資料

オープン・フィールド環境の操作による 高血圧自然発症ラット (SHR) の移動活動の変化^{1), 2)}

東北大学 佐藤俊彦・清水加代子・畑山俊輝

To What Extent Can Spontaneously Hypertensive Rat (SHR) Adjust His Locomotor Activity to Varied Open-field Situations?

TOSHIHIKO SATO³⁾, KAYOKO SHIMIZU⁴⁾, and TOSHITERU HATAYAMA³⁾

Department of Psychology, Tohoku University, Kawauchi, Aoba-ku, Sendai 980-77³⁾

College of Medical Sciences, Tohoku University⁴⁾

高血圧自然発症ラット (SHR; Okamoto & Aoki, 1963) の行動には、その開発の母系統となったウィスター・キョウト系ラット (WKY) とは異なる特徴がみられる。多動はその一つである。SHR のこうした行動面に注目するようになったのは比較的最近のことで、例えばオープン・フィールド (Danysz, Plaznik, Pucilowski, Plewako, Obersztyń, & Kostowski, 1983; Hellstrand & Engel, 1980; Knardahl & Sagvolden, 1979), シャトルボックス (Sutterer, Perry, & DeVito, 1980), スキナーボックス (Schaefer, Brackett, Wilson, & Gunn, 1978) などの装置を用いた研究報告がある。

Sutterer, Stoney, Sanfillipo (1984) は、オープン・フィールドでの行動測定中の照明強度と、測定中に提示する音刺激の強度とが異なる条件を設定して、各条件間で SHR の移動活動量を比較した。その結果、刺激の強度に関らず SHR

の移動活動量が WKY よりも常に多かった。また、WKY の移動活動量は視覚刺激もしくは聴覚刺激の強度が増加するにつれて減少したが、これに対して SHR の活動量の水準は、刺激の強度に関らず一定であった。SHR の移動活動量が常に高い水準に維持されていたことから、SHR は外的環境刺激の変化に対して、行動を調整することが困難な性質を有していると推定できる。言い換えれば、SHR の行動は環境変化の影響を比較的受けにくい性質を有すると考えられる。他方、SHR においてオペラント条件づけ学習が成立する (松尾・木原・谷村, 1990; Schaeffer et al., 1978; Sutterer et al., 1980) ことは、SHR の行動が、ある程度まで環境条件に依存して変化しうることを示唆している。以上のような一見矛盾する先行研究の結果は、このような違いが、SHR のどのような行動的特性と関係するののかを一層明らかにする必要があることを示唆している。

そこで本研究では、刺激変化に対する SHR の行動的応答性に注目し、これについての実験的検討を行った。すなわち、刺激変化の乏しいオープン・フィールド装置内に刺激対象物を入れる、装置内部を障壁で仕切るという2つの方

1) 論文作成にあたり、宮城学院女子大学人間文化学科の丸山欣哉教授の有益な示唆をいただきました。記して感謝の意を表します。

2) 本研究は一部、文部省科学研究一般研究(C) (研究代表者：畑山俊輝，課題番号：07610062) の補助を受けた。

策によって装置内の環境刺激を操作し、そこでの移動活動を比較することにより、環境変化に対する SHR の行動的応答性を明らかにしようとした。なお、SHR の系統内で血圧値の個体差が大きい (Sato, Miyazaki, Shimizu, & Hatayama, 1993) ことを考慮し、本研究で用いたすべてのラットの血圧および脈拍数の測定を、オープン・フィールドでの行動観察に先立って行った。

方 法

被験体 SHR の雄 9 匹、および比較群として WKY の雄 9 匹を使用した。本実験で用いたすべての被験体は、オープン・フィールド実験開始時点で 21 週齢であった。

血圧および脈拍測定 オープン・フィールド実験に先立って血圧および脈拍の測定を行った。測定には、夏目製作所製ラット尾動脈圧・脈拍測定装置 (KN-210) を使用した。この装置により被験体の尾動脈における収縮期血圧および脈拍を無麻酔下で間接的に測定した。

オープン・フィールド測定 移動活動量を測定するためのオープン・フィールド装置はフィールド面が 90 cm 四方の正方形であり、その周囲に高さ 37 cm の壁を設けた。四方の壁と床は硬質塩化ビニール製であった。壁および床の内面を灰色に塗装した。床面には、縦横 9 本の黒線を 9 cm 間隔で引いて、100 個の区画を作った。実験時には 2 枚の透明のアクリル板 (90×45 cm) で床の全面を覆った。各セッション終了時にこの透明の板を、消毒液 (オスバン R, 武田薬品工業株式会社製) を希釈した水溶液で洗浄した。

装置の 100 個の区画のうち、壁沿いの 2 列の区画を外側部分とし、その内側にある 36 区画を内側部分とした。移動活動量の指標は、外側と内側のそれぞれの部分における通過区画数であった。この測定は、オープン・フィールド内に何も置かない条件 (OPEN-FIELD)、オープン・フィールド内に玩具を置く条件 (+TOY)、

仕切板を入れる条件 (+PANEL)、玩具と仕切板とを入れる条件 (+TOY&PANEL) の 4 条件下で行った。

本実験で用いた玩具は、コンビニエンス・ストアの模型、踏切の模型、小児用のガラガラ の 3 種類であった。これらを挿入する条件においては、配置位置を Fig. 1A に示すように装置の内側部分とした。

仕切板は硬質塩化ビニール製であり、これは装置の内側と外側部分とを区分するために用いた。仕切板の配置位置を Fig. 1B に示す。仕切板には内側部分と外側部分との間での出入りが可能となるように、仕切板の四方の壁の中央下部にそれぞれ 1ヶ所ずつ、合計 4ヶ所の出入口 (12×12 cm) を設けた。

すべての被験体について OPEN-FIELD 条件を第 1 セッションとして実験を行い、第 2 から第 4 セッションでは、他の 3 条件をランダムな順序で行った。各セッションは 15 分間であり、被験体をオープン・フィールド中央に配置して実験を開始した。実験セッション中は、動物の行動観察を隣室の TV モニターを用いて行った。そして、被験体の行動を実験開始から 15 分間 VTR 記録した。実験終了後にそれを再生して、内側部分と外側部分とで別個に通過区画数をカウントした。

なお、実験時の照明には、オープン・フィールド装置四隅の約 10 cm 外側で床上約 60 cm の位置に設置した 20 W 白熱球を用いた。これにより、装置内をできるだけ均質に照明するようにした。床面中央部分の明るさは仕切板を入れない 2 条件で約 55 lx、仕切板を入れた 2 条件では約 35 lx であった。また、各セッション間の間隔は 1 週間であった。

玩具や仕切板の挿入に対する行動的な応答性の指標として、OPEN-FIELD 条件の通過区画数に対する、+TOY、+PANEL、+TOY&PANEL の 3 条件での通過区画数の変化率を求めた。⁵⁾

Fig. 1 (A) Shaded areas illustrate three locations of toys in a toy-condition (+TOY). A: a miniature drug store; B: a miniature railroad crossing; C: a rattle. (B) Outline of an open-field apparatus and position of panels in a panel-condition (+PANEL). The panels are shown in a square bold line. There is an opening (12×12cm) in each panel for a rat to move from inside to outside and vice versa. The inner area is shaded in the apparatus.

結 果

血圧および脈拍測定 実験期間に入る前に、収縮期血圧と脈拍を測定した。測定は両系統のラットの13週齢から19週齢までの間、1週間ごとに継時的に行った。収縮期血圧値⁵⁾の各系統の平均値をみると、SHRは13から17週齢にかけて200 mmHg前後、18および19週齢には210 mmHg以上の高い値を示した。他方、WKYは測定期間中に週齢間で多少の変動がみられたものの、おおむね130 mmHg前後で推移

しており、平均値が140 mmHgを越えることはなかった。

オープン・フィールド測定前の脈拍値については、SHRの系統内平均が測定期間中320から350 bpmの間で推移していた。これに対してWKYの系統内平均は280 bpm前後で推移しており、300 bpmを上回ることにはなかった。この結果も血圧値同様に、SHRはWKYに比べて脈拍数がつねに高かったことを示している。

以上の結果からSHRは安定して高い血圧と脈拍水準に達していることを確認したので、次に移動活動の測定を行った。

オープン・フィールド測定 Fig. 2には、オープン・フィールド内側部分における実験開始後15分間の通過区画数を示す。3要因分散分析(系統×玩具×仕切板)を用いて、系統および玩具と仕切板が通過区画数におよぼす効果の有無を調べた。その結果、玩具と仕切板の主効果がそれぞれ有意であったが〔玩具： $F(1,16) =$

5) WKYのうちの1匹は、OPEN-FIELD条件での外側部分における通過区画数が0であった。そのため、全ての通過区画数の測定値に1を加えるデータ変換を行った。

6) 血圧測定における各個体の血圧値は、体動がなく、なおかつ脈拍の安定した安静時における10個の測定値の中央値とした。また、各個体の脈拍値についても血圧値についても血圧値と同様の基準で算出した。

Fig. 2 Mean number of crossings at the inner area of the open-field apparatus with 4 conditions in a 15-min period. Nine SHRs and 9 WKYs were used. Vertical bars indicate SDs.

Fig. 3 Mean number of crossings at the outer area of the open-field apparatus in a 15-min period.

91.25, $p < 0.0001$; 仕切板: $F(1, 16) = 121.97, p < 0.0001$], 系統の主効果は有意ではなかった [$F(1, 16) = 0.02$]. また, 系統と仕切板との間の交互作用が有意であった [$F(1, 16) = 12.54, p < 0.0027$] ので, 関連する単純主効果の下位検定を行った結果, いずれの系統においても仕切板の単純主効果が有意であり, 仕切板を配置することで SHR と WKY の通過区画数が増加していたことが分かった。系統の単純主効果は, 仕切板がある場合には有意ではなかったが, 仕切板がない場合には有意傾向を認めた。さらに, 玩具と仕切板との間の交互作用が有意となる傾向を認めた [$F(1, 16) = 4.10, p < 0.0599$]。

Fig. 3 には, オープン・フィールド外側部分における 15 分間の通過区画数を示す。3 要因分散分析 (系統 $\times$ 玩具 $\times$ 仕切板) を用いた結果, 仕切板の主効果が有意であった [$F(1, 16) = 83.38, p < 0.0001$]。系統の主効果には有意傾向がみられた [$F(1, 16) = 3.34, p < 0.0862$]。玩具の主効果は有意ではなかった [$F(1, 16) = 0.11$]。また, 系統と仕切板の間に有意な交互作用を認めたので [$F(1, 16) = 9.49, p < 0.0072$], 関連する単純主効果の下位検定を行った。その

結果, 仕切板がある場合には系統間に有意差がなかったのに対して, 仕切板がない場合には, SHR の活動量が WKY よりも有意に多かった。また, いずれの系統においても, 仕切板を配置することで通過区画数が有意に増加した。これらの分析結果に加えて, 玩具と仕切板との間で交互作用が有意となる傾向を認めた [$F(1, 16) = 4.24, p < 0.0561$]。

ここで玩具や仕切板の挿入に対する行動的な応答性の指標として, OPEN-FIELD 条件の通過区画数に対する, +TOY, +PANEL, +TOY&PANEL の 3 条件での通過区画数の変化率を求め, これを Table 1 に示した。各系統の平均値を Cochran-Cox 検定により比較したところ, 内側部分における変化率については, いずれの条件でも SHR の通過区画数の変化率が WKY より有意に低かった (いずれの条件でも $p < 0.01$)。他方, 外側部分における変化率についても, 統計的には有意でなかったものの, すべての条件で SHR の変化率が WKY の値を下回った。

考 察

本実験の結果から, 玩具と仕切板を装置内に

Table 1 Behavioral reactivity to different open-field environments produced by adding objects¹⁾

Strain	+TOY		+PANEL		+TOY & PANEL	
	Inner Area	Outer Area	Inner Area	Outer Area	Inner Area	Outer Area
SHR (N=9)	1.96 (1.08)	1.02 (0.24)	2.17 (1.26)	1.28 (0.27)	2.97 (1.67)	1.18 (0.33)
WKY (N=9)	5.72 (2.16)	19.69 (50.91)	9.02 (5.02)	21.34 (46.82)	12.00 (6.09)	24.12 (58.12)
Unpaired <i>t</i> ²⁾	-4.68**	-1.12	-3.97**	-1.29	-4.29**	-1.18

1) The values listed shows the means (SD) obtained from dividing the number of crossing at objects-adding conditions by that at the bare OPEN-FIELD. To all of the data were 1.00 added in order to calculate the reactivity values, because one of the WKYs showed the value of zero at the outer area in the bare OPEN-FIELD.

2) The Cochran and Cox approximation was used for tests of significance. ***p*<0.01

配置すると SHR と WKY の行動が変化することを確認した。玩具が内側部分の通過区画数を増加させる効果をもつとともに、仕切板も内側部分と外側部分の通過区画数を増加させる効果をもっていた。本実験の結果に認められるこのような通過区画数の増加は、オープン・フィールド内に刺激対象物を配置することによって生じた環境刺激の変化の大きさに対応しているように思われた。しかしながら、SHR における変化は WKY ほど明確ではなかった。本実験の結果は、SHR が環境変化に対して自らの行動をある程度まで修正できるものの、その応答性は WKY と比べれば低いことを示している。光刺激や音刺激を操作して SHR の行動変化を調べた研究 (Sutterer et al., 1984) や、SHR の痛応答性を調べた最近の研究 (Maixner, Touw, Brody, Gebhart, & Long, 1982; Saavedra, 1981; 佐藤・畑山, 1994; Sitsen & de Jong, 1983) はいずれも SHR の応答性の低さを示唆したものであり、その点で本研究の結果と一致している。

しかしながら、主に自律神経指標を用いて生理活動を測定した研究によれば、SHR の外的刺激に対する生理反応は健常ラットよりも大きいことが報告されている。例えば、種々のストレス刺激に対して、SHR の昇圧反応は大きい (Hallback & Folkow, 1974; LeDoux, Sakaguchi, & Reis, 1982, 1983; Svensson, Harthorn, & Linder, 1991; Yamamoto,

Nakai, & Natsume, 1987) し、心拍数の増加も大きい (Hallback & Folkow, 1974; Yamamoto et al., 1987)。また、血液中のカテコールアミンの増加が大きく (Hendley, Cierpial, & McCarty, 1988; Kirby, Callahan, McCarty, & Johnson, 1989; Kvetnansky, McCarty, Thoa, Lake, & Kopin, 1979; McCarty, Chiueh, & Kopin, 1978; McCarty & Kopin, 1978; Yamamoto et al., 1987), 血液中のコルチコステロンの増加も大きい (Kvetnansky et al., 1979)。これらの事実は、SHR がストレス刺激に対して比較的大きい生理的反応を発現させることを示している。こうした報告から推察すると、SHR においては健常ラット以上に生理的活性化が生じやすいであろう。もしそうだとすれば、SHR は生理的応答性が高いにもかかわらず、行動的応答性は低いと考えられる。このことは強い生理的反応が行動の発現機構を抑制した結果と考えることもできる。Randich と Maixner (1984) は、圧受容反射弓が活性化するとき、生体内には全般的な抑制効果が生じると述べている。この指摘を考慮に入れるならば、行動的応答性の低さは、SHR の血管内で一過的ないし持続的に喚起される高い血圧状態が、動脈壁にある圧受容器を強く刺激することによって圧受容反射弓が絶えず活性化され、その結果として脳機能が全般的に抑制されることによるのかもしれない。

最後に、行動的応答性を規定するこのような

生体内の機構とともに、実験手続き上の交絡因子についても留意しておきたい。特に実験条件の提示順序は生体反応を変える要因となりうる。本実験では最初に OPEN-FIELD 条件を実施して基準となるデータを求め、その後にその他の3条件をランダムに行った。そのため、OPEN-FIELD を含めた4条件の実施順序をランダム化したわけではなかった。ここで問題になるのは反復の効果についてである。この場合、通常のオープン・フィールド測定を同一個体に対して繰り返し実施すると、SHR と WKY のいずれにおいても移動活動量が減少する (Van den Buuse & De Jong, 1988) ことが知られている。本実験では、測定の一連の繰り返しによって活動量は減少することではなく、むしろ増大した。したがって、この増加は単に実施順序の効果ではなく環境変化にもとづくものであるといえよう。

この環境変化にもとづく行動変化を SHR と WKY とで比較してみると、SHR の方が概して小さかった。これは、SHR の高活動性が、行動的応答性を低くする機能を有するためであると考えられる。しかしながら、高い移動活動量を示した、オープン・フィールド内の外側部分での SHR の行動については、行動的応答性が必ずしも低いとはいえない。刺激物付加にともなう移動活動量の変化の程度を、基準とした OPEN-FIELD 条件での活動量に対する変化率で見えていくと、オープン・フィールドの外側部分においても刺激付加により SHR の活動量は WKY 同様上昇した。このとき、SHR の移動活動量の変化率は WKY に比べて小さかった。しかし、これは基準値としての移動活動量自体が SHR では高かったためと推定できよう。

実験的観察を通して SHR の行動は、外来の刺激規定性が比較的小さい特徴を有することを明らかにした。このことは生体内の行動発現機構を探るのに SHR のような疾患モデル動物の利用が有益であることを示唆している。今後さらにこうした動物の行動的特徴を明らかにする

ことによって、行動機構の一層の理解が得られるものと思う。

要 約

本実験では、オープン・フィールド場面に刺激対象を付加して SHR の移動活動量がどの程度変化するかを調べた。被験体には21週齢の SHR の雄9匹と、同じ週齢のウィスター・キョウト系ラット (WKY) の雄9匹を使用した。オープン・フィールド装置を使用して、何も配置しない (OPEN-FIELD)、玩具を配置する (+TOY)、仕切板を配置する (+PANEL)、玩具と仕切板の両方を入れる (+TOY&PANEL) という4つの環境条件を設けた。これらの条件下で、移動活動量の測定を、装置の内側と外側部分とで別個に行った。その結果、内側と外側における移動活動量は SHR と WKY のいずれのラットでも、玩具や仕切板を入れることで増加した。しかし、環境刺激付加にともなう移動活動の増加の程度は、内側部分で SHR よりも WKY の方が有意に大きかった。SHR の行動にはある程度まで環境刺激の付加に対する応答性を認めることができたものの、その応答性は健康な WKY に比べて低かった。

REFERENCES

- Danysz, W., Plaznik, A., Pucilowski, O., Plewako, M., Obersztyn, M., & Kostowski, W. 1983 Behavioral study in spontaneously hypertensive rats. *Behavioral and Neural Biology*, **39**, 22-29.
- Hallback, M., & Folkow, B. 1974 Cardiovascular response to acute mental 'stress' in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiologica Scandinavica*, **90**, 684-698.
- Hellstrand, K., & Engel, J. 1980 Locomotor activity and catecholamine receptor binding in adult normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Journal of Neural Transmission*, **48**, 57-63.

- Hendley, E. D., Cierpial, M. A., & McCarty, R. 1988 Sympathetic-adrenal medullary response to stress in hyperactive and hypertensive rats. *Physiology & Behavior*, **44**, 47-51.
- Kirby, R. F., Callahan, M. F., McCarty, R., & Johnson, A. K. 1989 Cardiovascular and sympathetic nervous system responses to an acute stressor in borderline hypertensive rats (BHR). *Physiology & Behavior*, **46**, 309-313.
- Knardahl, S., & Sagvolden, T. 1979 Open-field behavior of spontaneously hypertensive rats. *Behavioral and Neural Biology*, **27**, 187-200.
- Kvetnansky, R., McCarty, R., Thoa, N. B., Lake, C. R., & Kopin, I. J. 1979 Sympatho-adrenal responses of spontaneously hypertensive rats to immobilization stress. *American Journal of Physiology*, **236**, H457-H462.
- LeDoux, J. E., Sakaguchi, A., & Reis, D. J. 1982 Behaviorally selective cardiovascular hyper-reactivity in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, **4**, 853-863.
- LeDoux, J. E., Sakaguchi, A., & Reis, D. J. 1983 Strain difference in fear between spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Brain Research*, **277**, 137-143.
- Maixner, W., Touw, K. B., Brody, M. J., Gebhart, G. F., & Long, J. P. 1982 Factors influencing the altered pain perception in the spontaneously hypertensive rat. *Brain Research*, **237**, 137-145.
- 松尾拓哉・木原隆英・谷村孝 1990 Morris 型水迷路試験における SHR, SHRSP の学習行動. 近畿大医誌, **15**, 補冊 1-4.
- McCarty, R., Chiueh, C. C., & Kopin, I. J. 1978 Spontaneously hypertensive rats: adrenergic hyperresponsivity to anticipation of electric shock. *Behavioral Biology*, **23**, 180-188.
- McCarty, R., & Kopin, I. J. 1978 Alterations in plasma catecholamines and behavior during acute stress in spontaneously hypertensive and wistar-kyoto normotensive rats. *Life Sciences*, **22**, 997-1006.
- Okamoto, K., & Aoki, K. 1963 Development of a strain of spontaneously hypertensive rats, *Japanese Circulation Journal*, **27**, 282-293.
- Randich, A., & Maixner, W. 1984 Interactions between cardiovascular and pain regulatory systems. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **8**, 343-367.
- Saavedra J. M. 1981 Naloxone reversible decrease in pain sensitivity in young and adult spontaneously hypertensive rats. *Brain Research*, **209**, 245-249.
- 佐藤俊彦・畑山俊輝 1994 ナロキソン投与による高血圧自然発症ラット (SHR) の痛反応性と血圧水準の変化. バイオフィードバック研究, **21**, 7-13.
- Sato, T., Miyazaki, A., Shimizu, K., & Hatayama, T. 1993 How do the rats of SHR show typical developments of the blood pressure into hypertension? *Tohoku Psychologica Folia*, **52**, 45-51.
- Schaeffer, C. F., Brackett, D. J., Wilson, M. F., & Gunn, C. G. 1978 Lifelong hyperarousal in the spontaneously hypertensive rat indicated by operant behavior. *Pavlovian Journal of Biological Science*, **13**, 217-255.
- Sitsen, J. M. A., & De Jong, W. 1983 Hypoalgesia in genetically hypertensive rats (SHR) is absent in rats with experimental hypertension. *Hypertension*, **5**, 185-190.
- Sutterer, J. R., Perry, J., & De Vito, W. 1980 Two-way shuttle box and lever-press avoidance in the spontaneously hypertensive and normotensive rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **94**, 155-163.
- Sutterer, J. R., Stoney, C. M., & Sanfillipo, M. 1984 Is the hypertensive rat really hyper-reactive? *Hypertension*, **6**, 868-876.
- Svensson, L., Harthorn, C., & Linder, B. 1991

- Evidence for a dissociation between cardiovascular and behavioral reactivity in the spontaneously hypertensive rat. *Physiology & Behavior*, **49**, 661-665.
- Van den Buuse, M., & De Jong, W. 1988 Open-field behavior and blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Hypertension A10*, 667-684.
- Yamamoto, J., Nakai, M., & Natsume, T. 1987 Cardiovascular responses to acute stress in young-to-old spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, **9**, 362-370.