

実験動物としての系統ウサギ(JW-NIBSを
中心として)の生理・薬理学的特性に関する研究

政 岡 俊 夫

1985

実験動物としての系統ウサギ (JW-NIBS を
中心として) の生理、薬理学的特性に関する研究

5

10

政岡 俊夫

15

麻布大学獣医学部 薬理学教室

1 9 8 5

5

10

15

目 次

緒 言	1~4
第 1 章 ウサギの実験用動物としての歴史、使用状況および奨来への展望	5~15
第 2 章 系統ウサギの比較生理学的特性に関する研究	16
第 1 節 Japanese White - NIBS (JW-NIBS) ウサギの年齢差、性差および環境差による生理値の変動	16~39
第 1 項 実験材料ならびに方法	
第 2 項 実験成績	
第 3 項 考 察	
第 4 項 小 括	
第 2 節 New Zealand White - NIBS (NZW-NIBS) ウサギの生理学的特性	40~47
第 1 項 実験材料ならびに方法	
第 2 項 実験成績	
第 3 項 考 察	
第 4 項 小 括	
第 3 節 JW-NIBSウサギと他系統ウサギ (NZW-NIBS, Dutch-NIBS) との生理学的特性の差	48~58
第 1 項 実験材料ならびに方法	
第 2 項 実験成績	
第 3 項 考 察	
第 4 項 小 括	
第 4 節 JW-NIBSウサギと他系統ウサギにおける生化学的特性の差	59~78
第 1 項 実験材料ならびに方法	
第 2 項 実験成績	
第 3 項 考 察	
第 4 項 小 括	
第 3 章 系統ウサギの比較薬理学的特性に関する研究	79
第 1 節 薬理学実験におけるウサギの麻酔方法の再検討	80~95
第 1 項 実験材料ならびに方法	
第 2 項 実験成績	
第 3 項 考 察	
第 4 項 小 括	

第2節	自律神経薬に対する JW-NIBS ウサギの血圧反応の性差 および年齢差	96~102
第1項	実験材料ならびに方法	
第2項	実験成績	
第3項	考察	
第4項	小括	
第3節	自律神経薬に対する NZW-NIBS ウサギの血圧反応の性差 および年齢差	103~108
第1項	実験材料ならびに方法	
第2項	実験成績	
第3項	考察	
第4項	小括	
第4節	JW-NIBS ウサギにおける有機リン系農薬 Rangado の代謝 性および残留量の比較 (性差ならびに年齢差)	109~121
第1項	実験材料ならびに方法	
第2項	実験成績	
第3項	考察	
第4項	小括	
第5節	Atropinesterase (AE) 保有ウサギおよびAE非保有ウサ ギの薬物に対する生体反応差	122~132
第1項	実験材料ならびに方法	
第2項	実験成績	
第3項	考察	
第4項	小括	
第4章	総括	133~146
第5章	総合考察	147~160
第6章	結論	161~166
謝辞		167
引用文献		168~197
Summary		198~208

付図：1~84b

表：1~13

緒 言

近年、獣医学、薬学および医学をはじめとする生命科学の進歩は、それらの研究、実験の場で利用される実験動物に対し、より厳格な規格、精度を求めている〔11, 52, 211, 223〕。

すなわち、生命科学の研究において、最も重要なことは実験材料が均一化され、規準化されていることであり、このことによって研究成果の信頼性をより高めることができるものとの考えに基づくものである〔114, 156, 170, 209, 210, 240, 243〕

また、物理化学領域においては規準化された各種の素材や測定器具が実験の目的に応じて用いられているのと同様、生命科学の研究においても動物実験は独特の手段であり、実験動物はそのための不可欠の材料であると同時に、研究目的に応じて準備されることが実験結果の信頼性をよりいっそう高めることになる〔53, 62, 106, 113, 149, 181〕。

しかし、今日これらの条件を満足しうる実験動物としては、マウスやラットが挙げられ

るにすぎず〔53, 81, 112, 211〕マウス, ラット以外で用いられている実験用動物は, 家畜からの転用あるいは捕獲野性動物であって, 遺伝的および環境的な統御は十分行われていない〔116, 222〕しかも, これらの動物を用いて得られるデータはバラツキの大きいものであり, また, 将来に渡って不変的なデータであるとは言いがたい。換言すればその個体もしくはある群のその時点における状態を表現したにすぎないのであって, 数世代にわたって安定的データとみなすについては疑問視されるものが多い〔15, 115, 117, 201〕しかし, このような現状にあるからといって, 動物実験としては, 遺伝的および環境的に統御されたマウスやラットのみでおこなえば十分であるかといえはそうでない。動物は外的及び内的要因に対する反応性が動物種によって著しく異なることは周知のとおりであり, 1~2種の動物実験で医薬品や農薬などの化学物質の作用及び安全性なども知り得ることはできない。また,

マウスやラットによる動物実験の結果からヒトへの外挿は非常に危険であると考えられる〔114, 134, 171, 209, 243〕そこで、少なくとも数種類以上の動物を用いた実験が必要であり、このことからしても実験動物はマウスやラットのみで十分であるとはいいがたい。今日、実験動物科学分野に課せられた一つの課題はマウス、ラット以外にも数多くの遺伝的および環境的に統御された動物の作出であって、現在ハムスター、モルモットといった動物が実験動物として作出されて来ている〔11, 53, 119〕しかし、これらの実験動物は体型的には小さく、その用途には限界があり、ウサギ、イヌ、サルおよびブタなどといった中、大動物の実験動物化が望まれている。しかし、これらの大部分の動物は、近交系にはほど遠く、一部で実験用動物として何とか使用に堪える状態に家畜からの改良が進んだにすぎない〔116〕。とりわけ、ウサギについては古くより実験用動物として薬理学、毒性学、免疫学あるいは

生理学等の研究に広範囲に使用されているにもかかわらず、いまだに家畜からの転用の域を脱せず、近交系作出がもっとも望まれている動物の一つである〔61, 187〕しかし、ウサギの近交系作出については困難も多く、最近まで国外で2~3の系しかなく〔37, 53〕国内では皆無の状態であった〔212〕。しかし、近年遺伝的にかなり純化の進んだウサギの作出を見るにあたり〔117, 119, 187, 212〕、使用者側の立場から系統、性別、年齢、体重、環境などの一定性を生理学的ならびに薬理的に検討することにより、ウサギの実験動物としての特性を把握し、その特徴を浮き彫りにすることは今後ウサギを用いた実験に基礎的データとして寄与できるものと考へ本研究を実施した。

第1章 ウサギの実験用動物としての歴史、 使用状況および将来への展望

実験用動物としてのウサギの歴史および 使用状況

ウサギとヒトとのかかわりは、ずいぶん昔から知られているが〔60〕、ウサギも実験の対象として用いたのは Claude Bernard の実験医学序説〔187〕や Vienna の獣医であった Schroff (1852年) の *Atropinesterase* の発見〔110〕にみられるように、諸外国では19世紀中頃には、すでに実験に用いられていたことが推定される。その後、ごく最近まで家畜として繁殖されたウサギが実験用に転用されてきていた。しかし、Fox〔61〕の総説にみられるように、アメリカの Jackson 研究所では Castle (1922年) によりウサギの純化の重用性が提言され〔31〕、1930年頃から純化が進められ、Sawin (1929年) によって、ウサギの兄妹交配がはじめられていた〔61〕。このように Jackson 研究所の Sawin

によってはじめられた近親交配は〔61〕, 1970
年代 Chai〔35〕や Cohen〔38〕により継承され,
今日, 多くの突然変異株や近交系を保持する
ようになっていいる〔61〕。そして, Jackson 研
究所ではウサギの持つ特性として, ①実験室
で相当数飼育できるほど十分に小さいが, 外
科的処置が容易に施せるほど十分に大きく,
②組織や血液を比較的大量に集めることが可
能であり, ③耳の末梢血管がよく発達し, 繰
返し採血や静脈内注射が可能であること, ま
た, ④排卵が自然に周期的に起こるのではな
く, 刺激によって誘発されることなどを明ら
かにして以来, 医学, 生物学などの幅広い分
野で実験動物として用いられるようになった
〔61〕。ウサギはまた, 発熱試験や催奇形試験
などの検定用動物としても適しており, 米国
では1966年の1年間に約26万匹が使用されて
いる〔94〕。このほか, 免疫学の分野では免疫
グロブリンのアロタイプが均一である Jackson
研究所の近交系ウサギが重宝されており〔187〕,

これに匹敵するウサギはまだ開発されてい
ない(61)。このように米国では、Jackson 研
究所のような大きなウサギコロニーを有する研
究機関があり、多くの研究者にとって非常に有益
な存在となっている。

一方、我が国においては、実験用ウサギに
関する総説的な論文は、稲吉(1952年)(95)が最
初であると思われるが、ウサギが近代医学、
生物学の実験の対象となったのは1928年頃と
考えられている(守東)(206)。それ以前はウ
サギは主として養兔(毛皮や食肉用)として
飼育されていた(165)。1800年代には産業用と
してのウサギの研究や改良が盛んにおこなわ
れているが(165)、実験用としてのウサギの需
要が多くなったのは、1950年頃からである(165)。
しかし、この時期における実験用のウサギは
いずれも家畜からの転用にすぎず、この形態
はそのまま現在に至っている。その間、ウサ
ギの使用量は増加し、1956年は71,762匹(17)、
1960年には約2倍となり164,714匹(160)、

1970年はほぼ同数の152,917匹[232]となっている。また、1975年の調査では、ウサギの使用量は184,371匹[222]とやゝ増加している。このようにウサギは実験用動物としてマウスやラットに次いでモルモットと同程度使用されている[222]。一方、米国の1966年の調査では[94]、ウサギは363,288匹と日本の同時代の約2倍以上のものが使用されている。また、観点を改めてマウスの使用量に対するウサギの使用量の割合をみてみると、日本が6.7%に対し、米国は約2%となっており、実験用動物としてウサギが用いられている割合は日本の方が高くなっている。実験用動物としてウサギを用いている多くの研究者は、ウサギの純化の必要性をとらえているが[115, 200, 240]、我が国でSib.交配で20代に達したのはわずかに1系統であり[212]、実験用動物としてのウサギの純化の現状は、米国に比べれば、はるかに遅れている。

実験用動物としてのウサギの純化の状況
諸外国において家兎の家畜化がみられるよ
うになったのは、1900年代に入ってからであ
り、主としてこれらは食肉用として生産され
てたうちの一部分が研究用として利用されてい
た(31, 61, 62)。しかし、生物医学的研究が複
雑になるにつれて、ウサギはこの分野の研究
に供試される実験用動物として一段と重要な
存在となった(36, 32, 35, 48, 99, 178, 214)。しかし、
マウスやラットが高品質の動物として生産さ
れるための実際の方策を生産者が種々研究し
てきた(53, 82, 85, 143)にもかかわらず、ウサギ
については、この方面に関する新知識の吸収
に、不断の努力を払っていたとは考えがたく
(60)、したがって、飼育されているウサギ
が最適な条件下に置かれているとは考えられ
なかった(36, 84)。そこで、ウサギを供試す
る研究者らの必要性と希望によって(61, 182)、
1930年代の初め頃から、種々な程度の近親繁
殖が実施されてきた(61, 62, 33)。しかし、そ

の初期には系統ウサギの特徴を明らかに示し得るものはなかったが〔35〕、その後、Jackson 研究所が維持するウサギのなかで突然変異を示した個体がコロニーとして固定され、それらの生理学的特徴が報告されて以来〔61, 63, 64, 65, 68〕、系統ウサギとしてそれらが維持され、それぞれの系統ウサギの遺伝的特徴がほぼ把握されている〔40, 44, 66, 67, 71, 123, 185〕。

しかしながら、今日なお、近交係数が 100% に近いウサギは 2, 3 の系統しか作出されていなく状態である〔37, 61〕。一方、我が国においては、1950 年に初めて安東〔15, 16〕が使用者側の立場から、実験用ウサギについての考えも、血清・ヘモリジン用としては体重当りの血清分離のよいもの；発熱試験、薬品の検査用としては取り扱いやすく、飼料も少なくてもすむ小型のもの；感染実験用としては小さくてもよいが感受性のよいものと述べており、その後、横井ら〔241〕が発熱試験におけるウサギの条件について見解を述べ、

また、保坂〔92〕は1952年に自家生産したウサギコロニーの成績について報告している。しかし、これらは全て家畜から転用されたウサギを基準としての考えや成績であり、遺伝的な背景は問われていない。我が国では遺伝的に統御されたウサギの生産は1964年日本生物科学研究所（東京）において初めておこなわれ、それまで維持されていたコロニーの閉鎖集団からメス、オス各10匹を選抜し、積極的な選抜を繰り返しながら繁殖が実施された〔220〕。しかし、その繁殖過程においては、初期の代目までは、体型の大きさにバラツキがみられたり、また、6～8継代に至って産匹数の減少が認められたり、さらに10継代前後で死滅する系も出現したが〔115〕が、現在ではNW-Nibs (Newzealand-Nippon Institute for Biological Science) およびDutch-Nibs (Dutch-Nippon Institute for Biological Science) で16～19代まで来ており、JW-Nibs (Japanese White-Nippon Institute for Biological Science) では

18~20代にまで達している〔220〕。これらの各NBS系統は遺伝的にもしっかりとしており、また、これに関する報告も認められるが〔7, 232〕、この他にも我が国にはいくつかの系統ウサギの有ることが知られている〔212〕。

例えば、日本白色種由来のTokyo-D(武田研究所)やJW-Cok(中外総研)、また、ミュータントとしてはWHHL-Rabbit(神戸大)などが挙げられる。しかし、それらのウサギに関する詳細な報告はまだみるに至っていない。

ウサギの実験動物としての有用性および将来への展望

ウサギは実験用動物としては古くから使用されており、マウスやラットなどの小動物とイヌやサルなどの中動物の間にある実験動物として、今後もその存在価値はますます大きくなっていくと考えられる〔115, 222〕。しかし、一方では動物の福祉、不必要な実験を避けるため、あるいは動物の苦痛をできるだけ取り

除くために実験動物の代替技術の発達を考えねばならない。我々は獣医学が動物の生命に対する畏敬の倫理を踏まえつつ、ヒトの健康を維持するために動物実験を介して貢献していかなければならないとするならば、動物の犠牲は必要最小限度にとどめるべきであって、そのためには科学的な動物実験を進めるといふことが基本となろう。このような観点にたてば *whole animal* としてウサギを使用する場合も生じてくるであろうが、その場合、品質の良いウサギを用いることが、取りも直さず科学的な動物実験を遂行することになる。現在、動物実験に使用されているウサギは、週齢とか月齢の区分ではなく、体重とか成熟または妊娠可能とかいった区分が規格となって取り引きされている〔91〕。研究、検査、検定などの場におけるウサギの各種の反応性には体重ばかりでなく *age-factor* も大きく影響することをも考えると〔91, 123, 127〕、マウスやラットの様に遺伝的、病因的ならびに環境的

にコントロールされた近交系の作出が望まれるし、ウサギがこのように実験動物化されることにより価値ある存在となり得る。実験用動物として我が国におけるウサギの使用は1940年前後から始まったが、以来、約50年経過したにもかかわらず、マウス、ラットのよ
うに数多くの近交系はいまだ作出されておらず〔208, 232〕、ウサギの近交系を作出することの困難性を窺わせる。しかし、この間、ウサギを用いた実験は増加の一途をたどり、今やマウス、ラットにつき実験用動物としての重要性が認められている〔107〕ものの、用いられているウサギは純系が少なく、その結果においてバラツキの大きいものとなっており、データそのものも不変性のあるものとは言えない状態である〔200〕。このような現状にあ
って、ウサギの実験動物化はますます重要な課題となっており、一日も早く純系の作出が望まれている。

以上この章では、ウサギの実験用動物とし

ての歴史、使用状況および将来への展望として文献的に考察したが要約すれば

1) ウサギは実験用動物としては、1900年代より、頻繁に用いられるようになった。

2) ウサギの近交系作出は諸外国、とくに米国では1900年当初よりおこなわれている。

3) 我が国における近交系作出は1960年代より開始されている。

4) ウサギの近交系は、外国でも2~3の系統しかなく、我が国でもまだ1系統しか確立されておらず、近交系作出の困難性が窺える。

5) 実験動物としてのウサギの重要性は、マウス、ラットに比し低く、使用者側の立場から、近交系の作出が望まれている。

第2章 系統ウサギの比較生理学的特性に関する研究

ウサギは実験用動物としてマウスやラットに次いで数多く使用されているにもかかわらず、なおその大部分は遺伝的、病因的ならびに環境的に十分統御されておらず、このことは実験成績などに大きなバラツキを生じる要因となっている。このことから、ウサギの遺伝的、病因的ならびに環境的統御が望まれていたが、近年、我が国でも純化の程度の高いコロニーや系統ウサギなどが作出されてきた〔220〕。この章では、これら日本で開発された系統ウサギの生理学的特性について、使用者側の立場から電気生理学的な手法により、系統、性、年齢および環境などの一定性を比較検討し、系統ウサギの「実験動物」としての特徴を浮き彫りにすることを目的として研究を進めた。

第1節 JW-NIBS (Japanese White - Nippon Institute for Biological Science) ウサギの年

年齢差, 性差および環境差による生理値の変動
JW-NIBS ウサギは, 財団法人, 日本生物科学研究所(以下日生研と略す)において,
1965年に日本白色在来種から生産コロニーを
5 確立して以来, クローズドコロニーとして繁殖維持されているものである。この節では,
JW-NIBSの成長に伴う体重, 体温, 心拍数および呼吸数の経時的変化と血圧値を測定するとともに,
10 飼料や飼育場所の環境差による生理値の差も併せて検索した。

第1項 実験材料ならびに方法

1. 給与飼料量の差による発育の比較

飼料供給量の差による成長度合の実験では,
自由採食群は雄, 雌とも各8例, 制限採食群
15 は雄16例, 雌14例を用いた。飼料給与量の違いによる体重増加の推移を検討した実験では
1週齢より20週齢まで毎週1回体重を測定した。なお, 体重の測定は, いずれの場合も,
朝の給餌前におこなった。

2. Aging にもなる生理値の変動

被験動物として、純化の程度の高い JW-NIBS
(1965年よりクローズドコロニーで繁殖)ウ
サギ雄、雌を用いた。成長に伴う生理値の経
時的変化の測定には、日生研より導入した数
匹ずつの雄、雌の JW-NIBS ウサギを麻布大学薬
理学教室で繁殖出産させた2代目のものを使
用した。雄は1週齢より12か月齢までは16例、
13か月齢以降は8例、また雌は、20週齢まで
は14例、21週齢以降は8例であった。成長に
伴う生理値の測定実験では、観察間隔は生後
1週齢より25週齢までは毎週1回とし、25週
齢以後26か月齢までは1か月毎に、また、26
か月齢から60か月齢までは3か月毎に測定し
た。

3. 血圧の年齢差および性差

血圧の測定には以下に示す JW-NIBS ウサギ
を各月齢の雄、雌5匹ずつ、計50匹を日生研
より導入して用いた。すなわち、①心拍数の
うえに変動期のみられる2か月齢、②体重増
加度合が緩徐となる時期および各臓器の体重

比が一定となる時期の4か月齢，③催奇(形)
成試験に用いられている時期の6か月齢，④
体重の増加がプラトーとなる時期および繁殖
適期とされている8か月齢，さらに⑤12か月
5 齢のものを加えた。また，高年齢(22か月齢
から30か月齢) JW-NIBS ウサギについても血
圧を測定した。

4. 環境差による生理値の変動

飼育環境差における呼吸数，心拍数および
10 体温の比較をおこなった実験では，本学当教
室の飼育室(日本クレア製 CR-2 固型飼料)
を A 所と呼び，日生研小沢沢動物研究所(日
生研製 NRT-1 固型飼料)を K 所とし，A 所お
よび K 所で，それぞれ別途に飼育管理された
15 JW-NIBS の1か月齢から6か月齢までのもの
(K 所では各月齢雄，雌とも20匹，A 所では
雄各月齢16匹，雌では5か月齢まで14匹，6
か月齢8匹，合計44匹)を測定の対象とし
た。

5. 測定方法

本項での実験に使用した材器は、一括して Table 1 に示した。心拍数は家畜心電図研究会の申し合わせによる A-B 誘導法により、呼吸数は胸部の運動と圧変化にかえて記録した。体温はサーミスタ-体温計を用い、1週齢では約 1 cm, 2~4 週齢約 2 cm, 5~8 週齢 4 cm, 9 週齢以降は約 6 cm の深さに挿入して直腸温を測定した。保定は無麻酔背位保定とし、保定 15~20 分後に測定を開始した。

血圧の測定は、観血法にておこなった。すなわち、Urethane 1,800 mg/kg (i.v.) 麻酔下にて、大腿動脈にカニューレ-ションをおこない動脈圧を測定した。

飼育環境条件はとくにことわらない限り、温度 $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $57 \pm 7\%$ であり、飼料は 1 日約 120 g の制限給餌とし、水は自由に飲水させ、観測は原則として午前 10 時から午後 2 時までの間で実施した。

なお、飼育環境差での実験の K 所の観測時の温度は $26 \pm 3^{\circ}\text{C}$ で、湿度はとくに測定しな

かったが、ヒトには涼しさが感じられ、比較的快適な気候であった。

実験期間を通しての離乳は、生後5週齢の測定が終了した時点で実施した。

第2項 実験成績

1. 給与飼料量の差による発育の比較

生後1週齢から20週齢における自由採食（生後1～3週母乳、3～5週母乳・野菜、日本クレア製CR-2固型飼料、5週以後同固型飼料のみ）での体重増加曲線を、雄（8例）は、Fig. 1に、雌（8例）はFig. 2にそれぞれ黒丸で示した。両性とも18～19週齢頃より発育は緩徐となり、20週齢ではいずれも平均で、2.8～3.0 kgの値であった。また、同時に測定した採食量および飲水量の推移をFig. 3に示した。採食量は雄、雌とも5週齢の時点で約50gであったものが、以後漸次増加して10週齢以降はおおむね120～150gの値であった。また、飲水量も12週齢でほぼプラトーとなっている。

このとき、ウサギは過肥の状態であったことから、同飼料を用いて1日80～120gを2回に分けて給与する制限採食をおこなった。その結果を雄はFig. 1に、雌はFig. 2に△印で自由採食群に対比させて示した。雄、雌とも自由採食群に比べ、制限採食群は7週齢頃より体重の増加割合に抑制がみられ、12～13週齢から両者の間に有意の差($P \leq 0.05$)がみとめられた。また、20週齢の時の体重は雄、雌とも2.3～2.5kgの値であり自由採食に比べ約0.5kg抑制されていた。しかし、発育割合が緩徐となる時期は18～19週頃からであり、発育推移は自由採食群との同様のパターンを示している。また、これら制限採食群は、20週齢の時点で自由採食群に認められたような過肥はみられなかった。この結果より、今後の実験においては、ウサギの過肥を防止するうえからも全て1日約120gを2回に分けて与える制限給餌とすることとした。

2. 成長に伴う生理値の変動

発育曲線：制限給餌（離乳後から8週齢までは1日約80g，9週齢以降は120g）をおこなったJW-NIBSウサギの1週齢から60か月齢（雄，5年）あるいは42か月齢（雌，3.5年）までの発育に伴う体重の増加曲線をFig. 4に示した。両性とも18～19週齢までは急激な増加傾向を示したが，20週齢以後は緩徐となり体重は7～8か月齢でプラトー（雄2.6～2.8kg，雌2.7～2.9kg）となった。7～8か月齢以後の体重は，バラツキも極めて小さく安定しているが，雄において54か月齢以降やや減少傾向がみとめられた。また，Fig. 5には2，3，4および5年齢の各年齢時に10日間にわたって自由採食させた場合の1日当りの平均採食量および飲水量を示してある。採食量は2年齢では両性とも120～150g/dayであったものが，3年齢以降，採食量は100g/day以下に減少した。一方，飲水量においても，加齢に伴ない採食量と同様減少傾向がみとめられた。

発育過程における心拍数の変化：Fig. 6に

発育に伴う心拍数の変化を平均値と標準偏差
で示してある。雄、雌いづれも1~6週齢ま
では、心拍数の増減がみられるものの、290~
310回/分と比較的高い値を示していた。7週齢
以降20週齢までは減少傾向を示した後、心拍
数は平均値で240~280回/分と比較的安定した値
で推移していた。このように心拍数のうえに
は6週齢から7週齢にかけて、また、20週齢
頃に変動期が存在するようである。なお、加
齢にともなって両性とも測定値のバラツキが
大きくなっていく傾向を示した。

発育過程における呼吸数の変化：Fig. 7に
示すように雄、雌とも生後1~2週齢では、
平均呼吸数は60~90回/分であったが、発育に
伴ない漸次増数し、9~13週齢では毎分あた
り約200回にまで増加した。9~13週以降に
おいては呼吸数の測定値は200回/分を中心に、
バラツキのある不安定な状態で推移している
が、雌においては10か月齢以後、緩やかな減
少傾向が認められ、この傾向は42か月齢まで

持続した。一方、雄では42か月齢から減少傾向を示し、60か月齢の時点では約70回/分の値を示した。なお、呼吸数の測定値は、いずれの時点でもバラツキが大きくなっているが、これは測定中のウサギに保定によるTensionがかかった結果であり、得られた測定値は正常値といえるものではないと考えられる。何故なら首枷による軽い保定あるいは無保定で胸囲用ピツクアップを用いた測定においても同様の結果であり、また無保定ケージ内での目睹観察においても、起立状態にあるときは、ほぼ同様の値であったが、一方、横臥位の安静時、しかも約1m以上離れた位置からの観察においては50~60回/分の値が測定できたことから考察できる。したがって、無麻酔ウサギで呼吸数を観察の対象とする実験には、大きな問題が残されているといえよう。なお、測定中深呼吸は1分間に約1回の割合いでみられるものが比較的多いようであったが、個体によるバラツキが大きく必ずしも断言できない

い。

発育過程における体温の変化：体温の変化を Fig. 8 に示した。両性とも 1~2 週齢は、体温が低くバラツキも大きくなっている。しかし、3 週齢以降は平均値で 38.0°C 台を示し、雌では 42 か月齢まで、雄では 57 か月齢まで安定した値で推移している。しかし、雄の 60 か月齢になるとやや体温の低下が認められた。

3. 血圧の年齢差および性差

Fig. 9 ~ 11 に JW-NIBS の 2, 4, 6, 8 および 12 月齢の平均血圧、収縮期血圧および拡張期血圧を平均値と標準偏差で表わしてある。また、生後おおむね 3 年に達したものを高年齢ウサギ（雄では 58 ~ 83 か月齢、雌では 32 ~ 83 か月齢のものを使用）として 1 群にまとめ平均値を求めた。なお、高年齢ウサギの数と月齢は、雄では 58 か月齢 3 例、75 か月齢 1 例、80 か月齢 3 例および 83 か月齢 1 例の計 8 例であり、雌は 32 か月齢 10 例、42 か月齢 4 例、49 か月齢

1例, 58か月齢1例, 61か月齢3例, 65か月
齢1例および83か月齢1例の計21例である。

平均血圧は, Fig. 9 に示すように各月齢お
よび雄, 雌において有意の差は認められず,
5 平均値で約 100 mmHg 前後を示した。しかし, 雌
(82~83か月齢) および雄の高年齢群(58~
83か月齢) においてはいずれもバラツキの大
きくなることが観察された。

収縮期血圧の平均値 (Fig. 10) は, 各月齢を
10 通して雄では 121~147 mmHg, 雌では 135~158
mmHg の値を示し, いずれもバラツキが大き
くなっていった。このように年齢による差および
性による有意の差は認められなかった。

一方, 拡張期血圧は Fig. 11 に示すように,
15 雄, 雌とも各月齢において平均値で約 80~90
mmHg とおおむね同じ値を示していた。

なお, これらの数値をまとめて Table 2 に示し
てある。一方, Fig. 12, 13 および 14 には高年
齢 JW-NIBS ウサギ, 雄, 雌の血圧値を個体別
に示してみた。すなわち, 平均血圧 (Fig. 12)

および収縮期血圧 (Fig. 13) は両性において、
拡張期血圧 (Fig. 14) は雄において、加齢に伴
い血圧の低下する個体が認められた。このこ
とが高年齢群 (58 ~ 80 か月齢) の値のバラツ
キの大きな原因となっている。

以上のように、JW-NIBS ウサギの2か月齢
から12か月齢までの雄、雌の血圧値はいずれ
もほぼ同じ値であり、月齢差や性差は認めら
れない。一方、高年齢 (82 か月齢 ~ 83 か月齢)
ウサギでは、血圧値の低下する傾向が認めら
れると同時にバラツキが大きくなってくるが、
とくに雄に顕著に認められた。

4. 環境差 (飼料を含む) による生理値 (呼吸 心拍数, 体温) の変動

飼育環境ならびに飼料の違いが、呼吸、心
拍数および体温などの生理値にどのような影
響を及ぼしているかを検討した。その結果を
Fig. 15 (雄) ならびに Fig. 16 (雌) に示して
ある。グラフ中の○印は日生研小沢動物研

究所 (K所), Δ 印は麻布大学薬理学教室の
実験動物室 (A所) を表わしており, K所の
観測時の温度は $26 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 湿度は測定をしな
かったが, 人間には涼しさが感じられ, 比較
5 的快適な気候であった。一方, A所は本学実
験動物室であり, 温度 $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $57 \pm 7\%$
の環境下にある。また, K所の飼料は日生研
製 NRT-1 固型飼料であり, A所では日本クレ
了製 CR-2 固型飼料でそれぞれ飼育された JW-
10 NIBSウサギである。

K所とA所の環境の違いによる呼吸数およ
び心拍数の比較は, 両性ともとくに両者の環
境差は認められなかったものの, K所 (高温
環境下) ではややバラツキが大きくなってい
15 た。他方, 体温では雄の 3, 5, 6 か月齢, 雌の
3, 4, 5 および 6 か月齢において, K所がA所
に比べ高い体温を示していた ($P \leq 0.05$)。こ
れは, K所では環境温度が $26 \sim 29^{\circ}\text{C}$ と高い範
囲での測定であり, A所では $19 \sim 23^{\circ}\text{C}$ と比較
的適温環境下での測定による環境温度差に起

因するものと考えられる。このことは、同じ
K所でも1, 2か月齢(雄, 雌)を測定した時
の温度条件は23~25℃, また4か月齢の雄で
は24~26℃であり, A所との温度差が比較的
小さいことに起因して, これらの月齢の両者
にはとくに体温の差が著しくあらわれていな
いことからも頷けることである。なお, 体重
は両性とも, A所およびK所で著しい差は認
められず, とくに飼料を含む環境の違いによ
る発育への影響は認められなかった。

第3項 考察

JW-NIBSウサギの発育曲線は, 給餌形式(自由採食と制限採食)により, 体重の増体量には差がみられるものの, その増量パターンには差がないことから, また, 自由採食させることにより明らかに過肥状態になることを考えると JW-NIBSウサギにおける1日120g給餌という制限給餌方法は適当と考えられる。この制限給餌で飼育した JW-NIBSウサギの発

育曲線は、生後1週齡から18~19週齡にかけて急激な増加パターンを示し、その後増加度は緩徐となり、7~8か月齡でフラットとなっている。このことはJW-NIBSは体重のう
5 えから18~19週齡でほぼ成熟期に達したものと考えられる。大塚ら〔118〕はJW-NIBSウサギの体重に対する実質臓器重比において、4か月齡と12か月齡とでは差のないことを報告し
ており、体重における変動期が4か月齡頃に
10 存在する我々の成績と一致する。また、その後の緩やかな増加は、生殖器系、内分泌系器官の発達する時期に相当している〔118〕。JW-NIBSウサギの起源となっている日本白色種ウ
サギでは一般に、4~5か月齡で成熟期とな
15 り、交配適期は8か月齡頃とされている〔199〕
が、JW-NIBSウサギの発育曲線はこれらのことをよく反映しているといえる。ウサギの発育
曲線に関する報告は、古くからみられる〔206〕
が、発育は飼料や飼育環境などにより影響を受け
るので、単純に比較することはできない。

そこで、飼育条件などが明確にされている保坂（日本白色種ウサギ）〔92〕および辻（日本白色種を起源とする JW-Csk ウサギ）〔219〕の報告と著者の成績を比較してみると、これらの報告はその観察期間が12～13週と短いものの、いずれも4週齢頃より、急激に体重の増加がはじまり、12～13週齢の時点でもまだ増加傾向にあり、しかも雌、雄の発育には差がこの時点では認められておらず、この年齢までの JW-NIBS ウサギの発育パターンと類似している。なお、日本白色種ウサギの長期間にわたる観察成績の報告はみあたらない。他の品種では NZW 種〔10, 215〕や Dutch 種〔74, 96〕に関する報告があり、これらの観察では、品種の差を問わず、いずれも14～15週より雌雄差が見られ、雌の体重が雄のそれより有意に大きくなっていく。また発育曲線は、20週齢頃に緩徐となっている。この変動は、品種の差はあるものの、JW-NIBS ウサギにおいても同様の変動パターンを示していた。（15～16週齢頃よ

り雌が雄より有意に体重が大きくなり、18～19週齢に両性とも増体重は緩徐となる)。著者の長期にわたる成績ではさらに7～8か月齢で体重がフラットとなることを観察している。このようにウサギの発育曲線においては、大きい2つの変動期が存在するようである。

ウサギの固型飼料の摂取量は、体重により差があるものの、中型種で1日150g前後〔198〕とされており、JW-NIBSウサギにおいても、10週齢以降は雄、雌ともほぼ1日150gくらいであった。また、飲水量もこれまでに報告〔158, 198〕されている300ml/dayとほぼ同様であった。しかし、3年齢以降は1日の飼料摂取量が100gと減少しており、また飲水量も減少し、加齢によるこれらの摂取量の低下が認められた。これに伴ない体重の減少が認められている。

心拍数、呼吸数および体温は、発育に伴ない変化がみられ、とくに体温においては、生後3週齢、呼吸数は13週齢頃、心拍数は20週

前後でそれぞれの値が安定する時期が存在している。

ウサギは Pyrogen Test [161] に用いられることからウサギの直腸内体温に関する多くの報告がみられる [121, 205, 234, 242]。著者の成績、すなわち JW-NIBS ウサギの体温は3週齢以降においては、ほとんど全てのウサギが Pyrogen Test の規定 [161] に合致している。なお、生後1, 2週齢で低い値を示したのは、測定時に母親から離され、室温22°Cの影響を受けたものと思われる。これは成熟動物の直腸体温は、環境温度の影響を受けにくいとされている [102, 167, 188] もの、新生児は逆に、敏感に環境の影響を受けることから [30]、直腸体温は低下したものと考えられる。また、ウサギの体温の推移は、1又のそれにみられるように、出生後加齢に伴ない上昇し、最高値を示した後低下して、成犬時の安定した体温を示すというような変動パターン [1] は認められなかった。

JW-NIBS ウサギの呼吸数は、強制背位保定での測定としたために、これまで報告〔42, 83, 138〕されているいづれのウサギの呼吸数よりはるかに大きい値となった。成書〔2, 206〕などに記載されている呼吸数は、無保定安静時のみで観察でき、今後、ウサギの呼吸数を指標とする実験においては測定方法を一考する必要がある。

JW-NIBS の心拍数は、生後 8 ~ 9 週齢より経時的に比較的緩慢に減少し、18 ~ 19 週齢で安定した値に達している。Mott〔152〕の報告でも、生後 8 週齢頃までは不安定な状態を示し、9 週齢以後 20 週齢までは減数し、その後 300 回/分前後で安定した値を示している。このように、ウサギの心拍数には 8 ~ 9 週齢頃に第 1 の変動期を示し、次いで心重量が安定する 20 週齢以後〔118〕に心拍数も安定した値となるようである。このような変化は、ウサギのみならずラット〔162, 163〕、ウズラ〔5〕、およびニワトリ〔4, 6〕においても同様に観察され

ている。また、このように無麻酔での動物の生理値の観察は、*handling* の強い影響を受けることが知られており〔23, 51, 59, 131〕。今回の JW-NIBS ウサギにおいてみられた呼吸数の不安定さや心拍数のバラツキの大きさはこの影響によるものと考える。一方、環境条件の差による生理値の違いは、直腸体温においてのみ認められているが、直腸温は短時間内の環境温度の変動にはさほど影響を受けないことが知られており〔102, 167〕。著者の成績はもともと環境温度のちがう所で長期間飼育された時、その環境温度に適応した直腸温を示すということがいえる。このことから、ウサギの体温に関しては飼育環境温度を十分考慮する必要があると考える。武藤ら〔155〕は、飼料の違いがウサギの生理値、とくに体重曲線、体温動揺、発熱度において固型飼料はわかにかに良い影響を与えていると報告している。著者の成績でも飼料の差が生理値に及ぼす影響はほとんどないものと考える。

Urethane 1,800 mg/kg (i.v.) 麻醉下での JW-NIBS
ウサギの血圧値には年齢および性により差は
みられなかった。 Fox ら [70] はこの系統ウサ
ギの血圧を測定した結果、系統の違いにより
5 血圧値に差はあるが性差のないことを報告し
ている。 また、 Motz は [152] 生後1日齢から
30日齢までの血圧を測定し、加齢により血圧
の上昇を認めているものの、30日齢の血圧値
は成熟ウサギと差のないことを報告している。
10 今回の JW-NIBS ウサギの成績は2か月齢以上
での比較であり、その結果血圧値には差がみ
られなかったものと考える。 また、高年齢ウ
サギ (83か月齢) では血圧の低下が認められ
たが、これはウサギの寿命までほぼ生存して
15 いることから、生体の生理機能全体が低下し
た現われと推察する。 Urethane 麻醉下での JW-
NIBS ウサギの血圧値は、無麻醉下でのウサギ
の血圧値 [70] (観血法) とほとんど変わらな
かった。 このことからいえば、Urethane 麻醉
の影響をあまり強く受けていないと考えられる。

第4項 小 括

JW-NIBS ウサギの生理値における年齢差、性差および環境差を検討した結果は次のとおりである。

1)、固型飼料の摂取量は1日平均150g前後であるが、ウサギは明らかに過肥の状態を示していた。しかし、3年齢以後の高齢になると減少傾向が認められた。

2)、飲水摂取量は1日約300~400mlであるが、3年齢以降、摂取量は減少する。

3)、制限採食(1日120g)では自由採食に比べ20週齢で両性とも約0.5kg体重が下廻っていた。しかし、発育曲線の推移には差が認められない。

4)、発育曲線：体重増加曲線は両性とも18~19週齢より緩徐となり7~9か月齢からは体重の増加度合はプラトーとなる。

5)、心拍数：発育過程において雄、雌とも8週齢から9週齢(2か月齢)にかけて1つの変動期がみとめられ、20週齢前後に第2の変

動期として、心拍数が平均で230~280回/分と安定する時期が存在する。しかし、加齢と共に心拍数の値はバラツキが大きくなってくる。

6), 呼吸数: 両性とも測定値のバラツキが大きく、保定による著明な影響が考えられる。

しかし、傾向としては生後11週目まで増加を示し、20か月齢以降は減少傾向を示した。

7), 体温: 3週齢以降平均値は38℃台で安定し、しかもほとんど全ての成熟個体が38℃台を示した。

8), 血圧値: Urethan麻酔下でのJW-NIBSウサギの2か月齢から12か月齢までの血圧値はほぼ同じであった(平均血圧91~107 mmHg,

収縮期血圧121~146 mmHg, 拡張期血圧77~91 mmHg, 脈圧約55 mmHg)。しかし、高年齢ウサギでは32か月齢から83か月齢の測定値にはバラツキが大きくなると同時に血圧値は低下する傾向を示した。

9), 各種生体現象における環境差は体温においてのみ飼育環境温度の影響が認められた。

第2節 NZW-NIBS (New Zealand White-Nippon Institute for Biological Science) ウサギの生理学的特性

NZW-NIBS ウサギは米国 Jackson Lab. で実験用ウサギとしてある程度純化され、血縁係数 (R) 77%、成体重 2.8 kg と小型化された系統Ⅱを日生研が 1967 年に雄、雌それぞれ 1 匹も入手し、ランダムブリードで現在に至っているものである。この節では、このウサギの血圧値、心拍数、呼吸数および体温などを、前節と同様の方法で測定観察した。

第1項 実験材料ならびに方法

動物：実験に供したウサギは日生研より提供された NZW-NIBS ウサギ 年齢 2, 4, 6 および 8 か月齢で、雌、雄それぞれ 10 匹ずつとした。

方法：使用装置ならびに実験手順は前節と同じ方法でおこなった。すなわち、心拍数、呼吸数および体温はウサギを背位に保定し測定をおこなった。これらの生体现象を測定後、Urethane 1.800 mg/kg (i.v.) にて麻酔をおこない、

前節の JW-NIBS ウサギの血圧測定法に準じて
大腿動脈にカニューレーションをおこない、
平均血圧、収縮期血圧および拡張期血圧を測
定した。

第2項 実験成績

Fig. 17~19 には平均血圧、収縮期血圧およ
び拡張期血圧を各月齢ごとに平均値と標準偏
差で示した。NZW-NIBS雄の平均血圧は2か月
10 齢および4か月齢では約80 mmHgであつたもの
が、6か月齢では90 mmHg、8か月齢になると
95 mmHg と加齢に伴ない上昇する傾向が認めら
れた。一方、雌では2か月齢の80 mmHg から加
齢に伴ない漸次上昇し、8か月齢では雄と同
15 様の95 mmHg の値を示した。収縮期血圧は両性
とも、2および4か月齢は、105 mmHg 前後で
あつたが、6か月齢および8か月齢には124~
136 mmHg と成長とともに上昇傾向を示した。
また、拡張期血圧においては著明な変化はみ
られなかつたが、雄、雌とも傾向としては加

齡に伴ないわすかに上昇を示していた(2か月齡の約70 mm Hg から8か月齡の79 mm Hg)。Table. 3にはこれらの血圧値を一括して示してある。Fig. 20~23 および Table. 4 には、これら NZW-NIBS ウサギの体重、心拍数、呼吸数および体温を示した。体重は両性とも2か月齡で平均1,100 g 前後、4か月齡で平均1,800 g および6か月齡の平均2,500 g 前後と急激に増加しているが、8か月齡になると2,500~2,600 g と6か月齡の体重に比較して大きな差は認められなかった。心拍数(Fig. 21)は雄、雌とも2か月齡から4か月齡にかけて平均値でやや減少が認められるが、いずれにしても各月齡における平均値は240~260 回/分の値の範囲内にあり、月齡差および性差は認められなかった。呼吸数(Fig. 22)は加齡に伴ない増加する傾向が雄、雌とも認められたが、2か月齡の雄を除き、いずれの月齡とも測定値のバラツキが著しく大きかった。体温(Fig. 23)においては、両性とも、いずれの月齡も平均で39.5~39.8°Cを示

し、性差、年齢差は認められないが、体温はやや高い傾向を示していた。

このように NZW-NIBS ウサギでは、血圧値は性差が認められないものの月齢差（両性とも）が認められた。また、体重や心拍数、呼吸数および体温では性差および年齢差は認められなかった。

第3項 考 察

ウレタノ麻酔（ 1.800 mg/kg , i.v.）下での NZW-NIBS の血圧値は、両性とも加齢に伴ない上昇傾向が認められ、JW-NIBS とは異なった結果であった。Mott (152) はウサギの品種や系統を明らかにしていはいないが、ウサギは生後30日齢までは成長に伴ない血圧上昇を示し、30日齢以後は成熟ウサギとほとんど差のないことを報告している。しかし、今回測定した NZW-NIBS は明らかに2か月齢と8か月齢とでは、平均血圧および収縮期血圧に有意の差（ $P \leq 0.05$ ）があり、月齢差のあることが認められた。ま

た、NZW-NIBS は米国 Jackson 研究所の系統Ⅲ
 を起源とするものであるが〔220〕、Foxら〔70〕の
 報告する系統Ⅲを起源としたⅢ_{mo}系やⅢ_c系の
 ウサギの血圧値と比較すれば、NZW-NIBSの8
 か月齢の方がやや高い値であった。このよう
 に、JW-NIBSの著者の成績やMott〔52〕、および
 Foxら〔70〕の報告を考慮するとウサギの加齢に
 ともなう血圧の変化には品種差や系統差の存
 在することが窺われる。また、Foxら〔70〕もウサ
 ギの血圧には系統差のあることを指摘してい
 る。このことは、今後ウサギの血圧を指標と
 して実験をおこなうとき、その系統の特性を
 充分知っておく必要がある。一方、NZW-NIBS
 の体重では、2か月齢から6か月齢にかけて
 急激に体重が増加する時期にあたるが、6~
 8か月齢では体重はほぼ一定となり、平均で
 2.5~2.6kgを示しウサギとしては小型のもの
 に属する。通常NZW種は中型に分類されてい
 るが〔206〕、NZW種を起源として、実験用ウサギ
 として開発された Jackson Lab. の系統Ⅲの体

(20×20)

重の特徴を NZW-NIBS も持っており、しかも NZW-NIBS は III_{mo} 系や III_c 系に比べてもさらに小型化されているといえる。これは NZW-NIBS の大きな一つの特徴といえよう。NZW-NIBS の心拍数は 2 か月齢以降、平均で 240 ~ 260 回/分と比較的安定した結果を示し、血圧値と異なり心拍数は 2 か月齢ですでに安定した値を示すようになる。また、NZW-NIBS の呼吸数は、加齢に伴ない増加傾向が認められ、8 か月齢では平均で 180 ~ 240 回/分を示し、しかもバラツキも極めて大きい。この呼吸数は JW-NIBS の場合と同様、これまで報告されている測定値 [42, 83, 199] より非常に大きな値であり、保定による影響が強く現われたものと考えている。NZW-NIBS の体温は 2 か月齢以降、両性とも安定した値が得られたが、いずれも平均値で 39.5 °C 以上の値であり、比較的高体温を示していた。強制保定での体温はやや下降するといわれているが [102, 121]、強制保定での体温が JW-NIBS に比べ、NZW-NIBS の方が約 1 °C 以上

高い値を示すことから、日局方や日抗基に規定されている発熱性物質試験法用のウサギとしては適切でないかもしれない。

5 以上のようになzW-NIBSは血圧値や体温においてJW-NIBSとは異なった特徴を有していることが明らかとなった。

第4項 小 括

10 nzw-NIBSにおける血圧値、心拍数、呼吸数および体温などの生理学的特性を年齢差および性差について比較検討した結果は次のとおりである。

1), ウレタソ 1,800 mg/kg 麻酔下での平均血圧値は2か月齢では両性とも約80 mmHgであり、4
15 か月齢では雄80 mmHg, 雌85 mmHg, 6か月齢は雄90 mmHg, 雌88 mmHg および8か月齢では両性とも95 mmHgであった。

2), 心拍数は2か月齢以降において、平均値で240~260回/分であった。

3), 呼吸数は加齢に伴ない増数したが、各測

定値にバラツキが大きく、保定の影響がうかがわれた。

4)、体温は2か月齢以降両性とも、平均で $39.5 \sim 39.8^{\circ}\text{C}$ を示し安定した値であった。

5)、体重は両性とも、2か月齢で約 1.1kg 、4か月齢では 1.8kg 、6か月齢では 2.5kg 、8か月齢は $2.5 \sim 2.6\text{kg}$ となった。

第3節 JW-NIBS ウサギと他系統ウサギ (NZW-NIBS, Dutch-NIBS) との生理学的特性の差

ウサギの心電図の測定は松浦ら [137, 136] に
より誘導法が検討され、今日、その誘導法が
家畜心電図研究会 (現、獣医循環器研究会)
の定める標準誘導法 [157] となっている。この
誘導法にしたがってウサギの正常心電図波形
のパターンや心電図測定値の報告があるもの
の [104, 120, 151], ウサギの系統別に心電図波形
を比較したものは元山ら [150] の報告に限られ
ている。そこで、本実験では系統別にウサギ
の心電図を測定し、その代表的波形と出現頻
度を検索し、あわせて測定値について比較し
た。また、JW-NIBS ウサギについてはそれら測
定項目の性差および年齢差を検討した。一方、
ウサギは Pyrogen Test に用いられているが、こ
の試験に用いられるウサギの体温や体重につ
いては日局方や日抗基の発熱性物質試験法に
定められているものの [161], この基準に合致

するウサギは一般に購入されたウサギのなかには極めて少ないことが知られている。したがって、直腸体温にウサギの品種、系統およびコロニー - 不明確なウサギ間により差があるかどうか併せて比較検討した。

第1項 実験材料ならびに方法

動物：測定の対象とした系統ウサギは JW-NIBS ウサギ、NZW-NIBS ウサギおよび Dutch-NIBS (日生研において1968年、米国 Jackson Lab. より分与された Albino, Dutch (AccR (3), 血縁係数 (R) 96%) の雄と、船橋農場より分与された白黒のダッチベルトの雌 (ACEP (3)) を交配し、生まれた F₁ の雌に Albino Dutch の雄をバッククロスして確立したウイソナ白の Dutch 種で1970年より兄妹交配を続け、現在17代にまで達しているもので、本実験では9代目のウサギを用いた。) を研究の対象とした。なお、系統ウサギはいずれも日生研の厚意により提供されたものであり、JW-NIBS 247例、

NZW-NIBS 37例 および Dutch-NIBS 51例である。

また、これら系統ウサギと比較するうえから cross-breeding の日本白色種 Japanese White (JW) を埼玉実験動物供給所(埼玉)より78匹を購入した。動物はいずれも性成熟に達したものを使用した。一方、JW-NIBS ウサギの心電図における性差ならび年齢差に関する比較実験では、5週齢の雄84例および雌61例、20週齢の雄39例および雌61例を用いた。また、直腸温の比較試験には JW-NIBS 6か月齢の雄25例および雌20例、NZW-NIBS 6か月齢の雄、雌それぞれ10例、それにこの月齢にみあう体重2.5kg前後の JW (供給業者には6か月齢と指定して購入) を雄18例、雌25例用いた。

測定方法：心電図の誘導法は家畜心電図研究会(現獣医循環器研究会)の定めたA-B誘導法〔157〕にしたがい、無麻酔背位保定で測定した。心電計は熱ペン式フクダ電子(株)製FD-14型を用い、時定数1.8秒、校正電圧1mV = 10mmの感度で、記録紙の送りは50mm/秒で

記録した。なお、電極は針電極として $\frac{1}{4}$ 皮下針を用いた。波形はQRS棘波の形状よりRS波、RS波およびrR波の3形に分類した。波形の測定は連続した10個の波形を計測し、平均してそれを各々の個体の値とし、各棘波のInterval (PP, PQ, QT), Duration (P, QRS, T) および Amplitude (P, Q, R, S, T) を測定した。直腸温の測定は、本章第1節の実験と同じ方法でおこなった。

第2項

1. ウサギ系統別の心電図パターン

系統別の心電図パターンの割合を Fig. 24 に示した。すなわち、各系統の代表的パターンは JW-NIBS (247例), NZW-NIBS (27例) および Cross-breeding の JW (78例) とともに RS タイプであり、それぞれ約90%, 約60% および約45% であった。一方、Dutch-NIBS (51例) は RS タイプ約45% および rS タイプ約40% と代表的パターンが2つに分かれていた。Fig. 25 にはそれぞれの

代表的パターンをオリジナルで示してある。
これらのことから JW-NIBS は同一パターンが最も多く出現し、Fig. 25 からみわかれるとおり、R 棘は大きく波形の判読が容易であることが特徴といえよう。Fig. 26 には JW-NIBS の年齢別（5 週齢および 20 週齢）および性別における心電図の各パターンの占める割合を示した。5 週齢雄では Rs タイプ 94%、RS タイプ 6% であり、同雌では Rs タイプ 87%、RS タイプ 10% であり、20 週齢雄では Rs 89%、RS 11%、同雌は Rs 93%、RS 4%、rs 3% であった。このようにとくに年齢差、および性差による違いはみとめられなかった。しかも、これらのウサギをそれぞれ 3~4 か月間飼育しながら各週齢ごとの心電図パターンの変化を追跡していったが発育過程において、それらのパターンのタイプが変わることはなかった。

2. ウサギ心電図波形測定値の系統差

各系統における心電図棘波の各値の生理的

範囲を検討した結果, Interval では Fig. 27 に示すごとく, PP, PQ, および QT Interval とも Dutch-NIBS が他に比べ短い値を示しており, 心拍数も多くなっている。一方, Duration (Fig. 28) においては, Dutch-NIBS は PP Interval が短い割には, QRS Duration は比較的長い値を示し, 他の系統に比べ, 相対的に心室筋興奮時間が長くかかっている。なお, Amplitude (Fig. 29-a, 29-b) では R 棘は JW-NIBS と JW で大きく, NZW-NIBS と Dutch-NIBS で小さい値となっている。S 棘は JW と Dutch-NIBS で大きく, JW-NIBS と NZW-NIBS で小さい値であった。これらの測定値をまとめて Table. 5 に示してある。

3. 直腸温の系統差

Fig. 30 および Table. 6 に JW-NIBS, NZW-NIBS の系統ウサギと, これらの対照として Pyrogen Test に一般的に用いられている JW の直腸温を示した。JW-NIBS の雄, 雌が平均で 38.5°C と最も体温が低く, 逆に NZW-NIBS の雄, 雌は $39.7 \sim 39.8^{\circ}\text{C}$ と高い値を示した。これら 3 群間に

はそれぞれ有意差 ($P \leq 0.01$) が認められ、直腸温には系統差が存在するといえる。

また、これまでの実験に用いた JW-NIBS ウサギ雄、雌あわせて 927 例の体温を調べてみると、660 例 (71.2%) は 38°C 台も、また、169 例 (18.2%) が 39°C 台を示し、比較的直腸温が安定していることがわかった。それ故、JW や NZW-NIBS ウサギに比べ JW-NIBS ウサギは Pyrogen Test により適したウサギといえる。

第 3 項 考 察

ウサギの QRS 棘波のタイプは J 型に分類できるが、その出現割合は、系統により異なり、同一タイプの出現頻度の多いものは JW-NIBS であった。このことから今後、心電図学的な研究には、JW-NIBS が他のウサギに比べ最も適しているものと考える。一方、ウサギは心電図学的には生後 10 日ないし 2 週間で安定するとの報告はあるが [11]、JW-NIBS の QRS 棘波の各タイプの割合は、5 週齢と 20 週齢とで

は差はなく、また成長によりそのタイプが変化するというようなことはなかった。なお、各系統ウサギの代表的心電図パターンには系統差が認められるものの雌雄による差は認められなかった。他方、心電図波形の測定値においても系統差が認められ、とくに Dutch-NIBS は RR Interval が他の系統に比べ短く心拍数は多い。しかも、QRS 棘波の Duration は比較的長い値を示し、相対的に心室筋興奮時間が長い所見が得られた。これはイヌではグレーハウンド犬においてみられるような心室肥大 [122] を思わせる所見であり、Dutch-NIBS の一つの大きな特性であるといえる。このように Dutch-NIBS については今後、形態学的な面からもさらに深く追求することにより、興味ある知見が得られるものと考えらる。

今回、心電図測定に用いた A-B 誘導法は、Electric heart axis にほぼ沿ったもので、心臓全体の電位変化をもっとも総合的にとらえることができ、一次元的な誘導法としては理

想的な方法であるといわれている。しかし、この誘導法の欠点として、Amplitudeは正確さにやや欠けるところがあるとの指摘もある(186)。それ故、この誘導法によるAmplitudeの比較は、DurationやIntervalほど正確ではないであろう。しかし、あえてAmplitudeを系統別に比較してみるとQRS棘波には差が認められている。すなわち、R棘はJW-NIBSやJWで大きく、また、S棘はJWとDutch-NIBSで大きい値となっており、系統別の特徴がうかがわれる。一方、心臓の固有筋に分布するpurkinje線維の深さが動物の種類により異なり(175, 235, 174, 217)、心電図は種により特異的(109, 196)であることがすでに明らかになっている。しかし今回の実験においてウサギの心電図には系統により差が認められることから、今後、ウサギの心電図を指標とした実験にはJW-NIBSが最も適しているものと考えらる。また、Dutch-NIBSは研究の目的によっては有効な動物種となり得るであろう。

一方、ウサギの直腸温においても系統差が認められた。ウサギは発熱性物質試験法には欠くことのできない動物であり〔161〕、測定器具や保定法の違いにより体温に差が生じることがすでに報告されている〔121, 205, 242〕。しかし、ウサギの系統により体温に差のみられることが、著者の成績で初めて指摘した。このことから、今後 *Pyrogen Test* に用いるウサギはその系統を考慮することによって無駄を省くことができると考える。最近、*Pyrogen Test* に Dutch 種を用いる有用性が報告されているが〔96〕、著者の成績、すなわち多数例の JW-NIBS を測定した結果からは、JW-NIBS の直腸温は非常に安定をしており、しかも規準に合致した体温を示すウサギが極めて多いことから、JW-NIBS は発熱性物質試験に適しているといえる。

第4項 小 括

ウサギの各系統における心電図波形および体温について比較検討した結果は次のとおり

である。

り、ウサギ系統別の代表的心電図パターンは、
JW-NIBS (約 90%)、NZW-NIBS (約 60%) およ
び JW (約 45%) では R_s タイプであり、Dutch-
NIBS は、RS タイプ (約 45%) および rS タイプ
(約 40%) であった。

2)、JW-NIBS では同一パターンを示す割合が最
も多く (R_s タイプ)、他の系統のウサギに比べ
R 棘は大きく、波形の判読が容易なことから、
ウサギを用いて心電図を検討する実験には JW-
NIBS が最も適しているといえる。

3)、Dutch-NIBS は相対的心室筋興奮時間が他
のウサギに比べて長いのが特徴といえる。

4)、体温においては、JW-NIBS においてのみ 38
°C 台を示し、JW および NZW-NIBS では 39 °C 台と
高い値を示していた。

5)、JW-NIBS では雄、雌あわせて 927 例中、
 38 °C 台の体温を示したものが 660 例 (71.2%)
あり、多くのウサギが比較的安定した。しか
も発熱性物質試験法に合致した体温を示した。

第4節 JW-NIBS ウサギと他系統ウサギ(NZW-NIBS, Dutch-NIBS)における生化学的特性の差

ウサギの血清アトロピノエステラーゼのフェノタイプは, Van Zutphenら〔225〕により10種類のタイプが確認されており, また, Foxら〔230〕によって各種系統ウサギのフェノタイプが報告され, 単一タイプのウサギコロニーの存在することも知られている。しかし, 我が国ではまだその報告はない。また, このフェノタイプと関連の深いアトロピノエステラーゼ(AEと以下略す)に関する報告も少ない。AEは血清をはじめ生体内に広く分布している薬物分解酵素の一つであって〔22, 77, 78, 173〕, アトロピノをはじめアトロピノ化合物, 脂肪族および芳香族エステルを有する化合物をも分解する非特異的な Carboxylesterase 型の酵素として知られている〔14, 49, 87, 132, 184, 226〕。しかも, 全てのウサギに存在するもの

ではなく、その結果、ウサギにおけるアトロ
ピノ類化合物の実験成績に、著しいバラツキ
が認められている〔144〕。また、諸外国では、
ウサギの系統によりAEの保有率が多様化して
いる報告もみられる〔125, 126, 177, 184, 194, 218, 224, 226, 230〕
しかしながら、我が国のウサギを用いたアト
ロピノ類化合物に関する薬理試験において、
AE存在の有無も考慮した報告は、わずかに見市
ら〔145〕にみられるに過ぎない。そこで、現在
我が国において一般的に使用されているJWや
NZW、近交系ウサギのJW-NIBS/Y, NZW-NIBS,
Dutch-NIBSおよびJW-NIBSについてフレアル
ブミVのフェノタイプやAE保有率ならびにそ
の活性値を追究した。

第1項 材料および実験方法

動物：実験に供した動物は日生研より提供
されたJW-NIBSウサギ、JW-NIBS/Y（1980年
5月に20代に達した近交系ウサギ）、NZW-NIBS
（Sib. 19代）およびDutch-NIBS（Sib. 17代）であ

る。また、これらの系統ウサギと比較検討する
るために、埼玉実験動物供給所(株)より購
入した JW および NZW を実験の対象とした。こ
これらの動物はいずれも成熟したものである。

5 血清プレアルブミンエステラーゼの分離:

ウサギの血清プレアルブミンエステラーゼの
測定は、Smithies-Hunter の水平澱粉ゲル電気
泳動法によりおこなった。すなわち、澱粉は
加水分解澱粉を用い、澱粉ゲル濃度は 14% と
10 した。ゲルフレームの大きさは $13 \times 16 \times 0.6 \text{ cm}$
(巾 \times 長さ \times 厚さ) であり、血清サンプル(約 $5 \mu\text{l}$) は TOYO 濾紙 No. 2 ($0.5 \times 0.8 \text{ cm}$) に浸み込
ませ陰極側から 4 cm 離れた所にスポットした。

ゲル緩衝液は トリス 0.0144 M , グルコン酸 0.0059 M ,
15 ホウ酸 0.0076 M および水酸化リチウム 0.0020 M
からなり、電極緩衝液はホウ酸 0.08 M および
水酸化リチウム 0.10 M からなっている。いづ
れも $\text{pH} 6.2$ と $\text{pH} 8.0$ にそれぞれ塩酸により調
整した。電気泳動は $0 \sim 4^\circ\text{C}$ の条件下で 400
V の電圧にて、ホウ酸の不連続線がサンプル

塗布部より陽極側に10~11 cm移動するまでおこなった。酵素の染色は、0.1% Fast-Blue BB salt および 0.075% d-naphthylacetate を含んだトリス-塩酸緩衝液 (50 mM, pH 7.2) にておこなった。染色時間は室温で15分間とした。なお、供試血清はウサギの耳静脈よりヘマトグリット管 (プレイソ) で採血し、 $13,300 \times g$ で5分間遠心分離した。分離血清は -20°C にて保存し、測定時、室温にて解凍後使用した。いずれもサンプルは採取後14日以内に測定を終了した。

アトロピノエステラーゼの測定:

AEの定性試験: Van Zutphen [224] および Lin [126] らによって報告された寒天平板法を用いた。すなわち、100 ml の脱イオソ蒸留水に Special agar powder 1 g を加え混合溶液とし、ホットプレートスターラで沸騰させ、powder が溶解した後、ユールドプレートスターラに移した。溶液が 55°C に冷えるのを待って硫酸アトロピソ 1 g を加え、次いで、0.2% cresol red

3 ml を加える。その後、0.75 N 水酸化ナトリウム溶液を寒天液が紫色に変化するまで滴下する。この溶液 10 ml をシャーレに入れ凝固させた後、直径 3 mm の穴を数か所あけ、被験分離血清一滴を滴下し、37 °C で 2 時間 Incubation した。AE 存在の有無の判定は穴の周囲に黄色のリングが形成された検体を AE 陽性とし、変化のみられなかった場合（赤）を陰性とした。

AE の定量試験：AE 活性値の定量は Van Zutphen [224] や Forster ら [57] によって報告されている Vincent らの方法に従った。すなわち、定量試験に用いた溶液は、硫酸アトロピソ (12.5 mM) を含むリン酸緩衝液 (0.07 M, pH 7.6), 水酸化ナトリウム溶液 (0.5 M), 塩酸ヒドロキシルアミノ溶液 (2.0 M), 次亜塩素酸液 (1.4 N) および塩化第二鉄 (0.1 M) を含んだ 0.01 N 塩酸溶液である。なお、硫酸アトロピソ溶液は、試験毎に調整した新鮮なものを使用した。まず、2.0 ml 硫酸アトロピソ溶液に 0.5 ml 血清を混合し、37 °C, 60 分間 Incubation 後、1.0 ml

水酸化ナトリウム溶液を加え酵素反応を停止させた。次に1.0 ml 塩酸ヒドロキシベンゾミロンを加え室温で25分間放置する。この溶液に3.0 ml 次亜塩素酸溶液を加え除蛋白した後、TOYO 濾紙 No. 2 を用い濾過した。濾液 2.0 ml に塩化第二鉄溶液 3.0 ml を加え、25分後に分光光度計にて、波長 505 nm で吸光度を測定した。なお、同一血清から triplicate によりそれぞれの個体の AE 活性値を求めた。検量線は 2.5 mM, 5.0 mM, 7.5 mM, 10.0 mM および 12.5 mM の濃度の硫酸アトロピン溶液を用いて作成した。対照としてはウサギ血清を 65°C, 1時間加熱することにより、酵素を失活させたものを用いた。検量線測定時のブランクは硫酸アトロピンを含まないリソ酸緩衝液 (2.5 ml) を血清の代わりとして用い、以下血清の場合と同様の操作をおこなって得た。AE の活性値は血清 1 ml により、1分間に硫酸アトロピンが加水分解される量を μmole で計算し、単位は unite で表示した。すなわち 1 unite は 1分間に血清 1 ml が

硫酸アトロピソ $1\mu\text{mole}$ を加水分解する時の
値である。なお、血清サンプルはウサギ耳静
脈より 5ml 採血し、直ちに 4°C , $2,000\text{rpm}$ に
て20分間遠心分離して、実験に供するまで
20⁵ $^\circ\text{C}$ にて保存した。Ecoichomら
によれば、 -20°C での保存では凍結後14日以内の測
定であればAE活性値に変化の起こらないこと
が確認されている。しかし、著者の今回の試
験ではいずれのサンプルも凍結保存後約24時
10 間に室温にて解凍した後、測定に供した。

第2項 実験成績

1. 各系統ウサギの血清プレアルブミンソエステ
ラーゼフェノタイプのパターン:

15 ウサギに存在する血清プレアルブミンソエス
テラーゼは、Fig. 31に示すように澱粉ゲル電
気泳動により10種類のフェノタイプに分類さ
れることが確認されている〔71, 225, 227, 228, 229, 230〕
また、AEはこの F_1 , F_2 , F_3 のバンドに存在する
ことが知られている〔226〕、このプレアルブ

ミソエステラーゼのフェノタイプは、Fゾーン
(F₁, F₂, F₃)の存在するI~IVのタイプとFゾ
ーソの存在しないV, VIタイプに大きく分け
ることができ、さらにI, IIのタイプはF'バンド
5の存在しないものであり、III, IVタイプはF'
またはF'バンドの出現するものである。Table
7には、今回検索したウサギの血清プレアル
ブミソエステラーゼフェノタイプの分布結果
を示した。すなわち、NZW-NIBSは79例全てが
10Vタイプであり、また、Dutch-NIBS 15例も全
てがV^{F'}タイプであった。このようにNZW-NIBS
およびDutch-NIBSの2系統はプレアルブミソ
エステラーゼのフェノタイプにおいて均一性
を示していたことが確認された。また、JW-
15NIBS/Yは30例中28例(93%)がVIタイプである
が、残り2例(7%)がVタイプであった。JW-
NIBSにおいては138例中114例(82.6%)がVI
タイプ、10例(7.2%)はVタイプ、12例(8.7%)
はIIIタイプ、残り2例(1.4%)はIIタイプであ
った。このことから、近交系あるいはフロー

ズドコロニ一のウサギにあっても NZW-NIBS
や Dutch-NIBS ではプレアルブミンエステラー
ゼのフェノタイプが均一性を示し、遺伝的に
統御されていることが判明する一方、JW系で
5 はたとえ系統化されている JW-NIBS/γ であっ
ても2種類のタイプが存在することから、ま
た、系統化されていないクローズドコロニ一
では4種類のタイプが存在するなど、まだ遺
伝的には十分統御されていないことが明らか
10 となった。一方、コロニ一の不明確な JW およ
び NZW では、フェノタイプの分布は多種多様
であり、全く遺伝的には統御されていないウ
サギコロニ一であることが証明された。また、
この Table 7 に示したプレアルブミンのフェノ
15 タイプの結果から AE の有無を分類してみると、
JW は 53 例中 12 例 (22.6%) に、JW-NIBS は 138 例
中 14 例 (10.1%) に、NZW は 20 例中 18 例 (90%) に
AE が存在することになり、JW-NIBS/γ、NZW-NIBS
および Dutch-NIBS には 1 例も存在しないこと
になる。この成績は、次に示す寒天平板法によ

る AE 保有率の結果とよく一致していた。

2. アトロピノエステラーゼの測定:

AE の定性試験: 寒天平板法による AE の定性試験の成績を Fig. 22 に示してある。各系統のウサギにおける AE 保有率には、雌雄の差が認められなかったことから、雌雄の区別をしないで系統別に AE 保有率を示した。近交系 JW-NIBS、NZW-NIBS および Dutch-NIBS においては、AE 陽性個体は 1 例も認められなかった。また、JW-NIBS は 138 例中 14 例に AE 陽性が認められ、その保有率は 10.1% であった。一方、コロニーの不明確なウサギである JW では 53 例中 12 例、NZW では 20 例中 18 例が AE を保有しており、これらの保有率はそれぞれ 22.7% および 90% であった。この結果は前述のフェノタイプから推定した AE 保有率と完全に一致した。そこで Table 8 には AE 保有率に系統間の差があるか否かも、Fisher の直接確立計算法により検定をおこなった結果を示してある。すなわち、雑種の NZW の AE 保有率はどの系統のウサギより

も極めて高い有意性を示した。また、JWにおいては系統ウサギ JW-NIBS/Y, NZW-NIBS およびフロースドコロニーである JW-NIBS とは有意差が認められたが、Dutch-NIBS (AE保有率 0%) との間には、有意差が認められなかった。これは Dutch-NIBS の例数が 15 例と少ないことに起因しているものと考えられる。いずれにしてもコロニーの不明確なウサギと純化の程度の高い系統ウサギとでは、明らかに AE 保有率に差が認められている。しかし、純化の程度の高いウサギにあっても JW-NIBS は AE 保有率の面からも、また、前述したフェノタイプの成績から考えても、純化の程度は他の NIBS 系統に比べまだ十分遺伝的に制御されていないことがわかる。一方、NZW-NIBS は AE 保有個体は 1 例も認められず、AE 陰性の極めて特徴のあるウサギ集団であるといえる。また、同じ品種である JW, JW-NIBS および JW-NIBS/Y では、純化の程度が高くなるにしたがって、AE 保有率は低下する傾向が認められ、ウサギ

では遺伝的純化が進めば進むほどAEの保有率は低下するものと推察される。

Fig. 22 はAE活性値とフェノタイプの関係を示したものである。すなわち、縦軸にはAE活性値を、横軸にはフェノタイプを表わしており、図の中の○印はJW-NIBS、●はJW、■はNZWを表現している。フェノタイプにおいてFゾーンのみられなかったV、VIタイプに属するものは、この図からもわかるようにAE活性値は認められないか、ごくわずかな活性値しか示さなかった。一方、Fゾーンの存在するI~IVのタイプにおいても、I、IIのタイプに属するものはIII、IVのタイプに属するものに比べ高い活性値を示している。このように血清プレアルブミンのフェノタイプ（FゾーンあるいはF'ゾーンの存在）とAE活性値との間には深い関係が認められ、また、純化の程度の進んだウサギと、そうでないウサギとの特徴をこれらの成績はよく反映していることを強調したい。

第3項 考 察

ウサギのAE保有に関する研究は外国では古くからおこなわれており、ウサギの集団においては、その約 $\frac{1}{2}$ にAE保有ウサギが存在するといわれていた〔87, 184〕。しかし、その後、AEの保有分布状態は地理的背景により異なることが報告され〔55, 177〕。しかも、それは遺伝的形質によって支配されることが明らかにされた〔101, 184〕。そこで実験用のウサギは外部からの遺伝形質の侵入を防止するように繁殖されるようになった。その結果、NZWにおけるAE保有率は、StormontおよびSuzuki〔194〕、LinおよびLitebenberg〔125, 126〕、TuckerおよびBeattie〔218〕によれば83%~75%であるといわれている。また、Alaska種やViene White種およびChinchilla種では、Van Zutphe〔224, 226〕によれば、それぞれ90~93%、56~67%および53%である。また、Stormontら〔194〕、Foxら〔71〕は実験用動物として開発されたJAXウサギのうち、AEを保有する

系統は、 X/J , Ac/J , AX/J および WH/J などであり、
その他の多くの系統においては、AEの保有は
認められなかったと報告している。一方、我
が国においてはJWのAE保有率は見市ら〔145〕
5 により、38%であると報告されている。著者
の結果でもJWのAE保有率は22.7%とほぼ同様
の値を示していたがNZWのAE保有率は90%と
高い値であった。しかし、JWでもクローン
コロニーであるJW-NIBSは、AE保有率は10.1
10 %とJWに比べ低い値を示し、系統ウサギのJW-
NIBS/YやNZW-NIBSおよびDutch-NIBSにな
ると、AE保有ウサギは認められなくなっていた。
とくにクローン不明確なNZWのAE保有率90%
に対し、NZW-NIBSにはAE保有ウサギが全く
15 認められず、両者の間には大きな差がみられ
る。一方、Dutch-NIBSの起源は雄(AccR(3))を
Jackson Lab.より導入し、雌(ACEP(3))を船橋
農場から導入してスタートしたものであるが、
この雌のACEP(3)はJackson Lab.の Ac/J 系と由来
を同じくするものである。現在、 Ac/J 系はAEを

保有していることから、Dutch-NIBSは今日、
AC/J系とその特性を異にしているものと考えら
れる。このように文献的にウサギのAE保有率
を考察すれば報告者により違いはあるものの
一般的にAEはそれぞれの品種に存在するとい
える。しかし、遺伝的に統御された系統ウサ
ギでは、多くの場合、AE保有率は低下するか
あるいは、そのコロニー全部が陰性になって
いくようである。一方、ウサギのAEは生後1
か月齢より、その酵素活性が認められるよう
になり、2か月令でAE活性値は安定するとい
われている〔124, 133, 184, 224〕。また、この活
性値に関しては季節変動や性においても差が
あるという報告〔22, 184, 238〕とそれを否定する
報告〔14, 177〕があるが、著者の成績では性差
は認められなかったし、また、制御環境下に
あるウサギにおいては、季節の変動による差
も認められなかった。

寒天平板法により陰性を示し(0.05 unit 以下の
場合)、また、フェノタイプからもAE非保有個

体 (Fゾーンの存在しないもの) と思われるウサギの中に、比色定量法では 0.00 unit 以下ではあるが、その活性値が認められた個体があつた。しかし、アトロピンは血清中に存在するアトロピノエステラーゼ以外の非特異的薬物分解酵素、例えば血清コリノエステラーゼによる水解によつてもわづかであるが、分解される〔172〕ことから、比色定量法で得られたわづかな活性値は、アトロピノエステラーゼの活性値を代表しているとは断定できない。しかもAE陰性ウサギにおいて極めて低い活性値を示すことが報告されているが〔49, 57, 173〕、寒天平板法のAE検出限界は 0.05 unit 以上であり、この方法により陰性であつた個体には、AEは存在しないと判断できるとの報告もある〔218, 224〕。それ故、寒天平板法により陰性と判断されたウサギの中に、AE活性を有するウサギが存在すると断言するには今のところ無理があると考える。

ウサギの血清プロレアルブミンエステラーゼ

には10種類のフェノタイプが知られている〔227, 225, 228, 229, 230, 71〕。このポリアルブミンゾーンのうち、 F_1 , F_2 および F_3 のゾーンにはAEが存在し、 S_1 , S_2 , S_3 ゾーンにはユカイソエステラーゼが存在するといわれている〔226〕。

AEの存在する $F_1 \sim F_3$ のゾーンを持つフェノタイプとしては、I, II, III, III^F, IV および IV^F の6タイプであり、また、Fゾーンの無いV および VI タイプは、AE活性値は認められないといわれている〔226, 227〕。したがって、ポリアルブミンソエステラーゼのフェノタイプを検索することで、AE保有の確認やその系統の特性、あるいは、遺伝的統御の程度をも把握することができるといえる。著者の成績からJWは多種多様のフェノタイプを有しており、遺伝的にも均一性を欠くものといえる。また、N&Wにおいてもフェノタイプは多様で均一性を欠いており、JWと同様実験動物としては適当でないと考ええる。一方、クローズドコロニーのJW-NIBSは、4種類のフェノタイプが

認められ、その大部分はIVタイプを示した。

このように JW-NIBS は JW に比べ、純化の程度は高いと考えられるが、フェノタイプはII, III, V, VII のタイプを示したことから、遺伝的制御はまだ十分行なわれていないと思われる。また、近交系 JW-NIBS/Yウサギでは、AE はいずれも陰性であり、均一化されていることが窺われた。しかし、血清プロレアルグミンエステラーゼの成績からは、2つのフェノタイプの存在が認められており、この系は Sib. 交配により20代以上に至っているものの、なお完全に均一化されているとはいいがたい。しかし、Foxら〔71〕によれば近交係数とフェノタイプの均一性とは無関係であるという報告も有り、今後さらにこれらの関係について検討する必要があると思われる。一方、NZW-NIBS ならびに Dutch-NIBS においては、血清プロレアルグミンエステラーゼのフェノタイプからみると、遺伝的に均一化されているといえる。

第4項 小 括

ウサギに存在する血清プレアルブミンエステラーゼのフェノタイプおよびこれと関連の深いアトロピンエステラーゼを検索した結果は次のとおりである。

り、血清プレアルブミンエステラーゼのフェノタイプは、NZW-NIBS が V タイプ、Dutch-NIBS が V^F タイプの 1 種類のみを有していた。また、JW-NIBS / Y は V と VI タイプの 2 種類、JW-NIBS は II, III, V および VI の 4 種類を有していた。一方、JW および NZW では、5~6 種類の多くのタイプも有しているとともに、その分布にも大きくバラツキが認められた。

2)、アトロピンエステラーゼの保有率は、JW-NIBS / Y や NZW-NIBS および Dutch-NIBS は 0% であった。また、JW-NIBS は 10.1%、JW は 22.7% および NZW は 90% のウサギに AE を保有していた。

3)、血清プレアルブミンエステラーゼのフェノタイプの V ならびに VI タイプに属するウサ

キ⁶では、アトロピソエステラーゼ⁶の活性値が認められないか、極めて低い値であった。しかし、フェノタイプI~IVに属するウサギでは、アトロピソエステラーゼ⁶の活性値は認められ、とくにフェノタイプI, IIに属するウサギが、III, IVに属するものに比べ高い活性値を示した。

第3章 系統ウサギの比較薬理学的研究

系統ウサギの特性を浮き彫りにすることにより、実験動物としての有用性は高くなるものと考え、前章では、系統ウサギの持つ生理的特性について追求をしたが、さらにこれらの特徴を深く把握するために本章では比較薬理学的立場から、系統、性別、年齢などの一定性を追求した。すなわち、この章では、薬理学実験における JW-NIBS ウサギの麻酔方法の再検討しさらに数種の自律神経薬に対する JW-NIBS および NZW-NIBS ウサギの血圧反応差についてそれぞれ年齢別ならびに性別で比較検討し、また有機リン系農薬 Rangado (2-chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)vinyl dimethylphosphate) の代謝性、残留性の追求や、Atropinesterase の存在の有無による poly [biguanide-1,5-diylhexamethylene-hydrochloride] (以下 PHMB と略す) に対する生体反応差を追求することにより、系統ウサギの薬理学的特性を吟味した。

第1節 薬理学実験におけるウサギの麻酔方法の再検討

薬理学実験におけるウサギの麻酔方法は、成書などに数多く報告されているが、同一薬物においても報告者により投与量にかなりの差が認められる〔26, 46, 98, 100, 148, 154, 179〕。これはウサギの麻酔管理において、麻酔深度の調節や呼吸管理などに多くの問題があり、それらの原因としては次の様なことが指摘されている。①、ウサギの呼吸中枢が麻酔薬の麻痺作用にとっても敏感である。②、麻酔量と致死量との間隔が極めて狭い。③、一般の麻酔薬がもっている麻酔作用に対して、ウサギの個体間におけるバラツキが非常に大きく、外科的麻酔の用量を個々のウサギごとに決めなければならぬ〔76, 154, 202, 236〕。このようなことからウサギの麻酔は実験動物の中でも難しく、その麻酔作用が予測しにくい動物であり、したがってウサギに対する麻酔には、麻酔前投薬などを用い麻酔薬の量を少なくする方法や、

あるいは、麻酔装置を用いた機械的な方法がとられている[29, 45, 72, 90, 153, 189, 233, 239]。しかし、薬理学実験とくに急性的な実験においては、麻酔薬は単一で、しかも経費のかからない方法が望ましい。そこで今回、麻酔下での薬理学実験を行なうに際し、ウサギに対し、単一の麻酔薬で長時間安定した効果が得られ、しかも容易に出来る麻酔方法を再検討すべくこの実験をおこなった。文献やくりかえしおこなった予備実験の結果から、この目的に則った方法としては、静脈注射による適用が最適と考えられ、また、これに用いる薬物は、Urethane と phenobarbital が挙げられるので本実験ではこれら二つの麻酔薬を用いて検討をおこなった[26, 46, 100, 128, 148, 154, 168]。

第1項 実験材料ならびに方法

この実験では簡便な方法で、長時間安定した麻酔効果を得ることを目的としたので、単一の麻酔薬での静脈適用による方法を用いる

こととした。適用部位は耳介静脈とし、使用薬物は、長時間麻酔効果のある Urethane および phenobarbital を用いた。まず、これら両薬物のウサギに対する麻酔効果の比較をおこなった。ウサギは、8~12か月齢の JW-NIBS 雄をそれぞれ6匹ずつ用いた。麻酔薬の投与量は、種々おこなった予備実験の結果より、Urethane は $1,800 \text{ mg/kg}$ 、phenobarbital は 200 mg/kg とした。Urethane は 30% 溶液に注射用蒸留水で調製し、これを1分間に 1 ml の速度で静脈より適用した。一方、phenobarbital は、3% 液を作製し、同様の方法で適用した。麻酔深度の判定は、Gardner(76)によるチェック項目にしたがって観察をおこなった。麻酔終了後、直ちに記録に必要な手術をおこなったが、これにはいずれの個体においても15分から20分の間で終了するようとくに注意を払った。麻酔薬の影響を判定する観察項目は、血圧、心拍数および呼吸数とし、麻酔後、経時的に 300 分まで記録した。血圧、心拍数お

よび呼吸数の測定方法は、前述の方法と同様とした。

また、Urethane のウサギに対する麻酔作用の性差、年齢差および系統差の検討をおこなった。使用したウサギは、上記の JW-NIBS 雄以外に、JW-NIBS 雌の♂、12および22か月令をそれぞれ5匹、NZW-NIBS の雄、雌の♀か月令と♂か月令を5匹ずつ、そして日本白色種 (JW) の雄を5匹である。麻酔方法、観察項目および観察時間などは、上記の方法とまったく同様におこなった。

第2項 実験結果

Urethane と phenobarbital の比較：

JW-NIBS ウサギ (8~12か月齢) を1群6匹ずつ用いて、麻酔薬の違いによる生体の反応を経時的に測定した結果を Fig. 24~26 に示した。Fig. 24 は平均血圧の経時的变化を示したもので、カニキュレーション終了と同時に直ちに記録を開始し、その後、5時間まで経時

的に測定した。白丸は Urethane 適用群を、黒丸は phenobarbital 適用群を、平均値と標準偏差で示した。図に示すように、phenobarbital 200 mg/kg 麻酔は、Urethane 1,800 mg/kg 麻酔に比べ平均血圧は低い値を示した。しかし、Urethane 麻酔においても 120 分以降血圧は下降し、phenobarbital とほぼ同じ値を示し、しかもバラツキも大きくなった。Fig. 25 には、心拍数の経時的推移を示した。Urethane では、心拍数はオペレーション終了直後より 30 分にかけていったん増数傾向を示し、その後は経時的にゆるやかな減少傾向が認められるが 300 分を経過した時点でも測定直後と比べ有意の差は認められない。一方、phenobarbital では、測定直後より著しく減少傾向を示し、観察終了の 300 分の時点では直後に比べ有意 ($P \leq 0.01$) に抑制されている。このように心拍数においては、Urethane と phenobarbital では明らかに差が認められる。また、Fig. 26 には呼吸数の経時的な変化を示した。呼吸数においても、

Urethane 麻醉に比べ phenobarbital 麻醉は著しく抑制される結果を得た。このように血圧、心拍数および呼吸数において phenobarbital 200 mg/kg 麻醉は、Urethane 麻醉 (1,800 mg/kg 静注速度 1 ml/min.) に比べ抑制割合が強く、それに反して Urethane では比較的安定した麻醉効果が得られたので、今後の実験では Urethane 1,800 mg/kg 静脈注射麻醉 (30% 溶液、注入速度 1 ml/min.) を用いることにした。

Urethane 麻醉における性差、年齢差および系統差の検討

前述の実験で、Urethane 1,800 mg/kg 静脈麻醉が成熟雄 JW-NIBS に対し、比較的安定した麻醉効果をもたらす結果を得たが、この適用量が性、年齢および系統に対しても不偏的であるかどうかの検討をおこなった。Fig. 37 に、Urethane 麻醉下における JW-NIBS の雄、雌の平均血圧の変動を平均値と標準偏差で示した。白丸は雄で前述の実験で得た値を表示してあ

る。黒丸は雌♂が月齡の血圧値である。雄で
120分以降血圧が低下したのに対し、雌は
180分すぎより血圧の低下が認められた。し
かし、この低下は測定直後と比べ有意の差の
5 あるものではない。また、雌雄間においても
差は認められていない。Fig. 38には、血圧の
測定時に併せて記録した、心拍数の経時的変
化を示した。雄、雌とも測定直後より30分ま
では、増加傾向を示し、その後、経時的にゆ
10 るやかな減少が認められた。しかし、この減
少も測定直後の値に比べ有意の差のあるもの
ではない。しかも変動推移は雌雄とも同様で
あった。Fig. 39には同様に測定した呼吸
数の変動を示した。横軸0分は、Urethane投
15 与前に背位に強制保定した時の呼吸数を示し
た。麻酔後の変化は、雄、雌とも麻酔前に比
べ $\frac{1}{3}$ 程度にまで抑制され、この抑制は、観察
終了の300分までほぼ安定した状態で推移し
ており、雄、雌の差は認められない。Fig. 40
は、JW-NIBS雌ウサギの♂が月齡、12が月齡

および22か月齢の平均血圧の経時的変化と、これらと比較する上から前述の実験で測定した雄（8～12か月齢）の平均血圧を示した。△は8か月齢、●は12か月齢、×は22か月齢、○は雄を示している。雌はいずれも測定後、180分すぎより若干の低下が認められる。また、22か月齢は、他の月齢に比べバラツキ（S.D）が若干大きい傾向が認められた。Fig. 41は同時に測定した心拍数の推移を示したもので、測定直後より30分にかけて一過性の増加が認められる。その後は経時的に減少を示すが、300分の時点においても測定直後を大きく下回ることはなく、また、麻酔前の値とほぼ同じとなっている。心拍数と同時に記録した呼吸数の推移を Fig. 42 に示した。呼吸数は麻酔前には150～180回/分であったものが、麻酔後は50～60回/分と抑制され、この状態は観察終了まで継続していた。このように Urethane の麻酔効果において、性差と同様年齢差も認められない。

Fig. 43は、NZW-NIBSウサギの父か月齢および母か月齢の雄・雌のUrethane麻酔下の平均血圧の推移を示した。丸印は父か月齢、三角形は母か月齢を、また、白ぬきは雄、黒は雌を表わしている。NZW-NIBSにおいても、JW-NIBS同様120~180分すぎより血圧の低下が明らかとなり、バラツキも大きくなってくることが認められる。また、測定直後は、雄・雌いずれも父か月齢が10~15 mmHgほど高くなっているが、60~120分頃よりほぼ同じ値となり、その後は同様のパターンで推移している。呼吸数、心拍数は、血圧と同時に測定しその結果をFig. 44, 45にそれぞれ示した。また、JW-NIBSと比較する上から前述の実験で測定した雄(8~12か月齢)と雌(8か月齢)をそれぞれ×と■として表中に併せて示した。呼吸数では、NZW-NIBSの母か月齢の雄・雌はJW-NIBS同様麻酔前は平均値で200~250回/分でバラツキも大きかったものが、測定直後より30分にかけて100回/分前後にまで抑制され、

その後、雄は平行に推移したが、雌は240分より若干の増加傾向が認められた。一方、父か月齡の雄・雌は、麻酔の前後で差が認められなく、60~70回/分の値で推移した。心拍数は、JW-NIBS 同様にいずれの群においても測定直後より30分にかけて若干の増加を示したのち、ゆるやかな減少傾向が認められた。しかし、この減少は100分を経過しても麻酔前の値を下まわらぬものではない。以上のよう
10 NZW-NIBS においては、呼吸数で父か月齡と8か月齡では反応の違いが認められたが、血圧や心拍数の上には、性差、および年齢差は認められなく、また、これらの測定値は、JW-NIBS と同様であり、系統差も認められない。
15 Fig. 46は、JW-NIBS と JW の Urethane 麻酔下での血圧の経時的推移を表わしたものであるが、両者とも、ほぼ同様の推移を示している。以上のよう
に、Urethane 麻酔におけるウサギの性、年齢および系統による生体反応差の検討をおこなったが、NZW-NIBS の父か月齡に呼吸

数の若干の違いが観察された他は、いずれの観測値においても、性差、年齢差および系統差は認められず、Urethane 1,800mg/kg 静脈麻酔（30%溶液、注入速度1ml/min.）は、ウサギに対し安定した麻酔効果をもたらすといえる。

第3項 考察

薬理学的実験を目的としてのウサギに対し長時間安定した麻酔効果を得られる薬物として、Urethane と phenobarbital を比較した結果は、血圧、心拍数および呼吸数において、Urethane がより安定した結果を得た。すなわち、phenobarbital は、特に心拍数および呼吸数において著明な抑制が認められ、これは、そもそも phenobarbital が鎮静および催眠剤として用いられており、外科的麻酔効果を得るためには、致死用量近くまで投与しなければならず、その結果として強い呼吸抑制と心拍数の抑制が現われたものと思われる[146, 148, 169]。また、血圧の低下は、phenobarbital による毛細血管

の拡張[169]も一因しているものと思われる。
一方、Urethaneは呼吸に対し何等影響をしないといわれており、心機能においては血液循環反射がUrethaneにより強化されるといわれている[148]本実験でも、呼吸数はUrethane適用後、50～60回/分を示し、いわゆるウサギの安静時の呼吸数として報告されている数であり[2]呼吸に影響をあたえないことがこの実験からも示唆された。しかし、Urethane適用前に認められた150～180回/分の呼吸数は、保
定によるストレスが加わったためと思われる。心拍数においては、一過性の増加が認められているが、同様の変化が吸入麻酔薬のHalothane
においても報告されている[180] Halothaneの作用は、麻酔による循環血量の低下からくる圧受覚器の作用によるものではなく、むしろ洞房結節の直接刺激によるものとされているが、Urethaneによる心拍数の増加は、血液循環反射亢進による圧受覚器への作用によるものと思われる。Urethane麻酔による血圧の変化が、

120~180分過ぎより著明となるのは、血液に
対し cytotoxic な作用が現われ、赤血球の破
壊や血管壁の透過性の増大がおこっているも
のと考えらる。Breeら[27]は、ウサギに Urethane
適用後、2分後 PCV の低下や溶血が出現し、
2時間後には、PCV は有意に低下し、溶血は
全例に認められたことを報告している。この
実験でも2時間過ぎより血圧の低下が顕著と
なったのは、このような赤血球の破壊や血管
壁透過性が亢進するほど、Urethane の toxic
影響が現われたものと考えらる。

今回実験に用いた Urethane 1,800 mg/kg および
phenobarbital 200 mg/kg という適用量は、いず
れの報告よりも多い適用量であるが [76, 46, 100
128, 148, 154, 168], 今回の実験では、特に注入速
度にも注意を払った結果、このような多量
の適用が可能となったものと考えらる。静脈麻
酔では、適用速度と麻酔深度には関係がある
ことが知られているが、厳密な適用速度を定
めた報告はなく、Kaplanら[103]の数種の

Barbiturateを用いたウサギに対する麻酔効果
の実験においても、注入速度にはバラツキが
あり、麻酔深度の判定には、基準があるもの
の、適用速度はいわゆる術者のカンにたよる
ところが大いである。本実験では、上述のよ
うに1ml/分という適用速度でもって、Urethane
30%液を用い、体重あたり6ml/kgの適用量は
終了と同時に麻酔状態となりウサギに対し安
定した効果をもたらす。また、この効果は、
pentobarbitalにおいてStreicher [195] や Field
[54] が述べているように、性、年齢および種
類によりその効果に違いが生じるものではなく、
今回のUrethane麻酔においても彼らの報
告と同じような結果、すなわち、性、年齢お
よび系統の違いによる効果の差は観察されな
かった。

このようにUrethane 1,800 mg/kg 静脈適用は、
30% 溶液を用い適用速度を1ml/分とすること
により、ウサギの性、年齢および系統に関係
なく、安定した麻酔効果を得ることが出来る

といえるが、適用2時間後より血圧の低下が認められることから、この麻酔方法は、2時間以内のウサギにおける急性的実験において安定した結果が期待できるものと言えよう。

第4項 小括

Urethane および phenobarbital のウサギに対する麻酔作用の結果は次のように要約できる。

1) JW-NIBS ウサギの血圧などの生体现象を対象とする薬理学実験においては、2時間以内の実験なら、比較的安定した測定値の得られる Urethane 麻酔、すなわち Urethane 1,800 mg/kg を毎分当り 1 ml (30% 溶液) 静脈内に投与する麻酔方法が適当といえる。また、phenobarbital では血圧、心拍数および呼吸数は Urethane に比べ強く抑制された。

2) Urethane 麻酔下での成熟 JW-NIBS ウサギの血圧、心拍数および呼吸数の変動には、性差および年齢差は認められない。

3) JW-NIBS ウサギと JW ウサギにおける

Urethane 麻醉下での血圧変動の比較では両者
間に純化の程度による差は認められない。

5

10

15

5

10

15

(20×20)

第2節 自律神経薬に対するJW-NIBSウサギ

の血圧反応における性差および年齢差

JW-NIBSウサギの特徴を薬物反応からとらえる目的で、自律神経薬を適用し、血圧反応における性差および年齢差の検討をおこなった。

第1項 実験材料ならびに方法

動物：実験に供したJW-NIBSウサギは、

- ① 心拍数のうえに変動期のみられる2か月齢、
- ② 体重の増加度合が緩徐となる時期および各臓器の体重比が一定となる時期の4か月齢、
- ③ 催奇形成試験に用いられる時期の6か月齢、
- ④ 体重の増加度合がプラトーとなる時期および繁殖適期とされている時期の8か月齢、およびそれに加えて、
- ⑤ 12か月齢の雄・雌各月齢ともそれぞれ5例ずつ用いた。

これらのウサギは全て日生研より提供されたものである。

薬物：実験に用いた自律神経薬とその適用量は、体重1kgあたりEpinephrine, 2.5μg,

および 10 μ g, また Norepinephrine は 5 μ g, 10 μ g および 20 μ g, Isoproterenol, 5 μ g, 10 μ g, 20 μ g, Acetylcholine, 1.25 μ g, 2.5 μ g, 5 μ g, Atropine, 1.25 mg, 2.5 mg, 5 mg および histamine, 12.5 μ g, 25 μ g, 50 μ g である。また薬物はほぼ同一適用量となるよう、すなわち体重 1 kg あたり 0.2 ml になるように注射用蒸留水にて濃度調節をおこなった。

方法: 血圧測定の方法は前述の第 1 項での実験と同様にしておこなった。薬物の適用は全て耳静脈に留置したカニューレを介して適用した。適用間隔は前の薬物反応が消失してから 5 分後に行なった。適用速度は約 5 秒間とした。また、血圧の記録は全ての薬物を適用し終えるまで継続して記録した。

第 2 項: 実験成績

Fig. 47 に雄, Fig. 48 に雌の Epinephrine に対する血圧反応を示した。縦軸には薬物適用前の血圧値を 100 とし、薬物適用後の変化の

程度をパーセントで現わした。横軸には用量を示した。Epinephrine 2.5 μ g/kg, 5 μ g/kg および 10 μ g/kg 適用では、2, 4, 6, 8 および 12 か月齢の各月齢とも適用量の多寡に比例して血圧値は上昇した。よして、この反応に月齢差および性差は認められない。

Fig. 49, 50 には、Norepinephrine 5 μ g/kg, 10 μ g/kg および 20 μ g/kg を適用したときの雄および雌の血圧値を示した。Norepinephrine においても、Epinephrine と同様、いずれの Age および雄、雌には、Dose response がよく現われているが、これらの間には性および年齢による反応差は認められない。

Fig. 51 および 52 には Isoproterenol 5 μ g/kg, 10 μ g/kg および 20 μ g/kg 適用した時の血圧値を示した。雄、雌とも、5 μ g/kg でほぼ最高反応を示しているが、この反応はいずれの月齢においても認められ、特に各 Age 間に有意の差は認められない。

Fig. 53, 54 には、Acetylcholine を適用した

時の血圧値を示した。Acetylcholine においても図に示すように性差および月齢差といふものは認められていない。

Fig. 55 および 56 は Atropine 適用時の各月齢における雄・雌の血圧値を示した。雄の 2 か月齢において、他に比べやや反応性が低いように思われるが有意の差があるものではなく、他の動物同様、性差、月齢差はみられない。

Fig. 57 および 58 は、Histamine を適用した時の血圧の変化を示した。雄および雌はいずれの月齢においてもその反応に有意差は認められなかつた。

以上のように、JW-NIBS ウサギの 2 か月齢から 12 か月齢においては、雄・雌とも自律神経薬に対して、血圧の反応に有意の差は認められないものと思われる。

第3項 考 察

JW-NIBS ウサギの2か月齢から12か月齢の雄・雌において、自律神経系の薬物に対する血圧反応に性差および年齢差が認められないことから、2か月齢以上であれば、この種の実験に用いることが可能であると思われる。

しかし、Atropineに対する感受性は、幼若動物では低下する〔110〕といわれており、今回2か月齢の雄で有意の差はないもののやや反応が弱く出現したことや、大塚ら〔118〕の報告にもあるように実質臓器の体重比が4か月齢でほぼ一定すること、また、2か月齢ウサギの動脈カニキュレーションが少し困難であったことなどを考えあわせると、4か月齢以上のものを使用することが望ましいと考える。

薬物の反応における種差〔24, 129, 176, 192〕および系統差〔39, 213〕についての報告は数多く有り、主に薬物代謝酵素の有無による差としてすでに成書などに記載されている〔20, 21, 135, 172〕。年齢差については、幼若獣と成獣に層

別し、薬物代謝酵素の産生能力の差として認められており〔58, 86, 97〕、一般的には幼若獣が成獣に比べ感受性が高くなることなどが知られている〔127〕。また性差についても、性ホルモンのや蛋白同化ホルモンなどが関与し〔25〕、薬物によつては反応に差が生じることが報告されている〔3, 176〕。このように動物実験では薬物反応において、種差や系統差は明らかでこれらのことを考慮し実験を進めなければならぬことは周知のことである。また、年齢差も重要な要素であり、今回の実験は、2か月齢から2か月ごと12か月齢までのものを比較し差のない結果を得たが、上述したように発育途上にある2か月齢では、薬物反応にバラツキが生じるおそれがあり、したがって4か月齢以上のものと同月齢のものを採用することが望ましいと考える。

第4項 小 括

JW-NIBS のサギ 2 か月齡から 12 か月齡の雄雌において, Urethane 麻酔 (1,800 mg/kg, i.v.) 下での自律神経薬に対する血圧反応について年齢差ならびに性差を検討した結果は次のとおりである。

1). Epinephrine, Norepinephrine, Isoproterenol, Acetylcholine, Atropine および Histamine に対する JW-NIBS のサギの血圧の反応は各月齡 (2, 4, 6, 8 および 12 か月齡) とも同様の反応を示し, とくに年齢差は認められない。

2). Epinephrine, Norepinephrine, Isoproterenol, Acetylcholine, Atropine および Histamine に対する JW-NIBS の血圧反応には, とくに性による反応差は認められない。

第3節 自律神経薬に対するNZW-NIBSウサギの血圧反応の性差および年齢差

前節と同様、この第3節ではNZW-NIBSウサギにおける年齢差および性差について、自律神経薬に対する生体反応を血圧を指標にして検討をおこなった。

第1項 実験材料および方法

動物：NZW-NIBSウサギ雄および雌の2、4、6および8ヵ月齢、それぞれ5例ずつ日生研より提供をうけて、この実験に供した。

薬物：使用した薬物は前節(第2節)と同じものを用い、適用量、適用濃度などは全く同様におこなった。

方法：血圧測定方法および機器類は2章第1節と同様であり、また薬物適用方法、適用速度、適用間隔は前述の第2節と同じである。

第2項 実験成績

Fig. 59からFig. 70にはNZW-NIBSウサギの自律神経薬に対する血圧反応値を縦軸に薬物適用前の値を100として適用後の反応の割合をパーセントで現わし、横軸には適用量を示した。すなわち、Fig. 59, 60はEpinephrine適用の雄および雌の結果であり、各月齢とも適用量の多寡に比例して血圧値の上昇が認められ、しかもこの反応は各月齢および雌雄とも同様のパターンを示した。

Fig. 61, 62はNorepinephrineを適用した時のものである。雄はFig. 61に示すよう、各月齢において、同じような上昇変化を示している。しかし、雌(Fig. 62)では、8か月齢が10 μ g/kg適用時に他の月齢に比べやや低い反応性を示した。他は、各月齢ともドーズレスポンスがはっきりしている。Fig. 63, 64はIsoproterenolを適用した時の血圧値を示した。雄においては、2か月齢が、他の月齢に比べやや反応が低いように思われる。また、雌では、5 μ g/kg

適用時に、各月齢において、反応にバラツキが生じている。

Fig. 65および66はAcetylcholineに対する雄および雌の血圧反応値を示した。Acetylcholine に対しては雄および雌とも、各月齢間に反応の差は認められず、また雌雄とも同様のパターンを示し性差も認められない。

Fig. 67, 68はAtropine適用時の血圧値を示した。雄の2か月齢において、いずれの適用でも血圧反応にやや大きなバラツキが生じた他は、雄および雌とも、各自齢の反応は類似しており性差、月齢差は認められなかった。

Fig. 69, 70はHistamine適用時の血圧値を示したものである。雌の2か月齢が高濃度適用時やや大きなバラツキを生じた。

このようにNZW-NIBSウサギの自律神経薬に対する血圧反応では、2か月齢の雄および雌のウサギにおいて、一部に反応性の低下や、バラツキが認められたが、他の月令では、JW-NIBS 同様性差および月齢差は認められなか

った。このことから、NZW-NIBSでは4か月齢以上のウサギでは比較的安定した血圧の反応が得られるものと考えられる。

第3項 考察

NZW-NIBSウサギの2か月齢から8か月齢の薬物に対する血圧反応では、4か月齢以上で安定した反応が得られており、JW-NIBSウサギ同様4か月齢以上であればこの種の実験には使用できるものと考えられる。また、2か月齢の雌雄に認められた血圧反応の低下は、前章でも述べたように心拍数の上にも変化の出現する時期でもあり、また実質臓器の発育過程にある時であることから[118]、血圧反応が弱く出現したものと思われる。そして、NZW-NIBSの2か月齢もJW-NIBS同様Atropineに対する反応にバラツキが出現しており、これまでの報告とも一致している[110]。このNZW-NIBSの各薬物に対する反応は、JW-NIBSともよく類似しており、これらの薬物に対しては

反応に系統差がないものとする。前節の考察でも論述したように、動物実験における種差〔129, 192〕、系統差〔39, 213〕、年齢差〔127〕および性差〔3, 176〕などは、実験結果に少なからず影響をあたえるため充分考慮しなければならないが、今回用いた自律神経薬に対する血圧反応においては性差および系統差はないものと思われる。しかし、NZW-NIBSおよびJW-NIBSは2か月齢において有意の差はないものの血圧反応のバラツキが大きくなる傾向があることから、やはりこれらを用いた血圧の実験は、4か月齢以上のものが望ましいと思われる。

第4項 Ⅱ 括

ウレタン麻酔 (1800mg/kg i.v) 下での NZW-NIBS ウサギの 2か月齢、4か月齢、6か月齢および8か月齢の自律神経薬に対する血圧反応について年齢差および性差を検討した結果、

1) JW-NIBS と同じ自律神経薬を適用した

時の血圧反応は各月齢とも同様の反応を示し
とくに年齢差は認められない。

2) NZW-NIBSでも雌雄とも自律神経系に対
し、血圧反応は同様の反応を示し、性による
差は認められない。

10

15

5

10

15

(20×20)

麻 布 大 学

第4節 JW-NIBS ウサギにおける有機リン系農薬 Rangado の代謝性および残留量の比較 (性差ならびに年齢差)

前節までは電気生理学的手法により、血圧を指標として、自律神経薬に対する生体反応の性差および年齢差の検討をおこなったが、この節では、有機リン系農薬 Rangado (2-chloro-1-(2,4-dichlorophenyl) vinyl dimethyl phosphate) を用いて、生体内代謝および残留性の性差ならびに年齢差の追求をおこなった。

すなわち Rangado の代謝経路はラットやイヌ [41] およびウシ [9] においてはよく知られており、本実験では JW-NIBS ウサギの性および年齢により代謝経路ならびに代謝物および残留量に差があるかどうかを検討した。

なお予想代謝物としては、これまで報告されている Rangado のイヌおよびラットの主要代謝物 [41] や Rangado の類似した Birlane [93, 130] および Gardona [8, 216] の各種動物における代謝物から推定して実験をおこなった。

第1項 実験材料および方法

動物: 実験には JW-NIBS のウサギ, 2 か月齢
および 10 か月齢の雄・雌それぞれ前者は 16 例,
5 後者は 22 例を日生研より提供を受けて用いた。
2 か月齢の JW-NIBS のウサギには, Rangado
20 mg/animal, 10 か月齢には, 60 mg/animal を 1
回適用した。全てのウサギは実験終了まで個
体別代謝ケージにて飼育し, 飼料は 120g を 1
10 日 2 回に分けて与え, 水は自由に飲水させた。

被験薬: 実験に用いた Rangado [2-chloro-1-
(2,4-dichlorophenyl) Vinyl dimethyl phosphate]
(微粉末状, 98.3% 原体, シェル化学(株)提
供, 東京) (1) の構造式を Fig. 71 に示した。実
15 験には, これを 5% アラビアゴム溶液に 1%
と 0.5% の割合に懸濁し, ウサギに胃カテーテ
ルにより強制経口適用した。また GC-MS 分析
のための予想代謝物としては, Desmethyl
Rangado (2), 1-(2,4-Dichlorophenyl) etha-
nol (4), 2-chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)

ethanol (5), 2,4-Dichlorophenylethanediol (6), 2,4-Dichloromandelic acid (7) および 2,4-dichlorobenzoic acid (8) を準備し、これらはいずれもシエル化学(株)より提供を受けた。

試料採取: 分析の対象としては、糞、尿、血液および全臓器とした。すなわち、糞、尿については、Rangado 適用後、実験終了まで毎日採取し、容量を測定後分析まで -20°C のフリーザーにて保存した。また、血液および臓器については10か月齢は、Rangado 適用後1, 3, 6, 12, 24, 48, 72時間, 5, 10, 20 および 30日目に、一方、2か月齢は、3, 6, 12, 24, 48, 72時間, 5 および 10日目に雄・雌それぞれ2例ずつ屠殺し採取した。屠殺方法は、塩酸ケタミン $20\text{mg}/\text{animal}$ を筋肉内注射し軽麻酔後、右頸動脈にカニューレを挿入して放血死させた。血液はヘパリン処理し、容量測定後、また臓器も摘出後、それぞれ重量測定しいずれも分析まで -20°C のフリーザー

一で保存した。

分析方法及び機器：

血液や臓器および糞からの Rangado あるいはその代謝物の抽出は、農水省法 [204] に、また尿からの抽出は、Akin tonwa と Hutson [8] の方法でおこなったが、いずれの抽出においても妨害物質を除き、能率を上げるために多少の工夫を加えたのでとくに尿の抽出法を Fig. 72 に示した。分析には島津製作所製 High Speed MID-PM 9060 S 付ガスクロマトグラフ質量分析計 LKB 9000 (以下 GC-MS) を用いてスワップメントグラフィ (FM) によりおこなった。分析条件は、GC カラム : 1.5% Silicon GE-SE 30 chromosorb W60~80 mesh, 2m x 3φ glass column を用い、キャリアーガスはヘリウム 30m/min. の流速で使した。実験では、まず、分析対象化合物 Rangado (1) およびその代謝物 (2)~(8) の標準サンプルについて GC の分析条件を求め、さらに、MF における最小検出量および検量線を求めた。なお (1)~(8) の

化合物のうち(1)~(3)以外は極性基を持つため、Fig. 73に示すように水酸基をBSTFAによりTMS化(回収率100%)し、またカルボキシル基あるいはリン酸基はジアゾメタンによりメチル化(回収率80%)して揮発性の高い誘導体とした。これらの分析条件およびMFによる最小検出量はTable. 9に示した。なおこの方法による臓器および糞、尿からの回収率は、分析対象化合物(1)~(8)の0.001%アセトン溶液1ml(10 μ g)を臓器、糞および尿にそれぞれ添加しておこなった回収試験において、70~90%の回収率が得られおおむね良好であった。

尿中のグルクロン酸化合物の分析:

β -glucuronidase 2,000単位を酢酸buffer(0.1M, pH4.5) 1mlに溶解し、これに尿サンプル0.1mlを加え、48 $^{\circ}$ Cで24時間インキュベーションした。インキュベーション後、エーテル3mlを用い、抽出を2回くりかえす。この抽出液を減圧蒸留し、GC-MS MFにより加水分解の分析をおこなった。

第2項 実験成績

血液および臓器中の Rangado 濃度:

Table. 10 に, Rangado 適用後, 経時的に屠殺して得た血液中の Rangado 濃度を示した。

血液中の Rangado 量は, 適用後, 1 時間から 3 時間にかけて, 0.01 をいし 0.03 ppm 量が検出される個体と検出されない個体とが認められ, 非常に低い量であった。また 6 時間目以降は, いずれの個体においても検出限界 (0.01 ppm)

以下であった。一方, 同時に採取した肝や腎および肺など臓では, いずれの群および個体においても Rangado は検出限界以下であった。

消化管内容物における Rangado の残留量:

Table. 11 に示した。すなわち, 胃および盲腸内容物の Rangado 残留量を消化管内容物量に対する割合で示した。表に示すように, Rangado は胃および盲腸内容物においては, あらかじめ 24 時間以内は検出限界以下となり, 48 時間目にはいずれの個体にも見いださなかった。

糞および尿中の Rangado および代謝物:

Rangado は雄。雌いすれの月齢においても糞および尿からは未変化のままでは検出されなかった。しかし、代謝物としてはいくつかの極性代謝物、すなわち、1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol glucuronide (4') や desmethyl rangado (2), 1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol (4) としてごく少量の 2,4-dichlorophenyl mandelic acid (7) や 2,4-dichlorobenzoic acid (8) が糞および尿中排泄物からみいだされ、これらの割合を Table 12 に示した。Fig. 74 には、性および月齢別にそれぞれ群から検出された Rangado の代謝物の割合を平均値と標準偏差で表わした。すなわち、Rangado をラサギに経口適用すると、適用量の約 95% は尿中に、また、その残りは糞中に代謝物として 48 時間以内に排出されるようである。そして、Rangado の大部分は、1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol glucuronide (4') (総排泄量の 67~82%) として尿中に排出された。また、この尿中における代謝物(4')

は又か月齡およむ10ヵ月齡いずれも雌において雄よりも多く見いだされたが、有意の差のあるものではない。このように代謝物の排泄においても性差およむ年齢差はみいだせなかった。Fig. 75には、個体別に、尿およむ糞中に排泄された総代謝物量を経時的に示した。いくつかのウサギを除いては、代謝物の排泄ピークは12時間から24時間でみられ、すみやかに減少傾向を示し、そして、72時間目には全てが検出限界以下となった。しかし、これらの代謝物のピークのバラツキは、ほとんど全ての代謝物が尿中に排泄されるため、単位時間内の尿量や排泄の有無に左右されるようである。このように経口適用されたRangadoは消化管より完全に吸収され、Fig. 76に示すような過程ですみやかに代謝排泄されるものと思われる。また、代謝排泄の速度およむ代謝物間の割合に関しては、性、年齢による有意差は認められなかった。

第3項 考 察

経口的に適用された Rangado は、消化管より吸収され、いくつかの極性化合物に代謝され尿および糞中に排泄される結果を得た。そして、これら2つの排泄経路のうち、主たる経路は腎臓であると考えられる。存せらるる排泄された Rangado の全ての代謝物のうち、1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol glucuronide (4) は約75%を占め尿中のみに見いだされており、他のもの、すなわち desmethyl rangado (2) は、23%が尿、4%が糞に、1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol (4) は、0.4%が尿、0.9%が糞に、また 2,4-dichloromandelic acid (7) や 2,4-dichlorobenzoic acid (8) は尿中のみ微量に存在した結果からも明らかである。そして、この農薬の排泄はたいへん早いものと思われる。というも、本実験の結果から、代謝物においては、その約95%が、24時間以内に排泄され、そして、72時間目には、検出限界以下になつたことからもうかがえる。また、Rangado の

残留性については、ウサギの全ての臓器から
検出されなかつたことから、残留性は無いの
と考えられ、残留性に関する性差および月
齢差は比較できなかつた。また、一方、代謝
物における比較でも経路や代謝物および代謝
率に性差および月齢差をみいだすことはでき
なかつた。なお、ウサギにおけるこの結果と、
ラットヤイヌ〔41〕およびウシ〔9〕におけ
る Rangado 1 回経口適用した報告と比較した
ものを Table 13 に示した。今回、ウサギより
得られたほとんど全ての代謝物をこの表に示
したが、表に示した動物において、代謝物は
ほぼ同様の傾向が認められている。しかし、
代謝物の割合については動物により少し異な
り、また、ウサギにおけるこの代謝物の排泄
速度は、ラットヤイヌにくらべて早いよう
である。この結果は薬物代謝酵素の違いによる
ものと推察される。Hutosnら〔47〕は、Rangado
に類似した chlorofenvinphos を、各種動物の肝
臓片といっしょに 2 時間インキュベーション

したとき, Fig. 77に示すような Desethyl
Chlorofenvinphos のみが生産され, しかもそ
の生産割合が動物により異なることを報告し
ている。すなわち, 彼らの実験では, イヌで
5 は100%, ウサギ(系統不明)は46%, マウス
は20%。そしてラットは7%の割合で代謝物が
検出されていた。これらは *in vitro* 実験での
結果であるが, *in vivo* においても, ラット
とイヌに chlorofenvinphos を1回経口適用し,
10 彼らは次のような結果〔93〕を得ている。イ
ヌにおいては代謝物は, 親化合物の O-脱アル
キル化が高い割合で生じているが, 一方, ラ
ットはイヌにくらべその出現はたいへんゆる
やかであった。この彼らの結果は興味あると
15 ころであり, ウサギを用いた本実験において
は, 1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol glucuronide (4') が大部分を占め, しかも, これが早期
に排泄されることが, 観察されたのは, ウサ
ギの持っている酵素, すなわち, O-脱アルキ
ル化酵素と同じような作用の酵素により, 水

様性化合物が強く酸化され代謝がおこったものと説明できるし、Table 13に比較した結果からこの作用は種に特異的な酵素と推察できる。また、この酵素作用は、本実験の結果から、性および月齢による有意差はないものと考えられる。

第4項 小 括

有機リン系農薬 Rangado を JW-NIBS ウサギの雄、雌それぞれに2ヵ月齢20mg/animal、10ヵ月齢60mg/animalを1回経口適用し、その代謝排泄および臓器中への残留について性差および年齢差を検討した。その結果

1). 有機リン系農薬 Rangado の代謝については雌雄とも同様の排泄パターンを示し、すみやかに排泄されて性差は認められない。

2). 雌雄とも Rangado が適用後1時間で血中に出現し、12時間後には消失した。

3). 臓器においては Rangado および代謝物のいずれについても検出限界以下であった。

4). 尿および糞中には未変化の Rangado は検

出されず代謝物として Desmethyl Rangado (尿中 23%, 糞中 4%), 1-(2,4-Dichlorophenyl) ethanol (尿, 糞とも 1% 以下) および大量のグルクロン酸抱合体 1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol glucuronide (尿中のみに 75%) が検出された。

5) 代謝物の排出は 24 時間以内に 95% がさらに残りが 72 時間以内に主として尿中に排泄され、これらに性差, 年齢差は認められなかった。

第5節 Atropinesterase (AE) 保有ウサギおよびAE非保有ウサギの薬物に対する生体反応差

前章第4節で、ウサギ、特に一般的に市販されているJWやNZWにおいて、高い割合で Atropinesterase (AEと略す) が存在することを指摘した。このAEは Atropine 化合物のみならず脂肪 および芳香族エステルを有する化合物を分解することが知られており、ウサギを用いてこれらの化合物の実験は、十分な注意をはらわなければならないと考える。そこで、これらの化合物においては、AEの存在の有無が、その反応性にどの程度影響を与えるかどうかを、Atropineを陽性対照とし、塩酸クロルヘキシジン類似化合物である poly [biguanide-1,5-diylhexamethylene] hydrochloride を用い検討した。ウサギは、Agar plate 法により陽性群と陰性群に層別し、血圧、呼吸数および心拍数を指標に実験をおこなった。

第1項 実験材料ならびに方法

動物：実験に供したウサギは日本白色種（成熟体重1.8～2.6kg）でAE存在の有無を前述のAgar plate法により選別した。陽性および陰性ウサギの両群は、いずれもさらに5匹ずつの2群に分け、それぞれアトロピン実験群およびpoly[biguanide-1,5-diylhexamethylene hydrochloride] 実験群とした。

方法：血圧、心拍および呼吸は前述の2章、第1項の実験と同様の方法で測定した。

硫酸アトロピンは保栄薬工（株）のものを購入し、また、poly[biguanide-1,5-diylhexamethylene hydrochloride] は畜産飼料安全研究所より提供を受けた。これらの薬物はいずれも滅菌生理食塩水を溶解し、適宜耳静脈より適用した。硫酸Atropineの適用量は、予備実験により、血圧への一過性の変化が認められ、また、一般的に生体への有効量とされている1mg/kg(i.v.)とした。poly[biguanide-1,5-diylhexamethylene hydrochloride]の適用

量は3匹のウサギを用いて、漸増適用法にて行つた予備実験の結果では、0.01 mg/kg あよび 0.1 mg/kg では血圧に変化は認められず、1 mg/kg では全例に変化が認められ、また、10 mg/kg では3匹すべてが5~15分後に死亡したため、本実験では、0.1 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg あよび 5 mg/kg の順に適用する漸増適用法とし、適用間隔は60分以上とした。なお、この実験に用いた poly [biguanide-1.5-diyl/hexamethylene hydrochloride] (PHMBと以下略す) の構造式を Fig. 78 に示してある。

第2項 実験成績

Atropine を陽性対照として、AE陽性あよび陰性ウサギの血圧反応、心拍数あよび呼吸数に対するPHMBの影響を検討した。Fig. 79には Atropine 適用時における両群の経時的な血圧の変化を、Atropine 適用前値を100とし適用後の反応をパーセントで平均値とその標準誤差を示した。すなわち、白丸はAE陰性群で、

黒丸はAE陽性群を現わしている。血圧は、
Atropine 1 mg/kg (i.v.)により、両群とも一過性にごく軽度な上昇後、それに続いて平均で10~15%の下降が認められた。この下降は1分後にはほぼ適用前の値にまで回復した。その後60分まで両群とも大きな変化なく推移した。このように血圧反応においては両群の間に差は認められなかった。Fig. 80は心拍数の変化を示したものである。両群とも、
Atropine 適用直後にわずかな増加(2~4%)が認められるものの5分目にほぼ両群とも適用前の値に回復した。呼吸数の変化をFig. 81に示した。すなわち、AE陽性群は適用直後から増数し5分目の時点では平均で約25%の増加が認められた。その後経時的に減少し、適用20分後にはほぼ元の値にまで回復した。一方、AE陰性群は適用直後呼吸数はAE陽性群より大きく増加し、5分目の時点ではAE陽性群と同じ値の125%を示した。しかし、その後の経時的な変化においては、AE陽性群と大き

く異なる推移を示した。すなわち、AE陽性群は5分以降、漸次呼吸数は減少し、20~30分目には適用前値とほぼ等しく、60分目にはさらに減少を示したのに対し、AE陰性群は5分後以降60分目まで平均で約20~30%、呼吸数の増加が持続した。

一方、PHMBを適用した時の反応をFig. 82-a, 82-b, 83, 84-a, 84-b に示した。すなわち、Fig. 82-aおよび82-bには血圧の変化をダイアグラムで示してある。血圧はPHMB 0.5mg/kg (i.v.) 以上の適用群で、用量依存性に血圧変化がみとめられたが、AE陽性および陰性による血圧変化の差は認められなかった。Fig. 83は心拍数の変化を示したものである。心拍数は5mg/kg 適用において、AE陽性群および陰性群とも適用直後に一過性の減少がみられた。その後、心拍数は30分までほぼ適用前の値で推移し、60分目にはやや減少を示していた。いずれにしてもAEの陽性または陰性による反応の差はみとめられなかった。Fig. 84-aおよび

ひ84-bには、呼吸数の変化を示してある。呼吸数においては、AE陰性群はPHMB 0.5mg/kg以上の適用により適用量に比例し一過性の呼吸数の増加がみられた。また、5mg/kg適用では増加した呼吸数は、適用後15分まで持続し、20分目でもとの値にまで回復した。一方、AE陽性群ではPHMB 1mg/kg以上の適用により一過性の呼吸数の増加がみられ、その程度は、5mg/kg適用群で強くみとめられた。このようにPHMBのウサギ呼吸数に対する影響は、AE陰性群の方がAE陽性群に比べ強く現われるようである。

第3項 考 察

Atropine類化合物の動物実験において、ウサギを用いた場合、その成績に大きな違いが認められることは、すでに古くから報告されている〔144〕。例えばAtropine点眼による瞳孔の変化や〔126, 144, 177, 184, 238〕やAtropine類の排泄速度の相違およびAtropine類の抗コ

リン作用に大きなバラツキのみられることな
どである〔80, 124, 184〕。見市ら〔145〕は、
この違いをAEの有無によるものとして、Atropine
およびAtropine類似化合物での実験に際して
は、このAEの有無によりウサギを選別するこ
とが望ましいと報告している。しかし、この
酵素は、広く芳香族および脂肪族エステルを
有する化合物をも分解することが知られてお
り、これらの薬物に対するAEの影響を
Atropineを陽性対照として、実験をおこなっ
たところ、有意の差を示さないものの呼吸
器系に於いて反応に差が認められた。陽性対
照として用いたアトロピンは、血管や心臓に
対しては直接作用がないので〔169〕、血圧や
心拍数には著るしい差を認めないが、呼吸に
あいては、迷走神経中枢の興奮が起り呼吸
数の増加が認められている。しかもこの反応
はAEの存在の有無をよく反映している。

Forster and Hannafin (1978)〔57〕および
Hobbiger and Lessin (1975)〔89〕によれば、

AE陽性ウサギにおいて Atropine 1 mg/kg (i.v.)
適用における効力の持続は15~20分である。
今回の実験でも、AE陽性群の Atropine に対す
る呼吸反応は20分で消失してあり、彼らの報
告とよく一致した。また、AE陰性群は60分を
経過しても、呼吸数の増加がみられてあり、
AE欠除による Atropine 効果の増強が認められ
た。このように AE陽性および陰性ウサギでは、
Atropine に対する反応の相違が呼吸数のう
えによく反映された。一方、PHMB 適用での AE陽
性または陰性ウサギの反応は、血圧ならびに
心拍数ではその反応に差が認められないが、
呼吸器系においては、Atropine と同様、反応
の差を認めた。しかし、この反応差は Atropine
の場合と若干異なっており、すなわち、
呼吸の反応は、AE陰性群の方が、AE陽性群よ
りも適用直後強く現われる傾向を示し(1 mg/kg
および 5 mg/kg)、PHMB 5 mg/kg 適用では、適用
後20分まで AE陰性群が陽性群に比べ強い反応
を示した。このように Atropine では、適用後

は両群とも同じように呼吸数が増加し、時間の経過とともにAE保有ウサギは回復するものの、AE非保有ウサギは、Atropine作用がより持続するというパターンを示した。一方、⁵PHMBでは、適用直後の反応に違いがみられた。すなわち、AE非保有ウサギの呼吸数はAE保有ウサギに比べ、大きく増加したが、この反応は適用量の夕寡に比例して、適用後20分までには回復した。このAtropineとPHMBの反応の違いについては今後検討する必要があるが、¹⁰いずれにしても、これまでにAEにより代謝を受ける薬物として、AtropineをはじめAtropine類似化合物においては、前述したようにウサギを用いたこれらの実験には、注意を要するとされてきたし、¹⁵また、芳香族および脂肪族エステルを有する化合物についても影響を受けるであろうとされていたが〔14, 49, 87, 132, 184, 226〕、今回、PHMBにおいて、AE保有ウサギとAE非保有ウサギの間で呼吸の反応に相違が認められた結果から、⁵ ¹⁰ ¹⁵ 今後はウサギを用いた薬

理試験では、AEの有無を確認した後、実験に供することがより望ましいと考える。ウサギのAEは、比較的簡便な方法で検出できるので、AEの有無により供試ウサギを層別し、実験に供するか、あるいは前章で報告したAE非保有コロニーのウサギを用いることによりバラツキの小さい、精度の高い成績を得ることが出来るものと考えられる。

第4項 小 括

Atropinesterase (AE) 保有ウサギとAE非保有ウサギの2群に、AtropineおよびDHMBを適用し、これらの薬物に対する生体反応の差を検討した結果は次のとおりである。

1). Atropineに対しては、AE保有ウサギに比べAE非保有ウサギにおいて、呼吸数の増加が有意に持続した。

2). DHMBに対しては、AE保有ウサギ、非保有ウサギとの呼吸数の増加には有意の差を示さないものの、AE非保有ウサギの呼吸数

が増加し持続する傾向にあった。

5

10

15

5

10

15

(20×20)

麻 布 大 学

第4章 総 括

実験用動物としてのウサギは、古くから生理学、薬理学、免疫学および毒性学などの分野において汎用されてきているにも拘わらず、未だ遺伝的、環境的ならびに病因的に統御されておらず、実験動物ウサギとしての条件は不十分であると言わざるを得ない。近年、外国においては是等の系統化あるいは均一化されたウサギが作出されており、一方、我が国においても遺伝的純化のかなり進んだウサギの作出をみるに至っている。そこで本研究は獣医学分野における実験用動物の使用者側の立場から系統、性別、年齢および環境などの一定性を生理学的ならびに薬理的に比較検討することにより、ウサギの実験動物としての特性を把握し、その特徴を浮き彫りにすることをおの研究の目的とした。その成績の概要は次の通りである。

I. ウサギの実験用動物としての歴史、使用状況および将来への展望

文献的考察を中心に要約すると、次のとおりである。

(1)、実験用動物としてのウサギは、1900年代に入ってから頻繁に用いられるようになってきた。

(2)、ウサギの近交系作出は、外国では1900年代当初より開始された。

(3)、我が国における近交系作出の試みは、1950年代に入り始まった。

(4)、ウサギの近交系は、外国ではス〜J系レがなく、我が国においても1980年にJW-NIBS/Yが20代に達し、1系統の確立が認められるだけで、近交系作出には困難性がうかがわれる。

(5)、実験動物としてのウサギの重要性は、マウス、ラットに比べており、使用者側の立場からは多くの近交系作出が望まれている。

II. 系統ウサギの比較生理学的特性に関する研究

1. JW-NIBS ウサギの年齢差、性差および環境差による生理値の変動。

1) JW-NIBS ウサギの加齢にともなう生理学的特性を把握するため、生後1か月齢から5年齢までの生理値、とくに体重、体温、心拍数、呼吸数、心電図および血圧を観察の対象とした結果は次の通りである。

(1) 体重の増加曲線は雄・雌とも7~9か月齢でプラトーとなり、2.8~3.0 kgであった。

(2) 体温は両性とも3週齢以降38.0℃台の値を示した。

(3) 心拍数は両性とも8~9週齢(2か月齢)より240~280回/分と安定した。

(4) 呼吸数は雄・雌とも毎分100回以上の値を示し、保定の影響が著しく認められた。

(5) 心電図波形はR_sタイプが約90%を占め最も多く出現し、この割合が年齢別および性別により著しく異なることはなかった。

(6) 血圧は2か月齢から12か月齢の間では、両性とも平均値で収縮期血圧121~146 mmHg、拡張期血圧77~91 mmHg、平均血圧91~107 mmHgの値を示しているが、高年齢ウサギ(生後約

の年齢以上に達したものの)では雄、雌とも個体間のバラツキが大きくなってきている。とくに雄では顕著にみられるが、これは80か月齢のウサギが低血圧を示していることによる。

2) JW-NIBS ウサギの環境差(飼料を含む)による生理値の変動を検討した結果は、

(1)呼吸数および心拍数では各月齢ならびに両性とも、とくに環境差はみられないものの、高温環境下ではやや測定値のバラツキが大きい。

(2)体温は環境温度26℃以上で影響を受ける。

以上の結果に基づき JW-NIBS の特性を整理すると、a)体重は7~9か月齢よりプラトーとなり、b)心拍数は2か月齢より安定するが、c)呼吸数は保定の影響を強く受ける。また、d)心電図波形は同一パターン(Rsタイプ)が多く出現し、しかも判読が容易であるので心電図の検索に適している。e)血圧にあまり大きな変化がみられないものの高年齢(80か月齢)に達した雄ウサギでは低血圧を示すこと

が明らかとなった。一方、f)体温は環境温度26℃以上で影響を受けることから、日本薬局法や日本抗生物質医薬品基準に規定されている発熱性物質試験法に定められている「試験環境温度を20～27℃でなるべく恒温恒湿に保つ」とある条件は適当でないと考える。

2. NZW-NIBSウサギの生理学的特性

NZW-NIBSウサギの生理学的特性は次のとおりである。

(1)体重は6か月齢以降、その増加割合はフラットとなり、2.5～2.6kgであった。

(2)心拍数は両性とも2か月齢から8か月齢において200～260回/分と比較的に安定した値を示した。

(3)呼吸数は100～230回/分と大きな値と大きなバラツキを示し、両性とも各月齢の時点での測定値に保定による影響が著しく関与していた。

(4)体温は性差に関係なくほとんどの個体が39℃台を示していた。

(5) 血圧は両性とも加齢に伴い平均血圧、収縮期血圧および拡張期血圧とも高くなる傾向を示していた。

② JW-NIBS ウサギと他系統ウサギ (NZW-NIBS, Dutch-NIBS, JW) との生理学的特性の差。

JW-NIBS、NZW-NIBS、Dutch-NIBS および JW における心電図波形のパターンおよびその測定値ならびに体温 (直腸温) の系統差を比較検討した結果は次のとおりである。

1) 心電図における系統差

(1) ウサギ系統別の代表的心電図のパターンは JW-NIBS (約 90%)、NZW-NIBS (約 60%) および JW (約 45%) では R_s タイプであり、Dutch-NIBS では R_s タイプ (約 45%) および r_s タイプ (約 40%) の二つが代表的心電図パターンとなる。

(2) JW-NIBS では同一パターン (R_s タイプ) が最も多く出現し、他の系統のウサギに比べ R 棘は大きく、波形の判読が容易なことから

ウサギを用いて心電図を検討する実験には、
JW-NIBS が最も適しているといえる。

(3) Dutch-NIBS では心電図のうえから相対
的心室筋興奮時間が他のウサギに比べて長い
のが特徴といえる。

2) 体温 (直腸温) における系統差

6 か月齢の系統ウサギ (JW-NIBS, NZW-NIBS)
と同年齢の JWウサギの直腸温を比較した結果
は、

(1) JW-NIBS は平均で両性とも 38.5°C 、JWは
 $39.0 \sim 39.1^{\circ}\text{C}$ および NZW-NIBS は $39.7 \sim 39.8$
 $^{\circ}\text{C}$ であり明らかに系統差が認められた。

(2) この研究に用いた JW-NIBS ウサギでは、
使用した 927 例中、 38°C 台の体温を示すもの
が 660 例 (71.2%)、 39°C 台を示すもの 169
例 (18.2%) であり、多くのウサギが比較的
安定した体温を示していた。このことから発
熱性試験には JW-NIBS が最も適しているとい
えよう。

又、JW-NIBS ウサギと他系統ウサギにおけ

る血清生化学的特性の差

この節では、Prealbumin Esteraseの Phenotypeによる各種ウサギコロニーの均一性およびAtropinesteraseの保有率を比較検討した。

1) 各種系統ウサギの純化の程度を比較するため、血清Prealbumin EsteraseのPhenotypeを検索した結果は次の通りである。

(1) 血清Prealbumin EsteraseはJWでは6種類のタイプ、また、NZWでは5種類、JW-NIBSにおいては4種類、JW-NIBS/Yでは2種類、また、NZW-NIBSおよびDutch-NIBSにおいてはいずれも1種類のPhenotypeが確認された。このようにPrealbumin EsteraseのPhenotypeを分類することにより、系統化されたウサギおよびフローズトコロニーのウサギではコロニーの不明確なウサギに比べ純化の程度がより進んでいることが判明した。

2) 各種系統ウサギにおけるAtropinesterase保有率を検索した結果は次の通りである。

(1) Atropinesterase はコロニーの不明確な JW や NZW では、それぞれ 22.7% および 90% の保有率であった。また純化の程度の高いウサギ JW-NIBS においては 10.1% の AE 保有率であった。一方、NZW-NIBS や Dutch-NIBS および近交系 JW-NIBS/Y には AE 保有ウサギは存在しなかった。

(2) このようにフローズドコロニーあるいは系統化されたウサギではコロニー不明確なウサギに比べ AE 保有率は低くなるが、あるいは陰性となることが明らかとなった。

III. 系統ウサギの比較薬理学的研究

系統ウサギの特徴をさらに深く浮き彫りにするため、比較薬理学的立場から系統、性別、年齢などの一定性を追究した。

1. 薬理学実験における JW-NIBS ウサギの麻酔方法の再検討

麻酔ウサギを薬理学実験に用いる場合、とくに血圧を測定の対象とするとき麻酔深度の程度を一定に保つことが困難なことから、血

No. _____
圧が不安定となり得られるデーターに大きなバラツキの起こる要因となっている。そこで、ウサギを用いる薬理学実験での麻酔方法について再検討した結果は次の通りである。

5 (1) Urethane 1,800 mg/kg の静脈麻酔は、血圧などの生体现象を対象とする薬理学実験において、観察時間2時間以内の実験なら、比較的安定した測定値が得られた。但し、この場合の Urethane の濃度および注射速度は、30% 溶液のもの10を毎分当り 1 ml の割合いで注射する方法が適切であった。

(2) Urethane 麻酔下での成熟 JW-NIBS ウサギの血圧、心拍数および呼吸数の変動には、性差および年齢差は認められなかった。

15 (3) JW-NIBS、JW および NZW-NIBS ウサギにおける Urethane 麻酔下での血圧の変動には、これらの系統間に差が認められなかった。

2. 自律神経薬に対する JW-NIBS ウサギの血圧反応の性差および年齢差。

JW-NIBS ウサギの自律神経薬に対する血圧

反応の差を性別ならびに年齢別に比較検討した結果は次の通りである。

(1) Epinephrine, Norepinephrine, Isoproterenol, Acetylcholine, Atropine および Histamine に対する JW-NIBS ウサギの血圧の反応は、各月齢 (2, 4, 6, 8 および 12 か月齢) と同様の反応を示し、とくに年齢差は認められなかった。

(2) Epinephrine, Norepinephrine, Isoproterenol, Acetylcholine, Atropine および Histamine に対する JW-NIBS の血圧反応には、とくに性による反応差は認められなかった。

3. 自律神経薬に対する NZW-NIBS ウサギの血圧反応の性差および年齢差

NZW-NIBS ウサギの自律神経薬に対する血圧反応の差を性別ならびに年齢別に比較した結果は次の通りである。

(1) JW-NIBS と同じ自律神経薬を NZW-NIBS ウサギに適用した時の血圧反応は、各月齢とも同様の反応を示し、とくに年齢差は認めら

れなかった。

(2) NW-NIBS でも雄、雌とも自律神経薬に対し血圧反応は同様の反応を示し、性による差は認められなかった。

4. JW-NIBS ウサギにおける有機リン系農薬 Rangado の体内代謝性および残留性の比較 (性差および年齢差)

JW-NIBS ウサギにおける有機リン系農薬 Rangado (2-chloro-1-(2,4 dichlorophenyl) vinyl dimethyl-phosphate) の代謝ならびに残留性について年齢差および性差を比較検討した結果は次の通りである。

(1) Rangado の代謝については雌雄とも同様の代謝パターンを示し、すみやかに排泄されて性差は認められなかった。

(2) 雌雄とも Rangado が適用後1時間で血中に出現し、12時間後には消失した。

(3) 臓器においては Rangado および代謝物のいずれについても検出限界以下であった。

(4) 尿および糞中には未変化の Rangado は検出

されず、代謝物として Desmethyl Rangado (尿中 23%、糞中 4%)、1-(2,4-Dichlorophenyl) ethanol (尿、糞とも 1%以下) および大量の グルクロン酸抱合体 1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol glucuronide (尿中のみに 75%) が検出された。

(5) 代謝物の排出は 24 時間以内に 95% が、さらに残りが 72 時間以内に主として尿中に排泄され、これらには性差、年齢差は認められなかった。

5. Atropinesterase (AE) 保有ウサギおよび AE 非保有ウサギの薬物に対する生体反応差。

AE 陽性ウサギおよび陰性ウサギの薬物に対する生体の反応差を検討した結果は次の通りである。

(1) Atropinesterase 陽性ウサギと陰性ウサギにおける Atropine および PHMB (化学名 poly [biguanide-1,5-diylhexamethylene hydrochloride]) の適用の結果、Atropine では AE 陰性ウサギ群において呼吸数の増加および持続が AE 陽性ウ

サギ群に比べ有意 ($P \leq 0.05$) に強く観察された。
しかし、PHMB では両群のウサギに同様の変化が認められたものの有意の差として検出できなかった。

5 以上の成績からウサギの麻酔方法は、Urethan
1,800 mg/kg の静脈投与 (30% 溶液、1 ml/min) に
より、各生理値は比較的安定した測定値を得
ることができる。また、生後2か月齢から12
10 か月齢の純化の程度の高いウサギにおいては
薬物に対する反応に月齢差および性差のない
ことが確認された。しかし、AF存在の有無に
より、対象薬物によっては、その成績に影響
を与えることが示唆された。

第5章 総合考察

獣医学、医学および薬学領域における動物実験は、生命科学の進歩とともにそこに使用される実験動物においても、より厳格な基準が要求されるようになってきた〔53, 62, 106, 113, 149, 181〕。すなわち、実験材料として用いられる実験動物は均一化され、規格化されることによつて、研究成果の信頼性を高めることができると考えられるからである。このことは、¹⁰実験に使用される動物を最小限に止めることに繋がることになる。一方、多くの化学物質のヒトへの健康影響を追究していく立場から、あるいは疾病の治療法を開発していく立場からは、動物実験はなくてはならないものと考え¹⁵るが、最近、多種多様の動物を必要とする毒性試験の分野においても、動物福祉の立場から、哺乳動物に代つて、両生類〔197〕、無脊椎動物〔148〕、微生物〔13, 141〕あるいは組織細胞〔221〕などを用いた代替実験がおこなわれるようになった。このように動物実験者の倫理として、

動物実験の基礎的研究には、でき得る限り、
実験動物の代替の可能性とその開発をする努
力が必要であろう。同時に前述したように、
研究の目的にあった動物を開発し〔164, 207〕、し
かも高品質〔166〕の動物を使用していかなけれ
ばならないと考える。

それ故、著者は実験用動物としてのウサギ
が古くから、しかもマウスやラットに次いで
数多く用いられているにも拘わらず、依然と
して、遺伝的、環境的ならびに病的に統御
された品質の高いウサギが開発されてい
ないことから、実験動物の使用者側の立場にたっ
て、ウサギの改良、開発の必要性を主張して
きた。

近年、外国において2~3の系統化あるい
は均一化されたウサギが作出されており〔61〕、
一方、我が国においても遺伝的純化のかなり
進んだウサギの作出をみるに至っている〔220〕。
そこで本研究の主要な目標は、ウサギの系統、
性別、年齢および環境などの一定性を、生理

学的ならびに薬理学的に比較検討すること、ウサギの実験動物としての特性を把握し、その特徴を浮き彫りにすることにあつた。

実験用動物としてのウサギは、古くは家畜として飼育されているものを転用したにすぎず〔60, 165, 187〕、本格的に実験用動物として開発されたのは1900年代に入ってからだと推察できる〔51, 61, 62〕。当初はヨーロッパにおいてウサギの遺伝的な研究が始まったが〔51〕、その後、研究の主流は米国に移り、ロックフェラー研究所からジャクソン研究所に流れが変り現在に至っている〔61〕。ウサギの遺伝的研究が進んだのは Sawin〔182〕、Chai〔32, 35, 36〕および Foxら〔60〕の皮フの移殖定着率を高くする実験のため、ウサギを近親交配することに着手したことからである。その後、Jackson Lab.の研究グループにより、いくつかの系統ウサギが作出された〔57, 59, 36, 61〕。さらにこれらの生理学的特性に関する一連の研究が報告され〔40, 44, 63~68, 71, 123, 185, 190〕、ウサギを使用する

研究者にとって貴重な基礎的データとなっ
ている。他方、ウサギが実験用動物として注目
されだしたのは、1960年代のサリドマイド事
件以後であり〔56, 75〕、催奇形性の実験に欠
5 くことのできない動物となっており〔50, 69, 139, 140〕
〔191, 192, 221〕
形態学的方面からも研究がなされている〔34,
183〕。それ以来、あらゆる分野の実験にマウ
スやラットに次いで使用されるようになって
きた。一方、我が国でのウサギの実験動物化
10 に関する研究は、1950年以前は詳細な報告は
なく、その後今日に至るまで実験に用いら
れるウサギは、家畜から転用したものについ
て、実験者が必要に応じデータの蓄積をおこ
なってきたにすぎない〔92, 206, 219〕。我が国にお
15 けるウサギの近交系作出は、現在2〜3試み
られているが、確立されたのは日本生物科学
研究所における JW-NIBS/Y (1980年) のみであ
る〔212, 220〕。実験動物としてのウサギの基礎的
データについては、系統的かつ総合的にされ
たものはほとんどなく、わずかに倉益ら〔7, 118〕

の報告をみるにすぎない。それ故、著者の研究
完成果は今後、ウサギを用いた実験に際し、
基礎的データとして少なからず寄与するもの
と考えている。すなわちウサギの発育曲線/
つもとってみても、これに関するデータは少
なく〔206, 219〕, しかもその観察期間が極めて短
く〔10, 74, 92, 96, 215, 219〕, 今回の JW-NIBS のように5年
もおよぶデータの蓄積は皆無である。例えば、
実験に使用するウサギを実験飼育室で固型飼
料により飼育し始めて以来、ウサギは常に体
脂肪の過多が問題とされてきた〔201〕。著者
の成績から、JW-NIBS における1日120gの制
限給餌は、自由採食と比べ体重のうえからは
差がみられるものの発育曲線の推移には差は
みられず、過肥状態にもならず、発育上何ら
問題は無いと思う。このように現在の市販固
型飼料でウサギを飼育する限り、1日120gの
制限給餌は適切な給餌量であると考えている。
また、JW-NIBS の心拍数は、雄、雌とも8~9
週齢(2か月齢)より240~280回/分と安定した値

を示し、ウサギの心拍数は8~9週頃に1つの変動期が存在する。JW-NIBSウサギの心拍数はMott〔152〕の成績と一致し、これまで報告されているウサギの心拍数とほぼ同じであった〔2, 188, 206〕。一方、JW-NIBSウサギの呼吸数は加齢に伴ない増数が認められ、生後9~10週で安定する傾向が認められたが、これまで報告されているウサギの呼吸数よりはるかに大きい値となっていた〔42, 83, 138〕。これは強制背位保定による測定方法のため、測定時にtensionが加わったものと考えられる。一方、JW-NIBSウサギの体温については興味ある知見が得られた。一般にウサギはPyrogen Testに用いられるため〔161〕、体温に関する報告は数多くみられる〔121, 205, 234, 242〕。しかし、それらの報告の大部分は、測定器具や保定方法〔121, 205, 242〕ならびに試験環境〔102, 188〕などの影響について検討したものであり、被験動物の系統差による体温の比較に関する研究は著者が最初であろう。すなわち、JW-NIBS, NZW-NIBS

および JW の体温には、これら三者間に有意の差が認められ、ウサギの系統により生理的な体温に差のあることが観察された。それ故、
5 今後は発熱性物質に対する被験ウサギの系統別反応差についての検討が必要となってくる。

JW-NIBS ウサギにおける Urethane 麻酔下の血圧について検討した結果は、2 か月齢から 12 か月齢までは雄、雌とも平均血圧にほとんど差がなく、月齢差や性差は認められていない。

10 しかし、NZW-NIBS においては 2 か月齢から 8 か月齢にかけて、加齢に伴ない平均血圧は上昇する傾向が認められた。このように JW-NIBS ウサギでは 2 ~ 12 か月齢では血圧に変化は認められないが、NZW-NIBS ウサギにおいては 15 2 か月齢から 8 か月齢にかけて、わずかながらあるが上昇する傾向がみられ、成長過程における血圧においては系統差が認められた。この成績は Fox [70] らのウサギの系統により血圧値には差がみられるという報告と一致する。

ウサギの心電図は主として肢誘導法 [70, 111, 159]

によって測定されていたが、松浦ら〔127〕は心臓の電気軸に沿ったウサギのA-B誘導法を提唱した。著者はこのA-B誘導法により、JW-NIBS, NZW-NIBS, Dutch-NIBS および JW の心電図を比較検討した結果、心電図には系統差のあることが判明した。すなわち、Dutch-NIBS の p-p Interval が他系統に比べ短い割には Duration は比較的長く、明らかに相対的な心室筋興奮時間の長い、心室肥大を思わせるような所見であった〔122〕。このように Dutch-NIBS の心電図には大きな特徴が認められ、興味もたれるところである。また、QRS 棘波のタイプを比較した結果、同一パターンの最も多く出現するものは JW-NIBS ウサギであり、心電図のうえからは他の系統よりも均一化されているものと考えられる。したがって、心電図を測定の対象とする実験においては JW-NIBS ウサギは最も適しているものと考えらる。

一方、動物は、種〔24, 129, 176, 192〕, 系統〔39, 213〕, 年齢〔127〕 および性〔3, 176〕により薬物に対

する反応差のみられることが知られている。
その一因として、薬物代謝酵素の欠損や産生能力の差などが挙げられている〔58, 86, 97〕。
例えば、他の動物には存在せず、ウサギにおいてのみ存在することが知られている酵素に *Atropinesterase* (AE) がある〔14, 22, 49, 77, 78, 87, 132, 173〕。この酵素は遺伝的純化が進むにつれ消失する傾向のあることが報告されている〔194〕。また、この AE は血清 *Prealbumin Esterase* とも関係が深く、*Van Zutphen*〔225〕によれば、ウサギの血清 *Prealbumin Esterase* の *Phenotype* は 10 種類確認されている。この *Phenotype* I ~ IV には AE が存在し、V および VI のタイプには AE は存在しないことが報告されている。著者の我が国における系統ウサギについての成績は *Van Zutphen* らの報告〔224, 226〕を指示するものである。すなわち、純化の程度の進んだ *JW-NIBS/Y*, *Dutch-NIBS* および *NZW-NIBS* においては AE は存在しなかった。また、クローズドコロニーである *JW-NIBS* では AE の保有率は約 10%、いわゆる

cross-breeding である JW や NZW ではそれぞれ約
20% および 90% と系統ウサギに比べ高い保有
率を示していた。一方、血清 Prealbumin Esterase
の Phenotype, NZW-NIBS と Dutch-NIBS において
1 種類のみを Phenotype を示し、JW-NIBS/Y では
2 種類の Phenotype を有し、また、フロースト
コロニーの JW-NIBS では 4 種類、cross-breeding
である JW や NZW は 5~6 種類と多くの Phenotype
を有していた。このことから、フローストコ
ロニーの JW-NIBS はまだ純化の程度がそれほ
ど高くはないといえよう。また、Sib 交配が 20
代まで達した JW-NIBS/Y においても Phenotype
は 2 種類となっており、近交係数と Phenotype
の均一性は必ずしも一致しないようである。
この成績は Van Zutphen や Fox [230] の報告にも
みられるが、遺伝育種学的研究のうえからは
今後の課題になると思う。

以上のように、著者が研究対象としたウサ
ギには、生理学的特性のうえに系統差や年齢
差が認められることから、さらに薬理学的特

性を究明するため、これらウサギの薬物に対する反応差についても検討を加えた。

現在、ウサギの麻酔方法は実験領域の違いにより、各種方法がおこなわれており〔^{43, 108,}_{142, 237}〕

5 また、同一薬物でも研究者により投与量に差が認められている〔^{26, 46, 98, 100,}_{148, 154, 179}〕。これは、ウサギ

の麻酔が他の動物と異なり、十分な麻酔状態を得ることが困難であることに起因している

〔^{76, 154, 202, 236}〕。そこで、まず、著者はウサギに

10 対する麻酔方法を再検討するとともに、薬理学実験に適した麻酔方法を検討した。その結果、ウサギの血圧実験においては、Urethane

1,800 mg/kg の静脈麻酔により、観察時間 2 時間

以内の実験なら、比較的安定した測定値が得

15 られたことから、この麻酔方法はこれまで報告されているバルビツール酸誘導体による麻

酔法〔103〕に比べ血圧に対する影響は弱いとい

えよう。但し、この場合 Urethane の濃度およ

び注射速度は、20% 溶液のものも毎分当り 1

ml の割合いで注射する方法が適切であった。

さらに系統ウサギの薬理学的特性を把握する
ために、血圧の変化を指標として自律神経薬
の反応差および有機リン系農薬の代謝性の差
を検討した。また、併せてAEの存在有無によ
る薬物反応差などについても検索した。その
結果、JW-NIBSにおける有機リン系農薬 Rangado
の代謝性および残留性には年齢差ならびに系
統差は認められなかった。しかし、Atropine
に対する反応の差は JW-NIBS および NZW-NIBS
の両者において、2か月齢ではいずれも他の
月齢に比べ反応のバラツキが大きくなって
いた。この2か月齢における Atropine に対する
反応にバラツキのみられる変化は、幼若齢の
ため AE 代謝酵素の合成が未発達なため [58, 97
86] か、あるいは循環器系統が十分発育してい
ないため [118] のいずれかであると考えられる
が、いまのところ断定できない。しかし、こ
の Atropine に対する血圧反応のバラツキは、
幼若ウサギはとくに Atropine に対する反応が
低下するとの報告もあり [110]、Atropine だけ

に対する特異的反応とも考えられるが、いず
れにせよ、2か月齢において一部の薬物に対
する反応にバラツキが生じることから、ウサ
ギの使用は4か月齢以上に達したものが望ま
5 しいと考える。一方、薬理学実験においてウ
サギを被験動物として使用する場合、AE存在
の有無をも考慮しなければならないと考える。
何故なら、ウサギのAE存在は古くから知られ
ており〔144〕、ウサギのAEに関する研究は数多
10 く報告されている〔226, 57, 89, 12, 126, 79, 80, 124,
184〕が、しかし、薬物反応における多くの研
究はAEの存在を考慮していない〔203, 88, 18, 19,
105〕。今日、ウサギにはAEを保有する個体と
AEを保有しない個体のあることが著者の成績
15 を含めて明らかにされてきた。それ故、ウサ
ギを用いた薬物実験においては、このAE存在
も考慮する必要がある。このように薬理学的
実験を進めるにあたり、著者の成績から推奨
できることは JW-NIBS/Y, NZW-NIBS および
Dutch-NIBS といった純化の程度が進んだ系統

を使用するか、あるいはJWやNZWなどのいわゆる cross-breeding のウサギを用いる場合は、AEの有無による層別を実施してから、試験に用いることである。これにより、より精度の高い実験結果が得られるものと確信する。

以上、論述したようにウサギの系統によりその生理値に差がみられ、また月齢やAE酵素の有無により薬物の反応に対する差が認められることから、実験用動物としてのウサギの使用法、すなわち、種や体重でのみ選別されたウサギを使用するような試験は好ましくないと考えられる。それ故、月齢および実験によつてはAEの有無などを層別して使用することをとくに強調したい。

第6章 結 論

本研究から得られた結果は次のとおりである。

1), JW-NIBSウサギの発育は雄, 雌とも20週齢頃より緩徐となり, 7~9か月齢で2.0~3.0kgに達して, 発育増加曲線はプラトーとなった。

一方, NZW-NIBSウサギは, 両性とも6か月齢以降2.5~2.6kgに達していた。

2), JW-NIBSウサギの心拍数は両性ともに2か月齢より安定し240~280回/分となった。また, NZW-NIBSウサギは2か月齢以降200~260回/分であった。

3), 呼吸数はJW-NIBSおよびNZW-NIBSウサギにおいて, 両性とも毎分100回以上の値を示し, 保定の影響が著しく認められた。

4), JW-NIBSウサギの体温(直腸温)は, 両性とも3週齢以降38.0°C台の値を示した。また, JW-NIBS, NZW-NIBS, およびJWウサギの6か月齢における平均体温はいずれも性差は認められなかつたが, 系統により差がみられた。

すなわち, JW-NIBS 38.5°C , NZW-NIBS $39.7 \sim 39.8^{\circ}\text{C}$ および JW $39.0 \sim 39.1^{\circ}\text{C}$ である。なお, JW-NIBS ウサギの体温は 927 例中 38°C 台の体温を示すものが 660 例 (71.2%), 39°C 台を示すものが 169 例 (18.2%) であった。

5) ウサギの体温は環境温度 26°C 以上で影響を受ける。

6) ウサギ系統別の代表的な心電図パターンは JW-NIBS (約 90%), NZW-NIBS (約 60%), および JW (約 45%) では RS タイプであり, Dutch-NIBS は RS タイプ (約 45%) および rS タイプ (約 40%) である。

7) JW-NIBS および JW ウサギでは両性とも発育過程において個々の心電図パターンのタイプが変化するとはなかった。

8) Dutch-NIBS ウサギの心電図では他の系統のウサギに比べ PP Interval が短いのに対し, 反対に QRS Duration は長く, 相対的に心室筋興奮時間が他のウサギに比べて長いことが, 特徴といえる。

9). 血清 Prealbumin Esterase の Phenotype は, Dutch-NIBS および NZW-NIBS ウサギで 1 種類 JW-NIBS/Y ウサギで 2 種類, JW-NIBS ウサギで 4 種類の存在が認められた。一方, Cross-breeding の NZW ウサギでは 5 種類 および JW ウサギでは 6 種類があり, その分布は大きく, バラツキがみられた。

10). ウサギの系統別 Atropinesterase の保有率は, JW-NIBS/Y, NZW-NIBS および Dutch-NIBS は 0% であり, JW-NIBS は 10.1%, JW は 22.7% および NZW は 90% の保有率であった。

11). フロースドコロニ—あるいは系統化されたウサギではコロニ—不明確なウサギに比べ AE 保有率は低下するか, あるいは AE 陰性となる。また phenotype による分類においてもこれら純化の程度の高いウサギでは均一化される。

12). ウサギの血圧などの生体現象と対象とする薬理学実験においては, 2 時間以内の実験なら, 比較的安定した測定値の得られる Ure-

thane 麻醉, すなわち Urethane $1,800\text{mg/kg}$ を毎分当り 1ml (30% 溶液) を, 静脈内に投与する麻醉法が適当といえる。

13). Urethane ($1,800\text{mg/kg}$, i.v.) 麻醉下の血圧値は, JW-NIBS のサギでは, 2か月齢以降, 両性とも平均値で収縮期血圧は $121\sim 146\text{mmHg}$, 拡張期血圧は $77\sim 91\text{mmHg}$, 平均血圧は $91\sim 107\text{mmHg}$ の値を示しているが, 高年齢のサギ (生後約3年齢以上に達したもの) では, 雄, 雌とも個体間のバラツキが大きくなっている。とくに雄では顕著にみられるが, これは80か月齢のサギが低血圧を示していることによる。一方, NZW-NIBS では平均血圧が2か月齢は両性とも約 80mmHg であったが, 4か月齢雄では 80mmHg , 雌 85mmHg , 6か月齢雄 90mmHg , 雌 88mmHg および8か月齢雄, 雌とも 95mmHg と血圧は加齢に伴い若干高くなる傾向を示していた。

14). 自律神経薬に対する JW-NIBS および NZW-NIBS のサギの血圧の反応は, 2か月齢におい

て反応の程度にバラツキがみられたが、4か月齢以降ではバラツキは小さく、各月齢、各性とも同様の反応を示した。

15) JW-NIBS のサギにおける有機リン系農薬 Rangado の代謝については、雄、雌とも同様の代謝パターンを示した。すなわち、Rangado はすみやかに Desmethyl Rangado, 1-[2,4-Dichlorophenyl] ethanol および 1-[2,4-Dichlorophenyl] ethanol のグルクロン酸抱合体に代謝され、
10 主として尿中に排泄された。しかもこの代謝排泄パターンには2か月齢と10か月齢のサギにおける年齢差は認められなかった。

16) Atropinesterase 陽性サギと陰性サギにおける Atropine および PHMB (poly[biguanide-1,5-diylhexamethylene] hydro-chloride) の適用の結果、Atropine では AE 陰性サギ群において呼吸数の増加および持続が、AE 陽性サギ群と比べ有意 ($p \leq 0.05$) に強く観察された。しかし PHMB では両群のサギに同様の変化が認められたものの有意の差として検出

できなかった。

これらのことから、ウサギはその系統により、生理値にそれぞれ特徴のあることが明らかとなった。それ故、各種ウサギの系統化を進めることにより、実験目的にかなう系統ウサギを使用することが可能となる。その結果、より精度の高い動物実験をおこなうことができるものと考えられる。

謝辞

終りにのぞみ多くの有益な御指導、御教示を賜わった麻布大学教授赤堀文昭博士に謹んで心から感謝の意を表す。また、麻布大学教授中村經紀博士、同教授藤岡富士夫博士ならびに前教授荒井研先生にも種々御助言を載き、ここに深く謝意を表わすとともに、本研究に対し貴重な系統ウサギを提供して下さった財団法人、日本生物科学研究所理事長倉益茂実博士ならびに同付属実験動物研究所梅沢英彦先生に深謝する。また、実験およびデータの整理に協力を載いた麻布大学講師小川絵里博士、同助手新井成之先生および麻布大学薬理学教室生の諸君に心から謝意を表す。

文 献

- [1]. 安達二郎・福井正信 (1976)、実験用ビーグル犬の体温について、実験用ビーグルの研究、福井、友田、上田編、ソフトサイエンス社、東京、241-253、
- [2]. Adams, C. E., Aitken, F. C. and Worden, A. N. (1967).
The rabbit, The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. 3rd ed. (Ed. the staff of UFAW and Others.)
E & S Livingstone Ltd., Edinburgh & London, 396-448.
- [3]. 赤木満洲雄 (1965)、薬物代謝の生化学、南山堂、東京、247-251、
- [4]. 赤堀文昭・松浦勝人・荒井研 (1968)、鶏の成長に伴う筋胃運動の変化、麻獣大研報 18, 73-82、
- [5]. 赤堀文昭・松浦勝人・荒井研 (1968)、ウズラの発育と筋胃運動、麻獣大研報 20, 9-18、
- [6]. 赤堀文昭・松浦勝人・荒井研 (1971)、雌鶏および雌ウズラの発育に伴う生理値について、麻獣大研報 22, 25-39、
- [7]. 赤堀文昭 (1978)、ウサギの生体生理現象 -

とくに JW-NIBS を中心として、実験動物

27, 88-93,

- [8]. Akintonwa, D. A. A. and Hutson, D. H. (1967). Metabolism of 2-Chloro-1-(2, 4, 5,-trichlorophenyl) vinyl dimethylphosphate in the dog and rat. J. Agr. Food Chem., 15, 634-638.
- [9]. Akiyama, E., Akahori, F., Masaoka, T. and Suzuki, T. (1980). Metabolism and residues of organic phosphorus insecticide Rangado in dairy cows. Bull. Azabu Univ. Vet. Med., 1, 161-168.
- [10]. Altman, P. L. and Dittmer, D. S. (1964). Body weight. Mammals other than man and rodents. Fed. Am. Soci. Exp. Biol., Washington D. C., 198.
- [11]. Altman, P. L. and Katy, D. D. (1979). Biological Hand book III. Inbred and genetically defined Strains of Laboratory Animals. Part 2. Fed. Am. Soci. Exp. Biol., Bethesda, Maryland, 419-421.
- [12]. Ambache, N. (1955). The use and limitation of atropine for pharmacological studies on autonomic effector. Pharmacol. review 7, 467-493.
- [13]. Ames, B. N., Durston, W. E., Yamasaki, E. and Lee, F. D. (1973). Carcinogens are mutagens, A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 70, 2281-2285.
- [14]. Ammon, R. (1977). The enzymatic cleavage of several pharmaceutical esters. Arznein-Rorch/Drug Res., 27, 944-949.
- [15]. 安東 洪次 (1953). 医学研究用ウサギ、実験動物彙報 2, 6.
- [16]. 安東 洪次 (1953). 発熱試験用ウサギ.

実験動物彙報 2, 48.

[17]. 安東 洪次 (1958), わが国の実験動物の現状について, 実験動物 7, 3-8.

[18]. Araki, H., Cheng, J. T., Ogino, K., Taniyama, K. and Matsumoto, H. Irreversible inhibitory effect of atropine on contractile responses to drugs in isolated rabbit ileum. Jpn. J. Pharmacol. 26, 737-742.

[19]. Araki, H., Cheng, J. T., Ogino, K. and Taniyama, K. (1976). Irreversible inhibition by atropine of drug-induced contractions in isolated rabbit ileum, particularly in relation to the mobilization of Ca. Kobe J. Med. Sci. 22, 247-253.

[20]. 麻生 芳郎, 大森 義仁 (1974), 新しい薬物代謝学, 広川書店, 東京, 322-345.

[21]. 伴 義雄 (1970), 医薬品研究法, 朝倉書店, 東京, 84-91.

[22]. Bernheim, F. and Bernheim, M. L. C. (1938). The hydrolysis of homatropine and atropine by various tissue. J. Pharmacol. Exp. Ther. 64, 209-216.

[23]. Blizard, D. A. (1971). Individual differences in autonomic responsibility in the adult rat. Psychosm. Med. 33, 445-457.

[24]. Bock, F. G. (1963). Species differences in penetration and absorption of chemical carcinogens rodents. In 1st international conference on the biology of cutaneous cancer. 1962, Natl. Cancer Inst. Monogr. 10, 361-375.

- No
- [25]. Booth, J. and Gillette, J. R. (1962). The effect of anabolic steroids on drug metabolism by microsomal enzymes in rat liver. J. Pharmacol. Exp. Ther. 137, 374.
- [26]. Booth, N. H. and McDonald, L. E. (1982). Veterinary Pharmacology and Therapeutics. I. S. U. Press, Ames, 250.
- [27]. Bree, M. M. and Cohen, B. (1965). Effects of urethane anesthesia on blood and blood vessels in rabbits. Lab. Anim. Care 15, 254-259.
- [28]. Brown, D. M. and Quinton, R. M. (1957). The assay of anti-acetylcholine agents for antagoism of pilocarpine-induced salivation in rabbit. Br. J. Pharmacol. 12, 53-60.
- [29]. Bunta, C. A., Banta, R. G., Belin, R. P. and Wekstein, D. R. (1972). A low-cost electronic cardiac auscultation device for monitoring rabbits under general anesthesia. Lab. Anim. Sci. 22, 402-403.
- [30]. Cardasis, C. A. and Sinchair, J. C. (1972). The effects of ambient temperature on the fasted newborn rabbit. Biol. Neonate 21, 330-346.
- [31]. Castle, W. E. (1924). Genetics of the Japanese Rabbit. J. Genet. 14, 225-229.
- [32]. Chai, C. K. (1968). The effect of inbreeding in rabbits; Skin transplantation. Transplantation 6, 689-693.
- [33]. Chai, C. K. (1969). Effects of inbreeding in rabbits; Inbred lines, discrete characters, breeding performance and mortality. J. Hered. 60, 64-70.
- [34]. Chai, C. K. (1970). Effect of inbreeding in rabbits; Skeletal variations and malformation. J. Hered. 61, 3-18.
- [35]. Chai, C. K. and Degenharot, K. H. (1962). Developmental anoma-

lies in inbred rabbits. J. Hered. 53, 172-182.

[36]. Chai, C. K. (1973). The response of female to male grafts in inbred lines of rabbits. J. Hered. 64, 321-323.

[37]. Chai, C. K., Kremer, A. K. and Fox, R. R. (1979). Inbred and partially inbred strains: Rabbit. Part I. Characteristics. Biological Handbook III. Inbred and genetically defined strains of laboratory animals. Part 2. (Ed. Altman, P. L. and Katy, D. D.). Fede, Am. Soci. Exp. Biol., Bethesda, Maryland, 567-568.

[38]. Cohen, C., Fox, R. R. and Crary, D. D. (1979). Inbred and partially inbred strains: Rabbit, Part II. Genealogy. Biological Handbook III. Inbred and genetically defined strains of laboratory animals. Part 2. (Ed. Altman, P. L. and Katy, D. D.). Fed. Am. Soci. Exp. Biol., Bethesda, Maryland, 568-571.

[39]. Cram, R. L. (1965). Differences in hepatic drug metabolism in various strains before and after pretreatment with phenobarbital. Proc. Soci. Exp. Biol. Med. 118, 872-875.

[40]. Crary, D. D. and Fox, R. R. (1980). Frequency of Congenital Abnormalities and of Anatomical Variations Among JAX Rabbits. Teratology 21, 113-121.

[41]. Crawford, M. J., Hutson, D. H. and King, P. A. (1976). Metabolic demethylation of the insecticide dimethylvinphos in rats, in dogs and in vitro. Xenobiotica 6, 745-762.

[42]. Crostill, M. L. and Widdicombe, J. G. (1961). Physical characteristics of the chest and lungs and the work of breathing in different mammalian species. J. Physiol. 158, 1-14.

[43]. Davis, N. L. and Malinin, T. I. (1974). Rabbit intubation and halothane anesthesia. Lab. Anim. Sci. 24, 617-621.

[44]. Diwan, B., Fox, R. R. and Meier, H. (1975). Strain differences

in aryl hydrocarbon hydroxylase induction by 3-methylcholanthrene in rabbits. Proc. Soci. Exp. Biol. Med. 149, 526-529.

[45]. Dolowy, W. C. and Hesse, A. L. (1959). Chlorpromazine premedication with pentbarbital anesthesia in the rabbit. J. Am. Vet. Med. Assoc. 15, 183-184.

[46]. Domer, F. R. (1971). Animal experiments in pharmacological analysis. Charles C Thomas Publisher, Illinois, 568.

[47]. Donninger, C., Hutson, D. H. and Pickering, B. A. (1972). The oxidative dealkylation of insecticidal phosphoric acid triesters by mammalian liver enzymes. J. Biochem. 126, 701-704.

[48]. Dunn, D. C. and Randall, G. K. (1974). Prolonged allograft survival following spontaneous recovery from early rejection. Transplantation 17, 306-312.

[49]. Econbichon, D. J. and Comeau, A. M. (1974). Genetic polymorphism of plasma carboxylesterase in the rabbit: Correlation with Pharmacologic and toxicologic effect. Toxicol. Appl. Pharmacol. 27, 28-40.

[50]. Fara, J. W. and Catlett, R. H. (1971). Cardiac response and social behavior in the guinea-pig. Anim. Behav. 19, 514-523.

[51]. Fabro, S., Smith, R. L. and Williams, R. T. (1967). The fate of ¹⁴C-thalidomide in the pregnant rabbit. J. Biochem. 104, 565-569.

[52]. Festing, M. F. W. (1975). A case for using inbred strains of laboratory animals in evaluating the safety of drugs. Food Cosmet. Toxicol. 13, 369-376.

[53]. Festing, M. F. W. (1979). Inbred strains in biomedical research. Macmillan Press, London and Basingstoke, 8-10, 313-322.

[54]. Field, E. J. (1957). Anesthesia in rabbits. J. Anim. Tech. Assoc. 8, 47.

- No
- [55]. Fleischmann, P. (1910). At opinentgiffung durch Blut.
Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 62, 518-526.
- [56]. Florence, A. L. (1960). Is thalidomide to blame ?
Br. Med. J. 2, 1954.
- [57]. Forster, R. P. and Hannafin, J. A. (1979). Influence of a genetically determined atropinesterase on atropine inhibition of the " smoke (dive) reflex " in rabbits.
Gen. Pharmacol. 10, 41-46.
- [58]. Fouts, J. r. and Adamson, R. H. (1959). Drug metabolism in the Newborn rabbit. Science 129, 897-898.
- [59]. Fox, M. W. (1971). Integrative Development of Brain and Behavior in the Dog. 1st ed. Effects of differential early experience on behavioral development. Univ. Chicago Press, Chicago, 225-276.
- [60]. Fox, R. R. (1974). Taxonomy and genetics. The biology of the laboratory rabbit. (Ed. Weisbroth, S. H., Flatt, R. E. and Kraus, A. L.). Academic Press, New York, 1-17.
- [61]. Fox, R. R. (1975). Handbook on Genetically Standardized Jax Rabbits. The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, 1-28.
- [62]. Fox, R. R. (1980). The Rabbit (*Oryctologus cuniculas*) and Research on Aging. Exp. Aging Res. 6, 235-248.
- [63]. Fox, R. R. and Crary, D. D. (1971). Genetic phedisposition to tumors in the rabbit. Naturwissenschaften 58, 457-458.
- [64]. Fox, R. R. and Crary, D. D. (1971). Hypogonadia in the rabbit. Genetic studies and morphology. J. Hered. 62, 163-169.
- [65]. Fox, R. R., Heier, H., Crary, D. D., Myers, D. C., Narberg, R. F. and Laird, C. W. (1970). Lymphosarcoma in the rabbit, Genetics and pathology. J. Natl. Cancer Inst. 45, 719-729.
- [66]. Fox, R. R. and Laird, C. W. (1970). Biochemical parameters of

clinical significant in rabbit. I. Strain variations.

J. Hered. 61, 261-265.

[67]. Fox, R. R. and Laird, C. W. (1970). Biochemical parameters of clinical significant in rabbit. II. Diurnal variations.

J. Hered. 61, 265-268.

[68]. Fox, R. R., Laird, W., Evans, R. W. and Sheppard, L. B. (1971). Buphthalmia in the rabbit. Glucose metabolism.

J. Hered. 62, 294-296.

[69]. Fox, R. R., Meier, H., Pottathil, R. and Bedigian, H. G. (1980). Transplacental teratogenic and carcinogenic effects in rabbits chronically treated with N-Ethyl-N-nitrosourea.

J. Natl. Cancer Inst. 65, 607-614.

[70]. Fox, R. R., Schlager, G. and Laird, C. W. (1969). Blood pressure in thirteen strains of rabbits. J. Hered. 60, 312-314.

[71]. Fox, R. R. and Van Zutphen, L. F. M. (1977). Strain differences in the prealbumin serum esterases of Jax rabbits.

J. Hered. 68, 227-230.

[72]. Freeman, M. J., Bailey, S. P. and Hodesson, S. (1972). Premedication tracheal intubation and methoxyflurane anesthesia in the rabbit.

Lab. Anim. Sci. 22, 576-580.

[73]. 古家敏夫 (1959). Berberineの家兎心電図に及ぼす影響、第1編、各種体液性物質の心電図変化に及ぼす影響、日薬理誌 55

1152-1161.

[74]. 藤井孝朗・佐々木博・渡辺俊雄・安田峯生 (1968). 実験動物としてのDutch種ウサ

ギ. 実験動物 17, 59-62.

[75]. Fullerton, P. M. and Kremer, M. (1961). Neuropathy after intake of thalidomide (Distaval). Br. Med. J. 2, 855-857.

[76]. Gardner, A. F. (1964). The development of general anesthesia in the albino rabbit for surgical procedures.

5 Lab. Anim. Care 14, 214-225.

[77]. Glick, D. and Glauback, S. (1941). The occurrence and distribution of atropinesterase and the specificity of tropinesterase.

J. Gen. Physiol. 25, 197-205.

[78]. Glick, D., Glauback, S. and Moor, D. H. (1942). Azolesterase activities of electrophoretical separated proteins of serum.

J. Biol. Chem. 144, 525-528.

10 [79]. Godeaux, J. and Tonneson, M. (1949). Investigations into atropine metabolism in the animal organism.

Acta. Pharmacol. 5, 95-109.

[80]. Gosseline, R. E., Gabourel, J. D. and Wills, J. H. (1960).

The fate of atropine in man. Clin. Pharmacol. Ther. 1, 597-603.

[81]. 後藤信男 (1981). 成長研究と実験動物、

15 成長 20, 51-59.

[82]. Green, E. L. (1953). A skeletal difference between sublines of the C₃H strains of mice. Science 117, 81-82.

[83]. Guyton, A. C. (1947). Measurement of the respiratory volumes of laboratory animals. Am. J. Physiol. 150, 70-77.

[84]. Hagen, K. W. (1974). Colony Husbandry. The biology of the laboratory rabbit. (Ed. Weisbroth, S. H., Flatt, R. E. and Kraus, A. L.). Academic Press, New York, 23-45.

[85]. Hamer, D. (1955). Biochemical variations in inbred mice.

Nature 175, 1132-1133.

[86]. Hart, L. G., Adamson, R. H., Dixon, R. L. and Fouts, J. R. (1962).

Stimulation of hepatic-microsomal drug metabolism in the newborn and fetal rabbit. J. Pharmacol. Exp. Ther. 137, 103-106.

[87]. Herz, A. (1963). Über die abhángigkeit der zentralen und peri-

pheren wirkung der belladonnaalkaloide von vorkommen einer hyocyaminesterase bei einem teil der kaninchen.

Arch. Int. Pharmacol. 141, 595-604.

[88]. 平場久雄、坂井尚、鴨川絃征、香木稔、

古場哲郎、河野正勝、村田守利、藤田達

夫 (1981)、カイウサギの膝液分泌の量的変

動に及ぼす Acetylcholine, Pilocarpine,

Neostigmine および Atropine の影響。

日本歯学雑誌 55, 329-344.

[89]. Hobbiger, F. and Lessin, A. W. (1955). Correlation between of

atropinesterase in rabbits. J. Physiol. (lond.) 128, 71.

[90]. Hodesson, S., Rich, S. T., Washington, J. O. and Apt, L. (1965).

Anesthesia of the rabbit with equi-thesin following the administration of preanesthetics. Lab. Anim. Care 15, 336-344.

[91]. 堀内茂友 (1970)、実験動物と動物実験

(中編)、(とくに毒性試験の立場から)、

医薬品研究 1, 133-140.

- [92]. 保坂賢次 (1956). ウサギの繁殖育成成績
について. 実験動物彙報 5, 32-35.
- [93]. Hutson, D. H., Akintonwa, D. D. A. and Hathway, D. H. (1967).
The metabolism of 2-chloro-1-(2, 4-dichlorophenyl) vinyl diethyl
phosphate (chlorfenvinphos) in the dog and rat.
J. Biochem. 102, 133-137.
- [94]. ILAR News (1967). National Research Council. NAS, U. S. A.,
11 (1).
- [95]. 稻吉大資 (1952). 日本の家兔について.
実験動物彙報 1, 34-35.
- [96]. 伊丹孝文. 江馬真. 加納晴三郎 (1983).
Dutch種ウサギの pyrogen test への利用につい
て. 実験動物 32, 71-76.
- [97]. Jondorf, W. R., Maicker, R. P. and Brodie, B. B. (1959).
Inability of newborn mice and guinea pigs to metabolize drugs.
Biochem. Pharmacol. 1, 352-354.
- [98]. Jones, O. G. (1964). Small animal anesthesia.
Pergamon Press, London, 99-102.
- [99]. Jones, R. T. (1975). Normal values for some biochemical consti-
tuents in rabbits. Lab. Anim. 9, 143-147.
- [100]. 家畜薬理学教育研究会 (1984). 薬理学実
験. 誠印社, 大阪, 10.
- [101]. Kalow, W. (1968). Pharmacogenetic in animal and man.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 151, 694-698.

[102]. 鎌田敏夫 (1961). 環境と体温 (第2報) 家兔体温に及ぼす測定諸条件および空気温度の影響, 東邦医学会雑誌 7, 12-24.

[103]. Kaplan, H. M. and O'Brien, D. J. (1962). Comparative evaluation of anesthetic properties of six barbiturates and of vladril in the rabbit. Proc Anim. Care Panel 12, 1-6.

[104]. 片平清昭、大井澄雄、瀬崎貴三 (1970). 家兔の心電図に関する研究, II、体表面における電位分布と波形分布、日獣誌 32, 44.

[105]. Kawagoe, T. and Sakanashi, M. (1978). Depressant effects of atropine on constrictor responses of the rabbit pulmonary artery. 脈管研究 3, 30-35.

[106]. 川俣順一 (1977). 疾患モデル、癌と化学療法 4, 227-245.

[107]. 川俣順一 (1978). わが国での実験動物の調査について 実験動物の閉巻 (田嶋嘉雄編) 医歯薬出版(株), 東京, 6-9.

[108]. Kent, G. H. (1971). General anesthesia in rabbits using Methoxyflurane, Nitrous oxide and Oxygen. Lab. Anim. Sci. 21, 256-257.

[109]. Kisch, B. (1948). Excardial and endocardial electrocardiograms and direct phonocardiograms in the calf. Exp. Med. Surg. 6, 125-131.

- [110]. 木下安弘、佐藤哲男 (1978)、薬理遺伝学、
地人書館、東京、123、
- [111]. 駒柵影義 (1959)、哺乳小動物の心電図と心
筋単一細胞電位の発育にともなう変化の
比較研究にフイマ、鹿大医誌 11, 203-226、
- [112]. 近藤恭司 (1973)、実験動物の遺伝形質、
実験動物学総論 (田嶋嘉雄編)、朝倉書店、
東京、69-80、
- [113]. 近藤恭司 (1977)、実験動物と系統、癌と化
学療法 4, 179-184、
- [114]. 小山良修 (1953)、薬理学研究と動物実験、
実験動物彙報 1, 1、
- [115]. 倉益茂実 (1972)、産業家畜の実験動物化、
「実験動物の開発改良」シンポジウム講
演集、31-35、
- [116]. Kuramatsu, S. (1976). Inbreeding of rabbits and other experi-
mental animals. Ann. Rep. Coope. Res. (experimental animal)
minist. Educ. 12.
- [117]. 倉益茂実 (1976)、ウサギその他の実験動物
(モルモット、ハムスター類、スナネズ

三) の遺伝育種的純化、文部省研究報告
集録、(昭50, 実験動物), 13-17、

[118]. 倉益茂実 (1977)、ウサギその他の実験動物
(モルモット, ハムスター類, スナネズ

ミ) の遺伝育種的純化、文部省研究報告
集録 (昭51, 実験動物), 12-17、

[119]. 倉益茂実 (1979)、ウサギその他の実験動物
(モルモット, ハムスター類, スナネズ

ミ) の遺伝育種的純化、実験動物の純化
と開発総括報告、文部省特定研究 (昭和
50-52年度), 52-56、

[120]. 草彌千代子、稲田七郎 (1969)、兔における
A-B誘導による心電図パターンについて、
家畜の心電図 2, 60、

[121]. 桑村司、武藤幸子、重松瑞穂 (1964)、
発熱物質試験法に関する研究 (第1報)
電気的ウサギ体温測定法の発熱物質試験
への応用について、衛生試験所報告
82, 59-62、

[122]. 桑島功、高橋貢、鈴木立雄、若尾義人、

松浦勝人、赤堀文昭、鈴木宏、北昂、

(1970). Greyhound の心電図所見について、

日獣会誌 23, 193.

[123]. Laird, C. W., Fox, R. R., Mitchell, B. P., Blau, E. M. and
Schultz, H. S. (1970). Effect of strain and age on some hemato-
logical parameters in the rabbit. Am. J. Physiol. 218, 1613-1617.

[124]. Lendle, L. and Paul, H. A. (1964). Eliminations-geschwindigkeit
und wirksamkeit von atropin bei verschiedenen tierarten und
individuen Naunyn-schmiedebergs.

Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 249, 295-305.

[125]. Liebenberg, S. P. and Lin, J. M. (1980). Seasonal and sexual
influence on rabbit atropinesterase. Lab. Anim. 14, 297-300.

[126]. Lin, J. M. and Liebenberg, S. P. (1979). In vivo detection of
rabbit atropinesterase. Lab. Anim. Sci. 29, 335-337.

[127]. Lindop, P. J. and Rotblat, J. (1962). The age factor in Radi-
ation sensitivity in mice. Br. J. Radiol. 35, 23-31.

[128]. Ling, H. W. (1957). Anaesthesia in rabbits.

J. Anim. Tech. Assoc. 8, 58-60.

[129]. Litchfield, J. T. Jr. (1962). Evaluation of the safety of new
drugs by means of tests in animals.

Clin. Pharmacol. Ther. 3, 665-672.

[130]. Looce, E. K., Main, A. R. and Jakson, N. (1964). Residues in
Milk following addition to the feed of cows.

Pesticide Res. Lab. Rep. 3, 25.

[131]. Lynch, J. J. and McCarthy, J. F. (1969). Social responding in
dogs, heart rate changes to a person.

Psychophysiol. 5, 389-393.

[132]. Margolis, F. and Feigelson, P. (1963). Purification and characterization of a genetically determined rabbit serum esterase. J. Biol. Chem. 238, 2620-2627.

[133]. Margolis, F. and Feigelson, P. (1964). Genetic expression and developmental studies with rabbit serum atropinesterase. Biochem. Biophys. Acta. 90, 117-125.

⁵[134]. 松岡理 (1980). 実験動物からヒトへの外挿ソフトサイエンス社, 東京, 3-9.

[135]. 松岡理 (1980). 実験動物からヒトへの外挿第2版, ソフトサイエンス社, 東京, 52-69.

¹⁰[136]. 松浦勝人 (1965). ウサギの心電誘導法について. M.E.T. 7, 310-312.

[137]. Matsuura, M. and Takahashi, M. (1964). Studies on Leads in Electrocardiography of Rabbits. Bull. Azabu Vet. Coll. 12, 37-48.

[138]. Mauderly, J. L., Tesarek, J. E., Sifford, L. J. and Sifford, L. J. (1979). Respiratory measurements of unsedated small laboratory mammals using nonrebreathing valves. Lab. Anim. Sci. 29, 323-329.

[139]. McBride, W. G. (1974). Fetal nerve cell degeneration produced by thalidomide in rabbits. Teratology 10, 283-292.

[140]. McBride, W. G. (1976). Studies of the etiology of thalidomide dysmorphogenesis. Teratology 14, 71-87.

[141]. McCann, J. E., Yamasaki, C. E. and Ames, B. N. (1975).

(20 x 20)

Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella/microsome* test, assay of 300 chemicals.

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 72, 5135-5139.

[142]. McCormick, M. J. and Ashworth, M. A. (1971). Acepromazine and Methoxyflurane Anesthesia of Immature New Zealand White Rabbits. Lab. Anim. Sci. 21, 220-223.

[143]. McLaren, A. and Michie, D. (1955). Factors affecting vertebral variation in mice. 2. Further evidence of intrastain variation. J. Embryol. Exp. Morphol. 3, 366-375.

[144]. Meltzer, S. and Auer, J. (1910). The action of ergot upon the stomach and intestine. Am. J. Physiol. 17, 143-166.

[145]. 見市博明、石村富喜子、西本喜重、林信一 (1980)、家兔 atropinesterase 活性の測定法及び眼内分布に关する、第9回薬物活性シンポジウム (大阪) 講演集 79-84、

[146]. 三須良実 (1983)、薬理学、第6版、栄光堂、東京、71-77、

[147]. 三輪錠司、湯川宏、田伏洋 (1983)、線虫を用いた毒性試験法、トキシコロジーフォーラム 6, 659-670、

[148]. 宮川知典 (1968)、動物の麻酔、第二巻、全身麻酔、学窓社、東京、45-68、199、

[149]. 森脇和郎 (1982)、系統維持と遺伝学的コン

トロール, 一癌研究における意義-

癌と化学療法, 9, 547-184.

[150]. 元山 猛, 赤堀文昭, 荒井 研 (1971).

家兔の系統別による心電図について,

家畜の心電図 4, 49.

[151]. 元山 猛, 松浦勝人, 赤堀文昭, 荒井 研

(1970), 家兔の成長に伴う心電図の変化に

ついて, 家畜の心電図 3, 95.

[152]. Mott, J. C. (1965). Haemorrhage as a test of the function of
the cardiovascular system in rabbits of different ages.

J. Physiol. 181, 728-752.

[153]. Mulder, J. B. (1978). Anesthesia in the rabbit using a combi-
nation of ketamine and promazine. Lab. Anim. Sci. 28, 321-322.

[154]. Murdock, H. R. Jr. (1969). Anesthesia in the rabbit.

Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 28, 1510-1516.

[155]. 武藤 幸子, 桑村 司, 吉本 兵子, 篠田 光

雄 (1961), 市販ウサギ用固型飼料の体

温実験の立場からの検討.

実験動物 11, 197-202.

[156]. 長沢 佳態 (1967), 薬理学製剤領域におけ

る bioassay の立場から.

実験動物 16, 77-78.

[157]. 中村良一 (1968), 家畜(動物)の心電図の誘導法. 家畜の心電図 1, 14-22.

[158]. Napier, R. A. N. (1963). Rabbits, Animals for Reseach. (Ed. Wlane-Petter), Academic Press, N. Y., 323-364.

[159]. Nelson, C. V., Waggoner, W. C. and Gastonguay, P. R. (1964). High-Fidelity electrocardiograms of normal rabbits. Am. J. Physiol. 207, 1107-1111.

[160]. 日本医学会. 動物実験現状調査会 (1963). 動物実験の現状 (動物実験現状調査, 1960年) 実験動物 12, 27-35.

[161]. 日本公定書協会 (1976). 発熱性物質試験法 (日本薬局方解説書, 第9班). B-176 - B-185.

[162]. 野村和男, 柳田昭二, 妹尾英男 (1982). 飼育条件によるラット心拍数の経週齢変化 (1). 日本生理誌 44, 146-162.

[163]. 野村和男, 柳田昭二, 妹尾英男 (1982). 飼育条件によるラット心拍数の経週齢変化 (2). 日本生理誌 44, 219-230.

[164]. 野村大成 (1983). ウレタンによる体細胞突然変異と発癌. トキシコロジ-フォーラム

7, 3-10,

[165]. 農林省畜産局 (1964). 畜産発達史本篇,
第8章 養兔の変遷 中央公論事業出版
東京, 1251-1312,

[166]. OECD (1980). Proposal for a council recommendation concerning
tests relating to the placing on the market of proprietary medi-
cal products. J. Eur. Communi. 23, 6-29.

[167]. 及川弘 (1984). 犬の生物学 13, 体温の変
動要因にフイマ, 小動物臨床 3, 37-39,

[168]. 小野宏 (1984). 動物の麻酔法, 実験医学
2, 93-97,

[169]. 大久保義夫, 吐山豊秋 (1981). 家畜薬理学,
第2版, 養賢堂, 東京, 82-84, 125-129.

[170]. 大森義仁 (1966). 薬物の毒性検査, 研究の
立場から, 実験動物 15, 78-82,

[171]. 大森義仁 (1967). 薬理学的領域における
bioassay の立場から, 実験動物 16, 78-79,

[172]. 大森義仁, 織田敏次 (1970). 薬の吸収, 排
泄, 広川書店, 東京, 15-50,

[173]. 大鳥居健 (1965). Atropine およびその類似
化合物の分解酵素活性に及ぼす諸種薬物

の阻害効果、日薬理誌 62, 462-470.

[174]. 大塚長康, 真下武己, 辻真彦, 飯田二昭

(1965). 心臓刺激伝導系の組織化学的, 電

子顕微鏡的研究, 解剖学雑誌 6, 422-427.

[175]. Prinzmetal, M., Shaw, C. M. Jr., Marwell, M. M., Flamm, E. J., Goldman, A., Kimura, N., Rakita, L., Borduas, J., Rothman, S. and Kennamer, R. (1954). Studies on the mechanism of ventricular activity. VI. The depolarization complex in pure subendocardial infarction: role of the subendocardial region in the normal electrocardiogram. Am. J. Med. 16, 469-473.

[176]. Quinn, G. P., Axelrod, J. and Brodie, B. B. (1958). Species, strain and sex differences in metabolism of hexobarbitone, amidopyrine, antipyrine and aniline.

Biochem. Pharmacol. 1, 152-159.

[177]. Quinton, R. M. (1966). Simple methods for the detection of atropinesterase activity in rabbits.

J. Pharmacol. 18, 579-588.

[178]. Rawat, S., Narayan, A. D. and Bisht, G. S. (1980).

The inheritance of Growth and form in rabbits effect of non-genetic factors. J. Anim. Morphol. Physiol. 27, 50-62.

[179]. Rossoff, I. S. (1974). Hand book of veterinary drugs.

Springer Publishing Co., New York, 632-633.

[180]. Sartick, M., Eldridge, M. L., Johnson, J. A., Kurz, K. D.,

Fowler, W. L., Jr. and Payne, C. G. (1979). Recovery rate of the cardiovascular system in rabbits following short-term

halothane anesthesia. Lab. Anim. Sci. 29, 186-190.

5

10

15

(20×20)

麻 布 大 学

[181]. 佐藤博 (1975). 日本で癌研究に使用された
実験動物について (1974). 癌と化学療法
2, 69-87.

[182]. Sawin, P. B. and Crary, D. D. (1956). Morphogenetic studies of
the rabbit. XVI. Quantitative racial differences in ossification
pattern of the vertebrae of embryos as an approach to basic
principles of mammalian growth.
Am. J. Physical Anthropology 14, 625-648.

[183]. Sawin, P. B., Crary, D., Dox, R. R. and Wuest, H. M. (1965).
Thalidomide malformations and genetic background in the rabbit.
Experientia 21, 672-685.

[184]. Sawin, P. B. and Glich, D. (1943). Atropinesterase a genetically
determined enzyme in the rabbits.
Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 29, 55-59.

[185]. Schindler, W. J., McDonald, J. F., Kyriazis, G. A. and
Schneider, H. P. (1974). Effect of strain and sex variation
on growth hormone in rabbit serum.
Proc. Soci. Exp. Biol. Med. 147, 820-822.

[186]. 関一郎 (1973). ヒトの臨床と動物の心電図
-比較病態生理学の立場から-
家畜の心電図 6, 1-8.

[187]. 瀬戸昭 (1984). 近交系ウサギ -家畜のウサ
ギから実験動物のウサギへ- ラボラト
リアニマル 1, 36-39.

- [188]. 島田 弥生 (1961). 環境と体温 (第3報) 家兔
体温に及ぼす室温の変動そのほか諸
Stressorの影響, 東邦医学誌 7, 25-34.
- [189]. Skartvedt, S. M. and Lyon, N. C. (1972). A simple apparatus for
inducing and maintaining halothane anesthesia of the rabbit.
Lab. Anim. Sci. 22, 922-924.
- [190]. Skow, L. C., Fox, R. R. and Womack, J. E. (1978).
Inherited enzyme variation among JAX strains of domestic rabbits.
J. Hered. 69, 165-168.
- [191]. Somers, G. F. (1962). Thalidomide and congenital abnormalities.
Lancet 1, 912-913.
- [192]. Spinks, A. (1964). Justification of clinical trial of new drugs.
Proc. 2nd Int. Pharmacol. Meeting 8, 7-19.
- [193]. Stokes, P., Lykke, A. W. and McBride, W. G. (1976).
Ultrastructural changes in the dorsal root ganglia evoked by
thalidomide. Proc. limb develo. Exp. 32, 597-598.
- [194]. Stormont, C. and Suzuki, Y. (1975). The atropinesterase-
cocainesterase system of isozymes in rabbits: Distribution of
phenotypes and their genetic analysis. Isozymes 4, Genetics and
Evolution. Academic Press, N. Y. 669-712.
- [195]. Streicher, E. and Garbus, J. (1955). Effect of age and sex on
duration of hexobarbital anesthesia in rats.
J. Gerontol. 10, 441-444.
- [196]. Sugano, H., Murao, S. and Ueda, M. (1960). Study on the ventri-
cular activation of the cattle and goat.
Jpn. Heart J. 1, 418-423.
- [197]. 杉山 武敏、島津 肇、村尾 真一、植田 規史

(1984)、イモリを用いた催奇性試験、トキ
シコロジ-フォーム 7, 167-176.

[198]. 鈴木潔 (1970)、栄養と飼料、実験動物学総
論 (田嶋編集)、朝倉書店、東京、105-151.

[199]. 鈴木潔 (1972)、ウサギ、実験動物学各論
(田嶋編集)、朝倉書店、東京、77-91.

[200]. 鈴木潔 (1978)、研究に有用な実験動物の
検討にフイマ、b、系統ならびに品種、
内種にフイマ、実験動物の開発 (田嶋編
集)、医歯薬出版、東京、209-210.

[201]. 鈴木潔、中川雅郎 (1976)、パネルディスカ
ッション記録 - 実験用ウサギの系統、飼
料、生産にフイマ、実験動物 25,
239-241.

[202]. 鈴木政美、鈴木正彦、高橋友子、田中求
(1980)、動物実験を目的としたウサギの麻
酔、獣医麻酔 11, 81-86.

[203]. 玉生良久 (1981)、Atropine および Homatropine
の心臓内交感神経末梢シナプス前作用、

東邦医学会誌 28, 246-259.

[204]. 田辺弘也 (1971), 残留農薬の分析, 講談社, 東京, 60-76.

[205]. 田中悟, 桑村司, 上田瑞穂, 川島邦夫, 中浦模介, 大森義仁 (1966), 発熱性物質試験法に関する研究 (第3報), 電気的ウサギ体温測定法の発熱性物質試験への応用 (2), 衛生試験所報告 84, 39-42.

[206]. 田中利男 (1956), 生理解剖, C.ウサギ, 動物実験法 (安東, 田嶋編), 朝倉書店, 東京, 129-149.

[207]. 高垣善男 (1984), 一般毒性試験における実験動物, トキシコロジー-フォーラム 7, 3-10.

[208]. 田嶋嘉雄 (1963), わが国の実験動物 - 各機関, 研究者が維持している動物種ならびに系統 - 実験動物, 12, 145-163.

[209]. 田嶋嘉雄 (1967), 実験動物のつどい - 外科医への誘い (このための実験動物) - 実験動物, 16, 154-156.

- [210]. 田嶋嘉雄 (1972). 実験動物と動物実験.
日本臨床, 30, 3-4.
- [211]. 田嶋嘉雄 (1976). 実験動物の我が国の現状
と今後の問題点. 学術月報, 29, 42-48.
- ⁵[212] 田嶋嘉雄 (1984). 一実験動物学者の歩んば
道—実験動物の過去と現在—
実験動物, 33, 1-23.
- [213]. Tindall, J. S. (1960). A breed differences in the lactogenic
response of the rabbit to reserpine.
J. Endocrinol. 20, 78-81.
- ¹⁰[214]. Tissot, R. G. and Cohen, C. (1976). Histocompatibility in the
rabbit. The effect of inbreeding on skin graft survival time.
Transplantation 22, 265-272.
- [215]. Tober-Meyer, B. K., Bieniek, H. J. and Kupke, I. R. (1981).
Studies on the hygiene of drinking water for laboratory animals.
2. Clinical and biochemical studies in rats and rabbits during
long-term provision of aciditied drinking water.
¹⁵Lab. Anim. 15, 111-117.
- [216]. Tocco, D. J., Schultz, D. R., Burton, W. B., Potter, J. C. and
Young, Jr. R. (1967). Metabolic fate of vinyl-¹⁴C-labeled SD-
8447 in cow; distribution of compounds in milk, carcass and
excreta. Modesto Teck., Prog. Report, No. M-70-67.
- [217]. 糖谷伝八 (1967). 牛心臓における房室束線
維の分布及び性状並にこれと心臓管外通

液路との関係、脈管外通液路系論文及び
業績題目集、木原卓三郎編、京大医、解
剖学教室、267-269、

[218]. Tucker, F. S. and Beattie, R. J. (1983). Qualitative microtest
for atropinesterase. Lab. Anim. Sci. 33, 268-269.

[219]. 辻紘一郎 (1979)、ウサギ、実験動物の飼育
管理と手技 (今道監修)、ソフトサイエンス
社、東京、351-367、

[220]. 上田進 (1982)、小刺沢15年のあゆみ：ウサ
ギ、日本生物科学研究所、東京、23-24、

[221]. 梅田誠 (1983)、培養細胞を用いたプロモ-
ターの検索法、トキシコロジーフォーラム
6, 44-53、

[222]. 牛場大蔵 (1978)、1975年度に実験に使用し
た動物の数、実験動物 27, 37-48、

[223]. 牛場大蔵 (1981)、実験動物の均一性につい
て、系統生物 5, 49、

[224]. Van Zutphen, L. F. M. (1972). Qualitative and quantitative
detection of atropinesterase and cocainesterase in two breeds
of rabbits. Enzymologia 42, 201-218.

[225]. Van Zutphen, L. F. M. (1974). Genetics of the prealbumin serum

esterase in the rabbit. (Ph. D. Thesis.). Univ. Utrecht.

Netherlands, 9-96.

[226]. Van Zutphen, L. F. M. (1974). Serum esterase genetics in rabbits.

1. Phenotype variation of the prealbumin esterases and classification of the atropinesterase and cocainesterase.

Biochem. Genet. 12, 309-326.

⁵[227]. Van Zutphen, L. F. M. (1974). Serum esterase genetics in rabbits.

2. Genetic analysis of the prealbumin esterase system, including atropinesterase and cocainesterase polymorphism.

Biochem. Genet. 12, 327-343.

[228]. Van Zutphen, L. F. M. and den Bieman, M. G. C. W. (1975).

Serum esterase genetics in rabbits. 3. A third allele on the *Est-2* locus.

Biochem. Genet. 13, 19-28.

¹⁰[229]. Van Zutphen, L. F. M., den Bieman, M. G. C. W. and Bouw, J.

(1977). Serum esterase genetics rabbits. 4. The prealbumin and β -globulin system.

Biochem. Genet. 15, 989-1000.

[230]. Van Zutphen, L. F. M. and Fox, R. R. (1977). Strain differences

in the prealbumin serum esterases of JAX rabbits.

J. Hered. 68, 227-230.

[231]. Vickers, T. H. (1967). Concerning the morphogenesis of

¹⁵thalidomide dysmelia in rabbits.

Br. J. Exp. Pathol. 48, 579-591.

[232]. わが国における実験動物の生産、供給に

ついでこの調査、研究班(1973)、実験につかわ

れた動物種なすびにその数-1970年度の調査

結果から、実験動物 28, 307-340.

- [233]. Watson, S. C. and Cowie, A. T. (1966). A simple closed-circuit apparatus for cyclopropane and halothane anesthesia of the rabbit. Lab. Anim. Care 16, 515-519.
- [234]. Weary, M. E. and Wall, R. F. (1973). The rabbit pyrogen test. Lab. Anim. Sci. 23, 677-681.
- [235]. Wegmenn, R., Alcini, E. and Lageron, A. (1965). Comparative histoenzymology of the purkinje fibers (Main branch and bifurcation) and the myocardial fibers on rats. 解剖学雑誌 6, 418-421.
- [236]. Weisbroth, S. H., Flatt, R. E. and Kraus, A. L. (1974). The biology of the laboratory rabbit. Academic Press, New York and London, 73-90.
- [237]. Weisbroth, S. H. and Fudens, J. H. (1972). Use of ketamine hydrochloride as an anesthetic in laboratory rabbits, rats, mice and guinea pigs. Lab. Anim. Sci. 22, 904-906.
- [238]. Werner, G. (1965). Fermentdefekts als ursache unterschiedlicher mydriatischer wirksamkeit von atropin und cocain bei kaninchem. Naunyn-Schmiedekergs Archiv Exp. Pathol. Pharmakol. 251, 320-324.
- [239]. White, G. L. and Holmes, D. D. (1976). A comparison of ketamine and the combination ketamine-xylazine for effective surgical anesthesia in the rabbit. Lab. Anim. Sci. 26, 804-806.
- [240]. 柳田知司 (1968)、薬理学研究と実験動物、
実験動物 17, 83-90.
- [241]. 横井泰生 (1953)、発熱試験用ウサギ、
実験動物彙報 2, 48.
- [242]. Yokoi, Y., Uesato, K. and Kuwamura, T. (1960). Anew arrangement

for recording of body temperature of rabbit.

Jpn. J. Physiol. 10, 351-358.

[243]. 吉田俊秀 (1976)、実験動物の純化と開発
に関する研究の必要性、学術月報 29,
378-381.

5

10

15

5

10

15

(20×20)

Comparative Physiological and Pharmacological Studies on
the Characteristics of Rabbits as Experimental Animals

Toshio Masaoka

Department of Veterinary Pharmacology

School of Veterinay Medicine

Azabu University

Summary

With the advancement of life science, today's animal experiments conducted in the fields of veterinary medicine, human medicine and pharmaceutical sciences greater demand on strict standardization of the animals used.

Uniform standardization of animals as experimental materials undoubtedly contributes to providing increased reliability in results obtained.

At present, however, most animals used in experiments very rarely satisfy such requirements; there are a few exceptions, such as the mouse and rat. On scientific grounds, therefore, the traits of all animals should be fully disclosed before the animals are used in experiments. Unless this is done, the animals will provide nothing but unstable and inaccurate information and will jeopardize studies that require strict reliability such as, for example, the evaluation of the effects of chemical compounds used in medicine and agriculture and of safety factors involved in their use.

When viewed from the above angle, despite then wide-spread and traditional use in physiology, pharmacology, immunology and toxicology, rabbits are not as yet genetically controlled nor environmentally adapted. Rabbits are still a species not adequately suited for experimental materials. In recent years, attempts at standardization of experimental animals in foreign countries have succeeded in producing a few genetically and environmentally regularized lineages of rabbits. In Japan, genetic refinement of rabbits has also considerably progressed.

The purpose of this study for the benefit of users of experimental animals in the field of veterinary medicine is to compare by physiological and pharmacological approaches the uniformity of rabbits by strain, sex, age and environmental condition for evaluating the traits and disclosing the characteristics of rabbits as experimental materials.

Chapter 1. History of rabbits as experimental animals

- 1) This section compares the use of rabbits as experimental animals in Japan and abroad.
- 2) This section compares the refinement of rabbits (inbred standardization as experimental animals) in Japan with that in foreign countries.
- 3) This section presents discussion on the usefulness of rabbits as experimental materials and their future prospects of evolution.

Chapter 2. Comparative physiological study of strain rabbits

Using colonies of advanced, inbred standardization, the

physiological traits of this strain of rabbits were analyzed. Rabbits of high inbreeding were chosen from the colonies maintained by Nippon Institute for Biological Science (NIBS)(Table 1). In addition, commercial Japanese White (JW) and New Zealand White (NZW) Cross-Breds (from unidentified colonies, abbreviated as JW and NZW, respectively) were also used for comparison with JW-NIBS. Using these animals, the following parameters were examined: body weight, temperature, heart rate, respiratory rate, electrocardiogram and blood pressure. Also examined were the colonial uniformity of the phenotype of serum prealbuminesterase and the presence or absence of atropinesterase.

Table 1. Rabbit colonies examined

Strain	Features
JW-NIBS	Reproduced in a closed colony since 1965.
JW-NIBS/Y	Inbred F20(99.5%) obtained in 1980.
NZW-NIBS	Strain III introduced from Jackson Lab. in 1967 (coefficient of inbreeding 77%). F19 at present (F11-F13 were used for biophysiological and blood pressure experiments. F19 was used for serological experiment).
Dutch-NIBS	Strain ACCR(3) introduced from Jackson Lab. in 1968. A male introduced with coefficient of inbreeding of 96% was mated with an F3 ACEP(3) female introduced from Funabashi Animal Farm. The Viennese White (White with recessive blue eyes) used was produced by back-crossing of F1 female and male (ACCR(3)) obtained by

the above mating. Presently the 17th generation (F9 was used for biophysiological experiment and F17 for serological experiment).

JW Breeding colony was unidentified (cross-bred).

NZW Breeding colony was unidentified (cross-bred)

1. For evaluation of the age-related physiological traits of JW-NIBS, the physiological parameters (especially body weight, temperature, heart rate, respiratory rate, electrocardiogram and blood pressure) were measured from the age of 1 month to 5 years. The data are shown as follows:

i) The growth curve formed a plateau of 2.8 kg - 3.0 kg at the age of 7 - 9 months in both males and females.

ii) The body temperature showed the level of 38°C after the age of 3 weeks in both sexes.

iii) The heart rate increased stability of 240-280/min after the age of 8-9 weeks in both sexes.

iv) The respiratory rate exceeded 100/min in both sexes, demonstrating the remarkable effect of immobilization.

v) The ECG patterns were predominated by the Rs type (approximately 90%). There were no marked differences in this ration by age and sex.

vi) The mean systolic blood pressure was 121-146 mmHg and the mean diastolic blood pressure 77-91 mmHg in both sexes. The mean blood pressure was 91-107 mmHg. However, the individual differences grew larger at approximately the age of three years (female and male).

The physiological characteristics of JW-NIBS are summarized on the basis of the above finding as under:

- a) The body weight froms a plateau at the age of 7 - 9 months.
- b) The heart rate is stabilized from the age of 2 months.
- c) The respiratory rate is largely subject to the effect of retention.
- d) Fitness for ECG studies (due to easy interpretation of the ECG pattern and frequent appearance of the same pattern).

2. Evaluation of the environment-related (including diet) physiological differences in JW-NIBS rabbits indicated the following:

- i) The respiratory and heart rates demonstrated no environment-related differences regardless of sex and age. The values were, however, largely scattered under high -temperature environment.
- ii) The body temperature was affected by surrounding temperature above 26°C.

The above findings suggest that the thermal environment suited for rabbits is below 25°C and that constant temperature at 20 - 27°C with constant humidity during the experiment as stipulated by JP seems to be the condition inappropriate for a pyrogen test.

3. The following shows the physiological characteristics of NZW-NIBS rabbits.

- i) The body weight reached 2.5-2.6 kg at the age of 6 months.
- ii) The heart rate was 200-260/min from the age of 2 months to 8 months in both sexes.

- iii) The respiratory rate varied considerably in the range of 100-230/min in both sexes depending on age and was largely subject to the effect of immobilization.
- iv) The body temperature was on the level of 39° C in the majority regardless of sex.
- v) The mean systolic and diastolic blood pressure tended to be elevated with age in both sexes.

4. The strain differences in the physiological parameters in JW-NIBS, NZW-NIBS, Dutch-NIBS and JW are shown in the following.

- i) The body temperature in JW-NIBS was on the level of 38° C in 660 (71.2%) and 39° C in 169 (18.2%) of 927 animals. This indicates that JW-NIBS rabbits are better suited for a pyrogen test than JW.
- ii) The ECG patterns by the strain was typified by an Rs type in JW-NIBS (approximately 90%), NZW-NIBS (approximately 60%) and JW (approximately 45%). In Dutch-NIBS, RS and rS types were frequent (approximately 45% and 40% respectively).
- iii) The most frequent appearance of the same pattern with large R spikes in JW-NIBS facilitated interpretation of the wave pattern. This indicates that JW-NIBS is best suited for an ECG study.
- iv) Dutch-NIBS was characterized by a more prologation of the relative myocardial excitation time than other strains.

5. The following shows the homogeneity of various rabbit colonies by the phenotype of prealbumin esterase and frequency of Atropin-esterase.

- i) Serum prealbumin esterase was divided into 6 phenotypes in JW, 5 phenotypes in NZW, 4 phenotypes in JW-NIBS, 2 phenotypes in JW-NIBS/Y and a single phenotype in NZW-NIBS as well as Dutch-NIBS.
- ii) Atropinesterase (AE) was detected in 22.7% and 90.0% of colony-unidentified JW and NZW, respectively. AE-possession was found in 10.1% of highly inbreeding rabbits, that is, JW-NIBS. On the other hand, AE-positive rabbits were not found in the strains of NZW-NIBS, Dutch-NIBS and inbred JW-NIBS/Y.
- iii) The AE-possession rate was either reduced or became negative in the closed colony or strain rabbits, compared to colony-unidentified rabbits. These animals were also more homogenized in phenotype classification.

The above experiment results indicated that, compared to rabbits (JW) that have been ordinarily used for experiments, lineally standardized rabbits have a narrower fluctuation of the physiological parameters and can be more advantageously and efficiently used as experimental materials.

This chapter emphasized the importance of standardization of rabbits in experiments with this animal species. Furthermore, the physiological characteristics of each rabbit strain by sex and age were investigated. Genetic homogeneity of experimental rabbits that are used at present in Japan was analyzed from the phenotype of serum prealbumin esterase in different rabbit colonies. The differences in the

AE-possession rate among the colonies were also investigated. The results revealed that the closed colony and lineally standardized groups have less AE-possession and acquire more genetic homogeneity. The importance of the effect of environment (below 25°C thermally) was pointed out.

Chapter 3. Comparative pharmacological study of strain rabbits

Elucidation of the characteristics of strain rabbits definitely increases the value of these animals as experimental materials. Therefore, in order to further define their characteristics, the uniformity by strain, sex and age was studied by a pharmacological approach. This included reevaluation of the anesthetic induction in JW-NIBS and comparison of the blood pressure responses to autonomic nervous agent by age and sex between JW-NIBS and NZW-NIBS. Also included was evaluation of the pharmacological traits of strain rabbits by determining the metabolism and residues of an organophosphorous insecticide, Rangado (2-chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)vinyl dimethyl phosphate).

The results obtained are summarized as below:

1. Induction of anesthesia

i) A pharmacological experiment of biological phenomena in JW-NIBS including blood pressure indicated the suitability of urethane anesthesia, i.e., intravenous injection of 1800 mg/kg of urethane (30% solution) at the rate of 1 ml/min,

as this method ensures relatively stable measurements in experiments not longer than 2 hours.

ii) The variations of blood pressure, heart rate and respiratory rate demonstrated no sex and age differences in adult JW-NIBS rabbits under urethane-induced anesthesia.

iii) The blood pressure variations in JW-NIBS and JW rabbits under anesthesia with urethane did not present inbreeding difference between them.

2. The age and sex differences in blood pressure response to autonomic nerve drugs in JW-NIBS

i) JW-NIBS rabbits showed the same response to epinephrine, norepinephrine, isoproterenol, acetylcholine, atropine and histamine at any age (2, 4, 6, 8 and 12 months). Thus no age-related difference was observed.

ii) The blood pressure response in JW-NIBS to epinephrine, norepinephrine, isoproterenol, acetylcholine, atropine and histamine showed no sex-related differences.

3. The age and sex differences in blood pressure response to autonomic nerve drugs in NZW-NIBS

i) The above-mentioned autonomic nerve drugs induced the same blood pressure responses at any age in NZW-NIBS. Thus no age differences were noted.

ii) The blood pressure response to these autonomic nerve drugs in NZW-NIBS also did not differ between males and females.

4. Biological metabolism and residues of Rangado

- i) There was no significant difference in the rate of excretion or the relative proportions of the metabolites.
- ii) The concentration of Rangado in blood was 0.01-0.03ppm during first three hours, but declined to below the limit of detection (0.01ppm) at 6 hr.
- iii) Neither Rangado nor its metabolites were detected from any samples of organs or tissue.
- iv) Rangado was not detected in the feces or the urine, but, its metabolic products were as follows (% total dose in the urine and feces respectively given in parentheses): 1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol glucuronide (75% in the urine only), desmethyl rangado (23, and 4% respectively) and 1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol (0.8, and 0.9% respectively)
- v) Approximately 95% of total dose was excreted during the first 24hr. and the rest was excreted thoroughly by 72hr.

5. Biological reaction to drugs in AE-positive and AE-negative rabbits

- i) The respiratory response to atropine and PHMB (Poly(biguanide-1,5-diylhexamethylene hydrochloride)) differed between AE-positive and AE-negative rabbits. However, no significant difference was found in the PHMB-induced respiratory response.

The above experiment results indicate that anesthesia by intravenous injection of 1800 mg/kg of urethane (30% solu-

tion) ensures measurement of relatively stable physiological parameters and suggest the absence of age and sex differences in reaction to the drugs in 2- to 12-month-old highly inbreeding rabbits. Therefore, since the presence or absence of AE influences the pharmacological effect depending on drugs used, large variations in reaction may be predicted to occur in rabbits from poorly refined colonies such as JW and NZW, while there is less risk of reaction fluctuations in highly refined colonies such as JW-NIBS and NZW-NIBS.

However, when viewed from the AE-positive rate and the phenotype of prealbumin esterase, further refinement is considered necessary for JW-NIBS. Lineal standardization of both AE-positive and AE-negative rabbits and that of other rabbits by homogenization of the prealbumin esterase phenotype would produce more lineally advanced rabbits fit for specific purposes of experiments and contribute to results of higher accuracy.

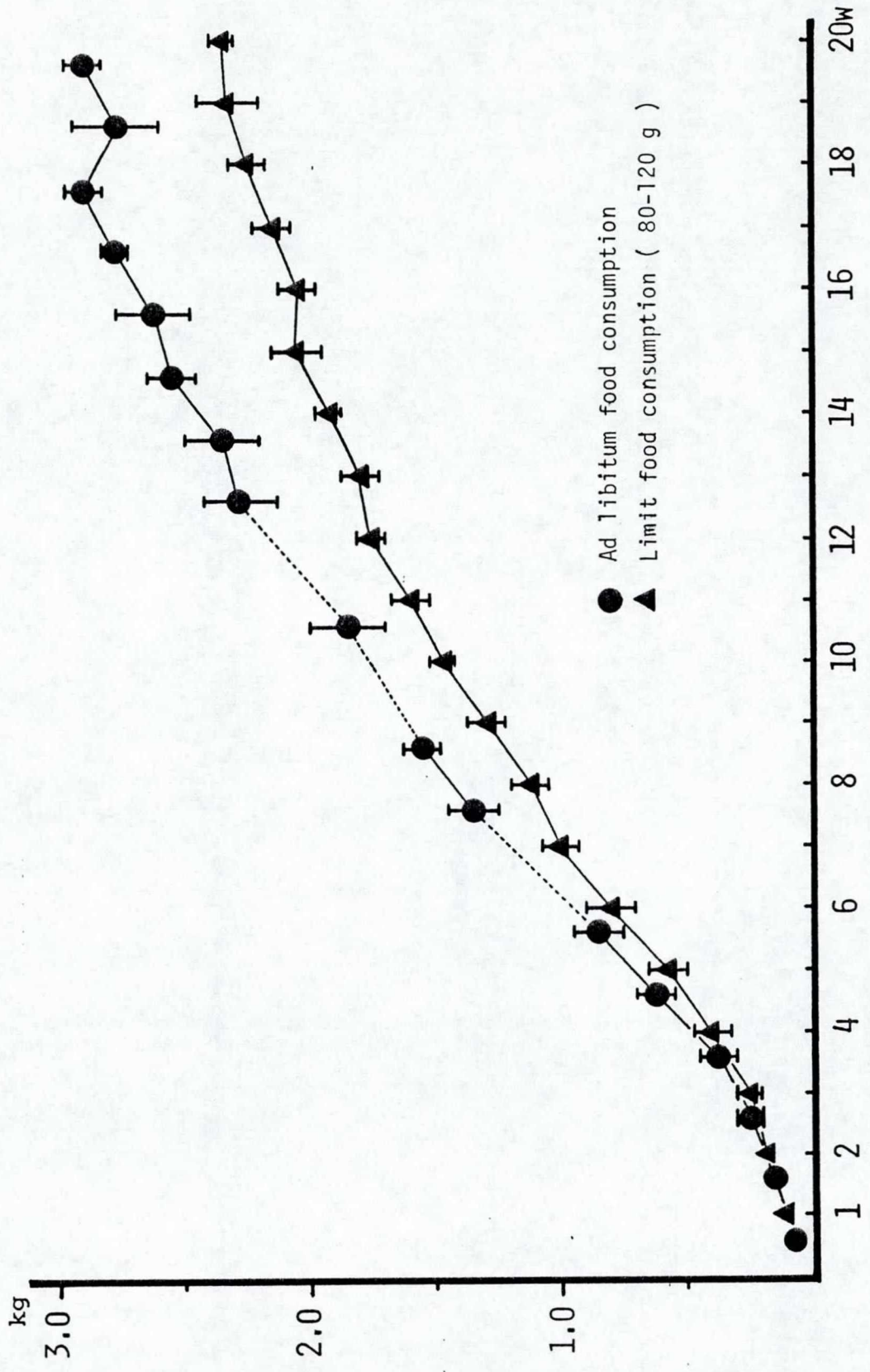


Figure 1. Effects of limit or ad libitum food consumption on growth body weight of male JW-NIBS Rabbits

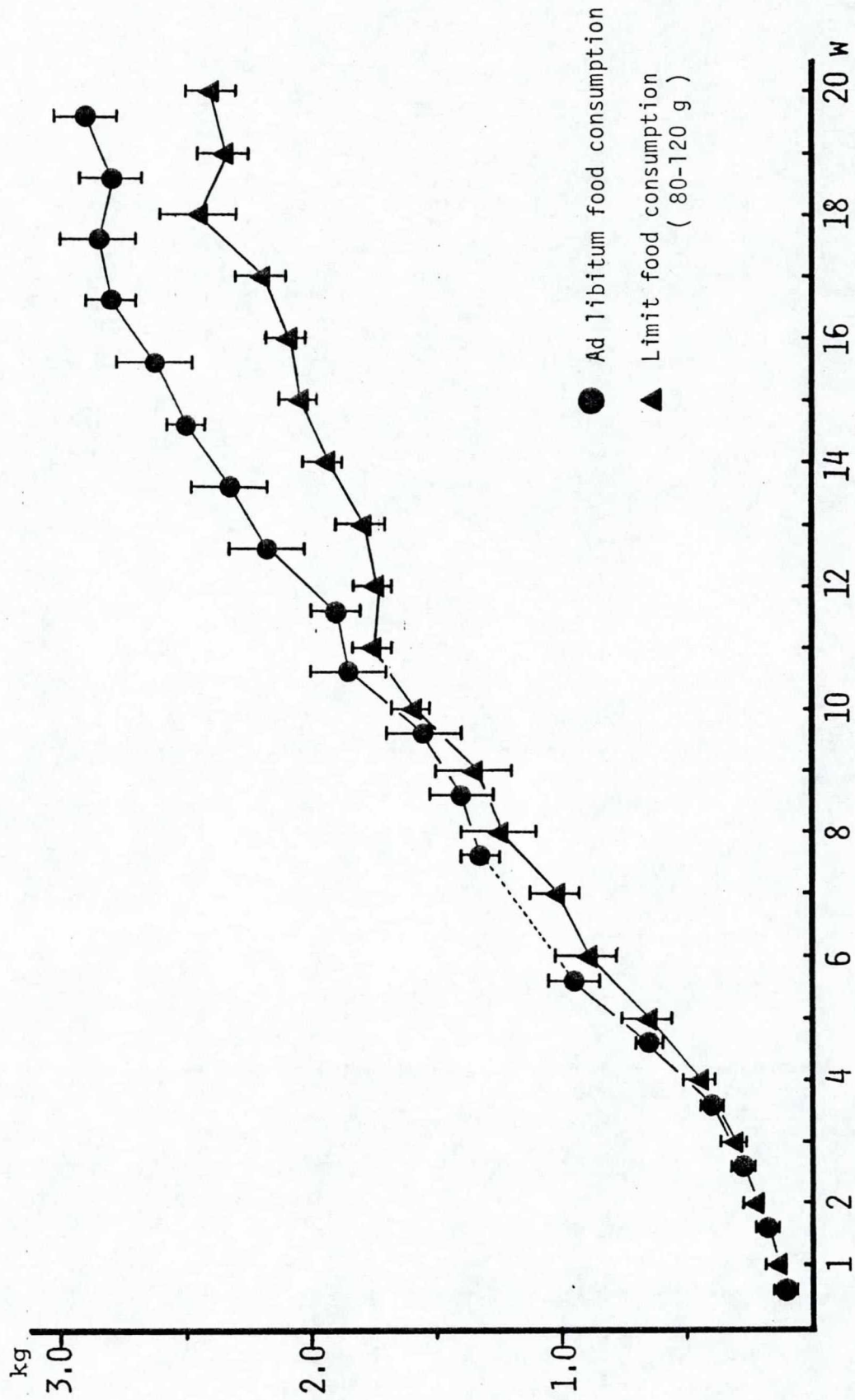


Figure 2. Effects of limit or ad libitum food consumption on growth body weight of female JW-NIBS Rabbits

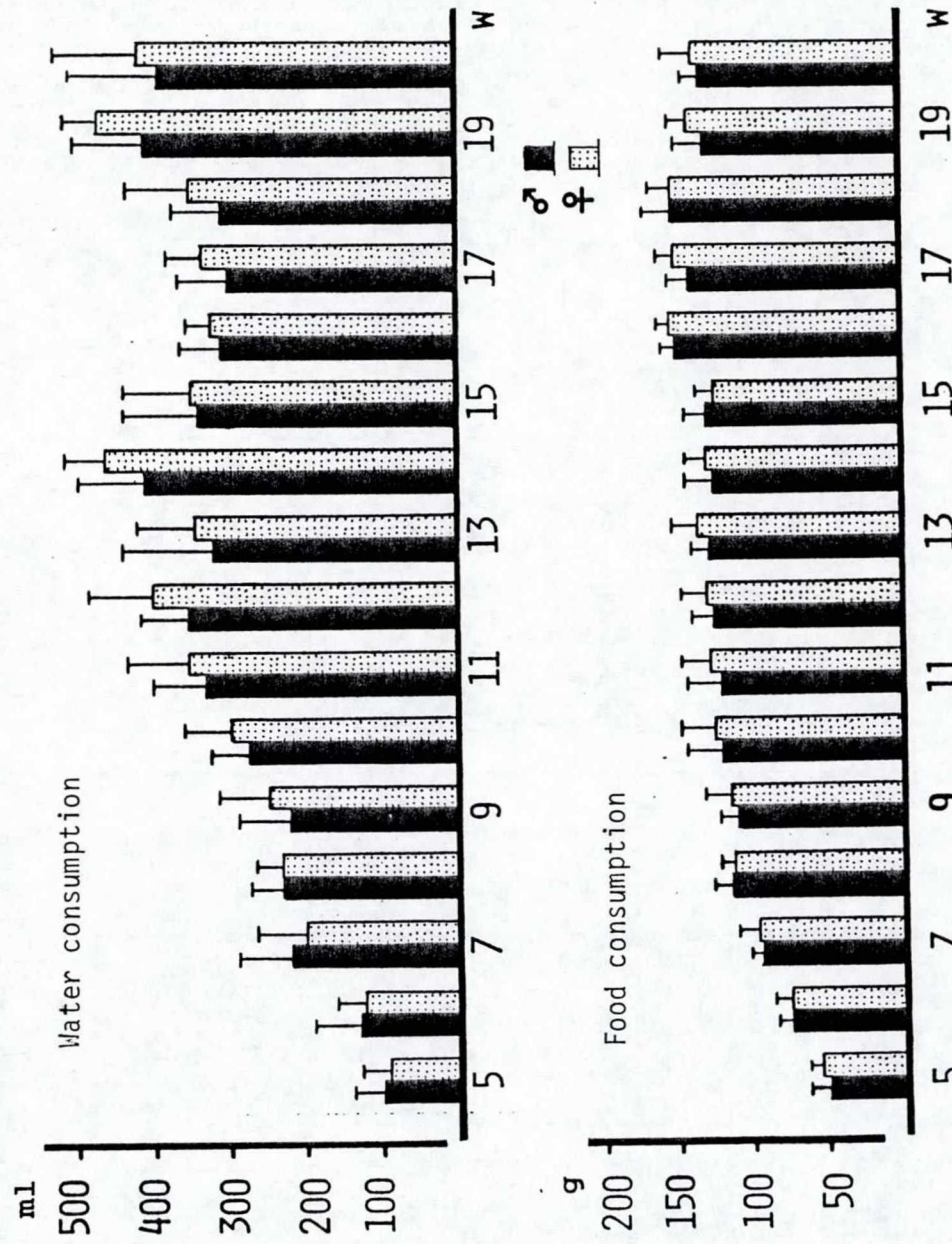


Figure 3. Food and water consumption with growth of JW-NIBS rabbits

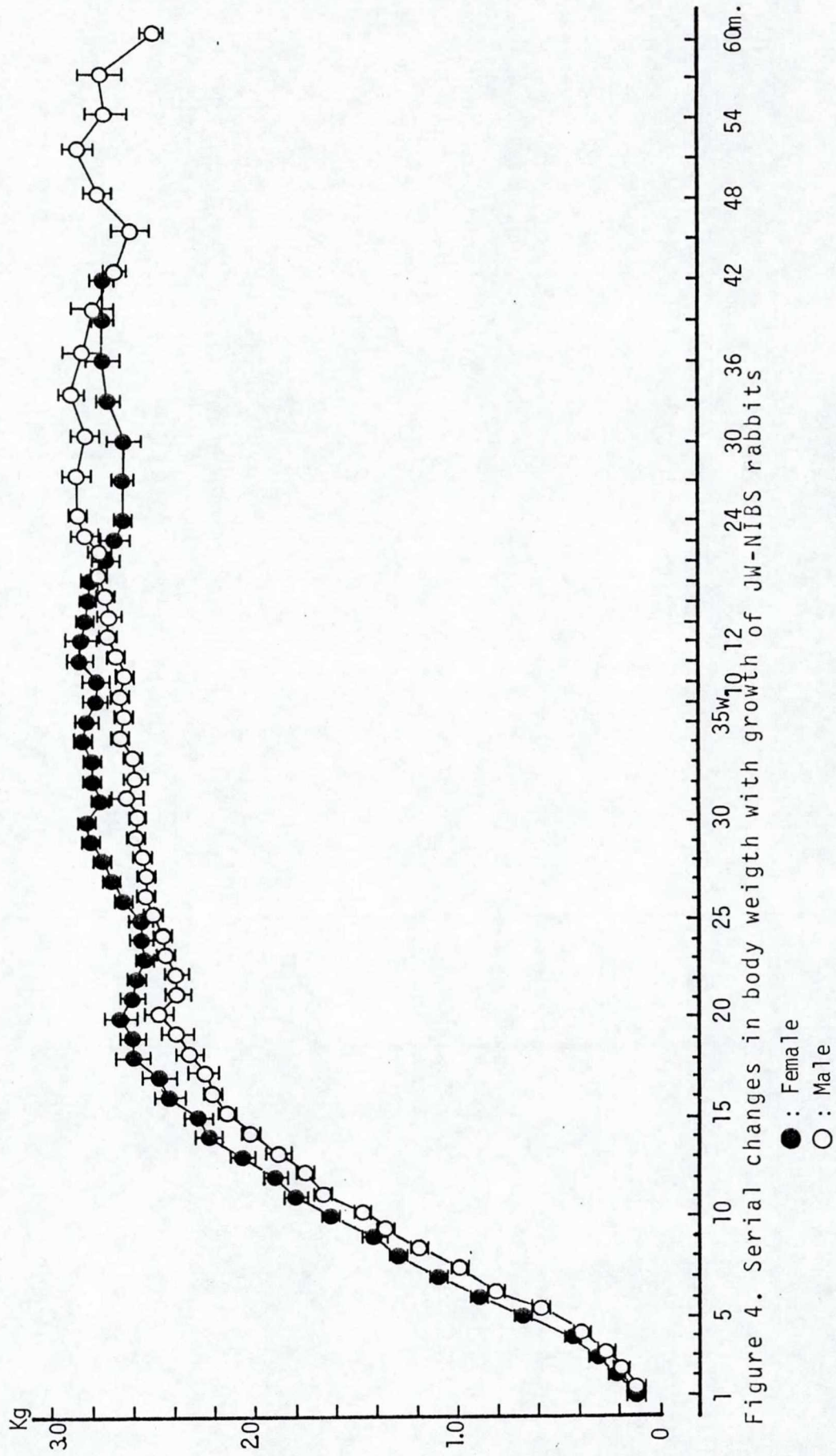


Figure 4. Serial changes in body weight with growth of JW-NIBS rabbits

● : Female
○ : Male

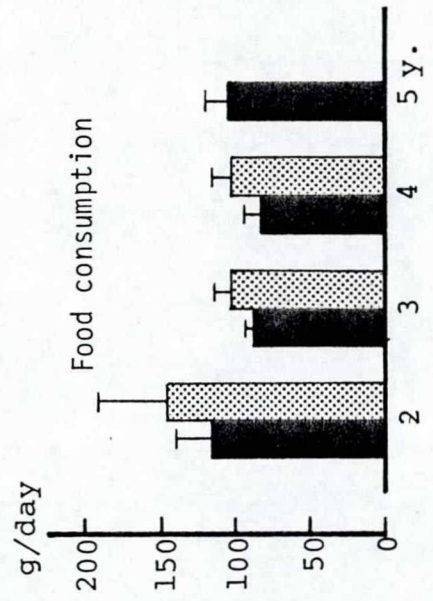
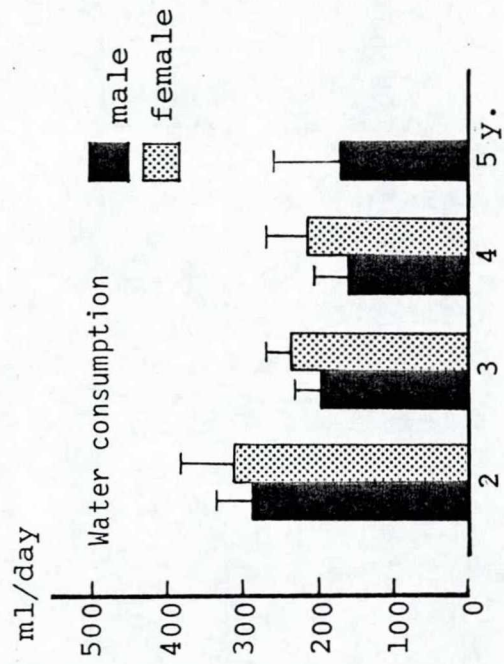


Figure 5. Food and water consumption with growth of JW-NIBS rabbits

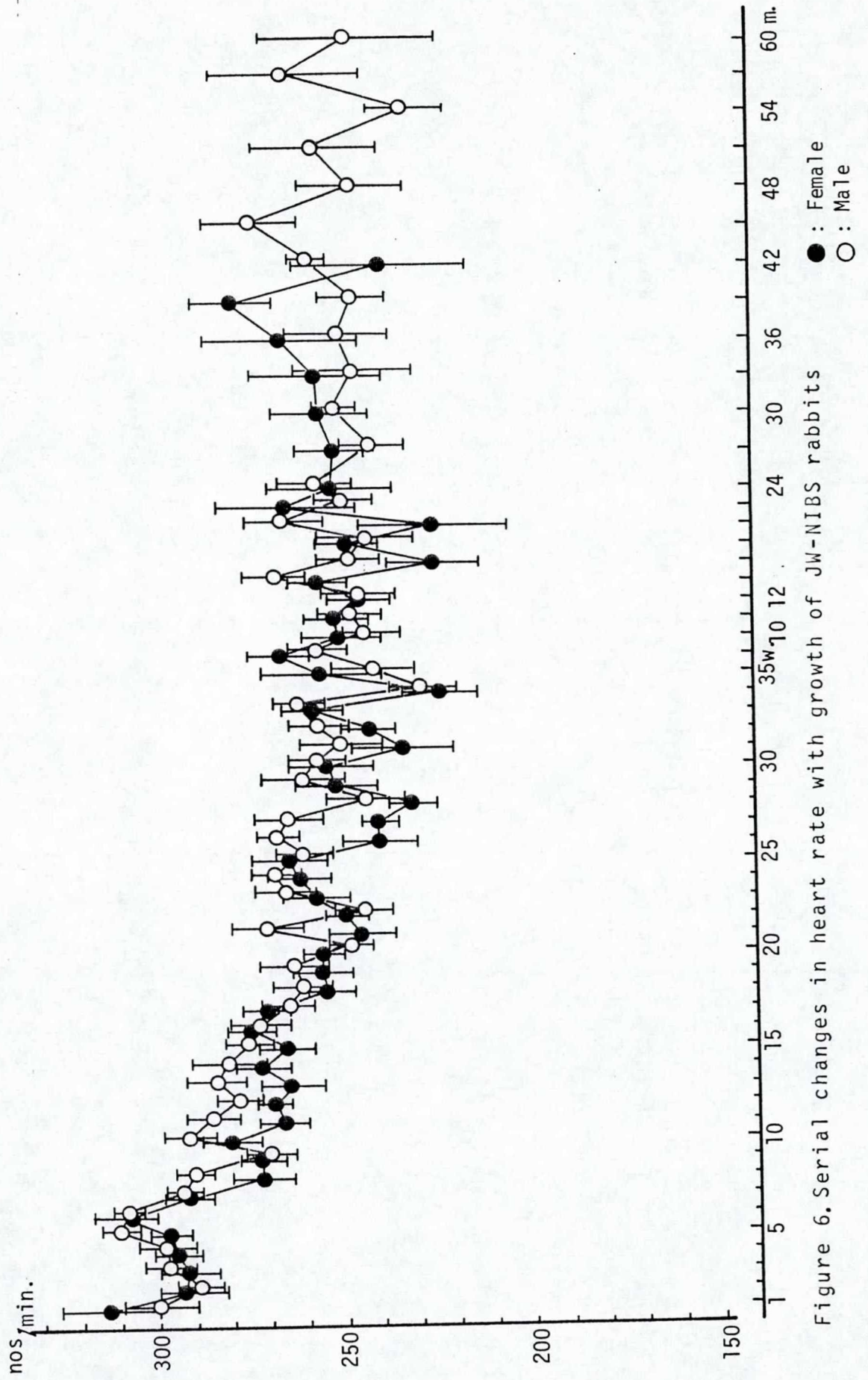


Figure 6. Serial changes in heart rate with growth of JW-NIBS rabbits

● : Female
○ : Male

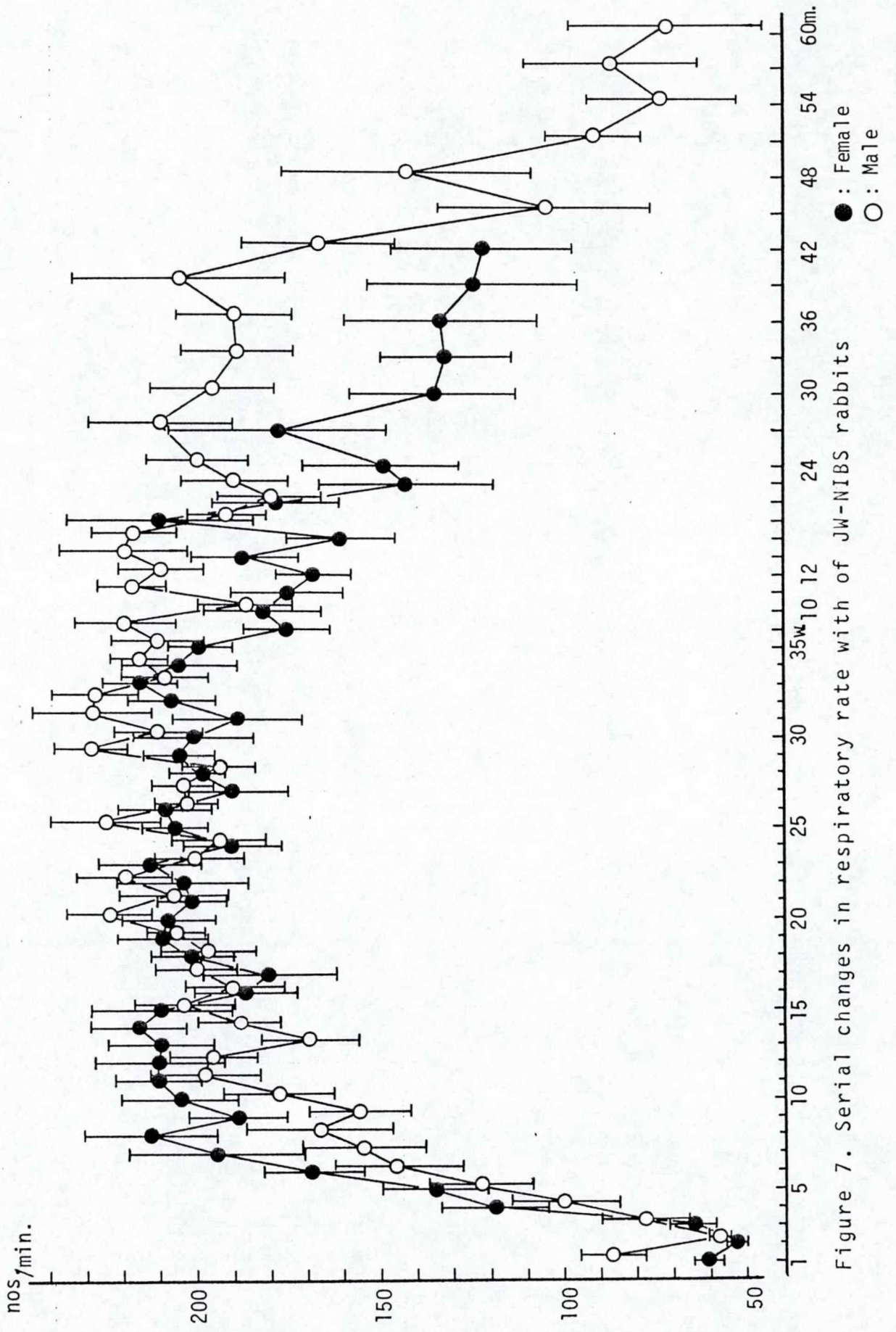


Figure 7. Serial changes in respiratory rate with of JW-NIBS rabbits

● : Female
○ : Male

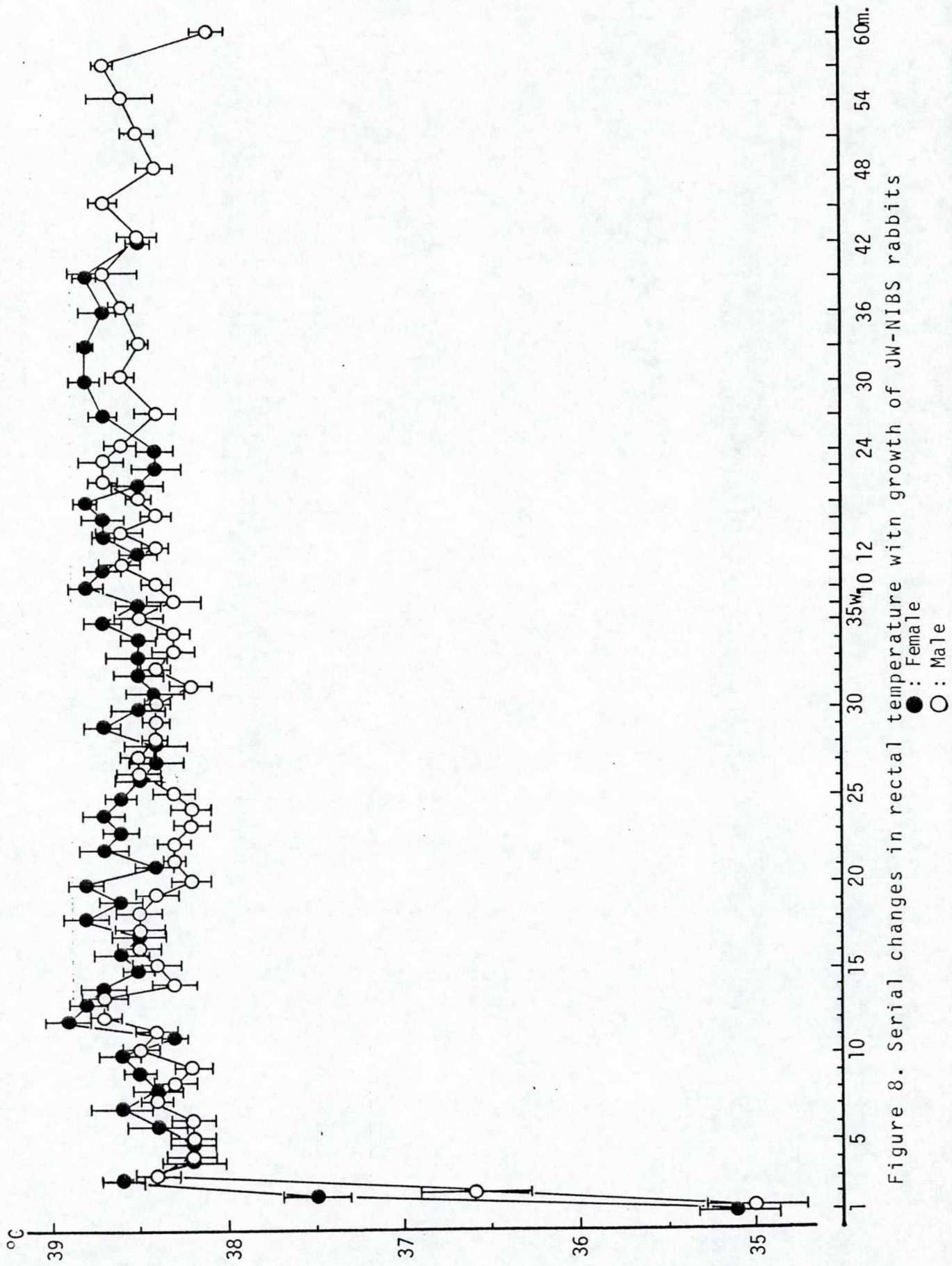


Figure 8. Serial changes in rectal temperature with growth of JW-NIBS rabbits

● : Female
○ : Male

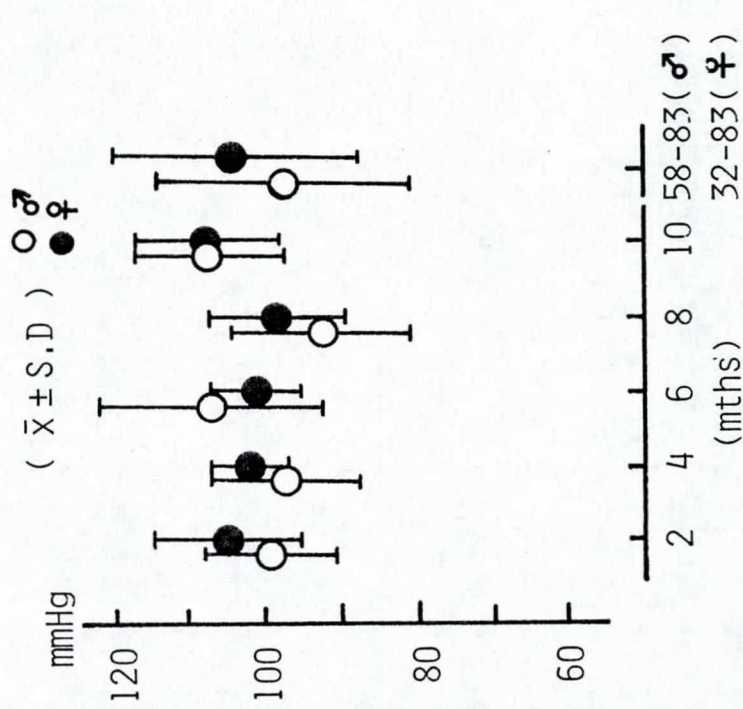


Figure 9. Mean blood pressure of JW-NIBS rabbits

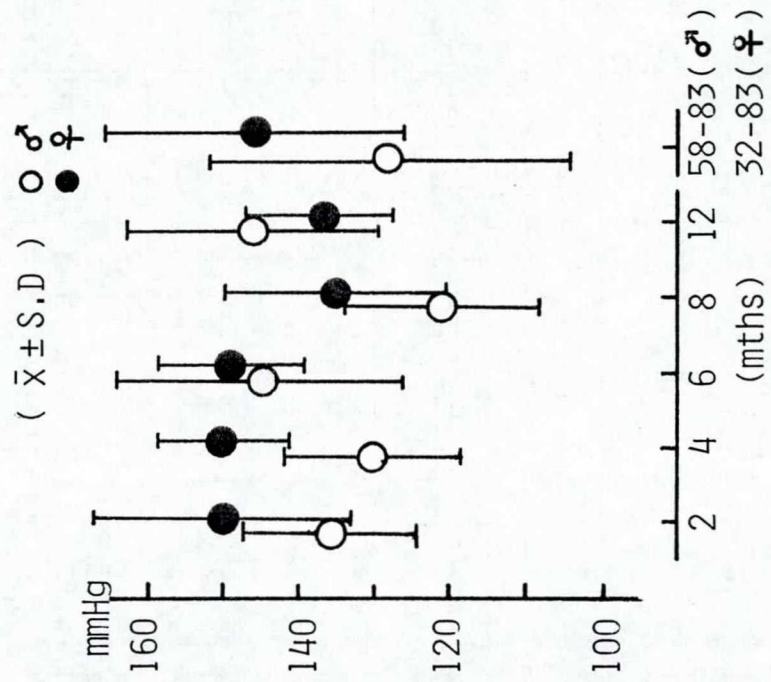


Figure 10. Systolic blood Pressure of JW-NIBS rabbits

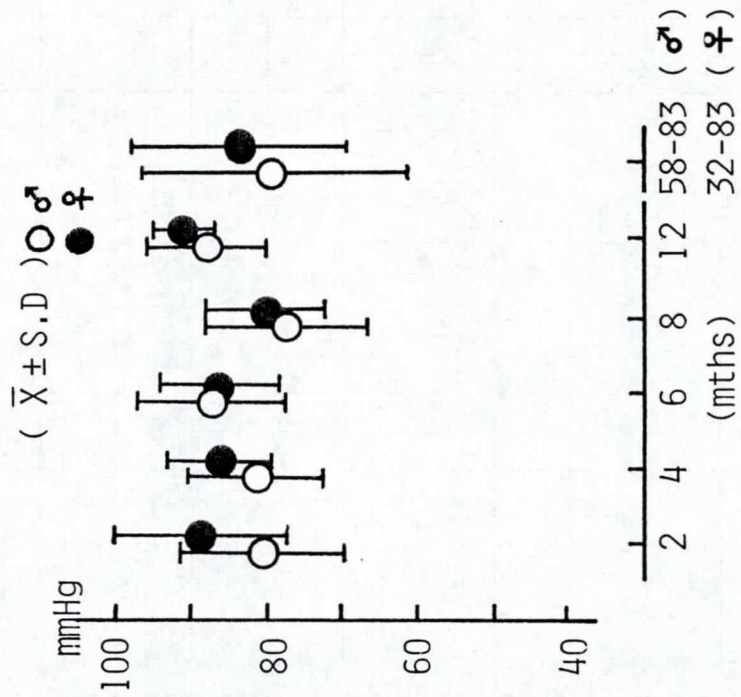


Figure 11. Diastolic blood pressure of JW-NIBS rabbits

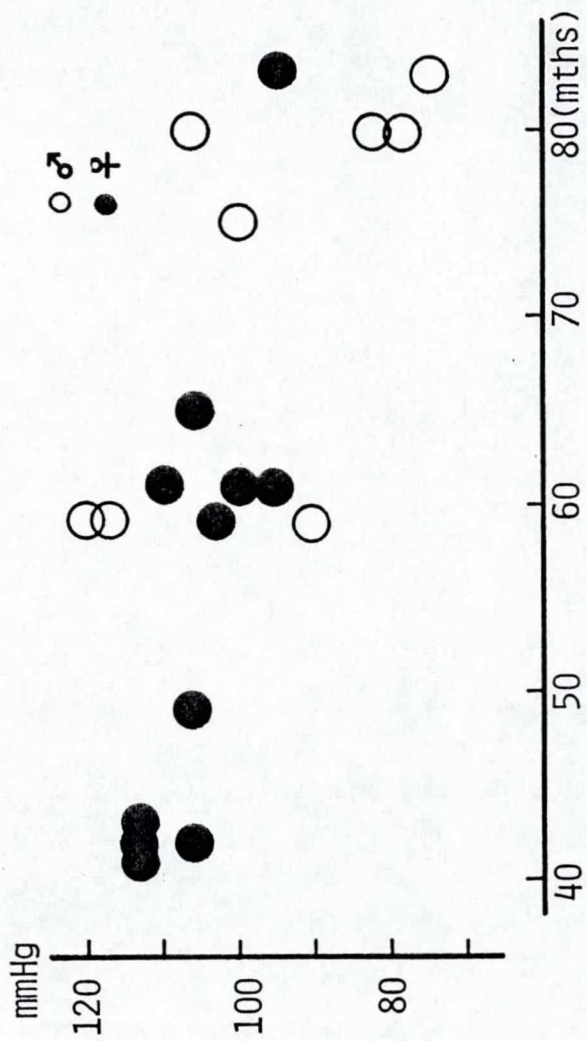


Figure 12. Mean blood pressure of JW-NIBS rabbits

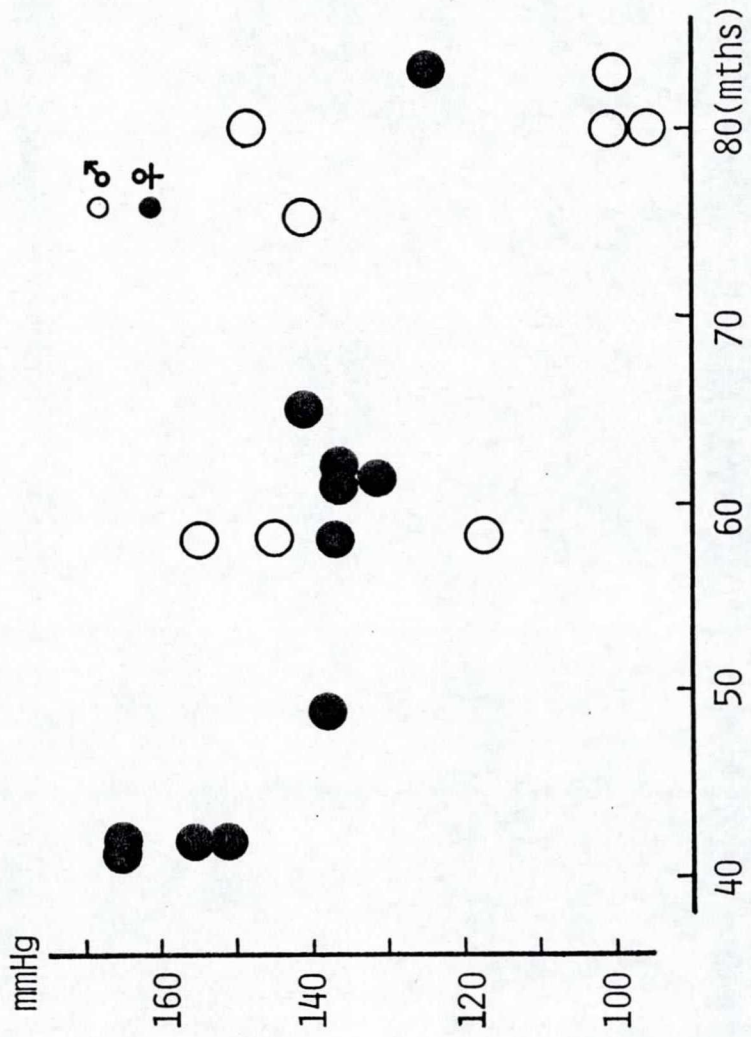


Figure 13. Systolic blood pressure of JW-NIBS rabbits

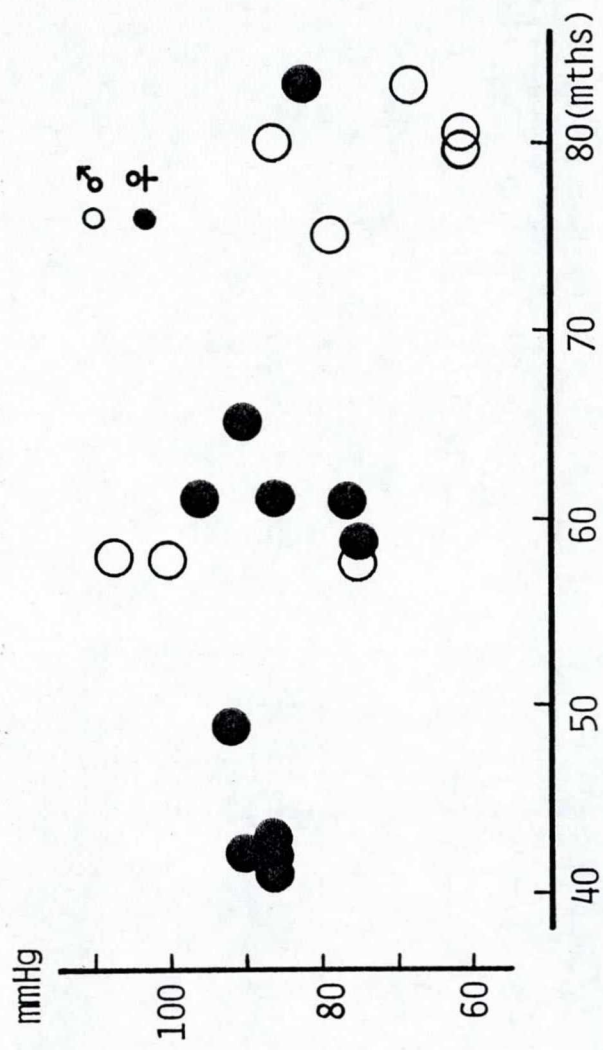


Figure 14. Diastolic blood pressure of JW-NIBS rabbits

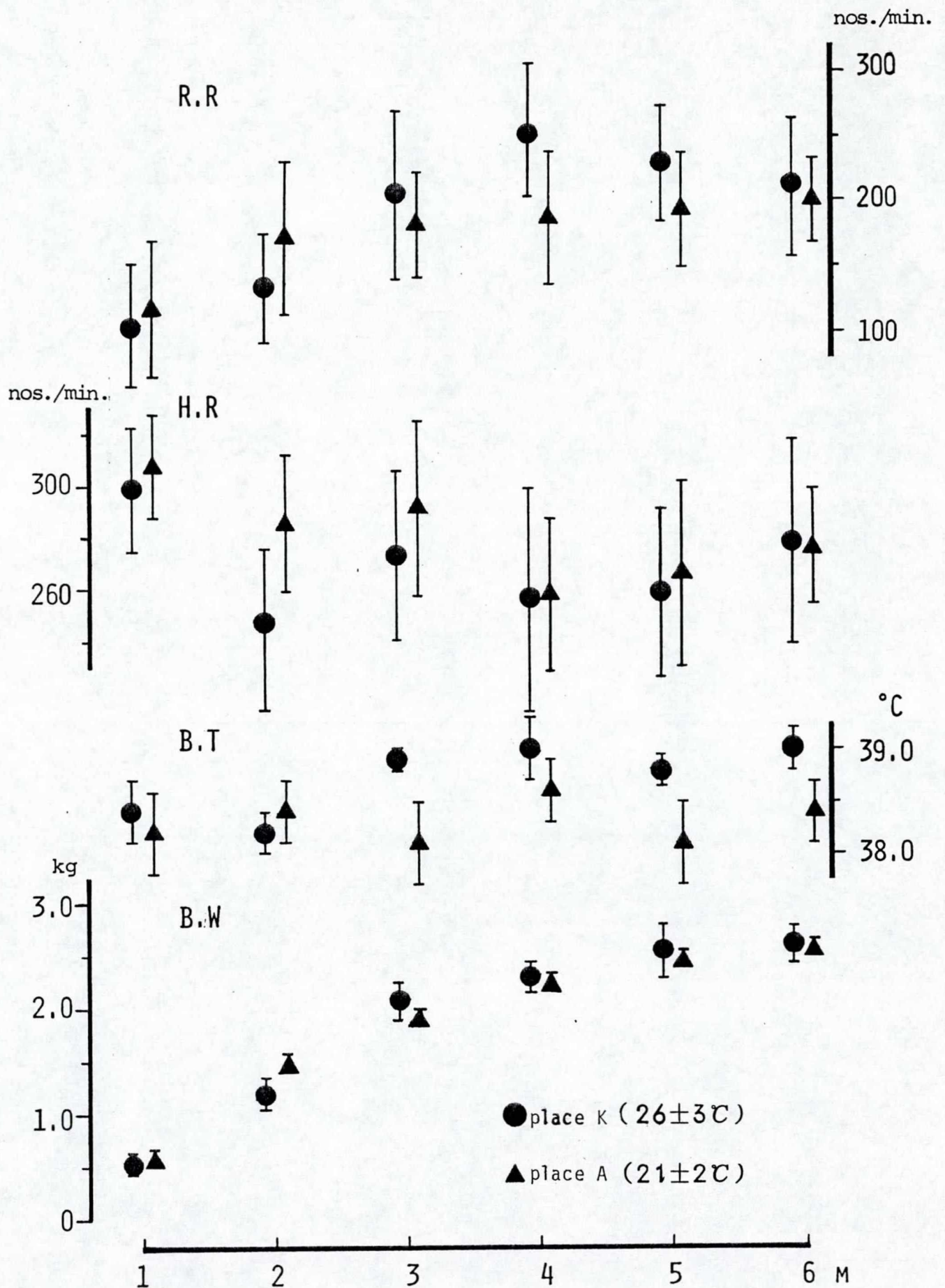


Figure 15. Respiratory rate, heart rate and rectal temperature in male JW-NIBS rabbits of different ambits

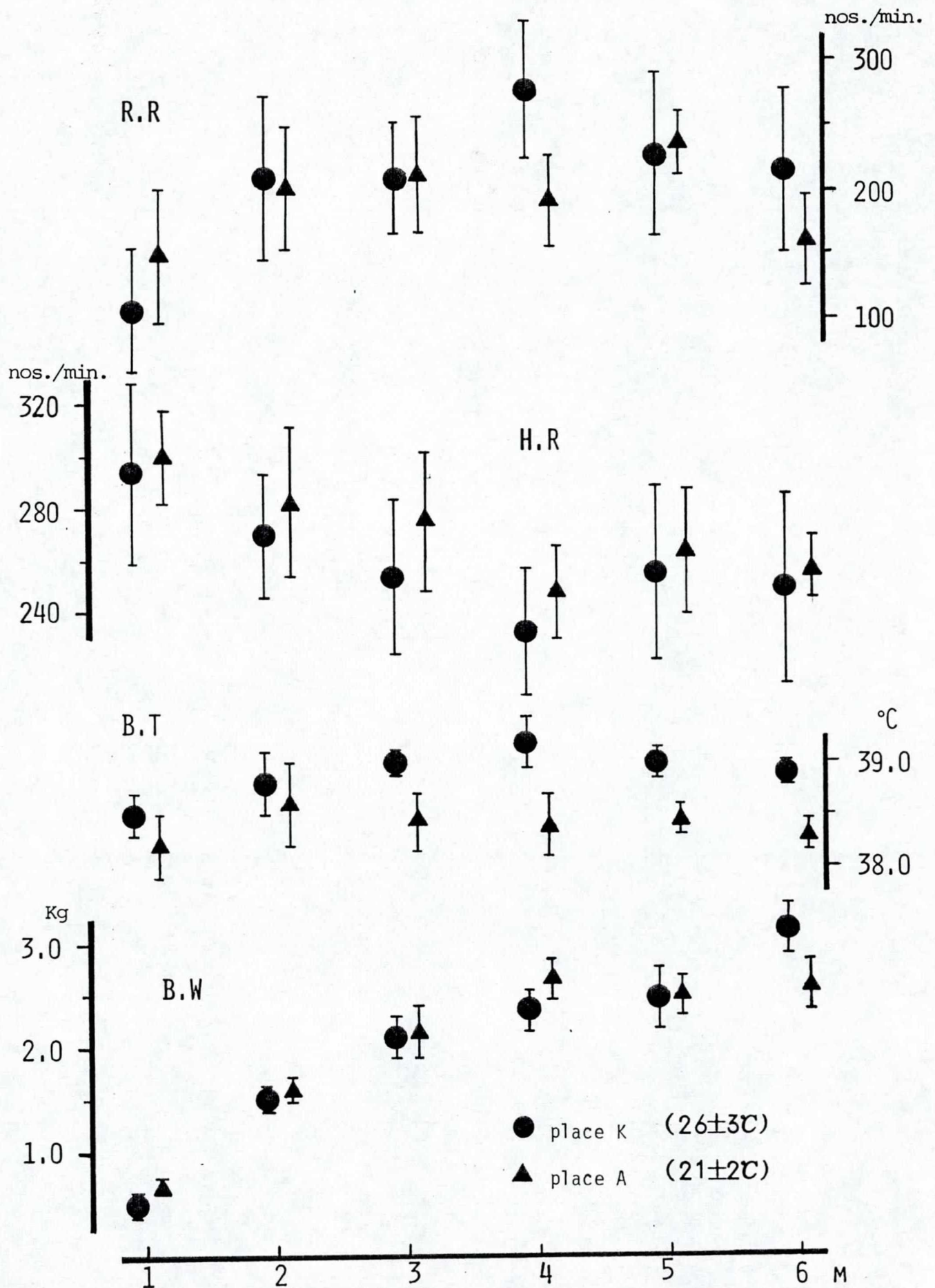


Figure 16. Respiratory rate, heart rate and rectal temperature in female JW-NIBS rabbits of different ambits

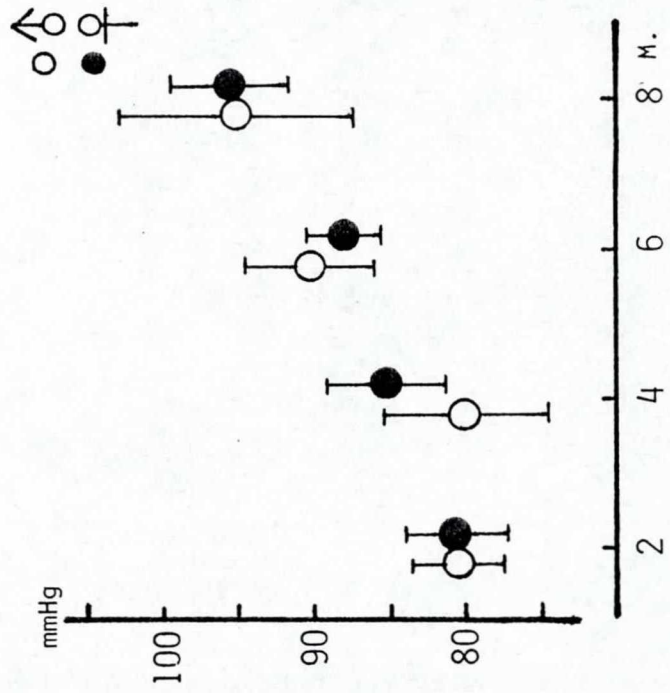


Figure 17. Mean blood pressur of NZW-NIBS rabbits

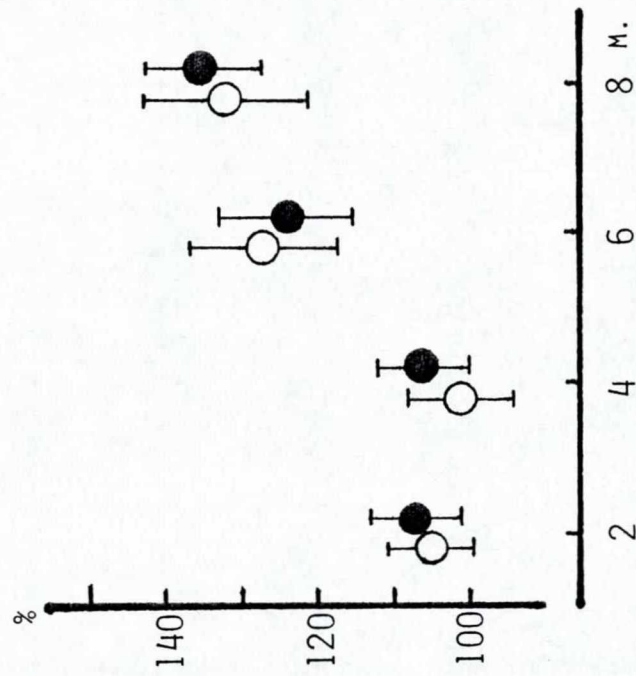


Figure 18. Systolic blood pressure of NZW-NIBS rabbits

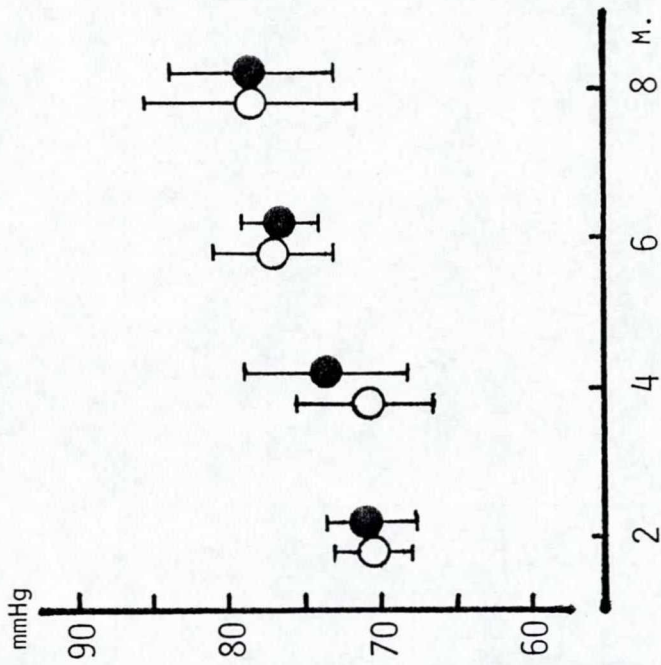


Figure 19. Diastolic blood pressure of NZW-NIBS rabbits

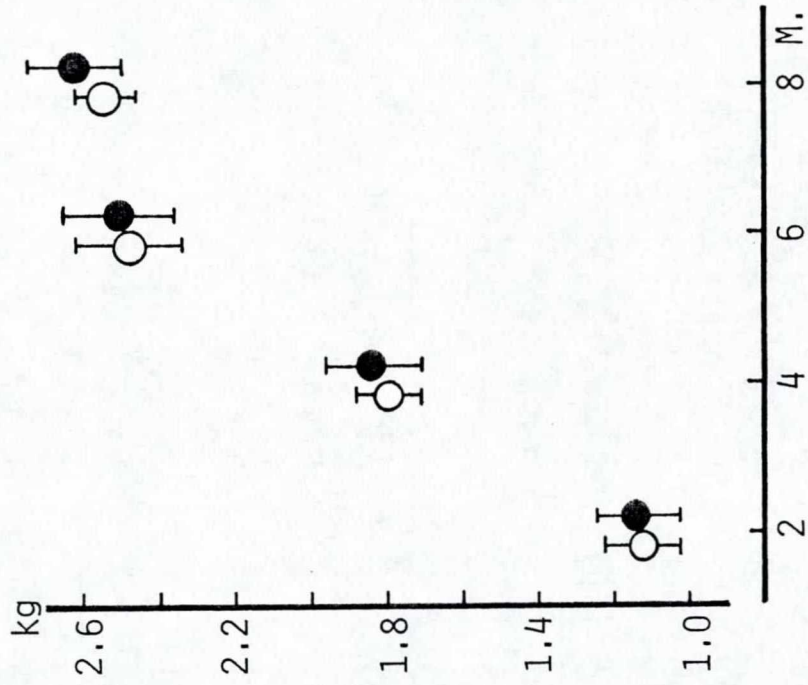


Figure 20. Serial changes in body weight with growth of NZW-NIBS rabbits

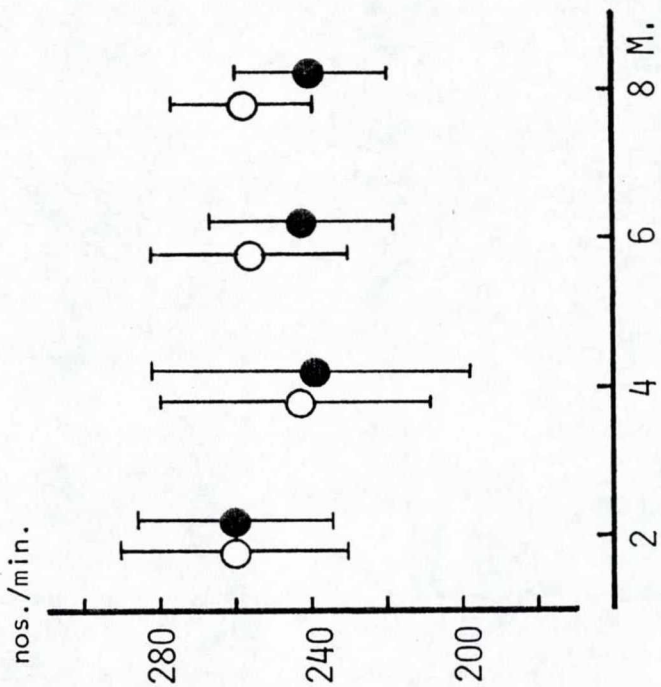


Figure 21. Serial changes in heart rate with growth of NZW-NIBS rabbits

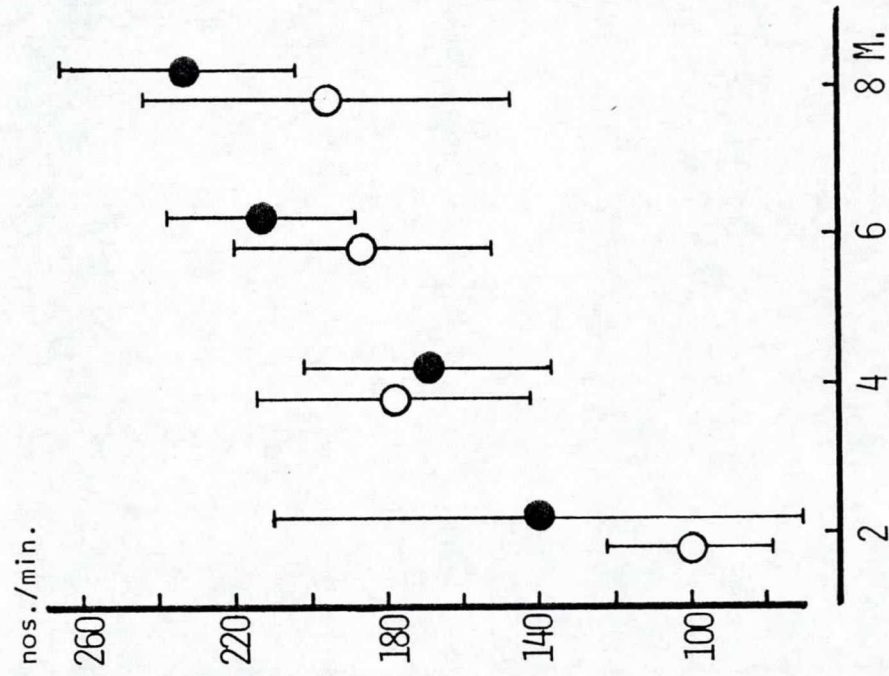


Figure 22. Serial changes in respiratory rate with growth of NZW-NIBS rabbits

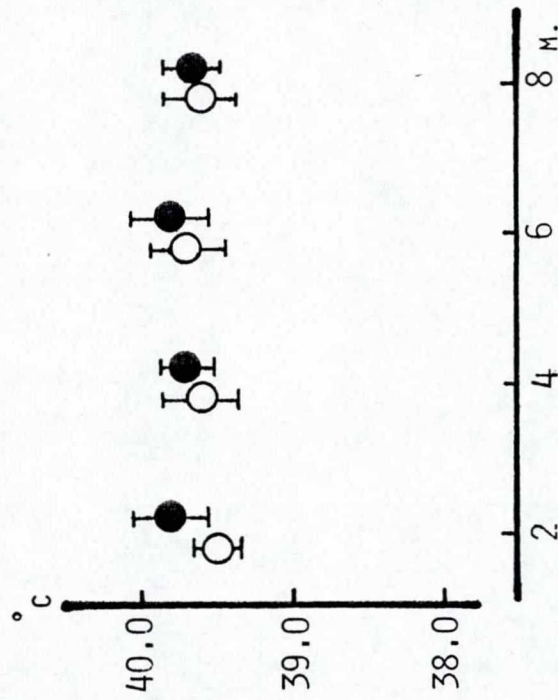


Figure 23. Serial changes in rectal temperature with growth of NZW-NIBS rabbits

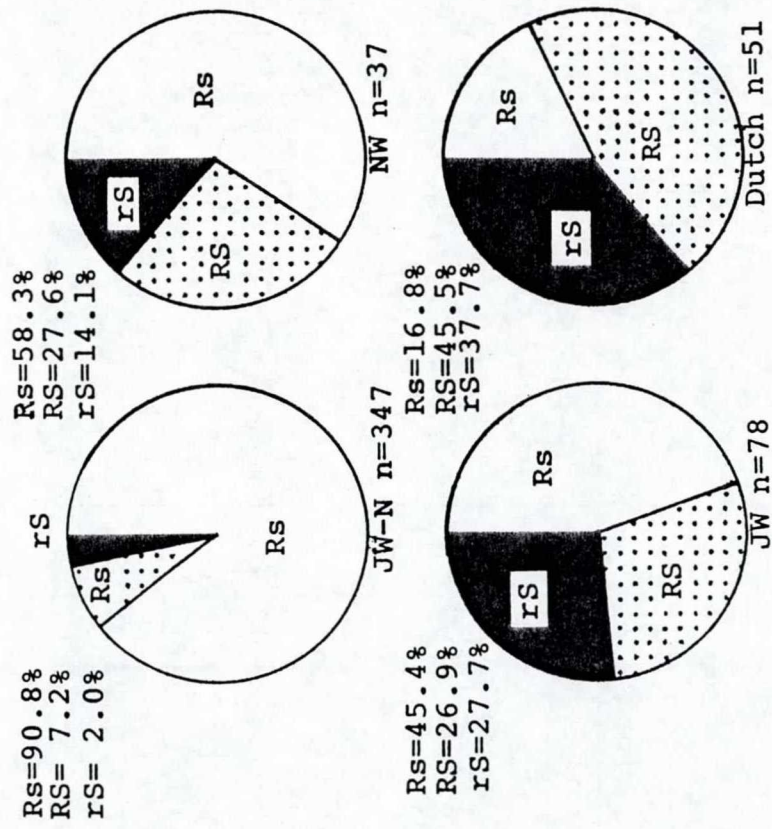


Figure 24. ECG pattern in rabbits of four strains

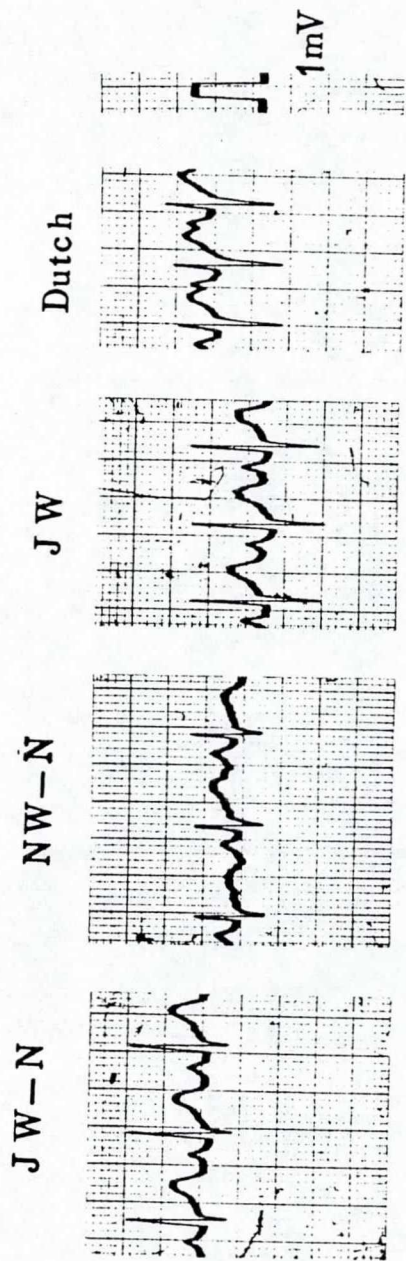


Figure 25. ECG in rabbits of four strains

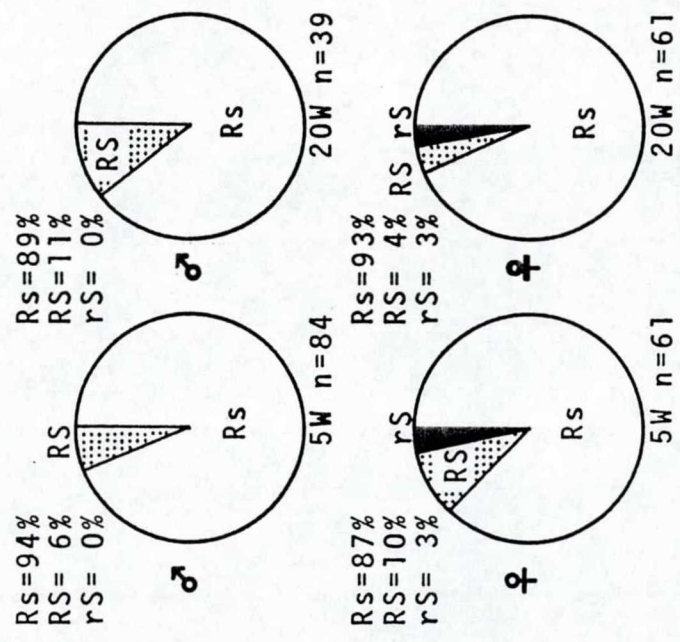


Figure 26. ECG pattern in rabbits of different age and sex

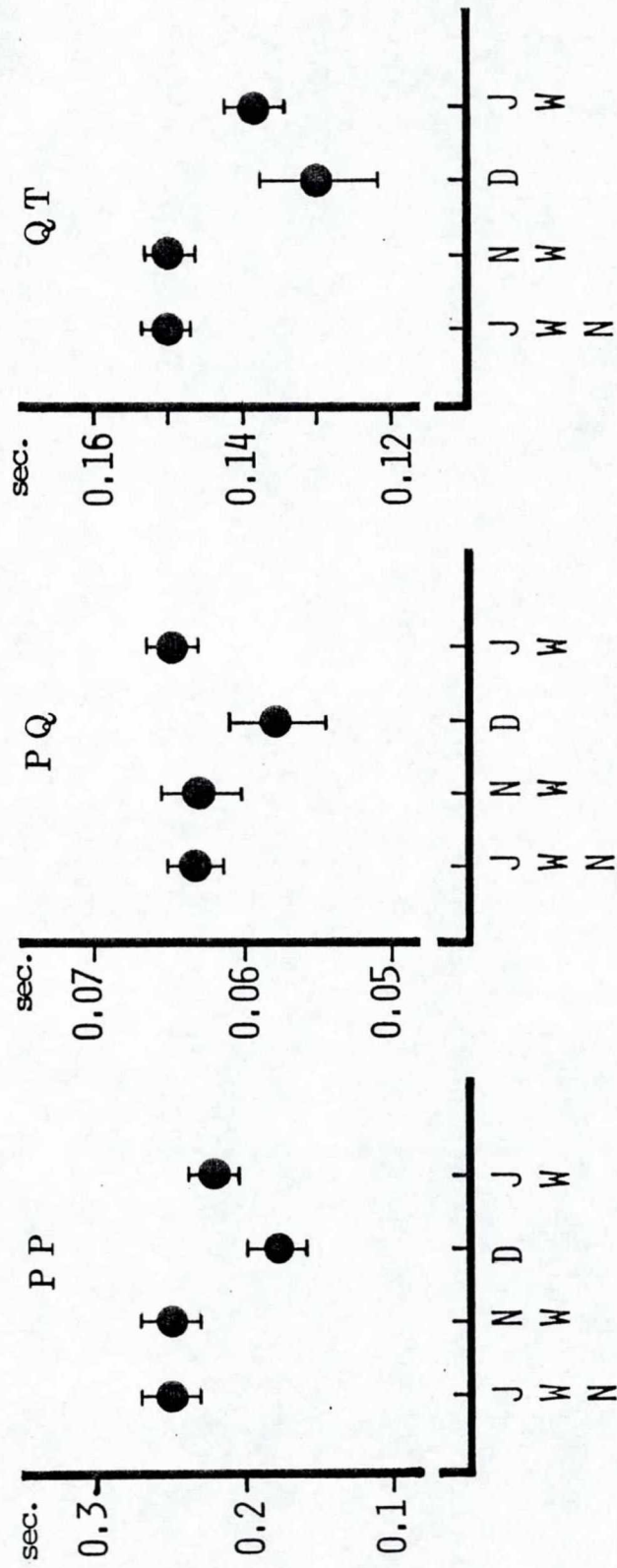


Figure 27. Various intervals of ECG in rabbits of four strains

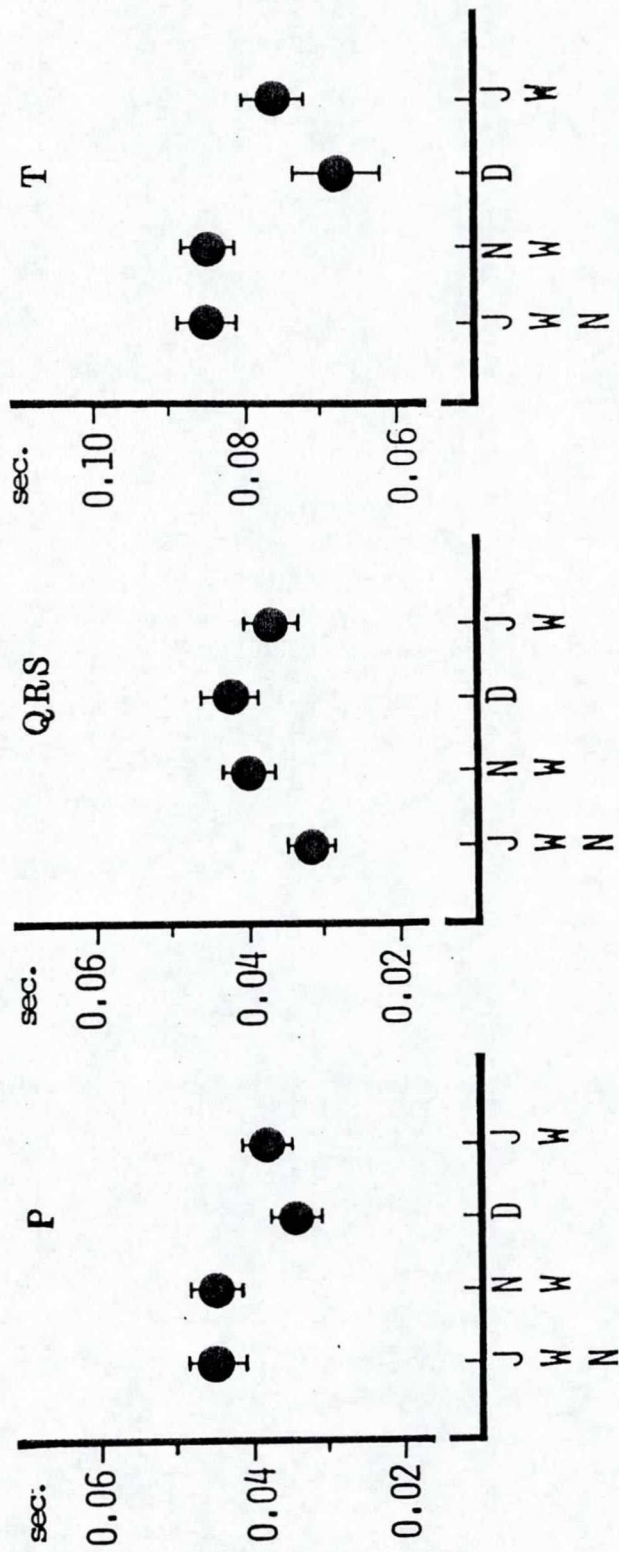


Figure 28. Various durations of ECG in rabbits of four strains

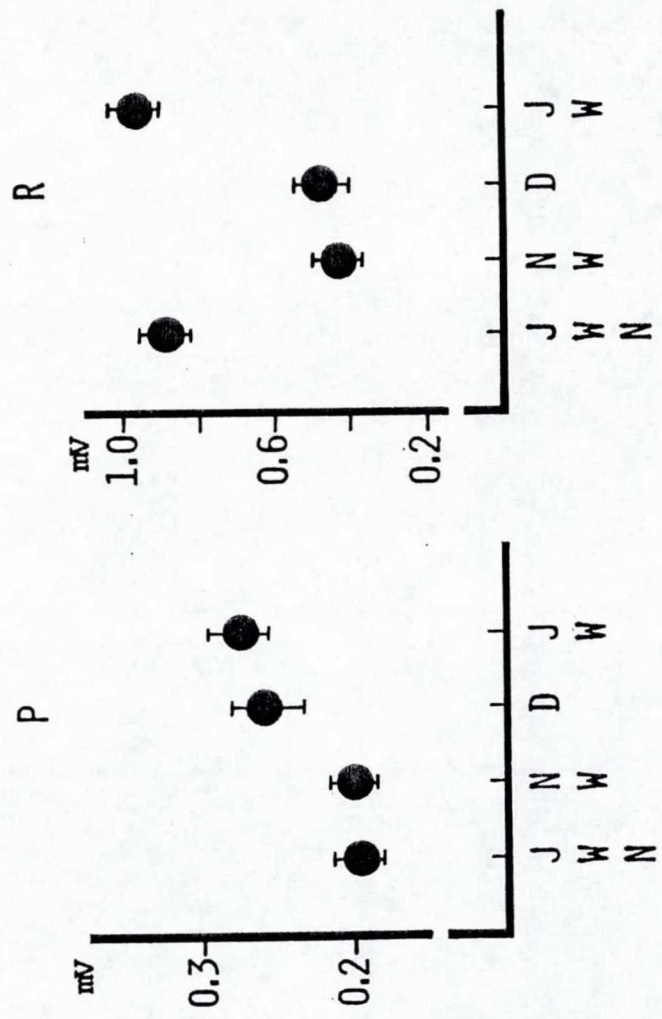


Figure 29-a. Various amplitudes of ECG in rabbits of four strains

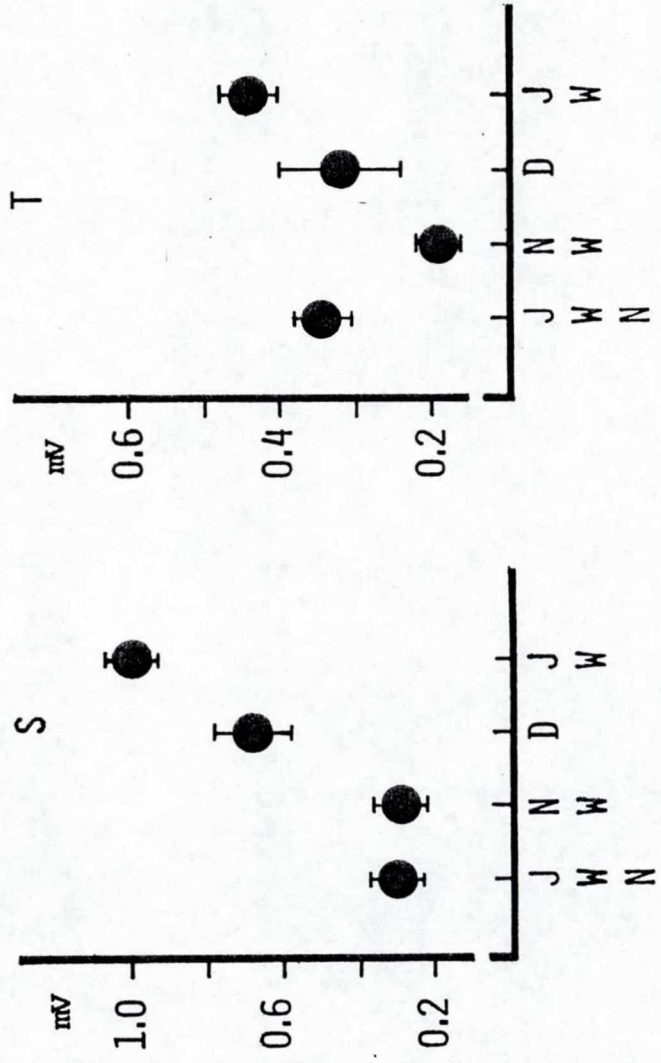


Figure 29-b. Various amplitudes of ECG in rabbits of four strains

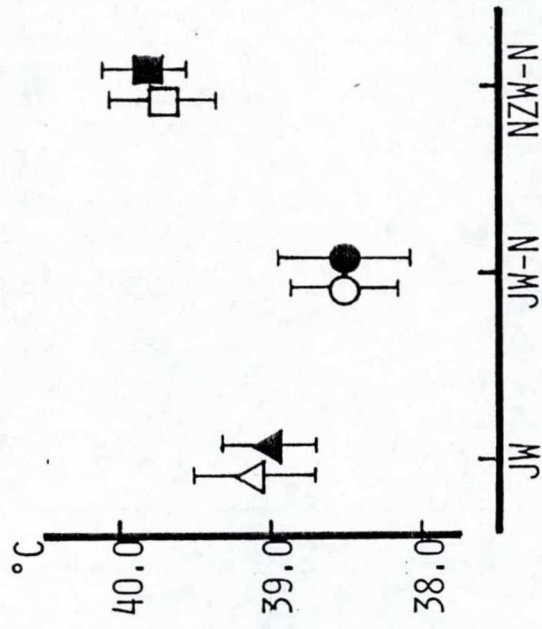


Figure 30. Rectal temperature in rabbits of three strains

△: JW(male) ○: JW-NIBS(male) □: NZW-NIBS(male)
 ▲: JW(female) ●: JW-NIBS(female) ■: NZW-NIBS(female)

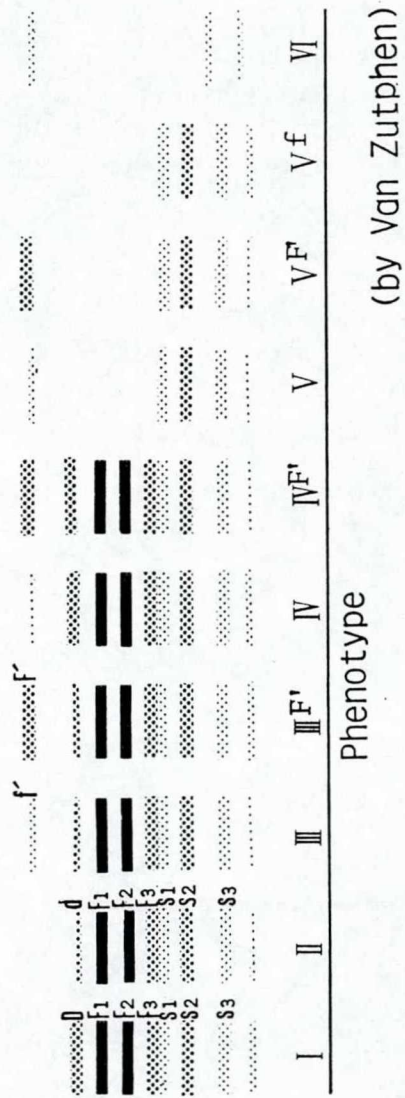


Figure 31. Prealbumin serum esterase region of the rabbit.

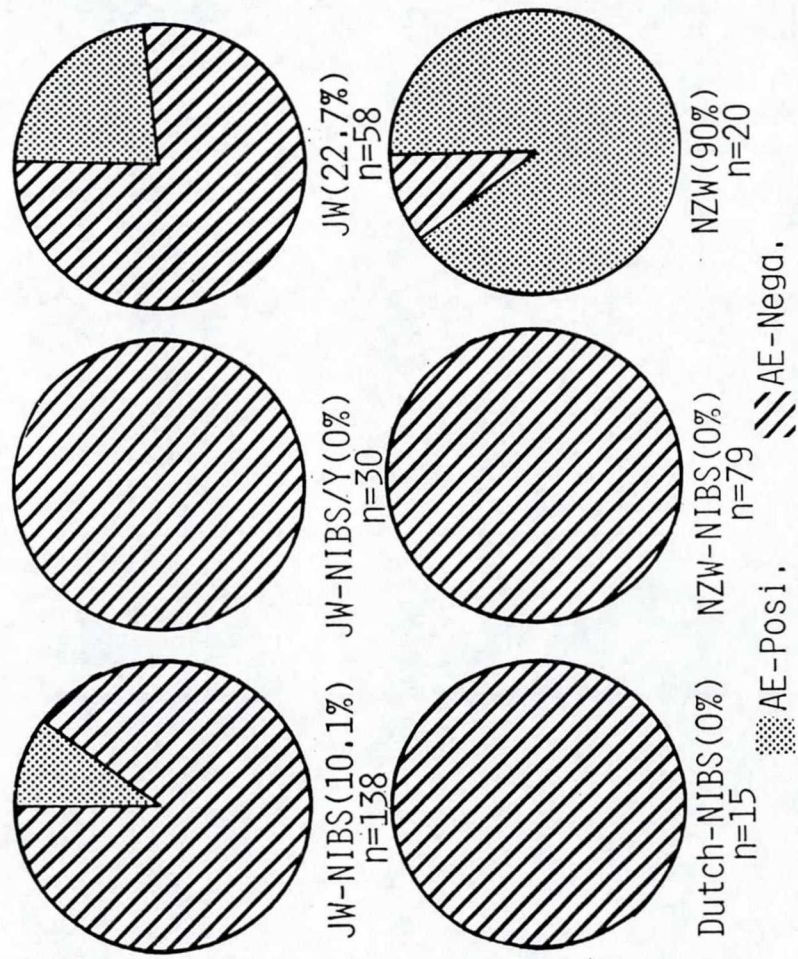


Figure 32. Atropinesterase frequency in rabbits of six strains.

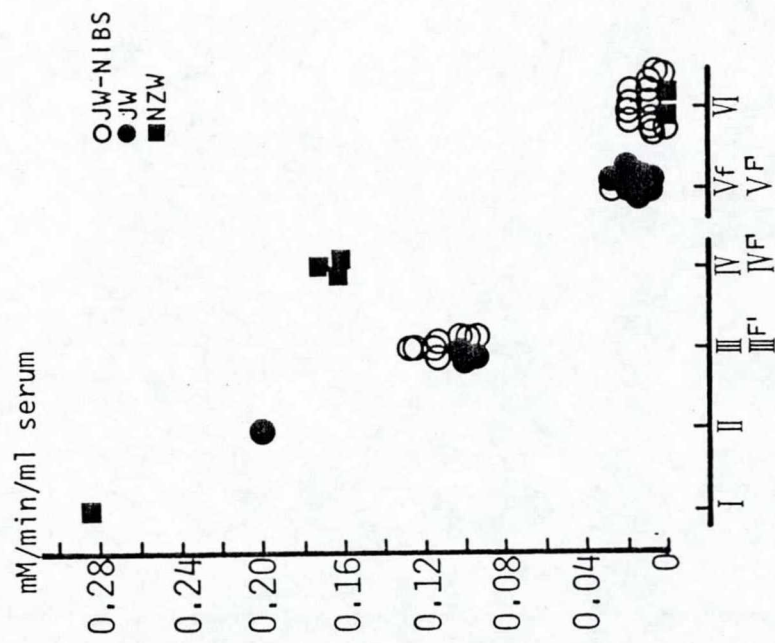


Figure 33. Atropinesterase activity and prealbumin esterase phenotypes.

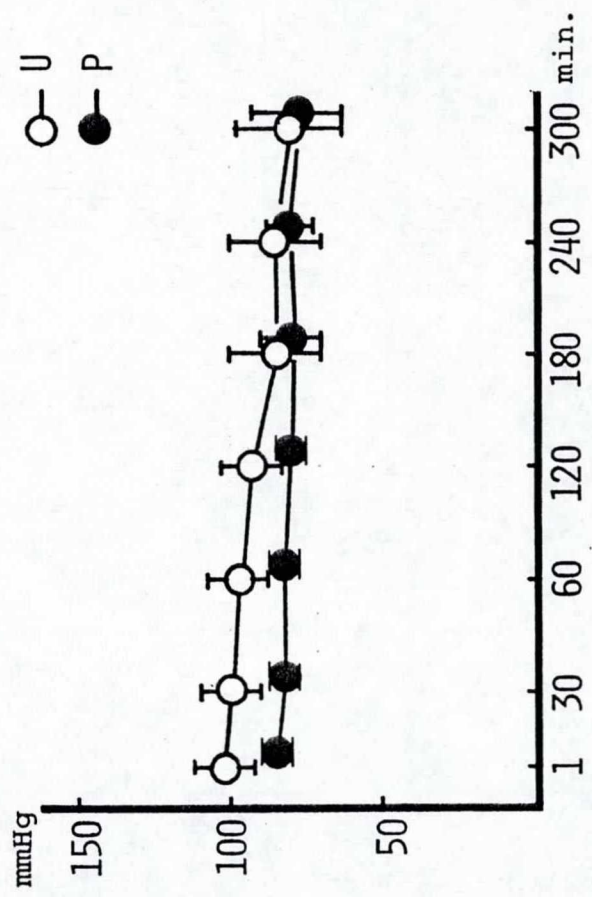


Figure 34. Effect of urethane and phenobarbital on B.P. in JW-NIBS.

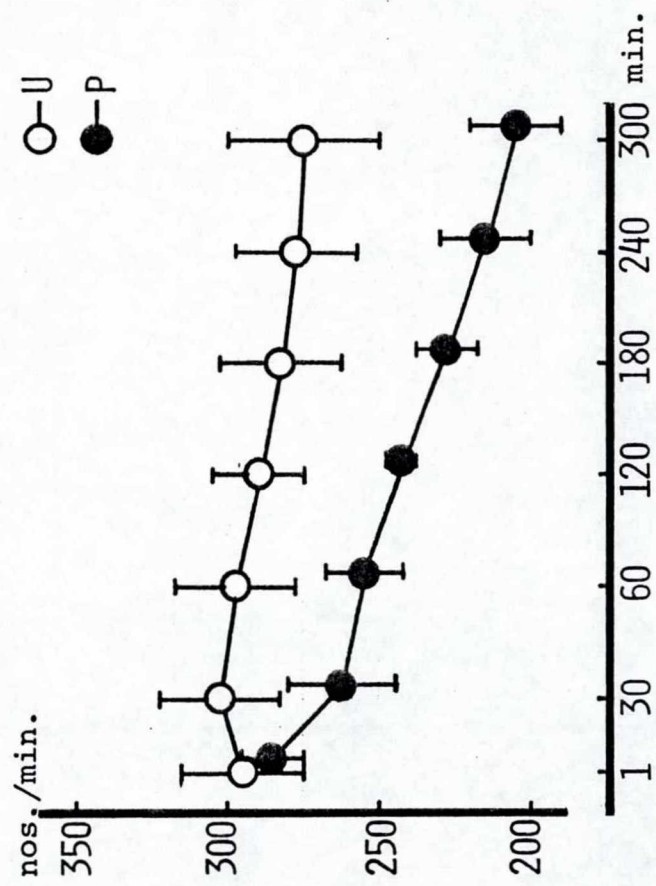


Figure 35. Effect of urethane and phenobarbital on H.R. in JW-NIBS.

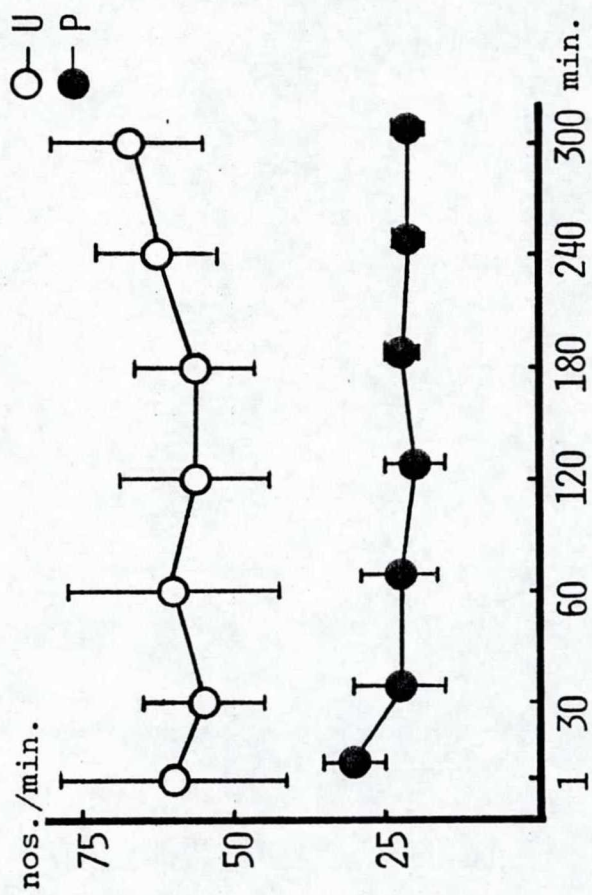


Figure 36. Effect of urethane on B.P. in JW-NIBS rabbits.

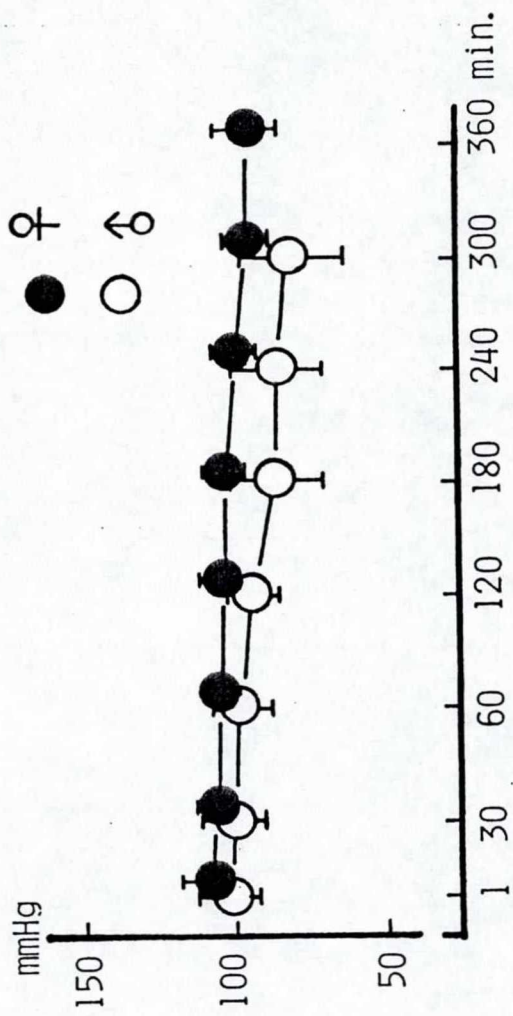


Figure 37. Effect of urethane on B.P. in JW-NIBS rabbits.

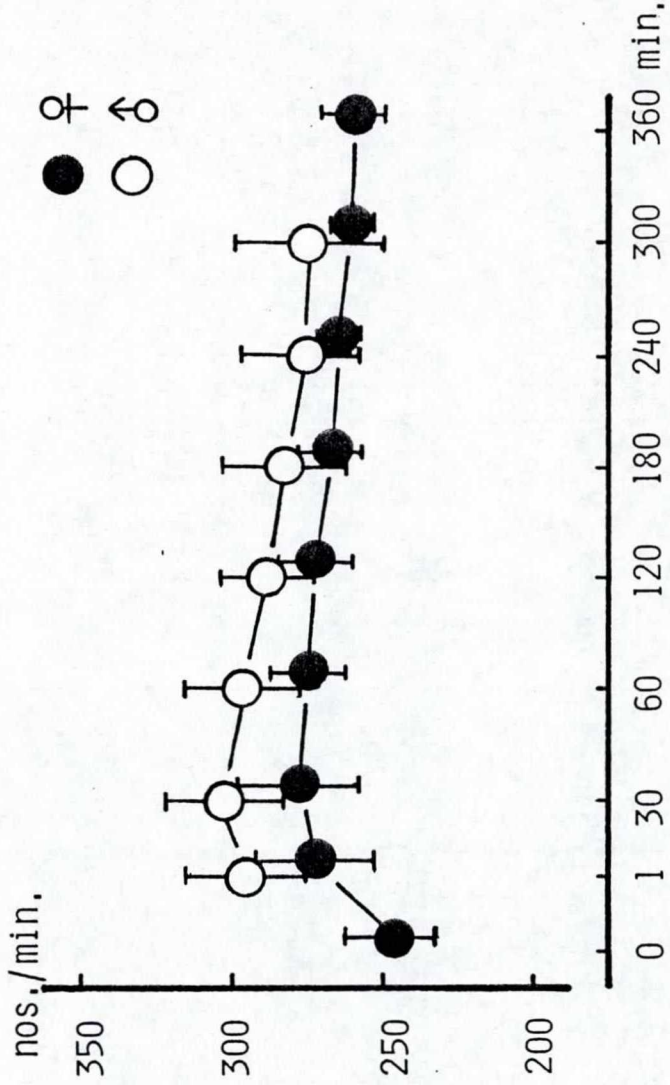


Figure 38. Effect of urethane on H.R in JW-NIBS rabbits.

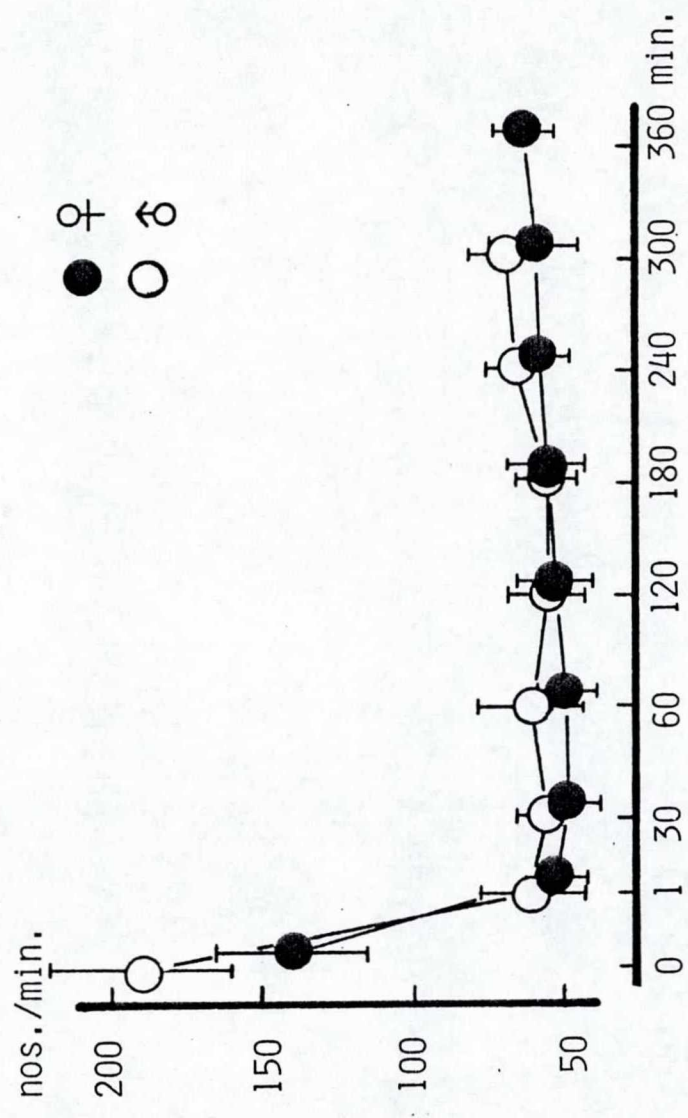


Figure 39. Effect of urethane on H.R. in JW-NIBS rabbits.

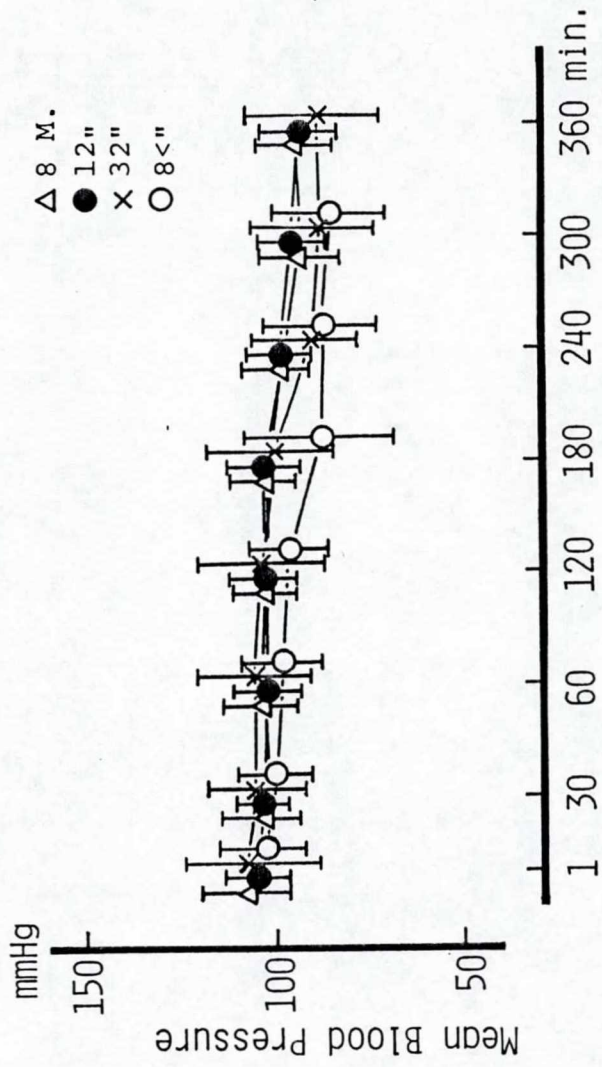


Figure 40. Effect of urethane on M.B.P in JW-NIBS rabbits.

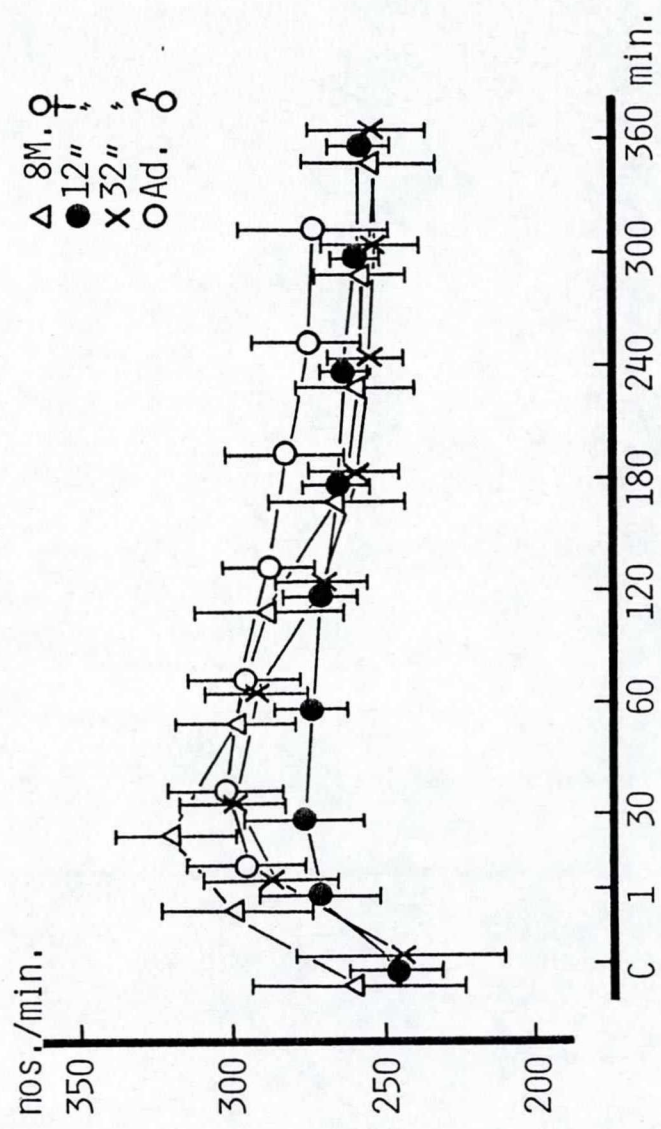


Figure 41. Effect of urethane on H.R. in JW-NIBS rabbits.

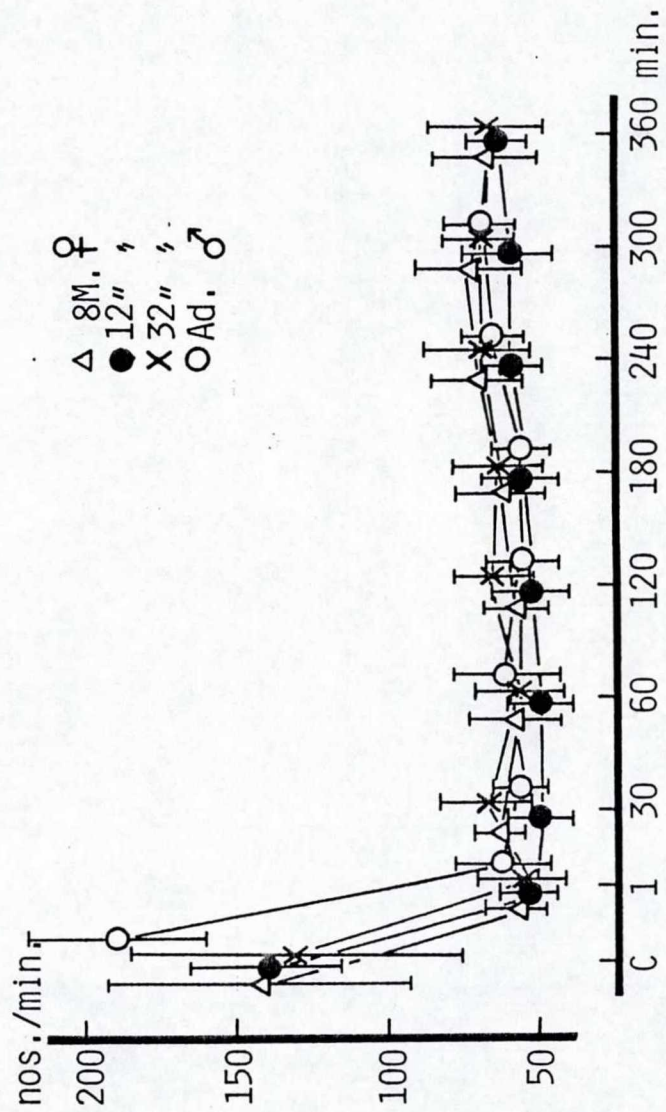


Figure 42. Effect of urethane on R.R. in JW-NIBS rabbits.

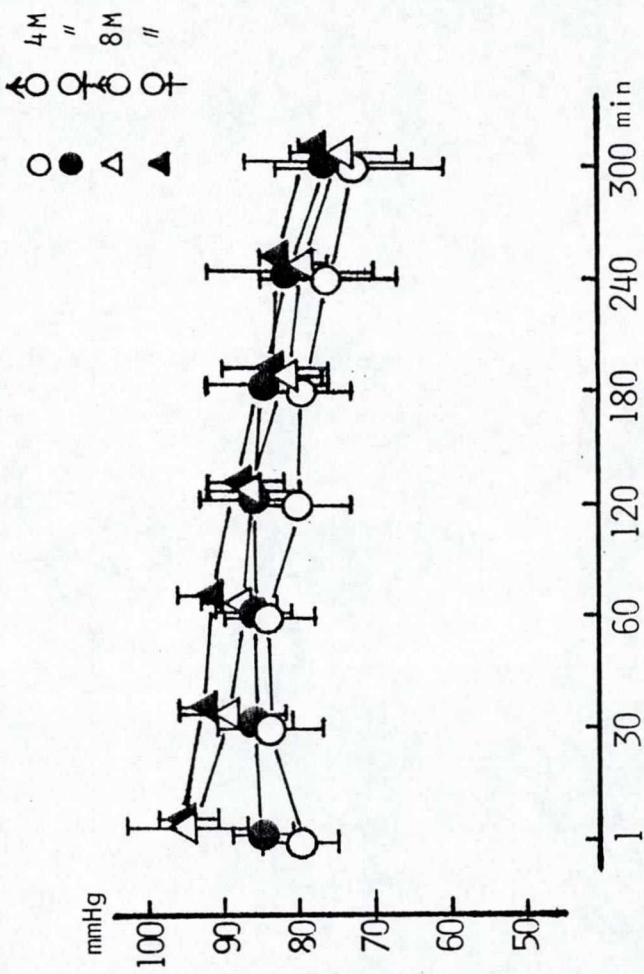


Figure 43. Effect of urethane on M.B.P. in NW-NIBS rabbits.

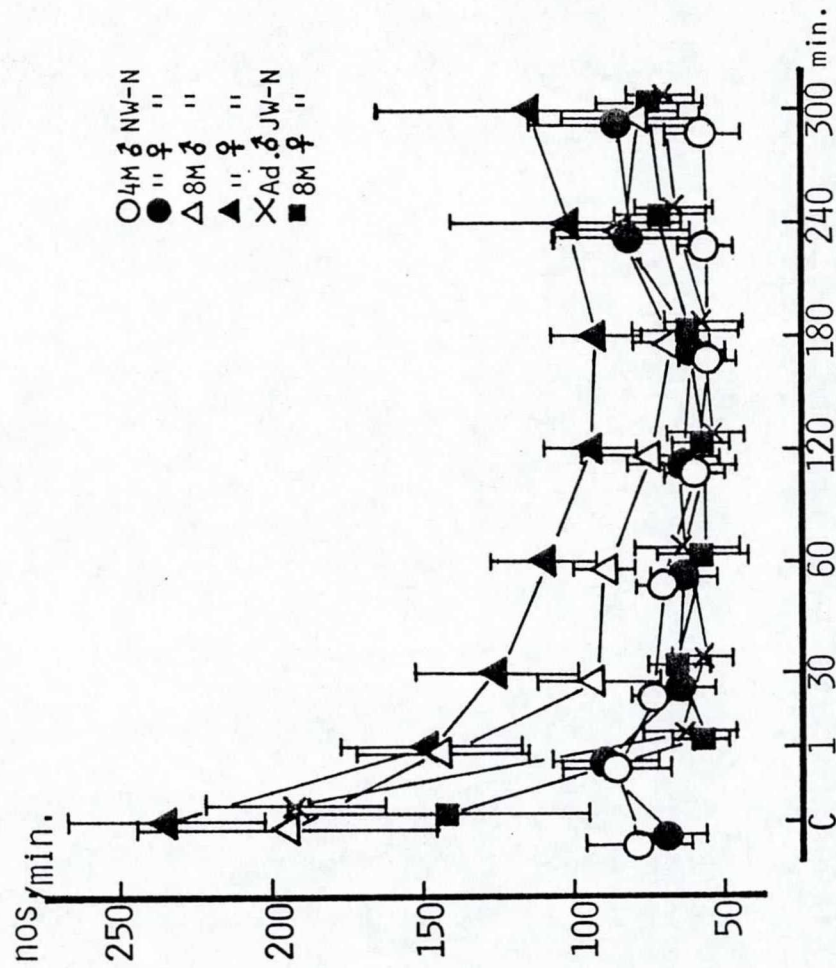


Figure 44. Effect of urethane on R.R. in NW-NIBS and JW-NIBS rabbits.

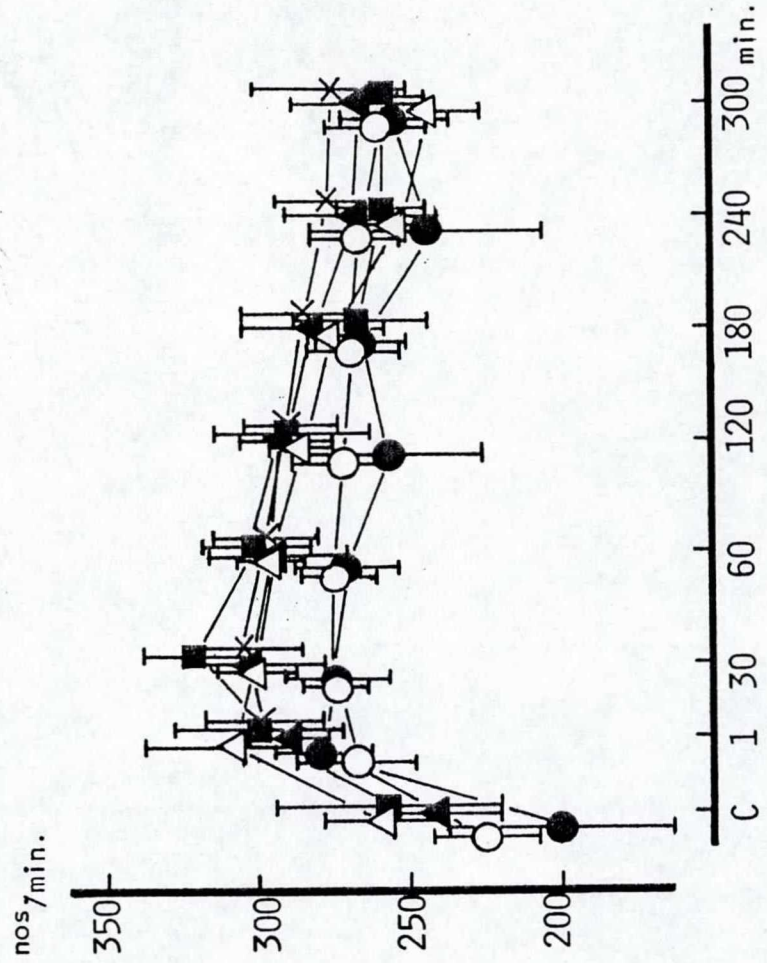


Figure 45. Effect of urethane on H.R in NW-NIBS and JW-NIBS rabbits.

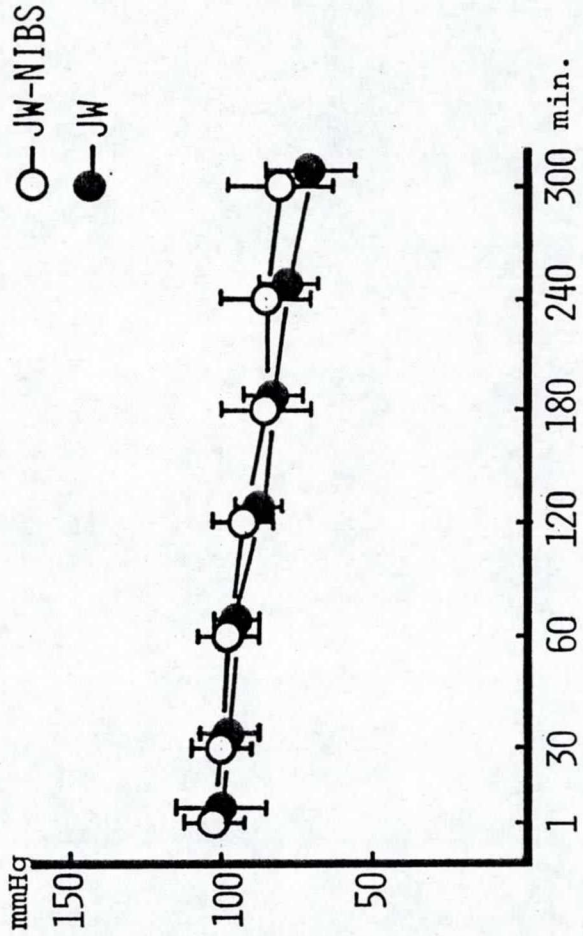


Figure 46. Effect of urethane on B.P in JW-NIBS and JW.

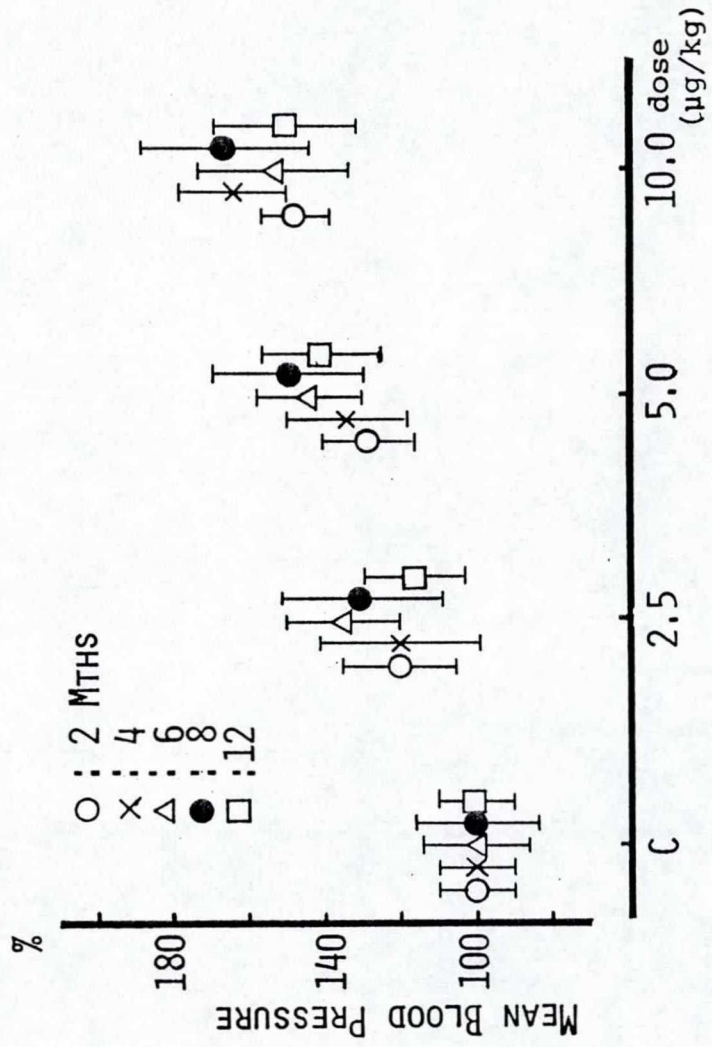


Figure 47. Effect of epinephrine on blood pressure in male JW-NIBS rabbits.

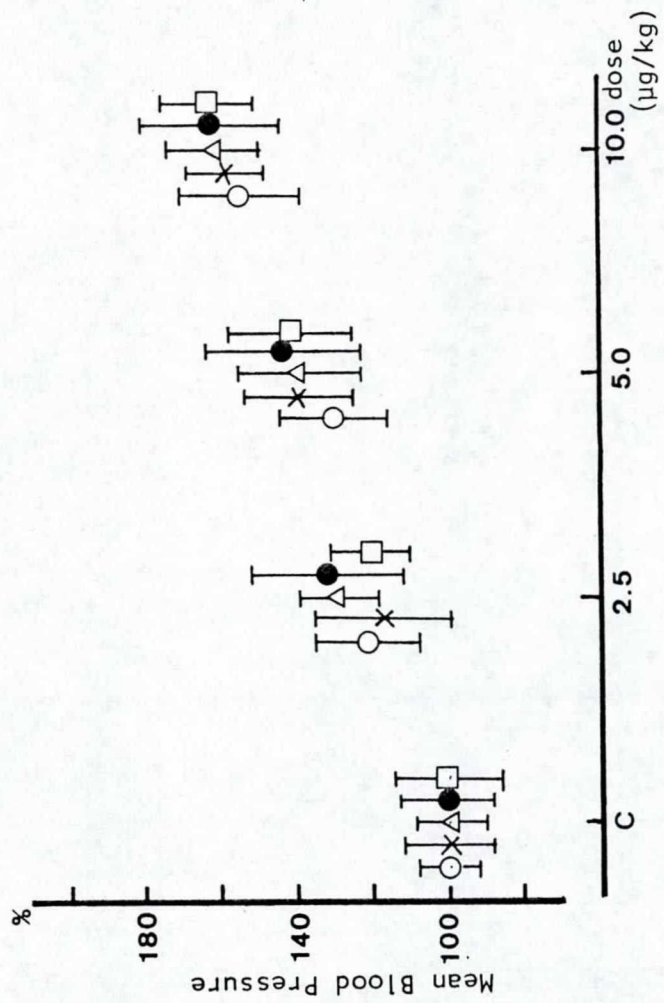


Figure 48. Effect of epinephrine on blood pressure in female JW-NIBS rabbits.

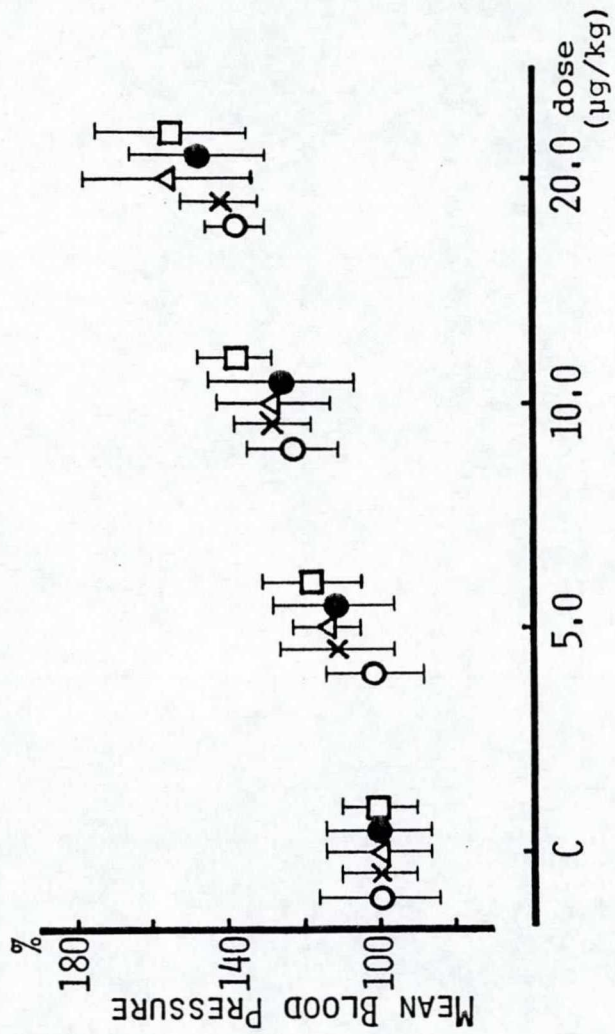


Figure 49. Effect of norepinephrine on blood pressure in male JW-NIBS rabbits.

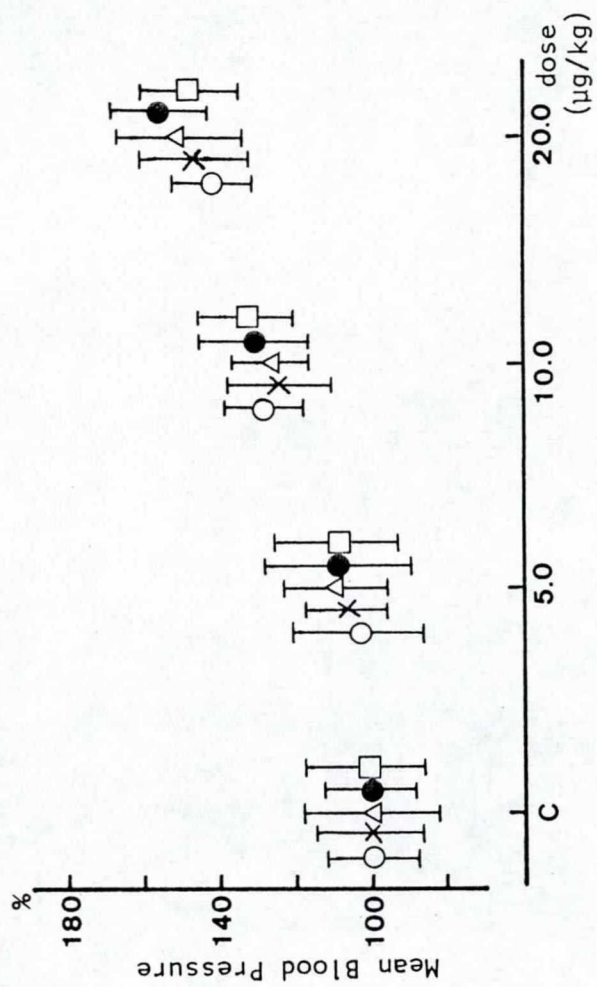


Figure 50. Effect of norepinephrine on blood pressure in female JW-NIBS rabbits.

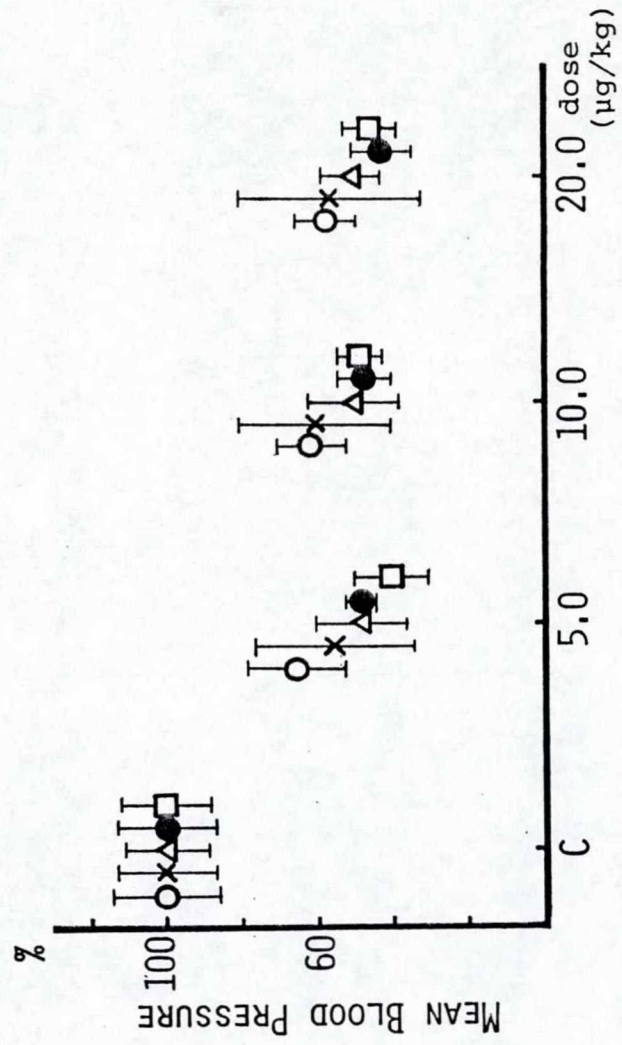


Figure 51. Effect of isoproterenol on blood pressure in male JW-NIBS rabbits.

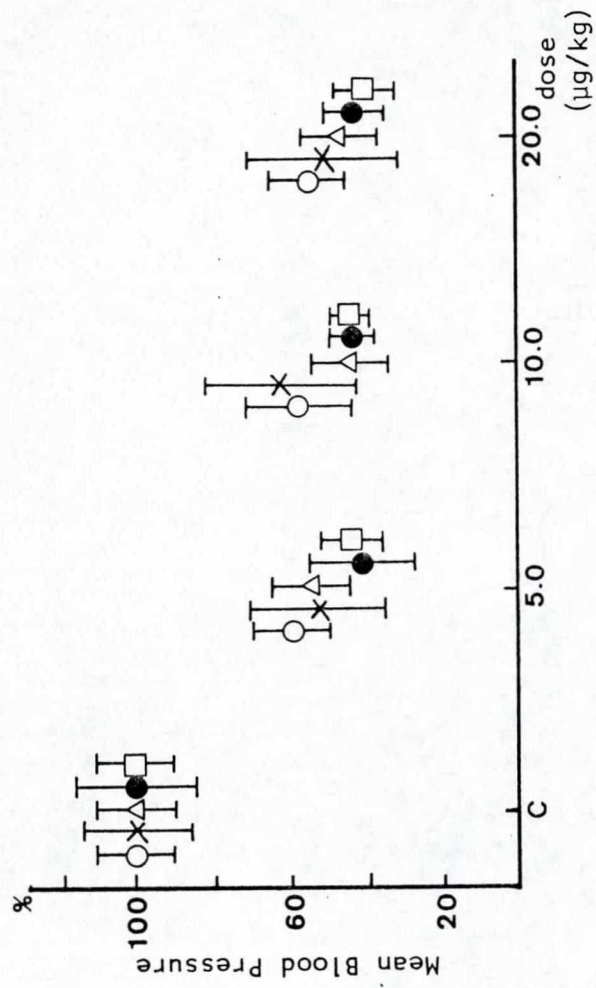


Figure 52. Effect of isoproterenol on blood pressure in female JW-NIBS rabbits.

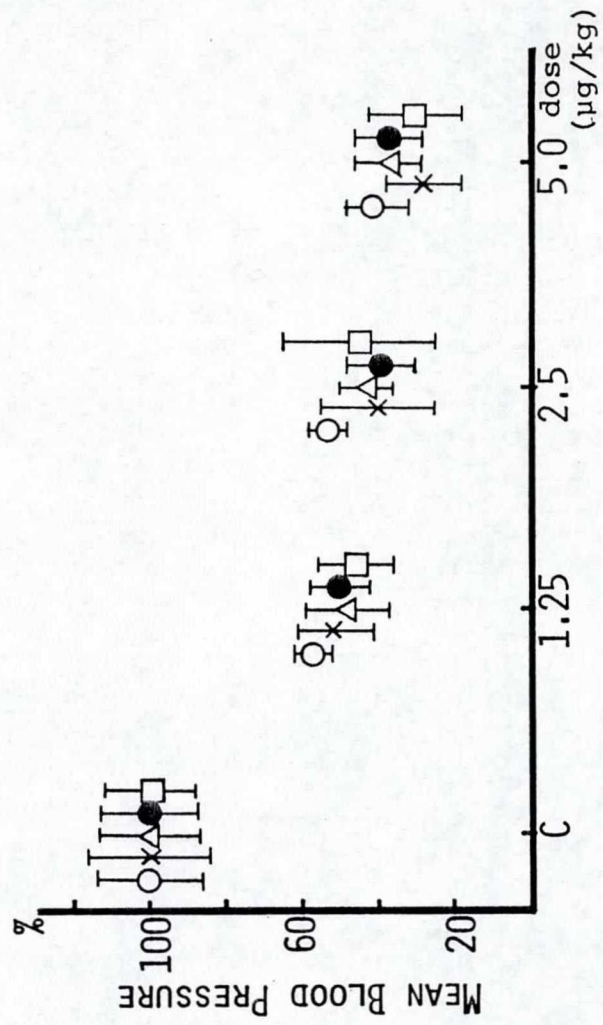


Figure 53. Effect of acetylcholine on blood pressure in male JW-NIBS rabbits.

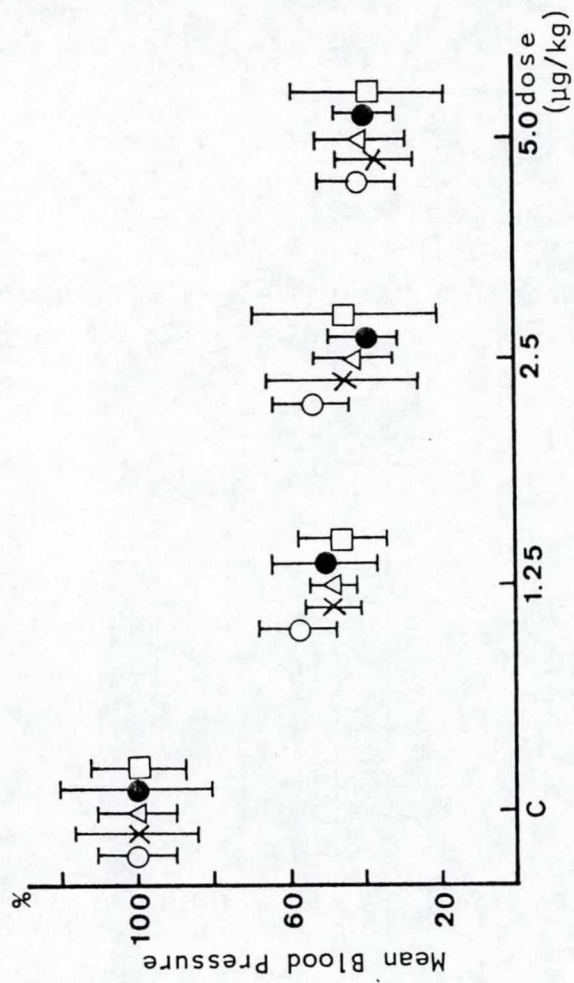


Figure 54. Effect of acetylcholine on blood pressure in female JW-NIBS rabbits.

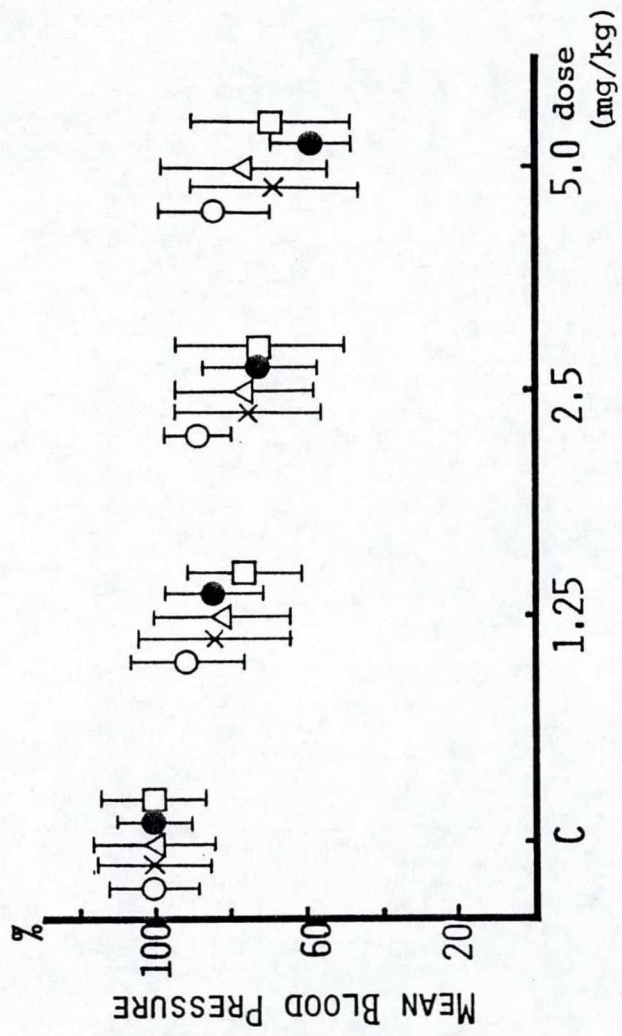


Figure 55. Effect of atropine on blood pressure in male JW-NIBS rabbits.

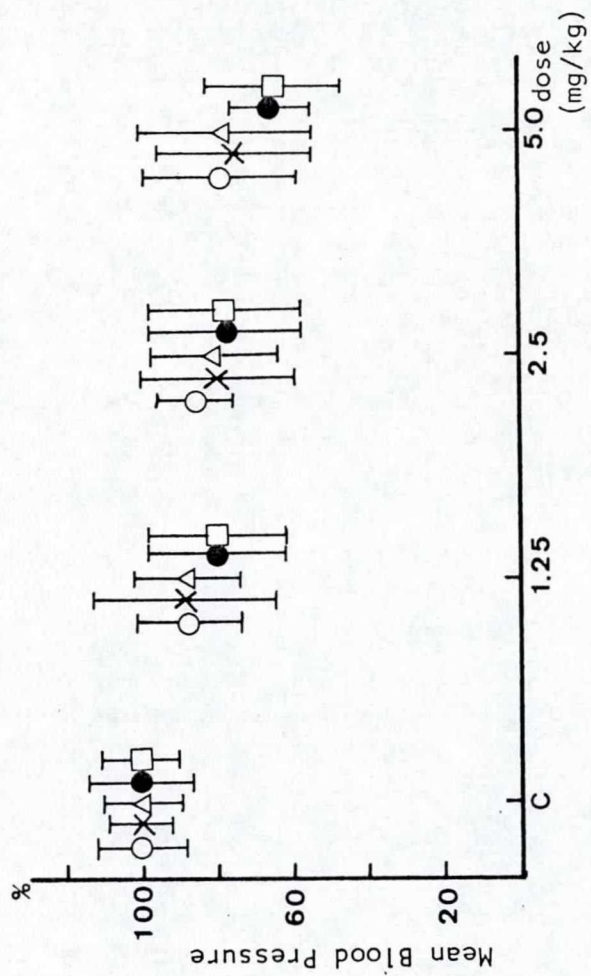


Figure 56. Effect of atropine on blood pressure in female JW-NIBS rabbits.

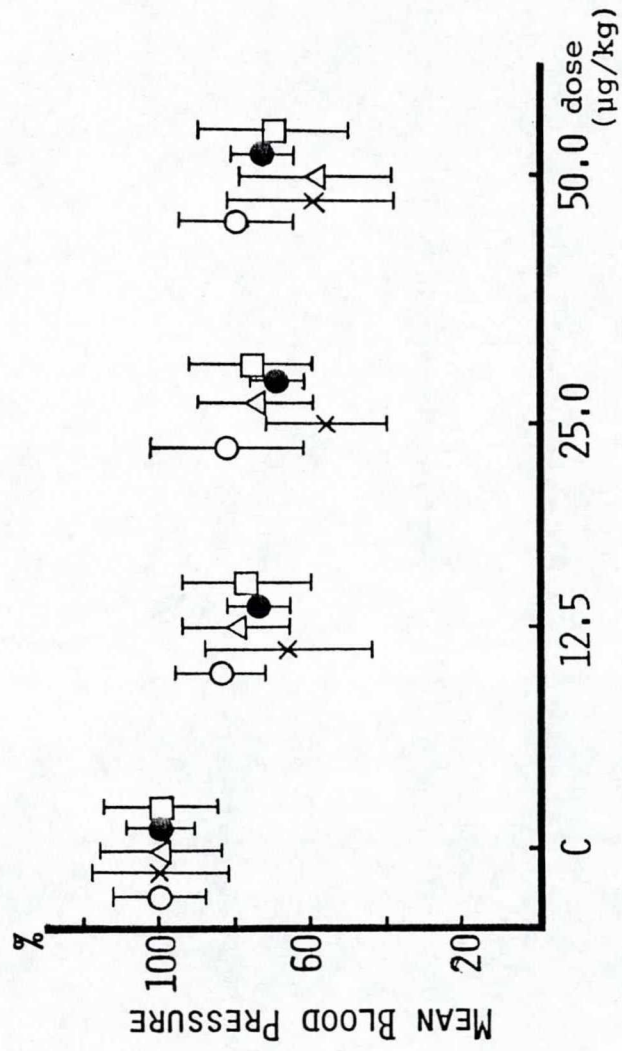


Figure 57. Effect of histamine on blood pressure in male JW-NIBS rabbits.

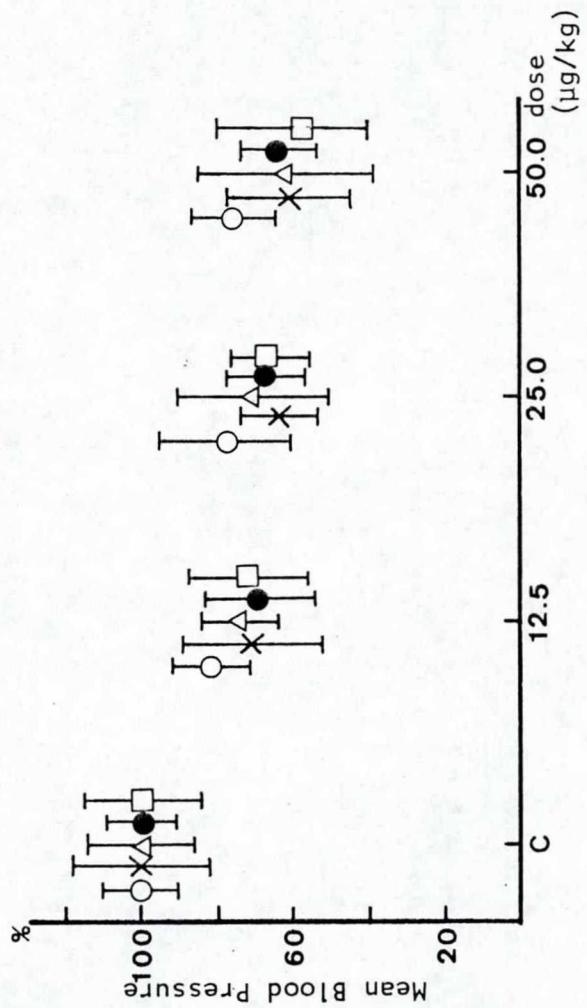


Figure 58. Effect of histamine on blood pressure in female JW-NIBS rabbits.

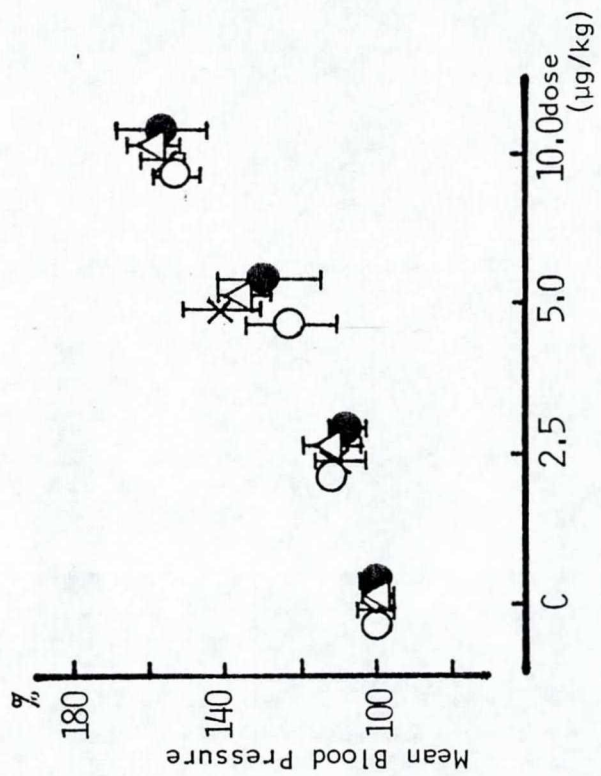


Figure 59. Effect of epinephrine on M.B.P. in male NW-N rabbits.

O: 2 months X: 4 months

Δ: 6 months ●: 8 months

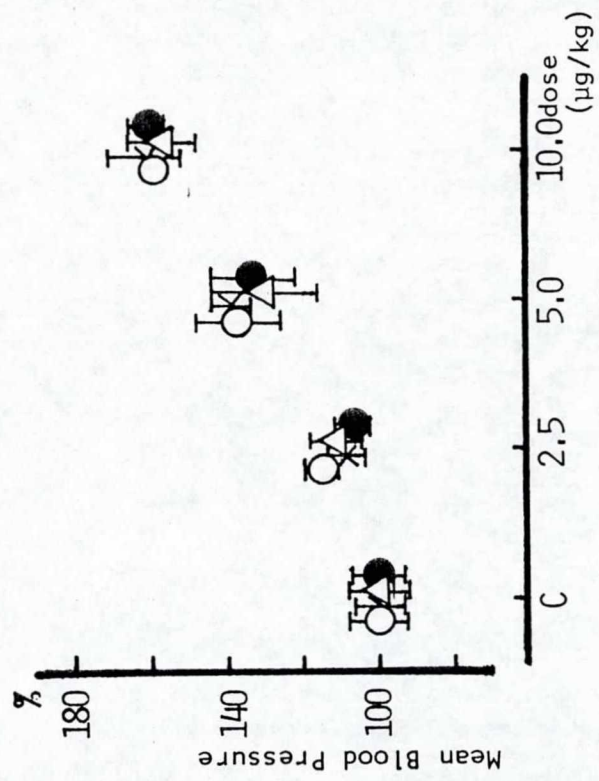


Figure 60. Effect of epinephrine on M.B.P. in female NW-N rabbits.

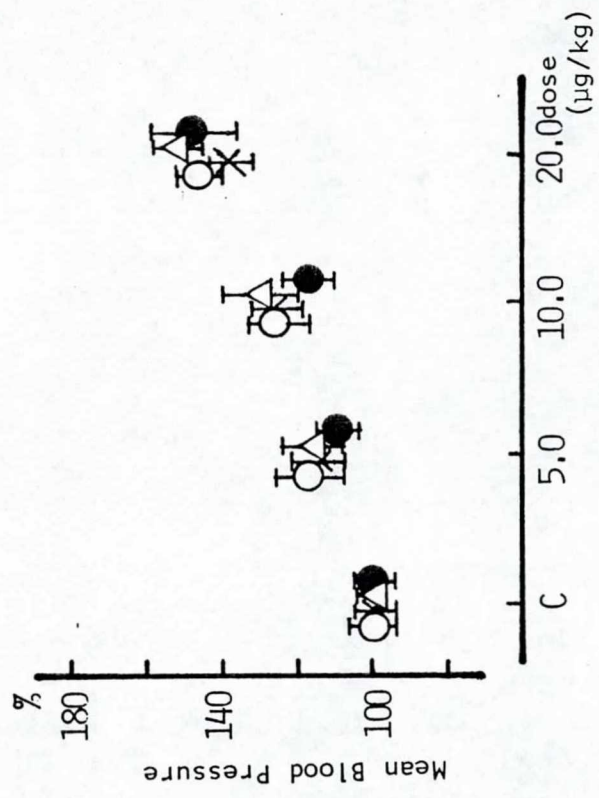


Figure 61. Effect of norepinephrine on
M.B.P. in male NW-N rabbits.

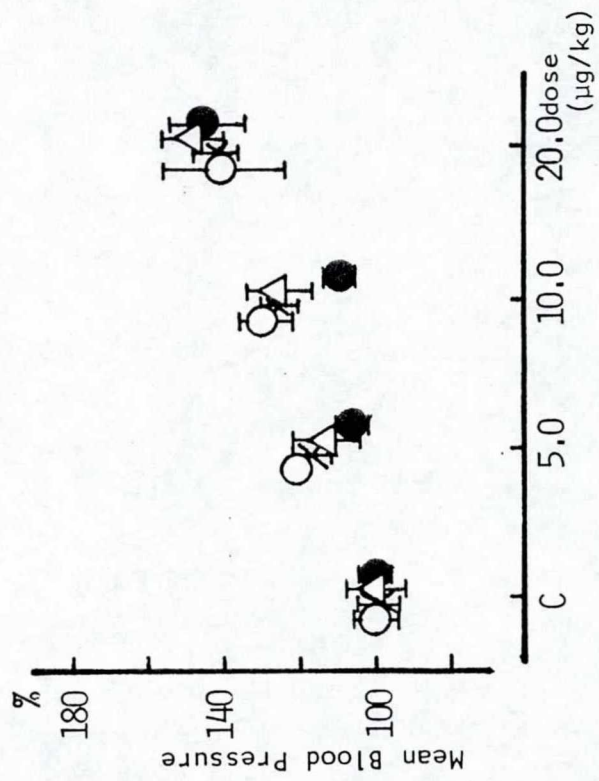


Figure 62. Effect of norepinephrine on M.B.P. in female NW-N rabbits.

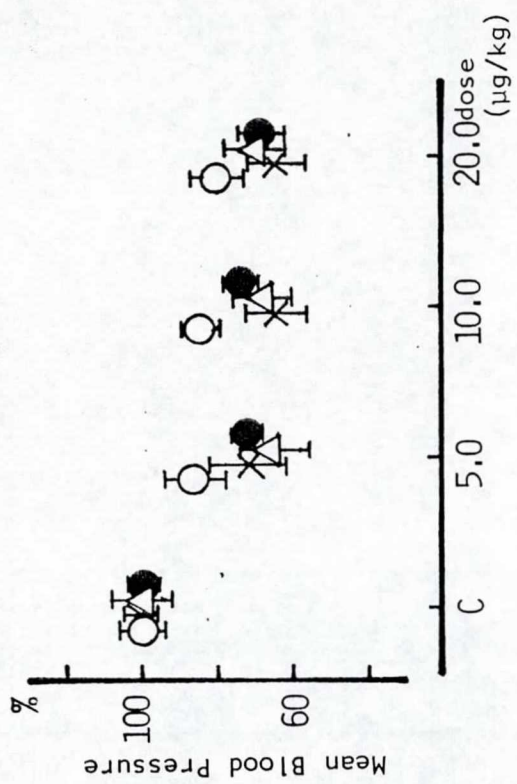


Figure 63. Effect of isoproterenol on NW-N male rabbits.

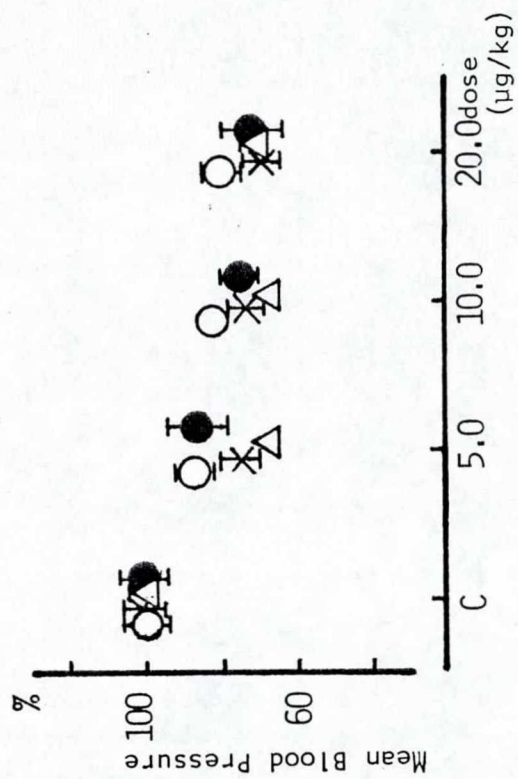


Figure 64. Effect of isoproterenol on
NW-N female rabbits.

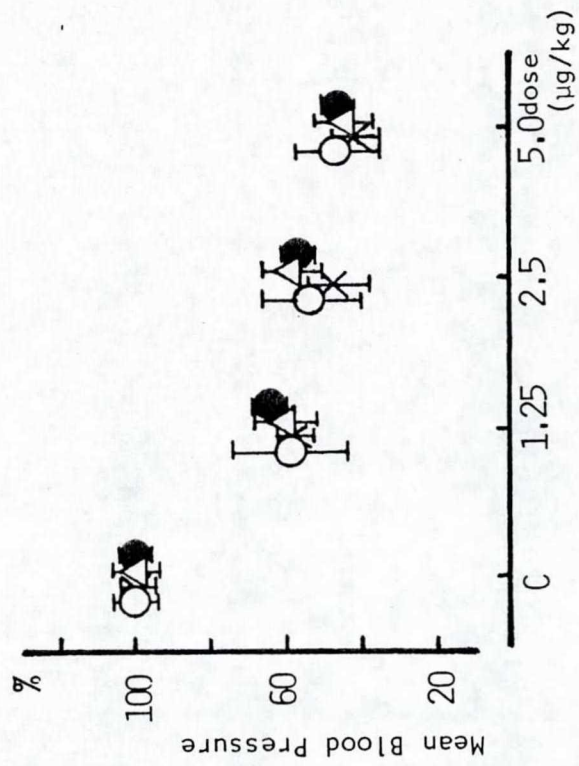


Figure 65. Effect of acetylcholine on M.B.P. in male NW-N rabbits.

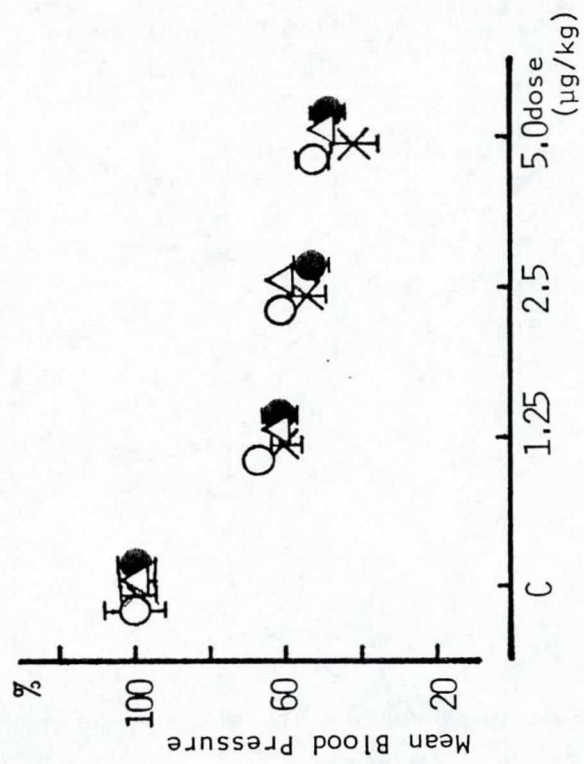


Figure 66. Effect of acetylcholine on M.B.P. in female NW-N rabbits.

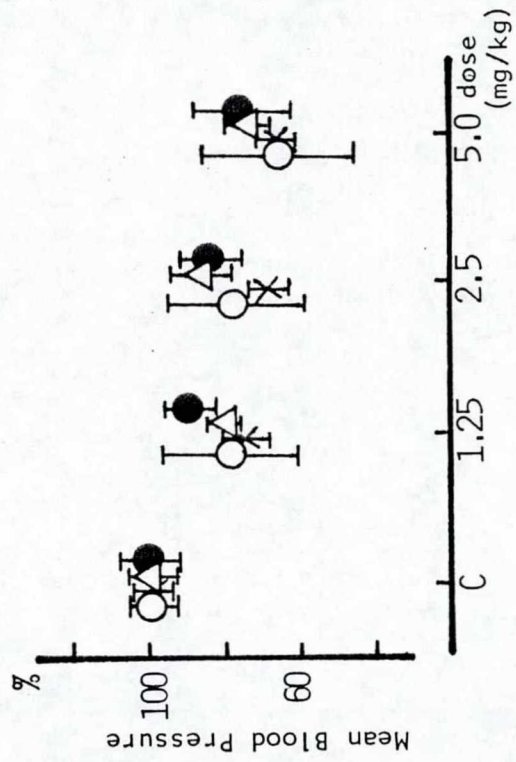


Figure 67. Effect of atropine on M.B.P. in male NW-N rabbits.

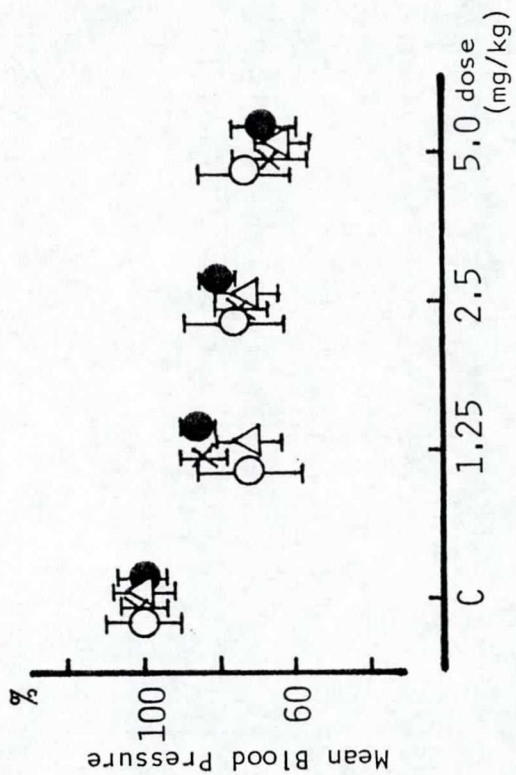


Figure 68. Effect of atropine on M.B.P. in female NW-N rabbits.

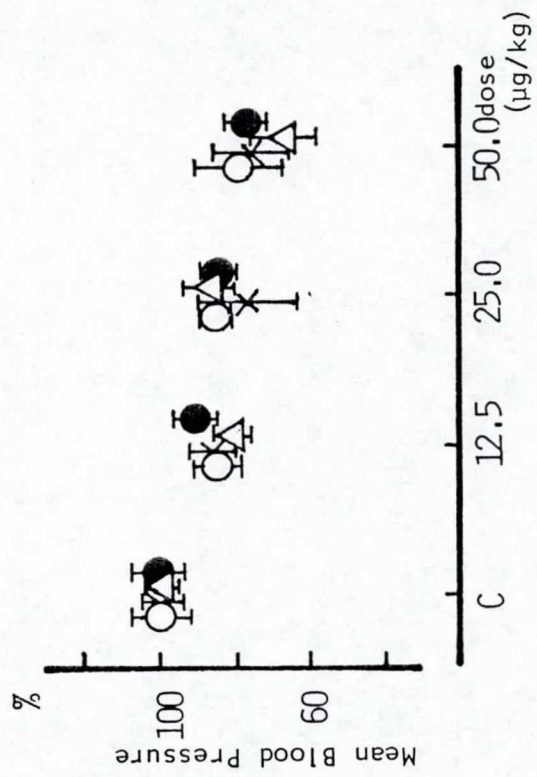


Figure 69. Effect of histamine on M.B.P. in male NW-N rabbits.

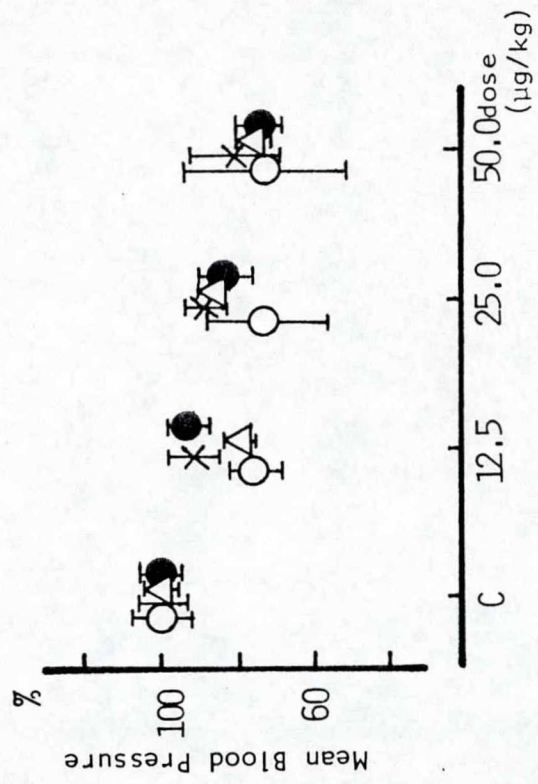
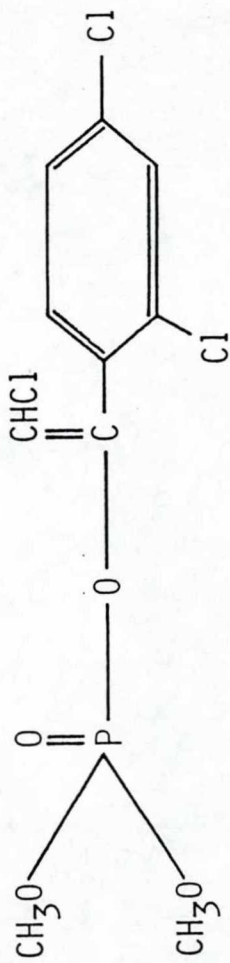


Figure 70. Effect of histamine on M.B.P. in female NW-N rabbits.



2-chloro-1-(2,4-dichlorophenyl) vinyl dimethyl phosphate

Figure 71. Structure of Rangado

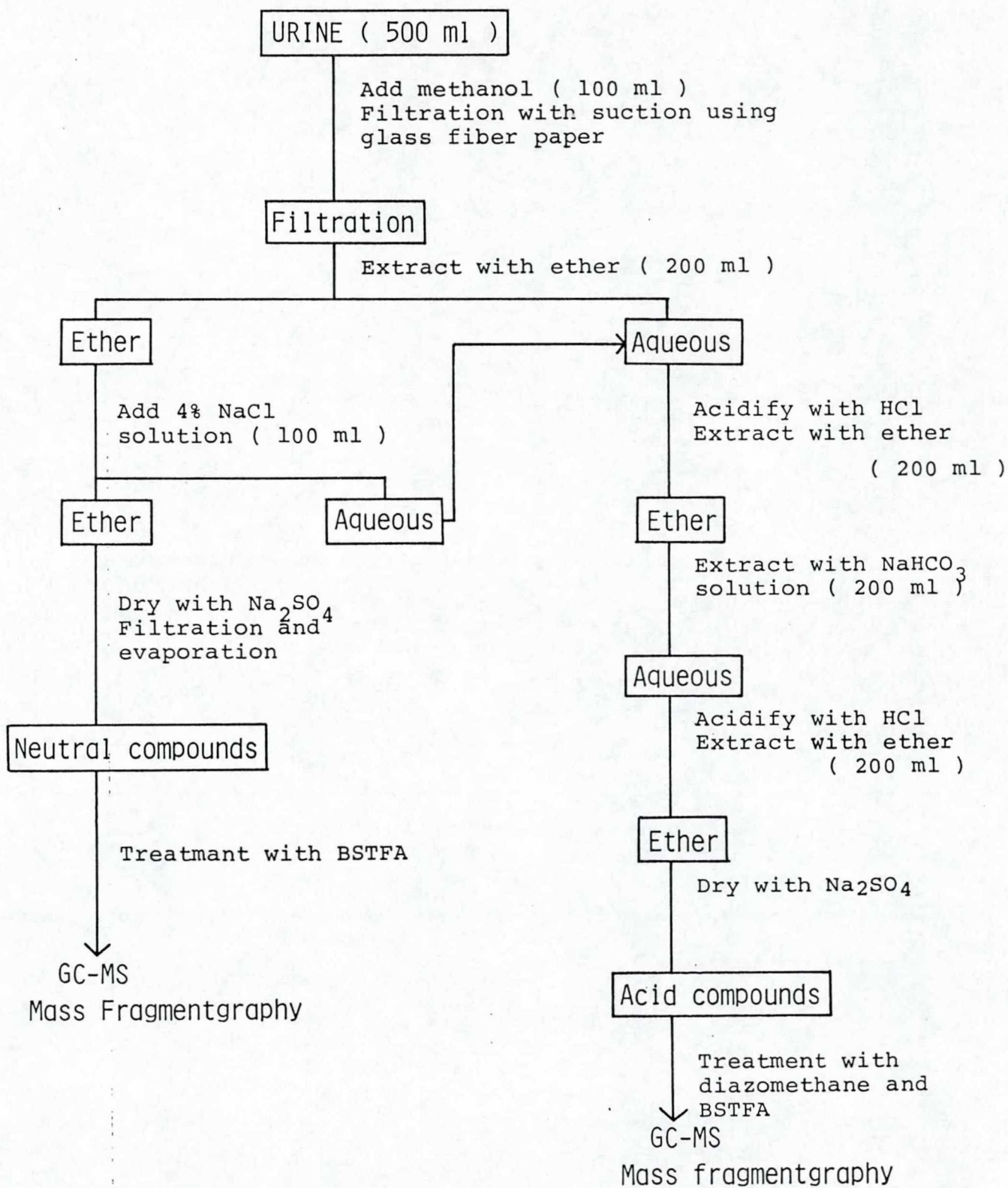


Figure 72. Extraction method of the urine

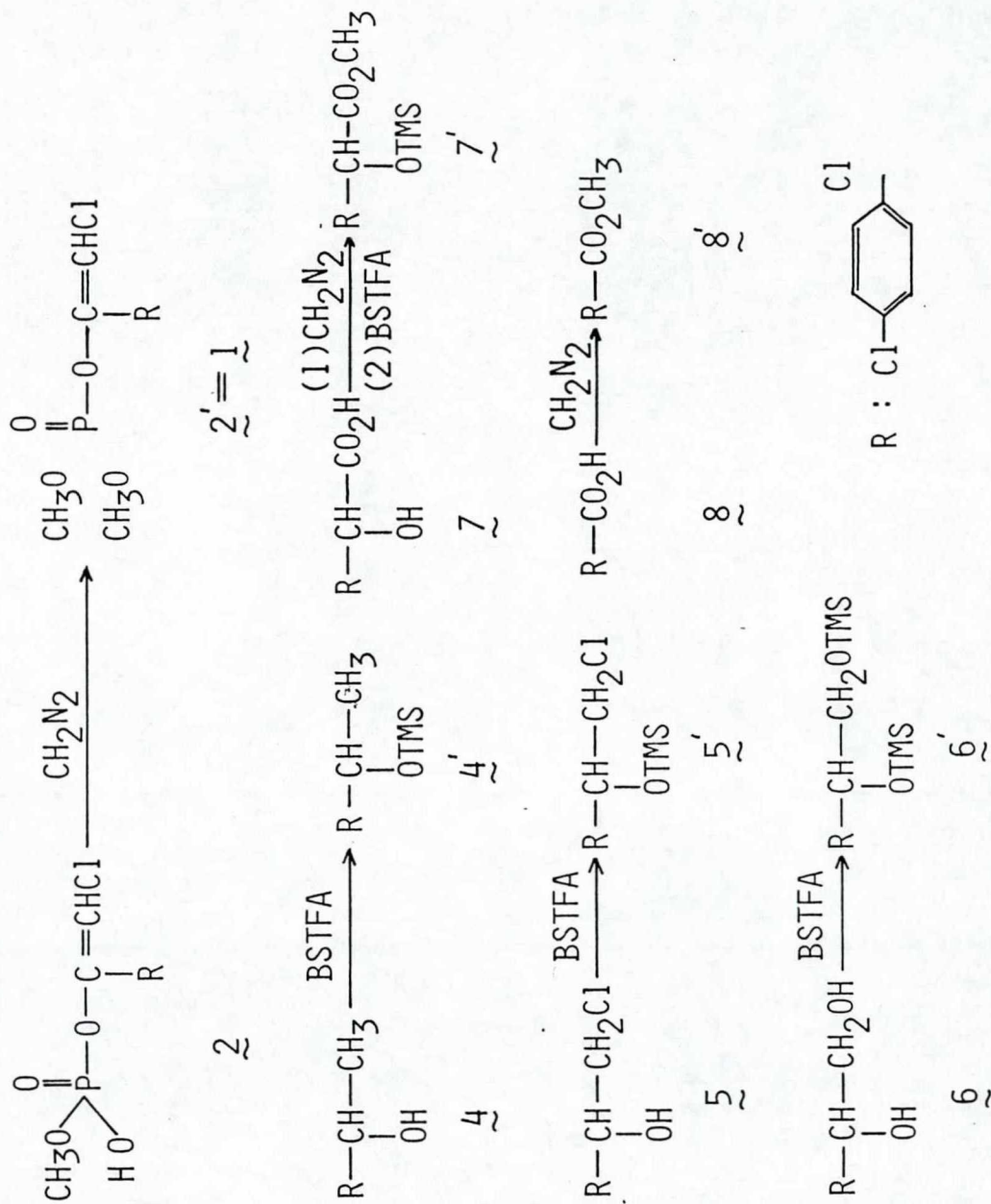


Figure 73. Silylation or methylation of involatile compounds

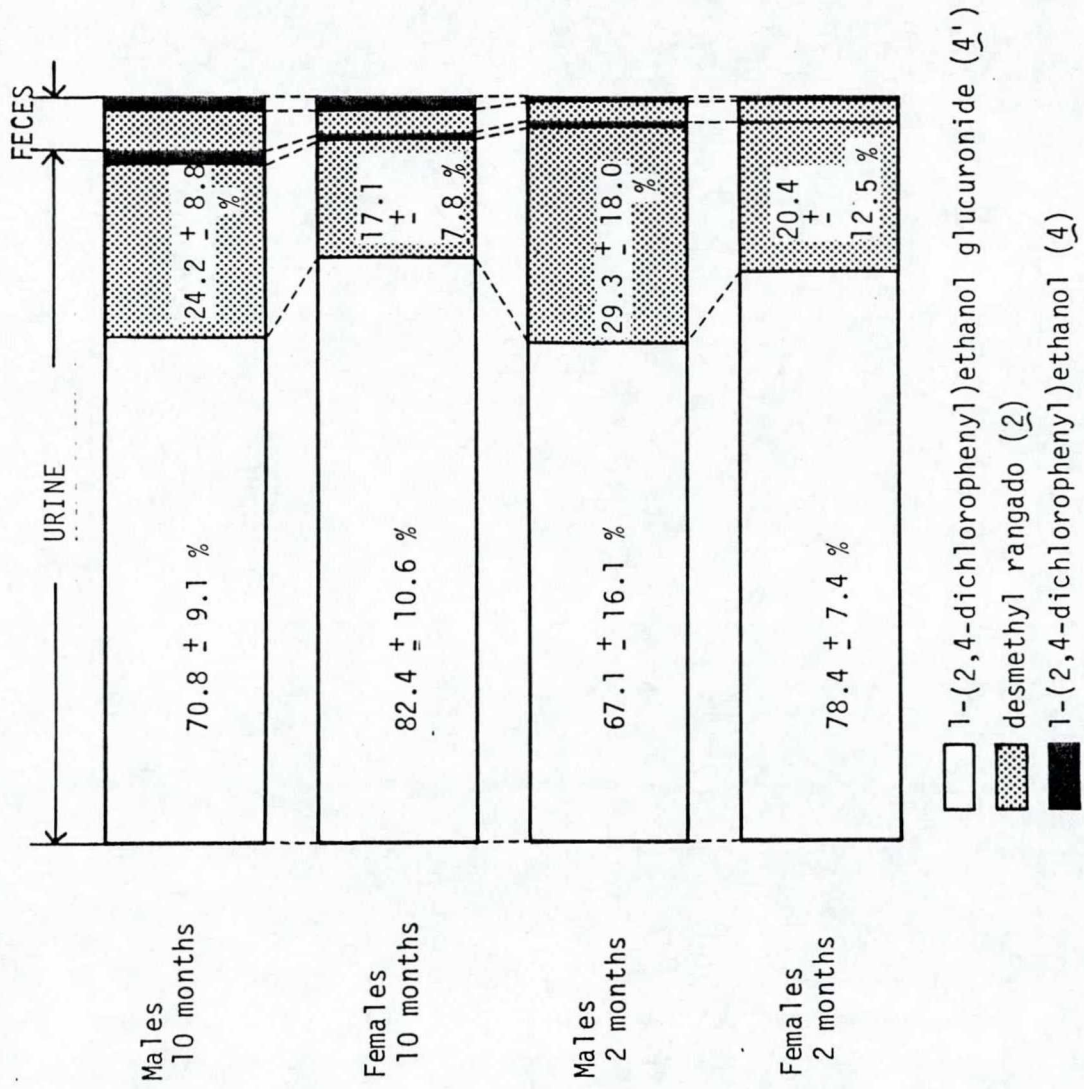


Figure 74. Portion of Rangado-derived metabolites

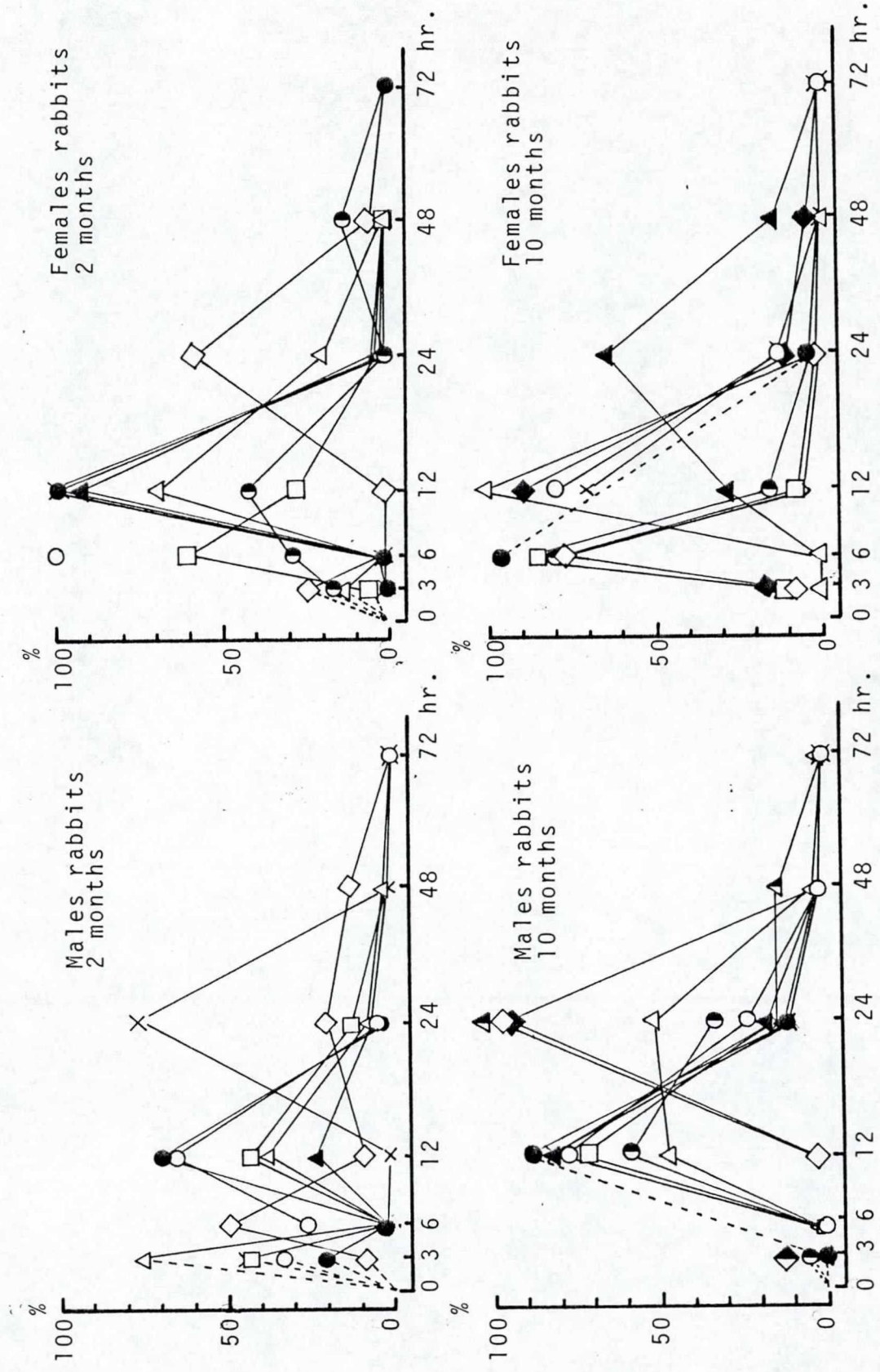


Figure 75. Percentage of total Rangado dose excreted in urine plus feces
 Each symbol represents an individual animal

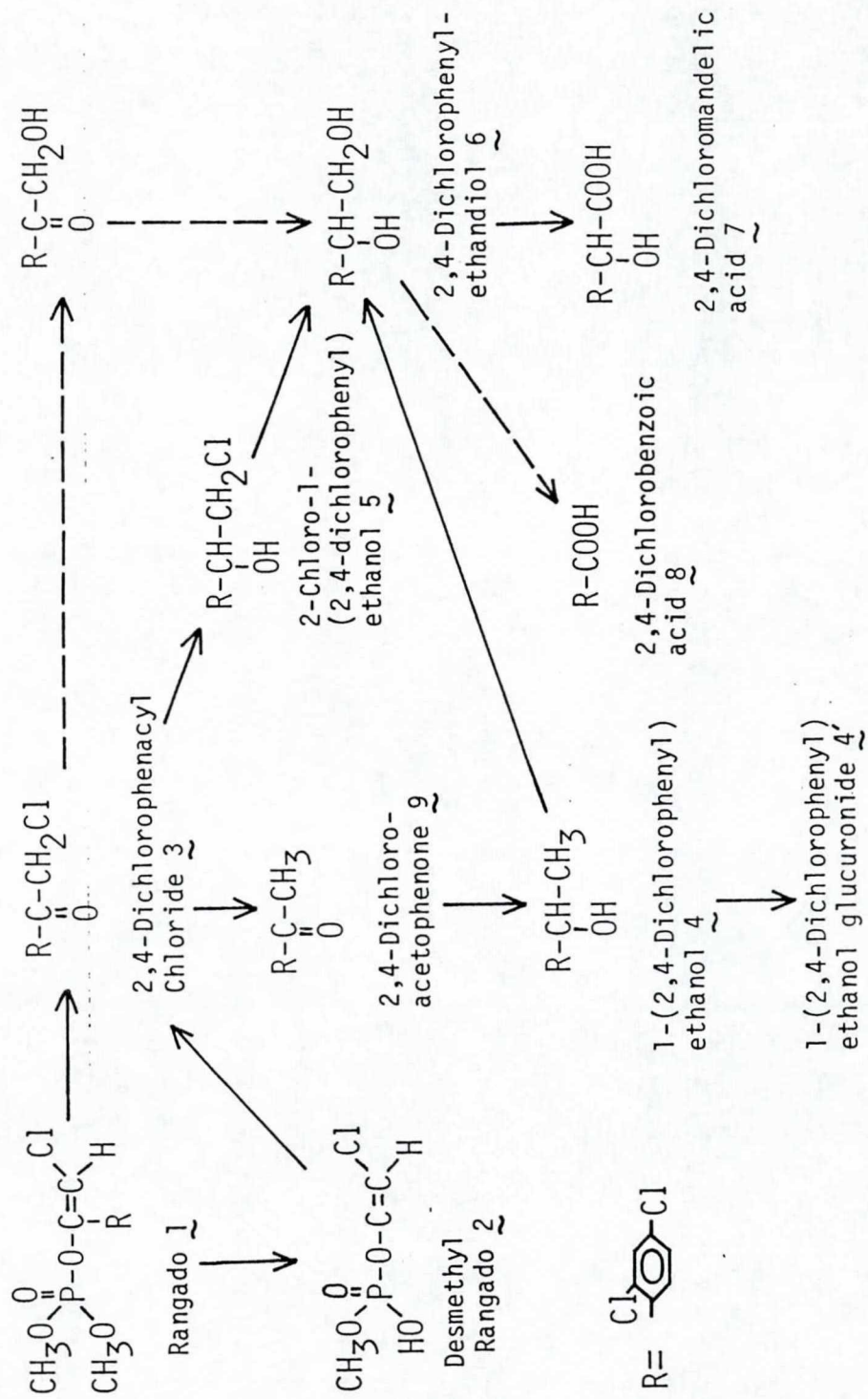


Figure 76. Metabolic pathways of Rangado (1)

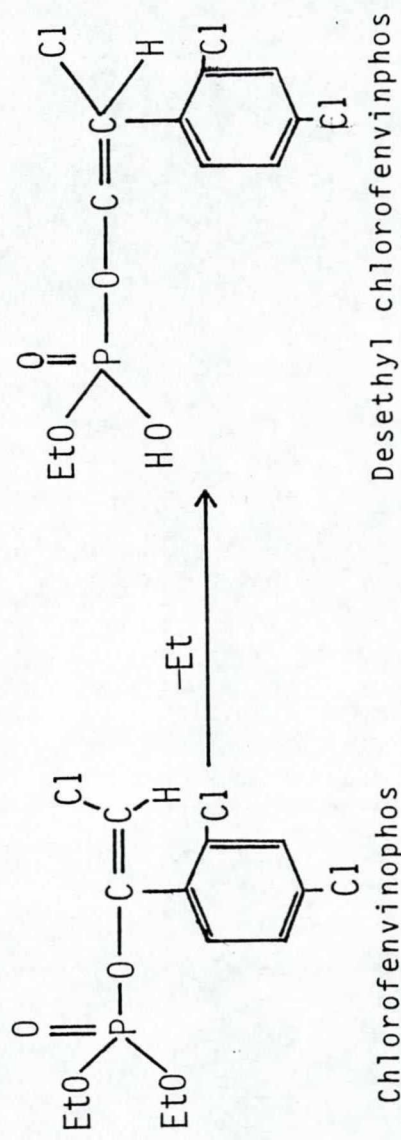
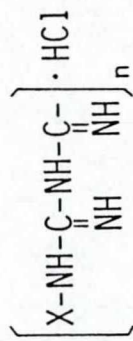


Figure 77.



X=Hexamethylene (-CH₂(CH₂)₄CH₂-)
n=2-3

Poly[biguanide-1,5-
diylhexamethylene
hydrochloride]

Figure78. Structure of PHMB

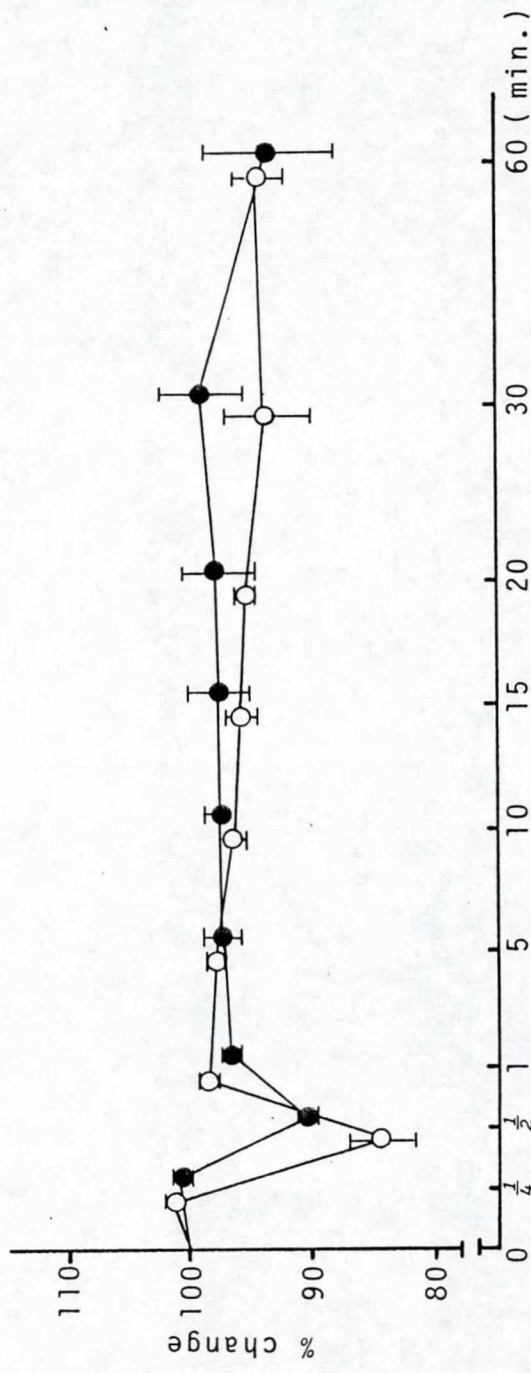


Figure 79. Effect of ATROPINE (1mg/kg, i.v.) on blood pressure in rabbits.

Results are expressed as the mean \pm S.E.

- : Atropinesterase-positive rabbits.
- : Atropinesterase-negative rabbits.

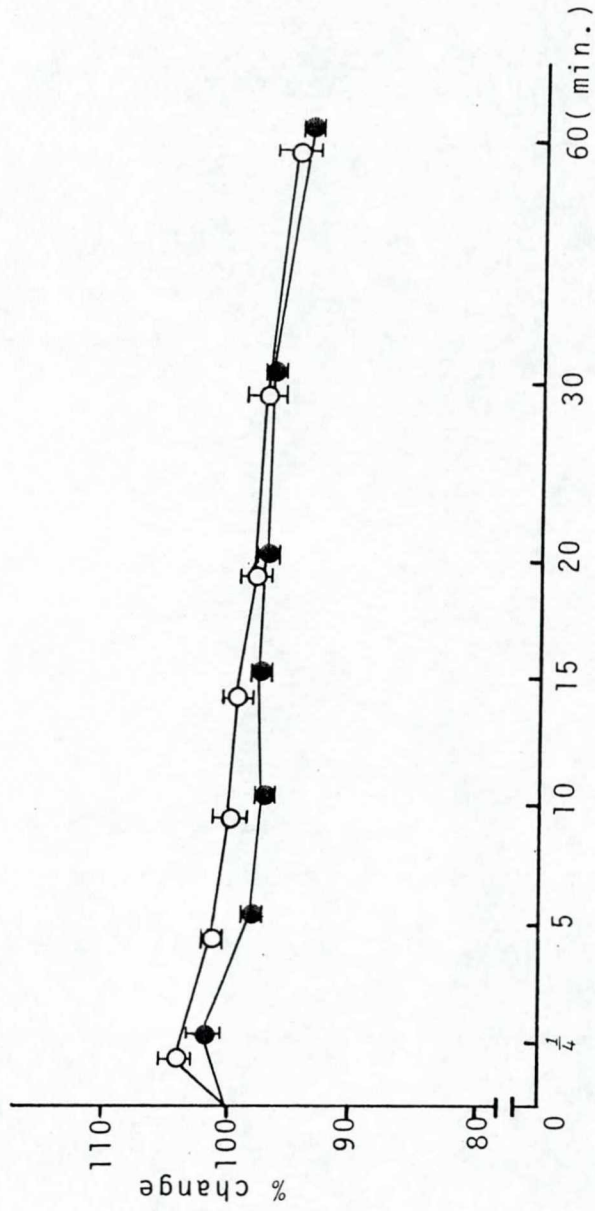


Figure 80. Effect of ATROPINE (1mg/kg, i.v.) on heart rate in rabbits. Results are expressed as the mean \pm S.E.

- : Atropinesterase-positive rabbits.
- : Atropinesterase-negative rabbits.

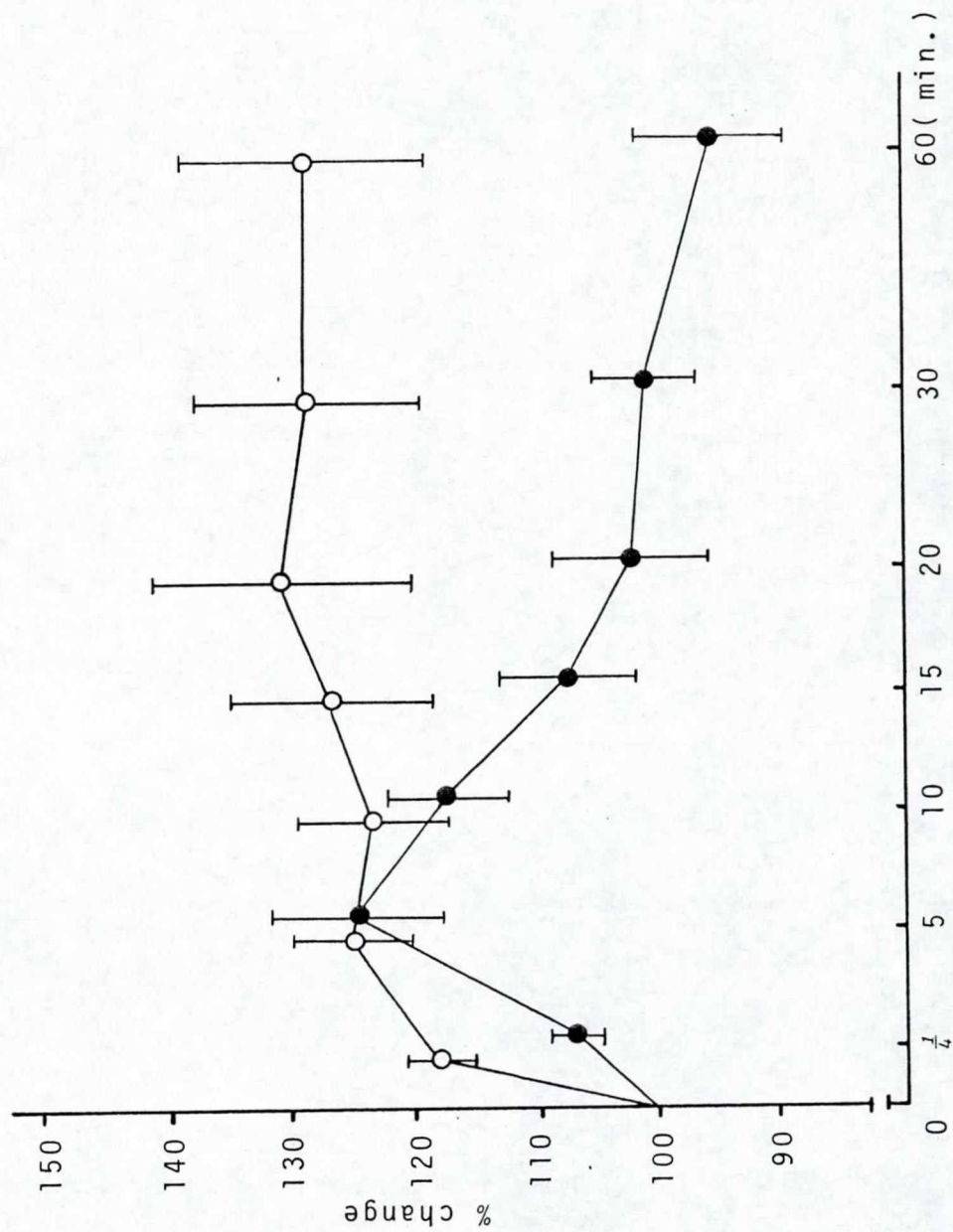


Figure 81. Effect of ATROPINE (1mg/kg, i.v.) on respiratory rate in rabbits. Results are expressed as the mean \pm S.E.
 ●: Atropinesterase-positive rabbits.
 ○: Atropinesterase-negative rabbits.

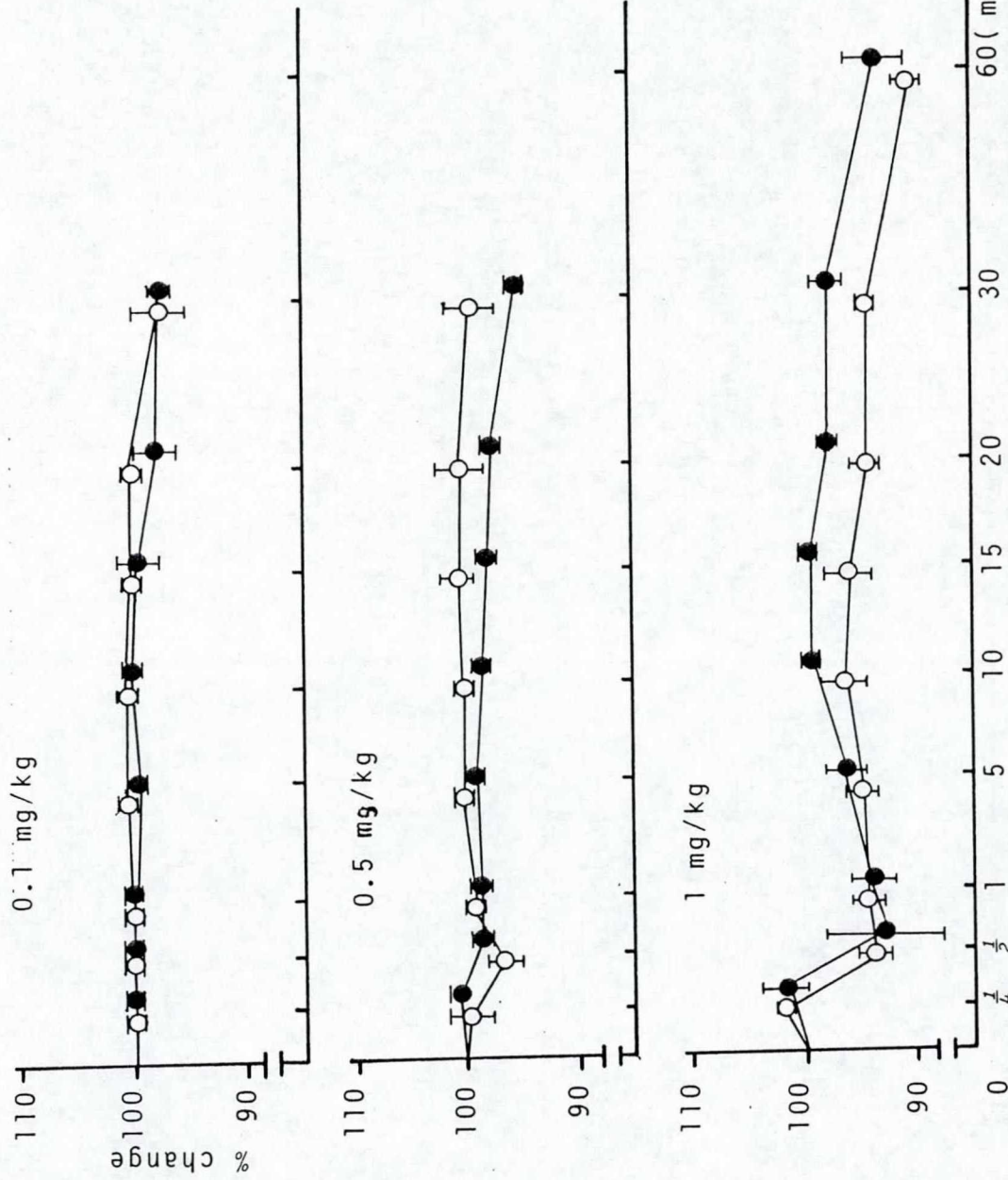


Figure 82-a. Effects of PHMB (0.1-1mg/kg, i.v.) on blood pressure in rabbits. Result are expressed as the mean \pm S.E.

●: Atropinesterase-positive rabbits.
 ○: Atropinesterase-negative rabbits.

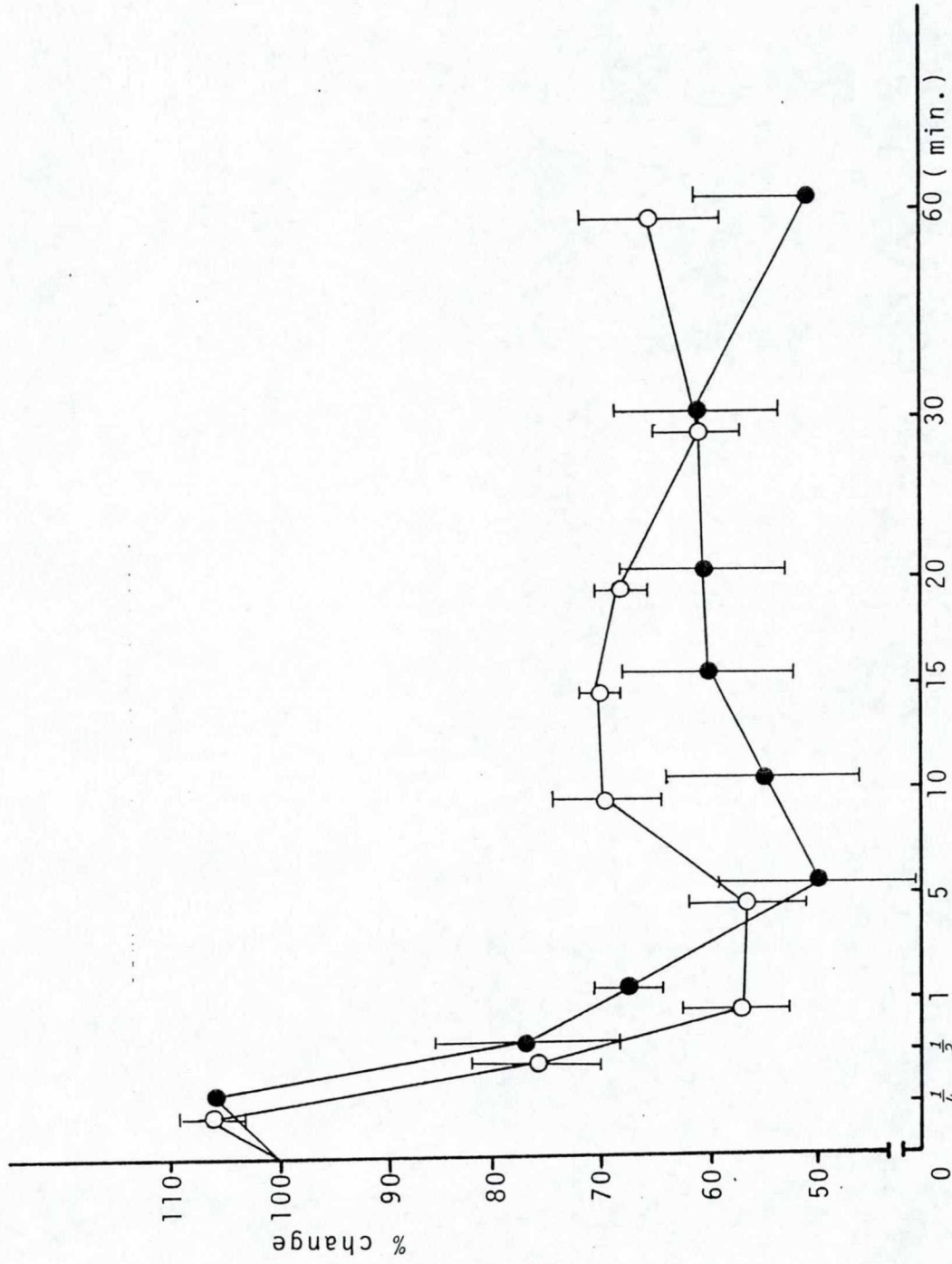


Figure 82-b. Effect of PHMB (5mg/kg, i.v.) on blood pressure in rabbits. Result are expressed as the mean \pm S.E.
 ●: Atropinesterase-positive rabbits.
 ○: Atropinesterase-negative rabbits.

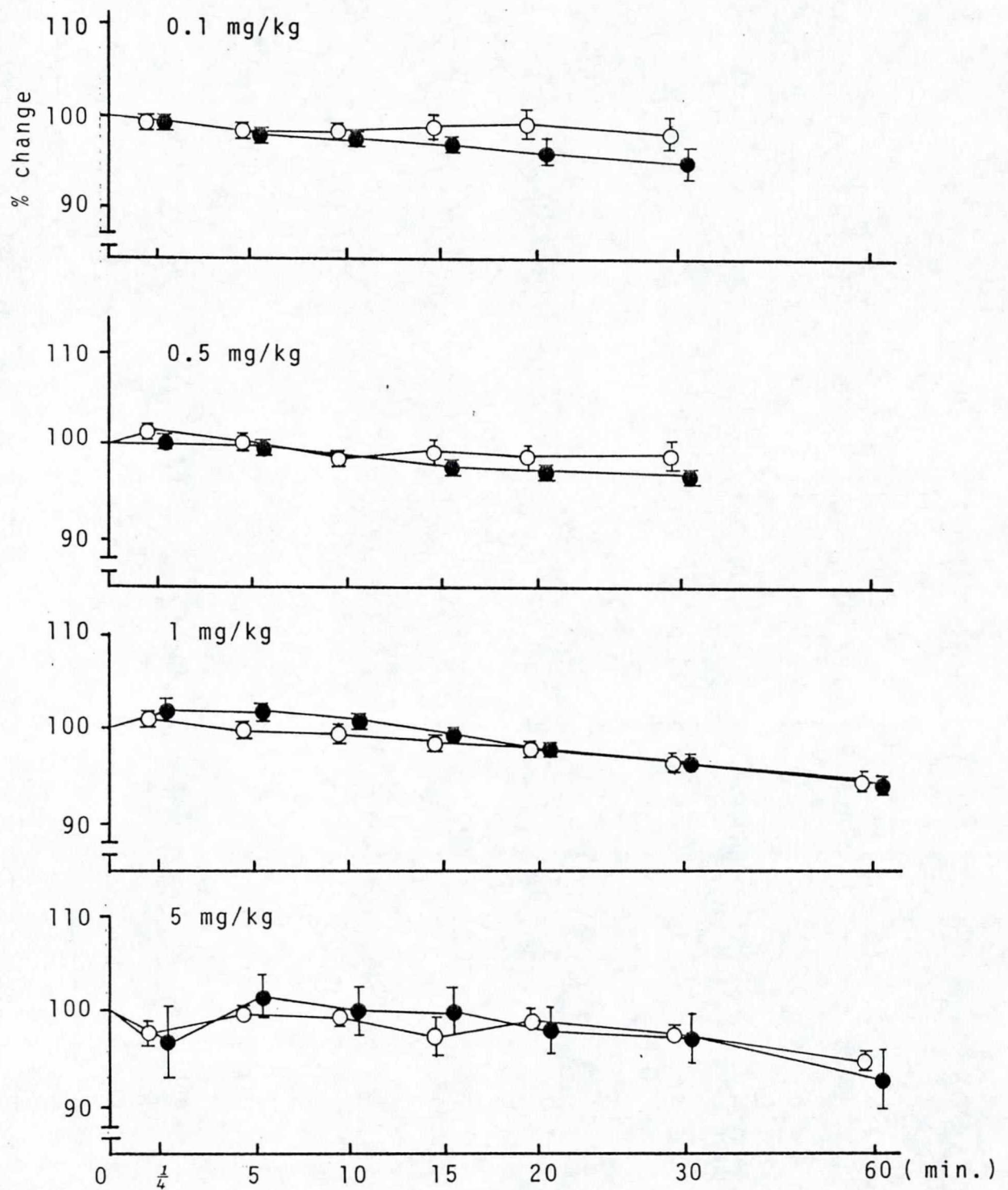


Figure 83. Effect of PHMB (0.1-0.5mg. i.v.) on heart rate in rabbits. Results are expressed as the mean \pm S.E.
 ●: Atropinesterase-positive rabbits.
 ○: Atropinesterase-negative rabbits.

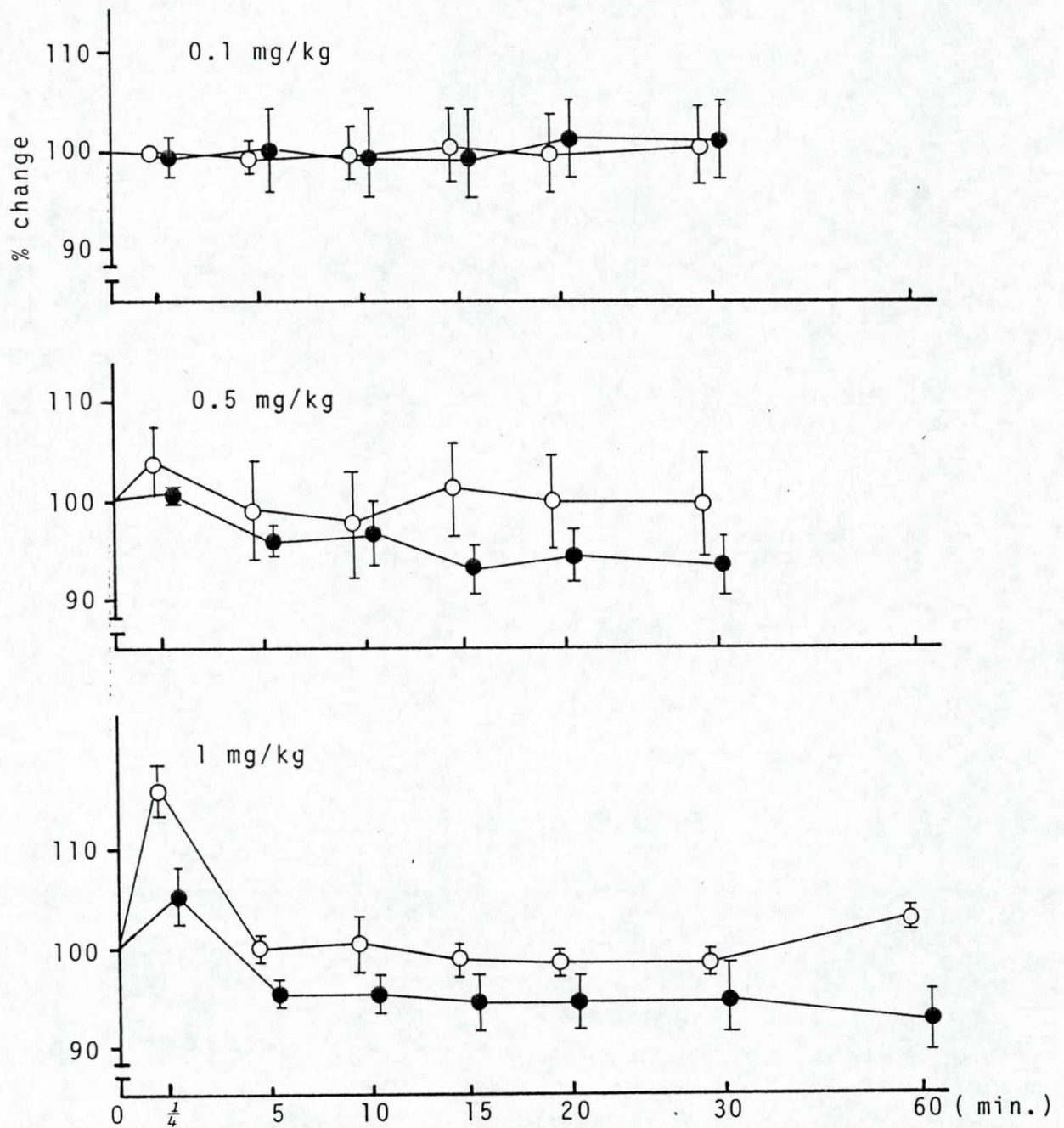


Figure 84-a. Effects of PHMB (0.1-1mg/kg, i.v.) on respiratory rate in rabbits. Results are expressed as the mean \pm S.E.
 ●: Atropinesterase-positive rabbits.
 ○: Atropinesterase-negative rabbits.

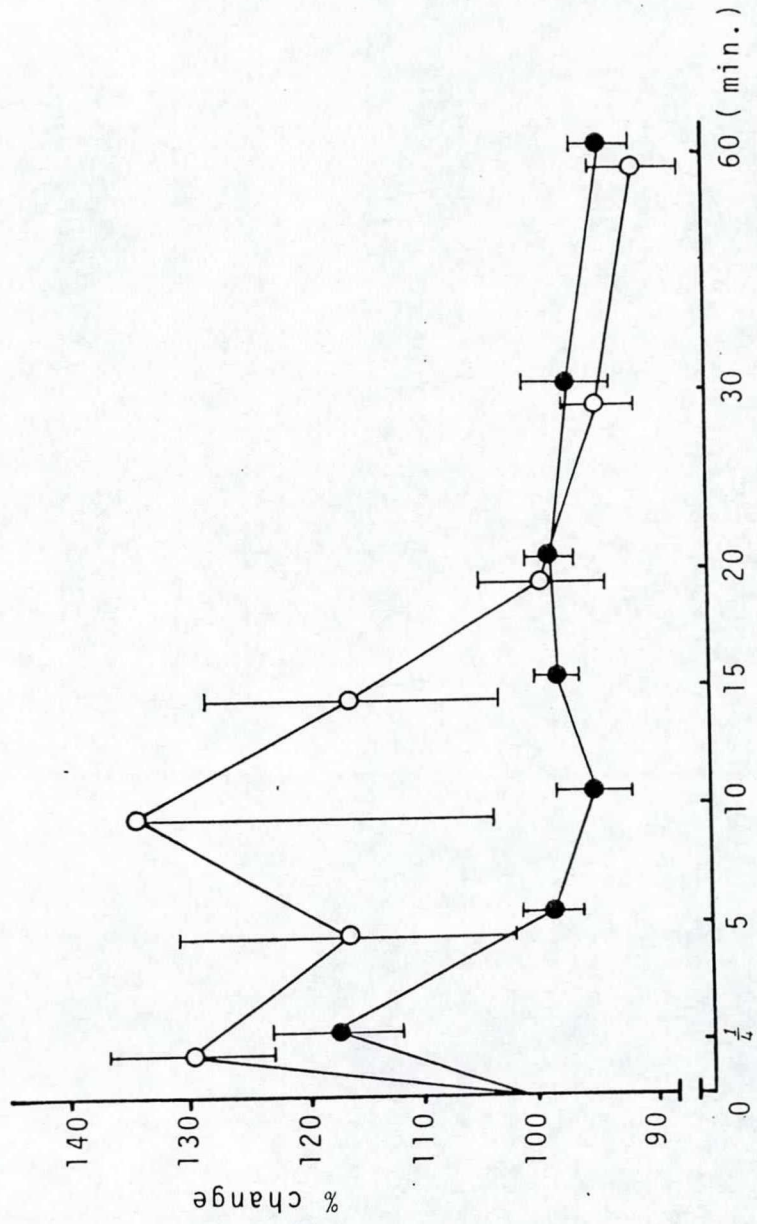


Figure 84-b.
 Effect of PHMB (5mg/kg, i.v.) on respiratory rate in rabbits. Results are expressed as the mean \pm S.E.
 ●: Atropinesterase-positive rabbits.
 ○: Atropinesterase-negative rabbits.

Table 1. Apparatus Used in the Experiments

Apparatus	Manufacture (Type)
Thermister Thermometer	Sibaura Densi (MGA 3-219)
Biophysiograph	NEC San-ei Sokki (System 180)
Bioelectric Amplifier	(Model 1205 B)
Strain Pressure Amplifier	(Model 1206)
Control Unit	(Model 5112)
Ink-writing Oscillograph	NEC San-ei Sokki (Rectigraph 8 S)
Blood Pressure Transducer	(MPU-0, 5-290)
Electrocardiograph	Fukuda Denshi (FD-14)

Table 2. Blood Pressure of Inbred Strain JW-NIBS Rabbits

Age (month)	<u>Mean Blood Pressure</u>		<u>Systolic Blood Pressure</u>		<u>Diastolic Blood Pressure</u>	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
2	99 ± 8.9	111 ± 10.4	136 ± 12.5	158 ± 17.3	80 ± 11.0	95 ± 12.6
4	97 ± 9.9	102 ± 6.3	130 ± 12.6	150 ± 10.6	81 ± 8.9	86 ± 8.8
6	107 ± 14.0	101 ± 7.0	145 ± 19.0	149 ± 10.6	87 ± 10.0	86 ± 8.2
8	92 ± 12.7	98 ± 8.8	121 ± 13.0	135 ± 15.2	77 ± 11.1	80 ± 7.2
12	107 ± 10.4	107 ± 9.9	147 ± 17.3	137 ± 9.6	88 ± 7.9	91 ± 6.9
58-83	97 ± 17.3		128 ± 21.5		79 ± 18.1	
32-83		104 ± 16.3		145 ± 20.2		83 ± 14.5

$\bar{X} \pm SD$ (mmHg)

Table 3. Blood Pressure of Inbred Strain NW-NIBS Rabbits

Age (month)	Mean Blood Pressure		Systolic Blood Pressure		Diastolic Blood Pressure	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
2	81 ± 1.3	80 ± 1.5	106 ± 2.6	107 ± 3.0	70 ± 1.1	71 ± 1.5
4	80 ± 1.7	85 ± 1.0	101 ± 2.3	106 ± 2.0	71 ± 1.4	74 ± 1.7
6	90 ± 2.2	88 ± 2.3	127 ± 3.0	124 ± 5.0	77 ± 2.3	77 ± 2.0
8	95 ± 2.5	96 ± 1.3	132 ± 3.6	136 ± 2.5	79 ± 2.2	79 ± 1.8

$\bar{X} \pm SE(\text{mmHg})$

Table 4. B.W, H.R, R.R and B.T of Inbred Strain NW-NIBS Rabbits

Age (month)	Body weight (g)		Heart Rate (nos./min.)		Respiratory Rate (nos./min.)		Body Temperature (°C)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
2	1128±44.3	1138±50.6	260±15.6	260± 8.5	100±11.8	140±35.0	39.5±0.07	39.8±0.12
4	1800±48.1	1836±60.3	243±18.0	239±21.0	178±18.6	169±16.7	39.6±0.18	39.7±0.16
6	2480±74.3	2510±71.3	256±13.6	242±12.9	186±17.3	213±12.4	39.7±0.14	39.8±0.12
8	2548±37.8	2623±62.0	258± 9.2	240±10.2	195±24.0	235±15.4	39.6±0.13	39.7±0.09

$\bar{X} \pm SE$

Table 5. Frequency of ECG pattern and measurement of intervals, durations and amplitudes in rabbits of four strains

ECG type	Strain	JW-NIBS	NZW-NIBS	Dutch-NIBS	J	W
	RS	90.8 %	58.3 %	16.8 %	45.4 %	
	RS	7.2 %	27.6 %	45.5 %	26.9 %	
	rS	2.0 %	14.1 %	37.7 %	27.7 %	
Interval (sec.)						
	P P	0.250±0.017	0.249±0.020	0.178±0.022	0.220±0.015	
	P Q	0.063±0.0015	0.063±0.0025	0.057±0.0036	0.065±0.0015	
	Q T	0.150±0.0032	0.149±0.0028	0.130±0.0076	0.138±0.0042	
Duration (sec.)						
	P	0.045±0.0035	0.045±0.0041	0.034±0.0033	0.038±0.0032	
	QRS	0.031±0.0035	0.040±0.0030	0.042±0.0032	0.037±0.0032	
	T	0.085±0.0034	0.085±0.0028	0.068±0.0058	0.076±0.0042	
Amplitude (mV)						
	P	0.195±0.016	0.210±0.015	0.258±0.022	0.275±0.021	
	R	0.886±0.063	0.430±0.060	0.478±0.071	0.962±0.062	
	S	0.290±0.065	0.280±0.063	0.680±0.094	1.00 ± 0.068	
	T	0.345±0.034	0.189±0.029	0.320±0.081	0.441±0.042	

$\bar{X} \pm SE$

Table 6. Rectal temperature in rabbits of three strains

Strain Sex	J W (6 month)	JW-NIBS (6 month)	NZW-NIBS (6 month)
Male	39.1 ± 0.42 (n=18)	38.5 ± 0.35 (n=25)	39.7 ± 0.36 (n=10)
Female	39.0 ± 0.32 (n=25)	38.5 ± 0.42 (n=20)	39.8 ± 0.24 (n=10)

$\bar{X} \pm SD$ (°C)

Table 8. Result of X-test on Atropinesterase frequency in rabbits of six strains.

JW-NIBS	JW-NIBS/Y				
NS	NS	NZW-NIBS			
**	NS	NS	Dutch NIBS		
NS	NS	**	NS	JW	
*	**	**	**	**	
**	**	**	**	**	NZW

*:P≤0.05,**:P≤0.01,NS:No significance

Table 9. Analytical conditions

	GC-MS condition				m/e used in M F	identification limit
	column	separator	ion source	r. t.		
Rangado (1) Desmethyl Rangado (2)	230 °C	270 °C	310 °C	2.3 min.	295,297	1.0 ng
2,4-Dichloro-phenacyl chloride (3)	160	250	290	3.1	273,275	1.0
1-(2,4-Dichlorophenyl)ethanol (4)	160	230	270	1.75	175,190	0.5
2-Chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)ethanol (5)	180	230	290	2.0	175,190	1.0
2,4-Dichlorophenyl ethandiol (6)	180	230	290	2.9	316,248	0.5
2,4-Dichloro-mandelic acid (7)	170	230	290	4.2	247,249,292	0.5
2,4-Dichloro-benzoic acid (8)	150	230	270	2.4	174,204	0.5

Column: 1.5 % silicon 6E-SE 30 chromosorb W, 60-80 mesh, 2m x 3 Ø glass column
 2, 4, 6, 7 and 8 were analyzed as their methylated or TMS etherated forms.

Table 10. Blood level of Rangado after its oral administration in the rabbit (ppm).

Time after dose (hrs)	males 10 months	females 10 months	males 2 months	females 2 months
1	0.01 0.01	0.01 0.03	— —	— —
3	0.01 ND	0.01 ND	0.01 0.02	0.01 0.01
6	ND ND	ND ND	ND ND	ND ND

remarks; Each value represents individual animal. ND: not detected.

Table 11. Portion of Rangado-derived metabolites found in the urine and feces of the rabbits (% total dose).

	metabolites	males 10 months	females 10 months	males 2 months	females 2 months
urine	1-(2,4-Dichlorophenyl) ethanol glucuronide (4')	70.8 ± 9.1 (10) ^a	82.4 ± 10.6 (9)	67.1 ± 16.1 (7)	78.4 ± 7.4 (9)
	Desmethyl rangado (2)	24.2 ± 8.8 (12)	17.1 ± 7.8 (11)	29.3 ± 18 (7)	20.5 ± 12.6 (9)
	1-(2,4-Dichlorophenyl) ethanol (4)	1.7 ± 1.5 (12)	0.9 ± 0.8 (11)	0.5 ± 0.4 (7)	ND (9)
	2,4-Dichloromandelic acid (7)	0.1 (11)	0.4 ± 0.4 (11)	0.1 (7)	0.1 (9)
	2,4-Dichlorobenzoic acid (8)	0.25 ± 0.25 (11)	0.18 ± 0.13 (11)	0.1 (8)	0.1 (10)
feces	Desmethyl rangado (2)	6.5 ± 6.4 (9)	3.8 ± 3.4 (7)	3.1 ± 1.2 (8)	3.0 ± 0.8 (10)
	1-(2,4-Dichlorophenyl) ethanol (4)	1.8 ± 1.8 (9)	0.9 ± 1.0 (7)	0.5 ± 0.2 (8)	0.3 ± 0.4 (10)

Table 12. Rangado found in the digestive contents (% total dose).

Time after dose (hr)	males 10 months		females 10 months		males 2 months		females 2 months	
	stomach	caecum	stomach	caecum	stomach	caecum	stomach	caecum
1	0.6 38.6	0.04 0.05	2.8 26.0	ND 0.36	— —	— —	— —	— —
3	4.3 3.4	0.3 0.05	19.7 0.2	4.0 0.7	0.4 1.5	0.2 0.2	6.5 —	0.55 —
6	3.5 1.2	0.02 0.18	3.0 0.4	2.9 ND	1.0 —	0.6 —	1.9 —	1.1 —
12	0.4 0.2	0.19 0.2	0.3 0.5	ND ND	1.8 0.04	ND 0.4	0.3 —	ND —
24	0.3 ND	0.06 0.06	0.09 0.1	ND ND	ND ND	ND ND	ND —	0.06 —
48	ND ND	ND ND	ND ND	— —	— —	— —	— —	— —

remarks: Each neighbouring pair of values for stomach and caecum contents were obtained from one rabbit. ND, Not detected.

Table 13. Portion of Rangado-derived metabolites in various species (% total dose)

metabolites	Rat	Dog	Cow	Rabbit
urine	1-(2,4-Dichlorophenyl)ethanol glucuronide (4)	6	*	75
	2,4-Dichlorophenylethandiol glucuronide (6)	14	*	0
	Desmethyl rangado (2)	44	0	23
	1-(2,4-Dichlorophenyl)ethanol (4)	0	3	0.8
	2-Chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)ethanol (5)	0	0	0
	2,4-Dichlorophenylethandiol (6)	0	0	0
	2,4-Dichloromandelic acid (7)	14	14	trace
	2,4-Dichlorobenzoic acid (8)	0	0	1.5
feces	Desmethyl rangado (2)	0	0	4
	1-(2,4-dichlorophenyl)ethanol (4)	19	0	0.9
	2-Chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)ethanol (5)	0	0	0
	2,4-Dichlorophenylethandiol (6)	2	0.5	0

remark; * Glucuronides were not determined in the cow.