

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

【解説】

**in vivo と in vitro による統合的な医薬品評価と今後の展望
医薬品における Good Laboratory Practice (GLP) 調査について**

【トピックス】

**コモンマーマモセットの遺伝的多様性を守るための国際協力
マウス用個別換気飼育 (IVC) システムにおける蟻虫感染事例
質の高いゲノム編集マウス作製を支援する KOnezumi、DAJIN の開発**



MISSION

We discover precise genomic solutions for disease and empower the global biomedical community in our shared quest to improve human health.

疾患に対する精密なゲノムソリューションを探索し、世界中の生物医学コミュニティに活力を与えることです。
その根底にあるのは「人々の健康を改善したい」という私たち皆の探求心です。

メールニュースのご案内

JAX IN JAPAN NEWS AND INSIGHTS



ジャクソン・ラボラトリー・ジャパンの
最新情報をお届けするメールニュースは
こちらからご登録いただけます。

ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社

WEBサイトURL: www.jax.or.jp | お問い合わせアドレス: ask@jax.or.jp



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 年頭のご挨拶（黒木宏二）	4
解説	
in vivoとin vitroによる統合的な医薬品評価と今後の展望（諫田泰成）	5
医薬品におけるGood Laboratory Practice（GLP）調査について（柴田進和、染谷仁）	9
トピックス	
コモンマウスセットの遺伝的多様性を守るための国際協力（佐々木えりか、黒滝陽子）	14
マウス用個別換気飼育（IVC）システムにおける蟻虫感染事例（土佐紀子）	17
質の高いゲノム編集マウス作製を支援するKOnezumi、DAJINの開発（久野朗広）	22
海外散歩 韓国済州島とAFLAS2023（林元展人）	26
連載コラム Member's Voice（9）	
ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン（株）NSG™マウスを用いた免疫系ヒト化モデルの紹介（オケヨ ケネディ、内田あや）	30
読者との対話 LA-house（林元展人）	34
ほんのひとりと	35
連載コラム 実験動物技術者紹介（5）（成島光恵）	36
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	37
実験動物の年間販売数調査	38
令和5年度実験動物技術者資格認定試験結果	40
日動協：教育セミナーフォーラム2024のご案内	41
日動協の通信教育と各種研修会について	42
協会だより	44
KAZE	46

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



年頭のご挨拶

公益社団法人日本実験動物協会

副会長 黒木 宏二

(日本たばこ産業株式会社)

新年あけましておめでとうございます。

新年を迎え、新薬開発に携わる一員および日本実験動物協会の副会長として、実験動物業界の皆様、これまでの貴重なご支援に対し心からの感謝を申し上げます。

昨年も、世界が引き続き疫病の影響下にある中で、私たちは困難を共に乗り越え、業界として団結し前例のない挑戦に立ち向かいました。この困難な時期において、日本実験動物協会は特に重要な役割を果たし、実験動物の福祉と生命科学研究の質の向上を主な使命として、動物実験の適正化を推進しました。高品質な実験動物の供給は、生命科学研究の進展に大きく寄与しています。この供給は研究の正確性と信頼性を高めるだけでなく、実験の再現性を確保するためにも不可欠です。

昨年、日本実験動物協会は実験動物の年間販売数調査を行い、その結果を公表しました。これは、実験動物の需要と供給のバランスを理解し、業界の動向を把握する上で非常に重要な情報です。また、実験動物の適切な飼育管理を保証するためのガイドラインを策定し、微生物モニタリングマニュアルの作成により、実験環境

の清浄度と安定性を保持することにも貢献しました。教育とトレーニングも、協会の重要な活動の一つです。実験動物技術者向けの教育セミナーや資格認定試験を実施し、技術者の専門性と能力の向上を図っています。これらの教育プログラムは、実験動物技術者の技能を高め、研究の全体的な質を向上させることに寄与しています。

以上のように、日本実験動物協会は、実験動物の福祉と研究の質を向上させるための多岐にわたる活動を通じて、生命科学研究の進展に重要な貢献をしています。近年の疫病の影響が深刻な状況で、昨年もこれらの取り組みが研究コミュニティにとって不可欠なサポートを提供しました。これらの活動を支えてくださったすべての関係者の皆様、そして日頃より支えていただいております事務局の皆様、心から感謝申し上げます。

製薬企業において動物実験に携わる立場から、業界の皆様へ深く感謝を申し上げます。動物生産業者の皆様は、高品質な実験動物の供給において重要な役割を果たしており、これにより生命科学研究の質を維持しています。皆様方の努力は、研究成果の正確性と

信頼性を高め、実験の再現性を保証することに貢献しています。また、実験動物関連請負・派遣業者及び実験動物に関わる全ての関係者の皆様も、研究現場の効率化と倫理的運営の実現に不可欠な支援を提供してくださいました。皆様方の献身的なサービスは、研究機関が直面する課題の克服に重要な役割を果たし、倫理的かつ効率的な研究環境の実現に大きく貢献しています。研究活動を支えていただいているすべての関係者の皆様への感謝と、引き続きのご協力をお願い申し上げます。

2024年も引き続き、日本実験動物協会では実験動物の生産から研究現場に至る一連の活動を支援し、倫理的かつ効率的な研究進展を目指します。実験動物の福祉を最優先に考え、研究プロセス全体の効率性と倫理性を高めることを使命としています。これらの取り組みにより、研究の質を高め、生命科学の発展や公衆衛生の向上に貢献し、社会全体に対してより大きな価値を提供することを目指しています。2024年も、共に新たな挑戦を乗り越え、目標達成に向けての努力を続け、更なる飛躍を目指して参りましょう。



in vivoとin vitroによる 統合的な医薬品評価と 今後の展望

国立医薬品食品衛生研究所 薬理部

諫田 泰成

1. はじめに

最近、医薬品や化学物質の評価において代替法の動きが国際的に加速しており、New Approach Methodologies (NAM) やFDA近代化法2.0などが非常に話題である。筆者は日本、海外の薬理学会と代替法学会の理事をそれぞれ務めて深く関わっていることから、心臓安全性を具体的な事例に挙げながらレギュラトリーの方え方や今後の展望を述べたい。なお、組織としての考え方ではないことを申し添える。

2. レギュラトリーサイエンス

医薬品の開発プロセスは、図1Aに示すように、候補化合物を探索したあと、動物や細胞で化合物の薬理作用や毒性、臨床試験でヒトにおける有効性や安全性などを調べて承認され、市販後調査によるフォローアップという流れである。「リスク」と「ベネフィット」のバランスのもと、医薬品の品質、有効性、安全性を評価する必要がある。このような考え方はレギュラトリーサイエンス（規制科学）と呼ばれ、1987年に国立衛生試験所（現 国立衛研）の副所長でおられた内山充博士によって初めて提唱された。その後、第4期科学技術基本計画（2011年）において、レギュラトリーサイ



図1 NAMによる医薬品プロセスの改革
(A) 医薬品の開発プロセス
(B) 新しい科学技術 (NAM) とレギュラトリーサイエンスの橋渡し

イエンスは「科学技術の成果を人と社会に役立てることを目的に、根拠に基づく確かな予測、評価、判断を行い、科学技術の成果を人と社会との調和の上で最も望ましい姿に調整するための科学」であると定義され、内閣府の健康・医療戦略にも国の責務であることが明記された。

また、ここ数年、新型コロナウイルス感染症のパンデミックが発生し、革新的なmRNAワクチンの有効性や安全性に関して広く議論され、ますますレギュラトリーサイエンスの重要性が増していると考えられる。米国食品医薬品局 (FDA) や欧州医薬品庁 (EMA) など海外の規制当局でもレギュラトリーサイエンスの推進が記載されており、まさにグローバルに連携して取り組む必

要がある。

3. New Approach

Methodologiesの国際動向

では、新たな医薬品を患者さんに一刻も早く届けるためには、一体何が必要だろうか？ 医薬品の成功確率が下がり、研究開発のコストが高騰していることが報告されている中で、創薬プロセスの変革が必要である。また、現在の試験法は国際的に運用されて大きな問題がおきていないと考えられるが、臨床試験や市販後に予測できない有害事象が懸念されることなどから、さらにヒトにおける予測性を向上する余地がある。

これらの問題解決のため、最近、新しいアプローチや方法論 (New Approach Methodologies;

NAM) を活用してヒトにおける医薬品の作用をより正確に予測できるようなモデルの開発や議論が世界的に盛んである(図1B)。NAMとして、in vitro、in silico、人工知能(AI)など様々なアプローチが検討されており、最先端のイノベーションを医薬品審査の出口に反映させることが期待される¹⁾。

国際的な動向として、FDAは2017年にPredictive Toxicology Roadmapを公表し、2019年に代替法ワーキンググループを発足して情報収集を行い、2021年に米国における動物実験代替法に関する文書を公開した。2022年末には、医薬品開発に動物実験が必須ではないとするFDA Modernization Act2.0 (FDA近代化法2.0) にバイデン大統領がサインして、非常に話題となっ

ている。図2に示すように、これまで以上に動物実験の3Rs原則(Reduction、Refinement、Replacement)を推進して、細胞を用いるアッセイ、ヒト細胞をチップ上で培養しヒト生体機能を模倣する臓器チップ、AIなどの代替法を推奨している^{2, 3)}。またEMAはInnovation Task Forceなどを通じて、3Rs原則に基づいたNAMの開発や実施を促進しており、欧米を中心に動物実験代替法の流れが加速している。さらに、2023年6月に米国NPO法人である環境保健科学研究所(HESI)とイギリス代替法センター(NC3Rs)によりジョイント会議が開催され、NAMの定義や今後の方向性などが議論され、筆者もパネリストとして参加した。2023年8月にカナダで開催された国際代替法学会WC12でもNAMのセッション

が相次ぎ、筆者も日本における代替法の現状と今後の方向性を講演する機会をいただいた。

このようにNAMのスローガンのもと国際的な代替法の議論が進められているが、すべての動物実験をin vitroやin silicoに置き換えるのは現実的であろうか？そもそもNAMを使用する際、ヒトにおける医薬品の投与量やヒトの予測性などどこまで担保できるのか懸念されており、さらに議論を行う必要がある。

4. 医薬品の安全性薬理試験

筆者らは、NAMとしてヒトiPS細胞を用いて新たな安全性薬理試験法を開発してICHガイドラインまで到達したので、NAMの事例としてご紹介したい。

医薬品に関する試験は、医薬品規制調和国際会議(以下、ICH)のガイドラインとして記載されている。その中で、安全性薬理試験は、被験物質の潜在的な望ましくない薬力学的作用を検討する試験として定義され、医薬品が主要な臓器(心血管系、中枢神経系、呼吸器系)に対して重篤な急性作用を引き起こさないのかを判断する試験である(ICH S7A安全性薬理試験ガイドライン、平成13年6月21日)。

特に、心室再分極遅延(QT間隔延長)および不整脈の発生リスク評価は重要な課題であり、コアバッテリー試験として動物を用いて血圧、心拍数、心電図に対する医薬品の影響を評価するin vivo試験法、心筋細胞の再分極遅延に対する影響を評価するin vitro試験法を組み合わせることにより、統合的に心臓安全性リ

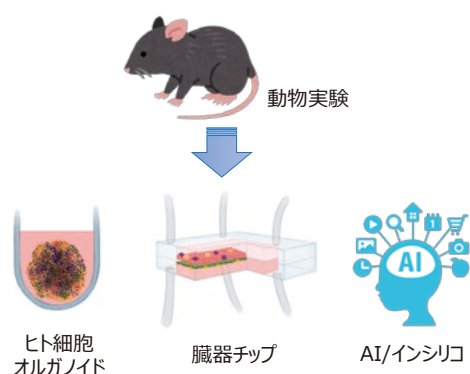


図2 FDA近代化法2.0の考え方
医薬品開発に必ずしも動物実験が必須でないこととされ、NAM(ヒト細胞、臓器チップ、AIインシリコなど)の利用が推奨されている(文献3より改変)。

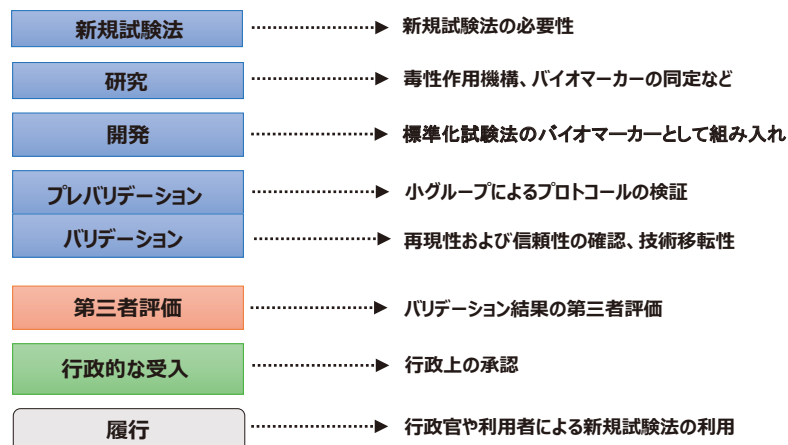


図3 新たな試験法ができるまでのプロセス

スクを判断する内容である。1990年代から2000年初めにかけて致死的な薬物誘発性多形成心室性頻脈 (Torsade de Pointes; TdP) が多数報告され、テルフェナジン、アステミゾール、シサブライドなどの医薬品が市場から撤退した。その後、医薬品の心室再分極および不整脈発生リスクに及ぼす影響が活発に研究され、TdPは心筋細胞に発現するヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子hERG (human ether-a-go-go related gene) を阻害することが主な原因であること、また、QT間隔延長がTdPのサロゲートマーカーになることが明らかになり、「ヒト用医薬品の心室再分極遅延 (QT間隔延長) の潜在的可能性に関する非臨床的評価」(ICH S7Bガイドライン、平成21年10月23日) および「非抗不整脈薬におけるQT/QTc間隔の延長と催不整脈作用の潜在的可能性に関する臨床的評価」(ICH E14ガイドライン、平成21年10月23日) が厚生労働省より通知された。

現在のICH S7ガイドラインは一定の成功を収めて、致死的不整脈TdPの発生リスクを回避できている。しかし、hERG試験法の感度が高すぎて、有用な医薬品候補化合物が脱落していることなどの問題点が指摘されてきた。

5. ヒトiPS細胞由来心筋細胞による催不整脈リスク評価の開発と標準化

ヒトと動物で心筋に発現するイオンチャネルが異なるため、臨床における心毒性の予測性向上の観点から、NAMとして「ヒト細胞」すなわちヒトiPS細胞から作

製したヒトiPS細胞由来心筋細胞 (以下、ヒトiPS心筋) が利用できるのではないか、と期待された。筆者らは、新たな試験法を作るプロセスに従って (図3)、医薬品の不整脈発生リスクを予測する評価法の開発と標準化に取り組んだ。

国立衛研が中心となりオールジャパンのコンソーシアムJapan iPS Cardiac Safety Assessment (JiCSA) を組織化して、ヒトiPS心筋の電気活動を多点電極アレイ (Multi Electrode Array; MEA) システムにより測定し、QT間隔延長とそれに伴う不整脈リスクの新たな評価法を開発した^{4, 5)}。また、FDAらによるComprehensive in vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) の国際検証試験に参加して、ヒトiPS心筋を用いた催不整脈リスク評価法の再現性や予測性を明らかにすることに成功した⁶⁾。さらに、国際検証試験のメンバーにより、ヒトiPS心筋を用いた催不整脈リスク評価法のベストプラクティスを作製した⁷⁾。

以上の成果により、図4に示すような心臓安全性リスクの考え方が整理され⁸⁾、ICH S7Bガイ

ドラインのQ&Aに収載された (「QT/QTc間隔の延長と催不整脈作用の潜在的可能性に関する臨床的及び非臨床的評価」に関するQ&A、令和4年7月22日発出)。

さらに最近、FDAの審査において、実際にヒトiPS心筋が不整脈発生リスクに利用されていることが報告された⁹⁾。今後、ヒトiPS心筋の試験法を運用しながら、さらに予測性や有用性の理解を深め、必要に応じて見直すことになると思われる。しかし、ヒトiPS心筋は心臓に対する直接作用を調べるため、間接的な心毒性作用や薬物代謝の影響などは評価できないので、適用限界に注意する必要がある。また、抗体医薬や核酸医薬など新たなモダリティ (カテゴリー) の医薬品に対する利用可能性についても議論が進められている。

6. in vivo QT試験のベストプラクティス

質の高い安全性薬理試験法を実施するためヒトiPS心筋のベストプラクティスと並行して、in vivo QT試験のベストプラクティスも議論された。ヒトにおける化合物の安全性予測のために十分

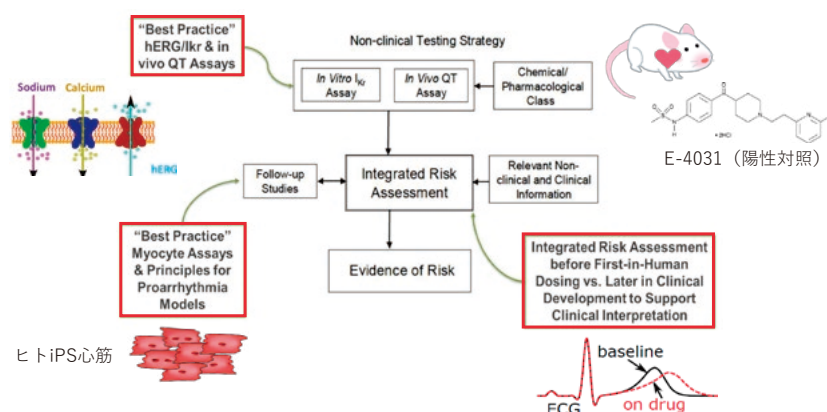


図4 QT間隔延長の統合的リスク評価
各イオンチャネル、ヒトiPS心筋等の利用による統合的なリスク評価 (文献7より改変)

な動物を実験に供しなければならないが、その一方で使用する動物数を必要最小限に抑える必要があるため、綿密な試験デザインが求められる。

具体的には、安全性薬理試験および非げっ歯類の毒性試験は同一の動物種を使用して心血管系の薬力学的作用と心臓に対する器質的作用を理解すること、血中濃度を測定して臨床試験における最大血中濃度 (Cmax) をカバーする十分な濃度で実施すること、覚醒自由行動下のテレメトリー機器を装着した動物を使用するが心拍数の変化・バイオアベイラビリティの限界などに対応するために麻酔下等も利用可能であることなどがあげられる。

また、不整脈発生リスク評価とは異なるが、最近、FDAから血圧のガイダンス案が示された¹⁰⁾。医薬品による血圧の上昇が臨床では死亡率につながる懸念があるため、非臨床試験で血圧を十分に考慮する必要があるとの内容であり、in vitroでは対応が難しいと考えられる。

以上のように、統合的な心毒性評価に向けて、in vitro試験とin vivo試験を適切に実施し、統合的なリスク判断を行う必要があると考えられる。

7. 臨床の心電図

医薬品によるQT間隔延長の評価に関する臨床研究として、5種類のQT延長の陽性対照化合物と1種類の陰性対照化合物を用いたIQ-CSRC prospective early phase 1 studyが実施され、小規模な試験でも入念な心電図の解析を実施することによりQT間隔

延長の評価が可能であることが示唆された¹¹⁾。

一方、性差や個人差などは現在の非臨床試験ではカバーされていない。これまでone-size-fits-allの考え方であったが、すべての患者に副作用が認められるわけではないので、今後は患者の層別化などが求められる²⁾。またAIや機械学習などを利用して、さらに精度を高めることも期待される

8. 今後の展望

本原稿では、ヒトiPS細胞を活用した薬理評価法の事例を紹介しながら、医薬品開発における動物実験代替法の動向と展望を概説した。

創薬において国際的にin vitro、in silicoなど先進的な代替法試験の流れが加速しており、心臓安全性以外にも、神経毒性、肝障害などを含めて全身的な毒性を理解する必要がある。そのためヒト細胞などNAMの活用により医薬品効率の向上や被験者の有効性・安全性の確保、審査の迅速化などが促進できることが期待される。しかしながら、NAMと出口となる医薬品審査の間にはまだ大きなギャップがある。現時点では、すべての動物実験を置き替えるわけではなく、特定の使用目的 (Context of Use) に対してNAMを利用すると考えられ、産官学で連携しながら、具体的な活用方法を考える必要がある。また、海外の規制当局とのハーモナイゼーションも大事な視点であり、日本からも積極的に考え方を発信して国際調和を図る必要がある。

今後も、国内外で密に連携しながら新たな評価法を構築し、安全

で有効な医薬品の開発促進に貢献し、患者さんに還元できるよう取り組んでいきたい。

引用文献

1. Avila A.M. et al. Regul Toxicol Pharmacol. 2020;114:104662.
2. Ahmed S.M. et al. Circulation. 2023;148(4):309-311.
3. Ribeiro A.J.S. et al. Clin Pharmacol Ther. 2019 Jul;106(1):139-147.
4. Ando H. et al. J Pharmacol Toxicol Methods. 2017;84:111-127.
5. Kanda Y. et al. J Pharmacol Sci. 2018;138(4):233-239.
6. Blinova K. et al. Cell Rep. 2018;24(13):3582-3592.
7. Gintant G. et al. Regul Toxicol Pharmacol. 2020;117:104756.
8. Strauss D.G. et al. Clin Pharmacol Ther. 2021;109(2):319-333.
9. Yang X. et al. Toxicol Sci. 2022;190:117-126.
10. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/assessment-pressor-effects-drugs-guidance-industry>
11. Darpo B. et al. Clin Pharmacol Ther. 2015;97(4):326-35.

謝辞

本稿の執筆の機会を与えていただき、関係者の皆様に深く御礼申し上げます。本研究は、AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業「ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた抗がん剤の心毒性評価法の開発と国際標準化」(JP21mk0101189)、文部科学省科学研究費補助金・基盤研究 (B)「成熟したヒトiPS細胞由来心筋細胞の開発と創薬への展開」(21H02634) などのサポートにより実施され、多くの方々との共同研究の成果によるものです。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

(日動協ホームページ、LABIO21 カラーの資料の欄を参照)



医薬品におけるGood Laboratory Practice (GLP) 調査について

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
信頼性保証第二部

柴田 進和、染谷 仁

はじめに

我々の身の回りには様々な化学物質が存在し、それらは豊かで便利な日常生活に必須のものであるが、一方で有害な化学物質による公衆衛生上の問題（労働災害、環境問題、中毒やアレルギー、医薬品等の副作用など）も発生している。これらの健康被害や環境汚染を未然に防止するため、新規化学物質の安全性を実験動物や培養細胞等の試験系を用いて評価する規制が行われており、その際に実施される試験の信頼性を確保する手段の一つが Good Laboratory Practice (GLP) である。本邦を含む世界の主要国では、これら化学物質の使用を規制する政府機関により、提出される試験成績に対してGLP適用を義務付けていることが一般的である。本邦では、医薬品等（医薬品・医療機器・再生医療等製品）、工業化学物質、農薬、飼料添加物、動物用医薬品及び労働環境下で取り扱う化学物質に関して、提出される試験成績に対してGLP適用が求められており、各化学物質を規制する監督官庁によりGLPへの適合性が監視されている。本

稿では、本邦におけるこれら化学物質のうち、医薬品等に対するGLPにフォーカスして以下に詳述する。

GLPに関する基本的な事項

GLPとは、非臨床試験の主要段階が確実に実施され、それを第三者が監視することによって、試験結果の信頼性を確保するための品質管理システムである。すなわち、非臨床試験の大まかな実施段階である、①明確な試験目的と手順が記載された試験計画書の作成、②当該試験計画書と施設の標準操作手順書（SOP）に従った適正な手順での試験の実施、③得られた生データを正確に反映した試験報告書の作成、④試験終了後に試験関係資料を資料保存施設で適切に保存、という4つのフェーズを確実に実施すると共に、これら全てのフェーズに対して試験を実施した部門とは独立した信頼性保証部門（Quality Assurance Unit : QAU）が監視することによって試験全体の信頼性を確保するものである。

GLPの制定は、1970年代前半に米国で医薬品の承認申請に提出

された非臨床安全性試験データに関する問題（例えば、標本や生データの紛失、データ捏造、実験者の訓練不足によるミス、不適切な動物管理、データの恣意的な選択及び職制上の評価への介入など）が次々と明らかになったことが契機となった。米国ではこれらの問題を受けて1978年にFDA GLP (21 CFR part 58) が制定され、翌年施行された。その後1981年には国際機関である経済協力開発機構（OECD）においてOECD GLP原則が制定され、加盟各国に採用されている。

本邦の医薬品等GLP制度

本邦における医薬品等のGLPに関する実務は、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）が担っている。PMDAは医薬品、医療機器及び再生医療等製品の製造販売承認審査、市販後安全性情報の収集と分析及び提供、並びに医薬品等の使用で発生した健康被害の救済を目的として設立された厚生労働省所管の独立行政法人である。医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（薬機法）に

は、医薬品等の製造販売承認申請書に添付される有効性・安全性に関する資料は厚生労働省令で定める基準に従って作成しなければならないと定められているが、PMDAの信頼性保証第一部及び第二部では、これら資料が、当該基準に従って作成されたものであるかどうかの調査を行っている。これらの資料のうち、非臨床安全性試験（及び一部の安全性薬理試験）には、医薬品等の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令、即ち医薬品等GLPへの適用が求められる（図1）。その理由は、これらがヒトに対する安全性を予測・評価するための重要なデータであり、高いレベルでの信頼性が求められるためである。医薬品GLPの主な条項を例示すると、職員（第5条）、QAU（第8条）、試験施設及び機器（第9-10条）、SOP（第11条）、被験物質等の取扱い（第13条）、試験

計画書及び試験の実施（第15-16条）、報告及び保存（第17-18条）等に関する規定があるが、これらの内容はFDA GLP及びOECD GLP原則と同等のものである。

医薬品等の製造販売承認申請に伴い提出された非臨床安全性試験がGLPに適合して実施されたか否かは、PMDAが実施するGLP調査によって確認される。PMDAが実施するGLP調査は、その目的に応じて3種類あるが（図2）、薬機法に基づいて、製造販売承認申請ごとに実施されるGLP調査が「品目ごとの調査」である。PMDAでは、これ以外にも、製造販売承認申請とは無関係に、試験施設からの自発的な調査申請に応じた「施設に係る調査」を実施している。この「施設に係る調査」では、調査の結果GLPに適合していることが確認されれば、有効期間3年のGLP適合確認書が当該施設に発行され、当該施設にて

その有効期間内に実施された試験データが製造販売承認申請に添付された場合には、「品目ごとの調査」は省略できることとなっている。PMDAに提出されるGLP試験を行う国内試験施設のほぼ全てがPMDA発行のGLP適合性確認書を所持しているのが現状であるが、GLP適合確認書を持たない施設、若しくは、所持していたとしてもその有効期間内に試験が実施されていない場合には、前述の「品目ごとの調査」の対象となる。「品目ごとの調査」では試験施設に対してGLP適合確認書が発行されないため、同じ施設で実施されていたとしても別の製造販売承認申請品目であれば、再度、「品目ごとの調査」が必要になる点に留意が必要である。もう一つの「任意の調査」は、前述のPMDAによる有効な適合確認書を所持する試験施設に対して、様々な要因（例えば、審査部門からの要請や公益通報など）により、GLPへの適合性を改めて確認する必要性が生じた場合に実施されるものである。したがって、この調査によってGLP適合性が確認された場合であっても、新たにGLP適合確認書が発行されることはない。

薬機法（医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律）に係るGLP

<医薬品GLP>

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（厚生省令第21号）

<医療機器GLP>

医療機器の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（厚生労働省令第37号）

<再生医療等製品GLP>

再生医療等製品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（厚生労働省令第88号）

（年表）

- 1979年 FDA-GLP施行
- 1981年 OECD-GLP採択
- 1982年 医薬品GLP基準（局長通知）
- 1997年 GLP省令（厚生省令21号）公布
- 2002年 医療用具GLP基準（局長通知）
- 2005年 医療機器GLP省令（厚生労働省令37号）公布
- 2008年 医薬品・医療機器GLP省令の一部改正
- 2014年 再生医療等製品GLP省令（厚生労働省令88号）公布

図1

PMDAが実施する施設に係るGLP調査の概要

PMDAでは、現在、上述の3種類のGLP調査のうち「施設に係る調査」を主に実施しているため、当該調査がどのように実施されているか、その概略について以下に解説する。

PMDAが実施するGLP調査の種類

種類	実施のタイミング	実施レベル	適合確認書
施設に係る調査	試験施設からの調査申請の受理に応じて	自発的	発行あり (有効期間3年)
品目ごとの調査	製造販売承認申請の受理に応じて	必須	発行なし
任意の調査	必要に応じて (審査部門からの要請や公益通報など)	強制的	発行なし

図2

施設調査の概要（1） ...調査申請から適合確認書発行までの流れ

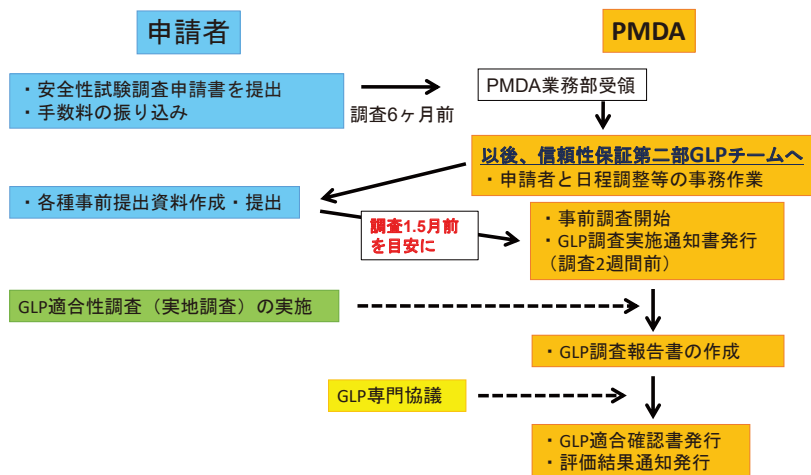


図3

施設に係る調査の全体の流れについては図3に概略を示した（詳細はPMDAのホームページ<https://www.pmda.go.jp/review-services/inspections/drugs/0008.html>参照）。通常、「施設に係る調査」を希望する試験施設より、当該施設が希望する調査時期のおよそ6か月前に手数料の振込みとともに調査申請書がPMDAに提出される。PMDAの担当者と具体的な調査日程についての調整が行われた後、調査予定日の6週間前を目安に調査に必

要な事前提出資料（施設の沿革や建物、設備及びGLP組織とその管理運営方法等についてまとめた「GLP適合確認に係る資料」、直近3年以内に実施したGLP試験のリスト及びその試験計画書と最終報告書の写し等）が提出され、それらに基づき「施設に係る調査」が実施される。調査の結果は、担当したPMDA調査員により調査報告書に纏められ、その内容に関して、PMDA専門委員からなる「GLP専門協議」にて意見を伺う。その結果、「GLP適合」と判断され

れば、当該施設にはGLP適合確認書が発行される。

医薬品等GLPでは、その製品群ごとにGLP省令が制定（すなわち、医薬品GLP、医療機器GLP及び再生医療等製品GLP）されており、上述の「施設に係るGLP調査」においてもこれら省令ごとに適合確認書を発行しているため、医薬品、医療機器及び再生医療等製品の製造販売承認申請に添付する非臨床安全性試験は、原則として各GLP省令の適合確認書を取得した試験施設で実施することが求められている。各GLP省令で求められる事項はほぼ同一であるが、製品群（すなわち、医薬品、医療機器、再生医療等製品）の特性に応じた若干の相違点がある。したがって、GLP調査においては、例えば、医薬品GLPの適合取得のためには被験物質の投与液を分析できる体制、医療機器GLPの適合取得には被験物質の抽出操作を実施できる体制、再生医療等製品GLPの適合取得のためには培養細胞を取り扱う体制や免疫不全動物を飼育する体制、などを確認している。

「施設に係る調査」に関して、調査当日のスケジュールの一例を図4に示した。1調査につき、PMDA調査員2名にて4日間で行われることが標準的であるが、施設の規模やGLP組織の運営状況に応じて調査員数や調査期間が増減される。調査初日は、昨今では、Web会議システムを利用して開始時会議（調査に係る連絡事項の伝達と事前提出資料に関する質疑応答）が行われるが、2日目以

降は、施設へ訪問して実地による調査を行う。前半はラボツアーとして、試験実施区域、動物飼育区域、被験物質保管区域及び資料保存施設等を訪問すると共に、運営管理者室、QAU室及び試験責任者等の居室を訪問してインタビューを行い、GLP組織の運営状況（ソフトウェア）と機器・設備の管理状況（ハードウェア）の両面から調査する。なお、ラボツアーでは、実施中のGLP試験があれば、当該試験の作業や記録も確認する。実地調査の後半では試験調査（スタディオオーディット）として、直近3年以内に実施されたGLP試験の中からPMDAが選定したものについて、生データを含む試験に関する全ての資料の提出を求め、これらの資料に基づいた「試験の再構築性」の確認を主眼とした調査を行う。また、施設がコンピュータ化システムを保有している場合は、そのバリデーション等の実施状況についても調査する。各調査日の最後には、

その日の調査で認知された所見や疑義について施設側に伝達する時間を設け（ラップアップ）、調査最終日には、これらに関して事実関係の再確認や調査員の説明に誤解がないことを確認するため、施設側としての見解を纏めて回答してもらっている。これら調査中に認知された所見・疑義のうち、GLP省令が求めるものから明らかに逸脱したものについては、GLP逸脱事項として施設側に改善の義務が発生することから、それ以外の事項と区別する必要がある。このため、実地調査終了後には、これらの所見・疑義をPMDAに持ち帰り、信頼性保証第二部のGLPチーム全体で議論した上で、逸脱事項に該当するか否かを最終的に判断する。

GLPチームによる議論の結果、GLP省令からの逸脱事項と判断された場合には、PMDAより当該施設の運営管理者宛てに文書にて逸脱事項を提示する。当該文書を受領した試験施設は、逸脱内容

に応じた弁明、改善計画、改善措置等を記した回答書を受領から30日以内に提出しなければならない。PMDAにて当該施設より提出された回答書を精査した上で、適切な改善がなされ、かつ、逸脱事項による施設の運営管理に及ぼす影響が許容範囲内にあると認められた場合は、GLP適合と判断され同時にGLP適合確認書が発行される。一方、改善が適切になされない、若しくは、当該逸脱事項が許容しうる範囲内ないと認められる場合にはGLP不適合と判断され適合確認書は発行されない。GLP適合確認書の有効期間は3年間であるため、試験施設がその期間を超えて有効性を維持したい場合には、有効期間が満了する90日前までに次のGLP調査を申請する必要がある。

国際的なGLPの枠組み

以上は、主に医薬品等の製造販売承認申請に添付される非臨床安全性試験が国内にある試験施設にて実施された場合について述べた。海外にある試験施設で実施されたGLP適用試験の取扱いについては、「当該外国試験施設が本邦のGLPと内容的に同等以上と認められる外国の政府機関が発行するGLP適合証明を提出し、それに基づき当該試験のGLP適合性を判断する」旨が厚生労働省からの通知（平成26年 薬食審査発1121第9号・薬食機参発1121第13号）に規定されている。ここで言う「本邦のGLPと内容的に同等以上と認められる外国」とは、一般的に「相互承認に関す

施設調査の概要（2） ...GLP調査のスケジュールの例

初日

- ・調査開始：調査目的の陳述、スタディオオーディット対象試験の発表等
- ・事前提出資料の内容についての質疑応答

※ 初日は原則、リモートで実施

2日目

3日目

4日目

- ・ラボツアー（試験室、動物室、アーカイブ等の調査）
- ・スタディオオーディット（試験の生データ等の調査）
- ・コンピューターシステムの調査

※ PMDA調査員2～4名程度で実施、

各調査日の最後に、調査中の疑義について照会する（ラップアップ事項）

最終日

- ・最終チェック：ラップアップ事項への回答受領
- ・機構調査員の内部打ち合わせ
- ・調査終了：全体のまとめ、質疑応答

※ GLP省令からの逸脱が疑われる場合、PMDAに戻ってからチーム全体で議論

る日本国と欧州共同体との間の協定」に係る欧州共同体の対象国及び前述のOECDによるGLPデータ相互受け入れ制度（OECD MAD）の対象国が該当し、これらの国にある施設で実施された試験データは、本邦の製造販売承認申請時に各国のGLP査察当局から発行されたGLP適合確認書の写しを添付することで、品目ごとのGLP調査は省略される（つまり、PMDAの有効なGLP適合確認書を有する国内施設の試験データと同じ取扱いとなる）。特にOECD MADはGLPに特化した多国間での取り決めであり、これにより、各国への申請毎に試験を重複実施する必要がなくなるとともに、実験動物使用数削減や

貿易障壁軽減などのベネフィットがもたらされた。一方、OECD MADを適正に運用するためには各国が実施するGLP査察のレベルが一定以上であり、かつ、査察結果も共有される必要があるが、それらについてはOECD加盟各国のGLP査察当局担当で構成されるGLP作業部会が、情報共有方法、GLP査察の相互評価、査察官のトレーニング、各種ガイダンス文書策定等の議論・作業を通じて、適正運用の維持に努めている。2023年10月現在、OECD加盟国は日本を含む38カ国、OECD非加盟だがOECD MADのみに参加している国は7カ国である。なお、2023年10月時点では、中華人民共和国（中国）はどちらにも該当し

ないため、中国にある試験施設で実施されたGLP適用試験はOECD MADの対象外であることに留意が必要である。

おわりに

医薬品等の開発と製造販売承認申請をスムーズに行い早期に医療現場に届けるためには、製薬企業の薬事担当者のみならず、試験施設、アカデミア及びベンチャー企業等を含めた開発に携わる者全員に広く医薬品等GLPに関する知識を共有することが望ましいと考え、本稿を起草した。今後の研究開発の一助になれば幸いである。

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

動物実験総合支援事業・
受託試験事業・研究用
試験提供事業の
3つの柱で製薬会社や
大学等研究機関の
ニーズにお応えしています。

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 : <https://www.kacnet.co.jp/>

コモンマーモセットの遺伝的多様性を守るための国際協力

公益財団法人実験動物中央研究所

マーモセット医学生物学研究部 佐々木 えりか

マーモセット基盤技術センター 黒滝 陽子

はじめに

2018年10月22-23日に米国ワシントンDCで開催された“Care, Use, and Welfare of Marmosets as Animal Models for Gene Editing-Based Biomedical Research: Proceedings of a Workshop”に参加した際、当時の生理学研究所（現、兵庫県立大学、教授）の郷康広先生の講演を聞いた時の衝撃はいまでも忘れられない。郷先生は、日本と米国の実験動物として維持されているコモンマーモセット（以下マーモセット）のコロニーのゲノムを解析することで、それぞれの国のマーモセットコロニーの遺伝的多様性を示されたのであるが、米国のマーモセットコロニーと比べると日本のマーモセットコロニーの遺伝的多様性は非常に乏しい事が示されていた。具体的なデータはないものの、マーモセットを研究で利用している私たちは、個体がだんだんと小さくなっていること、特定の疾患が多く認められるようになってきたこと、卵子の質が低下しつつあることなど「近交化が進みつつあるのでは？」と肌で感じていたが、郷先生のご発表によってその懸念が現実として示されたのである。

マーモセットの遺伝的多様性に対する日本と欧米との考え方の違い

10年以上前から我々は、海外出張の機会がある度に、できるだけ海外のマーモセット施設を視察するように心がけてきた。マウスと異なり、なかなか意見交換をする機会や仲間が少ないため、マーモセットを研究で利用している人達と意見交換し、様々な飼育方法を勉強できればと考えてきたからである。その中で、私が最も印象を受けたのは、日本以外の国のマーモセットコロニーでは「遺伝的多様性を維持するために努力をしている」という点であった。日本では、マウスの近交系を手本とし、マーモセットでもなるべく遺伝的多様性を持たせないという努力がなされていたため、この点は大きな相違であった。そもそも非ヒト霊長類の実験動物は、げっ歯類での前臨床研究の結果を受けて、遺伝的多様性を持つヒトへの臨床応用に向け、どれだけ有効な治療法であるか、安全であるかを検討するためのものである。そのためにも遺伝的多様性を維持する事は、重要であるという海外の研究者の意見は尤もであると思えた。

またマーモセット関係者を集めたシンポジウムで印象的であったのは、我々が開発している遺伝子改変マーモセット病態モデルで、最もヒトの病態に類似した症状を呈した個体の体細胞核移植クローン個体作製に向けた取組について発表した際「非ヒト霊長類でクローン個体を作ってどうするのか？ 遺伝的多様性を持たない疾患モデルで研究して意味があるのか？」といった質問がなされ、日本と海外で遺伝的多様性への考え方の大きな違いを感じた。これらのことから、郷先生のデータを見せていただいた際、「何とかして海外からマーモセット遺伝資源を導入し、日本のマーモセットコロニーの遺伝的多様性を保たなくては」と考えるに至った。

海外から遺伝資源を導入するには、生体のマーモセットを輸入するのが手っ取り早い。しかしながら非ヒト霊長類の生体の輸入は、非常に困難である。まず、非ヒト霊長類の輸出入は、生体に限らず、全ての組織、DNAも含めてワシントン条約により輸出入が制限されている。また近年、各航空会社が非ヒト霊長類の実験動物の輸送を中止しており、チャー

ター便などを準備しないと輸送できないという問題がある。更に日本は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」により、特定の地域以外からのサル類の輸入は禁止されている。また、マーモセットは環境の変化に敏感であり、合計60日以上になる検疫は、動物にとって大きなストレスとなると考えられる。

我々は、マーモセットの発生工学研究を行う上で、非侵襲的胚採取法、胚凍結法、胚移植法、精子凍結法など様々な技術確立してきた^[1, 2]。これらを応用する事で、凍結胚、凍結精子を海外から輸入すれば、動物にストレスを与えずにマーモセットの遺伝資源を導入できると考えた。

非侵襲的胚採取法

非侵襲的胚採取法は、ペアリングしたマーモセットのメスの子宮内にカテーテルを挿入し、子宮内灌流により自然交配卵を採取する方法である。基本技術は1994年にThomsonらによって報告された^[3]。しかしながらThomsonがWisconsin Regional Primate Research Centerを去った後、この方法を再現できる者がいなくなってしまい、失われた技術となってしまった。この方法は、開腹手術を必要としないため癒着などの問題がなく、繰り返し同一個体から発生能力の高い自然交配卵を得られるため非常に良い技術である。そこで我々は、Thomsonらの方法で使用されている器具類を改良し、新たに子宮内に挿入しやすいFluon ETFEのカテーテルなどを開発し、こ

の技術を再現できるようにした(図1A)。この改良により、国内外の研究機関に技術移転も可能となった。

具体的には、血中もしくは尿中プロゲステロンにより排卵が確認されたメスマーモセットに前麻酔としてMMB (0.04 mg/kgメデトミジン、0.40 mg/kgミダゾラム、0.40 mg/kgブトルファノール)を投与し、術中はイソフルラン吸入で麻酔を行う。25Gの鈍端ステンレス製スタイレットを中に通した18GのFluon ETFEカテーテル内を子宮頸部から子宮内に挿入した後、鈍端ステンレス製スタイレットを取り外すことでFluon ETFEカテーテルを子宮内に留置する。ついでフラッシング用培地(Waymouth培地、1M

HEPES)を充填した5mlのシリンジ、延長チューブ(直径2.2mm、長さ50cm)に接続したポリエチレン製カニューレ(長さ160mm、内径0.28mm、外径0.61mm)を三方活栓に取り付け(図1B)、子宮内に留置した18GのFluon ETFEカテーテル内を通してポリエチレン製カニューレを子宮内に挿入し灌流を実施する。灌流中、胚が卵管から腹腔に流出するのを防ぐため、腹壁からの触診で卵管を子宮に対し指で圧迫し、Fluon ETFEカテーテルに戻ってきた灌流培地をペトリ皿に回収し、これを鏡検することで灌流液と共に流出した受精卵を回収することができる(図1C)。

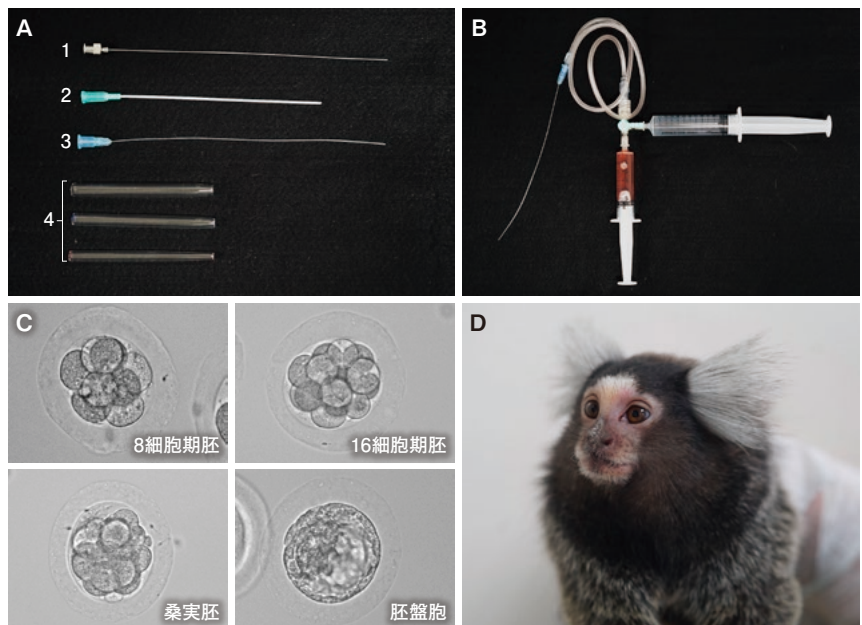


図1

- 開発した非侵襲的胚採取法のカテーテル。1：ステンレス鈍針、2：Fluon ETFE性カテーテル、3：ポリエチレン製カニューレ、4：ガラススタイレット、スタイレットは、個体の膣口の大きさにより、3種類用意している。
- 三方活栓に、フラッシング用培地、エクステンションチューブ、ポリエチレン製カニューレを取り付けたもの。空の10mlシリンジは、エクステンションチューブに残った培地を空気を送り、子宮内を灌流するためのもの。
- 子宮灌流により回収された受精卵。
- NIHのマーモセット、Jaxyの精子と実中研のマーモセットの卵子で顕微授精により産まれたJonathan。

マーモセット遺伝的多様性維持のための国際協力

前述したように凍結胚、凍結精子を海外から導入すれば、動物にストレスを与えずに海外からマーモセットの遺伝資源を導入できると考えたものの、実際にProof of Concept (POC) を取得してみないと判らない。海外でマーモセットのコロニーを持っている知合いの研究者に、お互いのマーモセットコロニーの遺伝的多様性を維持するために胚を交換しないか？と相談したところ、全ての研究者からこの取り組みに賛同が得られた。その頃、National Institute of Health (NIH) のNational Institute of Neuronal Disease and Stroke (NINDS) 遺伝子改変マーモセットの作製などを行っていた研究室の主宰者が転出し、私が残されたラボのアドバイザーとなったため、まずPOC取得は、NIHで実施することとした。この取組には、当時のNIH/NINDSのScientific DirectorであったDr. Lorna Role, NINDSのマーモセットの管理獣医師グループのリーダーであるDr. Heathre Narverと共同研究契約を締結し、両先生の多大なる協力により実施できたと感謝している。

NIHの研究室の技術職員の方とGoogleカレンダーを共有し、性周期管理に必要な投薬、採血、採尿などのタイミングを細かく伝えて実施してもらい、採卵が可能に渡米し、採卵方法の技術移転を兼ねた受精卵採取および精液のサンプリングと凍結保存を実施した。しかしながら、この取

り組みを始めて半年位で新型コロナウイルス感染症拡大により、渡米ができなくなり、NIHでは全ての研究が停止してしまったため採卵を中断せざるを得なかった。そこで、この期間を活用してワシントン条約により制限されている非ヒト霊長類のサンプルの輸出入の許可を得て、まずは精子を輸入することとした。アメリカ側の輸出許可を出すUnited States Fish and Wildlife Serviceの職員も全て在宅勤務となっているとのことで、輸出許可を取るまでに1年かかったが、なんとか米国の輸出許可を得ることができ、精子に関しては、日本の輸入許可は必要ないとのことで、2022年11月4日にサンプルを受け取る事ができた。受け取った精子で顕微授精を実施することで、2023年4月5日に無事に一匹目のNIHの精子由来の新生仔を得ることができた。この新生仔は、NIHの遺伝的父親がJaxyという名前なので、同じ“J”から始まるJonathanと名付けられた(図1D)。現在、更に複数頭の個体が妊娠中である。

現在NIHで採取し、凍結した胚を日本へ輸入するための輸出入の許可申請中である。またこの方法で個体が得られる事が示されたので今後、マーモセットコロニーを持つ研究機関、北米4機関および欧州3機関とも同様の取組を進める予定である。

将来構想

現在、アメリカでは、大規模なマーモセットゲノム解析プロジェクトが行われており、アメリカ全体として遺伝的多様性を維

持するための取組が開始されていると聞いている。これは、動物実験として目的繁殖をした個体しか実験動物として利用できないため、既に実験動物として繁殖、飼育されているマーモセットコロニー間で遺伝的多様性を維持する必要があるためである。今後、このアメリカでゲノム解析結果に、日本および欧州のマーモセットコロニーのゲノム解析の結果を統合することで、より長く世界全体のマーモセットの遺伝的多様性を維持できるような胚や配偶子の交換による繁殖のプログラムを家畜育種学の専門家の協力も得て進められないかと相談しているところである。

以前、NHKの「ワイルドライフ」という番組で、絶滅危惧種となっている新世界ザルの一種、ライオンタマリンの遺伝的背景を維持するために、動物園では繁殖用の個体を交換しているという事が紹介されていた。我々の胚、配偶子交換の技術を用いれば、このような絶滅危惧種の保全、動物のストレス軽減に貢献できるのではないかと考えており、今後、この技術を絶滅危惧種の新世界ザルに応用したいと考えている。

引用文献

1. Kishimoto, K., et al., *Establishment of novel common marmoset embryonic stem cell lines under various conditions*. Stem Cell Res, 2021. 53: p. 102252.
2. Kurotaki, Y. and E. Sasaki, *Practical reproductive techniques for the common marmoset*. Journal of Mammalian Ova Research, 2017. 34(1): p. 3-12.
3. Thomson, J.A., J. Kalishman, and J.P. Hearn, *Nonsurgical uterine stage preimplantation embryo collection from the common marmoset*. J Med Primatol, 1994. 23(6): p. 333-6.

マウス用個別換気飼育(IVC)システムにおける蟯虫感染事例

土佐 紀子

北海道大学大学院 医学研究院附属動物実験施設

1. はじめに

本稿では、北海道大学医学研究院附属動物実験施設（動物実験施設）と医歯学総合研究棟実験生物部門（実験生物部門）における個別換気飼育（IVC）システムにおいて、それぞれ検出されたネズミ大腸蟯虫およびネズミ盲腸蟯虫への対応・原因究明・対策について御紹介する（図1）。両蟯虫は、病原性は殆どないと考えられているが、飼育環境を反映する指標の一つとされている。感染症が拡大しにくいという特性を有するIVCシステムにおける感染症の撲滅と原因特定等の一助となれば幸いである。

2. 両施設における微生物学的統御

【マウスの微生物モニタリング方法】

定期微生物検査は、年3回（4ヶ月毎）、モニタリング動物（ICR、メス）を各飼育室2匹、4ヶ月間、使用済み床敷に暴露し、飼育室毎に1匹ずつ微生物検査を実施している。検査は、実験動物中央研究所（実中研）に委託している。微生物検査項目は、腸粘膜肥厚症菌、ネズミコリネ菌、肺パスツレラ、サルモネラ、ティザー菌、エクトロメリアウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、マウス肝炎ウイルス、センダイウイルス、肺マイコプラズマ、外部寄生虫、消化管内原虫、蟯虫である。

【感染症発生時の対応】

定期微生物検査結果の陽性や異常動物が確認された場合の初動対応は、1) 動物の処分・移動・新規導入の禁止、2) 人動線の制限（入室制限等）、3) 飼育器材搬出・洗浄の取り扱い変更、4) 飼育動物の情報収集（動物種、系統、収容匹数等）とし、その後は図2に示した対応を取ることを、使用開始前に利用者へ説明し、施設の指示に従って頂くことをお願いしている。

3. ネズミ盲腸蟯虫の検出と対応

【ネズミ盲腸蟯虫(*Syphacia obvelate*)について】(文献1)

- 1) マウスの盲腸に寄生する蟯虫で、宿主特異性は比較的高い。
- 2) 虫卵感染後11日目に雌成虫は、盲腸から肛門部に移動後、肛門周囲粘膜に産卵しその一生を終える。
- 3) 糞便や汚染された飼料を摂取する事により、経口感染で伝播する。
- 4) 虫卵の検出は、肛門周囲に産みつけられた虫卵をセロハンテープにより採取し、鏡検により診断する（セロハンテープ法）。

【検出に至った経緯と利用状況】

実験生物部門において実施した平成29年度第2回定

図1. 北海道大学医学研究院における各動物実験施設の概要

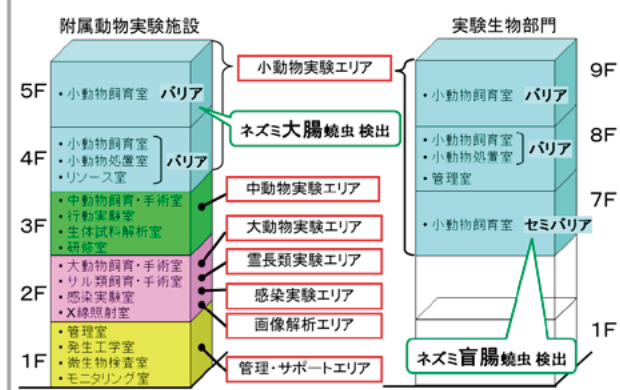
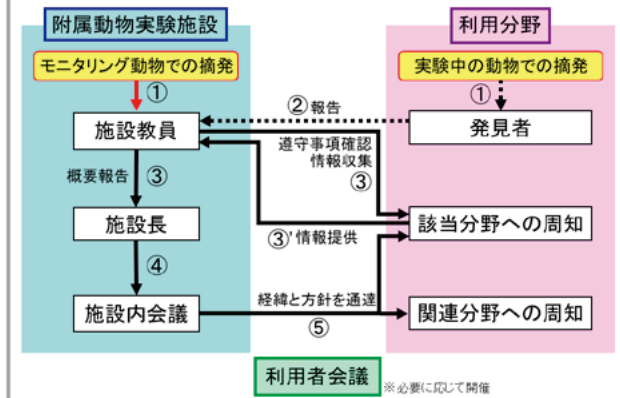


図2. 感染症発生時の対応



期微生物検査（10月）のモニタリングマウス10匹のうち1匹においてネズミ盲腸蟯虫が検出された。検出された飼育室は、セミバリア飼育エリア（図1）で、マウスのみ約150ケージがIVCシステム（両面式2台）で飼育されており、1分野のみの利用だった。

【感染拡大状況】

定期微生物検査の結果を受け、直ちに、前述2.「感染症発生時の対応」に従って対応を行った。

同居のモニタリングマウス（1匹）におけるセロハンテープ法による検査では虫卵は検出されなかった。

第1回目の抽出検査は、当該飼育室の全飼育ケージ数の約20%のケージ（系統毎に約20%：計28ケージ）について、セロハンテープ法により実施し、1ケージ（1系統）で虫卵1個が検出された（図3-A, B）

この結果を受け、第2回目の抽出検査は、虫卵が検出された1系統（D系統）について全ケージ（計21ケージ）に対してセロハンテープ法による追加検査を実施したところ、21ケージ中7ケージ（約33%）で虫卵が検出された（図3-C, D）。その中でストレプトゾトシンを投与したマウスが収容されたケージの感染率は約70%だった（図3-D）。

以上の状況から、一部のマウスで感染しており、ストレプトゾトシンを投与されたマウスが感受性動物だったと考えられた。

【感染経路・感染源】

感染経路と感染源は不明である。これまでの定期微生物検査および単発検査において全エリアでネズミ盲腸蟯虫が検出された事はなく、ネズミ盲腸蟯虫が検出された系統の入手先は信頼のおける生産機関だった。

【ネズミ盲腸蟯虫検出後の対応】

1) 虫体の駆虫

マウスやラットでの蟯虫駆虫効果が報告されているイベルメクチンを全個体に週1回噴霧をすることを4週間実施した（文献1）。イベルメクチン噴霧は、0.1%イベルメクチン液をケージ全体に2回スプレーした。

2) 虫卵の殺滅

蟯虫卵は、飼育室内環境では長い間生存し、一般的な消毒法では細菌やウイルスと同様には殺滅できず、乾熱の場合は70度5

分、湿熱の場合は70度1分で死滅することが報告されていることから、下記の対応を行った（文献1）。

①使用済みケージ・アミ・トップ・給水瓶類

当該飼育室から搬出する際は、ビニールで覆う事により封じ込め、洗浄室にて洗浄後、通常通り全て高压蒸気滅菌処理（滅菌）を行った。

②給水ノズル

イベルメクチン噴霧期間中の第3週と第4週に全ノズルを交換し、この時、ケージも交換した。使用済みノズルは、滅菌を行い、その後洗浄し、再び滅菌を行った。

③IVCシステム

イベルメクチン噴霧してから、4週間後に当該飼育室内の全てのIVCシステム（汚染IVC）を別に保管していたIVCシステムと交換した。汚染IVCは、洗浄室にて洗浄し、スチームクリーナーによる熱処理を行った。

3) 飼育担当者の作業動線と対応

①エリア内の廊下・飼育室の床の消毒は、スチームクリーナーを用いて週2回熱処理し、通常の消毒も併用して実施した。

②入室の順番は、当該の飼育室に入室した後は、他の飼育室へは入室しなかった。

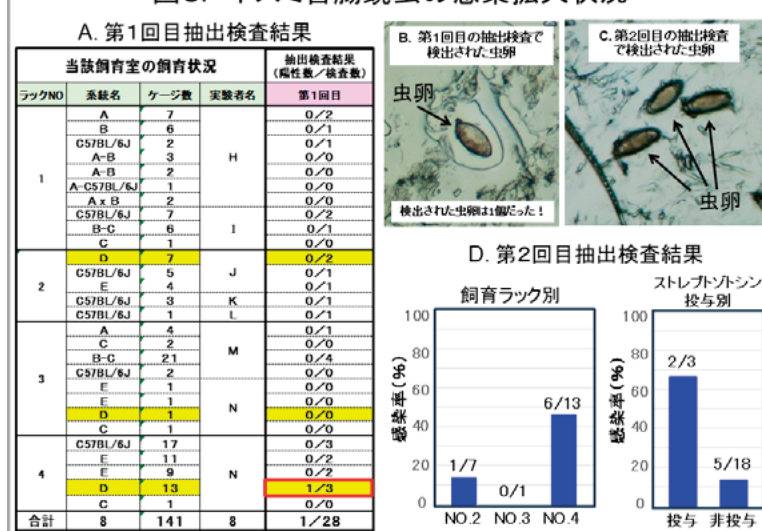
③ケージ交換の順番は、蟯虫が検出された系統のマウスが収容されているケージの交換は最後に行った。

④新しく入舎されたマウスのケージをIVCシステムに収容する前に新しいノズルを装着した。

4) 洗浄担当者の作業動線と対応

当該飼育室から搬出された使用済み飼育器機類を洗

図3. ネズミ盲腸蟯虫の感染拡大状況



浄した後は、スチームクリーナーで床を熱処理した。

5) 利用者への御願い

4週間のイベルメクチン噴霧後の検査結果が出るまでは、感染拡大を防ぐため、以下のことを徹底してもらった。

- ・飼育ラック内のケージの置き場所を現在の位置から変えない。
- ・利用者以外の見学者や業者の入室をさせない。
- ・生きた動物を搬出ししない。
- ・動物死体をエリア外に搬出ししない。
- ・飼育室内で採取したサンプルは、容器に入れ密閉した状態で搬出を行う。

【終息の判断】

下記の検査全てにおいて、虫体および虫卵が検出されなかつたことから終息と判断した。

1) 当該飼育室の全飼育数20%のケージについてのセロハンテープ法による抽出検査

(計3回実施：最初のイベルメクチン噴霧後、5週目、9週目、13週目)

2) 次の定期微生物検査（平成30年2月実施）

【再発防止策】

セミバリア飼育エリアでの検出であったことから、スリッパの履き替えを飼育室の入口に加えて当該飼育エリアの入り口においても実施することとし、エリア入口の履き替え場所にオゾン消毒シューズボックスを設置した。

4. ネズミ大腸蟻虫の検出と対応

【ネズミ大腸蟻虫 (*Aspicularis tetraptera*) について】(文献1)

- 1) マウスの結腸起始部に寄生する蟻虫で、宿主特異性は比較的高い。
- 2) 虫卵感染後23日から雌成虫は結腸起始部内で産卵し、寿命は45～50日である。
- 3) 虫卵は糞便中に排出され、糞便や汚染された飼料を摂取する事により、経口感染で伝播する。
- 4) 虫卵の検出は、比重約1.2のショ糖液に糞便を懸濁し、虫卵を液の表面に浮上させて集卵し、鏡検により診断する（浮遊法）(図4-A)。

【検出に至った経緯と利用状況】

動物実験施設において実施した平成30年度第2回定期微生物検査（10月）のモニタリングマウス12匹のうち1匹においてネズミ大腸蟻虫が検出された。検出された飼育室は、バリア飼育エリア（図1）で、マウスのみ約320ケージがIVCシステム（両面式4台）で飼育されており、2分野が利用していた。

【感染拡大状況】

定期微生物検査の結果を受け、直ちに、前述2.「感染症発生時の対応」に従って対応を行った。

同居のモニタリングマウス（1匹）において、浮遊法による虫卵は検出されなかったが、簡易沈殿法（文献1）による虫体2個（メス）を検出した（図4-B）。

第1回目の抽出検査は、当該飼育室の全飼育ケージ数の約20%のケージ（系統毎に約20%：計64ケージ）について、浮遊法により実施したところ、11ケージ（40系統中8系統）で虫卵が検出された（図4-C）。虫卵が検出された系統は全てA分野のマウスだった。

抽出検査の結果とA分野における下記の利用状況から、虫卵が検出されたA分野のマウスは全部感染していると考え、対応することとした。

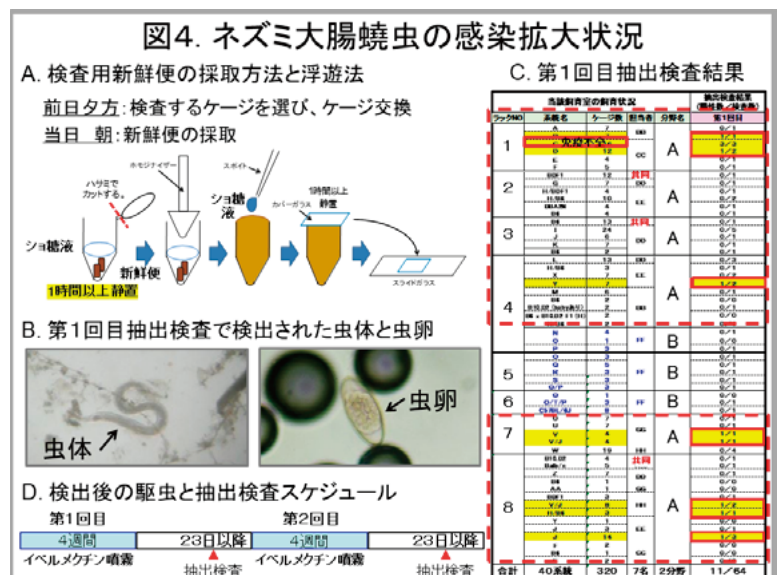
- 1) 系統毎に飼育棚を固定していなかった。
- 2) 異なる系統を同居飼育する実験を行っていた。

【感染拡大の原因】

上記1)と2)に加え、免疫不全マウスを維持していたことによると考えられた。

【感染経路・感染源】

ネズミ大腸蟻虫が検出された系統は、全て実験生物



部門のバリア飼育室から搬入していた（当該系統の入手先は信頼のおける生産機関だった）。実験生物部門から動物実験施設への搬入に当たっては、4週間の隔離飼育を行い、隔離後に各系統から1匹ずつ微生物検査を実施していた（実中研に依頼）。その検査において1系統でネズミ大腸蠕虫が検出されていた。この結果を受けて、当時、下記の対応を行い、当該系統を動物実験施設の飼育室に搬入した。

- 1) 一緒に隔離飼育していた系統も含め、隔離中のケージ全てを浮遊法による自家検査を実施し、当該系統にのみ虫卵を検出した。
- 2) 当該の1系統のみ、隔離飼育を4週間延長し、イベルメクチン噴霧による駆虫を行った。
- 3) 隔離飼育後、1匹を実験中研へ検査依頼し、陰性の結果を得た。残りの2匹は、浮遊法による自家検査を行い、陰性を確認した。

【ネズミ大腸蠕虫検出後の対応】

- 1) 虫体の駆虫
上記「感染経路・感染源」で記載した通り、隔離飼育においてネズミ大腸蠕虫が検出されイベルメクチンで駆虫した系統で、再度、本蠕虫が検出されていたことから、4週間のイベルメクチン噴霧1回では不十分であると考えられた。そこで、ネズミ大腸蠕虫のプレパテント・ピリオド（感染から産卵までの日数）が23日であることも踏まえて下記の対応を行った。
- ①全個体にイベルメクチン噴霧を週1回、4週間実施
- ②上記①を実施後、1ヶ月間の期間において、再度、全個体にイベルメクチン噴霧を週1回、4週間実施（図4D）
- 2)「虫卵の殺滅」、「飼育担当者の作業動線と対応」、「洗浄担当者の作業動線と対応」、および、「利用者への御願い」は、前述3.「ネズミ盲腸蠕虫検出後の対応」と同様に実施した。
- 3) ネズミ大腸蠕虫が検出されなかった分野への対応は、未使用の飼育室へ移動後、利用者から了解が得られたマウスだけに、イベルメクチン噴霧を週1回、4週間実施した。

【終息の判断】

下記の検査全てにおいて、虫体および虫卵が検出されなかったことから終息と判断した。

- 1) 当該飼育室の全飼育数20%のケージ（約60ケージ）

についての浮遊法による抽出検査（計2回実施）

検査は、プレパテント・ピリオドが23日であることから、第1回目と第2回目イベルメクチン駆虫後、23日以降にそれぞれ実施した（図4D）。

- 2) 次の定期微生物検査（平成31年2月実施）

【再発防止策】

系統毎に飼育棚を固定し、新たなケージを飼育ラックに収容する際は給水ノズルを新しいものと交換することを利用者に御願いした。

5. 汚染IVCの虫卵除去方法

汚染IVCは、ネズミ盲腸蠕虫で2台、ネズミ大腸蠕虫4台、計6台だった。汚染IVC内の虫卵を殺滅するためスチームクリーナーによる熱処理を行った後、（株）ホクドーに依頼して給排気管内をマイクロカット（除塵作業）およびネオポア噴霧消毒作業を実施した。汚染IVCの給・排気ブロアのHEPおよびプレフィルタは新品と交換した。

6. まとめと考察

図5にまとめと考察を示した。注目すべき点は、ネズミ大腸蠕虫は、当該飼育室を使用していた2分野の内、A分野のみの検出だったことである。B分野に拡大しなかった要因は、分野ごとに飼育棚が決められていたことによると考えられる。これは、感染動物との同居や汚染給水ノズルを共有することがなければ、IVCシステムにおいては、感染拡大を防止できるとことを示唆している。

終息宣言がなされてから、ネズミ盲腸蠕虫は5年、ネズミ大腸蠕虫は4年が経過しているが現在までに再発はしていない。また、虫卵除去を実施したIVCシステムも使用しているが、飼育マウスにおいて蠕虫は検出されていない。

謝辞

近年、感染症発生を経験する機会が少なくなったことから、「実験動物微生物統御若手の会」を立ち上げ感染事例の情報交換の場を作って下さった日本実験動物学会実験動物感染症対策委員会の池郁生先生、丸山滋先生、山田梓先生、および委員の皆さまに感謝する。

当施設の微生物学的統御は、国立大学法人動物実験

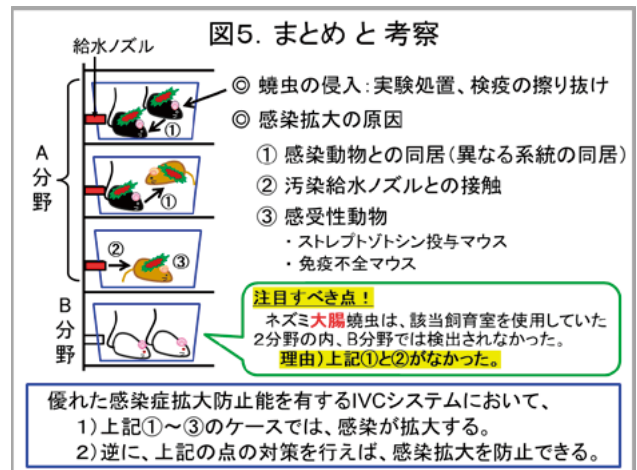
施設協議会が作成した資料を基に実施しており、本会の各委員会の皆さまに感謝する。

虫卵検出検査を実施した技術職員は、当施設において微生物検査を長年担当していたが、駆虫後の検査では「虫卵の見逃し」を非常に心配したため、判断に迷う画像を実験研の林元展人先生に見て頂き結論を出した。林元展人先生をはじめ社員の皆さまに感謝する。

汚染IVCの虫卵除去方法について相談にのって下さった自治医科大学実験医学センターの國田智先生に感謝する。

両施設の洗浄業務を委託している（株）ホクドー様の社員の皆さまに、蟻虫撲滅と一緒に取り組んで下さったことを感謝する。

蟻虫が検出されてから終息に至るまで多大な労力と時間が割かれたが、その殆どの作業は当施設の技術職員が行った。技術職員が「徹底的にやりましょう。」と言ってくれたことを覚えている。職業人としての高い意識を持った技術職員と一緒に仕事ができること



に感謝すると同時に、当施設にそのような技術職員がいることを誇りに思う。

参考文献

- 1) 巖城 隆：総説 マウス・ラットの蟻虫とその検査・駆虫，実験動物技術，第34巻2号，77-86，1999

（日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照）



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

Mouse
マウス型実験動物シミュレーター

3R の原則すべてに貢献

Vessel
サル傍側皮静脈シミュレーター



Mimicky®
Experimental procedure Simulator

質の高いゲノム編集マウス作製を支援するKOnezumi、DAJINの開発

久野 朗広

筑波大学 解剖学発生学研究室

はじめに

CRISPR-Cas9システムは、遺伝子改変の歴史において画期的な変革をもたらした。実験動物学領域においても例外ではなく、高度に発達した胚操作技術と組み合わせられた結果、従来では考えられないほど迅速かつ簡便にゲノム編集動物を作製することが可能となった。

新たなゲノム編集技術の開発ならびにゲノム編集効率の向上といった分野において、日本からも多くの独自の研究成果が報告されている。しかし、この記事の主な焦点は、ゲノム編集技術を適用する「前後」の過程にある。ゲノム編集を行う「前」には、目的の編集結果を得るための質の高いゲノム編集デザインの計画が必要となる。また、ゲノム編集の「後」には、作製された動物が想定された通りの遺伝子変異を持っているかどうかの確認として、遺伝型解析が行われる。

これらゲノム編集の「前後」の過程は、多くの課題と困難がある。ゲノム編集技術自体が持つ固有の問題点に対応するため、研究者は常に新しいアプローチを模索している。このような背景の中で、本稿では私たちが開発しているツール、「KOnezumi」(Kuno et al., 2019) および「DAJIN」(Kuno et al., 2022) を紹介したい。

KOnezumiは、ノックアウトマウス作製に特化したゲノム編集デザ

インを自動化するWebツールであり、質の高いゲノム編集実験の設計をサポートする。また、DAJINは、ロングリードシーケンサーを使用して、高精度な遺伝型解析を行うためのツールである。目的のゲノム編集動物を得るためのツールとしてKOnezumiおよびDAJINを活用することで、ゲノム編集動物を用いた研究の質を担保することができることを期待している。

KOnezumi：簡便かつ信頼性の高いノックアウトデザインを提供するWebツール

遺伝子ノックアウトマウスは、生体内での特定遺伝子の機能調査に用いられる基盤的なツールである。現在ではCRISPR-Cas9システムがその簡便さと汎用性の広さにより、ノックアウトマウスの生成における一般的な手法として位置づけられている。CRISPR-Cas9を筆頭とするゲノム編集技術の進展によって、これまでノックアウトマウスの作製経験がなかった研究者・技術者がこの分野に参入するハードルが下がったと言える。しかし、特定の遺伝子をノックアウトするための適切なゲノム編集戦略を考えることは、依然として遺伝子工学に詳しい専門家の知識や経験が必要とされており、これがノックアウトマウス作製の大きな障壁となっていた。

ノックアウトマウス作製におけ

るデザインに関して、具体的な課題として以下の3つが挙げられる。

1. 目的の遺伝子ノックアウトを得るために切断もしくは切除すべきエクソンの選定、2. 切断対象のゲノム領域のための最適なガイドRNAの設計、3. 作製されたノックアウトマウスの遺伝型を確認するためのジェノタイピングプライマーの設計、である。これらを正確にデザインすることは、ノックアウトの信頼性の保証、ならびに産出したノックアウトマウスの遺伝型解析に欠かせない。これまでに、これらの課題に対して多くのソフトウェアやウェブツールが開発されているが、3つの事項すべてを勘案するためには、それぞれのツールを個別に使用する必要があった。さらに、一部のツールは高度なプログラムスキルを要求するため、そもそも利用が難しいものもあった。そのため、ノックアウトを誘導する信頼性の高いデザインの実現は困難であった。

ノックアウトデザインの全自動化製ツール「KOnezumi」の開発

筑波大学動物資源センターは、これらの課題を解決するためのWebサービスKOnezumiを公開している (<https://www.md.tsukuba.ac.jp/LabAnimalResCNT/KOanimals/konezumi.html>) (図1)。KOnezumiのとくに注目すべき特徴は、その利用の簡便さとノック

アウトの信頼性の高さにある。

まず、KOnezumiの使用方法是非常に簡単である。利用者は上記のサイトにアクセスをし、興味のある遺伝子名（複数遺伝子可）を入力するだけで、残りの作業はすべてKOnezumiが自動で行う。ゲノムブラウザからの配列取得、ガイドRNAの設計、ジェノタイピングプライマーの設計といった煩雑な手順を、利用者が個別に実行する必要はない。これがKOnezumiのもっとも大きな特徴である。

もう一つの特徴は、信頼性の高いノックアウト戦略を提供する点にある。遺伝子ノックアウトの方法には多くのバリエーションが存在するが、KOnezumiはとくにノックアウトの確実性を重視して、標的エクソンの両端を切断する戦略を採用している。そして、「どのエクソンを標的とするか」という重要な判断基準についても、国際マウス表現型解析コンソーシアム（IMPC）の公開情報をベースに最適な選択を行っている。これにより、任意のエクソンを選択するよりも信頼性の高いノックアウトが期待できる。

KOnezumiのレポート

レポートの結果は5つのカテゴリーに分かれており、それぞれ遺伝子情報やノックアウト戦略の概要、gRNAの候補一覧、ジェノタイピングプライマーの候補一覧、切断されるエクソンの配列、そして切断後のmRNA配列が詳細に記載されている。

とくに実務上有用なのは、ジェノタイピングプライマーの候補一覧と切断後のmRNA配列である。これらの情報は、エクソンの

両端を切除するノックアウト方法において極めて重要である。ジェノタイピングプライマーに関しては、電気泳動のバンドサイズに基づき、ホモとヘテロを区別するための3種類のプライマー情報が提供されている。また、エクソン除去後のmRNA配列が提示され、ナンセンスコドン介在的mRNA分解（nonsense mediated mRNA decay：NMD）によって分解される可能性があるのかを確認することができる。

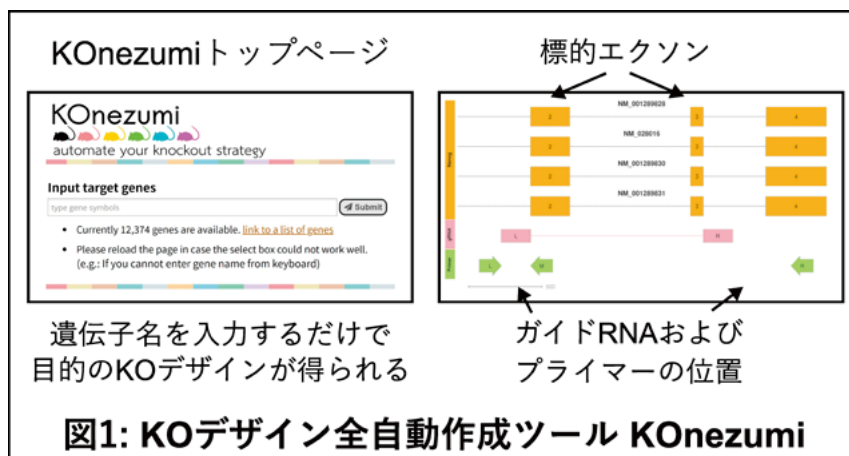
KOnezumiは、ノックアウトマウスを高い信頼性で作製するための実用的な選択肢となる。2023年10月現在、公開開始の2018年から累計で3万回のご利用を頂いている。現在は約1万2000遺伝子に対応しているが、今後、ノックアウトデザインの構築が可能なすべての遺伝子をカバーする予定である。もし利用者の興味のある遺伝子が現状対応していない場合でも、ほかに興味のある遺伝子についてKOnezumiのレポートを参照することで、ノックアウトデザインの構築における勘所がつかめるのではないかと考えている。

DAJIN：ナノポアロングリードシーケンサーを用いた高精度な

遺伝型解析技術

CRISPR-Cas9による「意図しない変異」の導入

筑波大学生命科学動物資源センターでは年間約150の遺伝子改変マウス系統を作製しており、その多くをCRISPR-Cas9によるマウス受精卵に対するゲノム編集によって行っている。しかし近年、標的ゲノム領域におけるCas9のDNA二本鎖切断の修復過程によって「意図しない変異」が誘導される場合が相次いで報告されている（Kosicki et al., 2018など）。実際に、著者らは当施設で作製されたゲノム編集マウスのゲノム解析に取り組む中で、ゲノム編集によって生じる「意図しない変異」が想像を超える頻度で検出されることに気がついた。標的ゲノム領域においてデザイン通りの編集が施されたマウスは、実際には10匹中1～3匹程度であり、その他は何らかの「意図しない変異」を持っていた。この「意図しない変異」は小さい挿入・欠失もあれば、1 kbを超える大型の変異も生じていた。そして従来の遺伝型解析技術である電気泳動法、サンガーシーケンサー、次世代シーケンサーでは、このような大小さまざまな「意図しない変異」を見落とし、遺伝型を誤判定する



リスクが避けられなかった。

「意図しない変異」を捉えるためのロングリードシークエンサーの活用

上述のとおり、ゲノム編集によって生じた「意図しない変異」はランダムに起こり、かつ、その影響の範囲は一塩基置換から構造多型までまったく予想ができない。そこで著者らはこれらの変異を網羅的に捉えるために、ロングリードシークエンサーを活用することを考えた。ロングリードシークエンサーには代表的なものとしてナノポアシークエンサーおよびPacBioがあるが、導入コストが低いナノポアシークエンサーを用いることとした。ナノポアシークエンサーは、DNAを一分子ずつ小さな穴（ナノポア）に通し、各塩基が通過するときの電流変化を検知してDNAの塩基配列を解読するシークエンサーである。著者らは複数個体にバーコードするため、まずPCRアンプリコンを作製し、これに対してナノポアシークエンサーを用いることで、およそ10 kbまでの標的ゲノム領域において1塩基解像度で遺伝型を決定することができるようになる。

深層学習を組み合わせた遺伝型解析技術「DAJIN」の開発

ナノポアシークエンサーによって広範囲なゲノム領域の配列を解読できるようになった一方で、ナノポアシークエンサーは塩基決定において誤りが多いという欠点があった。そこで著者らはナノポアシークエンサーのシミュレーションリードを教師とした深層学習を用いて、ナノポアシークエンサー

のエラー率を勘案しつつ、正確にアレルを分類できる機械学習モデルを組んだ。これによって1塩基変異から構造多型までのアレルの網羅的な検出が可能となった。ナノポアシークエンサーのリードを、アレルごとに分類するこの機械学習モデルを、アレルを一網「打尽」に検出することからDAJINと名付けた（図2）。

多サンプル処理が可能とする実用例

DAJINはDNA抽出およびPCRができればあとはナノポアシークエンサーにかけるだけであり、結果は1日程度で完了する。また、PCRによるDNAバーコード付与によって一回のシークエンスにおいて100匹程度の遺伝型解析が可能であり、およそ1匹あたり1,000円程度のコストとなる。そのため、短時間かつコストパフォーマンスに優れたハイスループットスクリーニングが可能であると考えている。実際に著者らはDAJINを用いて近交系マウス8系統のHr遺伝子ノックアウトマウスの遺伝型解析に取り組み、2回のシークエンスで116匹分の遺伝型解析を3日程度で完了することができた（Tamari et al., 2023）。ナノポアシークエンサーとDAJINの組み合わせによって、従来では現実的に不可能なほどの時間と労力が必要であったワークフローが現実のものとなっている。

今後の展望

著者らの研究においては、論文出版がゴールではなく、実際に利用されることが重要となる。その点で、KOnezumiのように誰もが利用できるWebツールは目的を満たしている。一方で、KOnezumiの対象となる遺伝子数はおよそマウス全遺伝子数のおよそ半分程度であり、その増加が望まれていることや、エンハンサー領域のアノテーションを勘案する、といったゲノム編集デザインにおける最新の知見を取り込めていない。さらに、マウス以外の生物種に対してもKOnezumiのアプローチを拡張してほしいという要望もある。これらの更新を行うことが今後の課題である。

一方DAJINにおいては、KOnezumiと異なり、現状では利用が簡単ではないという点が最大の欠点である。深層学習を用いていることから、使用できるPCは基本的にグラフィックボードを搭載したものに限られ、OSもLinuxが前提である。そのため、PCに慣れた利用者しか導入することができない、という点で改善の必要がある。著者らはDAJINをより簡単に、より汎用的なPCにインストールできるように、深層学習ではないアルゴリズムでアレルを分類する、DAJIN2の開発に取り組んでいる（<https://github.com/akikuno/DAJIN2>）。DAJIN2は手持ちのラップトップに簡単にインストールす

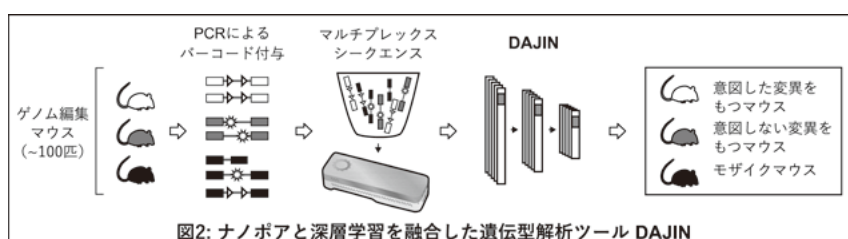


図2: ナノポアと深層学習を融合した遺伝型解析ツール DAJIN

ることができ、最新のナノポアフローセルR10.4にも対応している。今後、ナノポアシーケンサーを含めたロングリードシーケンサーの普及が加速することを勘案し、DAJIN2も一層その利用価値を高めていきたい所存である。

おわりに

本稿では著者らが開発に携わる「KOnezumi」および「DAJIN」を紹介した。一方で、本邦においてゲノム編集技術に関する研究は非常に活発に行われており、バイオインフォマティクスを活用した報告も多くなされている。有名などころではガイドRNAの配列特異性をレポートするCRISPR-Direct (Naito et al., 2015) や、最近ではゲノム編集後に起こりうる意図しない表現型を予測するDANGER

Analysis (Nakamae & Bono, 2023) といった独創的なツールが報告されている。このようなゲノム編集実験をサポートするツールを組み合わせることで、貴重な動物資源を有効に活用しつつ、より精密で質の高い研究を行う一助となれば幸いである。

引用文献

Kosicki, M., Tomberg, K., & Bradley, A. (2018). Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. *Nature Biotechnology*, 36(8), 765–771.

Kuno, A., Ikeda, Y., Ayabe, S., Kato, K., Sakamoto, K., Suzuki, S. R., Morimoto, K., Wakimoto, A., Mikami, N., Ishida, M., Iki, N., Hamada, Y., Takemura, M., Daitoku, Y., Tanimoto, Y., Dinh, T. T. H., Murata, K., Hamada, M., Muratani, M., ... Mizuno, S. (2022). DAJIN enables multiplex genotyping to simultaneously validate intended and unintended target genome editing outcomes. *PLoS Biology*, 20(1), e3001507.

Kuno, A., Mizuno, S., & Takahashi, S. (2019). KOnezumi: a web application for automating gene disruption strategies to generate knockout mice. *Bioinformatics*, 35(18), 3479–3481.

Naito, Y., Hino, K., Bono, H., & Ui-Tei, K. (2015). CRISPRdirect: software for designing CRISPR/Cas guide RNA with reduced off-target sites. *Bioinformatics*, 31(7), 1120–1123.

Nakamae, K., & Bono, H. (2023). DANGER analysis: risk-averse on/off-target assessment for CRISPR editing without a reference genome. *Bioinformatics Advances*, 3(1), vbad114.

Tamari, T., Ikeda, Y., Morimoto, K., Kobayashi, K., Mizuno-Iijima, S., Ayabe, S., Kuno, A., Mizuno, S., & Yoshiki, A. (2023). A universal method for generating knockout mice in multiple genetic backgrounds using zygote electroporation. *Biology Open*, 12(9). <https://doi.org/10.1242/bio.059970>

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

実験動物の血液検査受託サービス

お客様の分析ラボとして

信頼性の高いデータを提供いたします

生化学検査

マウスでも検査可能な微量検体 (80 μ L ~)
迅速な結果報告 (最短検体到着より 2 営業日)

ステロイドホルモン検査

LC-M/MS を用いた高感度分析
最大 27 種のステロイドホルモンを一斉分析

マルチプレックス検査

Luminex を用いて最大 49 種のタンパク質を一斉分析
微量検体 (50 μ L) で分析可能

新薬 新発見
New drug New discovery

迅速で充実した研究開発

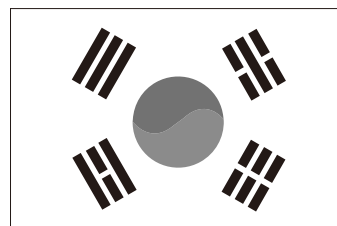
＼HP はこちらから／



オリエンタル酵母工業株式会社

バイオ事業本部リサーチソリューション部
TEL : 03-3968-1192

海外散歩



韓国済州島とAFLAS2023

林元 展人

公益財団法人実験動物中央研究所

第9回となるAFLAS（アジア実験動物学会連合）Congress（AFLAS 2023）が9月13日から15日までの日程で、韓国済州島で開催された。今回、このAFLAS 2023に参加する機会を得たので、知っているようであまり知らない日本のお隣の韓国の南の島、済州島について紹介するとともに、AFLAS 2023についても紹介させて頂きたいと思う。

済州島の場所と日本からの行き方

朝鮮半島の南端にあり、島の広さはおよそ1,846平方キロメートルで南北約31キロメートル、東西約73キロメートルの楕円形の島で、日本海、東シナ海、黄海に囲まれている。人口は約66万人。日本からは成田、羽田、関空、中部などの主要な空港からの直行便、または韓国内の乗り継ぎ便を経て、2-3時間程度で行くことが可能である。また福岡からは釜山経由となるがフェリーで行くことも可能である。

済州島の歴史

済州島の歴史は古代から続き、多くの文化が影響を与えてきた。

1402年までは耽羅という独立した王国があった。三国時代には高句麗、新羅、高麗といった王朝の支配下で流刑地となったこともあったが、独自の文化と政治体制を発展させた。日本の植民地支配（1910年-1945年）の時期も経験し、その時は独立運動の拠点としての役割を果たした。朝鮮戦争（1950年-1953年）では南北戦線の一部として戦闘地となり、多くの人命が失われた。戦後、済州島は韓国に復帰し、経済的な成長と観光業の発展を遂げた。かつては産業が無い困窮地域であったが、1960年代に在日韓国人らが日本からみかんの苗木を持ち込んで産業形成し、韓国政府の外国人観光客誘致政策により例外的にノービザで来られる観光地とされていた。

韓国済州島の自然

済州島は、自然の宝庫として知られており、美しい緑豊かな山々、清らかな海岸線、そして島の中心にそびえる標高1,947メートルのハルラサン（漢拏山）という火山が、島の景観を彩っている。ハルラサンは韓国最高峰であり、その頂上からは壮大な景色が

広がることから、ハイキング愛好家にとっては絶好のスポットで、四季折々の美しい風景が楽しめる。

また、済州島はユネスコの世界ジオパークに指定されており、地質学的な奇跡が広がる。

火山活動によって形成された地形や洞窟、溶岩洞窟が点在し、地学愛好者にとって魅力的なスポットとなっている。

独自の文化

特に注目すべきは、日本の「海女」と似ている「潜女（チャムニョ）または潜嫂（チャムス）」として知られる女性ダイバーの存在であり、その歴史は紀元前に遡ると言われている。彼女たちは海底から海産物を収穫し、その技術は世界的にも注目されている。またこの素潜り技術だけでなく、海の女神である竜王ハルモニに豊穡と海での安全を祈願する儀礼、そして海女の歌も含め、「済州海女文化」として知られており、無形遺産としての女性の職が持つ重要性についての世界的認識を向上させたことから、2016年にユネスコ人類無形文化遺産として登録された。

経済と行政

済州島は2006年から行政的により高度の自治権を付与された特別自治道に移行し、韓国本土とは行政組織上も独立している。離島である済州島の特殊性を勘案し、行政と立法についてのみアメリカの州のような高度な自治権が認められている。島内の経済は漁業、農業、観光業が主要な柱であり、特にミカンや緑茶の生産が盛んである。島内には多くの農園や茶園が広がり、農産物の品質は非常に高い評価を受けている。観光業も済州島の経済に大きな貢献をしており、多くの観光地やリゾート施設が整備されている。ゴルフコースやテーマパーク、温泉施設も島内に点在し、訪れる人々に多彩な体験を提供している。

守り神「トルハルバン」

済州島の至る所にモアイ像に似た石像が立っている。これは「トルハルバン」と呼ばれ、済州島の方言で「石のおじいさん」の意味であり、玄武岩でできている。李氏朝鮮時代の1754年ごろに初めて製作されたとされる。大きい目、鼻、閉じた唇が特徴で、鼻を触ると男の子が、耳を触ると女の子が授かると言われることから、新婚カップルにも人気がある。

西帰浦（ソギボ）毎日オルレ市場

今回、唯一訪れた観光地である。学会場である済州国際コンベンションセンター（ICC）からバスで30分ほどの距離にある西帰浦市の魚介類を中心とした市場で、同市内では最大の規模を誇る。毎日休みなく開催されてお



トルハルバン

り、魚を売るだけでなく果物や日用品も売られている。また、全エリアアーケードとなっており、その中で露店などが数多く出店され、とても活気のある市場である。屋台では海苔巻きを揚げたような見たことのない食べ物や、イカを焼いたもの、トッポギ、卵焼き、豚足、などなどかなりバラエティに富んだ食べ物を売っていた。露店と露店の間には昔ながらの韓国風の定食屋やサムギョブサルを食べさせる店が点在していた。修学旅行生と思しき若者の集団がおり、外国人にほとんど会わなかったことから、地元を始め韓国国内の人々に人気がありそのような雰囲気であった。

AFLASとは？

さて、ここから本題であるAFLASについて紹介したいと思う。すでに知っている方も多くいると思うが、若い方の中には何の集まりか知らない方もいると思うので、少し丁寧に説明したい。AFLASは正式名称をThe Asian Federation of Laboratory Animal Scienceといい、正式な和



オルレ市場

名は登録されていないが、直訳するとアジア実験動物科学連合となる。この連合は2003年に設立され、今年でちょうど20年の節目の年である。アジア11カ国と地域（日本、中国、台湾、インドネシア、韓国、インド、マレーシア、フィリピン、シンガポール、スリランカ、タイ）の実験動物学会の連合体である。2003年当時の設立メンバーは6カ国で、第1回の総会（AFLAS Congress）は2004年の日本実験動物学会総会（長崎）の開催に合わせ、同会場で開催された。その後、2年に1回の総会が開催され、第2回総会は韓国・済州島、第3回総会は中国・北京、第4回総会は台湾・台北、第5回総会はタイ・バンコク、第6回総会はマレーシア・クアラルンプール、第7回総会はシンガポール、第8回総会はインド・バンガロールで開催された。第9回総会はタイ・チェンマイで開催される予定であったが、COVID-19の影響で開催することができず、今回の2回目の済州島が第9回総会となっている。AFLASの会長は総会を開催する国の学会代表を務めるこ

とになっており、2年ごとに変わるルールとなっているが、事務局長は東北大前教授の笠井憲雪先生がAFLAS設立当初より20年近く務められ、会の円滑な運営のために粉骨碎身されてきた。昨年、笠井先生がこの事務局長の職を退任され、今回は新しい体制下で初めての総会であった。

AFLAS Congress 2023 (第9回AFLAS総会)

会場は済州国際コンベンションセンター（ICC）であった。ここはリゾート型のコンベンションセンターで、地上7階、建築面積15,218m²を誇る巨大なコンベンションセンターである。過去にASEAN特別首脳会議が開催され、また2025年にも同会議が開催される予定の場所である。センター内には免税店やレストランも入っているが、近隣にはホテル以外何もなく、町からも外れているために飲食に関しては少し不便な場所かもしれない。今回の主催は韓国実験動物学会（Korean Association for Laboratory Animal Science : KALAS）であり、大会長はKALAS理事長のDr. KilSoo Kimであった。今回の総会開催に向けて、KALASは周到に準備しており、2年前のヨーロッパ実験動物科学連合（FELASA）総会や今年の日本実験動物学会（JALAS）総会などにおいて、ブースを設置し、積極的にアピールを行ってきた。その努力の甲斐もあって、最終的に招待講演者も含め22カ国、1400名の参加者が集まった。今回の総会の特徴は多くの招待講演者にあり、1つのフォーラム、3つのプレナリーレ

クチャー、29のシンポジウムが企画された。このシンポジウムには1つにつき4-5名の招待演者がいたことから、招待講演だけでおよそ150名が招待されたことになる。シンポジウムの内容はアニマルリソース、プレクリニカルリサーチ、実験動物獣医師の役割、遺伝子改変動物、疾患モデル、専任獣医師とアニマルウエルフェア、麻酔・疼痛管理、ヒト化マウス、代替法、IACUC関連、マーマセツト、環境モニタリングなどなど、非常に多岐にわたっており、さまざまな分野の研究者・技術者をターゲットとした内容であった。また、一般演題はポスター発表のみであったことから、聴講の予定を立てやすく、日時によっては会場にあまり人がいないことがあった（熱心に聴講していたためか、興味のない内容のシンポジウムの開催時間帯でどこかに遊びに行ってしまうといったかは不明であるが）。招待演者には毎日ビュッフェ形式のランチが振る舞われ、他にGala Dinnerへの招待もあり、また日韓の研究者を対象とした特別ディナー、カジュアルなビアパーティなど、とてもホスピタリティに富んだ総会であった印象が残った。今回の総会の組織委員会の中心メンバーであり、次期KALASの会長であるDr. Je Kyung Seongと話した際に今回の総会の開催費用はおよそ9,000万円規模であると聞いて、総会規模、ホスピタリティの充実度について納得がいった。私は招待講演も含め8回、AFALSの総会に参加しているが、間違いなく今までで最大規模の総会であったと思う。



済州国際コンベンションセンター

AFLAS理事会

私の今回のAFLAS総会参加の目的は招待講演の他に、AFLAS理事会に出席することであった。今回はJALASから三好一郎理事長が出席され、JALAS国際交流委員会としてサポートすることが任務であった。理事会には理事長国の韓国を始め、日本、中国、シンガポール、インドなど、数カ国を除きほとんどの国の代表が参加していた。主な議論は予算関連、ホームページのリニューアル、次回2025年の総会開催国の選出そしてAFLAS事務局をはじめとする新運営体制についてであった。

まず議論されたのはAFLASの会費納入額を含めた予算関連についての話であった。アジア各国間では文化水準、経済規模そして学会の会員数に差があり、一律の会費額ではどうしても不公平となってしまうことから会費額が異なる。今回はその額の見直しが議論に上がったが、結論として現行のままとして見送りとなった。次に議論されたのは次回のAFLAS総会開催国である。立候補は中国CALAS（開催地 杭州）



AFLAS理事会にて

だけであり、立候補国のプレゼンの後に議論を交え、満場一致で承認された。またAFLAS運営のための事務局新体制については、次期理事長国の中国CALASを中心に各国で主要な役割を分担する方向性が確認され、今回は深い議

論とはならなかった。

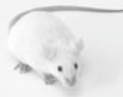
最後に

今回は前半部分で韓国済州島について調べたことを中心に紹介させて頂き、後半でAFLASならびに今回の総会について、実際に関わっている立場、そして参加した立場から紹介させて頂いた。アジアは多様な民族、宗教、価値観また国・地域間の問題があり、もしかしたら世界で一番多様性に富んだ地域かもしれない。この地域をまとめ学会連合として存続するために重要なことは他者を「尊敬」することだと思う。本当は「理解」することができれば一番良いのであるが、異なる文化で長い間生きてきた人間同士が簡単に理解し合うことは難しい。実際に幾度となく理解が及ばない状況を経験してきた。ただ、そ

のような状況でも相手を尊敬する気持ちがあれば、建設的な議論は十分できることも同じように経験してきた。今後もどのような立場からかは分からないが、その時々には与えられた立場でAFLASに関わっていきたいと思う。

参考資料

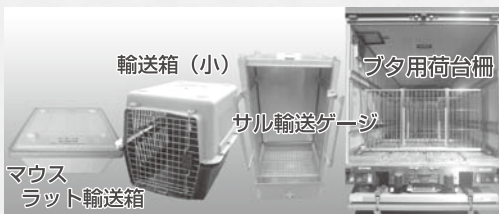
1. Wikipedia 済州島：<https://ja.wikipedia.org/wiki/済州島>
済州特別自治道：<https://ja.wikipedia.org/wiki/済州特別自治道>
2. 韓国文化財庁 人類無形文化遺産：https://jpn.cha.go.kr/public/bbs/selectBoardArticle.do?bbsId=BBSMSTR_000000000311&ntId=29511&bbsTyCode=BBST01&bbsAttrbCode=BBSA03&authFlag=&pageIndex=1&pageNo=3200000&ctgoryId=CTGOR_Y_0000000000140&siteCd=JPN
3. Kasai, N. The current status and history of AFLAS. Lab. Anim. Res. 2022. 38 :34.
doi: 10.1186/s42826-022-00144-1.



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.
~Siculus 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

「Member's Voice」(9)

ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社

NSGTMマウスを用いた免疫系ヒト化モデルの紹介

ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社

オケヨ ケネディ、内田 あや

ヒト化マウスは、広義的にはヒト生体内の環境をマウス生体内で再現したモデルであり、これには①ヒト細胞・組織を移植したマウス、②ヒト遺伝子を発現させた遺伝子改変マウス、そして①②の両者を組み合わせたものがある。ヒト化マウスはヒトの恒常性維持機構や病態生理の研究に有益なプラットフォームであり、特にがん免疫分野における薬効評価試験等に有用な前臨床モデルとして近年大きな注目を集めている。本稿では、まず【1. 基礎編】で重度免疫不全動物であるNSGTMマウスについて紹介した後に、【2. 応用編】でヒト免疫系をマウス生体内で再現した免疫系ヒト化NSGTMマウスについて紹介する。

【1. 基礎編】NSGTMマウス

NOD.Cg-*Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}*/SzJ (一般名: NSGTM, JAXストック番号#005557) マウスは、①自然免疫に欠陥がある遺伝的背景をもつ非肥満糖尿病 (nonobese diabetic, NOD) マウスに、②自然突然変異である*Prkdc^{scid}*により成熟T細胞およびB細胞の欠損を導

入し、更に③*Il2rg^{tm1Wjl}*のヌル対立遺伝子によりNK細胞を欠失させた重度免疫不全動物である^[1,2]。NODマウスの重要な特徴は、血中に溶血性補体を持たないこと、ナチュラルキラー (NK) 細胞やマクロファージの活性低下、および樹状細胞の抗原提示機能障害である^[1,2]。そのため、NODマウスは特に自然免疫に欠陥がある。劣性自然突然変異 (*Prkdc^{scid}*)、すなわち*Prkdc* (Protein kinase, DNA activated, catalytic polypeptide) 遺伝子座における点突然変異を持つ動物では、T細胞やB細胞の成熟過程において必要なDNAの切断修復が充分に行われず、機能的な成熟T細胞とB細胞が欠損する^[1,2]。インターロイキン2受容体 γ 鎖 (IL2RG) は、6種類の異なるインターロイキン (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21) からのシグナルを伝達する細胞表面受容体の共通サブユニットである。NK細胞の発達はIL-15に依存しているため、IL2RGをコードする*Il2rg*遺伝子を欠損させることで完全に阻害される^[2]。したがって、NSGTMマウスは、ヒト造血幹細胞を含むヒ

ト細胞・組織の生着が最も良好である動物の1つとして知られている^[1,2]。ジャクソンラボラトリー (以下JAX) では、独自の遺伝的安定性プログラム (Genetic Stability Program, GSP) を用いて遺伝的浮動を抑えたマウス品質管理を行っており、常に遺伝的に均質なNSGTMマウスを提供している。

NOD SCIDマウスに*Il2rg*遺伝子を欠損させたマウスとして、NSGTMマウスのほかにNOGマウスも存在するが、両者はいくつかの点で異なっている。まず、NSGTMマウスはIL2RGが完全に欠損しているのに対し、NOGマウスはIL2RGの細胞外ドメインのみが欠損している。NSGTMマウスはNOGマウスと比べて体が大きく^[3]、薬剤耐性への強度に違いがあるとされている。

【2. 応用編】免疫系ヒト化NSGTMマウス

JAXでは (i) ヒト末梢血単核細胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) の移植により作出したPBMCヒト化マウス、そして (ii) CD34陽性ヒト造血幹細胞

(hematopoietic stem cell, HSC) の移植により作出したCD34+ HSCヒト化マウスの2種類をサービスとして作出・提供している (図)。本項ではNSGTMとそのバリエーションマウスを用いた免疫系ヒト化マウスの特徴を紹介する。

(i) PBMCヒト化マウス

【特徴】本手法で用いるPBMCは、T細胞、B細胞、NK細胞、樹状細胞などのリンパ球が含まれるが、NSGTMマウスに移植した後に生着が特に促進されるのはT細胞である。このT細胞は、既にヒトの胸腺で教育を受け成熟しているため、NSGTMマウスに移植された際にはマウス組織を非自己として認識し攻撃する。そのため、NSGTMレシピエントマウスは移植後2-4週間程度で移植片対宿主病 (graft versus host disease, GvHD) を発症し、体重減少、紅斑、貧血といった臨床症状を示す。PBMCヒト化

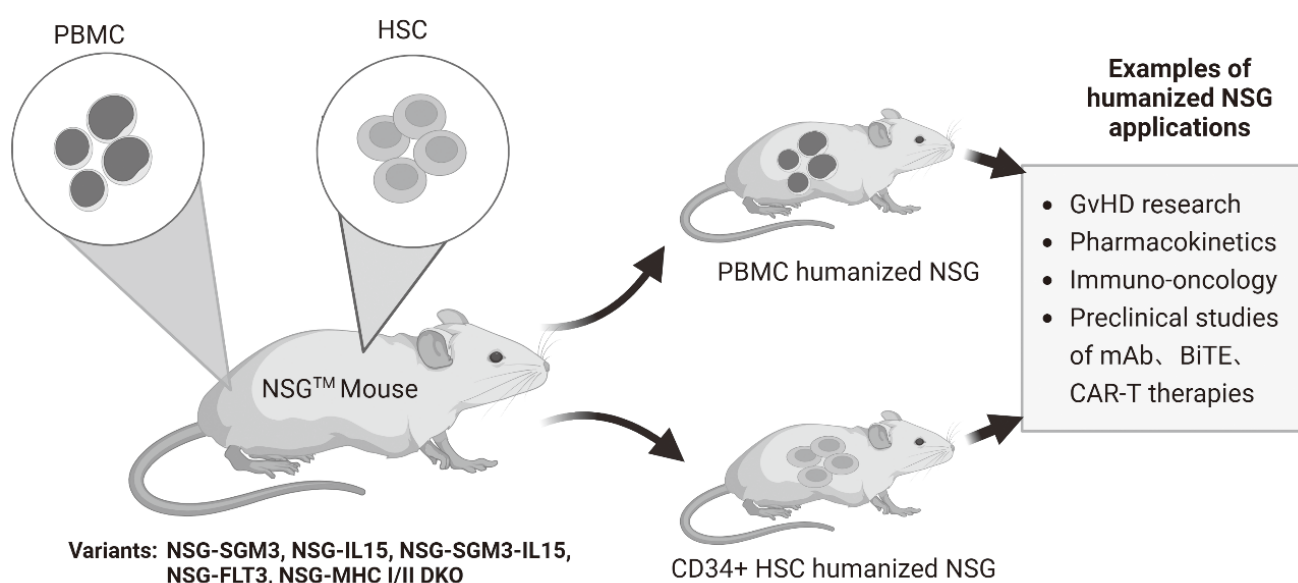
マウスは、GvHDの治療薬やがん免疫分野における薬効試験等に有用なプラットフォームとして用いられてきた^[2,4]。しかし、試験期間が短期に限られるという課題があり、長期試験の実施が困難であった。この課題を克服したのが、MHCクラスIおよびII分子を欠損させたNSG-MHC I/II DKO (double knockout) マウス (JAXストック番号#025216) であり、PBMCヒト化マウスを用いた研究にパラダイムシフトを起こした。導入されたヒトT細胞は、マウス細胞に発現しているMHCによって非自己であることを認識しGvHDを惹起しているため、マウスMHCそのものを欠損したNSG-MHC I/II DKOマウスではGvHDの発症が大幅に遅延する^[2]。

【研究展開】本手法の特徴・利点として、免疫系のヒト化にかかる期間が短い、迅速な薬効試験が可能、また、マウス生体内

でPBMCのドナー毎の薬剤反応性や副作用の差を評価することが可能なことが挙げられる。特にがん免疫分野においては、モノクローナル抗体 (monoclonal antibody, mAb) や二重特異性抗体 (bispecific T cell engager, BiTE)、キメラ抗原受容体T細胞 (chimeric antigen receptor-T cell, CAR-T) 等の細胞療法による抗腫瘍効果の評価において有用である。さらに、これらに付随して生じるサイトカイン放出症候群 (cytokine release syndrome, CRS) についても、比較的短期間でドナー毎の反応差異や新規抗炎症治療薬の効果等を評価できる^[4]。

(ii) CD34+ HSCヒト化マウス

【特徴】マウス生体内に移植された造血幹細胞 (HSC) は、骨髓へとホーミング・定着し、自己複製と分化を繰り返すことで子孫細胞を産生し続ける。そのため、



図：NSGTMマウスのヒト化モデルとその応用

Created in BioRender.com bit

HSCを移植されたレシピエントマウスでは理論上、リンパ系・骨髄系を含む様々な免疫細胞が恒久的に産生される。しかもヒトT細胞はマウスの胸腺で教育されるため、マウス細胞を自己として認識し、GvHDが惹起されない。理想的なヒト化マウスと考えられるが、HSCがマウス生体内で様々な特定の免疫細胞集団への分化を支持するには、成長因子の欠落等の壁があり一工夫が必要である。そこで開発されたのが、各種ヒト成長因子やサイトカインをコードする遺伝子を組み込んだNSGTMバリエーションマウスである。これらを用いることで、目的とする特定の免疫細胞集団の評価が可能となる。

たとえば、ヒトIL-15を発現するNSG-IL15マウス (JAXストック番号#030890) では、NK細胞の分化が支持される^[2]。また、ヒトIL-3、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、幹細胞因子 (SCF)、c-KITリガンドを発現するNSG-SGM3マウス (JAXストック番号#013062) では、骨髄系細胞に加え、制御性T (Treg) 細胞の分化が支持される^[2]。上記の二系統を交配して作出されたNSG-SGM3-IL15マウスでは、NK細胞、骨髄系細胞、Treg細胞の分化がすべて支持される。さらに、近年、骨髄系

細胞の分化も支持し、さらに長期生存も可能なNSG-FLT3マウス (JAXストック番号#033367) が作製された。このマウスは、内在性のFLT3受容体遺伝子が欠損している一方で、ヒトFLT3リガンド (FLT3LG) 遺伝子を発現している。したがって、NSG-FLT3マウスではTreg細胞の分化は見られないものの、骨髄系細胞、NK細胞、そして樹状細胞の分化が支持される。

【研究展開】本手法は、PBMCヒト化マウスと同様に、mAb、BiTE、CAR-T等の細胞療法やCRS等の評価に用いられてきた^[5,6]。着目したい細胞に応じて使用するNSGTMバリエーションマウスを選定することで、抗体依存性細胞傷害 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 活性評価をはじめとする特定のヒト免疫細胞集団に着目した試験系構築が可能である点が、本手法の利点である。遺伝子改変を加えたHSCによる細胞治療の検討や、PBMCとの同時移植など、本手法を用いた応用の幅は着実に広がっている。

本稿では免疫系ヒト化マウスについて包括的に紹介した。本稿が読者の皆さまに免疫系ヒト化マウスの有用性について知っていただくきっかけとなれば嬉しく思う。

JAXジャパンでは、免疫系ヒト化NSGTMマウスの作出・提供だけではなく、CRO (受託試験機関) として、受託試験も行っている。また、本稿で紹介したNSG-MHC I/II DKOマウスは2024年より国内生産を予定しており、今後、日本国内で比較的安価に、かつ安易に入手可能となる。これにより、日本でも免疫系ヒト化NSGTMマウスを用いた研究が大きく加速することを期待する。

参考文献

- [1] Chuprin, J et al. Nat. Rev. Clin. Oncol. 20.3 (2023): 192-206. doi:10.1038/s41571-022-00721-2
- [2] Shultz, L. et al., Mamm. Genome. 5-6 (2019): 123-142. doi: 10.1007/s00335-019-09796-2
- [3] 岡田誠治 Cytometry Res. 27,1 (2017): 25-31. doi: https://doi.org/10.18947/cytometryresearch.27.1_25
- [4] Ye et al. FASEB 34,9 (2020): 12963-12975. doi:10.1096/fj.202001203R
- [5] Wang, M et al. FASEB 32,3 (2018): 1537-1549. doi:10.1096/fj.201700740R
- [6] Norelli, M et al. Nat. Med. 24,6 (2018): 739-748. doi:10.1038/s41591-018-0036-4

マウスモデル・受託試験に関するお問い合わせ

ご注文や見積もりの依頼: ask@jax.or.jp

技術的・科学的なご質問: micetech@jax.or.jp

バイオサイエンスの基礎部分をサポートしています

トータルビジネスサポーター (ワンストップサービス対応可能)

ビルメンテナンス業務



設備運転保守業務



清掃業務



警備業務



広域管理業務

ビジネスサポート業務



ラボ・サービス業務

- 飼育管理業務
- 器具洗浄業務
- 動物実験補助
- バイオ関連事業



フードサービス業務



IT サービス業務



フロント・受付・
国際サービス業務



エンジニアリング
業務

東京ビジネスサービス株式会社

〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6 丁目 14 番 1 号

TEL 03-3344-4551(代表) FAX 03-3344-6695

お問い合わせ ラボ・サービス部 TEL 03-3344-4550

<https://www.tbs-net.co.jp>

微生物モニタリング技術研修会では、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5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。

Q：(公財) 実験動物中央研究所 (実中研) ICLAS モニタリングセンターにおいて、*Filobacterium rodentium* (CAR バチルス) が監視項目として設定され数年経ちましたが、その経緯と現在の状況について教えてください。

A1：2017年に実中研 ICLAS モニタリングセンターでは、呼吸器病原体である *Filobacterium rodentium* (CAR バチルス) の抗体陽性率を調査しました。CAR バチルスは ICLAS モニタリングセンターが提案しているコアセットには含まれておらず、このような項目は感染の実態を知ることが困難なためです。その結果、CAR バチルスの陽性率はマウスで 0.1% であり、他の微生物の陽性率と比較しても突出して高いわけではありませんでした (表 1、2017 年参照)。

CAR 抗体陽性率

	2017 年	2021 年
マウス	18/ 15,474 (0.1%)*	4/ 20,529 (0.02%)
ラット	11/ 2,357 (0.4%)	4/ 2,892 (0.14%)
ウサギ	2/ 243 (0.8%)	0/ 243
モルモット	実施せず	0/ 135
ハムスター	実施せず	0/ 26

*陽性数/検査数 (陽性率)

しかし、CAR バチルス陽性であった 18 例のマウスのうち、11 例 (61.1%) という高い率で肺に肝変化などの病変が確認されました。このことから、感染率は比較的低いものの、病原性の高い株が広がっていると判断し、実中研 ICLAS モニタリングセンターでは 2018 年に CAR バチルスを「監視項目」として指定しました。この「監視項目」はユーザーに状況をアナウンスするとともに、5 年間モニターを強化していく項目となります。

その後の状況としましては、2021 年に 2017 年と同様の大規模な調査を実施し、CAR バチルスの陽性率が減少傾向にあることがわかりました (表 1、2021 年参照)。また 4 例のマウス陽性個体のうち肺病変が確認されたのは 1 例のみで、肉眼的な肺病変が形成される率も減少傾向にあることがわかりました。実中研 ICLAS モニタリングセンターでは近日中に再度の調査を行い、その結果を確認した上で CAR バチルスを「監視項目」から解除する方向で検討を進めています。

実験動物技術者紹介 (5)

株式会社NAS研究所 成島 光恵

実験動物技術者となった経緯は、高校の選択科目で実験動物があり、そこで動物実験の必要性和、実験動物を取り扱う上で基礎を学びました。さまざまな実験に供試される動物がいるということは、学生だった当時、驚きもありましたが、同時に、動物用医薬品の研究・製造、医療用機器の開発等においてなくてはならない存在であることを知りました。動物を取り扱う職種は数多ありますが、この時の経験と探求心が基盤となり、実験動物に携わる仕事がしたいと考え、高校卒業後に（一社）予防衛生協会へ就職しました。こちらでは主にサル類の実験・繁殖に携わり、業務と並行して実験動物技術者2級の資格を取得しました。

その後、現在の勤め先である（株）NAS研究所に入社しました。社内の動物試験部門では、受託する試験の内容に応じて2グループに分かれており、私が所属する動薬試験グループでは、産業動物（家畜・家禽）、愛玩動物に関する動物用医薬品、医薬部外品、飼料添加物の非臨床試験、臨床試験の受託、同等性試験、残留試験、安全性試験、効果確認試験、免疫血清の製造等を実施しています。他にも寄生虫のin vitro 試験、in vivo 試験も行っ

ています。もう1つの医療用ラボグループでは、社内にあるレンタルラボ施設を利用される委託者（製薬会社や、大学の先生等）が執刀するオペの補助や、各医療機器の操作、術前術後の動物の飼育管理、各種採材、治療等を行っています。

どちらのグループでも、供試する動物種は多岐にわたり、イヌ、ネコ、サル、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、トリなどを取り扱っています。

入社後すぐに実験動物技術者1級の資格を取得し、入社9年目となる今年、実験動物技術指導員に申請・認定されました。弊社はGLP、GCP、GPSP試験にも対応しており、今後もより専門的な知識やスキルが必要であると考えたからです。また、委託者の方と作業を共にする機会もあるので、資格が、知識や技術の一定水準を満たしていることの判断基準と、信頼につながります。

私が現在、主に担当している業務内容としてはウシ、ブタ、トリ等の産業動物の飼育管理、実験になります。例を挙げますと、同等性試験については、ガイドラインに沿った試験設計の下、動物の導入、検疫（馴化飼育）、日々の観察・管理、投薬、定められた時点での採血等試料

採取をします。試験設計や供試頭数によっては、分刻みでの保定、採血を反復して実施します。ウシやブタ等の中型～大型の動物は力が強く、保定の際も取り扱いを誤ると思わぬ事故に繋がる可能性があるため、個々の性格や挙動に応じたハンドリングが必要不可欠です。この他の作業においても、精度の高い実験操作は供試個体のストレス軽減にもつながり、3Rsの原則から見ても重要なポイントになります。

弊社のように多種の動物を取り扱い、幅広い内容の実験を受託している研究所は数少ないかと思います。私自身まだ学びの連続で、専門的な知識については至らぬ点もあるかと思いますが、これまで数々の技術者からの指導のもと、手技を会得し、多くの実験に携わることが出来ました。

今後は私が実験動物技術指導員として、それらの知識や経験及び技術を、社内社外問わずに後代の動物実験と実験動物に携わる方たちに伝え、正確な実験手技の習得や再現性のある試験データの反映、中大動物を取り扱うことができる女性技術者が増えることに繋がればと思います。

日本実験動物学会の動き

動物実験の外部検証説明会・個別相談会

テーマ：令和6年度の実施準備に向けた事前説明

日 時：2024年1月26日（金）13時～17時

会 場：お茶の水ソラシティカンファレンスセンター1F
ルームC

〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台4-6

アクセス <https://solacity.jp/access/>

※会場に来られない方にはリアルタイムでWEB配信も実施します

参加費：無料

▶参加方法やプログラムは学会HP（<http://jalas.jp/index.html>）に掲載します。

第71回日本実験動物学会総会の開催

テーマ：科学技術と医療が交差する、実験動物学の新時代

大会長：浅野雅秀（京都大学）

日 時：2024年5月29日（水）～31日（金）

会 場：みやこめっせ/ロームシアター京都（京都市）
京都市左京区岡崎成勝寺町9-1/最勝寺町13

アクセス <https://rohmttheatrekyoto.jp/access/>

内 容：特別講演、シンポジウム、LASセミナー、一般公演、市民公開講座、器材展示、ランチョンセミナー、情報交換会等

▶参加方法等の詳細は第71回総会HP（<https://cfmeeting.com/jalas71/>）に掲載します。

日本実験動物技術者協会の動き

北海道支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第52回勉強会	2024年2月	オンライン開催	企画中

東北支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
特別講演会	2024年4月～5月予定	オンライン開催	「様々な実験動物種（ブタ、ウサギ、サル類）における安楽死処置の最新の話題」をテーマとした特別講演会、並びに「安楽死・麻酔の悩み事相談会」を企画検討中

詳細は東北支部ホームページ（<https://sites.google.com/view/jaeattohoku/>）を参照ください。

関東支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
令和5年度総会・第49回懇話会	2024年2月17日予定	川崎市産業振興会館（神奈川県川崎市） 現地開催およびZOOMウェビナー	「実験動物技術者とデジタル革命」をテーマに開催

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
第2回3支部（東海北陸・関西・九州）交流会（第19回技術交流会）	2024年2月～3月予定	オンライン開催	未定
第10回東海北陸支部総会・春期大会	2024年4月中旬予定	未定	未定

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

関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第2回3支部（東海北陸・関西・九州）交流会	2024年2～3月予定	オンライン開催	検討中
関西支部春季大会	2024年4～5月予定	関西圏で現地開催予定	検討中

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2回3支部（東海北陸・関西・九州）交流会	2024年2月～3月予定	オンライン開催	未定

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

実験動物の年間販売数調査

(令和4(2022)年4月～令和5(2023)年3月の販売数)

はじめに

本調査は、実験動物販売数量の経時的把握を目的に、昭和60年度から3年度毎に行い、今回で13回目になります。

調査方法は前回と同様で、①当協会(日動協)と日本実験動物協同組合(実動協)の会員及び会員以外で実験動物を生産・販売していると思われる者並びに大学、公的法人で実験動物を生産、販売(供給)していると思われる者の計29者を対象に、②令和4年4月から令和5年3月までの1年間に、③実験動物のユーザーに対し、直接、生産販売(供給)、仕入れ販売、輸入販売した実験動物数を、アンケート調査方式で把握しました。調査票は郵送し、販売(供給)実績のない場合も、その旨回答をお願いしました。

調査対象

調査対象は、日動協会員19者(うち、14者は実動協組合員)、実動協組合員19者(うち、14者は日動協会員)、大学の動物実験施設2者、その他の公的法人1者及び日動協、実動協に属さない2者の計29者です。うち29者から有効回答があり、このうち26者について実験動物の販売(供給)実績がありました。

アンケートの回答状況

区 分	調査票送付者 (A)	回答者 (B)	Bのうち販売(供給)実績のある者	回答率 (B/A) %
日動協、実動協	24	24	23	100
大学、公的法人等	3	3	2	100
その他	2	2	1	100
	29	29	26	計

アンケート調査対象数の推移

年度	S60	S63	H3	H7	H10	H13	H16	H19	H22	H25	H28	H31	R4
西暦	1985	1988	1991	1995	1998	2001	2004	2007	2010	2013	2016	2019	2022
調査依頼	81	87	66	65	57	52	66	52	44	44	45	38	29
有効回答	64	68	52	57	54	49	64	52	44	43	42	37	29
実績あり	60	56	45	49	44	43	40	44	44	39	36	33	26

調査結果掲載の「LABIO 21」のNo.	10	23	35	46	58	70	82	91
-----------------------	----	----	----	----	----	----	----	----

*「LABIO 21」は日動協の情報誌で定期購読ができます。

*日動協のHPでも公表しています。

調査結果概要

調査依頼者は、S60年度(第1回)調査の81者から今回R4年度の29者へとこの37年間で約1/3になり、実験動物の販売(供給)実績のある者も60者から26者へと同様の傾向です。

動物種毎に見ると、販売(供給)数はハムスター・ヤギ以外の全ての動物種で減少しています。マウスは最多であったS63年度(939万匹)の約1/3(259万匹)にまで、ラットは同H3年度(380万匹)の13%(48万匹)にまで、モルモットは同H10年度(535千匹)の9%(46千匹)にまで、ウサギは同S60年度(334千匹)の9%(29千匹)にまで、イ

ヌは同H3年度(39千頭)の8%(3千頭)にまで、また、ネコは同S60年度(114百匹)の2%(2百匹)にまで、各々減少しています。そして、減少傾向は今回の調査でも引き続いています。

一方、サル類はS60年度から減少傾向にあったものの、H10年度を底に増加に転じましたが、H19年度を頭に再度減少に転じ、今回は2,000頭を割り1,843頭でした。なお、展示用も含めた輸入頭数(下欄参照)は、今回(R4年1-12月)5,386頭となり、前回H31年度と同様、本調査頭数との乖離(3,543頭)がありました。これは、ユーザーの直接輸入及び本調査先以外からの

購入が多数あることに起因すると思われる。

ブタはS60年度から増加しH10年度を頭に減少に転じ、そしてH19年度を底に増加に転じましたが、今回の調査では減少し4,257頭でした。

遺伝学的区分別（クローズドコロニー、近交系等）を見ると、マウスではクローズドコロニー、近交系とミュータント系で96%、ラットではクローズドコロニーが92%を占め、この傾向は前回H31

年度と同様でした。

微生物統御区分別（コンベンショナル、クリーン、SPF）に見ると、マウス、ラット、モルモット、ハムスター類では、SPFが概ね100%でした。

参考

サル類の輸入頭数

サルはH17年7月1日以降、試験、研究及び展示用以外は輸入禁止となり、輸入頭数は、毎年、農水省の動物検疫所が公表しています。

（動物検疫年報（1-12月））

H19年：7,464頭、22年：5,820頭、25年：5,215頭、28年：5,834頭、31年：4,885頭、R4年：5,386頭

*検疫施設からの解放頭数。R4年は速報値。

実験動物販売数（R4（2022）年度）

（匹、頭）

動物種	コンベンショナル	クリーン	SPF	合計（対前回比）		参 考		
						H31年度計	最大値	年度
マウス								
クローズドコロニー	0	12	794,901	794,913	(0.81)	987,463		
近 交 系	0	0	1,449,007	1,449,007	(0.93)	1,559,350		
交 雑 群	0	0	67,472	67,472	(0.71)	95,074		
ミュータント系	0	0	230,409	230,409	(0.75)	308,284		
コンジェニック系	0	0	2,403	2,403	(113.4)	2,119		
遺伝子改変	0	0	41,795	41,795	(121.2)	34,485		
マウス計	0	12	2,585,987 (0.87)	2,585,999	(0.87)	2,986,775	9,389,912	S63
ラット								
クローズドコロニー	0	0	442,963	442,963	(0.77)	578,592		
近 交 系	0	0	30,654	30,654	(0.74)	41,429		
交 雑 群	0	0	183	183	(-)	0		
ミュータント系	0	0	9,012	9,012	(0.37)	24,607		
遺伝子改変	0	0	74	74	(-)	-		
ラット計	0	0	482,886 (0.75)	482,886	(0.75)	644,628	3,801,348	H3
モルモット	0	0	45,605 (0.86)	45,605	(0.86)	53,666	534,833	H10
ハムスター類	0	0	20,022 (3.40)	20,022	(3.40)	5,887	82,510	H10
その他のげっ歯類	0	0	322	322	(0.30)	1,057		
ウサギ	849 (3.49)	9,046 (0.65)	19,105 (1.00)	29,000	(0.87)	33,381	333,824	S60
イヌ	3,189	0	0	3,189	(0.93)	3,435	38,915	H3
ネコ	192	0	0	192	(0.59)	323	11,415	S60
サル類	1,843	0	0	1,843	(0.79)	2,320	3,462	H19
ブタ	1,019	58	3,180	4,257	(0.84)	5,085	5,085	H31
ヤギ	11	0	0	11	(2.75)	4	84	H10
緬羊	0	0	0	0	(-)	0	66	H10
鳥類	169	0	877	1,046	(0.62)	1,689	44,830	S63
種鶏卵	19,863	0	2,630	22,493	(0.57)	39,304	1,053,479	H3
その他の動物種								
哺乳類	128	14	7	149	(0.85)	175	4,469	H10
哺乳類以外	1,493	0	0	1,493	(0.57)	2,619	26,557	H13

- （注）
1. () 内は対前回比（H31年度比）。
 2. マウス、ラットのSPFには無菌動物を含む。
 3. その他のげっ歯類はスナネズミ。
 4. その他の動物種の哺乳類はスンクスとフェレット。
 5. 右欄の「最大値 年度」とは、これまでの調査の最大数となった年度と匹数、頭数。

令和5年度（第39回）実験動物技術者資格認定試験結果

令和5年度（第39回）実験動物技術者資格認定試験は、2級学科試験を8月6日（日）、1級学科試験を9月16日（土）に実施し、また、実技試験は2級を11月25日（土）、1級を11月26日（日）に実施しました。その結果が判明したので報告します。なお、今年度の実技試験は、昨年と同様、1級の必須科目は生体を用いて実施し、2級及び1級の選択科目は生体を用いない多肢選択式、記述式で実施しました。

1. 2級技術者試験（欠席者を除く）

区分	高校	専門学校	大学（一般扱）	一般	合 計
学科受験者	82	48	35	319	484
学科合格者	25	41	26	289	381
学科合格率（％）	30	85	74	91	79

実技受験者	24	41	32	251	348
実技合格者	24	41	31	238	334
実技合格率（％）	100	100	97	95	96

備考：その他、過年度学科又は実技合格者、通信教育スクーリング修了試験合格者を含め、総合合格者数は370名である

2. 1級技術者試験（欠席者を除く）

区分	白河研修生	一般	大学・専門	学科免除者*	合 計
学科受験者	20	80	88	—	188
学科合格者	17	56	50	—	123
学科合格率（％）	85	70	57	—	65

実技受験者	17	55	41	60	173
実技合格者	15	34	26	42	117
実技合格率（％）	88	62	63	70	68

備考：①1級学科試験に合格した者のみが実技試験受験者となる。

②学科免除者とは過年度（過去2年）に学科試験に合格した者である。

1級・2級実験動物技術者試験の優秀者について

令和5年度の実験動物技術者試験で優秀な成績を取めた方を表彰いたします。

成績優秀者は次のとおりです（学科試験および実技試験の総合評価に基づく）。

1. 実験動物2級技術者試験優秀者（高校）

名前	高等学校名
1 野田真凜	静岡県立田方農業高等学校
2 村本愛弥	千葉県立大網高等学校
3 佐藤綺音	静岡県立田方農業高等学校
4 吉村蒔埜	愛知県立安城農林高等学校
5 井原香音	静岡県立田方農業高等学校
5 倉崎陽香	長崎県立諫早農業高等学校

2. 実験動物2級技術者試験優秀者（専門学校）

名前	専門学校名
1 香取里紗	東京バイオテクノロジー専門学校
2 金城結以	湘央生命科学技术専門学校
3 長岡優希	東京バイオテクノロジー専門学校
4 近藤真陽	東京バイオテクノロジー専門学校
5 吉田 巧	湘央生命科学技术専門学校
5 田中彩音	湘央生命科学技术専門学校

3. 実験動物2級技術者試験優秀者（一般）

名前	所属
1 （掲載辞退）	
2 （掲載辞退）	
2 斉藤都和	（株）ケー・エー・シー
4 高田祐貴	（株）ケー・エー・シー
5 近藤美穂子	九動（株）

名前	所属
6 森島美沙	丸石製薬（株）
7 又間梨央	（株）新日本科学
7 田嶋孝亮	（株）リードケミカル
9 今井睦月	アドバンテック（株）
9 松木葉保子	メディフォード（株）

4. 実験動物1級技術者試験優秀者（大学）

名前	大学名
1 松永隼人	日本獣医生命科学大学
2 竹ノ内瑞月	宮崎大学
3 穴倉朱音	日本獣医生命科学大学

5. 実験動物1級技術者試験優秀者（一般）

名前	所属
1 石幡 響	（株）ケー・エー・シー
2 石戸一成	（株）微生物科学研究所
3 安西尚子	（株）ケー・エー・シー

日動協：教育セミナーフォーラム2024のご案内

(公社)日本実験動物協会では、今年度の教育セミナーフォーラムを、下記の内容でWEB形式(ビデオ・オン・デマンド)にて開催いたします。

今回のテーマは「実験動物福祉への対応—その現状と課題」としました。

我が国の実験動物福祉は、2005年の動物愛護管理法改正で実験動物福祉の原則とされる3Rsが法律に明記され、それまでの対応とは大きく変わりました。そして、2019年法改正の5年後に当たる2024年には次の法見直しを控えています。このような状況下で、2005年法改正後の20年を振り返り、その現状と今後の課題を整理する機会になればと考えました。

講演内容は、日動協としてのこれまでの取り組みについて実験動物生産施設等福祉認証事業(第三者認証)を中心に紹介し、次に、ブリーダー業界と請負・派遣業界の方々から実験動物福祉への対応の現状をご紹介します。そして、日本実験動物学会理事長には、今後の実験動物福祉に関する課題をご講演いただきます。

最後に、より広い視野での動物福祉を考えるために、昨年7月に公表された畜産動物の「畜種ごとの飼養管理等に関する技術的な指針」(アニマルウェルフェアに関する飼養管理指針)について、農林水産省の担当者から解説をいただきます。

今回の教育セミナーフォーラムへの参加が、実験動物技術者をはじめ、動物実験業務に携わる皆様に、実験動物福祉の重要性をより深めていただける機会となることを期待しております。なお、受講者には修了証を交付いたします。

記

●テーマ：「実験動物福祉への対応—その現状と課題」

●WEB(オンデマンド)配信日程：令和6年3月11日(月)正午～3月25日(日)正午

●質問受付期間：令和6年3月11日(月)～3月26日(火)

●講演内容：

1. 日動協の実験動物福祉に関する取り組みの現状と課題

畔上 二郎((公社)日本実験動物協会 事務局)

2. 実験動物生産施設の考える動物福祉～生産従事者の視点における廃棄動物削減のための取り組み～

櫻井 宏樹(ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン(株))

3. 実験動物福祉への対応～実験技術動画教材利用による動物福祉への貢献～

天野 真理子((株)ケー・エー・シー)

4. 「実験動物福祉の今後の課題」(仮題)

三好 一郎(公社)日本実験動物学会 理事長

5. 「家畜のアニマルウェルフェアに関する新たな国の指針について」

眞壁 七恵(農林水産省畜産局畜産振興課)

●受講費(講演要旨集・税込み)：

当協会正会員：1,650円

当協会賛助会員：2,200円

実験動物技術指導員及び準指導員：1,650円

一般受講者：3,300円

●受講申し込み方法：日動協ホームページ(<http://www.nichidokyo.or.jp>)をご確認ください。



日動協の通信教育と各種研修会について

(公社) 日本実験動物協会事務局

本号のp.45に令和6年度の日動協の通信教育と各種研修会予定を掲載いたしました。ここでは、令和5年度に実施したこれらの研修会等について報告を兼ねてその内容等を紹介させていただきます。つきましては、来年度の教育訓練計画の参考にしていただき、機関・施設内に対象となる技術者の方がいましたら、できるだけ参加を呼びかけていただければ幸いです。

I. 通信教育とスクーリング

日動協の通信教育は、実験動物2級技術者認定試験(以下「2級試験」と記します)の学習に活用されているとともに、新入社員教育としてもご好評をいただいております。令和5年度の受講者は80名でした。教育内容と進め方は、年度ごとに通信教育小委員会の先生方に、学科試験に則した添削問題を作成してもらい、これを2月～6月にかけて1か月に1回、事務局から受講者へ送り、通信教育用教材(「実験動物の技術と応用 入門編 増補改訂版」、DVD 2巻「実験動物の飼育管理」「やさしい動物実験手技」及び通信教育Q&A集)を参考にして7月まで解答してもらい、採点、添削後に、問題の解説付き解答版とあわせて受講者へ返却するかたちで行っています。また、受講者からの問題に関する質問を受付け、必要に応じてより解りやすい参考資料を作成して受講者へ回答しています。

また、通信教育の一環として、8月26日(土)、27日(日)に、東京(日本獣医生命科学大学)と京都(京都大学)において、スクーリングを行いました(東京会場受講者:27名、京都会場受講者数:34名)。スクーリングは、2級試験の実技試験に対応する内容で、実務経験の浅い方でも日動協認定の実験動物技術指導員(以下「指導員」と記します)に非常に丁寧に教えてもらえます。実際にはなかなか見ることができない毛色のマウスを細かく観察したり、日頃取り扱えないハムスターなどにも実際に触れたり、保定したりすることができ、まさに「百聞は一見に如かず」で

す。さらに、ここでは日常業務で疑問に思っていること、技術習得ができなくて悩んでいることなども指導員に聞くことができます。そして、スクーリングの最後に行われる修了試験(受験資格:実技試験で「マウス・ラット・その他のげっ歯類」の科目を選択した方)の合格者には、以降2年間有効な実技試験免除の特典がありますので、2級受験者にはとても有利な制度となっています。

II. 実験動物基本実技研修会(1級水準及び2級水準)

平成28(2016)年度から行っているこの実技研修会は、受講者の制限はとくに設けず(実験動物を取り扱っている方であればどなたでも受講可)、1級水準と2級水準に分け、東京会場(日本獣医生命科学大学)のみで開催しています。

1級水準は、実験動物1級技術者認定試験(以下「1級試験」と記します)の実技試験で必須科目としているマウスの実技研修会とし、1級受験予定者のうち、日頃マウスを取り扱う機会の少ない方を主な対象者としています。今年度も8月26日(土)、27日(日)に、受講者18名に対して5名の指導員を配置し、1級の実技試験に則したマウスの基本的な実験手技を充実した内容で指導してもらいました。受講者の中には、後述する実験動物高度技術養成研修会(白河研修)の準備段階として参加する方、あるいは受験を目指すのではなく手技の向上を目的として受講される方もいました。

一方、2級水準は、前述のスクーリングとあわせて行う実技研修会であり、通信教育受講者以外を対象として2級試験を受験する方が実技試験対策として参加される場合が多いようです。スクーリングと同様に実務経験の浅い方でも、とくに動物の取り扱いについては、順化から保定方法と、一から指導してもらえます。

Ⅲ. 実験動物高度技術養成研修会

この研修会は、日動協として最も歴史があり、家畜改良センター中央畜産研修施設をお借りしていることから、通称 白河研修と呼ばれています。以前は月曜日から金曜日まで1週間かけて、受講定員50名で座学講義から実技研修まで、1級試験合格を目標として行われてきましたが、ここ最近は新型コロナウイルス感染症蔓延防止対策として、受講者を20名に減じて、マウス及びラットの実技研修を中心に3日間で行っています。今年度も研修施設のご協力により9月13日(水)～15日(金)[翌日土曜日(16日)には同じ施設内で1級の学科試験を受験]に開催することができました。研修最終日に行われる修了試験の合格者には、学科試験合格者に限りませんが、以降2年間有効な実技試験免除の特典があり、また、この研修会に参加した方の1級試験の合格率が比較的高いことから、例年参加希望者が多く、定員をオーバーしている状況で、皆さんから定員を増やせないかという声を多く聞いております。来年度はこれに少しでも応えるために、定員を30名として計画しております。

Ⅳ. 微生物モニタリング技術研修会

この研修会は、当協会のモニタリング技術委員会の活動の一つとして、年1回、2日間かけて開催され、内容は微生物モニタリング技術に絞って実践的に学べるカリキュラムになっています。会場は、(公財)実験動物中央研究所の施設をお借りし、同研究所のICLASモニタリングセンターのスタッフを中心とする先生方に指導いただいています。今年度も7月7日(金)～8日(土)に、受講者19名で開催することができました。受講者は、日頃、職場で微生物モニタリング業務を担当している方や、新しい技術習得を目的に参加される方など様々です。この研修会の特色としては、1. 経験豊富な講師による講義、少人数グループで指導いただける、2. 微生物モニタリング検査を実際に行い、手技の習得、再確認ができる、3. 実験感染した動物の観察、剖検を通して主要病原体への理解を深めることができる、4. 研修会を通じ、同じフィールドの受講生や先生方とのつながりができる、などがあげられます。また、日頃の検査業務で疑問を

抱えている内容などを研修会に持ち寄り先生方から指導・助言してもらえます。なお、ここで出た疑問点とその回答は本誌のLA-houseのコーナーに掲載しております。

Ⅴ. 日常の管理研修会

この研修会は、実験動物の飼育管理、試験・研究業務、実験動物及び実験動物用飼料・器材などの販売に携わる方々など、とくに初心者の方々を対象として企画しております。毎年、年度の前半に開催していることから、新入職員の教育訓練の一環として参加している方が多いようです。内容は、初心者向けの座学講義(1. 実験動物と動物実験の概論、2. 動物福祉に関する基礎知識、3. 飼育管理の基礎知識、4. 洗浄・消毒・滅菌の理論と実際)のほか、動物の基本的な取り扱いなどの実習も行っています。今年も6月17日(土)に、日本獣医生命科学大学の施設を借りて、16名の受講者を迎えて開催しました。

以下に、日常の管理研修会受講者の感想等の一部を掲載させていただきます。

1. 受講したことで普段何気なく行っていた仕事も、これからは意識して取り組むことができそうである。
2. 受講したことで勤務先のSOPや業務内容の根拠、背景について学ぶことができ、理解が深まった。
3. 消毒・滅菌・洗浄に関する講義で示されたデータは他の人への説明に役立ちそうである。
4. 実技では丁寧に指導してもらえたので、保定ができるようになり助かった。

日動協の実技研修会は、当協会認定の実験動物技術指導員の方々に協力いただいております。担当いただいている指導員の皆様にはこの場を借りてお礼申し上げます。

1. 委員会等活動状況

委員会名等	開催日	備考
第1回生産対策委員会	9.2	令和4年度(2022年度)実験動物の年間販売数調査の結果他
臨時総務会	9.2	第2回臨時理事会の開催他
第2回試験採点・合否判定委員会	10.3	通信教育スクーリング修了試験及び実験動物1級技術者学科試験の判定他
第2回教育・認定委員会	10.3	教育セミナーフォーラムの企画他
第2回臨時理事会(みなし決議)	10.16 決議	事務局長の任命他
第2回総務会	10.23	令和6年度予算作成方針の検討他
第2回実験動物福祉調査・評価委員会	10.26	福祉調査報告と調査概要書内容の検討他
第1回業務執行会議	11.2	令和6年度予算作成の方針の協議他
実験動物2級技術者実技試験	11.25	東京、大阪 他
実験動物1級技術者実技試験	11.26	日本獣医生命科学大学、京都大学
第3回情報委員会	12.4	LABIO21 No.92の企画
第3回モニタリング技術委員会	12.11	微生物モニタリング技術研修会用テキストの作成他
第3回試験採点・合否判定小委員会	12.12	実験動物技術者実技試験の判定他
第3回教育・認定委員会	12.12	教育セミナーフォーラムの企画他
第1回通信教育小委員会	12.19	令和6年度の通信教育の取り組み他

2. 行事予定

行事	開催日	備考
第19回実験動物技術指導員研修会	R6.2.10	日本獣医生命科学大学
教育セミナーフォーラム2024	R6.3.11-3.25	web開催予定で調整中

行事によっては開催日等が変更になる場合もあります。変更等がある場合には、その都度ホームページでお知らせいたしますのでご確認願います

3. 令和6年度の実験動物技術者資格認定試験日程(予定)

令和6年度の実験動物技術者資格認定試験は以下の日程で予定しております。

実験動物2級技術者：学科試験	令和6年8月4日(日)
実技試験	令和6年11月23日(土)
実験動物1級技術者：学科試験	令和6年9月14日(土)
実技試験	令和6年11月24日(日)

4. 日動協の通信教育と各種研修会一覧（令和6年度）

令和6年度に日動協が主催する通信教育と各種研修会の一覧を以下に示します。最終確定は3月末になります
が、来年度の研修計画作成の参考にさせていただきたく掲載いたしました。

なお、都合により開催の中止あるいは開催期日、申込締切日の変更の可能性がありますので、必ず協会のHP
でご確認ください。

令和6年度 研修会予定一覧

名称	目的	内容	受講対象者	特典	開催期日 (予定)	申込締切	開催場所	定員 (名)	受講料 (消費税込み)
通信教育	2級学科 試験準備	学科試験に 即した問題の 添削	制限なし	—	2月～7月	未定	—	100	30,800円
通信教育 スクーリング	2級実技 試験準備	マウス、 ラット等の 動物実験基本 実技の実習 (2級水準)、 実技修了試験	通信教育 受講者	2級実技 試験免除 *実技修了試 験合格が条 件	8月24日(土) ～25日(日)	対象者に 直接連絡	日本獣医 生命科学 大学 京都大学	100	16,500円
日常の 管理研修会	初心者 の入門	マウス、 ラットの取扱い 実技の実習	制限なし	—	6月15日(土)	未定	日本獣医 生命科学 大学	30	22,000円 (正会員)～ 33,000円 (一般)
微生物 モニタリング 技術研修会	モニタリング 検査技術の 向上	材料採取～ 検査、判定ま での実技実習	制限なし	—	7月12日(金) ～13日(土)	未定	実験動物 中央研究 所	30	33,000円 (正会員)～ 44,000円 (一般)
実験動物 基本実技 研修会 (2級水準)	2級実技 試験準備	マウス、 ラット等の 動物実験基本 実技の実習 (2級水準)	制限なし	—	8月24日(土) ～25日(日)	未定	日本獣医 生命科学 大学	20	22,000円 (正会員)～ 33,000円 (一般)
実験動物 基本実技 研修会 (1級水準)	1級実技試験 (必須科目) 準備及び実験 動物高度技術 者養成研修会 修了実技試験 準備	マウスの動物 実験基本実技 の実習 (1級水準)	制限なし (実験動物 高度技術者 養成研修会 受講者優先)	—	8月24日(土) ～25日(日)	未定	日本獣医 生命科学 大学	20	22,000円 (正会員)～ 33,000円 (一般)
実験動物 高度技術者 養成研修会	1級実技 試験準備	マウス、 ラットを中心 とした実技 試験の実習 修了実技試験 (必須科目)	1級試験 受験者	1級実技試験 (必須科目) の免除 *修了実技 試験合格が 条件	9月11日(水) ～13日(金)	未定	調整中	32	57,000円 (正会員)～ 68,000円 (一般)

5. 関連団体行事

◆ 第71回日本実験動物学会総会

日 付：2024年5月29日（水）～31日（金）

場 所：みやこめっせ、ロームシアター京都（京都市）

大会長：浅野雅秀（京都大学）

詳 細：<https://cfmeeting.com/jalas71/>

◆ 第58回日本実験動物技術者協会総会

日 付：2024年10月10日（木）～10月12日（土）

大会長：中村直子（熊本大学）

場 所：北九州国際会議場（北九州市）

事務局よりお知らせ

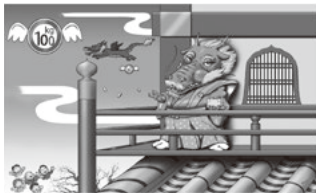
令和5年10月31日付で武石悟郎常務理事兼事務局長が退任し、11月1日より櫻井保氏が事務局長として着任されました。なお、武石悟郎氏は非常勤参与として引き続き協会運営にお手伝いいただいております。



11月の声を聞いたのに、郷里の富山では真夏日に迫る暑さだとか。5年程前に東大教養学部で「ジオエンジニアリング」のセミナーを開講した農学部の先生がいたが、まるで他人事のように感じていたものだった。ようやくその重要性に気付き、大いに反省しているところである。

さて、環境省の実験動物取扱いの実態に関する調査が始まった。その中に動物実験を行う理由に関する設問がある。選択肢は「法令で要求されているから」と「任意」の2つである。「法令で要求されている」実験は国が必要であると認めているものであり、一方「任意」の実験は、実験実施者がそれぞれの目的を達成するために実施しているものであり、国はその必要性には関与しないと解釈できる。大学等では、ほとんどの動物実験は学術研究として実施されており、回答は「任意」となるだろう。では、「任意」で行われる動物実験は社会に必要なものなのだろうか。そんなはずはない。動物実験の成果がノーベル医学生理学賞に繋がった例は多く知られており、それらの成果は人の健康の向上に貢献している。mRNA ワクチン、iPS細胞など、数え上げればきりが無い。もちろん、すべての学術研究が社会に役立っているとは言えず、また思い描いたような結果が得られない場合もある。そのような失敗も含めて、科学は発展していくものだと思う。しかしながら、「あなたの実験は、あなたの勝手な目的のためでしょう？」と国から突き放されると、私のような小心者は何となく心がざわざわする。生物医科学のイノベーションのために動物実験を実施する者が、胸を張って動物実験に臨めるような理念法があってもよい、と考えるのは私だけではないかもしれない。もちろん、事前に動物実験委員会で代替法の可能性などを考慮しながら実験計画を入念にチェックした上での話である。

〔久和茂〕



表紙絵の「100kg」は飛行ドローンの重量制限値を示しているとのことです。

STAFF

情報委員会

担当理事	福田 勝洋	KATSUHIRO FUKUTA
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
〃	久和 茂	SHIGERU KYUWA
〃	三枝 順三	JUNZO SAEGUSA
〃	新関 治男	HARUO NIIZEKI
〃	森村 栄一	EIICHI MORIMURA
事務局	櫻井 保	TAMOTSU SAKURAI
〃	武石 悟郎	GORO TAKEISHI
〃	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

未来に繋げる技術と信頼

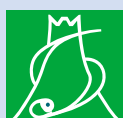


SLCの業務内容

- 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)

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.