

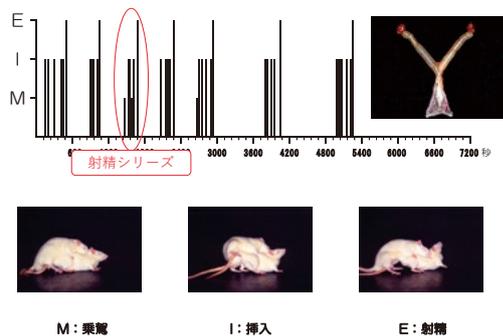
表1

正常4日性周期化の週齢

7週齢	8週齢	9週齢
87.5%	97.5%	100.0%

n=40  
ギムザ染色法による膣垢像で判定

表2 Wistar-Imamichi系雄性ラットの交尾行動パターン



不完全性周期動物における交尾刺激と妊娠の関係

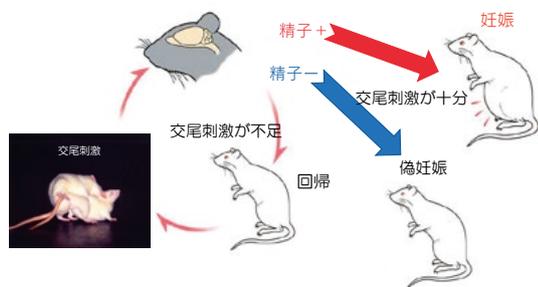


図1

ある。

乗駕あるいは挿入から始まって射精で終わる、この一連の行動を射精シリーズと呼び、若齢性成熟W-I系ラットの雄は2時間の間に6から8回射精をする。

表2は、7200秒間（2時間）の交尾行動パターンであり、短い線が乗駕（M）、中程度の線が挿入（I）、最も長い線が射精（E）を示す。これより、同居からおおよそ1時間半で7回の射精シリーズがあったことが分かる。射精シリーズごとに雄はプラグの形成をとまなう射精をする。

不完全性周期動物における交尾刺激と妊娠の関係については、図1で示すように子宮頸管への交尾刺激が脳に伝わり、交尾刺激が十分で精子が有る場合は妊娠、交尾刺激が十分でも精子が無い場合は偽妊娠、交尾刺激が不十分だった場合は性周期回帰となる。

つまり、偽妊娠動物を作製するためには、「必要十分量の子宮頸管に対する刺激」が不可欠であることがわかる。

そこで、この必要十分量の刺激を、安全かつ短時間で疑似的に与えることができる器具として偽妊娠ラット作製器具EGET（イーゲット）を開発した。

■EGETの使用法

EGETの使用は「保定」「挿入」「振動」の3つのステップに分かれる。

まず「保定」についてだが、刺激を与えている間に動物が動いてしまわないことが重要となる。EGETパッケージにも印刷されているイラスト（図2）のように実施者の脇と腕に動物を挟み、左後肢を親指・人差し指、右後肢を小指・薬指で保定する（または右後肢は脇に当てて保定する）方法（写真1）は挿入部が見えやすく有効である。また、動物をケージトップに乗せ、後肢が持ち上がらない程度に尾を上へ引っ張るようにして膣部を露出する保定（写真2）での実施も可能である。

「挿入」はEGETのプローブ（φ5mm×L27mm）を膣に挿入する操作となる。挿入したプローブ先端部が“子宮頸管にしっかり当たっていること”を確認する。また、このときプローブ先端を微酸性水などで濡らしておくとし挿入がしやすい（ただし、エタノールな



図2



写真1

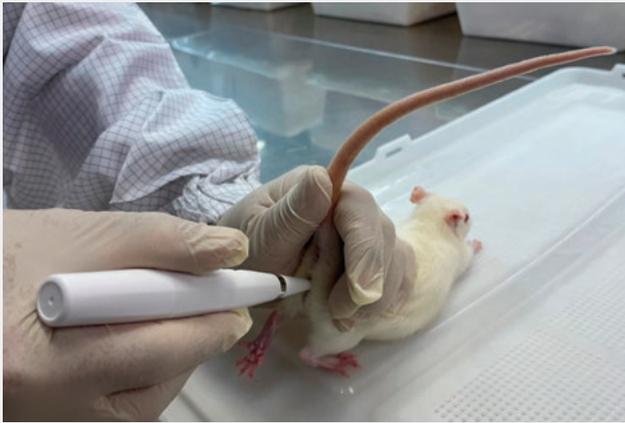


写真2

どの刺激性が強い消毒薬は動物に痛みを与える可能性があるため、不向きである)。

挿入ができれば、EGET本体のスイッチを押すとバイブレーションが始まる。「30秒刺激を与え、スイッチを切り、30秒休憩」を3セット行う。ちなみにEGETはスイッチを入れて30秒経過後にバイブレーションのリズムが一瞬変動し、刺激時間の目安とできる。

EGETは与える刺激(バイブレーション量)を担保するため、使用期限を250匹または1年間のいずれか早く到達するタイミングとしている。

### ■EGETで期待できる効果/成果

このようにEGETでは簡単な方法で偽妊娠状態の雌を短時間で作製することができる。精管結紮雄が不要となるため、使用動物数が削減(Reduction)でき、その雄の生体購入コスト、生体維持するための飼育スペース・飼育管理コストや作業時間も全て不要となる。

また、精管結紮雄を使用し、偽妊娠雌を作製す

る場合はそれらの一晩同居が必須となるが、EGETを用いた作製方法であれば、短時間での作製が可能となる。大阪公立大学(元岩手大学)金子武人先生の研究では胚移植当日に刺激を与えた場合でも移植した受精卵が着床し発育することを確認されている(論文: Successful pseudopregnancy of rats by short period artificial stimulation using sonic vibration, PMID35075219, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35075219/>)。

### ■EGETの今後の展望

EGETを用いた偽妊娠作製法については、マウスへ技術展開する要望が非常に強く、現在開発が進んでいる。ラットとマウスでは繁殖行動が異なり、偽妊娠を得るために必要な刺激量が異なるため、「刺激」操作のプロトコルやマウスの膣に挿入するにあたり動物にとって負担のないプローブ径などの検討を行っている。

一般的に使用数の多いマウスにも転用することができれば、削減できる動物数や実験コストへのインパクトも大きく、貢献度は高くなると考えている。

EGETはノルウェーに本部をおく3Rs製品のデータベースサイト“norecopa”(<https://norecopa.no/norina/kn-595-e-get-apparatus-for-creation-of-pseudo-pregnant-rats/>)にも掲載をされ、海外からの注目が高まっており、海外機関への導入も始まっている。今後、国内でのアカデミア・企業における教育のシーンでもReductionを達成する一手法として、紹介いただけるよう更に情報発信したいと考えている。

夏目製作所では、より一層の実験動物業界関係者との連携による製品・サービスの実現化を目標に掲げている。研究者・実験者の皆さまが抱える“お困りごと”を「まずは夏目に聞いてみよう」とご相談いただけるような取り組みを意識して、活動を行っている。昨年10月にオープンしたコンシェルジュサイト(図3)もその取り組みの一つであり、“一人のアイデアからの特注品を業界全体のノウハウとして使えるよう”、“より良くなりそうならやってみる”を皆さまと伴走させていただきながら、実現していくためのメッセージサイトとなっている。