

ゲッ歯目の交尾行動における超音波発声に関する研究  
—特にラットにおける射精後の超音波発声の生理的意義について—

(Studies on the ultrasonic vocalization (USV) during  
the copulatory behavior in the male rodent: Role of the USV after  
the ejaculation of the male rat)

加藤雅裕

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科

(指導教授 斎藤 徹)

平成 26 年 3 月

## 目次

第 1 章	緒論	1
第 2 章	ラット、マウスおよびシリアンハムスターの交尾行動における超音波発声	
2-1	緒言	12
2-2	材料および方法	13
2-2-1	供試動物	13
2-2-2	交尾行動の観察	14
2-2-3	発声観察および解析方法	14
2-2-4	統計処理	14
2-3	結果	15
2-3-1	Wistar-Imamich 系ラットの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声の特徴	15
2-3-2	IVCS 系マウスの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声の特徴	16
2-3-3	シリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声の特徴	17
2-4	考察	18
2-5	小括	21
	図表	23
	参考文献	62
第 3 章	交尾行動によるラット射精後の超音波発声における雌（射精後）の存在	
3-1	緒言	68
3-2	材料および方法	69
3-2-1	供試動物	69
3-2-2	交尾行動観察	69

3-2-3	発声観察方法	69
3-2-4	統計処理	70
3-3	結果	70
3-4	考察	71
3-5	小括	72
	図表	73
	参考文献	89

#### 第4章 *p*-chloroamphetamine 投与ラットの射精後の超音波発声

4-1	緒言	91
4-2	材料および方法	92
4-2-1	供試動物	92
4-2-2	供試薬物	92
4-2-3	投与量および投与方法	92
4-2-4	発声観察方法	93
4-2-5	行動観察方法	93
4-2-6	統計処理	94
4-3	結果	94
4-4	考察	94
4-5	小括	95
	図表	97
	参考文献	99

#### 第5章 *p*-chloroamphetamine 投与および交尾行動ラットの視索前野における cFos タンパクの発現

5-1	緒言	103
5-2	材料および方法	104
5-2-1	供試動物	104
5-2-2	供試薬物	105
5-2-3	投与量および投与方法	105

5-2-4	実験手順	105
5-2-5	免疫組織化学	106
5-2-6	cFos 免疫反応の定量化	107
5-2-7	統計処理	107
5-3	結果	107
5-4	考察	108
5-5	小括	109
	図表	110
	参考文献	113
第 6 章	総括	117
	謝辞	123

# 第1章

## 緒論

ヒトの音声によるコミュニケーションでは言語情報だけではなく、例えば個人性（性別、年齢）、感情・健康状態、声質などの言語以外の情報が多数送受されている[1]。これらの情報を多分に含む音声は **Expressive Speech** と呼ばれている[2]。人の音声には、言語によって表記あるいは文脈によって一意に推測できる離散的な「言語情報」と、言語情報の変形あるいは補完するために話者によって付加される離散的、もしくは連続的な「パラ言語情報」、および話者の感情、性別、年齢のような話者によって一般に制御できない「非言語情報」が含まれていると考えられている[3]。音は、音波（弾性波）、またはそれによって引き起こされる聴覚的感觉と定義されており[4]、音声コミュニケーションは発音器官と聴覚器官によって成り立っている。多くの陸生哺乳綱は呼気を用いて音響信号を発する器官と聴覚器官を有していることから、動物間においても音声で様々な情報伝達を行っている可能性がある。

ヒトの可聴域（20Hz～20kHz）を超える周波数の音波は超音波と呼ばれているが、動物の中には超音波を利用するものが存在している。ヒトの聴覚では認知出来ない「何か」を動物が利用している可能性を最初に疑ったのはイタリアの科学者 **Spalanzani** である。彼は、コウモリが視力を失っても空を飛び餌を捉えることを出来るが、聴力を失うととともに空を飛ぶことすら出来なくなることを行動学的観察により明らかにし、聴覚が視覚の代わりをしている可能性を示した[5]。しかし、その機序の解明は、1938年のハーバ

ード大学の Pierce らによる超音波を可聴音に変換する装置の発明を待たなければならなかった[6]。Pierce は同じハーバード大学の Griffin と共同で、“バット・ディテクター”と呼ばれる装置を用いてコウモリが超音波を発していることを示した[7]。そして、コウモリ自身が発する超音波を用いた反響定位によって周囲の状況を掌握していることを明らかにした[8]。これ以降、動物の超音波発声の研究が進展することになった。

小型ゲッ歯目の超音波発声に関する報告は、1948年のハタネズミに関するものが最初であった[9]。1956年には新生仔マウスを親から引き離すと超音波を発することが報告され[10]、その後新生仔ゲッ歯目は巣から離れた時や、寒冷ストレスにさらされると超音波発声をすることが報告されている[11, 12]。その発声は母動物のリトリービング（巣戻し）行動と関連があることが知られている[13-15]。しかし、仔ラットを24時間母親から分離してもそれだけでは仔の発声は増加しないことから、仔の発声は母親との分離による心理的ストレスよりも、体温低下などの生理的ストレスによるものと考えられている[16-18]。一方、新生仔ラットの超音波発声を成熟雌ラットに暴露すると、成熟雌ラットの血中プロラクチンが上昇することが報告されていること[19, 20]から、新生仔ラットの生理的発声が、母ラットとのコミュニケーションツールとして機能していると考えられている。新生仔ゲッ歯目の超音波発声は動物種によって異なることが示されており[21-23]、ゲッ歯目母子間の音声コミュニケーションに用いられている超音波発声には種独自性があると考えられている。

ラットやマウスにおいては、母子相互間の他にも、性行動場面、攻撃行動場面などで超音波音声が発せられていることが報告されている[24, 25]。

ラットを例にすると、超音波発声は周波数の違いによって3種類に分類

することが出来る。それは、新生仔ラットによる 40kHz 発声と、成体ラットによる 50kHz および 22kHz の発声である。これらの発声は、喉頭を支配する反回神経を切断することで抑止出来ること[26]から、呼気の喉頭制動による発音であると考えられる。一方、ラットの可聴範囲は 250Hz から 80kHz (70dB(SPL)) と報告されている[27, 28]。このことからラットの超音波発声は他の陸生哺乳綱と同様、呼気と喉頭制動によって超音波を発し、聴覚で検出していると考えられる。新生仔ラットが親あるいは巣から離され寒冷ストレスにさらされると持続時間の短い 40kHz の発声をする。一方、成体ラットでは 50kHz 発声が兄弟や仲間との遊びのときに記録されること[29, 30]から、50kHz 発声は陽性情動を反映する音声と考えられている[31]。また、22kHz 発声は雄同士の攻撃行動において劣位個体からの発声として認められ[32]、さらに電気によるフットショックを受けた時にも同様な発声が記録されることから、22kHz 発声は陰性情動を反映する発声だと考えられている[31, 33]。

ラットの性行動場面では、50kHz および 22kHz の発声が観察されることが報告されている。成熟雄ラットの性行動は交尾行動シリーズ、すなわち交尾前行動、交尾行動および射精後行動で構成されている[34, 35]。交尾前行動では、先ず雄が発情雌の性器周辺の匂いを嗅ぐ行動 (sniffing) に始まり、雌の勧誘行動 (solicitation)、次いで雄の追尾行動が連続して観察される。交尾行動では、乗駕 (mount)、挿入 (intromission) が繰り返し観察され、やがて射精 (ejaculation) に至る。射精後行動では、雄は虚脱状態となり性的に不活性状態になり、雌に関心を示さない性的不応期 (refractory period) と呼ばれる状態が次の交尾行動シリーズの開始までみられる[33, 34]。交尾前行動では、雄は発情雌に出会うと発声周波数 50kHz で発声持続時間の短い超音波を発し[36]、その声が雌の勧誘行動のひとつであるダーテ

イング (darting) 行動に伴う 70kHz の超音波発声を促すことが報告されている[37]。このことから、雄 (雌) の超音波発声は、雌 (雄) の性行動の促進に關与する双方向のコミュニケーションツールと考えられている。射精後の性的不応期では、発声周波数 22kHz で発声持続時間の長い超音波発声が報告されている[38]。この発声には、雄が交尾を再開する準備ができるまで雌の性行動を抑制する desist-contact signal としての機能が示唆されている[38]。しかし、この説を支持する研究成果は得られておらず、ラットの射精後の 22kHz 発声の機能は未だ解明されていない。

ラットやマウスは国内外において使用数の最も多い実験動物であり、その繁殖行動の理解は実験動物学の重要な課題の一つである。ゲッ歯目の繁殖行動における超音波発声の生理的意義を解明することで、動物の繁殖行動をより客観的に理解することが出来、実験動物繁殖技術の向上の一助になると期待される。本研究は、ラット・マウス・シリアンハムスターという現在の実験動物学における重要なゲッ歯目を対象に、その交尾行動時に発せられる超音波のスペクトルを音響学的視点から詳細に再検討することで、ゲッ歯目における交尾行動時の発声の音響特性と種特異性を明確にすることを第一の目的とした。さらに、未だ不明な点が多いラットの射精後の 22kHz 発声の生理的意義についての考察を試みた。

第 2 章では WistarImamichi 系ラット、IVCS 系マウス、シリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動の超音波発声の御経特性の動物種差を観察した。

第 3 章ではラットの射精後の超音波発声の社会的意義の検討を試みた。

第 4 章では薬物自発射精後のラットの超音波発声の有無を観察した。

第 5 章では交尾行動に伴う射精と薬物自発射精における性行動中枢の神



経活性の比較を行い、射精後の超音波発声と性行動中枢の神経活性の関連性について考察を試みた。

本研究は、日本獣医生命科学大学動物実験委員会の承認（09-20-2, 11-117）を受けて実施した研究である。

## 参考文献

- [1] 赤木正人 (2010). 音声に含まれる感情情報の認識. *日本音響学会誌* 66, 393-398.
- [2] Erickson, D. (2005). Expressive speech: Production, perception and application to speech synthesis. *Acoust. Sci. & Tech.* 26, 317–325.
- [3] Fujisaki, H. (2004). Prosody, information, and modeling – With emphasis on tonal features of speech. *Proc.Speech Prosody 2004 Nara*, 1–10.
- [4] (社)日本音響学会編(2003), 新版音響用語辞典, 38, コロナ社 (東京)
- [5] ドナルド・R・グリフィン著, 能本乙彦訳(1970). コウモリと超音波—エコー・サウンディング—, 30-41, 河出書房新社 (東京) .
- [6] Noyes Jr., Pierce, G.W.(1938). Apparatus for Acoustic Research in the Supersonic Frequency Range. *J. Acoust. Soc. Am.* 9, 205
- [7] Pierce, G.W., Griffin, D.R.(1938). Experimental Determination of Supersonic Notes Emitted by Bats. *Journal of Mammalogy* 19, 454-455
- [8] Galambos, R., Griffin,D.R.(1942). Obstacle avoidance by flying bats: the cries of bats. *Journal of Experimental Zoology* 89:475-490.

- [9] Wolfgang Schleidt, W.(1948). Töne hoher Frequenz bei Mäusen. *Experientia* 15, 145-146
- [10] Zippelius, H., Schleidt, W.(1956). Ultraschall-Laute bei jungen Mäusen. *Naturwissenschaften* 43, 502
- [11] Bell, R.W., Nitschke, W., Zachman, T.A.(1972). Ultra-sounds in three inbred strains of young mice. *Behav. Biol.* 7, 805-814.
- [12] Allin, J.T., Banks, E.M.(1971). Effects of temperature on ultrasound production by infant albino rats. *Vev. Psychobiol.* 4, 149-156.
- [13] Bell, R.W., Nitschke, W., Gorry, T.H., Zachman, T.A.(1971). Infantile stimulation and ultrasonic signaling: a possible mediator of early handling phenomena. *Dev. Psychobiol.* 4, 181-191.
- [14] Noirot, E.(1972). Ultrasounds and maternal behavior in small rodents. *Dev Psychobiol.* 5, 371-387.
- [15] Sewell, G.D. (1970). Ultrasonic Communication in Rodents. *Nature* 227, 410

- [16] Cirulli, F., Santucci, D., Laviola, G., Alleva, E., Levine, S.(1994). Behavioral and hormonal responses to stress in the newborn mouse: Effects of maternal deprivation and chlordiazepoxide. *Developmental Psychobiology* 27, 301-316.
- [17] Hofer, M.A., Brunelli, S.A., Shair, H.N.(1993). The effects of 24-hr maternal separation and of litter-size reduction on the isolation-distress response of 12-day-old rat pups. *Developmental Psychobiology* 26, 483~497.
- [18] 富原一哉, 近藤保彦.(1997). ラット・マウスにおける超音波コミュニケーションの研究技法と動向. *Tsukuba Psychological Research* 19, 147-154.
- [19] Terkel, J., Damassa, D.A., Sawyer, C.H.(1979). Ultrasonic cries from infant rats stimulate prolactin release in lactating mothers. *Horm. Behav.* 12, 98-102.
- [20] Hashimoto H., Saito T.R., Furudate S., Takahashi K.W. (2001). Prolactin levels and maternal behavior induced by ultrasonic vocalizations of the rat pup. *Exp Anim.* 50, 307-12.
- [21] Hashimoto H., Saito T.R., Moritani N., Komeda K., Takahashi K.W. (2001). Comparative study on isolation calls emitted from hamster pups. *Exp Anim.* 50, 313-318.

- [22] Motomura N., Shimizu K., Shimizu M., Aoki-Komori S., Taniguchi K., Serizawa I., Saito T.R. (2002). A comparative study of isolation-induced ultrasonic vocalization in rodent pups. *Exp Anim.* 51,187-90.
- [23] Hashimoto, H., Moritani, N., Aoki-Komori, S., Tanaka, M., Saito, T.R. (2004). Comparison of ultrasonic vocalizations emitted by rodent pups. *Experimental Animals* 53, 409-416.
- [24] Sewell, G.D. (1968). Ultrasound in Rodents. *Nature* 217, 682 - 683
- [25] Nyby, J., Whitney, G. (1978). Ultrasonic communication of adult myomorph rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2, 1-14.
- [26] Roberts, L. H.(1975). Evidence for the laryngeal source of ultrasonic and audible cries rodents. *Journal of Zoology*, 175, 243-257.
- [27] Kelly, J.B.(1977). Auditory sensitivity of the albino rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 91, 930-936.
- [28] Heffner, H.E., Heffner, R.S., Contos, C., Ott, T.(1994). Audiogram of the hooded Norway rat. *Hearing Research* 73, 244-247.
- [29] 山田裕子(2000). ラットの play-fighting の特徴と機能について. *The Japanese Journal of Animal Psychology* 50, 111-118.

- [30] Knutson, B., Burgdorf, J., Panksepp, J.(1998). Anticipation of play elicits high-frequency ultrasonic vocalizations in young rats. *Journal of Comparative Psychology*, 112, 65-73.
- [31] Knutson, B., Burgdorf, J., Panksepp, J.(2002). Ultrasonic vocalizations as indices of affective states in rats. *Psychological Bulletin* 128, 961-977.
- [32] Sales, G.D. (1972). Ultrasound and aggressive behaviour in rats and other small mammals. *Animal Behaviour* 20, 88–100
- [33] Brudzynski, S.M.(2001). Pharmacological and behavioral characteristics of 22 kHz alarm calls in rats. *Neurosci. Biobehav.* 25, 611-617.
- [34] Hull, E.M., Rodríguez-Manzo G. (2009). 1. Male sexual behavior. Hormones, Brain and Behavior, 2nd edition, 5-65, *Academic Press*, San Diego
- [35] Hull, E.M, Dominguez, J. M. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*, 52, 45–55.

- [36] Geyer, L. A., Barfield, R. J. (1978). Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats: I. Treatment of females. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 92, 438-446.
- [37] Thomas, D.A., Barfield, R.J. (1985). Ultrasonic vocalization of the female rat (*Rattus norvegicus*) during mating. *Animal Behaviour* 33, 720-725.
- [38] Barfield, R.J., Geyer, L.A.(1972). Sexual behavior: ultrasonic postejaculatory song of the male rat. *Science* 23, 1349-50.

## 第2章

ラット、マウスおよびシリアンハムスターの交尾行動における超音波発声の比較

### 2-1 緒言

ゲッ歯目の成熟雄の性行動は、交尾前行動と交尾行動および射精後行動で構成されている。交尾前行動は、雄動物による発情雌の性器周辺の匂いを嗅ぐ行動 (sniffing) から始まる。発情雌は、雄を勧誘する行動 (solicitation) をとり、雄は雌を追尾する行動をとる。交尾行動は、乗駕 (mount)、挿入 (intromission)、射精 (ejaculation) の3種の典型的な行動によって構成されている[1]。乗駕行動は、雄動物が雌動物の背後から近づいて乗駕し、前肢で雌の両脇腹を押さえるようにし、ペニスを浅くスラストさせる。ただし、ペニスは膣に挿入されていない。挿入行動は、ペニスが膣に深くスラスト (挿入) される乗駕である。射精行動は射精を伴う挿入である[1, 2]。射精後行動は、射精の直後に観察される行動で、射精後間隔 (postejaculation interval: PEI) と呼ばれている[1, 3 - 5]。ラットの PEI は、その最初 50~75% の期間で雄に刺激を与えても行動を示さない絶対不応期 (absolute refractory period) と、最後 25% の相対不応期 (relative refractory period) に分けられる。すなわち、相対不応期では、次の交尾シリーズに移行する準備段階の行動を示す。一般的にゲッ歯目は、性行動を数回繰り返し、やがて性的飽和状態に至り、交尾行動を示さなくなる[1, 6]。

交尾前行動、交尾行動および射精後行動において、超音波の発声が観察



されることが報告されている。ラットは、交尾前行動および交尾行動において 50kHz の発声が観察され[7 - 9]、性的不応期においては 22kHz の発声が観察される[7 - 11]。マウスは、交尾前行動および交尾行動において 70kHz の発声があることが報告されている[12 - 14]。しかし、性的不応期における発声に関する報告は知られていない。いっぽう、ハムスター類においては、ジャンガリアンハムスターの発声周波数に関する報告[15]はあるが、シリアンハムスターの発声周波数に関する報告は散見されていない。

交尾前行動および交尾行動に伴って観察される発声は、雌の性行動を促進する効果があると報告されている[16, 17]。しかし、ラットの射精後行動に観察される 22kHz の発声[18, 19]は、雌の行動にほとんど影響を与えないとされている[20]。

本章では、ラット、マウスおよびシリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動における超音波発声の周波数と持続時間の比較を行った。

## 2-2 実験材料と方法

### 2-2-1 供試動物

供試動物は、Wistar-Imamichi 系ラット ((財)動物繁殖研究所、茨城県かすみがうら市) の 9~10 週齢の雄と 7~8 週齢の雌各 4 匹、IVCS 系マウス ((財)動物繁殖研究所) の 10~12 週齢の雄と 8~9 週齢の雌各 4 匹およびシリアンハムスター ((財)残留農薬研究所、茨城県水海道市) の 9~13 週齢の雄、7~9 週齢の雌各 4 匹であった。供試動物は、室温 25°C±3°C、人工照明 14 時間 (消灯 19 時) に設定された環境下で飼育された。飼料には、固型飼料 (日本農産)、飲水には水道水を用い、これを不断給与した。

### 2-2-2 交尾行動の観察

発情雌の抽出には、膣垢を採取しその変化を観察して判定する方法を用いた [21]。行動観察は午後 7 時より 1 時間とした。ただし、IVCS マウスは 8 時間とした。各実験動物とも、最初に雄を観察ケージ[22] (透明アクリル樹脂製, 直径 30cm, 高さ 35cm) に収容し、その 5 分後に発情雌を導入した。

### 2-2-3 発声観察および解析方法

交尾行動に伴って発声した全ての音響信号を、1/4 インチの計測用マイクロホンを用いて集音、その信号を高速サウンドボード (LynxStudioTechnology 社 L22, 米国) を用いてデジタル化し Personal Computer に取り込み、周波数分析ソフトウェア (PHS 社 SpectraPLUS professional, 米国) を用いてハードディスクドライブに記録した (図 2・1)。デジタル化する際のサンプリング周波数は 192kHz とし、観察可能な周数帯域を 20Hz~95kHz とし、発声周波数の中央値 (図 2・2) と発声持続時間を用いて数値化した。観察された発声情報は、次の指標を用いて定量化した。

- 1) 交尾前行動に伴う発声の周波数および持続時間
- 2) 交尾行動に伴う発声の周波数および持続時間
- 3) 射精後に伴う発声の周波数および持続時間

### 2-2-4 統計処理

対象動物が発した音声の周波数、発声の持続時間に対して統計学的検定を行った。検定対象が 2 群の場合は分散分析法を適用し、3 群以上の場合は、Tukey の多重比較法を適用した。

## 2-3 結果

### 2-3-1 Wistar-Imamich 系ラットの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声の特徴

図 2・3 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声周波数の時間変動を示す。観察ケージに雌が導入されると同時に 40~70kHz の音声が観察された。発声は交尾行動に伴って頻繁に観察され、射精まで継続した。射精後行動では 20~30kHz の発声が観察された。この音声が観察されなくなると、やがて交尾行動が再開された。図 2・4 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間の時間変動を示す。交尾前行動および交尾行動で観察された発声持続時間は、そのほとんどが 0.1 秒より短く、持続時間の長い発声は観察されなかった。これに対して、射精後行動では 0.05~2 秒の範囲に分布していた。図 2・5 - 7 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声周波数の度数分布を示す。交尾前行動と交尾行動では、48~51kHz の発声がより多く観察された。射精後行動では 48~51kHz の発声は観察されず、21~24kHz の発声が多く観察された。交尾行動シリーズ(交尾前行動、交尾行動および射精後行動)を通じて観察された発声の周波数範囲は 21kHz から 78kHz であり、48-51kHz と 21-24kHz にピークを持つ不連続な周波数スペクトルで構成されていた。図 2・8 - 10 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間の度数分布を示す。交尾前行動および交尾行動では、持続時間 0.1 秒以下の発声が観察された。これに対して、射精後行動では 0.00~2.00 秒の範囲に分布していた。図 2・11 に交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間と周波数の関係を示す。交尾行動に伴う発声は、周波数 40~60kHz、持続時間 0.1 秒以下に分布していたのに対して、射精後行動の発声は、周波数 20~40kHz、持続時間 0.1~2 秒に分

布していた。

図 2・12 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声周波数範囲の比較図を示す。交尾前行動で観察された発声周波数は  $53 \pm 5\text{kHz}$  ( $n: 564$ ) (平均値 $\pm$ 標準偏差 (サンプル数))、交尾行動では  $51 \pm 3\text{kHz}$  ( $n: 185$ )、射精後行動では  $26 \pm 4\text{kHz}$  ( $n: 465$ ) であった。交尾前行動と交尾行動および射精後行動の発声周波数の相互間で有意差が認められた ( $p < 0.01$ , Tyuley's test)。図 2・13 に、交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声持続時間の比較図を示す。交尾前行動で観察された発声持続時間は  $0.041 \pm 0.022$  秒 ( $n: 564$ )、交尾行動では  $0.033 \pm 0.029$  秒 ( $n: 185$ )、射精後行動では  $0.531 \pm 0.361$  秒 ( $n: 465$ ) であった。交尾前行動と射精後行動および交尾行動と射精後行動の発声持続時間の相互間で有意差が認められた ( $p < 0.01$ , Tyuley's test)。

### 2-3-2 IVCS 系マウスの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声の特徴

図 2・14 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動とそれに伴う発声周波数の時間変動を示す。観察ケージに雌が導入されると同時に  $40 \sim 80\text{kHz}$  の音声が観察された。発声は交尾行動に伴って頻繁に観察され、射精まで持続した。しかし、射精後行動では、発声は観察されなかった。図 2・15 に交尾前行動および交尾行動に伴う発声持続時間の時間変動を示す。交尾前行動および交尾行動で観察された発声持続時間は  $0.2$  秒より短く、持続時間の長い発声は観察されなかった。図 2・16 - 17 に交尾前行動および交尾行動に伴う発声周波数の度数分布を示す。交尾前行動では、 $75 \sim 78\text{kHz}$  と  $66 \sim 69\text{kHz}$  の発声がより多く観察された。交尾行動では、 $72 \sim 75\text{kHz}$  と  $63 \sim 66\text{kHz}$  に

加えて 48~51kHz の発声がより多く観察された。図 2・18 - 19 に交尾前行動および交尾行動に伴う発声持続時間の度数分布を示す。交尾前行動では、持続時間 0.02 秒以下の発声が観察された。交尾行動では、0.00~0.14 秒の発声が観察された。図 2・20 に交尾行動に伴う発声持続時間と周波数の関係を示す。交尾行動に伴う発声は、周波数 40~80kHz、持続時間 0.1 秒以下に分布していた。

図 2・21 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声周波数範囲の比較図を示す。交尾前行動で観察された発声周波数は  $77 \pm 7$  kHz (n : 1080)、交尾行動では  $67 \pm 11$  kHz (n : 5785) であった。射精後行動の発声は観察されなかった。交尾前行動と交尾行動の発声周波数の間に有意差が認められた ( $p < 0.01$ 、Tyuley's test)。図 2・22 に、交尾前行動および交尾行動に伴って観察された発声持続時間を示す。交尾前行動で観察された発声周波数は  $0.014 \pm 0.011$  秒 (n : 1080)、交尾行動では  $0.039 \pm 0.029$  秒 (n : 5785) であった。交尾前行動と交尾行動の発声周波数の間で有意差が認められた ( $p < 0.01$ 、Tyuley's test)。

### 2-3-3 シリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声の特徴

図 2・23 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動とそれに伴う発声周波数の時間変動を示す。観察ケージに雌が導入されると同時に 30~40kHz の音声が観察された。発声は乗駕と挿入行動に伴って頻繁に観察され、射精まで持続した。射精後行動でも、20~40kHz の発声は観察された。図 2・24 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間の時間変動を示す。交尾前行動および交尾行動で観察された発声持続時間は 0.2 秒より短

く、持続時間の長い発声は観察されなかった。図 2・25 - 27 に交尾前行動および交尾行動に伴う発声周波数の度数分布を示す。交尾前行動で観察された発声周波数では、36~39kHz と 24~27kHz の発声がより多く観察された。交尾行動では、36~39kHz と 27~30kHz の発声がより多く観察された。射精後行動で観察された発声には、24~27kHz の発声がより多く観察された。図 2・28 - 30 に交尾前行動および交尾行動に伴う発声持続時間の度数分布を示す。交尾前行動、交尾行動および射精後行動では、持続時間 0.00~0.12 秒の発声が観察された。図 2・31 に交尾行動に伴う発声持続時間と周波数の関係を示す。交尾行動および射精後行動に伴う発声は周波数 20~40kHz、持続時間 0.2 秒以下に分布していた。

図 2・32 に交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声周波数の比較図を示す。交尾前行動で観察された発声周波数は  $34 \pm 6\text{kHz}$  (n : 471)、交尾行動では  $33 \pm 6\text{kHz}$  (n : 243)、射精後行動では  $30 \pm 5\text{kHz}$  (n : 78) であった。交尾前行動と射精後行動および交尾行動と射精後行動の間に有意差が認められた ( $p < 0.01$ 、Tyuley's test)。図 2・33 に、交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声持続時間の比較図を示す。交尾前行動で観察された発声持続時間は  $0.058 \pm 0.039$  秒 (n : 471)、交尾行動では  $0.044 \pm 0.031$  秒 (n : 243)、射精後行動では  $0.052 \pm 0.034$  秒 (n : 78) であった。交尾前行動と交尾行動および交尾行動と射精後行動の発声持続時間の間に有意差が認められた ( $p < 0.01$ 、Tyuley's test)。

## 2-4 考察

本研究では、ラット、マウスおよびシリアンハムスターの雄の交尾行動に伴う超音波音声の観察を行った。しかし、交尾行動が雌雄の相互作用であ

ることから、観察した超音波音声に雌が発した音声が含まれていることが考えられる。雄ラットが発情雌に出会うと 50kHz の超音波発声を行う[8]。雄の sniffing は、雌の勧誘行動の 1 つである darting に伴う 50~80kHz の超音波発声を促す[23, 24]。反回神経を切断し、発声機能を消失させた[25]雌を雄に提示すると、雄の超音波発声はみられず、そのため雌はより多くの darting を行う[26]。その際、録音した正常な雌の 70~80kHz の超音波発声を提示すると、darting の発現率は録音信号を提示する前に比べて減少する[26]ことが報告されている。このような雌雄の超音波音声は相互の性的興奮 (sexual arousal) に影響を及ぼしていると考えられる。交尾前行動に観察された発声の主な周波数は 45~57kHz であったが、僅かではあるが 57~78kHz の音声も観察された (図 2・5)。交尾前行動では頻繁に雌による勧誘行動 (darting、ear-wiggling、hopping) が観察されることから、集音した音声に雌の音声が含まれているものと考えられる。最初の乗駕 (または挿入) から射精までの間にも、雌はしばしば勧誘行動を行っていた。そこで、交尾行動に伴う超音波音声の観察では、乗駕行動と挿入行動および射精行動に伴う音声だけを観察した。交尾行動 (乗駕と挿入および射精) に伴って観察した音声の周波数は 45~57kHz であった。

雄マウスが発情雌に出会うと 70kHz の発声が観察される[12- 14]。雄に発情雌の尿を提示しても超音波発声が観察されることから、発情雌の尿中に雄の発声を促すフェロモン様物質が含まれていると考えられている[27]。雌は雄の発声に対して選好性を示すこと[28]が報告されている。しかし、性行動中の雌の発声は確認されておらず、双方向の音声コミュニケーションが形成されているかは不明である[29]。そこで、ラットと同様、交尾行動に伴う発声を雄の音声とした。シリアンハムスターも同様とした。

交尾行動で観察した 3 種の動物、全てに超音波音声を観察された。その

持続時間は、ラットで  $0.033 \pm 0.029$  秒、マウスは  $0.039 \pm 0.029$  秒、シリアンハムスターでは  $0.044 \pm 0.031$  秒であった。相互の間に有意差は認められたが、その差異は僅かであった (図 2・38)。これに対して発声周波数は、ラットで  $51 \pm 3\text{kHz}$ 、マウスで  $67 \pm 11\text{kHz}$ 、シリアンハムスターで  $33 \pm 6\text{kHz}$  であり、種に顕著な差異がみられた (図 2・35)。発声は、呼気との関係が指摘されている [30]。交尾行動に伴い心拍数が徐々に上昇する [31] ことから交感神経が優位となり、呼吸数も上昇していると考えられる。発声の持続時間は呼気の長さによって制限されることから、全ての動物で発声の持続時間が長い発声が観察されなかったものと考えられる。動物種によって、発声の周波数に明確な違いが観察された理由は、身体の高さ、とりわけ気道の長さ、太さ、厚さおよび気流速度などの違いに原因があると考えられる。すなわち、喉頭での呼気 (空気) の振動は声道から放出される。この際、声道により共鳴が生じる。声道の共鳴周波数は声道の長さが長い (ラット) ほど低く、短い (マウス) ほど高くなり、発声周波数の差異が見られたものと考えられる。

雄ラットの発声周波数と持続時間は、交尾行動では  $51\text{kHz}$ 、 $0.033$  秒であったが、射精後行動では  $26\text{kHz}$ 、 $0.531$  秒と大きく変化した。このことは、自律神経のスイッチングによるものと考えられる。交尾行動に伴う雄ラットの心拍数は、乗駕および挿入により徐々に上昇し、射精でピークを迎え、その後急激に減少する [31]。このことから、交尾行動では交感神経が優位にあり、射精後行動では副交感神経が優位にあると考えられる。ラットの超音波発声には、呼気に関与することが指摘されている [30]。反回神経の切断により超音波発声が阻害される [25] ことから、超音波発声には、喉頭の緊張が関与している可能性が考えられる。交尾前行動および交尾行動では交感神経が優位となり、呼吸数が増加し、呼気の持続時間が短くなり、発声の持続時間も短くなる。呼気の持続時間が短くなったことにより、喉頭を通過する



呼気速度が上昇し高い音が出やすくなる。射精後は、副交感神経が優位となり、呼吸数が減少し呼気の持続時間が長くなり発声の持続時間も長くなったものと考えられる。また、喉頭を通過する呼気速度も低下し低い音が出やすくなったものと考えられる。

ラットでは、心拍数の変化から交尾行動では交感神経が優位となり、射精を契機に射精後には副交感神経が優位となったと考えられる。同様なことはマウスやシリアンハムスターにも起こっていると思われる。しかし、マウスにおいては射精後の発声は全く観察されなかった。シリアンハムスターにおいては発声は観察されたが、その周波数および発声持続時間は射精前に比べて大きな変化は見られなかった。交尾行動と射精後行動で観察された発声の特徴が大きく変化することは、ラットの大きな特徴と云える。これまでも、この特徴的な発声の意味に関する議論がなされている[11]。しかしながら、その生理的な意義については、未だに明解な結論に至っていない。

## 2-5 小括

ラットの交尾行動シリーズの発声周波数帯域は 21-57kHz であり、50kHz と 22kHz にピークを持つ不連続な周波数スペクトルで構成されていた。マウスの発声周波数帯域は 42-84kHz と帯域が広く、51kHz、66kHz、75kHz にピークを持つ連続した周波数スペクトルで構成されていた。シリアンハムスターの発声帯域は 24-42kHz であり、27kHz と 36kHz の 2 つのピークを持つ連続な周波数スペクトルで構成されていた。3 種の動物の交尾行動中に観察された発声周波数は有意水準 1% で有意差が認められた。一方、射精後に超音波発声を認めたのはラットとシリアンハムスターのみであり、マウスでは射精後の超音波発声は認められなかった。シリアンハムスターの発声周

波数と持続時間は交尾行動で観察されたものと明瞭な違いは認められなかった。したがって、射精の前後で発声周波数と持続時間の双方が大きく変化したのはラットのみであった。以上の結果より、ラット、マウスおよびシリアンハムスターの交尾行動に伴う発声周波数には大きな種差があることが明確となった。さらに、射精後に超音波発声の特徴が交尾行動のそれと大きく変化するのラットのみであることが示された。

射精後の雄ラットに観察される持続時間の長い22kHzの超音波音声の生理的意義については次章で検討する。

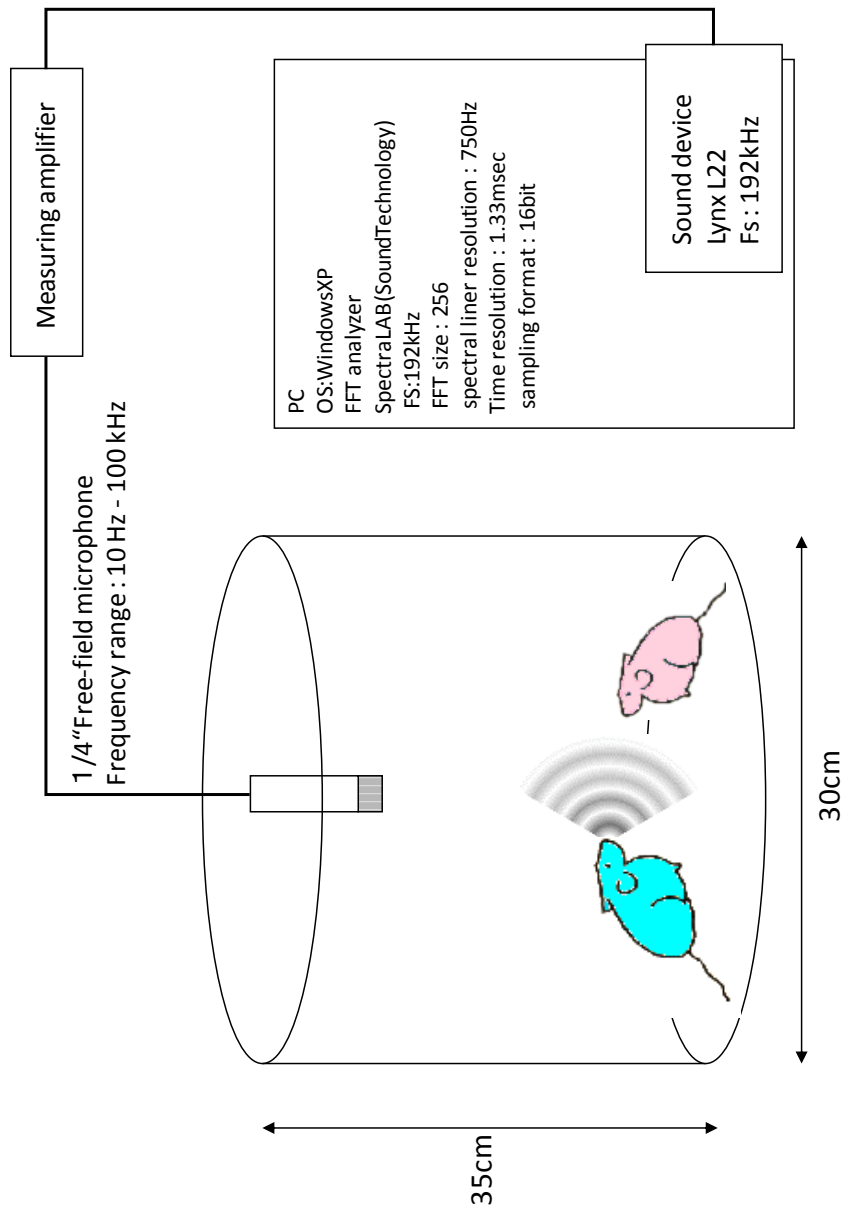
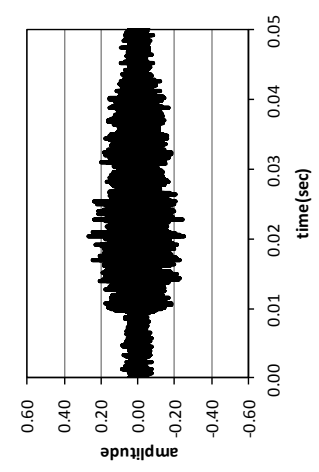
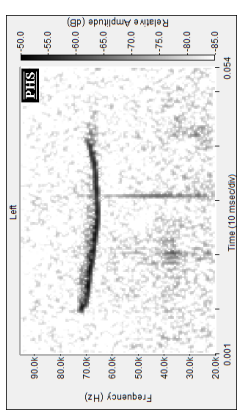


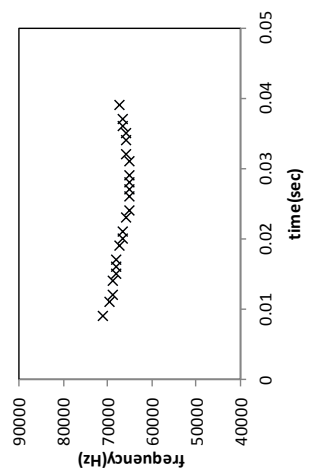
図 2.1 測定システムブロック図



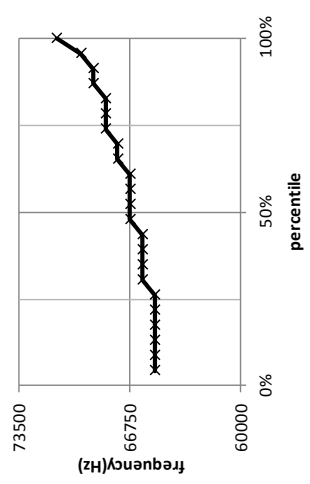
(1)時間-振幅変図



(2)時間-周波数-音圧レベル解析図



(3)发声部を時間-周波数グラフに変換



(4)中央値を算出

図 2.2 発声周波数の代表値の導出手順

対象動物が発する声を、マイクロホンを用いて電気信号に変換し、それをデジタル信号に変換する。変換された信号は「時間-振幅変動情報 (1)参照)」として記録される。記録された「時間-振幅変動情報」に対して、周波数解析を施し「時間-周波数-音圧レベル情報 (2)参照)」という 3 次元の情報に変換する。次に、「周波数音圧レベルの情報」から「最大音圧を記録した周波数情報」を抽出し、「時間-周波数情報 (3)参照)」の 2 次元情報に変換する。最後に、発声区間の時間-周波数データの周波数の 50 パーセント値 (中央値) を導出し、その値を発声周波数の代表とする。

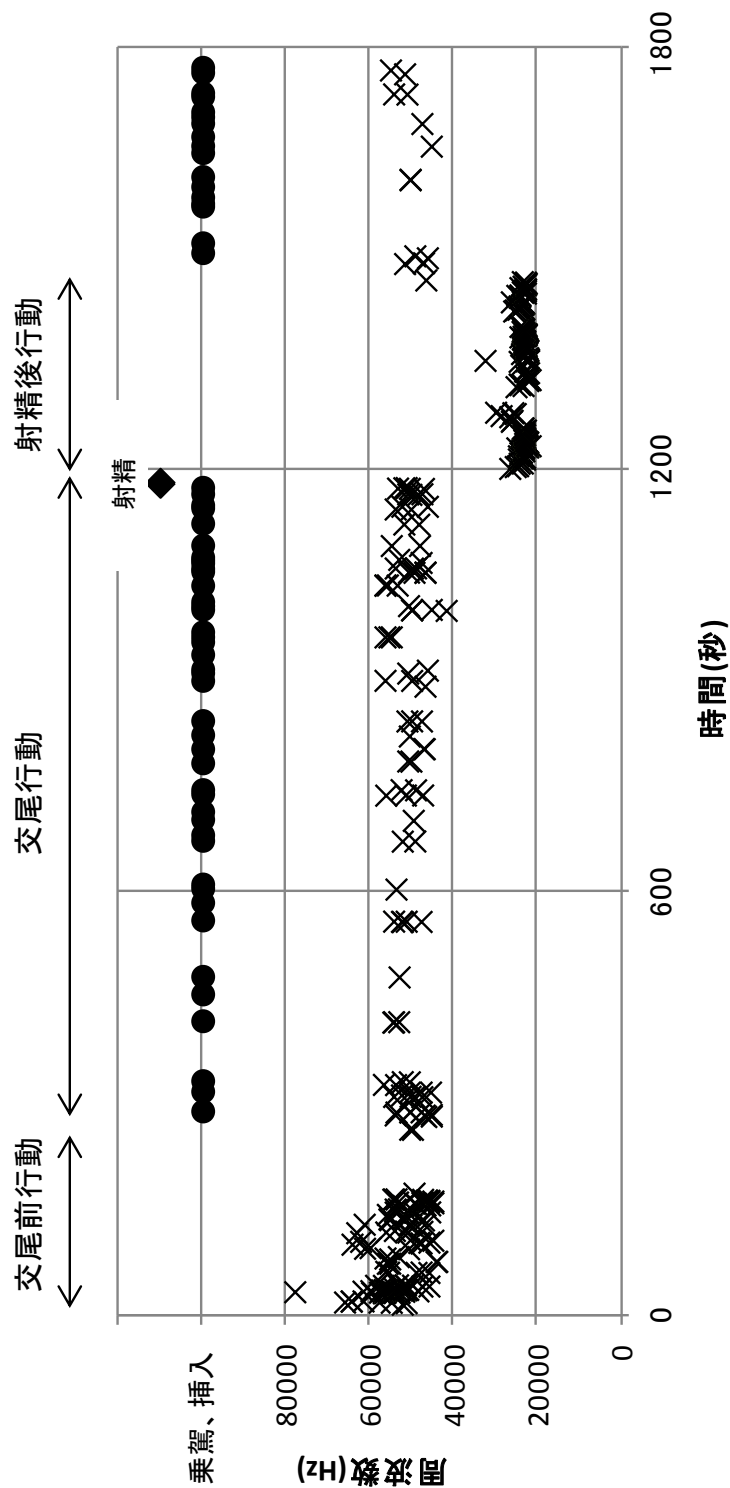


図 2・3 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う雄の発声周波数の時間変動

図中の横軸は時間を表し、縦軸は発声周波数を表す。時間軸は、雌を観察ケージに導入した時を基準とした。図中の×印は発声周波数を表し、●印は、交尾行動が観察されたことを、◆印は射精を表している。  
 観察ケージに雌を導入と同時に、40～70kHzの超音波発声が観察された。発声は、射精まで断続的に観察された。射精後は、20～30kHzの発声が観察され、その発声が止まると、やがて交尾行動が再開された。

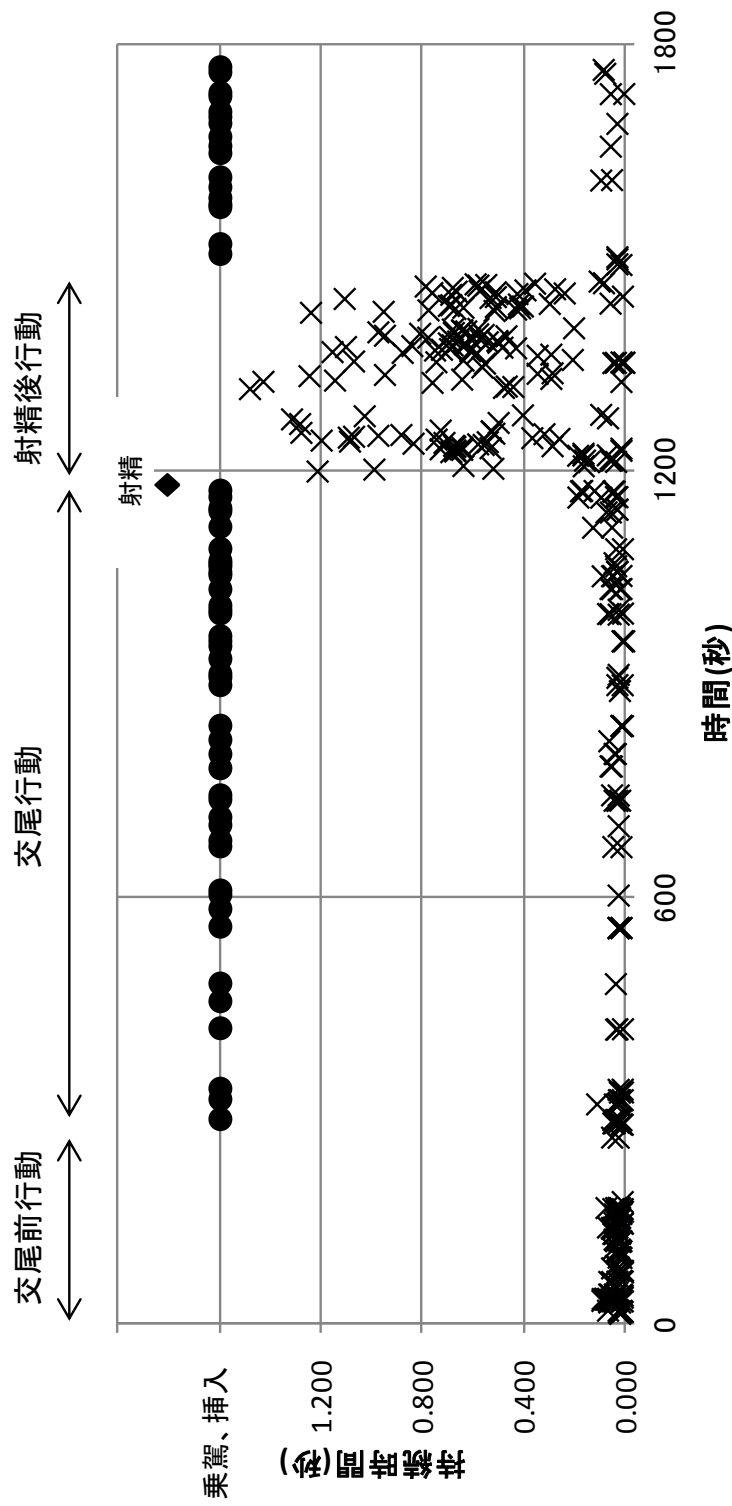


図 2・4 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間の時間変動

図中の横軸は時間を表し、縦軸は発声持続時間を表す。時間軸は、雌を観察ケージに導入した時を基準とした。図中の×印は発声持続時間を表し、●印は、交尾行動が観察されたことを、◆印は射精を表している。  
 観察ケージに雌を導入と同時に、発声持続時間が 0.1 秒以下の超音波発声が観察された。発声は、射精まで断続的に観察された。射精後は、持続時間が短いものから 1 秒を超える長い発声が観察され、持続時間の長い発声が観察されなくなると、やがて交尾行動が再開された。

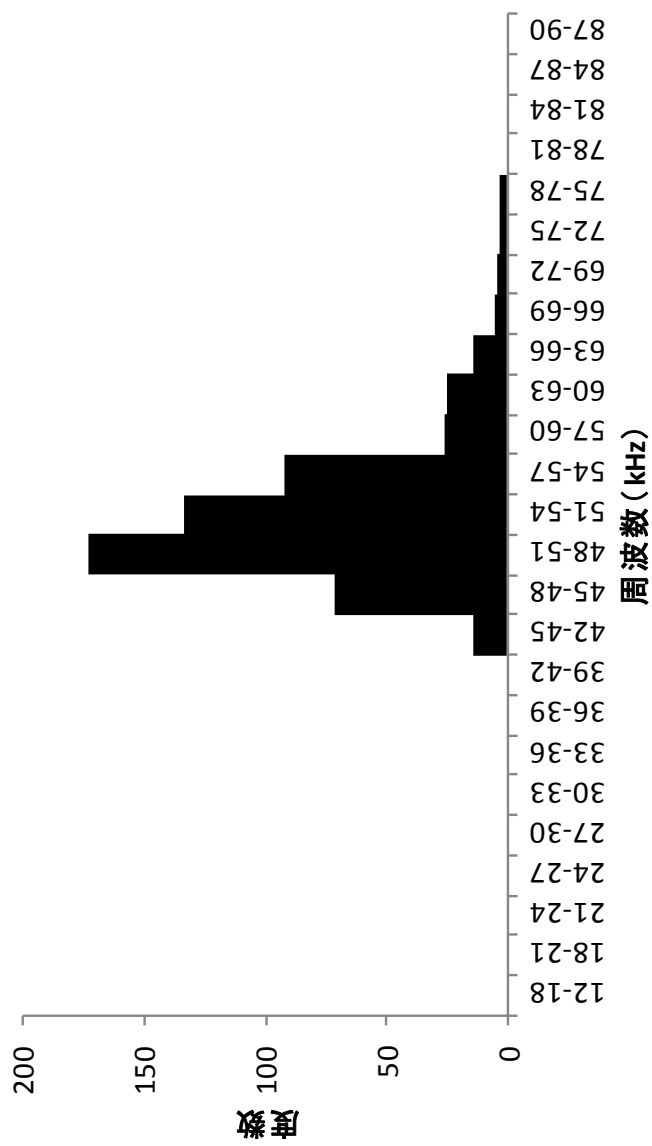


図 2・5 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾前行動に伴う発声周波数の度数分布



図 2・6 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾行動に伴う発声周波数の度数分布



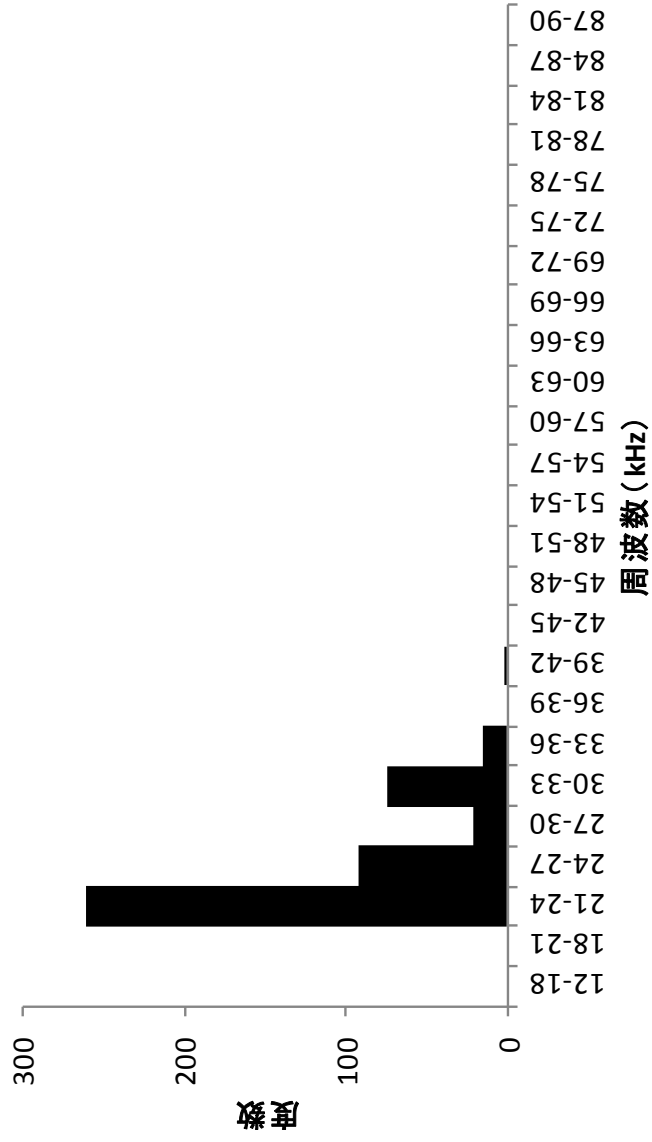


図 2.7 Wistar-Imamichi 系ラットの射精後行動に伴う発声周波数の度数分布

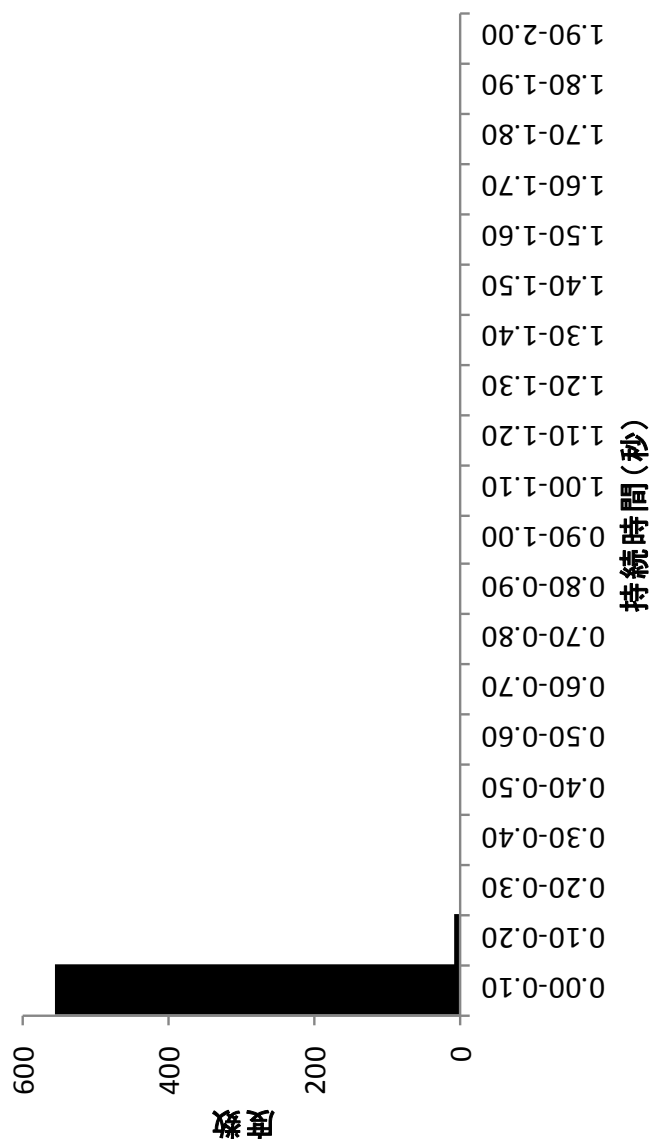


図 2・8 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾前行動に伴う発声持続時間の度数分布

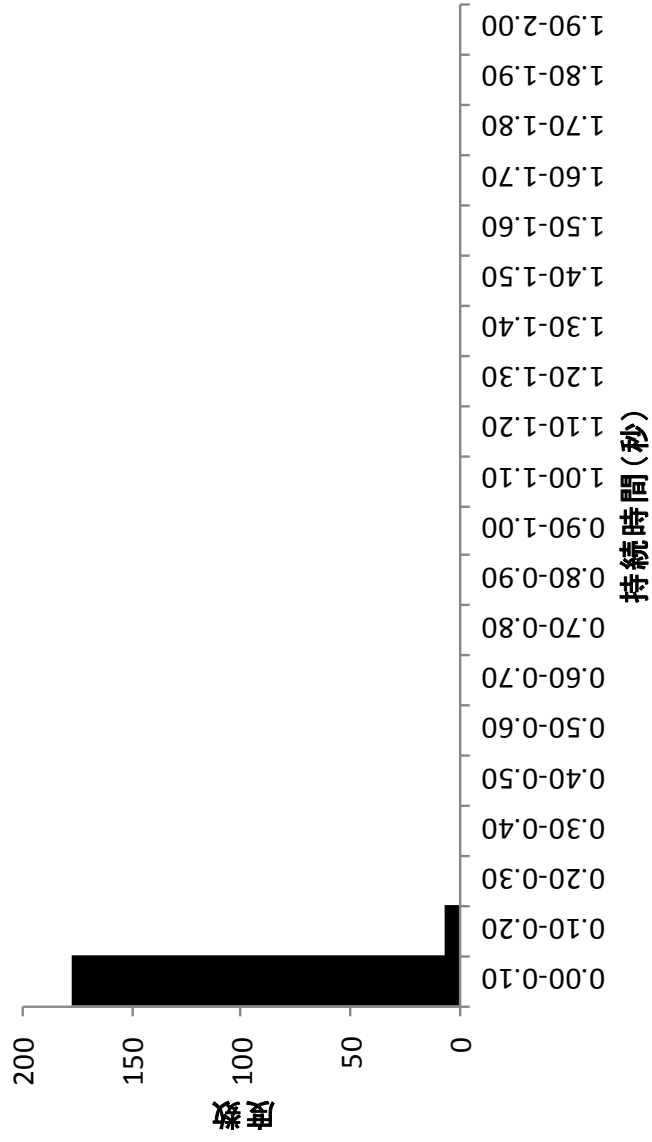


図 2・9 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾行動に伴う発声持続時間の度数分布

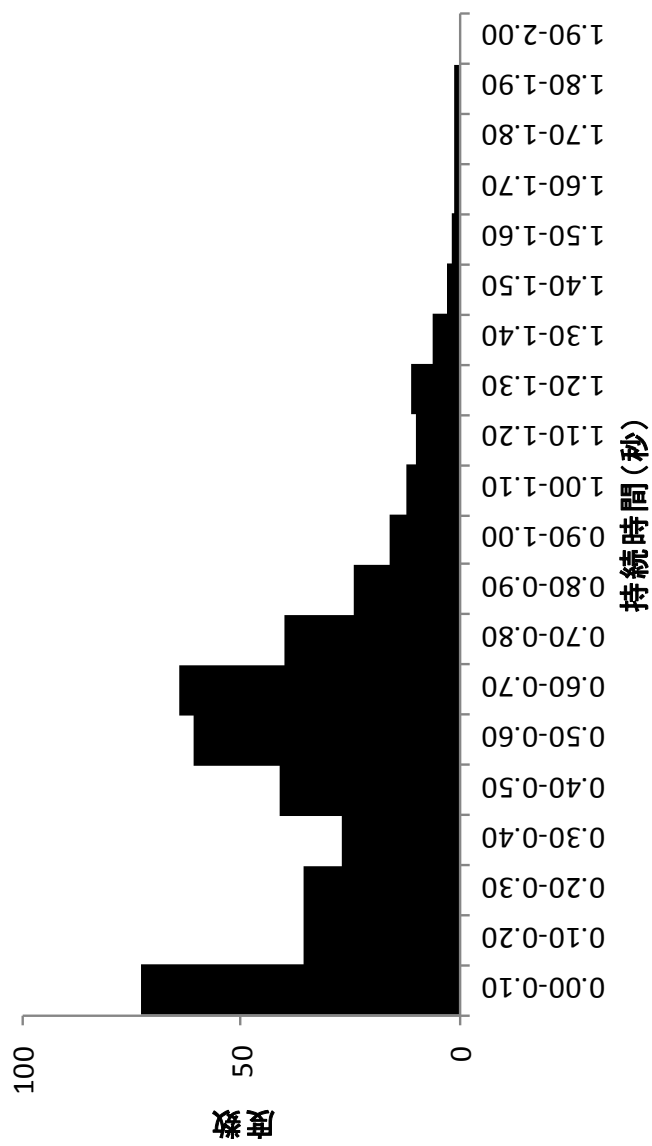


図 2・10 Wistar-Imamichi 系ラットの射精後行動に伴う発声持続時間の度数分布

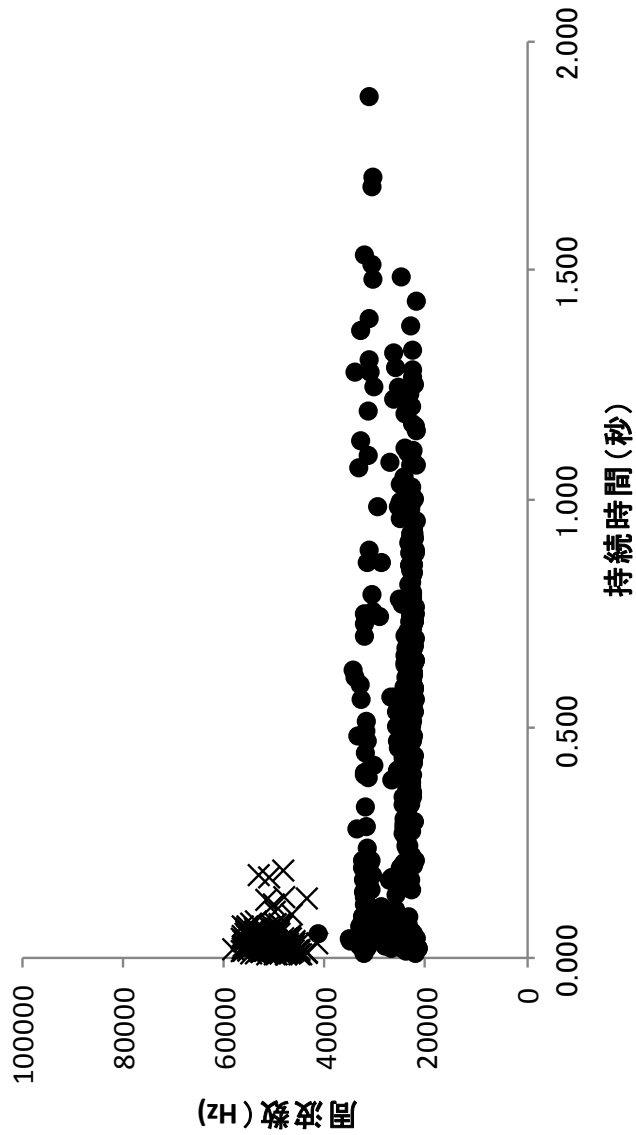


図 2・11 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾行動と射精後行動に伴う発声持続時間と発声周波数の関係

図中の横軸は発声持続時間を表し、縦軸は発声周波数を表す。図中の×印は交尾行動に伴って観察された発声を表し、●印は射精後行動に伴って観察された発声表す。  
 交尾行動に伴って観察される発声は持続時間が 0.2 秒より短く、周波数は 40～60kHz に分布していることが読み取れた。これに対して、射精後行動に伴って観察された発声は持続時間に広く分布し、周波数は 20～40kHz に分布していた。

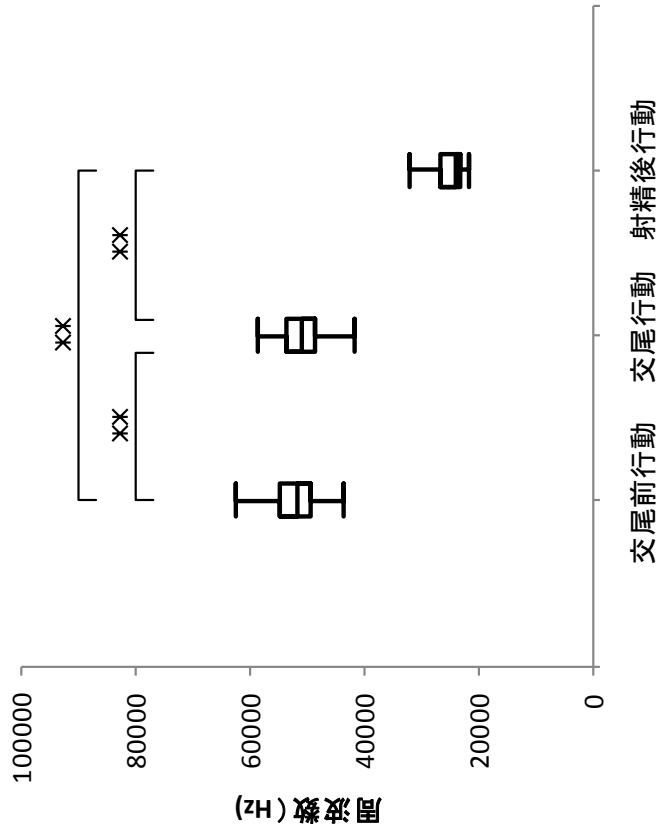


図 2・12 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声周波数の比較

Wistar-Imamichi 系ラットの交尾前行動と交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声周波数範囲を示す。交尾前行動で観察された発声周波数は  $53 \pm 5 \text{ kHz}$  (平均値 ± 標準偏差) ( $n : 564$ )、交尾行動では  $51 \pm 3 \text{ kHz}$  ( $n : 185$ )、射精後行動では  $26 \pm 4 \text{ kHz}$  ( $n : 465$ ) であった。交尾前行動と交尾行動および射精後行動の発声周波数の相互間で有意差が認められた ( $p < 0.01$ , Tukey's test)。

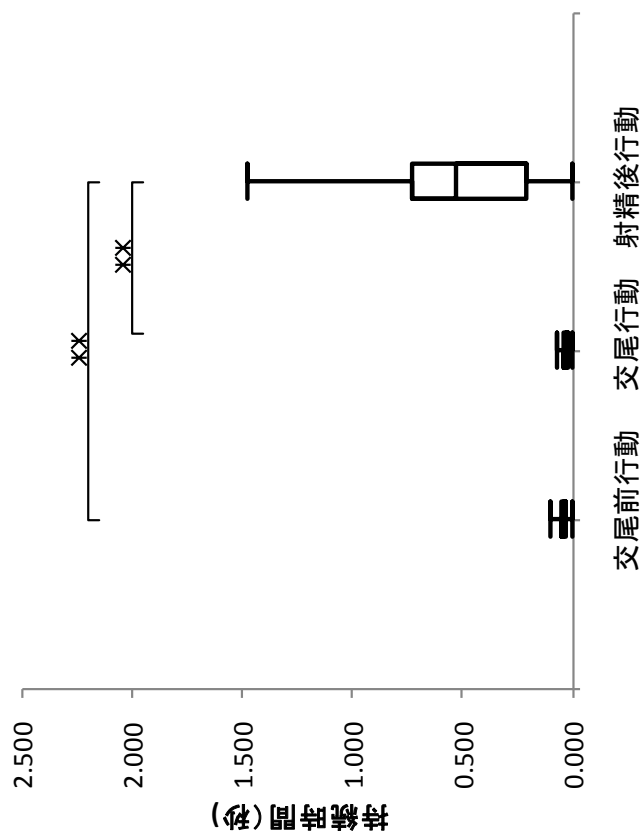


図 2・13 Wistar-Imamichi 系ラットの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間の比較

交尾前行動で観察された発声持続時間は  $0.041 \pm 0.022$  秒 (n : 564)、交尾行動では  $0.033 \pm 0.029$  秒 (n : 185)、射精後行動では  $0.531 \pm 0.361$  秒 (n : 465) であった。交尾前行動と射精後行動および交尾行動と射精後行動の発声持続時間の間に有意差が認められた (p<0.01、Tukey's test)。

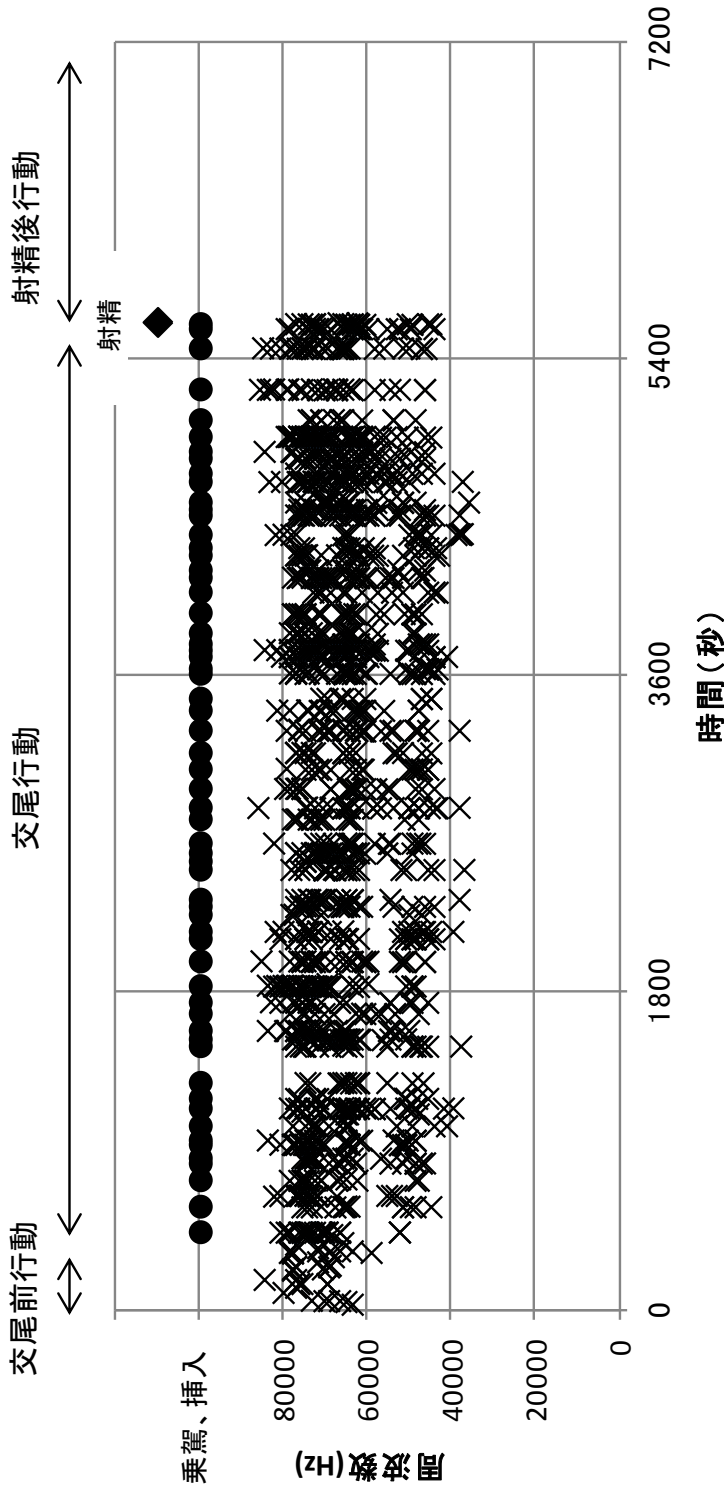


図 2・14 IVCS 系マウスの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声周波数の時間変動

図中の横軸は時間を表し、縦軸は発声周波数を表す。時間軸は、雌を観察ケージに導入した時を基準とした。図中の×印は発声周波数を表し、●印は、交尾行動が観察されたことを、◆印は射精を表している。  
観察ケージに雌を導入と同時に、40～80kHzの超音波発声が観察された。発声は、射精まで断続的に観察された。射精後 11 分間は、発声は観察されなかった。



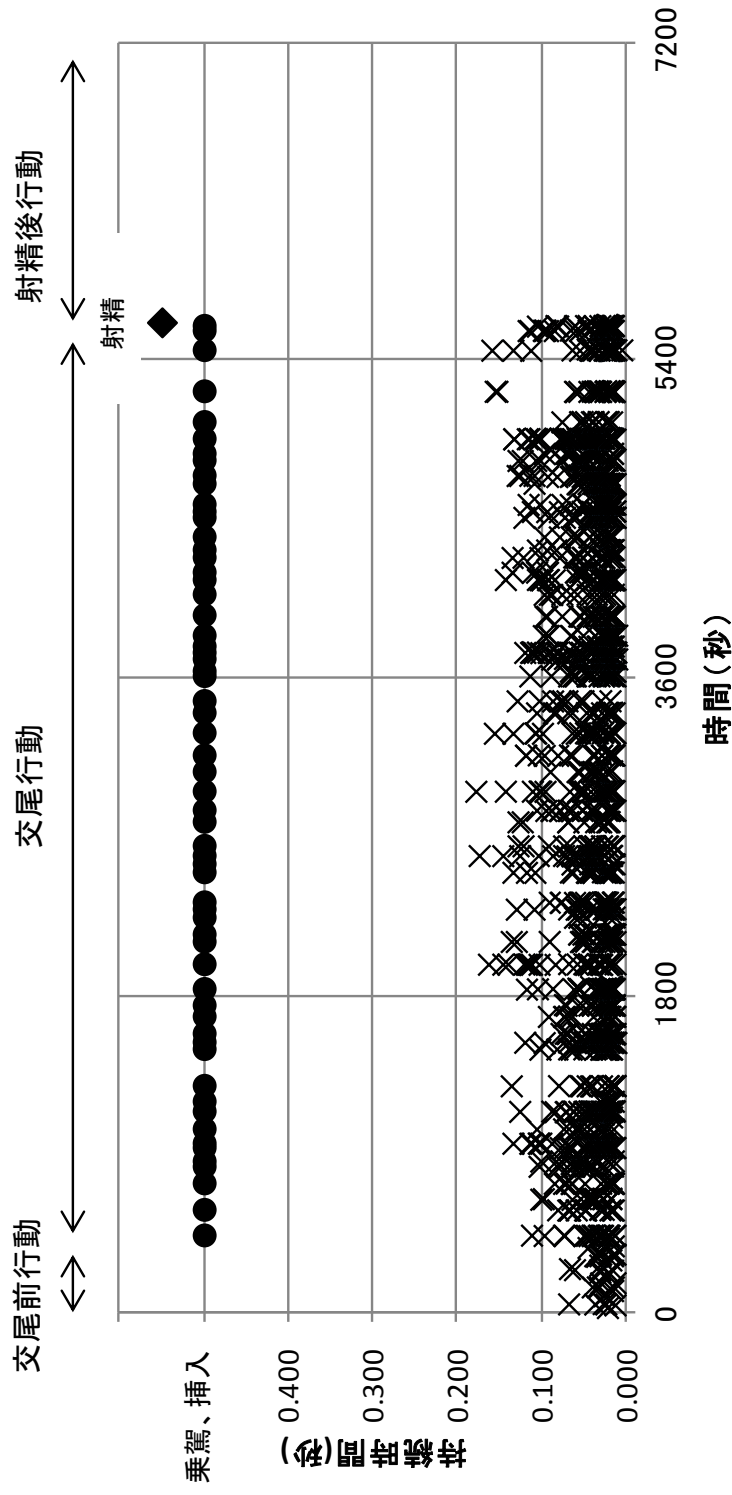


図 2・15 IVCS 系マウスの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間の時間変動

図中の横軸は時間を表し、縦軸は発声持続時間を表す。時間軸は、雌を観察ケージに導入した時を基準とした。図中の×印は発声持続時間を表し、●印は、交尾行動が観察されたことを、◆印は射精を表している。  
 観察ケージに雌を導入と同時に、発声持続時間が 0.2 秒以下の超音波発声が観察された。発声は、射精まで断続的に観察された。射精後は、発声が観察されなくなった。

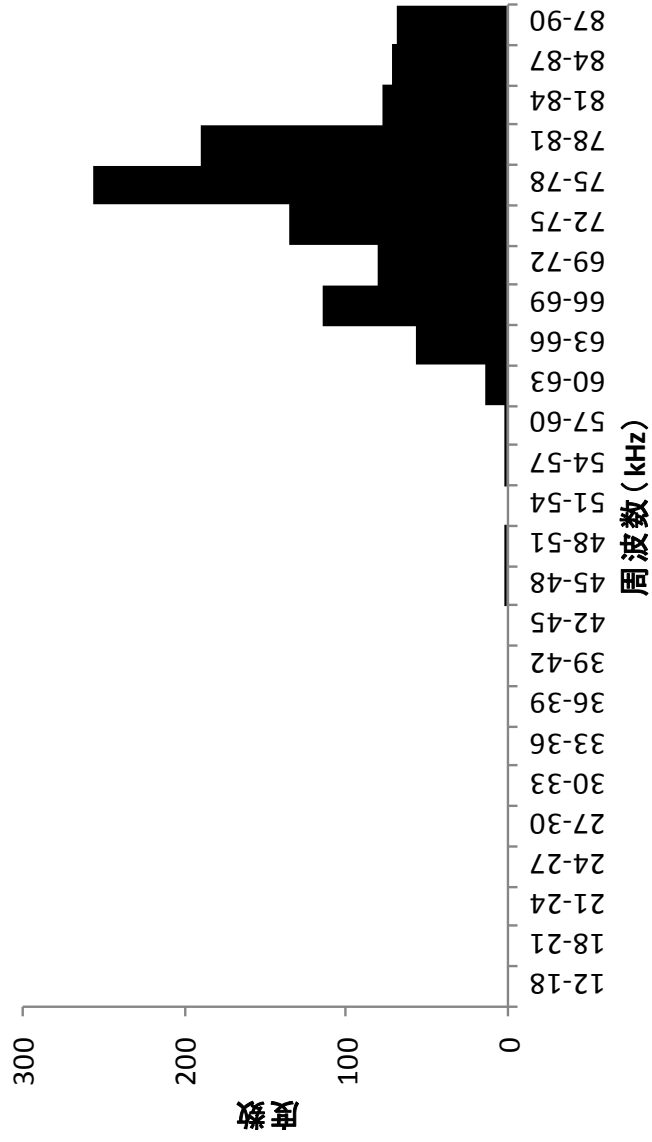


図 2.16 IVCS 系マウスの交尾前行動に伴う発声周波数の度数分布

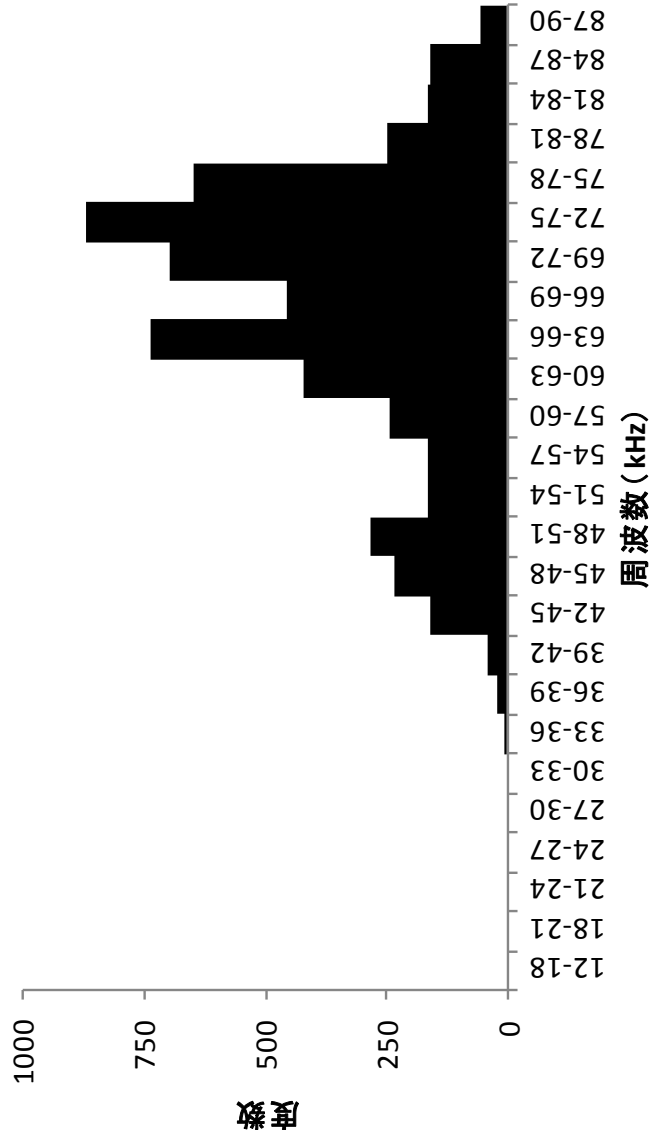


図 2・17 IVCS 系マウスの交尾行動に伴う発声周波数の度数分布

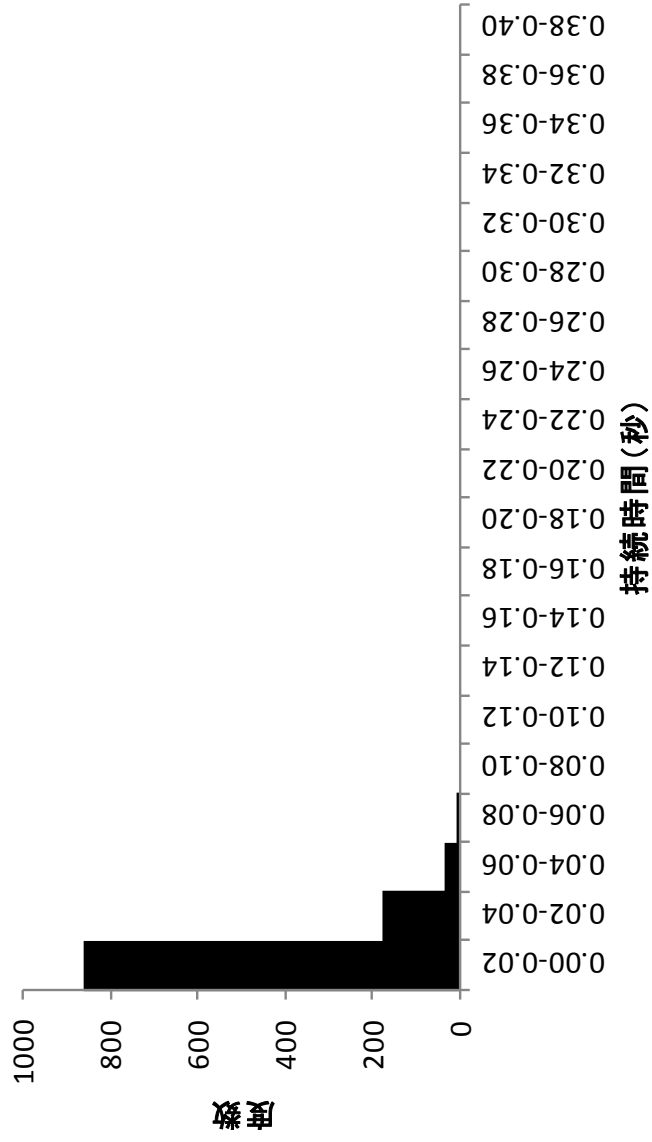


図 2.18 IVCS 系マウスの交尾前行動に伴う発声持続時間の度数分布

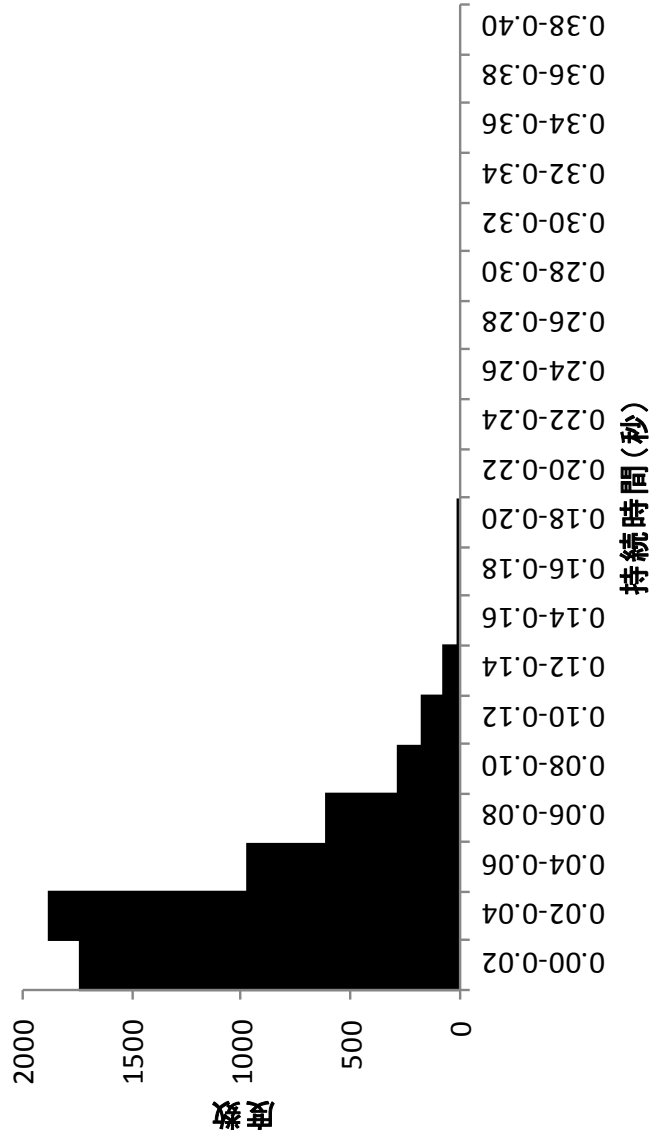


図 2・19 IVCS 系マウスの交尾行動に伴う発声持続時間の度数分布

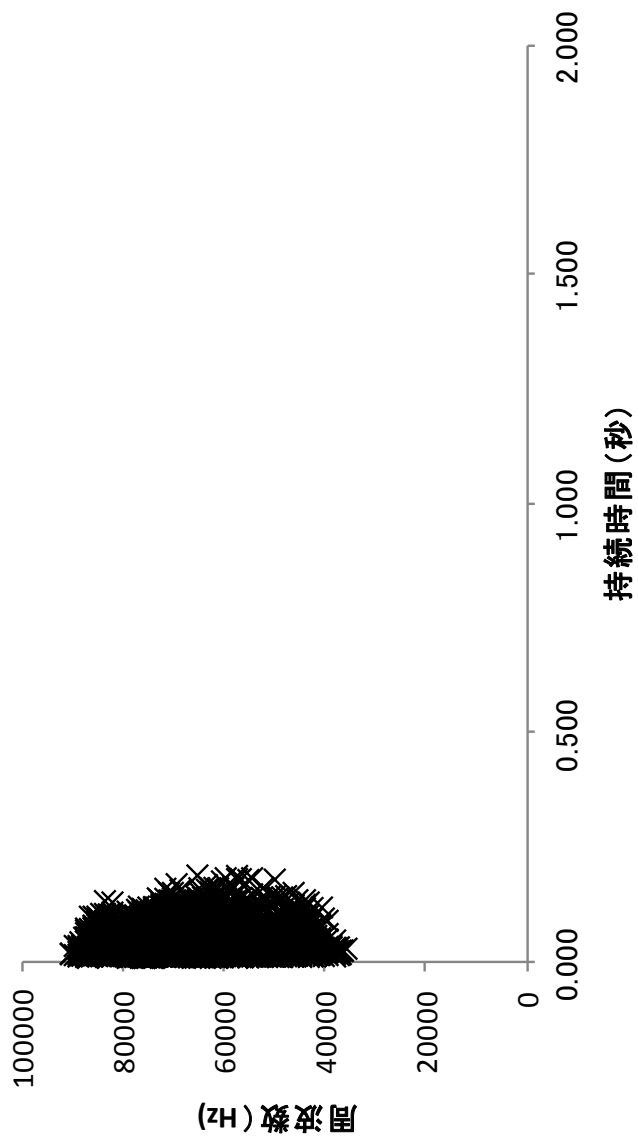


図 2・20 IVCS 系マウスの交尾行動に伴う発声持続時間と発声周波数との関係

図中の横軸は発声持続時間を表し、横軸は発声周波数（中央値）を表す。図中の×印は射精前に観察された発声を表す。射精前に観察される発声は、持続時間が 0.2 秒より短く、その周波数は、40kHz から 80kHz に分布していることが読み取れた。

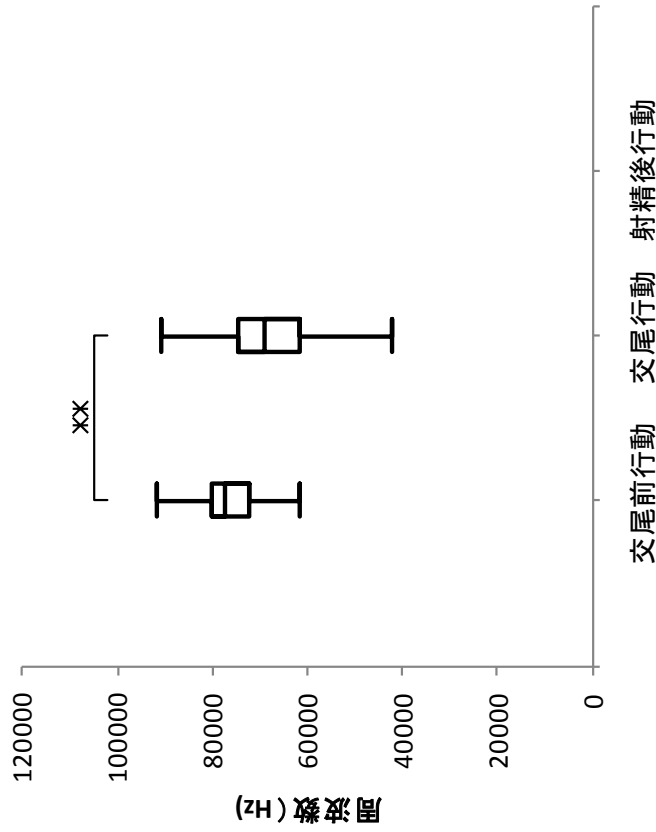


図 2・21 IVCS 系マウスの交尾前行動、交尾行動および射精後行動における発声周波数の比較

IVCS 系マウスの交尾前行動と交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声周波数範囲を示す。  
 交尾前行動で観察された発声周波数は  $77 \pm 7\text{kHz}$  (n : 1080)、交尾行動では  $67 \pm 11\text{kHz}$  (n : 5785) であった。射精後行動の発声は観察されなかった。交尾前行動と交尾行動の発声周波数の間に有意差が認められた ( $p < 0.01$ , Tukey's test)。

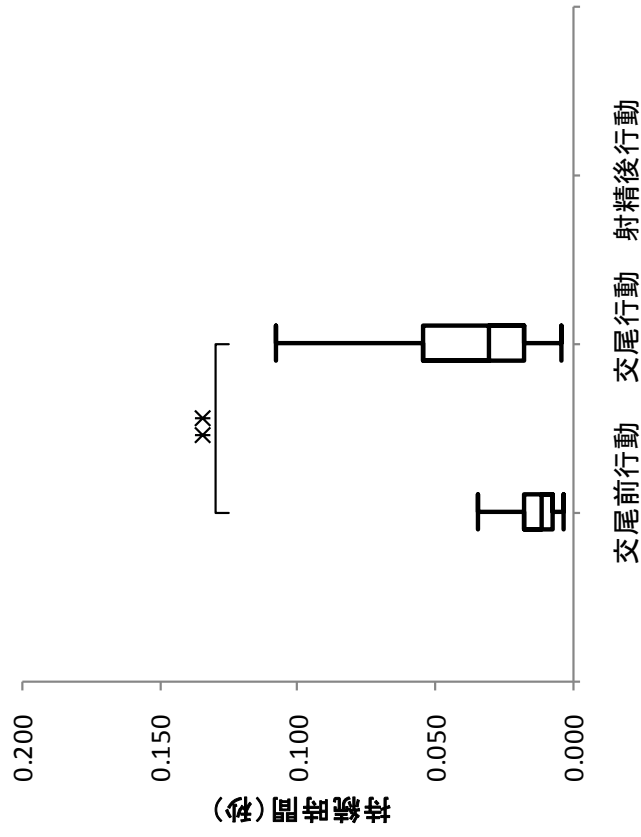


図 2-22 IVCS 系マウスの交尾前行動、交尾行動および射精後行動における発声持続時間の比較

IVCS 系マウスの交尾前行動と交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声持続時間を示す。交尾前行動で観察された発声周波数は  $0.014 \pm 0.011$  秒 ( $n : 1080$ )、交尾行動では  $0.039 \pm 0.029$  秒 ( $n : 5785$ ) であった。射精後行動の発声は観察されなかった。交尾前行動と交尾行動の発声持続時間の相互間で有意差が認められた ( $p < 0.01$ , Tukey's test)。



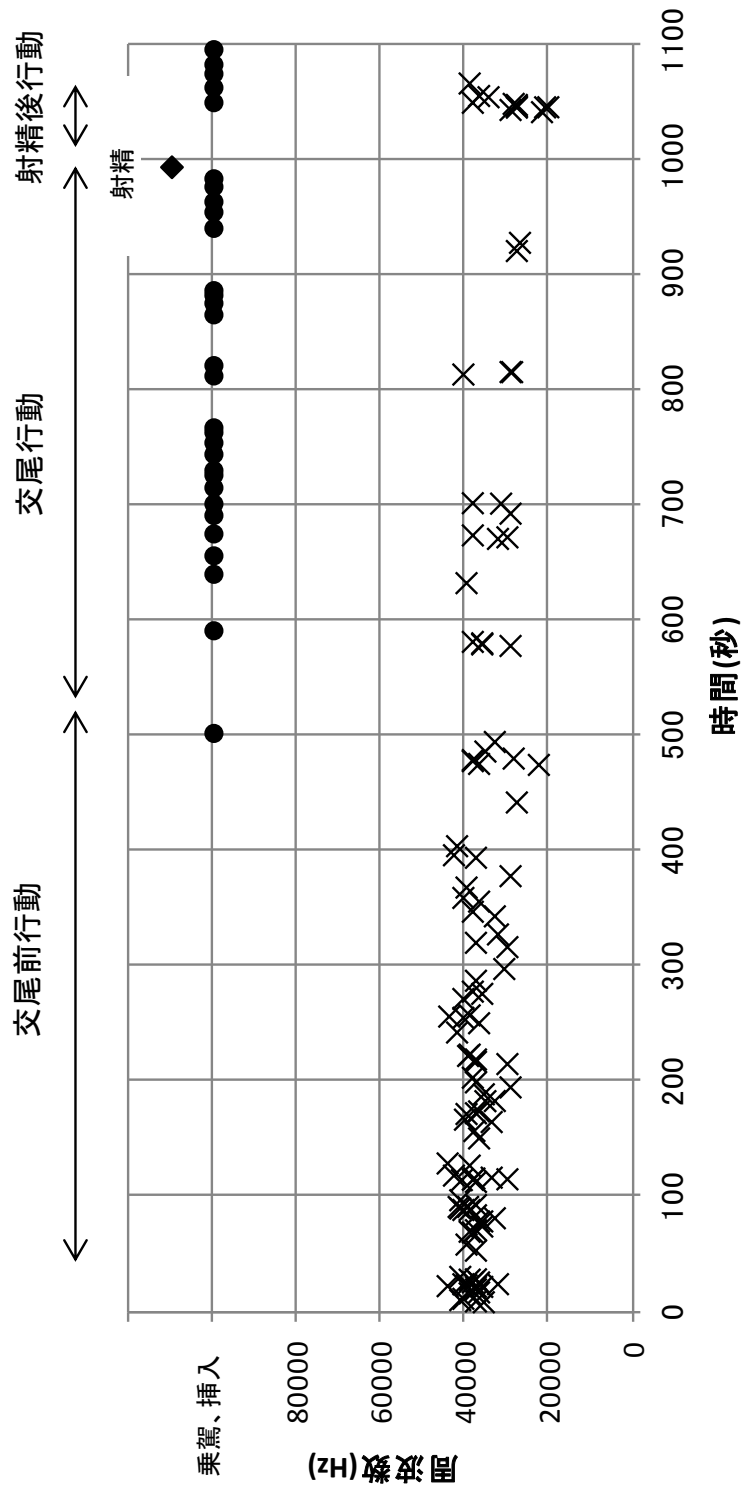


図 2・23 シリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声周波数の時間変動

図中の横軸は時間を表し、縦軸は発声周波数を表す。時間軸は、雌を観察ケージに導入した時を基準とした。図中の×印は発声周波数を表し、●印は、交尾行動が観察されたことを、◆印は射精を表している。  
観察ケージに雌を導入と同時に、20～40kHzの超音波発声が観察された。発声は、射精まで断続的に観察された。射精後行動でも、20～40kHzの発声が観察された。

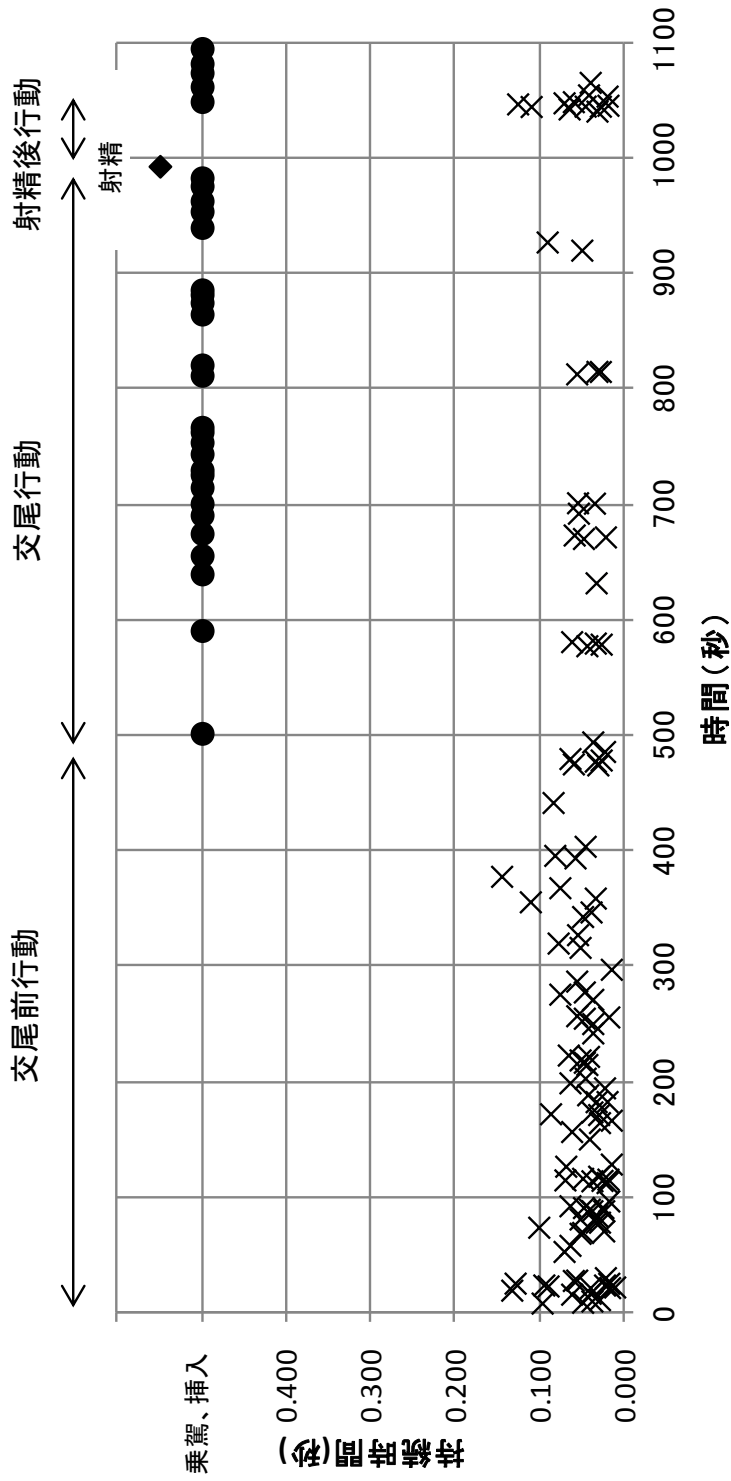


図 2・24 シリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間の時間変動

図中の横軸は時間を表し、縦軸は発声持続時間を表す。時間軸は、雌を観察ケージに導入した時を基準とした。図中の×印は発声持続時間を表し、●印は、交尾行動が観察されたことを、◆印は射精を表している。  
観察ケージに雌を導入と同時に、発声持続時間が 0.1 秒以下の超音波発声が観察された。発声は、射精まで断続的に観察された。射精後も、発声が観察された。

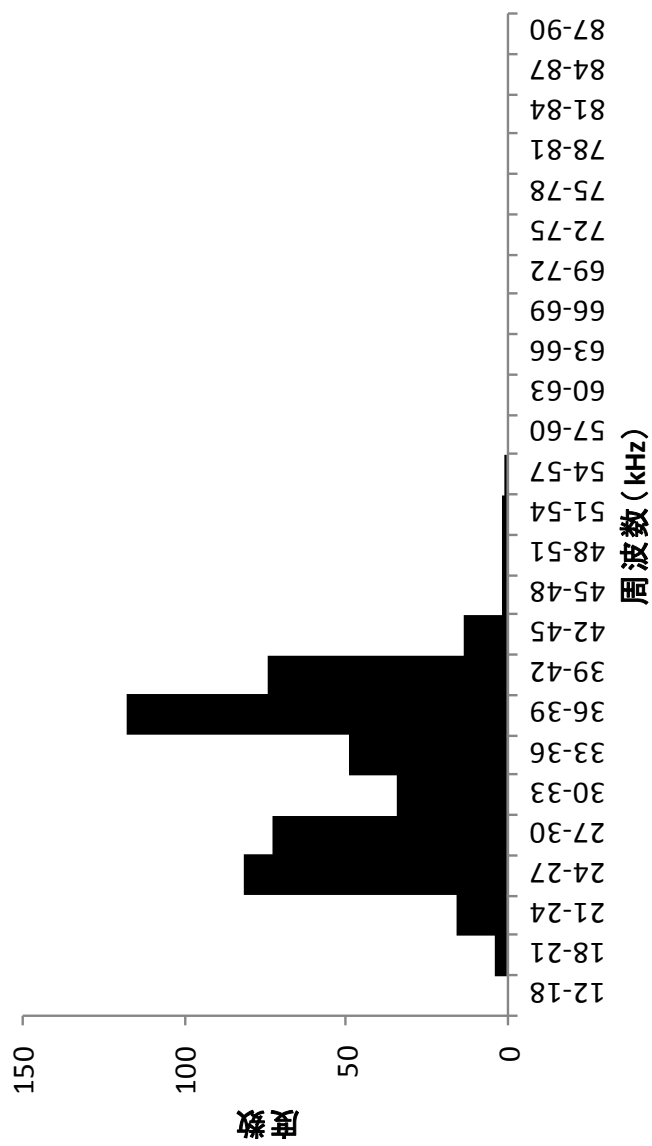


図 2・25 シリアンハムスターの交尾前行動における発声周波数の度数分布

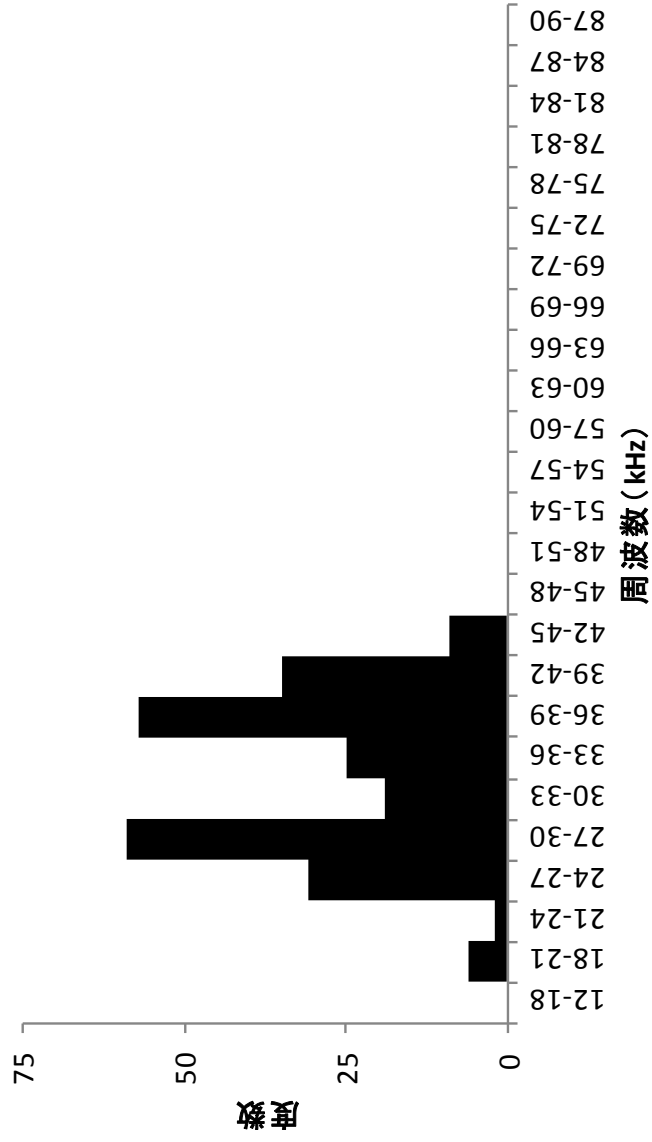


図 2・26 シリアンハムスターの交尾行動における発声周波数の度数分布

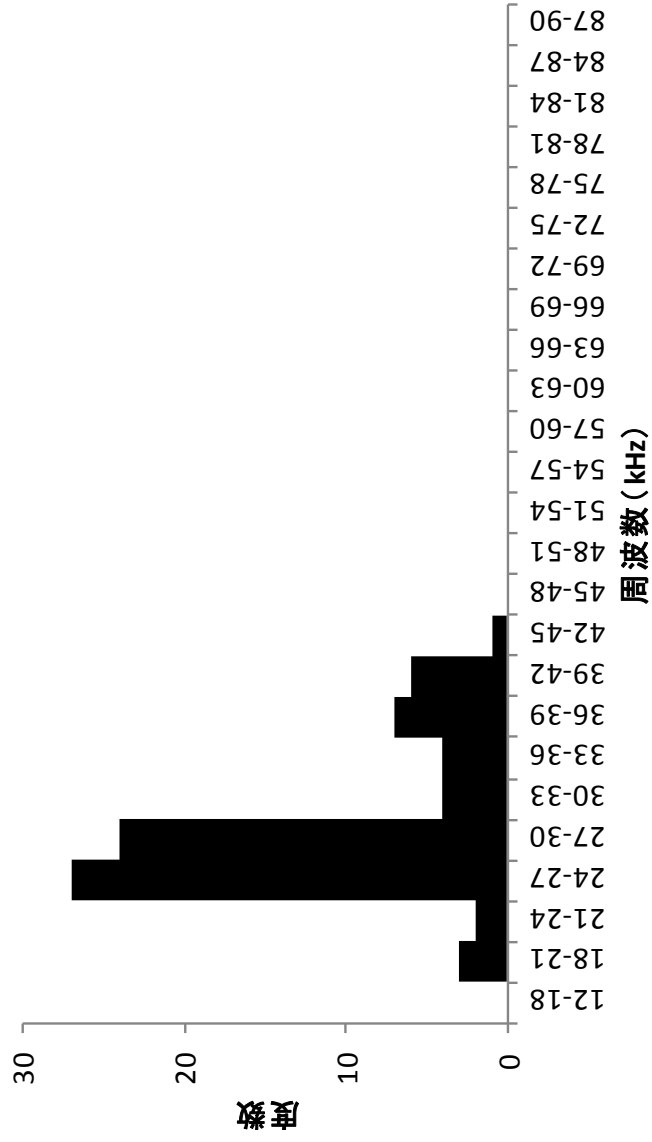


図 2・27 シリアンハムスターの射精後行動における発声周波数の度数分布

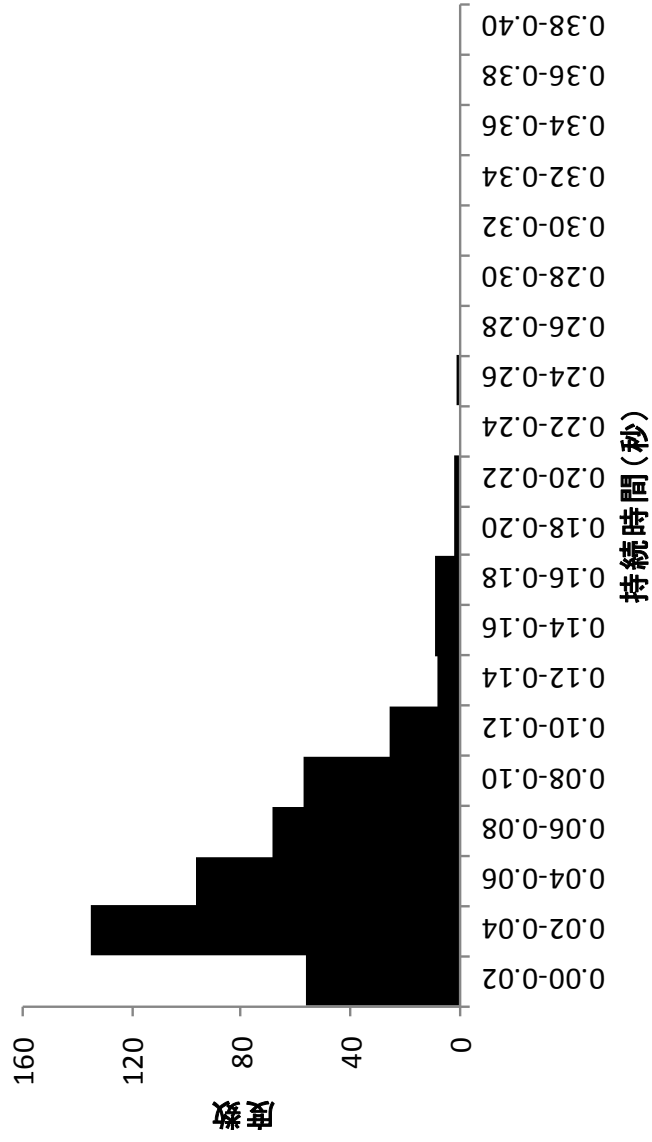


図 2・28 シリアンハムスターの交尾前行動における発声持続時間の度数分布

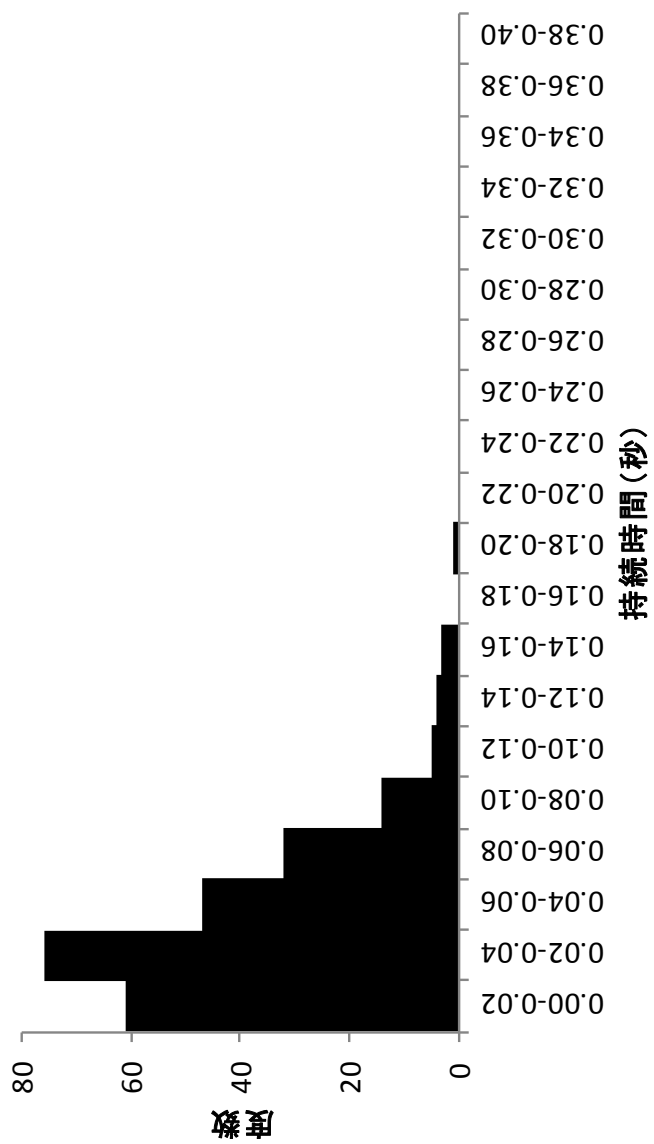


図 2・29 シリアンハムスターの交尾行動における発声持続時間の度数分布

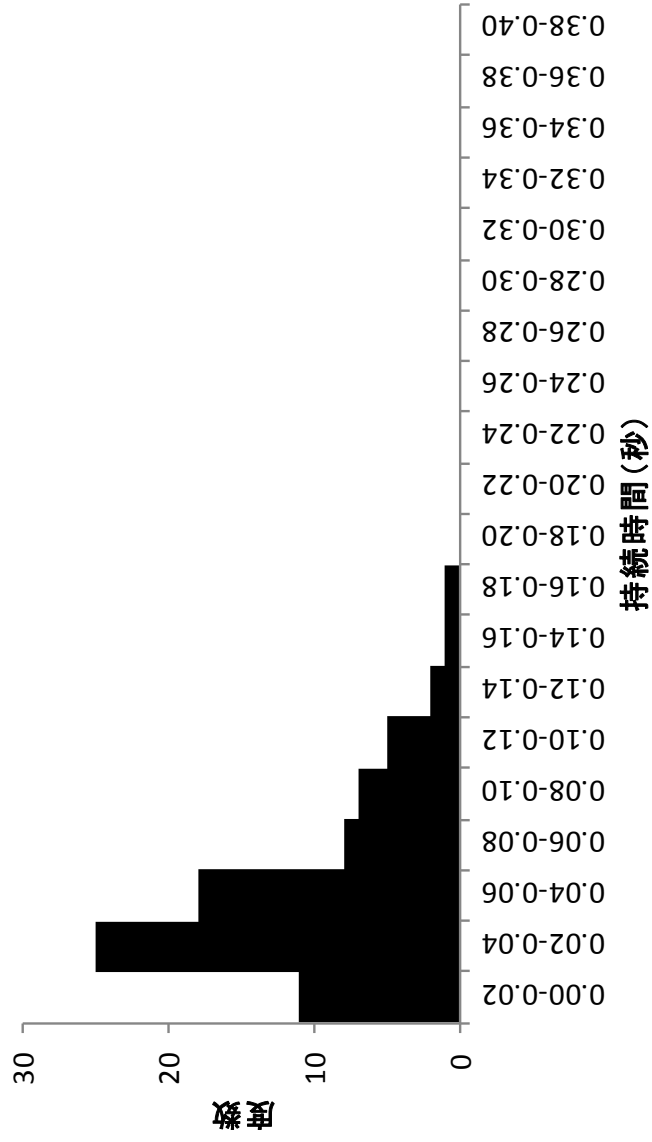


図 2・30 シリアンハムスターの射精後行動における発声持続時間の度数分布



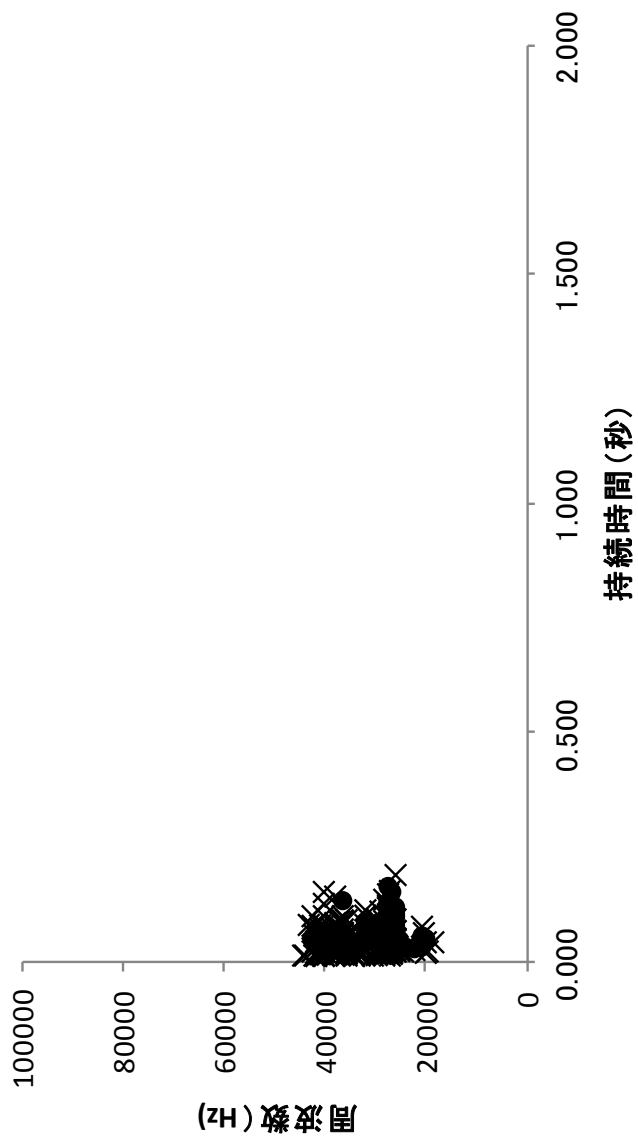


図 2・31 シリアンハムスターの交尾行動に伴う発声持続時間と発声周波数の関係

図中の横軸は発声持続時間を表し、横軸は発声周波数（中央値）を表す。図中の×印は射精前に観察された発声を表す。射精前に観察される発声は、持続時間が0.2秒より短く、その周波数は、20kHzから60kHzに分布していることが読み取れた。

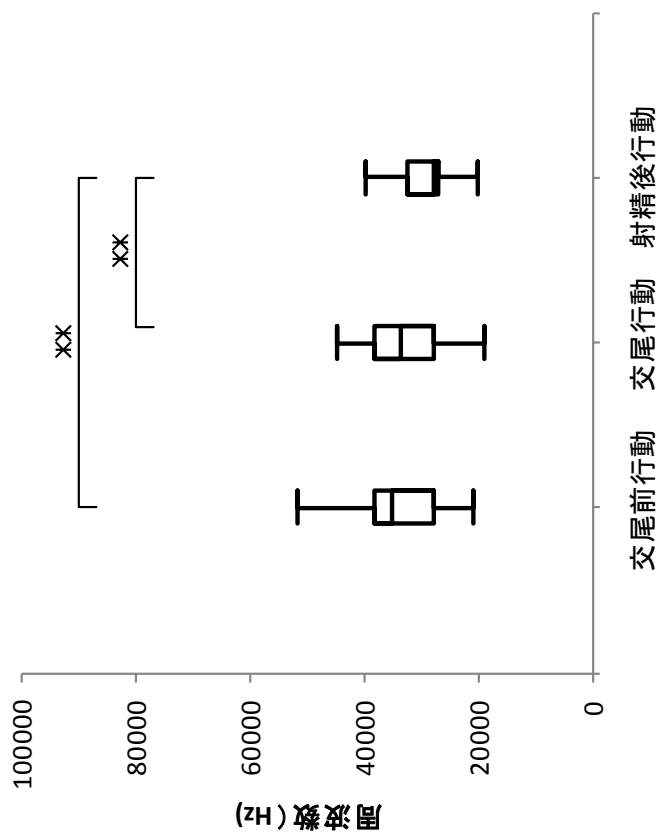


図 2・32 シリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声周波数の比較

シリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声周波数範囲を示す。  
 交尾前行動で観察された発声周波数は 34 ± 6kHz (n : 471)、交尾行動では 33 ± 6kHz (n : 243)、射精後行動では 30 ± 5kHz (n : 78) であった。交尾前行動と射精後行動および交尾行動と射精後行動の発声周波数の間に有意差が認められた (p<0.01、Tukey's test)。

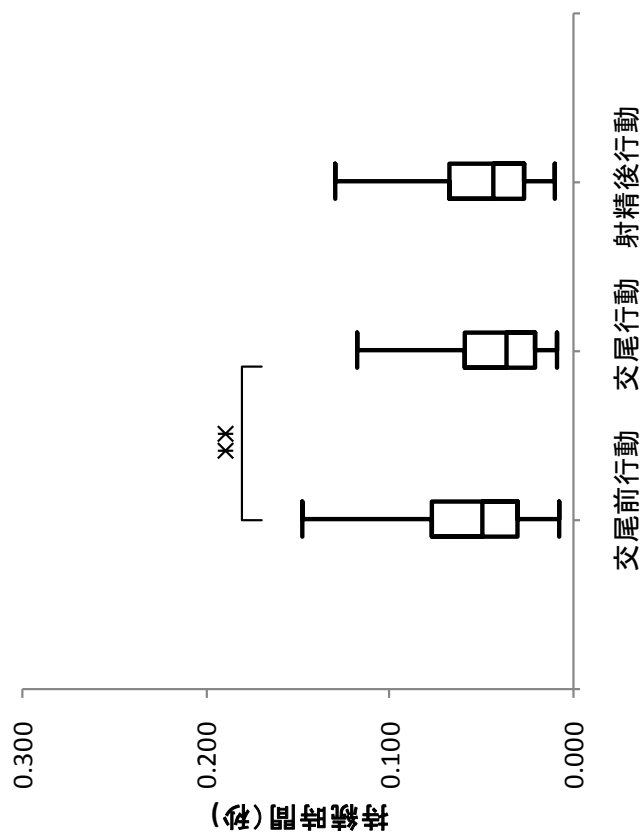


図 2・33 シリアンハムスターの交尾前行動、交尾行動および射精後行動に伴う発声持続時間の比較

シリアンハムスターの交尾前行動と交尾行動および射精後行動に伴って観察された発声持続時間の範囲を示す。交尾前行動で観察された発声持続時間は  $0.058 \pm 0.039$  秒 ( $n : 471$ )、交尾行動では  $0.044 \pm 0.031$  秒 ( $n : 243$ )、射精後行動では  $0.052 \pm 0.034$  秒 ( $n : 78$ ) であった。交尾前行動と交尾行動の発声持続時間の間に有意差が認められた ( $p < 0.01$ , Tukey's test)。

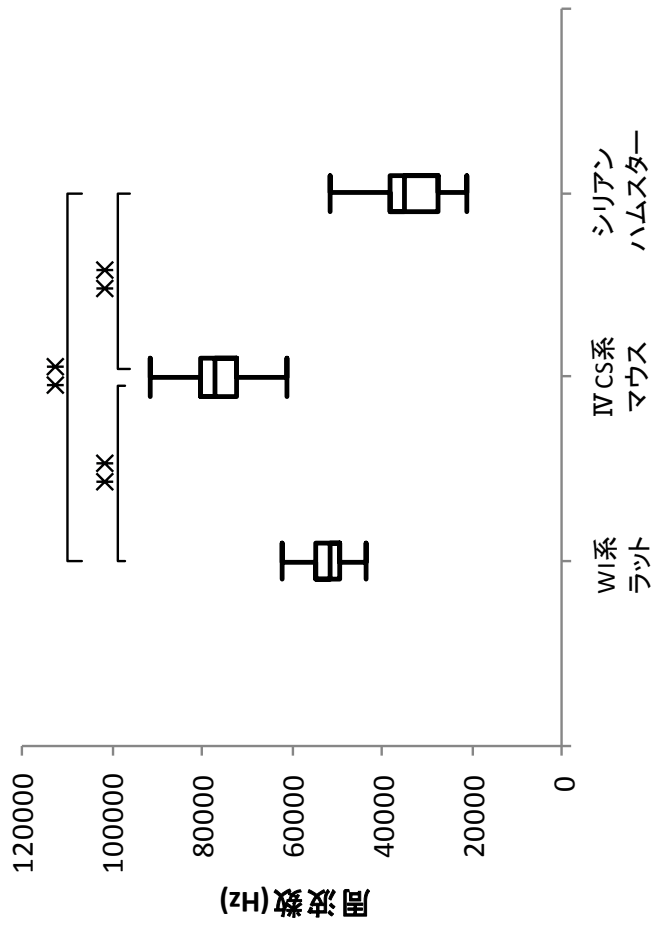


図 2・34 WinsterImamich 系ラット、IVCS 系マウスおよびシリアンハムスターの交尾前行動に伴って観察された発声周波数比較

Wistar-Imamichi 系ラットが射精前に発した声の周波数の平均値は  $53 \pm 5 \text{kHz}$  ( $n : 564$ ) であった。IVCS 系マウスは  $77 \pm 7 \text{kHz}$  ( $n : 1080$ )、シリアンハムスターは  $34 \pm 6 \text{kHz}$  ( $n : 471$ ) であった。Wistar-Imamichi 系ラットと IVCS 系マウス、IVCS 系マウスとシリアンハムスター、Wistar-Imamichi 系ラットとシリアンハムスターの発声周波数の間には、有意差が認められた ( $P < 0.01$ , Tukey's test)。

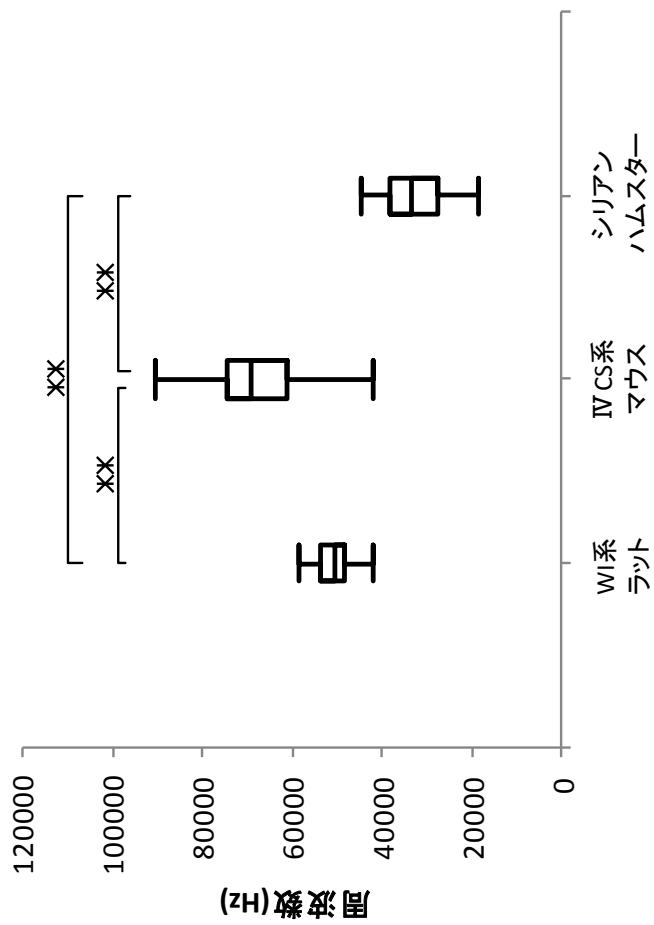


図 2・35 Wistar-Imamichi 系ラット、IVCS 系マウスおよびシリアンハムスターの交尾行動に伴って観察された発声周波数比較

Wistar-Imamichi 系ラットが射精前に発した声の周波数の平均値は  $51 \pm 3\text{kHz}$  ( $n : 185$ ) であった。IVCS 系マウスは  $67 \pm 11\text{kHz}$  ( $n : 5785$ )、シリアンハムスターは  $33 \pm 6\text{kHz}$  ( $n : 243$ ) であった。Wistar-Imamichi 系ラットと IVCS 系マウス、IVCS 系マウスとシリアンハムスター、Wistar-Imamichi 系ラットとシリアンハムスターの発声周波数の間には、有意差が認められた ( $P < 0.01$ , Tukey's test)。

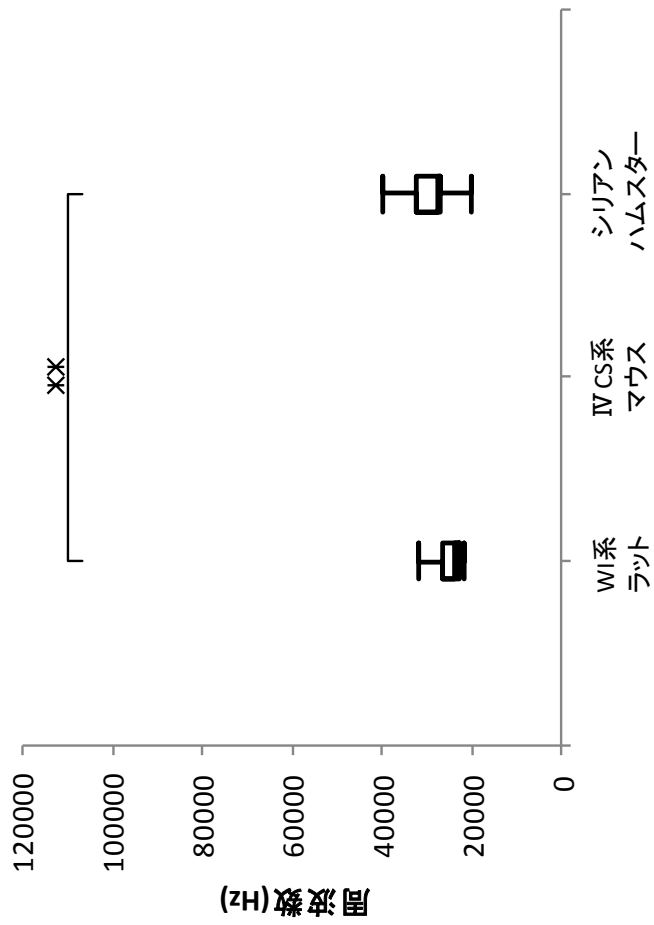


図 2・36 WinsterImamich 系ラット、IVCS 系マウスおよびシリアンハムスターの射精後行動に伴って観察された発声周波数比較

Wistar-Imamichi 系ラットが射精前に発した声の周波数の平均値は  $26 \pm 4\text{kHz}$  (n : 465) であった。シリアンハムスターは  $30 \pm 5\text{kHz}$  (n : 78) であった。Wistar-Imamichi 系ラットとシリアンハムスターの発声周波数の間には、有意差が認められた ( $P < 0.01$ , Tukey's test)。

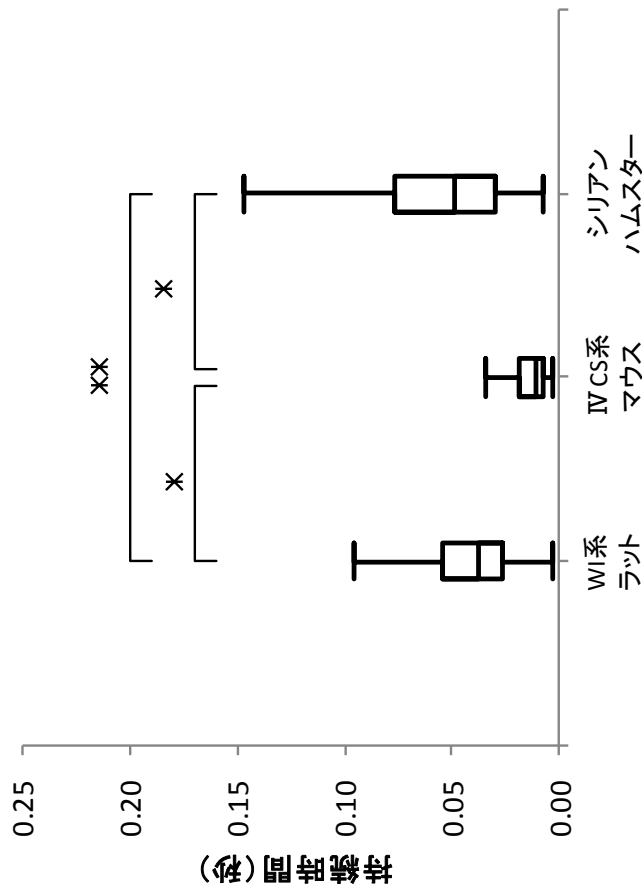


図 2・37 WinsterImamichi 系ラットとIVCS 系マウスとシリアンハムスターの交尾前行動に観察された発声持続時間の比較

Wistar-Imamichi 系ラットが射精前に発した声の持続時間の平均値は  $0.041 \pm 0.022$  秒 ( $n : 564$ ) であった。IVCS 系マウスは  $0.014 \pm 0.011$  秒 ( $n : 1080$ )、シリアンハムスターは  $0.058 \pm 0.039$  秒 ( $n : 471$ ) であった。Wistar-Imamichi 系ラットとシリアンハムスターおよびIVCS 系マウスとシリアンハムスターの発声周波数の間には、有意差が認められた ( $P < 0.01$ , Tukey's test)。

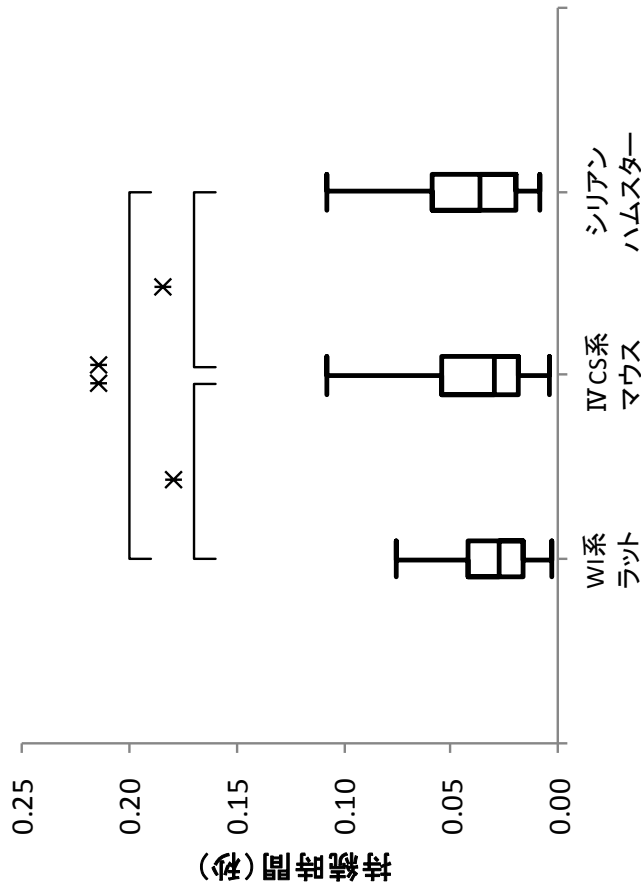


図 2・38 WinsterImamichi 系ラットとIVCS 系マウスとシリアンハムスターの交尾行動に観察された発声持続時間の比較

Wistar-Imamichi 系ラットが射精前に発した声の持続時間の平均値は  $0.033 \pm 0.029$  秒 ( $n: 185$ ) であった。IVCS 系マウスは  $0.039 \pm 0.029$  秒 ( $n: 5785$ )、シリアンハムスターは  $0.044 \pm 0.031$  秒 ( $n: 243$ ) であった。Wistar-Imamichi 系ラットとシリアンハムスターの発声持続時間の間で有意差が認められた ( $P < 0.01$ , Tukey's test)。Wistar-Imamichi 系ラットとIVCS 系マウス、およびIVCS 系マウスとシリアンハムスターの発声持続時間の間には、有意差が認められた ( $P < 0.05$ , Tukey's test)。



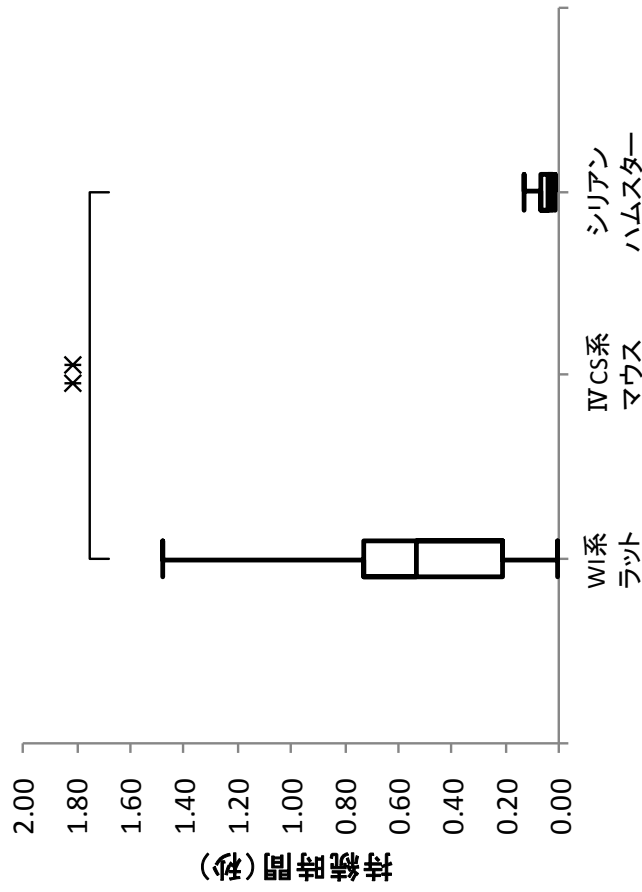


図 2・39 WinsterImamich 系ラットとIVCS系マウスとシリアンハムスターの射精後行動に観察された発声持続時間の比較

Wistar-Imamichi 系ラットが射精前に発した声の持続時間の平均値は  $0.531 \pm 0.361$  秒 ( $n : 465$ ) であった。シリアンハムスターは  $0.052 \pm 0.034$  秒 ( $n : 78$ ) であった。Wistar-Imamichi 系ラットとシリアンハムスターの発声持続時間の間には、有意差が認められた ( $P < 0.01$ , Tukey's test)。

## 参考文献

- [1] Hull, E.M., Rodríguez-Manzo G. (2009). 1. Male sexual behavior. *Hormones, Brain and Behavior*, 2nd edition, 5-65. *Academic Press*, San Diego
  
- [2] Hull, E.M, Dominguez, J. M. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior* 52, 45–55
  
- [3] Barfield R.J., Geyer L.A. (1975). The ultrasonic postejaculatory vocalization and the postejaculatory refractory period of the male rat. *J Comp Physiol Psychol.* 88, 723-374.
  
- [4] Mosig, D.W., Dewsbury, D.A. (1976). Studies of the copulatory behavior of house mice (*Mus musculus*). *Behav. Biol.* 16, 463–473.
  
- [5] Beach, F.A.; Rabedeau, R.G. (1959). Sexual exhaustion and recovery in the male hamster. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 52, 56-61.
  
- [6] Rodríguez-Manzo G., Fernández-Guasti A. (1994). Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents. *Behavioural Brain Research* 62, 127–134.

- [7] White N.R., Cagiano R., Moises A.U., Barfield R.J. (1990). Changes in mating vocalizations over the ejaculatory series in rats (*Rattus norvegicus*). *J. Comp. Psychol.* 104, 255-62.
- [8] Geyer, L.A., & Barfield, R.J. (1978). Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats: I. Treatment of females. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*, 92, 438-446 .
- [9] Burgdorf J., Kroes R.A., Moskal J.R., Pfaus J.G., Brudzynski S.M., Panksepp J. (2008). Ultrasonic vocalizations of rats (*Rattus norvegicus*) during mating, play, and aggression: Behavioral concomitants, relationship to reward, and self-administration of playback. *J. Comp. Psychol.* 122, 357-67.
- [10] Blumberg, M.S., Alberts, J.R. (1991) On the significance of similarities between ultrasonic vocalizations of infant and adult, rats. *Neuroscie & behavioral Reviews*, 15, 383-390.
- [11] Barfield, R.J., Geyer, L.A. (1972). Sexual behavior: ultrasonic postejaculatory song of the male rat. *Science*. 23, 1349-1350.
- [12] Dizinno, G. Whitney, G. (1977). Androgen influence on male mouse ultrasounds during courtship. *Hormolees & Behavior* 8, 188-192

- [13] Maggio, J.C., Maggio, J.H., Whitney, G. (1983). Experience-based vocalization of male mice to female chemosignals. *Physiology & Behavior* 31, 269-272.
- [14] Warburton, V.L., Sales, G.D., Milligan, S.R. (1989). The emission and elicitation of mouse ultrasonic vocalizations: The effects of age, sex and gonadal status. *Physiology & Behavior* 45, 41-47.
- [15] Pierce, J.D., Sawrey, Jr.D.K., Dewsbury, D.A. (1989). A Comparative Study of Rodent Ultrasonic Vocalizations during Copulation. *Behavioral and Neural Biology* 51, 211-221.
- [16] Geyer, L.A., Barfield, R.J., McIntosh, T.K. (1978). Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats: II. Treatment of males. *J. Comparative and Physiological Psychology*, 92, 447-456.
- [17] Geyer, L.A., McIntosh, T.K., Barfield, R.J. (1978). Effects of ultrasonic vocalization and male's urine on female rat readiness to mate. *J. Comparative and Physiological Psychology*, 92, 457-462.
- [18] Adler, N., Anisko, J.(1979). Behavior of Communicating: An Analysis of the 22kHz Call of Rats(*Rattus Norvegicus*). *Amer. Zool.* 19, 493-508.

- [19] Parrott, R.F. (1976). Effect of castration on sexual arousal in the rat, determined from records of post-ejaculation ultrasonic vocalization. *Physiology & Behavior*, 16, 689-692
- [20] White, N. R., Gonzales, R. N., & Barfield. R. J.(1993). Do vocalizations of the male rat elicit calling from the female? *Behavioral & Neural Biology*, 59, 76~78.
- [21] 社団法人日本実験動物協会 編 (2004). 実験動物の技術と応用. 34-39. 株式会社アドスリー, 東京
- [22] Saito, T.R., Motomura N., Taniguchi K., Hokao R., Arkin A., Takahashi K.W., Sato N.L. (1996). Effect of cage size on sexual behavior pattern in male rats. *Contemp Top Lab Anim Sci*. 35, 80-82.
- [23] Thomas, D.A., Barfield, R.J., (1985). Ultrasonic vocalization of the female rat (*Rattus norvegicus*) during mating. *Animal behowior*, 33, 720-725.
- [24] White, N.R., Colona, L.C., Barfield, (1991). Sensory cues that elicit ultrasonic vocalizations in female rats (*Rattus norvegicus*). *Behavioral and Neural Biology*, 55, 154-165.

- [25] Robert, L.H. (1975). Evidence for the laryngeal source of ultrasonic and audible cries rodent. *J. Zool.(Lond.)* 175, 243-257.
- [26] White, N.R., Barfield, R.J., (1987). Role of the ultrasonic vocalization of the female rat (*Rattus norvegicus*) in sexual behavior. *Journal of Comparative Psychology*, 101, 73-81.
- [27] Sipos, M.L., Kerchner, M., Nyby, J. G. (1992). An ephemeral sex pheromone in the urine of female house mice (*Mus domesticus*). *Behavioral & Neural Biology*, 58, 138-143.
- [28] Pomerrantz, S.M., Nunez, A.A., Bean, N.J. (1983). Female behavior is affected by male ultrasonic vocalizations in house mice. *Physiology & Behavior*, 31, 91-96.
- [29] 富原一哉, 近藤保彦. (1997). ラット・マウスにおける超音波コミュニケーションの研究技法の動向. *Tsukuba Psychological Research* 19, 147-154.
- [30] Blumberg, M.S. Albert, J.R. (1990). Ultrasonic vocalization by rat pups in cold: An acoustic by-product of laryngeal braking? *Behav. Neurosci.* 104, 808-817

- [31] Saito, T.R., Hokao, R., Terada, M., Takahashi, K.W., Tsubone, H., Sugano, S.(2001). The telemetric monitoring of heart rate during copulatory behavior in the male rat. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 28, 108-113.

## 第3章

交尾行動によるラット射精後の超音波発声における雌（射精後）の存在

### 3-1 緒言

成熟雄ラットの性行動は交尾行動シリーズ、すなわち交尾前行動、交尾行動および射精後行動で構成されている[1, 2]。交尾前行動では、先ず雄が発情雌の性器周辺の匂いを嗅ぐ行動（sniffing）に始まり、雌の勧誘行動（solicitation）、次いで雄の追尾行動が連続して観察される。交尾行動では、乗駕（mount）、挿入（intromission）が繰り返し観察され、やがて射精（ejaculation）に至る。射精後行動では、雄は虚脱状態となり性的に不活性状態になり、雌に関心を示さない性的不応期（refractory period）と呼ばれる状態が次の交尾行動シリーズの開始までみられる[1, 2]。交尾前行動では、雄（雌）の超音波発声は、雌（雄）の性行動の促進に関与する双方向のコミュニケーションツールと考えられている[3, 4]。射精後の性的不応期では、発声周波数 22kHz で発声持続時間の長い超音波発声が報告されている[5]。この発声には、雄が交尾を再開する準備ができるまで雌の性行動を抑制する desist-contact signal としての機能が示唆されている[5]。しかし、この説を支持する研究成果は得られておらず、ラットの射精後の 22kHz 発声の機能は未だ解明されていない。

本章では、ラットの射精後の 22kHz 発声と雌の存在の関係を検討した。射精後の 22kHz 発声が雌へ向けた信号であるならば、射精後に雄の近くに雌が存在しなければ雄は発声をする必要はなくなるはずである。そこで我々は、射精後直ちに観察ケージから雌を撤去し、射精後の雄の発声の変化を観



察することでこの仮説の検証を行った。

## 3-2 材料および方法

### 3-2-1 供試動物

供試動物は、Wistar-Imamichi 系ラット ((財)動物繁殖研究所、茨城県かすみがうら市) の 9~10 週齢の雄と 7~8 週齢の雌各 8 匹であった。室温  $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、人工照明 14 時間 (消灯 19 時) に設定された環境下で飼育された。飼料には、固型飼料 (日本農産)、飲水には水道水を用い、これを不断給与した。

### 3-2-2 交尾行動観察

射精後の超音波発声の観察は次のように行った。射精後も引き続き雄と同居 (射精後雌群)、および射精後直ちに雌を撤去 (射精後無雌群) する 2 群を設けた。

発情雌の抽出には、膣垢を採取しその変化を観察する方法を用いた [6]。最初に雄を、観察ケージ [7] (透明アクリル樹脂製, 直径 30cm, 高さ 35cm) に収容し、その 5 分後に発情雌を導入した。

### 3-2-3 発声観察方法

交尾行動に伴って発声した全ての音響信号を、1/4 インチの計測用マイクロホンを用いて集音、その信号を高速サウンドボード

(LynxStudioTechnology 社 L22, 米国) を用いてデジタル化し Personal Computer に取り込み、周波数分析ソフトウェア (PHS 社 SpectraPLUS professional, 米国) を用いてハードディスクドライブに記録した。デジタル化する際のサンプリング周波数は 192kHz とし、観察可能な周波数帯域を 20Hz~95kHz とし、発声周波数の中央値 (図 2・1) と発声持続時間を用いて数値化した。

発声周波数は、24kHz(21~27kHz)、30kHz(27~33kHz)、36kHz(33~39kHz)、42kHz(39~45kHz)、48kHz(45~51kHz)、54kHz(51~57kHz)、60kHz(57~63kHz)、66kHz(63~69kHz)、72kHz(69~75kHz)、78kHz(75~81kHz)、84kHz(81~87kHz)および 90kHz(87~93kHz) の 12 階層化した。

#### 3-2-4 統計処理

2 群で観察された超音波発声の周波数に対して、同等性の検定 (two one-sided test) を用いて統計学的検定を行った。

#### 3-3 結果

図 4・1~4 に射精後雌群の交尾行動および射精後の超音波発声の周波数と持続時間を示す。発声の周波数は交尾行動では  $51\pm 3\text{kHz}$ 、射精後では  $26\pm 4\text{kHz}$  であった。発声持続時間は交尾行動では  $0.033\pm 0.029$  秒、射精後では  $0.531\pm 0.361$  秒であった。射精前後に観察された発声の周波数 (図 4・5) と発声持続時間 (図 4・6) に有意差が認められた ( $p<0.01$ , ANOVA)。

図 4・7~10 に射精後無雌群の交尾行動および射精後の超音波発声の周波

数と持続時間を示す。発声の周波数は交尾行動では  $50\pm 6\text{kHz}$ 、射精後では  $25\pm 2\text{kHz}$  であった。発声持続時間は交尾行動では  $0.072\pm 0.072$  秒、射精後では  $0.704\pm 0.449$  秒であった。射精前後に観察された発声の周波数 (図 4・11) と発声持続時間 (図 4・12) に有意差が認められた ( $p<0.01$ , ANOVA)。

図 4・13 に射精後雌群と射精後無雌群の交尾行動における発声周波数の同等性の検定結果を記す。両者間に同等性が認められた ( $p<0.01$ , two one-sided test)。図 4・14 に射精後雌群と射精後無雌群の射精後における発声周波数の同等性の検定結果を記す。両者間に同等性が認められた ( $p<0.01$ , two one-sided test)。図 4・15 に射精後雌群と射精後無雌群の交尾行動における発声持続時間の同等性の検定結果を記す。両者間に同等性が認められなかった ( $p>0.05$ , two one-sided test)。図 4・16 に射精後雌群と射精後無雌群の射精後における発声持続時間の同等性の検定結果を記す。両者間に同等性が認められなかった ( $p>0.05$ , two one-sided test)。

### 3-4 考察

射精後雌群と射精後無雌群の交尾行動および射精後の超音波発声の周波数は有意水準 1% で同等であると判定されたが、発声の持続時間については同等性は認められなかった。すなわち、両群間に有意差が認められた ( $p<0.001$ , ANOVA)。射精後の発声持続時間の差異については、射精後の雌の存在が影響している可能性が考えられるが、交尾行動における差異については不明である。

射精後の発声には、雌の勧誘行動を抑制する働きがあると考えられている [5]。しかし、本実験では射精後直ちに雌を観察ケージから撤去しても雄の超音波発声を観察された。以上の結果と射精後の発声は雌の行動に影響を

与えない[8]という見解を合わせると、射精後の超音波発声は雌の存在によって誘発される雌に向けたコミュニケーション信号ではないことが示された。

### 3-5 小括

本章では、ラットの射精後の 22kHz 発声と雌の存在の関係を検討した。射精後の 22kHz 発声が雌へ向けた信号であるならば、射精後に雄の近くに雌が存在しなければ雄は発声をする必要はなくなるはずである。そこで我々は、射精後直ちに観察ケージから雌を撤去し、射精後の雄の発声の変化を観察することでこの仮説の検証を行った。その結果、射精後直ちに雌を撤去しても雄の超音波発声を抑止することが出来なかった。このことから、この発声は雌の存在によって誘発される雌に向けたコミュニケーション信号ではないことが示された。

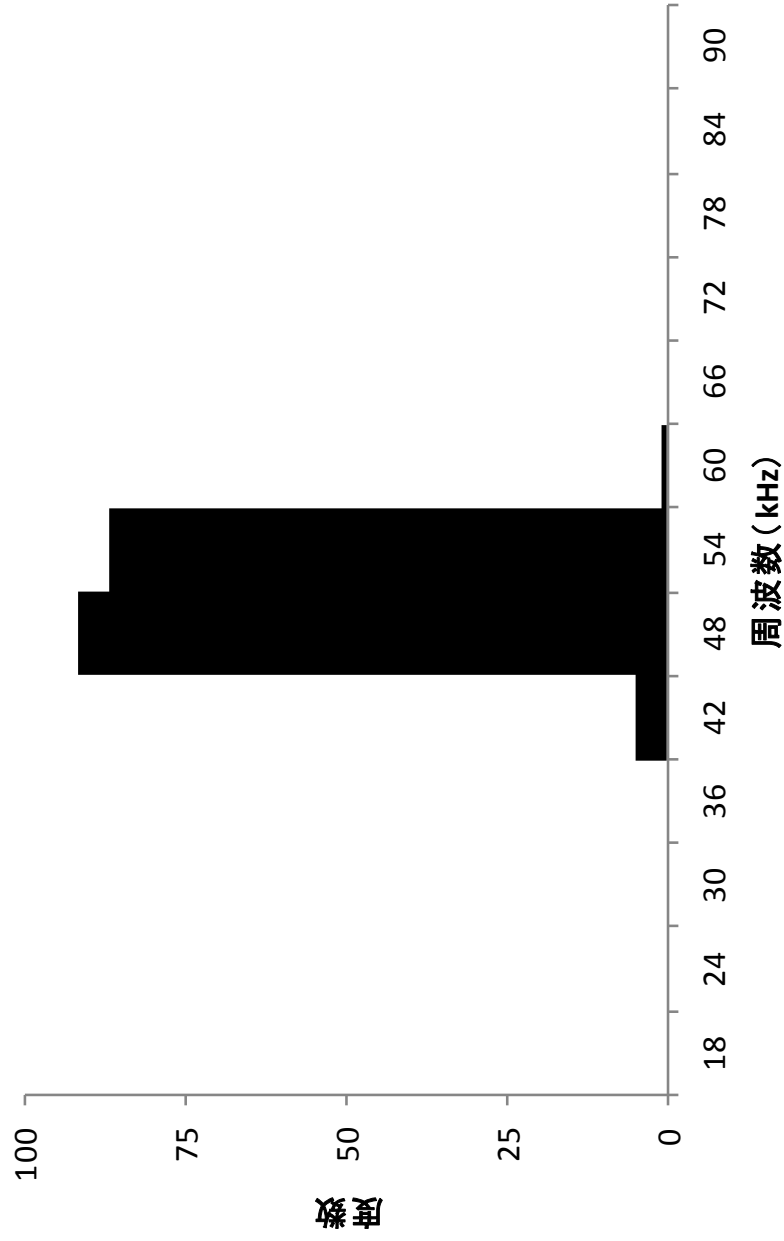


図4・1. 射精後雌群の交尾行動における超音波発声の周波数

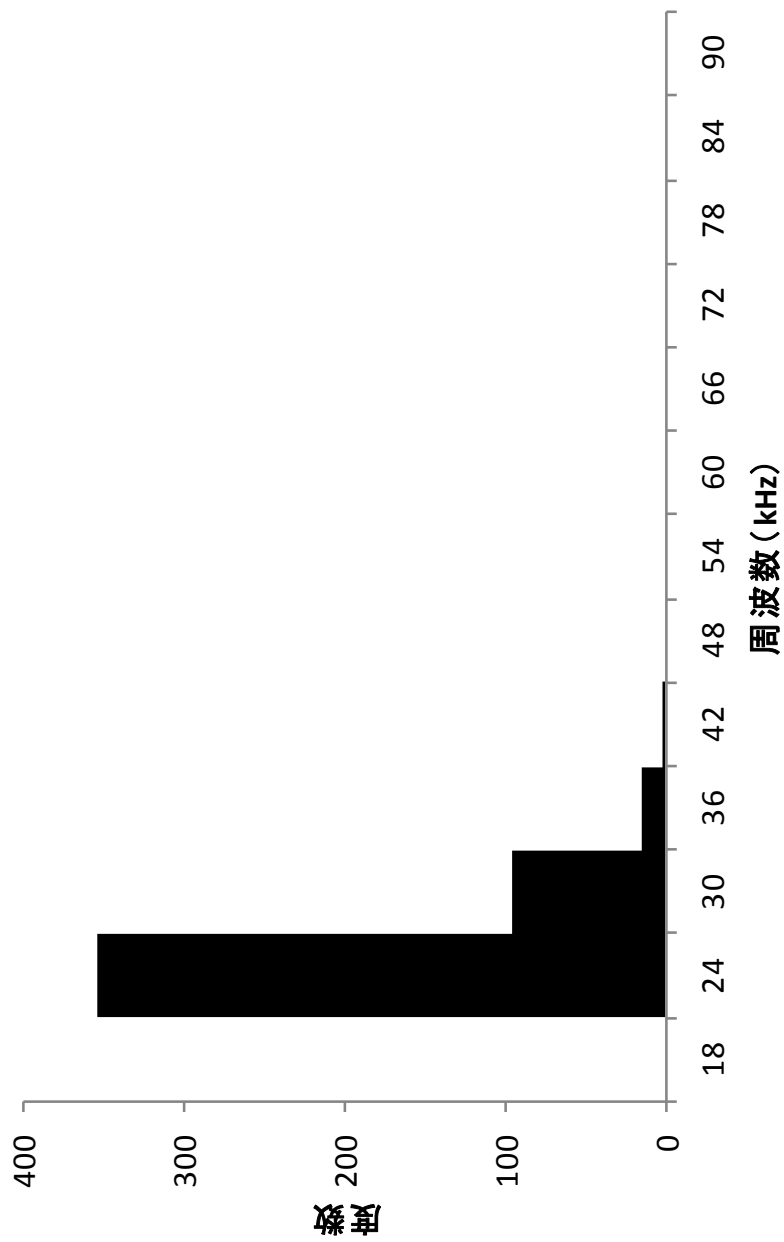


図 4・2. 射精後雌群の射精後の超音波発声の周波数

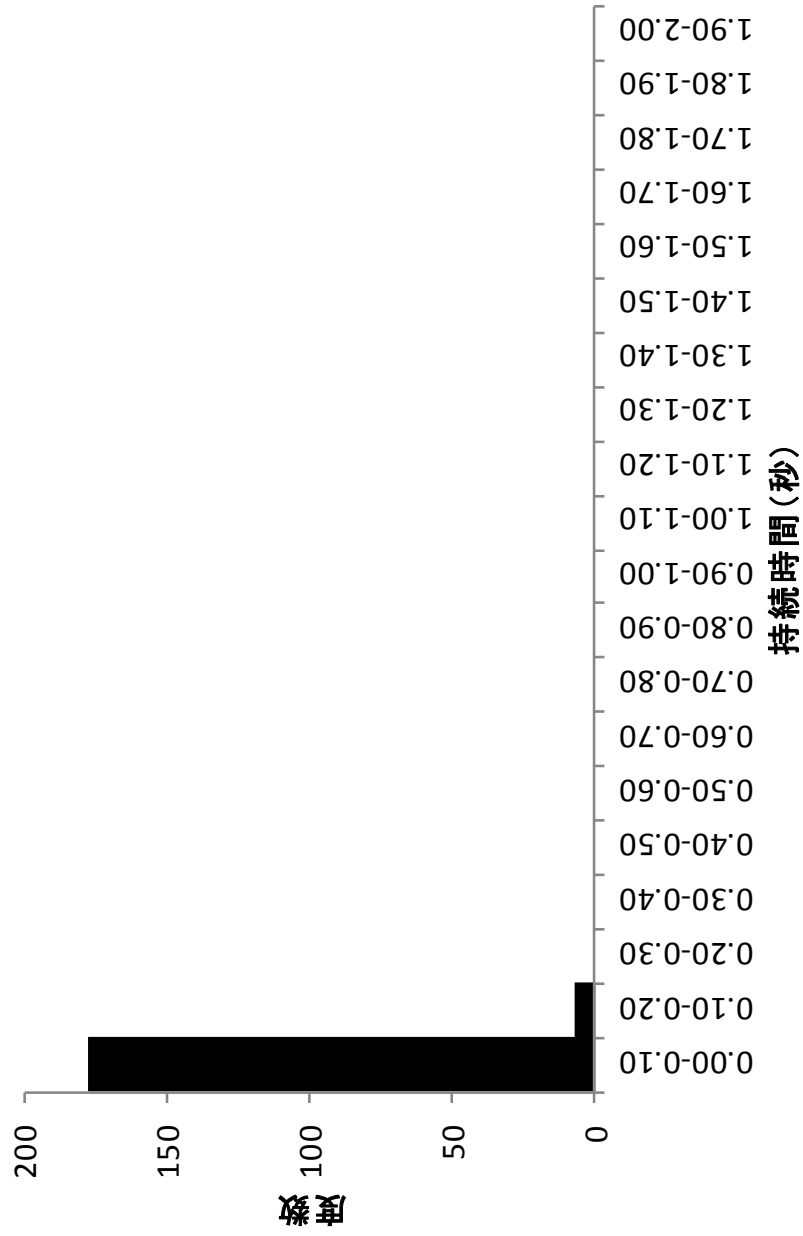


図 4・3. 射精後雌群の交尾行動における超音波発声の持続時間

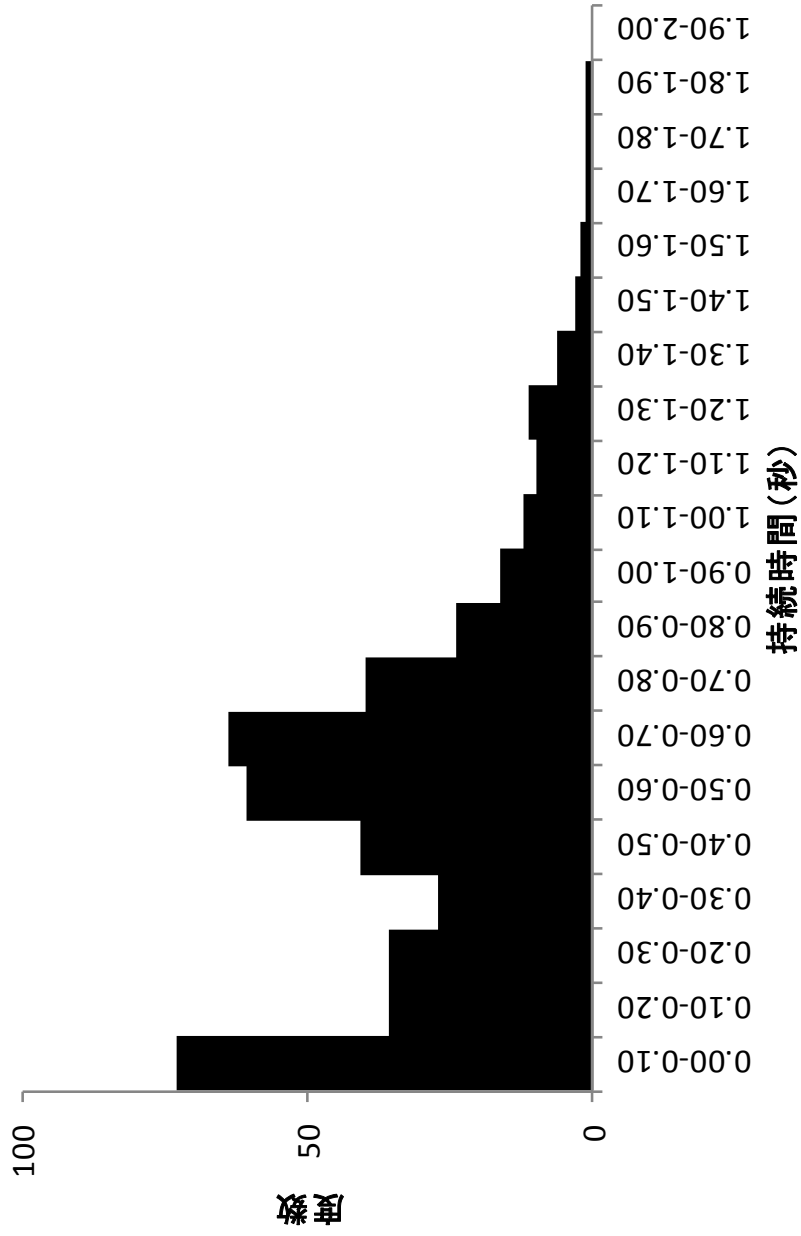


図 4・4. 射精後雌群の超音波発声の持続時間



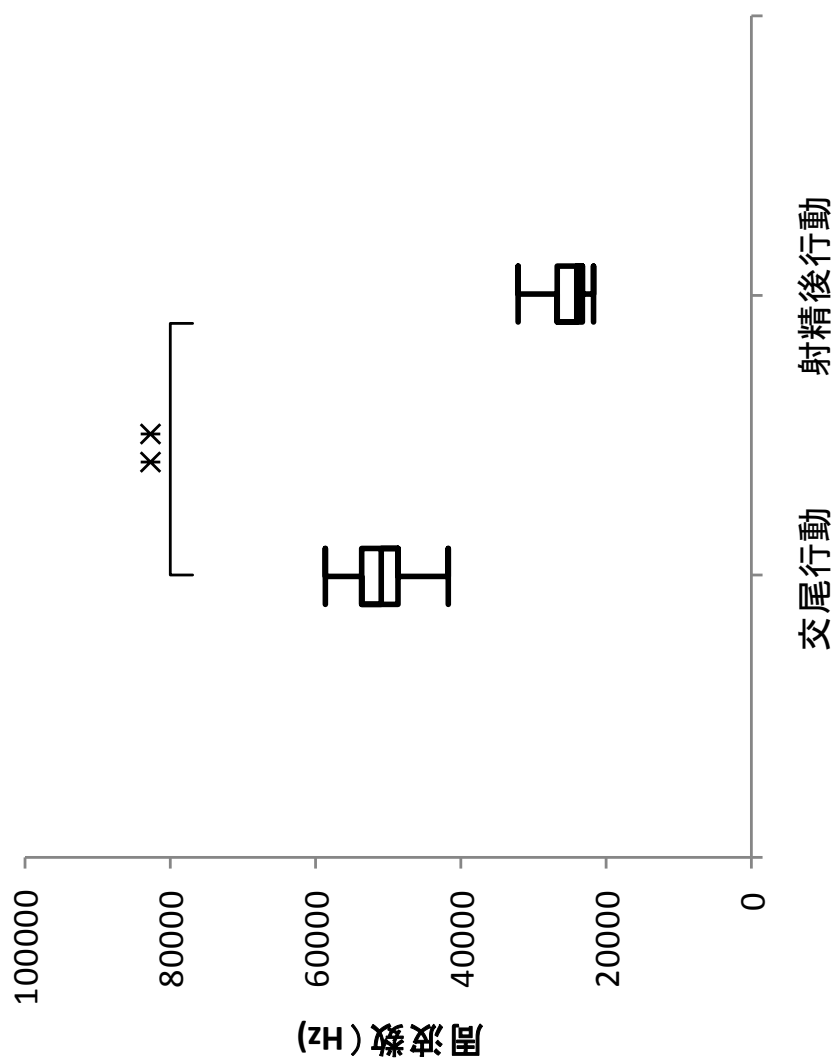


図 4・5. 射精後雌群の交尾行動と射精後の超音波発声の周波数の比較  
交尾行動と射精後の発声周波数は有意差が認められた。(p<0.01, ANOVA)

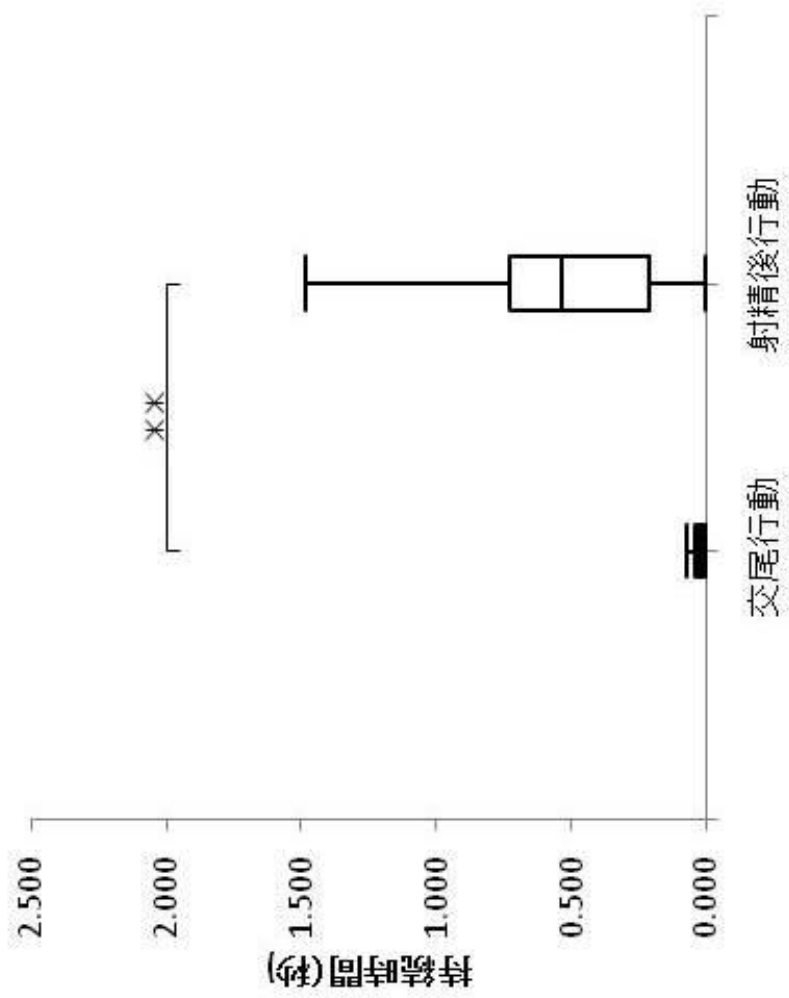


図 4・6. 射精後雌群の交尾行動と射精後の超音波発声の持続時間の比較  
交尾行動と射精後の発声持続時間は有意差が認められた。(p<0.01, ANOVA)

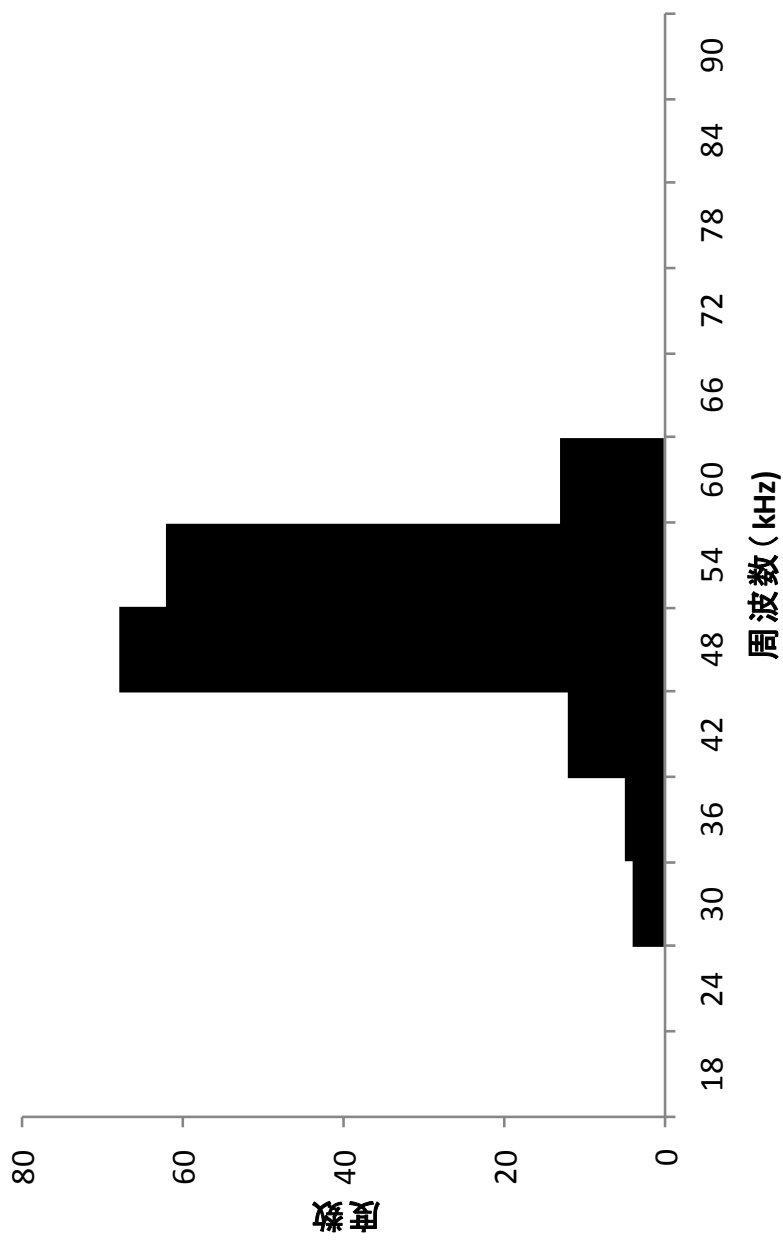


図 4.7. 射精後無雌群の交尾行動における超音波発声の周波数

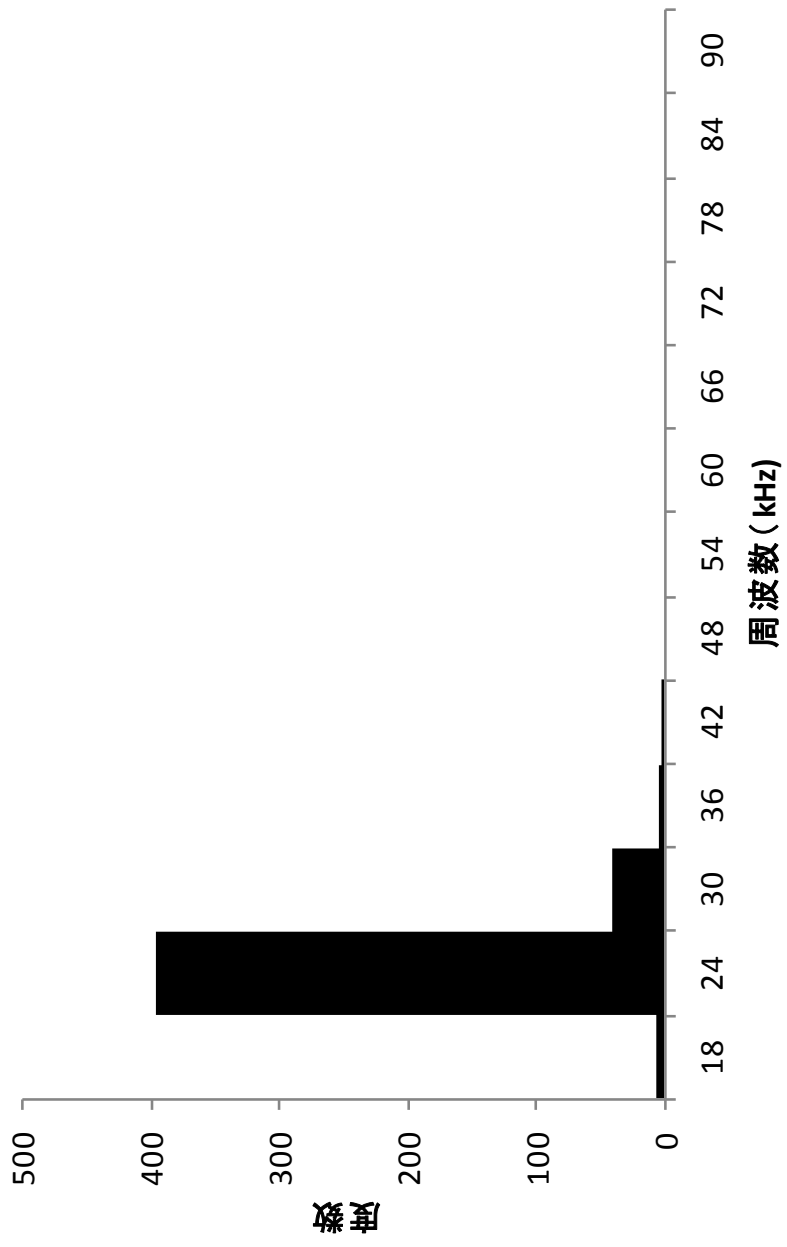


図 4・8. 射精後無雌群の射精後の超音波発声の周波数

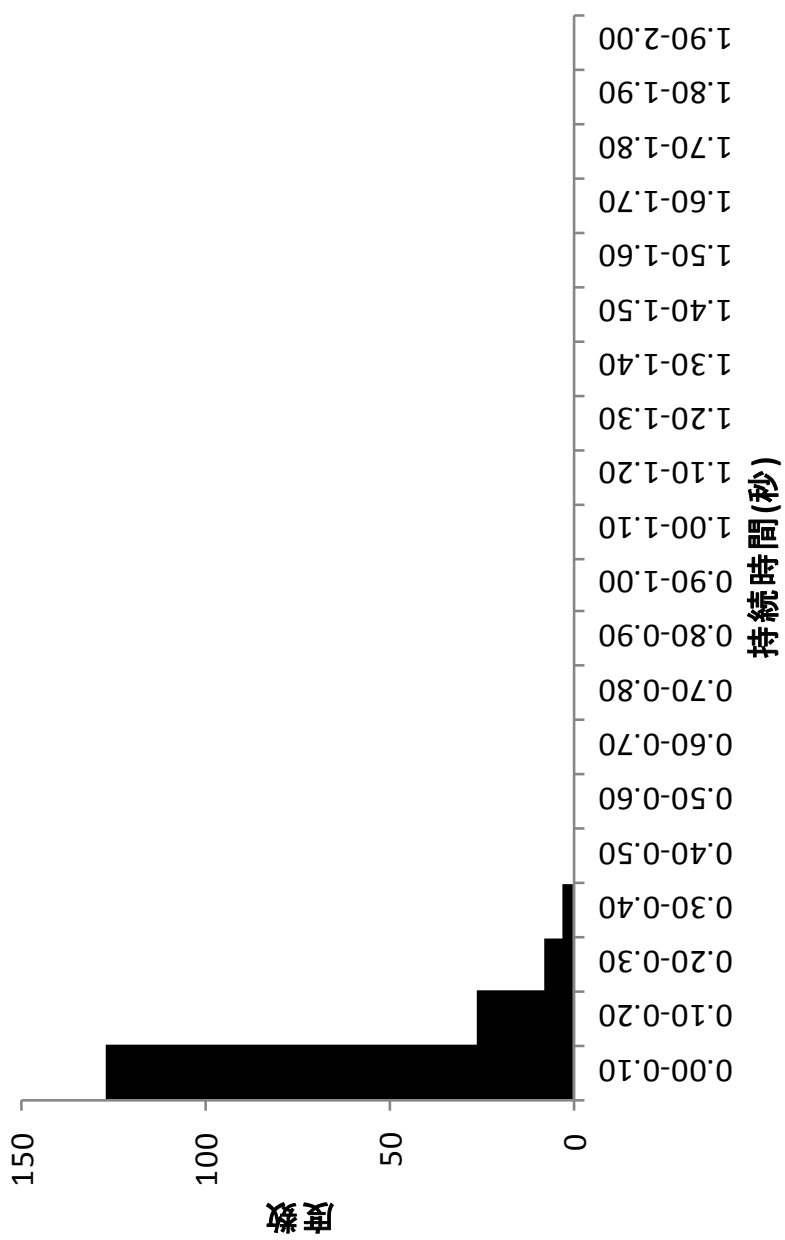


図 4.9. 射精後無雌群の交尾行動における超音波発声の持続時間

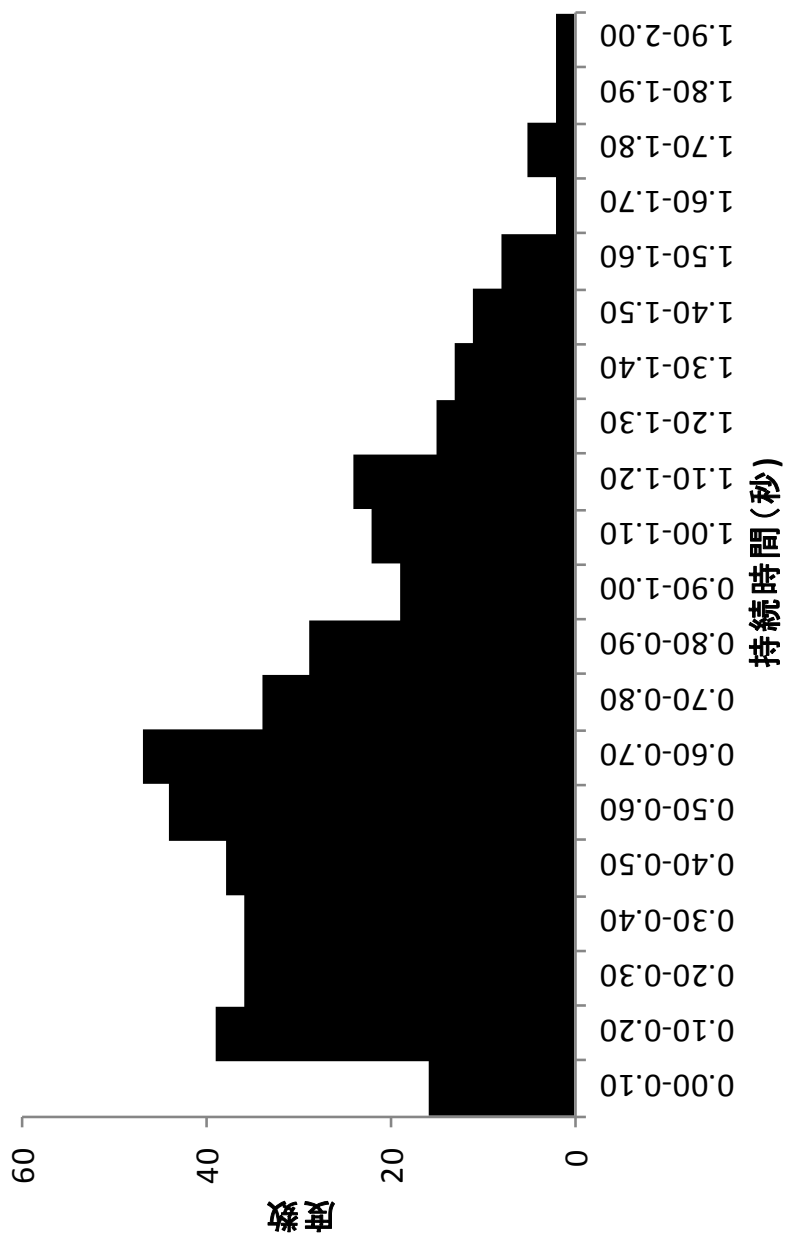


図 4・10. 射精後無雌群の射精後の超音波発声の持続時間

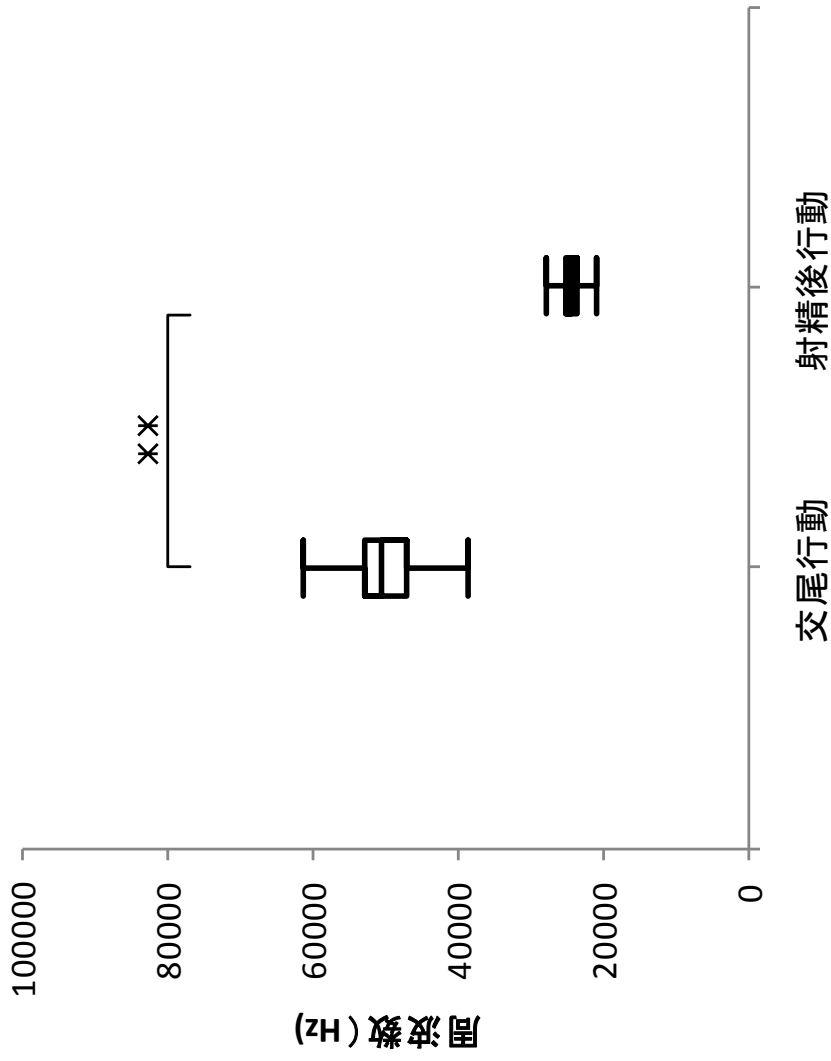


図 4・11. 射精後無雌群の交尾行動と射精後の超音波発声の周波数の比較  
 交尾行動と射精後行動の発声周波数に有意差が認められた。(p<0.01, ANOVA)

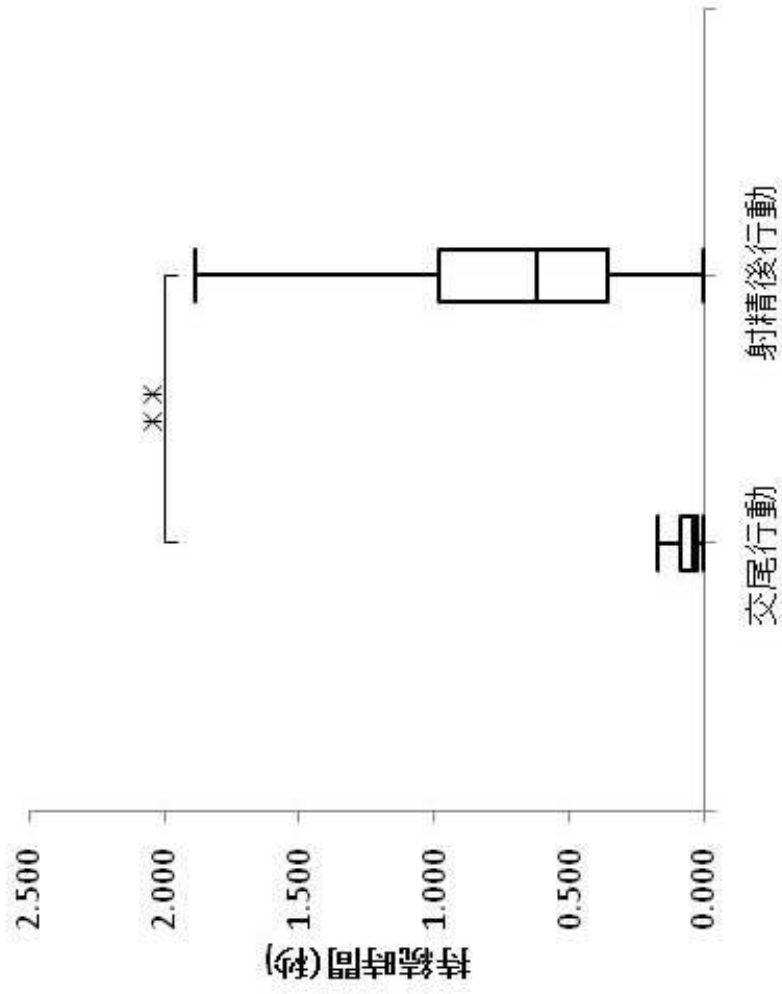


図 4.12. 射精後無雌群の交尾行動と射精後の超音波発声の持続時間の比較  
 交尾行動と射精後行動の発声持続時間に有意差が認められた。(p<0.01, ANOVA)



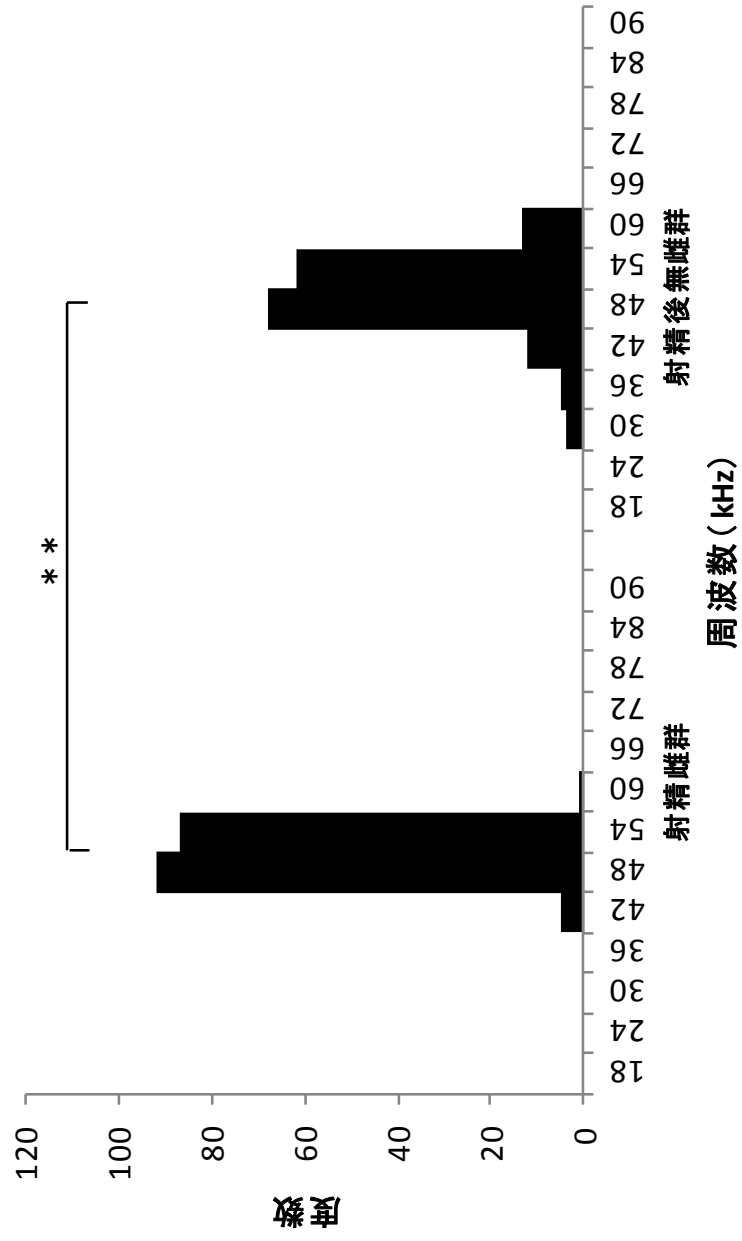


図 4・13. 射精後雌群と射精後無雌群の交尾行動における超音波発声の周波数の比較  
射精後雌雄を同居と射精後直ちに雌を撤去した条件での交尾行動の発声周波数に同等性が認められた。(p<0.01, two one-sided test)

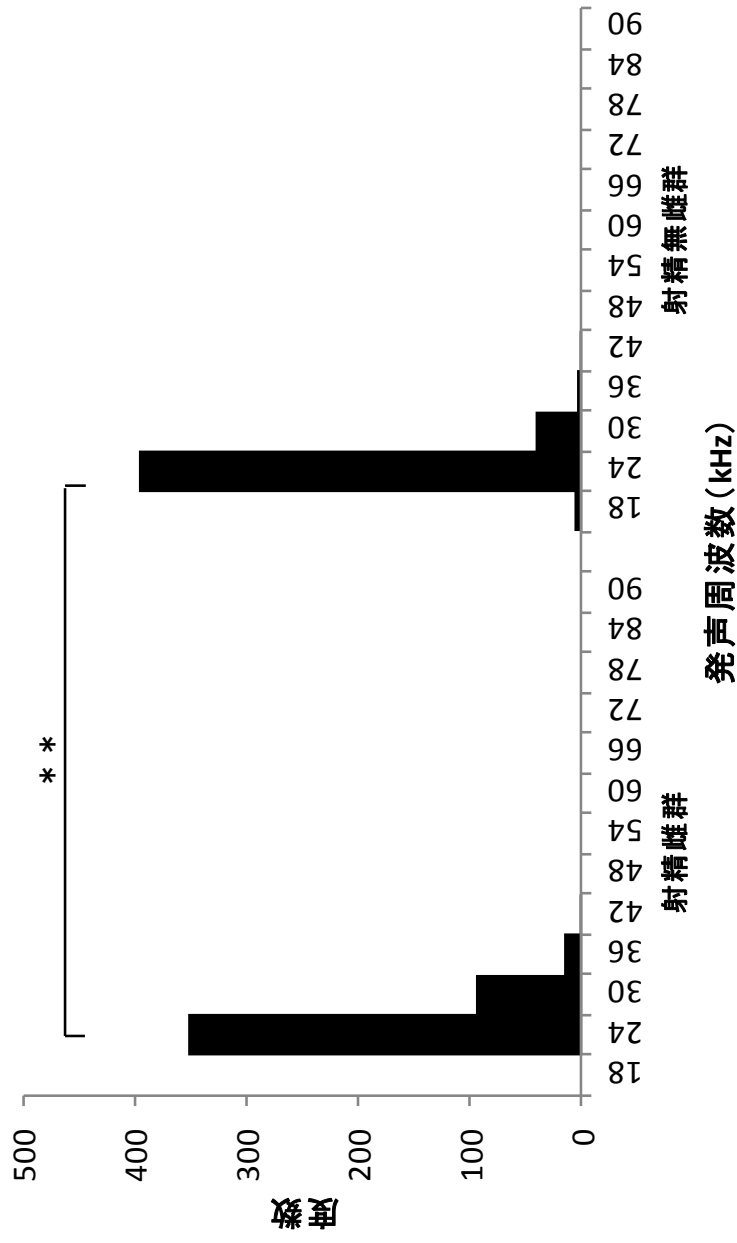


図 4・14. 射精後雌群と射精後無雌群の射精後の超音波発声の周波数の比較  
射精後雌雄同居と射精後直ちに雌を撤去した条件の射精後の発声周波数に同等性が認められた。(p<0.01, two one-sided test)

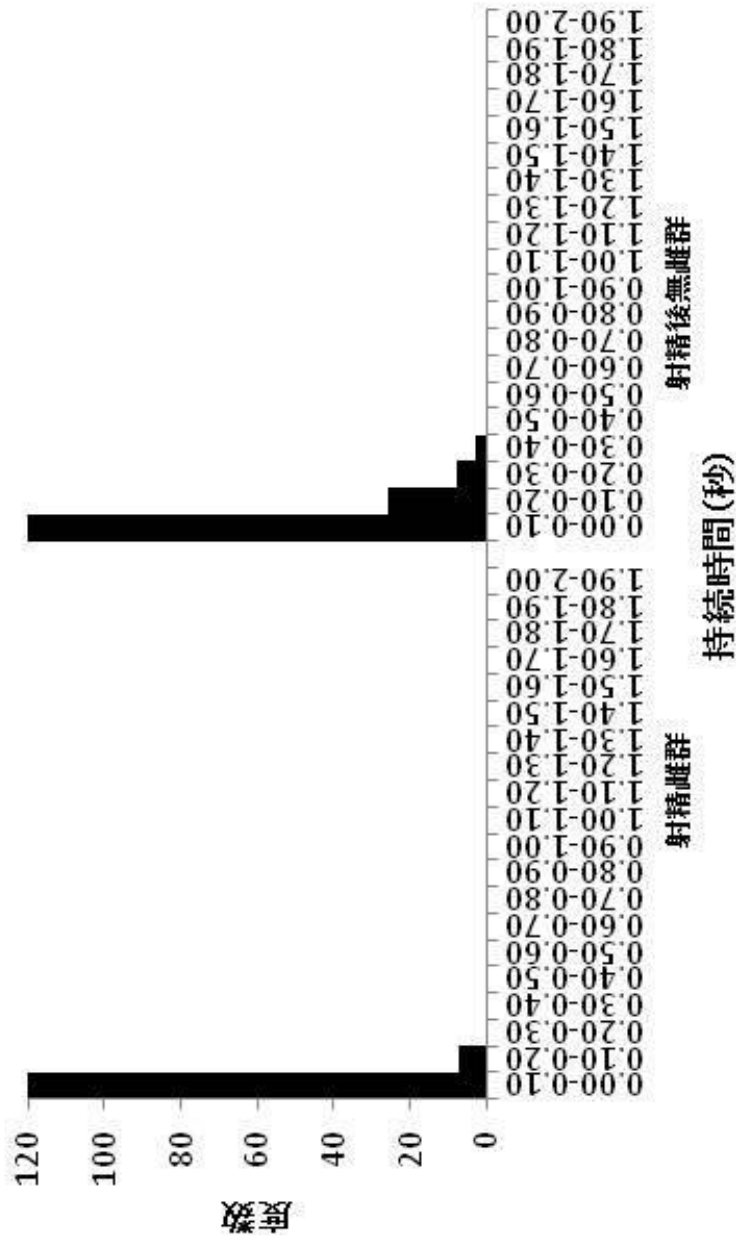


図 4・15. 射精後雌群と射精後無雌群の交尾行動における超音波発声の持続時間の比較  
 交尾行動と射精後の発声持続時間に同等性は認められなかった。(p>0.05, two one-sided test)

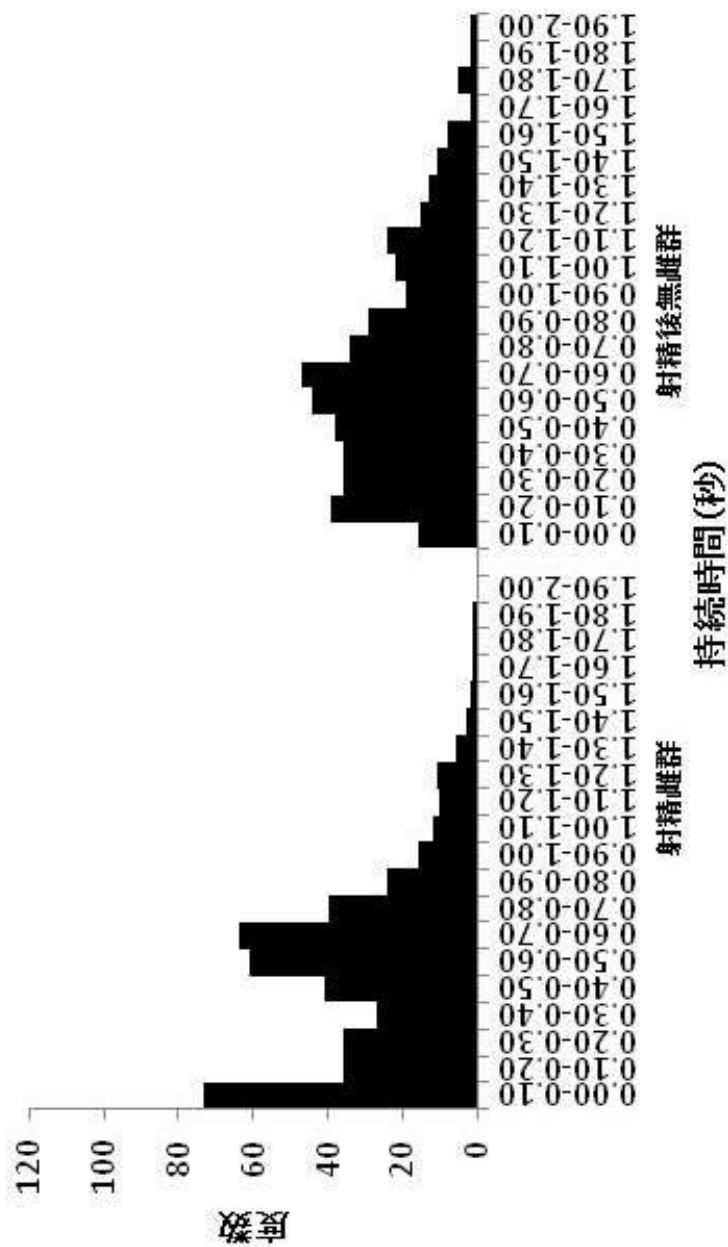


図 4・16. 射精後雌群と射精後無雌群の射精後の超音波発声の持続時間の比較  
 交尾行動と射精後の発声持続時間に同等性は認められなかった。(p>0.05, two one-sided test)

## 参考文献

- [1] Hull, E.M., Rodríguez-Manzo G. (2009). 1. Male sexual behavior. *Hormones, Brain and Behavior*, 2nd edition, 5-65, *Academic Press*, San Diego
  
- [2] Hull, E.M, Dominguez, J. M. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*, 52, 45–55.
  
- [3] Geyer, L. A., Barfield, R. J. (1978). Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats: I. Treatment of females. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 92, 438-446.
  
- [4] Thomas, D.A., Barfield, R.J. (1985). Ultrasonic vocalization of the female rat (*Rattus norvegicus*) during mating. *Animal Behaviour* 33, 720–725.
  
- [5] Barfield, R.J., Geyer, L.A.(1972). Sexual behavior: ultrasonic postejaculatory song of the male rat. *Science* 23, 1349-50.
  
- [6] 社団法人日本実験動物協会 編 (2004). 実験動物の技術と応用. 34-39. 株式会社アドスリー, 東京

- [7] Saito T.R., Motomura N., Taniguchi K., Hokao R., Arkin A., Takahashi K.W., Sato N.L. (1996). Effect of cage size on sexual behavior pattern in male rats. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 35, 80-82.
- [8] White, N. R., Gonzales, R. N., Barfield. R. J. (1993). Do vocalizations of the male rat elicit calling from the female? *Behavioral & Neural Biology*, 59, 76-78.

## 第4章

### p-Chloroamphetamine 投与ラットの射精後の超音波発声

#### 4-1 緒言

成熟雄ラットの性行動は交尾行動シリーズ、すなわち交尾前行動、交尾行動および射精後行動で構成されている[1, 2]。交尾前行動では、先ず雄が発情雌の性器周辺の匂いを嗅ぐ行動 (sniffing) に始まり、雌の勧誘行動 (solicitation)、次いで雄の追尾行動が連続して観察される。交尾行動では、乗駕 (mount)、挿入 (intromission) が繰り返し観察され、やがて射精 (ejaculation) に至る。射精後行動では、雄は虚脱状態となり性的に不活性状態になり、雌に関心を示さない性的不応期 (refractory period) と呼ばれる状態が次の交尾行動シリーズの開始までみられる[1, 2]。交尾前行動では、雄(雌)の超音波発声は、雌(雄)の性行動の促進に関与する双方向のコミュニケーションツールと考えられている[3, 4]。射精後の性的不応期では、発声周波数 22kHz で発声持続時間の長い超音波発声が報告されている[5]。この発声には、雄が交尾を再開する準備ができるまで雌の性行動を抑制する desist-contact signal としての機能が示唆されている[5]。しかし、この説を支持する研究成果は得られておらず、ラットの射精後の 22kHz 発声の機能は未だ解明されていない。

前章において、雄ラットの射精後に観察される 22kHz 発声は、雌の存在によって誘発される雌に向けたコミュニケーション信号ではない可能性が示された。このことから、この発声には、情動的意義より生理的意義をもつ可能性が考えられる。交尾行動シリーズにおける雄ラットの発声周波数と発

声持続時間は、射精を契機に大きく変化している。このことから、「射精」が射精後の発声を誘因している可能性が考えられる。*p*-chloroamphetamin (PCA) は、セロトニン (5-HT) とカテコールアミンの早期誘導により、雌との交尾行動なしに射精することが報告されている [6 - 9]。本章では、ラットに PCA を腹腔内投与し自発射精を誘発させ、その後の発声を観察することを試みた。

## 4-2 材料および方法

### 4-2-1 供試動物

供試動物は、Wistar-Imamichi 系ラット ((財) 動物繁殖研究所, 茨城県かすみがうら市) の 10 週齢の雄ラット 16 匹であった。室温  $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、人工照明 14 時間 (消灯 19 時) に設定された環境下で飼育した。固型飼料 (日本農産) と飲水 (水道水) を不断給与した。

### 4-2-2 供試薬物

*p*-Chloroamphetamine (以下 PCA) (シグマ化学社) を生理食塩水に溶解して使用した。

### 4-2-3 投与量および投与方法

PCA の投与量は  $2.5\text{mg/kg}$  [7, 10]、PCA の投与は腹腔内とした。



#### 4-2-4 発声観察方法

射影後の超音波発声を 1/4 インチの計測用マイクロホンを用いて集音、その信号を高速サウンドボード（LynxStudioTechnology 社 L22, 米国）を用いてデジタル化し Personal Computer に取り込み、周波数分析ソフトウェア（PHS 社 SpectraPLUS professional, 米国）を用いてリアルタイムにスペクトラム分析を行い行動観察と同時に超音波発声の有無を観察し記録した。

#### 4-2-5 行動観察方法

16 匹の供試動物を 2 群に分けた。10 匹は PCA 自発射精後の超音波発声の観察に用い、6 匹は交尾行動による射精後の超音波発声に用いた。雌には性周期ステージの発情前期像を示した個体を使用した[11]。

PCA 自発射精後の超音波発声を観察する群（PCA 群）ではメッシュ状の床を持つ観察ケージ（30cm×40cm×20cm）を用いた。観察ケージを高さ約 20cm の架台に載せその床面に鏡を置いた（図 3・1）。これにより陰部の状態を観察者が直接目視出来るようにした。観察室は暗室とし赤色ランプの照明下で行動観察を行った。観察ケージに雄ラットを導入し、馴致のため 5 分間放置した。その後、PCA を腹腔内に投与し、射精後 10 分間の超音波発声を観察した。

交尾行動による群（交尾行動群）では観察ケージに雄ラットを導入し、馴致のため 5 分間放置した後、発情雌を導入し射精後 10 分間の超音波発声を観察した。

#### 4-2-6 統計処理

PCA 自発射精と交尾行動による射精後の超音波発声を、カイ二乗検定を用いて統計学的に検定した。

#### 4-3 結果

表 1 に結果を記す。PCA 群では全ての雄ラットで実験開始後 30 分以内に射精が観察された (10/10)。交尾行動群では、射精後全ての雄 (6/6) から超音波発声を観察した。しかし、PCA 群では射精後の超音波発声は観察されなかった (10/10)。両群間で有意差が認められた ( $p < 0.01$ , カイ二乗検定)。

#### 4-4 考察

最初に、今回の実験で用いた *p*-Chloroamphetamine (PCA) の薬理作用について記述する。PCA は非常に強い 5-HT 遊離作用を有すること [13, 14] が知られており、射精誘発効果には中枢 5-HT 作動性神経からの 5-HT 遊離が関係すると考えられている [6]。PCA の射精誘発効果は、monoamine 枯渇薬の reserpine (アドレナリン作動性ニューロン遮断薬) ならびに 5-HT 合成阻害薬の *p*-Chlorophenylalanine (PCPA) により抑制されることが報告されている [12]。これらは、PCA の射精誘発効果が PCA 自体の直接作用ではなく、monoamine 特に 5-HT 遊離に基づく間接作用であることを示している [12]。また、5-HT の選択的取り込み阻害薬の citalopram [15] も PCA による射精誘発効果を強く抑制する [12]。PCA の 5-HT 遊離機構には 5-HT

トランスポーターを介した PCA 自身の神経細胞内への取り込みが必須であることから[16, 17]、この取り込みが阻害されたため射精誘発効果が抑制されたものと考えられている[12]。

いっぽう、イヌを用いた射精の発現機構に関する研究では、中枢 5-HT 作動性神経の機能亢進が射精発現に対して抑制的に作用することが明らかにされており[18, 19]、上述した PCA の射精発現機序はこれまでに考えられた中枢 5-HT の役割と矛盾する。いっぽう、発情雌と同居しても射精をしない高齢雄ラットに PCA (2.5mg/kg) を腹腔内投与すると、成熟ラットと同様に射精することが報告されている[10]。すなわち、性行動中枢の興奮が不十分でも、PCA により射精が可能であることを示している。また、脊髄の切断でも、PCA 自発射精には影響しないと報告されている[12]。これらは、PCA 自発射精の発現に関与するのは中枢性 5-HT ではなく、主に末梢性 5-HT に起因することを示唆している。

今回、成熟雄ラットに 2.5mg/kg の PCA を腹腔内投与したところ、投与 30 分以内に全例 (10/10) で射精が認められ、既報 [6 - 9, 12]の成績と同じ結果であった。射精後 10 分間の超音波発声を観察したが、しかしながら、PCA による射精雄ラットからの超音波発声は認められなかったという新発見が得られた。

以上のことから、ラットの射精後に観察される 22kHz 発声には、「射精」だけではなく、交尾行動を伴う射精が必要であることが示唆された。

#### 4-5 小括

雄ラット (雌との交尾行動) の射精後に観察される超音波発声の生理的意義について検討した。本章では、射精という行為それ自体が、超音波発声

の誘因となっている可能性について検討した。

PCA 自発射精では、全ての動物で超音波発声は観察されなかった。このことから、ラットの射精後に観察される **22kHz** 発声には、「射精」だけではなく、交尾行動を伴う射精が必要であることが示唆された。

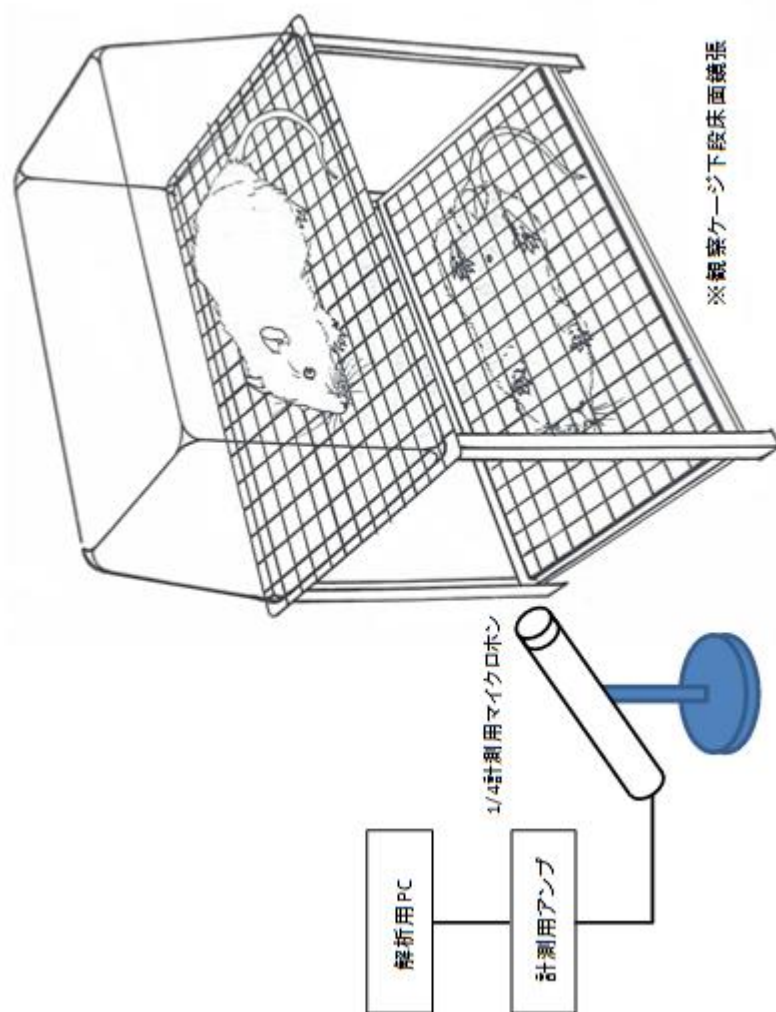


図 3・1. PCA 自発射精観察ケージ

メッシュ状の床を持つ観察ケージ (30cm×40cm×20cm) を高さ約 20cm の架台に載せその床面に鏡を置いた。これにより陰部の状態を観察者が直接目視出来るようにした。

表 3・1 交尾行動群と PCA 群の射精後の超音波発声の観察結果

	交尾行動群	PCA群
供試ペア数	6	10
交尾行動	6 / 6	0 / 10
射精	6 / 6	10 / 10
射精後発声	6 / 6	0 / 10

交尾行動群と PCA 群の間で有意差が認められた ( $p < 0.01$ , カイ二乗検定)。

## 参考文献

- [1] Hull, E.M., Rodríguez-Manzo G. (2009). 1. Male sexual behavior. *Hormones, Brain and Behavior*, 2nd edition, 5-65, *Academic Press*, San Diego
  
- [2] Hull, E.M, Dominguez, J. M. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*, 52, 45–55.
  
- [3] Geyer, L. A., Barfield, R. J. (1978). Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats: I. Treatment of females. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 92, 438-446.
  
- [4] Thomas, D.A., Barfield, R.J. (1985). Ultrasonic vocalization of the female rat (*Rattus norvegicus*) during mating. *Animal Behaviour* 33, 720–725.
  
- [5] Barfield, R.J., Geyer, L.A.(1972). Sexual behavior: ultrasonic postejaculatory song of the male rat. *Science* 23, 1349-50.
  
- [6] Rènyi L.(1985). Ejaculations induced by *p*-Chloroamphetamine in the rat. *Neuropharmacology* 24, 697- 704.

- [7] Saito, T.R., Aoki, S., Shutoh, Y., Hokao, R., Sasaki, Y., Amao, H., Wakafuji, Y., Sugiyama, M., Takahashi, K.W. (1991). Ejaculation Induced by *p*-Chloroamphetamine(PCA) in Rats, Hamsters and Mice. *Exp. Anim.* 40, 561- 563
- [8] Humphries, C.R., O'Brien, M., Paxinos, G, (1980). PCA: Effects on ejaculation, thermoregulation, salivation and irritability in rats. *Pharmac. Biochem. Behav.* 12, 851- 854.
- [9] Humphries, C.R., Paxinos, G., O'Brien, M. (1981). Mechanisms of PCA-induced hypothermia, ejaculation, salivation and irritability in rats. *Pharmac. Biochem. Behav.* 15, 197- 200.
- [10] Saito, T.R., Hokao, R., Aoki, S., Wakafuji, Y., Takahashi, K.W. (1993). Effects of *p*-Chloroamphetamine (PCA) on ejaculation in aged rats. *Exp. Anim.* 42, 111- 113.
- [11] 社団法人日本実験動物協会 編 (2004). 実験動物の技術と応用. 34-39. 株式会社アドスリー, 東京
- [12] 米沢章彦, 渡邊千寿子, 川村俊介, 安藤隆一郎, 吉田精一, 只野武, 桜田忍, 櫻井栄一, 木村行雄 (1996). *p*-Chloroamphetamine の射精誘導効果におけるセロトニンの関与. *自律神経* 33, 452-458.



- [13] Fuller, R.W. (1992). Effects of *p*-Chloroamphetamine on brain serotonin neurons. *Neurochem. Res.* 17, 449-456.
- [14] Martin, F., Artigas, F. (1992). Simultaneous effects of *p*-Chloroamphetamine, d-fenfluramine, and reserpine on free and stored 5-hydroxytryptamine in brain and blood. *J. Neurochem.* 59, 1138-1144.
- [15] Hyttel, J. (1982). Citalopram-pharmacological profile of specific serotonin uptake inhibitor with antidepressant activity. *Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiat.* 6, 277-295.
- [16] Gu, X.F., Azmitia, E.C. (1993). Integrative transporter-mediated release from vesicular 5-hydroxytryptamine stores in cultured neurones. *Eur. J. Pharmacol.* 234, 51-57.
- [17] Rudnik, G., Wall, S.C. (1992). *p*-Chloroamphetamine induce serotonin release through serotonin transporters. *Biochemistry* 31, 6710-3718.
- [18] Kimura, Y., Miyamoto, A., Urano, S., Yonezawa, A., Tadano, T., Kisara, K. (1983). The Spinal monoaminergic systems relating to ejaculation II Ejaculation and serotonin. *Andrologia* 15, 222-227.

[19] Kimura, Y., Kisara, K., Sakurada, S., Tadano, T., (1977). On the brain monoaminergic systems relating to ejaculation II Brain serotonin and ejaculation. *Andrologia* 9, 50-54.

## 第5章

### *p*-Chloroamphetamine 投与および交尾行動ラットの視索前野における cFos タンパクの発現

#### 5-1 緒言

成熟雄ラットの性行動は交尾行動シリーズ、すなわち交尾前行動、交尾行動および射精後行動で構成されている[1, 2]。交尾前行動では、先ず雄が発情雌の性器周辺の匂いを嗅ぐ行動 (sniffing) に始まり、雌の勧誘行動 (solicitation)、次いで雄の追尾行動が連続して観察される。交尾行動では、乗駕 (mount)、挿入 (intromission) が繰り返し観察され、やがて射精 (ejaculation) に至る。射精後行動では、雄は虚脱状態となり性的に不活性状態になり、雌に関心を示さない性的不応期 (refractory period) と呼ばれる状態が次の交尾行動シリーズの開始までみられる[1, 2]。交尾前行動では、雄は発情雌に出会うと発声周波数 50kHz で発声持続時間の短い超音波を発し[3]、その声が雌の勧誘行動のひとつであるダーティング (darting) 行動に伴う 70kHz の超音波発声を促すことが報告されている[4]。このことから、雄(雌)の超音波発声は、雌(雄)の性行動の促進に関与する双方向のコミュニケーションツールと考えられている。射精後の性的不応期では、発声周波数 22kHz で発声持続時間の長い超音波発声が報告されている[5]。この発声には、雄が交尾を再開する準備ができるまで雌の性行動を抑制する desist-contact signal としての機能が示唆されている[5]。しかし、この説を支持する研究成果は得られておらず、ラットの射精後の 22kHz 発声の機能は未だ解明されていない。

3章では、ラットの射精後の22kHz発声と雌の存在の関係を検討した。射精後の22kHz発声が交尾後の雌へ向けた信号であるならば、射精後に雄の近くに雌が存在しなければ雄は発声をする必要はなくなるはずである。そこで我々は、射精後直ちに観察ケージから雌を撤去し、射精後の雄の発声の変化を観察することでこの仮説の検証を行った。その結果、射精後の超音波発声は雌の存在によって誘発される雌に向けたコミュニケーション信号ではないことが示された。

4章では、PCA自発射精後の超音波発声を観察したが、PCAを投与した全ての動物で射精を観察したが、全ての動物で超音波発声は観察されなかった。このことから、ラットの射精後に観察される22kHz発声には、射精だけではなく、交尾行動を伴う射精が必要であることが示唆された。PCA自発射精の発現に関与するのは中枢性5-HTではなく、主に末梢性5-HTに起因すると云われている[6-9]ことから、射精後の22kHz発声には、性行動中枢の興奮が関与している可能性が考えられる。

即初期遺伝子(Immediate early genes)の一種であるc-Fosタンパクは、様々な外的刺激により急速かつ一過的に誘導されることから、神経細胞の反応マーカーとして活用されている[10, 11]。本章では、PCA自発射精および交尾行動後に射精をしたラットの性行動中枢のひとつである内側視索前野の神経活性をc-Fosタンパクの発現により観察することを試みた。

## 5-2 実験材料および方法

### 5-2-1 供試動物

本実験では、Wistar-Imamichi系ラット((財)動物繁殖研究所、茨城県)

の 9~10 週齢の雄 18 匹を用いた。供試動物には、実験動物用固型飼料（日本農産）と飲料水として水道水を不断給与した。動物室の温度は  $24^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  に維持され、人工照明は 12 時間に設定された。

#### 5-2-2 供試薬物

3 章と同じく、*p*-Chloroamphetamine (PCA) (シグマ化学社) を生理食塩水に溶解して使用した。

#### 5-2-3 投与量および投与方法

PCA の投与量は  $2.5\text{mg/kg}$  とし [7, 12]、ラットの腹腔内に投与した。

#### 5-2-4 実験手順

18 匹の雄ラットを 3 群に分けた。交尾行動群 (6 匹) は、エストロゲン誘発発情雌と観察ケージに導入し、30 分間の射精を観察した。PCA 群 (6 匹) は、PCA 投与後、観察ケージに導入し、射精を 30 分間観察した。対照群 (6 匹) は、観察ケージに 30 分間導入された。

全群のラットは、実験開始 30 分後に別の個別ケージに移動され、飼料と飲料水を与えずに 120 分間安置した。その後、ペントバルビタールナトリウム ( $40\text{mg/kg}$ 、腹腔内投与) により麻酔し、生理食塩水を経心臓的に循環させ、4%パラホルムアルデヒドで還流固定した。次に脳を摘出し  $4^{\circ}\text{C}$  に保たれた固定液に一晩浸し、 $4^{\circ}\text{C}$  に保たれた 30%ショ糖リン酸緩衝液 ( $0.1\text{mol/L}$ ) に浸した。

### 5-2-5 免疫組織化学

還流固定した脳を、内側視索前核から内側乳頭体核まで、マイクロトームによって  $40\ \mu\text{m}$  の厚さでスライスし、視索上核と視床下部室傍核の 2 つのセクションで cFos タンパクの抗体による免疫組織化学的染色を行った[13]。まず、切片を  $0.1\ \text{mol/L}$  のリン酸緩衝生理食塩水 (pH 7.4) で洗浄し、3% 過酸化水素無水メタノールに 15 分間浸透する。その後、0.3% Triton X-100 と  $50\ \text{mmol/L}$  のリン酸緩衝生理食塩水 (pH 7.4) で洗浄し、非活性部位をブロックするため、ウシ血清アルブミン (BSA)リン酸緩衝生理食塩水 (BSA-PBST)で 1 時間室温でインキュベーションする。その後 cFos 抗体 (rabbit polyclonal IgG, Ab-5, Lot no. D07130; Oncogene Research Products, Cambridge, MA, USA; diluted 1:40 000 with BSA-PBST) で  $4^{\circ}\text{C}$  50 時間インキュベーションする。次にビオチン化抗ウサギ免疫グロブリン G ( $7.5\ \mu\text{g/mL}$ ; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) とウシ血清アルブミンリン酸緩衝生理食塩水で 1 時間室温でインキュベーションし、アビジン・ビオチン複合溶液 (1:100; Amersham Life Science, Amersham, Buckinghamshire, UK) とウシ血清アルブミンリン酸緩衝生理食塩水で 1 時間室温でインキュベーションする。各ステップの後で、リン酸緩衝水溶液で 15 分間 3 回の洗浄する。次に  $0.175\ \text{mol/L}$  ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) に浸して 30 分 2 回洗浄し、クロモゲン溶液、塩化ニッケル  $0.25\ \text{mg/mL}$ 、3,3'-ジアミノベンジジン  $0.2\ \text{mg/mL}$ 、過酸化水素水 0.0025%で 8 分間緩衝する。切片をナトリウム酢酸緩衝液へ浸すことで停止し、その後、 $10\ \text{mmol/L}$  のリン酸緩衝生理食塩水で 3 回洗浄する。最後に、切片をスライドガラスにゼラチンで張り付け、クレシルバイオレットで染色する。

### 5-2-6 cFos 免疫反応の定量化

クレシルバイオレットで染色した切片から、脳地図[14]によって内側視索前野 (MPOA) の内側視索前核 (MPN) を選定し、免疫反応が陽性の cFos を、コンピューターを利用したイメージ分析システム (KS-300、C・ツァイス Microimaging、ドイツ) を使用して分析した。

イメージ分析システムに取り込んだ画像データは、0- 255 段階 (0=黒、255=白) に階層化され、明度が 201 より薄い部位はバックグラウンドとして分析対象から排除した。次に、明度が 60 より濃い部位は、ポジティブデータとして明度を 0 へ変換した。次に 50- 200 の明度スケールを 0- 250 に拡大し、明度 170 を閾値として cFos タンパクの発現を判定した。cFos タンパクの発現した細胞の数は、神経核の面積として定量化した。

### 5-2-7 統計処理

全てのデータは、Newman-Keuls の多重比較法を用いて統計学的検定を行った。

## 5-3 結果

雄の性行動発現に重要な作用を持つ視索前野 (MPOA) の神経活動と PCA 自発射精および雌との交尾行動による射精との関係を、神経活動上昇マーカーである c-Fos タンパクの特異抗体を用いた免疫組織化学染色を用いて検討した。その結果、交尾行動を経験した射精ラットの MPOA では c-Fos タンパク陽性細胞の明らかな上昇が見られた (図 5・1)。一方、PCA 自発射精ラットでは MPOA における有意な上昇は認められなかった (図 5・

2)。すなわち、交尾行動が MPOA の神経活性を上昇させ、これが射精後の雄ラットにおける超音波発声に必要な条件であることが示唆された。

#### 5-4 考察

交尾行動を経験した射精ラットの MPOA では c-Fos タンパク陽性細胞の明らかな上昇が見られたが、PCA 自発射精ラットでは MPOA における有意な上昇は認められなかった。すなわち、交尾行動が MPOA の神経活性を上昇させ、これが射精後の雄ラットにおける超音波発声に必要な条件であることが示唆された。

MPOA は、体表面と内臓だけでなく中枢神経系の熱情報を集積し熱の代謝の制御 [15- 17]と、交尾行動（乗駕、挿入、射精）の制御[18]に深く関与していることが知られている。MPOA の温度は、雄が発情雌と接触すると徐々に上昇しそれは射精まで継続するが、射精後直ちに急激に下降する[19]。温度下降が停止すると次の交尾シリーズが再開される。射精時の MPOA の温度は 40℃近く達することもある。大脳は熱に弱く 40～41℃でポリリボゾームが分解を始めることから、射精後は MPOA を冷却が必要となる[19]。

心拍数は、雄が発情雌に接触すると同時上昇し射精まで継続するが、射精後直ちに急激に下降する[20]。このことから、交尾前行動および交尾行動は交感神経が優位で、射精後は副交感神経で優位と考えられる。これにより、呼吸数は低下し呼気の持続時間が長くなる。超音波発声は、呼気と喉頭制動によって発音せれていることから[21, 22]、射精後の超音波発声は、呼気排出量の増大に伴う熱放散の副産物である可能性が考えられる。すなわち、ラットの射精後の超音波発声は、次の交尾シリーズを起動するための MPOA の温度（神経活動）の調整に関与していると思われる。



射精後に雌がいなくても 22kHz の超音波を発すること（第 3 章）、PCA 自発射精では射精後の超音波発声は認められなかったこと（第 4 章）、および、交尾行動を経験した射精ラットの MPOA では c-Fos タンパク陽性細胞の明らかな上昇が見られたが、PCA 自発射精ラットでは MPOA における有意な上昇は認められなかったことから、ラットの交尾行動における射精後に観察された 22kHz の超音波発声は、交尾相手である雌へのコミュニケーションツールというより、発声雄個体自身の状態変化により発せられたものと考えられる。

#### 5-5 小括

雄の性行動発現に重要な作用を持つ視索前野（MPOA）の神経活動と PCA 自発射精および雌との交尾行動による射精との関係を、神経活動上昇マーカーである c-Fos タンパクの特異抗体を用いた免疫組織化学染色を用いて検討した。その結果、交尾行動を経験した射精ラットの MPOA では c-Fos タンパク陽性細胞の明らかな上昇が見られた一方、PCA 自発射精ラットでは MPOA における有意な上昇は認められなかった。すなわち、交尾行動が MPOA の神経活性を上昇させ、これが射精後の雄ラットにおける超音波発声に必要な条件であることが示唆された。



図 5・1. 交尾行動による射精ラットの MPN の c-Fos 免疫陽性細胞を示している顕微鏡写真

cFos タンパクの発現が観察された。

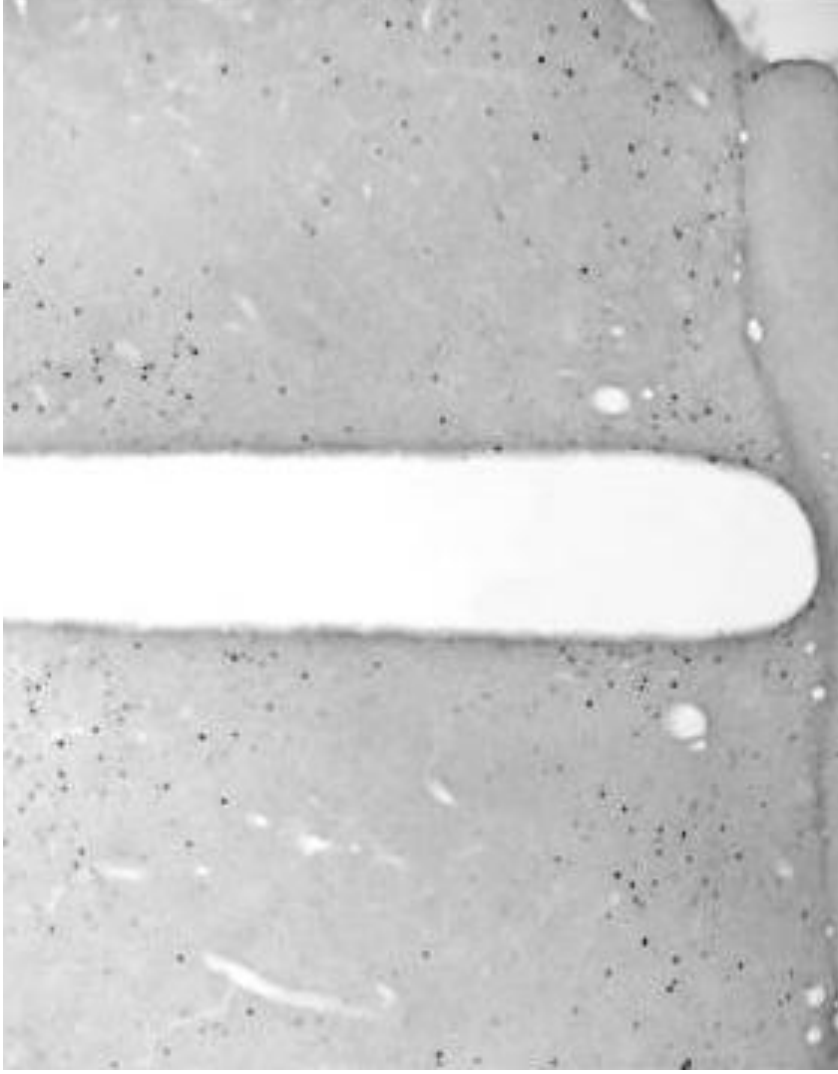


図 5・2. PCA 自発射精ラットの射精後の MPN の c-Fos 免疫陽性セルを示している顕微鏡写真

cFos タンパクの発現はほとんど観察されなかった。

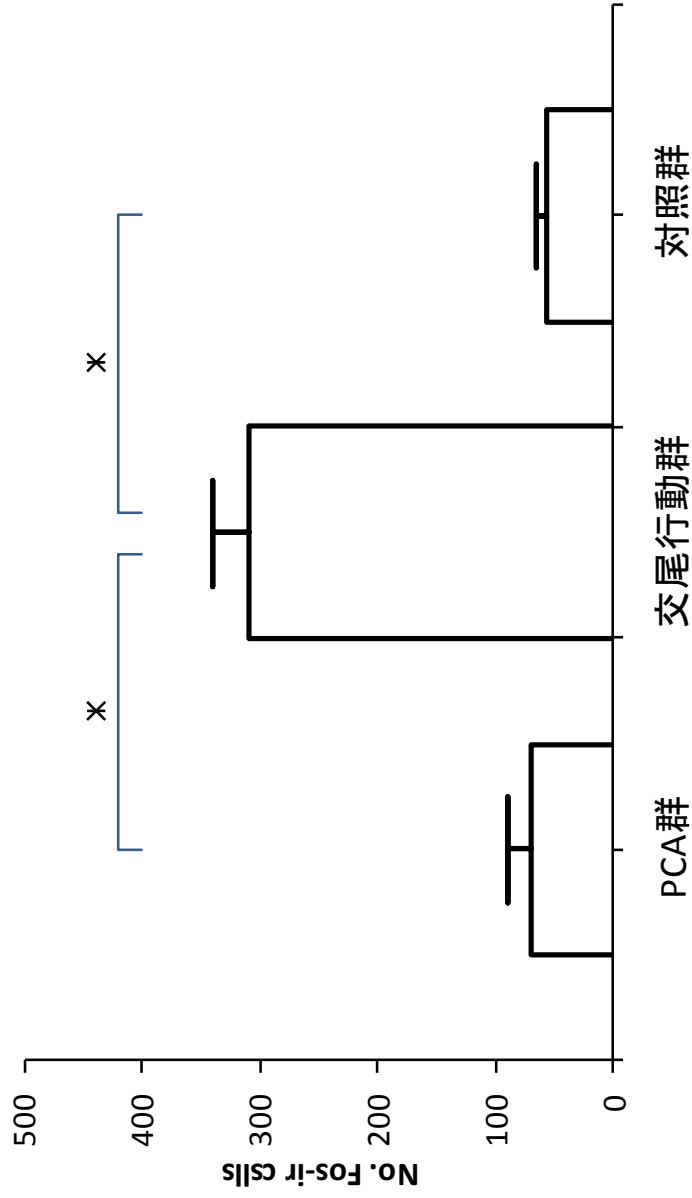


図 5・3. 内側視索前核 (MPN) の c-Fos 陽性細胞の定量分析

交尾行動による射精ラットの cFos の発現はコントロールに比較して発現セルの数が増加しているが、PCA 自発射精ラットではコントロールに比較して cFos の発現セルの数にほとんど変化は起こらなかった。

## 参考文献

- [1] Hull, E.M., Rodríguez-Manzo G. (2009). 1. Male sexual behavior. *Hormones, Brain and Behavior*, 2nd edition, 5-65, *Academic Press*, San Diego
  
- [2] Hull, E.M, Dominguez, J. M. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*, 52, 45–55.
  
- [3] Geyer, L. A., Barfield, R. J. (1978). Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats: I. Treatment of females. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 92, 438-446.
  
- [4] Thomas, D.A., Barfield, R.J. (1985). Ultrasonic vocalization of the female rat (*Rattus norvegicus*) during mating. *Animal Behaviour* 33, 720–725.
  
- [5] Barfield, R.J., Geyer, L.A.(1972). Sexual behavior: ultrasonic postejaculatory song of the male rat. *Science* 23, 1349-50.
  
- [6] Rènyi L.(1985). Ejaculations induced by *p*-Chloroamphetamine in the rat. *Neuropharmacology* 24, 697- 704.

- [7] Saito, T.R., Aoki, S., Shutoh, Y., Hokao, R., Sasaki, Y., Amano, H., Wakafuji, Y., Sugiyama, M., Takahashi, K.W. (1991). Ejaculation Induced by *p*-Chloroamphetamine(PCA) in Rats, Hamsters and Mice. *Exp. Anim.* 40, 561- 563
- [8] Humphries, C.R., O'Brien, M., Paxinos, G, (1980). PCA: Effects on ejaculation, thermoregulation, salivation and irritability in rats. *Pharmac. Biochem. Behav.* 12, 851- 854.
- [9] Humphries, C.R., Paxinos, G., O'Brien, M. (1981). Mechanisms of PCA-induced hypothermia, ejaculation, salivation and irritability in rats. *Pharmac. Biochem. Behav.* 15, 197- 200.
- [10] Guthrie, K.M., Anderson, A.J., Leon, M. and Gall, C. (1993) Odor-induced increases in c-fos mRNA expression reveal an anatomical "unit" for odor processing in olfactory bulb. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90, 3329-3333.
- [11] 井尻憲一, 水野利恵 (2007). 過重力刺激による c-Fos タンパク質の脳内出現部位 : マウスからメダカへ. *Space Utiliz Res*, 23
- [12] Saito, T.R., Hokao, R., Aoki, S., Wakafuji, Y., andTakahashi, K.W. 1993. Effects of *p*-Chloroamphctamine (PCA) on ejaculation in aged rats. *Exp. Anim.* 42, 111- 113.

- [13] Yokosuka M, Dube MG, Kalra PS, Kalra SP. (2001). The mPVN mediates blockade of NPY-induced feeding by a Y5 receptor antagonist: a cFos analysis. *Peptides* 22, 507–514.
- [14] Paxinos G, Watson C. (1998). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. *Academic Press*, San Diego.
- [15] Robert, W.W., Mooney, R.D. (1974). Brain areas controlling thermoregulatory grooming, prone extension, locomotion and tail vasodilation in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 86, 470-489.
- [16] Satinoff, E. (1978). Neural organization and evolution of thermal regulation in mammals. *Science* 201, 16-22.
- [17] Satinoff, E., Liran, J., Clapman, R. (1982). Aberrations of circadian body temperature rhythms in rats with medial preoptic lesions. *Am. J. Physiol.* 242, 353-357.
- [18] Edwards, D.A., Einhorn, L.C.(1986). Preoptic and midbrain control of sexual motivation. *Physiol Behav.* 37, 329-35.
- [19] Blumberg, M.S., Mennella, J.A., Moltz, H. (1987). Hypothalamic Temperature and Deep Body Temperature During Copulation in the Male Rat. *Physiology & Behavior* 39, 367-370

- [20] Saito, T.R., Hokao, R., Terada, M., Takahashi, K.W., Tsubone, H., Sugano, S.(2001). The telemetric monitoring of heart rate during copulatory behavior in the male rat. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 28, 108-113.
- [21] Roberts, L.H. (1972). Correlation of respiration and ultrasound production in rodents and bats. *J. Zool. Lond.* 175, 439-449.
- [22] Roberts, L.H. (1974). Evidence for the laryngeal source of ultrasonic and audible cries of rodents. *J. Zool. Lond.* 175, 243-257.



## 第6章

### 総括

音は、音波（弾性波）、またはそれによって引き起こされる聴覚的感觉と定義されている。つまり、音声コミュニケーションは、発音器官と聴覚器官の相互作用によって成り立っていると考えられる。多くの陸生哺乳類は、呼吸を用いて音響信号を発する器官とその音響信号を検出する器官を有しており、動物間においても音声で様々な情報伝達が行われているものと考えられる。小型のゲッ歯目においては、性行動場面や攻撃行動場面、母子相互間などでヒトの聴覚では聞き取ることが出来ない超音波帯域の音声を発することが知られている。

ゲッ歯目の成熟雄の性行動は、交尾行動シリーズ、すなわち交尾前行動、交尾行動および射精後行動で構成されている。交尾前行動では、先ず雄が発情雌の性器周辺の匂いを嗅ぐ行動（sniffing）に始まり、雌の勧誘行動

（solicitation）、次いで雄の追尾行動が連続して観察される。交尾行動では、乗駕（mount）、挿入（intromission）および射精（ejaculation）が観察される。射精後行動では、雄は虚脱状態となり、一時的に不応期とよばれる性的に不活性状態になり、雌に関心を示さない。すなわち、性的不応期（refractory period）が次の交尾行動シリーズの開始までみられる。

ラットにおいては、交尾前行動で雄の超音波発声が雌の（勧誘行動の1つであるダーティング（darting）行動に伴う）超音波の発声を促し、その雌の超音波発声が雄の追尾行動を誘発させることが観察されている。このことから、雄（雌）の超音波発声は雌（雄）の性行動の促進に関与しているコミュニケーションツールとしての機能を持つと考えられている。交尾行動では、乗駕および挿入において超音波発声が見られる。射精後行動では、交尾

前行動や交尾行動で観察された超音波の周波数より低い超音波発声が認められている。しかし、雄ラットの射精後に観察される超音波発声の意義は、未だ解明されていない。

ラットやマウスは国内外において使用数の最も多い実験動物であり、その繁殖行動の理解は実験動物学の重要な課題の一つである。ゲッ歯目の繁殖行動における超音波発声の生理的意義を解明することで、動物の繁殖行動をより客観的に理解することが出来、実験動物繁殖技術の向上の一助になると期待される。本研究は、ラット・マウス・シリアンハムスターという現在の実験動物学における重要なゲッ歯目を対象に、その交尾行動時に発せられる超音波のスペクトルを音響学的視点から詳細に再検討することで、ゲッ歯目における交尾行動時の発声の音響特性と種特異性を明確にすることを第一の目的とした。さらに、未だ不明な点が多い射精後の 22kHz 発声の生理的意義についての考察を試みた。

## 1. 小型ゲッ歯目の交尾行動における超音波発声（第 2 章）

現在の実験動物として最も重要な 3 種のゲッ歯目、すなわち、ラット・マウス・シリアンハムスターの交尾行動に伴う超音波発声についてその特徴と射精後の発声の有無を明らかにすることを試みた。実験には、Wistar Imamichi 系ラット、IVCS 系マウス、シリアンハムスターを用いた。

その結果、ラットの発声周波数帯域は 21-57kHz であり、50kHz と 22kHz にピークを持つ不連続な周波数スペクトルで構成されていた。マウスの発声周波数帯域は 42-84kHz と帯域が広く、51kHz、66kHz、75kHz にピークを持つ連続した周波数スペクトルで構成されていた。シリアンハムスターの発声帯域は 24-42kHz であり、27kHz と 36kHz の 2 つのピークを持つ連続

な周波数スペクトルで構成されていた。3種の動物の交尾行動中に観察された発声周波数は有意水準 1%で有意差が認められた。一方、射精後に超音波発声を認めたのはラットとシリアンハムスターのみであり、マウスでは射精後の超音波発声は認められなかった。シリアンハムスターの発声周波数と持続時間は交尾行動で観察されたものと明瞭な違いは認められなかった。したがって、射精の前後で発声周波数と持続時間の双方が大きく変化したのはラットのみであった。以上の結果より、ラット、マウスおよびシリアンハムスターの交尾行動に伴う発声周波数には大きな種差があることが明確となった。さらに、射精後に超音波発声をするのはラットのみであることが示された。以下の章において、この超音波発声の生理学的意義について検討した。

## 2. 交尾行動によるラットの射精後の超音波発声における雌（射精後）の影響（第3章）

本章では、雄ラットの射精後の 22kHz 発声と雌の存在の関係を検討した。この発声が雌へ向けた信号であるならば、射精後に雄の近くに雌が存在しなければ雄は発声をする必要はなくなるはずである。そこで、射精直後に観察ケージから雌を撤去し、射精後の雄の発声の変化を観察することでこの仮説の検証を行った。

その結果、雄ラットは射精後に雌が近くにいなくても 22kHz の超音波発声をすることが示された。射精後も雌雄ラットが観察ケージにいる条件と、射精後に雌を撤去した条件の雄の射精後の発声周波数は、有意水準 1%で同等性が認められた。発声持続時間の同等性は認められなかったが、射精後の雌の有無に関わらず交尾行動中の発声に比べて発声持続時間は 10 倍以上の長さに変化した。このことから、射精後の雌の不在が、射精後の雄の超音波発声を抑制しないことが示された。以上の結果と射精後の発声は雌の行動に

影響与えないという先行研究の見解と合わせると、射精後の超音波発声は、雌の存在によって誘発される雌に向けたコミュニケーション信号では無いことが示された。

### 3. p-Chloroamphetamine (PCA) 投与ラットの射精後の超音波発声 (第4章)

前章において、雄ラットの射精後に観察される 22kHz 発声は、雌の存在によって誘発される雌に向けたコミュニケーション信号ではない可能性が示された。このことから、この発声には、情動的意義より生理的意義をもつ可能性が考えられる。交尾行動シリーズにおける雄ラットの発声周波数と発声持続時間は、射精を契機に大きく変化している。このことから、「射精」が射精後の発声を誘因している可能性が考えられる。p-chloroamphetamin (PCA) は、セロトニン (5-HT) とカテコールアミンの早期誘導により、雌との交尾行動なしに射精することが報告されている。本章では、ラットに PCA を腹腔内投与し自発射精を誘発させ、その後の発声を観察することを試みた。

その結果、PCA による自発射精をした個体では、射精後の超音波発声は認められなかった。PCA 自発射精は末梢におけるセロトニン作用が深く関与していることが知られている。したがって、ラットの射精後に観察される 22kHz 発声には単なる射精だけでは無く、交尾行動を伴う射精が必要であることが示唆された。

#### 4. PCA 投与および交尾行動ラットの視索前野 (MPOA) における cFos タンパクの発現 (第 5 章)

前の実験結果は、射精後の雄の超音波発声には射精後の雌の存在は関係が無く、交尾行動による脳の興奮が関係していることを示唆している。そこで、最後の実験として、雄の性行動発現に重要な作用を持つ視索前野

(MPOA) の神経活動がこの PCA 自発射精および雌との交尾行動による射精とどのような関係を持っているのかを検討した。

実験は神経活動上昇マーカーである c-Fos タンパクの特異抗体を用いた免疫組織化学染色による検討で行った。その結果、交尾行動を経験した射精ラットの MPOA では c-Fos タンパク陽性細胞の明らかな上昇が見られた。一方、PCA 自発射精ラットでは MPOA における有意な上昇は認められなかった。すなわち、交尾行動が MPOA の神経活性を上昇させ、これが射精後の雄ラットにおける超音波発声に必要な条件であることが示唆された。ラットの視床下部の温度を上昇させると 22kHz の発声が観察されることが報告されていることから、交尾に伴う視床下部の温度上昇が、射精後の 22kHz の発声の要因の一つである可能性がある。ラットの交尾行動における射精後に観察された 22kHz の超音波発声は、交尾相手である雌へのコミュニケーションツールというより、発声雄個体自身の状態変化により発せられたものと考えられる。

本研究によって、ゲッ歯目の交尾行動時の超音波発声は音響学的に動物種によって大きな差があることが明らかとなった。また、射精後における超音波発声は全ての動物種に認められるのでは無く、本研究ではラットとシリアンハムスターに認められ、射精前と異なる特異的な発声を示したのはラットのみであった。射精後に観測される 22kHz 発声の生理的意義については

未だ不明な点が多く、本研究によっても交尾後の雄ラットに認められる超音波発声の意義についての明確な解明には至らなかった。しかし、ラットにおいて射精後の超音波発声は交尾相手である雌に対するコミュニケーション信号というよりは、生理的な現象の副産物としての発声である可能性が考えられる。それは、射精後の自らの状態の変化を認知するためのモニターのような役割をしている可能性も考えられる。超音波発声は実験動物ゲッ歯目の交尾行動における生理的・情動的变化を実験者が客観的に評価する有力な指標になることが期待される。射精後の超音波発声の生理的意義を明らかにすることは、交尾行動が雄にもたらすストレスの評価指標になることも期待され、実験動物の繁殖技術の向上にとって重要な研究課題であると言える。今回の研究成果をもとに、実験動物の超音波発声の生理的意義のさらなる解明が求められる。

## 謝辞

本研究の遂行にあたり、親身に熱心にご指導ご鞭撻を頂きました日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科獣医学専攻行動神経科学分野 斎藤徹教授に深く感謝いたします。

また実験にご協力頂きました **Kromkhum Pudcharaporn** さん、日本獣医生命科学大学 獣医学部 比較動物医学教室 室員の皆さんに厚くお礼申し上げます。

最後に、研究生活を支えてくれた妻恵子と子供たちにここにあらためて感謝の意を表します。

加藤雅裕