nocturnal animals under light-dark condition (LD=12:12h). WRA and AA, in particular the former, tended to decrease according to the aging. More than 30 days habituation was required in order to obtain stable daily WRA level in adult rats. AA of young rats was higher than the other aged rats. The present results suggest that indicators, conditions, measurement apparatus, age etc have to be considered in behavioral-pharmacological observations using WRA or AA. —KEY WORDS: age, rats, rhythmicity, spontaneous motor activity

長期観察に基づく幼若、成熟および老齢ラットにおける 車回し運動ならびに移所運動活性の比較

篠田 元扶・三浦 豊彦

群馬大学医学部附属動物実験施設

一般に、マウスやラット等の小型ゲッ歯類を使用した行動薬理試験の薬効評価において、これらの動物の自発運動活性は最も基本的な観察指標となる [9, 10, 12]。短時間の自発運動測定はオープンフィールド法によって代表されるような肉眼的観察が基本となる。しかし、長時間にわたる連続的な行動観察は肉眼的には困難であるため、自動化された測定器が用いられる。自動化された自発運動活性の測定手段としては、振動かご、フォトビームあるいは感應電磁誘導等による平面上の移所運動活性 (ambulatory activity: AA と略) 測定法 [1, 5, 9], ならびに回転かごを用いて車

回し運動活性 (wheel-running activity: WRA と略) を測定する方法 [2, 7, 10] が一般に用いられる。しかし、このような測定方法の違いに起因して、行動活性の周波数成分や日周リズムパターン等の行動特性 [6, 8], あるいは薬物に対する反応性 [13] が異なることが報告されている。また、同様の測定方法を用いてもラットとマウスの間には動物種差がみられ [6, 8], さらに系統差, 日齢差, 性差等が存在することが推察される。一方, Mizoguchi らにより AA と WRA を同時に観察することの可能な行動量測定ケージも試作されている [4]。このケージは WRA と AA

を同時に観測でき、WRA 測定時におけるラットのホームケージ内での行動についても把握できる利点がある。しかし、行動特性の分析に関しては、ホームケージの大きさが WRA に及ぼす影響、あるいは車回し運動に必然的に伴う学習、習慣性等が AA に及ぼす影響など未解明の複雑な要因が増えるため解釈が困難となる。これらの点についての基礎的かつ系統的な研究はほとんど行われないうまま、両者は「自発運動」という名のもとに、しばしば混同されて評価される傾向がみられる。

本研究では、種々の日齢のラットを用い、WRA および AA、さらに両運動様式に伴う飲水行動活性を長期間にわたり連続観察し、これらの経日的変化、ならびに日齢経過に伴う WRA および AA の日周リズムパターンの推移について検討した。そして、これらの成績をもとにラットの日齢差および運動様式の差（行動量測定装置の構造の差）がラットの行動活性に与える影響、ならびに行動活性を指標とした観察を行う際の問題点について考察した。

材料および方法

使用動物および飼育条件：実験に用いた動物は Iar: Wistar-Imamichi 系雄ラット（動物繁殖研究所、土浦）60匹であり、室温22～26℃に調節された飼育室にて飼育した。飼育室の照明条件は6時点灯、18時消灯の12時間明、12時間暗とした。飼料としてはマウス、ラット用固型飼料 MF（オリエンタル酵母社、東京）を用い、飲料水と共に随時摂取させた。実験使用ラットは観察日齢に基づき以下の3群に分類した。すなわち、25日齢観察開始、65日齢観察終了の群、57日齢観察開始、106日齢観察終了の群、および331日齢観察開始、380日齢観察終了の群であり、これらを便宜上それぞれ幼若群、成熟群、および老齢群とした。各群とも20匹のラットを用いた。

行動量測定装置：AA および飲水行動活性の測定には群大式アンビュロ・ドリコンメータ（Model GT-831020、小原医科産業、東京）を用いた。本装置の原理と測定方法については田所ら [12] により詳細に報告されている。一方、WRA および飲水行動活性の測定には群大式アンビュロ・ドリコンメータを一部改変したホイール・ドリコンメータ（小原医科産業、東京）を用いた。この装置は、アンビュロ・ドリコンメータのケージ部と同寸の回転かご付きケージを作成し

てアンビュロ・ドリコンメータ本体に適用したものである [8]。回転かご付きケージはラットの居住部と回転かごの2つの部分から構成されている。居住部は高さ26cm、幅11cm、奥行き40cmで、飼料箱と飲水装置が装着されている。回転かご部は円周90cm、幅9cmで、この回転かごが1回転すると3カウント計測するように調整されている。AA および WRA、そしてこれらに伴う飲水行動活性を1時間ごとに自動印字記録させ、この3時間値を用いて日周リズムパターンを描き、24時間値を用いて1日量の経日的推移を検索した。

観察項目：

- 1) 日齢経過に伴う行動活性の変化：25、57および331日齢の各時点にてラットを上記2種の測定装置に収容し、その後40～50日間にわたる行動活性の経日的変化について観察した。
- 2) 各群の日周リズムパターン：各実験群の24時間値が安定した時期における日周リズムパターンを調べた。日周リズムパターンは0-3、3-6、6-9、9-12、12-15、15-18、18-21および21-24時の各3時間合計値をプロットして描いた。

成 績

各実験群における WRA および AA の平均値の経日的変化を Fig. 1 に示した。

WRA の1日量の経日的変化：WRA は幼若群で初日に高値（5,000カウント/日）を示すが、観察3日目にかけて低下し、その後、約3,000カウント/日で安定した。しかし、観察30日目（54日齢）頃より著明な活性の亢進がみられ、7,000カウント/日以上に達した。成熟群のラットは観察初期に極めて低値を示す（1,000カウント/日）が、観察25～30日目（85日齢頃）にかけて徐々に活性が亢進し、その後高いレベル（7,000～7,500カウント/日）で安定した。一方、老齢群においては、観察初日の値は1,500カウント/日と低値を示し、その後さらに減少して、約500カウント/日の値で安定した。

AA の1日量の経日的変化：幼若群における AA は、観察初期に著明な高レベル（1,400カウント/日）を示し、10日以上かけて徐々に低下し、その後、約150カウント/日の値で安定するパターンを呈した。成熟群における AA は、幼若群の安定レベルとほぼ同レベルで観察の初めから終わりまで安定した経

Fig. 1. Temporal profiles in wheel-running and ambulatory activities of young, adult and old rats. For young rat group (----), the experiments were started at 25 days and finished at 65 days of their age. For adult rat group (—), experiments were done from 57 days of their age till 106 days. For old rat group (---), experiments were done from 331 days of their age till 380 days. Each curve indicates their mean activities.

Fig. 2. Temporal profiles in mean water intake by rats with and without wheel-running activity. Each age group corresponds to that of Fig. 1.

Fig. 3. Diurnal patterns of wheel-running and ambulatory activities in young rat group (36-45 days of age), adult rat group (86-95 days of age) and old rat group (350-359 days of age). Each curve indicates their mean activities.

過を示した。また、老齢群においては、観察初期から終了時まで著明な低値 (50カウント/日) が持続した。

飲水行動活性の1日量の経日的変化：回転かご付きケージおよび平面ケージで測定した飲水行動活性の1日量平均値の経日的変化を Fig. 2 に示した。回転かご付きケージおよび平面ケージに収容された同一日齢のラットにおける飲水行動活性の1日量の経日的変化には大きな差は認められなかった。幼若群における飲水行動活性は、両ケージとも日齢経過に伴い漸増したが、これには体重の増加との間に正の相関 (回転かご付きケージ収容ラット $r=0.79$, 平面ケージ収容ラット $r=0.88$) が認められた。また、老齢群の飲水行動活性は全般に成熟群より下回っていた。

WRA および AA の日周リズムパターンの比較：各実験群の WRA および AA の1日量が安定した時期におけるそれらの平均値をプロットすることにより描かれる日周リズムパターンを Fig. 3 に示した。各実験群における WRA および AA は暗期に活性が亢進する典型的な夜行性動物の行動パターンを示した。これらの行動パターンには日齢に応じた変化、ならびに

Fig. 4. Diurnal patterns of drinking activities in young rat group (36-45 days of age), adult rat group (86-95 days of age) and old rat group (350-359 days of age) cared with and without running wheel cage. Each curve indicates their mean activity.

測定ケージの構造に基づく相違が観察された。すなわち、幼若群の WRA は6時にピークがみられたのに対し、成熟群の WRA では21時にピークが出現する特徴的な単峰性パターンを示した。また、老齢群の WRA は極めて低値を示しており、そのパターンは不明瞭であった。一方、幼若群および成熟群の AA は、21時と6時にピークが出現する明瞭な双峰性パターンを呈したが、老齢群では活性の低下がみられ、またそのパターンも不明瞭化していた。

飲水行動活性の日周リズムパターン：各実験群の WRA および AA の1日量が安定した時期における飲水行動活性の平均値をプロットした日周リズムパターンを Fig. 4 に示した。飲水行動活性は WRA および AA と同様に、暗期に集中した夜行性のパターンを呈したが、日齢差、あるいは測定装置の構造差に基づく影響は少なかった。その日周リズムパターンのピークは、回転かご付きケージで飼育した老齢群を除きいずれの群においても大略6時に観察された。

考 察

「自発運動」として混同されて評価されることの多い WRA と AA の日齢に伴う変化およびその日周リズムパターンの特徴を長期連続観察により追究した。この結果、ラットの行動量および活性パターンは日齢差の影響に加え、AA あるいは WRA という行動の種類の違いに基づく影響も受けていることが認められた。すなわち、回転かご付きケージを用いて観察した WRA の経日的変化は幼若群、成熟群および老齢群の間で大きく異なっていた。そして幼若群では観察初期と後期に、成熟群では観察初期から中期にかけて、また老齢群では観察初期に活性値が大きく変動した。このことから、WRA を指標として実験観察する場合、WRA の 1 日量が安定するまでラットを測定ケージに慣らす必要があることが明示された。特に実験に多用される成熟ラットにおいて WRA が安定するまでに約 1 か月を要するということは、実験計画時に念頭に入れておくべきことと思われる。幼若群における観察後期の WRA 増加と、成熟群における観察初期～中期にかけての WRA 増加現象は日齢がほぼ一致していた。さらに老齢群にみられた活性の低下現象を考えると、WRA にはラットの生涯を通して観察される大きな変動が存在するものと思われる。一方、AA は幼若群の観察初期に極めて高い活性を示したが、徐々に低下し、その後の値は安定していた。このような傾向は成熟群および老齢群では認められず、新奇環境下での探索行動は幼若ラットにおいてのみ盛んに行われることが示された。老齢群の AA は幼若群および成熟群と比べて低値となっており、ここでも加齢により運動活性が低下することが示された。なお、加齢により行動活性が低下する現象についてはラットでオープンフィールド法による観察が報告されているが [3]、AA および WRA の経日的変化ならびに日周リズムの長期観察報告はない。

本実験期間全般を通してみた場合、WRA より AA の方が経日的変化が安定しており、日齢による影響や個体差は小さかった。これは平面ケージの構造が単純化されたものであり、また平面上の移所運動はラットの基本的な生活行動を反映していることによるとと思われる [11]。これに対し、回転かごによる WRA はラットの生活行動とは無関係の運動であり、回転かごに対する慣れや走行運動に対する興味、学習等が関与するため、日齢差、個体差などが大きく現れてくるものと考えられる。さらに、WRA および AA の日周リズムパターンにおいても大きな相違がみられた。すなわ

ち、WRA はおおむね単峰性パターンを示すのに対し、AA は 21 時と 6 時にピークの出現する双峰性パターンであった。特に成熟群の WRA は 21 時に最高値がみられる明確な単峰性パターンを呈することに加え、AA で最高値の出現する 6 時には暗期における最低値を示すことなど、WRA と AA の日周リズムパターンは全く異なることが示された。このような日周リズムパターンの相違の原因については前述と同様、AA がラット本来の行動様式を示すのに対し、WRA では学習や慣れ等が関与しているに基づくものと考えられる。さらに、同じ測定装置（ホイール・ドリコンメータ）を用いても、日齢の相違により WRA の日周リズムパターンの特徴は大きく異なっていた。すなわち、幼若群の WRA は 6 時にピークが出現していたが、成熟群におけるピークは 21 時に移行していた。この所見は、加齢が行動様式を変化させる可能性のあることを示唆しているものと思われる。

一方、飲水行動の日周リズムパターンは、回転かご付きケージおよび平面ケージに収容したものとほぼ同様のパターンを呈し、また日齢の違いによっても顕著な変化は示さなかった。このように、動物の飲水行動リズムは種々の条件下において安定したものであり、動物の行動薬理試験などを行う場合、飲水行動のような安定した指標を設けることは、実験の精度を高める上で重要なことと思われる。

今回の観察結果から、WRA および AA を指標とする行動薬理試験を行う場合、観察指標、観察条件、測定装置、日齢等を十分に考慮しなければならないことが示唆された。

要 約

「自発運動」として、しばしば同義語のように用いられる車回し運動活性 (WRA) と移所運動活性 (AA) の差異について、種々の日齢のラットを用いて、長期間連続観察を行い検討した。各日齢のラットの WRA および AA は総て夜行性動物特有のリズムパターンを示した。WRA および AA は加齢と共に低下する傾向が認められ、特に WRA において著明であった。一般に実験に多用される成熟ラットの WRA はその 1 日量が安定するまでには測定装置収容後 30 日以上期間を要した。また、幼若時における AA は高値であった。以上の結果から、WRA および AA を観察指標とする行動薬理試験においては、観察指標、

観察条件, 測定装置, 日齢等を十分考慮しなければならないことが示唆された。

本研究に際し懇切な御助言を賜った群馬県立医療短期大学学長, 田所作太郎博士に深く感謝致します。

文 献

- [1] Borbely, A. A. (1976). Sleep and motor activity of the rat during ultra-short light-cycles. *Brain Res.*, **114**, 305-317.
- [2] Kam, L. M. and Mobery, G. P. (1977). Effect of raphe lesions on the circadian pattern of wheel running in the rat. *Physiol. Behav.*, **18**, 213-217.
- [3] Kawashima, S. and Kobayashi, Y. (1985). Age-related changes and effects of long-term administration of chlorpromazine in open field behavior of female rats. *J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B. Div.*, **1**, **32**, 1-14.
- [4] Mizoguchi, J. and Ohtaki, T. (1988). A new model cage for simultaneous measurements of wheel-running and ambulatory activity in the rat. *Exp. Anim.*, **37**, 85-88.
- [5] Norton, S., Culver, B., and Mullemix, P. (1975). Development of nocturnal behavior in albino rats. *Behav. Biol.*, **15**, 317-331.
- [6] 岡 基・斉藤 徹・高橋和明 (1984). マウスの自発運動量の時系列解析. 獣医科学と統計利用, **13**, 7-12.
- [7] Stephan, F. K. and Nunez, A. A. (1977). Elimination of circadian rhythms in drinking, activity, sleep and temperature by isolation of the suprachiasmatic nuclei. *Behav. Biol.*, **20**, 1-16.
- [8] 篠田元扶・三浦豊彦・田所作太郎 (1988). 平面ケージおよび回転かごケージで測定した雌ラットの生活行動リズムの相違について. 実験動物, **37**, 463-468.
- [9] 田所作太郎・栗原 久 (1984). 行動観察の毒性学への応用. トキシコロジーフォーラム, **7**, 421-430.
- [10] 田所作太郎・栗原 久 (1990). 薬物の反復投与による行動効果の修飾. 日薬理誌, **95**, 229-238.
- [11] 田所作太郎 (1980). ラットの生活行動の日周リズム, 薬物と行動, pp.83-104, 田所作太郎著, ソフトサイエンス社, 東京.
- [12] 田所作太郎・栗原 久・白坂和信・Mohammed Rabiul Alam・藤本憲二 (1981). ラットの生活行動リズムの全自動測定法とその応用. 神経精神薬理, **3**, 785-803.
- [13] 田所作太郎 (1991). 薬物による行動変化. 行動薬理学の実践, pp.38-44, 田所作太郎編, 星和書店, 東京.