Lifetime Reproductive Performance and Lifespan of SPF C3H Mice Reared under a Single Pair Mating System

Shizuo TOMITA, Tatsuo HAYAO, Haruyasu UCHIDA
and Takuya SAWADA

*Section of Animal and Plant Supply, Division of Technical
Services, National Institute of Radiological Sciences*

(Received for publication: Dec. 17, 1975)

Data are presented on lifetime reproductive performance (number of fertile matings, litters and mice born and weaned) and lifespan of C3Hf/HeMsNrs reared under specific pathogen free conditions. Thirty pairs of mice were mated at the age of 64 ± 5 days and maintained under a single pair mating system until either of pair died. No mice died before termination of their reproductive life, therefore, the data of reproductive performance are based on 30 monogamous pairs. Twenty four pairs out of 30 pairs could produce at least the 6th litters. In relation to the age of females, 82 % of a total of 210 litters and 87 % of a total of 1,226 offsprings were produced until the age of 250 days. The females gave a maximum litter size, 6.9 at the age between 101 and 150 days. Sex ratio of offsprings did not vary with the age of the females at litters and the parity. It is, however, noteworthy that, when the sex ratio is calculated on mating pair basis it significantly differs from expected ratio of one to one in 5 pairs out of 30 pairs. Among mating pairs, a total number of litters per pair ranged from 3 to 10 litters and a mean total number of offsprings was 41 mice. The ages of females at the last litter born ranged from 128 to 352 days (mean 261 days). The mean lifespan for females and males were 737 and 731 days, respectively. It was not found that there is any correlation between lifespan and lifetime reproductive performance.

雌雄同居（1:1）飼育による SPF C3H

マウスの繁殖成績と寿命について

富田 静男, 早尾 辰雄

内田 晴康, 沢田 卓也

放射線医学総合研究所

老化現象の解明は生命科学研究の重要課題の一つであるが、最近とくにこれに対する関心が高まっている。また放射線影響研究の分野においても、老化現象と不可分の関係を持つと考えられる放射線の生体に対する晩発効果が重要課題としてとりあげられている。これらの課題を実験的に追求するにあたっては、当然実験動物を長期間にわたって飼育、観察することが必要であり、したがって、実験動物を生産、供給する立場からも長期飼育、加齢に伴う動物の生理的变化を把握することが強く望まれる。生産の場におけるこれらのデータを集積し、解析することは、動物を使用する側に対し、実験動物の選択にあたって有益な情報を提供するものと考えられる。一方、

これを繁殖能力の持続性と関連させて捉えれば、効率的な動物生産を行なうための交配飼育方法を確立する上に重要な基礎的資料が得られるものと考えられる。

われわれはこれらの観点から、従来2、3の系統のマウスについて、寿命と加齢に伴う繁殖生産能力の変化を検討している。この種の長期間にわたる繁殖成績に関しては、古くは Roberts[6]の体重によって選抜した系統についての報告があり、最近では西村[5]が C57BL/6J について報告しているが、われわれは当研究所において SPF のもとに生産飼育されている C3Hf/HeMsNrs マウスの結果について報告する。

材料と方法

SPF 動物生産施設の管理

SPF 動物生産施設で飼育されているマウスはすべて帝王切開由来で、無菌 NDII マウスに foster nurse された無菌動物より出発している。本施設への入棟にあたっては、全身シャワーを浴びたのち更衣室に入り、オートクレーブ滅菌したランニング・シャツ、T 字帯、くつした、つなぎ白衣、手術帽、マスク等を着用し、履物は長靴を使用している。シャワー室および更衣室は、入室時を除き、常時殺菌灯を点灯している。更衣室ではさらに逆性石鹼（ハイアミン 200 倍希釈液）を用いて手指消毒を行なっている。飼料（船橋農場製繁殖用）はオートクレーブにより 120℃、30 分滅菌し、20 分乾燥する。飲水（pH8.5）には次亜塩素酸ソーダ（サンラック）を添加して、有効塩素 10~15ppm に調整し、さらに塩酸を添加して pH2.5~3.0 に調整している。給水瓶は次亜塩素酸ソーダを添加した消毒水槽（有効塩素 100~130ppm）に約 20 時間浸して消毒を行なっている。

飼育室、廊下等は週 2 回、ハイアミン 200 倍希釈液で噴霧消毒を行なっている。

微生物の検査方法

毎月 1 回、生産施設内のマウスからアト・ランダムに 100 匹を選び、その新鮮糞を採取し、BHI ブイヨンで 24 時間増菌したのち、DHL 平板培地に接種して、腸内細菌（サルモネラ、大腸菌）の検査を行なっている。緑膿菌については、同様に新鮮糞を NAC ブイヨンに接種し、48 時間後に判定を行なっている。

ネズミコリネ菌、チザー菌については、異なった系統のマウス各 5 匹にコーチゾンを投与し、7 日~10 日後に剖検して病変の有無により判定を行なっている。

これら 5 種以外の細菌、ウイルスについては約半年に 1 回の割合で、国立予防衛生研究所に依頼して検査を行なっている。

本実験開始後 1 年 6 カ月（1974 年 8 月）で本施設内の

マウスの一部が緑膿菌に汚染されたが、ただちにゲンタマイシンを経口投与し、これにより汚染が除去されなかったマウスを殺処分することによって本施設から緑膿菌を排除することができた。以後諸検査の結果、本施設のマウス・コロニーは、サルモネラ菌、大腸菌 0115、緑膿菌、ネズミコリネ菌、チザー菌、パスツレラ菌、マイコプラズマ、HVJ、MHV、レオ 3、原虫、内部寄生虫に関し、いずれもフリーである。

使用動物

1972 年 11 月~12 月に生れた C3Hf/HeMsNrs を日令 65±4 日で雌雄化各 30 匹を選び、1 対 1 の同居交配により死亡時まで飼育した。仔が産れた場合はその仔を 3 週令に達するまで同居させた。途中雌雄いずれかが死亡した場合は、以後生存しているマウスを 1 ケージ、1 匹で飼育した。この 30 ペアのうち最もおそい分娩は 352 日令であったが、雌雄ともそれ以前の日令で死亡した個体は 1 例もなく、したがって、繁殖成績については 30 ペア全部が繁殖生活を完了したものとして集計した。しかし、寿命については、死亡日令が不正確なもの数個体を除外して集計した。日令と繁殖成績との関連については、1 対 1 交配であり、雌雄が全く同一日令ではないので、雌雄いずれの繁殖能力の日令の差によるかは判別できないが、ここでは雌親の日令によって解析した。

成 績

分娩数と産仔数、産次および日令との関係

Table 1 に雌親の日令と産次で分類した分娩の頻度とを 30 ペアについて集計した結果をしめす。総計 210 回の分娩があったが、その 80%（169/210）は 6 産次までに得られている。なお、この分娩数 210 には死産および分娩直後の食殺 9 例を含んでいる。

Table 2 に産仔数および離乳仔数について同様に分娩日令と産次とで分類した結果をしめす。総計 1,226 の仔が得られ、そのうち 1,188 が離乳まで生存した。全産仔数のうち約 87% が 6 産次までに得られている。離乳率

Table 1. Age and parity distributions of the number of litters

Parity	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Total
Age											
- 100	26	2									28
101 - 150	4	25	22	9							60
151 - 200		3	7	15	18	2					45
201 - 250			1	3	5	19	11				39
251 - 300				2	3	3	7	10	4	1	30
301 - 350							1	2	2	2	7
351 - 400									1		1
Total	30	30	30	29	26	24	19	12	7	3	210

Table 2. Age and parity distributions of the number offsprings born and weaned

Parity Age	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Total	Weaned (%)
- 100	165 (162)	12 (12)									177 (174)	98.3
101 - 150	26 (26)	161 (159)	165 (151)	67 (66)							419 (402)	95.9
151 - 200		24 (24)	43 (43)	99 (93)	111 (110)	8 (8)					285 (278)	97.5
201 - 250				19 (19)	31 (31)	94 (93)	48 (46)				192 (189)	98.4
251 - 300					16 (16)	17 (17)	30 (29)	45 (42)	16 (16)	6 (6)	130 (126)	96.9
301 - 350								6 (6)	6 (3)	6 (5)	18 (14)	77.7
351 - 400									5 (5)		5 (5)	100.0
Total	191 (188)	197 (195)	208 (194)	185 (178)	158 (157)	119 (118)	78 (75)	51 (48)	27 (24)	12 (11)	1226 (1188)	
Weaned(%)	98.4	99.0	93.2	92.9	99.3	99.1	96.1	94.1	88.8	91.6		96.9

Figures in parenthesis indicate number of weaned

Table 3. Intervals between litters and age of females at litters

Parity	No. of Mice	Age at Litter(day) mean $\pm$ S. E.	Intervalse between Successive Litters(day) mean $\pm$ S. E.
I	30	94 $\pm$ 3.1	
II	30	118 $\pm$ 3.2	23 $\pm$ 1.1
III	30	143 $\pm$ 4.1	27 $\pm$ 1.5
IV	29	174 $\pm$ 5.9	30 $\pm$ 2.7
V	26	199 $\pm$ 5.3	31 $\pm$ 2.1
VI	24	228 $\pm$ 5.4	29 $\pm$ 1.9
VII	19	253 $\pm$ 6.4	25 $\pm$ 1.4
VIII	12	282 $\pm$ 7.9	37 $\pm$ 7.1
IX	7	302 $\pm$ 9.4	23 $\pm$ 8.5
X	3	313 $\pm$ 10.7	31 $\pm$ 6.8

は、301～350日令のものは他の日令のものに比べ、また、9、10産次のものは他の産次のものに比べ、それぞれ低下しているが、高日令、高産次のものの総産仔数が少ないため、その差が有意であるかどうかは断定できない。

Table 3 に各産次の雌親の日令の平均と分娩間隔の平均とをしめす。30ペアのうち80%は6産次まで分娩したが、6産次の平均日令は228日であった。分娩間隔は産次間にバラツキが大きい、産次が進むにつれて開く傾向がみられるようである。

次に、litter size および仔の性比について産次および雌親の日令によって分類した結果を Table 4 および Table 5 にしめす。平均の litter size は1産次、2産次と増加し、3産次の6.9が最高で、以降減少傾向を示し、3産次に比べ有意に減少している。仔の性比については産次による差は認められなかった (Table 4)。分娩日令別にみた場合は、101～150日令での litter size が

最高で、201日令以降のそれは有意に減少した。仔の性比については分娩日令による有意差は認められなかった (Table 5)。

分娩数、産次数、離乳数、仔の性比、最終分娩日令および寿命の個体間の変異

これまでは雌親の日令と産次によって分類した繁殖能力について比較したが、各個体（あるいはペア）間での繁殖能力のいくつかの指標と寿命についてその変異を Table 6 に要約してしめす。分娩回数は3回から最高10回まであり、その平均は7回であった。このうち死産と分娩直後の食殺のあったものが5ペアで、4ペアは2回の死産あるいは食殺があった。

一生の間の総産仔数は12～71匹で、平均41匹であった。離乳数の平均は39匹で、離乳率は50%という低いものが1ペアに認められた。仔の性比は総産仔数が少ない場合には意味を持たないが、雌1に対して雄0.525～2.750ま

Table 4. Litter size and sex ratio of offsprings classified by parity

Parity	No. of Litters a)	Litter Size (mean±S. E.)	Sex Ratio
1	30	6.36 ± 0.31	0.948
2	30	6.56 ± 0.37	0.989
3	30	6.93 ± 0.43	1.166
4	29	6.37 ± 0.61	0.989
5	26	6.07 ± 0.46	1.051
6	24	4.95 ± 0.39	1.061
7	19	4.10 ± 0.55	0.902
8	12	4.25 ± 0.45	1.125
9	7	3.85 ± 0.67	1.250
10	3	4.00 ± 2.00	1.000

a) Number of litters includes still birth and litters cannibalized at birth, of which litter size is calculated as zero.

Table 5. Litter size and sex ratio of offsprings classified by the age of females

Age	No of Litters a)	Litter Size (mean±S. E.)	Sex Ratio
- 100	28	6.32 ± 0.119	0.923
101 - 150	60	6.98 ± 0.264	1.074
151 - 200	45	6.33 ± 0.404	1.021
201 - 250	39	4.92 ± 0.371	0.939
251 - 300	30	4.33 ± 0.387	1.131
301 - 350	7	2.57 ± 0.782	1.250
351 - 400	1	5.00	0.666

a) Number of litters includes still birth and litters cannibalized at birth, of which litter size is calculated as zero.

Table 6. Lifetime reproductive performance and lifespan

	No. of Mice	Range	Mean
Number of Litters	30	3 - 10	7
Number of Mice Born	30	12 - 71	40.8
Number of Mice Weaned	30	11 - 70	39.6
Percent Weaned	30	50 - 100	
Sex Ratio of Offsprings	30	0.525 - 2.750	
Mean Litter Size a)	30	3.75 - 8.33	
Age at Last Litter	30	128 - 352	261.3
Lifespan (female)	25	621 - 944	(737.4)±15.1
(male)	27	497 - 1006	(731.4)±24.1

a) Still birth and litters cannibalized at birth are omitted.

での変異があった。しかし、5ペアについては、その子の性比が統計的な1対1の期待値より有意に偏っており、このうち、雄が有意に多いものが4例、雌が有意に多いものが1例であった。

平均の litter size は死産と分娩直後の食殺を除くと3.7~8.3であった。最終分娩日令は128~352日令で、平均261日令であった。最終分娩日令と総産仔数との相関は、最終分娩日令が早い場合には総産仔数が少なくなるので当然期待されるが、最終分娩日令のおそい個体が必

ずしも総産仔数が多い結果は得られなかった($r=0.42$)。

平均寿命は、雌では記録の不備のため正確に死亡日令が確認できなかった5個体を除き、621~944日令で、平均737日、雄では同様の3個体を除き、497~1,006日令で、平均731日であった。

最終分娩日令および総産仔数と雌親の寿命との間にはいずれも明らかな相関は認められなかった ($r=0.10$, $r=0.06$)。

考 察

従来、われわれはこの系統のマウスを計画生産する場合、雄1に対して雌2の交配を行ない、交配間隔を約50日としてきた。この交配方式によると、すでに3産次で1産次、2産次に比較して litter size が減少し、それ以降では著しく生産効率が低下することを経験している。一般に、作業能率やスペースを考慮しなければ、生産効率を高めるためには、single pair mating がもっとも良いことが報告されており[1]、また、妊孕性の低下は飼料の組成に関連しておこる妊娠間隔の延長に伴う肥満によることが指摘されている[4]。本実験では、1対1の同居交配方法の場合、200日令以上あるいは、5産次以上では litter size が減少する傾向はあっても、日令250日、産次数6産次までは妊孕性はそれほど低下しないことが明らかとなった。このことは動物の繁殖能力からみて、従来の生産方式がかなり能率のわるいものであることを示唆している。したがって、作業能率を配慮し、計画生産における交配方式、飼育管理方式を改良すれば、生産効率をあげることが可能であると考えられる。

繁殖能力については、日令が進むにつれて litter size が減少すること、哺乳能力についても離乳率からみたとき多少減少する傾向があること、分娩間隔については、分娩可能な期間であればそれほど延長が起らないことなどがそれぞれ認められた。これらの形質については、かなり系統によって差のあることが報告されており[2]、最終分娩日令については、C57BL/6Jで平均399日、最高477日令であることが報告されている[5]。本実験のC3Hマウスでは、最終分娩日令からみれば、C57BLより早く妊孕性が失われるものと考えられる。

Roderick と Storer[7]は系統間での litter size からみた繁殖能力と寿命との間の関連について報告しているが、本実験では、同一系統内の個体の寿命と総産仔数あるいは最終分娩日令との相関は認められなかった。これらの事実は、加齢に伴う繁殖生理学的変化を解析する際の実験動物の選択にあたって一つの基礎資料を提供するものである。

仔の性比については、日令や産次による偏りは認められなかったが、一つのペアの産仔についてみたとき、その性比が有意に期待値より偏る例が認められた。この原因については今のところ全くわからないが、将来検討されるべき興味ある問題と考えられる。

近交系、あるいはそれらの交配によるF₁マウスの平均寿命については、従来から多くの報告があり、また、寿命に影響する種々の要因についても報告されているが[8]、最近 Festing と Blackmore は、本実験と同様

の SPF で飼育された C3H マウスの寿命について報告している。彼等は、200日令で繁殖親から retire したマウスの平均寿命が雌で676日、雄で590日という結果を得ている。これは本実験で得られた結果、すなわち、雌で737日、雄で731日に比較してかなり短い。SPF という飼育環境がかなり類似していると考えられるにも拘わらず、同一系統でこのように異なる原因は、subline 化に伴う遺伝的な差かあるいは飼料などの差によるものか断定することは困難であるが、長期間の飼育を伴う実験では、遺伝的にも環境的にもかなり厳密なコントロールがなされなければ再現性のある結果が得られないことを示唆するものと考えられる。

なお、本実験に使用したマウスの病理学的検索結果については別に報告する予定であるが、乳癌の発生率は約33%であり、上記の Festing と Blackmore[3]の結果と大差のないことを附記する。また、前述のように、本実験を行なった施設内で緑膿菌汚染があったが、この汚染は本実験の繁殖成績の結果が得られたあとであり、ゲンタマイシン投与による繁殖成績への影響を考慮する必要はないが、ゲンタマイシン投与後に繁殖生産を行なった他の群については繁殖が低下する結果を得ているので、このこともあわせて附記する。

要 約

われわれは計画生産および長期飼育実験のための基礎的資料を得るため、SPF で飼育されている C3H マウスの life time の繁殖成績と寿命について検討を行なった。生後64±5日から雌雄1対1の同居で飼育した結果、総計210 litters, 1,226個体の仔が得られたが、その約87%は雌親が250日令に達するまでに得られた。litter size は、3産次、雌親の日令101~150日のものももっとも大きく、以後減少する傾向が認められた。妊娠間隔は産次が進んでもそれほど大きく開くことはなかった。仔の性比は雌親の日令、産次によって変動しなかったが、各ペアについてみると、5ペアでその仔の性比が有意に偏っていた。分娩回数はペア当たり3~10回で平均7回、総産仔数の平均はペア当たり41匹であった。最終分娩日令は128~352日日、平均261日であった。寿命は雌が621~944日、平均737日、雄が497~1,006日、平均731日であった。雌親の寿命とその最終分娩日令や総産仔数との間に相関は認められなかった。

謝 辞

この論文について助言をいただいた動植物管理課福田宗一氏に感謝する。また、この研究を行なうにあたって、多大の

ご協力をいただいた障害基礎研究部早川純一郎氏に厚くお礼申し上げ、動植物管理課山極順二、松本恒弥両氏に深く感謝する。

文 献

- [1] Bruce, H. M. (1954). Feeding and breeding of laboratory animals. XIV. Size of breeding group and production of mice. *J. Hyg.*, 52, 60-66.
- [2] Festing, M. (1968). Some aspects of reproductive performance in inbred mice. *Laboratory Animals*, 2, 89-100.
- [3] Festing, M. F. W. and Blackmore, D. K. and Blackmore, D. K. (1971). Life span of specified-pathogen-free (MRC category 4) mice and rats. *Laboratory Animals*, 5, 179-192.
- [4] Hoag, W. G. and Dickie, M. M. (1966). Nutrition. In *Biology of the Laboratory Mouse* (2nd ed.), Green, E. L. editor, McGraw-Hill Inc. New York, 39-43.
- [5] 西村正彦 (1973) 第19回実験動物談話会記録 (東京, 1972年2月) 実験動物, 22, 64-65
- [6] Roberts, R. C. (1961). The lifetime growth and reproduction of selected strains of mice. *Heredity*, 16, 369-381.
- [7] Roderick, T. H. and Storer, J. B. (1961). Correlation between litter size and mean life span among 12 inbred strains of mice. *Science*, 134, 48-49.
- [8] Russell, E. S. (1966). Life span and aging patterns. In *Biology of the Laboratory Mouse* (2nd ed.), Green, E. L. editor, McGraw-Hill Inc. New York, 511-519.