

Japanese Society for Laboratory Animal Resources  
**LABIO 21**



社団法人 日本実験動物協会

Tel. 03-5215-2231 Fax. 03-5215-2232  
<http://www.nichidokyo.or.jp/> E-mail: [jsla@nichidokyo.or.jp](mailto:jsla@nichidokyo.or.jp)

「実験動物福祉に関する第三者評価を受けて」

「実験動物の福祉に関する第三者評価システムに望むこと」

「レストン・エボラウイルスを追って」




Introducing the Internationally Harmonized  
**Wistar Hannover GALAS Rat**  
for Toxicology and Pharmacology

アタリ  
フィルム支給



**Taconic**  
Smart Solutions To Improve Human Health

 **CLEA Japan, Inc.**

**Global Alliance for Laboratory Animal Standardization**



 **日本クレア株式会社**  
TEL.03 (5704) 7011 <http://www.CLEA-Japan.com>



## 絵 山本容子

画家。

犬を中心とした作品づくりで40年近くなる。  
犬を擬人化した作品で国内、国外に多くのファンをもつ。

1981年より(社)ジャパンケンネルクラブ会報「家庭犬」の表紙画を担当。

1986年アメリカドッグアソシエーション特別賞を受賞。

1992年農林水産大臣賞を受賞。

1996年以後、東京、大阪を中心に個展・展示会を開催。

## 巻頭言

「安東・田嶋賞を受賞して」————— 4

## 特集

「実験動物福祉に関する第三者評価を受けて」

「社内動物福祉活動の経過」————— 6

「大学等における動物実験に関する相互検証を受けて」————— 9

「動物実験実施施設の第三者評価を受けて」————— 12

## オピニオン

「実験動物の福祉に関する第三者評価システムに望むこと」————— 16

## トピックス

「口蹄疫はどのような疾病か」————— 20

## 研究最前線

「マウス肝炎ウイルス (MHV) に対する抵抗性に関する研究」————— 24

## 私の研究

「レ斯顿・エボラウイルスを追って—フィリピンでのコウモリ捕獲—」————— 28

## ラボテック

「新マウス・ラット微生物検査項目セットの設定と日動協メニュー」————— 32

連載シリーズ「LAM 学事始(5)」————— 35

海外散歩————— 38

「ボストンでの9年間」

海外技術情報————— 41

学会の動き、技術者協会の動き————— 43

ほんのひとりごと————— 44

協会だより、協会関係団体の動き————— 45

KAZE————— 46

## オリエンタル酵母の特注飼料

肥満モデル作製用High Fat Diet

HFD-60



新型の成型機を導入することにより、特注飼料の成型性をアップすることが可能となりました。皆様からご要望・お問合せが多かった『脂肪分60%カロリー比高脂肪飼料』を固型品にて新発売いたしました！

## その他生活習慣病モデル飼料

## ● 各種モデル動物作製用飼料

肥満  
高脂血症  
糖尿病  
動脈硬化  
インスリン抵抗性  
脂肪肝  
・アルコール性  
・非アルコール性

## ● コリン無添加飼料

● アミノ酸混合飼料  
(特定のアミノ酸過剰、無添加)

## ● 低タンパク飼料

## ● 各種検体添加

※ 各種ビタミン、ミネラルの過剰・不足、その他ご希望の配合で調整いたします。



お問合せは弊社営業担当、もしくは下記までご連絡下さい。

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3-6-10 TEL 03-3968-1192 FAX 03-3968-4863  
URL <http://www.oyc-bio.jp> E-mail [fbi@oyc.co.jp](mailto:fbi@oyc.co.jp)



オリエンタル酵母工業株式会社

# 安東・田嶋賞を受賞して

滋賀医科大学 動物生命科学研究センター

教授 鳥居 隆三

平成22年5月に開催された第57回日本実験動物学会におきまして、「実験動物としての霊長類への発生工学的的手法導入による室内計画的人工繁殖と再生医療研究への活用」に対して、実験動物学会から安東・田嶋賞を頂きました。

実験動物学会の中で、霊長類（サル類）に関する演題は最近では少しずつ増えているように思われますが、やはり未だその数は少なく同じ顔ぶれだけが集まる状況にあります。しかしサル類を用いて動物実験や研究を行っている方は意外と多くおられると思うのですが、その成果がなかなか表に出てこない様と思われます。この原因は、大きくは二つあるのではないのでしょうか。

一つは、サル類は未だ野生動物の域にあって実験動物としての位置を築いていない、即ち遺伝学的、微生物学的そして環境の3つの統御が十分に出来ていないため、実験成績の精度と再現性が乏しい事が挙げられると思います。私は実験動物中央研究所への入所をきっかけにおサルと付き合い30年余りが過ぎま

した。滋賀医大に来てからはこれらの統御、とくに人獣共通感染症の危険性を無くすことを目的に、1対1同居交配法と人工授精法による室内人工繁殖による微生物学的統御サルの作出を試みました。その後さらに高度な統御と計画的な繁殖方法を目指して、薬物による卵巣刺激法、動物福祉に配慮した腹腔鏡による卵巣・子宮観察と採卵法、体外受精法、顕微授精法、受精胚の体外培養法、卵管内胚移植法等を確立し、それらを機能的に合体させてカニクイザルの計画的室内人工繁殖法として実用化しました。またこれらの方法を検討している中で、体外培養した胚盤胞期胚からカニクイザルES細胞を樹立し各種機能細胞への分化・誘導を、また顕微授精法の技術、いわゆる発生工学的手法をさらにレベルアップさせて除核と核移植による体細胞クローン胚作製、そこからのクローンES細胞の樹立、さらに分割クローン個体の作出等も出来、再生医療研究にこれらの技術や材料が活用出来る様になりました。また最近ではカニクイザルiPS細胞を樹立し、分化・誘導細

胞の移植時における安全性の確認、そして精子、卵子を誘導し産子を介しないで世代交代を行う新たな生殖発生技術も模索しています。とくに分化・誘導細胞の移植時に大きな障壁となる移植免疫拒絶を解決するためにMHC(major histocompatibility complex)をホモにもつ個体の選抜とそこからの顕微授精-胚移植法によるホモ個体集団、即ち特定遺伝子を統御した個体も作出つつあります。この様にマウスで開発されたいわゆる発生工学的手法をサル類に応用できたことにより、サル類を今までの野生動物からマウスと同じレベルの実験動物に引き上げることが出来たのではないかと考えています。そして再生医療をはじめとする臨床応用に向けたトランスレーショナルリサーチにおいて、サル類の有用性をさらに高めることが出来たと思います。

二つ目の問題点として、動物実験における倫理を忘れてはならないことです。とくにサル類はヒトと同じ霊長類に属することから、動物実験に対する高度の倫理感が強く求められます。滋賀医大では、動物実験におけ

るモラルの向上を目指して平成16年から「基礎」、「サル」、「感染」の3種の動物実験資格認定制度を作り、講義と試験、さらにサルでは実習も実施しています。学外の方に対しても本学での共同実験を実施頂くために資格の獲得をお願いしていますが、最近では動物実験に対する基礎的な知識に加えサルの取扱技術を身につけたいとのことから、他大学、企業、研究機関等から多くの方が資格を取られるようになってきました。さらに本学は動物実験の見張り番である動物実験委員会に加えて、動物専門の倫理委員会ともいえる動物生命科学倫理委員会を発足させ、動物実験の倫理と動物の生命倫

理について学外の一般の方にも御協力願って議論頂いています。この様に、サルを用いる実験ではより高度な倫理観とそれに相応した技術、知識が必要であり、動物実験を行う我々には動物実験の説明責任が強く問われていると思います。

この様に、実験動物としてのサル類の質の向上、それらサル類を用いる我々実験・研究者の質の向上、この二つの大きな課題を克服することによって、ヒトの医療、臨床につながる研究にサル類はさらに大きく貢献できるものと思われれます。加えて、サル類は高度な知能を有することから、我々は飼育に当たってサル類の生活環境に対するエン

リッチメントへの配慮、人獣共通感染症に対する予防と対応、関連法規の遵守、そして何よりも動物実験倫理と説明責任を果たし、ヒト医学研究への新たな挑戦への加速化と安全性確保に務めねばなりません。そのためにも、綿密な実験計画に基づき丁寧かつ慎重な取扱いを実践し、サル類から得られる貴重な成績を決して無駄にすることのないように、受賞を機会に改めて気を引き締め直したいと思います。

より広く、より深く、  
皆様と共に歩む  
アニマルケアが  
総力を結集!!

# 研究支援事業

21世紀を迎え、アニマルケアは、永年によって培った実績とノウハウを「財産」に新規部門を推進しております。各部門のスペシャリストが皆様のお問い合わせをお待ちしております。お電話、もしくは弊社ホームページよりご連絡下さい。

**●受託事業本部**  
実験動物総合受託事業  
弊社は、当事業のパイオニアとしてあり、これまで多数の動物実験施設において、この分野の最先端事業として、PMSC（動物実験施設管理）の業務を担っており、PMSCの業務を委託してPMSCの業務を遂行し、PMSCの業務を遂行して、各種の研究開発に貢献いたします。

**●NT-5プロジェクト派遣センター**  
技術者派遣事業  
弊社では、研究分野における技術者派遣事業を行っております。人材確保には、業界の要請の中で培った高度なスキル、食品、生薬、医薬品開発などに特化した人材を、貴社にマッチングし、求めるスキルを持った最適な人材を派遣いたします。

**●NT-5プロジェクト紹介センター**  
人材紹介事業  
弊社の人材紹介事業は、お客様が所望として採用をお考えになる人材を紹介いたします。専門分野における人材確保は非常に重要であり、多くの時間を費やすことなく、貴社の人事ネットワークを活用した人材紹介をご利用下さい。

**●国際プロジェクト**  
アジア関連事業  
弊社は、これまで中国、韓国、台湾などのアジア諸国、地域と関係業務・技術開発、共同研究、共同開発、実験動物及び実験動物関連器材の輸出入販売などの活動を展開してまいりました。21世紀はアジアの時代。これからは国際関係との友好事業を推進いたします。

**●環境検査プロジェクト**  
環境検査関連事業  
弊社では、感染因子科、生化学検査科の観点から、飼育、食品、飼料、飼舎、飼舎周辺の環境検査を承っております。飼舎環境の現状把握にお役立ちいたします。

**●クロマトプロジェクト**  
分析装置開発事業  
弊社では、株式会社「イオネン」の日本法人である株式会社「イオネン」の分析装置の開発に協力しております。

フィルム流用  
アタリ

**株式会社 アニマルケア**  
<http://www.animal-care.co.jp/>

本社 〒164-0001 東京都中野区中野3-47-11 TEL. (03) 3384-9013 FAX. (03) 3384-9150  
 西日本営業所 〒543-0055 大阪府大阪市天王寺区慈徳院町8-26 天王寺センターハイム805 TEL. (06) 6772-6070 FAX. (06) 6772-6074  
 九州営業所 〒814-0021 福岡県福岡市早良区荒江3-11-31 シティーガーデン荒江701 TEL. (092) 831-8865 FAX. (092) 831-8867



日本エスエルシー株式会社  
引佐支所長 権田俊彦

### 「日本エスエルシー株式会社福祉委員会の設置」

日本エスエルシー株式会社では日動協が策定した実験動物福祉指針の「実験動物生産施設等における動物福祉指針」及び「実験動物福祉推進手引き」を受けて福祉委員会設置のための準備委員会を組織し、平成13年4月より福祉委員会組織づくりを開始した。

実験動物福祉体制は生産販売を目的としたブリーダーにとって日常の業務活動全般に密接に関わる問題であり社内規定は日動協で策定された指針に基づいておこなった。とくに実験動物福祉推進手引きの指針から組織の体制、任務を定め、生産施設の動物福祉と動物の安楽死処分及び動物の輸送を含めたものとした。

「日本エスエルシー(株)実験動物福祉規定」(以下福祉規定)を策定後ただちに日本エスエルシー(株)実験動物福祉委員会(以下福祉委員会)を組織し動物福祉活動を開始した。福祉委員会の構成員は委員長、各生産所委員6名、顧問1名、事務局1名体制としスタートした。福祉委員会は福祉規定の適正運用の検証と動物

福祉増進を目的とし生産にかかわる動物福祉の監視、社内動物実験の審査および実験動物福祉社内調査(以下社内福祉調査)し福祉活動の啓蒙にあたることを課した。社内福祉調査にあたっては各生産所・部署の動物福祉実施状況を把握したうえで要項を策定し実施を計画した。

社内調査はその結果を経営層に報告することにより動物福祉環境の改善を促す役割を機能させるよう検討した。

平成14年度に入り第一回目の社内福祉調査を実施した。調査する施設は5ヵ所の各生産支所、受託試験部、品質管理部、出荷配送部の合計8ヵ所を対象に福祉委員各2名により実施した。調査項目は、施設の衛生管理状態、飼育管理の状態、ケージサイズ、収容匹数の確認、給餌・給水の管理確認、安楽死の手順確認、実施確認、死体の処理・保管状態の確認、機械設備の運転管理状態等とし、調査用紙を作成し調査員が項目に沿って実施した。

第二回目以降の社内福祉調査は第一回目の内容に加えて動物

## 日動協の実験動物福祉指針策定に伴い社内実験動物福祉委員会の設置を行なった

### 【参考としたおもな指針等】

- ① 実験動物福祉憲章 平成6年11月制定(平成18年12月改訂)
- ② 実験動物の安楽死処分に関する指針 平成7年8月1日制定(平成18年12月5日改訂)
- ③ 実験動物生産施設等における動物福祉指針 平成11年3月制定(平成18年12月、平成22年2月改訂)
- ④ 実験動物福祉推進手引き 平成13年3月制定(平成18年12月と平成22年2月全面改訂)
- ⑤ 実験動物の輸送に関する指針

実験の適正実施確認、緊急体制の整備、動物福祉教育の実施状況を重点項目として実施した。実施項目と方法は現在の基本形式となった。

### 「模擬実験動物生産施設等福祉調査を受ける」

平成16年度には日動協による模擬調査が開始された。この模擬調査は組合員の自主管理を支援するために日動協の自主的取組であり、第三者の視点で訪問調査を行い指導・助言を行なう調査システムの確立を目指したものであった。飼い主責任、動物を処分する場合の方法、動物を科学上の利用に供する場合の方法と事後処置、それらをチェックシートで内容を関連法規、日動協の指針と手引きに照らして評価し組合員の水準に格差が生じないように自主管理評価の客観性と透明性を図る事であった。

平成16年10月12日、当社で最初の事業所として模擬の実験動物生産施設等福祉調査を引佐支所として受ける事になった。日動協にとってこの模擬調査は調査システムの立ち上げる調査であり思考的で先行的に行う位置づけであった。調査は調査委員 2名と事務局1名により行われ、調査内容は経営的側面と生産管理の側面から行われ、衛生管理・

動物への福祉状況を実際の生産現場で使用している記録用紙等の閲覧と飼育場内を廻り実際の管理状況の確認をする調査であった。調査の冒頭で①調査目的は動物愛護法の改定を控えた調査であること②福祉調査は評価委員会体制になり協会のメイン事業なること③模擬調査は思考的で先行的に行い調査システムを立ち上げる調査である旨の説明を受けて始まった。

方法は調査表に基づき行われ、当社の作業手順書や記録用紙等を提示、説明しながら対応し終了時に①動物福祉組織では、委員会設置の親規定を明確にして組織を規定する親組織が必要であり、社長と委員会の関係と任務を明確にする。②記録紙への確認サインを行なうサイン規定の作成をする。③安楽死の確認では動物処分手順書に規格外動物と余剰動物の処分に関して加え、処分の実施記録が残るように規定の改訂をする等の指摘を受けた。

平成17年3月に模擬調査指摘事項の改善報告を協会に提出した。改善の内容としては、委員会は社長直轄の諮問機関とする。書類の現場責任者の確認サインに関して規定し社内調査で確認する。動物処分の規定を明記し数量は現場責任者が常に認識する等の改善を各

支所に対して実施した。ちなみに平成16年度実験動物生産施設模擬調査の結果は「調査事項のすべてが良好であり、実験動物福祉の観点から適切な管理・運用がなされていることを認める。」との評価をいただいた。

平成17年6月22日 動物愛護法の改定がされ、これを受けて日動協指針の全面的な見直が行われこの年に実験動物の福祉体制が再度整備された。「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の制定」(実験動物の飼養及び保管に関する基準は廃止)

「動物実験の適正な実施に関する基本指針の告示」「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」などこれらは自主管理による体制作り・自主規制と自助努力をすることである。自主管理には自己点検評価と外部からの検証をうける事で社内のみでなく外部からの見識を得た実験動物への福祉活動がおこなえることになる。

当社では日動協指針の全面改定と、模擬調査の指摘事項を踏まえ「福祉規定」を日本エスエルシー(株)実験動物福祉の総則規定として制定し「日本エスエルシー(株)実験動物福祉委員会規定」の改訂も行ない、福祉委員会の構成を委員長と各部署1名 計8名の委員、更に

外部委員1名と事務局1名、合計11名(獣医医師含む)の組織とした。また動物実験の実験計画を福祉の観点から審査と承認書を策定し動物実験の分類を指定した日本エスエルシー株式会社動物実験承認要項を規定した「日本エスエルシー(株)動物実験審査規定」を制定し動物実験審査委員会を設置した。委員長及び委員4名 合計5名(獣医医師含む)からなる審査体制を整えた。

### 「第二期実験動物生産施設等福祉調査を受ける」

平成19年10月1日に日動協の模擬調査期間は終了し、平成20年第二期実験動物生産施設等福祉調査が開始された。当社としても模擬調査に引き続き平成20年度調査として平成21年2月5日～6日にかけて引佐支所と春野支所の福祉調査を受けた。また、これを機に当社の全施設と部署を随時申し込みして調査を受ける事とした。

第二期実験動物生産施設等福祉調査は調査項目も62項目に増え、調査委員2名と事務局1名による調査体制であり、模擬調査時の改善状況も考慮した調査内容になった。

模擬調査を受けていることもあり対応に関してはスムーズに出来た。この調査でも指導・助言を頂き、組織図に実験動物福祉委員会・組み換え安全委員会・動物実験審査委員会の位置を明示する。社長・管理者・動物管理者のそれぞれの責務と飼養保管基準の内容とを整合させる。実験計画分類の整合性を図る、等の指摘を受けた。

平成21年4月に指摘内容を改善し日本エスエルシー(株)実験動物福祉規定の改訂を飼養保管基準の内容と整合性を図った。動物実験審査委員会規定を変更し動物実験計画分類のSCAWの基準と整合性を図った。動物実験計画承認書の原本は事務局保管とした等の報告を日動協に行った。続いて平成21年11月には 第二期実験動物生産施設等福祉調査を中伊豆支所と大原支所を受けた。いずれも調査方法手順は引佐支所、春野支所で実施した方法で行われ日報・週報などを一部変更し実際の飼育管理作業が把握できる内容に改善するよう指導・助言を頂いた。

今年になり日動協指針の改定と福祉推進の手引きの全面改訂が行われ、改定に基づき福祉調査で指摘されていた事項も含め「実験動物福祉規定の改訂」「動物実験審査委員会規定の改訂」を再度実施した。

社内福祉調査は第三回目に基本調査形式をつくりあげた以降はそれに基づき第四回目、第五回目と毎年実施している。社内調査は日動協福祉調査時の指摘を受けた規定の改訂と改善状況を確認し、指針改訂に伴う実施状況を各部署について行っている。

### 「終わりに」

日本エスエルシー(株)の実験動物への福祉体制は日動協の福祉指針を受けての社内整備から始まり模擬調査や第二期調査で外部機関からの指導・助言を受けることで改善されてきました。飼養保管基準の内容との整合性を図りつつ管理部分の責任体制

の明確化を規定し福祉委員会の組織体系を図りました。それを規定した「日本エスエルシー(株)実験動物福祉規定」「日本エスエルシー(株)実験動物福祉委員会規定」「日本エスエルシー(株)動物実験審査委員会規定」の制定を第三者評価調査の指導・助言を受けて進めてきました。

社内の実験動物福祉体制は社内組織に重点を置くと不備な部分もあり改善不足になりやすいのでやはり第三者機関による調査の必要性は不可欠であると調査を受けての実感です。

現場で担当している社員一人一人には動物福祉憲章の理念や「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」の内容を理解して動物の取り扱いや手技を行うことの重要性はより深く理解されたと思います。教育訓練も評価調査を受けてからは、関連法令、日動協指針、ガイドライン等の教育を全社で定期的実施することで動物福祉にたった生産管理をより一層推進したと感じています。

終わりに第三者評価調査を受けたことで社員が動物福祉について認識して作業にあたるようになりました。供給している動物に関しては品質管理、輸送管理等の作業手順、管理基準も動物福祉を理解した納品を心がけようになり問題意識が高まったと思います。しかし出荷動物の品質に関しては外観検査で不良とされた動物の取り扱いが問題になっています動物福祉を意識した場合になんとかならないものかと考えさせられます。



# 大学等における動物実験に関する相互検証を受けて

京都府立医科大学大学院医学研究科  
実験動物センター 教授 喜多正和

平成18年、動物実験が適正に実施されるため、文部科学省、厚生労働省および農林水産省からそれぞれ基本指針が告示され、その基本指針には、動物実験の実施体制が基本指針に適合していることを自己点検・評価し、外部の者による検証に努めることが規定されている。そこで、外部検証として現在、文部科学省管轄の大学および研究所に対しては、国立大学動物実験施設協議会(国動協)及び公私立大学実験動物施設協議会(公私動協)が相互検証委員会を立ち上げ「動物実験に関する相互検証プログラム」を実施しており、厚生労働省管轄の製薬企業および研究所に対しては、ヒューマンサイエンス財団が動物実験施設の認証を、農林水産省管轄の企業に対しては、(社)日本実験動物協会が実験動物生産施設の動物福祉調査を実施している。

本稿では、国立大学動物実験施設協議会(国動協)及び公私立大学実験動物施設協議会(公私動協)が実施している「動物実験に関する相互検証プログラム」の概略、ならびに相互検証を受けた経緯や結果などについて概説する。

## 1. 動物実験に関する相互検証プログラム

動物実験は、「動物の愛護及び管理に関する法律(法律第105号 最終改正、平成17年6月22日)」、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関

する基準(環境省告示第88号 平成18年4月28日)」等の関係法令を遵守すると共に、文部科学省の所管する大学、研究機関等においては「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針(以下、基本指針という)(文部科学省告示第71号 平成18年6月1日)」に基づき、機関の長の責任において適正に実施されなければならない。

また、基本指針には、動物実験の実施体制が基本指針に適合していることを自己点検・評価し、外部の者による検証に努めることが規定されている。検証は各大学等の長の責任において実施するものであり、個別に外部委員を委嘱して検証を受ける方法、外部団体に依頼して専門家による検証を受ける方法、近隣の大学等が相互に検証を行う方法等、いろいろな方法が考えられる。

国立大学動物実験施設協議会(国動協)及び公私立大学実験動物施設協議会(公私動協)は、各機関が行う自己点検・評価、外部検証の円滑な実施を支援するとともに、検証プロセスの透明性と公正性を確保し、社会的な理解の下での動物実験の適正な実施とそれによる学術研究の発展に資するため、大学等における動物実験に関する相互検証プログラムを公表している([http://www.kokudoukyou.org/ken-syou/iken\\_bosyu.html](http://www.kokudoukyou.org/ken-syou/iken_bosyu.html))。相互検証実施体制を図1に示したが、基本的に2~3名の専門委員からなる調査チームによる書面調査と訪問調査が

実施される。

大学等における動物実験に関する相互検証プログラムの基本方針は以下の通りであり、その実施要領の詳細については上記URLを参照して頂きたい。

1)文科省基本指針を受け、各機関が行う自己点検・評価の結果を検証する。

各大学等の自己点検・評価を踏まえ、実験動物あるいは動物実験に関する経験と見識を持つ専門家によるピアレビューとして検証を行う。個別調査を行う専門委員は、大学等の規模や研究分野に見合った組織や体制とその実効性を、自己点検・評価報告書等の資料や関係者のヒアリング等をもとに検証し、段階的な向上をめざす助言を行う。

2)検証プロセスの透明性と公正性を確保する。

各機関において行う自己点検・評価および本プログラムで行う検証は、各機関における動物実験の実施体制の適正性を社会的に担保するため、透明性と公正性が求められる。個別の調査を担当する専門委員に対しては、共通理解の下で評価が行えるよう、評価の目的や内容について十分な研修を行うことにより、公正性を確保する。また、透明性の確保のため、自己点検・評価および検証のプロセスや評価基準等について公表し、さらに、検証結果を確定する前に、当該機関から意見の申立てを受ける機会を設ける。

3)制度自体の点検と評価により、第三者評価制度の構築を目指す。

本制度自体の点検・評価を行うとともに、他団体が行う同様の制度との連携を図り、わが国における動物実験の第三者評価制度の構築に貢献することを目指す。

## 2、動物実験に関する相互検証を受けて

平成18年の文部科学省基本指針の告示を受け、本学では平成18年12月に「京都府立医科大学動物実験規程」を作成、平成19年2月に教授会で承認され、平成19年4月に施行した。平成19年度は新しく施行した「京都府立医科大学動物実験規程」の周知期間として、学内説明会を7回開催し、「動物の愛護及び管理に関する法律の一部を改正する法律」、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」、「日本学術会議が作成した動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」及び動物実験にかかわるその他の法規を動物実験実施者ならびに動物実験責任者等に周知徹底させた。

平成21年度から、国立大学動物実験施設協議会(国動協)及び公私立大学実験動物施設協議会(公私動協)は、文部科学省告示「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針(基本指針)」の規定に基づき、各機関が行う自己点検・評価、外部検証の円滑な実施を支援するとともに、検証プロセスの透明性と公正性を確保し、社会的な理解の下での動物実験の適正な実施とそれによる学術研究の発展に資するため、「動物実験に関する相互検証プログラム」を実施した。そこで、本学においては平成21年5月に「京都府立医科大学動物実験規程」に

則して平成20年度の「動物実験に関する自己点検・評価」を実施し、「動物実験に関する相互検証プログラム」による検証申請を行い、平成21年9月に訪問調査を受けた。訪問調査は2名の調査員により実施され、本学においては動物実験委員会委員長、実験動物センター部門長ならびに事務職員3名が対応にあたった。訪問調査の所用時間は施設の視察を含め合計4時間であったが、ほとんど休憩もなく内容的には非常に密度の高いものであった。本学の訪問調査スケジュール(表1)ならびに本学が準備した訪問調査資料リスト(表2)を掲載しておくので、参考になれば幸いである。

また、平成22年2月にすでに検証申請に対する検証結果を受領している(図2)。検証委員会から通知された「動物実験に関する検証結果報告書」の中で、本学に対する検証の総評は以下の通りであった。

医学系の大学として、医学研究や学生教育に必要な動物実験の管理体制がよく整備され、適正に動物実験が実施されている。  
特に、実験動物の飼育が中央的

施設である実験動物センターに集約されており、実験動物管理者や専任の飼育担当者が配置され、動物の健康管理や施設の衛生管理が行き届いている。これらの教職員のほとんどが実験動物の管理に関わる専門的資格の保有者であることも高く評価できる。施設や設備の日常的な保守点検や維持管理の状況も良好であり、現時点で問題となる点は見当たらない。今後も、動物実験の良好な体制を維持されたい。

今回、公立大学動物実験施設としては初めて相互検証を受けてみて、事務的な準備の煩雑さはあったものの、それ以上に得るものの方が大きかったように思う。特に、これまで実施したことがなかった自己点検により、学内で不足している書類などの存在が明らかとなり、改善することができた点をもっと良かったことだと感じている。今後、各大学においては速やかに「動物実験に関する自己点検・評価」を実施し、「動物実験に関する相互検証プログラム」による検証を受けてもらいたい。

## 相互検証の実施体制

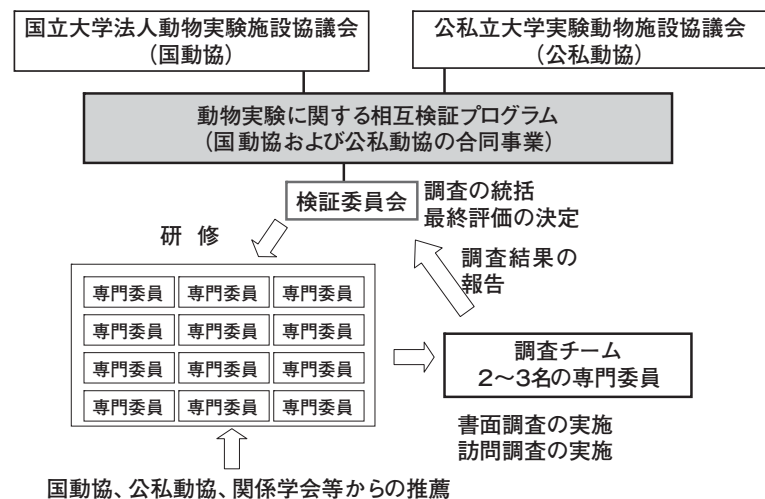


図1、相互検証の実施体制

# 「実験動物福祉に関する第三者評価を受けて」



図2、動物実験に関する検証結果報告書

## 「表1、 「動物実験に関する相互検証プログラム」訪問調査スケジュール」

日時： 平成21年9月18日(金)13時～17時(予定)  
 場所： 京都府立医科大学 基礎医学学舎5階 第9会議室  
 調査員： 八神 健一 教授(筑波大学大学院人間総合科学研究科):  
 主査  
 片平 清昭 准教授(福島県立医科大学医学部附属実験動物  
 研究施設)

大学の対応者： 木村 實 動物実験委員会委員長(研究部長)  
 喜多 正和 動物実験委員会委員(実験動物センター部門長)

見学予定施設： 中央研究室実験動物センター

日程  
 13:00～13:30 現況調査票および自己点検・評価報告書による概要説明  
 13:30～14:30 資料の説明・ヒアリング  
 14:30～15:00 資料の内容確認(調査員のみで実施)  
 15:00～15:30 ヒアリング  
 15:30～16:30 施設の視察  
 16:30～17:00 質疑、総評

## 「表2、「動物実験に関する相互検証プログラム」訪問調査における資料リスト」

番号	自己点検の対象とした資料	備考
1	京都府立医科大学動物実験規程	
2	京都府立医科大学動物実験委員会規程	
3	「計画書などの様式〔①動物実験計画書(別記第1号様式)、 ②動物実験結果報告書(別記第2号様式)〕」	
4	「動物実験計画書の審査要領 〔①年度を越えて継続する動物実験計画の審査について、 ②動物実験計画書作成上の注意事項〕」	
5	京都府立医科大学遺伝子組換え実験安全管理規程	
6	京都府立医科大学感染性廃棄物管理規程	
7	京都府立医科大学バイオセーフティ委員会規程	
8	国立感染症研究所病原体等安全管理規程	別冊
9	感染動物実験における安全対策	別冊
10	動物実験施設等で使用する有害化学物質の取り扱いについて	「22」の中に添付
11	「動物実験施設等における負傷、疾病への対応について」	「22」の中に添付
12	動物実験施設における災害対策マニュアル	「22」の中に添付
13	飼養保管施設設置承認申請書一覧表	
14	飼養保管施設設置承認申請書	別冊「平成19年度動物実験等審査」
15	視察報告書〔平成18年度第12回動物実験委員会・会議報告書〕	別冊「平成18年度動物実験委員会」
16	動物実験委員会委員名簿	「動物実験に関する現況調査票」2頁
17	委員会議事録〔会議報告書〕	別冊「平成19年度・平成20年度動物実験委員会」
18	「平成20年度動物実験計画一覧〔①小動物、②中・大動物〕」	
19	動物実験結果報告書及び経過報告の集計結果	別冊「平成20年度動物実験等審査」
20	平成19年業績集特報	別冊
21	「平成20年度安全管理を要する動物実験(遺伝子組換え実験、 病原微生物使用実験、毒物・発癌物質投与実験、RI使用実験) ごとの動物実験計画一覧」	
22	実験動物の飼養保管マニュアル	「10」「11」「12」を含む。
23	実験動物飼養管理業務日誌	別冊
24	中央研究室実験動物センター利用講習会資料	別冊
25	実験動物講習会スライド	
26	「大学院医学研究科講義概要〔①博士課程、②修士課程〕」	
27	講習会実施記録〔講習会出席者名簿〕	
28	京都府立医科大学ホームページ	
29	その他	別冊

# 動物実験実施施設の第三者評価を受けて

## HS財団動物実験実施施設認証センターによる外部評価・検証

エーザイ株式会社  
佐神 文郎

### 1. はじめに

2005年に改正された「動物の愛護及び管理に関する法律（動物愛護法）」に、動物実験における3R（Replacement、Reduction、Refinement）の国際原則が明文化され、翌年、改正動物愛護法の施行と同時に、厚生労働省（厚労省）等の「動物実験に関する基本指針」や日本学術会議の「ガイドライン」が発出された。日本学術会議の提言（2004年）による、これらのガイドラインの実効を担保するための動物実験実施施設の第三者評価制度が検討され、厚労省関係では、財団法人ヒューマンサイエンス振興財団（HS財団）の動物実験実施施設認証センター（HS財団認証センター）による認証制度が2008年にスタートした。

弊社においても独自に整備してきた動物福祉に配慮した適正な動物実験の申請・承認制度の見直しと第三者による評価を目的に、2008年12月にHS財団認証センターによる認証評価を申請、2009年1月の実地調査を経て、2009年3月に認証の認定を受領した。本稿においては、弊社におけるHS財団の認証評価への取り組みを紹介し、今後当財団の認証評価を予定されている方々のご参考にしていただければ幸いである。

### 2. HS財団の認証評価申請への経緯

2008年HS財団認証センターの設

立を受けて、弊社においては、以下の目的で当財団の認証評価を申請することとなった。

- ・動愛法や飼養保管基準、厚労省基本指針等に対し、自主管理により実施している動物実験の実施に関する制度や施設について第三者の客観的な評価を受けること。
- ・認証申請に向けての、動物実験の規制・ガイドライン等への適応状況について総合的なチェックと改善対応を行う。
- ・認証取得に向けての動物実験実施者の動物福祉への意識の普及啓発。そのための準備として、2008年4月より、関連規制への対応状況について、厚労省基本指針を中心に、課題と対応を検討し、課題への対応策の実施を決定し、2008年末にHS財団への申請を目標とした。

### 3. 申請までの準備

申請に当たっては、まず現状制度や施設の見直しを実施した。そのために動物実験の適正化の推進とHS財団による認証評価への対応を目的に動物実験委員会とは別組織として、社内各組織の委員による動物実験適正化推進連絡会を設置して（2008年4月）、現状制度や施設の見直しを実施した。

その結果、現状制度について、厚労省基本指針への適合性について検討し、以下の課題が確認された。

- ・動物実験計画の承認が実施機関長ではなく、委員長（委員）である。
- ・苦痛度のカテゴリーB、Cと判断される動物実験計画の審査・承認は、1名の委員会委員による審査・承認とされていた。なお、施設については、見直しの結果特に課題は認められなかった。これらの課題に対し、以下の対応を実施した。
- ・動物実験計画の承認者の見直し  
委員長（委員）による承認を実施機関長（代行者）とする。
- ・動物実験計画の審査・承認方法の見直し  
苦痛度のカテゴリーDと判断される動物実験計画は、委員全員による審査と委員長による承認を行っていたが、カテゴリーB、Cと判断される動物実験計画の審査・承認は、1名の委員会委員により審査・承認が実施されていた。見直しにあたっては、委員会委員全員の審査を原則とすることとした。審査は、類似の実験計画を基本計画としてまとめ、基本計画の審査を委員会による定期的な事前審査と随時申請を受け付ける追加審査とした。基本計画の承認後、個々の実験は、承認された基本計画に実験開始日などを網羅した具体的な個別実験計画として申請され、委員会委員（主に自組織委員）による、基本計画からの逸脱等の有無の確認の上、許可されることとした。

- ・上記対応に基づく動物実験申請承認システムの改善を実施し、2008年10月より改善システムの稼働を開始した。

#### 4. 申請書の提出

HS財団の認証評価の手順を表1に示した。

表1 申請書から認証取得までの手順

- |                 |                |
|-----------------|----------------|
| 1. 申請資料作成       | 8. (評価委員会開催)   |
| 2. 申請資料提出       | 9. 評価結果の報告と認定  |
| 3. 実地調査時の事前提出資料 | 10. 公表の確認      |
| 4. 実地調査         | 11. 登録料の振込み    |
| 5. (評価委員会開催)    | 12. 認定証の発行     |
| 6. 実地調査報告書案の送付  | 13. HS財団HPへの公表 |
| 7. 実地調査報告書案への回答 |                |

申請書の作成にあたっては、改善した新システムを基にした、動物実験申請・承認制度の自己点検評価を実施し、表2に示す申請書類の作成を行った(2008年11月より)。

表2 申請資料の作成

- 動物実験実施施設認証申請書(様式1)  
 施設の名称: 対象となる施設名称  
 施設の所在地: 施設の住所  
 動物飼育区域の総面積: 別紙 施設情報5より  
 申請者: 役職と氏名 捺印  
 担当連絡先: 所属・氏名・連絡先、申請窓口
- 別紙 施設情報
- 施設情報 調査を受ける範囲  
 図面に範囲を明示して添付  
 弊社においては、安全性試験施設を除く施設の認証評価を依頼した。
- 施設情報 調査を受ける区域の床面積  
 調査を受ける区域の施設名と飼養保管区域のみ床面積を記載  
 (別紙の記載例にこだわらない。施設の説明し易い分類で可)  
 調査を受ける区域の床面積は、1000㎡を超える施設として申請。
- 施設情報 機関内規程又は動物実験に係るフローチャート写し機関内規程のコピーとフローチャートを添付
- 自己評価報告書  
 自己評価報告書は、その対応状況について、自己点検を行った結果、いずれも問題となる点検結果は確認されなかった。

以上の申請書類を作成し、2008年12月8日にHS財団認証センターに提出した。

#### 5. 実地調査

申請後、実地調査までには、表3に示す手順により、実地調査日が決定し、実地調査が実施された。なお、各対応の時期は弊社の事例であり、申請施設、評価委員等の都合により異なっている。

表3 実地調査日の決定と実地調査実施要領

- 実地調査日の決定(申請後3週)  
 実地調査実施要領と秘密保持契約書案  
 秘密保持契約書締結(発効日: 申請日)
- 評価手数料請求書(申請後5週)
- 実地調査資料の送付(申請後6週、実地調査1週前)
- 実地調査(申請後7週)

実地調査は、2009年1月19、20日の2日間、2名の調査員とオブザーバー1名（H S財団認証センター事務局）で実施された（表4参照）。

**表4 実地調査の概要**

1. 目的
 

事前提出資料（自己評価報告書等）による書面調査で未確認、及び確認すべき調査事項について調査し、その時点での調査結果について申請者との意見交換を行う。
2. 実施日と体制等
  - ・ 自己評価結果、施設の規模、実験動物の種類等を勘察し、事務局と申請者間で調整
  - ・ 原則2名2日間（施設の規模、実施している動物試験の種類及び件数により変動）
3. 実地調査実施日の調整時まで
  - ・ 認証評価員の立入り可能な動物実験の実施予定（実地調査希望時前後に限定）
  - ・ 動物実験の実施に関連する組織図又は役割分担等に関する資料
4. 実地調査実施日の1ヶ月前まで
  - ・ 自己評価資料
  - ・ 機関内規程及びその付属文書（標準業務手順書（SOP）も含む）文書名及び制定・改定年月を記載した一覧表
  - ・ 動物実験委員会の委員名簿（職名の記載があるもの）
  - ・ 動物実験計画申請関係様式（白紙又は秘密事項黒塗り資料）
  - ・ 動物実験の実施に関して、動物管理部門と実験実施者との間で役割分担がされている場合には、その役割分担についての説明資料
5. 実地調査の実施スケジュール
  - ・ 動物実験実施・管理に係る組織及び動物実験実施状況の概況説明(実施機関の長、動物実験管理責任者等)(30分・時間厳守)
  - ・ 動物実験に関する組織規定、動物実験委員会の活動状況に関する書面等の確認（動物実験委員会委員長及び動物実験管理担当者、遺伝子組み換え動物を飼養保管している場合には当該委員会委員長も当該事項の確認時に同席）
  - ・ 実験施設の確認及び実施中試験の確認（ラボツアー）
  - ・ 動物実験の管理に関する責任者（調査前に提出いただく組織図等により、事前に面談者についての調整を実施します）との個別面談
  - ・ 動物実験委員会委員長との個別面談
  - ・ 実施機関の長との個別面談
  - ・ 関係者への実地調査結果（暫定）の説明及び意見聴取

実地調査当日のスケジュールは、表5に示した。初日の午前中の動物実験実施・管理に係る組織及び動物実験実施状況の概況説明と動物実験に関する組織規定、動物実験委員会の活動状況に関する書面等の確認が重要であり、評価結果報告書に誤解を生じないように十分な準備と配慮が必要である。

ラボツアーは、動物飼育施設は、時間の都合で一部調査できない施設もあったが、代表される施設はほぼ網羅した。また、動物実験の実施の現場も調査が行われた。

**表5 実地調査当日の実施スケジュール**

(1日目)	
10:00	評価員到着
10:00～10:30	動物実験実施・管理に係る組織及び動物実験実施状況の概況説明
10:30～12:00	動物実験に関する組織規定、動物実験委員会の活動状況に関する書面等の確認(動物実験委員会委員長及び動物実験管理担当者、遺伝子組み換え実験委員会委員長も当該事項の確認時に同席)
13:00～16:00	実験施設の確認及び実施中試験の確認(ラボツアー)
16:00～17:00	実施機関長、委員長との面談
実際は、委員長30分の後、実施機関長60分であった。	
(2日目)	
10:00	評価員到着
10:00～12:00	実験施設の確認及び実施中試験の確認(ラボツアー)
13:00～15:00	実験施設の確認及び実施中試験の確認(ラボツアー)
15:00～16:00	評価員の打合せ
16:00～17:00	関係者への実地調査結果(暫定)の説明及び意見聴取

実地調査時に準備する資料を表6に示したが、説明用の資料と評価員が確認する記録等との紐付けも調査の円滑な進行に重要である。

表6 実地調査時準備する資料

- ・実施機関の長の代行者が指名されている場合にはその職務範囲・任命の事実を示す書類
  - ・機関内規程及びその付属文書(標準業務手順書(SOP)も含む)
  - ・動物実験計画の申請・承認関係書類
  - ・動物実験結果の機関の長への報告関係書類
  - ・必要に応じ行われた改善措置の記録(該当する事実がない場合は様式等)
  - ・動物実験委員会委員の任命の記録
  - ・動物実験委員会の審査記録(議事要旨等)
  - ・機関の長への報告の実施記録
  - ・教育訓練の実施記録(他の教育訓練に包含して実施されている場合はその記録)
  - ・自己点検・評価の実施記録(該当する事実がない場合は今後の予定等)
  - ・自己点検・評価結果の公開の記録(該当する事実がない場合は今後の予定等)
  - ・外部委託に係る確認の記録(該当する事実がない場合は今後の予定等)
  - ・飼育管理の方法の手順および実施に関する記録
  - ・動物の受入・使用等の記録等
  - ・調査記録用紙等の準備
- 動物実験実施区域内への調査記録用紙及び筆記具(鉛筆)の持ち込み を可能とするため、必要書類(ラボツアーチェック用紙等)を事前に送付(滅菌等の処理)

## 6. 評価結果の概要

評価結果は、まず評価結果報告書案として施設側提示され(2009年2月)、施設側のコメント(回答)を踏まえ、最終的な評価結果報告書として施設に送付された(2009年3月)

評価結果は、「適合」であった。

評価報告書案および評価報告書からの主な指摘事項は以下の通り。

- ・実施機関の長が行う動物実験計画の承認の代行者と結果の把握の代行者が異なる。
- ・動物実験委員会において、動物実験計画が厚労省基本指針及び機関内規程に示されている3Rsに関して十分な評価を行うためには動物実験基本計画の段階で審査する内容(例えば使用数の根拠等)を更に充実する必要がある。
- ・個別実験計画の内容について、「委員会」委員による確認については、委員会の審査の一環とも認められたが、その後に機関長代行者による承認がされておらず必要。
- ・動物実験委員会の審査を行う委員について、実験実施者の所属する

部署の委員以外が担当すること。

- ・実験室に動物を持ち込んで実施する場合には、逸走防止策について検討すること。

## 7. 評価後の対応

今回の評価結果では、動物実験の適正な実施に関して、基本的な体制・制度は整備されており、「適合」の認定を得た。しかし、幾つかの指摘事項があり、この点については、現在、新たな動物実験の申請・審査・承認・報告システムを整備し、まもなく運用を開始する。

今後は、この運用状況を含めて、HS財団による改善された動物実験の申請・審査・承認・報告システムの確認を得る予定である。

## 8. おわりに

自主管理として、独自に整備してきた動物実験の実施システムについて、第三者の客観的な目で評価が得られたことは非常に大きいと考える。

今回のHS財団の認証評価を受けるにあたっては、準備段階より動物

実験実施者の動物実験の適正化への取り組みが一段と進み、事前の自己点検評価においては、幾つかの改善点も確認された。さらに、HS財団の認証評価において、さらなる改善点も指摘され、より適正な動物実験の実施システムの構築する機会となったことは、弊社の動物実験の実施運用体制の充実に大きく貢献できた。

今後、HS財団の認証評価を受ける企業にあっては、自己点検評価結果に基づき、基本的な事項への逸脱事例がなければ、1日も早く、評価を受けられることをおすすめする。特に、昨年創設された相談制度を利用されるのも一案であろう。

本制度や他の第三者評価(外部検証)制度により、わが国の適正な動物実験の自主管理が一段と進み、これらの制度が国際的な認証機関であるAAALACインターナショナルを含めた、評価基準等のレベリングにより、広く普及することを期待している。

## 実験動物の福祉に関する第三者評価システムに望むこと

国立感染症研究所 動物管理室室長  
山田靖子

### はじめに

「動物の愛護及び管理に関する法律」(動愛法)は平成17年に改正され、平成18年に施行された。施行に向けて、環境省は「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成18年4月28日)、文部科学省、厚生労働省、農林水産省はそれぞれ個別の「動物実験等の実施に関する基本指針」を制定した(平成18年6月1日)。また、同日、日本学術会議が省庁共通の「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」を策定した。これらの経緯は実験動物界ではすでに十分に周知されている。

この改正の約1年前(平成16年7月15日)に、日本学術会議第7部から「動物実験に対する社会的理解を促進するために」という提言が出されている。提言には2つの重要なポイントがあり、一つが「統一ガイドラインの制定」、もう一つが「研究機関の自主管理を第三者的立場から評価する機構の設置」であった。「統一ガイドラインの制定」は改正動愛法の施行にあわせて提示されたが、「研究機関の自主管理を第三者的立場から評価する機構の設置」は、ここで述べるようにまだ定まった方向が見えていない。

### 3つの「動物実験等の実施に関する基本指針」

前述のように、文部科学省、厚生労働省、農林水産省はそれぞれが個別の基本指針を制定した。3つの基本指針は概ね同じ内容であるが、自己点検及び評価、情報公開の部分で若干の相違がある。3つの基本指針の比較を図1に示す。動愛法には記載されなかったものの、第三者評価については2つの基本指針で触れられている。文科省と農水省が「当該研究機関等以外の者による検証に努めること」と、ほぼ同じ文面で第三者評価について記載しているのに対して、厚労省で

図1 3つの基本指針の相違

文科省	農水省	厚労省
第6その他-2 基本指針への適合性に関する自己点検・評価及び検証	第2実験機関の長の責務-6 点検及び評価並びに検証	第2実験機関の長の責務-7 自己点検及び評価
動物実験等の実施に関する透明性を確保するため	←同様の記載なし	←同様の記載なし
当該研究機関等以外の者による検証を実施することに努める	当該研究機関等以外の者による検証を実施することに努める	←同様の記載なし
第6その他-3 情報公開	第2実験機関の長の責務-7 情報公開	第2実験機関の長の責務-8 動物実験等に関する情報公開
動物実験等に関する情報(例:機関内規程、動物実験等に関する点検及び評価、当該研究機関等以外の者による検証の結果、実験動物の飼養及び保管の状況等)を、毎年1回程度、インターネットの利用、年報の配付その他の適切な方法により公表	動物実験等に関する情報(例えば:機関内規程、動物実験等に関する点検及び評価、当該研究機関等以外の者による検証の結果、実験動物の飼養及び保管の状況等)について、毎年度、インターネットの利用、年報の配付その他の適切な方法により公表	機関内規程及び7の規定に基づく点検及び評価の結果等について、適切な方法により公開



図2 4つの第三者評価機構

第三者評価機構名	評価の基準	評価の名称
日本実験動物協会 (実験動物生産施設等福祉調査)	農水省基本指針	4段階評価
国立大学法人動物実験施設協議会 公私立大学実験動物施設協議会	文科省基本指針	相互検証
ヒューマンサイエンス振興財団 動物実験実施施設認証センター	厚労省基本指針	認定
AAALAC International (国際実験動物管理公認協会)	Guide for the Care and Use of Laboratory Animals	認証

はこの文言がないこと、また情報公開の具体的な内容と方法が明記されていない。

また、3つの基本指針には対象とする動物実験実施機関が明記されているが、それぞれの省庁が所管する機関に限られている。国内にはこの3つの基本指針が適用されない動物実験実施機関が多数存在する。そのような機関では日本学術会議が策定した「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」を参考とすることになる。

#### 4つの第三者評価機構と その特徴

現在、国内で実施されている第三者評価機構は4つ存在する(図2)。日本実験動物協会(日動協)の動物福祉調査は、農水省基本指針に基づいて、日動協に所属する実験動物のブリーダーや受託機関を対象とする。ブリーダーは販売のための繁殖が主体であり、研究機関の動物実験

とはかなり異なった視点での第三者評価が要求される。国立大学法人動物実験施設協議会・公私立大学実験動物施設協議会(国動協・公私動協)の相互検証は、文科省基本指針に基づいて、国動協・公私動協に所属する大学が対象となる。大学には動物センターのような大規模な共同利用施設と、学内に散在する小規模な動物実験施設があり、その双方を含めて評価する難しさがある。厚労省基本指針には外部検証の記述がないが、ヒューマンサイエンス振興財団動物実験実施施設認証センター(HS財団認証センター)が厚労省基本指針に基づいて、主に製薬業、受託試験機関などを対象としている。企業では部外秘の情報部分が含まれ、また定型的試験の繰り返しが多いこと、などが挙げられるとともに、対象機関の多くが経験している薬事法のGLPとの相違を明確にすることが必要である。AAALAC Internationalは

国際的な動物実験の認証機構である。英語での対応、通訳の手配などが必要となることと、国際的な基準が要求される。

#### 第三者評価の質

第三者評価を行なうにあたって、「ぶれない」評価が求められるのは当然であろう。評価が「ぶれない」ためには、調査及び評価の基準が明確であること、調査及び評価に関わる人員の質が確かであること、が必須と思われる。その点、AAALACは「Guide for the Care and Use of Laboratory Animals」(2010年改正)を基準とすることが明確であり、また実績が長いので人員の質も確保されていると思われる。国内の3つの第三者評価機構は、まだ発足して日が浅いので、調査・評価時のチェックリストを作成するなど、「ぶれない」努力をしている。しかし、国内に明確な外部評価のガイドラインが存在しないので、どこまで踏

み込むか、調査及び評価の根拠が乏しい。また、人員の質について、発足当初は十分な見解を持った調査員が調査に当たることができるとしても、調査希望の施設が増加した場合の調査員の質の確保は第三者評価機構ごとにまだまだ模索中と思われる。

### ■ 評価を受けるための経費

経費は第三者評価を受ける側には大きな関心事である。筆者はそれぞれの第三者評価機構の台所を知るわけではないので想像の域を出ないが、2つのタイプに分類できると考える。国動協・公私動協の相互検証、日動協の動物福祉調査は調査を受ける動物実験実施施設がそれぞれの組織に加入して、組織に会費等を納入している。そのため、実費以外は組織の運営費からある程度補填されると思われる。一方、HS財団認証センターとAAALACは実費に加えて、組織の運営及び第三者評価の過程に関わる様々な経費が評価を受ける際の料金に含まれるため、おのずと高額になる。AAALACは調査時だけでなく、認証を受けた後の年間維持費も必要である。

### ■ 評価対象の動物実験実施施設

国内には現在3つの第三者評価機構があるが、最も問題となるのは評価対象とする動物実験実施施設に限られる、ということ

であろう。日本国内の動物実験施設は多種多様である。文科省、厚労省、農水省の管轄下にはない動物実験施設は、多数存在する。その規模も大きさまでである。

現状では、国内の第三者評価機構の評価対象でない施設は、AAALACの評価を受けるか、そうでなければ第三者評価を受けすべがない。また、同じ省庁の中であっても、現在行なわれている第三者評価の対象にそぐわない施設もある。例えば、日動協の福祉調査は日動協会員を対象としているので、農水省管轄のすべての施設を対象としていない。HS財団の認証は製薬業など企業をメインの対象とするので、研究機関や病院にはなじみにくい。

### ■ 終わりに

なぜ、動物実験の基本的な倫理は同一であるのに、国内に学術会議のガイドラインを含めれば4つも基本指針ができたのであろうか？また、なぜ、国内の第三者評価機構がそれと呼応するように3つも存在するのか？筆者は素朴な疑問を感じる。

筆者は、国立研究機関の動物実験施設管理者であり、自施設でどのように動物福祉を実践していくのか、国内及び海外の情勢を収集しつつ、まだまだ模索中である。おそらく多くの動物実験施設が同じような悩みを感

じているだろう。第三者評価に関しても、多くの施設が自分の施設がどのように第三者評価を受けべきか、思案中であろうと想像する。

LABIO 21 No.41で、鍵山直子先生が国内の3つの第三者評価機構について、外部検証のあり方に関する包括的ガイドライン（アンブレラ・ガイドライン）の策定を提案されている。それに基づく第三者評価のあり方は今後の検討と結ばれている。筆者は、現存の3つの第三者評価機構の対象が限られた施設であることから、それぞれの機構で培った経験を相互に持ち寄り、国内のすべての動物実験施設が同じ基準で外部評価を受けられるよう、国内で統一した第三者評価機構が築かれることを望む。アンブレラ・ガイドラインの策定以上に難しい課題と想像されるが、実験動物関係者の総力を挙げて構築してもらいたい、と希望する。

動愛法は改正された平成17年から5年後に見直すことになっており、今年（平成22年）からその見直し作業が始まった。「実験動物の福祉」では届出制の検討（届出制又は登録制等の規制導入の検討）が課題として挙げられている。まだ方向性が見えていない第三者評価と検討が開始された届出制について、今後の動きに注目したい。

# ノーサンのバイオ技術

ノーサンは研究に携わる皆様のご要望を直接うかがい  
満足していただける商品とサービスをご提供し、  
研究のお手伝いを致します。

## FEED

### 実験動物用飼料

マウス・ラット・ハムスター用  
ウサギ用・モルモット用  
イヌ用・ネコ用・サル用

### 疾患モデル動物用飼料

### 放射線照射滅菌飼料

### 精製・添加飼料

### 昆虫用飼料

## ADME/TOX

### 薬物動態・毒性関連業務

薬物代謝関連試薬販売  
大腸菌発現系ヒトP450販売及び発現系を用いた受託試験  
ヒトP450抗体販売  
肝障害、腎障害マーカー販売

## ANIMAL

### 実験動物

ビーグル【Nosan:Beagle】生産販売  
ネコ【Narc:Catus】生産販売  
ミニブタ・ベビー豚 販売  
各種動物の血漿・血清販売

### 動物実験受託

マウス・ラットの系統維持・繁殖・供給  
動物飼育室・実験室の貸し出し  
受託試験【マウス・ラット・ハムスター・  
ウサギ・モルモット・イヌ・ネコ・ミニブタ・  
ニワトリ・ヒツジ・ヤギ・ブタ など】

### 遺伝子改変マウス作製

トランスジェニックマウス作製  
ノックアウトマウス作製  
遺伝子解析

## 日本農産工業株式会社 ライフテック 部

〒220-8146 横浜市西区みなとみらい 2-2-1 ランドマークタワー 46F  
TEL 045-224-3740 FAX 045-224-3737  
e-mail : bio@nosan.co.jp

## 口蹄疫はどのような疾病か

日本獣医生命科学大学  
客員教授 小河 孝

### はじめに

口蹄疫は、OIE(国際獣疫事務局;世界176の国と地域が加盟する動物衛生の国際組織、本部はパリ)が指定する国際的に最重要の家畜伝染病の一つで、主要な家畜である偶蹄類(牛、豚、綿羊、山羊、ラクダなど)が感染する。

また、本病は伝播力が早く、感染動物から排出されたウイルスは媒介物(畜産物、飼料、ワラ、畜産機材など)、人(畜産、獣医関係者など)および運搬手段(輸送車両など)を汚染し、それらに付着して急速にかつ広範に感染を拡大する。

2010年4月、この口蹄疫が宮崎県で10年ぶりに再発生した。7月4日まで292件の発生が確認され、防疫措置のため殺処分された家畜は27万頭余り(ワクチンを接種し、殺処分された家畜を含む)に達した。この口蹄疫の大流行は宮崎県の畜産のみならず、経済的、社会的に未曾有の被害を地域にもたらした。

小論は、口蹄疫について疫学的な視点から若干の解説をし、さらに宮崎県における本病の発生・流行について簡単にふれてみたい。

### 口蹄疫の特徴

口蹄疫は偶蹄類動物が感染する伝播力が非常に強いウイルス疾病である。その特徴は、突然の発熱(40~41℃)、元気消失、多量のよ

だれ(流涎)が観察され、さらに舌、口腔、鼻、唇、蹄の付け根、乳房の周辺など皮膚の軟らかな部位に水疱が形成される。やがて水疱は破れ、び爛を形成する。本病の死亡率は一般に低いが、水疱が破れた際、傷の痛みで摂食や歩行(栄養と運動)に障害をきたし、予後は不良となる。このことから畜産では乳量と産肉量の減少を起こすため、非常に大きな経済的損失を被る。

### 口蹄疫の病原体(ウイルス)

口蹄疫は、ピコルナウイルス科アフトウイルス属の口蹄疫ウイルスによって発生する。ヒトのポリオウイルスと同じ仲間であるが非常に小さく、エーテルやクロロホルムに耐性である。血清学的に7つのタイプ(O、A、C、Asia1、SAT-1、SAT-2、SAT-3型)に分かれる。互いに異なっているため、7種類の口蹄疫ウイルスが存在すると考えて差し支えない。また、血清型は、さらに64のサブタイプに分かれる。ウイルスのタイプ、サブタイプは時間の経過とともに変化するため、本病の流行毎に別のウイルスによる疾病が起こっていると考えるのもよい。

### 口蹄疫の地理的発生分布

図1に、2010年6月8日現在、世界における「口蹄疫発生状況」を示した。現在、ワクチン非接種清浄国は

62カ国で、そのうちヨーロッパが38カ国を占めている。一方、発生国は、アフリカ、中近東、アジア諸国がほとんどを占め、それ以外は南米のエクアドル、コロンビア、ベネズエラの3カ国である。日本は、これまでのワクチン非接種清浄国から2010年4月20日の発生で発生国となった。近隣の韓国、中国、台湾、香港はいずれも発生国である。

### 動物における感染経過

口蹄疫ウイルスは、気道から動物の体内に入り、咽頭部で増殖し、ウイルス血症を起こし体内に拡がる。主な増殖部位は、リンパ節、消化管、筋肉(心筋)、乳腺、皮膚、脾臓、脳下垂体などである。

### ウイルスの排出と体外での生存

口蹄疫ウイルスは、水疱に最も含まれるが、水疱出現の1-6日前に咽頭粘膜、血液、乳汁、膾粘膜、糞便に排出される。そのため、感染動物の存在する空気中に発症直前から大量の口蹄疫ウイルスが存在することになる。ウイルスは、空气中(エアロゾル状態)では、湿度が高い場合がより長く生存する。発生源として豚が最も長期間かつ大量のエアロゾルを発生させる。表1に「畜産物と副産物における口蹄疫ウイルスの生存期間および危険度」を示した。屠殺体の筋肉中



図1、世界の口蹄疫発生状況 (2010年6月8日現在) <農林水産省HPから引用>

は、酸ができる(pHが下がる)ためウイルスは急速に不活化されるが、血液、リンパ節、臓器、皮膚(生皮)では長期間にわたって生存する。

### ウイルスの伝播経路

家畜の伝染病の中で最も伝播力の強い疾病であり、発症(水疱形成)以前からウイルスが排出される。また、ウイルス血症を起こすことから感染動物の分泌物、排泄物が感染源となる。とくに、感染動物の生体、肉、臓器、骨、生皮、乳製品、ハム、ソーセージなどすべてが感染源となる(表1)。

さらに、表2に「媒介物や運搬手段における口蹄疫ウイルスの生存状態(時間と距離)および危険度」を示した。飼料や敷料は感染源となり、例えばフスマは20週間、ワラは4週間(夏季)と非常に危険であ

る。また、空気中に排出されたウイルスが塵(エアロゾル状態)と共に風に乗る場合、陸上で60km、海上で250km移動することもある。風による伝播が、フランスから英国へ、デンマークからスエーデンへの実例が知られている。

地域・国際間の伝播は、ウイルスに汚染した家畜、畜産物、媒介物、運搬手段などの移動および貿易・商業活動などによって生じる。

### ウイルスの宿主と感染に果たす役割

口蹄疫ウイルスは、偶蹄類を中心に、犬、猫、ネズミ、カンガルー、ハリネズミなど99種類が感染し(人工感染を含む)、感染源となる(アメリカ農務省のまとめ)。症状が出るのは、偶蹄類(家畜や鹿、イノシシなど40種)がほとんどで、犬や猫は

感染しにくく、かかっても症状は出ない。とくに、豚、鹿、リヤマ、ヒトとハリネズミ(機械的な伝播)、ダニ、サシバエの危険度が大きい。その中で、豚はウイルスの増幅動物、感染の供給・発生源および空気伝播に関連することで非常に危険な存在である。ダニとサシバエは、刺すことでウイルスを伝播し、また長期にわたってウイルスを保持するキャリアーとして危険である。例えば、イエバエは10週間、ダニは15~20週間、ウイルスが体内に残っていた。

### 2010年、宮崎県における発生・流行

2010年4月20日、宮崎県都農町で2000年3月以来10年ぶりに口蹄疫が発生した。発生農場から半径10kmの区域は家畜を動かさない移動制限区域、半径10km~20km

表1 畜産物と副産物における口蹄疫ウイルスの生存期間および危険度

畜産物と副産物	保存状態	生存期間	危険度カテゴリー
牛肉	チルド(4℃) 凍結 (-20℃)	3日 3か月	危険 非常に危険
舌 (牛)	凍結	11年	非常に危険
血液 (牛)	4℃	4か月	非常に危険
リンパ節 (牛)	1-4℃	120日	非常に危険
精液 (牛)	凍結	320日	非常に危険
骨髄 (牛)	1-4℃	30週	非常に危険
堆肥 (牛)	夏季 冬季	1週 24週	危険 非常に危険
豚肉	1-7℃ 凍結	1日以内 55日以上	危険 非常に危険
リンパ節 (豚)	1-7℃	10週	非常に危険
骨髄 (豚)	ショルダー・ハム中	169日	非常に危険
ポークソーセージ	1-7℃	4日	危険
生皮	4℃、塩蔵	4週~352日	非常に危険
ハム		16週	非常に危険
ベーコン	1-7℃	10日	危険

表2 媒介物や運搬手段における口蹄疫ウイルスの生存状態(時間と距離)および危険度

媒介物や運搬手段	条件	生存状態(時間と距離)	危険度カテゴリー
空気 風(湿度60%以上が ウイルスの生存率が 高い)	冬季および雨 陸上 海上	60分以上 60km 250km	危険 危険 危険
敷料(ワラ、オガクズ) 衣服	夏季 冬季	4週 9週 14週	非常に危険 非常に危険 非常に危険
飼料(フスマ) 乾草		20週 200日以上	非常に危険 非常に危険
包装物 靴・長靴	室温 夏季 冬季	46日 9週 14週	非常に危険 非常に危険 非常に危険
土	夏季 冬季	3-7日 21週	危険 非常に危険
水	室温 夏季・秋季	14週 15日	非常に危険 非常に危険

の区域は家畜を運び出せない搬出制限区域に指定され、感染家畜の摘発・淘汰による防疫対策が実施された。

しかし、感染は初発からまたた

くまに隣接する川南町の肉用牛農家に拡がり、さらに4月28日に豚における感染が初めて確認され、えびの市の肉用牛農場にも飛び火した。そして発生は5月の連休の間に

爆発的な流行状況となり、中旬以降は数日間隔で1日10件以上の発生が続き、高鍋町、西都市、木城町、新富町に感染が拡大した。

防疫対策は、飼養規模が大きい農場で殺処分・埋却措置の遅れが目立ち、摘発・淘汰方式で流行を効果的に抑制することが困難となった。そのため、防疫対策は従来の方法に加えて、5月22日から移動制限区域内の牛・豚を対象にFMD不活化ワクチン接種に踏み切った。5月末の累積発生数は276件、家畜の累積殺処分対象数は164,057頭に達した。

6月に入り、えびの市(発生4件)で発生が3週間認められなかったため、移動・搬出制限が解除(6月4日)となり、全体の発生件数と殺処分対象頭数も減少の兆しが見えてきた。しかし6月9日、都城市の肉用牛肥育農場で新たな発生が確認された。同市は肉用牛と豚の産出額が全国第1位、また畜産王国の鹿児島県に隣接し、家畜が密集する地域である。

その後、これまで感染がなかった宮崎市、日向市と国富町で発生が確認されたが、6月18日以降、7月4日に宮崎市で1件の発生が確認されただけで、流行は基本的に収束の方向に向かっている。図2と図3に、4月20日から1週間毎に要約した発生件数と家畜の殺処分対象頭数の推移を示した。

参考資料

1. 朝日新聞(2010・6・1): ニュースがわからん! 口蹄疫、本当に人は大丈夫なの?
2. 村上洋介(1997): 口蹄疫ウイルスとその病性について、山口獣医学雑誌、24、1-26.
3. 小河 孝(2010): 宮崎県における口蹄疫の発生・流行状況(6月14日現在)、獣疫学雑誌、14(1)、76-78.
4. USDA:APHIS:VS (1994): Foot-and-Mouth Disease: Source of Outbreaks and Hazard Categorization of Modes of Virus Transmission.

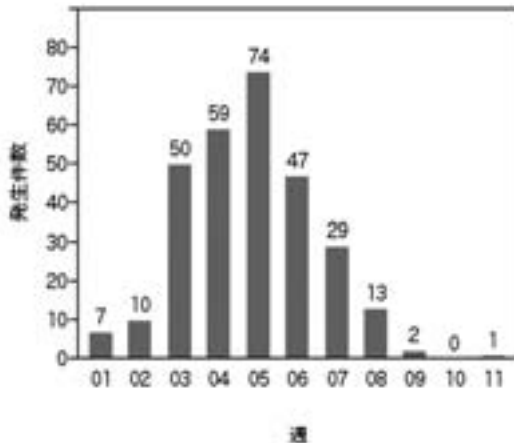


図2、宮崎県における口蹄疫の発生件数  
(4月20日から1週間毎に要約)

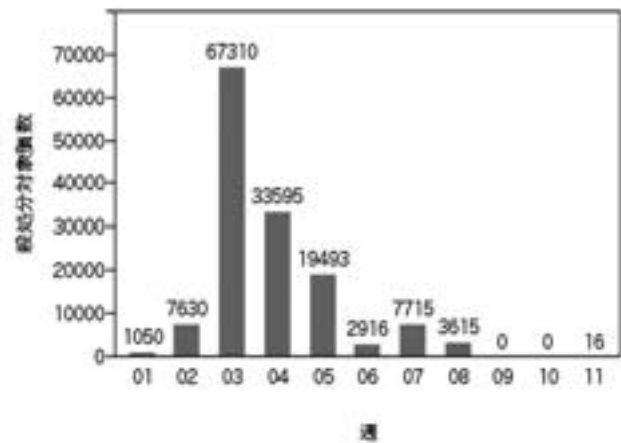


図3、宮崎県における口蹄疫の殺処分対象頭数  
(4月20日から1週間毎に要約)

## 時代の先端を目指す研究者へのサポート

**NAFO VANNY**

ベトナム・中国産 カニクイザル  
中国・米産 アカゲザル

**Harlan RCC**

Hannover Wistar Rat  
RccHan™ : WIST

**COVANCE**  
THE DEVELOPMENT SERVICES COMPANY  
Covance Research Products Inc.  
Cumberland, VA

CRP.VAビーグル  
CRP交雑犬  
CRPハウンド

◎預り飼育 ◎非GLP受託試験 ◎各種実験動物 ◎実験動物器具器材

**JLA** 株式会社 日本医科学動物資材研究所

〒179-0074 東京都練馬区春日町6丁目10番40号  
TEL. 03 (3990) 3303 FAX. 03 (3998) 2243  
URL: <http://www.jla-net.com/> E-Mail: [nikagaku@jla-net.com](mailto:nikagaku@jla-net.com)

# マウス肝炎ウイルス(MHV)に対する 抵抗性に関する研究

日本獣医生命科学大学獣医感染症学教室 教授 田口 文広  
国立感染症研究所動物管理室 研究官 平井(結城)明香

## はじめに

マウス肝炎ウイルス(MHV)は、マウスに急性、慢性の肝炎や脳脊髄炎を引き起こし疾病モデルとして研究されているが、一方、殆ど症状を引き起こさない不顕性感染が実験動物としてマウスを用いる場合の大きな問題であることも良く知られている(7)。成熟マウスは症状を示すことはないが、一旦感染すると不顕性感染が持続し、感染性ウイルスを排出し続け、マウスコロニー全体あるいは動物施設全体に感染拡大し、大きな問題となることはしばしば経験されている。このようなMHV汚染問題を解決する一手段として、我々はMHV抵抗性マウスの樹立を考えた。その基盤的研究として、MHVに対して抵抗性が高いとされるSJLマウスと他の感受性マウスのMHV感染に対する感受性/抵抗性機構を比較することにした。我々は、これらのマウスのMHV受容体に焦点を当て、マウスの交配実験や野生マウスの受容体遺伝子型と感受性などの研究を通し、最終的には受容体遺伝子置換マウスを遺伝子工学的手法により樹立して、解析を行ってきた。その結果、MHV受容体はMHV感受性を決定する主因子であるが、感受性/抵抗性は受容体

以外にも他の因子により影響を受ける可能性が示唆されている。本稿では、我々がこれまで行ってきた研究を紹介し、更に最近得られた研究成果と併せて、マウスのMHV感受性/抵抗性について考察したい。

## マウスのMHV感受性とMHV受容体

BALB/cを初めとして、C57BL/6(B6)、C3H、A/Jなど、実験動物として用いられているほとんどのマウス系統はMHVに対して感受性を示す。これに対して、SJLは明らかに多くのマウス系統と比べ高い抵抗性を示す(2, 11)。すなわち、BALB/cとSJL間で病原性MHV(MHV-JHMやMHV-A59など)に対するLD<sub>50</sub>に1000倍以上の差が認められる。我々が実験を開始した当初は、BALB/cとSJLの系統間にみられる感受性の差について、1)感受性は抵抗性に対して優性であること、2)感受性/抵抗性は1つの遺伝子により決定されること、また、3)その遺伝子は染色体7番目に存在すること(11)が分かっていた。しかし、その遺伝子が何であるのかは不明であった。

1987年にHolmesらは、感受性BALB/cのMHV標的組織である

肝細胞および小腸上皮細胞の細胞膜には、MHVと結合する蛋白質が存在するが、SJLは同様の蛋白質を持たないことを報告した(2)。彼らは、この蛋白質がMHV受容体であり、SJLは受容体を欠くために抵抗性を示すと考え、このMHV受容体の有無がマウスのMHV感受性を決めてしていると推測した。その後、この蛋白質をコードする遺伝子がクローニングされ、MHV受容体carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1(CEACAM1a)(以前はMHVRあるいはBgpと呼ばれていた)が同定された(4)。それから間もなくしてLaiとHolmesのラボから、SJLからCEACAM1aのallelic formである蛋白質CEACAM1bの遺伝子がクローニングされた(14, 3)。更に、これをMHV非感受性のCos7細胞で発現すると、MHVの受容体として機能することを報告した。Lai等は、CEACAM1aとCEACAM1bは同様にMHV受容体として機能するという実験結果から、BALB/cとSJLのMHV感受性の差はCEACAM1以外の他の宿主因子により決定されていると結論づけた。一方、Holmes達は、CEACAM1aとCEACAM1bの間に認められる小さなMHV受容体活性が



BALB/cとSJLのMHV感受性の差を説明する可能性を示唆した。その後、興味深いことに、*Ceacam1* 遺伝子は第7染色体上に位置することが報告された。BALB/cとSJLのMHV感受性を決定する遺伝子もまた第7染色体上に存在することから、我々は、マウスの感受性/抵抗性を決める遺伝子は*Ceacam1* 遺伝子そのものではないかと考え、この仮説を検証するためにこれまで研究を行ってきた。

## CEACAM1aとCEACAM1bのMHV受容体活性

我々は、まず、CEACAM1aとCEACAM1bのMHV受容体としての機能を詳細に検討するために、可溶性CEACAM1蛋白質を用いてウイルス結合能力を比較した。可溶性CEACAM1aは効率よくMHVを中和し、その中和活性はCEACAM1bと比べ約500倍高かった(10)。このことは、CEACAM1aはCEACAM1bと比べてウイルス結合能力が極めて高いことを示している。次に、Laiらによって報告されているように、両者が同程度にMHV受容体として機能するかを検討するために、CEACAM1aおよびCEACAM1bをMHV非感受性のBHK細胞に発現させ、MHVに対する感受性を比較した。両発現細胞ともMHVに感受性を示すようになったが、定量的に比較すると、CEACAM1a発現細胞ではCEACAM1b発現細胞と比べて約10~30倍高いMHV感受性を示した(10)。このことは、BALB/cマウス体内ではSJLの10~30倍効率よくMHVが感染することを示して

いる。マウスにウイルスを接種すると、ウイルスは感染細胞から隣接する細胞へと何度も感染を繰り返しながら増殖し、標的臓器内で感染を拡大していく。各々の感染においてもBALB/cマウスではSJLより10~30倍効率よくMHVが感染すること、MHVの複製時間は6時間と考え、1日の感染でのマウス体内でのウイルス増殖は $10^4$ 以上の差が生じることになり、ウイルス接種から数日間その差は極めて大きくなり、BALB/cとSJLのMHVに対する感受性の差(脳内接種後2~3日で $10^5$ 以上のウイルス力価の差)として現れることが推測され、実際の我々の研究でも予測された結果が得られた(9)。すなわち、我々は、BALB/cとSJLの感受性の差は、MHV受容体CEACAM1aとCEACAM1bの受容体活性の差により説明できると結論づけた。

さらに、我々は、感受性BALB/c(遺伝子型:*Ceacam1a/Cceacam1a*, *1a/1a*と略す)と抵抗性SJL(遺伝子型:*Ceacam1b/Cceacam1b*, *1b/1b*と略す)の交配実験により、マウスの*Ceacam1* 遺伝子型とMHV感受性との関連を検討した。F2および戻し交配によって得られた*1a* 遺伝子を持つ59匹(遺伝子型:*1a/1a*および*1a/1b*)は全て感受性を示し、*1b* 遺伝子をホモで持つ57匹(遺伝子型:*1b/1b*)は全て抵抗性であった。さらに、感受性であると報告されているいくつかのマウス系統(A/J, C3H, C57BL/6, SWR, DBA/2, AKR/J, CBA/J)も遺伝子型を調べたところ、全て*1a/1a*であった(9)。一方、MHV感染に常時曝されてい

る幾つかの野生マウス亜種の*Ceacam1* 遺伝子型を調べたところ、*1b*を高頻度に保有していた(8)。野生マウスのマクロファージを用いて、遺伝子型と感受性を解析した結果、*1a*を保有するマクロファージは高い感受性を示した。これらの実験結果は全て、*Ceacam1* 遺伝子がマウスのMHV感受性を決めていることを強く示唆している。

そこで、我々は、マウスのMHV感受性が*Ceacam1* 遺伝子で決定されているか否かについて決定的な実証を得るために、MHV感受性のC57BL/6(B6)マウスの*Ceacam1a* 遺伝子を*Ceacam1b* 遺伝子と置換した遺伝子組換えマウスを作製することを計画した。*Ceacam1a* 遺伝子がB6のMHV感受性の決定遺伝子であるならば、*Ceacam1b* 遺伝子を持つB6マウスは、*Ceacam1b* 遺伝子を持つSJLと同様にMHVに抵抗性を示すようになると思われた。

## Ceacam1 遺伝子組換えマウス

*Ceacam1* 遺伝子がコードするCEACAM1は膜貫通型蛋白質で、4個(N末端からN, A1, B, A2)または2個(N, A2)の細胞外ドメイン、その下流の膜貫通領域(TM)、長さの異なる2種類の細胞内領域(Cy)を持つ。細胞外領域のドメインの数とCyの長さの組み合わせで、4種類のスプライシングバリエーションが存在することが報告されている(1)。また、最近、TMとCyを持たない可溶性CEACAM1が存在することも報告された。CEACAM1のMHV受容体機能はNドメインが担っており、Nドメイン

単独でウイルス結合活性、ウイルス中和活性およびウイルス粒子スパイク蛋白質の構造変化誘導活性を持つことが、我々の報告でわかっている。NDメインは108個のアミノ酸からなる。Holmesらは、CEACAM1のNDメインのうち、受容体活性に必須であるアミノ酸を特定するために、NDメインに種々のアミノ酸変異を導入した変異体をBHK細胞に発現させて、受容体活性の有無や、MHV感染を阻止する抗CEACAM1aモノクローナル抗体との反応性の有無を検討した。彼女らは、NDメインの1-70番目のアミノ酸領域がCEACAM1aの受容体活性に特に重要であり、この領域にウイルス結合部位が存在すると報告した(13)。そこで、我々は、*Ceacam1a* 遺伝子上のNDメイン1-70番目のアミノ酸に相当する領域を、SJLの*Ceacam1b* 遺伝子の同領域と置換したキメラ*Ceacam1ba* 遺伝子を持つ遺伝子組換えB6マウスの作製を試みた。これに先んじて行った実験で、CEACAM1baとCEACAM1bをMHV非感受性BHK細胞に発現させると、両者は同程度の受容体活性を示すことが確認できていた。*Ceacam1* 遺伝子以外はすべて野生型B6と同じであるマウスを得る必要があったため、B6のES細胞を用いて、ターゲティングベクターとの相同組み換えにより遺伝子を置換した(6)。

作製した遺伝子組換えマウスcB61baについて、まず、MHV標的組織である肝、腸、脾、脳での*Ceacam1ba* 遺伝子の発現をリアル

タイムPCRにより解析したところ、cB61baは本来保有していた*Ceacam1a* 遺伝子の代わりに、遺伝子組換えにより作られた*Ceacam1ba* 遺伝子を発現していることが確認できた。次に、cB61baのこれらの組織中のCEACAM1ba蛋白質の発現量を調べるために、抗CEACAM1抗体を用いたウエスタンブロットを行ったところ、CEACAM1ba蛋白質の発現量はSJLのCEACAM1bと同程度であることがわかった。さらに、免疫組織染色でこれらの組織中のCEACAM1baを抗CEACAM1抗体で染めたところ、組織中のCEACAM1baの局在はSJLのCEACAM1bと一致していた。これらの実験結果から、cB61baのCEACAM1baとSJLのCEACAM1bの組織中の発現に差が無いことが確認できたので、次にcB61baのMHV感受性を検討した。MHV-A59を腹腔内接種し、生存率および肝、脾、脳、血液中のウイルス力価を調べ、B6およびSJLと比較した。B6ではMHV-A59の50%致死量は $10^{2.5}$ PFU (plaque forming unit)であったが、SJLおよびcB61baは $10^6$  PFUを接種しても死亡しなかった。この実験結果から、cB61baはSJLと同様にMHVに抵抗性を示すと思われた。しかしながら、その後詳しく解析したところ、予想外なことにcB61baとSJLのMHV抵抗性の程度が異なることが判明した。臓器(肝、脾、脳、血液)でのウイルス増殖を検討するために、感染性ウイルス量およびウイルスRNA量を調べたとこ

ろ、SJLでは感染2、4日に一時的なウイルス増殖が見られたのに対して、cB61baでは実験期間の2週間間にウイルス増殖が全く認められなかった。また、感染2、4日後の肝を採材して抗MHV抗体を用いて免疫組織染色を行い、組織中のウイルス抗原の検出を試みたところ、SJLでは一部に変性肝細胞と炎症細胞の浸潤を伴う微小な病変があり、ここにウイルス抗原量が検出された。これに対して、cB61baでは病変やウイルス抗原は検出されなかった。これらの実験結果から、cB61baはMHV-A59に感染しないのではないかと思われたので、感染の有無について調べるために、感染10、14日後に血清を採取してELISA法により抗MHV抗体の検出を試みた。その結果、SJLでは抗体の産生が認められたが、cB61baでは抗体が検出されなかった。これらの結果から、cB61baはSJLより高いMHV抵抗性を示し、MHV-A59感染に対して完全に抵抗性であると考えられた。このことは、cB61baは本来持っていた*Ceacam1a* 遺伝子を失うことでMHV感受性も失ったことを示しており、我々の仮説通り、*Ceacam1a* 遺伝子がB6のMHV感受性を決めていることが強く示唆された(6)。一方、予想に反してcB61baとSJLとの間でMHV感受性に差が認められたのはなぜだろうか。cB61baのCEACAM1baとSJLのCEACAM1bは培養細胞に発現すると同程度の受容体活性を示すことから、cB61baマウスおよびSJLマウス体内でも同様に受容

体として機能している可能性が考えられ、両者に見られたMHV感受性差はCEACAM1の受容体活性では説明できない。我々は、*Ceacam1*遺伝子以外にもMHV感受性/抵抗性に関与する遺伝子が存在するのではないかと推測している。MHVの抵抗性/感受性に関して、Smith等は単一遺伝子が決定すると述べているが、一方、Stohlman等は、主要な1遺伝子と更に他の1遺伝子が感受性に影響することを報告している(12)。現在、SJLとcB6*Iba*に見られるMHV

抵抗性の差が何によって決まるのかについて解析を進めている。

### おわりに

マウスのMHV感受性/抵抗性を決める宿主因子は、感受性マウスでは*Ceacam1a*遺伝子によって決まることが明らかになった。このことは、B6マウスの*Ceacam1a*遺伝子をノックアウトするとMHVに抵抗性になるというHolmesらの報告からも明白である(5)。一方、*Ceacam1b*がSJLマウス体内で活性の低い受容体として働くのかは、十

分に研究されていない。我々は遺伝子組換えマウスcB6*Iba*を用いた解析から、*Ceacam1*遺伝子以外にもMHV感受性を規定する遺伝子がある可能性を示したが、Stohlman等も*Ceacam1*以外の遺伝子の関与や、単一の遺伝子ではなく異なる2つの遺伝子によって決まると報告している。我々は、SJLのMHV低感受性を決めている遺伝子を明らかにし、マウスのMHV感受性/抵抗性を決める宿主側因子を明かし、その分子機構を解明したいと考えている。

### 文献

1. Beauchemin, N., P. Draber, G. Dveksler, P. Gold, S. Gray-Owen, F. Grunert, S. Hammarström, K. V. Holmes, A. Karlsson, M. Kuroki, S. H. Lin, L. Lucka, S. M. Najjar, M. Neumaier, B. Obrink, J. E. Shively, K. M. Skubitz, C. P. Stanners, P. Thomas, J. A. Thompson, M. Virji, S. von Kleist, C. Wagener, S. Watt, and W. Zimmermann. 1999. Redefined nomenclature for members of the carcinoembryonic antigen family. *Exp Cell. Res.* 252:243-249.
2. Boyle, J. F., D. G. Weismiller, and K. V. Holmes. 1987. Genetic resistance to mouse hepatitis virus correlates with absence of virus-binding activity on target tissues. *J. Virol.* 61:185-189.
3. Dveksler, G. S., C. W. Dieffenbach, C. B. Cardellichio, K. McCuaig, M. N. Pensiero, G. S. Jiang, N. Beauchemin and K. V. Holmes. 1993. Several members of the mouse carcinoembryonic antigen -related glycoprotein family are functional receptors of the coronavirus mouse hepatitis virus-A59. *J. Virol.* 67:1-8
4. Dveksler, G. S., M. N. Pensiero, C. B. Cardellichio, R. K. Williams, G. S. Jiang, K. V. Holmes, and C. W. Dieffenbach. 1991. Cloning of the mouse hepatitis virus (MHV) receptor: expression in human and hamster cell lines confers susceptibility to MHV. *J. Virol.* 65:6881-6889.
5. Hemmila, E., C. Turbide, M. Olson, S. Jothy, K. V. Holmes, and N. Beauchemin. 2004. *Ceacam1a*<sup>-/-</sup> mice are completely resistant to infection by murine coronavirus mouse hepatitis virus A59. *J. Virol.* 78:10156-10165.
6. Hirai A, N. Ohtsuka, T. Ikeda, R. Taniguchi, D. Blau, K. Nakagaki, H.S. Miura, Y. Ami, Y.K. Yamada, S. Itohara, K.V. Holmes and F. Taguchi. 2010. Role of mouse hepatitis virus (MHV) receptor murine CEACAM1 in the resistance of mice to MHV infection: Studies of mice with chimeric mCEACAM1a and mCEACAM1b. *J. Virol.* 84: 6654-6666
7. Homberger, F. R. 1977. Enterotropic mouse hepatitis virus. *Lab. Anim.* 31: 97-115
8. Ohtsuka, N., K. Tsuchiya, E. Honda, and F. Taguchi. 2001. A study on mouse hepatitis virus receptor genotype in the wild mouse. *Adv. Exp. Med. Biol.* 494, 237-240
9. Ohtsuka, N., and F. Taguchi. 1997. Mouse susceptibility to mouse hepatitis virus infection is linked to viral receptor genotype. *J. Virol.* 71:8860-8863.
10. Ohtsuka, N., Y. K. Yamada, and F. Taguchi. 1996. Difference in virus-binding activity of two distinct receptor proteins for mouse hepatitis virus. *J. Gen. Virol.* 77:1683-1692.
11. Smith, M. S., R. E. Click, and P. G. W. Plagemann. 1984. Control of mouse hepatitis virus replication in macrophages by a recessive gene on chromosome 7. *J. Immunol.* 134:428-432.
12. Stohlman, S. A., and J. A. Frelinger. 1978. Resistance to fatal central nervous system disease by mouse hepatitis virus, strain JHM. 1. Genetic analysis. *Immunogenetics* 6:277-281.
13. Wessner, D. R., P. C. Shick, J. H. Lu, C. B. Cardellichio, S. E. Gagneten, N. Beauchemin, K. V. Holmes, and G. S. Dveksler. 1998. Mutational analysis of the virus and monoclonal antibody binding sites in MHVR, the cellular receptor of the murine coronavirus mouse hepatitis virus strain A59. *J. Virol.* 72:1941-1948.
14. Yokomori, K., and M. M C. Lai. 1992. The receptor for mouse hepatitis virus in the resistant mouse strain SJL is functional: implications for the requirement of a second factor for viral infection. *J. Virol.* 66:6931-6938.



# レ斯顿・エボラウイルスを追って —フィリピンでのコウモリ捕獲—

北里大学獣医学部 教授 吉川泰弘

フィリピン大学獣医学部 教授 Joseph Masangkay

### はじめに

1989年11月米国のバージニア州レ斯顿のヘーゼルトン・サル類検疫施設で出血熱様の症状を示したカニクイザルからサル出血熱ウイルス(SHFV)とともにフィロウイルスが見つかり、世界を驚かせた。これがレ斯顿・エボラウイルスである。このカニクイザルはフィリピンのファーライト社で繁殖したものであった。その後1990年2月米国、アリス・テキサスで、1992年イタリアのシエナで、1996年4月に米国とフィリピンのファーライト社の繁殖施設でレ斯顿・エボラウイルスのアウトブレイクが起こった。

レ斯顿・エボラウイルスの流行は、いずれもフィリピンのファーライト社(カラバン、ラグナ)から輸出されたカニクイザルが原因であった。フィリピン政府はファーライト社の閉鎖を命じ、サル類を全頭殺処分した。その後、フィリピンではレ斯顿・エボラウイルスの流行は見られなくなった。

しかし、2008年10月フィリピンのブタ飼育施設で流行が起こったことが明らかになり、世界を驚かすと同時に、フィリピンの畜産業にも経済的に大きな損害を与えた(この時は、豚繁殖・呼吸障害症候群(PRRS)ウイルスと豚サーコウイルス2型との混合感染であった)。自然宿主を除くとヒトを含む霊長類のみが自然界での感受性動物と考えられていたエボラウイルスが、偶蹄目のブタに自然感染することは、エボラウイルスの疫学、生態学に新しい視点を導入する必要性を生じさせた。

### 1. サル類の追跡

私がカニクイザルでレ斯顿・エボラウイルスの追跡を始めたのは1996年のフィリピンでの流行が起こった後である。モンテンルパにある熱帯病研究所(RITM: Research Institute for Tropical Medicine)のエリザベス・ミランダと共同研究を開始した。96年のファーライト社での流行の様子を時系列と発症分布図にまとめた。

流行時にファーライト社はミンダナオ島から新しい繁殖用個体を導入し、それが次々に流行に巻き込まれていくこと、群飼いの個体が高頻度に巻き込まれること、症状を示さないで感染する個体がいることなどを明らかにした。その後、池上君が感染個体の病理像をまとめ、実験感染の経過が自然感染例と極めて類似していることを明らかにした。重症例ではマクロファージの活性化とサイトカインストーム、播種性血管内凝固(DIC)が顕著であった。また、モノクローナル抗体の作成とELISA、PCRによる診断法、エボラ・レ斯顿ウイルスでは初めて全塩基配列の決定をするなど基盤研究が大幅に進展した。

しかし、ファーライト社以外のサル類の繁殖施設の抗体調査はすべて陰性であった。我々は標的を、カニクイザルの供給源であるミンダナオ島に移した。足かけ3年にわたって約4000頭(ミンダナオ島の野生捕獲サル約600頭を含む)の血清を調べたが、すべて陰性に終わ

り。ファーライト社も閉鎖し、レ斯顿・エボラウイルスの自然宿主は不明のままになってしまった。

### 2. コウモリの追跡

アフリカでマールブルグウイルス病、エボラ出血熱のアウトブレイクが繰り返され、疫学調査から、野生のコウモリが自然宿主である可能性が高くなってきた。我々もRITMのメンバー(E. ミランダ、C. アラン)と、2001年以後、コウモリの調査を始めたが、2次抗体もなく、またコウモリからのウイルス検出法も確立できていなかった。特に問題となったのは、素人の悲しさでコウモリの生態も分類もわからず、闇雲にカスミ網をかけたが、ほとんど捕獲できなかった。唯一、廃工場となった砂糖工場の巨大な煙突の中に住む小型コウモリの捕獲と当時日本に輸入されていたエジプトルーセット・オオコウモリを対象に2次抗体作成、免疫系の遺伝子のクローニング、既知のウイルスの感染実験など基盤研究を進めた。

転機が訪れたのは2006年ソウル大でBSEの講演をしたときフィリピン大学獣医学部のマサングイ教授がソウル大学に留学していたことである。以前からサル類研究で知り合っていたが、コウモリの研究に興味を示し、東大とフィリピン大学の共同研究が始まった。フィリピン大学の自然史博物館のメンバー(フィリップ、エド、エジソン)の先導により、それまでのコウモリ捕獲とは全

く別の野生コウモリのサーベイランスが可能になった。この辺の事情は以前にLABIOに書いたので省略する。野生動物のサーベイランスは野生動物の生態学の専門家なくしては成り立たない。

フィリピンのコウモリでの科学的な追跡は谷口君が池上君の後をついで、サル類の経験をもとにコウモリの抗体とウイルスの検出系を確立したことによる。すなわちレストン・エボラウイルス (REBOV) の組換え核蛋白 (rNP) 及び糖蛋白 (rGP) を用いた IgG ELISA 及び Hela 細胞で発現した抗原 (rGP, rNP) を用いた間接蛍光抗体法を確立した。東大付属牧場で飼育しているデマレルーセット・オオコウモリ及びウサギを REBOV rNP 及び rGP で免疫し、ウサギ及び翼手目の特異抗体を作製し、これを陽性対照血清とした。また、REBOV・GP を有する VSV シュードタイプによる代替え中和試験法や Semi-nested RT-PCR を用いた高感度な REBOV・RNA 検出法を確立した。フィリピン大学との共同調査において捕獲された野生コウモリの血清および臓器由来 RNA サンプルを用いて、REBOV の疫学調査を行った。

フィリピンルソン島を中心に捕獲された翼手目 16 種、140 個体の血清疫学調査を実施した結果、ルーセットオオコウモリ 16 検体中 7 検体のみが REBOV NP あるいは GP 抗体陽性であった。他のオオコウモリ及び小型コウモリは、すべて陰性であった。さらに、IgG ELISA による抗体陽性検体を IFA により解析した結果、ルーセットオオコウモリ 2 検体が NP 抗体陽性で 1 検体が GP 抗体陽性反応を呈した。他方、IgG ELISA, IFA で抗体陽性を示した個体等を対象として代替え中和試験を行ったが、陽性個体は検出されなかった。また、フィリピンで捕獲されたオオコウモリ等を中心に脾臓 62 検体から semi-nested RT-PCR 法により REBOV・RNA 検出を試みた結果、全て陰性であった。

こうして、2009 年 (サルの追跡から初めて 14 年目) にルーセットオオコウモリにのみ抗体陽性例が確認された。アフリカの EBOV や マールブルグウイルスは、ルーセットオオコウモリを含めたオオコウモリが宿主動物と考えられていることから、フィリピンのルーセットオオコウモリが REBOV の自然宿主である可能性が示唆された (図 1)。今回の調査

(2010 年 8 月) はこうした経緯のもと、サル類の繁殖施設を中心にコウモリを捕獲することにした。

### 3. コウモリの捕獲と処理方法

**捕獲と補液:** カスミ網は夕方 (5 時から 6 時) 数か所に分けて、コウモリの飛翔ルートに張る。夜の捕獲と、朝の捕獲の 2 回が基本である。朝の捕獲個体は脱水を起こしていたり、網に絡まり弱っている個体が多いので、捕獲後 5~10% の砂糖水を経口投与する。コウモリは非常に上手に砂糖水を飲むし、すぐに元気になる。カスミ網での捕獲は前回述べたので省略する。日中は鳥がかからないように畳んでおく。網から個体を外すには経験が必要であり、噛まれることが多いのでプロの助けが必要である。捕獲個体は捕獲袋かケージに入れ輸送する。処理時にはビニール袋に移した後、体重を測定し、麻酔投与量を決める。

**麻酔:** 以前はケタラールを使用していたが、麻薬取扱いとなり、フィリピンでも自由に使用できなくなった。整った施設ではハロタンのような吸入麻酔も有効であるが、フィールドでは、Zoletil 50 (125mg) を使用している。5ml の蒸留水で溶解後、25 倍 (1mg/ml) に PBS で希釈し、10mg/kg すなわち 50g のオオコウモリに 0.5ml 腹腔内投与する。1 分以内に麻酔が有効となる。しかし、コウモリの種により、多少効き方が異なる。例えば *Ptenochirus jagori* はすぐに深麻酔になるが、*Cynopterus brachyotis* は、やや時間がかかる。麻酔後、保定前にクロアカから綿棒を挿入し、直腸スワブを得た (PBS に綿棒の先を浸し、スワブをとったのち、PBS に漬けて氷冷保存)。

**保定:** 今回の採材では麻布大学

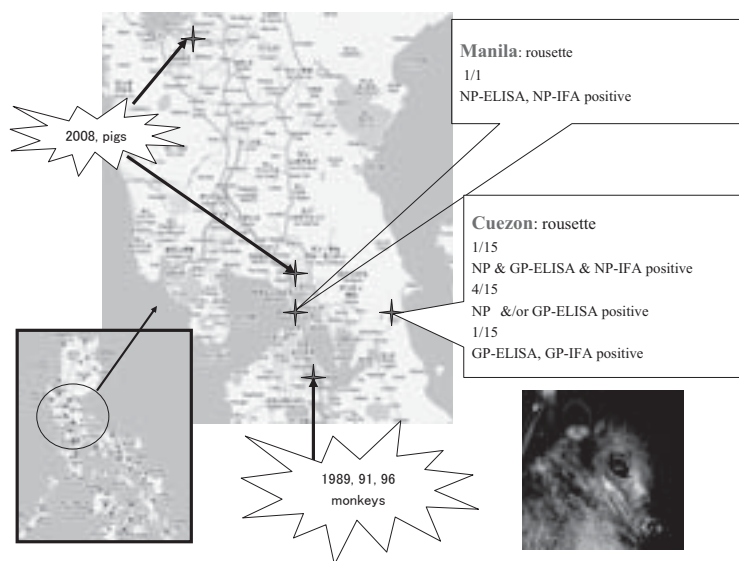


図1. レストン・エボラウイルスの流行と陽性ルーセットの捕獲地(谷口原図)

## 私の研究

獣医学部の宇根先生がオリジナルに開発した保定器を持参された(図2)。プラスチックの台に首と胸を固定するためのマジックテープ付のバンドを2本、頭を挿入するための開閉可能な透明・円錐形のクリアファイルで作成したカバーを取り付けたもので、大きな個体と小さな個体のために、2種類の保定器を作成した。今回は、約20~80gのコウモリを捕獲したが、いずれの個体もこの保定器で処理可能であった。

**採血:**採血は深麻酔後、保定器で固定された個体から心臓採血した。腹部の上に人差し指を軽く当て、その上を剣状軟骨から胸部に向け針を差し込む。30~60gの個体は2.5mlシリンジに23Gの針(1インチ、あるいは1+1/4インチ)をつけ、60g以上の個体では5ml、20~30gの個体では1mlのシリンジを用いるのが適当である。通常体重の20~25%の血液を採取できるが、脱水している個体では採血量が少ない。今回は麻酔と保定器が有効であったため、110を超す個体すべてから採血することができた。採血後、種の同定、雌雄判別、成熟・未熟・妊娠判定をした後、解剖に取り掛かる。

**解剖:**必要な臓器(今回は消化管、脾臓、肝臓、肺)を採取する。胎児、腎臓は組織培養にも利用した。また必要に応じて脳、心臓、生殖器なども採取する。通常の解剖と特に変わらないが、胸筋が非常に発達しているので、鳥類の解剖にやや類似する。

### 終わりに

今回(2010年8月)は、エボラレストンによるサル類のリスクを考慮して、フィリピンの大規模なサル類繁殖施設であるタナイ、リザルのSICONBREC(simian conservation

breeding research center)とセント・トーマス、バタンガスのINARP(INA research Philippines)の施設で、それぞれ2日間コウモリ捕獲を行った。これまでの調査結果では、ジュフロワ・ルーセットのみがエボラレストンに対する抗体が陽性なので、ルーセットを標的として捕獲を試みた。両地域とも捕獲個体の90%以上がオオコウモリであったが、タナイでは60頭の捕獲個体のうちオオコウモリが57頭で、ジュフロワ・ルーセットオオコウモリは1頭のみであった。バタンガスでは捕獲個体68頭のうち1頭は小型コウモリであったが、他はすべてオオコウモリであったにも拘わらず、ルーセットオオコウモリの捕獲数はゼロであった。

前回の調査(2009年3月)ではケゾンのアチモナンとパグビラオでオオコウモリ、小型コウモリ合わせて63頭の捕獲のうち15頭はジュフロワ・ルーセットであった。オオコウモリでみると51頭中15頭(29%)がルーセットである。また2007年1月のマキリン(UPLB)、ラグナの捕獲ではオオコウモリ32頭中ルーセットオオコウモリが6頭(19%)、2007年7月のポリロ島では22頭中9頭(41%)がルーセットオオコウモリであった。2008年3月のパナイ島、アクランでは46頭中ゼロ(この時は洞窟で小

型コウモリを中心に捕獲したので、オオコウモリはP. jadoriが1頭のみ)。2008年7、8月のディリマン(マニラ)ではオオコウモリ25頭中2頭(8%)がルーセットオオコウモリであった。季節的な変動も考慮する必要があるが、ルーセットの棲息に大きな地域差がある可能性が考えられる(表1)。これまで両施設でエボラレストンの流行がなかったのは、ルーセットの棲息密度が低いこと、施設の隔離(封じ込め)が比較的厳密であることによる可能性がある。今後、ルーセットオオコウモリのみが自然宿主であるか否か? そうだとしたら、フィリピン全土に分布するルーセットは、皆エボラウイルスに汚染しているかどうか? なぜ数年に1回、流行を繰り返すのか? をあきらかにする必要がある。

### 謝辞

この研究は厚生労働省新興・再興感染症研究事業の科学研究費(海外委託を含む)、平和中島財団の研究助成、イナリサーチの研究助成などの支援により行われた。研究は東大農学部獣医のコウモリチーム(新旧)、麻布大学獣医学部、フィリピン大学獣医学部のチーム及び自然史博物館のメンバーの協力により行われた。



直腸スワブ



新しいコウモリの保定器

図2 直腸スワブの採取法とコウモリの保定装置

# レストン・エボラウイルスを追って

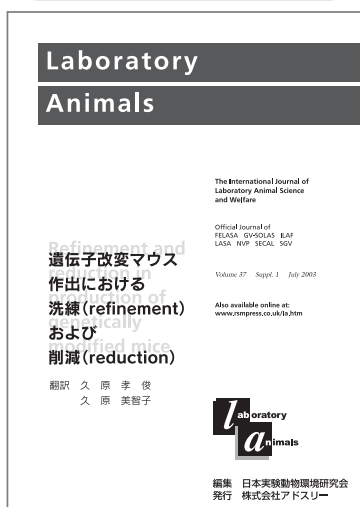
表1. オオコウモリの捕獲数とルーセットオオコウモリの割合

調査年月	調査場所	地域	オオコウモリ種	捕獲数( )陽性数	ルーセットの割合(%)
2007年1月	マキリン山	ラグナ	Ptenochirus jagori	11	
			Cynopterus brachyotis	15	
			Rousettus amplexicaudatus	6	19%
2007年7月	バランガイ	ポリロ島	Ptenochirus jagori	4	
			Cynopterus brachyotis	6	
			Rousettus amplexicaudatus	9	41%
			Eonycteris spelaea	1	
			Macroglossus minimus	2	
2008年3月	アクラン	バナイ島	Ptenochirus jagori	1	
2008年8月	ディリマン	ケソン	Ptenochirus jagori	2	
			Cynopterus brachyotis	20	
			Rousettus amplexicaudatus	2(1/1)	8%
			Eonycteris spelaea	1	
2009年3月	アチモナン	ケソン	Ptenochirus jagori	18	
			Cynopterus brachyotis	10	
			Rousettus amplexicaudatus	15(6/15)	29%
			Haplonycteris fischeri	6	
			Macroglossus minimus	2	
2010年8月	タナイ	リザル	Ptenochirus jagori	11	
			Cynopterus brachyotis	45	
			Rousettus amplexicaudatus	1	2%
2010年8月	St.トーマス	バタンガス	Ptenochirus jagori	26	
			Cynopterus brachyotis	41	
			Rousettus amplexicaudatus	0	0%



## Laboratory Animals 遺伝子改変マウス 作出における洗練および削減

好評発売中



遺伝子研究者 待望の日本語訳書

日本実験動物環境研究会編 編  
久原 孝俊 / 久原 美智子 訳

- B5変形判 / 並製 / 86頁
- ISBN 4-900659-72-X
- 発行日 2006年 11月28日
- 定 価 1,260円 (税込)
- 本書の内容

現在、世界的に注目を集めているヒトゲノム。遺伝子レベルでの研究は生命倫理の領域まで達する難問である。本書はこの難問に対して大きな指針とされる“Laboratory Animals37巻”補遺の待望の日本語版です。

発行：株式会社 アドスリー  
発売：丸善(株)

〒164-0003 東京都中野区東中野4-27-37  
TEL:03-5925-2840 FAX:03-5925-2913  
E-mail:book@adthree.com URL: http://www.adthree.com

## 新マウス・ラット微生物検査項目セットの設定と 日動協メニュー

(財)実験動物中央研究所ICLASモニタリングセンター  
部長 高倉 彰

(財)実験動物中央研究所ICLASモニタリングセンター(MC)では、2000年に①MCが提唱している各微生物の病原性のカテゴリーを念頭に置くこと②動物実験施設における各微生物の汚染率を考慮すること③新興感染症を加えること④ユーザーの要望に答えることを基本的な考えとして、検査項目の見直しを行い現在に至っている。それから10年経過し、実験動物を取り巻く環境は大きく変化している。そこでMCは、2000年の見直しの際の基本的な考えを踏襲しつつ、従来からある検査項目セットに加え、現状にあった検査項目セット(表1. 2)を新たに設定し、2011年4月から検査受託を開始する予定である。以下その背景および新検査項目セットについて解説する。

### 1. 新検査項目セット設定の背景

#### ①微生物の病原性別カテゴリーの見直し

*Pasteurella pneumotoropica* (Pp)と *Citrobacter rodentium* (Cr)の微病原性を見直し、カテゴリーを変更す

ることにした。まずPpを、カテゴリーCからDに変更した。その理由は本菌は、わが国のマウス動物実験施設における汚染率は高いが、文献的にも単独感染で肺炎起こすことが報告されていないこと。そして免疫機能が正常な自然感染マウス・ラットには、解剖所見において病原性が無いことが確認されていることから、免疫機能正常マウス・ラットにおいては、カテゴリーCから除外すべきと考えた。一方において免疫不全マウス・ラットには病原性があることが報告されていることから、そのカテゴリーを日和見病原体であるDに位置付けた。つぎにCrは、哺乳マウス感染では致死的であるが、離乳後マウスでは不顕性感染であること、過去30年間わが国において感染報告が無く、汚染率が低いことからカテゴリーをBからCに変更した。

#### ②動物実験の目的の変化

遺伝子改変技術の進歩により、多くの動物実験施設の実験目的がその技術を用いた疾患モデルマウスの作出、解析に移行している。その中でも、特に免疫系

を操作した遺伝子改変マウスが多く作出されており、それらへの日和見病原体に対する微生物コントロールは重要であると考え、免疫不全マウス・ラット用の検査項目セットを設定した。

#### ③動物福祉への対応

動物愛護法が改正され、3Rへの配慮が動物実験にも求められるようになり、動物実験施設の微生物コントロールにおいても配慮が必要であると考えた。たとえば、免疫機能正常動物に病原性が無い日和見病原体の感染が起きた場合、それらが実験自体に影響を及ぼさなくても、施設全体の微生物コントロールが優先され、動物の淘汰が過去実施されてきた。このような不幸な事態を防止するためにも、施設の微生物コントロールを免疫正常動物と免疫不全動物(実験目的別)に分けるべきであると考えた。

### 2. 新検査項目セット

新検査項目セットを設定した目的は、免疫機能正常マウス・ラット(通常動物)と免疫不全



マウス・ラットの微生物コントロールを分けることにある。そのため新検査項目セットには、それぞれの動物の微生物コントロールに最低限必要な検査項目(コアセット)を設定した。一方、各施設の微生物コントロールにおいてコアセットでは検査項目が不足する場合は、実験目的に応じオプション項目から選択できるようにした。以下各セットを紹介する。

### ①通常動物コアセット

マウスでは、現在ある培養IセットからPpとCrを除外し、ラットではPpと *Streptococcus pneumonia* (Sp)を除外した。PpとCrを除外した理由は、カテゴリーの変更が主な理由である。つぎにラットにおいてSpを除外した。その理由は、MCにおいて過去20年検出されたことが無いこと、そして感染しても不顕性感染にて推移し、病原性が低いことである。

### ②免疫不全動物コアセット

マウスでは、上記の通常動物コアセットの培養検査にCrと免疫不全マウスの微生物コントロールに必須な日和見病原体であるPp、*Staphylococcus aureus* (Sa)そして*Pseudomonas aeruginosa* (Pa) 加えた。また鏡検に同じく日和見病原体である*Pneumocystis carinii* (Pc)を加えた。つぎに免疫不全マウスが感染した場合、重症化する恐れがある*Helicobacter hepaticus*と*Helicobacter bilis*を必須検査項目として加えた。

ラットでは、通常動物コアセ

表1. ICLASモニタリングセンターマウス新検査項目セット

	通常動物 コアセット	免疫不全動物 コアセット	オプション項目・マウス
<b>培養検査</b>			<b>培養</b>
<i>Citrobacter rodentium</i>		○	<i>Citrobacter rodentium</i>
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	○	○	Deamatophytes
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	○	○	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
<i>Pasteurella pneumotropica</i>		○	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Salmonella spp.</i>	○	○	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>		○	<i>Bordetella hinzii</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		○	<b>血清反応</b>
<b>血清反応</b>			CAR baillus
<i>Clostridium piliforme</i>	○	○	Minute virus of mice
Ectromelia virus	○	○	Mouse parvovirus
LCM virus	○	○	Mouse cytomegalovirus
Mouse hepatitis virus	○	○	Mouse adenovirus
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	○	○	Mouse encephalomyelitis virus
Sendai virus	○	○	EDIM virus
<b>鏡検</b>			Pneumonia virus of mice
消化管内原虫	○	○	Reovirus type 3
外部寄生虫	○	○	Polyomavirus
蟻虫	○	○	<b>鏡検</b>
<i>Pneumocystis carinii</i>		○	<i>Pneumocystis carinii</i>
<b>PCR</b>			<b>PCR</b>
<i>Helicobacter hepaticus</i>		○	<i>Helicobacter hepaticus</i>
<i>Helicobacter bilis</i>		○	<i>Helicobacter bilis</i>
			Mouse no r ovirus

表2. ICLASモニタリングセンターラット新検査項目セット

	通常動物 コアセット	免疫不全動物 コアセット	オプション項目・ラット
<b>培養検査</b>			<b>培養</b>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	○	○	Dermatophytes
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	○	○	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	○	○	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Pasteurella pneumotropica</i>		○	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Salmonella spp.</i>	○	○	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		○	<b>血清反応</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>		○	Minute virus of mice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		○	Kilham rat virus
<b>血清反応</b>			H-1 virus
<i>Clostridium piliforme</i>	○	○	Mouse adenovirus
Hantavirus	○	○	Mouse encephalomyelitis virus
Sialodacryoadenitis virus	○	○	Pneumonia virus of mice
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	○	○	Reovirus type 3
Sendai virus	○	○	<b>鏡検</b>
<b>鏡検</b>			<i>Pneumocystis carinii</i>
消化管内原虫	○	○	
外部寄生虫	○	○	
蟻虫	○	○	

ットの培養にSpと日和見病原体であるPp、SaおよびPaを加えたセットとした。

### 3. 免疫不全動物コアセットに対応したサンプリング

本コアセットへの対応において、苦慮するのは通常動物と免疫不全動物の区分であると思われる。ヌードやscidのような市販されている既存の免疫不全動物

においては判断に迷うことはないが、遺伝子改変技術により免疫系が操作された開発途上の動物をどの様に取り扱うかは迷うところである。しかしこれら動物も、基本的には免疫不全動物候補であると考え、微生物コントロールには免疫不全動物用コアセットを適用すべきであると考えられる。

つぎに本コアセットに適した

検査対象動物には、免疫不全動物と同じ環境で飼育された動物(例えばnu/+など)が適している。しかし、免疫機能正常動物であることから、Pcの検出感度は低下する。それを防ぎ、PC等の検査精度向上を目指すのであれば、コアセットの培養、鏡検、PCR検査には免疫不全動物、抗体検査には上記動物を組み合わせるのも選択肢のひとつである。

#### 4. 新検査項目セットと日動協メニュー

日動協メニューは、基本的にはMCの検査項目の見直しを検討

することになっている。今回のMCの新マウス・ラット微生物検査項目セット設定を受け、日動協モニタリング技術専門委員会においては、現在日動協メニューの改訂する方向で協議をしている。その協議結果は纏まり次第、本LABIO紙上にて詳細を紹介する予定である。

#### 参考文献

1. 川本英一他「Pasteurella pneumotropicaの免疫不全および免疫正常マウスに対する病原性」日本実験動物科学技術2008抄録。
2. 日動協編「実験動物の微生物モニタリングマニュアル」、2005年、アドスリー
3. Hayashimoto, N., Aiba, T., Itoh, K., Kato, M., Kawamoto, E., Kiyokawa, S., Morichika, Y., Muraguchi, T., Narita, T., Okajima, Y., Takakura, A., Itoh, T. 2005. Identification procedure for Pasteurella pneumotropica in microbiologic monitoring of laboratory animals. Exp. Anim. 54: 123-129.
4. Hayashimoto, N., Yasuda, M., Goto, K., Takakura, A. 2008. Experimental infection studies of Pasteurella pneumotropica and V-factor dependent Pasteurellaceae for F344-rnu rats. Exp. Anim. 57: 57-63.

## Total Service for Experimental Animals

ライフサイエンスの研究開発に貢献する - それがおぼたちの仕事です

### 販売

*selling service*

実験用動物 関連商品 動物輸送 (国内・海外)

実験動物の飼育に必要な飼料から、機器・器材・設備に至るまで、販売はもとよりコンサルタントもお引き受けします

### 飼育受託

*Breeding service*

オープンシステム、バリアシステム、アイソレータシステム他

一般飼育管理から遺伝子改変・無菌動物の維持繁殖、動物実験支援・代行、施設クリーンアップまで長年のノウハウと豊富な人材により、一般管理から高度技術に至る業務をお引き受けします

### 技術受託

*Experimental service*

動物の繁殖・供給、微生物クリーニング (SPF化)、動物実験受託 (非GLP)、遺伝子改変・無菌動物の作出・維持  
弊社の専門スタッフにより、様々な技術受託業務をお引き受けします

本社 〒132-0023 東京都江戸川区西一之江2-13-16  
[TEL] 03-3656-5559 [FAX] 03-3656-5599  
[e-mail] skl-tokyo@sankyolabo.co.jp

北陸営業所 〒939-8213 富山市黒瀬115  
[TEL] 076-425-8021 [FAX] 076-491-1107  
[e-mail] skl-hokuriku@sankyolabo.co.jp

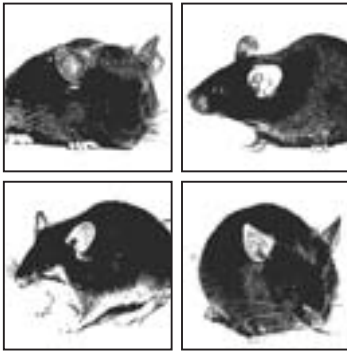
札幌営業所 〒004-0802 札幌市清田区里塚2条4-9-12  
[TEL] 011-881-9131 [FAX] 011-883-1176  
[e-mail] skl-sapporo@sankyolabo.co.jp

つくばラボ 〒300-4104 茨城県土浦市沢辺下原57-2 東筑波工業団地内  
[TEL] 029-829-3555 [FAX] 029-862-5555  
[e-mail] skl-tsukuba\_lab@sankyolabo.co.jp



**三協ラボサービス株式会社**  
SANKYO LABO SERVICE CORPORATION, INC.

<http://www.sankyolabo.co.jp>



## 第3章 マウスの生物学と病気(続)

日本チャールス・リバー株式会社 池田卓也  
東京女子医科大学 実験動物中央施設 金井孝夫

2回にわたり“Laboratory Animal Medicine 2<sup>nd</sup> Ed.”「実験動物医学 第二版」<sup>1)</sup> 第3章「マウスの生物学と病気」のウイルス、細菌を中心に感染症について紹介<sup>2,3)</sup>してきたので、本稿では第3章の感染症を除いた部分について記載する。先の第3回でも紹介したように、本章では約6割を感染症の記載に、残り約30ページを序論、生物学、感染症以外の疾患と多岐にわたる内容(表1)を記載している。そのため各項目の記載は自ずと概要的な内容となっているため、詳細に興味を持たれた読者は引用文献に当たる事を勧める。なお序論と生物学に関しては“Handbook of Experimental Animals-The Laboratory Mouse”<sup>4)</sup>等に詳しく記載されているので参考にされると良いであろう。なおマウスの最終回となる本稿では、トピック的に感染症以外の疾患について概括する。また本章を読み進める過程で、浮かび上がってきた問題点について筆者らの見解も述べる。

### 代謝と栄養性疾患

本書ではアミロイドの成因や好発部位について述べているが、この記載に加えアミロイドーシス症のトピックとなる記載を追加したい。カゼイン投与誘発モデル、そしてトランスサイレチン(TTR)やマウス老化(AApoAII)アミロイドーシスが有用性の高いモデルとして知られている。一方、遺伝子操作によるモデル

が多数作出された1990年代を境にアミロイドーシス研究も発展したが、自然発症マウスアミロイドーシスの報告はすっかり少なくなった。古くは1978年、Chai<sup>5)</sup>がLLC(Low Leukocyte Count)マウスで報告した概要では、アミロイド沈着が脾、肝、副腎、腎、他と広範囲で、顕著な腎病変が特徴であった。1990年、Madi<sup>6)</sup>らは悪性腫瘍を随伴した自然発症の本症を観察し、雌で乳腺腫瘍48例、雄で骨肉腫1例に回腸のアミロイド沈着を報告している。1993年、Shimizu<sup>7)</sup>らはNSYマウス

で本症を惹起し腎不全で死亡するマウスを、また同年Majeed<sup>8)</sup>が高齢マウスの全身性アミロイドーシスを調査し、CD-1は概して他系統より高頻度だと報告している。1994年、Chandra<sup>9)</sup>らがCD-1とB6C3F1で自然発症の腎病変を観察した結果、腎アミロイドーシスの頻度が約40%と報告している。なお心アミロイドーシスの報告は調べた限りみられない。

ライ様症候群は原因不明の小児領域の重要疾患で、インフルエンザや水痘感染後にアスピリン服用で

表1. 第3章の項目

I. 序論	III. 疾患
A. 起源と歴史	A. 感染症
B. 遺伝	1. ウイルス性疾患
C. 繁殖システムと命名法	2. 細菌性疾患
1. 繁殖システム	3. リケッチアとクラミジア性疾患
2. 命名法	4. 真菌性疾患
D. 飼育と管理	5. 寄生虫性疾患
1. 飼育	B. 代謝と栄養性疾患
2. 管理	1. アミロイドーシス
II. 生物学	2. 軟部組織の石灰化
A. 生理と解剖	3. ライ様症候群
1. 温度と水の調節	4. ビタミン、ミネラル、必須脂肪酸欠乏症
2. 呼吸器	5. 黒色素マウス脱毛症と慢性潰瘍性皮膚炎
3. 尿路系	6. 分娩後黄疸
4. 消化器	C. 環境、行動、外傷による障害
5. リンパ系	1. 体温関連障害
6. 血液と細網内皮系	2. リングテイル
7. 循環器系	3. 角膜混濁
8. 筋骨格系	4. 不正咬合
9. 生殖器系	5. 皮膚外傷
B. 生殖	D. 先天性、年齢依存、その他の障害
1. 性成熟	1. 心臓血管系
2. 発情周期	2. 呼吸器系
3. 交尾	3. 消化器系(胃、肝、脾)
4. 妊娠	4. リンパ細網系
5. 出生後の成長と離乳	5. 筋骨格系
C. 行動	6. 泌尿器
D. 免疫	7. 生殖器(雌、雄)
	8. 内分泌系
	9. 神経系
	10. 感覚器(眼、耳)
	E. 腫瘍
	1. リンパ細網系と造血系
	2. 乳腺
	3. 肝
	4. 肺
	5. その他の器官の腫瘍

急性脳症、肝の脂肪浸潤を起こす稀な疾患で、邦語ではライ症候群と呼ぶ。明確な因果関係はないものの、インフルエンザ脳炎・脳症例にジクロフェナクナトリウム投与が禁忌とされている。1984年、Brownstein<sup>10)</sup>らによるBALB/cByJmiceの報告があるが、先行ウイルス感染があるらしく課題が残っている。なおその病変では、肝と腎が大きく蒼白で、脂肪化を伴い腫大した肝細胞と星状膠細胞の核の腫大が認められている。なお本症は病期により症状が大きく変わることから、候補疾患モデルが難しい。なお現在でも自然発症のモデルは少なく、BALB/cByJmiceの例は貴重な報告である。

### 環境、行動、外傷による障害

実験用マウスの飼育環境は、古くて新しい問題ではあるが、近年飼育環境は非常に良くなり安定してきている。そのため低温によるリングテイル等の異常を、飼育現場で目にすることは少なくなった。一方、いわゆる飼育環境とは異なる要因で現在も多く見られるのが皮膚外傷で、その代表は闘争(ファイティング)による頭首部、背部、腹部、尾部などに見られる噛み傷と脱毛である。闘争は攻撃的な雄により引き起こされることが多いが、通常は個別飼育による隔離により解消され傷も回復する。ただ攻撃的な個体を隔離しても、残った動物の中から攻撃的な個体が登場し、他の動物に悪影響を与えることもある。そのためBALB/c雄のように闘争が頻発する系統では、継続的な注意深い観察が必要である。また闘争以外でも、ケージ表面での擦過や消毒薬が原因となることがある。

また個体識別用金属標識や実験処置に伴う皮膚切開などは、搔痒反応を引き起こし部分的脱毛や自己性外傷の原因となり、試験結果に影響することもある。また皮膚糸状菌、外部寄生虫、ビタミンやミネラル欠乏などの栄養障害による脱毛もあるので類症鑑別が必要である。

### 先天性、加齢関連性、その他の障害

心房血栓症がRFM系統で高頻度に見られ、高齢マウスでもよく観察されるという。その部位は左心房の心耳で、壁血栓を来し、アミロイドーシスを随伴するという。罹患マウスは心不全徴候、とくに重度の呼吸不全を生じると記載がある。本書にはこのように記載があるが、左心耳を主体に心不全徴候を起こすアミロイド沈着が起こるならば限局性の心アミロイドーシスとすればよいものの、本書にその記述はなく確認が必要な点である。

### 各種の腫瘍について

腫瘍の発生頻度や発生部位は系統差が大きいことが知られているが、ここでは最も頻繁に認められるマウス自然発症腫瘍のリンパ細網系、造血系、乳腺(雌)、肝、肺について概説している。ただ多くの乳腺腫瘍はウイルスにより引き起こされることから、他の腫瘍とは少し異なり本来は感染症として論じられても良いのかも知れない。

先にも記載したように、本書は全体を通じて感染症を中心とした疾患の記載に費やしている。これは実験動物の専門医(獣医師)を対象として編集された本書の性格を考えると当然のことと思われる。しかしながら感染症以外にも実験動物

の疾患は多く、特にマウスのように非常に多くの系統がある動物種では、系統差も含め多種類の疾患が知られている。近年実験動物生産企業に身を置いて感じることは、実験動物の使用者が動物本来の性質をあまり良く理解しないままに動物を使用しているということである。一昔前であれば、「某系統で遺伝的に多発する」、「某系統には良くある」、「単純な加齢性変化である」等と言うことで、ある種の疾患や問題は使用者が問題視しクレームとして発することは少なかった。しかし最近では実験動物の使用者から「この動物は異常だ」、「この動物は変だ」等とのクレームが、施設の管理者や生産業者に寄せられる事が多くなってきた。例えば、先の闘争による外傷や脱毛(写真1、2)や動物個体間の優劣により引き起こされる脱毛(写真3)に関するクレームは決して少なくない。マウス系統によっては輸送や飼育期間中に脱毛や外傷が頻発するが、輸送中の闘争によるものであれば動物施設搬入後、順化期間に個別飼育等の適切な管理をすれば解決する問題である。そのため前記以外の原因により引き起こされる脱毛(写真4)等と類症鑑別をして、適切に処置することが大事である。しかしこのようなマウス系統ごとの性質を十分に理解しない事により生じる問題は、昨今急速に増えているように感じる。これは単に私個人や、一企業だけが感じている事ではなく、実験動物生産業者の多くが日常感じるようになってきた。この事態に対して、実験動物関係者はただ手をこまねいている訳ではなく、いろいろな機会を通じてマウスの系統差やその性質に関して使用者に対する啓蒙活動

を展開している。たとえば実験動物生産企業が集う日本実験動物協同組合では、何年か前からこの問題に危機感を抱き対策を練ってきた。そして対策の一つとして、実験動物に起因する様々な異常をまとめた小冊子「実験動物の特性について-系統・種の特性に起因するトラブルに関するQ&A」<sup>11)</sup>を作り、使用者への啓発を計る事とした。このような取り組みにより、使用者や飼育者が系統ごとの特性を理解して実験動物に対応できるようになることを期待したい。

第3章を読み進めて、翻訳をするにあたり筆者らが苦慮したのは、どの用語を使うかであった。ヒト疾患に関する医学用語集や辞書は多く、参考となる書籍が容易に手に入るが、実験動物や獣医領域には少ない。今回我々は、実験動物学用語

集<sup>12)</sup>や日本獣医学会疾患名用語集<sup>13)</sup>をまずは参考にしたが、本書を読み進めるにあたり日本語訳を見つけ得ない用語も多く、最終的にはヒトの医学用語集や辞書を紐解き参照とすることがあった。日本獣医学会疾患名用語集は獣医学領域の諸先生方が苦労され作られた物ではあるが、実験動物学領域から「日本獣医学会疾患名用語委員会」に参画された専門家が少ない事もあってか、実験動物関連分野に係る用語に弱い事は正直否めない。たとえば、「マウス・ラット」とまとめられた枠にあるのは感染症であり、腫瘍の用語は一つもみられない。自然発生腫瘍の存在は、古くからその記載があり本書でも多数述べられているので、せめてこの記載からでも上記疾患用語集に追記することが必要だと思う。ただ、記載にあたっては自然発生の腫瘍に関

わりのある方々、例えば腫瘍の専門家、または毒性病理に関わる先生方がまとまりをもって記載されるのがよいと考える。

## まとめ

本稿では、マウスの感染症以外の疾患についてトピック的に新旧の知見を含め概括した。また本章を読み進める過程で、浮かび上がってきた問題点についても述べたが、改めて多くの事を再認識する事となった。特に実験動物を飼育し実験に使用するにあたっては、感染症は極めて大事ではある。しかしマウスの基本的な性質や系統差、そして感染症以外の疾患についても理解したうえで、使用することも大事であると改めて実感した。そして同時にマウスの事をあまりにも知らずに使用している自分がある事の恥ずかしさも覚えた事も事実である。



写真1. 尾の外傷 (BALB/c)



写真2. 背面の外傷と脱毛 (ICR)



写真3. 顔面の脱毛 (SCID)



写真4. 背面の脱毛 (B6N)

## 参考文献

- 1) J.G.Fox, L.C. Anderson, F.M.Loew, F.W.Quimby Eds.:Laboratory Animal Medicine 2nd Ed., Academic Press, 2002
- 2) 久和 茂 :LAM学事始(3)第3章マウスの生物学と病気-ウイルス感染症を中心に-, LABIO21,40:34-37,2010
- 3) 金井孝夫 :LAM学事始 (4) 第3章マウスの生物学と病気-細菌感染症、その他の感染症について- LABIO21,41:34-37,2010
- 4) Hans Hedrich Eds.:Handbook of Experimental Animals-The Laboratory Mouse, Academic Press, 2004
- 5) Chai CK: Spontaneous amyloidosis in LLC mice. Am J Pathol., 90 (2) :381-398. 1978
- 6) Madi K, De Paola D, Duarte F, Takyia C, Lima RJ: Spontaneous amyloidosis in mice with malignant neoplasm. Exp Pathol., 38 (2) :129-134. 1990
- 7) Shimizu K, Morita H, Niwa T, Maeda K, Shibata M, Higuchi K, Takeda T.: Spontaneous amyloidosis in senile NSY mice. Act Pathol Jpn., 43 (5) :215-221. 1993
- 8) Majeed S.K.: Survey on spontaneous systemic amyloidosis in aging mice, Arzneimittelforschung, 43 (2) :170-178. 1993
- 9) Chandra M, Frith CH.: Spontaneous renal lesions in CD-1 and B6C3F1 mice. Exp Toxicol Pathol., 46 (3) :189-198. 1994
- 10) Brownstein DG, Johnson EA, Smith AL.: Spontaneous Reye's-like syndrome in BALB/cByJ mice. Lab Invest., 51 (4) :386-395. 1984
- 11) 日本実験動物協同組合編 :実験動物の特性について-系統・種の特性に起因するトラブルに関するQ&A (印刷中)
- 12) 日本実験動物学会編 :実験動物学用語集-改訂第二版. 2002
- 13) 日本獣医学会疾患名用語委員会編 :日本獣医学会疾患名用語集、<http://tjtsvs.org/>. 2010

# 海外散歩

## ボストンでの9年間

滋賀医科大学 動物生命科学研究センター  
特任助教  
獣医師、獣医学博士 日柳 章彦

今から10年前、私が進路に悩んでいた博士課程4年の事です。携帯電話に海外から一本の非通知電話が鳴りました。普段は非通知の電話は取らないのですが、その時は何となくその電話を取ったのです。「ハーバード大学の水野だけれど、日柳君、ハーバードに来るのか、来ないのかはっきりして欲しい」私は、何も考えず即座に答えました。「はい、喜んでボストンに参ります。」これが、私の9年間にわたるアメリカ・ボストンでの研究生活の始まりでした。

私は、東京大学大学院生命科学研究所・林良博教授の師事で獣医学博士号を取得直後の2001年4月に、Harvard Medical School 付属Brigham Women's Hospital Orthopedic research department



写真1 ハーバードメディカルスクールにて、水野秀一先生と米国出張中の父、日柳政彦（日本医科学動物資材研究所・代表取締役）と共に。2001年

のポスドクとしてボストンに妻（留学が決まった翌年3月に急遽結婚）と二人で渡米しました。当時、脚光を浴び始めた再生医療の研究プロジェクトに参加するためであり、私を軟骨再生プロジェクトに採用して下さいしたのは、アシスタントプロフェッサーの水野秀一先生でした。水野先生は、長年ハーバード大学で整形外科領域の再生医療とくに軟骨再生の研究をなさっており、長年暖めてきた軟骨再生医療技術開発の為の前臨床試験を担当する獣医師を捜していたのです。水野先生はアメリカ留学する以前に、企業で動物実験に携わった経験があり、動物実験の難しさとその重要性を非常に重要視しておられました。憧れのアメリカ留学でしたが、問題は私の英語力の無さでした。しかし、水野先生にこう言われました。「僕は気合いの入った獣医を採用したのであって、英語の話せる獣医を採用した訳では無い。動物と向き合うのに重要なのは言葉では無い。」この言葉を聞き、開き直って死にもぐるいで仕事をしました。

私が長年暮らしたボストンは、アメリカ合衆国の北東部に位置するマサチューセッツ州の州都であり、ハーバード大学、マサチューセツ



写真2 クローンマウスで有名な、若山輝彦先輩（現・神戸理研）のウースター自宅にて新年会に呼ばれて。2002年頃



写真3 Histogenics社クリーンルーム内で軟骨再生の実験（ヒト軟骨細胞の3次元培養）をする筆者。2003年

工科大学（MIT）、ボストン大学（BU）やタフツ大学を有する教育の街として有名です。また、医療研究機関や製薬・バイオテック企業が多く集まっており、特にそれらがあつまるLongwood Medical Areaは、石を投げれば医療関係者におつかるほどでした。私の友人の多くが医者か医療関係者だったのも他のアメリカの街ではあり得ないことでしょう。また、日本人指揮者の小澤征爾氏が長年音楽監督を務めたボストン・シンフォニー・オーケストラ



写真4 ミニブタモデル動物を用いた軟骨再生の動物実験。左が培養した軟骨片の移植手術を担当する筆者。2002年



写真5 Covance R.P前社長、トム・カーサー博士、その兄でハーバードメディカルスクール整形外科部長のジム・カーサー教授とハーバードクラブにて。2004年

(BSO)や、ジャズの名門のバークリー音楽大学など芸術の街としての印象もあります。ボストンにはアメリカ4大メジャースポーツと呼ばれるメジャーリーグベースボールのMBL (Red Sox)、バスケットのNBA (Celtics)、アイスホッケーのNHL (Bruins)、アメリカンフットボールのNFL (New England Patriots) など、全てがある全米でも珍しい街で、またなんと言ってもボストンのスポーツイベントで最も有名なのは、ボストンマラソンでしょう。毎年4月になると、世界中からランナーが集結しますし、ボストンに以前住んでいた、作家の村上春樹氏もボストンマラソンには何度も参加し、思い入れが強い大会の一つだそうです。

ハーバード大学着任後ほどなく、ハーバード大学と日本企業である高木産業とのジョイントベンチャーとして、Histogenics (ヒストジェニク

ス)社が起ち上げられました。私は主任研究員として同社に参画するチャンスを得ました。ヒストジェニクス社の第一の目的は、水野先生のコンセプトを元とした軟骨再生技術を臨床応用へ導き、最終的にはFDAから治療認可を得るというものでした。私は、研究者として基礎研究開発に参画し、また獣医師として、実際の状況にそくした移植法の開発、その人工的に作り上げた軟骨の安全性・有効性を動物実験で評価するという幅広い研究が出来るチャンスを得ました。当時の私は、獣医師とはいうものの、解剖・形態学が専門で、大学・大学院時代を通して基礎研究に携わり、外科・内科などは実習で習った程度でした。よって私の外科医としての技術は、コントラクトラボのアメリカ人外科医 (獣医)、ビンス・メンデンホール氏から学んだ技術でした。しかし、なんと言っても最初に立ちはだかったのは、やはり言葉の壁でした。専門用語なら通じると思っていたのですが、日本独自の発音や和製英語を頻発することで、何度も笑われ、意思の疎通ができない事が多々ありました。例えば、キシレンはザイリンと発音し、イオジンはアイオダインまたは商品名のベータダインなどと



写真7 NeoCart Phase I Clinical Trial。OHSUにて移植手術を担当した友人でもあるデニス・クロフォード医師・助教授と共に。左から3人目が筆者。2005年



写真6 前衆議院議員、山際大志郎先輩 (獣医学博士) とハーバードメディカルスクールの前で。2006年頃

発音します。また、獣医師として現場で働く際は、マスクや帽子もしますから、口の形や顔の表情が見えず、ますます言葉が通じません。ですから、まず実践した事は、いかに自分が真剣で仕事に対して情熱があるかということ、愚直に行動で相手に示す事でした。その積み重ねの結果、現場のスタッフが徐々に打ち解けてきて、信頼を得ることが出来るようになりました。あの9.11のテロ事件があった朝も、いつものようにウースターのコントラクトラボで動物の様子を確認しラボへ戻りました。

すると、同僚達が皆落ち着かず、皆昼前に帰宅したのを覚えています。渡米間もない私は、貿易センタービルが崩壊するのを見ても、映画を見ているような感じで実感が無く、その日も深夜まで仕事をして、皆からクレイジーだと言われたのを覚えています。その甲斐あってか、比



写真8 ボストン・レッドソックスの優勝パレードに参加。2007年レッドソックス本拠地・ヘンウェイパークにて (松坂大輔に声援を送った直後)

較的早く英語には慣れてきて、同僚の電話の内容を盗み聞き出来る位になり、また言いたいことは相手に伝えられるレベルになりました。しかし、これは職場に限った事で、ハンバーガー屋でオーダーしたものがきちんとドライブスルーで注文出来るようになるには、それから2年ほどかかりました。結局、私の英語の上達よりも、アメリカ人の同僚達が、私の日本語訛りの英語に慣れてしまっていたのです。3年もすると、アメリカ生活にも慣れ、幸運にも動物実験が大成功し、それらの結果や新製品開発が評価され、ヒストジェニクス社の研究開発部長に抜擢されました。現在、手がけた軟骨再生プロジェクト(NeoCart<sup>®</sup>)は、FDA phase IIIクリニカルトライアルまで来ており、数年後の認可に全米でも期待が集まっています。

2006年に転機が訪れました。三菱化学がボストン在住で再生医療分野の日本人研究者を探しており、私に白羽の矢が立ったのでした。日本では規制があって難しいヒトES細胞の研究をマサチューセッツ工科大学(MIT)のランガー研究室(再生医療・ドラッグデリバリーシステムのパイオニア的研究室)にて共同研究が出来るポジションだったので。教授のロバート・ランガー

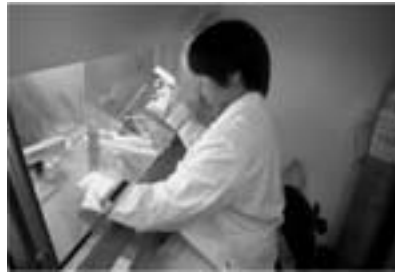


写真9 ヒトES細胞を培養中の筆者。MIT Langer Labにて撮影。2008年頃

博士(ニックネームはボブ)は、ノーベル賞に最も近い化学者として高名な方であり、再生医療に携わる研究者としては夢のようなポジションでした。また、研究内容もヒトES細胞から生殖細胞を分化誘導するという、私にとってもまた人類にとっても画期的なプロジェクトでした。話の発端は、三菱化学生命科学研究所・再生医療チームリーダー・野瀬俊明先生(現・滋賀医科大学・特任教授)の研究に、ランガー教授が興味を持った事がきっかけとなったのです。MITでの生活は、純粋に研究に打ち込める4年間でした。世界中から来た一流の研究者達と深夜まで研究、時には討論をし、非常に刺激的な時間を過ごすことが出来ました。ケミカルエンジニアリングの研究室だったため、生物や動物を知る研究者は少なく、生物学者・獣医としての細胞・動物の知識がとても役に立ち、基礎と臨床研究を知る獣医師としての強みを



写真10 MIT ランガー教授のビーチハウス(Cape Cod)でラボ全員参加のパーティ。MITで最大のマンモスラボであることが証明される写真。左下が筆者の家族。2008年

身もって知る良い機会でした。現在、滋賀医科大学・動物生命科学研究センター(鳥居隆三教授)に在籍し、サルiPS細胞の研究に携われるのも、三菱化学・MITでの経験とご縁があったからだと思います。

2010年7月に9年ぶりの帰国となりました。9年間、言葉や文化の違う異国の地で仕事が出来たのも、妻やアメリカで生まれた3人の子供のおかげだとつくづく思い知らされます。ボストンでの9年間を振り返って、一番の収穫は何でも話し合える家族を得ることが出来た事です。電話によるオレオレ詐欺事件が何かと騒がしい昨今ですが、非通知電話にも大切な電話があることを知ったボストンでの9年間でした。



写真11 ボストンの象徴の一つ、MITドーム。学生や観光客でいつも賑わう。MIT学生のイタズラでドームにボストンのT・レッドライン(地下鉄)が見える。2009年頃



写真12 家族とBoston Public Gardenにて撮影。長い冬を終えて、一斉に咲き誇る花がとても美しい。2010年4月



写真13 ボストンマラソン前日のボストン5キロマラソンに参加する筆者と応援する家族。2010年4月



### 抄訳42-1

Information

## 顔の表情によるマウスの苦痛の評価

ヒトの乳児の場合、顔の表情は痛みの尺度として広く用いられている。ダーウィン、ヒト以外の動物においても感情は顔に現れると力説していたが、ヒト以外の動物が苦痛の表情を示すかどうか体系的に評価されたことはこれまでなかった。我々は、マウスの

苦痛の表情を測る方法を開発した。まず、マウス顔面の画像をビデオカメラで取り込み、有害刺激を一定時間継続したときに現れる顔の表情の特徴的变化(眉間に皺をよせる、鼻をふくらます、頬をふくらます、耳の位置を変える、ひげの変化)をコード化することによ

り、精度が高く、信頼性も高いマウスの顔面表情による苦痛の評価システムを構築することに成功した。自発的苦痛の本測定法は、実験用マウスの獣医学的管理や新薬の開発における苦痛の評価に役立つであろう。(抄訳:久和 茂)

D J Langford, A L Bailey, M L Chanda, S E Clarke, T E Drummond, S Echols, S Glick, J Ingrao, T Klassen-Ross, M L LaCroix-Fralish, L Matsumiya, R E Sorge, S G Sotocinal, J M Tabaka, D Wong, A M J M van den Maagdenberg, M D Ferrari, K D Craig, J S Mogil. Nature Methods. 7(6), 447-449 (2010).



キーワード：マウス、苦痛、表情、コード化

keyword

### 翻訳42-1

Information

## C57BL/6マウスにおける*Pasteurella pneumotropicalis*接種によるサイトカイン遺伝子の発現変動

*P. pneumotropicalis*の感染は、様々な組織で炎症や膿瘍形成を起こし得る。一般に*P. pneumotropicalis*は、免疫不全マウスおよび他の病原体に共感染したマウスにおいて臨床症状を引き起こす。免疫正常マウスでは*P. pneumotropicalis*による臨床疾患はまれであるため、生物医学研究において、*P. pneumotropicalis*は臨床的意義がほとんどない日和見病原体として扱われている。しかし、マウスパルボウイルス、マウスロタウイルス、ヘルコバクター属菌などの他の感染性病原体では、臨床症状を引き起こすことなく、生理学的あるいは生物学的応答を変化させることが報告されている。我々は、*P.*

*pneumotropicalis*が免疫正常マウスにおいて、サイトカイン遺伝子の転写を変動させる可能性を調べた。C57BL/6マウスに、コロニー形成に必要な最小量の*P. pneumotropicalis*を経口及び経鼻的に接種したところ、接種後7日目の下顎リンパ節及び浅頸リンパ節において、IL1 $\beta$ 、TNF $\alpha$ 、CCL3、CXCL1、CXCL2のmRNA発現がわずかではあるが有意に上昇していた。また、接種後28日目では、IL1 $\beta$ のmRNA発現の上昇が確認された。これらのサイトカイン遺伝子の発現変動は、熱殺菌した*P. pneumotropicalis*や、近縁の細菌である*Actinobacillus muris*を接種したC57BL/6マウスでは

みられなかった。鼻粘膜におけるサイトカイン遺伝子の転写は、高用量の*P. pneumotropicalis*を投与したC57BL/6マウスにおいても有意な変化がみられなかった。これらの結果は、*P. pneumotropicalis*に感染した免疫正常マウスにおいても、軽微かつ一過性であるが実験結果の変動が起こり得ることを示している。実験用マウスの健康状態の十分な確認は、不必要な実験結果の変動を避けられるため、特に遺伝子発現の定量のような極めて繊細な試験方法を用いる際には重要である。(翻訳:山本 貴恵)

Patten CC Jr, Myles MH, Franklin CL, Livingston RS. Comparative Medicine 60(1):18-24, 2010.



キーワード：マウス、*Pasteurella pneumotropicalis*、日和見病原体、サイトカイン遺伝子、定量的PCR

keyword

### 翻訳42-2

Information

## L-グルタミン添加精子凍結保存液とメチル- $\beta$ -シクロデキストリン添加精子前培養液の組合せはC57BL/6J マウスの凍結保存精子において高受精率をもたらす

近年、世界中の様々な研究所で非常に多くの遺伝子改変マウスが作製されており、それらすべては効率的に保存される必要がある。マウス精子の凍結保存法は、マウスを資源施設に保存するための単純かつ経済的な方法である。現在の精子凍結保存プロトコルは、凍結保護のため18%のラフィノースペンタハイドレートと3%のスキムミルク(R18S3)を混合して用いる方法であり、大部分の研究所で採用されてきた。多くの近交系およびF1交雑種の凍結/融解精子については、概して比較的高い受精率を達

成できている。しかしながら、C57BL/6Jマウスの精子は、凍結融解後の受精率が非常に低い(0-20%)。本研究において、我々はC57BL/6Jマウスの凍結/融解精子における低受精率の改善を試みた。その結果、L-グルタミンを添加したR18S3と、メチル- $\beta$ -シクロデキストリン(MBCD)を添加した精子前培養液との組合せにより、受精率が飛躍的に上昇(69.2 $\pm$ 12.2%)した。さらに、凍結/融解精子から産生された2細胞期胚の発生能は正常であり、その出生率は新鮮精子と変わらなかった(新鮮精子: 46.0  $\pm$

8.2%、凍結/融解精子: 51.5  $\pm$  11.1%)。要約すると、我々はL-グルタミンを含むR18S3と、MBCDを含む前培養液を組み合わせた新しい精子凍結保存法および体外受精法により、C57BL/6J 系統の凍結/融解精子における受精率を改善することができた。この改善手法により、精子の凍結保存による遺伝子改変マウスの系統保存およびその再生産を行うシステムはより信頼性の高いものになるであろう。(翻訳:園野 克也)

Takeo T, Nakagata N. Laboratory Animals 44(2):132-137, 2010.



キーワード：マウス、精子凍結保存、精子前培養、体外受精、L-グルタミン、メチル- $\beta$ -シクロデキストリン

keyword

### 翻訳42-3

Information

## マウスに対するハムスターパルボウイルスの実験感染：マウスパルボウイルス3の種間伝播の証拠

ハムスターパルボウイルス(HaPV)は、20年前にハムスターから分離されたウイルスで、他のげっ歯類由来のパルボウイルスをハムスターに実験感染させた場合と似た臨床症状を示す。HaPVは、マウスに不顕性感染をするマウスパルボウイルス(MPV)と遺伝学的に最も近縁である。MPV3は新たに分離され

たMPV株で、近年自然感染したマウスから発見された株である。ゲノム配列解析の結果、MPV3はHaPVとほとんど同一の配列であることが示された。そこで本研究では、HaPVのマウスへの感染性について検討を行った。数系統の新生仔マウスと離乳マウスにHaPVを接種し、1, 2, 4, 8週後に臓器、糞

便、血清を採取した。HaPV特異的な定量的PCRと血清学的分析を用いて評価した。定量的PCRにより、感染マウスの複数の臓器から接種したウイルス量をはるかに超えるウイルスDNAが検出された。免疫機能の正常なマウスでは接種後2週以上たったほとんどの個体において、ウイルスの非構造ならび

に構造蛋白双方に対する抗体陽転が確認された。新生仔SCIDマウスにウイルスを接種した場合、その8週後ではリンパ組織においてRT-PCRによりウイルス転写産物が確認でき、糞便から定量的PCRにより

ウイルスDNAが検出された。臨床症状、肉眼的病変、組織学的病変は観察されなかった。これらの所見はMPV感染マウスの所見と類似している。これらのデータは、HaPVとMPV3は同一のウイルス種

を起源とした変異株である可能性が高く、そのウイルスはマウスを自然宿主とし、稀にハムスターへ種間伝播をおこすという仮説を支持するものである。(翻訳:田中 志哉)

Christie RD, Marcus EC, Wagner AM, Besselsen DG. Comparative Medicine 60 (2): 123-129, 2010.



キーワード: マウス、ハムスターパルボウイルス、マウスパルボウイルス、定量的PCR、血清学的分析、RT-PCR、種間伝播

## 翻訳42-4

### C57BL/ 6 マウス新生仔における個体識別法: 発育および行動学的な評価

生物医学の研究の多くの領域において、群飼育をしているげっ歯類を使用する場合、ケージ内で個体識別をする必要がある。個体識別法が新生仔マウスの発育や健康に与える悪影響を評価するために計画された研究はほとんどない。本研究では、生後5日齢のC57BL/6Jマウスに、3つの識別方法(足指切取法、足指入れ墨法、マイクロチップ皮下埋込法)を適用した。使用した識別方法のすべてで、長期間個々の動物を識別するのに効果的であることが示された。新生仔マウスにとって、足指切取法、足指入れ墨法の順でその手技に

際する痛覚反応が少なく、マイクロチップ皮下埋込法は最も苦痛の大きい手技であった。足指切取法で切り取られた組織片は、ジェノタイピングに十分量であることが示されたことは重要である。体性および神経反射は出生後に発達を促されるが、本研究での各個体識別処置により、これらの反射反応に顕著な変化は観察されなかった。さらにいづれの識別方法も、動く、つかむ、よじ登るといった成熟動物の一般的な通常の行動を有意に阻害することはなかった。簡易SHIRPAテストやロータロッドテスト、高架式十字迷路テストによって評価

を行ったところ、運動感覚機能に関しても有意な変化は認められなかった。20週齢で安楽死を施し胸腺および副腎の重量測定の結果、識別法の実施に起因する慢性的なストレスの兆候は認められなかった。我々は、ジェノタイピングが必要な場合、足指切取法は極めて幼若な新生仔マウスにおいては賢明な方法でさえあると結論づける。足指入れ墨法も新生仔マウスには適当な識別法である。そしてマイクロチップ皮下埋込法は、ある程度発育した新生仔マウスか、離乳マウスにのみ使用すべきである。(翻訳:近藤 泰介)

Castelhano-Carlos MJ, Sousa N, Ohl F, Baumans V. Laboratory Animals 44 (2): 88-103, 2010.



キーワード: マウス、個体識別法、動物福祉、発育、行動

## 翻訳43-5

### 個別換気式ケージで飼育されたラットにおいて、ポプラ製構造物と制限給餌が活動性、血圧、心拍数、糞便中へのコルチコステロン及び免疫グロブリンAの排出に及ぼす影響

本研究では、個別換気式ケージ内へのある種の構造物の設置が、ラットの活動性、心血管パラメータ、糞便中のストレス指標物質に及ぼす影響を調べた。構造物は、いずれもポプラ木材から作製された、1板材を十字に交差させた板壁(ケージ内隔離)、2)1)に加え、板にドリルで穴を開け固形飼料を詰めた板壁(ケージ内隔離+給餌制限用)、3)長方形の筒状構造物といった3種類であり、それぞれの影響を比較した。BN及びF344系統の雄ラット各12匹を3匹ずつの群に分けて飼育を行った。平均動脈圧(MAP)

及び平均心拍数(HR)を測定するため、各群の匹にテレメリー送信機を腹部に埋め込んだ。クロスオーバー法に従い、各動物群をそれぞれの居住条件で14日間飼育した後、糞便を回収し成分解析を行った。2、6、10、14日目における平均活動値と、MAP及びHRの変動係数を算出した。MAP及びHRの有意差が、生物学的に意義があるか判断するために、コントロール群における14日目のMAP及びHRの昼夜間の差を用いた。ケージ内に板壁を設置した2群では、F344ラットのMAPは低下した。よって、板壁によるケ

ージ内の隔離は、F344ラットの苦痛軽減に対して有益であると考えられる。一方、BNラットにおいては、構造物の設置によるMAPあるいはHRの生物学的な有意な変化はみられなかった。糞便中コルチコステロン及び免疫グロブリンAの排出に関しては、両系統間及びケージ内の構造物間においても、有意差はみられなかった。結論として、このような構造物に対する動物の応答には遺伝的背景が大きく関与するため、ラットケージの構造に関して一般的な推奨事項を定めることは困難である。(翻訳:山本 貴恵)

Kemppinen N, Hau J, Meller A, Mauranen K, Kohila T, Nevalainen T. Laboratory Animals 44 (2): 104-112, 2010.



キーワード: ラット、飼育環境、環境エンリッチメント、系統差

## 翻訳43-6

### プロポフォル-セボフルラン麻酔法のニュージーランドホワイト(NZW)ウサギへの適用

34匹のNZWウサギへの麻酔導入としてプロポフォルを静脈内投与し、続いてセボフルランを酸素とともに吸入させ麻酔を維持させた。導入に必要なプロポフォル量は $16 \pm 5$  mg/kg、酸素中セボフルラン濃度は $4.0 \pm 0.5$  %であった(数値はすべて平均 $\pm$ 標準偏差)。これらすべてのウサギにおいて卵巣子宮摘出術を行い、心拍数、呼吸数、ヘモグロビン酸素飽和度、呼吸終末での二酸化炭素及びセボフルラン濃度、食道の温度を5分おきに測定した。また、麻酔の導入から気管チューブの抜管及び自力で腹ばいに戻るまでにかかる時間を記録し、その間の回復状態を評価した。19匹のウサギには耳介動脈に

カテーテルを挿入し直接動脈血圧値(mmHg)を5分おきに記録し、11匹のウサギからは動脈血を気管挿管後及び回復時に採取し血液ガス分析を行った。本実験では、プロポフォルの使用により無呼吸症状を生じることなく速やかに麻酔を誘導することができた。また1匹を除いたすべてのウサギにおいて、プロポフォル投与後 $4 \pm 3$ 分で気管挿管に成功した。麻酔時における換氣的な補助は一切必要とせず、そのときの呼吸数は $51 \pm 8$  bpm、呼吸終末の二酸化炭素濃度(kPa)は $4.0 \pm 0.5$  mmHgであった。血液ガス値は正常値を維持しており、また平均動脈圧は $73.4 \pm 7.9$  mmHgであった。セボフルラン麻酔終

了後から嚙下反射が復帰するまでの時間は $2 \pm 1$ 分であり、自力で腹ばいに戻るまでの時間は $8 \pm 0.3$ 分であった。麻酔によって死亡した個体はなく、すべてのウサギが事故もなく回復した。本研究より、プロポフォルとセボフルランによる麻酔法は、卵巣子宮摘出術において良好な麻酔状態を誘導し、安定した心肺状態を維持できることが示された。特に若い健康なNZWウサギに手術を行う場合には、本麻酔法は効果的で実用的な方法であると考えられる。(翻訳:南川 真有香)

Allweiler S, Leach MC, Flecknell PA. Laboratory Animals 44(2): 113-117, 2010.



キーワード: ウサギ、ニュージーランドホワイトウサギ、プロポフォル、セボフルラン、麻酔法の洗練

## 日本実験動物学会の動き

### 1. 第3回疾患モデルシンポジウムのご案内

第3回疾患モデルシンポジウムを以下の日程で開催いたします。奮ってご参加ください。  
 日時:平成22年11月18日(木)13:30~17:00  
 場所:中央大学 駿河台記念館 370号室 <http://www.tsukyo.chuo-u.ac.jp/access/surugadai.html>  
 テーマ:精神神経疾患のモデル動物とその応用  
 詳細:学会ホームページをご参照ください。 <http://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/meeting/modelsympo.html>  
 参加費:無料

### 2. 平成22年度維持会員懇談会の開催

本年度の維持会員懇談会の日程が以下の通り決定しました。  
 日時:平成22年11月17日(水)13:30~19:30(懇親会を含む)  
 場所:中央大学 駿河台記念館 670号室 <http://www.tsukyo.chuo-u.ac.jp/access/surugadai.html>  
 テーマ:創薬評価と病態モデル動物  
 詳細:学会ホームページをご参照ください。 <http://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/meeting/ijikai.html>

### 3. 第58回日本実験動物学会総会

標記の総会が平成23年5月25日(水)~27日(金)の期間、米川博通大会長のもとタワーホール船堀で開催されます。奮ってご参加下さい。詳細につきましては第58回日本実験動物学会総会ホームページ(<http://www.ipec-pub.co.jp/58jalas/index.html>)をご参照ください。

## 日本実験動物技術者協会の動き

### 第45回日本実験動物技術者協会総会のご案内

The 45th Annual Meeting of Japanese Association for Experimental Animal Technologists  
 会期:2011年9月30日(金)~10月1日(土)  
 会場:盛岡市民文化ホール  
 大会長:高橋 智輝(岩手医科大学動物実験センター)

#### 北海道支部

講習会等	期日	場所	テーマ
実験動物実技講習会	H22.11	北海道大学	実験動物技術者2級実技講習(マウス・ラット)

#### 奥羽・東北 支部

講習会等	期日	場所	テーマ
奥羽・東北支部合同勉強会	H22.12.4	東北大学医学部第一講堂	特別講演、教育講演、一般演題などを予定

#### 関東 支部

講習会等	期日	場所	テーマ
第27回サル専門部会	H22.10.2	順天堂大学医学部9号館2階(JR御茶ノ水駅)	「実験用霊長類のエンリッチメント」 【特別講演】森村成樹先生(京大 野生動物研究センター)
実験動物の取り扱い、 実験手技および比較解剖	H22.10.28 ~10.30	慶應義塾大学医学部 (信濃町)	マウス、ラットの基本的な取扱い、投与、解剖など
第12回REG部会	H22.11.13	順天堂大学医学部10号館 1階(JR御茶ノ水駅)	特別講演、教育講演、施設紹介、 一般演題などを予定
日本実験動物技術者協会 関東支部総会第36回懇話会	H23.3.5	府中グリーンプラザ (東京都府中市)	【特別講演】「カニクイザルのSPF化の現状と今後の展望 (仮題)」藤本浩二先生(社団法人 予防衛生協会) 【シンポジウム】「日常管理の消毒と実際 ~消毒薬の選定法と 安全な取り扱い~」

<http://jaeat-kanto.adthree.com/> 参照

#### 東海 支部

講習会等	期日	場所	テーマ
実験動物実技講習会	H22.10.23	名古屋市立大学	実験動物2級技術者実技講習(マウス・ラット)
日本実験動物技術者協会 3支部交流会(東海・関西・北陸)	H23.1.22	愛知県産業労働センター "ウインクあいち" (名古屋市)	講演またはシンポジウムの予定(テーマは未定)

#### 関西 支部

講習会等	期日	場所	テーマ
平成22年度上級技術講習 会(モルモット、ウサギ)	H22.10.2~ H22.10.3	神戸市内	実験動物一級技術者レベルの実技講習 (社)日本実験動物協会協賛)
第66回実験動物学習会(実技)	H22.11	大阪府内	実験動物二級技術者レベルの実技講習



# 協会だより

## 1. 平成22年度認定 実験動物技術指導員及び準指導員

指導員 10名

名前	勤務先
井本淳一	富士フィルムR&I(株)
伊藤由広	ハムリー(株)
高田一真	(株)ケー・エー・シー
吉田正尚	味の素製薬(株) 創薬研究センター
白石政明	(財)動物繁殖研究所
太田有紀	(株)サイエンス・サービス
門内 誠	(株)中外医科学研究所
柳井邦男	住化テクノサービス(株)
竹原 広	(財)食品農医薬品安全性評価センター
高橋智輝	岩手医科大学 動物実験センター

準指導員 7名

名前	勤務先
三上博史	北山ラベス(株)
若松真矢	(株)新日本科学
小田部 淳	(株)ジェー・エー・シー
前田宗紀	一丸ファルコス(株)
藤田和隆	(株)大阪ビル管理
堀切一美	埼玉医科大学 実験動物部門
中沖貴宏	三協ラボサービス(株)

## 2. 行事予定

委員会名等	開催月日	協議内容及び決定事項
第2回情報専門委員会	22.10.4	LABIO21のNo.43の企画について
第2回請負・派遣対策専門委員会	22.10.5	請負・派遣のQ & Aについて
通信教育スクーリング (東京)	22.10.23~24	日本獣医生命科学大学
モルモット・ウサギ実技研修会 (1級向)	22.10.23~24	日本獣医生命科学大学
第3回モニタリング技術専門委員会	22.10.27	環境モニタリング、その他
実験動物 2級技術者実技試験	22.11.27	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
実験動物 1級技術者実技試験	22.11.28	日本獣医生命科学大学

## 3. 専門委員会等活動状況

委員会名等	開催月日	協議内容及び決定事項
技術指導員の面接審査	22.7.6	本会会議室
感染症の診断・予防実技研修	22.7.9~10	モニタリング研修会(実験動物中央研究所)
第1回教育・認定専門委員会	22.7.13	1級実技試験、白河研修会他
第1回総務会	22.7.16	定款について他
試験問題作成委員会	22.7.18~19	1・2級試験問題作成
第2回実験動物福祉調査・評価委員会	22.7.20	第2期実験動物生産施設等福祉調査の実施について
第2回モニタリング技術専門委員会	22.7.29	環境モニタリング、その他
実験動物2級技術者学科試験	22.8.22	日本獣医生命科学大学他12か所
第1回採点合否判定委員会	22.8.31	2級学科試験の合否判定
通信教育スクーリング(京都)	22.9.4~5	京都府立医科大学
第2回総務会	22.9.6	新公益法人会計法について
実験動物高度技術者養成研修会	22.9.13~17	(独)家畜改良センター (白河)
実験動物1級技術者学科試験	22.9.18	白河、東京、大阪、倉敷、宮崎
第2回採点合否判定委員会	22.9.28	1級学科試験の合否判定
第2回教育・認定専門委員会	22.9.28	教育セミナー フォーラム、その他

## 3. 関係協会団体行事

◆静岡実験動物研究会第40回総会、第38回研究会  
 日時：2010年10月22日  
 会場：三島市民文化会館

◆第3回疾患モデルシンポジウム  
 日時：2010年11月18日  
 会場：中央大学駿河記念館  
 テーマ：精神神経疾患のモデル動物とその応用

◆日本実験動物代替法学会第23回大会  
 日時：2010年12月3～5日  
 会場：北里大学薬学部1号館・コンベンションホール  
 会長：黒澤努

◆第28回九州実験動物研究会総会  
 日時：2010年10月23～24日  
 会場：福岡大学R I 講義棟

◆日本環境変異原学会第39回大会  
 日時：2010年11月16～17日  
 会場：つくば国際会議場

◆関西実験動物研究会第108回研究会  
 日時：2010年12月10日  
 会場：みやこめっせ

## 5. 海外行事

◆第61回National Meeting(AALAS)  
 日時：2010年10月10～14日  
 会場：Atlanta GA  
 詳細：<http://www.nationalmeeting.aalas.org/>

◆第4回AFLAS総会  
 日時：2010年11月9～11日  
 会場：Taipei International Convention Center  
 詳細：<http://www.aflas2010.org>

# KAZE

8月初頭に、猛暑の東京を逃れて群馬県の吾妻峡近くの友人夫婦を家内と訪れた。例年避暑と近隣の温泉と旧交を温めるための訪問なのである。

この近くに例のハツ場ダム建設現場がある。まだ真新しい橋脚などに未来の廃墟の風を感じ違和感を覚えたが、もっと驚いたのは、有名な川原湯温泉を訪れた時であった。夕方でもあったのだろうが、ほとんど人と行き交いもなく、寂れかけていた10年ほど前の賑わいすらない。灯りの消えた温泉宿や廃屋が半分以上、点いている宿でも節約のため照度を落としているのだろうか、うら寂しく、街全体に侘しい風が吹き抜けているようだった。

ダム建設の工事が進捗するに従い、激しい賛否の対立も諦めと妥協の結果、収束していったと聞く。苦渋の決断の中、移転した人、設備投資も控えてもギリギリまで頑張ってきた人、様々であろう。そこへ、突然の建設中止。吾妻峡の溪谷美は大分の耶馬溪にも匹敵するといわれ、これが残るのは幸いだが、残った人、移転して行った人、双方ともに虚しさを感じているのではなかろうか。この川原湯温泉を吹き抜ける風が、この地に所縁の方々の無念の風なので、と愚えて仕方がなかったのである。

折から動物の愛護と管理に関する法律改正が俎上に載ってきている。このダム建設のように、方向性が迷走しないように業界の一致団結に期待したいものである。  
 [大島誠之助]

## STAFF

### 情報専門委員会

担当理事	新関 治男	HARUO NIIZEKI
委員長	山田 章雄	AKIO YAMADA
委員	荒巻 正樹	MASAKI ARAMAKI
〃	大島誠之助	SEINOSUKE OHSHIMA
〃	河野 公雄	KIMIO KAWANO
〃	川本 英一	EIICHI KAWAMOTO
〃	木藤 実	MINORU KITOH
〃	日柳 政彦	MASAHIKO KUSANAGI
〃	久原 孝俊	TAKATOSHI KUHARA
〃	櫻井 康博	YASUHIRO SAKURAI
〃	椎橋 明広	AKIHIRO SHIIHASHI
事務局	前 理雄	MICHIO MAE
〃	関 武浩	TAKEHIRO SEKI
〃	工藤 慈晃	NARIAKI KUDO

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

私たちチャールス・リバー・グループは  
トータルソリューションを提供し、  
人類の健康と動物福祉を考えるグローバル企業として、  
医薬品などの研究開発分野に貢献してまいります。



プロダクトおよびサービス

遺伝子組み換えサービス

細胞レベルでの*in-vitro*実験

エンドトキシンサービス

各種実験用動物

手術・血清血漿サービス

実験用動物の飼育サービス

受託試験サービス

実験動物のヘルスマニタリング

前臨床および臨床試験

日本チャールス・リバー株式会社

本社 〒222-0033 横浜市港北区新横浜 3-17-6 イノテックビル11F TEL.045(474)9340 FAX.045(474)9341  
カスタマーサポートセンター 厚木飼育センター 日野飼育センター 筑波飼育センター 横浜飼育センター  
モニタリングセンター 横浜SASセンター 大阪SASセンター  
横浜試験サービスセンター 大阪試験サービスセンター

**Supporting Your Dream Of Innovation For Life Science**

「生命科学の発展」へのベストパートナー  
**Japan SLC, Inc.**

日本エスエルシーは動物愛護の精神を尊び  
大切な研究テーマにあった実験動物を提供してまいります。



日本エス エル シー株式会社  
— <http://www.jslc.co.jp> —