

実験用ブタを巡る情報 (I)

実験動物としてのミニブタの有用性

オリエンタル酵母工業株式会社
矢吹 慎也

近年、ブタが解剖学的・生理学的に多くの点でヒトへの外挿性が高いことから実験動物として注目されている。欧米ではブタは実験動物として認知されており、我が国においてもその需要が高まってきている（図1, 2, 3）。海外では経口・経皮・皮下・静脈内など、様々な用途で毒性試験等に利用されている（図4）。今回、弊社で生産・販売しているゲッチングミニブタを中心

に、各研究領域におけるミニブタの利点や注意点について紹介したい。

ゲッチングミニブタ： Göttingen Minipigs™

小型；Minnesota Minipig、おとなしい性格；Potbellied、白色皮膚；Landrace の特徴が保たれるよう維持されたクローズドコロニーで、ドイツ（ゲッチングン大学）、デンマーク（エレガー

ド社）、米国（マーシャル社）、日本（オリエンタル酵母）にコロニーが存在する。30年以上、研究開発領域に用いられており、豊富な文献検索が可能である。

薬物動態⁽¹⁾や背景病理^(2, 3)に関する情報、遺伝的管理に関する情報⁽⁴⁾が入手可能である。国内生産施設はAAALAC完全認証（2015～）であり、群飼育（ペン）、床敷、玩具、散歩など動物福祉に配慮しており、特にヒト

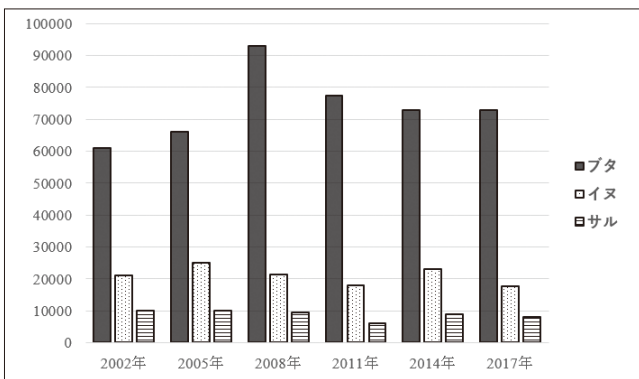


図1. EU；Report from the commission to the council and the European parliament

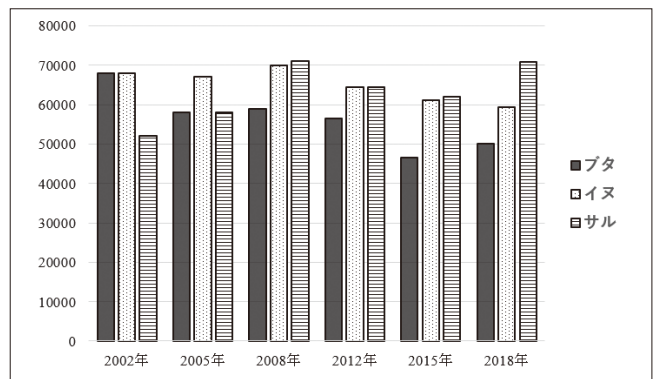


図2. US；Annual Report Animal Usage by Fiscal Year, USDA

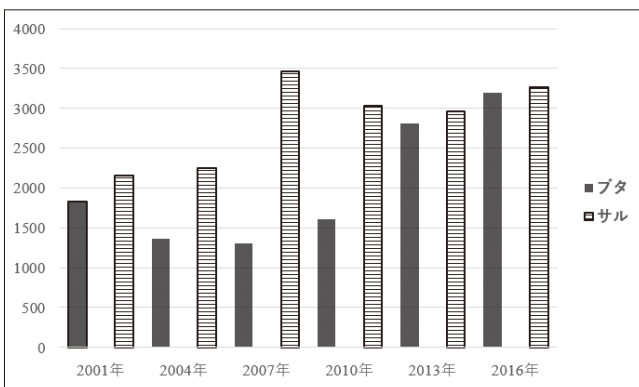


図3. JP；社団法人日本実験動物協会「実験動物の年間総販売数調査報告書」

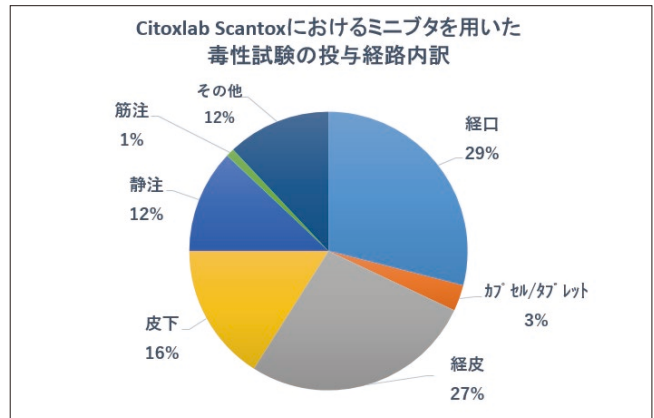


図4. Citoxlab社におけるミニブタを用いた毒性試験の投与経路内訳

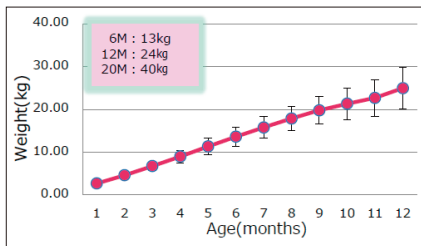


図5. 成長曲線



図6. 飼育ベン (群飼育)

Socialization



図7. 順化 (離乳直後) ヒトとの距離が遠い



図8. 順化 (離乳3週後) ヒトとの距離が縮まり触れるようになる

に馴れるよう Socialization に力を入れている。バリア内に搬入する飼料・床敷・物品等は全て滅菌/照射/消毒を実施しており、飼育スタッフは入室前に全身シャワーと手指消毒、滅菌済みの作業着の着衣など、衛生面にも十分配慮している。

我が国においては CSF (豚熱) が深刻な問題になっており、農林水産省より公布された「豚熱

に関する特定家畜伝染病防疫指針」の順守が必要である。この指針ではワクチン接種動物は接種地域外への移動は不可であるが、ゲッチングミニブタは同指針の留意事項 12 においてワクチン接種の除外対象である【高度な隔離・監視下にある豚】として承認されているため、従来通りワクチン非接種の実験動物として出荷している。なお、コロニーが CSF 陰性であることは、定期的に所轄の家畜保健衛生所で確認している。



図9. 経皮投与

皮膚

	月齢	角質層 (μm)	厚み	
			表皮 (μm)	真皮 (mm)
ミニブタ	1.5	~10	50	1.15
	3	~10	64	1.47
	6	~10	63	2.28
ヒト	Adult	~15	70	1.2

図10. ヒトとミニブタの皮膚比較

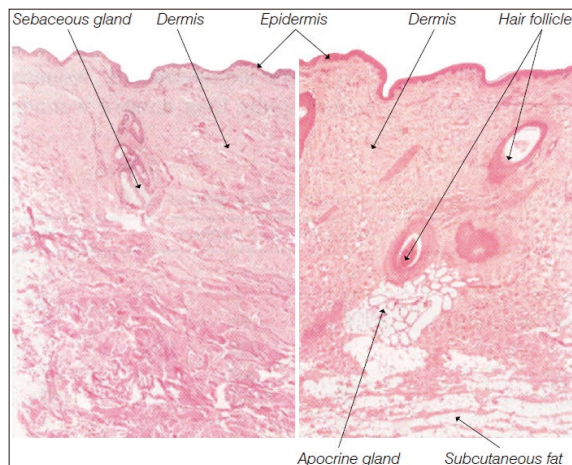


図11. ヒトとミニブタの皮膚比較 (左; ヒト、右; ミニブタ)

皮膚

ミニブタの皮膚はヒトとの多くの類似点 (被毛密度、解剖、血管、免疫反応) を有する。白色で皺のできにくい平らな皮膚は、肉眼評価 (e.g. 紅斑、出血、分泌物、浸出物、糜爛、潰瘍、色素沈着 etc.) や投与において大きな利点である。吸収に大きく影響する被毛密度や表皮の厚みがヒトと類似しており、薬物動態においてもヒトを外挿することから経皮製剤の評価に多く利用されている。表皮細胞サイクルがヒトと類似 (28 日) していることから創傷治癒モデルにも利用されている。毒性試験では表皮・真皮の厚みがヒト成人と類似している 3~6 ヶ月齢のミニブタが多く利用されるが、真皮は月齢により厚みをますため月齢が吸収に影響を与えることは考慮する必要がある (5,6)。

消化器

ブタはヒトと同様に雑食性の動物で嘔吐は少ない。胃は、空腹時 pH がイヌに比べ変動が少なく、構成細胞・絨毛・分泌がヒトと類似している。小腸は、長さ・通過時間・pH がヒトと類似

長さ (cm)

	小腸	盲腸	結腸
ミニブタ*	840	8.6	303
イヌ	150 - 414	7	93
ヒト	680 - 700	8 - 15	25 - 60

*: 6 months of age, ave. 13.3 kg body weight

図12. 消化管の長さ (ミニブタ、イヌ、ヒト)

pH

	ミニブタ	ヒト
胃	1.2 - 4.3	1.5 - 3.0
小腸	6 - 7.5	5 - 7.4
大腸	6.1 - 7.1	5.5 - 7.0

図13. 消化管pH (ミニブターヒト)

通過時間 (h)

	胃		小腸		大腸
	液状	固形	液状	固形	液状・固形
ブタ/ミニブタ	0.4 - 0.9	1.0 - 1.3 / >24	3.9 - 4.4	3.7 - 4.3	24.9 - 44.4
イヌ	1.5	0.8 - 1.5	1.3 - 2.6		18.5
ヒト	0.16 - 0.25	1.2 - 2	2 - 4	3 - 4	33.5 - 61.5

図14. 消化管通過時間 (ブタ、イヌ、ヒト)

胆汁流量 (μl/min/kg)

ヒト	1.5 - 15
イヌ	4 - 10
サル	10
ブタ	9
ウサギ	90
ラット	30 - 150

図15. 胆汁流量の種差

し⁽⁷⁾、CYP活性の類似性も報告されている⁽⁸⁾。加えて、ヒト肝臓における主要薬物代謝酵素がCYP3A4であるのに対し、ブタも同様にCYP3A29である^(1, 7, 9)。解剖学的にブタが螺旋状結腸であることや硫酸抱合能がない点はヒトと異なるが、殆どの薬物は小腸からの吸収をターゲットとし、硫酸抱合が必要な製剤は限定的である。ミニブタは幽門膨大部で内腔が狭窄しているため、固形物の胃内排泄速度はヒトと比べ長いから、カプセル・錠剤投与には留意が必要である。また、床敷 (ウッドチップ、ストロー etc.) の摂取による影響をなくすため、これら以外のエンリッチメント提供などの配慮が必要となる。反復投与試験の際には、投与に伴うストレスの影響を少なくするために投与順化が必要である。

循環器

ミニブタの心臓および大血管

は解剖学的 (冠動脈走行、大きさ、血管の栄養血管が存在)・生理学的 (相対重量、拍出量、血圧、血流量) に類似する点が多く、循環器系の実験に多く利用されている。ゲッチングミニブタにおいては、家畜豚でしばしば問題となる血管アプローチの際の血管攣縮や麻酔時の悪性高熱は報告されていない。小型で緩やかな成長であることはステントなどの長期埋植試験を実施する上で有用である。スリングを用いた順化は比較的容易で、無麻酔下での心電図測定やホルター心電図での24時間測定も実施可能である。なお、心室壁にプルキンエ細胞が存在するためQRS波が逆であること、奇静脈の走行はヒトとは異なる。

泌尿器

ミニブタの腎臓は、腎杯の数、相対重量 (ミニブタ:0.47%、ヒト:0.44%)⁽¹⁾、ローブの数、尿pH⁽⁷⁻⁹⁾などでヒトと類似している。

また、ミニブタは20 kg以上に成長するため、透析実験を実施する上で他の動物種では困難な体外循環血液量を確保出来る点も利点である。薬物動態で重要なOAT1やOAT3のようなトランスポーターもブタの腎臓で同定されている。

骨・関節

ミニブタはヒトと同様の外科処置が可能で、軟骨のコラーゲン配列 (ラット・ウサギ:円柱状 vs ブタ・ヒト:葉状) や骨・軟骨のリモデリングがヒトと類似しており骨関節症モデル (軟骨~軟骨下骨欠損) を用いた幹細胞治療などの再生医療評価に利用されている。ヒトと同様にエストロゲン欠乏による骨密度の低下が起きることから、OVX + Ca欠乏食での骨粗鬆症モデルにも利用されている。

最後に

ミニブタ・ブタを用いた試験を

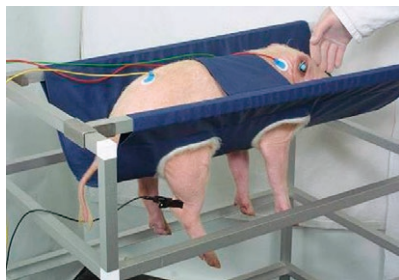


図16. 無麻酔下での心電図測定



図17. ホルター心電図

実施する上では、Socialization・順化・保定・投与・採血・麻酔管理など、動物の Well-being や動物を取り扱う技術者の洗練が必要である。これらを豊富な写真と共に解説した「ブタ・ミニブタ実験マニュアル」が購入可能である (LABIO 21 No.71 p.33-35 参照)。また、慶應義塾大学の 大竹氏らを中心として運営さ

れている「ブタ勉強会ネットワーク」(参加申込: 事務局 otake.keio@gmail.com) には多くの技術者・研究者が参加しており、ブタに関する技術や過去の経験などが Open に情報交換されているので是非活用されたい。

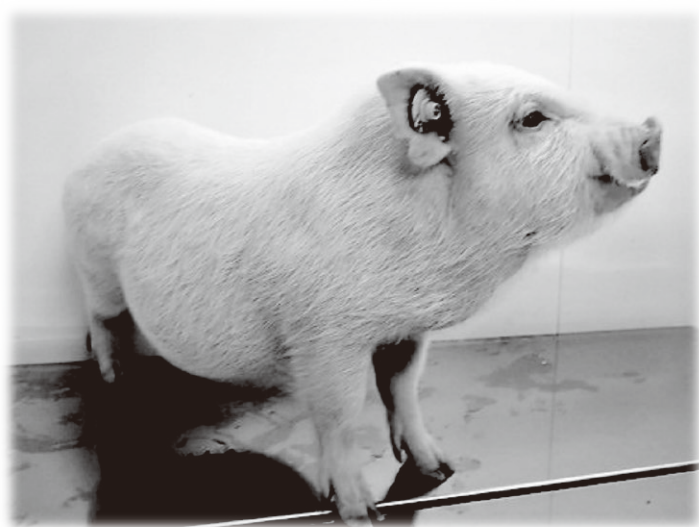
参考文献

1. Dalgaard 2015. Comparison of minipig, dog, monkey and human drug

- metabolism
2. Jeppesen et al. 2015. Spontaneous background pathology in Göttingen Minipigs
3. Helke et al. 2016. Background pathological changes in minipigs
4. Simianer et al. 2010. Genetic management of the Göttingen Minipig population
5. Qvist et al. 2000. Evaluation of Göttingen minipig skin for transdermal in vitro permeation studies
6. Yamamoto et al. 2017. Utility of Göttingen minipigs for prediction of human pharmacokinetic profiles after dermal drug application
7. Claudia et al. 2012. A Physiologically based pharmacokinetic model of the minipig
8. Lumpen A et al. 1996. Drug interaction and interindividual variability of cyclosporine metabolism in the small intestine
9. R. Zuber et al. 2002. Cytochromes P450 and experimental models of drug metabolism

(日動協ホームページ、LABIO21 カラーの資料の欄を参照)

Göttingen Minipigs™



- ◆ Global Standard
- ◆ 大人しい、賢い、緩やかな体重曲線
- ◆ ヒトへの外挿性が高い
- ◆ 厳密な遺伝管理
- ◆ Technical & Scientific support



- ・飼育用器材、ハンドリング用器材
- ・実験動物用飼料
- ・生体試料
- ・受託飼育
- ・トレーニングサービス
- ・受託試験

お気軽にお問い合わせください



オリエンタル酵母工業株式会社

バイオ事業本部ライフサイエンス部
〒174-8505 東京都板橋区小豆沢三丁目6番10号
TEL: 03-3968-1192 FAX: 03-3968-4863