

ストレス高感受性(高回避系)ラットは 低感受性(低回避系)ラットより寿命が短い

太田 亮¹, 熊谷文明², 丸茂秀樹², 白見憲司², 斉藤義明², 桑形麻樹子²

Stress reactive strain (High-avoidance rats) has shorter life spans than does stress non-reactive strain (Low-avoidance rats)

Ryo OHTA¹, Fumiaki KUMAGAI², Hideki MARUMO², Kenji USUMI², Yoshiaki SAITO², Makiko KUWAGATA²

Although the Hatano high- and low-avoidance rats had been selectively bred for good vs. poor avoidance learning, high-avoidance rats are known to more reactive to stress than low-avoidance rats. In this study, high- and low-avoidance females were compared onset of menopause by observing estrous cycles from 8 to 11 months of age. Furthermore, these females were allowed to live their natural life until 24 months of age in order to compare survival days. At eight months of age, 20 of 35 females in low-avoidance line and 2 of 35 females in high-avoidance line had abnormal estrous cycles. At 11 months of age, all females in low-avoidance line and 22 of 35 females in high-avoidance line had abnormal estrous cycles. Median life-span of high-avoidance females (673 days) was shorter than that of low-avoidance females (733 days). The incident of pituitary neoplasia was higher in high-avoidance than low-avoidance females. These results suggest that low-avoidance females had accelerated ovarian aging than high-avoidance females. However, high-avoidance females had shorter life spans than did low-avoidance females.

緒言

シカゴ大学のCavigelliとMcClintockは、新しい環境下でほとんど身動きしない臆病な雄の子ラットは、活発に動き回る兄弟達より3か月も早く死んでしまうことを発見した¹⁾。さらにCavigelliらは、新奇環境下で身動きしない内気な雌ラットも同じ環境下で活発に動き回る姉妹のラットより約6か月短命であることを報告し、内気な雌ラットは、他の姉妹ラットより卵巣機能(発情周期)が早く停止し、それに付随する変化(下垂体腫瘍や乳腺腫瘍の発生)が短命の原因の一つかもしれないとの見解を示した²⁾。そこで筆者らは、兄妹交配で維持しているHatano高回避(high active avoidance, 以下HAA)ラットをCavigelliらの「内気なラット」に見立て、同様に維持しているHatano低回避(low active avoidance, 以下

LAA)ラットとの寿命を比較する実験を行った。

Hatanoラットは、シャトルボックス条件回避学習試験の回避率を基準に、Sprague-Dawley系から分離した亜系統であるが、HAAラットはLAAラットに比べて副腎が大きく、ストレスに対する感受性が高いと考えられている³⁾。例えば、両系統に同等のストレスを負荷すると、HAAラットではLAAラットより多くの胃潰瘍が誘発される⁴⁾。また、Hatanoラットの内分泌学的特徴を調べた実験では、ストレスが加わると下垂体前葉から分泌される副腎皮質刺激ホルモン(adrenocorticotrophic hormone, 以下ACTH)の量が、HAAラットで多いことも確認されている⁵⁾。一方、Hatanoラットの発情周期に関しては、HAAラットのほとんどが規則的に4日周期を示すのに対し、LAAラットのほとんどが4~6日周期を不規則的に繰り返すことが明らかとなっている⁶⁾。

今回、筆者らはストレス高感受性のHAA雌ラットとストレス低感受性のLAA雌ラットを用

1 毒性部長

2 毒性部病理学研究室

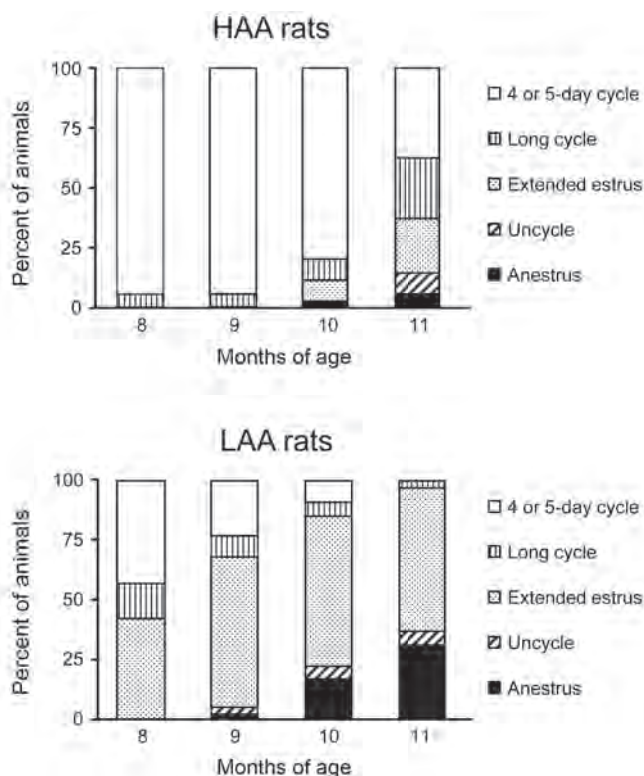


図1 Hatano高回避(HAA)ラットおよび低回避(LAA)ラットの8か月齢から11か月齢における発情周期の型の推移

いて、発情周期の加齢性変化と生存日数を観察し、Cavigelliらの仮説に基づくストレス感受性と寿命について考察した。

材料および方法

実験には、秦野研究所で兄妹交配により維持している第60世代のHAA雌ラットと、第58世代のLAA雌ラットを使用した。各系統とも健康な成熟雌35匹を選抜し、金属製金網床ケージ(220W×270D×190H mm)に1匹ずつ収容して長期飼育を行った。飼育室の温度は21~25℃、湿度は40~75%とし、照明は12時間明期、12時間暗期とした。飼料は、Hatanoラットの系統維持に使用している固型飼料(CE-2, 日本クレア)を与え、飲料水(水道水)とともに自由摂取させた。

全例について、毎日1回、一般状態を観察し、特に腫瘍発生には注意を払い、肉眼的に認められる腫瘍および触知可能な腫瘍については、それぞれの発生時期、位置、大きさ等を記録した。また、8か月齢から11か月齢まで2週間間隔で連日2週間、膣垢を採取し、全例の発情周期を観察した。

膣垢像は発情前期、発情期、発情休止期に分類し、渡辺らの報告⁷⁾に準じて発情周期の型を分類した。すなわち、4日から5日の間隔で発情期の認められた動物を正常周期とみなし、それ以外のは異常周期と分類した。さらに、異常周期の中で6日以上14日以下の日数で復帰したものを長期周期(long cycle)、3日以上続けて発情期を示したものを連続発情(extended estrus)に分類し、休止期が連続して観察されたものの中で、発情期が観察されたものを無周期(uncycle)、発情期が全く観察されなかったものを無発情(anestrus)とした。

発情周期の観察を終了した雌は継続飼育し、24か月齢で病理解剖した。途中死亡または瀕死状態と判断された動物は、すみやかに病理解剖した。解剖時に摘出した下垂体および乳腺については10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定した後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、組織学的検査を実施した。

全ての実験操作は、「財団法人食品薬品安全センター秦野研究所 動物実験に関する指針」に基づいて実施した(動物実験承認番号1090187A)。

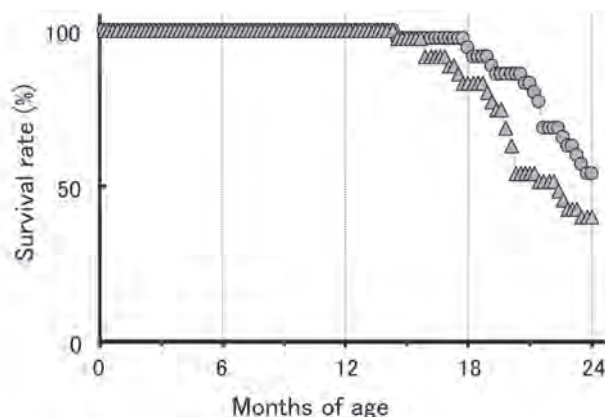


図2 Hatano高回避(HAA)雌ラットおよび低回避(LAA)雌ラットの生存曲線
△: HAA雌ラット(n=35), ○: LAA雌ラット(n=35)

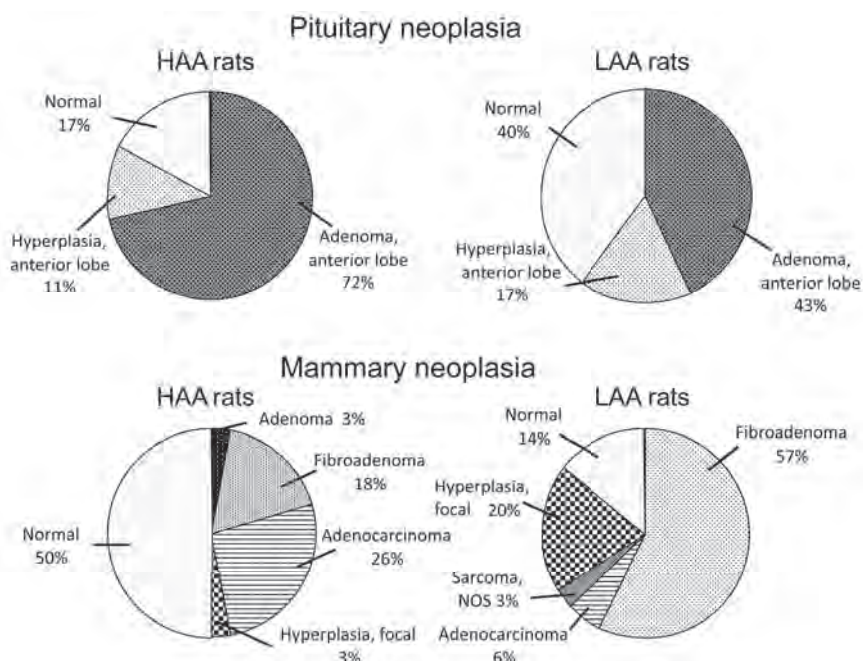


図3 Hatano高回避(HAA)雌ラットおよび低回避(LAA)雌ラットの下垂体腫瘍と乳腺腫瘍

結果

発情周期: 図1には、8か月齢から11か月齢における発情周期の型の推移を示した。HAAラットでは、8~9か月齢において35例中2例(6%)に異常周期が観察され、11か月齢では35例中22例(63%)が異常周期を示した。一方、LAAラットでは、8か月齢において35例中20例(57%)に異常周期が観察され、さらに11か月齢では全例が異常周期を示した。HAAラットでは、11か月齢になって長期周期または連続発情を示す例が増加したが、無発情を示した例は2例(6%)のみで

あった。一方、LAAラットで8か月齢にみられた主な異常周期の型は長期周期および連続発情であり、11か月齢で無発情を示した例は11例(31%)であった。

生存日数: 図2には、生存曲線を示した。HAA雌ラットの生存日数は、LAA雌ラットに比較して短縮した。生存日数の中央値はHAA雌ラットで673日、LAA雌ラットで733日となり、その差は約2か月(60日)であった。

下垂体および乳腺腫瘍: 図3には、両系統にみられた下垂体腫瘍および乳腺腫瘍の組織学的検

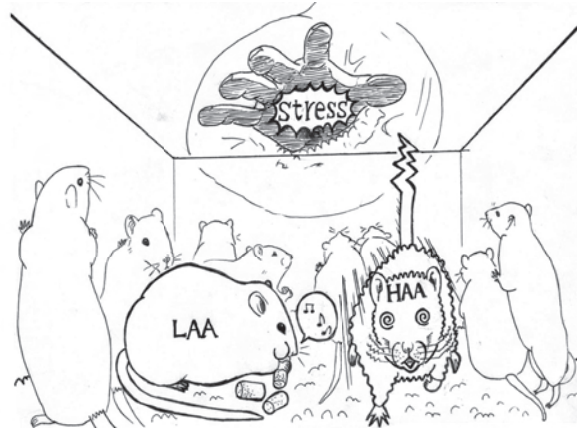


図4 Hatano高回避(HAA)ラットと低回避(LAA)ラットの
ストレス感受性の違いを示すイメージ図(文献3より引用)

査結果を示した。下垂体腫瘍(過形成を含む)はHAA雌ラットで35例中29例, LAA雌ラットで35例中21例に認められた。これらは、いずれも下垂体前葉の腺腫または過形成であった。乳腺腫瘍(過形成を含む)はHAA雌ラットで34例中17例, LAA雌ラットで35例中30例に認められた。HAA雌ラットでは腺癌, LAA雌ラットでは線維腺腫の頻度が高かった。

考察

Cavigelliら²⁾の仮説に基づき、ストレス高感受性のHAA雌ラットとストレス低感受性のLAA雌ラットの寿命を比較した結果、HAA雌ラットの方がLAA雌ラットより寿命が短かった。この結果は、Cavigelliらの報告²⁾にある、内気な雌ラットが他の姉妹のラットより短命であったことと一致した。なお、Cavigelliらはその後の研究⁸⁾で、新奇環境下で活動性の高い雌ラットは活動性の低いラットより寿命が短かったと報告し、先に実施した姉妹間での比較²⁾とは異なる結果を示した。しかしながら、活動性の高い雌ラットでは若齢期の副腎が大きく、グルココルチコイドの分泌量が多いことが示されており、ストレス高感受性のHAA雌ラットが有する特性と一致していた。さらに、活動性の高い雌ラットは胸腺が小さく、TNF- α 濃度が低下しているなど免疫機能の低下を示唆する変化も示されており、Hatanoラットの免疫学的特徴を調べた実験⁹⁾でも、HAAラットの抗体産

生能がLAAラットより低いことが確認されていることから、今回の実験でみられたHAA雌ラットとLAA雌ラットの寿命の違いは、両系統の免疫機能の差による可能性も否定できない。

一方、Cavigelliら²⁾は、卵巣機能の加齢性変化が内気な雌ラットで早く認められたと報告しているが、Hatanoラットを用いた実験では、このことが再現されず、むしろ卵巣機能の加齢性変化は、HAA雌ラットよりLAA雌ラットの方が早く起きた。この結果から、ストレスを受けやすい動物が必ずしも卵巣機能の加齢性変化を早期に来すとは限らないと考えられる。しかしながらCavigelliら^{2,8)}は、早期に死亡した雌ラットの死因の一つとして下垂体腫瘍を挙げており、今回の実験においてもHAA雌ラットで下垂体腫瘍が高頻度に認められていることから、ストレス高感受性ラットでは下垂体腫瘍を発症しやすい傾向にあり、そのことが寿命の短縮に結びついているものと推察される。元来、下垂体腫瘍は加齢したSprague-Dawley系ラットで頻繁に観察される自然発生腫瘍であり^{10,11)}、腫瘍が大きくなると脳底部を圧迫することから、死亡原因の一つになると考えられている。

今回の実験では、卵巣機能の異常がより早期に観察されたLAA雌ラットにおいて、乳腺腫瘍が高頻度に認められた。LAAラットでは、下垂体前葉から分泌されるプロラクチン量がストレス時に亢進することが明らかとなっており⁴⁾、このこ

とがストレス耐性を増加させる要因と考えられている³⁾。言い換えれば、ストレス低感受性のLAAラットは、外部からの刺激(例えばドアの開閉やケージ交換など)に対して、HAAラットよりも多くのプロラクチンを分泌している可能性が高い。高プロラクチン血症は発情周期の異常を誘発すること、プロラクチンは乳腺を発達させる作用があること、血中プロラクチン量と乳腺腫瘍の発がんリスクに相関があるという報告¹²⁾などを考慮すると、LAA雌ラットで高頻度にみられた乳腺腫瘍の原因には、同系に特有のプロラクチン分泌が関与しているものと推察される。

今回の実験結果から、ストレス感受性の異なるHatano高および低回避ラット(図4)には、系統特有の自然発生腫瘍があり、その腫瘍に関連した寿命の違いを示すことが明らかとなったが、ストレス感受性と寿命については、免疫機能の影響も含めてさらに詳細に検討する必要がある。また、ストレスにより誘発される病気や病気の進行を研究する上で、ストレス感受性に違いのあるHatanoラットは、有効な動物モデルになると思われる。

謝辞

Hatanoラットのイメージ図の掲載を許可して下さった東京農工大の田谷一善教授および(株)メディカルレビュー社に感謝いたします。

文献

- 1) Cavigelli SA, McClintock MK: Fear of novelty in infant rats predicts adult corticosterone dynamics and an early death. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; **100**: 16131-16136
- 2) Cavigelli SA, Yee JR, McClintock MK: Infant temperament predicts life span in female rats that develop spontaneous tumors. *Horm Behav*. 2006; **50**: 454-462
- 3) 田谷一善: ストレスとプロラクチン. *Horm Front Gynecol*. 2011; **18**: 275-283
- 4) Asai S, Ohta R, Fujikawa T, et al.: Gastric ulceration and expression of prolactin receptor in the brain in Hatano high- and low-avoidance rats. *Endocrine*. 2006; **30**: 161-166
- 5) Asai S, Ohta R, Shirota M, et al.: Differential responses of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis to acute restraint stress in Hatano high- and low-avoidance rats. *J Endocrinol*. 2004; **181**: 515-520
- 6) Asai S, Ohta R, Shirota M, et al.: Reproductive endocrinology in Hatano high- and low-avoidance rats during the estrous cycle. *Endocrine*. 2002; **18**: 161-166
- 7) 渡辺千朗, 代田真理子, 長尾哲二: SD系雌ラットの性周期の加齢性変化に関する研究. 秦野研究所年報. 1994; **17**: 37-40
- 8) Cavigelli SA, Bennett JM, Michael KC, et al.: Female temperament, tumor development and life span: relation to glucocorticoid and tumor necrosis factor *a* levels in rats. *Brain Behav Immun*. 2008; **22**: 727-735
- 9) Ohta R, Kanazawa Y, Shindo T, et al.: Immunological characteristics of Hatano high- and low-avoidance rats. *Exp Anim*. 2006; **55**: 369-374
- 10) Suzuki H, Mohr U, Kimmerle G: Spontaneous endocrine tumors in Sprague-Dawley rats. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1979; **95**: 187-196
- 11) Nakazawa M, Tawaratani T, Uchimoto H, et al.: Spontaneous neoplastic lesions in aged Sprague-Dawley rats. *Exp Anim*. 2001; **50**: 99-103
- 12) Ben-Jonathan N, LaPensee CR, LaPensee EW: What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocr Rev*. 2008; **29**: 1-41