

自然発症高脂家兎の性状と系統開発に関する研究

渡 辺 嘉 雄

神戸大学医学部動物実験施設

STUDIES ON CHARACTERISTICS OF SPONTANEOUSLY
HYPERLIPEMIC RABBITS AND DEVELOPMENT
OF THE STRAINS WITH SUCH PROPERTY

Yoshio WATANABE

*Experimental Animal Laboratory, Kobe University, School of Medicine
Kusunoki-cho, Ikuta-ku, Kobe-shi 650, Japan*

Abstract: A large number of hereditary diseases of various animals species similar to those of man or of spontaneous disease models in laboratory animals analogous to human diseases have been discovered. Yet, no model strain of spontaneously hyperlipidemic animals has been introduced. Therefore, animals with hyperlipidemic induced experimentally by administration of lipid or drugs are usually used in experimental studies. The problems are inherent in the use of such animals with experimental hyperlipemia as they present clinical pictures which are not applicable to studies on the human counterpart; hence a strong demand for model laboratory animals with spontaneously developed hyperlipidemia.

In a course of follow-up study of serous cholesterol (S-ch) levels in Japanese white rabbits (*Oryctolagus cuniculus* var. *domesticus*) a spontaneously hyperlipemic rabbit (HLR-P) was found at our laboratory, and a foundation was established for a strain of disease model animals by inbreeding of the HLR-P. The breeding process of the HLR strain, the clinical and pathologic features of these animals and the similarity of their condition to hyperlipidemia in man are as follows:

1) Inbreeding was carried out in two lines, viz. sister-brother mating and parent-offspring mating. As a result, the second filial generation showed an occurrence of HLR of 15.0% (3/20), the third filial generation 50.0% (26/52) and the fourth generation 80.0% (16/20) respectively, whereas no HLR appeared in the first filial generation, suggesting the condition being a recessive trait.

In the fourth filial generation, the coefficients of inbreeding and relationship were respectively as high as 50% and 76.3%. Four cases of splay-leg and one case of infertility were encountered as the only unfavorable factors in the course of successive inbreeding. However, no significant depression of delivery rate, and weanling rate were observed in any of the consecutive inbred generations.

It was practicable to diagnose the HLR phenotype in an early stage by reference to S-ch levels determined at weanling. That is, in animals exhibiting S-ch levels not higher than 300 mg/100 ml at the time of weanling, the S-ch value declined progressively with advancing age to fall virtually within the normal limits of this species. In contrast, those showing more than 300 mg/100 ml at weanling continued to display markedly high levels of S-ch even after sexual maturation. Plasma β -lipoprotein (β -LP) and total lipid concentration were also abnormally elevated in these animals. These, therefore, are inferred to have become homozygous for the gene by which the development

of hyperlipemia is controlled.

2) A prominent clinical feature characteristic of HLR is conspicuous elevation of total lipid concentration which is the sum of various serum lipid components including S-ch and β -LP. The S-ch level was determined to be 400 ± 70 mg/100 ml, the serum β -LP level 9.1 ± 1.5 units/100 ml and the total lipid concentration 1146 ± 270 mg/100 ml in the HLR. These values are approximately 9, 10 and 4 times as high as those in normal rabbits respectively. Prominent in the electrophoretic pattern of the serum lipoprotein fraction from the HLR were hyperchromatic β lipoprotein bands and an increased pre β -lipoprotein content.

While there was no evidence of hyperuricacidemia, abnormalities in carbohydrate metabolism or any chromosomal morphological abnormality, lipid calcinosis like degeneration of the auricular artery and lipemic bulbus oculi were grossly apparent.

3) After sacrifice, atherosclerotic lesions were evident extensively in the aorta and renal arteries and also clearly demonstrable in the ventricles and valves of the heart. Nodular or plane xanthomas were conspicuous over the articuli digitorum.

Thus the HLR was understood to show recessive inheritance of this trait with clinical evidence of abnormally high S-ch, β -LP and total lipid levels of serum and serum lipoprotein electrophoretic pattern was characterized by hyperchromatic β -LP bands and increased pre β -lipoprotein content.

Besides these the mode of development and types of atheromatous lesions and xanthomas were typical in these rabbits exhibiting no evidence of hyperuricacidemia or abnormalities in carbohydrate metabolism.

Hyperlipemia in man was classified into 5 types by Fredrickson or WHO. The Fredrickson types were therefore compared with the properties of HLR strain.

i) Properties of the serum: In HLR strain, no cream-like overlaying zone due to chylomicron characterizing Fredrickson type I or V was found in the quietly kept serum. In the electrophoretic findings, no thick stain due to chylomicron was noted at the original line of the electrophoretogram. Consequently, no resemblance to Fredrickson type I or V was found in the serum properties of HLR strain.

In Fredrickson type IV, a marked increase of neutral fat is said to be found with normal or mildly elevated S-ch value. In HLR strain, however, a marked rise of S-ch value was noted, unlike the type IV.

The Fredrickson type II or III is said to be characterized by abnormally high values of S-ch, β -lipoprotein and total lipids. In the electrophoretogram of lipoproteins, staining of β or pre β area is said to be found, with a marked resemblance to HLR strain. HLR strain therefore corresponds to Fredrickson type II or III in regard to serum properties.

ii) Comparison of the mode of inheritance.

HLR strain is transmitted by a recessive mode of inheritance, while Fredrickson type II or IV is inherited by a dominant mode. HLR strain is thus different from these type and resembled type I, III and V inherited by a recessive mode of inheritance.

iii) Comparison of the mode of appearance of xanthoma

Xanthomas were seen in about 60% of the cases of Fredrickson type I. These are generally exanthematous, occurring at any places including the mucous membrane. In type II, nodular or flat xanthomas frequently appear on the Achilles tendon, tendon of fingers, and extensor side of the elbow joint. In type III, nodular, flat or exanthematous xanthoma appear in the upper and lower extremities and buttocks, with characteristic nodular lesion around the elbow and yellowish strial over the palm and soles. In types IV and V, appearance of xanthoma is said to be rather rare.

In HLR strain especially HLR-P, characteristic nodular or flat xanthomas appear around the digital joint and soles of the fore and hind legs, and involving the elbow joint. The mode of appearance of xanthoma in HLR strain therefore resembles that

in Fredrickson type II or III.

i) Comparison of the mode of appearance of atheroma

In Fredrickson types II, III and V, atheroma appears in the artery. Especially in II, atheroma is said to appear in the aorta, coronary artery and cerebral basal artery in about 50% of cases. In type III, the frequency of such change is said to be as high as 60%.

The autopsy performed in 8 animals of HLR strain revealed marked atheroma in the aorta of all the animals. In HLR-P, distinct atheroma are noted in the coronary, renal and cerebral arteries. In view of such mode of appearance of atheroma, HLR strain resembles Fredrickson type II or III.

V) Comparison of hyperuricemia

Serum uric acid levels were lower in HLR strain than in normal rabbits. Hyperuricemia most frequently appears in type II of Fredrickson, only occasionally detected in type III, IV and V, and is never seen in type I. HLR strain therefore appears to be different from type II, according to the mode of appearance of hyperuricemia.

vi) Comparison of the abnormalities in sugar metabolism

In each type except in type I and II of Fredrickson, some abnormalities of sugar metabolism are found. Especially in type IV, abnormal sugar metabolism is found in 90%. In HLR strain, no abnormalities of sugar metabolism was noted, unlike type IV.

Based on these findings, HLR strain resembles type III in the classification of hyperlipemia in man, according to the properties of serum lipid component, electrophoretic picture of lipoproteins, mode of inheritance, and mode of appearance of atheroma and xanthoma, and may serve as the experimental model for these conditions.

While the scientific interest is directed to the advance of closely related generations, plans are being made in our laboratory for the enlargement of F_2 and F_3 colonies under consideration of the coefficients of a close interbreeding, blood relation and rate of appearance of HLR with the aim of eventual supply of the strain animals for the need in hyperlipemia research.

医学分野と獣医学分野における情報交換は古来より密接であるが、近年とくにその重要性が強調されている。すなわち近年原因不明あるいは対策不明とされているヒトの疾患、症候群が増大する傾向にあることから、それらのいわゆる難病を究明する対策として、それらに類似した疾患の発現を特性としてもつ動物の発見と、さらに進んでそれらの特性を継代し、遺伝的に固定し、ヒトの疾患モデルとなり得る動物を作出することが極めて重要な意味をもってきた。したがってこれらの疾患モデル動物の作出、維持は医学、獣医学、畜産学のそれぞれの分野の共同研究によって遂行されるものであり、それらの各々の立場での情報の交換は極めて重要な課題となっている。

ヒトと各種動物にみられる類似遺伝疾患、あるいはヒトの種々の疾患に対する動物の自然発症モデルは近年になって数多く発見されている[70]。とくに最近ではヒトにおいて成人病、腫

瘍がクローズアップされているが、それに伴って、それらの疾患のモデルとなり得る実験動物の開発が多くの研究者によって進められている。それらのなかでとくに著明なものとして自然発症高血圧ラット (SHR)[54-56, 73]、自然発症糖尿病マウス (KK)[32, 48, 50, 51, 53, 64, 75]、あるいは免疫、がんの研究に重要な役割を果たしつつある nude mouse[18] の発見等があり、それらはそれぞれ遺伝的な純化がなされてヒトの疾患研究上貴重な実験動物となっている。

このようにヒトの成人病のうち高血圧、糖尿病については、それぞれの研究に好適な疾患モデル動物が開発され多くの研究の進展に寄与している。しかしながら成人病のうち高脂血症あるいは高コレステロール血症、さらに動脈の粥状硬化症については、動物における自然発症例の報告は数多くあるがいずれも遺伝的純化によって系統として確立されたものは見当たらない[4, 8, 14, 16, 29, 37, 46, 50, 58, 62]。したがって

高脂血症あるいは高コレステロール血症，動脈の粥状硬化症の研究にはウサギ等を用いて，1) 飼料に油脂，薬物等を添加する方法，2) 体内主として肝の脂質合成を高める方法，3) 脂肪の異化を減弱させる方法等の人為的な方法によってまずウサギ等に高脂血症を発症せしめそのうちそれらの研究にかかるというのが現状である。しかしながらこのように正常ウサギに高脂血症を発生せしめるための数々の努力が行なわれているにもかかわらず，これらの実験的に作出された高脂血症のモデル動物は，その基礎的な疾患の病像が必ずしも臨床に適應できるとは限らないという問題があり，自然発生的に生じた動物を継代育成したものがヒトの臨床に最も適当として要望されている[72]。

著者は異なる給餌法によるウサギの血清総コレステロール値の経時的变化を観察中[77]に，正常ウサギに比較して血清コレステロールと β リポ蛋白が約10倍，総脂質が約5倍の異常な高値を示した1羽の日本白色種雄ウサギを発見した[78]。このウサギは上記の血清脂質成分とともにリポ蛋白の電気泳動所見においてもさらに動脈の粥状硬化，黄色腫の発現状況等においてもヒトの高脂血症の所見と著しく類似するものであった。したがって本研究はこの自然発症高脂血ウサギを基礎種雄畜として，近親交配を行ない高脂血症遺伝子の継代を行なって，ヒトの高脂血症のモデル動物としての系統の基礎を確立したもので，この系統すなわちHLR strain (Hyper Lipidemic Rabbit strain) の育種成績と，臨床所見上の，あるいは病理組織所見上の特性，さらにヒトの高脂血症との類似性等について報告するものである。

研究材料および方法

1. 研究材料

供試動物はすべて日本白色種ウサギ (*Oryctolagus cuniculus* var. *domesticus*) を用いた。自然発症高脂血雄ウサギ1羽と，交配に用いた正常雌ウサギ10羽ならびにそれらの産仔92羽，さらに対照とした正常雄20羽，正常雌10羽の合計133羽を用いた。

2. 研究方法

1) 採血方法

飼料はすべて固型飼料を用いた関係で産仔の離乳は生後約1ヶ月目に行ない，また生後4~5ヶ月で2.0~2.5 kgの体重となったのでこの時期を成熟期とした。採血は1ヶ月令から5ヶ月令まで毎月1回定時に行ない，成熟後は不定期に行なった。採血量は0.5~0.6 mlで血清コレステロールと血糖の測定に用いた。また不定期に6.0~8.0 mlを採血し，24項目の血清化学成分 (Table 2) の測定に用いた。さらに不定期に約10.0 mlを採血し，電気泳動あるいは染色体の核型検査に用いた。

血液は耳翼周縁静脈ならびに耳動脈から採血した。採血時間は毎日定量給餌のものは給餌前の空腹時である午前9時から10時の間に行なった。ad. libitumに給餌しているものは午前中に行なった。

血清は凝血後直ちに3,000 rpmで15分間遠心沈澱後採取し，直ちに各種測定に使用した。

2) 血清分析方法

血清コレステロールならびに血糖の測定はRaba-System Unkit (Rapid blood analyzer: 京都第一科学) でそれぞれUnkit試薬を用いてZurukowski変法，オルトトルイジン硼酸法で測定した。

24項目の血清化学成分の測定は血清採取当日に日本医学研究所 (JML, 茨木市) に送りAutochemist (AGA·AB·Sweden) で次のような方法で分析した。

クレアチニン: Jaffe法[19], 総蛋白: Biuret法[43], アルブミン: Brom cresyl法[61], チモール混濁反応 (TTT): 肝臓機能研究班標準法[63], 乳酸脱水酵素 (LDH): Nitro-tetrazolium法[2], グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT), グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT): Reitman·Frankel法[59], アルカリホスファターゼ (ALP): Kind & King法[76], ロイシンアミノペプチターゼ (LAP): 竹中·高橋法[71], コリンエステラーゼ (Ch-Ease): 5.5 Dithiobis (2-nitro)法[17], 総ビリルビン, 直接ビリルビン: Ganbino法[15], 血糖: Glucose oxidase法[74], 総脂質: Kunkel法[36], β リポ蛋白:

Dextran 法[5], コレステロール(S-ch): Zuru-kowski 法, 尿素窒素 (BUN): Urease-ind-phenol 法[6], 尿酸 Uricase·Cu·Neocuproine 法[45], Na, K, Ca: Flame photo metery 法[24], Cl: 「Fe(CNS)₃」 photo metry 法[80], P: Molybden blue 法[60]アミラーゼ: Cara-way 変法[28]。

3) 血清蛋白ならびにリポ蛋白の電気泳動法
電気泳動を行なった血清は20時間絶食せしめた早期空腹時の血液から採取した。

血清リポ蛋白の電気泳動は次のような方法で行なった。

(1) 支持体としてセルロゲル (Chemetron-20129, Milano, Italy) を用いた。

(2) セルロゲルを Na Veronal-EDTA 緩衝液 (Diethylbarbiturate Sodium Salt 5.15 g + EDTA tetra Sodium Salt 2.6 g/D.W. 10000 ml) に30分浸けて緩衝化したのちアプリケーションで新鮮血清を塗布し 200 V, 40 分間の泳動を行なった。

(3) 泳動終了後 2.5% Amidoschwarz 液 (Methanol 45 ml + D.W. + Acetic Acid 10 ml + 0.5 Amidoschwarz) で5分間染色を行ない, Methanol: D.W.: Acetic Acid (475:50) で脱色した。

リポ蛋白の脂肪染色は次のような方法で行なった。

(1) セルロゲルを Vernal-EDTA 緩衝液に30分浸漬した後, 血清をアプリケーションで塗布した。高脂血症ウサギ (HLR) は血清を1回塗布したが, 高脂血非発症ウサギ (NON-HLR) と正常ウサギは1回の血清塗布では泳動図が染色しないので, 塗布した血清が半ば乾燥した時にさらにもう一度塗布し, 3回塗布した。すなわち HLR の3倍量の血清を塗布した。

(2) 泳動は 200 V で40分間行なった。

(3) 泳動後 2.5% CH₃COOH で5分間処理し, ついで Ciba 7B T192 100 ml + EtOH 60 ml + 4% NaOH 40 ml に浸けて2時間脂肪染色し, 染色後流水中で2分間洗い, 水分除去後 7% glycerol に2分間浸した。

4) 染色体核型検査法

(1) ヘパリン処理静脈血 10 ml (ヘパリン 0.1

ml) に phytohemagglutinin-M (アメリカ Difco 社, イギリス Wellcome 社製) を 0.2 ml 加えて静かに攪拌した後, 密栓して氷槽 (0~4 °C) に入れて約1時間放置した。

(2) 白血球を含む血漿と赤血球の2層に分離した血液のうち 1 ml の血漿を採取し, これに 2 ml の培養液 TC-199 (ペニシリン 100 μ/ml とストレプトマイシン 100 mcg/ml を含む) を加えて培養瓶 (TD-15) に入れ, 密栓して 37°C の恒温器に静置して3日間培養した。

(3) 培養後 3~6 時間コルヒチン処理を行ない (コルヒチン濃度 0.5~1.0×10⁻⁶ M), ガラス壁に附着した白血球を遊離させ, 800 rpm で5分間遠心し, 上澄除去後, Hanks 液を加えて静かに攪拌後さらに遠心し, 上清除去後 1% クエン酸ソーダーで 37°C, 5~20 分間処理した。

(4) 1% クエン酸ソーダーで処理したものを 600 rpm で5分間遠心し, 上清除去後, 固定液 (メタノール 3: 醋酸 1) を 3 ml 加え 30 分間放置した。この操作を数回繰返した後, 固定液 0.3~0.5 ml を加えて攪拌し細胞浮遊液を作り冷却したスライドグラスにこの浮遊液を 2~3 滴落とし直ちにガスバーナーの小さい焰の上で乾燥させ白血球をスライドグラスに張りつけてギムザ染色を行ないピオライトで封じた。染色体分析方法は巻末の文献を参考した[27,41,57]。

5) 最高血圧測定法

最高血圧は耳介中心動脈で測定した。測定方法は Fig. 1 に示した。すなわち耳殻内部に円筒状の adapter をそう入し, 耳根部にマンシエットを, 耳介中心動脈に脈波検出器をセットした。加圧後徐々に減圧して最初に出現した脈波が脈波増幅記録計に記録された時にマンメータ

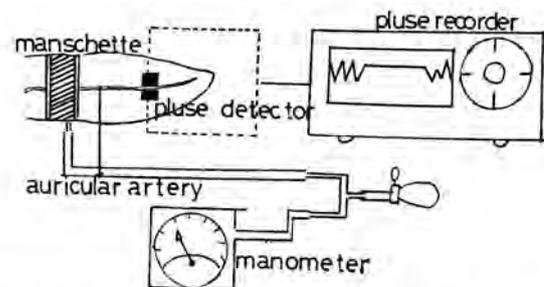


Fig. 1. Method of measurements of highest blood pressure.

一の目盛りを読んで最高血圧とした。また測定法を簡易にするため脈波増幅記録計を脈波同期ランプに置き換えて、減圧によって最初に脈波が出現した瞬間にランプが点灯する装置にした方法も用いた。両者とも理論的に同一であり測定値に差はなかった。

血圧は恒温室で(21±2°C)ウサギを採血箱に入れて安静にした後測定した。1羽のウサギについて3~5回測定し、その平均値を測定値とした。3~5回測定した最高血圧のバラツキは0~10 mmHgであった。それ以上のバラツキのあったものは数時間後あるいは数日後再測定した。

6) 病理解剖, 組織検査法

とくにヒトならびにウサギの高脂血圧の剖検上の主要所見[4, 8, 26, 29, 37, 39, 42, 44, 68]と比較するべく次のような点を中心に観察した。

(1) 皮下, 前後肢の関節, 腱, 各種臓器の脂肪沈着の状況。

(2) 大動脈起始部, 大動脈弓, 動脈分岐部, 腎動脈, 冠状動脈, 脳底動脈, 耳介動脈における粥腫(Atheroma)ならびに粥状硬化変性(atherosclerosis)の発生状況。

(3) 眼瞼, 肘関節, アキレス腱, 前後肢の伸側, 手根部, 足根部, 胸部, 臀部, 指関節の掌側, 背側部等における発疹性, 扁平性あるいは結節性の黄色腫(Xanthoma)の発生状況。

(4) 肝臓, 心臓, 脾臓, 腎臓の脂肪変性の状況。

以上についてほぼ同月令の同じ飼育条件にあった対照ウサギと比較しながら剖検を行なった。

病理組織検査は動脈ならびに諸臓器を中性ホルマリンで固定した後, 圧縮炭酸ガスによる凍結切片を作り, Sudan III, あるいはパラフィン包埋切片を作り Elastic Van giesson, Azan Mallory あるいは Kossa の鍍銀法等の染色を行なって鏡検した。

7) 飼育管理方法

供試ウサギはすべて温度 22±2°C, 湿度 60±10% の恒温恒湿の飼育室で飼育し, 照明は day light 方式による照明すなわち日没と同時に消灯し, 日照と同時に点灯し, 太陽リズムに

合せて明暗時間のなかで季節変化を与える構造の飼育室で飼育した[34]。

飼料は固型飼料 ORC-5 (オリエンタル酵母 KK 製) を用い, 日量 100 g を給与し, 水は *ad libitum* に給与した(自動給水器)。ただし分娩ウサギについては分娩前約20日間, 分娩後約50日間, また未成熟ウサギは離乳後成熟までの約120日間は飼料, 水ともに *ad libitum* に給与し, さらに不定期に野菜を給与した(主としてキャベツ)。

飼育ケージは 45×40×40 cm の蔭酸加工アルミニウム製のものを使用し, 自動給水, 自動水洗装置を施した個別のケージで飼育した。ただし分娩ウサギは分娩前後約40日間は別室恒温室で 136×49×34 cm のプラスチック格子網目のケージ(セキスイコンテナ BK-80)を2室に仕切った分娩用ケージで飼育した。床敷はすべて木綿を使用した。

8) 系統繁殖方法

自然発症高脂血ウサギと正常ウサギの雌10羽(01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10)を交配し, それらの産子のうち04と02の産子を選抜して(F₁), 04 line, 02 line とし, それぞれの line で兄妹交配あるいは親仔交配, さらに兄妹交配と親仔交配を混用した方法, また兄妹交配, 親仔交配に由来したものと原種畜との交配, すなわち戻し交配等の近親交配を行なった。

交配は監視下で行なわれ, 交配直後膀胱液を採取し, 顕微鏡下で精虫の有無を確認した。

基礎種畜の選抜は離乳時の血清コレステロールの測定値で行ない, さらに2~5ヶ月令の間にβリポ蛋白, 総脂質の測定あるいは血清蛋白の電気泳動を行ない, 血清脂質成分の異常高値を示し, 電気泳動で Broad pre-β を示したものを選抜した。

研究成績

1. 臨床所見

1) 血清脂質成分の所見

(1) 自然発症高脂血ウサギ (Spontaneously Hyper Lipemic Rabbit: 以下 HLR という) の原種雄ウサギ (以下 HLR-P という) の成熟前(生後約3ヶ月令)から, ほぼ繁殖可能限界とい

われている約32ヶ月令[66]までの血清総コレステロール(以下S-chという)の測定値をTable 1に示した。正常ウサギのS-ch値は、われわれが21羽のウサギで16回繰返し測定した結果 43 ± 13 mg/dlであった[78]。HLR-PのS-ch値は測定日によって若干の変動はあったが約30ヶ月の間215~477 mg/dlの異常な高値を持続した。

Table 1. Serous cholesterol levels of HLR-P*

Estimation day	Month of age	Body weight (kg)	S-ch level (mg/dl)
1973 4. 3	3	1.8	278
4. 8	3	1.8	319
5.10	4	2.2	286
5.20	4	2.2	232
6.10	5	3.0	259
6.20	5	3.0	281
7. 1	6	3.2	245
7.10	6	3.2	215
8.20	7	3.5	273
9. 2	8	3.5	447
1974 7.29	18	3.8	408
1950 6.24	29	3.1	216
7.25	30	3.0	450
9.10	32	2.9	385

Normal male adult rabbits: mean \pm S.D. 43 ± 13 mg/dl (74-17 mg/dl) (N=21 r=16 Total 336)** Upper critical limit; 87 mg/dl

* Male rabbit (Original stock of Hyper Lipemic Rabbit).

** Normal rabbit (Body weight 1.9-2.0 kg, 100 day old, Estimation period: Nov.-Dec., 1973).

またHLR-Pの9ヶ月令と14ヶ月令における24項目の血清化学成分の測定値をTable 2-a, bに示した。対照とした正常ウサギと比較してS-ch値のみならず β リポ蛋白、総脂質の脂質成分が顕著な高値を示したことが特徴的であった。すなわちHLR-Pは正常ウサギと比較してS-ch値ではほぼ10倍、 β リポ蛋白ではほぼ8倍、総脂質はほぼ5倍の高値を示した。他の21項目の血清化学成分では、正常ウサギとの間に著明な差はみられなかった。したがってこのウ

サギは自然発症の高脂血ウサギであることは間違いないと判断して系統開発のための基礎畜とした。

(2) HLR-Pと10羽の正常ウサギと交配したが、その産仔すなわち F_1 には高脂血症ウサギは出現せず、HLR-Pと F_1 あるいは F_1 と F_1 の交配によってできた産仔すなわち F_2 に初めて高脂血症ウサギが出現した。 F_2 以降の産仔の中で高脂血症の発症がみられた産仔をHLRとし、非高脂血症産仔をNON-HLRとして区分した。このHLRとNON-HLRならびに正常ウサギの月令別のS-chの測定値をFig. 2に示した。

Fig. 2にみられるように、HLRはS-chの異常な高値を示した。またNON-HLRも正常ウサギと比較して離乳時では著明な高値を示した。しかしながらNON-HLRは加齢とともにS-ch値の低下がみられ、成熟時には正常ウサギとほぼ同じ値、すなわち正常範囲に低下した。このように離乳時から成熟に至るまでの間に加齢とともにS-ch値の低下する現象は、正常ウサギにも若干その傾向はみられたがNON-HLRの場合の低下はとくに顕著であった。これに対してHLRでも若干の変動はみられたが、各月令時において正常ウサギの約10倍の高値を持続しNON-HLRならびに正常ウサギとは明らかに異なったものであった。

HLRとNON-HLRのS-ch値のこのような異なる加齢影響について両群の離乳時のS-ch値を個体別に調べた結果、HLRの離乳時(離乳後約1ヶ月目)のS-ch値はすべて300 mg/dl以上であった。またNON-HLRのS-ch値はすべて300 mg/dl以下であった。このようなことから著者は離乳時におけるS-ch値300 mg/dlを基準として、それ以上のものを高脂血症遺伝子がhomo接合体となっているもの、すなわちHLRとし、300 mg/dl以下のものをHetero接合体となっているものと判断してNON-HLRとして区分した。

つぎにHLR-Pの産仔の24項目の血清化学成分をみると(Table 2b)、離乳時にS-ch値が300 mg/dl以上を示したHLRではすべての個体でHLR-Pと同様にS-ch、 β リポ蛋白、

Table 2a. Biochemical findings in sera of foundation stock of HLR strain

		HLR-P 9 mon.	HLR-P 30 mon.	0414 12 mon.	0214 12 mon.
Total protein	g/dl	6.5	7.6	7.2	6.7
Alubumin	g/dl	2.6	2.5	2.5	2.5
Total lipids	mg/dl	3011	1102	830	1459
Cholesterol	mg/dl	447	450	307	316
β -lipo protein	unit	10.6	9.4	9.6	8.8
Glucose	mg/dl	141	109	91	111
BUN	mg/dl	24	27	23	28
Uric acid	mg/dl	0.2	0.5	0.1	0.1
Creatinine	mg/dl	0.8	1.6	1.2	1.2
TTT	unit	0.4	0.1	0.1	0.4
Total bilirubin	mg/dl	0.2	0.2	0.2	0.3
Chole bilirubin	mg/dl	0	0.1	0.1	0.1
AL-P	units	5.7	2.7	2.4	4.0
Ch-Ease	μ mol	3.5	3.6	5.7	2.9
GOT	unit	26	36	32	37
GPT	unit	67	45	55	44
LAP	unit	232	183	198	218
LDH	unit	306	1012	362	382
Amylase	unit	185	197	198	208
Na	mEq/l	142	142	141	137
K	mEq/dl	4.8	5.2	3.6	3.9
Ca	mg/dl	14.3	14.4	12.9	13.6
Cl	mEq/l	100	103	104	102
P	mg/dl	4.5	5.6	3.9	3.6

mon.: month age.

総脂質の脂質成分で異常高値がみられ、NON-HLR, 正常ウサギに比較して、それぞれ約8倍、約6倍、約3.5倍の高値を示した。また他の21項目については3群の間に著明な差は認められなかった。このことは原種雄畜である HLR-P の成績と完全に一致し、明らかに遺伝性の高脂血症ウサギであることが証明されたものである。

HLR, NON-HLR について S-ch と β リポ蛋白ならびに S-ch と総脂質との相関関係を調べたが、S-ch 値が正常のもので β リポ蛋白、総脂質の両者あるいはいずれか一方が高値を示した個体は認められなかった。また S-ch 値が

高値で β リポ蛋白、総脂質の両者あるいはいずれか一方が低値を示した個体も認められなかった。すなわち HLR-strain の場合、S-ch と β リポ蛋白、S-ch 値と総脂質には相関関係があることが示された (Figs. 3, 4)。

つぎに20時間絶食せしめた空腹時に採取した血清を一晩冷蔵庫に静置して、血清の透明度を調べた。Fig. 11 にみられるように HLR である 2145, 4315 は creamy layer の浮上は認められなかったが、NON-HLR である 4312, 正常ウサギの血清に比較して白濁が明らかに観察された。

2) 糖代謝に関する所見

Table 2b. Biochemical findings in sera of the HLR, MON-HLR and normal rabbits

No. of animal month of age		HLR 8(M5, F3) 4-12	NON-HLR 8(M5, F3) 4-12	Normal 8(M5, F3) 4-12
Total protein	g/dl	6.5±0.7	6.4±0.7	6.8±0.6
Alubumin	g/dl	2.5±0.1	2.8±0.2	2.7±0.2
Total lipid	mg/dl	1146±270	364±60	270±62
Cholesterol	mg/dl	400±70	46±14	49±20
β-lipo protein	unit	9.1±1.5	1.2±0.7	0.8±0.4
Glucose	mg/dl	111±15	122±18	146±31
BUN	mg/dl	25±6	25±5	26±7
Uric acid	mg/dl	0.1±0.05	0.4±0.2	0.4±0.8
Creatinine	mg/dl	1.2±0.6	1.2±0.2	1.7±0.2
TTT	unit	0.3±0.1	0.2±0.1	0.1±0
Total bilirubin	mg/dl	0.3±0	0.4±0.2	0.2±0
Chole bilirubin	mg/dl	0.1±0	0.1±0	0.1±0
AL-P	unit	6.1±3.4	8.5±2.9	4.8±2.9
Ch-Ease	μmol	4.1±0.9	3.3±0.6	3.7±0.7
GOT	unit	33±8	31±13	38±14
GPT	unit	52±9	48±10	45±13
LAP	unit	238±48	233±25	226±66
LDH	unit	391±277	277±46	322±87
Amylase	unit	190±13	283±55	226±29
Na	mEq/l	140±1.9	142±1.1	144±2.3
K	mEq/dl	4.4±0.5	4.6±0.3	4.5±0.8
Ca	mg/dl	13.9±0.5	14.4±0.4	14.1±0.7
Cl	mEq/l	102±2.0	104±2.9	101±3.2
P	mg/dl	4.8±1.0	4.9±1.0	4.7±0.9

HLR: Hyper Limemic Rabbit.

ヒトの高脂血症のうち Fredrickson type IV (高プレβリポ蛋白血症)[12, 13]では90%の患者に糖代謝異常が存在し、糖尿病型の高血糖を示すといわれているので、HLR, NON-HLR ならびに正常ウサギについて血糖値を調べた。Fig. 5, Table 2b にみられるように未成熟時あるいは成熟時においても HLR と正常ウサギとの間には著明な差はなく、HLR に糖代謝の異常はないものと判断された。

3) 尿酸の所見

高尿酸血症はヒトの高脂血症の場合 Fredrickson type II (高βリポ蛋白血症)に多発するので HLR, NON-HLR, 正常ウサギに

ついて調べた結果 Table 2b にみられるように HLR は 0.1±0.05 mg/dl, NON-HLR は 0.4±0.2 mg/dl, 正常ウサギは 0.4±0.3 mg/dl であり、HLR はむしろ正常ウサギよりも低値を示した。したがって HLR は高尿酸血症を伴わないものであった。

4) 血清蛋白ならびにリポ蛋白の電気泳動所見

HLR である 0414 と正常ウサギの血清蛋白の電気泳動像を Fig. 10a に示した。また HLR である 2145, 4315 (Figs. 10-b, 2-1, 1-2) と NON-HLR である 4312 ならびに正常ウサギの泳動像を Fig. 10-b に示した。さらにリポ蛋白

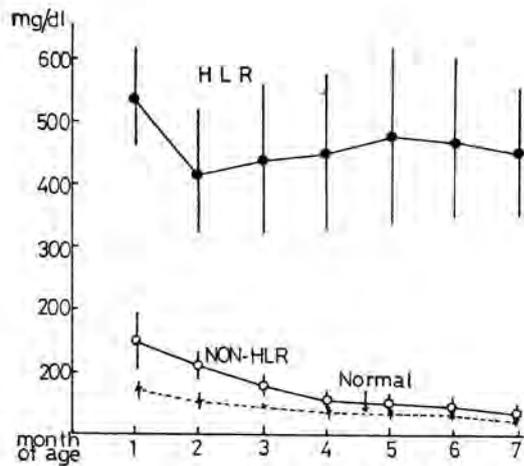


Fig. 2. Serous cholesterol levels of HLR, NON-HLR and normal rabbits.

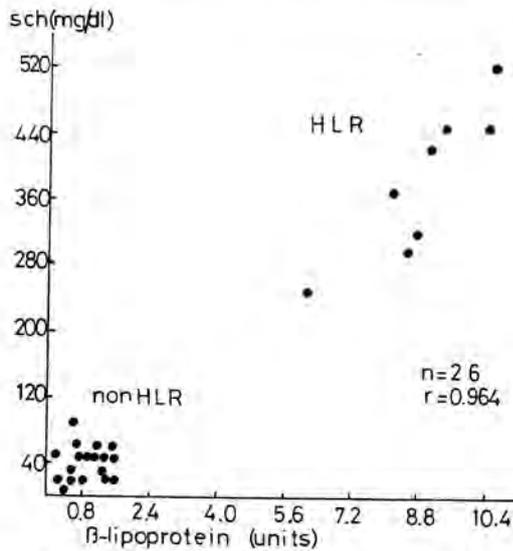


Fig. 3. Relationship between serous cholesterol and β -lipoprotein values at the HLR strain.

の脂肪染色を行なった像を Fig. 10・c のに示した。Fig. 10・b にみられるように HLR, NON-HLR, 正常ウサギとも泳動図原点の濃染はなくカイロマイクロンは認められなかった。HLR である 0414, 2145, 4315 では pre- β 域での増加が認められ α_2 域との境界が不鮮明となる broad pre β の像を示し (Fig. 10・a), NON-HLR, 正常ウサギとは明らかに異なった泳動像を示した。また脂肪染色した泳動像でも HLR では pre- β 域の赤染が明瞭であった (Fig. 10・c)。

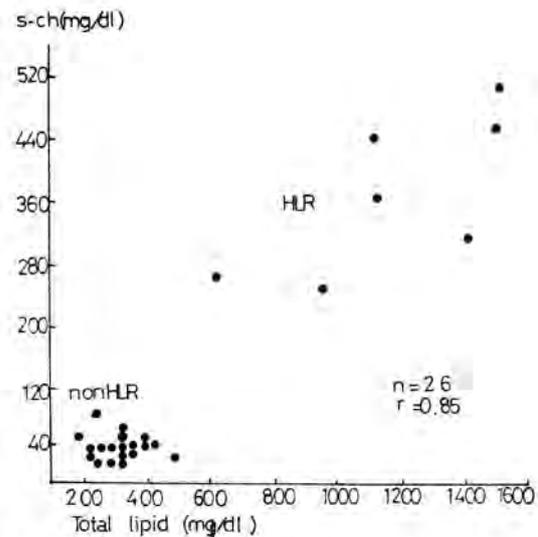


Fig. 4. Relationship between serous cholesterol and total lipid values at the HLR strain.

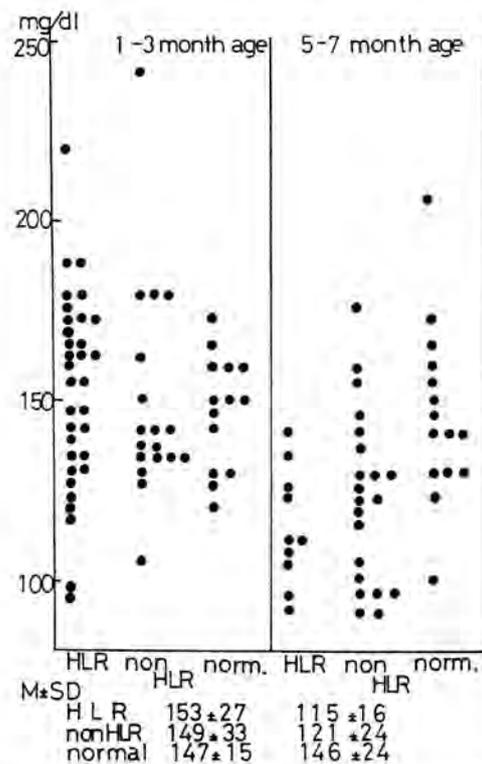


Fig. 5. Glucose levels of HLR, non HLR and normal rabbit.

5) 染色体の所見

Fig. 12・a, b に HLR-P と正常ウサギの染色体を示した。この両者とも染色体における形態異常は認められなかった。また正常ウサギの

雌, F_1 の雌ならびに HLR の雄 (0414, F_2) のそれぞれの染色体についても調べたが, 何れも染色体の形態レベルでの異常は認められなかった。

6) 最高血圧の所見

Fig. 1 に示した方法で耳介中心動脈での最高血圧 (収縮期圧) を測定した。その結果を Fig. 6 に示した。

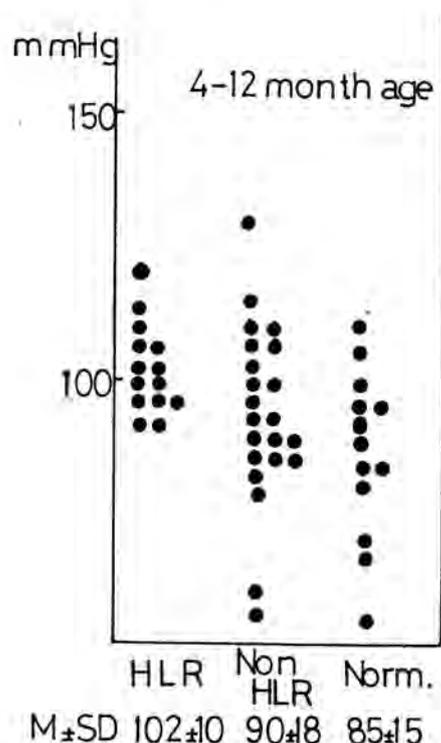


Fig. 6. Distribution of highest blood pressure of HLR, non HLR and normal rabbits.

HLR の最高血圧 102 ± 10 mmHg は正常ウサギの最高血圧 85 ± 15 mmHg に比較して若干高い血圧を示した。

7) その他の臨床所見

ヒトにおける高脂血症の外見上の所見として眼瞼黄色腫, 網膜脂血症, 眼球の脂質沈着等があげられている。HLR の F_3 では生後5ヶ月より Fig. 14 にみられるように眼球の脂質沈着症が観察された。また HLR-P では約30ヶ月令より左右耳介動脈の肥厚硬化が観察された (Figs. 14, 15)。

2. 病理解剖所見

1) 剖検所見

(1) 動脈の所見

HLR-P (32ヶ月令) ならびに F_2 の 0214 (19ヶ月令), F_3 の 4315 (9ヶ月令), 2141W (8ヶ月令), 4102 (7ヶ月令), 4111S (6ヶ月令), 2145W (5ヶ月) の7羽の自然発症高脂血ウサギを解剖した結果を Fig. 16 の a, b, c, d に示した。図にみられるように大動脈に粥腫 (atheroma) が7例全例に観察され, 動脈管腔の狭窄が認められた。HLR-P では大動脈はもとより腎動脈, 冠状動脈の起始部にも顕著な atheroma が認められた (Fig. 18)。

(2) 四肢の黄色腫の所見

HLR-P では Fig. 17 の a, b にみられるように前肢の手根部背側, 掌側ならびに各指関節部の背側, 掌側に, あるいは肘関節に, また後肢においても足根部の背側, 掌側, 指関節の背側, 掌側にそれぞれ扁平性あるいは結節性の黄色腫 (xanthoma) の多発しているのが観察された。

また 0214 (F_2 , 19ヶ月令) においても前肢の指関節背側に散在して, 結節性の xanthoma が観察された。

(3) 諸臓器の所見

HLR-P において, 心臓では左房室弁に米粒大の atheroma が斑点状にみられ, 硬化板の形成, 大動脈弁の硬化肥厚もみられた。また冠状動脈は起始部で atheroma による狭窄がみられた (Fig. 18)。その他の所見として心筋の煮肉様変性, 心内膜下とくに乳頭筋周囲の点状出血がみられた。

腎臓は腫大し, とくに左腎の腫大が顕著で孟腎は拡張して, 断面では中に粟粒大から米粒大の結石が多数認められた。また尿管の膀胱開口部には小豆大の結石があり尿管を閉塞していた。これらの結石は中性ホルマリン中で全く溶解しないので尿酸結石と性状を異にするものであり, コレステロール結石ではないかと推定された。

脾臓では断面に多数のリンパ小節を認めたが, 腫大は認められなかった。

肝臓には著変が認められなかったが, 副腎は若干の腫大が認められた。

2) 組織学的所見

(1) 動脈の所見

大動脈には典型的な粥状硬化症 (atherosclerosis) が認められた。すなわち内膜の結合組織が肥厚し Sudan III で赤～橙色に染まる脂肪が多量に沈着し、内膜深層から中央部にかけては担脂細胞が多く認められ一部石灰沈着ならびに裂隙状のコレステリン結晶跡も認められた。中膜ならびに外膜には認められるべき変化はなかった。

Fig. 19 に胸大動脈の典型的な atherosclerosis の組織像を示した。内膜の結合組織の増殖による高度の肥厚がみられ、内膜深層に atheroma がみられる。また Sudan III で赤く染まった顆粒状のリポイド、コレステリンの沈着もみられる。

Fig. 20 に大動脈の起始部の組織像を示した。内膜の高度の線維肥厚があり、内膜の表層には泡沫細胞 (foam cell) の集積しているのがみられる。

Fig. 21 に冠状動脈の組織像を示した。内膜の線維性肥厚と管腔狭窄がみられ、内弾性板の断裂もみられる。

Fig. 25 に脳の末端の細動脈の組織像を示した。脂肪栓塞の状況が明らかである。

Fig. 22 に左耳介動脈の組織像を示した。内膜の中度の肥厚、内弾性板の断裂、石灰変性、中膜の平滑筋の変性および線維化の状況がみられる。

(2) 諸臓器の所見

心臓では心筋線維がやや萎縮し、微細な脂肪滴が多く認められて脂肪変性が明らかであった。

腎臓では糸球体に重度の変化はなかったが、主部細尿管は高度に萎縮し、一部上皮細胞の膨化、硝子滴変性、脂肪変性が認められ核消失、核濃縮した細胞も認められた (Fig. 24)。その他弓形動脈、小葉間動脈、輸出入管の内膜の脂肪沈着、脂肪栓塞、糸球体毛細血管の内皮細胞の脂肪変性も認められた。

脾臓では中心動脈の内皮細胞が肥厚し、脂肪滴が認められた。

脳では細動脈の内膜に脂肪沈着、脂肪栓塞が

認められた (Fig. 25)。

つぎに指関節部に発現した xanthoma の組織像を Fig. 23 に示した。図にみられるように腫瘍細胞は豊富な結合組織に介在し、その細胞所見は atheroma 内の泡沫細胞に類似しているものであった。胞体内には多量の脂肪を含有している。

3. 育種成績

1) 近親交配成績

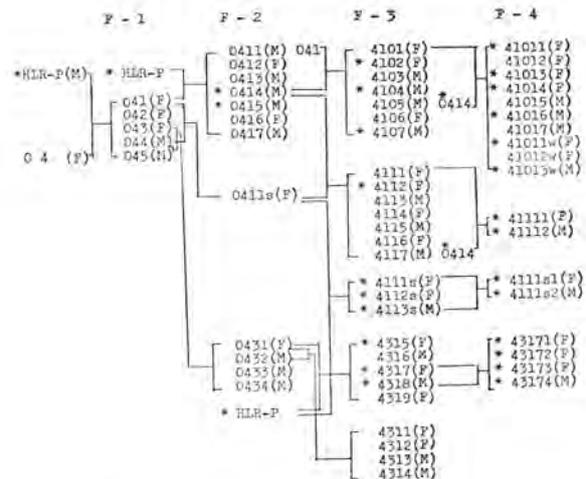
HLR-P と 10羽の正常ウサギとの交配によって得た産仔のうちから 04 と 02 の産仔を選抜して系統繁殖に着手した。

Fig. 7-a に 04 line の、Fig. 7-b に 02 line の雑乳したウサギの系図を示した。図にみられるように F₁ における 04, 02 の産仔 12羽には HLR は出現しなかった。また 01, 03, 05, 06, 07, 08, 09, 10 の産仔 (雑乳したもの) 21羽にも HLR は出現しなかった。したがって F₁ である 33羽の中からは HLR が出現しなかったので劣性ホモの遺伝様式を示すものであった。

近親交配方法としてはウサギにおける兄妹交配の困難なこと [7, 62] を考慮して親子交配, 兄妹交配, 戻し交配をそれぞれの line に繰込んだ近親交配を行なった。以下それぞれの交配方法における成績を述べる。

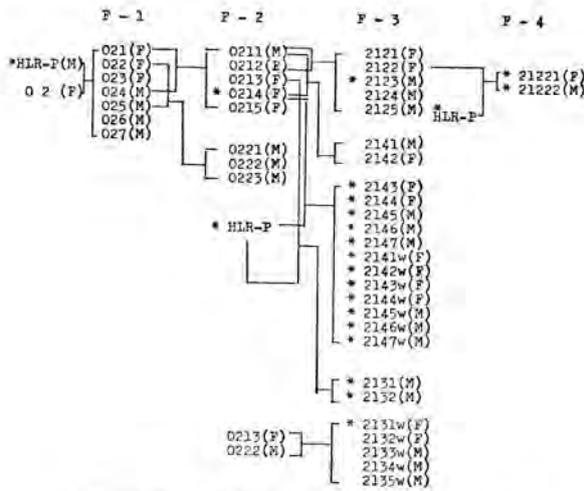
(1) 親子交配

04 line では HLR-P と 04 の産仔である 041



(M) : Male (F) : Female * : Hyper lipemic rabbit

Fig. 7-a. Pedigree of 04 line.



(M) : Male (F) : Female * : Hyper lipemic rabbit

Fig. 7-b. Pedigree of 02 line.

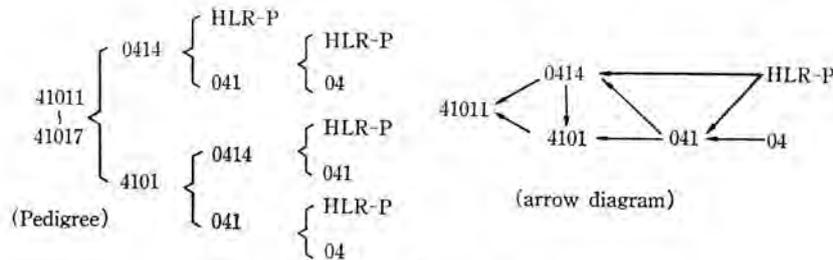
(F₁) と、その父である HLR-P と親仔交配して 0414 (F₂, 雄) を得た。つぎにこの 0414 と、その母である 041 の親仔交配を行なって 4101 (F₃, 雌) を得た。さらにこの 4101 とその父で

ある 0414 の親仔交配によって 41011~41017, 41011W~41013W の 10羽の F₄ を得た (2腹の産仔である)。したがってこれは親仔交配を 3代継続して行なったもので Fig. 8 に示したように Wright の方式[31, 47]によって、遺伝子の同型接合体の度合を知るための近交係数あるいは遺伝子組成の相似度を知るための血縁係数を算出した。その結果近交係数は 50%, 血縁係数は 76.26% に達していた。

この親仔交配による HLR の出現率は F₂ で 28.6% (2/7), F₃ で 42.9% (3/7), F₄ で 60% (6/10) であった (Table 3)。

(2) 兄妹交配

04 line では 044×021 (雌), 044×043 (雌), また 02 line では 024×021, 025×022 (以下いずれも後者が雌ウサギ), の交配を行なった。この F₁×F₁ の兄妹交配における HLR と NON-HLR の出現比は 1:13 となった。Mendel の分離の法則では 1:3 に分離するが、この HLR-



Coefficient of inbreeding $F_x = \sum \left[\left(\frac{1}{2} \right)^{n+n'+1} (1+F_a) \right]$

common ancestor	F _a	n	n'	F _x	
0414 HLR-P	0	0	1	$(\frac{1}{2})^2$	0.2500
041	0	0	0	0	0
41011 0414	0.2500	0	1	$(\frac{1}{2})^2$	(1+0.2500) 0.3125
HLR-P	0	1	2	$(\frac{1}{2})^4$	0.0625
041	0	1	1	$(\frac{1}{2})^3$	0.1250
					F _x = 0.5000

Coefficient of relationship $R_{xy} = r_{GxGy} = \frac{\sum \left[\left(\frac{1}{2} \right)^{n+n'} (1+F_a) \right]}{\sqrt{(1+F_x)(1+F_y)}}$

common ancestor	F _a	n	n'		
0414	0.2500	0	1	$(\frac{1}{2}) \times (1+0.2500)$	0.6250
041	0	1	1	$(\frac{1}{2})^2$	0.2500
HLR-P	0	1	2	$(\frac{1}{2})^3$	0.1250
					$\sum \left[\left(\frac{1}{2} \right)^{n+n'} (1+F_a) \right] = 1.0000$
0414	0.2500				(1+F _x) = 1.2500
4104 HLR-P	0	1	1	$(\frac{1}{2})^2 = 0.125$	
041	0	1	0	$(\frac{1}{2})^2 = 0.250$	
					(1+F _y) = 1.3750

$R_{xy} = \frac{1.0000}{\sqrt{1.2500 \times 1.3750}} = 0.7626$

Fig. 8. Coefficient of inbreeding and coefficient of relationship in HLR strain

Table 3. Incidence of HLR at the different mating systems

	F 1	F 1	F 3	F 4	Total
Parent-offspring mating	—	28.6% (2/7)	42.9% (3/7)	60.0% (6/10)	45.8% (11/24)
Sister-brother mating	—	7.7% (1/13)	13.0% (3/23)	—	11.1% (4/36)
Back crossing	—	—	90.9% (20/22)	100.0% (2/2)	97.7% (22/24)
Mixed mating	—	—	—	100.0% (8/8)	100.0% (8/8)
HLR × HLR	—	—	100% (12/12)	100% (6/6)	100% (18/18)
HLR × NON-HLR or NON-HLR × HLR	—	28.6% (2/7)	46.2% (12/26)	71.4% (10/14)	51.1% (24/47)
NON-HLR × NON-HLR	—	7.7% (1/13)	14.3% (2/14)	—	11.1% (3/27)
Total	—	15.0% (3/20)	50.0% (26/52)	80.0% (16/20)	48.9% (45/92)

Mixed mating: Animals derived from back crossing × Animals derived from parent-offspring mating or sister-brother mating.

strain の場合は Mendel の法則に従わなかった。したがって HLR-strain の場合単純な 1 対の遺伝子によって高脂血症の発症が支配されているのではなく poly gene によるものではないかと推定された。

また 04 line では 0432×0431, 0414-0411S (half sib), 02 line では 0211×0212, 0211×0214, 0213×0222 のそれぞれ F₂×F₂ の交配を行なった。これらの兄妹交配での HLR の出現率は F₂ で 7.7% (1/13), F₃ で 13.0% (3/23) であった (Table 3)。

(3) 戻し交配

04 line では兄妹交配由来の雌 0411S と 0431 を HLR-P に戻し交配し, 02 line では同じく兄妹交配由来の雌 0213, 0214, 2122 のそれぞれを HLR-P に戻し交配した。戻し交配による HLR の出現率は F₃ で 91% (20/20), F₄ で 100% (2/2) であった (Table 3)。

(4) 各交配法の混用

04 line では兄妹交配由来の 0411S と親仔交配由来の 0414 を交配し, その産仔 4111 と 0414 を親仔交配したもの, また戻し交配由来のものを兄妹交配したもの, すなわち 4113S×4111S, 4318×4317 等の交配を行なった。

各交配法の混用における HLR の出現率は,

F₄ で 100% (8/8) であった (Table 3)。

上記の各交配方法における HLR の出現率をまとめて Table 3 に示した。Table にみられるように兄妹交配における HLR の出現率は最も低率であり, 戻し交配, 各交配法の混用で HLR の出現率は高率であった。

つぎに S-ch 値を高脂血症遺伝子の表現型として, 高脂血症遺伝子が Homo 接合体となっている個体と推定されたもの同志の交配, すなわち HLR×HLR ではその産仔に 100% (18/18) HLR が出現した。また Hetero 接合体と推定された個体 NON-HLR と Homo の個体との交配, すなわち NON-HLR×HLR あるいは HLR×NON-HLR では, その産仔に約 51% (24/47) の HLR が出現した。さらに Hetero 接合体と推定されたもの同志の交配, すなわち NON-HLR×NON-HLR での HLR の出現率は 11.1% (3/27) であった (Table 3)。

世代別の HLR 出現率は F₂ で 15% (3/20), F₃ で 50% (26/52), F₄ で 80% (16/20) で近交世代を重ねる毎に出現率は向上した (Fig. 7-a, b)。

HLR の性比は雄 21羽, 雌 24羽でほぼ同数であり伴性遺伝はしなかった。

2) 育成成績

(1) 出産率

分娩した母畜の数を交配した雌畜の数で除したものである。交配は監視下で行ない、交配後直ちに膣前庭に綿棒をそう入して精液を採取し顕微鏡下で精虫を確認したものを交配数とした。Table 4 にみられるように出産率は全般的に低率であり、偽妊娠 (pseudo pregnancy) すなわち腹部膨満、分娩予定日前の脱毛等の徴候を示したものが、不妊ウサギ例中 5 例 (約 17%) にみられた。各世代での出産率には著明な差はみられなかった。

Table 4. Inbreeding record of HLR strain

Generation	Birth rate	Litter size	Weanling rate	Growth rate
F 1	50% (5/10)	6.6 (35/5)	36% (12/33)	92% (11/12)
F 2	63% (5/8)	7.6 (38/5)	45% (17/38)	88% (15/17)
F 3	67% (14/12)	5.9 (82/14)	56% (46/82)	93% (43/46)
F 4	48% (8/17)	3.6 (29/8)	59% (17/29)	82% (9/11)

* Six animals were immature at the time of recording.

Birth rate: No. of parturition/No. of mating.

Weanling rate: No. of weanling/No. of new born.

Growth rate: No. of maturation/No. of weanling.

(2) 離乳率

離乳した産仔を出産した産仔数で除したもので出産率と同様に低率であった。この低い離乳率は、母畜による産仔の喰殺に起因するもので、出産後離乳までの間に喰殺以外の原因不明死は 3 羽で約 3% (3/90) にすぎなかった。世代別で F₃, F₄ の離乳率が若干高率となったのは、ウサギの習性として産仔を覗きみたり、母畜に不安を与えると産仔を喰殺するので、産仔の開眼時期である生後 13 日まで産室を暗室にしたこと、別室で出産せしめたこと等の環境改善によるものであると考えられる。

(3) 成熟率

成熟体重 (約 2.5 kg, 約 5 ヶ月令) に達したものを離乳した産仔数で除したもので、成熟率

は全般に高率であり、各世代での差も大きくなかった。

Fig. 9 に HLR, NON-HLR, 正常ウサギにおける離乳時から成熟に至るまでの成長曲線を体重で示した。Fig. 9 にみられるように高脂血自然発症ウサギであるために正常ウサギと比較して成長が遅延することはなかった。

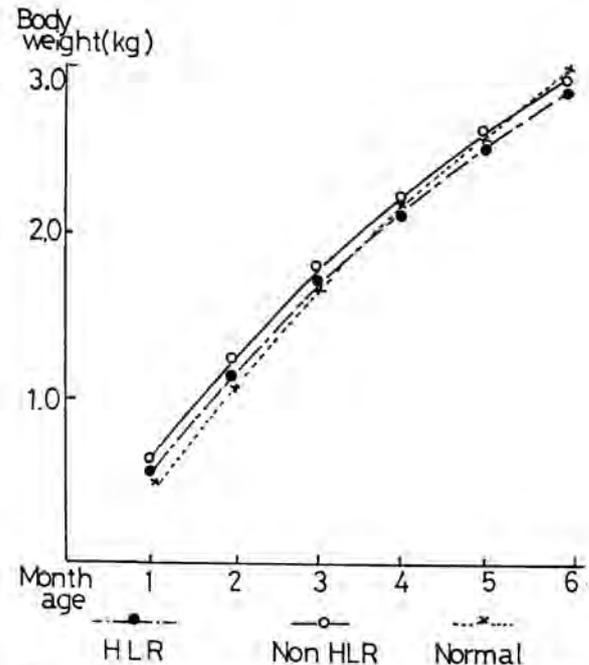


Fig. 9. Growth curve of HLR, non HLR and normal rabbits.

4) 一腹の産仔数 (Litter size)

Litter size は F₁ から F₃ までは、一般にいわれているウサギの産仔数である 6~7 羽 [21, 35, 65] と大差はなかったが、F₄ において低下を来たした。

育成成績はまとめて Table 4 に示した。

考 察

血清脂質成分は生活環境、食事影響ならびに個体によって著しく変動するものであることは一般によく知られていることであるが、とくにウサギは脂質代謝作用が弱いために食餌影響が顕著な動物である。したがって食餌の脂質負荷によく反応し、血中レベルがよく上昇するといわれている [9]。このようなことから高コレス

テロール血症、高脂血症、動脈の粥状硬化症の実験に好適な動物として利用され、実験的高脂血症、実験的動脈粥状硬化症、実験的高コレステロール血症等が多く作出されている[1, 20, 22, 23, 25, 38, 44, 49, 67]。しかしながらこのような脂質負荷によって作出された実験モデル動物は基礎的に脂質代謝の異常が存在するのではなく、脂質代謝の調節作用が最大限に作用するという状況になっている。したがって臨床的な高脂血症が何んらかの脂質代謝異常があって、その表現として高血症が認められているのとは基本的に大きな差異があることが指摘されている[72]。

このようなことから脂質負荷によって実験的に作出された高脂血モデル動物はそれなりに価値はあるであろうが、基礎的に代謝異常が存在する自然発症モデル動物が渴望されている。自然発症高脂血動物あるいは *atherosclerosis* は ZUCKER[81] はラットで、BAUMら[3], DAVIDら[8] は小犬で、BRAGDON[4], KESTENら[26], OPHULS[58] はウサギでそれぞれ観察しているが、いずれも系統としては確立されていない。著者は給餌法と S-ch との関係を観察中[77] 1羽の自然発症高脂血ウサギを発見したので、疾患モデル動物として育種することを試み近交代を重ねた結果、 F_3 , F_4 の産仔における高脂血発症ウサギの出現率は約 70% に達し、また F_4 での近交係数、血縁係数はそれぞれ 50%, 76.3% に達し、系統としての基礎もほぼ確立することができた。

この自然発症高脂血ウサギの系統すなわち HLR strain の性状については、ヒトの高脂血症が種々の複雑な因子により成立した症候の表われであることから、その病像と対比させるためには今後とも詳細な観察が継続されなければならないが、この HLR strain で観察された主要な性状として、

1. 臨床的には S-ch, β リポ蛋白, 総脂質の血清脂質成分が異常な高値を示し、また血清蛋白, リポ蛋白の電気泳動所見でも β 域の濃染, broad pre- β の像を示し、静置血清に白濁が認められたこと等である。HLR strain の場合 S-ch と β リポ蛋白ならびに総脂質の間には相関

関係があり (Fig. 3, 4), S-ch の高値のものは β リポ蛋白, 総脂質のいずれも高値を示し、S-ch の低値のものでは β リポ蛋白, 総脂質の両者あるいはいずれか一方が高値を示すことはなかった。また電気泳動像においても S-ch の高値のものは broad pre- β を示し、脂肪染色で良く赤染される pre- β 域がみられ、S-ch 値の低いものとの像の差異は明瞭であった。さらに静置血清の性状も S-ch の高値のものとは低値のものとの差は明らかであった。このようなことから S-ch の測定値は β リポ蛋白, 総脂質, 血清蛋白, リポ蛋白の電気泳動像等をそのまま表現するものとしてこの場合受取って支障のないものであり、S-ch 値は HLR strain の指標となった。

S-ch 値は離乳時の値 300 mg/dl を境界として、それ以上の値を示したものは若干加齢による測定値の変動はみられたが異常高値を持続する。しかしながら離乳時の S-ch 値が 300 mg/dl 以下のものでは加齢による急速な低下がみられ成熟時には正常範囲に低下する (Fig. 2)。したがって離乳時という早朝に高脂血症遺伝子の表現型を S-ch 値によって極めて明確に判断することが可能であった。

この S-ch 値が離乳後急速に低下し、成熟時には正常範囲に落ち着くという現象は BRAGDON [4] も脂質成分で観察しており、哺乳中の蓄積脂質成分が離乳後の急速な体の発育によって消費されるためであると述べている。また FEIGENBAUM ら[11] は自然発症 *atheroma* ウサギで遺伝子の作用以外に母乳の影響すなわち milk factor によることを、*atheroma* の発症母畜の産仔と、非発症母畜の産仔交換によって示している。HLR の場合は離乳後若干 S-ch 値の低下がみられたが、その後は異常高値を持続しているもので、哺乳中の蓄積脂肪の消費の影響も考えられるが、遺伝子作用が最も大きく作用しているものと考えられる。NON-HLR では遺伝子作用よりも母乳の影響がより大きく作用し、また対照とした正常ウサギの場合は蓄積脂質の消費による S-ch 値の離乳後の低下であると推測される。

2. 剖検所見では、HLR 8羽を剖検したが

(3ヶ月令から32ヶ月令),肉眼的には大動脈の各動脈の分岐部を中心として拡大した硬化板の形成がみられ,組織学的には内膜の肥厚と脂肪染色で赤~橙に染まる脂肪沈着が著明にみられた。またその他の動脈すなわち冠状動脈,腎動脈,脳の細動脈,脾臓の中心動脈あるいは心筋,房室弁,尿細管等にも脂肪変性が認められヒトの高脂血症における動脈粥状硬化変性の像と類似した。

つぎに xanthoma の発生についてはウサギあるいは他の動物における自然発症高脂血症の報告[3,4,8,26,58,81,]にも,あるいは実験的に作出された動物の高脂血症の報告[1,20,22,23,25,38,44,49,67]にも動脈の粥状硬化変性について報告されているが,xanthoma の発生についての報告は見当たらない。HLR strain では2例の xanthoma 自然発症例がみられたことが特徴的であった。ヒトにおいてはアキレス腱,肘関節,時に眼瞼等に xanthoma が発生するといわれるが,HLR の場合指関節部に好発し,発生場所においてはヒトと若干異なっていた。

3. Fig. 7-a, b にみられるように HLR strain は明らかに遺伝を示す本態性の高脂血症の系統であった。HLR strain の遺伝様式は F_1 で HLR が出現しなかったこと, HLR \times HLR の交配では HLR が 100% 出現したことから劣性ホモが推定された。また $F_1 \times F_1$ の分離比は Mendel の法則に従わないことから単純な 1 対の遺伝子の支配によるものでなく, poly gene によるものではないかと推定された。

以上 HLR strain の特性について述べたが,つぎにこのような HLR strain の特性とヒトの高脂血症との類似性について検討を加える。

現在ヒトの高脂血症は家族性,遺伝性のものが多く,FREDRICKSON[12,13]あるいはWHO[79]によって5つの型に分類されている。しかしその後,後天性の高脂血症もこの分類のなかに含まれることがわかり,広く高脂血症の分類法として利用されている。したがってこの分類によるヒトの高脂血症の性状と HLR strain の性状とを比較検討する。

1. 血清性状の比較

空腹時に採取した血清を一晩冷蔵庫に静置し

た場合,FREDRICKSON の分類による各 type で異なった性状を示すといわれている。すなわち type I では静置血清の下層は透明であるが,乳濁層(creamy layer)の浮上すなわち乳濁脂質(chylomicron)の著増が認められ,type V では creamy layer の浮上とともに血清の白濁があり,type II では血清の混濁はなく透明であり,type IV では透明なものから白濁するものまで各種存在するが放置しても creamy layer の浮上は認められない。また type III ではときに血清の白濁があり creamy layer の浮上は認められないといわれている。HLR strain では Fig. 11 にみられるように creamy layer は認められないが,血清の全般的な白濁が認められた。したがって静置血清の性状は Fredrickson type III あるいは IV に類似するものであった。

血清コレステロールの濃度は Fredrickson type (以下 F type または単に type という) I, IV, V では正常か,または軽度の増加がみられる程度であり,type II では S-ch 値は増加する。また type III では異常な高値となるといわれている。HLR strain では S-ch 値が異常な高値を示すことから S-ch の濃度では HLR strain は type III に良く類似した。

血清蛋白の電気泳動所見では type I, V では泳動図原点に chylomicron による濃染が認められ,type IV では pre- β 域のみ濃染され,type II では β 域の濃染と,ときに pre- β 域が染色されるといわれている。type III では pre- β 域と β 域の分離が明瞭でなくいわゆる broad- β を示すといわれている。HLR strain では Fig. 10-a, c に示したように Broad pre- β の像を示し,血清の電気泳動所見でも type III に類似した。

以上の血清性状すなわち静置血清の白濁状態,S-ch の異常高値を示す状態,血清の電気泳動における Broad pre- β の像を示すことなどから血清性状では HLR strain は,ヒトの高脂血症の III 型に良く類似した。

2. 遺伝様式の比較

F type II, V は優性遺伝を示し,type I, III, IV は劣性遺伝を示すといわれている。HLR

strain は劣性遺伝を示したので、F type II, V とは異なったものであった。

3. Xanthoma の発現状況の比較

F type I では約 60% に xanthoma が認められ、一般に発疹性のもので粘膜を含むいずこにも発生し、type II では結節性あるいは扁平性の xanthoma がアキレス腱、手指の腱、肘関節伸展側に好発する。また type III では結節性、扁平性、発疹性のものが上、下肢、臀部に発現し、特徴的に肘関節に結節性のものが、また手、足掌の黄色調線条が認められている。type IV では xanthoma の発現は比較的少ないといわれている。また type V では膝関節、肩、背等に xanthoma が点在するといわれている。

HLR strain では Fig. 17 に示したように HLR-P の xanthoma は結節性、扁平性のもので、前後肢の指関節に特徴的にみられた。したがって HLR strain の xanthoma の発現状態は F type II あるいは III に類似した。

4. Atheroma の発現状況の比較

F type II, III では atheroma の発現が認められ、とくに type II では大動脈はもとより冠状動脈、脳底動脈等に約 50% 発現するといわれている。type III ではさらに発現頻度は高く約 60% に発現するといわれている。また type II, III とともに年齢の増加とともに発現率も急速に増加するといわれている。

HLR strain では Fig. 16-a~d, 21, 25 に示したように大動脈、冠状動脈、脳の細動脈あるいは腎動脈にも atherome が発現し、しかも剖検 8 例全例に認められ、かつ 3 ヶ月令、5 ヶ月令、6 ヶ月令の若令のものでも発現した。このような atherome の発現状況は F type の II あるいは III に類似した。

5. 高尿酸血症の比較

HLR strain では Table 2b に示したように血清尿酸値は正常ウサギに比較してむしろ低値を示し高尿酸血症は認められなかった。F type で高尿酸血症の発生が最も多いのは type II であり、type III, IV, V ではときに発現する程度である。type I では発生は認められないようである。したがって HLR strain は高尿酸

血症の発生状況から type II とは異なったものであった。

6. 糖代謝異常の比較

F type I, II を除いた各 type では糖の代謝異常が多少なりとも認められているが、とくに type IV では 90% のものに糖代謝異常が認められている。HLR strain は Fig. 6, Table 2b にみられるように正常ウサギと比較して血糖値の異常は認められなかった。したがって HLR strain は糖代謝の異常の有無からみて type V とは異なったものであった。

7. その他の所見の比較

F type I, V では網膜脂血症が発現し、type II では眼球の脂質沈着がみられるといわれている。HLR strain では Fig. 14 に示したような眼球の脂質沈着例がみられ、type II との類似が考えられた。

以上 FREDRICKSON の分類によるヒトの高脂血症の 5 つの type と HLR-strain の性状とを比較検討した。その結果をまとめて Table 5 に示した。Table 5 にみられるようにヒトの高脂血症における各 type の症状と HLR-strain の症状と完全に一致するものはなかった。ヒトの場合でも各 type の鑑別は必ずしも容易でなく、type II においては II a, II b の亜系に分類され、また type IV と V, type IV と II b, IV と III の鑑別等しばしば問題になるといわれている[52]。HLR-strain の場合、血清脂質成分の性状、血清蛋白の電気泳動の所見、遺伝様式、atheroma, xanthoma の発現の状況等から比較的 type III に類似したものであるということがいえる。

つぎに HLR-strain の育種にあたっては、一般にウサギにおける近交系の作出は種々の繁殖障害が発生し、あるいは litter size が減少し、また疾病、感染症に対する感受性が高くなること等から虚弱産仔の増加、死亡率の増加のためその作出は極めて困難であり、とくに兄妹交配しばしば不可能となり、兄妹交配と親仔交配の混用等を行わなければならないといわれている[7, 66]。したがって著者は HLR-strain の系統開発に着手するにあたって兄妹交配を行なう 02 line と親仔交配を行なう 04 line の 2 つ

Table 5. Comparison of the condition of hyperlipidemia between human and HLR strain

Fredrickson type	I	II	III	IV	V	HLR strain
Chylomicron	+	-	-	-	+	-
Hypercholesteremia	-	+	+	-	-	+
Hyperuricacidemia	-	+	-	-	-	-
Abnormalities in carbohydrate metabolism	-	-	+	+	+	-
Atherosclerosis	-	+	+	+	-	+
Xanthoma eruptive type	+		+			
tuberous type		+	+			+
planar type		+	+			+
Electrophoretic pattern of lipoprotein	orig.* stain	β pre β stain	broad β β stain	pre β stain	orig. pre β stain	broad pre β stain
Inheritance mode	rece.**	domi.***	race.	domi.	race.	race.

*: original line **: recessive ***: dominant

の line を設定した。しかし母畜の産仔の喰殺に起因する離乳率の低下のため予期した数の HLR を F_2 で得られなかったこと、また兄妹交配では HLR の出現率が低率であったこと (Table 3) 等から F_3 , F_4 の生産にあたっては親仔交配, 兄妹交配, 戻し交配あるいはそれらを混用する交配法を用いた。その結果 F_4 における近交係数は 50% に、血縁係数は 76.3% に達し、また HLR の出現率も 50% 以上となって系統としての基礎はほぼ確立された。

一般に mouse, rat では 20 代以上の兄妹交配を行なって近交係数が 99.6% に達したものを近交系と称することが国際的に規定されているが、他の動物についてはそのような規定はなく、アメリカの畜産学会の委員会では、ニワトリで 37.5% の近交係数をもつものを系統と称することにして[47]。またわが国では近藤[30]は mouse, rat 以外の実験動物の場合、実験動物の本質から近交係数よりも血縁係数の方が重要で、系統内の血縁係数が 80% 以上となった系統を近交系と規定すべきであると主張している。このことは mouse, rat 以外の動物での近交系の作出が極めて困難であることを示唆しているものである。

近年ウサギにおいて CHAI[7]は 20 代の近交系を報告している。またわが国においても日本

生物科学研究所において1965年から NW-NIBS の近交系の開発が進められている[69]。しかしながらそれらはいずれも疾患遺伝子の固定を目的としているものではない。HLR-strain は高脂血症, atherosclerosis の疾患遺伝子の固定を目的とするものである。したがって近交世代の進行には相当の困難が予測される。すなわち F_5 を生産しつつある現在では、系統開発、維持上とくに重大な障害はないが Fig. 13 にみられるような奇型 (splay leg) が F_3 , F_4 において 4 羽出現し、また 1 例の不妊ウサギ (7 回交尾せしめ精虫を確認したが分娩しない) がみられたこと、さらに飼育場所を変更したことによる急死例 (剖検上肺炎と診断) が 7 例みられ、環境順応性あるいは抗病性が懸念された。したがって今後近交世代の進行には抗病性を懸念して barrier system で飼育することが必要であると考えられた。しかしながら HLR-strain の近交世代の進行には当然奇型の増加、繁殖障害の増加あるいは出産率, litter size の低下が予想される。

このようなことから学問的興味の上での近交世代の進行は価値があるが、 F_4 を生産した現在の血縁係数 (80%) あるいは HLR の出現率 (F_4 で 80%) さらに現在系統維持の上で重大な障害がないこと等を考慮して、今後は実用的な

観点から colony の拡大を計ってヒトの高脂血症の研究への供給態勢を整えることを優先させるべきであると考えている。

結 論

ウサギの給餌法と血清コレステロールとの関係を観察中に1羽の自然発症高脂血ウサギを発見した。各種動物において自然発症高脂血動物は多く発見されているが、いずれの動物においても遺伝子を固定し、系統として確立されたものはない。したがって著者は人医界から渴望されている本態性の高脂血症の疾患モデル動物の系統を開発すべく遺伝子の継代固定を行ない、疾患モデル動物として有用な系統の基礎を確立し、この系統の特性を究明した。この系統すなわち HLR-strain の特性ならびにヒトの高脂血症との類似性はつぎのようであった。

1. HLR strain の特性

1) 血清性状

HLR strain の血清性状については24項目の血清成分について分析したが、血清コレステロール、 β リポ蛋白、総脂質の脂質成分が異常な高値を示し、それぞれ 400 ± 70 mg/dl, 9.1 ± 1.5 unit, 1146 ± 270 mg/dl であった。この値は正常ウサギに比較してそれぞれ約9倍、約10倍、約4倍の高値であった。

HLR strain の空腹時採取の静置血清は白濁し、血清蛋白の電気泳動所見では β 域の濃染とともに pre- β 域の増加が認められ α_2 域との境界が不鮮明となる所謂 broad pre- β の像を示し、正常ウサギとは明瞭に異なる所見を示した。

HLR strain の場合、血清コレステロールと β リポ蛋白、総脂質は相関関係を示し、血清コレステロールの高値のものは β リポ蛋白、総脂質も高値を示した。また血清コレステロールの高値のものは、空腹時採取の静置血清に白濁が生じ、電気泳動では broad pre- β の像を示し、さらに atheroma, xanthoma が発現する。したがって HLR-strain の表現型は測定の容易な血清コレステロール値によって判定することができる。しかも離乳時(約1ヶ月令)という早期に判定することができた。

HLR strain の血清脂質成分以外の21項目の血清化学成分値は正常ウサギと著明な差はなかった。したがってヒトの高脂血症の一部にみられる高尿酸血症、糖代謝異常は HLR strain には存在しなかった。

2) 動脈粥状硬化と黄色腫の発現状態

HLR-strain では剖検例全例に大動脈の atherosclerosis が著明であった。また冠状動脈、腎動脈、脳の細動脈にも atheroma の認められたものもあった。また四肢の指関節部に xanthoma の多発例もあり、atheroma, xanthoma の発生は HLR-strain の特徴的な点であり、ヒトの高脂血症のそれと著しく類似した。

3) 遺伝様式と染色体所見

HLR-strain は劣性 homo の遺伝様式も示し、単純な1対の遺伝子に支配されるものではなく poly gene によって高脂血症が発症するものと推定された。また染色体は形態レベルでは異常は認められなかった。

4) 高脂血症ウサギの出現率

HLR-strain における高脂血症ウサギの出現率は、世代別では F_2 で 15%, F_3 で 50%, F_4 で 80% で近交世代の進行とともに上昇した。交配方法別では、兄妹交配で 11.1%, 親仔交配で 45.8%, 戻し交配で 91.7%。上記の交配法の混用で 100% の出現率であった。また F_4 における近交係数は 50%, 血縁係数は 76.3% に達した。

2. ヒトの高脂血症との類似性

HLR-strain は血清コレステロール、 β リポ蛋白、総脂質が異常な高値を示したこと、静置血清が白濁すること、血清蛋白の電気泳動において broad pre- β の像を示すこと、動脈の粥状硬化変性が発現すること、扁平性あるいは結節性の黄色腫が発現すること、劣性遺伝を示すこと等の点は、FREDRICKSON あるいは、WHO によるヒトの高脂血症の分類の III 型に著しく類似した。

HLR-strain は以上のような特性を具備し、なおかつ高脂血ウサギの出現率あるいは血縁係数からみて遺伝子の固定化がすすみ系統としての基礎は確立されたものと考えられる。したがって HLR-strain はヒトの高脂血症あるいは高コレ

ステロール血症、動脈硬化等の疾患モデル動物としてそれらの破究に貢献し得る有用な系統であると考える。

謝 辞

稿を終るにあたり御指導を頂いた神戸大学医学部附属動物実験施設長松本博教授ならびに本研究に御協力頂いた神戸大学医学部放射線基礎医学教室近藤光雄助教授また助言を頂いた神戸大学理学部川辺昌太助教授に謝意を表します。また論文の御校閲をいただいた麻布獣医科大学中村経紀教授に深く感謝の意を表します。

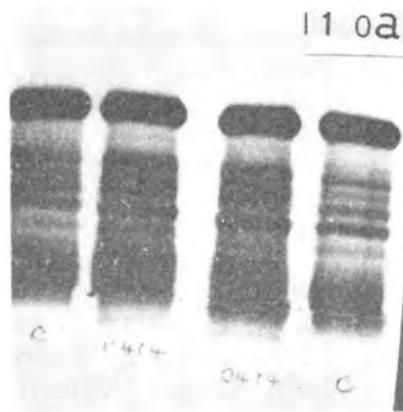
またこの研究の一部は文部省科学研究費（特定研究「実験動物の純化と開発」課題番号 022201）の援助によるものである。

文 献

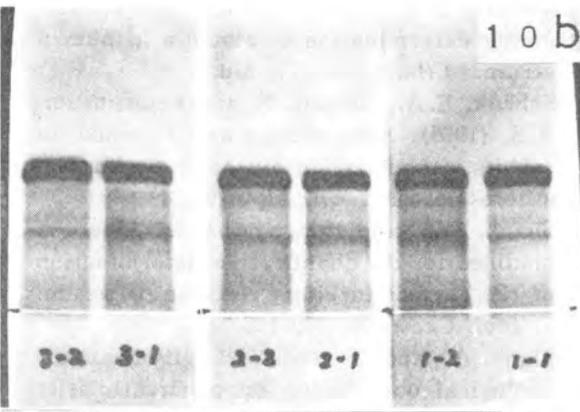
- [1] Ananthasamy, T. S. and Cama, H. R. (1964). Role of fats in inducing hypercholesterolemia in rats. *J. Atheroscl.* 4, 356.
- [2] Babson, A. L. and Phillips, G. E. (1965). A rapid colorimetric assay for serum lactic dehydrogenase. *Clin. Chem. Acta* 12, 210-215.
- [3] Baum, D., Schweid, A. L., Porte, P. and Bierman, E. I. (1969). Congenital lipoprotein lipase deficiency and hyperlipemia with in the young puppy. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 131, 183.
- [4] Bargdon, I. H. (1952). Spontaneous atherosclerosis in the rabbits. *Circulation* 5, 641-648.
- [5] Burstein, M. and Smaile, J. (1959). Nouvelle method de separation et de dosage des lipoprotein de faible densite.
- [6] Chaney, A. L. and Marbach, E. P. (1962). Modified Reagents for Determination of Urea and Ammonia.
- [7] Chai, C. K. (1969). Effects of inbreeding in rabbits. Inbred lines, discrete characters, breeding performance and mortality. *J. Hered.* 60, 64-70.
- [8] David, B., Abraham, I. S., Daniel Porte, J. and Bierman, E. L. (1969). Congenital lipoprotein lipase deficiency and hyperlipemia in the young puppy. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 131, 183-185.
- [9] Dietschy, J. M. and Wilson, J. D. (1970). Regulation of cholesterol metabolism. *New Engl. J. Med.* 282, 11282, 1179, 1241.
- [10] 江崎孝三郎 (1972). 実験動物各論. 田島嘉雄編, 朝倉書店, 東京, 6.
- [11] Feigenbaum, A. S. and Gaman, E. M. (1967). Influence of mother's milk on incidence of spontaneous aortic lesion in weaning rabbits. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 124, 1020-1022.
- [12] Fredrickson, D. S., Levy, R. I. and Lees, R. S. (1967). Fat transport in lipoprotein. An integrated approach to mechanisms and disorders. *New Engl. J. Med.* 276, 34-44, 94-103, 148-156, 215-225, 278-281.
- [13] Fredrickson, D. S. and Lees, R. S. (1965). A system for phenotyping hyperlipoproteinemia. *Circulation* 31, 321-327.
- [14] Gaman, E. M., Feigenbaum, A. A. and Schenk, E. A. (1967). Spontaneous aortic lesions in rabbits. III. Incidence and genetic factors. *Atheroscler. Res.* 7, 131-141.
- [15] Gambino, S. R. (1965). Bilirubin (modified jendrassikand grof) provisional. *Stand. Methods Clin. Chem.* 5, 55-64.
- [16] Garbarsh, C., Matthiessen, M. E., Helin, P. and Lorenzen, I. (1970). Spontaneous aortic atherosclerosis in rabbits of the Danish Country Strain. *Atherosclerosis* 12, 291-300.
- [17] Garry, P. J. and Routh, J. I. (1965). A micro-method for serum cholinesterase. *Clin. Chem.* 11, 91-96.
- [18] Green, M. C. (1966). Biology of the laboratory mouse. 2nd ed. McGraw-Hill, N.Y., 87-150.
- [19] Henry, R. J. (1964). Determination of creatinine and creatin. *Clinical Chemistry Principles and Technics*, N.Y. 292-302.
- [20] Hirsch, R. L. Keller, A. (1951). The pathogenesis of hyperlipemia induced by means of surface-active agents. I. Increased total body cholesterol in mice given Triton WR-1339 parenterally. *J. Exper. Med.* 93, 373.
- [21] 保坂賢次 (1956). ウサギの繁殖育成成績について. *実験動物* 5, 33.
- [22] Huang, C. C. and Kako, K. J. (1970). Mechanism of triglyceridemia in hypercholesterolemic rabbits. *Circ. Res.* 26, 771.
- [23] 飯島 洋 (1964). 動脈硬化症の実験的研究. *北関東医学* 14, 36-70.
- [24] 金井 泉 (1966). 臨床検査法提要. 24版, 金原出版, 東京, I. 23-25.
- [25] Keller, A. and Conell, J. W. (1951). Sustained hyperlipemia induced in rabbits by means of intravenously injected surface-

- active agents. *J. Exper. Med.* **93**, 373.
- [26] Kesten, H. D. (1935). Early incidence of spontaneous medial degeneration in the aorta of the rabbits. *Arch. Pathol.* **20**, 1-8.
- [27] 菊池康基 (1966). 特集新生児の臨床検査, 染色体の分析. 臨床婦人科産科 **20**, 887-892.
- [28] 北村元仕 (1974). 実践臨床化学. 医歯薬出版, 東京, 309-312.
- [29] Kobernick, S. D. and Hashimoto, Y. (1963). Histochemistry of atherosclerosis. II. Spontaneously degenerative lesion of aorta of exercised and sedentary rabbits. *Lab. Inves.* **12**, 685-696.
- [30] 近藤恭司 (1969). 実験動物学総論. 田島嘉雄編, 朝倉書店, 東京, 73.
- [31] 近藤恭司 (1952). ライトの近交係数. 畜産の研究 **6**(7), 480.
- [32] 近藤恭司 (1966). シンポジウム記録, 日本の実験動物の問題点. 実験動物 **15**, 71-76.
- [33] Kondo, T. and Watanabe, Y. (1875). A hyperlipemic rabbit. *Exper. Anim.* **24**, 89-94.
- [34] Kondo, T., Suda, I. and Yamori, T. (1964). Planing, construction and management of the Centralized Laboratory Animal Facility in Kobe Medical College. *Kobe J. Med. Sci.* **10**, 1-7.
- [35] 小山良修 (1963). 実験動物飼育管理の実際. 医学書院, 東京, 115.
- [36] Kunkel, H. G., Athrens, E. H. Jr. and Eisenmenger, W. J. (1948). Application of turbidimetric methods for estimation of gamma globulin and totallipid to the study of patients with liver disease. *Gastroenterology* **11**, 449-507.
- [37] Levin, I. and Larkin, J. H. (1910). Spontaneous lesion in the rabbits. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* **7**, 109-110.
- [38] Lindoll, A. W., Grande, F. and Schutz, A. (1970). The effect of dietary fats on the serum lipoprotein of normal dogs. *Biol. Med.* **136**, 1032.
- [39] Moegraith, B. O. and Carleton, H. M. (1939). Aortic atherosclerosis in rabbits. *J. Pathol. Bacteriol.* **48**, 33-40.
- [40] 牧野秀夫 (1972). 臨床検査の組合せとそのコツ. 金原出版, 東京, 36.
- [41] 牧野佐二郎 (1963). 人類の染色体. 紀国屋書店, 東京.
- [42] Miles, A. B. (1970). Spontaneous arterial degeneration in rabbits. *J. Amer. Med. Ass.* **49**, 1173-1176.
- [43] 水野映二, 北村元仕 (1971). 血清たん白定量法の改良. 臨床病理 **19**, 427-430.
- [44] Moore, J. H. and Williams, D. L. (1964). Cholesterol and degree of atheromatous degeneration. *Brit. J. Nutr.* **18**, 253-273.
- [45] Morgenstern, S., Flor, R. V. Koufman, J. H. and Klein, B. (1966). The automated determination of serum uric acid. *Clinic. Chemi.* **12**, 784-766.
- [46] Muzum, F. R., Elliot, A. H., Evans, R. D. and Priest, B. V. (1930). The occurrence and nature of spontaneous arteriosclerosis and nephritis in the rabbits. *Arch. Path.* **10**, 697.
- [47] 内藤元男 (1970). 新編 家畜育種学. 養賢堂, 東京, 93.
- [48] Nakamura, M. and Yamada, K. (1967). Studies on a diabetic (KK) strain of the mouse. *Diabetologia* **3**, 212-221.
- [49] 中島輝之 (1967). 冠状動脈硬化巣の初期像の形態. 総合臨床 **16**, 1914-1920.
- [50] 西村正彦 (1968). シンポジウム記録. 自発性糖尿病系統の改良. **17**, 188-190.
- [51] Nishimura, M. (1969). Breeding of mice strain for diabetes mellitus. *Exper. Anim.* **18**, 145-157.
- [52] 内藤周孝 (1975). 高脂血症および高リポたん白血症の概念と分類. 日本臨床 **33**, 3139-3146.
- [53] Nishimura, M. (1973). *Diabetes J.* **1**, 63-70.
- [54] 岡本耕造 (1962). 実験的高血圧の研究, 日本内分泌学誌, **38**, 782-794.
- [55] Okamoto, K. and Aoki, K. (1963). Development of a strain of spontaneously hypertensive rat. *Jap. Circul. J.* **27**, 282.
- [56] Okamoto, K. (1966). Further observation of the development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Circul. J.* **30**, 703.
- [57] 大石英恒 (1967). 染色体検査法, 標本作成と診断的意義. 臨床検査 **11**, 22-28.
- [58] Ophuls, W. (1970). Spontaneous atherosclerosis of aorta in a rabbit. *J.A.M.A.* **48**, 326.
- [59] Reitman, S. and Frankel, S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **38**, 56-63.
- [60] Richstein, R. (1965). Anorganischer phosphor: Molybdanblau - Methode. *Klinische Chemic. Theorie und Praxis*, Basel, 256-258.

- [61] Rodkey, F.L. (1965). Direct spectrophotometric determination of albumin in human serum. *Clin. Chem.* 11, 478.
- [62] Schenk, E.A., Gaman, E. and Feigenbaum, A.S. (1966). Spontaneous aortic lesion in rabbits. II. Relationship to experimental atherosclerosis. *Circ. Res.* 00, 89-95.
- [63] Shank, R.E. and Hoagland, C.L. (1964). A modified for the quantitative determination of the thymol turbidity reaction of serum. *J. Biol. Chem.* 00, 162-138.
- [64] Shino, A. and Iwatsuka, H. (1970). Morphological observation on pancreatic islet of spontaneous diabetic mice "Yellow KK". *Endocrino. Japan* 17, 459-476.
- [65] 鈴木 潔 (1967). 衛生検査技術講座16, 実験動物学. 医学書院, 東京. 15.
- [66] 鈴木 潔 (1972). 実験動物学各論. 田島嘉雄編, 朝倉書店, 東京, 70-80.
- [67] 鈴木慶二 (1972). 特集疾患モデル, 実験的じゆく状硬化. *日本臨床* 30, 41-45.
- [68] 田島嘉雄 (1968). 日本で開発された実験動物の種類と系統. *実験動物* 17, 27-39.
- [69] 田島嘉雄 (1969). 実験動物学総論. 朝倉書店, 東京, 24, 25, 73.
- [70] 竹中守人・高橋 浩 (1962). 新しい Leucin amino peptidase の測定法. *医学と生物学* 65, 74-78.
- [71] 竹内 望 (1972). 実験的高脂血症. *日本臨床* 30, 347-350.
- [72] Tanase, H., Suzuki, Y., Ooshima, A., Yamori, Y. and Okamoto, K. (1970). Genetic analysis of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Jap. J. Circul.* 34, 1197-1212.
- [73] Sharp, P. (1972). Interference in glucose oxidase-peroxidase blood glucose method. *Clin. Chem. Act.* 40, 115-120.
- [74] 土田 勇 (1966). KK マウスにおける高血糖および肥満の発生機序に関する研究. *糖尿病* 9, 67-84.
- [75] 渡辺賢誠・津田登代子・北村元仕 (1967). 血清アルカリホスファターゼ測定, Kind-King 法の改良. *臨床病理* 15, 708-711.
- [76] 渡辺嘉雄・中村経紀 (1975). 家兎の異なる給飼法による血清コレステロール値. *麻獣大研報* 30, 141-145.
- [77] 渡辺嘉雄・近藤光雄・中村経紀 (1976). 血清コレステロールの異常高値を示した家兎. 第9回実験動物研究会講演要旨, 41 (京都).
- [78] WHO (1970). Classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinaemias. *WHO Bull.* 43, 891.
- [79] Zall, D.M., Fisher, D. and Garner, M.O. (1965). Photometric determination of chloride in water. *Anal. Chem.* 28, 1665-1668.
- [80] Zucker, L.M. (1965). Hereditary obesity in the rat associated with hypolipemia. *N.Y. Acad. Sci.* 131, 447.
- [81] Zurkowski, P. (1964). A rapid method for cholesterol determination with a single Reagent. *Clin. Chem.* 10, 451-453.



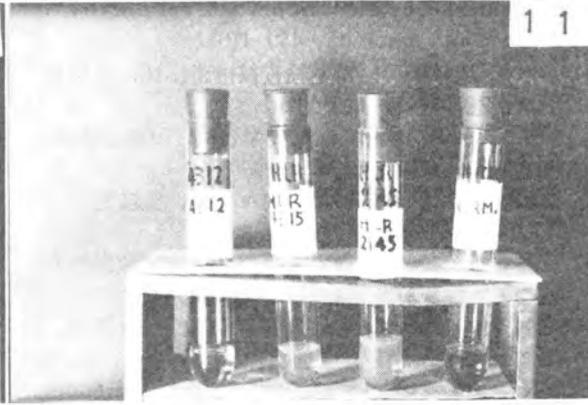
11 0a



1 0 b



1 0 c

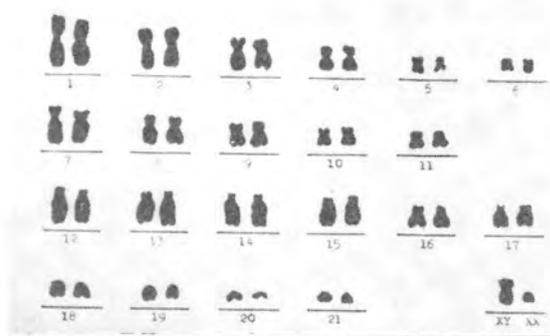
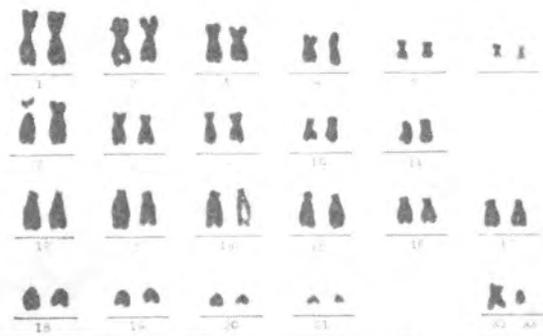


1 1

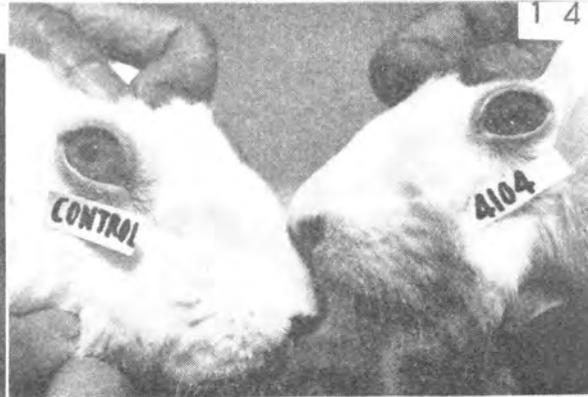
S-Ca 测定結果表 (HCl法)

1 2 a

1 2 b



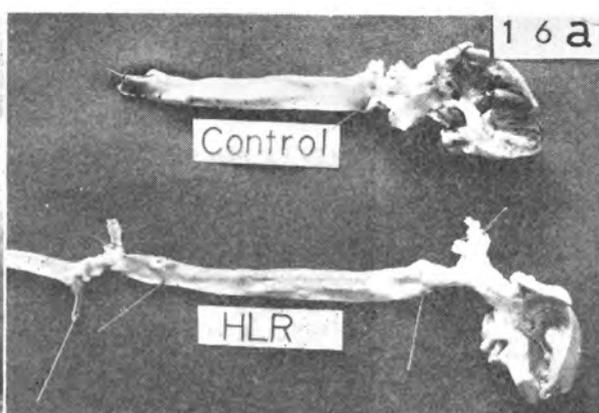
1 3



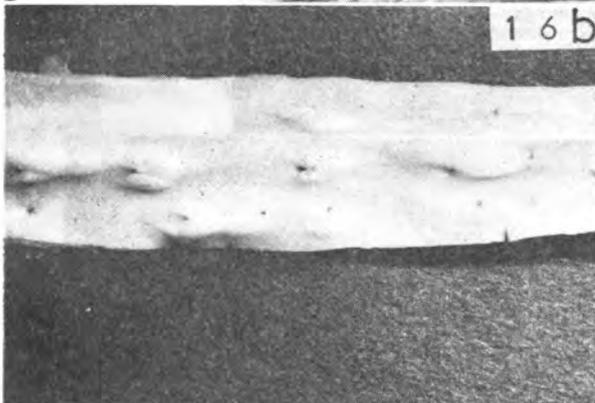
1 4



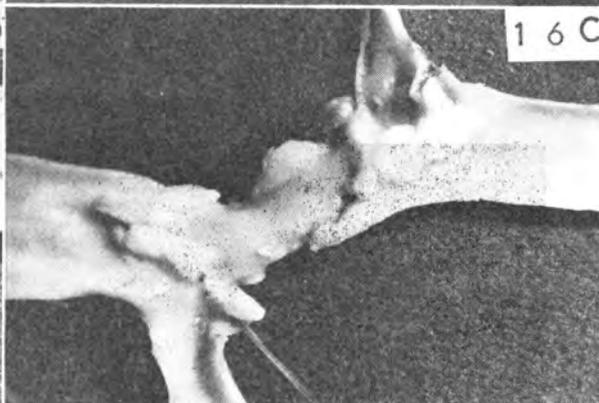
15



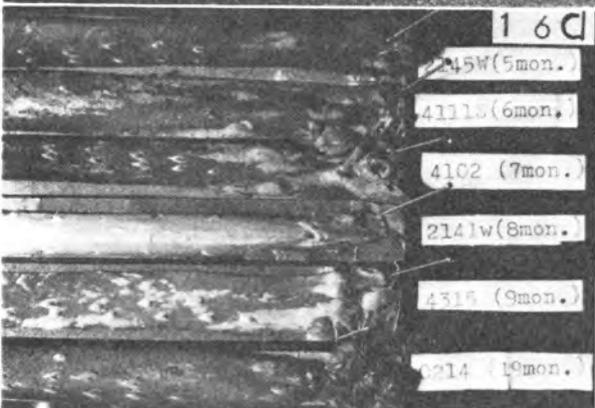
16 a



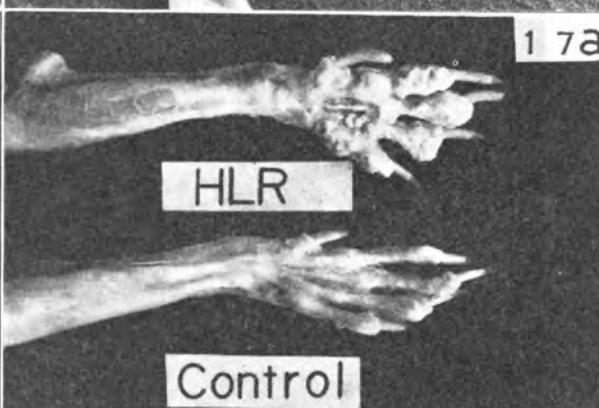
16 b



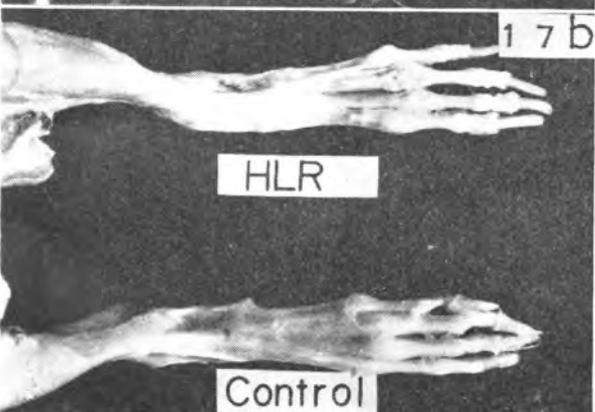
16 c



16 d



17 a



17 b



18

