

## 近交系マウスにおける妊娠, 出産, 養育状況<sup>1)</sup>

筑波大学大学院 (博) 人間総合科学研究科 昌子 浩孝

筑波大学心理学系 加藤 克紀

筑波大学心理学系 牧野順四郎

Pregnancy, parturition, and rearing in inbred strains of mice

Hiroataka Shoji, Katsunori Kato and Junshiro Makino (*Institute of Psychology, University of Tsukuba, Tsukuba 305-8572, Japan*)

Pregnancy rates, weaning rates, litter sizes, sex ratios of pups, and body weights at weaning for seven inbred strains of mice (A/HeJ, AKR/J, BALB/c, CBA/Ca, C57BL/6J, C3H/He, DBA/2J) were examined from the breeding records. The pregnancy rates were higher for DBA, C57BL, BALB, and CBA (92-95%) than for C3H, AKR, and A (69-79%). Weaning rates were higher in BALB, C57BL, DBA, CBA, and C3H (93-100%) than in AKR (72%) and A (49%). C57BL (6.8 pups per litter) had the largest litter size, while the strains DBA (4.6 pups) and A (4.3 pups) had the smallest litters. CBA and DBA produced more males, whereas A and BALB produced more females. BALB and C3H pups were heavier than those for other strains, with the pups of the AKR strain being the lightest. These results are discussed in terms of sexual or parental behavior.

**Key words:** pregnancy rate, weaning rate, litter size, body weight, inbred strain mice

従来, 母子関係の研究では子どもに焦点が当てられ, 子どもの発達に対する環境要因としての母親の役割が注目されてきた. しかし, 近年では虐待や育児放棄などに見られる母親の精神病理や女性の社会進出に伴う育児形態の変化が注目され, 母性とは何か, 母親の養育行動とはどのようなものかといった母親の側の問題も改めて取り上げられるようになった.

動物行動研究においては, げっ歯類を中心に内分泌系や脳神経系といった生理的要因や, 交尾や他個体との同居といった社会的要因, ならびに気温の変化といった環境要因に関する検討が行われ, 養育行動の発現・維持メカニズムの解明が進められてき

た. 近年では, ノックアウトマウスにおける雌親行動の障害 (Leckman & Herman, 2002) や近交系マウスにおける雌親行動の系統差 (例えば, Bond, Neumann, Mathieson, & Brown, 2002; Brown, Mathieson, Stapleton, & Neumann, 1999; Carlier, Roubertoux, & Cohen-Salmon, 1982) が報告され, 養育行動における遺伝的要因の影響を検討する上でマウスの有用性は高い.

マウスは実験用動物の中でもその繁殖および飼育が容易であることや実験的統御がし易いこと, 生活史が短く発達過程全体を扱えることなどの理由から医学・生物学の分野において広く利用されてきた. その中でも近交系マウスは有用性が高く, 現在200系統以上が国際登録されている (Festing, 1979).

心理学および行動遺伝学では, 行動の系統差, つまり当該行動に対する遺伝的影響について多くの研究が行われてきた. しかし, 性行動や養育行動との

1) 本調査は, 日本学術振興会科学研究費補助金・基盤研究 (B) (代表者: 牧野順四郎, 課題番号: 14310038) の助成を受けた. ここに記して感謝の意を表します.

関連性が深い妊娠、出産、養育状況については、多くの基礎データが繁殖業者や各種研究所および大学等の研究施設において蓄積されているにもかかわらず、系統比較の報告は少ない(例えば、長澤・宮本・藤本, 1973)。そこで、本研究では筑波大学心理学系動物実験棟において維持されている、あるいは過去に維持されていた7系統の近交系マウスの妊娠、出産、養育状況を交配記録簿から調査し、マウスの生殖行動に関わる遺伝的影響の基礎的検討を試みた。

## 方 法

### 調査対象

国立遺伝学研究所より移送され筑波大学心理学系動物実験棟において維持されてきた4系統(CBA/Ca, C57BL/6J, C3H/He, DBA/2J)および日本チャールズリバー社から購入し維持されてきた1系統(BALB/c)<sup>2)</sup>、ならびに国立遺伝学研究所より移送され、過去に維持されていた2系統(A/HeJ, AKR/J)の近交系マウスについて20世代の記録を調べた。現在維持されている5系統については2003年2月末日時点における最新の世代から1つ前の世代を基準として、BALBは16~35世代、CBAは75~94世代、C3Hは97~116世代、C57BLは101~120世代、DBAは95~114世代を対象とした。過去に維持されていた2系統については、交配を停止する世代の1つ前の世代を基点に過去20世代を対象とし、Aは41~60世代、AKRは14~33世代を対象とした。なお、調査対象は全て初産とした。

### 飼育と交配

調査対象となったマウスは21~25日齢で離乳し、離乳後は同腹同性の仔同士で集団飼育した<sup>3)</sup>。飼育はオガクズを敷いた透明プラスチック製ケージにて行い、餌(オリエンタル酵母)および水はケージに常設された餌箱および水瓶により自由に摂取させた。なお、床敷の交換を1週間に1度、また餌の補給および水瓶交換を適直行った。飼育室は、室温23±2℃に調節され、明暗12時間周期(明期:8:00~20:00)で照明された。

各個体が8~15週齢時に、同系統で同リターの雌雄を用いて雌1~4匹に対し雄1匹の割合で交配した。マウスは通常受胎後3週間程度で出産に至るので、交配から2週間ほど経過したら週1回の割合で雌の腹部の膨らみ具合を確認し、膨らみが確認された場合は、オガクズを敷いた個別ケージに移し<sup>4)</sup>、出産が確認された日を0日齢とした。交配期間中に雌雄どちらかが死亡した場合、および複数の雌を同

一ケージ内で交配し、妊娠雌を分離する前に同一ケージ内で複数の雌が同時期に産んだ可能性がある場合は、調査対象から除外した。

### 妊娠率

交配した個体数に対する妊娠した個体数の割合を系統ごとに算出し、妊娠率とした。また、交配個体数から妊娠した個体数を引くことによって妊娠しなかった個体数を算出した。妊娠個体とは、仔を出産するか、あるいは腹部の膨らみを確認した後に産形跡(オガクズに付着した血痕等)が確認された個体とし、産形跡のみで仔の姿が確認できなかったものも妊娠個体に含めた。なお、妊娠しなかった個体とは、交配から1ヶ月以上経過しても妊娠の徴候が確認されなかった個体である。

### 離乳率

妊娠した雌の個体数を分母とし、それらの雌から出生したリターのうち離乳まで生存したリターの数を分子として系統ごとに離乳率を算出した。また、妊娠個体数から離乳したリター数を差し引くことによって離乳しなかったリター数<sup>5)</sup>を算出した。なお、リターサイズが1匹である場合がまれに存在するが、この場合は近交系マウスを維持するための交配が不可能であるため、我々は離乳前にそのリターを殺処分してきた。このようなリターについては、離乳したリター数算出の対象から除外するとともに、以下の産仔数、仔の性比、仔の体重の算出においても除外した。

### 産仔数と仔の性比

各系統について離乳時に記録したリター当たりの仔数を産仔数とした。なお、離乳するまでに死亡した仔数については産仔数に含まれておらず、真の産仔数より少ない可能性があった。また、各系統における仔の性比は、離乳時における仔の性別の記録をもとに算出した。

### 仔の体重

離乳時における仔1匹当たりの平均体重を各系統について雌雄別に算出した。

- 2) BALB/cについては、1994年ICRとのコンタミネーションの疑いが生じたため、国立遺伝学研究所より移送された系統は74世代で維持を停止し、新たに日本チャールズリバー社から購入した系統を維持している。
- 3) 同腹仔に雄あるいは雌が1匹しかない場合は、離乳後も同腹の異性個体と同居させた。
- 4) 雄とペアで交配した雌や他の雌を個別ケージに移した後最後に残った雌は、妊娠してもそのまま雄と同居させた。
- 5) 離乳までに全ての仔が死亡したリター数。

## 統計

妊娠率および離乳率については，7条件（系統）×2カテゴリ（妊娠／妊娠せず，離乳／離乳せず）の $\chi^2$ 検定を行い，有意であった場合はRyan法による多重比較（5%有意水準）を行った。産仔数については，系統を要因とする1要因分散分析を行い，有意差があればTukeyのHSD法により多重比較（5%有意水準）を行った。仔の性比については，系統ごとに二項検定を行った。仔の離乳時体重については，系統×性の2要因分散分析を行った。主効果あるいは交互作用が有意であった場合は，単純主効果検定あるいはTukeyのHSD法による多重比較（5%有意水準）を適宜行った。

## 結 果

各系統の妊娠率，離乳率，平均産仔数，仔の性比，離乳時の平均体重をTable 1に示した。

## 妊娠率

系統差が有意であった（ $\chi^2(6)=71.71$ ,  $p<.0001$ ）。多重比較の結果，7系統は2つのグループに分かれ，DBA，C57BL，BALB，CBAの4系統は妊娠率が92-95%と他の3系統よりも高く，C3H，AKR，Aの3系統は妊娠率が69-79%と低かった。

## 離乳率

系統差が有意であった（ $\chi^2(6)=178.50$ ,  $p<.0001$ ）。多重比較の結果，BALB，C57BL，DBA，CBA，C3Hの5系統は離乳率が92-100%と他の2系統よりも高く，次がAKRの72%，最も低かったAは49%であった。

## 平均産仔数

系統差が有意であった（ $F(6, 623)=19.57$ ,  $p<.0001$ ）。多重比較の結果，C57BLの産仔数は6.8匹で他の6系統全てより多く，DBAおよびAはそれぞれ4.6，4.3匹で他の5系統全てより少なかった。

CBA，AKR，C3H，BALBの4系統については互いに差がなく，それぞれ5.8，5.8，5.6，5.5匹であった。

## 仔の性比

A，BALB，CBA，DBAの4系統で性比に有意な偏りが示され（それぞれ $z=2.96$ ,  $p<.01$ ;  $z=2.88$ ,  $p<.01$ ;  $z=2.03$ ,  $p<.05$ ;  $z=5.48$ ,  $p<.01$ ），AとBALBは雌が多く，CBAとDBAは雄が多かった。

## 離乳時の仔の平均体重

系統（ $F(6, 3457)=287.62$ ,  $p<.0001$ ）および性（ $F(1, 3457)=84.06$ ,  $p<.0001$ ）の主効果，ならびに系統×性の交互作用（ $F(6, 3457)=7.73$ ,  $p<.0001$ ）が有意であった。そこで，単純主効果を分析した結果，CBA，C3H，C57BL，DBAにおいて性の要因が有意であり，5系統全てにおいて雄の方が重かった。また雌雄双方において系統の単純主効果が有意であったので，多重比較を行った結果，雄については，C3H，BALB，DBA，CBA，C57BL，A，AKRの順で重かったが，DBAとCBAの間には有意差がなかった。一方，雌については，BALB，C3H，DBA，CBA，C57BL，A，AKRの順で重かったが，BALBとC3H，DBAとCBA，CBAとC57BLの間には有意差がなかった。

## 考 察

本調査の結果から，近交系マウス7系統の妊娠率，離乳率，産仔数，仔の性比，離乳時体重に系統差があることが示された。妊娠率については，DBA，C57BL，BALB，CBAの4系統が高く，AKRおよびAは低かった。このような妊娠率の違いは求愛行動や雌の発情周期，排卵頻度，雄に対する受容性，受精および着床のし易さ，あるいは雄の性行動や精子の受精能力など，繁殖に関わる多様な生理

Table 1 Pregnancy rate, weaning rate, mean litter size ( $\pm$ SD), sex ratio, and mean body weight ( $\pm$ SD) in seven inbred strains of mice

strain	no. of pairs	pregnancy rate	weaning rate	mean litter size	sex ratio (% male)	mean body weight	
						male	female
A	193	69.4	48.9	4.3 $\pm$ 1.5	41.2	9.28 $\pm$ 1.70	8.99 $\pm$ 1.46
AKR	150	77.3	71.7	5.8 $\pm$ 2.0	52.4	8.40 $\pm$ 1.59	8.04 $\pm$ 1.48
BALB	124	92.7	100.0	5.5 $\pm$ 2.2	44.1	12.29 $\pm$ 2.23	12.09 $\pm$ 1.99
CBA	78	94.9	93.1	5.8 $\pm$ 1.7	55.3	11.46 $\pm$ 2.07	10.47 $\pm$ 1.64
C3H	121	79.3	92.7	5.6 $\pm$ 1.7	50.6	13.38 $\pm$ 2.19	11.76 $\pm$ 1.43
C57BL	122	93.5	94.7	6.8 $\pm$ 1.6	52.7	10.72 $\pm$ 2.28	10.25 $\pm$ 1.92
DBA	125	95.2	94.1	4.6 $\pm$ 1.5	61.6	11.55 $\pm$ 2.55	10.91 $\pm$ 2.22

的、行動的側面における系統差を反映していると考えられる。

離乳率については、BALB, C57BL, DBA, CBA, C3Hの5系統が高く、それらに次いでAKR, そしてAが最も低かった。離乳率の系統差は、雌親の養育行動の違いを反映しているのかもしれない。例えば、BALB/cとC57BL/10の間で養母交換を行った場合、BALBの雌親に育てられた仔の離乳時生存率が高いという報告(Ressler, 1963)は、BALBの雌親の養育が優れている可能性を示唆する。なお、本調査ではBALBとC57BL/6の離乳率に有意差はなかった。C57BLは亜系統によって養育行動に違いがあるのかもしれない。

Brown et al. (1999)はC57BL/6JとDBA/2Jにおける雌親行動の系統比較を行い、DBAは授乳姿勢が多く、C57BLは仔運びが多いこと、またC57BLの仔は死亡率(出生時産仔数に対する離乳までに死亡した仔数の比率)が高いことを報告した。本調査においてはC57BLとDBAの離乳率はほぼ同程度であったが、Brown et al. (1999)が用いた死亡率と直接比較することは難しい。今後、出生直後の産仔数を記録し死亡率を算出することによって、養育行動との関連について検討を試みる価値はあるだろう。

産仔数については、C57BLが最も多く、DBAおよびAが最も少なかった。C57BLはDBA, CBA, BALBに比べ妊娠率および離乳率が同程度であるが産仔数が多いことから適応度(fitness)が高く、一方、Aは妊娠率、離乳率、産仔数全てにおいて最も低い値を示していることから適応度の最も低い系統であるといえるであろう。離乳時の仔の多さは雌親の養育の程度や仔殺し・仔喰いの可能性を示唆しているかもしれないが、既に述べたように、本調査では離乳以前の仔の死亡に関する情報は得られなかったため、離乳時の産仔数によって親の養育を評価することはできなかった。

仔の性比については、CBAおよびDBAは雄が、またAおよびBALBは雌が多かった。離乳時の性比について調査を行ったCook & Vlcek (1961)によると、Aは雌が多く、BALB, CBA, DBAは性比に偏りを示さなかった。今回、調査対象となった系統は全て、我々の研究室で20世代以上維持されており、亜系統化が進行していると考えられる。本調査とCook & Vlcek (1961)との不一致にはそうした亜系統化が影響しているのかもしれない。

仔の離乳時体重については、C3HやBALBは重く、AやAKRは軽い系統であることが示された。離乳時体重に系統差があることはよく知られている

が、養母交換によって仔の体重が変化することから、雌親の養育による影響も重要である(Maxson & Trattner, 1981; Reading, 1966; Ressler, 1963)。雌親の養育による仔の体重への影響にはリターサイズが関わっている可能性もある。小さなリターを抱える雌親は、大きなリターを抱える雌親に比べ授乳姿勢や仔舐めを多く示すという報告がある(Priestnall, 1972)が、そうであれば産仔数が少ない系統の仔はそれだけ多くの授乳や仔舐めを受け、より体重が増加することが予想される。実際、産仔数の多いICRでは、産仔数が少ない場合、離乳時体重の増加がしばしば観察される。しかし、本調査では出生直後の体重の記録がなく、養育中の正確なリターサイズも明らかでなかった。また、離乳時の産仔数が最も少ないAが仔の離乳時体重も少ないことを考慮すれば、本調査ではリターサイズによる雌親行動の違いから離乳時体重の系統差について説明することは難しい。

本調査では、近交系マウスの妊娠率、離乳率、産仔数、仔の性比、離乳時体重の全てにおいて系統差が示され、マウスの生殖に遺伝的影響が大きく関わっていることが示された。今後は、性行動や養育行動などの系統差との関連をさらに検討する必要があるだろう。

## 引用文献

- Bond, T.L.Y., Neumann, P.E., Mathieson, W.B. & Brown, R.E. 2002 Nest building in nulligravid, primigravid and primiparous C57BL/6J and DBA/2J mice (*Mus musculus*). *Physiology and Behavior*, 75, 551-555.
- Brown, R.E., Mathieson, W.B., Stapleton, J. & Neumann, P.E. 1999 Maternal behavior in female C57BL/6J and DBA/2J inbred mice. *Physiology and Behavior*, 67, 599-605.
- Carlier, M., Roubertoux, P. & Cohen-Salmon, C. 1982 Differences in patterns of pup care in *Mus musculus domesticus*. I. Comparisons between eleven inbred strains. *Behavioral and Neural Biology*, 35, 205-210.
- Cook, M.J. & Vlcek, A. 1961 Sex-ratio in mice. *Nature*, 191, 89.
- Festing, M.F.W. 1979 Inbred strains in biomedical research. London: The Macmillan Press.
- Leckman, J.F. & Herman, A.E. 2002 Maternal behavior and developmental psychopathology. *Biological Psychiatry*, 51, 27-43.

- Maxson, S.C. & Trattner, A. 1981 Interaction of genotype and fostering in the development of behavior of DBA and C57 mice. *Behavior Genetics*, **11**, 153-165.
- 長澤 弘・宮本盛吉・藤本政晴 1973 系統マウスの繁殖成績と計画生産について 実験動物, **22**, 119-126.
- Priestnall, R. 1972 Effects of litter size on the behaviour of lactating female mice (*Mus musculus*). *Animal Behaviour*, **20**, 386-394.
- Reading, A.J. 1966 Effects of maternal environment on the behavior of inbred mice. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **62**, 437-440.
- Ressler, R.H. 1963 Genotype-correlated parental influences in two strains of mice. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **56**, 882-886.

(受稿10月2日：受理10月22日)