— Note —

Influence of Repeated Oscillation Stress in Rats

Satoru KOZIMA and Masahide KATO

Central Research Laboratories, Yomeishu, Seizo, Co., Ltd., 2132-37
Nakaminowa, Minowa-machi, Kamiina-gun,
Nagano 399-46, Japan

(Received 18 February 1983 / Accepted 25 May 1984)

The influence of two weeks of repeated oscillation stress on rats was investigated. Organ weights, liver glycogen, adrenal ascorbic acid, hematological and serum biochemical analysis and maximum contraction of vas deferens induced by noradrenaline were measured. In stress-loaded rats, body weight fell to 85–90% compared with control rats. Atrophy of the thymus and hypertrophy of the adrenals were found in stress-loaded rats. Hematological and serum biochemical findings revealed that white blood cells and blood glucose decreased, but NEFA increased significantly. Serum sodium increased, but potassium decreased. Maximum contraction of vas deferens induced by noradrenaline was potentiated in stress-loaded rats. The other findings did not differ from those of controls. From these results, it is suggested that the stress-loaded rat shows some abnormalities, but may adapt partially to stress.

ラットにおける振盪ストレス反復負荷の影響

小島 暁・加藤 正秀

養命酒製造(株)中央研究所

遺伝的な背景をもつ病態動物の開発はもとより、何んらかの実験操作により機能異常を伴った病態動物を作成することは、薬効検定のうえから重要なことと考えられる。

Takagi *et al.* [1] は疲労の病態モデルとして振盪ストレス負荷マウスを利用し、木下ら [2] も振盪ストレス負荷による消化吸収障害マウスを報告している。また、著者らは振盪ストレス負荷ラットの摂食障害 [3] および消化管分泌機能障害 [4] を観察している。

今回、著者らはこの振盪ストレス負荷ラットの病態動物としての性格を明らかにするため、2週間にわたり1日3時間の振盪ストレスを反復負荷し、その臓器重量、血液像、血清生化学値、肝グリコーゲン量、副腎アスコ

ルビン酸量および輸精管の薬物反応性を検討した。

Wistar 系雄性ラット(体重約 230g, 静岡県実験動物農業協同組合)を2週間の予備飼育後、アクリル製の拘束箱に一匹ずつ入れ、振幅 13.5cm, 1分間に130往復の条件で14:00から17:00までの3時間にわたり左右の振盪運動を負荷した。その後金網ケージに戻し、固型飼料(オリエンタルMF)および水道水を与えた。ストレス負荷中の室温は19°C, それ以外は23°Cとし、照明時間は6:00から18:00までとした。このストレス負荷を2週間反復し、最終ストレス負荷後18~19時間の安静時にエーテル軽麻酔下で腹大動脈より採血した。解剖後ただちに臓器重量、肝グリコーゲン量(Anthron法)および副腎アスコルビン酸量 [5] を測定した。

次に、採血後に赤血球数および白血球数（計算板法）、白血球百分比（May-Giemsa 染色血液塗抹標本）、ヘマトクリット値（毛細管遠沈法）、ヘモグロビン量（シアメントヘモグロビン法）、血糖値（GOD 法）を、血清分離後に総蛋白量（蛋白計）、コレステロール濃度（kiliani 法）、アルブミン濃度（BCP 法）、NEFA 濃度（Duncombe 変法）、MAO 活性（色素基質法）、尿酸濃度（炭酸ナトリウム法）および Na^+ 濃度、 K^+ 濃度（炎光光度計）を測定した。また、輸精管を Magnus 管に懸垂し、noradrenaline に対する pD_2 および最大収縮を求めた。

振盪ストレス反復負荷ラットの外観上の変化は、毛並みが悪くなること以外には認められなかった。体重はストレス負荷開始とともに減少し 5～7 日で最低に達し、2 週間後では正常ラットの 85～90% まで回復した。

振盪ストレス最終負荷後の剖検において、消化管の出血および潰瘍は認められなかった。臓器の実重量を比較するとストレス負荷群では、心、胸腺、肝、脾、腎、下垂体重量の減少および副腎重量の増大が認められた。相対重量では、脳、心、肺、睪丸、副腎重量の増大および下垂体重量の減少が認められた（Table 1）。これらのことから心、肺は実重量で減少が、相対重量で増大が認められ、体重の減少と平行しないことが観察された。一方、胸腺重量の減少および副腎重量の増大は実重量、相

対重量とも明らかに認められ、このことは振盪ストレス負荷の影響をあらわしているものと考えられる。

この成績は、H. Selye[6]のいう非特異的ストレス症状に相当し、環境温度を周期的に変える SART ストレス負荷動物における観察の結果[7]と一致した。

次に、血液検査所見では、赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の変化はほとんど認められなかった。一方、白血球数は有意な減少を示したが、白血球百分比には明らかな変化が認められなかった（Table 2）。

血清の生化学値では血糖値の低下、NEFA 濃度の上昇および Na^+ 濃度の上昇と K^+ 濃度の低下が認められた。交感神経系の刺激により上昇することが報告されている尿酸濃度[8]、アルブミン濃度[9]およびカテコールアミンの代謝促進を反映すると考えられる MAO 活性には、変化が認められなかった（Table 3）。

振盪ストレス反復負荷ラットの肝グリコーゲン量および副腎アスコルビン酸量では、急性ストレス負荷後に観察されたような増加[10, 11]は認められず、正常ラットとの差は認められなかった（Table 4）。

これらのことから、振盪ストレス反復負荷ラットにおいては、急性のストレス負荷後に一般に観察される下垂体—副腎皮質系および交感神経—副腎髄質系の活動亢進

Table 1. Influence of two weeks of repeated oscillation stress on organ weight in rats

	Absolute organ weight				Relative organ weight ^{a)}			
	Control		Oscillation stress		Control		Oscillation stress	
No. of animals	13		13		13		13	
Body weight (g)	260.5 ± 2.7		227.6 ± 2.7**					
Brain (mg)	1717.2 ± 9.6		1713.1 ± 10.6		660.8 ± 7.8		755.4 ± 8.4**	
Hypophysis (mg)	7.9 ± 0.3		6.8 ± 0.4**		3.0 ± 0.1		3.0 ± 0.2	
Heart (mg)	693.2 ± 9.2		645.1 ± 6.5**		266.2 ± 3.0		283.9 ± 4.5**	
Thymus (mg)	285.4 ± 16.4		206.9 ± 7.9**		109.5 ± 6.6		91.1 ± 3.7*	
Lung (mg)	989.2 ± 29.4		948.0 ± 19.1		380.2 ± 12.0		417.9 ± 12.1*	
Liver (mg)	8828.5 ± 159.2		7913.1 ± 128.1**		3388.5 ± 44.7		3474.6 ± 26.1	
Spleen (mg)	499.4 ± 10.8		441.7 ± 15.0**		192.8 ± 3.9		194.3 ± 2.4	
Kidney (mg)	1713.1 ± 29.2		1546.2 ± 19.5**		659.2 ± 9.8		680.0 ± 7.3	
Adrenal (mg)	39.0 ± 1.1		46.0 ± 1.2**		15.0 ± 0.4		20.2 ± 0.5**	
Testis (mg)	2748.5 ± 53.6		2659.2 ± 31.6		1055.4 ± 16.7		1166.9 ± 9.4**	

Each value represents a mean ± S. E.

a) : mg/100 g body weight

* : Significantly different from control ($p < 0.05$)

** : Significantly different from control ($p < 0.01$)

Table 2. Influence of two weeks of repeated oscillation stress on hematological findings in rats

		Control	Oscillation stress
No. of animals		13	13
RBC	($\times 10^4/\text{mm}^3$)	939.1 $\pm$ 15.2	932.5 $\pm$ 18.8
WBC	($\times 10^2/\text{mm}^3$)	58.1 $\pm$ 1.7	49.2 $\pm$ 1.2*
Hematocrit	(%)	46.3 $\pm$ 0.4	45.9 $\pm$ 0.3
Hemoglobin	(g/100 ml)	16.7 $\pm$ 0.6	16.9 $\pm$ 0.2
Differential ratio of leucocytes			
No. of animals		12	13
Lymphocytes	(%)	81.2 $\pm$ 1.3	78.0 $\pm$ 1.7
Neutrophils	(%)	16.1 $\pm$ 1.3	19.0 $\pm$ 1.7
Monocytes	(%)	2.2 $\pm$ 0.3	2.1 $\pm$ 0.3
Eosinophils	(%)	0.5 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.1
Basophils	(%)	0	0.2 $\pm$ 0.1

Each value represents a mean $\pm$ S. E.

* : Significantly different from control ($p < 0.05$)

Table 3. Influence of two weeks of repeated oscillation stress on serum biochemical values in rats

		Control	Oscillation stress
No. of animals		13	13
Glucose	(mg/100 ml)	110.72 $\pm$ 1.08	100.21 $\pm$ 2.26**
Total cholesterol	(mg/100 ml)	51.18 $\pm$ 1.44	48.48 $\pm$ 1.33
Total protein	(g/100 ml)	6.65 $\pm$ 0.01	6.56 $\pm$ 0.04
NEFA	(mEq/100 ml)	0.31 $\pm$ 0.04	0.44 $\pm$ 0.03**
Albumin	(g/100 ml)	1.57 $\pm$ 0.03	1.59 $\pm$ 0.03
Uric acid	(mg/100 ml)	1.65 $\pm$ 0.05	1.54 $\pm$ 0.06
MAO	(unit)	5.75 $\pm$ 0.83	5.81 $\pm$ 0.69
Na ⁺	(mEq/l)	141.31 $\pm$ 0.60	143.08 $\pm$ 0.44**
K ⁺	(mEq/l)	4.37 $\pm$ 0.07	4.14 $\pm$ 0.07*

Each value represents a mean $\pm$ S. E.

* : Significantly different from control ($p < 0.05$)

** : Significantly different from control ($p < 0.01$)

Table 4. Influence of two weeks of repeated oscillation stress on liver glycogen and adrenal ascorbic acid in rats

		Control	Oscillation stress
No. of experiments		13	13
Liver glycogen	(mg/100 g wet tissue)	2531.4 $\pm$ 104.0	2698.7 $\pm$ 106.7
Adrenal ascorbic acid	(mg/100 g wet tissue)	325.7 $\pm$ 7.5	300.2 $\pm$ 10.8

Each value represents a mean $\pm$ S. E.

Table 5. Influence of two weeks of repeated oscillation stress on maximum contraction of vas deferens induced by noradrenaline in rats

	Control	Oscillation stress
No. of experiments	9	8
pD ₂	8.1 ± 0.1	7.9 ± 0.1
Maximum contraction (mm/mg dry tissue)	6.3 ± 0.4	7.9 ± 0.7*

Each value represents a mean ± S. E.

*: Significantly different from control ($p < 0.05$)

を反映する明らかな変化は、NEFA 濃度の上昇を除けば認められず、反復ストレス負荷の影響は急性ストレス負荷のそれとは異なることが示唆された。

ところで、柳瀬[12]は家兔に緊縛ストレスを反復負荷することにより、初期には血糖値の上昇が観察されたが、7日以降になると認められなくなったとし、Mikulaj *et al.*[13]は、ラットに1日3時間の緊縛ストレスを長期間負荷することにより、下垂体—副腎皮質系の内分泌反応は、初期にのみ認められ、長期間になるとこの反応は抑制され、それとともに生体の諸機能も回復し、ストレス抵抗性が獲得されると主張している。一方、著者らは先に振盪ストレス反復負荷ラットの血清グルココルチコイド (11-OHCS) 量、GOT および GPT 活性を測定し[4]、ストレス負荷1日では 11-OHCS 量が上昇するが、3日では逆に減少し、1週以降正常対照値にまで回復すること、GOT および GPT 活性はストレス負荷3日まで上昇し、1週以降正常対照値に回復することなどを報告している。これらの報告や観察は、振盪ストレス反復負荷ラットの赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球百分比、血清コレステロール、血清蛋白量、血清アルブミン量、血清尿酸量、血清 MAO 活性、肝グリコーゲン量および副腎アスコルビン酸量において、対照と同様な成績が得られたことと一致するものと考えられ、2週間にわたる長期反復負荷後には、ストレスに対する抵抗性が、一部獲得されているものと推察される。

次に、交感神経支配臓器といわれる輸精管において、振盪ストレス反復負荷により noradrenaline に対する最大収縮の増大が観察されたが、pD₂ において差は認められなかった (Table 5)。この成績から、ストレス反復負荷による筋収縮系への影響が予想される。

以上のように、2週間の振盪ストレス反復負荷ラットでは、胸腺重量の減少、副腎重量の増大、白血球数の減

少、血糖値の低下、NEFA 濃度の上昇、Na⁺ 濃度の上昇、K⁺ 濃度の低下および輸精管 noradrenaline に対する収縮の増大が認められた。これらの成績は、ストレスの負荷による交感神経—副腎髄質系および下垂体—副腎皮質系の活動亢進の結果によるものと推察されるが、他の血液検査所見、肝グリコーゲン量および副腎アスコルビン酸量では、正常ラットとの差は認められなかったことから、一部には、ストレスに対する抵抗性が獲得されているものと推察された。

要 約

摂食障害、消化管分泌障害、消化吸收障害をもち、疲労モデルとしても利用される振盪ストレス負荷動物の性格を明らかにするため、ラットに振盪ストレス (振幅 13.5cm, 130往復/分, 3時間/日) を2週間反復負荷し、最終ストレス負荷の18時間後に臓器重量、血液像、血清生化学値、肝グリコーゲン量、副腎アスコルビン酸量および輸精管の薬物反応性にみられる変化を検討した。

振盪ストレスの反復負荷により形態面では、胸腺重量の減少および副腎重量の増大が認められた。血液検査所見としては白血球数の減少、血糖値の低下、NEFA 濃度の上昇、Na⁺ 濃度の上昇および K⁺ 濃度の低下が、また輸精管の noradrenaline に対する反応は増大することが認められた。これらの成績は、交感神経—副腎髄質系および下垂体—副腎皮質系の活動亢進を示すものであるが、他の血液検査所見、肝グリコーゲン量および副腎アスコルビン酸量では正常ラットと同様であり、一部には、ストレスに対する抵抗性が獲得されているものと推察された。

文 献

- [1] Takagi, K., Saito, H., Lee, C., and Hayashi, T.

- (1972), *Japan. J. Pharmacol.*, **22**, 17-26.
- [2] 木下 剛・堤 志津子・加藤正秀 (1982). 応用薬理, **24**, (1), 149-155.
- [3] 小島 暁・佐藤 侑・殿内美佐子・加藤正秀 (1983). 応用薬理, **25** (6), 931-937.
- [4] 佐藤 侑・小島 暁・唐沢久雄・殿内美佐子・堤 志津子 (1980). 応用薬理, **20** (3), 425-439.
- [5] Terada, M., Watanabe, M., Kunitomo, M., and Hayashi, E. (1978). *Analytical Biochemistry*, **84**, 604-608.
- [6] Selye, H. (1963). *Nature*, **138**, 32.
- [7] 米田良三・菅原國一・喜多富太郎・秦 多恵子・飯田順子・石田定廣・大場康寛 (1979). 応用薬理, **18** (4), 587-596.
- [8] Sumi, T., and Umeda, U. (1979). *Japan. J. Pharmacol.*, **29**, 661-663.
- [9] 切替辰哉 (1973). 薬局, **24** (6), 695-700.
- [10] Eigler, N., Sacca, L., and Slerwin, R. S. (1979). *J. Clin. Invest.*, **63**, 114-123.
- [11] 青沼 繁・小浜靖弘・陳 英俊・屋敷伸治・江川 宏 (1976). 薬学雑誌, **96** (11), 1313-1321.
- [12] 柳瀬昌弘 (1973). 日本生理誌, **35**, 109.
- [13] Mikulaj, L., and Mitro, A. (1970). *Adv. exp. Med. Biol.*, **33**, 631-638.