

X線照射による実験的小頭症ラットにおける視覚分化条件反射

佐野 勝 徳*

Hicks (1958) は、ラットの膈内に精子を確認した日を妊娠第1日目とし、胎齢9日から出生までの様々な時期に200Rの高線量X線を母体の全身に照射し、分化途上の神経細胞に及ぼす影響を調べた。それによると、主に大脳皮質が影響を受け、大脳縦裂の短小化と四丘体の露出が顕著に見られた。とりわけ、胎齢17日目に照射した場合に、大脳皮質の第II～IV層を欠くいわゆる実験的小頭症が仔ラットに高頻度で生じ、かつ長期間にわたり生存率が高かった。

X線照射による実験的小頭症ラットの自発活動や学習行動の特性を解明すべく研究が、これまでにかなり報告されてきている。Kiyonoら(1975)は、生後100～130日齢のX線小頭症ラットの自発活動量をアニメックス装置で24時間にわたり記録した。その結果、小頭症群の活動量は、対照群の約1.5倍となっており、有意な増加を示した。

Furchtgottら(1962)は、シャトルボックスを用いて、胎生期にX線照射されたラットの回避条件反応の形成実験を行い、X照射群の回避反応の生起率が、対照群のそれに比して有意に高かったことを報告した。田巻と清野(1975)、Tamakiら(1976)も同様の結果を得ている。Tamaki and Inoue(1979)は、小頭症にもかかわらず、この種の回避学習がなぜ優れているのかに関心を持ち、電気ショックに対する予期的反応性を調べ、X線照射群の電気ショックに対する予期的反応の頻度が対照群より有意に高いことを明らかにした。これらの結果から、彼らは、X照射群における回避反応の高生起率は、学習自体による行動変化ではなく、むしろ刺激に対する過剰反応、つまりsensitizationによるものと考えた。

また、Tamaki and Inoue(1976)は、スキナーボックスで食餌性の明暗

*徳島大学総合科学部行動科学教室(生理心理学)

弁別を行い、X線小頭症群は、対照群と同様明暗弁別を獲得し、高い反応率を示すことを報告した。Hebb—Williams maze による迷路学習では、X線小頭症ラットが対照群より有意に劣ると報告されていたが、その後、Shibagakiら(1981)は、豊環境(enrich environment)下で飼育することによって学習が改善されることを確認している。

このように、X線小頭症ラットは、正常ラットにほぼ匹敵する学習能力を有しているとされている。しかしながら、これまでの研究の多くは、主にオペラント条件行動に基づく学習であり、古典的条件反射の手法を用いたものはほとんど報告されていない。そこで、本研究では、円と楕円による古典的分化条件反射の獲得に障害があるか否かを確認することにした。

方 法

被 験 体

生後約90日のWistar系ラット21匹(雄8匹、雌13匹)を用意した。雌の性周期を調べ、交配可能であることが確認できた日の夜、雄と同居させた。翌朝、膈壁からスメアを採取し、顕微鏡で精子の有無を調べ、精子が確認できた場合、その日を妊娠第1日とした。妊娠15日目の母ラットに、徳島大学医学部で、専門家がX線を照射した。X線量は、52.4K/mm, 200R(コバルトガンマー線)で、全身照射である。対照群ラットは、無処置とした。これらの処置あるいは無処置の母ラットから生まれた仔ラットを生後約100日間、ラット用ケージ(1ケージ当たり5匹)で飼育し、その後に条件反射の実験を行った。これに用いられた被験体は、X線照射群(平均体重:243.8g)、対照群(349.7g)いずれも10匹で、全て雄である。

装 置

電撃回避視覚性分化条件反射を形成するために、直線走路を含む二者選択扉のあるT字型回避装置が使用された。この装置は、全長が915mm、幅340mm、高さ255mmで、start box (240×180×255mm)、runway (305×340×255mm)、goal box (270×340×255mm)の3つの部分から構成されており、start boxとrunwayの間にはギロチンドアが設けられている。またrunwayとgoal

X線照射による実験的小頭症ラットにおける視覚分化条件反射

box との間に、通り抜けドア (100×100mm) が2つ設けられ、ここに陽性または陰性刺激を提示した。なお、陰性刺激を提示するドアは、ロックできるようになっている。Goal box 以外の床はグリッドである。無条件刺激は、床のグリッドを通して与えられる電気ショック (0.4mAの定電流) である。

手 続 き

1日当たり5分間の handling と10分間の実験装置に対する habituation を3日間行い、その翌日から、予備的分化条件反射の形成、円と楕円による分化条件反射の形成の順で実験を実施した。

(1) 円と無地の分化条件反射の形成

陽性条件刺激に直径60mmの円(白地に黒色の円)、陰性条件刺激に無地(白色)を各々用いて、分化条件反射を形成した。Start box にラットを入れ、5sec後にギロチンドアを開け、goal box に入るまでを1試行とした。ギロチンドアを開けてから5sec以内にgoal box に到着しない場合は、床のグリッドから電気ショックを与えた。電気ショックを受けたか否かに関係なく、ドアを開けてから30sec以内に陰性刺激に接近(陰性刺激ドアより約20mm手前のラインを越えて顔を近づけること)することなく、goal box に到着した時を正反応とした。誤反応は、陰性刺激に接近または選択した場合とギロチンドアを開けてから30sec以内にgoal box に入らなかった場合である。

陽性刺激と陰性刺激の呈示位置は、ランダムとした。また嗅覚を手がかりとして刺激パネルを選択することがないように、1日10試行中1～2度両パネルを湿らせたガーゼで拭いた。この操作を1匹につき、1日10試行連続して行い、10試行中8連続、あるいは9回以上の正反応をもって、1回の形成基準とした。この基準に2日間達した場合に、条件反射が形成されたとみなした。

(2) 円と楕円の分化条件反射の形成

予備的分化条件反射の形成に成功したラットは、その翌日から円と楕円の分化条件反射の形成を行った。陽性刺激は直径60mmの黒色の円であり、陰性刺激は、直径比が3:1, 2:1, 3:2, 4:3, 5:4の黒色の

楕円である。実験は、3 : 1の楕円から始め、形成基準に2回達したラットから順次、2 : 1, 3 : 2へと進められた。実験の手順、正誤反応の判定基準、形成基準等は、円と無地の分化条件反射の場合と同じである。

全ての実験が終了した後、脳の組織学的検索を行ったが、X線照射群のラットは全て小頭症になっていた。

結 果

円と無地による分化条件反射の形成に要した日数を固体別に示したものが表1である。被験体のうち、この条件反射の形成に成功したのは、X線照射群は10匹全部、対照群は10匹中9匹であった。達成に要した平均日数は、X線照射群が22.9日、対照群が20.8日であり、t-検定で両群の間に有意な差は認められなかった。

表1 円と無地の分化条件反射の形成基準に達するまでに要した日数

被 験 体		日数	被 験 体		日数
Control	C. 1	15	X-ray 200R 52.4k/min	X. 1	18
	C. 2	22		X. 2	21
	C. 3	18		X. 3	32
	C. 4	22		X. 4	16
	C. 5	21		X. 5	24
	C. 6	20		X. 6	26
	C. 7	24		X. 7	24
	C. 8	26		X. 8	17
	C. 9	/		X. 9	20
	C.10	19		X.10	31
平 均		20.8	平 均		22.9

X線照射による実験的小頭症ラットにおける視覚分化条件反射

次に、円と楕円の分化条件反射の結果をまとめて表2に示す。また、各楕円課題を達成した群別の個体数を図1に示す。

表2 円と楕円の分化条件反射の形成基準に達するまでに要した日数

被験体		楕円	(3 : 1)	(2 : 1)	(3 : 2)	(4 : 3)	(5 : 4)
Control	C.1		3 (2)	5 (1)	7 (5)	4 (1)	4 (3)
	C.2		5 (4)	7 (1)	/ (9)	/	/
	C.3		3 (2)	3 (1)	5 (3)	4 (2)	5 (4)
	C.4		12 (10)	8 (7)	/	/	/
	C.5		16 (14)	2 (1)	6 (3)	/	/
	C.6		/	/	/	/	/
	C.7		2 (1)	/	/	/	/
	C.8		5 (3)	9 (8)	/	/	/
	C.9		/	/	/	/	/
	C.10		7 (4)	/	/	/	/
平均			6.6 (5)	5.7 (3.2)	6 (5)	4 (1.5)	4.5 (3.5)
X-ray200RX. 1 52.4k/minX. 2	X.1		16 (15)	/	/	/	/
	X.2		/	/	/	/	/
	X.3		/	/	/	/	/
	X.4		22 (4)	/ (4)	/	/	/
	X.5		/ (7)	/	/	/	/
	X.6		10 (4)	/	/	/	/
	X.7		/	/	/	/	/
	X.8		6 (2)	20 (18)	/	/	/
	X.9		10 (4)	/ (4)	/	/	/
	X.10		/	/	/	/	/
平均			12.8 (6)	20 (8.7)			

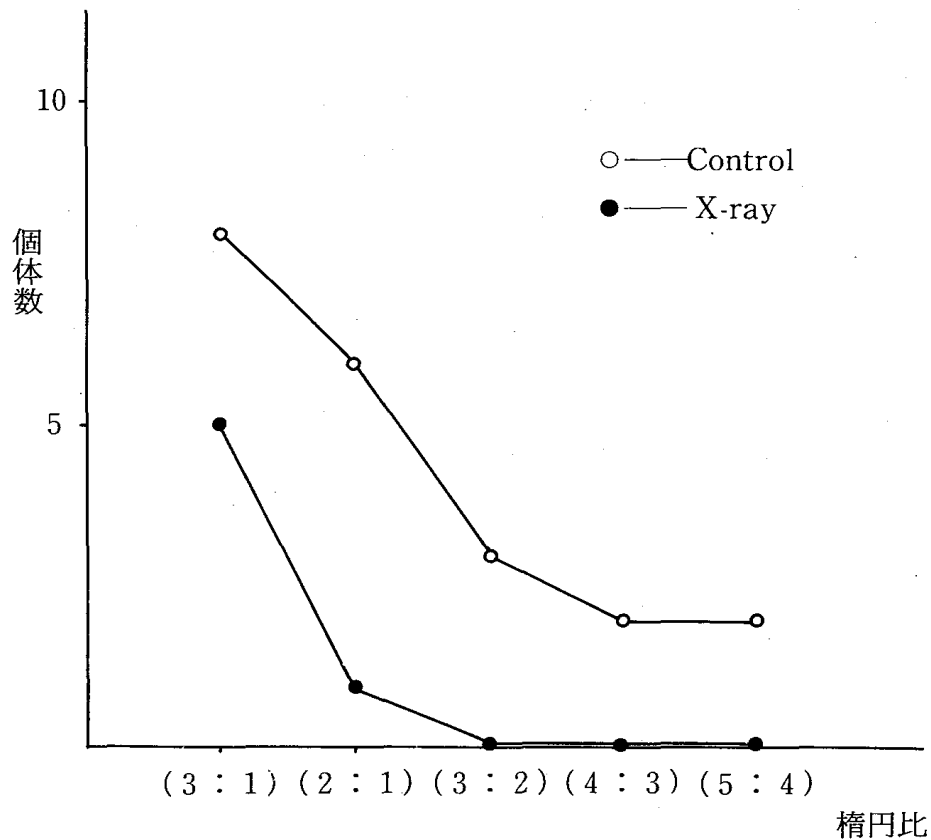


図1 円と橢円の分化条件反射の各段階における基準達成個体数

円と無地の分化条件反射を達成したもののうち、3 : 1の橢円課題を達成したのは、対照群が9匹中8匹であったのに比し、X線照射群では100匹中5匹と少なかった。この課題を達成した被験体のみで見た場合、それに要した平均日数は、X線照射群が12.8日、対照群が6.6日となっており、統計的に有意ではなかったものの、対照群の方が短い傾向にあった。

2 : 1の橢円課題になると、対照群が8匹中6匹、達成出来たのに比し、X線照射群は、5匹中わずか1匹のみであった(2%水準で有意)。個体数が少ないため統計的検定が出来ないが、達成に要した平均日数においても両群間に大きな差が認められた。X線照射群では、3 : 2以降の橢円課題を全て達成出来なかったが、対照群では、達成したものが、3 : 2の課題で3匹、4 : 3と5 : 4の課題で、いずれも2匹となっていた。

考 察

円と楕円の分化条件反射は、イヌの実験神経症の作成にしばしば用いられてきた。我々はこれをラット用に改良し、今回の実験を実施したが、この方法は、従来の弁別学習を含む様々なオペラント課題による実験とは違って、難易度の異なる一連の課題の各段階で実験群と対照群とを連続的に比較することが可能となるという点で、優れた方法の1つであると思われる。

今回の実験では、ラットにとって、比較的簡単な課題である円と無地及び円と3:1の楕円の分化条件反射の形成過程においては、X線照射による小頭症ラット群と対照群との間に有意な差は認められなかった。これは、Tamaki and Inouye (1979) による食餌性明暗弁別課題における結果と一致するものである。これらの結果から、X線小頭症ラットは、基本的な学習過程には障害がないものと思われる。

ところで、X線小頭症ラットと形態学的ならびに組織学的に極めて類似したものとして、MAM (methyl azoxy methanol acetate) という化学物質の胎生期投与による実験的小頭症ラットをあげることができる。塚田(1976)は、「MAM小頭症は、神経細胞こそ大幅に減少しているものの、その後のグリア細胞の増殖やミエリン形成には障害をきたしていないこと、それゆえ胎生期中の神経細胞の脱落は、その後の脳の細胞構築の上で、機能的にみごとに代償されていることが示唆されており、これは脳機能の可塑性とも称すべきものである」と述べているが、X線小頭症にも同様のことがあてはまり、比較的簡単な学習実験においては、このような結果が得られるものと思われる。

しかし、円と楕円(2:1, 3:2など)の分化条件反射の形成のように、難易度の高い課題では、X線小頭症群の成績は、対照群のそれに比して有意に劣っていた。

既に述べた通り、X線小頭症群ラットは、大脳皮質に比較的選択的な障害が存在する。ラットの大脳皮質は、6層から構築されているが、そのうち、特にIV層は、感覚の形成に関する神経細胞が存在し、第I~III層には統合的

な働きをする神経細胞が数多く存在している。さらに、視覚には、明るさの知覚、色の知覚、空間の知覚、形態の知覚などがあり、これらのうち、形態知覚は高度なものといわれ、大脳皮質の後頭部にある視覚野を中心に大脳皮質全体で営まれているとされている。X線小頭症群ラットの大脳皮質は、第II～IVが欠損しており、今回の結果を合わせて考えれば、X線小頭症群ラットは、形態知覚を含む学習のうち、より高次のレベルで学習障害を受けていることが示唆されよう。

引用文献

- Furchgott, E. and Weckin, S. 1962 Avoidance conditioning as a function of prenatal irradiation and age. *Journal of Comparative Physiological Psychology*, 55 : 69-72.
- Hics, S. P. 1958 Radiation as an experimental tool in mammalian developmental neuropathology. *Physiological Reviews*, 38 : 337-356.
- Kiyono, S., Seo, M., Takasu, K., Shoji, R., Takeuchi, I. and Murakami, U. 1975 Spontaneous motility, EEG and sleep-wakefulness cycle disturbances in rats suffered from fetal X-irradiation. *Journal of Physiological Society of Japan*, 37 : 4-6.
- 田巻義孝, 清野茂博 1975 胎生期にX線照射を受けたラットの回避条件づけ 脳研究会会報, 1 : 32-33.
- Tamaki, Y. and Inoue, M. 1976 Brightness discrimination learning in a Skinner box in a skinner in prenatally X-irradiated rats. *Physiology and Behavior*. 16 : 343-348.
- Tamaki, Y. and Inoue, M. 1979 Avoidance and anticipatory responses to shock in prenatally X-irradiated rats. *Physiology and Behavior* 17 : 237-242.
- Tamaki, Y., Shoji, R., Takeuchi, I. and Murakami, U. 1976 Facilitatory effects of prenatal X-irradiation on two-way avoidance behavior in rats. *Japanese Psychological Research*, 18 : 142-146.
- 塚田裕三 1976 脳発育の生化学的アプローチ 塚田裕三編, 共立出版, 206-237.