

LABIO 21

Japanese Society for Laboratory Animal Resources



公益社団法人

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

【連載特集】

実験動物としてのラットの有用性(Ⅲ)

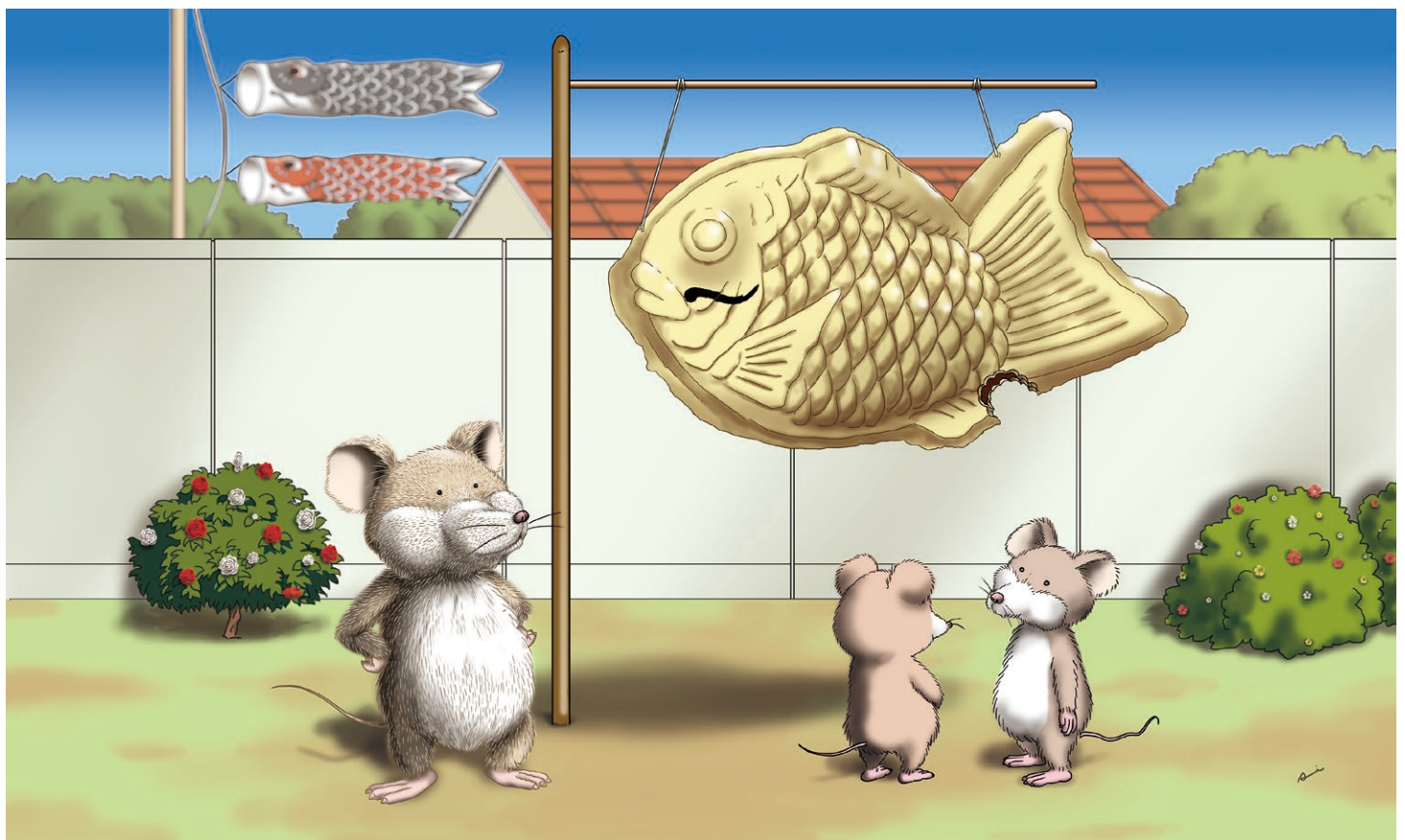
実験用ブタを巡る情報(Ⅰ)

イギリスの一般市民への動物実験に関する情報発信の状況

訪問調査研究の報告(Ⅱ)

【研究最前線】

異種移植の現状と課題



未来に繋げる技術と信頼

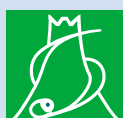


SLCの業務内容

- 生物検定・安全性試験・薬理試験を含む様々な試験に最適な動物の生産・供給。
 - SPF動物 ●疾患モデル動物 ●Tg動物 ●Conventional動物
- ◆安全性試験(非GLP)および薬効薬理試験などの受託サービス。
- ◆トランスジェニックマウス・ラットおよびノックアウトマウスの作製。
- ◆マウス・ラットのSPF化(子宮切断術・受精卵移植)、受託飼育、体外受精および顕微授精技術を用いた希少動物の飼育のお手伝い。
- 臓器摘出モデル動物・痛覚過敏モデル動物・薬物病態モデル動物・カテーテル挿入モデル動物・特殊処置モデル動物などの外科的病態モデル動物の供給。
- PMI社製マウス・ラット・モルモット・ウサギ・新世界ザル・イヌ・フェレット等の飼育飼料の供給。
 - 一般飼育用飼料／**LabDiet** ●特殊飼料／**TestDiet**

PMI社HPアドレス <http://www.labdiet.com> **LabDiet**の日本語資料は日本エスエルシー(株)へご請求ください。

上記の ■ 項目のお問い合わせは本社各エリア営業専用電話までお問い合わせください。
上記の ◆ 項目のお問い合わせはBTセンターまでお問い合わせください。



SLC

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371番地の8
TEL (053) 486-3178(代) FAX (053) 486-3156
— <http://www.jslc.co.jp/> —

営業専用
T E L 関東エリア(053)486-3155(代)
関西エリア(053)486-3157(代)
九州エリア(0942)41-1656(代)

BTセンター (053)437-5348(代)



絵 石井 朗

イラストレーター

1984年よりイラストレーター及川正通氏のスタジオに所属し、エアブラシによるイラストの作成。2000～2012年まで及川スタジオの依頼でコンピューター作画での情報誌（ぴあ）表紙の制作に携わる。2012年以降は、これ迄に蓄積したコンピューター技術を用いて、イラスト以外にもアニメーション・音楽制作など範囲を拡げて活動している。

エーアイ・イラスト・コンプ社 代表

目 次

巻頭言 第67回日本実験動物学会総会に向けて（塩谷恭子）	4
連載特集 実験動物としてのラットの有用性（Ⅲ）	
ラットを用いたオプトジェネティクス（光遺伝学）	
（八尾寛、深澤有吾ほか）	5
ラット体外受精とゲノム編集（濱田和弥、森田健斗、本多新）	9
米国で進められているシステム遺伝学プロジェクトのためのHybrid Rat Diversity Program（滝澤明子、Melinda R Dwinell）	13
連載特集 実験用ブタを巡る情報（Ⅰ）	
連載にあたって（堤秀樹）	16
実験動物としてのミニブタの有用性（矢吹慎也）	17
トピックス	
畜産・生産獣医療におけるIoTおよびAIの活用（吉岡耕治）	21
研究最前線	
異種移植の現状と課題（霜田雅之）	25
連載特集 イギリスの一般市民への動物実験に関する情報発信の状況	
訪問調査研究の報告（Ⅱ）	
英国における動物実験に関する情報公開のための協定	
（加隈良枝、久原孝俊、笠井憲雪）	30
ほんのひとりと	34
海外文献情報	
動物の安楽死に関する米国獣医師会（AVMA）のガイドライン2020年版（久原孝俊）	35
ラボテック	
中性高濃度次亜塩素酸水の生成装置（林元比古、洗暢俊）	37
実験動物技術者試験を受験して	
（高坂純寧、大河原直、北本隼也、森下理奈子、石井和樹）	40
読者との対話 LA-house	43
日本実験動物学会の動き／日本実験動物技術者協会の動き	44
協会だより	45
KAZE	46



貴重なデータを保持した実験動物を
安全・確実・清潔に全国へお届けします。

お客様の多彩なニーズにお応えできる車両をご用意

1 t 保冷車（空調車）9 台	4 t 保冷車エアサス（空調車）1 台
2 t 保冷車（うち空調車 3 台）4 台	4 t 保冷車エアサス PG（空調車）2 台
3 t 保冷車 PG（空調車）3 台	4 t 保冷車（温調車）1 台
	4 t 保冷車（空調車）2 台



マウス・ラット輸送箱

滅菌した輸送箱を事前にお届け致します。

サル輸送ケージ

特定外来生物の飼養等の許可を受けているケージをご用意しております。

ブタ用荷台柵

ケージに入らないブタ・遺伝子改変ブタにご対応致します。



カーテン・フィルタ・ネズミ返し

積載室の温度管理や虫を防ぐためのカーテン、大気中の砂・ほこり・カビ・菌等の不純物を防ぐためのフィルタ、積載室の動物（遺伝子改変動物）の逃亡防止のためにネズミ返しの設置をしています。



最大 1 億円の車両保険

保冷装置、温度調節機などの破損、故障の際に運送中のものが壊れたり、死んでしまった場合は補償になります。
万が一動物輸送中に冷蔵機が故障した場合の対処は菱重コールドチェーンの全国のロードサービスで 24 時間 365 日対応します。

 **Kuzuu Vector Science Inc.**
~Sicurus imperium transportation of ago bestia pro medical~
有限会社葛生運送 メディカルバイオ・アニマル輸送部

千葉県成田市新田 280-1
TEL 0476-73-2403
FAX 0476-73-2419

葛生運送 

<http://www.kuzuu.transport.com>
info@kuzuu.transport.com

第67回日本実験動物学会総会に向けて

第67回日本実験動物学会総会

大会長 塩谷 恭子

(国立研究開発法人 国立循環器病研究センター)

この原稿依頼を受け、パソコンに向かって1文字も進まない日々が続いています。

皆様のもとへ届けられた時、私はどんな顔をしているのでしょうか？

新型コロナウイルス感染症の出現で、様々なお問い合わせが来るようになり、慌ただしくしています。折角いただいたチャンスを生かせないのか？本当に精力的に協力して活動してくださっている皆様に感謝しかないのに。。。。。。いつ終息するのか？悩み過ぎて10円禿ができるのではと思うぐらい悩みました。試練。。。。。。ただ、試練。。。。。。本当にしんどかった。

でも、切り替えました。なるようにしかならない。そう、なるようになるのです。

きっと、明るく、そして焦りながら5月23日を迎えられるだろうと。。。。。。

と、いうことで5月大阪のお話をさせていただきます。

2020年5月23日から25日に大阪国際会議場10階において開催いたします。

世界の2位3位の長寿大国の日本の健康長寿を支え、医学・医療の発展には実験動物の大きな力があります。その実験動物にフォーカスをあてながら、た

くさんの方々の伝えたい想いについて掘り下げていきます。その中心に、大切なご家族を亡くされたがんの遺族の方や臨床医の方のご講演をいただき、さらに、イギリスのUnderstanding Animal ResearchのWendy Jarrettさんに2つの特別シンポジウムを通して伝えたい想いをお話いただきます。

さらにシンポジウムが8コマ企画されています。どれも、興味深い内容で、お話しいただく演者の方も凄い方ばかりです。これらの企画を計画いただいたオーガナイザーの皆様の精力的な活動に感謝を伝えたいです。

また、日頃より浦野理事長よりこれからはオールジャパンの時代であるとたたきこまれ、また、その必要性は十分に理解している、その第1歩として、今回は文部科学省・厚生労働省・農林水産省の皆様にもご協力をいただき、すそ野の広い大会を目指しております。

さらに、本年は日韓ジョイントシンポジウムの日本開催の年にあたります。こちらにも是非、足をお運びください。

他にもLASセミナー・教育フォーラム・教育セミナー・国際賞もトピック的要素も十分に開催いたします。若手の方を中心に若手優秀発表賞も見逃せません。

3階のイベント広場では器材協さんの協力のもと楽しい器材展示とポスター発表を行います。

例年と同じくランチョンセミナーやホスピタリティールームもご用意しております。

そして、今回イレギュラーな土曜・日曜・月曜日の開催にあたり、この日にしかできないこととして、24日にファミリーデーを開催いたします。学会員・維持会員のご家族をご招待して日頃より、伝えなかった想いを形にして解りやすくお話しする機会をもうけました。ご参加には事前申し込みが必要です。あらかじめ事務局までご連絡いただきますようお願いいたします。

今年の大会はいろいろあってあれもこれも参加したくて迷ってしまう。そんな大会を目指して日々準備しております。準備をしている皆の想いが伝わりますように。皆様に笑顔でお目にかかれそうですよう祈念しております。

この度の新型コロナウイルス感染症の感染拡大に伴い、本大会は急遽中止となりました。

ラットを用いたオプトジェネティクス (光遺伝学)

八尾 寛¹⁾、深澤 有吾²⁾、富田 浩史³⁾、五十嵐 敬幸⁴⁾

1) 東京大学物性研究所

2) 福井大学学術研究院医学領域脳形態機能学分野

3) 岩手大学理工学部生命コース

4) Robarts Research Institute, University of Western Ontario

オプトジェネティクス

脳は、ニューロンのネットワークにより構成されている。電気的な信号がニューロンからニューロンへ受け渡しされることにより、情報の流れが作られ、感覚、運動、統合という脳の高次機能が生み出されている。しかし、個々のニューロンの活動がどのように高次機能を作り出しているのかは、神経科学の究極の課題である。これを解明するにあたり、同定されたニューロンの活動とその操作を、ネットワークの活動や行動学的な表象と関連付ける双方向的解析が重要である。

微生物型ロドプシンファミリータンパク質の中に、可視光に応答してイオンを輸送する機能を有するものが数多くある(図1)¹⁾。たとえば、クラミドモナス由来のチャンネルロドプシン2(ChR2)は、単一の分子で、光感受性と陽イオンチャネルの機能をあわせ持っているため、「光が当たると電気を流す」いわば“光スイッチ”の働きをする。ニューロン膜を介し、細胞内は、 $-60 \sim -80$ mV に分極している。

そこで、遺伝子組み換え技術を応用し、ニューロン膜にChR2を組み込むことにより、光照射に瞬時に応答して細胞内に陽イオンが流れ込み、細胞内外の電位差が変化する(脱分極)。この電位変化により、ニューロン固有の電位依存性の Na^+ や K^+ チャネルが活性化され、活動電位が引き起こされ、信号となって神経を伝わり、末端のシナプスを介して、別のニューロンに情報を伝達する^{2,3)}。このようにして、脳のニューロンネットワークが活動し、感覚、運動、統合という脳の高次機能が、光刺激により誘発される。これに対して、外向き H^+ トランスポーターや内向き Cl^- トランスポーター機能を有するポンプロドプシンは、光刺激に同期した過分極を

引き起こすので、活動電位閾値が高くなる。その結果、ニューロンネットワーク活動が抑制され、脳機能が抑制される。この手法は、オプトジェネティクス(光遺伝学)と総称され、チャンネルロドプシンなどの天然・人工の様々な光感受性タンパク質がオプトジェネティクス分子として利用されている⁴⁾。場所、形態、遺伝的特性などにより同定されたニューロンを高い空間的解像度で特異的に刺激できること、オプトジェネティクス分子の選択により、活動促進、抑制を選択できること、低い組織侵襲性、電気活動計測時のアーチファクトが小さいことなどの点において、従来の電気刺激法や化学刺激法に比べ優れている。したがって、オプトジェネティクス分

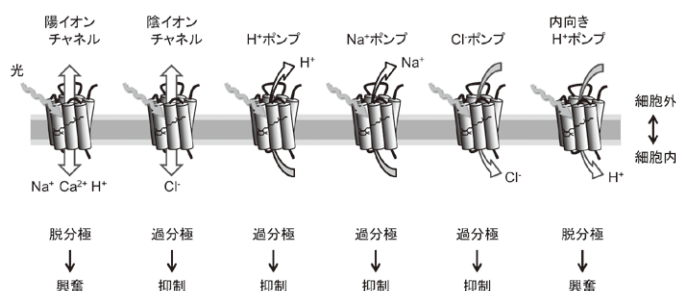


図1 イオン輸送機能を有する微生物型ロドプシンの種類およびそのオプトジェネティクス効果

子の遺伝子を組み込んだモデル実験動物を作製することにより、高次脳機能の基盤となる神経ネットワークの研究が飛躍的に促進されることが期待される。

マウスは、遺伝学的介入方法が早期に確立したことから広く実験動物として利用され、発生学、生理学、神経科学をはじめとする多くの学問領域の理解を押し広げた。同じげっ歯類に属するラットは、マウスと比較し、(i) 体のサイズが大きく外科的処置が容易である、(ii) 生理学的特徴がよりヒトに近い、(iii) 複雑な行動実験が可能である、といった特徴を有し、実験動物として膨大な研究の蓄積がある。ここでは、オプトジェネティクスモデル動物として筆者らが作製した2種類のトランスジェニックラットについて、その概要を解説する。

Thy1-ChR2トランスジェニックラット

生体内のある細胞種と生体機能の関係を論理的に検証するにあたり、その細胞種特異的に機能操作遺伝子を発現することが理想的である。これには、細胞種特異性の高いプロモータを用いた発現制御法が用いられている。しかし、特異性、効率などにおいて最適なプロモータが得られるとは限らない。これに対し、ショウジョウバエやゼブラフィッシュなどの小動物では、目的遺伝子を無作為にゲノムに挿入し、遺伝子発現フェノタイプをスクリーニングすることにより、発現特異的な系統が様々に作り出されている。マウス・ラット

においては、Thy1.2 ゲノム挿入システムを用いたトランスジェニック法により、同様の遺伝子発現フェノタイプの多様性が出現する。筆者らは、Thy1.2 プロモータの制御下に ChR2 遺伝子と Venus 遺伝子（緑色蛍光タンパク質改変体）を発現する DNA を Wistar ラット受精卵に注入し、別に用意した偽妊娠ラットの輸卵管に移植した。その結果、導入遺伝子を継代する8系統 (W-TChR2V1～8) を得た⁵。その中には、特定の脳領域の一部の神経細胞のみに限定した ChR2-Venus 発現を示すものが含まれていた。たとえば、W-TChR2V4 においては、大脳皮質や海馬など脳の様々な領域のニューロン特異的に ChR2 が発現していた⁶。したがって、光照射により中枢神経のある特定の領域を活動させることにより、神経ネットワークの機能的結合、動態、病態などの研究が促進される^{6,9}。

視覚再建研究モデルラット

網膜色素変性症、加齢黄斑変

性症は、中途失明の最大要因であり、ともに、網膜の光を受容する細胞（視細胞）を喪失することにより視機能が障害される。しかし、眼から脳へと視覚情報の伝達を担う神経節細胞は比較的良く保たれているので、神経節細胞に ChR2 遺伝子を導入し、光感受性を獲得した神経節細胞で光を受容し視覚を再建する治療法が検討されている。

W-TChR2V4 ラットでは、網膜神経節細胞に特異的に ChR2 が発現している⁵。このラットでは、強い青色光刺激特異的に大脳皮質応答が増強するとともに、潜時が減少した。すなわち、視細胞と ChR2 を発現する神経節細胞の2つの光受容システムが共存しており、どのような視覚世界を有するか興味深い。さらに、視細胞喪失後も強い青色光刺激で大脳皮質応答や視覚依存的な行動が誘発され、W-TChR2V4 ラットがオプトジェネティクスを用いた視覚再建研究のモデル動物になることが示唆された。

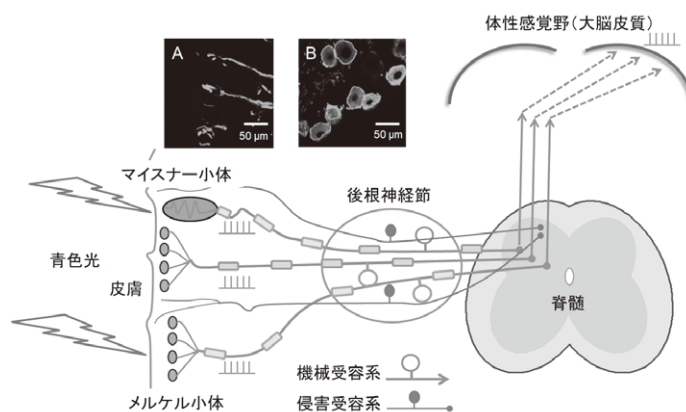


図2 機械受容感覚系特異的なチャネルロドプシンの発現

Thy1-ChR2トランスジェニックラットの1系統 (W-TChR2V4) では、後根神経節や三叉神経節の機械受容1次ニューロン特異的にチャネルロドプシン2 (ChR2) が発現している (A. マイスナー小体入力神経端; B. 後根神経節細胞体)。このラットは、足掌などの皮膚に照射した青色光を触覚として知覚する。

触覚研究モデルラット

皮膚、筋肉、関節などにおける体性感覚は、機械受容系と侵害受容系に大別される（図2）。たとえば触覚や筋肉、関節などに由来する深部感覚は、機械受容系であり、メルケル小体、マイスナー小体、筋紡錘などの特異的な組織に inputs する有髄大径の1次感覚神経が情報を伝達する。これに対し、痛覚、温度感覚などは、侵害受容系であり、組織中に自由神経終末を有する無髄または有髄小径の1次感覚神経が情報を伝達する。これらの1次感覚ニューロンは、体幹部では後根神経節に、顔面頭部では三叉神経節に細胞体を形成し、求心性軸索を脊髄や延髄に投射する。W-TChR2V4 ラットにおいては、後根神経節や三叉神経節の機械受容ニューロン特異的にChR2-Venusが発現している（図2A, B）が、侵害受容ニューロンには発現していないため、両者を区別し、機械受容系特異的に光刺激できる^{10,11}。ゆえに、触覚情報処理、触覚-痛覚相互作用の生理学、病態研究のモデルになる¹²⁻¹⁵。たとえば、われわれは触覚を介して、ものの形、大きさ、重さ、運動、手触りなどの複合的な知覚を得るとともにこれらを視覚など他の感覚モダリティと関連付けている。これら複合的な知覚が、脳の中でどのように処理されているかに関する神経生理学的研究を促進することが期待される。

イン・ビボ光操作に最適化したレポーターラット

ある神経回路が担う行動や生理機能を理解する上で、特定さ

れた細胞集団のみを高い時空間分解能で活動操作することが必須である。既存の電気刺激、薬理学的刺激、人工受容体の活性制御を用いる化学遺伝学的手法と比較して、光遺伝学のアプローチは遺伝学的に限定した細胞群を光の照射範囲においてミリ秒オーダーで操作することができるという利点を有する。生体にこの技術を応用する際、細胞集団の標的化と特異性の確保に加え、オプトジェネティクス分子の光感受性とキネティクスを最適化することが重要となる。

Cre/loxP システムは特定遺伝子を時空間的に制御する方法として広く利用されている。特定遺伝子を標的とした条件付きノックアウトは広くマウスモデルで使用され、組織選択的プロモータ依存的にCre組換え酵素を発現するドライバー系統、または標的遺伝子またはStopコドンをloxP配列で挟みこんだ（“floxed”）レポーター系統が豊富に存在する。これらの利用によって、高い時空間的遺伝子発現制御が可能となり、標的とする遺伝子が個体の生理学的または行動学的表現型においてどのような役割を担っているのかが調べられてきた。ラットについても、特定神経細胞集団においてCreを発現するドライバーラット系統が開発され、ウイルスベクターを利用したオプトジェネティクスが進んでいる。しかし、オプトジェネティクス分子の遺伝子を組み込んだレポーター系統が得られれば、その細胞集団における均一な発現が見込

まれ、実験の再現性が向上する。

筆者らは、ステップ関数型キメラチャネルロドプシン変異体ChRFR（C167A）を条件付きで発現するレポーターラットを作製した^{16,17}。ChRFR（167A）は、フォトサイクルの一部が遅延しており、青色光によって活性化された状態が数十秒持続し、黄から赤色の光によって不活性化する。その結果、フォトン蓄積素子として機能するので、ChR2に比べ10倍以上高感度である。たとえ微弱な光であっても、照射時間を延長することによって効率的に神経細胞の膜電位を脱分極させ、興奮性を引き上げる。したがって、比較的大きな動物を対象としたオプトジェネティクス研究において、光を組織内のより広い領域に照射する目的やベースの膜電位を光操作し、呼吸リズムなど自発的発火頻度を調節する目的に適している^{17,18}。

おわりに

マウスに比べ、Cre/loxPなどのコンディショナル発現システムのドライバーラットの種類は極めて少ない。しかし、筆者らが報告した赤色蛍光タンパク質tdTomatoのレポーター系統は特異性と感受性に優れており、CRISPR/Casなどのゲノム編集技術と組み合わせることにより、ドライバーラットの作製を促進することが期待される¹⁹。しかし、個々の研究者が多数のラット系統を維持・繁殖するには、経済的な困難が伴う。共同利用施設やリソースの整備・拡充により、ラットのモデル動物としての利

点を生かしたオプトジェネティクス研究が促進され、神経科学、医学・生理学その他さまざまな基礎科学、応用科学の発展に寄与することだろう。

参考文献

- Kandori H. Biophysics of rhodopsins and optogenetics. *Biophys Rev.* (2020). doi: 10.1007/s12551-020-00645-0.
- Boyden ES et al. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat Neurosci.* 8. 1263-1268 (2005).
- Ishizuka T et al. Kinetic evaluation of photosensitivity in genetically engineered neurons expressing green algae light-gated channels. *Neurosci Res.* 54. 85-94 (2006).
- Yawo H et al. Optogenetic manipulation of neural and non-neural functions. *Dev Growth Differ.* 55. 474-490 (2013).
- Tomita H et al. Visual properties of transgenic rats harboring the channelrhodopsin-2 gene regulated by the thy-1.2 promoter. *PLoS One.* 4. e7679 (2009).
- Saiki A et al. In vivo spiking dynamics of intra- and extralencephalic projection neurons in rat motor cortex. *Cereb Cortex.* 28. 1024-1038 (2018).
- Abe Y et al. Opto-fMRI analysis for exploring the neuronal connectivity of the hippocampal formation in rats. *Neurosci Res.* 74. 248-255 (2012).
- Kuki T et al. Frequency-dependent entrainment of neocortical slow oscillation to repeated optogenetic stimulation in the anesthetized rat. *Neurosci Res.* 75. 35-45 (2013).
- Osawa S et al. Optogenetically induced seizure and the longitudinal hippocampal network dynamics. *PLoS One.* 8. e60928 (2013).
- Ji Z-G et al. Light-evoked somatosensory perception of transgenic rats which express channelrhodopsin-2 in dorsal root ganglion cells. *PLoS One.* 7. e32699 (2012).
- Honjoh T et al. Optogenetic patterning of whisker-barrel cortical system in transgenic rat expressing channelrhodopsin-2. *PLoS One.* 9. e93706 (2014).
- Tashima R et al. Optogenetic activation of non-nociceptive A β fibers induces neuropathic pain-like sensory and emotional behaviors after nerve injury in rats. *eNeuro.* 5. ENEURO.0450-17.2018 (2018).
- Abe K, Yawo H. Optogenetic conditioning of paradigm and pattern discrimination in the rat somatosensory system. *PLoS One.* 12. e0189439 (2017).
- Abe K, Yawo H. Quantitative study of the somatosensory sensitization underlying cross-modal plasticity. *PLoS One.* 13. e0208089 (2018).
- Liu Y et al. Optogenetic study of the response interaction among multi-afferent inputs in the barrel cortex of rats. *Sci Rep.* 9. 3917 (2019).
- Hososhima S et al. Kinetic evaluation of photosensitivity in bi-stable variants of chimeric channelrhodopsins. *PLoS One.* 10. e0119558 (2015).
- Igarashi H et al. Targeted expression of step-function opsins in transgenic rats for optogenetic studies. *Sci Rep.* 8. 5435 (2018).
- Ikeda K et al. Optogenetic analysis of respiratory neuronal networks in the ventral medulla of neonatal rats producing channelrhodopsin in Phox2b-positive cells. *Pflügers Arch.* 471. 1419-1439 (2019).
- Igarashi H et al. A novel reporter rat strain that conditionally expresses the bright red fluorescent protein tdTomato. *PLoS One.* 11. e0155687 (2016).

私たちは「実験動物技術者集団」です。

We are Technologist of Laboratory Animals.

みなさまの開発・研究のためのパートナーとして、
医療や科学の明るい未来のお手伝いを致します。

- 実験動物総合受託事業
- 技術者派遣事業
- 職業紹介事業



本社 〒160-0022 東京都新宿区新宿5丁目18番14号 新宿北西ビル7階 TEL 03-6457-3751 FAX 03-6457-3752
西日本事業部 〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田1丁目11番 4-1100号 大阪駅前第四ビル11階10号室 TEL 06-4799-9820 FAX 06-4799-9011
九州事業部 〒810-0001 福岡県福岡市中央区天神5丁目5番8号 福桜ビル5階 TEL 092-753-6697 FAX 092-753-6698

【一般労働者派遣事業（般）13-080297】
【有料職業紹介事業 13-コ-080309】



株式会社 アニマルケア
www.animal-care.co.jp

●お気軽にお問い合わせください

0120-011419

ラット体外受精とゲノム編集

京都大学大学院 医学研究科 附属動物実験施設
濱田 和弥、森田 健斗、本多 新

はじめに

ラットは基礎科学・医学研究に幅広く利用される生物である。最近ではゲノム編集技術の発達によって多くの疾患モデルラットが作製され、病気の原因解明や治療法の開発と、多岐にわたり活躍している。その一方で、同じげっ歯類の実験動物であるマウスに比べると、ラットは過排卵や体外受精(IVF)の技術開発が遅れている。モデルラットの作製には高い技術や高額な機器が必須であり、同時に多くのラットの犠牲が伴うものであった。ラットにはヒト疾患モデル開発や記憶・学習の研究などにおいてマウスとは異なる利便性があり、もしもマウスと同様の難易度および効率でモデルラットが作製できるようになれば、ラットを用いた研究の裾野が広がり新しい知見も増えることが期待できる。そのような背景で我々は「誰でも」「簡単に」「効率よく」モデルラットを開発できるような生殖工学基盤技術の開発に成功した¹⁾。本稿ではラットの過排卵、体外受精、ゲノム編集(ノックアウト:KO、ノ

ックイン:KI)について紹介する。

過排卵

従来の過排卵の手法は妊馬血清性腺刺激ホルモン(pregnant mare serum gonadotropin、PMSG)とヒト絨毛性ゴナドトロピン(Human chorionic gonadotropin:hCG)2種類のホルモンを、成熟した雌(8~13週齢)に投与することによって行われている。しかしこの方法では系統差および個体差が激しいことから、実験できる系統に制限があった。実際にラットの代表系統(特にラットのゲノム配列決定に用いられた)であるBrown Norway:BNという系統に至っては、PMSGとhCGを投与しても1匹平均2.2個しか排卵されないことが明らかになっている²⁾。そこで我々はほとんどの系統において過排卵をさせる手法を開発することに注力した。

まず週齢による影響であるが、マウスでの過排卵は成熟動物と比較して未成熟動物の方が効率が良いとされている。実際に我々も3.5週齢から5.5週齢までの個体に過排卵処理を行う

ことが効果的であることを掴んだ。次に性周期の同期化についても検討した。多くの哺乳動物は性周期に従って排卵する。マウスにおいてもPMSGとhCGの投与による過排卵が一般的であるが、プロゲステロンの投与により個体ごとの性周期を揃えれば、より過排卵が促進されることが報告されている³⁾。我々もプロゲステロンの投与でラットの性周期を同期化することを試みたが、ラットの場合はプロゲステロンの効きが弱く期待した効果は得られなかった。そこでラットの性周期同期化で効果が報告されているLuteinising Hormone Releasing Hormone:LHRHにより性周期の同期化を試みた。さらに、マウスでの過排卵効率を高めることで知られるAnti-Inhibin antiSerum:AISもPMSGとhCGの投与に組み合わせた。試した系統は、BN、Wistar、F344、Long-Evans(LE)、Sprague Dawley(SD)5系統の未成熟個体である。LHRHはPMSGとAISの投与の52~53時間前に1匹あたり200 μ lの生理食塩水に0.04mgを溶かして投

与し、PMSGは300 IU/kg、AISは1匹あたり100 μ l、hCGはPMSGとAISの投与から48～50時間後にPMSGと等量(300IU/kg)を投与した(図1)。その結果、PMSGとhCGのみ投与した試験区よりAISあるいはLHRHのいずれかを併せて投与した試験区の方がより多くの未受精卵子を得られ、4種の試薬全てを投与した試験区において最も多く排卵させることに成功した(図2a)。実際に従来の手法では1匹あたり2.2個程度しか得られなかったBNにおいて、それをはるかに上回る42個程度の卵子を得るに至った。また、LHRHを投与した場合にはBNを含む5系統全てにおいてLHRHを投与しなかった場合より得られた卵子数が増加した(図2b)。こうして安定的にラット卵子を多数得られるようになった我々は、この卵子を用いて産仔を得ることを目標とし、ラットのIVF技術の開発を

目指した。

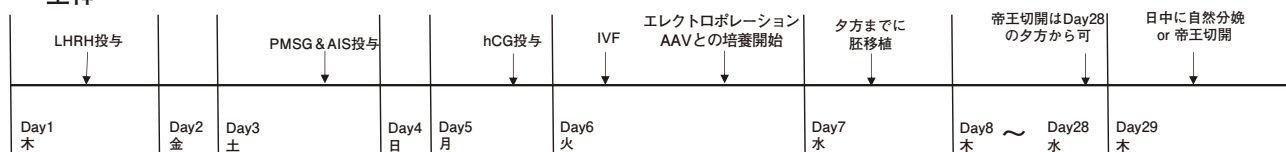
体外受精 (In Vitro

Fertilization : IVF)

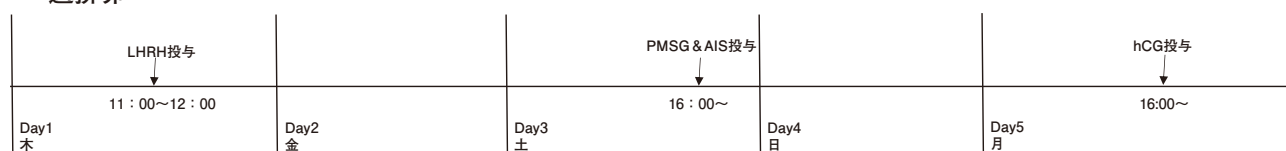
ラットのIVFは古くから可能とされており先行研究も複数ある。しかしながら、その再現は非常に困難であり、ゲノム編集技術の発達により多くのモデルラットが作製されてきた昨今の研究背景においてさえ、マウスのようにIVF経由で作製された例は皆無で、その全てが体内で受精させた卵子が用いられてきた。いくつかの先行研究ではIVFにおいて卵丘細胞卵子複合体(COC)を安楽死後速やかに採取することが重要であると報告されていたため、我々はそこに着目し採取方法を切り替えて、ラットに三種混合麻酔薬を腹腔投与し、麻酔下で卵管膨大部を摘出する方法を開発した。一般的にラット精子の受精能獲得には比較的長時間(6時間)の前培

養を要すると報告されているが、青砥らの報告⁴⁾から1時間でも可能であることが判明していたため我々もその方法に従った。1時間の前培養を経た精子と麻酔下で採取したCOCを一つのドロップで6時間培養し、その後卵丘細胞や精子を洗浄してその受精率を調べた。透明帯タンパク質のジスルフィド結合を解離して透明帯を“ゆるく”する還元型グルタチオン:GSHの有無についても検討した。GSHは特にマウス凍結融解精子での体外受精で効果を発揮することが知られている。GSHの添加は系統差もあり、さほど高い効果は得られなかったが、全体的に55.2～98.3%の卵子が受精していた。一晚培養した1～2細胞期胚を偽妊娠交配済の雌ラットの卵管に移植したところ、体外受精由来の産仔が得られその効率性は16.5～28.6%であった。過排卵に続きラットの体外受精で産仔まで

・全体



・過排卵



・IVF、KO、KI

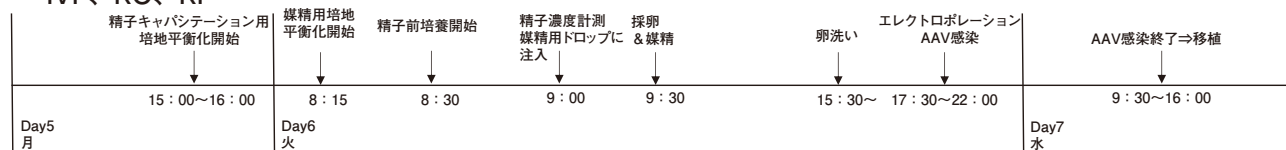


図1 ゲノム編集ラット作製に関する全体および各項目のタイムスケール

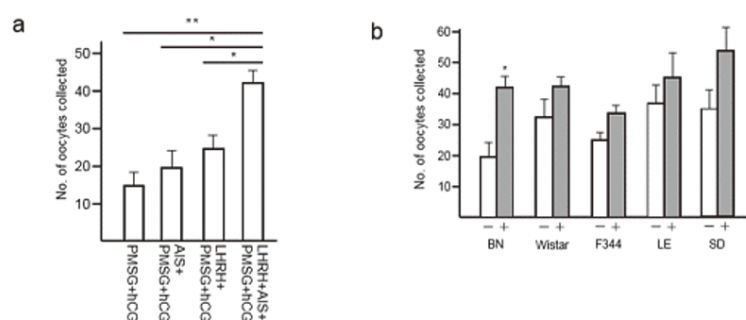


図2

(a) LHRH、PMSG、AIS、hCG投与の組み合わせとその採卵数 (BN系統)

(b) PMSG、AIS、hCGの投与に加えてLHRH投与なし (－) と投与あり (＋) におけるBN、Wistar、F344、LE、SDの採卵数

得るに至った我々はその受精卵を用いてゲノム編集を試みた。

CRISPR/CAS9のエレクトロポレーションによる遺伝子ノックアウト (KO)

前述したように、全てのゲノム編集ラットは体内で受精させた卵子で作製されてきた。麻酔下で採卵すればIVFにより産仔が得られることが判明したため、次はIVF由来卵子でのゲノム編集を試みた。一般的にゲノム編集の効率は毛色の責任遺伝子であるチロシナーゼ (*Tyr*) が用いられることが多い。そこで我々は有色系統であるBNで *Tyr* を破壊することにした。特に *Tyr* はエクソン2の896Gの一次構造が重要で、その部分さえ破壊さ

れば確実にアルビノになることが知られているため、ゲノム編集効率を表現型で確認しやすい。また、ラットでの遺伝子KOはマイクロインジェクション、エレクトロポレーション、およびGONAD法が開発されてきたが、我々は「誰でも」「簡単に」「効率よく」を強く意識していたことから、最も簡便とされているエレクトロポレーション法を活用した。この方法は特に、一度にたくさんの卵子が得られる実験で効果を発揮する。IVFの媒精後8～12時間程度のタイミングで受精卵にCRISPR/CAS9の複合体を導入した。翌朝、偽妊娠交配をした雌の卵管に卵を移植して産仔を得た。CRISPR/CAS9を導入した卵子の産仔率は

28.7%であることから、IVF由来卵子へのエレクトロポレーションによる細胞毒性は無いと判断した。しかも驚くべきことに、得られた産仔 (89匹) は全てアルビノであった (図3)。実際に、アルビノの産仔89匹のうち調べた全て (49匹) で両アレルにインデル変異が導入されていることも確認できた。さらに、先行研究で指摘されていたgRNAの標的部位における非特異的な変異 (off-target 変異) もどの個体においても認められなかった。

全く同一のgRNAを用いた自然交配卵子へのゲノム編集効率は、マイクロインジェクション⁵⁾で41.2%、rGONAD⁶⁾で53.8%、i-GONAD⁷⁾で58.6%と報告されている。しかしながら、我々が用意したIVF由来卵子を用いたエレクトロポレーションによってCRISPR/CAS9を導入した場合は100%という高効率で遺伝子をKOすることができた。なぜこのような高効率KOが可能になったのかは現在調査中である。また、これまで複数の遺伝子に対して同様の方法でKOを行ったが、いずれの遺伝子においても非常に効率よく遺伝子が破壊されることが確認できている。以上の結果から、IVF由来の受精卵を使用することによって高効率に両アレルの遺伝子KOが可能であることが判明した。

アデノ随伴ウイルス (AAV) を用いた遺伝子のノックイン (KI)

遺伝子のKOと異なりノックイン (KI) はマイクロインジェクションが主流である。特に1kb



図3 野生型のBNラット (左) とチロシナーゼ遺伝子をKOしたBNラット (右)

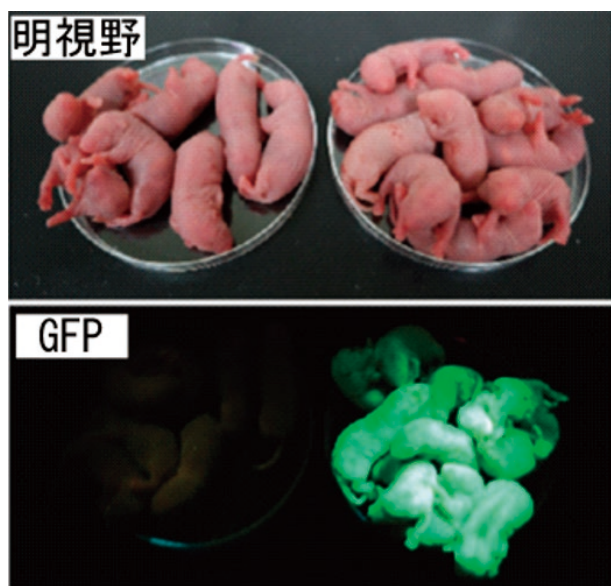


図4 一度の実験で多くのKI産仔が得られる。実際にGFP陽性産仔(右)の多くはKIされていた。

以上の長鎖DNAのKIはマイクロインジェクションが必須と考えられているが、倒立顕微鏡やマニピュレーター、そして何より高い技術が求められる。そのような中、水野らによってアデノ随伴ウイルス(AAV)による長鎖DNAのKI成功報告がなされた⁸⁾。我々もすぐに水野博士に協力を仰ぎラットの体外受精でのAAVによるKIを試行した。IVF由来の卵にCRISPR/CAS9をエレクトロポレーション法によって導入し、標的となるRosa26遺伝子に一過的な切断を導入する。エレクトロポレーションを行った受精卵を左右両腕約1kbで挟まれたCAG-eGFP遺伝子(全長3.9kb)を搭載したAAVとともに一晚培養し、翌日に偽妊娠動物に移植した。その結果、得られた産仔19匹のうち9匹(47.4%)でKIによるGFPの蛍光が見られた(図4)。GFP陽性個体のうち、1匹で部分的な遺伝子の挿入があり、2匹で

ゲノムへのランダムインテグレーションが発生していた。また、GFPの蛍光が見られなかった全ての個体で標的部位の周辺で両アレルに変異が見られたことから、やはりIVF由来卵子へのゲノム編集効率の高さがうかがえた。このように、エレクトロポレーションで標的配列に一過的な切断を導入した後で、一晚ウイルスと共培養するだけで非常に効率よく長鎖DNAのKIが可能であることが証明された。ただしAAVによるKIには注意が必要で、産仔率が1割程度にまで減少する。これはAAVによる細胞毒性が影響していると推測されており、水野らによる先行研究でもその産仔率は5.4%と低いことが報告されている⁸⁾。

おわりに

本稿では、これまで制限のあったラットの過排卵、体外受精、そしてKO/KIを「誰でも」「簡単に」「効率よく」実施できる技術について紹介した。本研究によってラットを用いたモデル作製やその動物を活用した橋渡し研究が容易となるだけでなく、犠牲となるラットの数も少なくすることができる。我が国はこれまでラットの生殖工学技術開発において世界をリードし続け

てきた。実際に我々が本研究成果を誌上発表した後に、すでに二つの国内研究チームからラットの体外受精に関する報告がなされている^{9), 10)}。今後はラットを用いたモデル開発とその研究がより一層活性化し、新しい知見の創出に貢献することが期待される。

謝辞：本研究成果は新学術領域研究「性スペクトラム」公募研究、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」、および基盤技術整備プログラムの支援によって行われました。また、本研究は橋亮磨氏、守田昂太郎博士、水野直彬博士、伊藤大一氏、および浅野雅秀教授にお力添えいただきました。心よりお礼申し上げます。

引用文献

- 1) Honda, A., Tachibana, R., Hamada, K., et al. (2019): *Scientific Reports*, 9, 11571
- 2) Taketsuru, H., Kaneko, T., et al. (2016): *Journal of Reproduction and Development*, 62, 521-526
- 3) Hasegawa, A., Mochida, K., Ogonuki, N., et al. (2017): *Journal of Reproduction and Development*, 63, 539-545
- 4) Aoto, T., Takahashi, R., Ueda, M. (2011): *Transgenic Research*, 20, 1245-1252
- 5) Yoshimi, K., Kaneko, T., Voigt, B., et al. (2014): *Nature Communications*, 5, 4240
- 6) Kobayashi, T., Namba, M., Koyano, T., et al. (2018): *BMC Biotechnology*, 18, 19
- 7) Takabayashi, S., Aoshima, T., Kabashima K., et al. (2018): *Scientific Reports*, 8, 12059
- 8) Mizuno, N., Mizutani, E., Sato, H., et al. (2018): *iScience*, 9, 286-297
- 9) Hino, C., Ueda, J., Funakoshi, H., et al. (2020): *Theriogenology*, 144, 146-151
- 10) Nakagata, N., Mikoda, N., Nakao, S., et al. (2020): *Scientific Reports*, 10, 93

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

実験動物としてのラットの有用性(Ⅲ)

米国で進められている
システム遺伝学プロジェクトのための
Hybrid Rat Diversity Program (HRDP)

滝澤 明子、Melinda R Dwinell

Medical College of Wisconsin, Department of Physiology,
Genomic Sciences and Precision Medicine Center

はじめに

Precision Medicine (精密医療) やゲノム薬理学は個々人の疾患に対する遺伝的感受性や環境要素に対する感受性に配慮し、疾患の予防や治療を行う医療である。ラットは、複雑な疾患メカニズム、行動表現型、環境要因の研究、および薬物開発と探索の主要なモデルとして重要な役割を担っており、この後さらに新しい研究分野への応用と貢献が期待される。本稿では、Medical College of Wisconsin (MCW; ウィスコンシン医科大学)、コロラド大学/PhenoGen Informatics、Rat Genome Database (RGD; ウィスコンシン医科大学)、Rat Resource & Research Center (RRRC; ミズーリ大学) が進めている Hybrid Rat Diversity Program (HRDP) プロジェクトについて紹介する。

HRDPの概要

近交系ラット系統は遺伝的背景を制御し、再現性のある分子、細胞、および動物全体の表現型の繰り返しを可能にする。Hybrid Rat Diversity Panel の開発により、ゲノム、生理学、および行動の表現型データを備え

た近交系ラットの強力なパネルは、多くの分野での研究の触媒となる (Tabakoff et al., 2019)。HRDP では、系統間の遺伝的多様性を最大限確保しながら、多因子形質に関連する特定の遺伝子座を検出する能力を最大化する 96 系統の近交系ラットで構成されている (図 1)。この 96 系統のパネルは、遺伝的に多様な 33 系統の近交系ラットと 2 つのリコンビナント近交系、FXLE/LEXF (F344/Stm-LE/Stm を親系統とする 33 系統、日本) および HXB/BXH (BN-lx/Cub-SHR/OlaIpcv) を親系統とする 30 系統、チェコ共和国) から構成されている (表 1)。HRDP は、全ゲノムシーケンスデータ、脳と肝臓のトランスクリプトーム、およびシステム遺伝学研究と多因子形質の詳細なマッピングに使用が期待され、一般的な表現型の特性を含め、ラット系統の遺伝的に安定した集団の提供を目指している。

各参画機関の紹介とHRDPでの役割

■ Medical College of Wisconsin (MCW; ウィスコンシン 医科

大学)

MCW でのラット研究は、全ゲノムシーケンス解析に成功し (Gibbs et al., Nature 2004)、また Zinc Finger Nuclease (ZFN) と呼ばれる人工タンパク質をラット胚に適用して、世界で初めて標的遺伝子のノックアウトラットを誕生させた (Geurts et al., 2009)。この革命的なブレークスルーは、胚性幹 (ES) 細胞を用いないため、ラットの研究者のみならずより広範なコミュニティでのゲノム編集を応用した研究の幕開けとなった。MCW Gene Editing Rat Resource Center (GERRC) : (<http://rgd.mcw.edu/wg/gerrc>) では、これらゲノム編集技術と従来の標準的な方法 (DNA 注入法およびジーンターゲティング法) によって、これまでに 400 を超える遺伝子改変ラットを作製してきた。一方、このような遺伝子改変動物は、実験動物施設において多数飼育されており、飼育スペースと維持費が大きな負担となっている。胚と精子の凍結保存は、ほとんどの遺伝子改変ラットで利用できる最も簡便で費用対効果の高い方法である

だけでなく、繁殖障害や微生物汚染に対する保険として動物系統を保存する最も信頼できる方法でもある。MCWではラット系統において、高品質で信頼性の高い胚と精子の凍結保存、ならびに個体復元のための胚移植と細胞質内精子注入 (ICSI) のシステムを確立し、ヒト疾患の病態解明や治療法を開発する研究者にモデルラットを提供している (Takizawa & Eto, 2019)。HRDP プロジェクトにおいては、96 系統を導入するにあたり、現在飼育機関での飼育維持がされていない系統もバイオリソースバンクより保存胚を導入し個体復元維持し、安定的な保存法で胚を再保存する。また、MCW-Genomic Sciences and Precision Medicine Center のシーケンスコアで全ゲノムシーケンスを行っている。

■コロラド大学 /PhenoGen Informatics

コロラド大学では RI 系統を用いたアルコール依存に関する表現型と RNA-Seq を組み合わせた研究を行っており、HRDP を用いた解析を行うことでより詳細なアルコール依存に関する遺伝的なメカニズムの解明が期待で

きる (Saba et al., 2015)。

PhenoGen Informatics Web サイトは、マイクロアレイデータと関連する遺伝子型および表現型データを保存、分析、統合するための包括的なツールボックスである。特に QTL とマイクロアレイデータを組み合わせて、複雑な特性に関連する「候補」遺伝子を検索することが可能である。さらに、研究者の希望に応じて、データの共有を許可し、自分のデータや共有データを使用して、「in-silico」マイクロアレイ実験が実施できる。HRDP の肝臓および脳のトランスクリプトーム解析データは、PhenoGen Informatics を通じて、公開される予定である。(http://phenogen.ucdenver.edu)

■Rat Resource & Research Center (RRRC; ミズーリ大学)

RRRC では、生物医学分野の研究者に疾患モ

デルラット、胚性幹細胞、関連試薬、プロトコルなど、研究に必要な専門的なサービスを提供している。RRRC は、リソースセンターの機能を向上させる調査を行うのみならず、他の国際リソースからのラット系統の取得を促進し、膨大な数のラット系統を収集、保存、配布を行っている。RRRC は、Qi-Long Ying 博士が開発したいくつかのラット ES 細胞株 (Li et al., 2008) を入手し、研究者に配布することのみならず、これらの ES 細胞株の培養・維持のためのプロトコルを開示し、さらなる改良に

表1. Hybrid Rat Diversity Panelは、近交系33系統、リコンビナント系統(HXB/BXH RI 30系統、FXLE/LXFE RI 33系統)の96系統で構成されている。

Strain	RGD ID	Disease Model
ACI/EurMcw	7364991	Renal
BDIX/NemOda	2304285	Leukemia
BN/NHsdMcwi	61498	Asthma, Neoplasms, Reproduction
BN-Lx/Cub	61117	Polydactyly-luxate, Hypercholesterolemia
BUF/Mna	61118	Neoplasms, Autoimmune disorders
COP/CrCrl	1358153	Hyperplasia, Exercise
DA/OlaHsd	734475	Cardiovascular, Arthritis, Neoplasms
F344/NCrl	737926	Aging
F344/Stm	1302686	Aging
FHH/EurMcwi	629509	Hypertension, Renal
GK/FarMcwi	10395297	Diabetes
HTX/HcjRrrc	1566455	Hydrocephalus
LE/Stm	629485	Leukemia
LEW/Crl	737932	Neoplasms, Autoimmune disorders
LH/MavRrrcAek	10755352	Hypertension
LL/MavRrrc	68077	Hypertension
LN/MavRrrc	61015	Normotension
LOU/MNCR	9999143	Autoimmune, Cancer
M520/N	10024	Neoplasms, Renal, Insulin resistance
MNS/N	2307319	Normotension
MR/N	70449	Alcohol preference, Aging, Anxiety
MWF/Hsd	737906	Renal, Hypertension
PD/Cub	728161	Polydactylous, Metabolic syndrome
PVG/Seac	1302722	Immune disorders
RCS/LavRrrc	1358258	Eye disorders
SBH/Ygl	631572	Hypertension, Renal
SBN/Ygl	631573	Hypertension resistant
SHR/Olaipcv	631848	Hypertension, Insulin resistant
SHRSP/A3NCrl	2311051	Hypertension, Stroke
SR/JrHsd	1582184	Hypertension resistant
SS/JrHsdMcwi	1582190	Hypertension, Renal
WAG/RijCrl	2312498	Neoplasms, Eye disorders
WKY/NCrl	1358112	Normotension, Insulin resistant
HXB-/Ipcv RI Pannel	-	Hypertension, Cardiac, Metabolic, Alcohol
BXH-/Cub RI Pannel	-	Hypertension, Cardiac, Metabolic, Alcohol
LEXF-/Stm RI Pannel	-	Leukemia, Lymphoma, Seizures, Reproduction
FXLE-/Stm RI Pannel	-	Diabetes, Cancer, Seizures, Reproduction

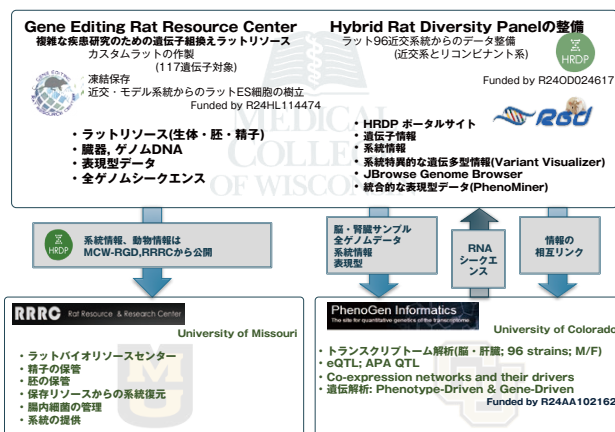


図1. Hybrid Rat Diversity Programにおける各参画機関の役割

努めている。また、ノックアウトラットシステムの作製やさまざまな近交系から新たに ES 細胞株を樹立し、モデル開発用の追加ツールとして提供している (Men et al., 2012; 2013)。さらに生物医学コミュニティに独自のリソース提供に加えて、ラットモデルを使用して研究者に専門サービス、相談、技術トレーニングの提供も行っている。本 HRDP プロジェクトで整備された全ての系統は、RRRC でリソースのバックアップ胚を収集・保管および生物医学分野の研究者へ配布される予定である。(http://www.rrrc.us)

■ Rat Genome Database (RGD; ウィスコンシン医科大学)

ラットゲノムデータベース (RGD) は 1999 年に設立され、ラットを使った研究から蓄積された遺伝情報、ゲノム解析、表現型および疾患情報のデータサイトである。さらに、動物種間の比較を容易にするためヒトとマウスのデータに簡単にアクセスできるよう整備されている。また近年はさらに多くの遺伝情報を網羅し、チンチラ、ブタ、ボノボ、イヌ、ジューサンセンジリスを含む 8 種の遺伝情報を構造的に整理され公開している。RGD の包括的なデータと革新的なソフトウェアツールは、世界中の研究者の貴重な情報源を担っている (Smith et al., 2020)。HRDP で整備された全ゲノムシーケンス、表現型、および系統の情報は、RGD の HRDP ポータルサイトから順次公開する予定である。(https://rgd.mcw.edu/wg/)

進捗状況

HRDP に含まれるすべての系統は MCW においてシーケンスのためのサンプリングを行い、コマーシャルブリーダーから購入可能な系統を除くすべての系統の胚保存を行う。現在、近交系 33 系統のうち 13 系統は MCW で維持されており、8 系統は他機関またはコマーシャルブリーダーより導入可能であり、そのほかの系統については RRRC、ナショナルバイオリソースプロジェクトラット (京都大学) などのリソースセンターより凍結胚での導入を進めている。それぞれの RI 系統の親系統である F344/Stm、LE/Stm BN-lx/Cub、SHR/OlaIpcv は、保存胚より MCW において個体復元し、繁殖コロニーを維持されているため、RI 系統を用いたプロジェクトを計画する研究者への提供が可能である。さらにこれら 4 系統については、遺伝的な品質を維持するため個体復元後、早い世代で胚保存を行なっている。HXB/BXH RI 系統は Czech Academy of Sciences より 22 系統分の凍結胚を受領し、現在 12 系統が生体維持されている。また、京都大学より 33 系統の LEXF/FXLE RI 系統の保存胚を受領し、8 系統が個体復元され生体維持されている。連携機関とのプロジェクトの進行に合わせ、順次保存胚から個体復元および他機関からの繁殖個体の導入を進めている。繁殖が安定した系統から順次胚の再凍結保存および連携機関とラットコミュニティへの供給も行っている。連携であるコロラド大学では RI 系統の提供を行い、表現型・RNA シーケンス解析

が進められている。MCW において全ゲノムシーケンスが進められており、これまでに 33 系統の雄個体のシーケンスを行われ、さらに 24 系統が現在進行中である。これらの解析データは RGD および PhenoGen Informatics の HRDP ポータルサイトで順次公開される予定である。

謝辞

本プロジェクトは、National Institutes of Health の National Heart, Lung, and Blood Institute (R24HL114474) および National Institutes of Health、Office of the Director (R24OD024617) のサポートを受けておこなっている。

参考文献

- Bibbs et al. (2004) Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature* 428:493-521.
- Geurts et al. (2009) Knockout rats via embryo microinjection of zinc-finger nucleases. *Science* 209 325:433.
- Li et al. (2008) Germline competent embryonic stem cells derived from rat blastocysts. *Cell* 135:1299-1310.
- Men et al. (2012) Germline transmission of a novel rat embryonic stem cell line derived from transgenic rats. *Stem Cells Dev.* 21:2606-2612.
- Men et al. (2013) Derivation of a germline competent transgenic Fischer 344 embryonic stem cell line. *PLoS One* 8: e56518.
- Saba et al. (2015) The sequenced rat brain transcriptome—its use in identifying networks predisposing alcohol consumption. *FEBS J.* 282(18):3556-3578.
- Smith et al. (2020) The year of the rat: the rat genome database at 20: a multi-species knowledgebase and analysis platform. *Nucleic Acids Res.* 48:D731-D742.
- Tabakoff et al. (2019) Networking in biology: the hybrid rat diversity panel. *Methods Mol Biol.* 2018:213-231.
- Takizawa & Eto (2019) Protocols for cryopreservation and rederivation of rat gametes. *Methods Mol Biol.* 2018:131-149.

実験用ブタを巡る情報 (I)

連載にあたって

公益財団法人 実験動物中央研究所
堤 秀樹

実験用ブタを取り巻く状況は10年前とは変わり、動物の供給体制は年々充実し、実験現場を支える技術者や指導者の数も増加している。その兆しは本誌にも表れており、2000～2009年 (No.1～38) ではわずかに5報であった本動物種に関する記事が、2010～2019年 (No.39-78) には23報にまで増加し、しかも

我が国を代表するほぼ全ての実験用ブタ取扱い施設の先生方が執筆されているという目覚ましい状況にある (表1)。

そのような中で改めて特集を組むことの難しさを感じたが、やはり現在、実験用ブタ関係者の一番の懸念事項である「豚熱」をキーワードにすることを考えた。昨年秋よりワクチン接種が

開始され、本年2月5日には農林水産大臣より「豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」が公表されたが、実験用ブタに対する対応の具体例について知る機会は非常に少ない。今回執筆をお願いする先生には、「豚熱」に関する情報を少しでも良いから入れて戴くことをお願いした。読者の一助になれば幸いである。

表1 2010年～2019年の本誌 (No.39-78) における実験用ブタに関連する記事一覧 (海外技術情報は除く)

年	No.	タイトル	所属	著者
2010	41	ミニブタの有用性	オリエンタル酵母工業	林直木
	42	口蹄疫はどのような疾病か	日本獣生命医科大学	小河孝
2011	43	家畜改良センター茨城牧場における実験用小型ブタ (3系統) の完成について	家畜改良センター茨城牧場	齋藤政宏
	46	ミニブタ (実験用小型ブタ) の開発経緯と今後の課題	日本実験動物協会	矢澤肇
	46	国立循環器病研究センターにおけるミニブタの使用状況	国立循環器病研究センター	塩谷恭子
2012	48	大型実験動物飼養管理への動物愛護と環境エンリッチメント	新日本科学	田中穂積 他
	49	日本におけるミニブタの現況	新日本科学	田中穂積 他
	50	前臨床試験における新規ヒト代替実験動物としてのマイクロミニブタの可能性	姫路獨協大学	比知屋寛之 他
2013	53	デンマーク ゲッチングミニブタのふるさとを訪ねて	国立循環器病研究センター	塩谷恭子
	54	オリエンタル酵母工業におけるミニブタ生産について	オリエンタル酵母工業	林直木
2014	58	遺伝子改変ブタの開発	日本大学	大西彰
2015	60	ブタを利用する医学研究	自治医科大学	花園豊
	61	NIBS系体細胞クローンミニブタ及び遺伝子改変ミニブタの作出	日本生物科学研究所	島津美樹
2016	63	豚流行性下痢	農業・食品産業技術総合研究機構	宮崎綾子 他
	64	国内で入手可能な実験用ブタの微生物検査項目	モニタリング技術委員会	高倉彰
	66	「ふくしま医療機器開発支援センター」の開所に向けて	福島県商工労働部	大越正弘 他
2017	70	ブタのゲノム編集	明治大学	渡邊将人
2018	71	特定非営利活動 (NPO) 法人医用ミニブタ研究所の紹介	医用ミニブタ研究所	福山周作 他
	71	ブタ・ミニブタ実験マニュアル発刊の背景と内容紹介	実験動物中央研究所	堤秀樹
	71	日本先進医工学ブタ研究会	鹿児島大学	佐原寿史
	74	ヒト・動物キメラの可能性と重要性	東京大学	正木英樹 他
2019	75	長野県上伊那農業高校とオリエンタル酵母工業	オリエンタル酵母工業	清水悠創
	78	自治医科大学先端医療技術開発センターの先進的取り組み	自治医科大学	國田智

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

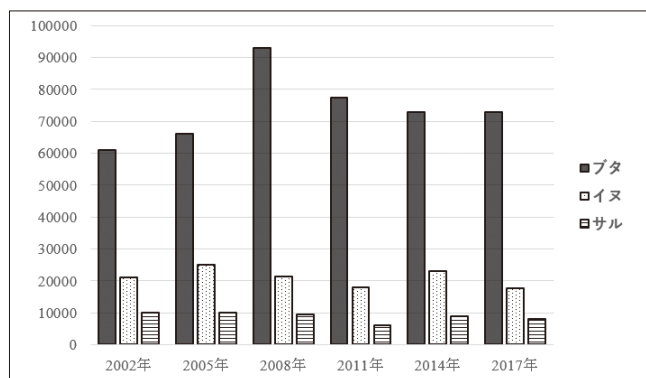


図1. EU ; Report from the commission to the council and the European parliament

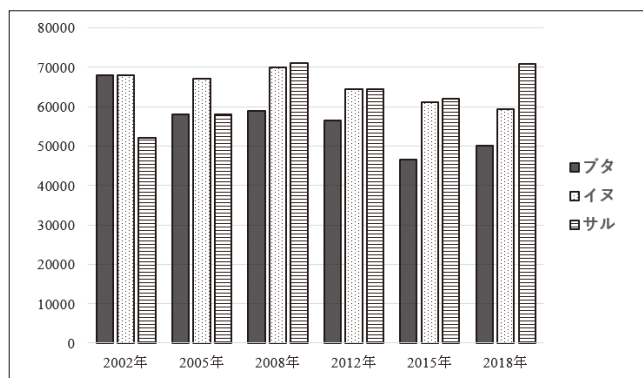


図2. US ; Annual Report Animal Usage by Fiscal Year, USDA

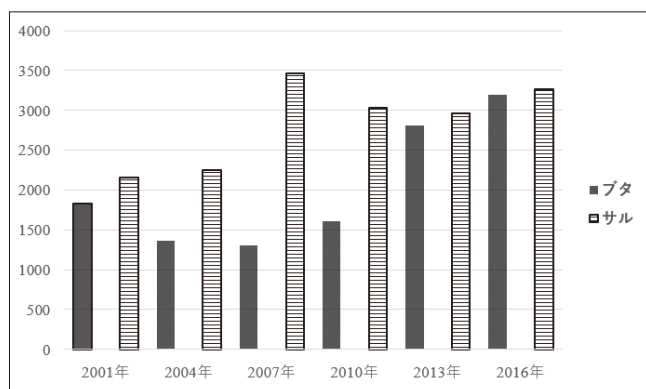


図3. JP ; 社団法人日本実験動物協会「実験動物の年間総販売数調査報告書」

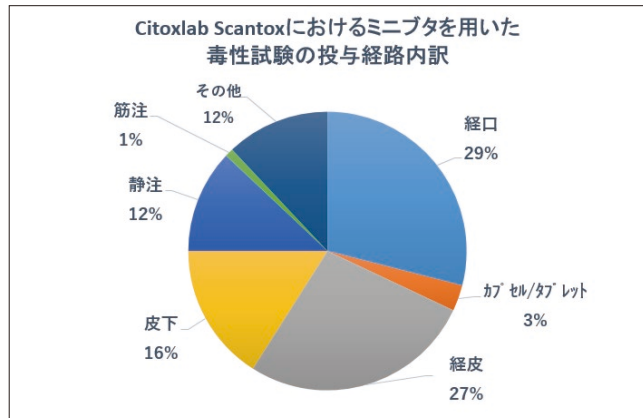


図4. Citoxlab社におけるミニブタを用いた毒性試験の投与経路内訳

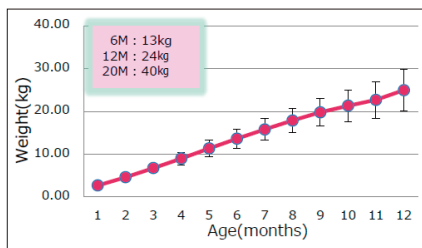


図5. 成長曲線



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

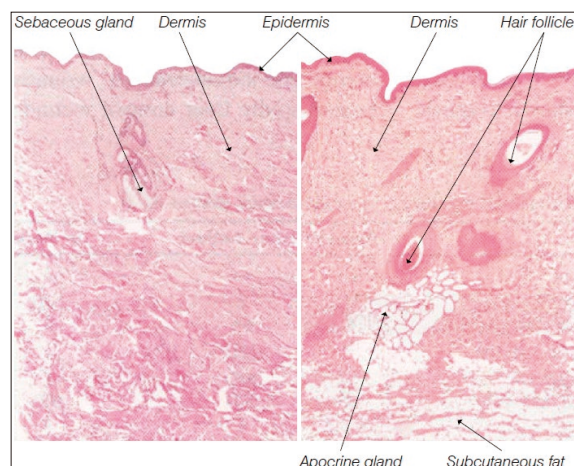


図11. ヒトとミニブタの皮膚比較 (左; ヒト、右; ミニブタ)

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こと、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るため、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

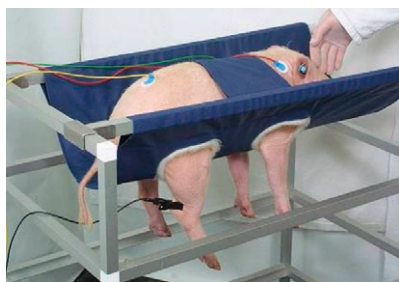


図16. 無麻酔下での心電図測定

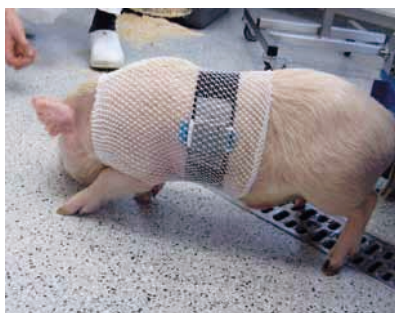


図17. ホルター心電図

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。

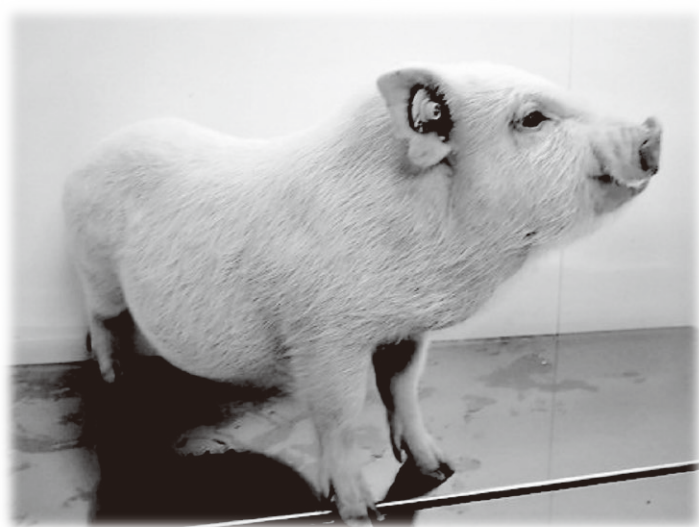
参考文献

1. Dalggaard 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

畜産・生産獣医療における IoTおよびAIの活用

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 病態研究領域
研究領域長 吉岡 耕治

はじめに

IoT (Internet of Things : モノのインターネット)、ロボット、AI (Artificial Intelligence : 人工知能)、ビッグデータ等の新たな技術をあらゆる産業や社会生活に取り入れてイノベーションを創出し、一人一人のニーズに合わせる形で社会的課題を解決する新たな社会「Society 5.0」の実現への取り組みが推進されている。Society 5.0では、IoT技術によりフィジカル空間の全ての人とモノがつながり、サイバー空間に集積された膨大な情報をAIにより解析することで、今までにない新たな価値を生み出し、社会の変革を起こすことを目指している。農業分野においては、ロボット技術やICT (Information and Communication Technology : 情報通信技術) を活用して、省力化・精密化や高品質生産を実現する「スマート農業」を活用することにより、農作業における省力・軽労化をさらに進めることができるとともに、新規就農者の確保や栽培技術力の継承等が期待されている。さらに医療においては、医療情報データベースの構築、遠隔医療、診療時音声情

報の文章化などのAIホスピタルによる高度診断、治療システムの開発が図られている。

畜産業に目を向けると、国内の畜産農場数や畜産従業者数は減少傾向にありながら、家畜飼養頭羽数は維持～微減にとどまっている。すなわち、農場一戸当たりの家畜飼養頭羽数が増加傾向にあり、畜産農場では大規模化によるスケールメリットを活かした生産性の向上が図られている。しかし、畜産現場における課題の一つとして、担い手の高齢化が急速に進み、労働力不足が深刻となっており、省力化・低コスト化を可能とする飼養管理技術の開発が喫緊の課題となっている。このような状況において少人数で多数の家畜を効率よく管理するため、各種センサ (ウェアラブルセンサや搾乳機内の施設型センサなど) の開発とともに、センサから得られるビッグデータを解析する手法についても開発が進められており、AIの一分野である機械学習 (Machine learning) を用いることで優れた結果が得られつつある。

AI・機械学習

そもそも「知能とは何か?」という哲学的な問題は残るものの、人工知能 AI とは、「学習・推論・判断といった人間の知能のもつ機能を備えたコンピューターシステム」 (三省堂 大辞林) などと説明されている。AI 研究には汎用型 AI (設計時に想定されていない状況や目的においても知的に振舞う) と特化型 AI (限定的な状況と目的においてのみ知的に振舞う) の二つの立場があるが、現在実用化されている AI 技術のほとんどは特化型 AI、特に機械学習である。機械学習には大きく分けて「教師あり学習」と「教師なし学習」がある。畜産分野において主として用いられているのは「教師あり学習」である。教師あり学習では、既知の入出力データ (教師データ) を用いてモデル (入力データから出力データに変換する関数や入出力データ間の関係図などの法則性) を作成し、未知の入力データ (テストデータ) から出力を予測しようとするものである。従来の統計学的手法を用いた研究が主として後向き研究に利用され、飼養管理手法の改善や疾病発生動向の解析などに使

用されることが多いのに対し、機械学習では過去のデータに基づいて将来起こりそうな事象を予測する目的で 사용되는ことが多い。とりわけ表現するパターン（説明変数、特徴量）が多く、設定すべきルールが複雑（膨大な数の例外がある）な場合に機械学習は威力を発揮する。機械学習では、人間が記憶することや把握することができないような大量のデータに対し、数千回、数万回といった単位で計算を繰り返すことで、それら大量のデータに潜む閾値などの法則性を発見することができる。

クラウド群管理システム

家畜の状態（ワクチン・投薬歴、種付け、産歴、乳量等）を個体ごとに記録し、管理することは、飼養管理上最も基本的な事柄である。また、牛群の飼料給与、飼育状態、乳量管理や日常の作業内容などを記録、分析し、効率化することは、畜産経営における費用対効果を高め、生産性の向上を図るために重要である。飼養規模の増大によるスケールメリットを活かすためには、飼養する家畜個体の管理や生産データを含む群管理においても、より緻密な設計が必要とされ、これらのデータを一元管理することにより、家畜個体、グループおよび牛群の明確な評価と早期対策をスムーズに行うことが容易になると考えられる。このた

め、農場毎の作業状況・各種成績（繁殖・肥育・経営）等をクラウド上で管理するサービスが提供されている。いくつかの群管理クラウドでは、乳検情報など他のクラウド上に存在するデータと連携するサービスも提供されている。統一的な項目のデータをクラウド上で一元管理することのメリットとして、農場間の比較によるベンチマークも可能になり、経営改善に役立てることができる。さらに、家畜の個体情報（授精時月齢、BCS、産次数、泌乳量など）や飼養環境情報（気温、季節、搾乳時間など）等を機械学習によって解析することにより、受胎性、難産、乳房炎罹患などの予測が可能であると報告されている。例えば、Grzesiak らはたった3つの特徴量（前回の分娩から受胎までの日数、前回分娩間隔日数、前回分娩時のBCSと前回繁殖季節中のBCSの平均値から授精時BCSを引いた値）をもとに、受胎までに3回以上の授精を要する牛（受胎性に問題のある個体）を、感度（sensitivity; 真陽性/[真陽性+偽陰性]）83%、特異度（specificity; 真陰性/[真陰性+偽陽性]）86%で予測可能であると報告している¹⁾。

施設型スマート畜産

施設型スマート畜産としては、自動環境制御システムや、搾乳ロボット、哺乳ロボット、自動

給餌機、自動敷料散布機などが市販されている。搾乳ロボットから得られるデータは、自動的にクラウド上に収集され、乳質や量、採食データ等を解析することで個体ごとの飼養管理や疾病の発見に活用されている。例えば、搾乳ロボットから得られる乳量や電気伝導度、体細胞数などのデータを用いて乳房炎罹患牛を早期に発見することが可能になっている。搾乳ロボットで測定する項目の多くは飼養環境や生理的な影響を受けることから、近年ではロボットによる測定項目に加え、月齢や泌乳歴、泌乳日数といった個体情報も合わせて解析するようになってきている²⁾。機械学習は高次元（多くの特徴量）のため仮説を正確に立てられないような場合にも適用でき、また統計学的手法と比べて異常値や欠損値に強い手法も開発されていることから、最近では数十種類の特徴量を用いた大規模な研究が行われるようになってきており、今後、搾乳ロボットから得られるデータの種類や量が増えることで、臨床型乳房炎だけでなく潜在性乳房炎罹患牛についても早期に、効率よく発見できるようになると期待される。

ウェアラブルセンシング技術

牛のウェアラブルセンサとしては、装着・留置部位として首輪型、脚装着型、尾装着型、耳

耳標型

製品名	製造元	センサータイプ
CowManager Sensor	Agis Autom	加速度, 温度
Smartbow	MKW Electronic	加速度

仙骨後部～尾根部装置型

製品名	製造元	センサータイプ
AccuBreed	Estroprotect	圧力
FlashMate	Gallagher	不明
HeatWatch II	CowChips	圧力

尾部装着型

製品名	製造元	センサータイプ
CalveSense	SCR Dairy	加速度
iCalve 101	InterPuls SpA	不明
Moocall	Moocall	加速度

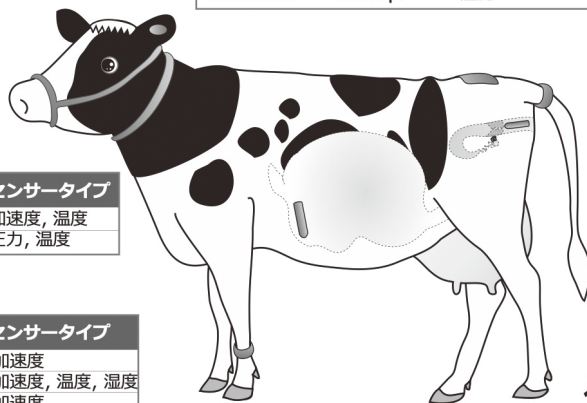
‘On-animal’
sensor

頭絡型

製品名	製造元	センサータイプ
Cowlar	Cowlar	加速度, 温度
RumiWatch	ITIN+HOCH	圧力, 温度

首輪装着型

製品名	製造元	センサータイプ
Activity meter	DeLaval	加速度
Cowheat	Anicall	加速度, 温度, 湿度
CowScout	GEA	加速度
Dr.Cowbell	Innovit	加速度
Farmnote color	ファームノート	加速度
HeatPhone	Medria	加速度
HR Tag	SCR	加速度, 音声
Ida	Connecterra	不明
MooMonitor+	Dairymaster	加速度
Silent Herdsman	Afimilk	加速度
U-Motion	デザミス	加速度, 気圧
CowTalk	Ricoh	加速度



脚装着型

製品名	製造元	センサータイプ
AfiAct II	Afimilk	加速度
Crysta Act+	Fullwood	歩数
牛歩	コムテック	歩数
HeatSeeker	BouMatic	歩数
IceQube	IceRobotics	加速度
Ovalert	CRV	歩数
Track a Cow	Dairymac	加速度

腔内挿入型

製品名	製造元	センサータイプ
Anemon system	Anemon	温度
牛温恵	リモート	温度
iVET birth-monitoring	Unitronic	温度, 照度
Vel'Phone	Medria	温度

‘In-animal’ sensor

ルーメン留置型

製品名	製造元	センサータイプ
DVM TempTrack	DVM Systems	温度
eBolus	eCow Devon	pH, 温度
Rumen bolus	Moow	pH, 温度
San'Phone	Medria	温度
SmaXtec Sensor	SmaXtec	pH, 温度, 加速度
Well Cow Bolus	Well Cow	pH, 温度
胃診電信	セントラル情報サービス	温度

図1. 国内外で市販されている牛用ウェアラブルセンサ

装着型、臀部装着型など外表面に装着する“on-animal”センサと腔内挿入型、ルーメン留置型など体内に留置する“in-animal”センサがある。計測機能としては、加速度、温度、圧力、pH、音声などが測定できるセンサが国内外で市販されている（図1）。これらのウェアラブルセンサは、特定のイベントに起因する個体の特異的行動（発情時のスタンディング、分娩時の足胞の出現など）や行動学的変化（活動量、起立時間、起臥回数、咆哮回数の変化など）を加速度センサ、圧力センサなどで検出したり、生理学的変化を温度センサ、pHセンサなどで検出することによって特定のイベントを検知する機能をもつ。ウェアラブルセンサの用途としては、発情検知、

分娩予測および健康管理に関するものが大部分を占める。

一般的にセンサシステムの性能は、飼養形態によって異なる。例えば、行動の制限されない放し飼い（フリーストールやフリーバーン、放牧など）の牛では、発情期には、非発情期に比べて活動量が約4倍に増加する一方、繋ぎ飼いでは約2.75倍にしか増加せず³⁾、活動量の変化に基づいた発情検知性能は繋ぎ飼いで低いことが報告されている⁴⁾。飼養形態が大きな影響を及ぼす行動学的変化に比べ、生理学的な変化は飼養形態による影響が比較的小さいと考えられる。我々は牛の生理学的変化を捉えるため、尾根部腹側の体表温を計測する尾部センサを開発し、発熱検知のほか発情検知⁵⁾や分娩予

測⁶⁾に活用できることを示している。一方で、体温は発熱、急な運動、採食など様々な生理現象や気温などの環境要因によっても変動するため、発熱、発情、分娩など特定のイベントに対する誤検知を完全には排除することはできない。そこで、腔温に加え、腔内電気伝導度を計測する腔内センサデータを機械学習により解析してリアルタイムで発情を検知する方法を検討し、感度、精度（accuracy；真陽性/[真陽性+偽陽性]）とも94%の成績を得ている⁷⁾。今後、ウェアラブルセンサをはじめとするIoT技術が普及するためには、多様な飼養状態や環境でも十分に性能が発揮できるようなアルゴリズムやセンサシステムの開発・改良が必要になると考えられる。

おわりに

望むと望まざるとに関わらず、畜産分野においても AI と IoT の導入により家畜飼養管理技術が大きく変化しつつあり、スマート畜産の発展によって精密個体管理や高品質畜産物の生産が可能になってくると考えられる。すでに多くの農場に様々な施設型センサやウェアラブルセンサが導入されており、日々大量のセンシングデータがサイバー空間（クラウド）上に集積されつつある。また、一部の事業者ではそれらのデータを機械学習によって解析し、発情や疾病などの通知を行うサービスが開始さ

れている。スマート畜産が幅広く普及するためには、これらによって得られる膨大なデータをユーザーに判りやすく提示するユーザーインターフェースの開発が重要であるが、ユーザーとしても、膨大なデータから必要な情報を取捨選択して「うまく使いこなす」スキルも必要になる。また、生産獣医療に携わる獣医師も、データを使いこなせる最低限の情報工学の基礎的な『知識』と、雑多なデータから重要な特徴量はどれかを適切に選択・アドバイスできる獣医師としての『経験』が必要とされるようになって考えられる。

本成果の一部は、革新的技術開発・緊急展開事業（うち人工知能未来農業創造プロジェクト）の助成を受けた。

文献

- 1) Grzesiak, W., Zaborski, D., Sablik, P., *et al.* (2011): *Anim Sci Pap Rep* 29, 293-302
- 2) Jensen, D. B., Hogeveen, H., De Vries, A. (2016): *J Dairy Sci* 99, 7344-7361
- 3) Kiddy, C.A. (1977): *J Dairy Sci* 60, 235-243
- 4) Sakaguchi, M., Fujiki, R., Yabuuchi, K., *et al.* (2007): *J Reprod Dev* 53, 819-828
- 5) Miura, R., Yoshioka, K., Miyamoto, T., *et al.* (2017): *Anim Reprod Sci* 180, 50-57
- 6) Koyama, K., Koyama, T., Sugimoto, M., *et al.* (2018): *Vet J* 240, 1-5
- 7) Higaki, S., Miura, R., Suda, T., *et al.* (2019): *Theriogenology* 123, 90-99

バイオサイエンス
トータルサポート企業として
生命科学の発展に
大きく貢献する
株式会社ケー・エー・シー

実験動物飼育管理事業・
受託試験事業・研究用
試薬提供事業の
3つの柱で製薬会社や
大学等研究機関の
ニーズに対応しています。

株式会社 ケー・エー・シー 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

URL : <http://www.kacnet.co.jp/>

異種移植の現状と課題

国立国際医療研究センター研究所 髙島移植プロジェクト

霜田 雅之

現在、各種臓器不全に対する根本治療としてヒトドナーからの臓器移植が実施されている。例えば、末期腎不全患者に対する死体および生体腎移植は効果の高い治療として確立している。年齢にかかわらず、腎移植を受けた患者は透析患者より長い余命と生活の質（QOL）の改善を得ることができる。医療経済的にも、透析を続けるよりもコストが抑制できる。しかし、移植医療にとってドナー不足は大きな問題である。少なくともこの四半世紀の間、移植を待つ臓器不全患者にとって最も大きな課題は移植可能な臓器数が限定されていることであった。多くの国では国を挙げて臓器提供数の増加に取り組み、一定の成果を上げてきた。それにもかかわらず、移植を求める患者が移植を受ける見通しは、依然として厳しい。米国だけでも、2015年末時点で約8万人の腎不全患者が待機リストにあり、移植までの待機期間の中央値は3年以上である。2005年以来、9000人以上の待機中の患者が死亡したか、または病勢が悪化して移植リストから外れた⁽¹⁾。従って、移植のための臓器数の確保は喫緊の課題である。しかしながら、現

状では脳死、心停止、生体のいずれのドナーも、ヒト臓器の劇的な増加は困難である。日本は特に死体ドナー数が少なく、脳死・心停止あわせて年間100件程度である。このような背景から、ヒト臓器に代わる代替臓器または同様の機能を持つ移植用細胞が精力的に研究されている。中でも、動物の臓器、特にブタの臓器（または細胞）を利用した異種移植は本命のひとつであると考えられており、研究が進んでいる⁽²⁾。

ブタ臓器を用いる利点は以下のものがある。

- (1) 繁殖力が高く、大量にかつ on demand で入手可能であり、待機時間なく適切な時期に移植できる。
- (2) ヒト死体ドナーの場合に生じる、ドナーの原疾患や虚血によるダメージがなく、新鮮で品質管理された臓器・細胞が使用できる。
- (3) ブタの臓器サイズや生理学的特徴は多くの面でヒトに近い。
- (4) ブタは遺伝子操作とクローニングが可能であり、より安全で高機能な臓器・細胞を人工的に作成可能である。
- (5) ブタ臓器・細胞は、ヒト抗

原に感作している患者にも移植できる可能性がある。

- (6) ヒトとの人畜共通感染症の知見が多く集積されていて、制御可能である。

本稿では、各臓器の異種移植研究について述べる。

異種移植の歴史

臨床異種移植は、先駆的な17世紀の異種間の輸血に始まり、数百年の歴史がある。本格的な異種移植は、Carrelの開発した血管吻合法を用いて先駆的な移植外科手術が行われ、20世紀において非ヒト霊長類（nonhuman primate, NHP）の臓器をヒトに移植する試みが行われた。当時は、ヒトに近縁の霊長類をドナーとすることが移植臓器の生着に有利と考えられたからである。1963～64年には、1人の患者がチンパンジーの両腎を移植され、ほぼ9ヶ月の間仕事に戻ることができた。1964年、チンパンジーをドナーとして最初の心臓移植が実施されたが、これは失敗に終わった。1992年にはヒヒの肝臓が移植された患者が70日間生存した⁽³⁾。しかし、臓器源としてNHPを使用することには動物愛護や感染症、繁殖コストなどの面で欠点がある。そのため

遺伝子工学およびクローン技術の進展に伴い、現在はブタが最も適切な動物と考えられている。

異種移植の生物学

ヒトを含む霊長類に対し、ブタ臓器・細胞を移植して生着させるためには、さまざまなハードルがある。コントロールすべき生体反応には、自然免疫系および獲得免疫系の活性化、凝固異常および炎症反応などがある⁽⁴⁾。ブタ臓器・細胞の移植直後には迅速な自然免疫応答（抗ブタ自然抗体、補体活性化および好中球、単球、マクロファージ、ナチュラルキラー（NK）細胞などの活性化）が惹起される。さらにその後獲得免疫反応が起こる。凝固反応の調節障害および炎症反応は、同種移植の場合よりも強いようである。したがって、ブタ異種移植片に対する生体反応は、T細胞活性の抑制だけで制御することはできない。制御すべき免疫学的バリアは、まず移植されたブタ臓器上に発現している抗原（最も重要なものはガラクトース α 1,3-ガラクトース（Gal））に結合するヒトおよびNHPがもつ抗ブタ自然抗体の存在が重要である⁽⁵⁾。これは補体カスケードを活性化しグラフトを急速に破壊する反応を起こし、超急性拒絶反応として知られている。この回避にはドナーブタの遺伝子改変によるGalノックアウトが有効

であるが、その場合でも適切な免疫抑制療法によって獲得免疫応答が妨げられなければ、高レベルの抗ブタ抗体が出現する可能性がある。さらに異種間では補体調節に関わる分子が異なっているため補体系の調節障害が起こる。効果的な免疫抑制療法を併用すると、Galノックアウトかつ1つまたは複数のヒト補体調節タンパク質を発現するよう遺伝子改変したブタ臓器および細胞を移植した際には、早期の抗体関連拒絶反応を抑制することができる。しかし他の要因、すなわちGal以外の抗原に対する抗体、自然免疫細胞、血小板などは、消費性凝固障害を通じてグラフトの血栓性細小血管障害を引き起こし得る。また異種間では凝固-抗凝固システムに関与する分子も異なっているため、凝固-抗凝固システムの調節障害が起こる。さらにブタ臓器移植を受けた霊長類に持続的な炎症反応があることが報告されており⁽⁶⁾、これも防止する必要があると考えられる。ブタ内皮細胞に発現している2つのGal以外の抗原、すなわちN-グリコリルノイラミン酸（Neu5Gc、シチジンモノホスフェート-N-アセチルノイラミン酸ヒドロキシラーゼの産物）およびSda（ β 1,4-Nacetylgalactosaminyl トランスフェラーゼ2の産物）も重要とされている。これら3つの抗原のノックアウトブタ臓器を用いて移植する場合、移植臓器の血管内皮への抗体結合は起こらず、血栓性細小血管症は抑制さ

れると予想される。

遺伝子改変ブタ

異種移植の利点の一つは、ドナーの遺伝子改変が可能なことである。ドナー用ブタの遺伝子改変は、主に2つを中心に開発されてきた。ひとつは3種の主要なブタ抗原のうちの1種以上のノックアウト、もうひとつはヒト補体および/または凝固反応を抑制するヒト遺伝子の挿入、である。近年はこれらを組み合わせる場合が多い。2つまたは3つの主要なブタ抗原の同時ノックアウトは達成されていて、実際これらの細胞へのヒト抗体の結合は著しく減少する。現在、ブタで行われている改変は25以上の遺伝子におよび、いくつかのブタでは5または6遺伝子以上の同時改変が行われている。近年、遺伝子改変技術はCRISPR-Cas9の応用など大いに進歩しており、ブタにおいて複数の遺伝子改変がより迅速かつ安価にできるようになってきている⁽⁷⁾。

免疫抑制方法

異種免疫反応の制御は最重要である。ブタ異種移植片に対するT細胞およびそれが惹起する抗体反応のほとんどは、現在利用可能な薬剤によって抑制することができる。ただし、複数の薬剤を併用することが必要である。大部分のレジメンは、T細胞を激減させる強力な薬剤（抗胸腺細胞グロブリンなど）を含んでおり、ヒトドナーからの臨床同種移植において使用されるレジメンと類似している。また

B細胞抑制剤、例えば抗CD20抗体（同種移植時HLA感作された患者にも使用される）も使用される。ただ、同種移植では十分な効果を発揮する維持免疫抑制薬（タクロリムス、ラパマイシン、コルチコステロイドなど）は、それだけでは異種移植では生着率が低かったため、抗CD154mAbや抗CD40mAbなどの共刺激経路遮断薬の併用が必要であった。さらに、抗炎症剤（例えば、抗腫瘍壊死因子- α 、抗インターロイキン-6受容体、ヤヌスキナーゼ（JAK）の阻害剤など）の併用が有望である。最近では、遺伝子改変により抗原性を低くしたブタが開発されているので、免疫抑制療法も軽減できる可能性がある。加えて、遺伝子改変により細胞応答を低下させるため特定の修飾を行うこともできる。例えば (i) ブタ白血球抗原（SLA）クラスII発現のダウンレギュレーションをもたらす変異型（ヒト）MHCクラスIIトランスアクチベーター遺伝子の挿入や⁽⁸⁾、(ii) CTLA4-Igなどの免疫抑制遺伝子の挿入⁽⁹⁾ などである。

非ヒト霊長類への移植

アカゲザル、カニクイザル、ヒヒなどの旧世界ザルの免疫系はヒトと多くの類似点を持ち、異種移植の実験モデルとして有用である。これらのモデルはよく研究され、そこからいくつかの結果が示されている。以下に臓器別に主な研究を示す。

・腎臓

野生型（すなわち遺伝子改変されていない）ブタの腎臓は、

サルに移植後一般的に数分以内に機能不全となる。Galノックアウトかつ1つまたは複数の補体調節タンパク質および/または凝固調節タンパク質を発現させたブタの腎臓を用いると、グラフトおよびレシピエントの生存期間が最長499日と報告されている⁽¹⁰⁾。なお異種腎臓移植の初期の研究では、蛋白尿が高率で発生した。これはブタと霊長類の生理学的相違に起因するという疑問が生じた。より最近の研究では、タンパク尿は見られず、初期の研究では免疫反応と関連しており、現在ではこの問題が最小化されていることが示唆されている。

・心臓

多くの実験では、心臓は異所性に移植され、その場合最長で数年機能するとされる。同所性移植は難しかったが、近年進歩し最長生存期間は195日である⁽¹¹⁾。しかし、ブタの心臓は虚血再灌流傷害を受けやすく、この点が改良されればさらに成績改善する可能性がある。

・肝臓

重度の肝不全の治療は同種肝移植が著効を示すが、緊急時にドナーが速やかに見つかるとは限らない。そこで、異種の肝臓を「橋渡し」として移植し、(i) 自己肝臓の自発的回復または(ii) 同種移植を行うことができるまで患者を救命することが試みられてきた。しかし、ブタ肝臓移植は腎臓移植または心臓移植以上の問題を呈し、その中で最も重要なものは急速な血小板減少

であり、出血を惹起した⁽¹²⁾。これまでのところ、最大生存期間は1ヶ月未満である。もう一つの方法として、肝臓ではなく肝細胞を移植する方法がある。例えば、ブタに任意の酵素を高発現させる遺伝的改変を行って、先天性代謝異常を有する患者に移植する戦略である。この場合は細胞数が少なくても効果が期待できる。ブタ肝細胞はまた、ex vivoとして体外の血液灌流デバイスに封入して使用することもできる。しかし例えば肝臓の場合、ブタ肝臓で産生された約2000個のタンパク質のすべてがヒトにおいて十分に機能するわけではない可能性が高い。その場合、必要な特定のヒトタンパク質を産生するように遺伝子改変が必要になる。

・肺

霊長類へのブタ肺の移植は、ブタ肝臓よりもさらに問題があることが判明している。凝固異常や物理的損傷が課題であり、移植の生存率は現在最長14日以内である⁽¹³⁾。

・その他の臓器等

その他、パーキンソン病、皮膚、角膜、赤血球などが異種移植の研究対象として霊長類実験が行われている。

異種膵島移植

糖尿病に対するブタ膵島移植は、異種移植の分野でも特に進んでおり、すでに数十年前から臨床試験が行われている（表1）。近年では主に特殊な半透過性のカプセル（細胞は内外で隔離さ

表1 これまでに実施された主なブタ膵島移植の臨床例

実施時期	実施者・発表者	移植グラフト
1990～92年	Grothら	ブタ胎児膵島細胞
1998年	Zhangら	ブタ新生児膵島細胞
1999年	王維ら	ブタ新生児膵島細胞
2000～02年	Valdes-Gonzalezら	ブタ新生児膵島細胞+Sertoli細胞+マクロデバイス
1996年～現在	Living Cell Technology社 →Diatranz Otsuka社	ブタ新生児膵島細胞+マイクロカプセル
2013年～現在	Wangら	ブタ新生児膵島細胞+自家制御性T細胞+免疫抑制剤

れていて免疫反応が抑制されている)に封入して移植し、免疫抑制剤を使用しない形で実施されてきた。これまでのところブタ由来の感染症は無いなど安全性は高く、インスリン注射が不要になるまでの効果は乏しいものの低血糖発作を軽減し血糖安定化効果も認められている。現行の同種膵島移植と同様にカプセルなしで移植し、免疫抑制剤を使用する方法も研究されており、霊長類モデルでは1年以上血糖値を正常化することに成功している⁽¹⁴⁾。

交差感作

異種移植の適応の可能性として、同種移植ができないヒトHLAに対する感受性の高い患者がある。このような患者がブタ臓器ならば低感受性かどうかが重要な課題である。もし交差感作するならば、ブタ移植片でも早期拒絶をもたらすであろう。逆に、ブタ臓器が移植され、拒絶された場合(SLAに対する抗体の発生に関連する)、その後の同種移植にも影響するかも課題である。しかしいずれにせよ、遺伝子改変技術が進歩した現在、患者が抗体を有する可能性のある任意のSLA遺伝子をノックアウトすることができる。これにより、HLA感受性の高い患者、すなわち現在のところ同種移植を受けることのできない患者に適した臓器の可能性が開かれる。

なお、臨床異種移植に使用される全てのブタの血液型はO型であり、ABO非適合の影響を排除している。

ブタ臓器・細胞による感染の可能性

異種移植の課題のひとつは人獣共通感染症である。レシピエントおよび彼らに接触する者に対し、移植片由来の感染性病原体(ウイルス、細菌、真菌、原虫など)の感染が懸念される。ウイルスの中でもブタ内因性レトロウイルス(PERV)は特異な問題である。PERV以外の対策として、特定の病原体を完全に排除した生物防護条件下で飼育され、定期的にモニタリングされているブタを使用することにより、このリスクは最小化されることが考えられている。感染の観点から見ると、これらのブタは、サイトメガロウイルスやエプスタイン・バーウイルスキャリアや感染初期のウインドウピリオドなどの可能性もある現在のヒトドナーよりもかえって安全性が高いかもしれない。残る問題であるPERVに関しては、ブタ細胞のすべてのゲノムに組み込まれているので、通常の方法では排除できない。ある実験的条

件下では、ヒト細胞への感染がおくと報告されている⁽¹⁵⁾。ただしこれまでの多数の実験的および臨床研究の両方の知見によると実際の移植環境ではレシピエントには感染しないと示唆されている。しかし、可能性は否定できないため移植後長期にわたるモニタリングが必要とされている。PERV感染防止策としては中和抗体、ワクチン、抗ウイルス作用のある薬剤、HIV治療薬のAZT使用などが挙げられる。また遺伝子改変技術によってゲノムからPERV遺伝子を排除できるため⁽¹⁶⁾、よりリスクを低減するために将来的にはPERVフリーブタを用いることが考えられる。

まとめ

異種(特にブタ)移植は不足している移植用ヒト臓器・細胞の代替として有望である。しかし、ブタ臓器・細胞のヒトへの移植は経験が少なく、有効性と安全性の確立についてはさらなる研究が必要である。感染症の制御、宿主の免疫反応や移植部位など、多くの課題がある。しかし、近年の精力的な研究により、新しい技術が開発され着実に進歩してきている。日本ではこれまで異

種移植は実施されていないが、近年再生医療に関する法整備（再生医療等の安全性の確保等に関する法律 http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/iryuu/saisei_iryuu/）や指針（異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する <https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10600000-Daijinkanboukouseikagakuka/0000133010.pdf>）の整備が行われ、再生医療の範疇については環境が整いつつある。特に異種臓器移植は近い将来の臨床応用が期待されている。ただし、異種臓器移植の法規制はまだ無いため、早期の整備が望まれる。

引用文献

1. <https://www.usrds.org/2017/view/Default.aspx>
2. Ekser B, Cooper DKC, Tector AJ. The need for xenotransplantation as a source of organs and cells for clinical transplantation. *Int J Surg* 2015;23:199-204.
3. Cooper DKC. A brief history of cross-species organ transplantation. *Proc Bayl Univ Med Cent* 2012;25: 49-57.
4. Cooper DKC, Ezzelarab MB, Hara H, et al. The pathobiology of pig-to-primate xenotransplantation: a historical review. *Xenotransplantation* 2016;23: 83-105.
5. Good AH, Cooper DKC, Malcolm AJ, et al. Identification of carbohydrate structures that bind human antiporcine antibodies: implications for discordant xenografting in man. *Transplant Proc* 1992;24:559-62.
6. Ezzelarab MB, Ekser B, Azimzadeh A, et al. Systemic inflammation in xenograft recipients precedes activation of coagulation. *Xenotransplantation* 2015;22: 32-47.
7. Butler JR, Tector AJ. CRISPR genome-editing: a medical revolution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2017;153: 488-91.
8. Hara H, Witt W, Crossley T, et al. Human dominantnegative class II transactivator transgenic pigs - effect on the human anti-pig T cell immune response and immune status. *Immunology* 2013;140:39-46.
9. Phelps CJ, Ball SF, Vaught TD, et al. Production and characterization of transgenic pigs expressing porcine CTLA4-Ig. *Xenotransplantation* 2009;16:477-85.
10. Kim S, Higginbotham LB, Mathews DV, et al. CD4 depletion is necessary and sufficient for long-term pig-to-nonhuman primate renal xenotransplant survival. *Xenotransplantation* 2017; 24: 29-30. Abstract (0.4.2).
11. Långin M et al. Consistent success in life-supporting porcine cardiac xenotransplantation. *Nature*. 2018;564(7736):430-433.
12. Ekser B, Markmann JF, Tector AJ. Current status of pig liver xenotransplantation. *Int J Surg* 2015;23:240-6.
13. 佐原 寿史 前臨床異種臓器移植研究の現状と課題 第22回日本異種移植研究会シンポジウム
14. Lee JJ, Kim J, Choi YJ, et al. The effect of epitope-based ligation of ICAM-1 on survival and retransplantation of pig islets in nonhuman primates. *Xenotransplantation*. 2017 Nov 12.
15. Patience C, Takeuchi Y, Weiss RA. Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nat Med*. 1997;3:282-6.
16. Niu D, Wei HJ, Lin L, et al. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science* 2017; 22; 357(6357):1303-1307.

洗練された技術 理想への貢献

動物実験導入教育訓練用マウスシミュレータ
Mimicky Mouse

製品内容

ボディ：1体/尾1本
付属品：専用潤滑剤1本/ベビーパウダー 1本



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

本社	東京都江戸川区西一之江2-13-16
本社営業部	TEL. 03-3656-5559 FAX. 03-3656-5599 skl-tokyo@sankyolabo.co.jp
北陸営業所	TEL. 076-425-8021 FAX. 076-491-1107 skl-hokuriku@sankyolabo.co.jp
札幌営業所	TEL. 011-881-9131 FAX. 011-883-1176 skl-sapporo@sankyolabo.co.jp
つくばラボ	TEL. 029-829-3555 FAX. 029-862-5555 skl-tsukuba_lab@sankeyolabo.co.jp

販売 ●実験用動物 ●関連商品 ●実験動物輸送

飼育受託 ●実験動物全般の飼育管理業務（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等） ●飼育施設環境管理（洗浄業務から各種環境測定まで） ●実験支援・代行 ●各第三者認証への対応

技術受託 ●遺伝子組換え動物の維持・繁殖 ●無菌動物の作出・維持 ●実験受託（非GLP） ●施設クリーンアップ



www.sankyolabo.co.jp

イギリスの一般市民への動物実験に関する 情報発信の状況 訪問調査研究の報告 (II)

— 英国における動物実験に関する情報公開のための協定 —
(Concordat for Openness on Animal Research in the UK)

加隈 良枝 (帝京科学大学)、久原 孝俊 (順天堂大学)、笠井 憲雪 (東北大学名誉教授)

1. はじめに

英国の動物実験に関する情報公開は私たちから見ると驚くほど先進的である。これは前回で紹介した UAR (Understanding Animal Research) が中心になり結ばれた「動物実験に関する情報公開のための協定 (Concordat for Openness on Animal Research)」に負うところが大きい。今回はこの協定について、UAR の Wendy Jarrett 氏の話をもとに、UAR のホームページを参考に紹介したい¹⁾。

2. 背景

英国では 1990 年代から 2010 年にかけてアニマルライツ活動家による動物実験施設からの実験動物の盗難などテロ活動が激化していた。例えば 2002 年 1 月の日本の新聞各紙は一斉にアニマルライツ団体が英国の受託試験機関である H 社の倒産を狙って、資金を融資しようとしている米国の銀行に激しい抗議や脅迫を行なったと報じた。この団体のメンバーは、その前年に来日し、日本の医科系 5 大学の動物実験施設に侵入し、内部を撮影したり、資料を持ち出し、これをもとにインターネットで公

開し「虐待」と非難したと 2002 年 7 月の新聞が報じている。さらに英国ではオックスフォード大学の新しい動物実験施設の建設に対しても反対活動が起きていた。このため英国政府は動物実験反対の声が大きくなり、多数派を占めるようになることは、英国の重要産業である製薬企業の活動に大きな支障が出て、その結果経済的にも大きな問題となることにもつながりかねないという危機感をもった。また、患者団体などは、動物実験が止まり、病気の新しい治療法の開発が止まることを懸念し、動物実験擁護派もキャンペーンを進めるようになった。

一方で、こうした犯罪を犯した過激派メンバーがみな捕えられると、社会が静かになり、市民の興味も薄れ 2012 年の世論調査では、動物実験の容認率が 10% も下落した。これは科学者が動物実験のニーズを一般市民に伝える機会が減ってしまったために起きたのではないかと解釈され、何らかの行動をしなれば動物実験の支持率は大きく減少してしまうという警告ととらえられた。英国では動物の取り扱いに関する規制は多いものの、

調査では市民の多くが、これらの規制が必ずしも順守されているとは思えないとも回答していた。つまり、法律がありそのことを守っているなどと動物実験の良い面ばかりを主張するのではなく、動物実験のもたらす影響や動物自身へのネガティブな側面を含めて、動物実験実施側が一般市民へ説明すべきなのではないかと考えられるようになった。そこで、新しく組織された UAR を中心に、動物実験情報の一般市民への発信の取り組みを始めた。

3. 動物実験の公開の推進に関する宣言 (Declaration on Openness on Animal Research)

2012 年 10 月、英国のライフサイエンスに関わる 40 以上の組織が動物実験の公開の推進に関する宣言に同意し、署名した。これは、英国における科学的、医学的または獣医学的研究において動物をどのように使用しているか、そしてこれらの研究が科学的発見や治療開発において果たす役割、さらにそのような研究が英国でどのように規制され、動物のケアと福祉を促進し、動

物の使用数を減らし、動物の苦しみと危害を最小限に抑えるために研究者と動物管理スタッフが何をしようとしているかを一般の人々に正確かつ最新の情報を発信するための方法について、協定を結ぶことに合意したものである。

その後、メディアの代表者とのワークショップや動物福祉団体との議論を通して、人々がこの情報の公開に何を期待しているのか、どのような情報へのアクセスを期待しているのかを知った。そして2013年末には6週間にわたり協定書の草稿に対するパブリックコメントを募集し、これらを反映して協定書を作成した。

4. 英国における動物実験に関する情報開示のための協定 (Concordat for Openness on Animal Research in the UK) の締結

2014年5月、英国における動物実験に関する情報開示のための協定 (Concordat for Openness on Animal Research in the UK) が生命科学界全分野から72機関の署名を得て発出された。この協定は署名したそれぞれの組織がとるべき4つの公約 (Commitment) からなっている²⁾。

Commitment 1: 我々はいつ、どのようにそしてなぜ研究で動物を使うかを明確にする。

Commitment 2: 我々は動物を使った研究に関するメディアや一般の人々とのコミュニケーションを促進する。

Commitment 3: 我々は、動物を

使った研究について知る機会を積極的に社会へ提供する。

Commitment 4: 我々は、毎年これらの進捗状況を報告し、経験を共有する。

これら公約の具体的内容をUARのHPの記事から要約する。

Commitment 1: 我々はいつ、どのようにそしてなぜ研究で動物を使うかを明確にする。

これは署名した全ての組織が、動物を用いた研究を実施またはそれらに資金提供していることを組織の内外に明確にすることを目指している。さらに研究における動物の使用に関して透明性を確保することに努め、署名者全員が、これらの情報開示の基本原則に同意することを期待されており、このことが協定全体を支えている。

この協定の署名者同士が共同で研究プロジェクトに取り組んでいる場合は、関わるすべての関係者はその研究についてのコミュニケーションにオープンな態度をとり、その中でお互いを支援することに同意する。一方、署名した組織としていない組織との共同研究の場合や、商業上やその他の機密性の問題がある場合は、署名している組織は、これらの制約を尊重しながら、できるだけ一般の人々と情報を共有する努力をしようとしている。

Commitment 2: 我々は動物を使った研究に関するメディアや一般の人々とのコミュニケーションを促進する。

この公約の目的は、署名者の関与する動物を使用する研究の

詳細に、一般市民が容易にアクセスできるようにすることである。これはCommitment 1を基礎として、動物実験に関するコミュニケーションを円滑にするために組織が講ずる実用的なステップのいくつかを概説することにより、構築している。

署名者は自分たちのウェブサイトを通して研究における動物使用の方針や声明を発表し、その本質と広い意味での役割についての明確な情報を提供し、これらをUnderstanding Animal Research (UAR) ウェブサイトで公開するためにUARに提供するか、UARのポータルにリンクすることとしている。

動物を使用した研究が科学の進歩や製品開発に重要な役割を果たした時は、その情報をメディアへの公表等、関連する情報機関に公開する。そのためにメディアへの公表を希望する研究者およびスタッフを支援し、必要に応じてスポークスマンを配置する。

一方、科学の進歩における動物実験の役割についての情報を科学雑誌や署名大学、製薬会社、学協会、研究助成機関で閲覧できるように公表するために、研究者は動物を用いた研究成果を公表する際にはARRIVEガイドラインに述べられている原理などの規範となる優れた取り組み (Good practice) に従うことを奨励する。

また、大学や製薬会社、学協会、研究基金団体等の署名機関は、3Rをよりよく促進するためにどのように取り組んでいるか、またそれらの事例を報告し説明することとしている。

Commitment 3: 我々は、動物を使った研究について知る機会を積極的に社会へ提供する。

この公約は、動物実験に関する英国でのより一般的な議論を促進することを目的としている。これは、Commitment 1 と 2 を基に、署名者が情報の提供に加え、直接的にも間接的にも積極的に公衆と関わるための方法を提案することによって確立する。

また、動物使用研究プロジェクトとその手順を包括的に、必要に応じて画像や動画を用い、その資料自体の公表やメディアへの発表という形で提供する。例えば学校や地域社会での講演や公の行事での動物の役割などの情報が含まれる。そして署名者は、科学的、獣医学的および医学的研究における動物の問題への公衆の関与を促す方法を検討する。

Commitment 4: 我々は、毎年これらの進捗状況を報告し、経験を共有する。

これらの協定の実施状況を監視することは、この協定を成功させるために重要である。我々は、英国における動物を使った研究がより開かれたものにすることや、市民に提供されている情報の改善について論証し、共有できるようにしたいと考えている。また、つねに最新なものに保つために協定や我々のとった行動を検証する。

我々は、これらの公約を履行するために我々がとった行動について毎年 UAR に報告し、また採用した戦略の有効性と影響についての経験を共有する。そして UAR は公開の進捗状況に関す

る最新情報を毎年公表する。

5. 情報公開の進捗状況の年次報告について

2014 年 5 月にこの協定は英国の生物科学の全ての分野から 72 機関の署名を得て発効し、7 月までに署名者は 80 機関に達した。そして Commitment 4 に基づいて、2015 年 9 月に最初の情報公開協定年次報告 2015 が公表された。そこには協定の署名者が公開性と透明性を向上させるという公約をどのように達成したかを、協定の初年度の終わりに各署名組織から提供された情報を要約している。

2017 年 12 月には第 3 回目の報告書が公表された。この報告では 2014 年に発効以来の協定の影響に焦点を当てた。協定は、署名者の組織内でも組織外でも、大きな成功を収めている。組織内では、協定は動物の研究と福祉のイメージを高め、よりオープンな会話を可能にし、研究スタッフと技術者が、彼らが何をするかについて話す自信を深めた。生命科学分野では、協定は機関間の協力を促し、動物の研究について話すことに伴う不安に挑戦し、科学で動物を使用することに反対する声がより合理的・攻撃的にならない社会をもたらすよう鼓舞した。広く社会に対しては、協定は研究に使用される動物に関する情報をより容易に入手できるようにした。これにより、動物の世話をするスタッフの役割に対する理解が深まり、関心のあ一般の人々が施設内を見ることができるようになり、研究における動物の使用に関するより多くのニュース記事に目を向けるように

なった。

6. 英国における動物実験に関する情報開示のための協定年次報告 2019

(Concordat for Openness on Animal Research in the UK Annual Report 2019)

第 5 回目の最新報告書は 2019 年に公表された³⁾。報告書は 50 ページからなり、目次は要旨、序論に加え Part 1. 英国の動物を使用する研究の公開に関する進展、Part 2. 公開の事例研究、Part 3. 協定の管理運営、Part 4. 成功と課題、補遺となっている。要旨を一部抜粋し紹介する。

2014 年に 72 機関の署名により発出された協定は、2019 年には 121 機関が署名した。そのうち 75 が研究機関であり、48 が独自の研究を実施せず、研究者に資金を提供するか、直接支援している。これらの支援組織には、研究慈善団体、業界団体、学協会が含まれる。

今日、署名者は協定が生命科学研究分野に次のような影響を持っていると考えている。

- ・市民は動物を使用して研究を実施する研究者から直接情報の入手が可能
- ・この分野の内外で、動物ケアスタッフの役割に対する理解や評価が向上
- ・事業所内の動物施設のイメージが良くなり、投資が増加し、動物福祉が向上
- ・動物施設内部を見学するためのアクセスの向上
- ・公開情報からより多くの情報が積極的に得られるため、研究での動物の使用に関する否定的な

コミュニケーションが減少

しかしながら、署名者は、現時点ではこれが研究部門を越えて社会に影響を及ぼしているとは感じていない。協定によって始まった文化の変化が、動物を用いた研究に関する情報により容易にアクセスが可能になり、理解されるにつれて、徐々に幅広い影響を及ぼすことを願っている。

一方、協定の署名者にとって困難であり、追加の支援の必要性が指摘される主要な分野は次のとおりである。

- ・研究で動物に与えられる危害に関する的確な議論は、研究界の人々にとって依然として難しいトピックであり、一部の組織はバランスの取れた情報を提供するための措置を講じているが、他の組織はまだ多くを提供できていないかもしれない。
- ・多くの組織は協定に準拠しているが、先行しているのはごく少数であり、他の組織はより大胆な措置を講じるよう奨励する必要がある。
- ・非学術団体は、メディアを通して研究を社会に説明することに消極的であり、多くの施設は報道機関と公に協力するためにもっとできることがある。
- ・協定内で非研究組織が果たす役割を明確にし、管理プロセスをそれらに対応させ、適切であることを保証する措置を講じる必要がある。

7. 協定の公約に向けた進捗（年次報告2019より）

協定の署名者は、研究で動物をどのように、いつ、なぜ使用するかにについて明確にする必要

があり、過去5年間で、社会の動物使用研究に関する情報の量と深さが大幅に増加した³⁾。過去には、内部の研究施設からの画像は稀であったが、今年は署名機関がビデオ、バーチャルツアー、ケーススタディを使用して、動物の暮らしがどのようなものかを明らかにした⁴⁾。

協定のすべての署名者は、研究で動物の使用を支持する理由を明確に示すために、一般向けの方針についての声明を提供する必要があるが、多くの組織はより広範な情報を提供している。現在、署名研究機関の72%のWebサイトは、研究に使用されている動物の数と種を公表している。営利組織で、商業上の機密性のためにこの情報を公表することが不可能な場合、使用されている動物の種類と動物が使用される研究の割合に関する情報が増加している。

全体として、協定は、生命科学組織の研究での動物の使用について、それぞれの組織のスタッフおよびより広い一般の人々とのコミュニケーションの方法に大きな変化をもたらした。動物が科学分野でどのように使用されるかを示す公開資料がこれまでになく入手可能になり、動物使用研究について意見交換するためのより積極的なアプローチが通常の方法になりつつある。さらに、メディアが科学記事を取り上げるとき、動物を使用する研究について聞くことや、動物が研究でどのように、いつ、なぜ使用されるかについての背景を提供することがますます一般的になりつつある。そのために、一般の人々が研究で使用さ

れる動物についてより多くの情報に基づいた洞察を持てるようになってきている。

以上が、2019年の年次報告からの抜粋であるが、UARは、この年から“Leaders in Openness賞”を立ち上げた。これは規範となる優れた取り組みを行い、組織内に協定の精神を浸透させ、協定の目的を実現するために多大な努力を行った組織を表彰するためである。そして、彼らの実績をより広く共有し、各組織が公開性に向けたさらなるステップを採ることを支援したい、としている。今回は“Leaders in Openness2019-2022”として13機関を表彰した。このような催しも署名機関が協定の公約の実施に向けた活動を活発化することに大きな励みとなっている。

8. あとがき

以上、英国で締結された動物実験の情報公開に関する協定とその取り組みについて見てきたが、これは動物を使用する研究機関及びそれらを支援する学協会や研究助成機関が一丸となり、一般市民への情報公開を積極的に行うこと、そしてそれを年次報告の形で検証報告することが特徴である。英国では1999年以来ほぼ2年毎に動物を使用した研究についての一般市民を対象とした調査がIpsos MORIという世界的な調査会社に依頼して行われている⁵⁾。そしてこの調査結果から市民の動物使用研究への支持率を常に確かめながらUARを中心に、協定にもとづいた市民への理解を促進するための多様な活動を行っている。いわば、Ipsos MORIの調査と協定

の実施は車の両輪である。

ちなみに日本における動物実験についての市民の意識調査については2018年に我々の科研費研究班が行なっているが⁶⁾、我が国でもこのような調査に基づいた動物実験に関する市民の意識を認識しながら、市民への情報の発信策を民間レベルでも国等のレベルにおいても考え、実施する時期に来ていると思われる。

參考資料

- 1) UAR(Understanding Animal Research)
のwebsite
[http://www.
understandinganimalresearch.org.uk/](http://www.understandinganimalresearch.org.uk/)

- 2) Concordat for Openness on Animal Research in the UKのwebsite
<http://concordatopenness.org.uk/>
- 3) Concordat for Openness on Animal Research in the UK Annual Report 2019
<http://concordatopenness.org.uk/wp-content/uploads/2019/12/Concordat-Report-2019.pdf>
- 4) オックスフォード大学などの動物施設のバーチャルツアー：是非参照してみてください。
<http://www.labanimaltour.org/>
- 5) 英国国民の動物実験に関する意識調査について (Ipsos MORI)
<https://www.ipsos.com/ipsos-mori/en-uk/public-attitudes-animal-research-2018>
- 6) 日本国民の動物実験に関する意識調査について
 - ・ Survey report on public awareness concerning the use of animals in scientific research in Japan. Ayako Uchikoshi and Noriyuki Kasai, *Exp. Anim.* 68(3), 307-318, 2019
 - ・ 一般市民は動物実験をどう見ているか (詳細版) 一科研費プロジェクトによる

る動物実験に関わる市民意識調査報告
一 打越綾子 成城法学第86号P281-360
2020年1月
<https://seijo-law.jp/faculty/public/info/hougaku/086.php>
動物実験に対する一般市民の認識と今後の情報発信、打越綾子 & 笠井憲恵、
LABIO21, No77, P26-31, 2019

謝辞：この調査研究並びに報告書作成は2016～2018年度および2019～2021年度日本学術振興会科学研究費助成基盤研究（C）（JSPS 科研費 JP16K07080 および JSPS 科研費 JP19K06453、代表：笠井憲雪）の補助を受けて行われた。

『はかせのはなし』

著者 水道橋 博

KADOKAWA、1,200 円+税



ほんのひとりごと

この本は2年前に書店で見つけて積読となっていたものです。何故今になって手に取ったのか？それには二つの理由があります。一つは書き出しに書かれていた「東京マラソン」と「東京オリンピック」の文字が気になって手に取りました。そこには2020年に開催されるオリンピックの誘致活動から開催までを思う気持ちが込められていたこと。もう一つは東京都のHPのコラムニストとしてお笑い芸人の水道橋博士が指名され、そのコラムをまとめたものである事を知ったからです。この本を読んでいくとどうも石原都知事

の発言で決まったようです。

東京都のHPなので当然のことですが、内容は東京都の各種事業の紹介を自分の体験や感想を深掘りして、お笑い芸人らしく巧みな話術を文字に代えて表現したものとなっています。そして博士というだけに、其処彼処に彼の感性和知識の豊かさを感じられる内容となっています。東京について、今の姿をさまざまなデータを用いて紹介していて楽しく知ることができます。では、お得な情報を紹介しています。例えば、2020年に向けたオリンピック会場の建物や豊洲市場の建物などを新東京丸に

よる東京湾の遊覧で海上から観て
 周る事が出来る様です。乗船は無
 料ですが予約が必要です。利用対
 象：東京港に関心のある15歳以
 上の団体・個人（ただし、中学生
 は除きます。）HPから空きの状況
 は確認できます。因みに10月初
 めの段階では11月末まで予約は
 一杯でした。

文字も大きく、文字の間隔も広く、高齢者の仲間に足を一步踏み込んだ者にとっては程よい読み物です。

〔選評 森村 栄一〕



海外文献情報

動物の安楽死に関する米国獣医師会 (AVMA) のガイドライン 2020年版

順天堂大学 国際教養学部

久原 孝俊

はじめに

動物に安楽死処置を施すとき、われわれは、米国獣医師会 (AVMA) の「動物の安楽死に関するガイドライン」(“AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals”)を参照することが多い。2020年1月15日、このガイドラインが改訂された。本ガイドラインは、121ページにわたる膨大な文書であるので、そのすべてを紹介することはできない。今回は、本ガイドラインのうち、二酸化炭素(炭酸ガス:CO₂)による動物の安楽死に関する項を紹介する。その理由は、前版(2013年版)において推奨されていた、容器(チャンバー)内のCO₂の推奨置換率(毎分10～30%)が毎分30～70%に変更されたからである。この変更は、わが国における実験動物の安楽死法にも大きな影響を及ぼすことであろう。

なお、本項は上記ガイドラインの翻訳ではない。上記ガイドラインを読んで、筆者が自由にまとめたものである。

二酸化炭素による動物の安楽死

二酸化炭素(CO₂)を吸入すると、呼吸性アシドーシスが引き起こされ、細胞内のpHを急速に低下させることによって、可逆性の麻酔状態を誘導することができる。100%のCO₂を吸入すると、ただちに、基礎神経活動および誘発神

経活動ともに抑制される。7.5%のCO₂を吸入すると、疼痛の閾値が上昇する。30%以上のCO₂によって深麻酔が得られ、さらに長時間暴露させると、死に至る。CO₂を投与方法には、次の2つの方法がある。すなわち、あらかじめCO₂を充満させた密閉容器の中に、直接、動物を入れる方法、または漸次上昇するCO₂濃度のガスに暴露する方法である。

CO₂は、動物に苦痛をひき起こす可能性がある。苦痛は、次の3つの異なるメカニズムによって引き起こされる:(1)呼吸器粘膜および眼の粘膜上において、炭酸(H₂CO₃)が生成されること;(2)いわゆる「空気飢餓感」および「息切れ感」が起こること;(3)恐怖反応に関連して、扁桃体の中のイオンチャンネルが直接刺激を受けることなどによって苦痛が引き起こされる。CO₂によって引き起こされる苦痛に関しては、大きな種差や系統差がみられる。

ラットにおいては、100% CO₂は、無呼吸および徐脈を誘発する。しかし、10%、25%、あるいは50%濃度のCO₂は、そのような反応を誘発しない。このことは、齧歯類においては、CO₂ガスを漸次置換する方法を利用すれば、意識を消失する前における痛みの誘発が起こりにくいことを示唆している。ラットにおいては、急速にCO₂濃度を上昇させると(毎分、チャンバー

容積の50%以上の流量)、わずか26～48秒で意識が消失する

一般的なルールとして、急速かつ苦痛の大きい死よりは、時間がかかっても、苦痛の小さな死のほうが望ましい。漸次上昇させる濃度のCO₂に暴露させる方法は、齧歯類に嫌悪をひき起こす。嫌悪は、約15% CO₂濃度から始まり、意識が消失するまでつづく。適切なガス置換率で漸次CO₂濃度を上昇させれば、CO₂が痛みをひき起こす濃度に達する前に、動物は意識を消失するであろう。毎分20%の置換率で漸次CO₂濃度を上昇させれば、106秒後に30% CO₂濃度において、意識を消失させることができる。しかし、それより低い毎分10%の置換率で漸次CO₂濃度を上昇させれば、意識消失に至るまでの時間は156秒まで延長し、21% CO₂濃度において、意識が消失する。

未成熟動物、爬虫類、両生類、ならびにいくつかの穴居性動物および潜水動物においては、呼吸適応能を有しているために、意識の消失や死を確実にもたらすためには、より高濃度のCO₂、より長い暴露時間、低酸素血症をひき起こすための追加暴露、あるいは他の追加的な安楽死処置などが必要になることがある。1日齢において、ラットおよびマウスは、100% CO₂に暴露して確実に死に至らしめるためには、それぞれ、35分および50

分も必要であった。10日齢になると、確実に死に至らしめるためには、5分の暴露で充分であった

CO₂にO₂を加えた場合、痛みの徴候が除去されることも、されないこともある。しかし、O₂を補充すると、低酸素血症による死に至るまでの時間が延長し、また意識消失の開始も遅延するであろう。

二酸化炭素による動物の安楽死の長所

- (1) CO₂は、急速に鎮静、鎮痛、および麻酔作用をもたらすことがよく実証されている。
- (2) CO₂は、圧縮ガスボンベとして容易に入手することができる。
- (3) CO₂は、低価格、非可燃性、非爆発性であり、適切に設計された装置を使用すれば、スタッフへの危険性もきわめて小さい。
- (4) CO₂は、食品を生産するための動物の組織において、残留毒物を蓄積させない。

二酸化炭素による動物の安楽死の短所

- (1) CO₂吸入に対する反応には、動物種、系統、品種による大きな違い、ならびに意見の分かれる違いがあるので、一般化するのがむずかしい。
- (2) CO₂は、あらかじめ容器に充填させる方法であれ、漸次置換させる方法であれ、ある種の動物には嫌悪をひき起こすので、苦痛をもたらす可能性がある。
- (3) CO₂は空気より重いので、容器の中でガスの層が形成されたり、容器へのガスの充填が不十分であったりすると、動物は、効果的な濃度のガス層よりも上に登ったり、頭を上げたりして、ガスへの暴露を避けることがある。
- (4) 未成熟動物、ならびにいくつか

の水生動物種および穴居性動物種のなかには、けたはずれのCO₂耐性をもつ動物がいる。

- (5) 爬虫類や両生類は、CO₂に暴露されると、きわめてゆっくりと呼吸することがある。

一般的な推奨

CO₂は、嫌悪や苦痛を最小限にすることができる動物種の安楽死においては、条件付きで許容することができる。漸次上昇させる濃度のCO₂に暴露させる方法は、意識を消失する前に、炭酸による侵害受容体の活性化に起因する疼痛をひき起こしにくい。**毎分、容器の体積の30～70%の置換率で漸次CO₂濃度を上昇させることを推奨する。**漸次ガスを置換させる方法を利用するときは、動物が呼吸停止をした後、かならず、少なくとも1分間はCO₂を流入しつづけないといけない。未成熟動物においては、死を確実にもたらすためには、高濃度のCO₂により長い時間暴露しなければならない。CO₂とともにO₂を補充する方法は、ほとんどメリットがないと思われるので、安楽死の目的のためには、推奨することができない。動物を容器に入れる場合、あらかじめ100% CO₂で充填させた容器内に、意識のある動物を直接入れることは、許容することはできない。

おわりに

2020年版動物の安楽死に関するAVMAのガイドラインにおいて、容器内のCO₂の推奨置換率が(2013年版の)毎分10～30%から30～70%に変更された根拠については、いくつかの文献が引用されているものの、本ガイドライン本文中には明確には記載されていない。残念ながら、筆者はそれらの引用文献を入手することはできな

い。

1980年代中頃より2020年版のAVMA安楽死ガイドラインの発行に至るまで、動物が高濃度のCO₂に暴露されると、CO₂が体液に溶解して炭酸が生成されるために、呼吸器や眼が刺激されて痛みを感じるとされていた。しかし、その後の研究において、高い置換率でCO₂を容器内に流入させるほうがより人道的であることが示されたようだ。その間の経緯について知るためには、上記引用文献を参照しなければならないが、2018年11月にシカゴ郊外にて開催された、米国獣医師会の人道的エンドポイントに関するシンポジウムにおいて、Samuel Cartner博士が容器内のCO₂の推奨置換率を(毎分10～30%から)30～70%に変更すべきであることを提案したようだ¹⁾。

CO₂による動物の安楽死については、さらなる洗練/検討が必要なのかもしれない。

「私は、生涯にわたって、私自身の専門家としての知識および技能を絶えず向上させることを義務として受け入れます」——米国獣医師の誓いには、そう記されている。

2020年版 AVMA 安楽死ガイドラインは、下記URLよりダウンロードすることができるので、読者におかれては、ぜひ原文を参照していただきたい。

https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020_Euthanasia_Final_1-15-20.pdf

引用文献

- 1) <https://www.avma.org/News/JAVMANews/Pages/190101c.aspx>

キーワード: 動物実験、安楽死、ガイドライン、米国獣医師会 (AVMA)

中性高濃度次亜塩素酸水の 生成装置

(株) マルエム商会 林 元日古

エア・ウォーター・バイオデザイン (株) 洗 暢俊

はじめに

「次亜塩素酸」水と聞いて何を思い浮かべるでしょうか。次亜塩素酸ナトリウムでしょうか。次亜塩素酸は、次亜塩素酸ナトリウムと名前も構成元素もよく似ていますが、除菌効果は大きく異なり、ある種の大腸菌に対しては80倍も効果が高く、安全性も高いとされています。このような除菌水の生成装置開発のきっかけは、8年近く前にさかのぼります。当時、我々は同じ電機メーカーに所属し太陽電池のDC電流を利用した様々な環境技術の開発を進めていました。その中に電解技術があり、水素製造や蓄電池の技術も開発していましたが、より直接的かつ広く人々の環境改善に役立つ除菌水生成技術を優先的に取り組む事にしました。

水溶液に電解処理を行うと、新しい機能を持った水に変化させることができ、これを「機能水(電解水)」と呼びます。塩化物イオンを含む水溶液を電解した場合、高い殺菌効果を示す次亜塩素酸を含む水が得られます。この水の特徴は【広い抗菌スペクトル】【耐性菌が出にくい】【環境に残留しない】という性質で、人や動物、環境に対する安全性が高く、健康被害や環境負荷が非常に起きにくいという特長があります。

電解水の殺菌機構とpHによる違い

電解水に含まれる次亜塩素酸は、対象物(有機化合物)を酸化することにより、殺菌、消臭、漂白作用を呈します。これらの酸化剤はDNAやタンパク等と非特異的に反応するため、病原体が耐性を獲得することはメカニズム的に極めて困難とされています。

電解水はpHによって更にいくつかに分類され、次亜塩素酸(HClO)の割合が多い酸性電解水と、次亜塩素酸イオン(ClO⁻)の割合が多いアルカリ性の電解次亜水に大別されます。次亜塩素酸は次亜塩素酸イオンと平衡関係にあり、Fig. 1のように各々の存在

割合はpH(水素イオン濃度)の値に依存します。

酸性電解水は生成できる有効塩素濃度が比較的低く、また電解次亜水は殺菌効果の高い次亜塩素酸の割合が少ないため、流水しながら殺菌・消毒することが基本的な使い方となっています。

生成装置の開発

我々は従来型製品では難しいターゲットに対応するためには生成装置にどのような要求があるかを検討しました。殺菌効果を上げるためには、有効塩素濃度を上げることが最もシンプルな方法です。アルカリ性にする事で次

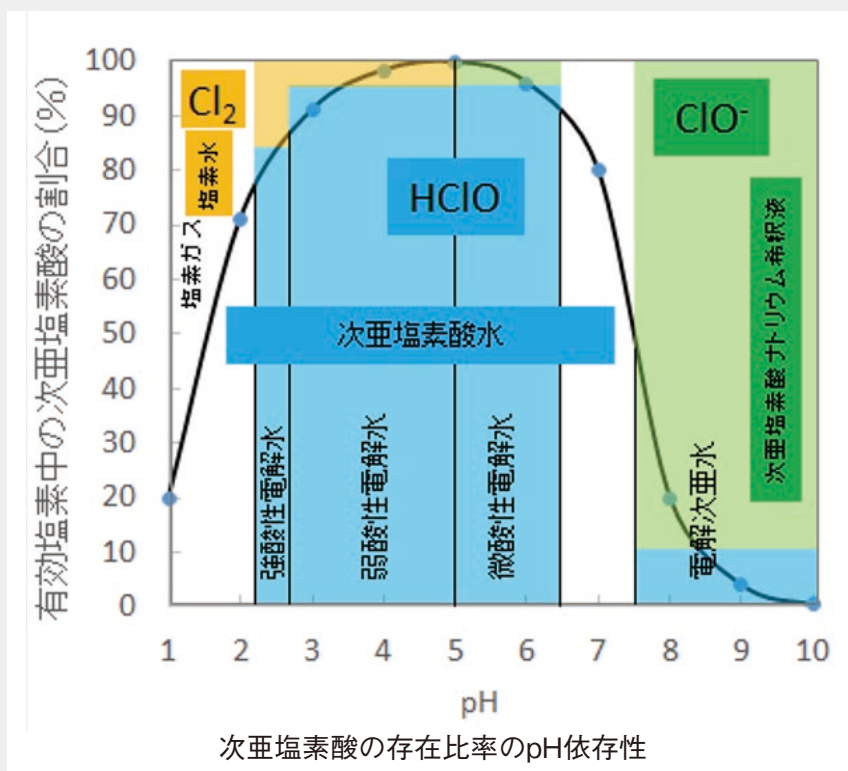


Fig. 1 次亜塩素酸の存在比率とpH

亜塩素酸ナトリウムと同様の有効塩素濃度の高い電解水を生成し易くなりますが、次亜塩素酸と同等の殺菌効力を次亜塩素酸イオンで発揮するのはかなりの高濃度が必要になります。またアルカリ性が強いと皮膚を腐食するので取り扱いに注意が必要です。同じ有効塩素濃度であれば次亜塩素酸の割合を増やせばよく、酸性にする方が有利ですが、次亜塩素酸の分解を促進することにもつながるため、高濃度の酸性次亜塩素酸水を効率よく生成するのは容易ではありません。また酸性水による腐食の問題にも留意する必要があります。

そこで「生成水」に関しては、酸性あるいはアルカリ性によってダメージを受ける心配がない中性とする事、有効塩素濃度を漬け置きや気中噴霧にても効果が出るように100ppm以上とする事、「生成装置」に関しては、原材料液の取扱や装置設置を含めて資格不要で簡単に取扱える事、使用用途に合わせて濃度選択できる事、連続生成され希釈不要である事、手洗い用の非接触センサによる操作も可能である事、重要部品の寿命が長い事、生成濃度とpHが安定している事、としました。また装置とセットで使用する原材

料液(電解溶液)は、成分濃度を化学物質取扱の資格が要らないようにしました。

これらの要件を満たしながら、各種の条件検討を行いながら開発を進め、次のような諸元の生成装置を完成しました。

次亜塩素酸(中性)を生成: 中性領域(pH7付近)でより安心して使用可能、副生成物が殆どない、硬水の使用にも対応。

小型サイズで高濃度・大流量で生成: 濃度を3段階に切替可能(25/50/高濃度100ppm)、生成流量が最大約8L/分(25ppm時)。

メンテナンスフリー性: 製品設計寿命5年、想定使用時間1日1時間365日ですが、使用量が同じ場合、生成量能力が低い製品よりも、製品寿命が長くなります。

これに各種の安全機構を加えて製品化したものが、当時シャープ・ライフサイエンス社から発売され、現在エア・ウォーター・バイオデザイン社から販売されている「Laipoc業務用消臭除菌水生成器FW-AN08」です(Fig. 2)。製品ホームページ <https://www.awbio.co.jp/functional-water/>

「中性電解次亜塩素酸水」のウイルス不活化効果、殺菌効果、安全性の試験

第三者機関に委託して検証したところ非常に優れた結果が得られました。有効塩素濃度については、開発した生成装置で濃度選択して生成したものを濃度調整せずにそのまま使用しています。

Table 1は各種ウイルスに対する不活化効果で、ウイルス量の減少量を対数減少値で示しています。コロナウイルスと同じエンベロープ有りのウイルスであるインフルエンザウイルス、アルコールが効きにくいとされるエン

ベロープ無しのネコカリシウイルス(ノロウイルスの代替ウイルス)、除菌剤が効きにくいイヌパルボウイルスに対して優れた結果を示しました。Table 2は各種の菌に対する殺菌効果を示しています。緑膿菌、サルモネラ菌、大腸菌O157、レジオネラ菌、除菌しにくい真菌であるクロカワカビ(黒カビ)、最も殺菌しにくい部類の菌の芽胞菌の一種のセレウス菌に対しても優れた結果を示し、高水準消毒薬に匹敵する殺菌スペクトルを示しました。Table 3は急性毒性試験の結果ですが、毒性を示しませんでした。次亜塩素酸水は使用の際に、肌が付着したり、誤って目に入ったり、飲み込んだり、スプレーしたミストを吸い込んだりしても特に問題が起きないと考えられています。更に中性であれば、廃棄に際して酸性やアルカリ性のように中和する必要がなく、使用時の濃度も薄く環境への影響は少ないと言えます。

次亜塩素酸ナトリウム液の主たる殺菌成分が次亜塩素酸成分であると考えられている事などから次亜塩素酸ナトリウム液で不活化や殺菌ができるとされている各種のウイルスや菌に対しても高い効果があると考えられます。更に次亜塩素酸水は生身の体を丸ごと洗っても健康障害が起きないとされているので、人や動物に対する伝染性の病原菌やウイルス、新型ウイルスなどに対して、次亜塩素酸水を除菌すすぎ、散水、空間噴霧などに活用する事で高い抑止効果を発揮する事が期待できます。



Fig. 2

Table 1 ウイルス不活化効果

分類	試験ウイルス	有効塩素濃度	初期の感染価	結果 (対数減少値)	
				15秒後	60秒後
エンペローブウイルス	A型インフルエンザ	26ppm	7.6×10^5	◎>5.0	◎>5.0
ノンエンペローブウイルス	ノロウイルス代替 (ネコカリシ)	26ppm	2.0×10^7	◎ 5.4	◎>6.5
		54ppm		◎>6.5	—
		66ppm	2.0×10^5	◎>4.5	◎>4.5
		アルコール製剤		×0.6	×1.5
	イヌパルボ	26ppm	3.5×10^5	—	◎>4.7
		109ppm		◎>4.7	◎>4.7

Table 2 殺菌効果

分類	試験菌	有効塩素濃度	初期の生菌数	結果 (対数減少値)	
				15秒後	5分後
一般細菌	緑膿菌	9.5ppm	1.2×10^6	◎>5.0	◎>5.0
	サルモネラ		7.3×10^5	◎>4.8	◎>4.8
	大腸菌O157		4.2×10^5	◎>4.6	◎>4.6
	レジオネラ		2.1×10^7	◎>5.3	◎>5.3
真菌	クロカワカビ	9.5ppm	4.5×10^5	×<0.1	◎4.6
		26ppm		×1.0	◎>4.6
		78ppm		◎>4.6	◎>4.6
芽胞菌	セレウス菌	26ppm	5.3×10^5	×<0.1	◎>4.7
		78ppm		×0.1	◎>4.7

Table 3 安全性

対象	試験名称	有効塩素濃度	結果
皮膚	ウサギを用いる皮膚一次刺激性試験	200ppm	無刺激性
	モルモットを用いるMaximization法による皮膚感作性試験	200ppm	感作性無
眼	ウサギを用いる眼刺激性試験	200ppm	無刺激物
経口	雌ラットを用いる急性経口毒性試験	200ppm	LD ₅₀ >2000mg/kg
吸入	ラットにおける単回吸入投与毒性試験 (急性吸入毒性試験)	200ppm	LC ₅₀ >5000mg/m ³



Fig. 5 実験動物飼育設備用の大型設備

在する一般倉庫もホルマリン燻蒸に匹敵する除菌状態を確認できました。安全性が高いので噴霧中でも人が出入りでき、特別な燻蒸用設備は不要となり利便性に大きく貢献することが期待できます。

中性次亜塩素酸水には優れた消臭効果もあります。

硫化水素、メチルメルカプタン、アンモニア等の各種悪臭成分の消臭効果を確認しています。消臭メカニズムについては次のような仮説を立てています。悪臭成分には酸性臭とアルカリ臭があり、中和反応によって消臭できます。液性が中性の次亜塩素酸水の場合は緩衝作用によって両方を中和消臭する事が可能です。ミストを噴霧する事で素早く悪臭成分を吸着吸収し、次に中和反応、更に酸化反応によって化学的に消臭する事で吸着等の物理的消臭に比べ素早くかつ臭い成分の再放出がないと考えています。既にいくつかの施設では官能評価で効果が確認され、導入いただいています。導入後にはインフルエ



Fig. 3 噴霧システムの写真

室内空間及び表面の一括除菌

低コストかつ短時間で、完全に近い除菌を実現するには、毒性の強いホルマリン燻蒸に代わるものはありません。そこで、高濃度中性次亜塩素酸が代替になる可能性を探るため実証試験を行いました。使用した噴霧システムをFig. 3、噴霧前後の空間浮遊菌(一般生菌)及び部屋の表面各所の付着菌(真菌(カビなど))の状態をFig. 4に示します。多数の菌が存

	空間	床	壁面	エアコン吹出口	天井
噴霧前					
噴霧後					

Fig. 4 噴霧による空間浮遊菌及び表面付着菌の殺菌効果

ンザやノロウイルスなどの抑制効果についても感想をいただいています。定量客観的な評価は今後の課題です。

実験動物飼育設備用の大型設備

実験動物等の大型の特別な施設では消臭・殺菌の効果が十分かつ早く効き、かつより大量使用にも対応できるものが求められます。ある大学獣医学部実験動物施設よりの依頼で有効塩素濃度が

300ppm程度で大流量使用が可能な大型設備の開発を行いました。本装置は高濃度中性次亜塩素酸水生成ユニット、500L次亜塩素酸水貯蔵タンク、施設配管への給水ポンプ系、全体システム監視装置からなります。その装置の全景をFig. 5に示します。

まとめ

生成装置の開発には、構造・材料選定、最適条件の洗い出しと検

証に多くの年数を費やしましたが、中性高濃度次亜塩素酸水の特性は、人や動物の環境改善に大いに役立つと考えています。これから多くの現場における課題解決に取り組んでいきたいと考えています。ご要望に即した仕様のシステム提案と製作も進めていきますので、是非お声掛けください。

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

実験動物技術者試験を受験して

実験動物2級技術者試験に合格して

熊谷農業高等学校 高坂 純寧

私は、埼玉県立熊谷農業高校の生物生産工学科で畜産を専攻しました。授業では3大家畜だけでなく、ヒツジやウサギ、さらにはマウスやラットなどの実験動物の飼育管理、生理生態を学んできました。2年からは、「動物バイオテクノロジー」で実験動物に関する基礎的な知識と技術を学び、保定やハンドリングの練習を行いました。3年の1学期からは「実験動物」という科目に変わり、8月に行われる学科試験に向けてテキストや過去の問題を用いた学習を中心に行いました。夏休みも仲間と学校に集まり試験対策を行いました。その結果、無事に学科試験に合

格することができました。

2学期からは、11月の実技試験に向けてマウスやラットの保定や各種投与法の練習をしました。授業以外にも、講師の方をお招きし、実技講習会をしていただいたこともありました。動物たちに負担をかけないように配慮しながら、性格が荒っぽい個体でも確実に保定ができるように、ハンドリングに時間をかけて慣れさせてから保定するよう心掛けました。また、各種投与法の手順を口に出しながら練習をし、頭の中でしっかりと理解しながら保定する練習をしました。その結果、試験当日も緊張することなく落ち着いて臨む

ことができ、高校生の受験者の中でトップの成績で合格できたことは、大きな誇りに感じます。

最後に私は、ヤマザキ動物看護大学の入試に合格し、4月に入学することが決まりました。大学では、動物看護に関する学習をしますが、「実験動物1級技術者」の資格試験も受験したいと考えています。将来は愛玩動物看護師を目指していますが、この資格試験を通して学んできた動物愛護・動物福祉の考え方や、多くの知識や技術を活かせる場面があると思います。これからも、将来の夢にむけて、動物に関する様々な分野を学んでいこうと思います。

実験動物2級技術者認定試験を受験して

湘央生命科学技術専門学校 大河原 直

私は現在の専門学校でいろいろな科目を学ぶ中で実験動物という分野を知りました。そして、実験動物というものは現在の社会でなくてはならないものです。動物たちに苦痛を与えず、最小の動物数で最大の実験結果を得るために、知識と実験精度を高めていくことが技術者に必要不可欠だと感じました。また、実験動物の技術は少し練習したくらいでは見につかず、必要な知識も大変多いことを知りました。そして、自身の可能性と知識を広げることにやりがいを感じて、難しいことに挑戦してみたいという思いから、実験動物

2級技術者認定試験を受けることを決意しました。

この資格試験を受験するために、実験動物の知識を増やして、技術を身に付けていきました。その日々は、つらくて挫折しそうになった時もありましたが、先生方に教えて頂いたり、同級生と高めあったりして、とても濃厚で、貴重な経験だったと思います。この経験はこれからの人生に必ず生きていくと感じています。

その後、試験を受け、満足のいく結果が伴い、大変自信ができました。私は、この資格試験で学習することの楽しさと、技

術が身に付き、評価された時のうれしさを知りました。

それと同時に、すでにいる多くの技術者の方々とレベルの差が分かり、上には上がいて、自身のこの分野での研鑽はまだ始まったばかりだと実感しました。私も、この試験の合格をきっかけにして、これからも実験動物に関しての知識と技術を増やしていくことができれば楽しいと思います。

最後に、資格試験を受ける機会を頂いた先生、ともに高めあった同級生に感謝します。ありがとうございました。

実験動物2級技術者試験を受験して

クミアイ化学工業株式会社 安全性評価研究室 北本 隼也

現在の会社の新卒で就職し、早2年が経過しようとしています。私は植物分子生理学を主とする研究室で大学院修士課程を修了しましたが、就職して配属されたのはまさかの動物を扱う研究室でした。これまで微生物しか扱ってこなかった私にとって全くの未知の世界でしたが、新たな挑戦だと思い、未熟ではありますがあまり抵抗もなく日々仕事に取り組んでいます。

配属後、研究室の方針で動物実験に関する教育訓練の一環として実験動物2級技術者試験を取得するように指示を受けました。初めて動物を扱いますので1年間の

実務経験を経て、今回の試験を受験しました。実験動物が愛玩動物や野生動物とは全く異なること、それぞれの動物の特徴や性質、動物実験を行う上での注意や心得など、多くの学んだことの中には、業務に関連することもあり非常に役に立ちました。また、仕事で実験動物を扱う中で視野が広がり、興味も増していきました。勉強らしい勉強をするのは大学の定期試験以来でしたが、真剣に取り組みましたので、努力が報われた今回の結果を非常に嬉しく思います。

しかし受験が終わった現在、悲しくも記憶は薄れつつあり、知識

は活用してこそ意味があるのだと実感しています。試験の合格がゴールではなく、これからの業務のためのスタートだと考えて、今一度勉強し直して知識を自分のものにする努力をしていこうと思います。また、よりよい動物実験を行っていくために、更なる知識を貪欲に吸収していきたくも思います。

最後にこのような機会を与えてくださった日本実験動物協会の皆様、会社の先輩方に深く感謝申し上げます。動物実験を支えてくださる皆様、そして実験動物への感謝を忘れずに今後も精進してまいります。ありがとうございました。

実験動物1級技術者試験を受験して

神戸大学農学部応用動物学コース 三回生 森下 理奈子

この度は、先に行われた実験動物1級技術者試験において、成績優秀者として選出いただきましたことを大変光栄に思います。

私がこの試験に挑戦してみたいと思ったのは、ある化粧品メーカーの広告に「動物実験フリー」と書かれているのを目にしたことがきっかけです。私は動物のことを知るのが好きで今の大学に入学しましたが、それまでは「実験動物」が一体どういったものなのか、また、実験動物や動物実験を取り巻く環境についてあまりよく知りませんでした。

学科試験対策として、4月から行われた大学での実験動物についての講義を受講しつつ、教科書を読みながら知識を得ました。また、

過去の学科試験で出題された問題を何度も解き、必要に応じて教科書を再読することで知識を定着させていきました。

実技試験対策は、大学の授業や実験の合間を縫って行いました。先輩や先生からアドバイスをいただきながら、ラット・マウス共に、過度のストレスを与えないように愛情をもって接しました。実際に動物に触れると不安な気持ちが生じ、それが動物に伝わり、馴化がうまくいかないこともありました。愛情に加え、動物に関する正しい知識をもって落ち着いた態度で接することができて初めて、お互いにストレスを感じることなく実験を進められるのだと知りました。

動物実験に対する様々な意見が存在する現代において、動物の習性や特徴に関する理解を深め、適切な手技を身につけることは、実験動物の苦痛削減や犠牲となる動物を減らしていくことに繋がるということをこの試験を通して学びました。

今回、実験動物1級技術者試験においてこのような結果を残すことができたのは、お世話になった多くの先生や先輩方、および一緒に試験に挑戦した同期の存在あつてのことです。この場をお借りして感謝の気持ちを申し上げるとともに、今回得た知識と技術を更に次へと繋げられるように日々の勉学に励みたいと考えています。

実験動物1級技術者試験を受験して

株式会社ケー・エー・シー 石井 和樹

実験動物1級技術者認定試験の受験を決めた時、内心は不安が大きく、受験にためらいを感じていました。実験動物を扱う業界に身を置き、日々動物と向き合う者として、スキルを磨いていきたいという一方で、膨大な知識や高度な技術が求められること、小動物の飼育管理業務の経験が皆無に等しかったことが、私に二の足を踏ませていました。

そんな不安を抱えながら、受験する年の春から学科と実技の対策に取り組み始めました。大動物の飼育管理担当でしたが小動物の業務にも携わり、その中で感じたのは順化と保定の大切

さです。1級の実技試験では様々な手技を行いますが、丁寧な順化と安定した保定が出来なければ、動物に負担をかけるだけでなく、手技そのものもおぼつかないのだと改めて実感させられました。

経験の乏しさから、はじめはそうした初歩的な部分から苦労しましたが、徐々に動物の扱いにも慣れ、安定して手技を行えるようになっていきました。特に自信に繋がったのは、白河研修への受講です。1週間の研修でより知識を深め、技術を磨くことができたことは単なる試験対策ではなく、実験動物技術者と

して成長するよい機会となりました。

上記のような過程を経て、「合格者として寄稿」という大変光栄な経験を頂だいするに至りました。この1年を振り返ると、上司・先輩方、白河研修でご指導下さいました講師の方々など、大変多くの方々に支えられてきたことを実感します。

お世話になった多くの方々に、この場を借りて感謝申し上げますと共に、今後も常に学び続ける姿勢を持って、自己研鑽に努めてまいります。

感染症診断・予防実技研修会（モニタリング研修会）では、総合討論の場において受講生から様々な質問を頂きます。今回は、令和元年度の研修会において頂いた質問とそれに対する回答を紹介します。

Q1：老齢マウスの剖検で、腸間膜リンパ節が腫れていることが良くあります。他の臓器には異常ありません。考えられる原因はありますか？また、リンパ球性白血病と考えられる所見を教えてください。

A1：①老齢マウスにおける腸間膜リンパ節のみの腫大は、腸管内の抗原刺激に対する「リンパ球過形成」もしくは自然発生性で腸間膜リンパ節を原発とした「悪性リンパ腫」の発症が考えられます。いずれも肉眼所見だけでなく組織学的に構成している細胞の形態等をみることで診断します。また悪性リンパ腫の場合は、他部位のリンパ節やパイエル板、脾臓の腫大を認めることが多いです。

②リンパ球性白血病は、外観・剖検所見で貧血様変化ならびに脾腫や肝腫大等を認めます。しかしながら肉眼所見のみでは、「リンパ球性白血病」はもとより「悪性リンパ腫/白血病」も判別できませんので、HE染色だけでなく免疫染色を実施して組織学的に診断することになります。

Q2：黄色ブドウ球菌の検査において、エッグヨーク食塩寒天培地からX-SA寒天培地への変更の利点は培養時間短縮以外に何か利点はありますか？

A2：培養時間短縮以外のメリットは、下記に示す理由から、検出感度が向上することです。

①従来使用していたエッグヨーク食塩寒天培地では、本菌が持つ卵黄反応を指標に判定しますが、卵黄反応を示さない菌種が存在することが報告されています。卵黄反応を示さない本菌が検出できることです。

②また本菌以外でも弱いながら卵黄反応を示す菌種が存在しますが、X-SA寒天培地は酵素基質反応を利用して判別するため、それらの菌種を排除できます。

なお最終的な同定は、生化学試験等による性状試験により行ってください。

「参考資料」

Hayashimoto N., Goto K., Takakura A and Itoh T. Isolation and Identification Procedure for *Staphylococcus aureus* in Laboratory Mice and Rats by Combined Use of Chromogenic X-SA Agar and Specific Polymerase Chain Reaction. *J. Vet. Med. Sci.* 71 (1): 27-32, 2009.

日本実験動物学会の動き

第67回日本実験動物学会総会の開催

テーマ：健康長寿を支える実験動物

日 時：2020年5月23日（土）～25日（月）

会 場：大阪府立国際会議場

〒530-0005 大阪市北区中之島5丁目3-51

大会長：塩谷恭子（国立循環器病研究センター研究所動物実験管理室）

内 容：特別講演、特別シンポジウム、シンポジウム、教育セミナー、LASセミナー、若手優秀発表、一般演題（ポスター発表）、特別企画ファミリーデー、ランチョンセミナー、器材展示等

開催案内は大会 URL（<https://jalas67.org/index.html>）をご参照ください

この度の新型コロナウイルス感染症の感染拡大に伴い、本大会は急遽中止となりました。

日本実験動物技術者協会の動き

第54回一般社団法人日本実験動物技術者協会総会のご案内

第54回日本実験動物技術者協会総会 in 旭川

会 期：2020年10月23日（金）～24日（土）

尚、会期前日の22日（木）にサテライトセミナーを開催いたします。

会 場：旭川市民文化会館（北海道旭川市7条通9丁目）

大会テーマ：実験動物技術の開拓者たちよ、大志を抱け！

大会長：清水 範彦（旭川医科大学教育研究推進センター）

大会組織委員長：日野 千紘（旭川医科大学教育研究推進センター）

事務局長：一戸 一晃（公益財団法人環境科学技術研究所）

大会事務局：公益財団法人環境科学技術研究所（担当：一戸 一晃）

〒039-3212 青森県上北郡六ヶ所村大字尾駈字家ノ前1番7

TEL：0175-71-1241（直通） 0175-71-1200（代表）

FAX：0175-71-1270

大会HP：<https://www.adthree.com/jaeat2020/index.html>

e-mail：asahikawa2020@jaeat.org

演題登録：2020年4月20日（月）～6月12日（金）（予定）

詳細は大会ホームページをご参照ください。

北海道支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第44回北海道支部総会及び特別講演会	2020年6月予定	未定	未定

詳細は北海道支部事務局(longevans@sapmed.ac.jp)までお問い合わせください。

東北支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
令和元年度東北支部総会	2020年8月29日（土）	東北大学加齢医学研究所（仙台市）	未定

関東支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
動物実験基本手技実技講習会	2020年7～8月 開催予定	慶應義塾大学（新宿区）	マウス、ラットの基本的な取扱いと基本手技

詳細は関東支部ホームページ(<http://www.jaeat-kanto.jp/>)を参照ください。

東海北陸支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
基本的動物実験手技（第13回）	2020年7月下旬～8月 上旬予定	藤田医科大学（豊明市）	基本的な技術の習得・向上を中心とし、動物実験における技術者の倫理観、心構えなど、日常業務に反映できる内容

詳細は東海北陸支部ホームページ(www.jaeat-tokaihokuriku.org/)を参照ください。

関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第76回実験動物学習会	2020年6月6日（土）～7日（日）	神戸大学（神戸市）	実験動物二級技術者レベルの実技講習
2020年度マウス・ラット上級技術講習会	2020年7月下旬～8月 上旬予定	岡山大学（岡山市）	実験動物一級技術者レベルの実技講習

詳細は関西支部ホームページ(<http://www.jaeat-kansai.org/>)を参照ください。

九州支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第25回九州地区実験動物技術研修会	2020年9月5日（土）～6日（日）予定	熊本保健科学大学（熊本市）	実験動物に関する講義およびマウス・ラット等を用いた基礎技術研修を行う

詳細は、日本実験動物技術者協会ホームページ(<http://jaeat.org/>)を参照下さい。

協会だより

1. 委員会等活動状況

行事	開催日	備考
第3回実験動物福祉調査・評価委員会	2.1.8	福祉調査報告と調査概要書内容の検討他
第3回総務会	2.3.5	第73回理事会の議題他
第4回実験動物福祉調査・評価委員会	2.3.10	福祉調査・評価、認証のまとめ他
第2回実験動物利用計画審査委員会	2.3.10	自己点検・評価他
第73回理事会	2.3.12	令和2年度事業計画及び予算他

なお、3月7日と3月14日に予定した教育セミナーフォーラム2020(東京会場と京都会場)及び3月8日に予定した第15回実験動物技術指導員研修会は、いずれも新型コロナウイルス感染症の感染拡大リスクが高まったことから中止しました。

2. 行事予定

行事	開催日	備考
監事会	2.5.12	平成31年度事業、収支決算の監査
第74回理事会	2.5.26	平成31年度事業報告他
第36回定時総会	2.6.12	平成31年度収支決算、事業報告他
「日常の管理」研修会	調整中	日本獣医生命科学大学
技術指導員の面接審査	2.6.23	5月に募集開始
微生物モニタリング技術研修会	2.7.10～11	(公社)実験動物中央研究所
実験動物2級技術者学科試験	2.8.2	全国の各所
通信教育スクーリング(東京、京都)	2.8.29～30	日本獣医生命科学大学、京都大学
実験動物基本実技研修会(2級及び1級水準)*	2.8.29～30	日本獣医生命科学大学
実験動物高度技術者研修会(白河研修会)	2.9.14～18	(独)家畜改良センター研修所
実験動物1級技術者学科試験	2.9.19	白河、東京、大阪 他
ウサギ及びブタ実技研修会	2.11.7～8	日本獣医生命科学大学
実験動物2級技術者実技試験	2.11.28	日本獣医生命科学大学、京都大学
実験動物1級技術者実技試験	2.11.29	日本獣医生命科学大学、京都大学
教育セミナーフォーラム2021(東京)	3.3.6	東京大学弥生講堂
第16回実験動物技術指導員研修会	3.3.7	日本獣医生命科学大学
教育セミナーフォーラム2021(京都)	3.3.13	京都府立医科大学図書館ホール

*:2級水準の実験動物基本実技研修会を、東京会場のスクーリングとあわせて開催する予定です。(行事によっては開催日等が変更になる場合もありますのでご注意ください。)

なお、例年実施している「サル類実技研修会」については(一社)予防衛生協会主催で開催する予定です。

3. 実験動物技術指導員の表彰

日動協の実験動物技術指導員表彰規程に基づき以下の方々が表彰されましたのでご報告いたします。

協会会長功労賞受賞者：平尾雅郎、五十嵐修、山田寛臣 以上3名

協会会長奨励賞受賞者：田村広明、梅澤一雄、中西悟郎、鎌田薫、坂本雄二、中根史行 以上6名

4. 冊子「実験動物施設において使用されている消毒薬とその効果」の発行(会員・賛助会員限定)

この度モニタリング技術委員会では、わが国の実験動物施設において使用されている消毒薬に関する情報を纏めた冊子「実験動物施設において使用されている消毒薬とその効果」を編集しました。

内容は、実験動物飼育施設において使用されている主な消毒薬の効果、使用上の注意点、実際の使用例、主な商品名および関連法規等により構成され、特に各消毒薬の特徴は、一目で解るよう見やすくレイアウトされています。

実験動物施設の衛生管理に携わる方の参考資料として活用されれば幸いです。

5. 関連団体行事

◆ 第47回日本毒性学会学術年会

日 時：2020年6月29日（月）～7月1日（水）
場 所：仙台国際センター（仙台市）
年会長：広瀬明彦（国立医薬品食品衛生研究所）
詳 細：<http://jsot.jp/activity/index.html>

◆ 第54回日本実験動物技術者協会総会 in 旭川

日 時：2020年10月22日（木）～24日（土）
場 所：旭川市民文化会館（旭川市）
大会長：清水範彦（旭川医科大学教育研究推進センター）
詳 細：<https://www.adthree.com/jaeat2020/index.html>

6. 海外行事

◆ AALAS National Meeting

日 時：2020年10月25日～29日
場 所：Charlotte, NC

【お詫び】

前号「LABIO21」No.79、p.38～39、【活動紹介】「日本糖尿病・肥満動物学会の歴史と活動について」のp.39、図「我が国における糖尿病実験動物の研究会と日本糖尿病・肥満動物学会の歴史」の一部（2020年の回数と演題数）に校正ミスがありましたので、以下に訂正させていただきます。

誤：（年欄）2020の回数「67」、演題数「39」

正：（年欄）2020の回数「34」、演題数「67」

本件に関しましては、日本糖尿病・肥満動物学会様をはじめ、関係者の皆様方には大変ご迷惑をお掛けしましたことを深くお詫び申し上げます。

KAZE

ここ数年、年齢を重ねる度に月日の流れが速くなっていると感じるこの頃です。2020年も明けたかと思っていれば、いつの間にか、春の足音が聞こえて来ました（本号が出るころは初夏を感じる頃かと思いますが）。

実験動物を取り巻く環境も加速度的に変化していると感じています。医薬分野での研究・開発のグローバル化、実験動物関連の技術（ゲノム編集、遺伝子の網羅的解析等）が大きく変革し進んだ一方、動物福祉の観点から3Rに対する意識が高まり、安全性評価などで代替法へ置き換えられるものの移行を加速させなければなりません。今後、ライフサイエンス分野の研究は、まず *in vitro* の評価系（セルベースアッセイなど）で行い、必要に応じて実験動物を用いた評価を行うようにシフトするのではと考えております。その場合、*in vitro* の評価系のヒトへの外挿性が問題となりますが、AIなどDX（デジタルトランスフォーメーション）の活用、すなわち実験動物とデータサイエンスとの融合により、解決されるのではないかと思います。

色々な意味でこれまでの常識が通用しなくなり、何が正解かわからぬ、境目のないボーダレスな時代、これまでの常識や固定概念に捕らわれず、時代の変化に柔軟に追従できる情報を皆さまへ配信すべく努めて参りたいと思います。

〔木藤 実〕

STAFF

情報委員会

担当理事	武石 悟郎	GORO TAKEISHI
委員長	山田 章雄	AKIO YAMADA
委員	大和田一雄	KAZUO OHWADA
〃	岡村 匡史	TADASHI OKAMURA
〃	木藤 実	MINORU KITO
〃	久原 孝俊	TAKATOSHI KUHARA
〃	三枝 順三	JUNZO SAEGUSA
〃	新関 治男	HARUO NIIZEKI
〃	森村 栄一	EIICHI MORIMURA
事務局	工藤 慈晃	NARIAKI KUDO
〃	畔上 二郎	JIRO AZEGAMI
〃	瀧澤 芳夫	YOSHIO TAKIZAWA

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

新しい発見を 変わらない品質で



私たち日本クレアは、生命のあらゆる可能性を探求し発展させる基盤として、
動物愛護のグローバルな視点に立った世界最高品質の実験動物を提供して参ります。



CLEA Japan, Inc.

～Every Step of the Way.～

皆様の医薬品研究開発のあらゆる場面で
われわれCharles Riverは貢献してまいります



プロダクトおよびサービス

遺伝子改変動物の作製

実験用動物

手術・処置動物の作製

受託飼育・繁殖サービス

受託微生物モニタリング

受託試験サービス（国内外）

バイオ医薬品サービス

生体試料

動物実験関連器材

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

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