

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

論 文 要 旨

麻布大学 獣医学部 薬理学教室

政 岡 俊 夫

## 本研究の目的

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てきている。すなわち，実験材料として用いられる実験用動物は均一化され，規格化されることによって，研究成果の信頼性をさらに高めることができると考えるからである。

しかし，今日なお，その大部分は実験動物としての条件を十分そなえたものは極めて少なく，わずかにマウスおよびラットにおいてみられるのみである。マウスおよびラット以外の実験用動物の多くは，家畜からの転用あるいは捕獲野生動物が使われており，これらの動物の遺伝的および環境的な統御はほとんどなされていない。このことは，このような動物を用いて得られるデータがバラツキの大きなものとなり，将来にわたっての信頼できるデータとしては疑問視せざるを得ない状況となっている。それ故，マウスおよびラット以外の動物においても，実験動物としての観点からその特性が浮き彫りにされ，使用されなければならないと考える。そうすることにより，医薬品および農薬などをはじめとする化学的物質の効果ならびに安全性の評価において，より精度の高い動物実験へと進めることができるからである。

したがって，このような立場から実験用動物として用いられているウサギを顧りみた場合，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，未だに遺伝的ならびに環境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，一方，わ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この研究の目的とした。

本論文では

1章 ウサギの実験用動物としての歴史

2章 系統ウサギの比較生理学的研究

Japanese White-Nippon Institute for Biological Science (JW-NIBS), New Zealand White-Nippon Institute for Biological Science (NZW-NIBS), Dutch-Nippon Institute for Biological Science (D-NIBS) および Japanese White (JW) や New Zealand White (NZW) の cross-breeding における生理値の年齢差, 性差, 系統差, 環境差ならびに血清 Prealbumin Esterase の Phenotype によるコロニー均一性の検討

3章 系統ウサギの比較薬理学的研究

系統ウサギ JW-NIBS 又は NZW-NIBS における麻酔方法の検討, 自律神経薬に対する反応および有機リン系農薬 Rangado の体内代謝性・残留性の年齢差および性差ならびに Atropinesterase (AE) 存在有無の差による薬物反応性の検討

以上の観点から実験動物としてのウサギの生理学的ならびに薬理学的特性を実験成績にもとづいて論述した。

1章 ウサギの実験動物としての歴史

- 1) ウサギが実験用動物として使用されてきた国内, 外の状況について比較し,
- 2) わが国におけるウサギの純化(実験動物化)の状況について, 外国のそれと比較考察した。
- 3) ウサギの実験動物としての有用性および実験動物化による将来への展望

を論述した。

## 2章 系統ウサギの比較生理学的研究

実験動物としての観点からウサギの特徴を把握するために、純化の程度の高いウサギコロニーを選び、これら系統ウサギの生理学的特性を追求した。わが国における純化の程度の高いウサギとして、日本生物科学研究所 Nippon Institute for Biological Science (NIBS) の作出したもの(表-1)を選び、この他 JW-NIBS のそれと比較する意味で、市販されている日本白色種 Japanese White および New Zealand White 種の crossbreeding (育成コロニーの不明確なもので JW および NZW と略す) を研究の対象とし、体重、体温、心拍数、呼吸数、心電図ならびに血圧などについて検討するとともに血清 Prealbumin Esterase の Phenotype による均一性や Atropinesterase の存在の有無について比較検討した。

表-1 研究対象のウサギコロニー

系 統	特 徴
JW-NIBS	1965年よりクローズドコロニーで飼育繁殖
JW-NIBS/Y	1980年近交系F20代(99.5%)
NZW-NIBS	1967年 Jackson Lab. より系統名Ⅲ 血縁係数(R)77%で導入 現在F19代(F11~13代を生体生理・血圧実験に、 また、F19代を血清学的実験に使用)
Dutch-NIBS	1968年 Jackson Lab. より系統名 AccR(3) 血縁係数(R)96%で導入した雄と舟橋農場から導入した ACEP(3)F3代の雌を交配し、生まれたF <sub>1</sub> 雌に雄 (AccR(3))をバッククロスして確立したウィンナ白 (劣性青眼・白色) 現在17代(生体生理実験にはF9代を、血清学的実験 にはF17代を使用)
JW	育成コロニーの不明確なもの(雑種)
NZW	同上

1) JW-NIBS ウサギの年齢推移にともなう生理学的特性を把握するために生後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測定した結果は表-2，3のとおりである。

表-2 JW-NIBS ウサギの生理学的特性

	体重	心拍数	体温	呼吸数	血圧
平均値	28-30	240-280	38°C台	>100	92-108
性差	⊖	⊖	⊖	?	?
年齢差	↑7-9月 令より→	↓8-9週令 より→	3週令よ り→	?	⊖ Ach, At, Hisなど⊖
環境差	⊖	⊖	26-29° Cで高体 温	?	
麻酔法の 差(ウ レタンと フェニバ ルビタリ)		ウ:5hrま で著変なし  フ:経時的減 少		ウ:著変 なし  フ:直後 より減少	ウ:120分 まで著変なし 3hr.より下降 フ:著変なし

表-3 JW-NIBS ウサギの血圧値

Age (month)	Blood Pressure of Inbred Strain JW-NIBS Rabbits					
	Mean Blood Pressure		Systolic Blood Pressure		Diastolic Blood Pressure	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
2	99 ± 2.9	111 ± 3.3	136 ± 4.0	158 ± 5.5	80 ± 3.5	95 ± 3.9
4	97 ± 3.1	102 ± 2.0	130 ± 4.0	150 ± 3.4	81 ± 2.9	86 ± 2.8
6	107 ± 4.0	101 ± 2.2	145 ± 6.0	149 ± 3.4	87 ± 3.2	86 ± 2.6
8	92 ± 4.0	98 ± 2.8	121 ± 4.1	135 ± 4.8	77 ± 3.5	80 ± 2.3
12	107 ± 3.3	107 ± 3.1	147 ± 5.5	137 ± 3.0	88 ± 2.5	91 ± 1.3
32		101 ± 5.8		145 ± 7.3		79 ± 5.2
58-83	97 ± 6.1		128 ± 7.6		79 ± 6.4	
42-83		106 ± 2.0		144 ± 4.1		86 ± 2.0

$\bar{x} \pm SE$  (mmHg)

i) 体重の増加曲線は雄，雌とも7~9か月齢で2.8~3.0Kgとなりプラトーになる。

ii) 体温は両性とも3週齢以降38.0°C台の値を示す。

- iii) 心拍数は両性とも 8～9 週齡（2 か月齡）より 240～280 回／分と安定する。
- iv) 呼吸数は両性とも毎分 100 回以上の値を示し、保定の影響が著しい。
- v) 心電図波形は Rs type が約 90% を占め最も多い。また年齢別および性別によりこの割合が著しく異なることはない。
- vi) 血圧は両性とも平均値で収縮期血圧は 121～146 mm Hg, 拡張期血圧は 77～91 mm Hg, 平均血圧は 91～107 mm Hg の値を示しているが、32 か月齡（雌）および 58～83 か月齡（雄）では個体間のバラツキが大きくなってきている。

以上の結果に基づき JW-NIBS の特性を整理すると

- a) 体重 7～9 か月齡よりプラトーとなる。
- b) 心拍数は 2 か月齡より安定する。
- c) 呼吸数は保定の影響が大きい。
- d) 心電図波形の判読が容易であり、同一パターンが多く出現するので心電図の検索に適している。
- e) 血圧は 2 か月齡から 12 か月齡ではあまり大きな変化がみられないものの高年齢（生後約 3 年齢以上）に達したウサギでは個体間のバラツキが大きくなっている。とくに 80 か月齡の雄ウサギでは低血圧を示した。

2) JW-NIBS ウサギの生理値に関する環境差（飼料を含む）を検討した結果は、

- i) 呼吸数および心拍数では各月齡ならびに両性とも、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にバラツキが大きい。
- ii) 体温は環境温度 26℃ 以上で影響を受ける。

以上の成績からウサギに適した環境温度は 25℃ 以下であり、日本薬局方ならびに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は、「試験中 20～27℃ でなるべく恒温恒湿に保つ」とあるのは適当でないと考える。

3) NZW-NIBS ウサギの生理学的特性は表-4, 5 のとおりである。

表-4 NZW-NIBS ウサギの血圧値

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

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

表-5 NZW-NIBS ウサギの体重, 心拍数, 呼吸数および体温

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

$\bar{X} \pm SE$

- i) 体重は6か月齢において2.5～2.6 Kgに達する。
- ii) 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/分であった。
- iii) 呼吸数は100～230回/分と両性とも各月齢により, かなりの変動があり保定による影響が大であった。
- iv) 体温は両性とも39℃台を示すものが大多数であった。
- v) 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で高くなる傾向を示した。

4) JW-NIBS, NZW-NIBS, JW および Dutch-NIBS における生理値の系統差を検討した結果は表-6, 7 のとおりである。

表-6 系統ウサギの心電図波形のパターンおよび測定値

ECG <sub>type</sub> \ 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

$\bar{x} \pm SE$

表-7 JW-NIBS, NZW-NIBS および JW の直腸体温

Sex \ Strain	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)

$\bar{x} \pm SD (^{\circ}C)$



- i) JW-NIBS ウサギの体温は 38℃台を示すもの 927 例中 660 例 (71.2%), 39℃台を示すもの 927 例中 169 例 (18.2%) であり, JW に比べ発熱性試験用に適している。
- ii) 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<sub>s</sub> タイプであり Dutch-NIBS では RS タイプ (約 45%) および rS タイプ (約 40%) である。
- iii) JW-NIBS では同一パターンが最も多く出現し, 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。
- iv) Dutch-NIBS では心電図の相対的心室筋興奮時間が他のウサギに比べて長く, Dutch-NIBS の特徴といえる。
- v) JW-NIBS と JW の心電図棘波の測定値の比較では, その成長に伴う傾向的变化には違いは認められない。また, 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わることはなかった。

5) Prealbumin Esterase の Phenotype による各種ウサギコロニーの均一性および Atropinesterase の保有率を検討した結果は表-8, 9 のとおりである。

表-8 系統ウサギの血清プレアルブミンエステラーゼのフェノタイプ

Distribution of the Prealbumin Esterase Phenotypes in Six Strains of Rabbits

Strain	Number of rabbits	Phenotypes									
		I	II	III	III <sup>F'</sup>	IV	IV <sup>F'</sup>	V	V <sup>F'</sup>	V <sup>f</sup>	VI
JW	53		4	6	2			14	10		17
JW-NIBS	138		2	12				10			114
JW-NIBS/Y	30							2			28
NW	20	8	2	1		7					2
NW-NIBS	79							79			
Dutch-NIBS	15								15		

表-9 系統ウサギのアトロピンエステラーゼの保有率

The Frequency of Atropinesterase-positive in Six Strains of Rabbits				
Strain	Number of rabbits	Atropinesterase		Positive %
		Positive	Negative	
JW	53	12	41	22.7
JW-NIBS	138	14	124	10.1
JW-NIBS/Y	30	0	30	0
NW	20	18	2	90.0
NW-NIBS	79	0	79	0
Dutch-NIBS	15	0	15	0

- i) 血清プレアルブミンエステラーゼは JWウサギでは6種類のタイプ、また、NZWウサギでは5種類、JW-NIBSウサギにおいては4種類、JW-NIBS/Yウサギでは2種類、また、NZW-NIBS および Dutch-NIBSウサギにおいてはいずれも1種類のフェノタイプが確認された。
- ii) Atropinesterase はコロニーの不明確な JWウサギやNZWウサギではそれぞれ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ウサギではAE保有ウサギはこれらのコロニーには存在しなかった。
- iii) ク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のウサギは均一化される。

以上の実験成績から純化の程度の高いウサギは、これまで実験用動物として用いられてきたウサギ(JW)に比べ、その生理値は極めてバラツキが小さく、実験目的にあったウサギとして効率よく使用できることを指適した。

さらに、ウサギを用いる動物実験においては、ウサギの実験動物化は必要かつ有用であることを強調し、各系統ウサギの性別ならびに年齢別での生理的特

性を浮き彫りにするとともに、日本で現在使用されている実験用ウサギについてそのコロニーの違いにより、血清プレアルブミンエステラーゼのPhenotypeから遺伝的均一化の状態を検索し、また、AE保有率のコロニー間の差を検討したところ、クローズドコロニーならびに系統化されたウサギではAE保有率の小さくなることおよび遺伝的に均一化されてくることなどが明らかになった。

また、環境による影響（環境温度は25℃以下）を考慮しなければならないことを指摘した。

### 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、実験動物としての系統ウサギの価値は高くなるものと考え、これらの特徴をさらに深く把握するために、比較薬理学立場から系統、性別、年齢などの一定性を追跡した。すなわち、薬理学実験におけるJW-NIBSウサギの麻酔方法の再検討、さらに数種の自律神経薬に対するJW-NIBSウサギおよび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 dimethyl phosphate) の代謝性・残留性の追求およびAE有無による薬物反応差の検討をすることにより、系統ウサギの薬理学的特性を吟味した。

その結果は次のように要約できる。

#### 1) ウサギの麻酔方法について再検討した結果

- i) 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 1,800mg/Kgを毎分当り1ml (30%溶液) 静脈内に投与する麻酔方法が適当といえる。
- ii) 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。

iii) JW-NIBS ウサギと JWウサギにおける Urethane 麻酔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。

2) JW-NIBS ウサギ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

i) 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) とも同様の反応を示し、とくに年齢差は認められない。

ii) 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。

3) NZW-NIBS ウサギ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

i) 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。

ii) NZW-NIBS でも雌雄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い。

4) 有機リン系農薬 Rangado の体内代謝性ならびに残留性について

i) 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。

ii) 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。

iii) 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。

iv) 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) および大量のグロクロン酸抱合体 1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol glucuronide (尿中のみに75%) が検出された。

V) 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。

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を検討した結果は

i) Atropinesterase 陽性ウサギと陰性ウサギにおけるアトロピン および PHMB (化学名 Poly [ biguanide-1,5-diylhexamethylene hydrochloride ]) の適用は呼吸において両群間に反応の差 ( $P \leq 0.05$ ) を認めた。しかし PHMB では有意の差として検出できなかった。

以上の実験成績からウサギの麻酔方法はウレタン  $1,800 \text{ mg/Kg}$  を毎分当り  $1 \text{ ml}$  (30% 溶液) 静脈内投与することにより, 各生理値は比較安定した測定値を得ることができる。生後2か月齢から12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がないことが示唆された。それ故, AE存在の有無が対象薬物によってはその成績に影響を与えることから, JWやNZWのような純化の程度の低いコロニーのウサギを使用すると反応性に大きなバラツキの生じる恐れがあるのに対し, 純化の程度の高い JW-NIBS や NZW-NIBS ではその危険性が低くなるといえる。

しかしながら, AE保有率や Prealbumin Esterase の Phenotype から考えると JW-NIBS においては, さらに純化を進める必要性があると考えられる。また, 一方では AE保有あるいはAE非保有ウサギの系統化ならびに Prealbumin Esterase の Phenotype による均質化へと各種ウサギの系統化が進められることにより, 実験目的にかなった系統ウサギを使用することが可能となり, 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ことを明らかにした。