

Japanese Society for Laboratory Animal Resources
LABIO 21



社団法人 **日本実験動物協会**

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

【特別寄稿】

「牛疫根絶に貢献したウサギ順化牛疫ワクチン」

【特集】

「教育セミナーフォーラム2009」



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 TEL 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)

目 次



絵 山本容子

画家。

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

1981年より(社)ジャパンケネルクラブ会報「家庭犬」の表紙画を担当。

1986年アメリカンドッグアソシエーション特別賞を受賞。

1992年農林水産大臣賞を受賞。

1996年以後、東京、大阪を中心に個展・展示会を開催。

巻頭言

「新年を迎えて一厳しい時こそ前向きに一」 ————— 4

特別寄稿

「牛疫根絶に貢献したウサギ順化牛疫ワクチン：
出発点は動物モデルの作出」 ————— 5

特 集

「教育セミナーフォーラム2009」
「技術指導員の活動と役割」 ————— 10
「1級技術者の資格と業務」製薬企業安全性研究所での現状 ————— 12
「認定制度に対する企業の取り組みと資格の活用」 ————— 14
「認定制度に対する実験動物技術者からの要望」 ————— 16

総説

「ノロウイルス研究の現状とマウスノロウイルス研究の有用性」 ————— 20
ヘルシンキ宣言のソウル改訂について ————— 27

連載シリーズ「LAM学事始(2)」

「第2章 米国の実験動物の使用に関する法律、規則、方針」 ————— 30

ラボテック

「実験動物用飲料水としての酸性電解水応用の可能性」 ————— 33
「新水成二酸化塩素製剤殺菌消毒システム〔ピュオロジェン〕による
実験動物施設での利用」 ————— 37

海外技術情報

わが社のプロフィール ————— 41

ほんのひとりごと ————— 41

学会の動き ————— 43

技術者協会の動き ————— 43

平成21年度(第25回)実験動物技術者資格認定試験結果 ————— 44

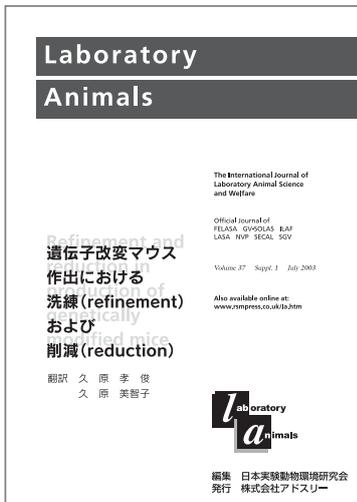
協会だより、協会関係団体の動き ————— 45

KAZE ————— 46



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

好評発売中



遺伝子研究者 待望の日本語訳書

日本実験動物環境研究会編 編
久原 孝俊／久原 美智子 訳

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

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

発行：株式会社 アドスリー
発売：丸善(株)

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

新年を迎えて

— 厳しいときこそ前向きに —

社団法人日本実験動物協会

会長 福田 勝洋

明けましておめでとうございます。2010年の年頭にあたり、一言ご挨拶申し上げます。

元旦の清新な気持ちが年々薄らいでいくのは、年末年始も関係なくつづくメディアの賑わいばかりではなく、年を越えてつづく懸案事項の影響も少なくないでしょう。

今年は21世紀に入って10年目となります。後世の人々に21世紀初頭と呼ばれるであろうこの10年は、まさに激動の時代でもあります。とりわけここ数年の変化は大きく、一昨年秋には100年に一度と言われる世界的な経済不況があり、その年の12月には当協会も関わる公益法人改革がスタートし、また昨年、長らく続いた自民党から民主党への政権交代などめまぐるしく変わる世の中で、先行き不透明な状況がしばらく続くことでしょう。

経済不況では企業における研究経費の節減に向かいましたが、昨年末の新政権の行政刷新会議による事業仕分けでは研究開発関連経費の大幅な縮減や凍結などが取り沙汰されています。こうした科学研究関係の経費節減や予算縮減では研究素材を提供

する実験動物産業が影響を受けないではすまされません。しかし、財政緊縮の対象を安易に研究関連予算に向けるのは、単に産業の保護の立場からだけでなく、その影響が何年にもわたってつづくことから、将来の科学の進展が危ぶまれ、我が国の科学政策の如何を問われることになりましょう。

こうした厳しい状況下で2010年の幕が上がりました。日本実験動物協会は実験動物産業の健全な発展に寄与するためとして、産業基盤の充実、高品質実験動物の生産供給、関連技術者の養成・資質向上、動物の福祉、動物実験の啓蒙、情報の収集・公開などに努めてまいりましたが、従来の事業を踏襲するだけでなく時代の変化にも柔軟に対応し、請負・派遣の問題では委員会を弾力的に立ち上げております。

当協会の事業の中では、技術者の養成と資格認定事業が社会的にも広く認知されつつあり、最近では海外からの資格試験の受験や引き合いがあることから、実験動物技術者の基本的な知識と技術を計るものとして理解されてきたことを意味し、今

までの関係各位のご努力に感謝を申し上げます。

公益法人改革では一昨年の12月から新法人制度への申請受け付けが始まっていますが、当協会も公益社団法人として認定されるよう努力していく所存です。

このように一般社会の情勢や実験動物を取り巻く環境はいずれも厳しいものであります。こうした厳しい状況下で節減、縮減と後ろ向きの施策を講じるだけでなく、前向きな希望を持つ方策を考えていかねばなりません。全て進歩や発展は厳しい状況下で生まれています。現在の試練を奇貨として新たな進歩、発展に努めるべく叢智を結集していかねばなりません。そのためには今までにも増して、農水省当局はじめ関係諸機関ならびに各種専門委員の諸先生のご指導とご協力を賜りたくお願い申し上げます。

最後になりますが、2010年が実り多きより良き年となりますよう、会員各位のご健勝とご多幸を祈念して新年の挨拶とさせていただきます。

牛疫根絶に貢献したウサギ順化牛疫ワクチン： 出発点は動物モデルの作出

東京大学 名誉教授
山内一也

はじめに

牛疫はパラミクソウイルス科モービリウイルス属のRNAウイルスによる牛の致死性急性伝染病である。4000年にわたって世界史に大きな影響を与えてきた牛疫は長年にわたる撲滅対策の結果、2001年以後まったく発生していない。2010年には世界的牛疫根絶宣言がFAOとOIEから出される予定になっている。これは天然痘につぐ感染症の根絶という偉業である。しかも、そこに到達した背景には何人も日本人科学者の貢献があり、とくに中村稔治博士の牛疫ワクチンが非常に大きな役割を果たしていた。

興味あることに、彼の牛疫ワクチンの開発のきっかけは牛疫の動物モデルとしてのウサギへの牛疫ウイルス順化であった。まず、牛疫の根絶にいたる壮大な歴史の一面を紹介し (1)、ついで牛疫根絶に貢献した中村ワクチンと動物モデルの関わりを述べる。

世界史をゆるがせた牛疫

牛は古代から農耕、運搬などの労働力として農業を支え、糞は肥料、乾燥させた糞は燃料、牛乳や肉は重要な食糧として

人々の生活になくなくてはならない存在であった。牛の最大の急性伝染病である牛疫は、急速に牛の間で広がり感染した牛では70%から100%近い死亡を引き起こした。そのため、牛疫の発生は農業に多大の損害を与え飢饉をもたらし、世界史をゆるがせてきた。

牛疫とみなされる病気は4000年前のエジプトのパピルスをはじめ、旧約聖書でも語られている。古代ローマ時代にも牛疫の発生を示唆する記述が多く残されている。西暦378年にローマ帝国で発生した牛疫は飢饉を引き起こし、その結果起きた暴動によりローマ帝国は東西に分裂した。18世紀には全ヨーロッパを巻き込んだ牛疫の大流行が続き、この世紀にヨーロッパでは2億頭の牛が死亡したと推定されている。牛疫がもたらした大きな被害に対して、1761年にフランスのリヨンに世界初の獣医学校が設立され、そののちあいついでヨーロッパ諸国で獣医学校が設立された。なおOIEは、リヨンの獣医学校設立後250年に相当する2011年を“World Veterinary Year”として、獣医学教育の開始だけでなく、獣医師の職業の誕生、比

較病理学に依存した近代医学の出発を記念することになっている。

19世紀には牛疫対策を中心として国際獣医学会議が発足し、これが現在の世界獣医学協会に発展して世界獣医学大会を開催している。第1次世界大戦後の1920年ベルギーでインドから送られてきた牛が発生源となった牛疫は、国際的な家畜伝染病対策をはかる組織としてのOIEの設立をもたらした。

日本における牛疫

日本での牛疫のもっとも古い記録は元禄10年（1697）に発行された食の百科事典ともいえる「本朝食鑑」に見られる。ついで、もっとも古い獣医書である享保5年（1720）発行の「牛科撮要」にくわしい症状が述べられている。江戸時代には寛永15年（1638）と寛文12年（1672）に大流行が起きていた。

西洋医術は明治3年（1870）に初めて承認されたが、その翌年に明治政府は初めて海外からの伝染病の問題に直面した。シベリアで流行している牛疫が日本に侵入する警告が届いたのである。そこで政府は急遽、外国伝染病予防法を公布した。これは

牛疫が人にも感染すると勘違いしたため人と家畜の両方に対するもので、内容も非科学的であったが、日本で最初の伝染病予防法と家畜伝染病予防法といえる。家畜の港湾検疫も始められた。牛疫の発生は明治5年（1872）に起こり、翌年からは2府20県に広がり、明治10年（1882）まで続き、4万2000頭あまりの牛が死亡した。

明治19年（1886）には、牛疫を中心として家畜伝染病予防法の前身である「獣類伝染病予防規則」が設けられた。明治25年（1892）にはふたたび発生して3府1道16県に広がり2年あまり続いた。朝鮮半島、中国大陸からの度重なる牛疫の侵入で畜産界は大きな打撃を受け、明治41年（1908）に起きた牛疫がきっかけになって朝鮮、中国、シベリアからの牛の輸入を規制する議論が起きた。朝鮮牛は労役と食用の両方に適していて農家の必需品になっていたため、輸入禁止はできなかった。そこで、輸出港と輸入港の両方で検疫を行う二重検疫方式が初めて実施された。これは現在、野生動物や家畜で実施されているものと同じである。一方、中国とシベリアの牛は食用であったため、日本が指定した屠畜場で解体したもののみを輸入することになった。これはBSEに関して米国からの牛肉に対して行われている対策と同じである。

そののちも断続的に発生が起

きたが、大正11年（1922）の発生が最後となった。

牛疫予防法の進展

1711年にイタリアで牛疫が発生した際、ローマ法王の侍医であったランチシは病気の牛すべてを殺処分することを法王に提唱し、これにより発生は制圧された。これが現在家畜伝染病対策の中心になっている摘発淘汰方式の最初である。

19世紀終わりにアフリカ全土に広がった牛疫の大流行の際に免疫血清による予防、ついで免疫血清と発病牛の血液の同時注射が試みられ、これらがワクチン開発までの唯一の予防手段として用いられた。

最初の牛疫ワクチンは、大正3年（1917）に釜山の朝鮮総督府牛疫血清製造所で蠣崎千晴博士により開発された。これは発病牛の血液をグリセリン（のちにトルオール）で不活化したものである。ついで1928年に英国のエドワーズが偶然の幸運から山羊を継代した生ワクチンを開発した。蠣崎ワクチンは高い免疫力を備えていたが免疫の持続期間が半年と短い欠点があった。エドワーズ・ワクチンは高い免疫力と長い免疫の持続性を備えていた。しかし、副作用がかなり強かった。1941年には獣疫血清製造所（牛疫血清製造所が改名したもの）で中村稔治博士がウサギに順化させた生ワクチン（以下、中村ワクチン）を開発した。これは

有効性、免疫持続性ともにすぐれており、さらにエドワーズ・ワクチンよりも副作用が低かった。しかし牛疫感受性が非常に高い和牛や朝鮮牛に対しては強い副作用を示した。1953年には中村ワクチンをニワトリ胚に順化させることにより、副作用がほとんどない弱毒ワクチンが開発された。

1950年代には培養細胞で麻疹やポリオのワクチンが開発されてきた。英国のプローライトはこれにならって、牛疫ウイルスを牛の腎臓細胞で継代培養することにより、1960年代初めに弱毒牛疫ワクチンを開発した。ここで近代的な牛疫ワクチンの時代になったのである。

アジア、中近東での牛疫撲滅

日本に侵入した牛疫のほとんどは朝鮮半島に由来しており、朝鮮半島の牛疫は中国から持ち込まれていたものであった。明治44年（1911）日本は釜山に牛疫血清製造所を設立し、そこで製造した免疫血清を用いて朝鮮と中国の国境に免疫地帯を構築する事業を始めた。これは免疫血清と病牛の血液（ウイルス）の同時注射によるものであった。大正11年（1922）からは蠣崎ワクチンを用いて中国との国境1200キロメートルにわたって幅20キロメートルの免疫地帯を構築するという広大な計画となった。同時注射法では時折発病する牛も出たが、蠣崎ワクチンは不活化ワ

クチンなので安全性には問題はなかった。しかし、免疫の持続期間が半年であり、しかも牛で製造するためコストが高いという問題があった。

中村ワクチンが開発されて、免疫持続期間やコストの問題は解決された。1942年からは中村ワクチンによる免疫が始められ免疫地帯の大半の牛へのワクチン接種が行われた。しかし、敗戦によりこの事業は終わった。

1952年からは韓国家畜衛生研究所と共同でニワトリ胚順化中村ワクチンが38度線の南側での免疫地帯の構築に用いられた。

一方、中国では建国の1949年頃から旧満鉄奉天獣疫研究所の日本人所員が協力して、ウサギよりも入手が容易な羊に中村ワクチンを順化させ、このワクチンにより中国の牛疫は撲滅された。

中村ワクチンは、1948年ケニアで開催されたFAO会議で中国代表から紹介され、初めてその優秀性が国際的に認識された。FAOはエジプト、タイ、インド、ケニア、パキスタン、エチオピアなどの国々にこのワクチンを配布した。

当初はこのワクチン、ついでニワトリ胚順化中村ワクチンにより、1970年代までに台湾、タイ、ベトナム、カンボジア、エジプトなどの牛疫は撲滅された。

世界的牛疫根絶計画

1980年代終わりにはアジア地域のほとんどの国で牛疫の発生は

なくなっていたが、インド、パキスタン、中近東、アフリカでは発生が続いていた。FAOはアフリカ、西アジア、南アジアなどの牛疫撲滅作戦を始めた。一方、牛疫清浄化を確認する手順がOIEにより決定され、1994年FAOが中心となった世界的牛疫根絶計画が開始された。この計画では大量生産が可能になっていたプローライトワクチンが用いられた。

牛および野生偶蹄類での牛疫の発生はほとんどの地域で見られなくなった。最後の発生は2001年にケニアの野牛で見いだされ

たものであった。牛疫ウイルスの遺伝子の検出という分子疫学調査を含めたサーベイランスは続けられ2008年の時点で最後に牛疫清浄性を確認すべき地域はソマリアからエチオピア、ケニアにまたがるソマリア自然放牧地のみとなった。こうして、2010年には世界的根絶宣言が出される予定になっている。(図)

牛疫の最終的根絶に用いられたワクチンの開発者であるプローライトは、釜山における中村博士の一連の研究がなければ牛疫根絶には至らなかつただろうと述べている(2)。

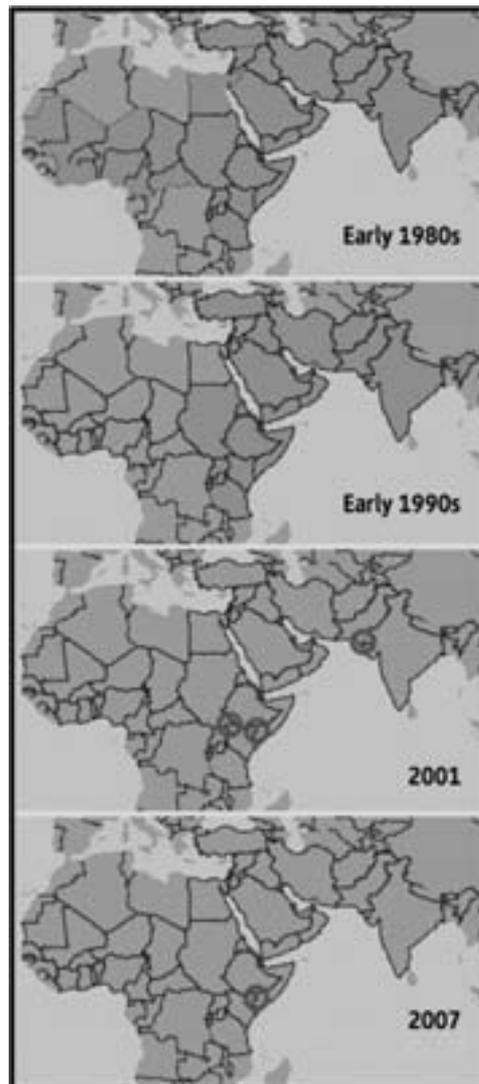


図. 牛疫発生の推移
サーベイランスのみ

中村ワクチン開発のきっかけになった動物モデル作出

中村博士は大正15年（1926）に東大を卒業してすぐに釜山の獣疫血清製造所に入所し、蠣崎博士のもとで牛疫の研究を始めた。1934年からは1年間英国に留学しウイルス学の新しい技術を学んで帰国して牛疫の研究にもどった。当時、牛疫の実験は牛でなければ行えなかった。しかし、高価な牛では思うような実験はできなかつたため、もっと小さな動物で実験ができないだろうかと考えて取り上げたのがウサギである。ウサギに牛疫ウイルスを順化させ、それによるウサギでの病態を牛の場合と比較するのが最初の目的であった。継代の最初のうちは軽い発熱が見られる程度であったが、継代を進めていくうちに発熱が増強しリンパ組織に壊死病変も見られるようになってきた。こうして、ウサギに対する病原性が増加したウイルスが得られてきたのだが、同時に牛に対しては病原性が低下してくることが見いだされた。この思いがけない結果が中村ワクチンの開発へとつながっていったのである。

この一連の実験の成果の最初の報告は「家兎ニ於ケル牛疫毒感染ニ就テ。第1報告：基礎的試験」となっている(3)。この実験はまさに動物モデルの作出であった。

人の病気のモデルとして実験動物が役立つことは19世紀終わり

にサルで初めて認識されていたが(4)、実験動物はおもに1890年に提唱されたコッホの3原則にもとづく病原体の同定のための接種実験に用いられていた。1930年代には動物モデルの作出の試みは少なく、しかも人ではなく家畜の病気のモデルの作出という発想は、おそらく中村博士の実験が最初と思われる。

中村博士は牛疫ウイルスによるウサギのリンパ組織の破壊が、免疫学的にどのような影響を及ぼすかを調べたいと考えたというが、牛での弱毒化の発見から彼のその後の研究は生ワクチンの開発と実地応用に向けられ、当初の動物モデルとしての利用は、病理学的観察にとどまった。

麻疹の動物モデルとしてのウサギの牛疫ウイルス感染

私は1965年に国立予防衛生研究所に新設された麻疹ウイルス部に入って麻疹ワクチンの国家検定と麻疹ウイルスの研究に従事することになった際、麻疹ウイルスの病原性の研究に必要な動物モデルの検討を始めた。しかし、麻疹ウイルスに感受性のある唯一の実験動物であるサルは、麻疹ウイルスに感染はするものの人の場合と異なりほとんど症状を示さず病原性の研究には不適當なことが分かった。そこで思いついたのがウサギ順化牛疫ウイルスの利用であった。中村博士からウイルスを分与していただきウサギへの感染実験を試

みたところ、症状の面ではかならずしも麻疹と同じではなかったが、リンパ組織を主な標的として増殖して激しい壊死病変を形成する点は麻疹の場合とそっくりであった。こうして私の予研での研究の大半はウサギでの牛疫ウイルスの発病機構となり、麻疹にもあてはまると考えられる免疫抑制の機構、リンパ組織での増殖様式の解析など、多くの興味ある知見が得られた(5)。さらに私が東大医科研に移ったのち、予研では発熱がウイルス感染からの回復に重要な役割を果たしていることが明らかにされた(6)。

中村博士のウサギ順化ウイルスが当初目的としていた動物モデルとしての利用は、牛疫ではなく麻疹のモデルとしてすばらしいものであった。もっとも麻疹ウイルスは、8000年くらい前に牛疫ウイルスが人に感染し、それが人の間で広がった結果生まれたものと考えられており、病像の面で両ウイルス間に類似性があるのは当然といえよう。

牛疫ウイルス感染のウサギ・モデルは、現在東大医科研の甲斐知恵子教授のグループにより病原性の分子基盤についての研究に利用されており、新しい知見が蓄積してきている。ウサギ順化ウイルスはウサギに致死的な病気を起こすのに対して、ブローライトのワクチンウイルスはウサギではほとんど病気を起こさない。そこで両ウイルスの

病原性の差を利用して、ウイルスのどの遺伝子がこのような差をもたらしているのか研究しているのである。これはリバース・ジェネティクス（逆向き遺伝学：ウイルス遺伝子からウイルスを組み立てる技術）で2つのウイルスの遺伝子の一部を組

み換えてどの遺伝子が病原性に関わっているかを、ウサギで調べるものである(7)。これらの実験は、麻疹ウイルスでは不可能であり、中村博士のウサギ順化ウイルスで始めた可能になったものである。中村博士が病理学的な面で動物モデルとしての有

用性を確認し、発病機構の免疫学的な研究を私が引き継ぎ、さらに病原性の遺伝子レベルの研究を甲斐博士が最新の技術で取り組んでいるといえよう。

文献

- (1) 山内一也 (2009)「史上最大の伝染病・牛疫-根絶までの4000年」岩波書店。
(牛疫の歴史から根絶にいたるまでの記述のほとんどは本書にもとづく)
- (2) Plowright, W. (2006) Preface. In "Rinderpest and Peste des Petits Ruminants" eds. Barrett, T., Pastoret, P.-P., Taylor, W.P., Elsevier, pp. xxi-xxiii.
- (3) 中村稔治、我妻正三郎、福所金松 (1938) 家兎ニ於ケル牛疫毒感染ニ就テ。第1報告：基礎的試験。日本獣医学会雑誌17, 185-204.
- (4) Bynum, W.F. (1990) "C'est un malade"; Animal models and concepts of human diseases. J. Hist. Med. Allied Sci. 45, 397-413.
- (5) Yamanouchi, K. (1990) Comparative aspects of pathogenicity of measles, canine distemper, and rinderpest viruses. Japan. J. Med. Sci. Biol. 33, 41-66, 1990.
- (6) Kurosawa, S., Kobune, F., Okuyama, K. & Sugiura, A. (1987) Effect of antipyretics in rinderpest virus infection in rabbits. J. Inf. Dis. 155, 991-997.
- (7) Yoneda, M., Miura, R., Barrett, T., Tsukiyama-Kohara, K. & Kai, C. (2004) Rinderpest virus phosphoprotein gene is a major determinant of species-specific pathogenicity. J. Virol. 78, 6676-6681.

ワーキングプロセスを構築します



動物実験施設の管理者の皆様へ、日常業務のスケジュールリングから予実管理を円滑にするために開発したアプリケーションを、飼育・リソース保存などの技術サポートを含めご提供させていただきます。また、研究者の皆様には、表現系解析、遺伝子解析等に、弊社開発のアプリケーションをご利用いただくことにより、専門スタッフが扱うリソースとコンピュータシステム上の解析データのシームレスに連携する環境をご提供させていただきます。

私どもは、お客様にとって最も効率的な研究スタイルの構築をお手伝いさせていただくことを目指しております。

実験動物施設の立ち上げから、作業手順書の作成、現状の問題改善など、お気軽にお問い合わせください。

Information Technology

- 研究支援システム
- 飼育・リソース管理システム
- 表現型解析システム
- 分析機器オンラインシステム
- 受託開発
- ホームページ作成
- ホスティングサービス
- ネットワーク構築
- セキュリティソリューション

Bio Technology

- マウス受精卵販売
- 受託繁殖業務
- 遺伝子改変マウス受託生産
- 受精卵作成業務
- 飼育・生殖工学技術者派遣
- 飼育・生殖工学技術者教育

Standard Protocol Organized Company



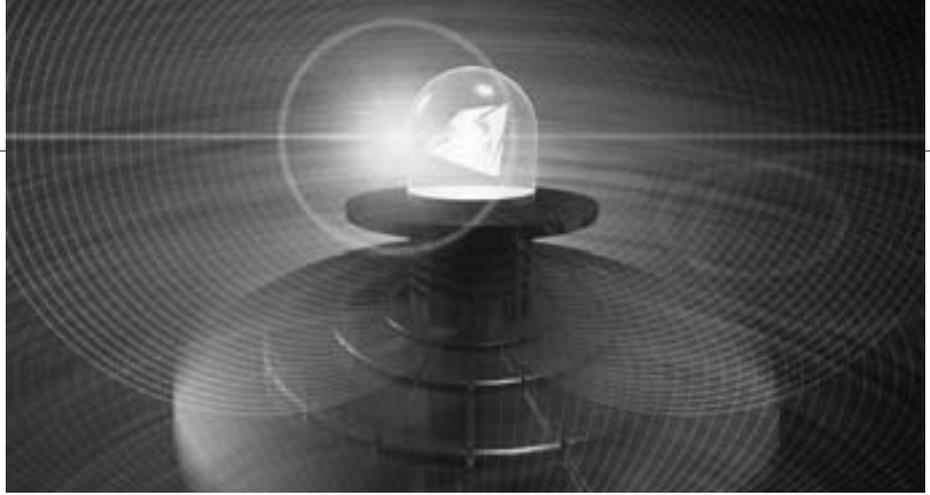
株式会社 スポック

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

〒230-0046

神奈川県横浜市鶴見区小野町 75 番地 1

Tel. 045-500-1263 Fax. 045-505-5677



「技術指導員の活動と役割」

日本実験動物協会
教育・認定専門委員会委員
(財団法人食品薬品安全センター秦野研究所)
畔上二郎

ここでは技術継承・教育の重要性を再確認したうえで、技術指導員制度の利点と3年間の技術指導員の具体的な活動を紹介し、今後、技術指導員に何が要求されているかを整理してみたい。

実験動物技術継承の重要性

今われわれが行っている多くの動物実験法は、1世紀以上にわたる先人たちの試験・研究の繰り返しによって開発されたもの、あるいは、これらに応用したものである。動物実験法は、他の科学実験と同様に、再現性があり、客観的評価ができることが成立条件となる。動物実験を成立(意味のあるものに)させるための1要因として、動物を取り扱う技術、いわゆる実験動物技術があり、これを持ち合せていない実験の多くは、単に動物の生命と時間を無駄にし、場合によっては、人の生命をも脅かす結果となってしまう。わが国でも、動愛法に3Rsが盛り込まれたことをはじめ、法規制・整備が進む中で、今後の動物実験は、熟慮された計画と洗練された技術があってはじめて許されることになる。ゆえに、この技術の継承がますます重要となってくる。日動協の技術者認定制度は、そのために整備されている

代表的なものである。

技術指導員制度の利点

実験動物技術の継承は、多くは事業所単位で行われることから、場合によっては、その事業所の手技(流儀)、評価方法が偏ったものになりがちである。よって、技術継承の段階には、他機関の指導者と手技、技術のすり合わせを行う必要がある。また、新しい技術、より洗練された技術が導入できるシステムもなければならぬ。この点、日動協の指導は、あくまでも基本的な技術が中心であるが、技術指導員制度によって前述の技術交流システムを構築できやすくなっている。すなわち、この制度により、多数の事業所の指導者(技術指導員)によって練られた指導ができること、そして、複数の目で一定の判定基準により技術の評価ができることにあり、さらに、これが事業所単位の教育の場へフィードバックできることにある。その役目を担っている者が技術指導員であるといつてよい。

技術指導員の具体的な活動

技術指導員制度ができてから、これまで3回の指導員研修会を開催してきた。そこでは、実地試験問題を

はじめに

今回講演させていただく「実験動物技術指導員」とは、日動協の「実験動物技術指導員認定規程(平成17年度制定)」に基づいて認定された者を指し、現在のその登録人数は、指導員が147名、準指導員が12名、合計159名である。技術指導員の使命として、規程では「実験動物技術の教育・普及に努め、実験動物技術者の資質を向上させ、実験動物技術の進展に貢献すること。」とうたわれている。

もとに、動物種ごとに、指導法の土台となる「基本的な手技の確認」、「技術指導の要点の確認と標準化」について討議してきた。そして、指導員研修会で出された意見を踏まえて、次の実地試験問題の作成、動物種間の試験問題のすり合わせ、評価法の調整を重ねてきた。特に2007年には「実地試験のあり方検討委員会」が設けられ、実地試験における重要事項、禁忌事項がまとめられ、あわせて一級、二級技術者として要求される技術レベルが整理された。しかし、これらは未だ完成されたものではなく、実地試験の今後の課題として、1. 動物種間のレベルの調整、2. 配点方法の検討、3. より客観的な判定基準の構築、4. 新しい実技試験問題の作成などがあげられている。

技術指導員に課せられている第一の使命は、確かな実験動物技術の継承にある。その場として、白河研修会、各論(モルモット、ウサギ)の実技研修

会、通信教育のスクーリングがある。これらの事業に先立ち、担当する技術指導員により、その都度、指導項目・内容・ポイントについて討議されている。また、教材となる実習用テキストの作成作業が進められており、一級受験者を対象としたモルモット編とウサギ編が新たに編集され、今年度は白河研修用としてマウス・ラット・その他の小動物編が改訂された。今後、他の動物種用の実習テキストの編集、新しいビデオの作成も望まれている。このほかの活動として、2008年度に

は認定校の高校生を対象に実技講習会が2回開催された。これまで技術指導員の活動の場は日動協主催の実技講習会と実地試験であったが、今後は技術指導員の更なる使命を果たすべく、より広範囲な活動が求められている。

以下の図は、第1回指導員研修会のグループディスカッションでまとめられた「目指す指導体制」であるが、これをより広い視野をもって、さらに強固な体制を構築していかなければならない。

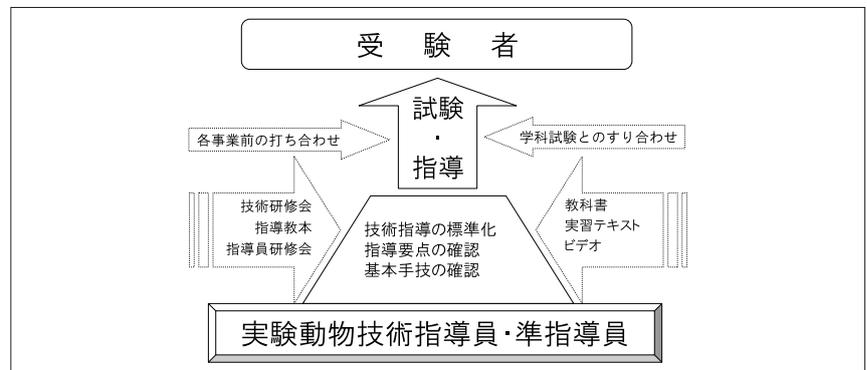


図. 目指す実験動物技術指導体制

オリエンタル酵母の特注飼料

肥満モデル作製用High Fat Diet

HFD-60



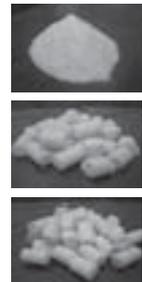
新型の成型機を導入することにより、特注飼料の成型性をアップすることが可能となりました。皆様からご要望・お問合せが多かった「**脂肪分60%カロリー比高脂肪飼料**」を固型品にて新発売いたしました！

その他生活習慣病モデル飼料

- 各種モデル動物作製用飼料
 - 肥満
 - 高脂血症
 - 糖尿病
 - 動脈硬化
 - インスリン抵抗性
 - 脂肪肝
 - ・アルコール性
 - ・非アルコール性

- コリン無添加飼料
- アミノ酸混合飼料
(特定のアミノ酸過剰、無添加)
- 低タンパク飼料
- 各種検体添加

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



お問合せは弊社営業担当、もしくは下記までご連絡下さい。

オリエンタル酵母工業株式会社 バイオ事業本部 ライフサイエンス部
〒174-8505 東京都板橋区小豆沢3-6-10 TEL 03-3968-1192 FAX 03-3968-4863
URL <http://www.oyc-bio.jp> E-mail fbi@oyc.co.jp



オリエンタル酵母工業株式会社

「1級技術者の資格と業務」 製薬企業安全性研究所での現状

第一三共株式会社 安全性研究所
根津 義和

はじめに

実験動物技術者に対する評価において、資格の有無は、技術者の実力を客観的に知る手段として有用である。しかし、所属する機関（大学・製薬企業・受託機関など）によっては、資格に対する評価基準は様々で、たとえ同じ社内であっても、配属された職場（役割）によって、大きな違いが出てくる場合がある。例えば、製薬企業である弊社において、特に安全性研究所では、「実験動物技術者資格」の取得を推奨しており、1級技術者のほとんどが指導的な立場として活躍している。一方で、動物を扱う研究所であっても、資格の有無を問わない職場もある。

技術者に求められる業務については、弊社においても、時代の流れとともに日々変化してきている。近年は、初心者が真似しがたい技術を持つ「職人的技術者」より、教え方に優れる「指導的技術者」が求められている。すなわち技術の継承がとて重要になってきている。

本発表を通じて、1級資格の取得ハードルやメリット、ならびに業務内容などをより具体的にイメージでき、資格を取得する際の手助けとなれば幸いである。また、今後の課題として、資格に対する社会的地位の向上についても整理してみたい。

取得のハードルとメリット：

現在、1級技術者の受検資格は、2級取得後4年の実務経験、2年制の大学生物系課程を修めた後1年の実務

経験、あるいは認定大学で教育課程を修めれば、在学中に与えられる。全国では約700名の1級技術者が認定されているが、弊社においては18名（現役3名）と、決して多くはない。1級取得者が少ない理由として、幾つかの要因が考えられるが、①有資格者に対して手当がない（獣医師・薬剤師も同様）、②評価やメリットなどが分かり難い。ということが、主な要因であると思われる。その他、取得費用が高額であること、受検者数の制限、必置資格（国家・公的資格）ではないこと等も、取得のハードルになっている様である。特に、手当がないことをハードルと誤解していることが、取得者が少ない一番の原因であると考えられる。

一方、取得のメリット（インセンティブ）として考えられるのは、①技術と知識の向上、②広い視野を持つこと、③技術に自信と誇りを持つこと、等が考えられるが、将来（指導者、転職など）のことを考えれば、資格取得は大きなメリット（武

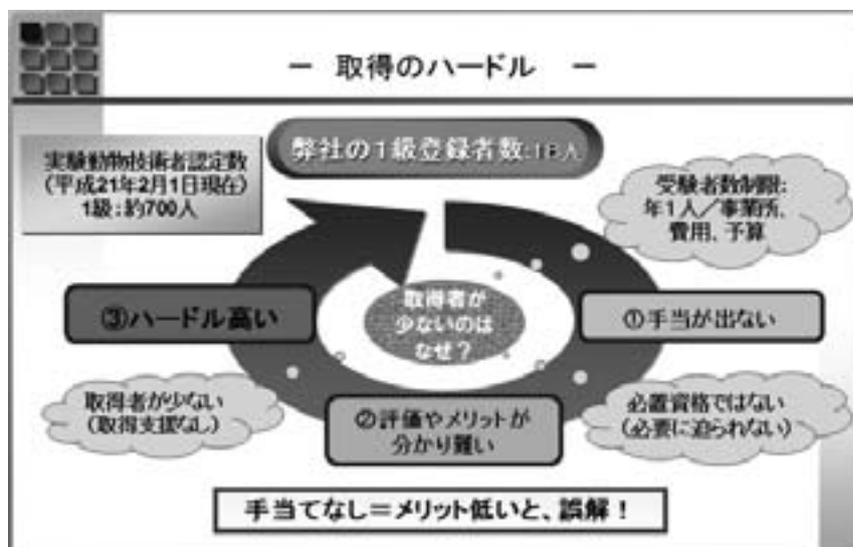
器)になると思われる。本来の取得メリットとは、手当などではなく、自己のレベルアップと、それによる会社への貢献であると考えられる。

職場での評価の一例：

1級取得後の評価について、弊社の安全性研究所での一例について紹介する。1級資格を取得した技術者に対しては、周囲から技術や知識への期待が高まることになる、同時に、高品質な技術を認められ信頼されることにより、管理職側としても責任ある業務を与えやすくなる。また、1級取得時の知識や経験を発揮し、職場の期待に応えることができれば、評価される。裏を返せば、資格を持っているだけで、評価されることはない。

職場での業務と期待：

1級技術者が、職場でどんな業務を期待されているかについて、弊社の安全性研究所での一例について紹介する。まず、後進の育成と指導が



上げられる。最近では、OJTが人事評価に影響する様になり、期待される業務となってきた。また、高品質の試験実施に貢献することは言うまでもないが、模範となる技術や知識を後進に示すこと、動物福祉や倫理的な側面から、SOPを構築していくことなども、期待されている。これらの業務と同時に自己研鑽し、研究結果の信頼性（再現性）の向上に貢献することが、1級技術者が職場で期待されている業務である。

今後の課題：

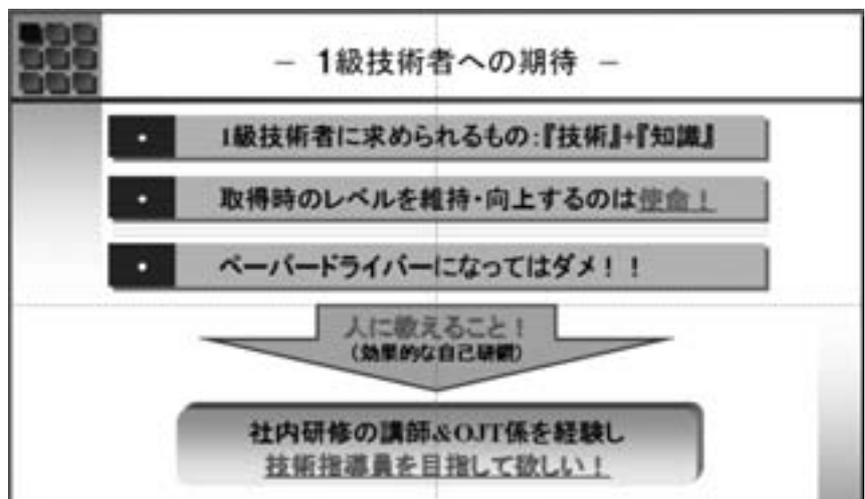
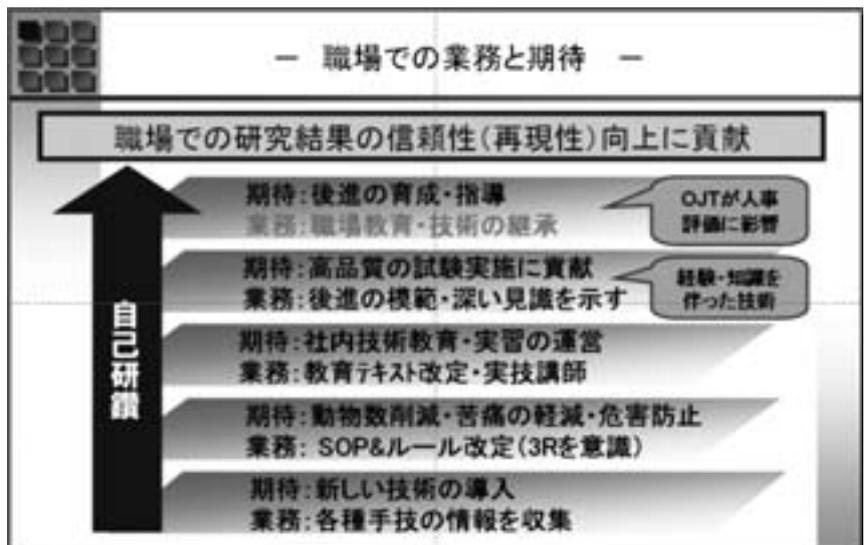
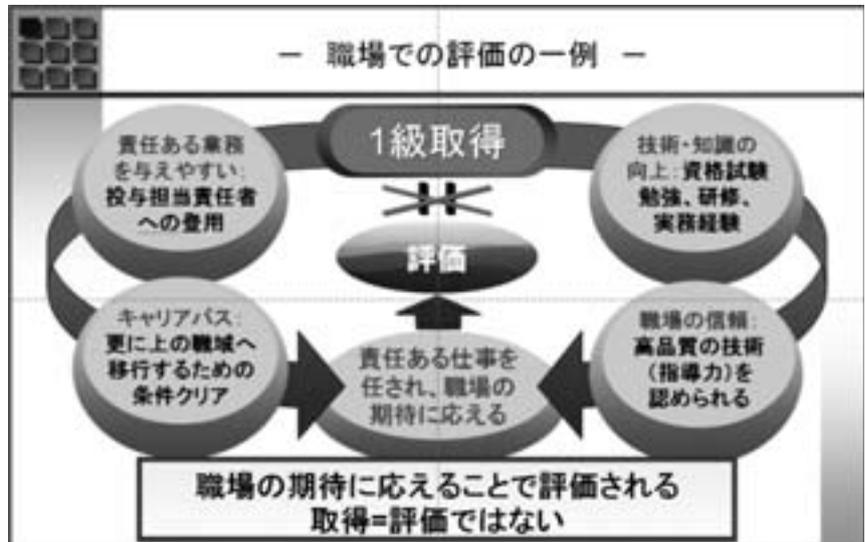
一番の課題としては、「実験動物技術者資格」の社会的地位の向上である。実験動物を扱う現場において、「高い技術を持っているが資格のない者」、あるいは「職場での実務経験が不足している1級技術者」などの矛盾をなくし、「資格と技術力は関係ない」というような誤解を招かないよう、職場の期待に応じていかなければならない。また、資格取得に対するハードルやメリットについての正しい認識を広めることで、より多くの技術者が1級資格に魅力を感じ、取得するようになれば、所属機関、ひいては業界内における地位の向上が、達成されるであろうと考える。また、1級取得者が増えることで、その影響力が高まり、より一層高品質な動物実験が実施されることを期待する。

1級技術者への期待：

実験動物技術者にとって、技術は必要だが、知識についても将来的にはとても重要になってくる。また、資格取得後も取得時のレベルを維持し、更なる向上を目指すのは、技術者に与えられた使命であること、す

なわち、「ペーパードライバーになってはいけない」ということである。これらのことをフォローする、もっとも有効な手段は、後進の技術指導だと考える。

以上を踏まえ、是非、社内研修の講師あるいは職場での教育係などを経験（自己研鑽）することで、更なるレベルアップを実現し、将来は、技術指導員を目指して欲しい。



「認定制度に対する企業の取り組みと資格の活用」

(株)ケー・エー・シー
AC事業本部長 橋本正晴

動物実験は、研究者、実験動物技術者、実験動物によって成り立っており、優れた研究者、適切な実験動物とそれを適切に維持・管理する優秀な動物技術者が必要です。いずれかが欠けても、動物実験は成り立ちません。その実験動物技術者の資質を向上し、技術水準の向上と均一化を図るための制度として、「実験動物技術者一級」・「実験動物技術者二級」の資格認定制度が日本実験動物協会によって実施されています。

(株)ケー・エー・シーは動物飼育管理請負業務に始まり、動物実験技術者派遣業務、受託試験業務などを追加しながら発展してきましたが、その主業務は動物飼育管理にあります。

いかに適切に動物飼育施設を維持し、実験動物を最良の状態で実験に供与できるかを考え、各クライアントの要望に応じていくことができる、すなわち、トータルアニマルケアを提案できる実験動物技術者を育成することを目指してきました。その中で、実験動物技術者の資格は人材育成の拠り所の一つであり、客観的な評価を受ける上で不可欠のもの

であると考えています。

(株)ケー・エー・シーでは、2001年に技術研修所を設立し、社員の教育・研修システムを設けて、そのカリキュラムに沿って人材育成を図っています。動物飼育管理・動物実験に関する教育は、基礎教育、一般及び専門教育、実践教育に大別され、一般及び専門教育の一貫として、実験動物技術者認定試験の支援教育を実施しています。

実験動物二級技術者支援教育

入社後、基礎教育の受講、各クライアントでのOJTでの飼育管理、投与・採血などの技術を経験し、その経験が1年を超える人を対象に受験資格を与え、実験動物二級技術者受験のための社内通信教育、「実験動物の技術と応用 入門編」を教材とした試験問題の配布と添削を5～6回実施し、学科試験前には模擬試験を、実技試験前には技術研修所での実技教育を1～2回実施しています。

実験動物一級技術者支援教育

実験動物二級技術者取得後5年を

経過した人で、一級試験受験希望者について[実験動物の技術と応用 実践編]を教材とした社内選抜試験を実施し、一定基準をクリアした人について、受験資格を与えています。

なお、日本実験動物協会主催の高度技術者養成研修(通称：白河研修)は人数が限定されているため、白河研修参加者と非参加者に分け、参加者には事前に実技研修を実施しています。また、学科試験合格者について、実技試験にむけての実技研修も実施しています。

なお、これらの受験に要する費用(合格後の資格認定料を含む)の一定額を会社が負担し、さらに資格取得を給与にも反映させています。実験動物技術者の資格は、個人に付与される資格ですが、会社の財産でもあると捉えています。現在、一級技術者は59名、二級技術者は311名とアニマルケア従業員の約75%が取得しています。

実験動物技術指導員

平成17年度から、実験動物技術者養成の新たな枠組みを構築するため

に、実験動物技術指導員・準指導員制度が発足しました。指導員の役割として、実験動物技術者の実地指導等、実験動物技術の教育・普及、日動協が実施する各種試験の試験官、実地試験問題の作成、各種研修講師を担当するなどされ、実験動物一級技術者認定者で、実験動物技術に関する実務を5年以上従事している人の中から、選抜されることになっています。(株)ケー・エー・シーとしては、日動協が実施する研修等に積極的に参加していきたいと考え、若手の一級技術者を中心に会社業務の一環として、技術指導員になってもらうようにしています。現在、「日常の管理」の技術指導、実技試験の試験官、研修会講師を担当させてもらっており、これらに参加することにより、自らの知識・技術の復習・点検、他社の技術指導員とのコミュニケーションもでき、視野をより広くできるなどのメリットがあると捉えています。

また、社内では技術指導員が自主的に月1回集まり、技術研修所が作成したケー・エー・シーオリジナルの

教材を基に勉強会を開いています。各人が種々のテーマの中から担当する教材を決め、それを発表して、理解を深めるとともに、社員研修会等で技術指導員自らが講師となって発表できる礎を築くことを目的としています。この取組みを継続していくことにより、実験動物技術者の知識・技術の向上と同時に、優れた実験動物技術者・技術指導員の増加にも繋がるものと考えています。

資格の活用

(株)ケー・エー・シーは、教育・研修システムの一環として、実験動物技術者資格取得に向けての社内教育を実施し、資格取得を奨励しています。これは社員個々の知識・技術レベルを一定水準に合わせると同時に、クライアントに提供する技術とサービスを客観的に評価してもらう要因になると考えています。例えば、GLP調査の際の調査資料には、実験動物一級・二級技術者数を記載することになっています。このことは実験動物飼育管理が適切に行われているかどうかを見極める基準になっている

証とも考えられます。

一方、資格を取得したものの、それが錆付いてしまっただけでは意味がありません。本人自身の研鑽が肝腎ですが、資格取得後のフォローアップ体制を整備しています。すなわち、研修所を核としたフォローアップ教育、集合教育、実践教育、グループリーダー教育を通じて、その知識・技術の再確認、リニューアルができるようにしています。

以上、(株)ケー・エー・シーの実験動物技術者認定制度に対する取り組みと資格の活用について述べましたが、基本的には、資格取得は本人の熱意と努力に左右されるものであり、会社はそれを如何にサポートしていくかであると考えています。これらの取組みは、他の民間企業でも同様にできていると捉えています。今後も、日本実験動物協会の種々の取組みに積極的に連携し、実験動物技術者のレベルの更なる向上をはかっていきたいと考えています。

「認定制度に対する実験動物技術者からの要望」

東北大学加齢医学研究所 実験動物管理室
井上 吉浩

はじめに

実験動物技術者は、医学、薬学、農学、獣医学、生物学等を土台とする総合科学である実験動物科学の推進役を担い、バイオメディカル研究の支援者として欠かせない存在になっている。近年の実験動物の福祉や動物実験倫理に関する新たな展開の中、今後益々、実験動物技術者としての専門性が問われ、その役割も大きくなっていくものと予想される。

このような趨勢を絶好の機会と捉え、実験動物技術者としての確固とした「認知」・「自立」に向けた活動が非常に重要になってくるものと考えられる。そのためには、今まで以上に実験動物科学技術の研鑽に励み、対外的な評価を得るために努力して行かなければならない。特に、「実験動物福祉の充実」や「動物実験の倫理的適正化」に向けた取組みは、実験動物業界全体が一致して取り組まなければならない重要な課題であり、実験動物技術者はその実践役・先導役としての役割が期待されている。

日本実験動物技術者協会について

日本実験動物技術者協会（以下、実技協）は、実験動物技術者におけ

る1) 知識と技術の研修、2) 資質と地位の向上、3) 学術的発展への寄与を目的として発足した。会員構成は、大学や研究所（35%）、製薬企業（31%）、受託研究機関（10%）、動物生産企業（10%）、人材派遣企業（10%）、その他（4%）と、実験動物に関連するあらゆる業種、職域からなる極めてユニークな学術団体である。また、（社）日本実験動物協会（以下、日動協）において認定される実験動物技術者（二級・一級）の有資格者あるいはその予備会員を多数有していることも大きな特徴である。

実験動物技術者認定制度に対して

近年、日動協における実験動物技術者認定制度は、種々の改善がなされ整備が進められてきた。特筆すると、二級および一級技術者養成のための教育カリキュラムの整備、学科試験、実地試験における技術水準に見合った研修システムや試験システムの整備、また、特例認定高校・専門学校（二級技術者対象）、特例認定大学（一級技術者対象）の制度を設け、最終学年次での受験を可能としたこと、さらに実験動物技術指導員・準指導員の認定制度を発足さ

せ、実験動物技術者の新たな養成システムが構築されてきたことは、実験動物技術者の技術水準を恒常的に確保する上で非常に実効のある制度になってきていると評価している。日動協なканずく教育・認定専門委員会各位のご努力に敬意を表したい。現制度に対する要望として、先ず、1) 資格認定者への生涯教育研修（資格の更新手数料に見合うスキルアップ）の機会（講習会等）、2) 受講に経費のかからない地方開催の講習会等、を検討いただきたい（有資格者からの声を抜粋）。実技協としても実現に向けて協力していきたい。

実験動物技術者の国家資格化に向けて

1. 日動協認定の「実験動物技術者」資格について

農林水産省が主務省である日動協認定の「実験動物技術者」資格は、実際は「民間資格」としての位置付けである。しかしながら、試験は学科試験と実地試験からなり、いずれも高度な専門性を有しており、試験内容は専門知識や専門技術だけでなく、実験動物と社会、動物福祉に関する内容も含んでおり、実験動物技

術者の「人材育成」の観点から十分評価に値する資格であると考え。近年においては、実験動物技術者は実験動物業界ではプロとしての一定の能力担保がされて、十分認知されていること、民間企業においては、獣医師資格と同様に採用や昇給に優遇され易くなっている現状があること、企業によっては資格手当を支給しているところもあること、大学や研究所においては、飼育管理要員としての外注職員の条件に資格取得者を組み込めるようになったことから、「資格としての社会的ステータスが向上」してきていることは間違いない事実である。以上のことから、日動協認定の実験動物技術者資格は、技術者の資質向上および実験動物技術の発展に十分寄与していると考えられる。

2. 実技協は実験動物技術者資格の「国家資格化」を目指している

一方、実技協においては、実験動物技術者の資質の向上と社会的地位の向上を目指している。そのためには、現資格の国家資格への昇格が最善と考えている。その理由として、本会の設立当初からの目的である1) 実験動物技術者の資質の向上のために（職業人としての「自立」）および、2) 社会的地位の向上のために（確固とした社会的「認知」）である。これらは、実技協の組織としての最大の目標であり、実験動物技術者としての誇りとやる気を起こさせたい、一見して高度に見えない業務内

容も多く、正当な評価が必ずしも得られていない、実験動物技術者の専門性（職業ライセンスとしての位置付け）を認知させたい、研究者の実験動物技術者への認識を改めさせた等の背景がある。一方、別の視点から、3) 実験動物福祉の充実のためには実験動物技術者の力が不可欠であるから、また、4) 研究者へのサービスだけでなく、人道的な動物実験を推進していくためにも実験動物技術者の力が不可欠であるから、と考える。

3. 何故、国家資格への移行が難しいのか？

実技協においては、42年の歳月が経った今なお模索検討の繰り返しばかりで成果を出せないでいる。2007年に実技協で行ったアンケート調査（対象；会員個人ではなく、研究機関）において、公的な評価が得られる資格が必要であると回答したのは大学60%、研究所46%と、予想に反して低い数値であった。必要と思わない理由として、組織として困っていないこと、給与に反映されるのは組織上好ましくない等との回答であった。しかしながら、現実として大多数の実験動物技術者は国家資格化を望んでいる。それでは何故、国家資格への移行が難しいのか。1) 政治・行政的な背景（法律に基づかなければならないこと）、2) 実技協の組織としての力量不足（適切な言葉が見当たらないが純学術団体とはいえない側面、非法人である等）、

3) 日動協の特色（個人会員がいない、会員を有する学会等から委託されていない等）が挙げられると思う。

4. 国家資格化への道

それでは、具体的に国家資格への昇格の可能性について考えてみる。医師は医師法、弁護士は弁護士法というように、法律に基づいて、国（あるいは国から権限委譲された団体）が実施する試験により、個人の知識や技術が一定の段階以上に達していることを行政が確認し、行政の権限に基づいた一定の行為（業務）が許可されるもので（業務独占資格）、一般人には禁止される。業務独占資格でない国家資格であっても、一定の権限を有する資格でなければ、それに関連する業務はできないことになっている（業務制限）。

以上の要件に照らし合わせて考えてみると、実験動物の生産、飼育、これに関わる実験動物技術が専門性と特殊性があることに相違ないが、国家資格となるに必要な十分な要件を満たしていると客観的な評価ができて得るだろうか、また、実験動物技術者資格を国家資格とすることで、動物実験に対しての不利益な法規制の介入や実験動物を用いた研究の自由性を束縛するような方向に転嫁しないだろうか、危惧する面も多々出てくる。以上のことから、国家資格となるには法的な根拠（法的整備、認定基準の見直し、国家資格として新設）が備わらなければならないことから、その実現は非常に困難である

ことが予想される。しかしながら、今、実技協ができることは国家資格化を目指した取組みを推進しながらも、現状の認定資格から一步付加価値のある資格へ昇格させることではないかと考えている。すなわち、現状の認定資格を公的な評価が得られる資格として充実させていくことが現実的な方向性であろうと考えている。例えば、実験動物技術における基礎および高度な知識・技術を有する実験動物科学技術的要素の上に、実験動物の福祉・倫理に関する卓越した知識・認識を有する実験動物福祉的要素を強力に加え、愛護・福祉・倫理の側面を持たせた形で「専門性・特殊性」を付加することは十分可能であると考え。認定機関である日動協におかれましても、実験動物技術者資格を公的な評価が得られる資格へ昇格させるために、是非、実技協と一緒に検討していただきたいと切に願っている。

国家資格または公的な評価が得られる資格の実現のために

1. 法的な面からのアプローチ

a) 動物愛護管理法および実験動物飼養保管基準の見直し時に対応して、実験動物技術者資格の概念を導入するよう働きかける。これは、実験動物を扱う側と動物実験を行う側との一致した歩調が大事であり、実験動物業界が足並みを揃えた形で推し進めなければならない。b) 実技協の公益法人化移行の早期実現を目指し、社会的信頼性を保証し、組織力の強化を図

ることも一方で重要である。

2. 実技協と日動協とのタイアップでのアプローチ

a) 国家資格または公的な評価が得られる資格に移行しやすい教育カリキュラムと認定制度の更なる検討を推進する。試験の難易度は維持しながらも現資格の更なる専門性の向上を目指す。b) 今まで以上に実験動物科学技術の研鑽を奨励し、教育・普及に努める。日動協、実技協ともに新人・初心者への教育・育成を強化していくことがベースとなる。c) 有効な認定機関の形態を模索する。日動協と実技協が有機的に連携し、国家資格または公的な評価が得られる資格へ向けて有効な認定機関の形態を検討していく。できれば、実技協と日動協とで「資格・教育研修のあり方検討ワーキンググループ（仮称）」を立ち上げられればと期待している。d) (社)日本実験動物学会、実験動物関連諸団体・業界との連携を深める。公的な評価が得られる資格への昇格のためには、実験動物業界全体が一致した認識を共有することが非常に重要と考える。特に、実験動物学会とのより緊密な連携を通して、国や社会への働きかけなど実験動物界全般に亘る大きな視野での推進を図りたい。

将来に向けて

終わりに、実技協はこれからも実験動物技術者資格の「国家資格また

は公的な評価が得られる資格」を目指して活動を展開していく所存である。実技協の公益法人化への移行も視野に入れながら、資格認定の労を執って頂いている日動協はじめ実験動物関連団体等と連携し、難題である国家資格化に向けて一步でも二歩でも実現に近づけたいと考えている。

一方、実験動物の「愛護」・「福祉」・「倫理」へのスポットライトが日増しに強くなり、「実験動物福祉の充実」や「動物実験の倫理的適正化」に向けた取組みは、実験動物業界一体となって取組まなければならない最重要課題の1つとなっている。前述のように、実験動物福祉の充実のためには実験動物技術者の力が不可欠であり、人道的な動物実験を推進していく力になっていかなければならないと考える。すなわち、実験動物技術者は、その役割を、責任をもって実践し、先導役を務めなければならないと考える。そう言った意味では、実験動物技術者の「専門性」と「有用性」を強調できる良いチャンスと考える。以上のような背景からも、実験動物技術者の国家資格または公的な評価が得られる資格昇格への希望の芽が膨らんでくることを期待している（良き風が吹くことを念じて）。

最後に、(社)日動協におかれましては、これまで以上に実技協との良きパートナーとして、ご指導・ご鞭撻を心よりお願い申し上げます次第である。

ノーサンのバイオ技術

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

FEED

実験動物用飼料

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

疾患モデル動物用飼料

放射線照射滅菌飼料

精製・添加飼料

昆虫用飼料

ADME/TOX

薬物動態・毒性関連業務

薬物代謝関連試薬(マイクロソーム・肝細胞)販売及び受託試験
大腸菌発現系ヒトP450販売及び発現系を用いた受託試験
ヒトP450抗体販売
トランスポーター関連試薬販売及び受託試験
血液脳関門関連商品販売及び受託試験
小腸での医薬品吸収性受託試験
3次元培養皮膚モデルを用いた腐食性・刺激性受託試験
肝障害、腎障害マーカー販売
細胞毒性受託試験

ANIMAL

実験動物

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

動物実験受託

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

遺伝子改変マウス作製

トランスジェニックマウス作製
ノックアウトマウス作製
遺伝子解析

PROTEOME

タンパク質発現受託

昆虫細胞・哺乳細胞・大腸菌・カイコを
用いたタンパク質発現

抗体の受託生産

DNA免疫法による機能性抗体の作製

日本農産工業株式会社 バイオ部

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



ノロウイルス研究の現状と マウスノロウイルス研究の有用性

国立感染症研究所 ウイルス第2部 第1室 室長 片山和彦
 国立感染症研究所 ウイルス第2部 第1室 岡智一郎
 国立感染症研究所 バイオセーフティ管理室 高木弘隆

はじめに

ノロウイルス (Norovirus: NoV) は、世界中に広く分布し、年間数十万人から数百万人に及ぶ非細菌性急性胃腸炎患者を発生させ続けている。2006年から2007年にかけてNoVによる非細菌性食中毒の大規模な流行があり、マスコミにも大々的に取り上げられたことから一般に広く知られるようになった。現在もNoVによる集団食中毒事件数、食中毒患者数は、食中毒の原因別ベスト10において不名誉な第一位を記録し続けており、大きな社会問題となっている。

る。しかし、NoVの基礎研究はそのカギとなる培養細胞によるウイルスの増殖システム、感染モデル動物が存在しないことが足枷となり、進行がきわめて遅い。

近年、ウシやブタからもNoVが見つかるが、培養細胞で増殖させることはできない。マウスノロウイルス (murine norovirus; 本稿では以降MuNoV,とする) は、2003年に米国でプロトタイプMuNoV-1が発見された。その後MuNoV-1は、マウスの培養細胞の一種であるRAW264.7細胞で増殖させることが

可能であることが報告され、一躍、人に感染するNoV (本稿では以降HuNoVとする) のモデルとして脚光を浴びた。この発見以来、多くのNoVの研究者がMuNoV研究に参入することとなった。MuNoVは免疫系遺伝子 (STAT-1) ノックアウトマウスの脳から分離されたため、免疫不全なマウス種でのみ増殖可能な特殊なウイルスであると考えられていた。しかし、2006年には米国の実験用マウスでの血清学的調査においてMuNoV抗体が22%に達する高い陽性率を示すことが報告された。ま

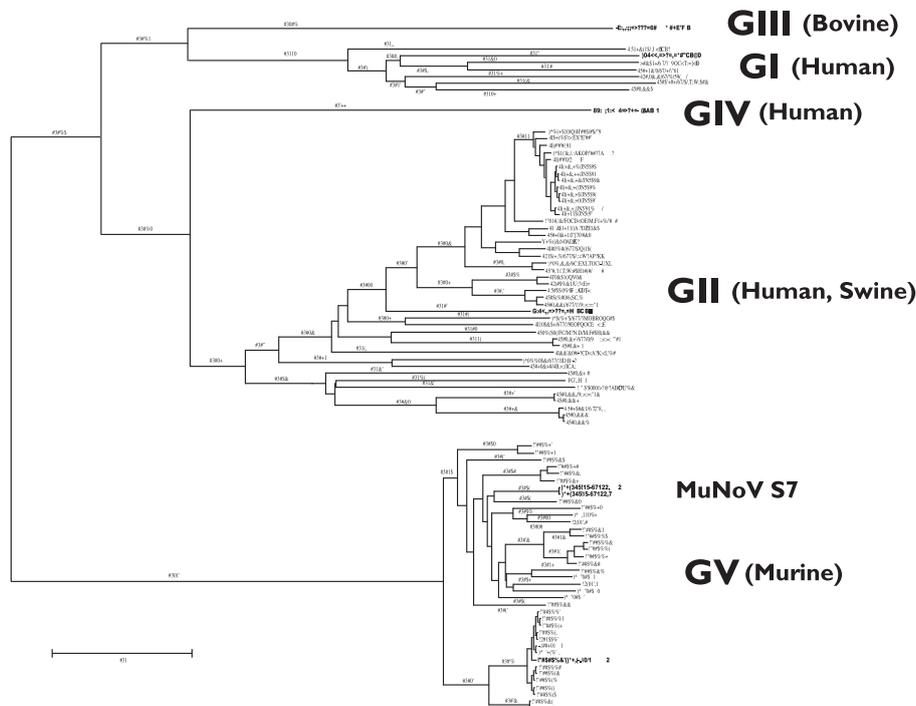


図1. ノロウイルスのゲノム全長塩基配列を用いたNJ法による分子系統樹。Clustal Wを用いてアライメントし、Kimura's 2パラメータ法によってdistanceを算出した。OTUの出現頻度はブートストラップ法を1000回行い検定した。ノロウイルスのgneogroupはクラスタの左側にボールドレターで示した。括弧内には、宿主を示した。各genogroupのスタンダード株をボールドレターで示した。(日動協ホームページ参照)

た、MuNoVが通常のマウスでは持続感染を起こすことも示された。さらに、感染8週間後のマウス腸間膜リンパ節、空腸、脾臓などからウイルスRNAが検出されたことが報告され、糞口感染によるMuNoVの伝播が示唆された。以上から、MuNoVは米国だけではなく、広く世界中のマウスに分布している可能性が示唆された。MuNoV感染がマウスを用いた実験結果に何らかの影響を与えるとしたら、問題は深刻である。我々は、早急に感染予防および、MuNoVの排除を行う必要がある。しかし現在、我々は、MuNoVに関して余りに無知である。

本稿では、日本で分離されたMuNoV-S7株を用いて行ったウイルス学的解析結果を示しながら、MuNoVの性状、ゲノム構造、今後のMuNoVの基礎研究について考察する。

マウスノロウイルスの分類上の位置

NoVは、カリシウイルス科 (*Caliciviridae*) に属するウイルスである。*Caliciviridae*には、*Norovirus*の他に、*Sapovirus*, *Lagovirus*, *Vesivirus*, *Nebovirus*など合計5つのウイルス属が存在する (<http://www.ICTVonline.org/virusTaxonomy.asp>)。 *Norovirus*とはウイルスの属名である。正式には、カリシウイルス科 (*Caliciviridae*)、ノロウイルス属 (*Norovirus*)、ノーウォークウイルス種 (*Norwalk virus*) であるから、“ノーウォークウイルス”と呼ぶのが正しい。今のところ *Norovirus*のウイルス種は、*Norwalk virus*のみであるため、マスメディアなどで多用され、定着したノロウイルスをウイルス名として使用してい

ても問題はない。本稿では、慣例に従って *Norwalk virus* をノロウイルス (NoV) とする。

NoVのゲノム塩基配列は多様性に富んでおり、遺伝学的に5つの genogroup に分けられる。 Genogroup I,

II, IV (GI, II, III) がヒトに感染するNoV (GIIにはブタに感染する株もある)、GIIIがウシに感染するノロウイルスである。そしてGVがMuNoVである (図1)。HuNoVは、ゲノムの遺伝子配列が多様性に富んでおり、GI, GIIそれぞれに15種類以上に登る genotype が存在する。これらの genotype は、互いにウイルスの抗原性が異なると考えられている。MuNoV-1は、その形状とゲノムの性状からNoV5番目の genogroup, GVとして発見され、科学雑誌 *Science* に報告されたプロトタイプ MuNoVである (6)。以来、北米、ヨーロッパなどから次々と新たな MuNoV株が分離され、塩基配列データがデータベースに登録された。東京大学 (現、日本大学教授) の遠矢らが発見したMuNoV-S7株は、我が国で飼育している健全な実験用マウスの糞便サンプルから分離培養された株の一つである。ウイルスの形状は直径約38nmの球形粒子であり、表面が不明瞭な構造に覆われているNoV特有の電子顕微鏡像を示した (図2)。電子顕微鏡観察ではHuNoV

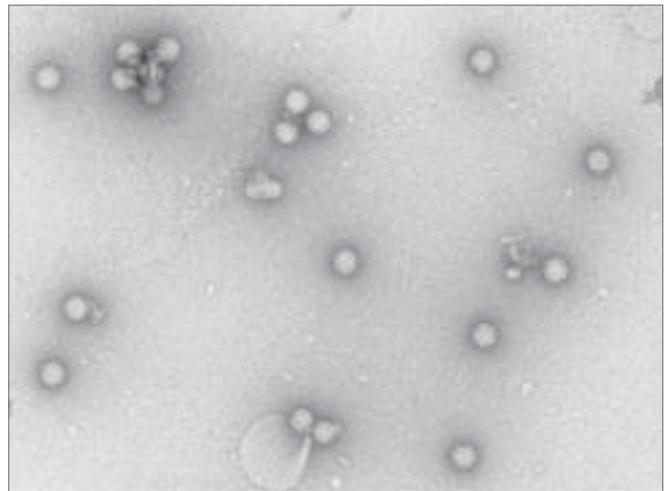


図2. ノロウイルスの電子顕微鏡像。RAW細胞で増殖させたマウスノロウイルスを分離精製し、カーボングリッド上に固定した後、酢酸ウランでネガティブ染色して5万倍で観察した。(日動協ホームページ参照)

とMuNoVの区別は付かない。筆者らは、日本で初めて分離されたMuNoV-S7が遺伝学的にどの程度既報の分離株と異なっているのか、MuNoVにもHuNoVに存在するような複数の抗原性の異なる Genotype が存在するのかを調べるため、MuNoV-S7株の全塩基配列を決定して、分子系統解析を行った。

Clustal Wでデータベース上に genome 全長塩基配列が報告されている他のNoV株とアライメントを作製し、近隣結合法による分子系統解析を行った (図2)。 MuNoV-S7株はMuNoVのGVクラスターに位置していた。NJ法による分子系統樹の枝長は、遺伝学的な距離 (genetic distance) を表している。HuNoVGI, GIIクラスターと比較すると、MNVは株間の遺伝学的隔たりが少なく、各株の genetic distance はGI, GIIにおける genotype 間の genetic distance を下回るものが明らかになった。現在までに報告された MuNoVは互いにホモロジーの高い genome 塩基配列 (88%以上の相同性) を有しており、HuNoV

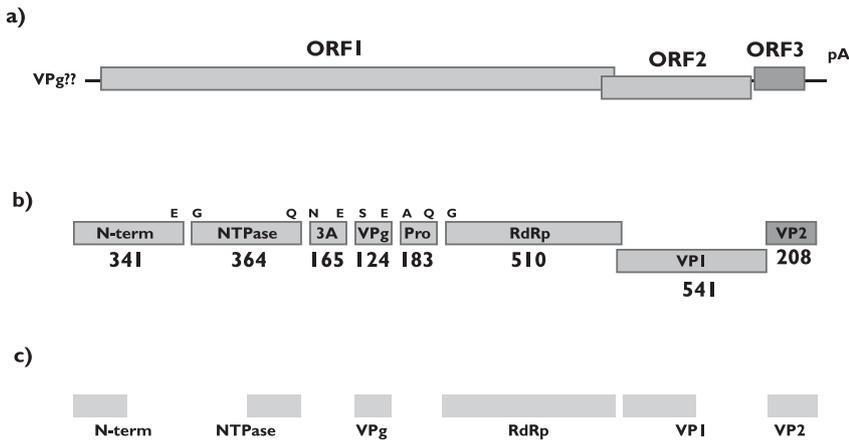


図3. a) マウスノロウイルスの遺伝子構造。全長7382塩基、ORFを□のボックスで、3'末端のポリA配列をpAで示した。b) ORF1、ORF2、ORF3から翻訳されるタンパク質を示した。ORF1の推定上の切断点と6種類の非構造蛋白質のアミノ酸残基数を示した。ORF2、ORF3から翻訳されるVP1、VP2とそのアミノ酸残基数を示した。c) 大腸菌を用いたリコンビナントタンパク質の発現に成功した領域を示した。(日動協ホームページ参照)

GI, GIIにおける一つのgenotypeクラスターとしてまとまっていることが明らかとなった。MuNoVのクラスターに注目してMuNoV内の隔たりを調べると、S7株はプロトタイプMuNoV-1株からgenetic distance 0.1程度離れた株として存在し、かつ他の全ての株と0.041以上の隔りがある。したがって、S7株は、欧米のマウス由来のウイルスではなく、我が国において実験用マウスに感染を繰り返してきた固有の株である可能性が示唆された。

現在、ヨーロッパ、北米、アジアから核酸データベースにMuNoVの全長genome塩基配列の登録が行われ、すでに50株以上の配列が報告されている。MuNoVは、HuNoVに比べgenomeの相同性が高いが、欧米でデザインされたMuNoV検出用システムでは、MuNoV全ての株の検出に対応できない(3)。我々は、日本の流行株を考慮に入れたユニバーサルなMuNoV核酸検出系、抗原及び抗体検出系の構築を急ぐ必要がある(8)。

MNV genomeの構造、特徴、RAW細胞におけるウイルスタンパク質の発現

MuNoV-S7株のgenomeは、全長7382塩基であり、genome 3' endにpoly A配列を有していた。Genomeには3つのORFが存在していた。HuNoVとのアナロジーから(5)、ORF1は6種類の非構造タンパク質(N-terminal protein: Nterm,

NTPase, 3A-like protein: 3A, VPg, Protease, RNA dependent RNA polymerase: RdRp)、ORF2にウイルス粒子を形成するメジャー構造蛋白質(VP1)、ORF3にウイルス粒子形成に関与しているマイナー構造蛋白質(VP2)がコードされていると考えられた。図にはORF1の切断点が明らかにされているHuNoVを基準に、ORF1ポリプロテインの切断点を示した。筆者らは予想されたORF1の6種類のタンパク質コード領域、VP1、VP2コード領域をそれぞれ大腸菌で発現させ、リコンビナントタンパク質を大量に調整して、ウサギおよびモルモットに免疫することで部位得的抗体を作製した。作製した抗体は解析用ツールとして、ウェスタンブロッティング(WB)、免疫蛍光抗体染色(IF)、免疫沈降などに用いた。

ORF1にコードされる非構造蛋白質は187 kDaのポリプロテインとして細胞内で翻訳された後、Nterm, NTPase, 3A, VPg, Protease, RdRpに自身のコードするproteaseによっ

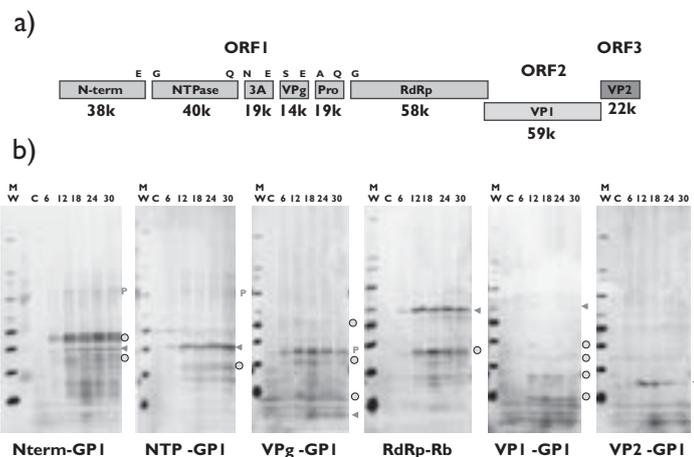


図4. a) ORF1、ORF2、ORF3から翻訳されるタンパク質を示した。ORF1の推定上の切断点と6種類の非構造蛋白質のアミノ酸残基数を示した。ORF2、ORF3から翻訳されるVP1、VP2とそのアミノ酸残基数を示した。b) 部位特異的抗体を用いたWB解析結果。MWは分子量マーカー(Magic Mark II, インビトロジェン)、Cは非感染細胞を示した。△は予想される分子量、Pはプレカーサー、○はそれ以外のバンドを示した。

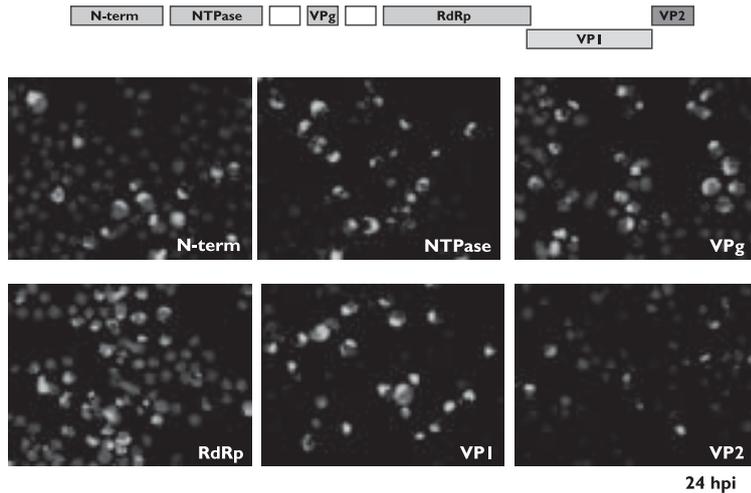


図5. マウスノロウイルス感染後24時間の蛍光顕微鏡像。RAW細胞にマウスノロウイルスを感染させ24時間後にパラホルムアルデヒドで固定し、部位特異的抗体を反応させた。部位特異的抗体はAlexa Fluor 488ラベル2次抗体で検出した(緑色)。DAPIにより細胞核を染色した(青色)。部位特異抗体の作製に用いた領域を上部模式図で示した。蛍光顕微鏡像左下に、検出に用いた部位特異的抗体を示した。撮影はBIOZERO(キーエンス社)で行った。(日動協ホームページ参照)

て自己切断されると思われる。しかし、HuNoVは培養細胞で増殖させることができないため、これらの考察は、人糞便より分離精製した感染性NoV粒子より抽出したRNAのトランスフェクション(4)や、リバーシジェネティクスのシステムを用いて解析した結果(7)に基づいている。つまり、現在までに得られた知見が実際のウイルスの複製と異なる可能性は否定できなかったのである。そこで、次にRAW細胞にMuNoV-S7株を感染させ、感染細胞をタイムコースに従ってハーベストし、ウイルス感染によって起きるウイルスタンパク質合成とプロセッシングをWestern Blottingを用いて解析した(図4)。

Ntermの切断は、感染6時間後にはすでに予想されたサイズ38 kDaにバンドが認められた。Nterm-NTPプレカーサーのバンドも感染後6時間より30時間に至まで観察された。38 kDaより大きなサイズのバンドは、Ntermのリン酸化産物の可能性

もある。NTPaseも、Ntermとほぼ同様の結果を示した。VPgは、約35 kDaの3A-VPgプレカーサーのバンドが主に観察された。予想切断サイズである14 kDaのバンドはわずかしこ認められなかった。18時間以降に14 kDaのバンド強度が増強したこと

から、3A-VPgプレカーサーの切断は他のプレカーサーよりも遅いと思われた。32 kDa, 58 kDaにもバンドが観察された。後述するが、VPgはRNAによる何らかの修飾を受けており、マルチバンドとして検出された可能性がある。RdRpは、感染後6時間から58 kDaの予想分子量のバンドが観察された。ネコカリシウイルスで報告されているpro-pol(proteaseとRdRpがつながったプレカーサー)は存在せず、ORF1プレカーサーからのRdRpの切断は、極めて早く起きると考えられた。36Kのバンドが12時間後から観察され、18時間後にピークとなった。RdRpは、プロテアーゼによるさらなる切断を受けている可能性があるが、理由は不明である。以上、ORF1にコードされる187 kDaのポリプロテインの切断は早く、タイムコースでは全く観察されなかった。Nterm-NTPase, 3A-VPgプレカーサー、protease、RdRpに速やかに切断さ

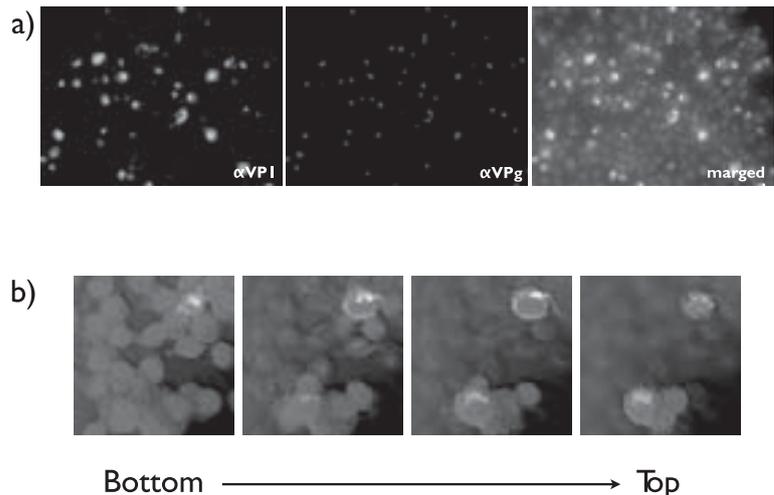


図6. a) マウスノロウイルス感染後24時間の蛍光顕微鏡像。RAW細胞にマウスノロウイルスを感染させ24時間後にパラホルムアルデヒドで固定し、部位特異的抗体を反応させた。抗VP1抗体はAlexa Fluor 488ラベル2次抗体で検出した(緑色)。抗VPg抗体はAlexa Fluor 594ラベル2次抗体で検出した(赤色)。DAPIにより細胞核を染色した(青色)。撮影はBIOZERO(キーエンス社)で行った。b) 共焦点レーザー顕微鏡によって2重染色した細胞をスライド底面から上面にスライスを作製した。底面(Bottom)から上面(Top)の4枚のスライスを示した。(日動協ホームページ参照)

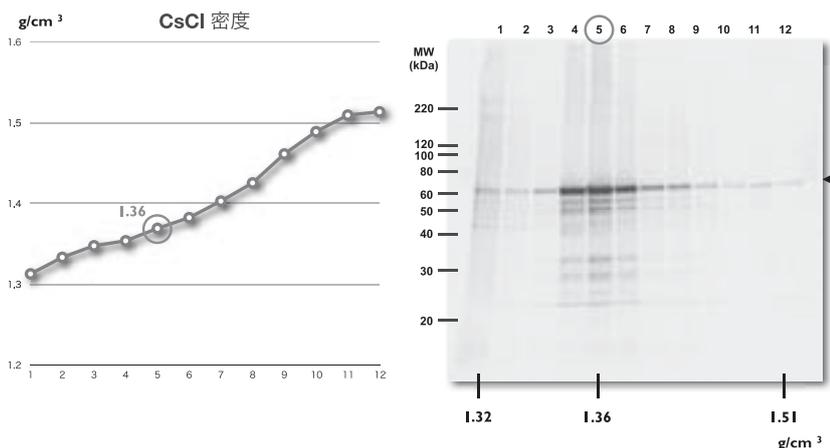


図7. マウスノロウイルスの塩化セシウム浮上密度勾配遠心の結果。左パネル縦軸に塩化セシウム密度を、横軸に遠心チューブ上部から12フラクションに分けてサンプリングした各フラクションナンバーを示した。○印は、RAW細胞に対する感染価が最も高かったフラクション5を示した。左パネルは、各フラクションをSDS-PAGEし、PVDF膜に転写してボンソーレッドで染色したプロットを示した。(日動協ホームページ参照)

れ、その後Nterm-NTPase, 3A-VPgの切断が起きると考えられた。特に、3A-VPgプレカーサーの切断は遅く、この速度さがMuNoVのレプリケーションサイクルをコントロールしている可能性が示唆された。

VP1は、12時間後、24時間後に59 kDaにバンドが認められた。VP1の合成は、恒常的に行われているのではなく、12時間サイクルで行われている可能性がある。VP2は、22 kDa付近の予想されたサイズのバンドが認められたことから、HuNoVで報告されているリン酸化(2)は受けていないと思われた。

次に、ウイルスタンパク質の細胞内発現を、部位特異的抗体を用いたIFで観察した(図5)。非構造蛋白質Nterm, NTPase, VPg, RdRpは、核の近傍に大きなベジクル状の染色像を示した。構造蛋白質VP1, VP2の発現も認められた。非構造蛋白質VPgをAlexa Fluor 594で赤に、構造蛋白質VP1をAlexa Fluor 488で緑に染色し、細胞内における構造蛋白質と非構造蛋白質の局在を観察した。

VP1とVPgは細胞内でベジクル状の染色像を示した。二つのイメージを重ねると、VP1(緑)とVPg(赤)の局在は、核の直近外側のベジクル状の構造に共局在すること(黄色からオレンジ色)が明らかになった。共焦点レーザー顕微鏡により、細胞底面から細胞上部へスキャンしたところ、両者の局在は、上下に重なっているのでは無く、異なる焦点深度において共局在が一致していることが明らかになった。MuNoVは、小胞体(ER)近傍に巨大なベジクル状構造を作り、そこで複製を行っている可能性がある。

此所までに得られた結果は、HuNoVのリバースジェネティックス、感染性RNAのトランスフェクションなどによって得られた結果とよく似ている。しかし、タンパク質発現の自己制御の可能性、ポリプロテインの切断順序、実際に機能するウイルスタンパク質の性状は本研究で初めて明らかにされたのである。

マウスノロウイルス粒子の構造

NoVの粒子構造は、クライオ電子顕微鏡解析、X-ray結晶構造解析(10)などですでに解明されたと考えている研究者が多い。しかし、これらの研究は、組換えバキュロウイルスを用いた昆虫細胞の発現システムで、作出されたウイルス様中空粒子(VLPs)(1)や、大腸菌やイーストの発現システムで発現されたりコンビナント構造蛋白質を(9)用いて行われた研究結果であり、感染性粒子を用いて行われた研究結果ではない。

著者らは、感染性のあるMuNoV粒子(Native MuNoV)の内部構造(インテリア)、外部構造(エクステリア)を明らかにするため、³⁵S-Methionine(³⁵S-Met), ³⁵S-Cysteine(³⁵S-Cys)を用いて感染性ウイルス粒子を作製した。粗精製したアイソトープラベルウイルス粒子は、塩化セシウム浮上密度勾配遠心法により分離し、チューブトップより1~12のフラクションに分画して、解析に用いた(図7)。1~12のフラクションをSDS-PAGEし、ボンソーレッドで染色した後、WBを行った。ボンソーレッドの染色像では、フラクション1~12に、約60 kDaのメジャーなバンドが確認された。60 kDaのバンドはフラクション5にピークが存在した。WBにより60 kDaのバンドはVP1であることが確認された。各フラクションに含まれる感染性粒子濃度を調べるため、RAW細胞に接種しCCID50を求めたところ、フラクション5にピークが存在した。MuNoVの感染性粒子は、フラクション5に濃縮されており、その密度は1.36 g/cm³であることが明らかになった。患者糞便から精製し

たHuNoV感染性粒子の示す密度は 1.38 g/cm^3 である (4) から、MuNoV感染性粒子は、HuNoVより若干軽い事が明らかになった。感染性のMuNoV粒子には、脂質など比重の軽い何かアソシエートしているか、修飾を受けている可能性がある。

感染性粒子を構成するウイルス蛋白質を解析するために、1~12のフラクションに対して、抗VP1抗体で免疫沈降 (IP) を行った (図8)。その後、沈降したペレットをSDS-PAGEし、PVDF膜に転写してラベルされたタンパク質をBAS2500 (富士フィルム) で解析した。感染性粒子が濃縮されたフラクション5に注目すると、60 kDaのメジャーなバンドを残し免疫沈降前 (preIP) に、50 kDa以下のサイズに複数観察されたバンドが減少することが明らかになった。同時に、データには示さないが、抗VPg抗体、抗VP2抗体でも

免疫沈降を行ったが、これらの抗体では、何も沈降できなかった。IP後の各フラクションの感染性粒子濃度をRAW細胞で測定したところ、IPの前後で感染価に変化は認められなかった。従って、抗VP1抗体を用いたIPで、感染性粒子を沈降可能であることが示された。IP後に観察されたマイナーなバンドを調べるため、抗VP2抗体、抗VPg抗体を用いたWBを行ったところ、25 kDaのバンドはVP2であることが明らかとなった。更にVPgのWBの結果、VPgは低分子量から高分子量に至る色々なサイズのバンドとして検出された。興味深いことに、サンプルを加熱変性後、RNase処理して解析すると、約60 kDa、20 kDaの2本のバンドのみが観察されることが分かった。つまり、VPgはゲノムRNA分子に強固に結合している可能性が示唆された。以上の結果をまとめると、感染性ウイルス粒子はVP1がウイルス粒

子の外側に位置し、VP2とVPgはVP1で形成された粒子内部に内包されていることが明らかになった。内包されたVP2は、アイソトープのカウントから算出すると、約6分子以上であることが示唆された。VPgは加熱変性で外すことのできない程強固にゲノムRNAと結合していることも明らかとなった。ゲノムの5'末端には、VPgが結合しており、ORF1の翻訳開始に重要な役割を果たしていると考えられていた。しかし、実際にNoVにおいて、VPgの結合は証明されたことは無く、ゲノム末端の構造は依然として不明である。今後、MuNoVを用いて、VPgの結合様式について詳細に調べる予定である。

終わりに

NoVが発見されてからすでに40年の月日が流れたが、培養細胞による増殖系、モデル動物の開発に至っていない。研究者の知恵と努力により、NoVの細胞への侵入機構、ゲノムの翻訳開始機構、粒子の構造など多くの研究は、組換えタンパク質や遺伝子工学の技術を駆使して得られた結果なのである。我々は、それらをあたかも真実のように語り、NoVを理解したつもりになっている。しかし、初心に戻って冷静に考えてみると、真実を目の当たりにしたことはほとんど無かったのである。RAW細胞で増殖させることが可能で、マウスを感染動物として持つMuNoVは、NoVの真実に迫る研究の扉を開ける黄金のカギなのかもしれない。

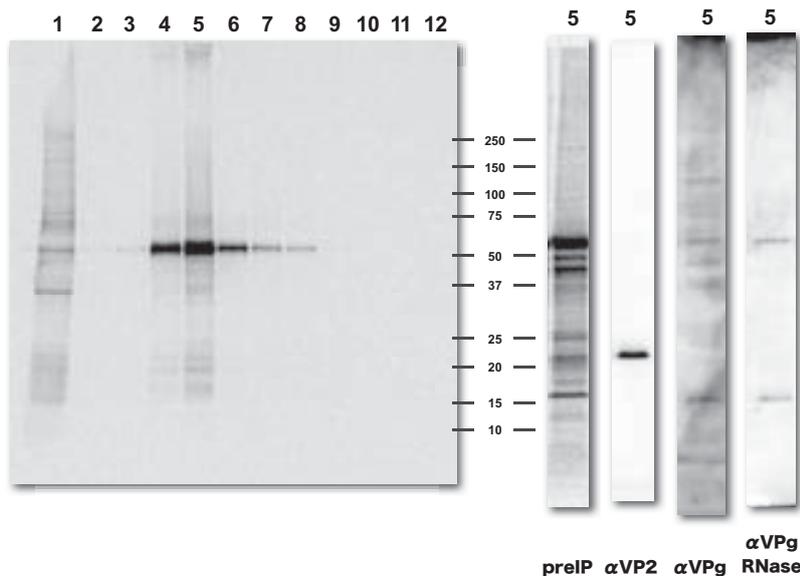


図8. 塩化セシウム浮上密度勾配によって分画された12フラクションを抗VP1抗体で免疫沈降 (IP) し、SDS-PAGE後PVDF膜に転写して、BAS2500によって解析した。左パネル上部にフラクションナンバーを、左に分子量を示した。フラクション5のIP前のプロットをpreIP, 抗VP2抗体によるWBを α VP2, 抗VPg抗体によるWBを α VPg, RNase処理後のVPgのWBを α VPgRNaseとして示した。(日動協ホームページ参照)

参考文献

- Ball, J. M., D. Y. Graham, A. R. Opekun, M. A. Gilger, R. A. Guerrero, and M. K. Estes. 1999. Recombinant Norwalk virus-like particles given orally to volunteers: phase I study [see comments]. *Gastroenterology* 117:40-8.
- Glass, P. J., L. J. White, J. M. Ball, I. Leparc-Goffart, M. E. Hardy, and M. K. Estes. 2000. Norwalk virus open reading frame 3 encodes a minor structural protein. *J Virol* 74:6581-91.
- Goto, K., N. Hayashimoto, M. Yasuda, T. Ishida, S. Kameda, A. Takakura, and T. Itoh. 2009. Molecular detection of murine norovirus from experimentally and spontaneously infected mice. *Exp Anim* 58:135-40.
- Guix, S., M. Asanaka, K. Katayama, S. E. Crawford, F. H. Neill, R. L. Atmar, and M. K. Estes. 2007. Norwalk Virus RNA is infectious in mammalian cells. *J Virol*.
- Hardy, M. E. 2005. Norovirus protein structure and function. *FEMS Microbiol Lett* 253:1-8.
- Karst, S. M., C. E. Wobus, M. Lay, J. Davidson, and H. W. t. Virgin. 2003. STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. *Science* 299:1575-8.
- Katayama, K., G. S. Hansman, T. Oka, S. Ogawa, and N. Takeda. 2006. Investigation of norovirus replication in a human cell line. *Arch Virol* 151:1291-308.
- Kitajima, M., T. Oka, Y. Tohya, H. Katayama, N. Takeda, and K. Katayama. 2009. Development of a broadly reactive nested reverse transcription-PCR assay to detect murine noroviruses, and investigation of the prevalence of murine noroviruses in laboratory mice in Japan. *Microbiol Immunol* 53:531-4.
- Tan, M., and X. Jiang. 2005. The p domain of norovirus capsid protein forms a subviral particle that binds to histo-blood group antigen receptors. *J Virol* 79:14017-30.
- Venkataram Prasad, B. V., M. E. Hardy, and M. K. Estes. 2000. Structural studies of recombinant Norwalk capsids. *J Infect Dis* 181 Suppl 2:S317-21.

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

研究支援事業

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

●受託事業本部
実験動物総合受託事業
弊社は、当分野のバイオ企業としてありたいと多岐にわたる事業展開を志しております。このため、実験動物の飼育管理から実験動物の飼育環境の改善、実験動物の飼育管理の効率化、実験動物の飼育管理の最適化まで、お客様の研究開発に貢献いたします。

●国際プロジェクト
アジア関連事業
では、これまで中国、韓国、台湾などのアジア各国、地域と協業関係・技術提携、交流、教育提携、実験動物及び実験動物関連器材の輸出入販売などの活動を行ってまいりました。21世紀はアジアの時代。これからは国際関係との友好事業を推進いたします。

●NT-5プロジェクト派遣センター
技術者派遣事業
弊社では、研究分野における技術者派遣事業を行っております。人材確保には、業界の要請の中で培った高度なスキル、食品、生薬開発関連などに独自の知識・ノウハウが最大の強みであり、求めるスキルを持った最適な人材を派遣いたします。

●環境検査プロジェクト
環境検査関連事業
弊社は、感染因子科、生分科など管理の観点から検出される、病状、食品汚染、医薬品と関わる環境検査を承っております。施設環境の現状把握にお役立て下さい。

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

●クロマトレットプロジェクト
分析装置開発事業
弊社は、株式会社「イオテクノ」の日本工場に2006年度中東産出の超純水（超純水）の供給に協力し、最先端の超純水の製造に貢献しております。

フィルム流用
アタリ

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

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

ヘルシンキ宣言のソウル改訂について

日本新薬(株) 研開企画統括部 中井 伸子

はじめに

ヘルシンキ宣言は、Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects（人間を対象とする医学研究の倫理的原則）として、1964年6月にヘルシンキで開催された世界医師会（WMA）第18回総会で採択された。その後、時代の要請により5回の大きな修正を経て、2008年10月、WMAの総会でソウル改訂版が採択された。

実験動物関連の業務に従事されている読者の皆さんは、自分には関係がないと思われる方が多いかもしれない。しかし、医の倫理は医師だけではなく、薬剤師や医薬品を製造販売するものをはじめヒト試料等を使用するバイオメディカルの研究に携わるすべての研究者に採用されるべきであり、その事はヘルシンキ宣言の第2項にも明記されている。ここでは、今回のヘルシンキ宣言の改訂の概要とその反響について私見も交えて解説する。なお、日本語訳は日本医師会の翻訳文を参考に記載した。

基本原則

ヘルシンキ宣言はA.序文、B.すべての医学研究のための諸原則、C.治療と結びついた医学研究のため

の追加原則の3章、35項の構成で以下の基本原則が記載されている。

1. 患者・被験者の福利の尊重
2. 本人の自発的・自由意思による研究への参加
3. インフォームド・コンセントの取得が必要
4. 倫理審査委員会の存在
5. 常識的な医学研究

宣言の保護対象は人間だけにとどまらず、ヒト由来の臓器・組織・細胞・遺伝子、さらには診療情報まで含み、宣言の対象者は医学研究にかかわるすべての人々であるとされている。

主な変更点

ヘルシンキ宣言になじみのない読者には、変更点のみを示しても理解しにくいのが、紙面の都合もあるため、ここでは今回の改訂で反響の大きかった部分について解説する。詳細については、末尾に示した文献等を参照されたい。

○ヘルシンキ宣言の表題（副題）が「ヒト」から「人間」に変更された

今回の改訂作業の中で、研究対象をモノ視した「ヒト」ではなく「人間」だと考えるべきとの多数の意見があったため当初は、副題を Ethical Principles for Medical

Research Involving Humanに変更する案があった。最終的には、副題は Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects のままで変更されなかったが、これらの経緯を踏まえて日本医師会の翻訳ではヒトではなく人間（人）に変更された。

また、日本語訳では明確でないが、should（例外を認める）からmust（より強制的）へ、experiment（実験、試してみるという意味合いが強い）から、researchやstudies（一つの結論を得るための体系的な研究や試験）に原文の用語が変更された部分もある。

○1項に「この宣言は総合的に解釈すべき」との一文が挿入され、各項目内容が緊密に結びついていることが強調された。

各項目、特に規制が緩和された項目のみが一人歩きしないための配慮である。

○2項に人間を対象とする医学研究に携わる医師以外の人々も宣言の対象である旨が明記された。

○12項に動物実験の実施および動物福祉への配慮がまとめて記載された。

「人間を対象とする医学研究は、科学的文献の十分な知識、関連性

のある他の情報源および十分な実験、ならびに適切な場合には動物実験に基づき、一般的に受け入れられた科学的原則に従わなければならない。研究に使用される動物の福祉は尊重されなければならない。」

本項の「なければならない」は、英文では“should”から、より強制的意味合いの強い“must”に変更されたものである。

○14項に被験者の権利を保護するため、その研究で有益であると認定された治療や他の適切な治療に対し、研究終了後も被験者がアクセスできるような取り決めが計画書に記載されるべきであるとされた。

○19項が新設され、最初の被験者募集に先立ちすべての臨床試験を公的にアクセス可能なデータベースに登録するよう義務付けられた。

○25項に個人が特定可能な試料やデータを利用する医学研究においては、医師はデータの収集、分析、保存、再利用に対する同意を得なければならない。しかしそれが得られない（または得ようとするのが研究の価値を減ずる）場合には、研究倫理審査委員会の承認により利用できる旨が新しく記載された。

本項は今回の改訂における特徴の一つであるが、ヒトの試料や医療情報の利用が現在の医学研究にとって大きな意味をもつものであ

り、同意取得の原則を遵守することが医学研究の発展に脅威とならないように配慮された。

○30項に研究成果の公表方法に係る義務について表現を明確化して整理された。

（著者、発行者のみならず）編集者も、研究成果の出版に関し倫理的義務を負い、著者は人間を対象とする自身の研究成果を公的に利用可能とする義務を負うとともに、その成果の完全性・正確性の説明責任を負うと明記された。またネガティブデータについても公表されるべきで、資金源、組織との関わりおよび利益相反が明示される必要があるとされた。さらにこれらに反する研究報告は、受理されるべきではないとされた。

○32項にプラセボの使用に関する注釈が本文として組み入れられた。

今回の大幅改訂で、従来、注釈として記載されていた内容を本文に組み込む等の整理がなされ、被験者、弱い立場の人々の擁護を一層強化するものになった。しかし、一方では近年の急速な研究の進展に配慮して人体から切り離された組織や医療情報の取り扱いに関して規制を緩和する等、医学研究の現状に即した改定も行われた。

ところで、米国食品医薬品局(FDA)は今回のソウル改定版が採択された一週間後に外国における臨床試験で薬剤の承認申請する場合

は、ヘルシンキ宣言の代わりにICH (International Conference on Harmonization)のGCP(Guideline for Good Clinical Practice)を遵守するよう定めた。従来、FDAは外国における臨床試験ではヘルシンキ宣言の遵守を要求してきただけに、今回のFDA措置の背景は複雑である。

ヘルシンキ宣言では要求されるがGCPでは記載されていない事項は以下のとおりである。

- ・基金、スポンサー、および倫理委員会と研究関係者における利益相反の開示
- ・研究デザインの公表
- ・その国の利益になる場合は発展途上国で臨床試験を実施することが可能。ただし、試験実施の責任をとるべきである
- ・新薬の承認や発展途上国での試験におけるプラセボの使用制限
- ・治験終了後にも治療できるようにする
- ・ネガティブデータも含めて、結果を公表する

新薬開発におけるゴールドスタンダードは、無作為に割り付けて新薬の効果をプラセボと比べるものである。しかし、プラセボ群の患者に対する処置が問題となり、健康被害が発生する場合もあるため、ソウル改定ではプラセボ使用に関してさらに厳格化された。プラセボ使用に関しては、以前よりWMAで議論され何度も修正されてきた。即ち、新しい治療法の評価は標準的治療方法と比較するのが原則であるが、証明された治療方法がない場合のみプラセボもしく

は無治療が認められていた（2000年版）。しかし2004年に科学的に妥当な理由により、プラセボ使用がその治療行為の有効性あるいは安全性を決定するために必要である場合はプラセボ使用を容認する旨の注釈が追加された。ところが今回の改訂では科学的妥当性に加えて、重篤または回復不能な障害リスクが生じないと考えられる場合のみプラセボ治療または無治療が認められるとされ、再度プラセボ使用条件が厳格化された。

これに加え、今回の改定では、臨床試験後も、継続して医療支援を保証しなければならないとされた。しかし、そのような治療を提供するための財政負担が世界の貧困地域における疾病を対象とした治療薬の開発を妨げる可能性を危惧する指摘もある。

改定ヘルシンキ宣言では、最初の対象を募集する前に公的に利用可能なデータベースの臨床試験を登録することが規定された。この方法は情報の透明化がはかかれても、例えば、第一相試験前にデータベースに登録する事は患者にとっても有用でないにもかかわらず、知的財産権を脅かし、スポンサーにとっては大きな負担となりトライアルを遅らせることになる。

ヘルシンキ宣言は、GCPに比べて広く世界に認知されていることに加え、ICHのGCPの焦点は規定を調和させることであり倫理を深めることではない。ヘルシンキ宣言よりGCPに従う事は被検者への保護レベルが下がる可能性がある。FDAは最大のドラッグ市場を規制して

いるためヘルシンキ宣言を規制がゆるやかな倫理基準に置き換えれば、研究のための国際的な倫理基準が崩れる懸念がある。従って、FDAは、プラセボ使用に対する偏りなどいくつかの条項が、「米国法と一致していない」ので、混乱を招くため、FDAの規則からヘルシンキ宣言の参照を削除したのであり宣言に反対しているわけではな

いとしている。

以上、改訂に対する規制当局や産業界の反響も含めてソウル改定について紹介した。ヘルシンキ宣言は法的拘束力のあるものではないが、今回の改定に対する反響は大きく、今後も時代を反映しつつ、医学研究における倫理原則として大きな影響力を発揮するものと思われる。

参考文献

1. 畔柳達雄、石井正三、鶴岡慶、ヘルシンキ宣言2000年版の改訂作業とパブリック・コメントについて、日本医師会雑誌 137 (5) (2008)
<http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/cr.dir/news/news50.pdf>
2. 世界医師会のヘルシンキ宣言改訂版、研究成果等のオープン化を義務化カレントアウェアネス・ポータル 2008年11月6日
<http://current.ndl.go.jp/node/9274>
3. ヘルシンキ宣言：英文および和訳（日本医師会）
http://www.med.or.jp/wma/helsinki08_j.html
4. Jonathan Kimmelman, Charles Weijer, Eric M Meslin, Helsinki discords: FDA, ethics, and international drug trials. The Lancet, 373 (9657) (2009)
5. 名古屋市立大学病院 臨床試験管理センターNEWS No.50 (2009)
6. Dennis Normile, Clinical Trials Guidelines at Odds With U.S. Policy. Science, 322 (5901) (2008)
7. 増井 徹、人体由来組織・細胞と情報の研究利用をめぐる最近の動き (29) ~ (31) (33). ヘルシンキ宣言2008年ソウル改定について (1) ~ (3) 他. CRBメールマガジン
<http://cellbank.nibio.go.jp/information/magjcrb/>

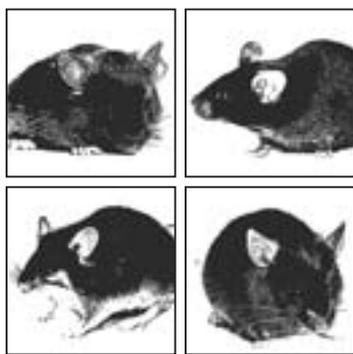


実験動物技術者はあなたの研究チームの一員です

実験動物受託総合管理
実験動物飼育管理
動物実験補助全般



株式会社 チャンネルサイエンス
<http://www.channelscience.co.jp>
〒167-0052 東京都杉並区南荻窪 4-29-10
TEL03-3331-7252 FAX03-3331-7347



第2章 米国の実験動物の 使用に関する法律、規則、方針

日本チャールス・リバー株式会社 池田卓也

東京大学大学院農学生命科学研究科実験動物学教室 久和茂

“Laboratory Animal Medicine 2nd Ed.”「実験動物医学 第二版」¹⁾(以下「実験動物医学」)の第1章「歴史的概観」²⁾に引き続き、第2章では「米国の実験動物の使用に関する法律、規則、方針」について記載している。本書は、30年以上も前から米国実験動物医学協会(American College of Laboratory Animal Medicine)により、実験動物に携わる獣医師のために刊行してきた書籍の一つである。第一版は1984年刊行され、実験動物分野の業務に従事する獣医師には必読の書として重用され、多くの読者を得たことから第2版の刊行に至った。

このような重要な書籍で、敢えてその一章を、実験動物に関する法律、規則、方針等の記載に充てている。我国においても多くの実験動物に関する教科書等が刊行されてきたが、本書のように実験動物そのものだけでなく、動物福祉や管理、安全衛生、輸出入、薬物や化学物質も含めた実験動物に関連する法

規制やそれを所管する行政機関について、敢えてその一章を割いて記載している書籍はほとんどない。これは、米国の実験動

物を使用する研究機関における獣医師に期待される役割³⁾に、起因すると考えられる。特に管理獣医師(Attending Veterinarian)*

表1. 「米国の実験動物の使用に関する法律、規則、方針」の項目

I. 前書き
II. 動物福祉
A. 米国動物福祉法
1. 米国農務省規則
a. 管理動物種, b. 免許, c. 登録, d. 動物実験委員会の責務,
e. 職員の資格, f. 情報サービス, g. 管理獣医師, h. 記録
2. 米国農務省基準
a. イヌの運動, b. 霊長類の精神的安寧
3. 農務省による施行規則
B. 公衆衛生局動物福祉規範
C. 食品医薬局 医薬品の安全性試験実施基準
D. 省庁間の協力
E. 環境保護庁 薬品の安全性試験実施基準
F. 関連科学機関
1. 実験動物資源協会
2. 国際実験動物管理公認協会
3. 動物科学学会連盟
G. 国際的な法律と規則
III. 動物と動物生産物の輸出入
A. 米国農務省
B. 米国保健社会福祉省
C. 米国内務省
D. 環境保護庁
IV. 危険物質
A. バイオハザード
B. 化学物質
C. 放射性物質ならびに放射線発生装置
V. 組換えDNA分子を含む研究に関する指針

*Attending Veterinarianは、しばしば管理獣医師という訳語が用いられているが、その職責は必ずしも日本語の「管理」と言う訳では表現できない広汎な業務を担っている。しかし日本には、Attending Veterinarianという職務が確立されておらず適切な訳語がないので、本稿では、敢えて管理獣医師という言葉を用いる。

と呼ばれる獣医師は、実験動物の管理と使用に関して多面的かつ広汎な権限と責任を有している。そして法的な諸事項に対しても、複数の行政機関に直接対応し、実験動物の管理と使用に関して中核的な役割を担うことが求められている。そのため管理獣医師は、実験動物に関する専門教育受け、それにより米国実験動物医学専門医(Diplomate of American College of Laboratory Animal Medicine)の資格を取得する事が推奨されており、そのことが本書の第2章の内容(表1)にも如実に表れている。

ただ本稿で、本章のすべてを網羅してその内容を逐次解説することは、スペースの問題もあって難しいことから、ここでは本章の中核部分と昨今問題のある、あるいは関心が高いと思われる事項に関して記述したい。なお法規制等は、どこの国でも社会の変化に応じて適宜改正されている。たとえば米国の動物福祉に関する基本法である、動物福祉法(U.S. Animal Welfare Act)は1996年に成立し、本書が発行された2002年には第5回目の改定が、そして2007年には6回目の改定が行われている⁴⁾。しかしながら、改定に応じて最新の状況も合わせて本稿に記載する事は、読者の混乱を招きかねないので、特別な記載がない限り本書が発行された2002年の時点での記載であることを了承頂きたい。

◆ 動物福祉

本章の約8割を費やして、米国農務省(United States Department of Agriculture)が所管する動物福祉法と、公衆衛生局(U.S. Public Health Service: PHS)が策定した「実験動物の人道的管理と使用に関する規範」(Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals、以下「PHS規範」)を中心とした、実験動物の動物福祉を実現するための歴史や組織の枠組みについて述べられている。そこで本稿では、動物福祉法とPHS規範を中心とした動物福祉の概要と枠組みについて、「実験動物医学」の要約を以下に記載する。

(1) 動物福祉法

動物福祉法は、移送に伴う家畜に対する28時間ごとの給水給餌や休息を定めた1873年の“28-Hour Law”に、その起源を求められる事ができる。そしてペットを中心に社会的な動物福祉に対する関心の高まりを背景に、1966年にLaboratory Animal Welfare Actとして成立し、1970年にはAnimal Welfare Actと名称が変更され、現在に至っている。

この法律は米国農務省が所管し、研究施設だけでなく販売業者や展示業者の、研究用に繁殖したラット、マウス、鳥類を除く、イヌ、ネコ、サル、モルモット、ハムスター、ウサギ等に適用される。そして実質的な法律の運用を行うために米国農務

省は、施設の登録許可、動物実験委員会(Institutional Animal Care and Use Committee)、管理獣医師、教育訓練等について規則を定めた。そして実際の運用は、米国農務省の動植物衛生検査部(Animal and Plant Health Inspection Service)が担当し、この法律に基づいて登録された施設の動物実験委員会からの年次報告書の精査や、毎年の施設への立ち入り調査など行っている。

(2) PHS規範

健康科学推進法(Health Research Extension Act of 1985, Public Law99-158)に基づき、動物を使った研究、教育、試験のために公衆衛生局によりPHS規範が定められた。このPHS規範は、公衆衛生局から研究助成を受けようとしている施設に対する、動物実験委員会、管理獣医師、教育訓練等について、動物福祉法と同様に定めている。しかしながらこの規範は、研究用に繁殖したラット、マウス、鳥類も含む脊椎動物すべてを対象としており、動物福祉法とは異なり対応すべき実験動物の範囲は極めて広い。

また動物実験委員会の設置とその委員会の責務や権限については、動物福祉法と同じ様な定めをしている。しかし委員会の構成メンバーに関しては、動物福祉法が「研究機関の長が指名した3名以上の委員」としているのに対して、PHS規範では「研究

者、獣医師、非科学分野の関係者、外部の第三者を含む5人以上」と規定するなど、内容には若干の差異が認められる。しかしながら両者は、動物実験委員会による自主管理を主体とした、実験動物の使用と管理における動物福祉の実践という点においては、目指すところは全く同じである。

なおPHS規範の実際的な運用は、国立衛生研究所 (National Institutes of Health, NIH) に属する実験動物福祉局 (Office of Laboratory Animal Welfare) が担い、PHS規範への適合性の判断や、その判断に伴う研究助成金の可否判断などの実務を行っている。

(3) 関連科学機関

実験動物資源協会 (Institute for Laboratory Animal Research) や国際実験動物管理公認協会 (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International) など、米国には実験動物福祉を推進す

るために多数の科学的な組織や関連学会がある。これらの機関は、実験動物福祉に関する教育や情報を提供する組織として機能するだけでなく、米国の実験動物福祉の実践に関する枠組みにまで強い影響力を有している。

たとえば、実験動物資源協会が作成した「実験動物の管理と使用に関する指針 第7版」(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) は、米国の実験動物を使用する研究機関の運用指針として、様々な局面において使用されている。そして動物福祉法とPHS規範は、ともに研究施設に対して本指針への準拠を強く求めており、実験動物の管理と使用に関する根幹の資料となっている。

また各研究機関が国際実験動物管理公認協会の認証を取得することは、実験動物福祉局によるPHS規範への適合性の可否判断を補完し、研究予算の配分に対して非常に大きな影響を与えている。このように米国の実験動物福祉を推進するための関連組織は、我々日本人が想像する以

上に重要な機能を担い、米国の実験動物分野に対する強い影響力を有している。

以上、「実験動物医学」から読み取れる米国の法制度や実験動物福祉を取り巻く枠組みは、現行の日本とは大きく異なることから、必ずしもその理解は容易ではない。しかしながら、動物福祉の実現を標榜し枠組みを作って取り組んできたその歴史は、日本よりはるかに長い。そのため我々がこれから押し進めなければならない実験動物福祉の実践に参考となる部分は非常に多いと考えられる。今回本稿では、本章のすべてを解説することは叶わなかったが、動物福祉法とPHS規範を中心とした制度の概要について一端を紹介した。詳細に関しては、「実験動物医学」をお読み頂くとともに、その他の欧米の諸規則に関しては日本語の翻訳も複数あるので参照されたい。^{5, 6, 7, 8)}

参考文献

- 1) J.G.Fox, L.C. Anderson, F.M.Loew, F.W.Quimby Eds. "Laboratory Animal Medicine 2nd Ed." Academic Press, 2002.
- 2) 久原孝俊 LAM学事始 (1) 実験動物医学への招待LABIO21, 38:25-32. 2009.
- 3) "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" National Academic Press, 1996.
- 4) U.S. Animal Welfare Act, Animal Welfare Information Center, National Agricultural Library, United States Department of Agriculture (2009) http://awic.nal.usda.gov/nal_display/index.php?info_center=3&tax_level=3&tax_subject=182&topic_id=1118&level3_id=6735&level4_id=0
- 5) 大上泰弘, 神里彩子, 城山英明 イギリス及びアメリカにおける動物実験規制の比較分析-日本の規制体制への示唆、社会技術研究論文集. 5, 132-142, Mar. 2008
- 6) 池田卓也・黒澤努監訳: EUROGUIDE実験その他科学的目的に使用される動物の施設と飼育に関するガイドブック. アドスリー. 2009
- 7) 鍵山直子, 野村達治: 実験動物の管理と使用に関する指針 第7版, ソフトサイエンス社. 1997
- 8) 久原孝俊: (論説) 動物実験委員会ガイドブック (1). 実験動物と環境. 17 (2). 151-178. 2009

実験動物用飲料水としての酸性電解水応用の可能性

埼玉医科大学中央研究施設実験動物部門
准教授 鈴木 政美

実験動物の飲料水は、緑膿菌やその他のグラム陰性桿菌による感染予防策として飲料水をpH 2.5～3.0に酸性化して供給する動物施設が多い様である。水の酸性化には主に塩酸(HCl)が使用されている。同じくpHが酸性を示す水に酸性電解水が有る。酸性電解水は日本で生まれた、手荒れが少なく、安全で人にも環境にもやさしく強力な殺菌作用を発揮し、その使用に当たっては電解槽の蛇口から直接

取水できるので水道水感覚で使用できる。手指や内視鏡の洗浄・消毒で厚生労働省の薬事認可を得ており(強酸性電解水)、また次亜塩素酸水の名称で食品添加物(殺菌料)に指定されている(強酸性電解水と微酸性電解水)。

酸性電解水は電解槽の構造、電極の材料と表面形状、電解条件、電解液の組成からpHが強酸性(2.2～2.7)と微酸性(5.5～6.5)の電解水が生成され、それぞれ便宜上、強酸

性電解水と微酸性電解水と云う名称が多用されているので本稿でもこの用語を以下採用する。微酸性電解水は強酸性電解水とは製造方式とpHの違いだけで殺菌効果や作用機序はほとんど変わらない(表1)。

応用範囲

酸性電解水は病原性微生物や薬剤耐性菌に対し幅広く強い殺菌効果を持つと共に人にもかつまた生活排水を汚染しないので環境にもやさしい安全性の高さが注目され、多分野で利用されている(表2)。

また最近では、医科大学で使用されている標準的な微生物学の教科書にも安価、流水式消毒が可能、用事調整出来る利点等から今後普及する可能性のある消毒薬として紹介されている(医学書院「標準微生物学」第9版、2005年)。

酸性電解水の生成原理

著者らは無隔膜方式の微酸性電解水を実験動物施設の飼育室内の床や壁の噴霧ならびに清拭、ラックやケージの清拭の目的で消毒薬として使用しているのでこの装置の原理について述べる。

電解槽内(水(H₂O)・食塩(NaCl)・塩酸(HCl)を含む)の溶液

表1 理想的な消毒薬の条件と強および微酸性電解水の特徴

理想的な消毒薬の条件	強酸性電解水	微酸性電解水
1.抗菌スペクトルが広い	○	○
2.殺菌作用時間が短い	○	○
3.殺菌作用が持続する	×	×
4.有機物の存在により抗力が低下しない	×	×
5.生体に対する毒性が少ない	○	○
6.微生物への浸透力が強い	○	○
7.水に溶けやすい	—	—
8.消毒すべき物質を損傷しない ¹⁾	△	○
9.使用方法が簡単である	○	○
10.保存により効力が低下しない ²⁾	△	△
11.無臭である ³⁾	△	○
12.高価でない ⁴⁾	△	△

pH: 強酸性電解水(2.2～2.7)、微酸性電解水(5.5～6.5)

- 1): 強酸性電解水はpHが強酸ゆえに素材(金属)の腐食が問題となる。微酸性電解水はより中性に近い分、強酸性電解水よりも腐食しにくい。
- 2): 保存条件によっては1ヶ月は有効であるが、水道水感覚で蛇口をひねれば新鮮な酸性電解水を得ることが出来るので生成直後の水を使うのが基本原則である。
- 3): 強酸性電解水は塩素ガスが発生しやすい(表4参照)。
- 4): 著者らの使用している1時間に75リットル生成できるタイプの物は100万円弱である。

表2 酸性電解水の分野別利用

分野	用途	使用対象
医科	洗浄・消毒・治療	手指（認可）、内視鏡（認可）、透析機器、床、褥創・創部などの傷口、アトピー性皮膚炎等
歯科	洗浄・消毒	口腔、機器、環境
食品	洗浄・除菌	野菜、調理加工施設、器具、売り場
農業	殺菌・洗浄	種、苗、減農薬栽培（稲・果物・野菜）、ハウス
水産	洗浄・除菌	海産物、売り場の衛生管理
畜産	洗浄・除菌	畜舎の衛生管理、乳房
家庭	洗浄・除菌	手指、食器、台所、風呂、トイレ、洗濯
環境	殺菌・除菌	プールの消毒、公共施設の衛生管理

に直流(4V、15~16A)電圧を流すと、陽極側には塩酸(HCl)と次亜塩素酸(HOCl)が、陰極側には水酸化ナトリウム(NaOH)と水素ガス(H₂)が生成され、最終的にはpHが5.5~6.5の微酸性の電解液(水(H₂O)・食塩(NaCl)・塩酸(HCl) + 次亜塩素酸(HOCl)を含む)が水道水の感覚で随時蛇口から得られる。我々は1時間に75、120と250リットルが生成可能な微酸性電解水生成装置(pHが5.5~6.5、有効塩素濃度50ppm)を計4台使用し、主要な消毒薬として4階建ての独立した実験動物施設の維持管理に用いている。酸性電解水生成装置は若干割高に感じるが、ランニングコストは水道料金と電気代を除外すれば添加物代が年間約10万円程度であり、当施設では従来の消毒薬のみを使用していた時期と比較すると施設の維持管理費の経費節減に十分に貢献している。

殺菌作用の本体と機序

酸性電解水の殺菌効果の本体は電解によって生じる次亜塩素酸(有効塩素)であり、強と微酸性電解水の違いはpHと有効塩素濃度のみに

である。当初は高いORP(酸化還元電位)と酸性pHが主因ではと考えられていたが、酸性電解水のpHを中性に戻すとORPも原水レベルに戻るにもかかわらず有効塩素濃度と殺菌効果が維持されることから有効塩素が鍵であり、塩化物以外の電解では殺菌効果を有する電解液が生成されなかったことから、現在は食塩水の電気分解で生成された次亜塩素酸が主要因と考えられている。消毒薬としては塩素系に分類され、次亜塩素酸ナトリウムと同じ仲間になる。

この次亜塩素酸はpHによって存在状態が変化することが知られており、pHが強酸性電解水領域(2.2~2.7)では塩素(Cl₂)と次亜塩素酸(HOCl)が約2:8の割合になり塩素ガスも発生しやすくなる。微酸性電解水領域(5.5~6.5)では、ほぼ次亜塩素酸のみの状態となる。一方、アルカリ側領域(8.5~9)では次亜塩素酸と次亜塩素酸イオン(OCl⁻)が約1:9の存在比となり、さらにそれ以上高いpHでは

次亜塩素酸イオン(OCl⁻)のみとなる。酸性電解水や次亜塩素酸ナトリウム溶液の殺菌効果は次亜塩素酸(HOCl)の存在状態に依存しており、殺菌力はHOClが強くてOCl⁻は著しく弱いので次亜塩素酸ナトリウムよりも強および微酸性電解水の方が殺菌効果が高いと云える。効力比からだと有効塩素濃度40ppmの酸性電解水は1,000ppmの次亜塩素酸ナトリウム液に相当する殺菌力を持つと云われている(表3)。

殺菌作用と抗菌スペクトル

酸性電解水は抗生物質による治

表3 pH領域と次亜塩素酸の存在状態と酸性電解水

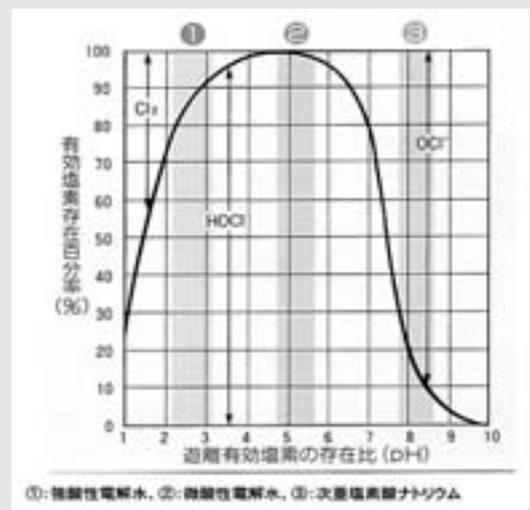


表4 微生物に対する微酸性電解水の殺菌効果

菌株	処理前	処理後
大腸菌 (O-157:H7)	6.0×10^6	0
サルモネラ (<i>S. enteritidis</i>)	3.8×10^6	0
黄色ブドウ球菌 (<i>S. aureus</i>)	9.9×10^5	0
細菌芽胞 (<i>B. subtilis</i>)	5.9×10^5	<10
カビ (<i>Cladosporium sp.</i>)	1.0×10^4	0
酵母 (<i>Candida albicans</i>)	8.8×10^4	0
緑膿菌 (<i>P. aeruginosa</i>)	1.5×10^6	0

芽胞菌は30分処理、その他は1分処理。次亜塩素酸のpHは6.2、塩素濃度は10ppm

療が困難なMRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) 感染症をはじめとする病院内感染症対策で、手洗い、病室やオペ室の環境消毒に用いられている他、多分野で使われている。また、有機物の存在しない条件下で有れば、ウイルスから芽胞形成菌や結核菌までの幅広い抗菌スペクトルを有する強力な殺菌消毒薬でもある(表4)。

酸性電解水の強力な殺菌作用は、ラジカル消去剤を電解液に添加すると殺菌効果が消失することから活性酸素・フリーラジカルによるものであると考えられている。次亜塩素酸や過酸化水素から生じるヒドロキシルラジカル($\cdot\text{OH}$)が細胞膜、核酸、タンパク質などに損傷を与えて殺菌作用を現すとの説が有力である。この殺菌作用は、感染時に生体内で食細胞(好中球、マクロファージ)によって貪食されたのち細胞内で殺菌処理される過程に非常に似ている(図1)。

安全性

酸性電解水の本体は、次亜塩素酸であるが各メーカーの安全性試験では生体や環境への問題となる

様な毒性の報告は無い。ただ、微酸性電解水と比較して強酸性電解水はpHがかなり低い(2.2~2.7)為に、皮膚の弱いヒトの手が荒れたり、塩素ガスの臭いがすると云う報告を聞くことがある。飲用水の酸性化、塩素処理(pH 2.5、塩素濃度 10 ppm)した酸性水をC3H/HeJおよびC57BL/6Jマウスに6ヶ月飲用させ繁殖への影響を調べたが影響が無かったと云う報告が有る(Les, E.P.1968)。また、酸性電解水は製造濃度と使用濃度が同じなので希釈する必要が無いため他の消毒薬の様に使用濃度を計算することも無く誰にでもそのまま使える利点がある。また、使用後はそのまま下水に流しても生活排水を汚染することも無い環境に対する優しさも併せ持った消毒薬と云うことが出来る。

耐性菌の出現

感受生菌の耐性化の報告は無く、作用機序からも耐性菌の出現の可能性は考えにくい。

実験動物分野での応用

SPF動物や無菌動物の飼育時に

はオートクレーブ滅菌水やオゾン水などを飲料水として使用している。また自動給水方式を採用している大規模な飼育室を有する所では、主としてノズル付近に飲み水が停滞することによる緑膿菌の増殖を阻止する目的で給水タンク内に塩酸を入れpH2.5~3.0、塩素濃度10ppm付近に調整した強酸性電解水に相当する飲料水を与えている。このような性状の飲料水は強酸性電解水と微酸性電解水との比較(表2)のところで述べたが、長期保存に不向き、塩素ガスが出やすい、給水管やノズルの材質に配慮する必要が有る等の問題を抱えている。著者らはこれらの酸性水よりも更にpHが中性に近い微(弱)酸性電解水(5.5~6.5、塩素濃度50ppm)が実験動物の飲料水として適当か否かを検討する目的でマウスのほぼ一生に相当する期間にわたり長期飲用(2年半)させ成長過程への影響と生存分析を行った。

体重増加曲線は18週齢あたりから平均体重が水道水飲用群に比して低い値を示したが有意差は認められなかった。また、113週齢の飲用停止時におけるKaplan-Meier

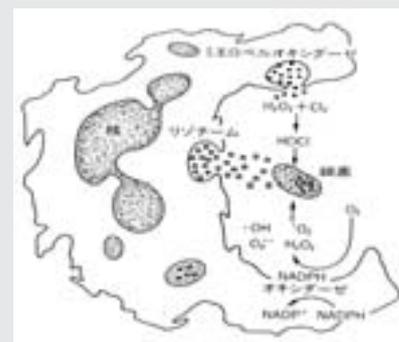


図1.食細胞による貪食後細胞内殺菌機構

法による生存分析でも電解酸性水飲用群が左方に位置しているが、これも有意差は認められなかった。

このことから、電解酸性水を実験動物の飲用水として応用できる可能性が大であることが示唆される。すでに或る国立病院の実験動物施設では電解酸性水を実験動物の飲料水として使用している。

酸性電解水生成装置は、蛇口をひねれば一定条件の飲料水が瞬時にして供給できる用事調整が可能で、しかも濃度等を調整する必要が無いので管理に手が掛からないという利点を持つことから新しい実験動物用の飲料水として酸性電解水の利用が多いに期待出来る。

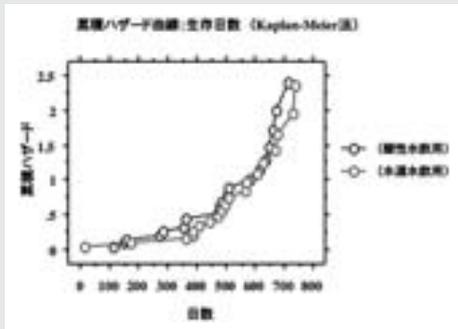


図2 累積ハザード曲線：生存日数 (Kaplan-Meier法)

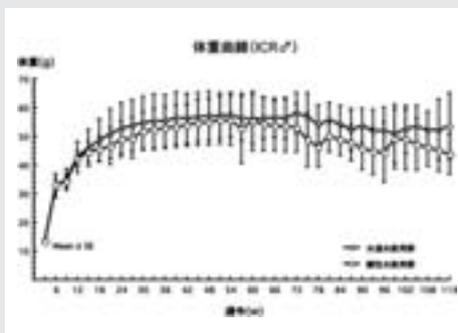


図3 体重曲線 (ICR♂)

参考文献

1. (財) 機能水研究振興財団学術選考委員会編集：「電解水ガイド」、2001年
2. ウォーターサイエンス研究会編：「機能水の科学と利用技術」、1999年
3. 生命・フリーラジカル・環境研究会編：「水と活性酸素」、オーム社、2002年
4. 吉川 敏一著：「フリーラジカル入門」、先端医学社、1998年
5. 吉川 敏一著：「フリーラジカルの医学」診断と治療社、1997年
6. Les, E.P. : Effect of acidified chlorinated water on reproduction in C3H/HeJ and C57BL/6J mice . Lab. Anim. Care 18: 201-213, 1968.
7. 鈴木 政美ら：第47回日本実験動物学会口演要旨集、徳島、2000年

Experimental Animals

Covance R. P, Inc 代理店 Japan Laboratory Animals, Inc.



取扱品目

各種実験動物の受託飼育
SPF・クリーン各種実験動物
輸入動物 (Covance・Harlan・Vanny) : ビーグル犬・モンゲレル犬・サル類・遺伝子操作マウス etc.
その他実験動物 獣血液・血清・臓器 床敷 飼料 飼育器具・器材

非GLPの受託試験
動物用医薬品一般販売

株式会社 日本医科学動物資材研究所

〒179-0074 東京都練馬区春日町6丁目10番40号
TEL (03) 3990-3303 FAX (03) 3998-2243

新水成二酸化塩素製剤殺菌消毒システム〔ピュオロジェン〕 による実験動物施設での利用

株式会社鈴木商館
バイオエンジニアチーフ 岡松 学

1. はじめに

現在日本国内における実験動物施設を中心とした殺菌消毒作業は、殺菌剤と消毒剤を使用する方法に大きく2分化されております。殺菌剤は、ホルマリン・過酸化水素・次亜塩素酸ソーダ・オゾン・過酢酸製剤・ヨード製剤・フェノール・ソフト酸化水・塩素化合物・有機化合物混合物が主力に使用されております。また消毒剤は、エタノール・アルコールが主力に使用されております。

しかしこれらの殺菌剤と消毒剤については、それぞれ一長一短があるのが現実です。

具体的には、動物飼育室や実験室ならびに糞尿処理設備などでの殺菌・消毒・消臭という過程で以下のような問題点を抱えているケースが非常に多く見られます。

- ①作業効率の悪さ(作業中の入室禁止や作業後24時間待機要などの手間がかかる点)
- ②安全性不足(強力な刺激臭による人体への影響や皮膚汚染・アレルギーが発生する点)
- ③労務費過多(1回の作業において数名を必要とし、1日がかりの時間を要する点)
- ④効果の不安定・不透明(成分自身の効果限界や湿度などの条件により変動が出る点)
- ⑤ランニングコスト過多(用途毎の使い分けが必要な点)

- ⑥廃液処理増大(殺菌消毒後の水処理及び廃水処理が必要な点)
- ⑦管理体制負荷大(毒劇物扱い、危険物扱い、数量管理要な点)
そこで近年、このような問題点を全て一手に解決できる画期的な方策として、新水成二酸化塩素製剤殺菌消毒システム(ピュオロジェンの導入)が進められております。

2. 新水成二酸化塩素製剤ピュオロジェンとは

水成二酸化塩素製剤で、これは発生させた二酸化塩素ガスを水中に溶存・安定化させ、必要な時に要求される成分「二酸化塩素」を取り出してサニテーションをする薬剤です。

また濃度変化及び活性化有無により殺菌剤・除菌剤・消毒剤・消臭剤の全ての領域で1本化できる最先端の殺菌消毒剤です。(一般的に呼ばれている二酸化塩素製品とは全く異なる物である) 殺菌のメカニズムとしては、従来の塩素系製剤が全て塩素化反応によっているのに対し、ピュオロジェンは唯一酸化反応による殺菌メカニズムとなります。

したがってpHにより薬剤としての性質が変化し、酸性側では殺菌剤・アルカリ側では消毒剤並びに制菌剤及び消臭剤として作用します。

更に安全性においては、国際線の航空機内の飲料水及び機内消

毒の消毒薬として世界で唯一認可されており、以下の許認可も受けています。

- ・EPA(アメリカ合衆国環境保護庁)承認
 - ・FDA(アメリカ合衆国食品薬品局)認可
 - ・USDA(アメリカ合衆国農務省)認可
 - ・NSF(アメリカ合衆国公衆衛生財団)認可
 - ・IATA(国際航空運送協会)認可
 - ・厚生労働省(食品添加物)認可
※8.37%の亜塩素酸ナトリウム溶液として
 - ・厚生労働省(水道法に基づく殺菌消毒)承認
尚、動物用医薬部外品の原料として国内で唯一農林水産省で認可されています。
- また、うがい薬の原料やデンタルヘルスケア製品の原料としても認可されています。

3. 成分

亜塩素酸ナトリウム換算3.35%+二酸化塩素
無色無臭液体・原液濃度20,000ppm(2%)

pH8~8.5(原液希釈500ppm時7~7.5・活性化500ppm時6以下)

4. 実験動物施設での実使用方法 食添用クエン酸による活性化させ

た状態で殺菌剤となり、原液の状態
で消毒剤・制菌剤・消臭剤となります
殺菌剤として使用する場合

- ①原液に総量の10%のクエン酸
(食品添加物用)を混ぜ、攪拌
し10~20分放置する
- ②必要濃度を算出し、攪拌した
液に水道水を加えて必要濃度
まで希釈する
- ③噴霧粒度30 μ 以下のサイズが可
能なミストフォグにて直噴する
- ④噴霧スタイルとしては、持ち運び
型でも据置き型でもOK

**消毒剤・制菌剤・消臭剤として使用
する場合**

- ①必要濃度を算出し、原液に水道
水を加えて必要濃度まで希釈する
- ②完成液をワイパー類に含有させ
そのまま使用するか、ハンドスプ
レーで直噴して使用
- ③室内全体が対照区の場合、噴
霧粒度30 μ 以下のサイズが可能
なミストフォグにて直噴する

5. 実験動物施設での現状メリ ット効果

各地の導入済の実験動物施設よ
り、以下のようなメリット効果が生ま
れたとの報告を頂いております

- ①お手持ちのミストフォグ噴霧器

の使用でOKなので、大掛かり
な装置設備の導入は不要の為
日常業務の範囲内で作業可能
であり、まとまったイニシャルコス
トが不要となった

- ②短時間での効果(50m²室内殺
菌で、60分程度)が実現できた
- ③全ての用途分野において、低濃
度での効果が実現できた
(芽胞菌・枯草菌対象殺菌でも
500ppmでOK)
- ④低濃度で効果実現の為一度に
大量の製作量が出き、大幅な
ランニングコストダウンが可能と
なった
- ⑤殺菌作業中でもマスク・ゴーグルを
着用していれば入室OKとなった
- ⑥噴霧後2~3時間程度で、室内
作業が開始できた
- ⑦噴霧後自然揮発処理の為、後
処理が全く不要となった
- ⑧活性化させた場合でも原液希
釈の場合でも、設備・機器に対
する腐食や劣化の心配が無く
なった
- ⑨耐性菌の構築が無くなった
- ⑩通常の塩素製剤に見られるトリ
ハロメタンなどの毒性の副産物
の生成はゼロとなった
- ⑪殺菌効力において次亜塩素酸
の7倍以上の効力があり、ウイル
ス(H1N1含む)にも効果絶大で
あった
- ⑫廃棄物から発生する硫化水素
やメルカプタンなどの悪臭を化学

分解し無臭にすることができた

7. 最後に

今回の新水成二酸化塩素製剤殺
菌消毒システムについては、日本国
内の実験動物施設を有する医薬業
界は勿論、同有する食品業界及び
化粧品業界においても既に各施設
現場の以下のような場面で大活躍
しております。

- ①芽胞菌・枯草菌までを殺菌対象
とする施設室内全域一括の殺
菌消毒
 - ②一般5種菌(生菌・真菌・黄色ぶ
どう球菌・サルモネラ菌・大腸菌
群)を殺菌対象とする設備
 - ③動物飼育室及び更衣室の壁・
床・天井全体並びに各局所部
分の殺菌消毒消臭
 - ④各種装置、クリーンベンチ、動物
ゲージ、実験機器、実験器具類
の殺菌消毒
 - ⑤日常業務(エタノール・アルコール
代替)及び清掃管理業務(次亜
塩素酸代替)全般の殺菌消毒
 - ⑥インフルエンザウイルス対策の
殺菌消毒及び制菌
 - ⑦施設内の飲料水・貯水槽設備
及び空調ダクト関連の殺菌消毒
 - ⑧熱交換器システムのバイオフィル
ム抑制
 - ⑨水処理システム(廃液処理設備
含む)の細菌繁殖抑制
- 今後更なる広がりを見せるシス
テムとして確立されていくものと思
われます。

6. 最新の主要対象殺菌効果データ (米国研究機関によるデータより抜粋)

☆セレウス菌	・使用濃度200ppmで接触5分	・ 99.999%殺菌
☆大腸菌	・使用濃度 3ppmで接触1分	・ 99.999%殺菌
☆レジオネラ菌	・使用濃度 25ppmで接触1分	・ 99.999%殺菌
☆マイコバクテリア (結核菌)	・使用濃度500ppmで接触10分	・ 99.9999%殺菌
☆緑膿菌	・使用濃度 5ppmで接触1分	・ 99.999%殺菌
☆黄色ぶどう球菌	・使用濃度 30ppmで接触1分	・ 99.999%殺菌
☆大便連鎖球菌	・使用濃度100ppmで接触1分	・ 99.9999%殺菌
☆黒色麹菌クロカビ	・使用濃度100ppmで接触1分	・ 99.999%殺菌
☆カンジタ菌	・使用濃度100ppmで接触1分	・ 99.9999%殺菌
☆新型インフルエンザウイルス (H1N1)	・使用濃度500ppmで接触10分	・ 100%ウイルス撲滅

翻訳39-1

Information

実験での外科的手技における、げっ歯類への麻酔・鎮痛薬投与

外科的処置を施された実験用マウス・ラットに対する麻酔・鎮痛薬の投与について、最近の傾向を評価するために文献的考察を行った。2001-2002年、2005-2006年の2期間内に査読誌で発表された論文に関して、ScienceDirectデータベースを用いて系統的に抽出した、各86の論文について文献的考察を行った。各論文について、外科的手技を施された実験

動物の総数、用いた動物種、処置法、麻酔の投与計画、鎮痛薬投与の4項目に注目した。全身性鎮痛薬投与の報告は2001-2002年の10%から、2005-2006年の20%に増加していた。ブプレノルフィン、2001-2002年で78%、2005-2006年で35%と、両期間において最も一般的に使用された鎮痛薬であった。また非ステロイド性抗炎症剤の使用報告は11%から53%

に増加していた。実験に使用された麻酔方法に変化がみられ、特にペントバルビタールの使用数が減少し、イソフルラン単体やケタミンとキシラジンの併用が増加した。結論として、鎮痛薬投与の報告数増加や麻酔薬選択の改善がみられたが、実験用げっ歯類の週周期ケアに関して依然として改善の余地が十分にあることも示唆された。(翻訳: 園野 克也)

Stokes EL, Flecknell PA, Richardson CA: Laboratory Animals. 43(2), 149-154 (2009).



キーワード: げっ歯類、麻酔、鎮痛薬、痛みの軽減

翻訳39-2

Information

ミニブタの心臓切開手術におけるケタミン-ペントバルビタール麻酔とフェンタニル-ペントバルビタール麻酔の比較

ミニブタに心臓切開手術と心肺バイパス法を施す際において、二つの麻酔の組み合わせが心臓血管系へ及ぼす影響について分析し比較した。K(ケタミン)群のミニブタ(n=15)は低用量のケタミンとペントバルビタールを組み合わせた麻酔を行い(導入にそれぞれ5 mg/kgと20 mg/kg、維持にそれぞれ5 mg/kg/hと10 mg/kg/hを持続静脈注射)、F(フェンタニル)群のミニブタ(n=15)はフェン

ニルとペントバルビタールを組み合わせで処置した(導入にそれぞれ20 μg/kgと20 mg/kg、維持にそれぞれ20 μg/kg/hと10 mg/kg/hを持続静脈注射)。ほとんどのブタは外科手術中安定であり、手術後少なくとも1日は生存したが、F群の2頭のブタのみが術中と術後すぐに死亡した。バイパス手術後の心拍数と平均動脈圧はK群に比べF群で有意に低く、F群のブタは心機能を維持するた

めに、より多量の強心薬を必要とした。以上の結果から、ミニブタの心臓切開手術と心肺バイパス法では、ケタミン-ペントバルビタール麻酔の方がフェンタニル-ペントバルビタール麻酔に比べ、心臓血管系の状態をより安定に保つことを示唆している。(翻訳: 田中 志哉)

Liu D, Shao Y, Luan X, Zhang M, Shui C, Wu Q: Lab Animal. 38(7), 234-240 (2009).



キーワード: ミニブタ、ケタミン、ペントバルビタール、フェンタニル、心臓切開手術、心肺バイパス法

翻訳39-3

Information

西欧の実験用マウスおよびラットにおける各種ウイルス因子とMycoplasma pulmonisの現在の流行を評価するための血清学的調査

24種類のウイルスとMycoplasma pulmonis菌の現在の感染率を評価するため、100以上の西欧の研究施設における実験用マウスおよびラットの血清学的データを遡及的に調査した。血清サンプルは2007年1月から2008年6月までの期間に検査のために委託されたものを使用した。感染率は特定の病原体に対して陽性を示した検査サンプルの比率により定義した。マウスにおいて最

も検出率の高い病原体は、マウスノロウイルス(陽性率31.8%)、マウス肝炎ウイルス(5.5%)、マウスロタウイルス(1.7%)、パルボウイルス(1.0%)であった。ラットにおいては、パルボウイルス(12.1%)、M. pulmonis(3.6%)が最も陽性率の高い病原体であった。齧歯類パルボウイルス感染においてはそのほとんどが、マウスではマウスパルボウイルス、ラットではラット微小ウイルスあ

るいはキルハムラットウイルスによる感染と考えられた。これらの結果から、実験動物の衛生モニタリングの情報を最新の状態にしておくことが重要であり、実験用齧歯類の微生物学的品質のさらなる向上につながるであろう。

(訳: 山本 貴恵)

Mähler M, Köhl W: Lab Animal. 38(5), 161-165 (2009).



キーワード: マウス、ラット、血清学的調査

術後疼痛モデルラットにおけるブプレノルフィンの評価

本研究では、術後疼痛ラットモデルにおいて通常用いられる鎮痛薬であるブプレノルフィンの薬効評価を、急性術後疼痛の軽減・反跳性痛覚過敏・術後オピオイド処置による長期的影響としてのオピオイド耐性を指標として行った。手術群(イソフルラン麻酔下での足部切開)・偽手術群(イソフルラン麻酔のみ)・未処置対照群のラットに対し、術後に単回のブプレノルフィン処置を皮下投与(SC)により行った。創傷部での侵害および非侵害の機械刺激に対する痛覚(一次疼痛)を、術後1.4,24,72時間後に評価し、また、創傷の

遠位部における痛覚(二次疼痛)を、24,72時間後に評価した。さらに、術後9-10日に、モルヒネの鎮痛薬としての感受性と自発運動作用について試験を行った。

試験結果から、0.05 mg/kgSCでのブプレノルフィンが最も有効であることがわかった。この用量での投与では、急性の術後期間に痛覚を未処置対照群と同等まで抑えることができ、その期間は最長であった。さらに、モルヒネの鎮痛薬としての感受性と自発運動作用の試験の結果、オピオイドへの感受性に長期的変化はみられなかった。ブプレノルフィンの低

用量投与(0.01 mg/kgSC)では、痛覚が対照群と同等に抑えられるには至らなかった。高用量投与(0.1 mg/kgSC)は、神経細胞の強い生理的順応を引き起こし、回復期後期にかけての疼痛軽減に対し効果的でなく、また長期的なオピオイド耐性を誘導した。

これらの結果は、ラットの術後疼痛に対する効果的処置のため、ブプレノルフィンの投与上限を0.05 mg/kgSCとすることを支持し、高用量投与が長期にわたりオピオイド感受性に影響を及ぼすことを示唆している。(翻訳:團野 克也)

Curtin LI, Grakowsky JA, Suarez M, Thompson AC, DiPirro JM, Martin LB, Kristal MB: Comparative Medicine. 59(1), 60-71 (2009).



キーワード: ラット、ブプレノルフィン、術後疼痛、疼痛軽減、オピオイド耐性

研究施設におけるマウスボックス：マウス抗体産生試験によってマウス血清中におけるエクトロメリアウイルスが陽性検出できなかった一例

ある研究施設におけるマウスボックスウイルスの集団感染は、エクトロメリアウイルスに感染したマウス血清をサプリメントとして培養した骨髓細胞を、マウス足蹠に移入したことが原因とされた。病態の初期診断は肉眼および顕微鏡下での病理観察に基づいて行い、エクトロメリア感染において典型的である肝臓や脾臓における巣状壊死や、皮膚における好酸性細胞質内封入体を確認することによって診断された。その感染源として市販の血清が原因であることがPCR法により明らかと

なった。ウイルス感染に関して組織培養におけるウイルスの増殖が必要であるかを判断するために、36匹のマウス(BALB/cJ, C57BL/6J)に、腹腔内、皮下(足蹠)、および鼻腔内経路によって、エクトロメリア感染血清またはその血清を添加して培養した骨髓細胞を実験的に接種させた。これらのマウスは臨床症状の徴候が生じた段階、あるいは接種12週後に安楽死させた。すべてのマウスにおいて、剖検、脾臓DNAを用いたPCR法、血清を用いたELISA法が行われた。骨髓培

養細胞を接種させたマウスやそれらのマウスのケージ内容物を接触させたマウスでは、マウスボックスの発生、エクトロメリアウイルス抗体産生、典型的病変が確認されたが、細胞培養を介していない血清を接種させたマウスではこれらの症状は確認されなかった。ウイルス汚染した生物材料を選別するのに一般的に用いられる手法であるマウス抗体産生法では、マウス血清中のエクトロメリアウイルス陽性の検出はできなかった。(翻訳:村木 美帆)

Labelle P, Hahn NE, Fraser JK, Kendall LV, Ziman M, James E, Shastri N, Griffey SM: Comparative Medicine. 59(2), 180-186 (2009).



キーワード: マウス、エクトロメリアウイルス、マウス抗体産生

実験用マウスおよびラットにおける感染性病原体の現在の有病率

不測の感染症の発生に備えて、実験用齧歯類は定期的に健康状態を調べる必要がある。どのような病原体においても、感染のリスクを決定するのはその病原体の有病率である。他のリスク因子の状況が同様であれば、流行している病原体は稀な病原体よりも研究施設に持ち込まれやすく、感染が起こりやすい。実験用のマウスおよびラットにおいて現在流行している感染症の指標とするため、本論文では主要な齧歯類臨床検査会社に送付されてきた検体の陽性結果を集めた。実験

用齧歯類販売業者からの検体は除外されているものの、北米およびヨーロッパの製薬企業、生命工学企業、学術機関、および政府系研究機関から数年間にわたって送付されてきた50万以上のマウス検体および8万以上のラット検体に関する結果を表にまとめた。これらの結果から、実験環境において稀な病原体および蔓延している病原体を判定することができた。マウスでは、一般的に検出される感染性病原体としてマウスノロウイルス、パルボウイルス、マウス肝炎ウイルス、ロタウイルス、

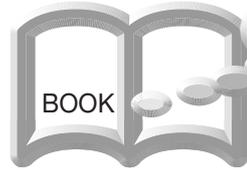
タイラーマウス脳脊髄炎ウイルス、ヘリコバクター属細菌、肺バクテリウム菌、および蟻虫が挙げられる。ラットでは、いわゆるrat respiratory virus、パルボウイルス、ラットタイロウイルス、ヘリコバクター属細菌、肺バクテリウム菌、および蟻虫が挙げられる。健康状態のモニタリングはリスクに基づいて実施すべきであり、これらの高リスク病原体に頻度およびサンプル数を集中し、残りの低リスク感染性病原体に対しては低頻度でもよい。

(翻訳:高柿 里詩)

Pritchett-Corning KR, Cosentino J, Clifford CB: Laboratory Animals. 43(2), 165-173 (2009).



キーワード: マウス、ラット、動物実験室、血清疫学的研究



ほんのひとりごと

『マリア・シビラ・メリアン

—17世紀、昆虫を求めて新大陸へ渡ったナチュラリスト—』

キム・トッド 著 屋代通子訳
みずず書房 2008年刊

著者であるアメリカ国籍の科学ジャーナリストKim Toddは、アメリカ自然博物館でメリアンの『スリナム産昆虫変態図譜』との出会いから、点在する書簡や資料を求めメリアン(1647-1717)が生れた17世紀中葉のフランクフルトでの父親の職業、出版業界と当時の商業文化の歴史的調査を振り出しに、当時の科学として体系化以前の生物学の様相を詳述した上で、メ-

リアンの昆虫画の制作技法をとことん追求してゆく。メリアンが20才になった娘ドロテアと共に阿姆斯特ダムの港からスリナムに渡ったと同じように、船でスリナムのむせ返る熱気のジャングルに入り、メリアンが300年前に体験した足跡を歩き本書は書かれた。本誌14号の本欄で紹介した『女流昆虫画家メリアン波乱万丈の生涯』の読後4年を経て、本書の刊行によりメリアンの生涯と17世紀の生物学が更に鮮明に解き明かされた。まだ動物や昆虫が、汚物や腐敗物

から発生すると信じられていたアリストテレス思想の時代に、昆虫に魅せられ、食草を特定し、卵を孵化させ飼育の詳細を記録(本書の原著タイトルはCHRYSA LIS=蛹・さなぎである)として残した生態学者として、また昆虫の飼育観察で得られたライフサイクルを忠実に大版の羊皮紙に一枚一枚忠実に描いた画家としての姿を科学ジャーナリストの眼と足で、300年前の稀有なナチュラリスト・メリアンを浮彫にした労作であった。

〔選・評: 新関治男〕

『史上最大の伝染病 牛疫
根絶までの四〇〇〇年』

山内一也 著
岩波書店、2,800円+税

(本書は、本号本文中で山内先生が書かれておられるように、先生のご寄稿の基になった本であります。一部内容的に重複になることをお許し願いたい。)

有史以来最も恐れられた伝染病はペストと天然痘、これに匹敵する獣疫が牛疫である。4千年来、人類は牛疫に苦しめられ、想像を絶する犠牲を強いられてきた。この牛疫が天然痘に続いて第二の根絶感染症になる、記念すべきときが間近であるという。筆者自身は40年来このウイルスの研究に従事し、遺伝子組み換え牛疫耐熱性生ワクチンの開発や国際的牛疫根絶計画にも関与。この機に長年の構想を元に纏めた一

冊。日本人研究者の活躍を含めた冷静な筆致がゆえに引き込まれる好書である。

牛疫は感染牛の70%以上が死亡するだけでなく、歴史的にもローマ帝国衰退、蒙古軍の欧州侵入、フランス革命、仏国での獣医学校創設、そしてかの風船爆弾にも関係する感染症、であったという。この制圧には、長年種々の工夫がなされたが、何れも不十分であった。

1911年創設の釜山の農務省牛疫血清製造所の蠣崎千春博士によるグリセリン使用不活化ワクチン、その部下の中村稔治博士の家兎による弱毒化生ワクチンが役立ったのである。中村博士は家兎を牛の実験動物に使用する発想に辿り着いたことは本文中に詳しく述べられている。終戦の数年前に完成された生ワクチンは、戦後国際的に高く評価され、

牛疫制圧に多大な貢献をした。また、1922年以来血清製造所の血清、蠣崎ワクチン、中村ワクチンを使って、中国との広大な国境地帯で全頭接種という一大計画を敢行、朝鮮半島、本土の感染防御に大いに役立ったのである。

その後ワクチンの安全性向上や根絶のために、種々の研究や努力が重ねられ、近い将来出される根絶宣言に繋がって行くのである。この過程に蠣崎、中村両博士の他にも多くの日本人がいたことも本書は指摘しているのである。

なお選評者自身は、中村博士がおられた血清製造所(後の朝鮮総督府家畜衛生研究所)の官舎の生まれ。中村博士は身近におられた方であることと併せて、本書には浅からぬ縁を感じるものである。

〔選・評: 大島誠之助〕

日本実験動物学会の動き

1. 平成21年度臨時理事会

平成21年10月2日(水)午後1時から東京大学農学部7号館に於いて、平成21年度臨時理事会を開催しました。新公益法人化問題検討ワーキンググループも参加し、公益法人化について検討いたしました。

2. 第2回疾患モデルシンポジウム

平成21年11月17日(火)午後1時30分から弥生講堂(東京大学農学部)に於いて、第2回疾患モデルシンポジウム「生殖細胞のなりたちから不妊治療の基礎まで」を開催いたしました。

3. 平成21年度第2回理事会・維持会員懇談会

平成21年11月18日(水)午前10時からタワーホール船堀に於いて、平成21年度第2回理事会を開催しました。引き続き、午後2時から平成21年度維持会員懇談会「創薬評価と病態モデル動物：中枢および免疫・アレルギー疾患」を開催いたしました。

4. 平成21年度(社)日本実験動物学会功労賞・学会賞の受賞者決定

平成21年11月5日(木)学会賞(安東・田嶋賞、奨励賞)選考委員会、平成21年11月6日(金)に功労賞選考諮問委員会を開催しました。両委員会からの答申をもとに第2回理事会において、以下の受賞者を決定しました。

安東・田嶋賞： 鳥居 隆三(滋賀医科大学動物生命科学研究センター)

奨励賞： 高田 豊行(情報・システム研究機構)

橋本 晴夫(財団法人実験動物中央研究所)

功労賞： 倉林 譲(森ノ宮医療大学)

5. 第57回日本実験動物学会総会

標記の総会が平成22年5月12日(水)～14日(金)の期間、芹川忠夫大会長のもと京都テルサで開催します。奮ってご参加下さい。詳細につきましては第57回日本実験動物学会総会ホームページ(<http://jalas57.adthree.com/>)をご参照下さい。

6. 平成22～23年度在任理事候補者選挙について

平成22～23年度在任理事候補者の推薦受付を11月30日で締め切らせて頂きました。推薦を受けた理事候補者名簿および投票用紙を12月25日までに本学会会員に送付いたします。投票の受付期間は平成22年1月10日～2月10日までです。

日本実験動物技術者協会の動き

関東 支部

講習会等	期日	場所	テーマ
第35回懇話会および平成21年度関東支部総会	H22.2.27	さいたま市民会館うらわ(埼玉県)	「動物福祉の実践」 ～あなたは動物福祉を実践していますか?～ 詳細は、 http://jaeat-kanto.adthree.com/

関西 支部

講習会等	期日	場所	テーマ
第6回微生物検査実技講習会	H22.2.6～2.7	大阪医科大学	微生物検査法及び子宮切断術についての実技講習
平成21年度関西支部総会・春季大会	H22.3.27	キャンパスプラザ京都	「実験動物技術者の過去、現在、未来」

詳しくは日本実験動物技術者協会ホームページでご確認下さい。 日本実験動物技術者協会 <http://jaeat.org/>

平成21年度(第25回)実験動物技術者資格認定試験結果

平成21年度(第25回)実験動物技術者資格認定試験は、2級学科試験が8月23日(日)、1級学科試験が9月23日(土)に実施され、更に実技試験は2級が11月28日(土)に1級が11月29日(日)に1級が実施された。その結果が判明したので報告する。

1. 2級技術者試験

	高校	専門学校	一般	合計
出願者	101	46	494	641
受験者	98	44	487	629
学科合格者	37	36	448	521
実技出願者	37	36	497	570
実技受験者	37	35	479	551
実技合格者	34	31	457	522
総合合格者	34	31	452	517
合格率 (%)	33.7	67.4	89.3	79.8

備考：①高校、専門学校は認定校からの受験生である。

②平成20年度の制度改定により、本年度から一般受験者は学科又は実技の一方が合格した者（免除者）を含む。一般および合計の合格率は学科免除者(18)、実技免除者(16)を含む値である。

③一般の母数は学科・実技とも欠席した者（7名）を除く506名

2. 1級技術者試験

	白河研修生	一般	大学	学科免除者	合計
総受験者	50	53	26	31	159
学科受験者	50	52	26	—	128
実技受験者	37	31	22	31	121
総合合格者	19	7	4	11	41
合格率 (%)	38.0	13.5	15.4	35.5	25.8

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学科免除者とは昨年度又は一昨年度に学科試験に合格した者である。

③1級の合計合格率は総受験者に対する合格率である。

1級・2級実験動物技術者試験の優秀者の発表について

平成21年度より実験動物技術者試験で優秀な成績を収めた方を表彰することとなりました。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)

- ①岩田瀬奈 埼玉県立熊谷農業高等学校
- ②中嶋春野 群馬県立勢多農林高等学校
- ③萩原 香 群馬県立勢多農林高等学校
- ④佐藤早貴 埼玉県立熊谷農業高等学校
- ⑤唐木健太郎 長野県上伊那農業高等学校

2. 実験動物2級技術者試験優秀者(専門学校)

- ①中山幸美 東京バイオテクノロジー専門学校
- ②柳川梨恵 湘央生命科学技術専門学校
- ③矢ノ倉絵美子 東京医薬専門学校
- ④鈴木真之介 東京バイオテクノロジー専門学校
- ⑤今利宗雅 東京バイオテクノロジー専門学校

3. 実験動物2級技術者試験優秀者（一般）

- ① 鳴海 妙 東北ニュークリア(株)
- ② 三木香代子 (株)ケー・エー・シー
- ③ 山口一翔 三協ラボサービス(株)
- ④ 石井あすか (株)アニマルケア
- ⑤ 林 久子 (株)アニマルケア
- ⑥ 鈴木慶一 (株)チャンネルサイエンス
- ⑦ 中川原康介 ヤマサ醤油(株)
- ⑧ 橋爪なつ子 日本チャールス・リバー(株)
- ⑨ 清水大志 (株)八光
- ⑩ 守本亘孝 (株)三和化学研究所

4. 実験動物1級技術者試験優秀者（大学）

- ① 丸山徹歩 日本獣医生命科学大学
- ② 玉井邦明 倉敷芸術科学大学
- ③ 松本勇輝 倉敷芸術科学大学

5. 実験動物1級技術者試験優秀者（一般）

- ① 廣瀬清香 塩野義製薬(株)
- ② 目加田京子 (株)サイエンス・サービス
- ③ 倉石 武 東京大学医科学研究所

協会だより

1. 専門委員会等活動状況

委員会名等	開催月日	協議内容及び決定事項
第2回請負派遣対策専門委員会	21.10.6	請負・派遣法について
通信教育スクーリング（東京）	21.10.24～25	日本獣医生命科学大学
モルモット・ウサギ実技研修会（1級向）	21.10.24～25	日本獣医生命科学大学
第3回モニタリング技術専門委員会	21.11.4	微生物モニタリングの実施要領-モルモット・ウサギ編-の改訂
実験動物2級技術者実技試験	21.11.28	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
実験動物1級技術者実技試験	21.11.29	日本獣医生命科学大学
第3回合否判定委員会	21.12.8	実験動物1級・2級技術者実技試験の合否
第2回教育・認定専門委員会	21.12.8	教育セミナー等について
第1回運営会議	21.12.9	中間事業報告ほか
第1回通信教育小委員会	21.12.15	Q&A集の改定ほか
第4回情報専門委員会	21.12.25	「LABIO21」No.40号の企画について

2. 行事予定

(1) 協会関係

行事	開催日	場所・内容
第3回福祉調査・評価委員会	22.1.14	前半期の「評価」と後半期計画
第2回動物福祉専門委員会	22.1.21	実験動物福祉指針について
第4回モニタリング技術専門委員会	22.1.27	日動協メニューについて
第3回請負・派遣対策専門委員会	22.2.2	今後の活動について
教育セミナー フォーラム2009（東京）	22.2.27	東京大学弥生講堂
第4回実験動物技術指導員研修会	22.2.28	日本獣医生命科学大学
通信教育	22.3	通信教育の開始
教育セミナー フォーラム2009（京都）	22.3.6	京都府立医科大学図書館ホール
第3回教育・認定専門委員会	22.3.12	平成22年度のスケジュールについて
第53回理事会	22.3.23	平成21年度事業報告、平成22年度予算
第26回通常総会	22.5.18	平成21年度事業報告、平成22年度予算

3. 関係協会団体行事

◆第149回日本獣医学会学術集会

日時：2010年3月26～28日
会場：日本獣医生命科学大学
会長：池本卯典

◆第57回日本実験動物学会総会

日時：2010年5月12～14日
会場：京都テルサ
会長：芹川忠夫

◆第44回日本実験動物技術者協会総会

日時：2010年9月3～4日
会場：旭川市民文化会館
会長：清水範彦

4. 海外行事

◆第147回米国獣医学会総会(AVMA)

日時：2010年7月31日～8月3日
会場：Atlanta
詳細：<http://www.avma.org>

◆第61回National Meeting(AALAS)

日時：2010年10月10～14日
会場：Atlanta GA
詳細：<http://www.nationalmeeting.aalas.org/>

KAZE

謹賀新年。日動協会員および関係各位、ならびにLABIO読者各位の益々のご発展とご健勝を祈念し、新年を迎えるにあたりご挨拶申し上げます、などど堅苦しいご挨拶はさておき、激動の2009年が去り、希望ある新年であるよう心からお祈り致します。

昨年はリーマンショックに始まる世界的不況がより深刻化し、派遣切りや企業倒産など暗い話題が先行しました。政治では自由民主党が下野して民主党中心へと大きく変化しましたが、相変わらず献金や事業費の不正使用などが問題となり、事業仕分けでも問題山積のようです。実験動物界では不況の嵐だけでなく、公益法人問題や第三者評価も時代のニーズに合うような体制を整えることが求められてきていると思います。今こそ叡智を絞り、この不況を乗り越えるべく明るく、且つ、将来性豊かな実験動物界構築に積極的に参画して下さい。
(櫻井康博)

STAFF

情報専門委員会

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

制作 株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

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

アタリ
フィルム支給



Taconic
Smart Solutions To Improve Human Health

 **CLEA Japan, Inc.**

Global Alliance for Laboratory Animal Standardization



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

わたしたちにできること

ライフサイエンスの発展に貢献する実験動物を・・・

日本チャールス・リバー株式会社は、創業時の基本理念「科学の知識に基づいた実験動物の生産・供給」に基づき、世界のスタンダードとなる高品質SPF/VAF実験動物を安定供給し、ライフサイエンスの発展を応援しています(VAF: Virus Antibody Free)。

※1995年、ISO9002シリーズ認証取得。

日本チャールス・リバー株式会社

TEL.045(474)9340 FAX.045(474)9341

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