— REVIEW —

Two Inbred Strains of Mice (SHN and SLN) with Different Mammary Tumorigenesis Established from the Same Basal Stock of Swiss Albino Mice

Hiroshi NAGASAWA

*Pharmacology Division, National Cancer Center Research
Institute, Tsukiji 5-1-1, Chuo-Ku, Tokyo 104, Japan*

(Received for publication : May 7, 1979)

A basal stock of Swiss albino mice was selected to two ways for high and low mammary tumorigenesis and two new strains were established (SHN and SLN) [27,34]. They have still been selected and maintained by the strict brother $\times$ sister mating. SHN and SLN are now at F37 and F31, respectively.

In this paper, the changes in mammary tumorigenesis in both strains until F30 and the strain-difference in several characteristics concerning mammary tumorigenesis were briefly reviewed.

Mammary tumor incidence was increased and onset age of tumors was decreased with the advance of generation in SHN breeders and they were almost constantly 100% and 6-7 months, respectively, after F11. The effects of selection were not so marked in SLN breeders; mammary tumor incidence was fluctuate largely around the mean value of P generation and increased considerably after F23. The onset age of tumors became about 1 month later than P generation on average (Fig. 1).

SHN virgins showed mammary tumor incidence of more than 90% and the onset age of 8-9 months. The effect of selection in SLN females was marked in virgins and the incidence and the onset age were 10-20% and 14-18 months, respectively, in each generation (Fig. 2).

While the life spans of breeders and virgins which died without mammary tumors were 8-14 months and 13-19 months, respectively, in both strains, the variations were so large in each generation.

All mammary tumors checked were diagnosed as adenocarcinoma and the number of tumors per mouse was significantly higher in SHN than in SLN. The tumors of both strains were hormone independent (Fig. 3) [21], and the growth potential of tumors was higher in SHN than in SLN when transplanted into female nude mice (Fig. 4).

While 1 out of 39 (2.6%) mammary tumor bearing SHN mice had metastases to the lung, the ratio increased up to 23% (10/43) by elongation of survival time of animals by surgical removal of mammary tumors.

Both normal mammary growth (Fig. 6) and preneoplastic mammary hyperplastic alveolar nodule (HAN) formation (Fig. 7) were much more marked in SHN than in SLN.

SHN was superior to SLN in mammary sensitivity to prolactin and ovarian hormones, whereas no clear differences between strains were observed in plasma prolactin levels at different reproductive states (Fig. 8) [15, 27] or mammary gland prolactin receptor during lactation [15].

The pattern of estrous cycles of SHN females was characteristic in having long

continued diestrous phases (Fig. 9) [24]. Among several characteristics examined as the indices of reproductivity (Fig. 10), characteristics concerning lactational performance, litter growth and litter growth rate, became better with the advance of selection in SHN (Fig. 10-E, F, G, H).

The mammary tumor appearance was much higher and earlier in (SHN $\times$ SLN) F1 virgins than in (SLN $\times$ SHN) F1 virgins (Fig. 11), indicating higher mammary tumor virus (MTV) activity in SHN than in SLN. MTV antigen was identified by immunodiffusion test in the milk of both SHN (100%) and SLN (83%) [2]. It was also found in prostates and seminal vesicles of males of both strains [36].

The responses of normal spleen cells and that of fat pad to PHA were significantly lower and higher, respectively, in SHN than in SLN.

— 総 説 —

同一基礎集団より乳癌高発および低発を 指標として選抜確立された2つの近交系、 SHN および SLN 系マウスについて

長澤 弘

国立がんセンター研究所 薬効試験部

はじめに

- I. 基礎集団マウスの由来
- II. 飼育条件
- III. 選抜交配方式
- IV. 乳癌の発生
 1. 経産個体
 2. 未経産個体
- V. 乳癌の性質
 1. 乳癌の組織像
 2. 個体あたり乳癌発生数
 3. 乳癌の増殖パターン
 4. SHN 乳癌の、制癌剤スクリーニングへの応用
 5. 肺転移
- VI. 発 育

VII. 乳腺の発育

1. 正常乳腺と HAN の発育
2. 乳腺発育とホルモン
3. 血中 prolactin レベル
4. 乳腺の prolactin に対する反応性—prolactin レセプター

VIII. 繁殖性

1. 膣開口日齢と体重
2. 発情周期の型
3. 繁殖成績
4. 繁殖性と乳癌発生率の関係

IX. 泌乳能力

X. 乳癌ウイルス

XI. 免疫応答性

おわりに

文 献

はじめに

周知のように種々の乳癌発生率を有するいくつもの系統のマウスが作られ、広くその方面の研究に用いられて

いる。

乳癌の発生を指標として、一つの集団のマウスを、高発および低発の2方向へ選抜することが可能であるか否か、もし可能なら、乳癌の発生に関与する種々の形質は、

Table 1. Average mammary tumor age in females used for the subsequent generations and proportion selected in each strain.

Generation	SHN					SLN				
	Total no. of females	Female selected for next generation			Proportion selected* (%)	Total no. of females	Female selected for next generation			Proportion selected* (%)
		Number	Tumor age (months)	Age when died without tumors			Number	Tumor age (months)	Age when died without tumors	
P	17	10	9.0	—	17	5 (5) [†]	—	9.6	29.4	
F 1	56	12	6.6	—	21	6 (1)	10.7	10.7	28.6	
F 2	49	6	6.2	—	36	7 (2)	12.0	13.0	19.4	
F 3	31	6	5.7	—	24	7 (3)	12.3	8.8	29.2	
F 4	30	5	6.3	—	24	5 (2)	15.2	12.6	20.8	
F 5	30	5	5.5	—	17	8 (3)	10.0	14.2	47.1	
F 6	25	4	6.1	—	30	9 (5)	10.1	14.8	30.0	
F 7	16	4	6.2	—	20	4 (2)	11.0	10.1	20.0	
F 8	12	2	5.9	—	23	9 (5)	11.6	11.3	39.1	
F 9	12	4	6.7	—	17	4 (1)	11.6	13.5	23.5	
F 10	23	4	6.8	—	24	8 (5)	9.2	10.6	33.3	
F 11	15	8	5.0	—	26	16 (3)	10.2	11.2	61.5	
F 12	40	12	5.2	—	27	9 (2)	11.4	13.0	33.3	
F 13	38	9	5.3	—	29	14 (4)	11.3	10.1	48.3	
F 14	23	7	5.7	—	34	20 (7)	11.5	11.8	58.8	
F 15	27	8	5.1	—	42	9 (3)	11.2	11.6	21.4	
F 16	29	13	5.3	—	34	11 (8)	10.5	11.7	32.4	
F 17	33	8	5.2	—	33	11 (5)	12.0	8.0	33.3	
F 18	31	6	5.0	—	30	12 (8)	11.5	9.3	40.0	
F 19	25	5	5.7	—	47	12 (6)	10.8	10.5	25.5	
F 20	26	3	5.5	—	30	14 (3)	11.2	9.1	46.7	
F 21	17	4	4.9	—	50	8 (4)	12.0	11.4	16.0	
F 22	17	6	4.9	—	21	5 (4)	8.9	12.4	23.8	
F 23	21	8	5.2	—	14	7 (1)	10.5	11.8	50.0	
F 24	31	7	5.0	—	16	5 (0)	10.3	—	31.3	
F 25	19	3	5.0	—	18	7 (2)	13.2	13.0	38.9	
F 26	10	6	5.5	—	28	9 (8)	9.8	20.1	32.1	
F 27	13	10	5.6	—	22	5 (0)	11.4	—	22.7	
F 28	29	4	5.7	—	20	9 (3)	10.0	10.5	45.0	
F 29	13	3	5.9	—	29	8 (1)	12.0	11.4	27.6	
F 30	18	6	4.9	—	30	7 (5)	10.0	8.5	33.3	

* (Number of females selected / Total number of females) × 100.

† Number of females which had no mammary tumors in their lives.

選抜の結果どのように変化するかは、乳癌発生の etiological な面から、きわめて興味あることと考えられる。

このような観点から、スイスアルビノマウスの一つの基礎集団から乳癌高発および低発の2方向へ選抜を試み、SHN, SLN という2つの近交系を確立し [27, 30, 31, 34], 現在、それぞれ F37, F31 に達している。

両系統マウスの F30 までにおける発癌性や、それに伴う繁殖性の変化、および乳癌発生と関係ある種々の形質の特徴、系統間の差異などについての知見をまとめた。

I. 基礎集団マウスの由来

選抜の基礎として用いられたスイスアルビノマウス*1は、City of Hope Medical Center (Durate, California, USA)——北海道大学——国立遺伝学研究所を経て、1963年に国立がんセンター研究所に移入され、1964年4月より選抜が開始された。なお、同スイスアルビノマウスは、別に遺伝研より、1965年に、近交系 SW M/Ms として登録されている。

II. 飼育条件

すべての世代において、育成中、未経産 (virgin)、繁殖、および retired の個体は、それぞれ同じ室の同じラックで飼育された。育成中、未経産、および retired マウスは、チップ入りのテフロンケージ (18×30×12cm) に、6～8匹ずつ収容した。繁殖個体は、同腹兄妹を一对として同じケージに常に同居させた。動物室の室温は 24±1°C、相対湿度 65～75%、12時間照明 (午前 8 時～午後 8 時) で、飼料は、日本クレア製 CA-1 を与え、飲料水としては、動物用オーレオマイシン (武田) を 0.02% 添加した水道水を与えた。

ケージの交換と、水のみ洗滌は週 2 回、ふたの交換は月 1 回、定期的に行なった。

*1 この集団のマウスは、本来、乳癌ウイルス (MTV) をもっていた。すなわち、出生直後から、MTV をもたない C57BL/6 に哺乳 (foster nursing) された未経産個体は、12カ月齢までに 1 匹も乳癌の発生をみなかったのに対し、それ自身の母親に哺乳された未経産個体の 12カ月齢における発癌率は、およそ 50% であった [12]。

III. 選抜交配方式

各世代において、SHN では、できる限り早く発癌した母親の子を、SLN では逆に終生発癌しなかったか、あるいはできる限り遅く発癌した母親の子を次代のための交配に用いた。

その結果、各世代における基礎集団の発癌性は Table 1 に示すようになった。すなわち、SHN においては、次代生産のために用いられた繁殖個体の平均発癌率は、当然 100% で、発癌月齢は、F10 までは 6 カ月以上のことが多かったが、F11 以降は 6 カ月以下となった。これら選抜個体の平均発癌月齢と、全群のそれとの差は 1～2 カ月であった。SHN において母親の乳癌発生時に、まだ十分な子孫が確保されていない場合には、随時、乳癌を外科的に除去して繁殖を続けさせた。

SLN においては、終生発癌しなかった個体のみを、次代生産のための繁殖個体として用いるのがもっとも望ましいが、あとにも述べるように、このような個体の繁殖性は一般に低いこともあって、それだけでは必要な数の子孫が残せないため、できる限り遅く発癌した個体も、次代のための繁殖個体として用いた。実際には、選ばれた個体の 50% 以上が発癌個体のことが多く、その発癌月齢は 9～15 カ月齢であった。各世代における選抜個体の割合 (proportion of selection) は、F20 までは SHN が SLN より小さかった。なお両系統とも、各世代において 2 産目の子を次代に用いることを原則とした。SHN では、これに関してとくに問題はなかったが、SLN では、2 産目の子が交配適期になった時点では、どの母親の子が選抜されるかまだ決定されないため、数カ月以上にわたってかなり多数の繁殖マウスを維持しなければならず、それがしばしばきわめて困難であったためと、2 産目のみでは必ずしも十分な子数が確保されないために、実際には、とくに F15 以降、3～5 産目の子が次代のために用いられることが多かった。

交配は前述のように兄妹交配とし、初産日齢が発癌月齢に影響する [13, 18] ところから、雌雄を常に同居させ、乳癌発生、あるいは 6 産まで追いかけて妊娠 (concurrent pregnancy) をさせた。交配開始後、あるいは前回分娩後 2 カ月経過しても妊娠しなかった個体は繁殖を中止した。

産子は 1 腹子が 8 匹以上の場合には 8 匹まで減らしたが、8 匹以下のときは、とくに子数の調整は行なわなかった。

IV. 乳癌の発生

Fig. 1. Mammary tumorigenesis in breeders of each strain.
SHN, SLN. Mean value at P generation.
See Table 1 on the number of mice examined in each generation.

Fig. 2. Mammary tumorigenesis in virgins in each strain.
SHN, SLN. Number of mice is 21-60 in each generation.

すべての経産個体は、毎週1回触診により、生涯発癌をチェックした。乳癌の大きさは2長径の幾何平均値であらわした。F12-20においては一代おきに、それ以後は数世代おきに未経産個体の乳癌発生もチェックした。

1. 経産個体

繁殖個体における乳癌発生率および発癌月齢の変化を Fig. 1 に示す。SHN においては、乳癌発生率は、世代を経るに従って上昇し、F10以降は、ほとんどすべての個体が発癌した。また発癌月齢も世代とともに早まり、これも F11 以降、ほぼ一定して6~7カ月となり、P世代との間に3カ月近くの差の認められる世代が多かった。

一方、SLN においては、発癌率、発癌月齢とも世代間の変異は大きく、選抜の効果は必ずしも顕著ではなかったが、発癌月齢の若干遅れる傾向が認められた。F23以降、系統維持の必要上、基礎集団のサイズを大きくする目的から、比較的早い時期に発癌した個体も、次代のための基礎集団に加えられたため、発癌率は急激に上昇している。

なお、未発癌個体の寿命は、両系統とも、6~15カ月であったが、そのばらつきは著しく大きかった。

2. 未経産個体

両系統における未経産個体の乳癌発生率および発癌月齢を Fig. 2 に示す。SHN では F12 以降、90%以上の発癌率と、8~9カ月の発癌月齢を示した。

SLN では、経産の場合と異なり、未経産個体では、選抜の効果は顕著で、乳癌発生率は10~20%、発癌月齢は14~18カ月であった。

未発癌個体の寿命は、SHN, SLN それぞれ8~14カ月、13~19カ月であったが、経産の場合と同様、各世代とも、個体間のばらつきは著しく大きかった。

V. 乳癌の性質

1. 乳癌の組織像

両系統とも、できる限り多くの乳癌を組織学的にチェックしたところ、すべて adenocarcinoma と認められた。また SHN マウスの乳癌について、さらに詳細に分類すると、adenocarcinoma type A, B, AB が、それぞれ15.1%, 51.6%, 33.3%であった [26]。

2. 個体あたり乳癌発生数

両系統とも、死亡時までの繁殖個体あたり最も多い乳癌発生数は4ケであった (SHN, 18%; SLN, 1.5%)。一方、1ケしか発癌しなかった個体は、SLN ではおよ

Fig. 3. Growth curves of mammary tumors from each strain transplanted into hosts with different hormonal conditions. 3AP: isologous grafts of 3 pituitaries, ovx: ovariectomized [21].

そ60%, SHN では28%であった [27]。

未経産個体では、SHN の40%以上が3~4ケ発癌したのに対し、SLN ではすべて1ケ (75%) か2ケ (25%) であった [27]。

3. 乳癌の増殖パターン

最初に発生した乳癌の増殖の変異は両系統とも著しく大きく、また増殖のカーブに明らかな系統差は認められていない [21]。また二番目以降に発生した乳癌の増殖との関係にも一定の傾向は認められなかった。

一方、約 10^6 ケのこれらの乳癌細胞を、種々のホルモン条件にある、それぞれの系統の host、すなわち正常雌、正常雄、卵巣除去雌、下垂体3ケを腎皮膜下に移植された雌、に移植したところ、両系統とも host の違いによる乳癌の増殖のパターンに差はみられず、これらの乳癌のホルモン依存性は明らかでなかった。しかし移植された乳癌細胞が palpable になるまでの期間は、SHN では1週間であったのに対し、SLN では3週を要し

SOURCE OF MAMMARY TUMORS	NO. OF TUMORS TRANSPLANTED	LATENCY PERIOD (WEEKS)	MAMMARY TUMOR WEIGHT (G)
S H N	6	3.0±0.0	1.7±0.6
S L N	6	4.2±0.5	0.6±0.2

Fig. 4. Growth curve of mammary tumors of each strain transplanted into intact female nude mice (means±S.E.M.) [16].

た (Fig. 3) [21]。

さらに各系統の乳癌細胞を、正常雌ヌードマウスに移植したところ、すべて take したが、その時期は、SHNの方がSLNより早く(3.0および4.2週)、また増殖もSHNの方が著しかった (Fig. 4) [16]。これら一連の移植実験の結果、SHN乳癌の増殖の potential はSLNのそれより高いことがわかった。

4. SHN 乳癌の、制癌剤スクリーニングへの応用

いうまでもなく、すべてのヒトの癌は、“自然発生”であって、移植系になった癌とは、多くの点で全く異なった性質のものである。それにもかかわらず、制癌物質のスクリーニングには、もっぱらこの移植癌が用いられてきている。最近、これに対し、SHN マウスに発生した乳癌を外科的に摘出し、ただちにその一部(約1mm³の小片、あるいは10⁵ヶの細胞)を摘出部位に戻し、種々の被検物質を局所的、あるいは全身的に投与して、その制癌性をスクリーニングする方法が確立された [35, 36]。SHN マウスは、経産、未経産とも、発癌率は高く、発癌月齢は早く、その変異も比較的小さいため、この方法のためにもきわめて有用な系統と思われる。

5. 肺転移

ヒトの乳癌と、マウスなどにおける実験的乳癌とのもっとも大きな違いの一つは、前者では、肺、骨、肝などへの転移が多く、これが治療上もっとも深刻な問題となっているのに対し、後者ではその転移のきわめて稀なことである。マウスの自然発生乳癌は、今後とも、もっとも重要視されるべき乳癌のモデルであるから、その乳癌の転移率を高めることができれば、モデルとしての効用は著しく増すと考えられる。この観点から、転移率を高める一つの試みとして、SHN マウスに発生した乳癌を外科的に摘出して延命を図った際の、肺への転移をチェックした。乳癌発生マウスを無処置のままでおき、死亡した時点における肺への転移は39匹中1匹であったが、乳癌を摘出して延命を図ったマウスにおける肺転移は43匹中10匹で、著しい転移の増加をみた。個体あたり発生乳癌数はおおよそ3ヶで、肺転移をみた個体と、転移のない個体で差はみられなかった [39]。

一方、C3H/HeNSa 系雌マウスでは、自然発生乳癌の肺転移率は39.4% (26/66) という報告があり [32]、此の点に關しての系統差の存在が示唆された。

VI. 発 育

両系統マウスの発育曲線は Fig. 5 に示す通りで、雌雄とも100日齢以降で、SLNの方が若干重くなる傾向が認められた [27]。

VII. 乳腺の発育

1. 正常乳腺および HAN*² の発育

ホルマウント標本でみる限り、未経産個体の乳管の分枝、発育には系統間にとくに差はみられない。しかし乳腺胞系の発育は、SHN では月齢とともにさかんとな

*² 乳腺における HAN (hyperplastic alveolar nodules) (Fig. 6-3) は、正常乳腺の乳腺胞系が局所的に異常増殖したもので、いわゆる乳癌の前癌症状と考えられており、ある月齢以上のすべての乳癌高発系マウスの乳腺に認められる。HAN は、組織学的にも細胞学的にも、正常な乳腺胞系と全く変わらず、高いホルモン依存性を示す。しかしその増殖能、ないしホルモンに対する反応性は、HANの方が正常乳腺胞より著しく高い。しかし個々の HAN の性質はさまざまで、もちろん HAN のすべてが乳癌になるわけではない [5, 6]。

Fig. 5. Growth curve of females and males in each strain (means $\pm$ S. E. M.) [27].

るのに対し、SLN では妊娠しない限り、乳腺の発育はほぼ乳管系のみ止まる (Fig. 6)。

また HAN 形成も、SHN では、月齢とともに増加するが、SLN では、6～7カ月齢でようやく10%程度の個体に HAN 形成がみられた (Fig. 7)。SHN における個体あたりの HAN 数は、月齢のすすむにつれて増加する傾向を示した (Fig. 7)。

2. 乳腺発育とホルモン

F1 および F7 において、両系統の卵巣除去雌マウス (3カ月齢) に、estrogen depot (25 μ g) + progesterone depot (5mg) を、週1回、4週間皮下注射し、乳腺胞の発育を比較した。F1 では両系統とも100%の乳腺胞の形成を示したが、F7における形成度は、SHN の100%に対し、SLN では33%であった [19]。

また、28～32日齢の両系統の雌マウスに、estradiol-17 β (1 μ g) + progesterone (1mg) を3日間前処置 (皮下注射) し (この時点では、両系統の乳腺とも乳管のみよりなり、発育に差は全くみられない)、翌日より Banerjee *et al* [1] の方法により、片側胸部第二全乳腺を Waymouth の培養液中で種々の期間培養し、乳腺の発育を比較した。培養液に添加されたホルモンは、

- 1) Insulin (5 μ g/ml), aldosterone (1 μ g/ml), estradiol-17 β (1ng/ml), progesterone (1 μ g/ml), ovine-prolactin (5 μ g/ml), bovine-GH (5 μ g/ml)
- 2) Prolactin の代りに Human placental lactogen を、
- 3) Estrogen あるいは progesterone の濃度を10倍に、
- 4) Prolactin, GH をラット由来のものに、などである。どのホルモンの条件においても、乳腺胞系の発育に、顕著な効果の違いはみられなかったが、いずれの場合にも、SHN における発育は、SLN におけるよりはるかに著しかった。この系統間における違いは、主としてどのホルモンに基くものであるか、すなわち、上記各ホルモンのうち、どれがもっとも重要なホルモンであるかについては、引き続き検討中である [40]。

3. 血中 prolactin レベル

Prolactin は、マウスにおいても正常乳腺の発育や乳癌の発生にとって、もっとも重要なホルモンである [5, 6, 14, 38]。前述のように、乳腺の発育に著しい差のある SHN, SLN においては、下垂体から分泌される prolactin のレベルに差のあることが考えられる。この観点

Fig. 6. Representative wholemount preparations of mammary glands in each strain (hematoxylin, $\times 5$) [27].

1. SHN virgins at 3 months.

2. SLN virgins at 3 months.

3. SHN virgins at 7 months.

4. SLN virgins at 7 months.

↑ indicates HAN.

から、未経産、妊娠、泌乳の各期における血中 prolactin レベルを radioimmunoassay により測定した。結果は Fig. 8 に示す通りで、およそ2カ月齢の発情期においては、SHN は SLN より高く、妊娠 19 日目にはその逆 [27]、泌乳 4、9 日目では、系統間に差なく [15]、必ずしも一定の傾向は認められていない。このことは、乳癌の発生を指標としての選抜が、下垂体からの prolactin 分泌能にはあまり影響をおよぼさなかったことを示唆するものである。事実、乳癌の発生に対しては、体内の prolactin レベルより、次にのべる乳腺の反応性の方がより重要であることが、実験動物においても [14]、ヒトにおいても [9] 指摘されている。

4. 乳腺の prolactin に対する反応性——prolactin レセプター

Prolactin に対する乳腺の反応性をチェックするため、乳腺の発育がまだ乳管のみで、系統間に差のみられない 50 日齢の正常雌マウスの腎皮膜下に、両系統間 F1 の下

垂体を 3 ケずつ移植し (移植された下垂体からは主として prolactin のみが持続的に分泌される)、20 日後に乳腺の発育をホルマウントで調べたところ、SHN では SLN よりその発育は、はるかに著しかった [27]。このことは、乳腺の prolactin に対する反応性において、SHN は SLN より高いことを示すが、これが prolactin の乳腺に対する直接作用のみとはいえず、卵巣からの estrogen や progesterone 分泌に変化をきたした結果をも考慮しなければならないことはいうまでもない。

ここ数年、ホルモンの反応性の指標としてのレセプターの測定がきわめてさかんであり、そのような目的から、乳腺や乳癌の細胞膜における prolactin レセプターの問題についても多くの報告がみられる [8, 20]。しかし、prolactin レセプターは、必ずしも細胞の反応性のよい指標とはならないことが指摘されている。前述のように、乳腺の発育のみならず、泌乳能力や、乳癌の発生率などにおいても著しい差のある SHN, SLN で、泌乳 4 日

Fig. 7. Formation of mammary hyperplastic alveolar nodules (HAN) in the right third thoracic gland of each strain (means $\pm$ S.E.M.). SHN, SLN.

a Number of mice with HAN/Number of mice examined.

b Number of estimates.

目および9日目の乳腺細胞の prolactin レセプターを測定したところ、その結合能、結合部位数、affinity のいずれにも差はみられなかった [15]。

VIII. 繁殖性

1. 膣開口日齢と体重

Table 2 に示すように、SHN は SLN より膣開口日齢は早く、膣開口時体重は小さかった。また両系統とも開口日齢と体重の間に有意の相関関係が認められた。

2. 発情周期の型

膣開口直後における発情周期の型は、不規則ながら4～6日ごとに発情を繰り返す、系統間に明らかな違いは

Fig. 8. Plasma prolactin levels during the different reproductive states in each strain (means $\pm$ S.E.M.). SHN, SLN. [15, 27].

みられなかった。しかし、3～4カ月齢においては、Fig. 9 に示すように、SLN ではかなり規則的な周期を繰り返すのに対し、SHN では10日以上長い発情間期が頻繁にあらわれるようになった。平均発情周期および発情間期の長さは、SHN では 8.3 ± 0.3 日、 6.0 ± 0.4 日、SLN では 4.6 ± 0.1 日、 2.5 ± 0.1 日であった [24]。同様な発情周期の型における明らかな系統差が、別の乳癌高発系の C3H/He と、低発系の C57BL/6 の間にもみられている [17]。

3. 繁殖成績

Fig. 10 に示すような、繁殖性の指標としての12の形質について、各世代、各個体、各産次別に測定した。

常に雌雄を同居させて追いかけて妊娠を図る交配システムにおける分娩間隔(A)、分娩時母体重(B)には、両系統とも、選抜に伴う著しい変化はみられなかった。

SHN の産子数(C)は、F10 まで若干低下したが、それ以降はほぼP世代の値を維持した。SLN では、世代の進行とともに、産子数は明らかに低下した。

Table 2. Age and body weight at vaginal opening in each strain (means $\pm$ S. E. M.)

Strain	No. of mice	Age(a) (days)	Body weight(b) (g)	r_{ab}
SHN	20	26.7 $\pm$ 0.6	15.1 $\pm$ 0.3	+ 0.789***
SLN	20	33.0 $\pm$ 0.5	19.2 $\pm$ 0.2	+ 0.488*

*** $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

Fig. 9 Representative patterns of estrous cycles at 3-4 months of age in each strain. E, estrus ; M, metestrus ; P, proestrus ; D, diestrus.

0日齢子体重(D)には、系統間、世代間に著しい違いはみられない。SHN の12日齢子体重(E)は、選抜がすすむにつれて著しく増加した。SLN では、F20までP世代のレベルを維持し、あまり変化しなかったが、その後上昇した。20日齢子体重(F)は、F20まではSHNではほぼP世代のレベル、SLN では若干低いレベルを維持したが、両系統ともF21以後上昇した。

12日齢子増体率(G)において、SHN では選抜のすすむにつれてほぼ直線的に増加した。SLN ではF21-25を除いて、とくに顕著な変化はみられなかった。20日齢子増体率(H)において、SHN では、12日齢の場合とほぼ同様の傾向が認められたが、SLN においては、F15までP世代より若干低かったが、F21以降、逆にP世代より高い値を示した。

12日および20日齢までの育成率(I,J)において、SHN

ではF15までP世代より低かったが、それ以降、P世代のレベルを維持した。これは、外科的手術による乳癌の除去をできるだけ早期、かつ頻繁に行なうよう心がけたため、乳癌発生による哺育能力の低下を防ぎ得た結果と思われる。これに対し、SLN ではF20まで育成率は常に低く、F25以降上昇した。両系統における高い死産率(K)は、主に1産目のそれに起因する。死産子率(L)はSHN で低かった。

以上の結果、乳癌の発生を指標とした選抜は、繁殖性のうち、子の体重や増体率に、とくに著しい影響をもたらしたことが知れた。

4. 繁殖性と乳癌発生率との関係

前述のように、SLN においては次世代のために用いる基礎マウスの選抜を厳重にすると、えらばれた個体の繁殖性は一般に低いため、次世代に必要な数の子を確保

Fig. 10. Characteristics as the indices of reproductivity in each strain. SHN, SLN. Mean at P generation.

$$G, H : \frac{\text{Av. wt. of pups on day 12 or 20} - \text{Av. wt. of pups on day 0}}{\text{Av. wt. of pups on day 0}} \times 100$$
$$I, J : \frac{\text{Number of pups on day 12 or 20}}{\text{Number of pups on day 0}} \times 100$$

することがしばしば困難となった。そのため選抜の基準をゆるめると、次世代の確保が可能になると同時に、その世代の乳癌発生率は急速に増加する。このようなジレンマを持ちつつ同系統 (SLN) は維持されているが、はたして、繁殖性のうち、どの形質が乳癌発生と密接な関係をもっているかを知るため、F2-F28 における各世代の乳癌発生率と上記各形質との間の単純相関、および産次数あるいは 0 日齢子体重を一定にした際の偏相関を算

出したところ、12 日、20 日齢の子体重や増体率と乳癌発生率の間に有意の相関が得られた [11]。このことは、SHN において、選抜の結果、繁殖性のうち、とくに 12 日、20 日齢子体重や、増体率の上昇が顕著であったこと、および SLN において F23 以降、乳癌発生率の上昇 (Fig. 1) に伴って、12 日、20 日齢子体重 (Fig. 10-E, F)、および増体率 (Fig. 10-G, H) が上昇していることからもうなづける。すなわち、これらの結果は、繁

Fig. 11. Mammary tumorigenesis in F1-hybrid females between SHN and SLN. * Average onset age of tumors with S.E.M.

殖性の中では母親の泌乳性が乳癌発生の一つの大きな要因であることを示すものである。その理由としては、①泌乳能力と乳腺実質量とは平行関係にあること[3, 4, 25], すなわち泌乳能力の高い個体は乳腺実質も多く、それだけ乳腺細胞の癌化の危険度は大きいと考えられる。②マウスの乳癌発生には、乳汁、その他を通して子に伝えられる乳癌ウィルス (MTV) が一つの主要な要因となるが、泌乳能力の高い——ミルク生産量の高い——個体ほど、子に伝えられる乳癌ウィルス (MTV) の量も多いであろうこと、などが考えられよう。

IX. 泌乳能力

前述のように、12日、あるいは20日齢の子体重や子増体率が、SHN では、選抜のすすむにつれて上昇した。このことは乳癌の発生を指標としての選抜が泌乳能力の向上を伴ったことを示唆する。この点をさらに確かめるため、両系統の間の F1 を作り、それぞれの母親に哺乳させたところ、12日齢子体重、増体率とも、SHN に哺育された (SHN x SLN) F1 は、SLN に哺育された (SLN x SHN) F1 より有意に高い値を示し、SHN の泌乳能力は SLN のそれよりすぐれていることが知れた[27]。

X. 乳癌ウィルス

乳癌の発生を指標としての選抜が、マウスの乳癌発生にとって主要な要因である乳癌ウィルス (MTV) の活性にどのような影響をおよぼしたかを検討する一環として、両系統マウスの F1 をそれぞれの系統の母親に哺育させ、その乳癌発生率をチェックした。その結果、Fig. 11 に示すように、SHN に哺育された (SHN x SLN) F1 では、SLN に哺育された (SLN x SHN) F1 より

はるかに高い乳癌発生を示した。F1 の遺伝的素性は同じと考えられるから、この乳癌発生率や発癌月齢における差は、母親によって伝えられた MTV の活性の差によるものと考えられる。この結果は、乳癌の発生を指標としての選抜が MTV 活性にも違いをもたらしたことを示す。ただし、これが、伝えられた MTV の量によるものか、個々の MTV の質に差異を生じたのか、あるいはその両者によるものであるかは明らかでない。これらの点は、目下検討中である。

最近、MTV の抽出技術の進歩とともに、MTV を免疫学的に測定する方法が急速に発展してきた。SHN, SLN 両系統の 1~3 産における乳汁中の MTV 抗原を immunodiffusion test によってチェックしたところ、SHN では 100% (18/18)、SLN では 83% (10/12) に、抗原の存在が認められた[2]。

また、同じテストによって、(BALB/c x SHN) F1, (BALB/c x SLN) F1, およびそれらの戻し交配一代 (BC₁) の乳汁中、さらには、SHN, SLN 両系統の雄の前立腺および精のうにも MTV の存在が認められた[37]。これらの結果は、SHN, SLN の雄も MTV をもち、それが次代に伝えられる可能性を示唆するものである。

さらに、MTV は、発癌因子としてのみではなく、prolactin 分泌[33]や、prolactin に対する乳腺の反応性[23]にも関与することが知られており、これらの面からの MTV 研究の重要性が強調されている[10]。

XI. 免疫応答性

他の癌におけると同様、乳癌の発生に対しても、個体の免疫能が一つの要因として注目されつつある。事実、SHN マウスの免疫能を高めることによって乳癌の発生

を抑制し[22], 逆に, SLN マウスの免疫能を低めることによって乳癌の発生を促進させ得た[7].

SHN, SLN 両系統の免疫応答性をチェックするため, PHA, ConA, LPS に対する脾リンパ球の応答, SRBC に対する脾の抗体産生細胞と足臍反応, BCG 感作後の PPD に対する足臍反応などが系統間で比較された. SHN 雌において, PHA に対する脾リンパ球の反応が, SHN 雄および SLN 雌雄より低く, また PHA に対する足臍反応は高かった. そして SHN 雌におけるこの PHA 反応は, 乳癌発生の頃にとくに顕著で, 両者の間の平行関係がうかがわれた. SRBC に対する抗体産生と遅延型の反応, および BCG に対する遅延型の反応では, 両系統の間に差がなく, いずれも高い応答性を示した[29].

また, Carbon Clearance テストにおいて, SHN は SLN より clearance の低い傾向が認められており[28], SLN の方が SHN よりマクロファージ活性の高いことが示唆された.

おわりに

これまでの一連の研究により, 乳癌の発生を指標としてのマウスの選抜は, 正常乳腺の発育, ホルモンに対する乳腺の反応性, 繁殖性, 泌乳性, MTV 活性, 免疫応答性など, 乳癌の発生に直接, 間接に関与する形質に著しい変化をもたらしたのみならず, 発生した乳癌の増殖能にも影響をおよぼすことが知れた. 同一の祖先をもち, かつ多くの点で, その特性を異にする SHN, SLN を適宜比較しつつ, 種々の乳癌研究に用いることはきわめて有効と思われる.

樽谷和男薬効試験部長の絶えざる御助力に感謝する.

著者の研究室における両系統の確立, 維持, およびこれに関する研究は, 長年にわたる文部省科学研究補助金(がん特別研究Ⅰ: 川俣班)の助成の下, 矢内玲子博士, 谷口 寿, 中島裕子両氏の協力によって行なわれているものである.

文 献

- [1] Banerjee, M. R., Wood, B. G., Lin, F. K. and Crump, L.R. (1976). Organ culture of whole mammary gland of the mouse. TCA Manual 2, 457-462.
- [2] Imai, S., Morimoto, J. and Tsubura, T. (1979). Mode of MTV-antigen expression in the milk from five inbred mice strains established in Japan. Gann, (投稿中).
- [3] Moon, R. C. (1962). Mammary gland cell content during various phases of lactation. Amer. J. Physiol., 203, 939-941.
- [4] Nagai, J. and Sarkar, N. K. (1978). Relationship between milk yield and mammary gland development in mice. J. Dairy Sci., 61, 733-739.
- [5] 長澤 弘 (1971). 実験的乳癌に対する prolactin の役割(その1). ホルモンと臨床, 19, 625-629.
- [6] 長澤 弘 (1975). プロラクチンと乳癌(綜説). 代謝, 12, 1028-1036.
- [7] Nagasawa, H. (1977). Effect of immunosuppression of spontaneous mammary tumorigenesis in mice. IRCS Med. Sci., 5, 219.
- [8] 長澤 弘 (1978). 乳癌と prolactin receptor (綜説). 医学のあゆみ, 105, 651-657.
- [9] Nagasawa, H. (1979). Prolactin and human breast Cancer: A review. Europ. J. Cancer, 15, 267-279.
- [10] Nagasawa, H. (1979). Causes of species differences in mammary tumorigenesis. Med. Hypoth., 5, 499-510.
- [11] 長澤 弘 (1979). マウスにおける乳癌発生率と繁殖性の関係. 第14回日本実験動物学会(福岡).
- [12] 長澤 弘・藤本政晴. 未発表.
- [13] Nagasawa, H. and Kureitani, K. (1966). Influence of primiparous age and litter number on the time of mammary tumor appearance. Gann, 57, 491-496.
- [14] Nagasawa, H. and Yanai, R. (1978). Normal and abnormal growth of the mammary gland. In Physiology of Mammary Glands. (Yokoyama, A., Mizuno, H. & Nagasawa, H., editors), Jap. Sci. Soc. Press/Univ. Park Press, Tokyo/Baltimore, 121-159.
- [15] Nagasawa, H. and Yanai, R. (1978). Mammary gland prolactin receptor and pituitary prolactin secretion in lactating mice with different lactational performance. Acta endocrinol., 88, 94-98.
- [16] 長澤 弘・矢内玲子, 未発表.
- [17] Nagasawa, H., Fujimoto, M. and Kureitani, K. (1967). Normal growth and reproduction of a high and a low mammary tumor strains of mouse. Gann, 58, 115-123.
- [18] Nagasawa, H., Fujimoto, M. and Kureitani, K. (1968). Further study on the influence of primiparous age and litter number on the mammary tumor age in mice. Gann, 59, 217-222.
- [19] 長澤 弘・小杉山基昭・樽谷和男(1971). 乳がんの発がん性を指標としたスイスアルビノマウスの選抜と, それに伴う繁殖性および乳腺発育の変化. 実験動物, 19, 87-92.
- [20] Nagasawa, H., Sakai, S. and Banerjee, M.R. (1979). Prolactin receptor (minireview). Life Sci., 24, 193-208.
- [21] Nagasawa, H., Tokuzen, R. and Nakahara, W. (1976). Growth of mammary tumors in a high and a low mammary tumor strains of mice established from the same basal stock of Swiss albino. Gann, 67, 913-915.
- [22] Nagasawa, H., Yanai, R. and Azuma, I. (1978). Suppression by *Nocardia rubra* cell wall skeleton of mammary DNA synthesis, plasma prolactin level and spontaneous mammary tumorigenesis in mice. Cancer Res., 38, 2160-2162.
- [23] 長澤 弘・宮本盛吉(1972). プロラクチンに対するマウス乳腺の感受性におよぼす乳癌ウィルスの影響. 日畜会報, 43, 519-523.
- [24] Nagasawa, H., Yanai, R., Taniguchi, H. and Hayaishi, S. (1979). Mammary tumour incidence in relation to the pattern of oestrous cycles in mice. Hormone Res., 10, 123-129.

- [25] Nagasawa, H., Yanai, R., Kosugiyama, M. and Fujimoto, M. (1969). Correlation between some characteristics as the indices of lactational performance of mouse. *Jap. J. Zootech. Sci.*, **40**, 61-66.
- [26] Nagasawa, H., Morii, S., Tsubura, A. and Yanai, R. (1977). Relative importance of genotype and type of mammary tumor virus on mammary tumorigenesis in mice. *Europ. J. Cancer*, **13**, 1119-1222.
- [27] Nagasawa, H., Yanai, R., Taniguchi, H., Tokuzen, R. and Nakahara, W. (1976). Two-way selection of Swiss albino mice for mammary tumorigenesis: Establishment of two new strains (SHN and SLN). *J. Natl. Cancer Inst.*, **52**, 425-430.
- [28] 中村玲子・徳永 徹・私信.
- [29] 中村玲子・徳永 徹・赤川清子・清水孝二・長澤 弘 (1977). 乳癌高発系および低発系マウス(SHN および SLN)の免疫応答の比較. 第36回 日本癌学会総会記事(東京).
- [30] 日本実験動物研究会系統部会 (1973). マウス近交系の公表について (SHN). *実験動物*, **22**, 271-273.
- [31] 日本実験動物研究会系統部会 (1975). マウス近交系の公表について (SLN). *実験動物*, **24**, 123-124.
- [32] Sato, H., Kuroki, T., Narisawa, T., Fujii, K., Suzuki, M., Takahashi, T., Watanabe, K. and Goto, M. (1965). Characteristics of an inbred substrain (C3H/HeNsA) of C3H mouse, with reference to the mammary cancer incidence and metastasis. *Gann*, **56**, 605-608.
- [33] Sinha, Y. N., Salocks, C. B., VanderLaan, W. P. and Vlahakis, G. (1977). Evidence for an influence of mammary tumour virus on prolactin secretion in the mouse. *J. Endocr.*, **74**, 383-392.
- [34] Staats, J. (1976). Standardized nomenclature for inbred strains of mice: Sixth Listing. *Cancer Res.*, **36**, 4333-4377.
- [35] Tokuzen, R. (1971). Comparison of local cellular reaction to tumor grafts in mice treated with some plant polysaccharides. *Cancer Res.*, **31**, 1590-1593.
- [36] Tokuzen, R., Kureitani, K. and Nakahara, W. (1974). Effect of cyclocytidine on spontaneous mammary adenocarcinoma of mice. *Gann*, **65**, 89-91.
- [37] Tsubura, Y., Imai, S., Hilgers, J. and Fine, D. L. (1978). Transmission of DD/Tbr mouse mammary tumor virus by maternal and paternal routes. 12th Int. Cancer Congr., Buenos Aires.
- [38] Welsch, C. W. and Nagasawa, H. (1977). Prolactin and murine mammary tumorigenesis: A review. *Cancer Res.*, **37**, 951-963.
- [39] 矢内玲子, 私信.
- [40] 矢内玲子・長澤 弘・未発表