

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)

学位論文の内容の要約

獣医生命科学研究科獣医学専攻平成 18 年入学

加藤雅裕

(指導教授 斎藤 徹)

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コミュニケーションのツールなどに利用するものが存在している。ヒトが認知出来ない超音波を動物が利用している可能性を最初に指摘し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（Spalanzani, 1799 年）。しかし、その機序の解明は、1938 年のハーバード大学の Pierce 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。Pierce は翌年 1939 年に、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。そして、コウモリ自身が発する超音波をソナーとして用い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。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。その後、社会的に孤立したラットが 23-28kHz の発声をする事、乳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た。以後、ラットとマウスを中心にゲッ歯目の超音波発声の研究が行われ、超音波はゲッ歯目における重要なコミュニケーションツールであることが示唆されるようになった。ラットを例にすると、超音波発声は周波数と持続時間の違いによって 3 種類に分類することが出来る。3 種類とは、新生仔ラットの 40kHz の発声、成体ラットの 50kHz および 22kHz の発声である。新生仔ラットが親あるいは巣から離されると持続時間の短い 40kHz の発声をする。この発声は母親の聴覚に働きかけてリトリビング（巣戻し行動）の発現を促進することで母性行動を円滑に進める効果を持つと考えられている。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。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、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。

実験動物のゲッ歯目において超音波は交尾行動の際にも記録される。雌雄の成体ラットが出会ってから射精に至るまでの間では 50kHz 発声が観測され、射精後には 22kHz の発声が観測されることが報告されている。1972 年 Barfield はこの射精後の低い周波数帯の発声には射精後に雄が雌を遠ざけさせる働きがあるとする仮説を示しているが、その生理的意義については未だ不明な点が多い。

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. 実験動物ゲッ歯目の交尾行動における超音波発声のスペクトル解析

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られ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。

## 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

雄ラットが射精後に示す 22kHz 発声はどんな意味を持つのであろうか。22kHz 前後の周波数帯であるこの射精後の発声は、陰性情動を反映する発声周波数・持続時間に類似している。もし、この音声が発尾後の雌へ向けたコミュニケーション信号であるなら、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事が示された。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 (White(1993)) 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 投与ラットの射精後の超音波発声

それでは、射精後の超音波発声はどのような意味を持つのであろうか。射精をすること自体が、雄における超音波発声を誘発している可能性はないだろうか。この仮説を検証するために薬物による自発射精を誘導させ、雌の存在しない状態における射精後の発声を観察した。実験には *p*-Chloroamphetamine (PCA) の腹腔内投与による自発射精モデルを使用した。観察の結果、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における c-Fos タンパクの発現変化

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むしろ射精後の自らの状態の変化をモニターするための意義があるのではないかとということが予測された。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。