Breeding of Four-way Cross Rats among Inbred Strains and their Characteristics

Hisao TANASE, Naohika MATSUNUMA, and Yoshio SUZUKI

*Laboratory Animal Science and Toxicology Laboratories, Sankyo Co., Ltd.
717 Horikoshi, Fukuroi-shi, Shizuoka-ken 437, Japan*

(Received for publication : March 28, 1983)

The present study is an attempt to utilize hybrids among several inbred strains of rats as useful animals for the studies of effectiveness and toxicology on drugs. Four-way crosses were made among the LEW, WM, F344 and DRY strains of rats, and their characteristics were examined. From the breeding data of diallel crosses among these four strains and reciprocal crosses among their F_1 hybrids, the mating type indicating the highest reproductivity was (LEW $\times$ WM) $F_1 \times$ (F344 $\times$ DRY) F_1 . These four-way crosses were designated as LWFD. The reproductivity of this mating type was exceedingly higher than those of four strains. In order to examine the susceptibility to thiamine hydrochloride, the acute toxicity test was practiced in inbred strains, F_1 hybrids and four-way crosses. As a result, in spite of highly heterogeneous population, the LWFD did not show a peculiar response in comparison with four strains and their F_1 hybrids. Furthermore, hematological and clinico-biochemical values of the LWFD did not show a large variability as presumed. From these results, it is suggested that hybrids such as four-way crosses among inbred strains can be used as useful animals for the studies of effectiveness and toxicology on drugs.

4 元交雑ラットの検定用動物としての利用

棚瀬 久雄・松沼 尚史・鈴木 善雄

三共株式会社安全性研究所

実験動物はその遺伝的統御方法により近交系，ミュータント系，クローズドコロニー交雑群に分類され[13]，特に検定用動物にはクローズドコロニーと一部の近交系が用いられている。実験動物としての価値は遺伝子組成の整一性または恒久性，特性，大量生産などの観点から論じられなければならないが，検定用動物は特に集団の遺伝的構造の恒久性とその集団に遺伝的分化がないという共通性を満足できる形で大量生産が可能なことである[9]。クローズドコロニーは継代中に遺伝的に変化する可能性があり，形質や反応の恒久性に必ずしも問題が

ないわけではない[14, 15, 19]。一方，近交系については一般的に繁殖力が低いので大量生産の面で難点がある。さらに薬物などに対する感受性には近交系間で大きな差が見られることもあり[5, 11, 12]，薬物の有効性や毒性試験の場合には1系統のみの結果からその種全体の反応性を推察することは困難である。しかしながら特に毒性試験のような場合にはいくつかの系統を用いて試験を行なうのは実際的に困難である。

これに対して近年使用されるようになってきた近交系間の F_1 交雑群は有利な点を有している。その一つはへ

テロシス[1,16]。である。すなわち、繁殖力に優れ、強健で、飼育管理に多少の変化があっても近交系のように影響を受けにくいということである。さらに F_1 交雑群は近交系に見られなかった特性を有するものが多く[8]、整一性と特性を有することから研究用動物としての価値も高い。このような観点から近交系間の F_1 交雑群が加齢・老化を含む色々な研究分野で使用されるようになってきた[3,4]。そこで、この考え方をさらに進めて起源の異なるいくつかの近交系間の F_1 交雑群を検定用動物として利用できないであろうかと考えた。

この実験は新しい検定用動物の育成を目的にして4系統ラットの交雑群、すなわち4元交雑群について繁殖効率を調べ、薬物に対する感受性ならびに血液・臨床生化学的検査を行ない、検定用動物としての適性を検討したものである。

材料および方法

1. 実験動物

実験には三共安全性研究所のバリアシステムの環境下で系統維持されている LEW, WM, F344 および DRY の4系統ラットを用いた。LEW は Pennsylvania 大学より Simonsen Laboratories Inc. を経由して1973年に F_{39} で当研究所に導入されたもので、実験には F_{50-53} のものを使用した。WMは国立遺伝学研究所より1972年に F_{62} で導入され、 F_{71-76} のものを用いた。F344 は米国の Charles River Inc. より1968年に導入したクローズドコロニーで、その後は兄妹交配で維持され、実験には F_{16-20} のものを使用した。DRY は日本ラット(株)でクローズドコロニーとして生産されている Donryu を1971年に購入し、近交系として育成途上にある F_{14-18} のものを使用した。

動物は温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ に統御されたバリア内で飼育され、 $3 \times 10^6\text{R}$ の $^{60}\text{Co}\gamma$ 線で滅菌したオリエンタル酵母工業(株)生産の CMF 固型飼料と 10ppm クロール水を与えた。

2. 交雑実験

最初に4元交雑群生産の種親となる F_1 を作出するための系統間交配の組合せを検討した。4系統間ですべての組合せの交配(diallel cross)を行ない、繁殖成績を調べた。各系統ともに13-16週齢の雌を61-64匹、10-20週齢の雄を13-16匹用いて1週間同居させた後に個別飼育し、出産・哺育させ、4週で離乳した。これらの繁殖成績をもとにして、交配から離乳までの期間に、交配に

使用した雌1匹が1週間あたりに生産した仔の数、すなわち、[離乳仔数/交配雌数/交配から離乳までの期間(8週間)]、を繁殖効率として比較した。

次にこの diallel cross の実験結果より比較的繁殖効率の優れた系統の組合せより得られた F_1 交雑群を8種類選出し、4つの組合せによる正逆交配を行ない、4元交雑群を作出した。各 F_1 組合せともに11-18週齢の雌雄をそれぞれ10匹ずつ用いて上記の F_1 作出の場合と同様に繁殖効率を調べた。なお、この実験では実際の生産ということを考慮に入れて、出産日に哺育仔数を12匹に調整することにした。しかしながら、出産母体数が少ないので哺育仔をすべて12匹に調整できず、10-12匹になった。

以上の交雑実験結果より4元交雑群作出に関して最も繁殖効率の優れた F_1 の組合せを選び出し、6週齢の F_1 雌と9週齢の F_1 雄を24匹ずつ用いて同様に10産までの経産実験を行なった。

3. 特性チェック

使用した LEW, WM, F344, DRY の4系統とこれらの交雑によって得られた F_1 ならびに4元交雑群について6週齢より18週齢までの体重を測定した。

5週齢の4系統および4種類の F_1 ならびに4元交雑群の雌雄をそれぞれ32匹ずつ用いてビタミンB₁塩酸塩の3%等張液を尾静脈内に投与して急性毒性試験を行ない、死亡率から Litchfield-Wilcoxon 法[10]により LD_{50} 値を算出した。

さらに10週齢の各系統、 F_1 ならびに4元交雑群の雌雄をそれぞれ10匹ずつ用いてエーテル軽麻酔下で腹部大動脈より採血を行ない、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、赤血球平均恒数(MCH, MCV, MCHC)、血小板数(Th)、白血球数(WBC)を求めた。また血液の一部は血清を分離し、日立726型自動分析機により、総ビリルビン量(T. bil)、総コレステロール量(T. chol)、総蛋白量(T. prot)、アルブミン量(Alb)、尿素窒素量(BUN)、GOT、GPT、アルカリ性フォスファターゼ活性(Alp)を測定した。

成 績

4系統間の diallel cross の繁殖成績を Table 1 に示す。雌1匹当りの1週間の生産数を指標にすると最も繁殖効率の高い組合せは $\text{DRY} \times \text{WM}$ 、次いで $\text{F344} \times \text{WM}$ 、 $\text{DRY} \times \text{F344}$ の順であった。逆に繁殖効率の低い組合せは $\text{WM} \times \text{DRY}$ 、 $\text{F344} \times \text{LEW}$ 、 $\text{LEW} \times \text{F344}$

Table 1. Breeding data in sixteen mating types among four inbred strains of rats

Mating type Female × Male		Fertile dam (%)	Number of newborns (Mean ± S. E. M.)	Nursing rate (%)	Reproductivity*
L EW	L EW	14/16 (87.5)	142 (10.1±0.6)	94.4	1.05
	WM	14/16 (87.5)	147 (10.5±1.0)	98.6	1.13
	F344	10/15 (66.7)	115 (11.5±0.7)	100.0	0.96
	DRY	13/16 (81.3)	149 (11.5±0.5)	99.3	1.16
WM	WM	12/13 (92.3)	113 (9.4±0.5)	99.1	1.08
	F344	13/16 (81.3)	138 (10.6±0.6)	93.5	1.01
	DRY	10/16 (62.5)	90 (9.0±1.0)	98.9	0.70
	L EW	13/16 (81.3)	139 (10.7±0.7)	100.0	1.09
F344	F344	14/16 (87.5)	133 (9.5±0.6)	100.0	1.04
	DRY	13/16 (81.3)	129 (9.9±0.4)	100.0	1.01
	L EW	11/16 (68.8)	122 (11.1±0.3)	99.2	0.95
	WM	16/16 (100.0)	176 (11.0±0.5)	100.0	1.38
DRY	DRY	15/16 (93.8)	158 (10.5±0.8)	94.3	1.16
	L EW	12/16 (75.0)	147 (12.3±0.8)	99.3	1.14
	WM	15/16 (93.8)	182 (12.1±0.4)	98.4	1.40
	F344	13/16 (81.3)	167 (12.8±0.6)	99.4	1.30

* The average number of offspring produced by a female parent for one week.

Table 2. Breeding data in eight mating types among reciprocal F₁ hybrids

Mating type Female × Male		Fertile dam (%)	Number of newborns (Mean ± S. E. M.)	Nursing rate (%)	Reproductivity*
LWF ₁ × FDF ₁		10/10 (100.0)	139 (13.9±0.4)	100.0	1.50
FDF ₁ × LWF ₁		10/10 (100.0)	124 (12.4±0.7)	100.0	1.45
LDF ₁ × FWF ₁		10/10 (100.0)	141 (14.1±0.6)	98.3	1.45
FWF ₁ × LDF ₁		10/10 (100.0)	121 (12.1±0.5)	100.0	1.37
DLF ₁ × WFF ₁		9/10 (90.0)	117 (13.0±0.4)	99.1	1.33
WFF ₁ × DLF ₁		10/10 (100.0)	120 (12.0±0.4)	100.0	1.46
DFF ₁ × WLF ₁		10/10 (100.0)	124 (12.4±0.8)	99.1	1.39
WLF ₁ × DFF ₁		10/10 (100.0)	130 (13.0±0.5)	100.0	1.50

* The average number of offspring produced by a female parent for one week.

LWF₁ means F₁ hybrid between female LEW and male WM, FDF₁ (female F344 × male DRY), and so on.

で、この原因は出産率の低いことに起因していた。なお、WMを雌にすると、効率が悪いようであったが、これは産仔数が少ないことによるものであった。正逆交配の差がはっきり見られる組合せもあるが、F344とLEWの正逆交配はともに繁殖効率が低いようであった。

4系統の diallel cross の結果から比較的繁殖効率の優れた LWF₁ (LEW ♀ と WM ♂ との F₁ 交雑群、以下、同様の表記を行なう)、FDF₁、LDF₁、FWF₁、

DLF₁、WFF₁、DFF₁、WLF₁ の8種類の F₁ 交雑群を選びだし、4組の正逆交配を行なった結果を Table 2 に示す。なお、最も繁殖効率の優れていた DWF₁ を除いた理由は、これを選びだした場合の交配相手が繁殖効率の悪い FLF₁ または LFF₁ となるからである。その結果、いずれの組合せにおいても出産率、産仔数、離乳率ともに高く、繁殖効率は非常に優れていた。最も優れた組合せは LWF₁ × FDF₁ と WLF₁ × DFF₁ であった。しかし前者の方の産仔数が多いことを考慮して、4元交

Table 3. Breeding data of the mating between female LWF₁ and male FDF₁

Birth order	Body weight of mating dam (g)	Fertile dam (%)	Litter size	Nursing rate (%)	Body weight of weanlings at 4 weeks of age (g)	
					female	male
1st	116.9±1.5	24/24 (100.0)	11.8±0.5	100.0	59.4±0.6	65.2±0.7
2nd	206.3±2.0	24/24 (100.0)	14.8±0.4	99.7	53.6±0.4	61.7±0.5
3rd	227.8±2.0	24/24 (100.0)	13.6±0.6	99.7	64.4±0.5	68.3±0.6
4th	254.6±1.5	19/23 (82.6)	12.9±0.9	99.6	60.9±0.6	65.7±0.6
5th	273.6±1.8	23/24 (95.8)	13.7±0.6	99.3	62.0±0.6	66.6±0.7
6th	277.9±2.0	22/23 (95.7)	13.2±0.5	98.2	62.5±0.5	66.4±0.7
7th	288.7±2.6	22/23 (95.7)	12.0±0.5	100.0	58.2±0.7	60.9±0.6
8th	290.8±3.3	21/23 (91.3)	10.1±0.2	100.0	68.2±0.7	75.3±0.9
9th	290.0±4.6	13/21 (61.9)	8.8±0.9	100.0	65.9±1.4	68.5±1.6
10th	291.4±6.7	7/21 (33.3)	4.9±1.5	100.0	67.7±2.7	75.3±1.7

The data are expressed as mean ± S. E. M.

Fig. 1. Body weight changes of female and male rats in each genotype.

雑の組合せを LWF₁×FDF₁ と決定した。これから生産された 4 元交雑群を以下 LWFD と表記する。

LWF₁ と FDF₁ の交配の組合せにおける 10 産までの経産実験の結果を Table 3 に示す。1～3 産までの出産率は 100% であったが、その後はやや減少を示し、4～8 産までは 83～91% であった。しかしながら、9 産以後は急激に減少を示した。平均産仔数は 1 産から 2 産にかけて増加を示し、2 産で 14.8 匹と最も多くなり、3～7 産までは 12.0～13.7 匹であった。しかしながら、その後は著明に減少を示した。離乳率は 10 産まで 98% 以上と安定した結果が得られた。生産された LWFD の 4 週齢における平均体重は、雌で 53.6～62.8 g、雄では 60.9～75.3 g と産次間でやや変動が見られた。

4 系統と LWF₁ および FDF₁ ならびに LWFD の雌雄の 6～18 週齢の平均体重の増加を Fig. 1. に示す。雌では LEW が最も大きく、次いで LWFD, FDF₁, DRY, LWF₁ の順で、WM は最も小さかった。これに対して雄では LWFD が最も大きく、その後の順序はほぼ雌と同様であった。なお、図には示さなかったが、LWFD の 30 週齢の体重は雌で 236±4.1 g、雄で 421±8.7 g、また 40 週齢ではそれぞれ 249±5.2 g、448±12.1 g であった。

4 系統と 4 種類の F₁ および 4 元交雑群の 5 週齢における平均体重と ビタミン B₁ 塩酸塩に対する急性毒性の LD₅₀ 値と 95% 信頼区間を Table 4 に示す。4 系統を比較すると雌雄ともに DRY が最も高い値を示し、最も低

Table 4. Susceptibility to thiamine hydrochloride in each genotype of rats

Classification	Symbol	Female		Male	
		Body weight (g)	LD ₅₀ (mg/kg)	Body weight (g)	LD ₅₀ (mg/kg)
Inbred	LEW	97.0±0.6	116.9 (110.4–123.8)	114.4±0.9	121.1 (112.8–130.1)
	WM	78.5±1.2	134.9 (126.2–144.2)	90.6±1.4	127.6 (118.8–137.0)
	F 344	79.8±0.9	141.9 (130.7–154.1)	90.6±1.3	118.9 (112.3–125.9)
	DRY	80.2±0.8	151.7 (141.2–162.9)	94.3±0.9	141.9 (130.5–154.2)
F ₁ hybrids	LWF ₁	92.7±1.3	143.5 (132.4–155.6)	107.3±1.3	134.0 (125.0–143.6)
	FDF ₁	100.4±1.3	122.8 (114.6–131.6)	110.5±2.3	125.6 (116.9–134.9)
	LDF ₁	96.9±0.9	132.7 (122.6–143.6)	110.2±1.3	125.0 (116.4–134.3)
	FWF ₁	86.6±0.5	129.4 (122.3–136.9)	95.2±0.7	121.1 (114.2–128.4)
4-way cross	LWFD	89.5±0.7	146.6 (134.4–159.9)	99.0±1.1	135.5 (124.8–147.2)
	FDLW	101.8±0.8	121.1 (112.8–130.1)	114.4±1.1	123.3 (113.3–134.2)
	LDFW	96.6±1.2	142.2 (131.1–153.9)	108.8±1.0	141.9 (131.8–152.8)
	FWLD	89.8±0.9	127.9 (119.3–137.1)	102.6±1.2	117.2 (109.6–125.3)

The data are presented as mean ± S. E. M.

Figures in parentheses show 95% confidence limit of LD₅₀ values.

Table 5. Hematological findings in each genotype of rats at ten weeks of age

Sex	Symbol	RBC (×10 ⁶ /cmm)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCH (pg)	MCV (μ ³)	MCHC (%)	Th (×10 ⁴ /cmm)	WBC (×10 ³ /cmm)
Female	LEW	8.55±0.13	16.3±0.08	47.3±0.21	18.9±0.38	55.5±0.69	34.5±0.19	64.6±1.45	7.8±0.37
	WM	7.69±0.05	16.0±0.05	45.0±0.21	20.9±0.11	58.5±0.34	35.7±0.13	64.2±0.82	3.2±0.13
	F 344	8.00±0.03	16.5±0.09	46.8±0.42	20.6±0.08	58.6±0.43	35.2±0.17	78.0±3.02	6.1±0.36
	DRY	7.08±0.08	13.7±0.33	41.2±0.61	19.3±0.34	58.2±0.43	33.1±0.36	63.7±1.14	7.9±0.38
	LWF ₁	7.82±0.05	16.3±0.10	45.8±0.25	20.9±0.06	58.6±0.17	35.6±0.13	69.5±0.89	5.1±0.27
	FDF ₁	7.43±0.07	15.7±0.10	44.1±0.28	21.1±0.08	59.4±0.27	35.5±0.11	84.5±1.02	7.3±0.30
	LWFD	8.00±0.09	16.2±0.15	46.5±0.34	20.3±0.10	58.2±0.33	34.9±0.14	73.6±1.27	6.6±0.34
Male	LEW	8.44±0.12	16.4±0.10	47.8±0.20	19.5±0.21	56.8±0.64	34.3±0.26	63.8±0.61	8.9±0.24
	WM	7.76±0.05	16.3±0.11	47.3±0.30	21.1±0.11	61.0±0.19	34.6±0.15	67.1±1.41	5.1±0.24
	F 344	8.13±0.04	16.5±0.09	48.2±0.33	20.3±0.06	59.3±0.25	34.2±0.15	81.6±0.88	7.3±0.27
	DRY	7.64±0.04	14.7±0.19	45.0±0.40	19.2±0.29	58.9±0.39	32.7±0.38	63.8±2.21	9.9±0.48
	LWF ₁	8.01±0.06	16.7±0.15	48.2±0.53	20.9±0.11	60.2±0.44	34.7±0.12	67.9±1.07	6.8±0.31
	FDF ₁	7.73±0.05	15.9±0.09	46.2±0.29	20.5±0.10	59.7±0.27	34.4±0.11	84.8±1.06	7.9±0.22
	LWFD	8.09±0.11	16.3±0.10	48.0±0.33	20.2±0.18	59.4±0.55	33.9±0.08	77.6±3.24	8.9±0.59

The data are presented as mean ± S. E. M. for each group of ten animals.

い値は雌では LEW, 雄では F344 であった。各 F₁ 交雑群の LD₅₀ 値は雌雄とも 4 系統の値の範囲内にあり, 交雑群間の変異は系統間のそれよりも小さかった。また各 4 元交雑群の LD₅₀ 値も F₁ と同様にほぼ 4 系統の値の範囲内にあり, 変異も同程度であった。

4 系統と LWF₁ および FDF₁ ならびにこれらを交雑して得られた LWFD の雌雄の 10 週齢における血液・臨床生化学検査値を Tables 5, 6 に示す。その結果,

LWFD はいずれの検査項目ともその起源となった 4 系統や F₁ 交雑群の値の範囲内にあり, 特に分散の大きい項目は認められなかった。

考 察

これまで実験動物の育成や遺伝的統御は単純化・均一性を追求したものであった。これに対して近年では遺伝

Table 6. Clinico-biochemical findings in each genotype of rats at ten weeks of age

Sex	Symbol	T. bil (mg/dl)	T. chol (mg/dl)	T. prot (g/dl)	Alb (g/dl)	BUN (mg/dl)	GPT (K-U)	GOT (K-U)	Alp (KA-U)
Female	LEW	0.13±0.01	87.4±1.53	5.22±0.11	2.39±0.05	18.8±0.58	13.9±0.68	61.9±2.32	32.2±2.45
	WM	0.11±0.01	70.1±0.97	5.22±0.03	2.33±0.02	16.3±0.36	15.1±0.40	66.3±1.65	21.0±0.73
	F 344	0.10±0.01	72.2±2.28	5.42±0.04	2.59±0.02	17.4±0.32	13.1±0.55	69.2±3.82	64.0±2.11
	DRY	0.13±0.01	95.4±4.29	5.96±0.05	2.66±0.03	23.8±0.55	15.7±0.52	90.3±4.89	24.0±1.16
	LWF ₁	0.11±0.01	76.0±0.99	5.28±0.05	2.37±0.03	16.5±0.23	13.7±0.73	58.0±1.93	25.0±1.32
	FDF ₁	0.09±0.01	74.2±1.42	5.42±0.05	2.47±0.02	18.7±0.31	16.7±0.67	67.7±0.92	31.2±0.82
	LWFD	0.10±0.01	83.9±4.32	5.39±0.07	2.50±0.03	18.7±0.58	15.1±0.57	63.4±4.48	26.6±2.01
Male	LEW	0.14±0.01	83.7±0.98	4.61±0.05	1.94±0.03	18.5±0.30	14.1±0.84	71.4±4.07	42.6±0.87
	WM	0.10±0.01	56.1±0.77	4.98±0.04	2.22±0.02	19.0±0.37	20.1±1.59	74.0±3.00	26.5±1.17
	F 344	0.09±0.01	62.4±0.92	5.38±0.03	2.57±0.02	19.7±0.45	18.4±0.90	91.7±2.34	83.7±1.88
	DRY	0.13±0.01	81.0±7.78	5.66±0.10	2.48±0.06	22.8±1.19	19.1±0.66	113.0±8.09	33.2±1.38
	LWF ₁	0.12±0.02	69.3±0.94	4.99±0.03	2.15±0.02	17.4±0.30	16.6±0.45	70.7±3.31	36.0±1.18
	FDF ₁	0.14±0.01	65.6±1.84	5.61±0.06	2.52±0.03	22.4±0.28	19.2±0.68	96.4±3.27	43.3±0.97
	LWFD	0.11±0.01	62.3±2.10	5.21±0.07	2.32±0.04	20.7±0.58	18.5±1.16	100.2±9.89	43.3±1.99

The data are presented as mean ± S. E. M. for each group of ten animals.

的複合化を求めて congenic や recombinant 系が育成されている。さらに従来広く使用されているクローズドコロニーは遺伝的背景が不明確であることから、これに代るものとして遺伝的背景の明らかな交雑群の作出が考えられるようになってきた。そこで新しい検定用動物の開発を目的に 4 系統ラット間の交雑群について繁殖効率と特性について検討した。もちろん検定用動物の価値は恒久性・共通性・大量生産の観点から論じられなければならない。

第 1 の遺伝的恒久性と共通性については、規定された近交系の維持方法 [2,12] に従って継代され、十分な遺伝的モニタリング [2,7] のなされている近交系を増殖し、交雑群生産の基礎集団として使用している限りは近交系と同様に問題になることはないであろう。なお、今回の実験で生産された LWFD の 4 週齢の平均体重に産次間変動が見られたが、これは生産集団が小さいために交尾時期に片寄りが生じて生産日の分布が一定でなかったことや哺育仔数の調整をしなかったなどによるもので、大量生産になれば問題はないであろう。

第 2 の大量生産の問題については、今回の交雑実験で示されたように出産率、産仔数、離乳率ともに優れ、繁殖効率に非常なヘテロシス効果を得ることができた。特に LWFD の生産の場合、雌は 6 週齢で生産可能となり、7～8 産まで継続することができ、近交系よりも極めて高い生産効率を得ることができた。なお、マウスやラットの場合に系統間交雑を行なうと必ずしも繁殖効率

が上昇するとは言えない [6,18]。今回の系統間交雑実験においても、繁殖効率は必ずしも両親となった系統よりも優れているとは言えなかった。この原因は出産率の低いことによるものであったが、この現象が系統間の遺伝的差異により生じた性的隔離を反映しているかどうかは不明である。しかしながら 4 元交雑群の生産に問題となるほどのものではなかった。

これまで 4 元交雑群や 8 元交雑群は遺伝的変異が大きことから選抜実験のための基礎集団として利用されてきたが、実験動物あるいは検定用動物としての生物学的価値については十分に検討されていない。一般に薬物などの検定においては、1 系統のみを使用した場合には得られる結果に片寄りが生ずる可能性があるので、交雑群のような遺伝的にヘテロな集団を使用した方がよいように思われる。さらに薬物の有効性や毒性試験にこのような交雑群を使用して特殊な反応値が得られた場合、あるいは予期しないような結果が得られた場合には、交雑群生産に使用された系統あるいは F₁ 交雑群を使用してその原因を追求することも可能になるなどの有利な点がある。なお、遺伝的に均一な集団よりも交雑群のような遺伝的ヘテロ集団の方がよりヒトの遺伝的状態を反映しているであろう [4]、という考え方もある。

4 元交雑群は遺伝的変異が非常に大きいために薬物などに対する反応性や形質の変異について考慮しなければならない。今回のビタミン B₁₂ 塩酸塩に対する感受性にはマウスと同様に系統間でかなりの差が見られたが、これ

はマウスで想像されたように各系統の遺伝子組成と発育の差異によるものであろう[17]。4元交雑群の場合、ヘテロシスを反映して感受性は低くなるものと想像されたが、いずれも近交系や F_1 交雑群の感受性の範囲内であった。しかしながら、これはビタミン B_1 塩酸塩のみの結果であって、他の薬物についても同様の結果が得られるかどうか不明である。また、血液・臨床生化学検査値についても、4元交雑群はすべての項目で近交系間の範囲内にあり、分散も大きくはなかった。

以上より4元交雑ラットは繁殖効率が高く大量生産が可能で、恒久性・共通性を満足させるものであり、十分に検定用動物として利用できる可能性が示された。しかしながら検討しなければならないいくつかの問題が残されている。第1にどのような近交系間の交雑群にするかである。一般的にはできる限り起源の異なる系統の交雑が望ましいと考えられるが、これは繁殖効率のみならず生産された交雑群の特性などを考慮して検討しなければならない問題である。さらに今回の実験では4元交雑群について検討したが、遺伝的ヘテロ集団の作出という意味では8元交雑群についても検討する必要がある。第2にこのような交雑群は個々の遺伝子座の遺伝子頻度についてはそれほど問題とはならないが、遺伝子組成全体を見た場合には非常に多くの遺伝子型を有するヘテロ集団となる。このため実験に使用するにあたっては群間の遺伝的差異が実験結果に影響を与えないようにしなければならない。今回、ビタミン B_1 塩酸塩のような急性毒性試験や血液・臨床生化学検査ではこのような抽出誤差は問題とはならなかったが、発癌性や慢性毒性試験のような長期毒性試験の場合には問題となるかもしれない。よって再現性の問題を含めて、さらに検討の必要がある。第3にこのような遺伝的ヘテロ集団であるために生殖試験や遺伝毒性のように世代を経る実験の場合には各遺伝子の分離または固定を考慮しなければならない。

要 約

いくつかの近交系間の交雑群を薬物の有効性や毒性試験などの検定用動物として利用する試みとして、LEW, WM, F344ならびにDRYの4系統ラット間の交雑群についてその生産効率に特性について調べた。4系統間の総当り交雑 (diallel cross) と F_1 の交雑実験の繁殖成績から4元交雑群を生産するための最も生産効率の優れた系統の組合せは (LEW $\times$ WM) $F_1 \times$ (F344 $\times$ DRY) F_1 であり、この組合せの経産実験の結果から生産効率

は4系統に比較して非常に優れていた。さらに4元交雑群は遺伝的ヘテロ集団にもかかわらず、ビタミン B_1 塩酸塩に対する感受性試験において近交系や F_1 に比較して特異的な反応も示さなかったし、血液・臨床生化学検査値の分散も大きくはなかった。今後さらに検討しなければならない問題が残されているが、4元交雑群は検定用動物として十分に利用できる可能性が示唆された。

稿を終るにあたり実験に御協力いただいた当研究所の斎藤有司、藤沢奉武の両君に心から感謝致します。

文 献

- [1] Dobzhansky, Th. (1952). Nature and origin of heterosis. *In* Heterosis, pp. 218-223, Gowen, J. W. (edit.), Iowa State College Press, Ames.
- [2] Festing, M. F. W. (1979). *Inbred Strains in Biomedical Research*. Macmillan Press, London.
- [3] Gibson, D. C., Adelman, R. C., and Finch, C. (1979). Development of the Rodent as a Model System of Aging. Department of Health, Education, and Welfare Publication No. (NIH) 79-161.
- [4] Gibson, D. C. (1972). Development of the Rodent as a Model System of Aging. Department of Health, Education, and Welfare Publication No. (NIH) 72-121.
- [5] Green, E. L., and Meier, H. (1965). Use of laboratory animals for the analysis of genetic influences upon drug toxicity. *Ann. New York Acad. Sci.*, **123**, 295-304.
- [6] Green, E. L. (1966). Breeding system. *In* Biology of the Laboratory Mouse, pp. 11-22, Green, E. L. (edit.), McGraw-Hill, New York, Toronto, Sydney, London.
- [7] Hoffman, H. A. (1978). Genetic quality control of the laboratory mouse. *In* Origins of Inbred Mice, pp. 217-234, Morse III, H. C. (edit.), Academic Press, New York, San Francisco, London.
- [8] Howie, J. B., and Helyer, B. J. (1963). Renal disease associated with positive lupus erythematosus tests in a cross-bred strain of mice. *Nature*, **197**, 197.
- [9] 近藤恭司 (1970). 実験動物の遺伝形質, 実験動物学総論, pp. 32-106, 田嶋嘉雄編, 朝倉書店, 東京.
- [10] Litchfield, J. T., and Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **96**, 99-113.
- [11] Meier, H. (1963). *Experimental Pharmacogenetics*. Academic Press, New York, London.
- [12] Meier, H., and Fuller, T. L. (1966). Responses to drugs. *In* Biology of the Laboratory Mouse, pp. 447-455, Green, E. L. (edit.), McGraw-Hill, New York, Toronto, Sydney, London.
- [13] 日本実験動物研究会, 系統に関する専門部会 (1973). 実験動物の表示法について, 実験動物, **22**, 37-43.
- [14] Papaioannou, V. E., and Festing, M. F. W. (1980). Genetic drift in a stock of laboratory mice. *Lab. Animals*, **14**, 11-13.
- [15] Rice, M. C., and O'Brien, S. J. (1980). Genetic

- variance of laboratory outbred Swiss mice. *Nature*. **283**, 157-161.
- [16] Shull, G. H. (1952). Beginnings of the heterosis concept. *In* Heterosis, pp. 14-48, Gowen, J. W. (edit.), Iowa State College Press, Ames.
- [17] Tanase, H., Matsunuma, N., and Suzuki, Y. (1979). Effect of proximate environment on drug susceptibility of mice. *Exp. Animals*, **28**, 507-518.
- [18] Wakasugi, N., Tomita, T., and Kondo, K. (1967). Differences of fertility in reciprocal crosses between inbred strains of mice: DDK, KK and NC. *J. Reprod. Fert.*, **13**, 41-50.
- [19] 山田淳三 (1980). クローズドコロニーの問題点について, *実験動物*, **29**, 465-473.