

研究会だより

第14回岡山実験動物研究会報告

昭和62年9月5日(土)午後1時30分から岡山大学薬学部大講義室において田坂賢二教授、亀井千晃助教授のお世話で開催された。

はじめに、田坂賢二教授から開会の御挨拶があり、その後、一般講演に移った。一般講演は7題が取り上げられた。演題「1」は三枝誠行先生(岡山大・教養部)の「実験動物としての海産無脊椎動物」、演題「2」片山泰人先生ら(岡山大・医学部)の「AKR マウスのけいれんと脳内モノアミン」、演題「3」は石川哲之氏ら(林原生物化学研究所)の「小動物の大量飼育における自動給餌器の開発」、演題「4」は野崎大典氏ら(岡山大・農学部)の「マウスにおける自発行動と親行動について」であった。この4題の講演終了後約20分間休憩をとった。休憩後、事務局から会務報告があった。その内容を要約すると、①昭和61年度の会計監査が中江利孝先生、高橋正侑先生両監事によってなされ、承認されたこと。②研究会員数は昨年9月の99名から、今年7月では112名となり、8月に3名、9月5日(第14回研究会当日)に3名の入会があり、計118名になったこと、また県内会員数が約60%の割合を占めていること。③次期(第15回)研究会の開催は12月5日(土)に予定し、創立5周年記念にふさわしい内容を企画したいこと。④第6号の発行は昭和63年4月に予定しているので、会員の皆様から原稿を募集していること、などであった。

以上の会務報告後、直ちに講演を続行した。演題「5」は亀井千晃先生ら(岡山大・薬学部)の「イヌの migrating myoelectric complex に対する cholecystokinin の作用」、演題「6」は鈴木一憲先生ら(岡山大・歯学部)の「霊長類の胃粘膜における粘液物質の分布と機能」、演題「7」は杉本完二氏(岡山大・文学部)の「Wister 系ラットの行動の時系列的分析—FT (fixed-time) のスケジュールを用いて」であった。上記の一般講演の座長は、演題「1」、「2」が丹羽皓二先生(岡山大・農学部)、演題「3」、「4」が佐藤芳範先生(林

原生物化学研究所)、演題「5」、「6」は内藤一郎先生(重井医学研究所)、演題「7」は佐藤勝紀(岡山大・農学部)がそれぞれ担当した。一般講演終了後、猪 貴義会長(岡山大・農学部)から閉会の御挨拶があった。

会の終了後、田坂先生、亀井先生のお心づかいにより、懇親会が持たれ、会員相互の親睦を深めた。

一般講演の要旨は以下の通りである。

1. 実験動物としての海産無脊椎動物 ——アカテガニを例にして——

三枝 誠行(岡山大学・教養部自然系)

脊椎と無脊椎とを問わず、数多くの海産動物の中で、本当の意味での実験動物として確立している種は皆無と言ってよい。それは、海産動物の継代飼育が一般に極めて難しいためとその必要性がまだあまりクローズアップされていないことによる。従って、現状では、実験動物としての海産動物と言った場合には、その動物を実験室でかなり長い間正常な状態で生かしておくことができるという意味か、あるいは野外から比較的容易に材料が入手できるという意味であると考えてよい。

私の場合にも、研究上の必要から、海産の無脊椎動物を何種類か長期にわたり飼育、つまり生かしておかねばならない。ここではアカテガニを例にして、このカニがどんな実験に使われ、またそのためにどのようにして飼育されているのかについて紹介した。

私のテーマは、アカテガニの示す潮汐および半月周期リズムの生理学的機構の解析であるが、そのことを調べるためには、アカテガニを実験室で飼育する必要がある。カニの採集は例年4月下旬から5月上旬にかけて行なわれる。4月中はまだ冬眠から醒めていないので、単穴から堀り出すことになる。実験室に持ってきたカニは50~100匹ずつに分けられ、恒温室の中の水槽で飼育される。人工の月周期に本当に同調するのかどうかは、短期間では調べられないので、少なくとも4~5ヶ月間は実験室に置いておくことになる。

このようにして約10年間毎年このカニを飼育してきたが、その経験から言うと、アカテガニはフ

ィールドからある程度の数を採集してきて短期間の実験に使うのには比較的良好な材料かも知れないが、長期間の実験に使うには多くの不利な点が目立つように思う。

アカテガニの場合のように、季節が関係し、しかも長期間にわたる実験の場合には、くり返しがきかない。1匹でも死ぬ個体を少なくするため毎日欠かさずに世話をするのはなかなか忍耐のいる仕事で、しばしば苦痛さえともなうことがある。逆に言うならば、そのような生物をいとも簡単に生存させることのできる自然環境の持つ意味の重要性について自分自身があまりにも無知でありすぎるのではないか、そんな気がしてならないのである。

2. AKR マウスのけいれんと脳内モノアミン

片山 泰人・加太 英明・森 昭胤
(岡山大学・医学部)

E 1 マウスと同様、体位変換刺激によりけいれん発作が惹起されるマウスに CBA, IDT および ICR マウスが知られている。今回、AKR マウスが E 1 マウス同様のけいれん発作を起こすことを見出し、発作波を記録観察し、けいれんにともなう脳内モノアミンの変動を小脳・橋延髄・視床下部・中脳・海馬・線条体および大脳皮質の7部位について調べたので報告する。

1) 放り上げによる体位変換刺激を与えると、「きき」と鳴き声を発するようになり、やがてけいれん発作を起こすようになる。その発作様式は E 1, CBA マウス等と同様であった。

2) AKR マウスに観察された発作波は E 1 や CBA マウスに観察されたそれと酷似していた。

3) けいれんの遺伝解析のため C₅₇BL マウスとの異系交配実験を行い、その雑種一代目に体位変換刺激を与えているが、今のところけいれん発作を惹起した個体はなく、遺伝様式は不明である。

4) けいれん準備性獲得にともない、ドーパミン (DA) 量は線条体および橋延髄で、ノルアドレナリン (NA) 量は橋延髄および小脳で、セロトニン (5-HT) 量は中脳においてそれぞれ有意に増加した。けいれん直前期に、DA が線条体および橋延髄で、5-HT が線条体で有意な減少を示したが、

けいれん中にはもとの値に回復した。NA には有意な変動を認めなかった。これらのことから、線条体の DA および 5-HT が AKR マウスのけいれん発作発現機構において重要な役割を演じていることが示唆された。以上のことから、AKR マウスも E 1 や CBA マウス同様、てんかん研究に有用なマウスであると言える。

3. 小動物の大量飼育における 自動給餌機の開発

石川 哲之・河口 充宏・佐藤 芳範
栗本 雅司・倉林 譲*
(榊林原生物化学研究所
*岡山大学医学部・動物実験施設)

最近ではペレット状固型飼料を用いるラット、マウス、ハムスター等の小動物用の小規模用の自動給餌機が市販されているが、数千～数万ケージの工業スケールを対象にした実用機はない。

我々は吉備製薬工場においてハムスター大量飼育のための自動給餌機を次に述べる要点について検討、開発を行い導入した。

1. 飼育室規模

飼育室は21mL×5 mW×2.7mH, 2240ケージ/室として、給餌機はこの空間におさまリ、作業スペースを損なわないこと。

2. 餌の動線

ペレットを損傷せず、ラインは洗浄が可能で餌の残留がないこと。

3. 給餌機の動き

給餌機を飼育室内で走行させる機構は、simple で信頼性が高く、かつ経済的でなければならない。

4. 餌のホッパーへの投入

餌をホッパーに投入する装置は、作業スペースを損なうことなく低コストであること。

5. ホッパーからケージへの送り

餌のホッパーからケージへの送りはペレットを損傷することなく、30g～800g の餌を任意に定量供給でき、しかも餌落下音についても配慮すること。

6. 餌計測センサー

餌の残量センサーは、12.5mmφ×25mmL のペレット状固型飼料が30g～100g 以上、残っているかどうかを読み取り給餌するか否かが判断できるこ

と。

以上の要点検討に加え、「水洗ラックの寸法精度を高め、給餌機走行レールをラックと一体化させて計測センサーの誤差を減じる」など細部にわたっても配慮した。

このようにして導入した自動給餌機は、現在吉備製薬工場テストランにおいてうまく稼働している。本報では実施設計の要点と実機について紹介する。又、今後は、さらに省エネ化を進めるためにも、各群あたり、あるいは各ケージごとに自在に必要な最少量のみを供給できるよう、コンピュータリンクについても検討を加えていきたい。

4. マウスにおける自発行動と親行動

野崎 大典・猪 貴義

(岡山大学・農学部)

行動は一見、単一なもののように見えても、実際にはいくつかの行動が連続したり、複雑に重なりあって発現するため観察法や計測法について確立されたものはあまりない。そこで、本研究においては、自発行動と親行動を取り上げ、マウスにおける行動量の日内変動、系統間差や性差について検討を行った。

実験に供したマウスは ddy および ICR 系無作為交配群である。自発行動はオープン・フィールド・テストにより、歩行回数・立ち上がり回数・毛づくろい回数・排便数・排尿回数を、回転輪走行テストにより、回転数・排便数を調べた。親行動(母性行動)は母性行動テストを使用し、Sniffing・Licking・Retrieving・Crouching・Nest-building等の親行動の各要素について、それらの行動の発現率を調べた。なお、日内変動は4時間おきに、自発行動における行動各要素を測定した。さらに、回転輪走行テストにおいては連続3日にわたって観察を行った。また、行動型の相違(系統・性の影響)は自発行動と親行動を観察し、系統間・性間での違いを調べた。

これらの結果として、(1)自発行動に関して日内変動が認められ、消灯時間(間期)より点灯時間(暗期)の方が運動量が多かった。(2)行動型については、オープン・フィールド・テストの結果では歩行回数と立ち上がり回数において、系統間で

ddy 系が ICR 系に比べ少なく、性間で雌が雄に比べ多かった。回転輪走行テストの結果では、系統間で違いがみられた。親行動の結果では、ddy 系の雄に異常親行動とみられる食殺(仔殺し)行為が多く観察された。また、巣作り行動を除く他の親行動の発現率は、経験(仔にさらす日数)が増すほど発現率は高くなった。さらに、性間では雌が雄よりも発現率は高く、特に Retrieving・Crouching で明瞭な差があった。なお、発現率については両系統とも雌において3日目に完全な親行動を示した。

5. イヌの migrating myoelectric complex に対する cholecystokinin の作用

亀井 千晃・田坂 賢二

(岡山大学・薬学部・薬物学教室)

J. H. Szurszewski (Mayo Clinic)

Migrating myoelectric complex (MMEC) activity とは、非反芻動物を絶食にした際におこる小腸の強い収縮パターンのことで、生理的な意義としては小腸内の線維残渣が停滞している腸内容を下部に移行させる機能を果たしているものと考えられている。

小腸に7本の電極、側脳室ならびに第四脳室内に慢性カニューレを植え込んだイヌ15匹を用い、無麻酔で実験した。薬物は人工脳脊髄液に溶解し、0.15ml/min の速度で側脳室から第四脳室へ灌流した。

Cholecystokinin octapeptide (CCK-OP) 0.12 pmole/kg/min の灌流では、MMEC はほとんど変化しなかったが、1.2および12pmole/kg/min の灌流は、灌流開始5-10分後より、MMEC pattern を消失させ、fed-like pattern に変えた。静脈内に持続注入した場合には、脳室内灌流の場合と同様な効果を発現するのに約10倍の用量を必要とした。迷走神経切除術を行った後では、脳室内に12 pmole/kg/min の CCK-OP を灌流しても、fed-like pattern の発現は認められなかった。これらの所見より、脳内の CCK が迷走神経を介して MMEC pattern を fed-like pattern に変える役割を果たしている可能性が示唆された。

6. 霊長類の胃粘膜における 粘液物質の分布と機能

鈴木 一憲・永井 廣

(岡山大学・歯学部)

第10回の本研究発表会において、27種の霊長類の胃粘膜の区分と粘液物質の組成について調べた結果からこれらが食性と関係が深いことを報告しているが、今回新たに3種の霊長類、オナガザル亜科ヒヒ属のマントヒヒ、マカク属のタイワンザルとボンネットモンキーについて調べたので報告する。

3種のサルの胃粘膜の分布は噴門腺粘膜が噴門から胃底まで広く分布しているII型であった。マントヒヒの噴門腺粘膜の表面上皮細胞には多量のスルフォムチンが見られたが、マントヒヒの胃底腺と幽門腺の粘膜やタイワンザルとボンネットモンキーの各胃粘膜はシアロムチンと中性粘液物質が多くみられ、これまで調べたヒヒ属以外のオナガザル亜科のものと同様の傾向を示した。

以上の結果から同じオナガザル亜科のヒヒ属とマカク属は胃腺の分布型は同じであるが粘液物質の組成が特に噴門腺粘膜で異なっていることが分かった。この2属はともに植物食性の強い雑食性であるがヒヒ属はマカク属よりも根茎や草を多く食べることが知られており、粘液物質の組成の違いは食性の違いによると考えられる。

酸性粘液物質であるスルフォムチンとシアロムチンは粘性が高いことから植物繊維の機械的刺激に対して粘膜を防御する機能を持つと考えられる。スルフォムチンは微生物由来のシアリダーゼに対して抵抗性を示すことが知られており、微生物に対して粘膜を防御していることも考えられる。このことは微生物が多く生息しているIII型の噴門腺粘膜にスルフォムチンが多くみられることから支持されるが、ヒヒの胃内の微生物に関する報告はみられていない。

7. Wistar 系ラットの行動の時系列的分布 —FT (fixed-time) スケジュールを用いて—

杉本 完二 (岡山大学・文学部)

目的：空腹な動物を定期的な餌呈示(FT スケジュー

ール) 下で訓練すると、餌(強化子) 呈示間隔内において、interim activity, terminal response という2種類の行動が、ある特定の生起パターンで出現するとされる(Staddon & Simmelhag, 1971)。本研究の目的は、これらの行動の規定因及びメカニズムを解明することにある。その際、強化子呈示間隔の長さを変化させて、その効果を比較検討した。

方法：被験体はナイーブな雄のWistar 系ラット10匹(実験Iで4匹、実験IIで6匹)を使用し、それぞれ給餌制限を施した。

装置は7つの領域に分割された、底面が6角形のボックス(1辺26cm, 高さ35cm)を使用した。

手続きは実験Iでは1日20分の訓練を1セッションとし、馴化、FT30秒スケジュール(ペレット40粒/日)、消去の順序で実施した。実験IIでは1日40分の訓練を1セッションとし、馴化、FT60秒スケジュール(ペレット40粒/日)、消去の順序で実施した。

結果と考察：餌呈示間隔の長さの相違にかかわらず、FT条件下ではどちらのラットにおいても、摂食後にdrinkingが頻出し、その後standing/rearingとsniffingが増加し、餌呈示直前になるとfeederへのsniffingが頻出するという、特定の行動系列が出現した。

一方、馴化及び消去の条件では、いずれも時間経過に伴う行動パターンは山現しなかった。FT条件下で生じた行動は、従来のオペラント条件づけの枠組みでは説明しにくい。このうち、餌呈示直前に頻出するfeederへのsniffingは餌呈示の予期に基づく種特有の食餌獲得行動の一形態だと考えられる。また、摂食後に出現するdrinkingについては、単なる食後の飲水ではなく、餌非呈示の予期、生理的な渴状態、種の特異性等が関与している可能性があり、今後の検討を必要とする。

第15回岡山実験動物研究会報告

昭和62年12月5日(土)午後1時30分から岡山郵便貯金会館において矢部芳郎教授(岡山大・医学部)のお世話で開催された。

はじめに、矢部芳郎教授から開会の御挨拶があ