

回避学習を指標に選抜育成された Hatano高および低回避ラット

太田 亮

Hatano rats selectively bred for high- and low-avoidance learning

Ryo OHTA

This review compiles the results of a series of studies on Hatano high- and low-avoidance animals (HAA and LAA, respectively) established at the Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, Japan. The HAA and LAA lines were selected and bred from Sprague-Dawley rats for high and low avoidance learning, respectively, in a shuttle-box task since 1985. Although Hatano rats were selected only based on their behavioral traits in the active avoidance task, strain differences between the HAA and LAA lines were also observed in their stress responses and reproductive functions. However, the most noticeable finding of Hatano rats is a matched result in both active and passive avoidance tasks. The HAA and LAA lines are also useful for trans-generation toxicological studies, because the variations within lines in the next generation are small.

はじめに

動物の行動を評価する方法の一つに回避学習という検査がある。しかし、ネズミを使って検査を行ってみると、すぐに学習できるネズミとなかなか学習できないネズミがいる。本稿では、そんなネズミに関する研究内容を紹介する。例えば、回避学習で成績の良いネズミと悪いネズミに水迷路という別の学習をやらせてみると、回避学習で成績の良いネズミは、迷路学習でも良い成績を示す。

しかし、それは成績の良いネズミが速く泳ぐ性質を持つためかもしれない。なぜなら、活動量を測定してみると、回避学習で成績の良いネズミは悪いネズミより活発に動き回ることがわかった。本稿では、このような回避学習能力が異なるネズミ(具体的には実験動物のラット)が示す行動や生体調節の特徴を解析し、それらを基にした新たな安全性の評価方法を紹介する。

1. シャトル箱回避学習とは

回避学習とは、動物が嫌悪刺激から逃れるための行動を別の手がかりから習得する条件づけ学習

の一つで、条件づけの例としては「パブロフの犬」が有名である。シャトル箱回避学習では、動物が別の部屋に移動することにより、嫌悪刺激から逃れることができる。検査動物は、まず2つの部屋のいずれかに置かれる(図1)。動物を十分に馴化させた後、条件刺激のブザー音と照明を数秒間提示する。次にごく弱い電気ショック(嫌悪刺激)を動物に数秒間与えると、動物は電気ショックから逃れるために別の部屋に移動する。これらの訓練を繰り返し行くと、動物はブザー音と照明のみで部屋を移動するようになる。シャトル箱回避学習では、嫌悪刺激を受けてから部屋を移動する反応を「逃避」、条件刺激のみで移動する反応を「回避」と定義し、それぞれの反応数をカウントする。訓練回数に対して回避反応の割合が高いほど、回避学習能は高いと判定される。

2. 回避学習を指標にした選抜交配

シャトル箱回避学習の実験は、主にマウス・ラットを用いて行われるが、個体間のばらつきが大きく、評価が難しくなることが少なくない。シャトル箱回避学習でばらつきが生じにくい動物モデルを作るために、1985年より Sprague-

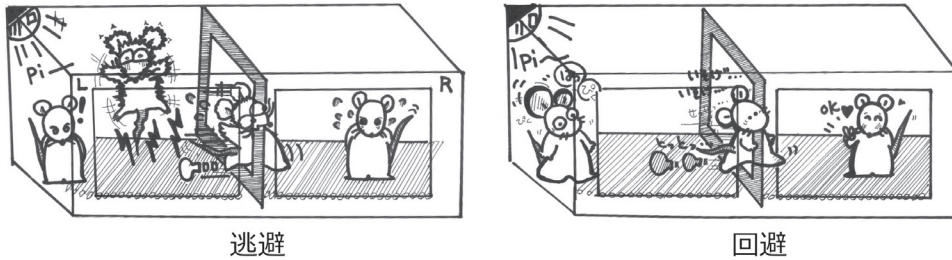
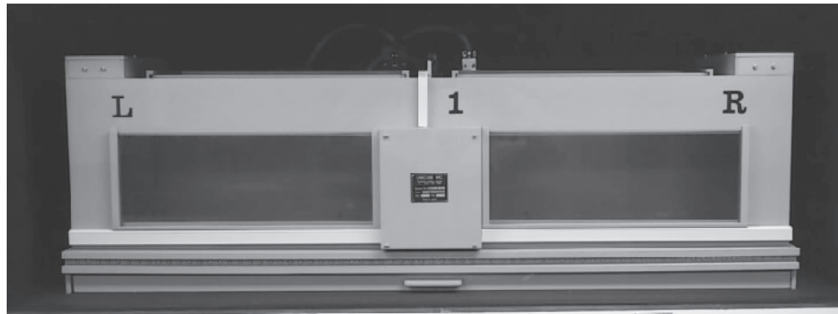


図1 回避学習に使用されたシャトル箱

研究に使用されたシャトル箱(T401L, Unimc Inc.)は、中央のハードル(高さ, 1.8 cm)で分離された2つの50 L×20 W×25 H cm部屋で構成されている。電気ショックは床グリッドから与えられ、ブザー音と照明は、各部屋の後方の天井にあるスピーカーと電球から発せられる。電気ショック後の移動は「逃避」としてカウントされ、電気ショック前の移動は「回避」としてカウントされる。(イラスト提供者: 野口早苗氏)

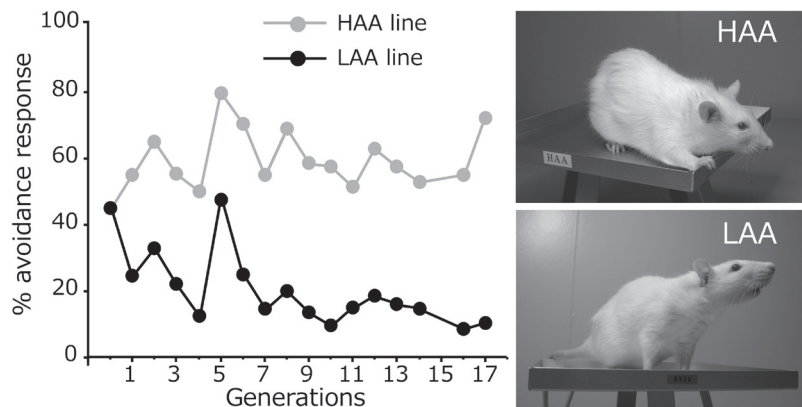


図2 高回避系および低回避系の選抜交配

高回避系(HAA)は回避率の高い動物が選抜され、低回避系(LAA)は回避率の低い動物が選抜された。HAAおよびLAAの兄妹交配を20世代以上継続し、回避率の異なる2つの近交系が樹立された。

Dawley系(SD系)ラットから回避反応の割合が高い高回避系(HAA)と回避反応の割合が低い低回避系(LAA)の選抜交配を開始した¹⁾。HAAおよびLAAの兄妹交配を20世代以上継続した結果、近交系が樹立された(図2)。これら2つの近交系は「Hatanoラット」と命名され、秦野研究所で30年以上飼育されている。現在、Hatanoラットは、National BioResource Project-Rat(<http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/NBR/>)からも入手可能となっている。

3. RomanラットとSyracuseラット

Hatanoラットと同じように、シャトル箱の回避学習を指標に選抜交配されたラットの系統には、Romanラット²⁾やSyracuseラット³⁾などがある。Romanラットの高回避系(RHA)とSyracuseラットの高回避系(SHA)は、すみやかに回避反応を学習するが、Romanラットの低回避系(RLA)とSyracuseラットの低回避系(SLA)は、回避反応を学習できない。しかし、高回避系と低回避系の違いは、学習(learning)だけでなく情動性

(emotionality)が強く関与していると言われてい
る^{4,5)}。例えば、RLAはRHAよりも新奇環境で
の探索行動が少なく、排便量が多い^{6,7)}。さらに、
ストレスに対する高い神経内分泌反応は、RHA
よりもRLAで観察される⁷⁻¹²⁾。SHAとSLAの間
でも同様の報告がある^{13,14)}。

RLAやSLAは、回避学習中にすくみ行動
(freezing)を起こしやすいが、すくみ行動は
防御反応¹⁵⁾の一つと考えられていることから、
HatanoラットのLAAはすくみ行動を起こしにく
い動物を選抜した¹⁶⁾。

4. Hatanoラットの行動特性

HAAとLAAの間には、回避学習以外の行動に
も違いがみられる。回転ケージにおいてHAAは
LAAより多動性を示し、水迷路においてHAAは
LAAより泳ぎが速い¹⁾。さらに両系の間には、児
ラットの身体発達や行動発達にも違いがみられ、
HAAはLAAより早い時期に開眼、ピボッティン
グ、背地走性が観察される¹⁷⁾。これらの系統差は養
母交換によっても消失しないことから¹⁷⁾、遺伝的要
因が強く関与しているものと推測されている¹⁷⁾。

5. 副腎とストレス

著者らは系統選抜の途中で、HAAはLAAより
大きな副腎を有することを発見した¹⁸⁾。そこで、
シャトル箱回避学習中にHAAとLAAから血液を
採取し、下垂体前葉から分泌される副腎皮質刺激
ホルモン(ACTH)の濃度測定を試みた。その結果、

回避学習中の血中ACTH濃度は、明らかにHAA
の方が高かった¹⁶⁾。さらに、回避学習前後の視床
下部における副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン
(CRH)濃度を測定した結果、HAAはLAAよりも
CRH-ACTHの反応性が高いことが示された¹⁸⁾。

HAAとLAAの系統差は、拘束ストレス時の内
分泌学的反応でも報告されている¹⁹⁾。ストレス
負荷時の血中ACTH濃度のピークはLAAよりも
HAAで高く、ACTHと同じくストレス時に下垂体
前葉から放出されるプロラクチン(PRL)の血中濃
度は、HAAよりもLAAで高い。これらのストレ
スに対する内分泌学的反応の違いは、シャトル箱
回避反応に強く関与していると考えられている¹⁹⁾。

HAAとLAAのストレス誘発性胃潰瘍を比較し
た実験では、LAAよりもHAAの胃潰瘍指数が高
かった²⁰⁾。この結果は、HAAがLAAよりもスト
レスに弱いことを示している。さらに、胃潰瘍
誘発時の血中PRL濃度のピークはHAAよりも
LAAで高く、ストレス負荷後の視床下部室傍核
のPRL受容体陽性細胞数もLAAの方がHAAよ
りも増加していた²⁰⁾。PRLの脳室内および腹腔
内投与は、ストレス下の胃潰瘍を抑制することが
知られていることから²¹⁾、LAAはHAAよりもス
トレス耐性が高いと言える(図3)。

6. 性成熟と性行動

HAAとLAAの間では児ラットの身体発達に差
のあることは知られていたが、雄児の性成熟の指
標となる包皮分離もHAAの方がLAAよりも7日

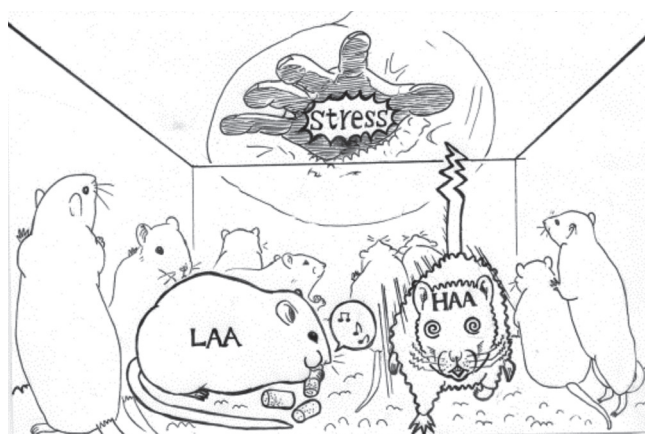


図3 HAAとLAAのストレス耐性の違いを描いたイラスト
(田谷一善教授提供)

早く観察され、血中テストステロン濃度の上昇も、HAAの方が早期に観察された²²⁾。

雌児の性成熟については、陰開口の時期と初回排卵数が調べられ、HAAはLAAよりも早期に陰開口が観察され、排卵数も多いことが確認されている²³⁾。

両系の精子の運動性はCASAシステム(HTM-IVOS)によって調べられ、HAAの精子はLAAより高い運動性を有し、その差は精子のアデノシン三リン酸(ATP)の含有量に依存すると考察されている²⁴⁾。また、LAAの精子にはHAAより多くの形態異常が観察されている²⁵⁾。

雄の性行動について調べた最近の研究では、LAAの方がHAAよりも性行動は活発なものの血中テストステロン濃度は低いと報告された²⁶⁾。この性行動の差は、両系の情動性の違い、すなわちHAAはLAAより警戒心が強いと考えられている。また、雄に関する別の研究では、HAAに過食、高血圧、体脂肪の増加、血中トリグリセリドの上昇がみられることから、ストレスとメタボリックシンドロームの関連性を調べるモデルとしての可能性が示された²⁷⁾。

7. 性周期の内分泌機構

雌ラットの性周期は、通常4日または5日間隔で発情を繰り返すが、HAAは全て4日周期を示すのに対し、LAAは70.8%が5日周期、6.3%が4日周期、22.9%が不規則周期であった²⁸⁾。そこで、性周期の各ステージにおける血中ホルモン濃度を比較したところ^{28,29)}、5日性周期を示すLAAでは、高プロゲステロンと高いPRLサージを示すことが確認された。また、LAAの黄体形成ホルモン(LH)と卵胞刺激ホルモン(FSH)のサージがHAAに比べて低かった。その後の研究で、LAAにみられるLH分泌の低下は、視索前野のゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)ニューロンおよび前腹側脳室周囲核のキスペプチンニューロンにおけるエストロゲン応答の低下が原因と推察されている³⁰⁾。

両系の雌ラットから採取した下垂体前葉の初代培養細胞においても、LHおよびFSHの放出量はLAA由来の細胞の方がHAAより低く、LAA由来の細胞はGnRHの添加に対するFSH放出量の増加がみられなかった²⁹⁾。これらの結果は、

Hatanoラットにみられる性周期の差が、性腺刺激ホルモン分泌に関わる視床下部-下垂体軸の調節の違いによることを示している。

8. 母性行動と泌乳量

児ラットの成長は母ラットの影響を強く受ける。HAAの児ラットはLAAよりも大きいですが、LAAの児ラットをHAAの母ラットに育てさせるとHAAよりも大きくなる¹⁷⁾。そこで著者らは、両系の母ラットを用いて営巣状況、ケージ内行動、児の回収テスト、および泌乳量テストを含む一連の観察を実施した³¹⁾。その結果、両系の営巣状況およびケージ内行動に差はなかったが、LAAはHAAに比べて児の回収に要する時間が長く、泌乳量も少なかった。これらの結果は、LAAの母性行動が低下していることを明確に示した。

HAAとLAAの泌乳量に差がみられたことから、吸乳刺激に対する反応を調べるために、母ラットの内分泌学的検査が実施された³²⁾。その結果、授乳中のオキシトシン、PRL、ACTHの血中濃度は、LAAよりもHAAの方が高く、吸乳刺激に対する視床下部-下垂体軸の反応性もLAAよりHAAの方が高いことが示された。

9. 副腎の初代培養細胞の反応

HAAとLAAの副腎皮質の調節の違いを特定するために、*in vitro*実験が実施された。HAAおよびLAAの雄ラットから得た副腎の初代培養細胞は、PRLまたはACTHの添加により、コルチコステロンおよびプロゲステロン放出が用量依存的に増加したが、その応答はHAAと比較してLAAが著しく増加した。この発見は、LAAの副腎がHAAの副腎よりもPRLおよびACTHに対する感受性が高いことを示している³³⁾。

ストレス時にLAAで分泌されるPRLの副腎に対する役割を調べるために、両系の雄からストレス負荷の0、15、および30分後に副腎を採取し、リン酸化STAT5のタンパクレベル、メラノコルチン受容体2(MC2R)およびPRL受容体(PRLR)のmRNAレベルを分析した³⁴⁾。さらに、両系にプロモクリプチンを投与し、PRL分泌を抑制した状態でのストレス反応を調べた³⁴⁾。ストレス負荷15分後のMC2R mRNA発現はHAAで高かったが、PRLR mRNA発

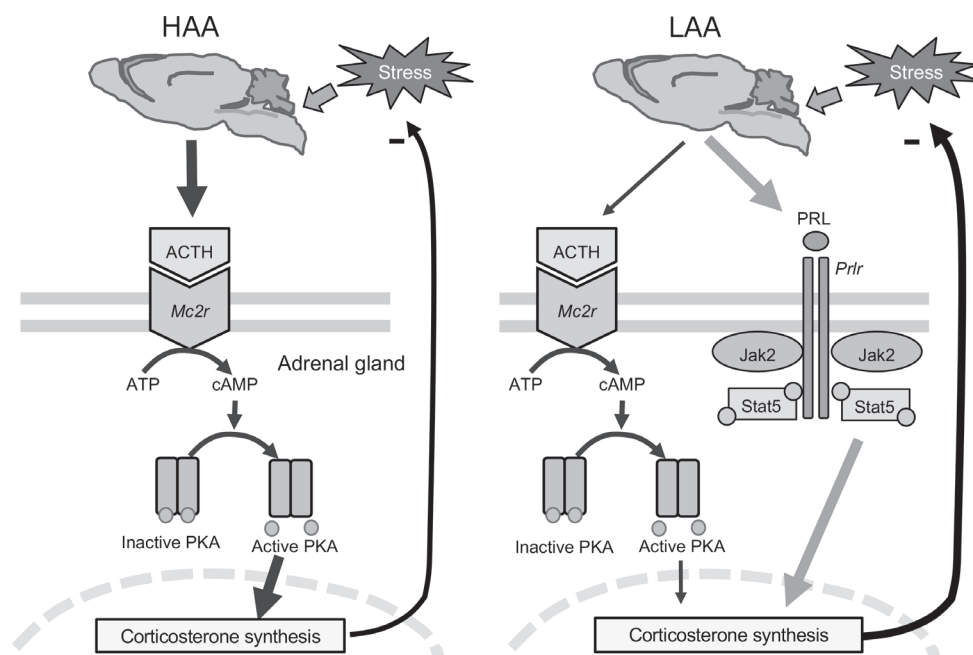


図4 Hatano ラットの副腎皮質におけるコルチコステロン合成の分子生物学的特徴

HAAでのコルチコステロン合成は、cAMP/プロテインキナーゼA(PKA)シグナル伝達経路を仲介して行われるが、LAAでのコルチコステロン合成は、JAK2/STAT5シグナル伝達経路を仲介して行われる。ストレス時に下垂体はPRLを分泌し、PRLはPRLRに結合する。PRL/PRLRはJAK2を活性化し、活性化されたJAK2は、STAT5のリン酸化を介してコルチコステロン合成を誘導する。

現は低かった。プロモクリプチン投与は、両系ともストレス負荷時の血中PRL濃度を減少させたが、ストレスに応答したコルチコステロンの減少は、プロモクリプチン投与したLAAでのみ観察された。これらのデータは、LAAにおいてのみPRLはストレス時のコルチコステロン放出の調節に重要な役割を果たしていることを示している(図4)。

10. 行動奇形学

シャトル箱回避学習のデータは個体間のばらつきが大きく、次世代の回避学習を評価することは非常に難しい。安全性試験で使用されるSD系ラットは、大型で繁殖性や発育が良好な系統として確立されているが、行動特性は遺伝的に制御されていない。Hatanoラットはシャトル箱回避学習でばらつきが生じにくいいため、行動奇形学のリスク評価に適したモデルといえる。

脳の特定部位の発育を抑制した動物の行動を研究することは、学習障害を解明するうえで有用な手段であり、妊娠動物にメチルニトロソ尿素(MNU)やメチルアゾキシメタノール(MAM)を投与して得られる小頭症児の行動奇形学的研究は、その目

的に沿ったものである。しかし、小頭症児は多動を示すことから、シャトル箱回避学習では見かけ上の成績が良くなることがある。そこで著者らはHAA, LAAおよびSD系の妊娠ラットを用いて、妊娠13日にMNUを単回腹腔内投与し、MNUで誘発された小頭症児のシャトル箱回避学習を実施した³⁵⁾。その結果、HAAの小頭症児のみで回避学習の消去抵抗が増強していることを発見した。

別の実験では、HAAおよびLAAの妊娠ラットを用いて、妊娠14日に低用量のMAMを腹腔内投与し、軽度な小頭症を誘発した児ラットの行動解析を実施した³⁶⁾。その結果、LAAの小頭症児で、オープンフィールド活動が顕著に減少し、軽度な小頭症でも情動性に影響を及ぼす可能性を示した。

11. 免疫学

神経系、内分泌系および免疫系には密接な関係があるため、HAAとLAAの間で免疫機能にも違いのあることが予測された。そこで、5週齢と24週齢の雄ラットから採取した血液を用いて、両系の免疫学的指標を比較した³⁷⁾。その結果、5週齢ではLAAのIgGとCH50がHAAより

低値を示したが、24週齢ではその差は消失していた。さらに雄のHAAとLAAを用いてヒツジ赤血球(SRBC)に対する抗体産生能とリンパ球幼若化反応を比較した³⁷⁾。その結果、抗SRBC-IgMはHAAよりもLAAの方が高値を示し、リンパ球幼若化反応もLAAの方が高かった。これらの結果から、LAAはHAAに比べて免疫機能の発達は遅いが、抗原に対する免疫反応はLAAの方が高いと考えられる。

12. 内分泌かく乱

内分泌かく乱化学物質に関する動物実験では、特に次世代への影響について、結果にばらつきがみられる。HAAとLAAには内分泌学および免疫学的にも特徴的な差があり、ばらつきが小さいため、両系を用いて内分泌かく乱化学物質の影響を調べてみた。

イソフラボンの一つであるゲニステインを妊娠17日から授乳21日まで強制経口投与したSD系雌ラットにHAAまたはLAAの新生児を哺育させた³⁸⁾。ゲニステインは、子宮肥大試験でエストロゲン活性を示す植物性エストロゲンである³⁹⁾。実験の結果、IgM抗体の生産は、ゲニステイン投与雌に育てられたHAA児で減少した。ストレス時の血中コルチコステロン濃度は、ゲニステイン投与雌に育てられたLAA児で低下した。これらの結果は、ゲニステインへの経母体曝露が潜在的に免疫応答およびストレス反応に影響を与えることを示しており、Hatanoラットが内分泌かく乱化学物質の実験に有用であることを示唆している。

さらに、合成女性ホルモンであるジエチルstilbestrol (DES)の低用量の影響を調べるために、HAAおよびLAAの雌の新生児に、出生後1日から5日間、DESを強制経口投与した⁴⁰⁾。実験の結果、性成熟の早期化と過度の体重増加がDESを投与されたLAA児のみで観察され、新生児DES投与の影響は、動物の持つ遺伝的背景によって異なることが示唆された。

13. 遺伝的解析

Hatanoラットで観察された生物学的特性が、回避学習とともに選抜された遺伝形質か否かを判定するために、回避学習、運動量、副腎重量およ

び生殖機能の遺伝様式を調べた⁴¹⁾。実験1では、HAAとLAAの正逆交配によって生まれた2つのF1交雑種について、シャトル箱回避学習、回転ケージ運動量および副腎重量を調べた。その結果、F1雑種の回避率はHAAと同程度であったが、F1雑種の運動量と副腎重量は、HAAとLAAの中間値を示し、正逆効果はなかった。実験2では、雌のSDと雄のHAAまたはLAAとの交配によって生まれたF1雑種について調べた。その結果、F1雑種における回避率、運動量および副腎重量は、親から得られた値の中間値を示した。実験3では、HAAとLAAの正逆交配によって生まれた2つのF1雑種について、性成熟、性周期、排卵数および生殖器重量を調べた。その結果、性成熟、性周期、排卵数、卵巣重量は、HAAとLAAから得られた値の中間値となったが、F1雑種の性周期のタイプはLAAのそれと似ていた。また、F1雑種の精巣重量は、正逆効果がみられた。これらの結果から、Hatanoラットの回避学習と性周期の遺伝様式は優性であるが、運動量、副腎重量、性周期、排卵数および卵巣重量の遺伝様式は不完全優性であると考えられ、精巣重量に関しては、それを決定する遺伝子が性染色体に存在すると推察された。

14. 受動的回避学習

回避学習には、シャトル箱に代表されるように動物が動くことで嫌悪刺激を避ける能動的回避学習と、動物が動かないことで嫌悪刺激を避ける受動的回避学習の2つがある。受動的回避学習の一つであるステップスルー型回避学習の装置は2つの部屋(明るい箱と暗い箱)で構成される。動物は明るい箱に置かれると暗い環境を好むため、すぐに暗い箱に移動する。暗箱では、動物に弱い電気ショックが与えられる。数分後、24時間後、数日後、またはそれ以上経過した後に同じ手順が繰り返され、暗箱に入るまでの待ち時間が記憶保持期間として記録される。明箱内に留まることで、動物は嫌悪刺激を回避できるため、抑制性回避学習とも呼ばれる。受動的回避の時間は、LAAよりもHAAの方が長かった⁴²⁾。さらに、HAAは、オープンフィールドおよび高架式十字迷路で、LAAより高い不安様行動を示した⁴²⁾。これらの結果は、能動的回避学習により選抜したHAAと

LAAが、受動的回避学習においてもそれぞれ高い回避学習能と低い回避学習能を示し、HAAはLAAより不安状態になりやすいことを示している。Hatanoラットと同じように、シャトル箱での回避学習を指標に選抜されたSLAは、SHAより受動的回避学習能が高く⁴⁾、RHAとRLAは受動的回避学習能に差のないことがわかっている⁵⁾。

15. 脱毛

背部の脱毛はげっ歯類でしばしば観察され、ストレス、ホルモン異常、闘争などによって引き起こされる。背部の脱毛はHAAではしばしば観察されるが、LAAでは観察されない。背部の脱毛の頻度は、離乳後に1匹飼育または2匹飼育の動物で調べられた⁴³⁾。2匹飼育では、HAAの90%以上の雄と11%の雌に脱毛が見つかった。1匹飼育では、HAAの約30%の雄に脱毛がみられたが、HAAの雌ではみられなかった。LAAでは、飼育条件に関係なく、脱毛はみられなかった。HAAで観察された背部の脱毛は、主に生後8週～10週の間で発症していた。脱毛と攻撃性との関係の評価するために、遊び行動の観察と侵入者テストを行った⁴³⁾。その結果、HAAはLAAに比較して5～6週齢時の攻撃的な遊び行動の頻度が高かった。したがって、攻撃的な遊び行動の増加がHAAにみられる脱毛の原因と考えられた。雄

を用いた侵入者テストでは攻撃性の差は観察されなかったが、哺育雌を用いた侵入者テストでは、HAAはLAAよりも強い母性攻撃行動を示した。これらのデータは、HAAが高い攻撃性を潜在的に有することを示している。

16. 寿命

HAAとLAAの雌について、8か月から11か月齢まで性周期を観察して生殖老化を比較し⁴⁴⁾、24か月齢まで継続飼育して生存日数を調べた⁴⁴⁾。その結果、8か月齢で、35例中2例のHAAと35例中20例のLAAが異常な性周期を示した。しかし、HAAの平均寿命(673日)は、LAAの平均寿命(733日)よりも短かった。下垂体腫瘍の発生率は、LAAよりもHAAで高く、乳腺腫瘍はHAAよりもLAAで頻繁に観察された。これらの結果は、HAAの雌はLAAの雌よりも寿命が短く、下垂体腫瘍を発症しやすいことを示していた。また、すべてのLAAの雌に慢性進行性腎症(CPN)がみられ、すべてのHAAの雌に腎盂の拡張が認められた⁴⁴⁾。NBRP-Ratから提供を受けたLAAに自発性膜性糸球体腎症⁴⁵⁾も発見されているため、CPNとの区別が必要である。

17. 結論

HAAとLAAの特性を図5と表1にまとめた。

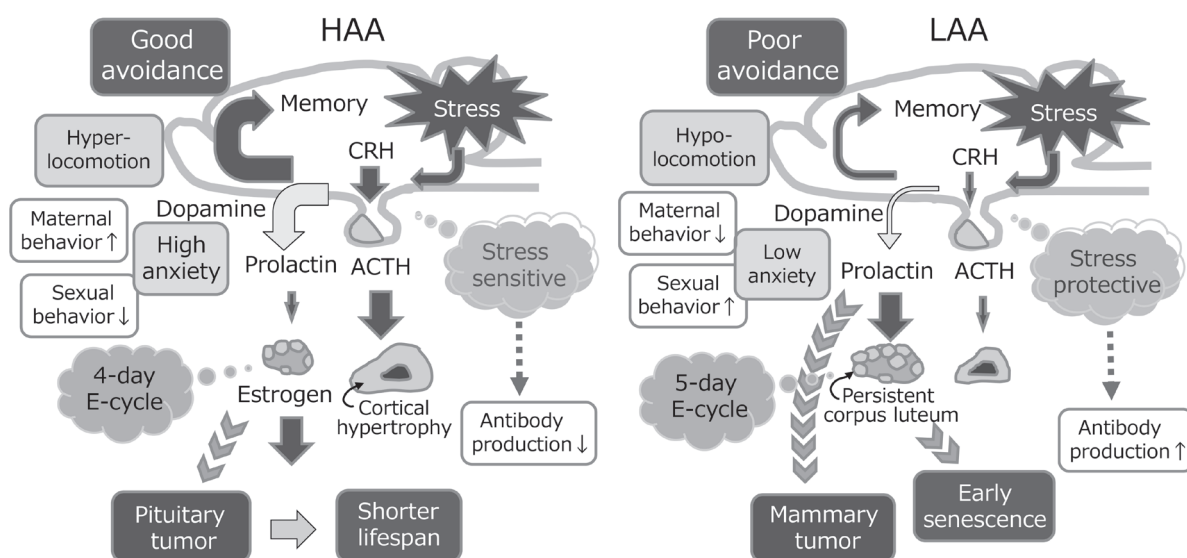


図5 Hatanoラットの特徴のまとめ

Hatanoラットは回避学習のみに基づいて選抜された系統であるが、HAAとLAAの間には運動量、ストレス反応、不安様行動、母性行動、交尾行動、性周期、抗体産生、生殖老化、腫瘍発生、寿命などにも違いがみられる。

表1 シャトル箱の回避学習を指標に選抜された高回避系(HAA)と低回避系(LAA)ラットの比較

Category	Subjects	Parameters	Outcome	Ref.
General feature	aging	lifespan	HAA < LAA	44)
	growth (infant)	body weight gain	HAA > LAA	17)
	clinical sign (juvenile)	fur loss on the back	HAA > LAA	43)
Anatomy	adrenal size	adrenal weight	HAA > LAA	18)
	ovarian size	ovarian weight	HAA < LAA	28)
Behavior	shuttlebox (active) avoidance	avoidance rate	HAA > LAA	1)
	running wheel activity	locomotor activity	HAA > LAA	1)
	water maze	swimming speed	HAA > LAA	1)
	step-through (passive) avoidance	step-through latency	HAA > LAA	42)
	open-field	anxiety-related behavior	HAA > LAA	42)
	elevated plus maze	anxiety-related behavior	HAA > LAA	42)
	social play behavior	play fighting	HAA > LAA	43)
	resident-intruder	maternal aggression	HAA > LAA	43)
Physiology	physical development (infant)	age at eye opening	HAA < LAA	17)
	motor development (infant)	latency pivoting	HAA < LAA	17)
	sensory development (infant)	latency to negative geotaxis	HAA < LAA	17)
	feeding behavior	food consumption	HAA > LAA	27)
	heart function	blood pressure	HAA > LAA	27)
	computed tomography	abdominal fat	HAA > LAA	27)
	blood biochemistry	triglyceride	HAA > LAA	27)
Immunology	immunological development	IgG, CH50	HAA > LAA	37)
	antibody production	anti-SRBC IgM	HAA < LAA	37)
	lymphoproliferation	LPS-induced proliferation	HAA < LAA	37)
Endocrinology	shuttlebox avoidance	plasma ACTH	HAA > LAA	16)
		hypothalamic CRH	HAA > LAA	18)
	restraint stress	plasma ACTH	HAA > LAA	19)
		plasma PRL	HAA < LAA	19)
	restraint stress in water	gastric erosion index	HAA > LAA	20)
		plasma PRL	HAA < LAA	20)
		prolactin receptor in PVN	HAA < LAA	20)
	ovarian cycle	length of estrous cycle	HAA < LAA	28)
		plasma progesterone	HAA < LAA	28,29)
		PRL surge	HAA < LAA	28,29)
		LH surge	HAA > LAA	28,29)
		FSH surge	HAA > LAA	28,29)
	suckling stimulus	plasma oxytocin	HAA > LAA	32)
plasma PRL		HAA > LAA	32)	
plasma ACTH		HAA > LAA	32)	
Reproduction	male puberty	age at preputial separation	HAA < LAA	22)
		plasma testosterone	HAA > LAA	22)
	female puberty	age at vaginal opening	HAA < LAA	23)
		number of ovulation	HAA > LAA	23)
	sperm motion	frequency of motile sperm	HAA > LAA	24)
	sperm morphology	frequency of abnormal sperm	HAA < LAA	25)
	sexual behavior	number of mounts	HAA < LAA	26)
	maternal behavior	latency to pup-retrieval	HAA < LAA	31)
	milk ejection	amount of milk	HAA > LAA	31)
	reproductive senescence	age at ovarian senescence	HAA > LAA	44)
Pathogenesis	spontaneous tumorigenesis	frequency of pituitary tumor	HAA > LAA	44)
		frequency of mammary tumor	HAA < LAA	44)
	non-neoplastic lesion	frequency of CPN	HAA < LAA	44)
		frequency of pyelectasis	HAA > LAA	44)

Hatano ラットは受動的回避学習においても能動的回避学習と同じようにHAAの方がLAAより高い回避率を示す。また、両系の違いはストレス反応性や生殖パラメータなどでも特徴づけられる。HAAとLAAの系統差は、おそらく視床下部-下垂体-副腎(HPA)軸と視床下部-下垂体-生殖腺軸の違いに起因すると推察される。視床下部-下垂体軸に関連する神経内分泌系の研究は、最も活発な研究分野の一つであり、Hatanoラットを用いたメカニズムに基づく分子生物学的研究は、急速に進行しているこの分野に貢献すると考えられる。残念ながら、両系のHPA軸の違いの根底にある生物学的メカニズムの解明には成功していないが、これらの研究を進めることは、神経内分泌学および生殖生物学に大きな影響を与えるであろう。

18. 謝辞

Hatanoラットの研究にあたりご指導を賜った田谷一善先生(東京農工大学)、代田真理子先生(麻布大学)、川口真以子先生(明治大学)に厚く御礼申し上げます。また、Hatanoラット(HAA/FDSC, LAA/FDSC)の系統維持にご協力下さったナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(<http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/NBR/>)に感謝する。最後にHAAとLAAを考案した水谷正寛氏(元秦野研究所副所長)に敬意を表します。

文献

- 1) Ohta R, Matsumoto A, Hashimoto Y, Nagao T, Mizutani M: Behavioral characteristics of rats selectively bred for high and low avoidance shuttlebox response. *Congenit Anom. (Kyoto)*. 1995; 35: 223-229
- 2) Bignami G: Selection for high rates and low rates of avoidance conditioning in the rat. *Anim Behav*. 1965; 13: 221-227
- 3) Brush FR, Froehlich JC, Sakellaris PC: Genetic selection for avoidance behavior in the rat. *Behav Genet*. 1979; 9: 309-316
- 4) Brush FR, Del Paine SN, Pellegrino LJ, Rykaszewski IM, Dess NK, Collins PY: CER suppression, passive-avoidance learning, and stress-induced suppression of drinking in the Syracuse high- and low-avoidance strains of rats (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol*. 1988; 102: 337-349
- 5) Driscoll P, Bättig K: Behavioral, emotional and neurochemical profiles of rats selected for extreme differences in active, two-way avoidance performance. In: *Genetics of the Brain*. Amsterdam. Elsevier, 1982. 95-123
- 6) Castanon N, Dulluc J, Le Moal M, Mormède P: Prolactin as a link between behavioral and immune differences between the Roman rat lines. *Physiol Behav*. 1992; 51: 1235-1241
- 7) Castanon N, Dulluc J, Le Moal M, Mormède P: Maturation of the behavioral and neuroendocrine differences between the Roman rat lines. *Physiol Behav*. 1994; 55: 775-782
- 8) Aubry JM, Bartanusz V, Driscoll P, Schulz P, Steimer T, Kiss JZ: Corticotropin-releasing factor and vasopressin mRNA levels in roman high- and low-avoidance rats: response to open-field exposure. *Neuroendocrinology*. 1995; 61: 89-97
- 9) Gentsch C, Lichtsteiner M, Feer H: Locomotor activity, defecation score and corticosterone levels during an openfield exposure: a comparison among individually and group-housed rats, and genetically selected rat lines. *Physiol Behav*. 1981; 27: 183-186
- 10) Gentsch C, Lichtsteiner M, Driscoll P, Feer H: Differential hormonal and physiological responses to stress in Roman high- and low-avoidance rats. *Physiol Behav*. 1982; 28: 259-263
- 11) Steimer T, la Fleur S, Schulz PE: Neuroendocrine correlates of emotional reactivity and coping in male rats from the Roman high (RHA/Verh)- and low (RLA/Verh)-avoidance lines. *Behav Genet*. 1997; 27: 503-512
- 12) Walker CD, Rivest RW, Meaney MJ, Aubert ML: Differential activation of the pituitary-adrenocortical axis after stress in the rat: use of two genetically selected lines (Roman low- and high-avoidance rats) as a model. *J Endocrinol*. 1989; 123: 477-485
- 13) Brush FR: Genetic determinants of individual differences in avoidance learning: behavioral and endocrine characteristics. *Experientia*. 1991; 47: 1039-1050
- 14) Brush FR, Isaacson MD, Pellegrino LJ, Rykaszewski IM, Shain CN: Characteristics of the pituitary-adrenal system in the Syracuse high- and low-avoidance strains of rats (*Rattus norvegicus*). *Behav Genet*. 1991; 21: 35-48
- 15) Bolles RC: Species-specific defense reactions. In:

- Aversive Conditioning and Learning. New York. Academic Press, 1971. 183-233
- 16) Ohta R, Shiota M, Adachi T, Tohei A, Taya K: Plasma ACTH levels during early, two-way avoidance acquisition in high- and low-avoidance rats. *Behav Genet.* 1999; 29: 137-144
 - 17) Ohta R, Matsumoto A, Nagao T, Mizutani M: Comparative study of behavioral development between high and low shuttlebox avoidance rats. *Physiol Behav.* 1997; 19: 157-162
 - 18) Akieda-Asai S, Ohta R, Shiota M, Jaroenporn S, Watanabe G, Taya K: Endocrinological differences between Hatano high- and low-avoidance rats during early two-way avoidance acquisition. *Exp Anim.* 2011; 60: 509-516
 - 19) Asai S, Ohta R, Shiota M, Watanabe G, Taya K: Differential responses of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis to acute restraint stress in Hatano high- and low-avoidance rats. *J Endocrinol.* 2004; 181: 515-520
 - 20) Asai S, Ohta R, Fujikawa T, Sakai, RR. Shiota M, Ogata M, Watanabe G, Taya K: Gastric ulceration and expression of prolactin receptor in the brain in Hatano high- and low-avoidance rats. *Endocrine.* 2006; 30: 161-166
 - 21) Drago F, Continella G, Conforto G, Scapagnini U: Prolactin inhibits the development of stress-induced ulcers in the rat. *Life Sci.* 1985; 36: 191-197
 - 22) Sato M, Ohta R, Kojima K, Shiota M, Koibuchi H, Asai S, Watanabe G, Taya K: A comparative study of puberty, and plasma gonadotropin and testicular hormone levels in two inbred strains of Hatano rats. *J Reprod Dev.* 2002; 48, 111-119
 - 23) Shiota M, Sato M, Kojima K, Ohta R: Minor involvement of somatic growth in the onset of puberty of Hatano high- and low-avoidance rats. *Reproduction.* 2004; 127: 389-395
 - 24) Sato M, Ohta R, Kojima K, Shiota M: Differences in sperm motion between high- and low-shuttlebox avoidance rats (Hatano strains). *J Androl.* 2002; 23: 250-258
 - 25) Sato M, Ohta R, Kojima K, Shiota M: Strain differences in the spontaneous incidence of sperm morphological abnormalities in Hatano rats. *J Vet Med Sci.* 2002; 64: 389-390
 - 26) Nakayama A, Okawa H, Zheng M, Pu S, Watanabe G, Ohta R, Kawaguchi M. Male Hatano low-avoidance rats show more active sexual behavior with lower plasma testosterone than high-avoidance rats. *J Vet Med Sci.* 2018; 80: 1179-1182
 - 27) Isobe A, Shimada T, Aburada M, Yanagisawa R, Sakawa T, Nakamura T, Himi T, Ohta R, Kawaguchi M: Hatano rats are a suitable metabolic syndrome model for studying feeding behavior, blood pressure levels, and percent body fat. *J Vet Med Sci.* 2019; 81: 147-154
 - 28) Asai S, Ohta R, Shiota M, Sato M, Watanabe G, Taya K: Reproductive endocrinology in Hatano high- and low-avoidance rats during the estrus cycle. *Endocrine.* 2002; 18: 161-166
 - 29) Jaroenporn S, Horii Y, Akieda-Asai S, Wang K, Nagaoka K, Ohta R, Shiota M, Watanabe G, Taya K: Endocrine mechanisms responsible for different follicular development during the estrous cycle in Hatano high- and low-avoidance rats. *J Reprod Dev.* 2011; 57: 690-699
 - 30) Horii Y, Dalpatadu SL, Soga T, Ohta R, Watanabe G, Taya K, Parhar IS: Estrogenic regulation of Kiss1 mRNA variants in Hatano rats. *Gen Comp Endocrinol.* 2013; 181: 246-253
 - 31) Ohta R, Shiota M, Tohei A, Taya K: Maternal behavior, milk ejection, and plasma hormones in Hatano high- and low-avoidance rats. *Horm Behav.* 2002; 42: 116-125
 - 32) Asai S, Ohta R, Shiota M, Tohei A, Watanabe G, Taya K: Endocrinological responses during suckling in Hatano high- and low-avoidance rats. *J Endocrinol.* 2004; 182: 267-272
 - 33) Jaroenporn S, Nagaoka K, Ohta R, Shiota M, Watanabe G, Taya K: Differences in adrenocortical secretory and gene expression responses to stimulation in vitro by ACTH or prolactin between high- and low-avoidance Hatano rats. *Stress.* 2009. 12: 22-29
 - 34) Jaroenporn S, Nagaoka K, Ohta R, Watanabe G, Taya K: Prolactin induces phosphorylation of the STAT5 in adrenal glands of Hatano rats. *Life Sci.* 2009; 85: 172-177
 - 35) Ohta R, Matsumoto A, Hashimoto Y, Nagao T, Mizutani M: Behavioral characteristics of micrencephalic rats in high and low shuttlebox avoidance lines. *Neurotoxicol Teratol.* 1997; 19: 157-162
 - 36) Ohta R, Matsumoto A, Sato M, Shiota M, Nagao T, Tohei A, Taya K: Postnatal behavior in Hatano high- and low- avoidance rats following prenatal exposure to low-dose methylazoxymethanol. *Neurotoxicol Teratol.* 2000; 22: 405-413

- 37) Ohta R, Kanazawa Y, Shindo T, Furuya M, Shirota M, Kojima K: Immunological characteristics of Hatano high-and low-avoidance rats. *Exp Anim.* 2006; 55: 369-374
- 38) Ohta R, Shirota M, Kanazawa Y, Shindo T, Furuya M, Seki T, Ono H: Effects of transmaternal exposure to genistein in Hatano high- and low-avoidance rats. *Exp Anim.* 2009; 58: 471-479
- 39) Ohta R, Takagi A, Ohmukai H, Marumo H, Ono A, Matsushima Y, Inoue T, Ono H, Kanno J: Ovariectomized mouse uterotrophic assay of 36 chemicals. *J Toxicol Sci.* 2012; 37: 879-889
- 40) Ohmukai H, Negura T, Tachibana S, Ohta R: Genetic variation in low-dose effects of neonatal DES exposure in female rats. *Reprod Toxicol.* 2017; 73: 322-327
- 41) 太田 亮, 代田真理子: Hatano 高および低回避ラットの遺伝学的解析. 秦野研究所年報, 2006; 29: 17-22
- 42) Horii Y, Kawaguchi M, Ohta R, Hirano A, Watanabe G, Kato N, Himi T, Taya K: Male Hatano high-avoidance rats show high avoidance and high anxiety-like behaviors as compared with male low-avoidance rats. *Exp Anim.* 2012; 61: 517-524
- 43) 太田 亮, 堀内伸二: Hatanoラットにみられる背部の脱毛と攻撃性. 秦野研究所年報, 2009; 32: 22-27
- 44) Ohta R, Kumagai F, Marumo H, Usumi K, Saito Y, Kuwagata M: Stress-reactive rats (high-avoidance female rats) have a shorter lifespan than stress-nonreactive rats (low-avoidance female rats). *J Toxicol Pathol.* 2016; 29: 77-84
- 45) Yasuno K, Sakashita H, Kobayashi R, Araki S, Saito R, Shirota M, Kamiie J, Shitara K: Membranous glomerulonephropathy in a Hatano low-avoidance rat. *J Toxicol Pathol.* 2013; 26: 203-208