

LABIO 21

Japanese Society for Laboratory Animal Resources



法人 日本実験動物協会

Tel. 03-3864-9730 Fax. 03-3864-0619
http://jsla.lin.go.jp/ E-mail: jsla@group.lin.go.jp



【特集】

「ICLAS のミッションと日動協の役割」

【海外散歩】

「FELASA-ICLAS 合同会議に出席して」

「平成20年度から実験動物技術者認定制度が一部変わります」

Yoko

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



Taconic
Smart Solutions To Improve Human Health



CLEA Japan, Inc.

Global Alliance for Laboratory Animal Standardization



日本クレア株式会社

TEL.03 (5704) 7011 <http://www.CLEA-Japan.com>



絵 山本容子

画家。

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

1981年より(社)ジャパンケネルクラブ会報「家庭犬」の表紙画を担当。

1986年アメリカドッグアソシエーション特別賞を受賞。

1992年農林水産大臣賞を受賞。

1996年以後、東京、大阪を中心に個展・展示会を開催。

「メチニコフ賞を受賞して」	4
特 集	
「ICLASのミッションと日動協の役割」	6
海外散歩	
「イタリア」—FELASA-ICLAS 合同会議に出席して—	9
連載記事	
「サルの感染症について④ —細菌・寄生虫感染症とその臨床—	12
研究最前線	
「愛媛大学再生医療センターの開設とその意味するところ」	17
トピックス	
「日本実験動物学会マウス・ラット感染症対策委員会の紹介」	20
海外散歩	
「フィリピン」—フィリピンのコウモリ採取—	22
ラボテック	
「動物実験における人道的エンドポイント」	26
「DNA免疫法による抗体作製」	32
「平成20年度から実験動物技術者認定制度が一部変わります」	36
「アメリカおよび諸外国の実験動物教育認定制度について」	38
海外技術情報	42
LA-house	43
ほんのひとりと	44
学会の動き	45
技術者協会の動き	45
協会だより	45
KAZE	46

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



●受託事業本部

実験動物総合受託事業

弊社は、当事業のバイオニアとして永年に亘って事業を展開して参りました。これからは弊社の基盤事業としてコミュニケーションを大切に、適切な実験動物の飼育管理業務を遂行して、皆様の研究開発に貢献致します。



●国際プロジェクト

アジア関連事業

弊社は、これまで中国、韓国、台湾などのアジア諸国、地域と情報交換、技術指導、人材交流、教育研修、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参りました。21世紀はアジアの時代。これからも近隣諸国との友好事業を推進致します。



●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、永年の業務の中で培った医療、生命科学、食品、実験動物関連などに独自の人脈ネットワークが強力にバックアップ。求めるスキルを持った最適な人材を派遣致します。



●環境検査プロジェクト

環境検査関連事業

弊社では、感染症予防、及び衛生管理の観点から実施される、病院、食品工場、医薬品工場などの環境検査をお任せ致します。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、お客様が社員として採用をお考えになる人材を紹介致します。専門分野における人材確保は非常に困難であり、多くの時間と費用を費やします。当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。



●クロマトプレートプロジェクト

分析装置開発事業

弊社では、株式会社バイオメイトのHPLCによる血清中薬剤測定の除タンパクシステムの開発に協力し、販売されているカラムの製造に技術提供しております。



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 [一愛労働者派遣事業(株)13-08-0297] [有料職業紹介事業13-08-3-0309]
西日本営業所 〒543-0055 大阪府大阪市天王寺区悲田院町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

メチニコフ賞を受賞して

前(社)日本実験動物協会会長
光岡 知足



このたび国際酪農連盟 (IDF) 国内委員会のご推薦により、「腸内細菌学の開拓と機能性食品の開発」で100年に一度というメチニコフ賞 (微生物学部門) をいただいたことは名誉なことであるとともに、日本の腸内細菌や機能性食品の研究が国際的に認められ、大変嬉しく思っています。この賞は「免疫食細胞」でノーベル賞を受賞したメチニコフが、晩年、老化の研究に取り組み、1908年に著書「The Prolongation of Life; Optimistic Studies」が出版されてから1世紀に当たる今年、メチニコフが所長をつとめたパスツール研究所ならびに International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics: ISAPP の協賛を得てIDFが創設したものです。

顧みますと、私が腸内細菌の研究を始めて今年で55年となります。この間 腸内フローラの培養・分類・同定法の確立から生態学的法則・保健効果の発見などによって新しい学問分野「腸内細菌学」

を開拓し、それを基に機能性食品の開発に貢献することができました。これは、ひとえに私が恩師の方々と良い研究環境に恵まれ、特に理研時代は200人を超える企業研究者の協力のもと、光岡学校と呼ばれるほど和気あいあいと研究できたことの賜ものと心より感謝いたしております。

この研究の遂行に当たっては、実験動物が大きな役割を果たしました。とくに殺菌発酵乳投与の長寿効果とその要因の発見には、SPFマウスおよびハムスターを用いた実験が威力を発揮し、また、腸内菌の腸管定着性と食餌成分の関係の研究、さらに、腸内細菌の発ガン性あるいは免疫賦活作用の解明には、私たちが開発したヒトフローラノトバイオート動物を駆使した実験系が決定的な役割を果たしました。

近年、各種の疾患モデル動物や遺伝子改変動物が次々と開発され、またヒト・マウス・ラットのゲノム情報が解読され、遺伝子マップの完成が間近に迫っています

ので、それらの実験動物の無菌動物を作出し、特定腸内細菌が、ガン・認知症・アレルギー疾患などの発症にどのように関与しているかの研究も、今後期待されるところです。

日本は第2次大戦後の荒廃した中で、復興へむけて経済優先主義をとり、遂に世界第2位の経済大国に成長しました。しかし、物質的豊かさとは裏腹に、自然と環境は破壊され、その過程で日本人の謙虚さと勤勉さは次第に失われ、倫理観のない傲慢で心の貧しい国民に変貌し、教育は荒廃し、破廉恥、狡猾、凶悪な社会事件が増し、国の関係機関においてさえ、ずさん、粉飾、詐欺、さらに責任回避、責任転嫁が横行するようになったことは誠に遺憾に堪えません。

さらに、最近、学術・研究においては、研究費とポスト獲得競争が激化し、論文の質より量を重視する傾向が強くなったことも原因して、ずさんな論文のみならず、虚偽、ねつ造、改ざん、盗用、さらに研究費の不正流用までが目立

つようになっています。これらは絶対にあってはならないことです。

学術・研究は真理の探究に打ち込む「創造」という行為です。私はこれまで「創造の成果は、学問的好奇心、批判的反省心、自由な発想、鋭い観察と直感力をもった者が、豊富な知識に基づいて、ひたすら純粋な心で、愚直に経験と努力に努力を積み重ねながら真理を探究しているとき与えられるものである」ということを常々信条としてまいりました。現実世界は虚偽と悪に満ち満ちていることを75歳になってはじめて思い知ら

された私ですが、これからもこの信条を誇りとして堅持し歩み続ける覚悟です。

創造的研究を育てるには、画一教育ではなく、個人の多様性を認め、天賦の優れた才能を早く発見し、引き出し、伸ばすことができる教育制度の改革と教育環境の整

備が強く望まれます。そして、各個人にあっては、早い時期に、自己の資質を自覚し、将来の人生の進路を自ら決定するのがよいと思います。私は、今後一層精進を重ね、このたびの榮譽に応えるべく創造的研究の育成に微力を尽くす所存でございます。



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



(社) 日本実験動物協会 (Scientific Member) 代表
(財) 実験動物中央研究所

鍵山 直子

はじめに

2006年8月、日動協はICLASのScientific Memberに加盟することを決定し、ICLASにその旨を申請した。これを受けたICLASは、同月に韓国の済州島で開かれた理事会において日動協の適格性を審査し、全会一致で加盟を承認した。この申請に際して日動協は、動物福祉専門委員会委員長の鍵山直子を本件に関する代表者に任命した。ICLASは4年を1期として活動し、2007年は期の変わり目に当たる。そのため、6月にイタリアのチェルノビオで開かれた総会で2007～2011年を任期とする理事選挙が行われ、鍵山直子は新理事の一人に選出された。このことにより、日動協はScientific Memberとして名を連ねるだけでなく、ICLASの事業を積極的に推進する立場におかれた。

ICLASのミッション

ICLASの歴史は伊藤の論文に詳しい(伊藤豊志雄:ICLASとは、LABIO 21 2006年10月号p11～13)。概説すると、1956年、国際連合

教育科学文化機構(UNESCO)の呼びかけに国際医学団体協議会(CIOMS)と国際生物学連合(IUBS)が応じ、実験動物の品質の標準化などを目的にICLASの前身である国際実験動物委員会(ICLA: International Committee on Laboratory Animals)が設立された。当初はヨーロッパのユーザー連合主導型であったが、南北アメリカ、アジア、アフリカへと加盟団体が広がり、1970年代に現在のようなメンバーシップに様変わりした。

このようにICLAはユーザー主導の委員会であり、ユーザーのニーズを前提とした実験動物の品質向上を目指していた。ところがメンバーが増えるにつれ、獣医学的視点から見た実験動物の飼育管理と健康管理に議論が偏重する傾向が現れたという(野村達次博士談)。これではFELASAやAALAS等の国際的な実験動物学会となら変わりはなく、医学、生命科学分野のユーザーと連携を強化しない限りICLAのミッションは全うされないとの結論のもとで、ICLAは1979年、国際実験

動物委員会から国際実験動物(科学)学会議(ICLAS)に名称変更した。

その背景にあったのが1964年のヘルシンキ宣言ではないかと推測される。その第11項「人を対象とする医学研究は、一般的に受け入れられた科学的原則に従い、科学的文献の十分な知識、他の関連した情報源及び十分な実験並びに適切な場合には動物実験に基づかなければならない。」、および第12項「環境に影響を及ぼすおそれのある研究を実施するには十分な配慮が必要であり、また研究に使用される動物の健康を維持し、または生育を助けるためにも配慮されなければならない。」である(日本医師会ホームページより)。

ICLASのメンバーシップ

ICLASのメンバーシップは次の4カテゴリーからなる。加盟団体数は、ICLASのホームページより転載した(<http://www.iclas.org/>)。

- ・ National member (科学研究の推進にあたる国の代表的な機関・組織) 30団体
- ・ Scientific member/Union member (実験動物・動物実験に関する学術団体) 37団体
- ・ Associate member (ICLASの活動を支援する賛助会員) 34団体
- ・ Honorary Member (ICLASに多大な貢献をした個人) 9名

現在わが国ではNational Memberとして日本学術会議、Scientific Memberとして日本実験動物協会と日本実験動物学会(および疾患モデル学会)、Associate memberとして製薬企業とブリーダーを含む6

社が加盟し、Honorary Memberに野村達次博士(実中研所長)が指名されている。これらのうち議決権を有するNational memberとScientific/Union memberによって、2007～2011年任期の役員(常務理事と理事)がチェルノビオの総会で選出された。

〈常務理事〉

会長 Gilles Demers (カナダ)、留任(写真1)

副会長 Norikazu Tamaoki (日本)、留任

事務局長 Cecilia Carbone (アルゼンチン)、新任(写真2)

財務担当理事 Guy De Vroey (ベルギー)、新任

〈理事〉

National memberとScientific/Union memberそれぞれが送り込める理事数については、規程により加盟団体数に応じた理事数の割合が定められている。今期はNational Memberから5名(アメリカ、イタリア、ギリシャ、チュニジア、日本)、Scientific/Union Memberから6名(アメリカ実験動物学会、カナダ実験動物学会、国際薬理学連合、スカンディナヴィア実験動物学会、タイ実験動物学



写真1

向かって右: ICLAS会長Dr. Gilles Demers (カナダナショナルメンバー、CCAC)
向かって左: ICLAS理事Dr. Harry Rozmiarek (米国ナショナルメンバー、ペンシルバニア大学)

会、日動協)が選出された。

2007～2011年の会長所信

Demers会長はICLASの主なストラテジーとして次の3項目を挙げている。

- ・ 実験動物学に関する知識を世界に発信すること。
- ・ 発展途上国ないしは地域における実験動物学の発展に寄与すること。
- ・ ガイドラインや基準の中核的存在、実験動物福祉の情報センターとなること。

ではタクティックスとして、どのようなプロジェクトが具体的に稼働しているのでしょうか。チェルノビオでは会務として総会、理事会、常務理事会および関連団体(OIE、IACLAM、ILAR、AAALAC International等)とのコンソーシアムが開かれたが、併せて個別のプロジェクト会議も開催された。以下に、私が出席した2つの会議について紹介したい。

実験動物の管理と使用に関するガイドラインの作成

国際的に汎用可能な参考資料として5つのガイダンスを取りまと



写真2

向かって右: ICLAS事務局長Dr. Cecilia Carbone (アルゼンチンナショナルメンバー、ラプラタ大学)
向かって左: ICLAS前事務局長Dr. Patri Vergara (スペインナショナルメンバー、バルセロナ大学)

めることを決議し、それぞれワーキンググループを結成して作業にあたった（あたっている）。研究の国際化をかんがみるに、ICLASのようなアンブレラ・オーガニゼーションがファシリテータになって積極的にこのテーマに取り組むべきであり、目標は標準化（standardization）ではなく調和（harmonization）であるとしている。

2003年のフランスにおける会議がかわきりとなった人道的エンドポイント（humane endpoint）と安楽死処置（euthanasia）に関しては、その成果が2006年5月のScience誌に論調（Policy Forum）の形式で公表された¹⁾。プロトコールレビュー（実験計画の審査）とユーザー教育に関しては、今回の会議で最終案が審議され、来年には完成を見る運びとなった。残る、遺伝子改変動物の管理と使用に関するガイダンスについては1次案がチェルノビオで提示されたが、タイトルはgenetically modifiedがいいか、engineeredにしようか、いやいやalteredの方がいい、など、ブレインストーミング的な議論に終始した。

実験動物の品質ネットワーク構築

1979年に開始されたMonitoring and Reference Center Programは、アジア地区に大きな足跡を残したものの欧米にはあまり浸透せず、2003年にその幕を閉じた。その後の準備期間を経て今年から正式にスタートしたのが、ICLAS Network for Promotion of Animal Quality

in Research（略称Animal Quality Network (AQN) Program)である。ICLASとともに歩み、ICLASのミッションに理解の深い実中研を含む世界の8機関が協力してネットワークを構築する。このネットワークのもとで、Performance Evaluation Program (PEP) for Diagnostic Laboratoriesと証する自己点検システムを提供する。

PEPに参加する検査ラボには、AQNメンバーからマスキングした抗血清や微生物が送付される。抗血清であればそれを使って自所の方法で力価を測定し、微生物であれば同じく同定を試みる。のちに知らされるデータ（正解）に照らしてそれぞれ自所の検査精度を評価し、必要なら自発的に改良する。発展途上国を含む各地域の検査ラボがこうしてレベルアップを果たし、バイオメディカル研究に資することをAQNは目指している。この新しいプロジェクトの周知のためにチェルノビオでシンポジウムを開催し、関係者による具体的な打ち合わせが行なわれた（写真3）。

現在、PEPは開発段階にあり、日本からは実中研が試行に加わることになった。だが、病原微生物

の国際輸送に関しては、WHOの「感染性物質の輸送規則に関するガイダンス」（2005年）がある。それに加えて国内では感染症に関する法令が改正され、規制が強化されたばかりである。法的ハードルは国によって異なるが、目下、サンプル授受の手続きについてわが国の事情をAQNの仲間に説明し、担当行政機関とも相談しながら適法かつ最善な方法を模索しているところである。

おわりに

ICLAS

日動協の事業の一つに実験動物に関する国際交流の促進がある。よって、ICLASに積極的に参画すること自体は日動協にとって大変好ましいことと考えられる。ただし、ブリーダーや実験動物技術者中心の対応ではまかないきれない部分が生じたことも事実である。より広めのスタンスに切り替え、National Memberである日本学術会議、Scientific Memberである実験動物学会、およびAssociate Memberに加盟されている各社ならびにその他の関連学術団体等と連携しながら事を進めていかなければならない。ICLASへの加盟により、日動協ははからずしも新しいERA（時代）を迎えることになった。関係各位にはご理解とご協力を心からお願いする次第である。

参考文献

- 1) Demers G, et al. Harmonization of animal care and use guidance. Science 312 (5 May 2006), 700-701.



写真1

向かって右：ICLAS AQNプロジェクトメンバー
Dr. William Shek（米国チャールズ・リバー社）
向かって左：ICLAS AQNプロジェクトメンバー
Dr. Lila Riley（米国ミズーリ大学）

イタリア 海外散歩

FELASA-ICLAS 合同会議に出席して

(財) 実験動物中央研究所
鍵山 直子

目的

2007年6月にイタリアで開かれた欧州実験動物学会連合 (Federation for European Laboratory Animal Science Associations: FELASA) の学術集会に参加しました。FELASA は、国際実験動物 (科) 学会議 International Council for Laboratory Animal Science: ICLAS) と合同で4年ごとに学術会議を開催しています。外資系製薬会社の社員として参加した前々会のスペイン (マヨルカ島、1999年) では微生物モニタリング項目の国際標準化について提案し、独立行政法人の研究所が本務先であった前は、フランス (ナント市、2003年) で安楽死と人道的エンドポイントについて議論しました。今回はマウス・ラットの微生物学的品質に関するネットワークの構築について考察するとともに、2006年に公表された日本の動物実験ガイドラインの紹介をしました。



写真1 Villa Antica (学会会場)

チェルノビオ

「イタリアはビールよりスパークリングワインのほうが美味いよ。」だけを予備知識に、ミラノのマルペンサ空港に降り立ちました。車で1時間位走るとスイスとの国境に近づきますが、そのあたりで突如眼下に開けたのがコモ湖です。その湖畔に位置するチェルノビオという田舎町に今回の会場がありました。9日 (土) から14日 (木) までチェルノビオに滞在し、9、10日はICLASのシンポジウムや会務総会に、11～14日は合同の学術集会に足を運びました。

なぜ大都市ではなくチェルノビオなのか、もちろん経済的理由もありますが、見て納得しました。コモ湖の景観は日本でいうと箱根芦ノ

湖のイメージで、ヨーロッパ人にとっては憧れのリゾート。湖畔のベストロケーションに位置するエルバ家の広大な敷地が、Villa Erbaという名でチェルノビオに保存されていたのです。そこが学会会場だといわれて、半信半疑で敷地内に踏み込みました。庭園には歴史を感じさせる高木に混じってアジサイや竹が植樹され、一番奥まった湖の入江に19世紀末に建てられたという Villa Antica がたたずんでいました (写真1)。ICLASの会合は蔦の絡むこのお屋敷で行なうよ、というのでまたびっくり。内部は、壁画とシャンデリアで厳かに装飾されていました (写真2)。

庭園広場を歩くと、Villa Antica と反対側にドーム型をしたガラス張りのコンgresセンターが見えてき



写真2 Villa Antica 内部の装飾

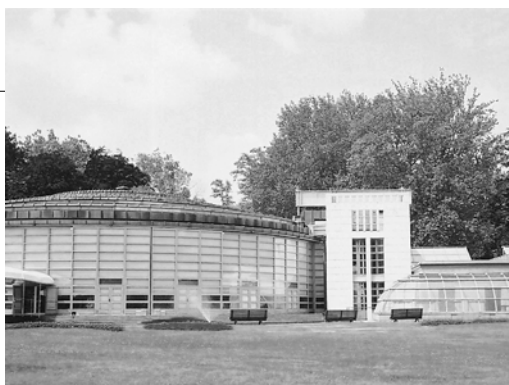


写真3 コングレスセンター(メイン会場)

ました(写真3)。イタリア語が読めない悲しさ、spaで始まる看板と外観からスパつきの保養所と勘違い。しかし、ここが実は本会場だったのです。1000人規模のオーデトリウム(講堂)を中心に、A～Cの小ホールとポスターセッションの会場が放射状に配置されていました。小ホールへの通路はオーデトリウムに吊り下げられたスクリーンの裏に設けられているので、講演中の舞台横を人がぞろぞろと移動します。その様子をみながら、床の間の掛軸の裏に秘密の通路がある忠臣蔵の吉良邸を思い出していました。

プログラム

主催者の資料によると、40カ国以上の約500人が事前登録したとのこと、登録者は地域別に、ヨーロッパ78.0%、南北アメリカ15.3%。アジア・オセアニア5.7%、アフリカ1.0%でした。日本からは、阪大の黒澤先生、理研BRCの池先生、実中研の面々、それに商品展示の方々を合わせて7名の方をお見かけしました。アメリカで開かれる学会と異なり英語を母国語としない出席者が多いので、使用言語が英語でも日本人には居心地のいい環境でした。イタリア語は日本語と同じく母音で終わる単語が多く(ボンジョルノ、グラチエ、リストランテ、・・・)、語間が切れて聞こえます。こんなリズム感にも親しみを覚えました。

プログラムは次の12セッションに分かれ、それぞれシンポジウムを軸に、ワークショップとポスター発表がサテライト的に組まれていました。

1. Refinement and innovative technologies of experimental procedures
2. Genetically modified animals and other animal models
3. Laboratory animal quality programs
4. Criteria for the selections of animal models
5. Use of biological markers for the assessment of animal welfare
6. International harmonization of guidelines
7. Regulatory aspects
8. Scientific impact of innovative technologies for animal housing
9. Harm-benefit analysis and ethical evaluation
10. Standardization of health monitoring
11. Alternative methods
12. Recommendation for education and training

私は、3と9の口頭発表(9は日本チャールス・リバーの池田卓也先生が演者)と6のポスター発表を持ち込みました。ポスターの貼付には石膏風に表面加工したボードが与えられました。ここでトラブル発生、日本から持ち込んだガムテープ、セロテープは全然張り付かず、画鋏は刺さりません。唯一、前日の発表者が残していったらしいガム状の粘着剤が役立ちました。日本の商品名でいうと、はり玉とかひつつき虫という

やつです。こんなこともあるので、海外でのポスター発表にはくれぐれもご注意を。

実験動物学の底流に3Rsがあり、その主脈がRefinementであることは世界共通です。今回、FELASAはRefinement具現のテクノロジーとして非侵襲的な画像解析(non-invasive imaging)に注力し、これになると3セッション+1ワークショップを充てました。MRI、超音波、マイクロCT、PETなど、生体にメスを入れない診断技術をマウス、ラットといった小動物に応用するための研究開発と実用化が議論されたのです。その導入には多額の初期投資と維持管理費が必要なため、発表者の所属は製薬企業や大学(実験医学)が中心でした。国内での今後の展開を考えれば、共同利用施設を地域単位で設置するとともに、その管理運営に公的助成金を投じることを検討すべきでしょう。

国内の動きに目を転じますと、日動協は、テキスト「実験動物の技術と応用 実践編」(2004年)で本テクノロジー(P188-192 内部透視撮影法)について概説しました。2006年の動物実験法研修会「動物実験における3Rの理念と実践」では「新技術導入による実験使用動物数の削減」(小澤和則先生)を取りあげ、さらに会誌LABIO 21の27号(2007年1月号)にて、「動物用NMR(MRIとMRS)」(黒田幸夫先生)および「実験動物におけるCT(Computed Tomography)について」(GEヘルスケアバイオサイエンス社)を「ラボテック技術紹介」欄に掲載するなど、情報の共有化を進めているところ です。



写真4 レセプション・コンサートのリハーサル風景

余録

堅い話が続きましたが、イタリアならでのお恵みにもあずかりました。それは、器材メーカーT社の提供によるレセプション「Vivaldiの室内楽コンサート」です。Vivaldiは、イタリアンバロック協奏曲を完成した17～18世紀の作曲家で、当日の演目はバイオリンのソロによる「四季」、フルートのソロによる「ごしきひわ」、そしてピッコロ協奏曲でした。「ごしきひわ」はフルートアンサンブル用編曲版を昨年演奏し

たばかり。私はバスフルートでチェロとチェンバロのパートを吹いたので、2楽章では自分もステージに登っているような錯覚に陥りました。リハーサルでソリストがピッコロをさらっている珍しいカットをご覧にいます（写真4）。ちなみに本番では黒のドレスに変身していました。

最終日の午後、チェルノビオからボートでコモ（地名）に移動、急行電車に乗り継いでミラノへと繰り出しました。ミラノといえばスカラ座。ショップにはマリア・カラスをはじめ、オペラのプリマ達のCDと書籍がびっしり展示販売されていましたが、私には価値が分からず手が出ませんでした。散歩の終着点はドゥオモ聖堂です。高さ100m以上のゴシック風尖塔がよきによきと天

をつき（写真5）、頂点のマリア像もかすんで見えました。堂内に入ると壮大なステンドグラスにまず圧倒され、上から下へと目でなぞっただけでお説教が伝わってきたから不思議です。すっかり敬虔な気持ちになり、祭壇に感謝のお祈りを捧げて旅の締めくくりとしました。



写真5 ミラノのドゥオモ聖堂正面



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

Laboratory
Animals

遺伝子改変マウス
作出における
洗練 (refinement)
および
削減 (reduction)

翻訳 久原孝俊
久原美智子

The International Journal of
Laboratory Animal Science
and Welfare

Official journal of
FELASA, GIOGLAS, ILAF,
LAWA, IWV, SECLA, SOV
Volume 37 Suppl. 1 July 2006

Also available online at:
www.rnpress.co.uk/la37.htm



編集 日本実験動物環境研究会
発行 株式会社アドスリー

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)

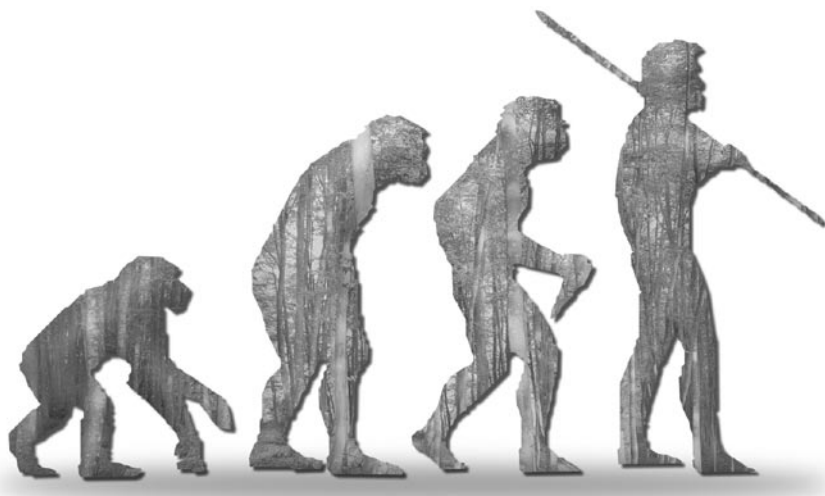
〒164-0003 東京都中野区東中野4-27-37
TEL:03-5925-2840 FAX:03-5925-2913
E-mail:book@adthree.com URL: http://www.adthree.com

サル感染症について

—細菌・寄生虫感染症とその臨床—

社団法人予防衛生協会

研究支援企画部長 小野 文子



サル類の細菌感染症、寄生虫感染症の多くは人獣共通感染症です。結核の様に感染が認められた場合は周囲サルへの蔓延、人への感染を防御することを最優先として安楽死を選択しなければならない場合もありますが、多くの感染症では治療が可能な疾患です。それらの病原体は発症しているものばかりではなく、潜伏し、様々なストレス（実験動物においては、検疫、リケージング、実験負荷）等により、惹起される場合があります。また、高齢サル、糖尿病サル、実験的免疫抑制処置を行う等の状況において、抵抗力の低下により常在菌の日和見感染を起こし、重篤な症状を呈する場合があります。的確な早期診断と適切な処置によりこれらの感染症から貴重なサル資源を守ることが可能と考えられます。

細菌感染症

細菌感染症で最も重要な病原体の一つである赤痢菌についてはすでにシリーズ②ズーノーシスで詳細が概説されていますので、ここではそれ以外の感染症について、臨床対応をふまえて記載します。

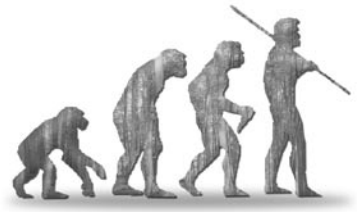
結核菌

*Mycobacteriaceae*科の*Mycobacterium*属に属する菌は抗酸菌で主に結核菌群と非定型抗酸菌に分類されています。サル類に結核病を起こす菌種は結核菌群中のヒト型結核菌*Mycobacterium tuberculosis*とウシ型結核菌*M. bovis*です。その他の非定型抗酸菌に含まれるトリ型結核菌*M. avian*等もサル類には感受性があります。

全てのサル種はヒト型結核菌に感受性を有していますが、その程度は旧世界サルが最も高く、以下類人猿、新世界サルの順です。旧世界サルではマカカ属サルが、また、マカカ属サルではアカゲザル

で高い感受性が認められます。カニクイザルにおける結核菌感染実験では、レントゲン検査にて明白な肺結核像と持続的発咳を伴う進行性結核が成立しています¹⁾。自然感染はサル類の生息地域ではおこらず、捕獲後人間社会と接触して初めて感染すると考えられています。そのため、サルを有する実験動物施設では、外部入室者に対して結核感染のないことを証明する診断書等の提出を求める場合があります。

感染経路は経気道感染、経口感染、接触感染あるいは汚染した注射針や入れ墨器による接触感染等があります。臨床症状では病状が非常に悪化するまで判らないことが多く、病気の進行にともない元気消失、食欲減退、衰弱、体重の減少、被毛粗剛、脱毛等の消耗性疾患の病態を示します。その他、発熱、下痢、下肢の両側性麻痺、皮膚潰瘍、リンパ節腫脹、肝腫、脾腫等がみられることもあります。経気道による感染実験では呼



吸器症状が認められた後、急激に全身状態が悪化します。一般に、初感染病巣内の菌は急速に全身に広がり病変を形成し、肺、肝、脾、腎、腸管などに黄白色あるいは灰色の針頭大から数ミリの固い小結節（結核結節）また、肺には空洞形成や乾酪性肺炎が認められます。その他、結核性腸潰瘍、結核性皮膚潰瘍、結核性脊椎炎などがみられることもあります。

診断はツベルクリン反応試験により行います。しかし、感染初期、病気が非常に進行した時、麻疹ウイルスの感染併発等により陰性となる場合があるため、胸部レントゲン撮影、EIA（TBGL「抗酸菌検査」）による抗体検査、PPDによるγインターフェロン測定による細胞性免疫検査を補助診断とし、確定診断は菌分離により行います。

検疫期間中および飼育サル of 定期健康診断では、ツベルクリン反応試験は必須の項目と考えられます。オールドツベルクリン（2000IU）を上眼瞼に接種し、48、72時間後に下記判定基準に基づいて診断します。擬陽性の場合にはトリ型結核菌抗原およびオールドツベルクリン希釈列の再接種により判定を行います。

ツベルクリン判定基準

陰 性 0：反応無し。

1：注射針を刺した局所が青または紫。

2：紅斑あり、しかし腫脹無し。

疑陽性 3：ほんのちょっとした腫脹と紅斑あり。

または軽度腫脹が認め

られるが紅斑無し。

陽 性 4：紅斑と明白な腫脹あり。眼瞼下垂。

5：眼瞼閉塞、腫脹、壊死。



BCG接種カニクイザルにおけるツベルクリン反応：接種72時間後、判定4、陽性

予防法としては、BCGの予防効果は安定性がなく、かつ長期免疫能を付与することは期待できない。ツベルクリン反応試験によるモニタリングが不可能となります。実験用霊長類管理における最善の予防法はツベルクリン反応試験を用いた定期モニタリングにより感染サルを摘発、排除することです。そして、サル類を取り扱う人は定期的に結核診断を受け健康状態を管理するとともに、動物管理区域への外部入棟者に対しては、結核病にかかっている可能性がないことを確認する問診を行いヒトからの感染を未然に防ぐことが重要です。

サルモネラ



腸内細菌科のSalmonella属に属する菌で2菌種から成りますがそのうちSalmonella entericaは生化学的性状とDNA相同性に基づいて6亜種に分けられ、さらに各亜種は多くの血清型に分類されています。感染経路は経口感染で自然感染はヒト、哺乳動

物、鳥類、爬虫類、両棲類にみられ、サル類は散発的または、集団的にサルモネラ病に罹患することがあります。感染サルのはほとんどは無症状保菌状態にとどまり、菌は自然に消失します。しかし、1年間以上も排菌を続ける保菌サルもみられ、分離される血清型は多様です。そのうち、S. Paratyphi-A、S. Paratyphi-B、S. Paratyphi-C、S. Typhimurium、S. Enteritidis、S. Stanley、S. Antatum、S. Newportなどは、サル類に散発的または集団的に下痢症をおこすことがあります。しかし、ヒトの腸チフスの原因菌であるS. typhiがサル類から分離されたという報告はありません。霊長類医科学研究センターでは1985年に輸入したサルで集団発生が認められ、サルの主症状は下痢で、30頭中27頭が水様便、時に粘血便を排泄し、下痢症のみられたサルのうち7頭が発症後4～25日までに死亡または予後不良のため安楽死としました²⁾。

確定診断は糞便、血液からのサルモネラの分離・同定により行います。赤痢菌感染の場合と同様に無症状保菌サルでは下痢発症サルに比べて、糞便中の菌数が非常に少なく、かつ間欠的に排菌するため、無症状保菌サルの摘発は増菌培養を繰り返すことが必要です。また、血清学的検査も補助診断として価値があります。

本菌の感染蔓延を予防するためには、新規導入サルにおいて検疫期間中に細菌検査を行い、陽性サルを摘発します。この際、臨床症状がみられたサルには抗生物質を

サルの感染症について

—細菌・寄生虫感染症とその臨床—

含む適切な治療を行う必要がありますが、無症状保菌サルでは無処置のまま、菌が自然に消失するまで隔離飼育を続けることにより排除することが可能です。治療にはスルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤、フォスフォマイシン等の抗菌剤を用います。フォスフォマイシン投与後は多くのサルで抗生物質による下痢症状が遅延しますので、抗生物質抵抗性乳酸菌製剤等で整腸を促すとともに症状に応じて皮下輸液等の対症療法を行い全身状態の早期回復をはかります。治療後は3回以上の検査でサルモネラ陰性を確認した後、隔離飼育を解除します。

カンピロバクター

Campylobacteraceae 科の *Campylobacter* 属に属するグラム陰性螺旋桿菌で、サル類からは、*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* 等が分離されています。*C. jejuni* と *C. coli* はヒトの下痢症起因菌として重要視されてる人獣共通感染症の1つです。霊長類医科学研究センターは大規模個別飼育屋内繁殖を行っていますが、飼育環境を2段飼育方式から1段飼育方式に変更し、ケージの大型化とともに、汚物を直接触ることのできにくい飼育環境となりました。グラフに改修前後の下痢便からの細菌分離状況を示しています。クレブシエラやプロテウス等の下痢症の原因となる腸内細菌の検出率は顕著に減少していますが、カンピロバクターにおいても感染頻度の減少傾向が認められます。成体においては臨床

症状を示さない不顕性感染がほとんどですが、幼若カニクイザルでは重篤な下痢症を示します。保育中母子感染、離乳後の群飼育開始時期等に多発し、脱水症状等を伴う下痢が認められることから早期診断と治療が肝要です。*C. jejuni* と *C. fetus* が2:3の割合で検出され、いずれも下痢症状を示します。キャンピロバクターが検出された場合は、通常エリスロマイシン5日間経口投与により治療し、群で飼育されている場合は同群の個体全てに同時に治療をおこなう必要があります。

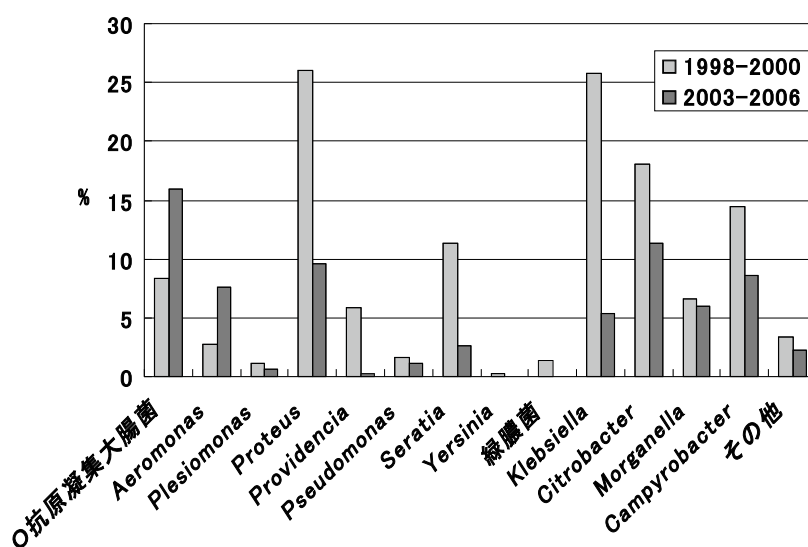
大腸菌

大腸菌 (*Escherichia coli*) は腸管内常在菌叢のひとつですが、それらの中のある特定の血清型は、病原大腸菌、組織侵入性大腸菌および毒素原性大腸菌と呼ばれ、腸炎起因性を有しています。霊長類医科学研究センターのカニクイザルにおいて下痢症状を示した動物の約70%から大腸菌が検出され、

その約20%において病原大腸菌O抗原に対する凝集反応が認められます（上記グラフにおける検出率の上昇は検査頻度増加によるものですが、検出される抗原性も変化が認められています）。しかし、ヒトの腸管出血性大腸菌症のような劇症を示す症例はほとんどなく、その病原性については明らかではありません。ミドリザルでは、通常はほとんど下痢症状を示す動物は認められませんでした。血便を伴う重篤な症状を呈した集団下痢症が発生し、病原性大腸菌O-26; H11型が分離されました。この集団感染においては感染蔓延防御対策をとるとともに、フォスフォマイシンを用いた治療を行うことにより初発より約2ヶ月後に終息させることができました。

細菌感染症には抗生物質が著効を示します。一般的な化学療法の手順としては、原因菌を正しく検出し、その菌に対する薬剤感受性を調べ、その結果、選択された抗生物質を投与するという方法がと

下痢便からの細菌分離状況



られます。この場合、一番注意しなければならないことは抗生物質の選択です。特にサル類の大規模コロニーを有している施設では、万一耐性菌が出現した場合、疾病治療に大きな障害となるばかりでなく、人への耐性菌蔓延の危険性が生じます。それを防御するためには、抗生物質使用の指針を明確にし、投薬する場合は確実な効果を示す十分量の投薬を行います。また基本的に使用する抗生物質は広範囲に有効性が確認できる抗生物質のうち可能な限り世代の低い薬剤を選択することも重要です。

寄生虫感染症

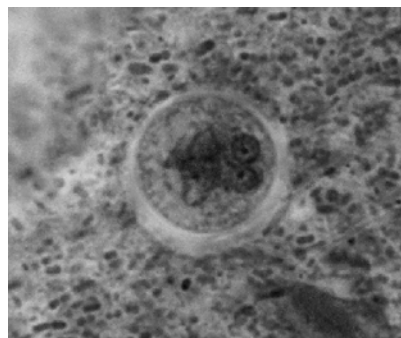
野外サルでは寄生虫感染のないサルは皆無といってよいほど、多くの寄生虫と共存しているのが、実情といえます。しかし、屋内繁殖サルにおいても長い世代交代を繰り返しているにもかかわらず、完全に排除することは困難であることも事実です。しかし、定期的な検査と衛生的な飼育環境を維持することにより、寄生虫の生活環を遮断し清浄化を果たしていくことが、安定した免疫応答を持った良好で安全な実験用霊長類を供給することにつながります。

赤痢アメーバ

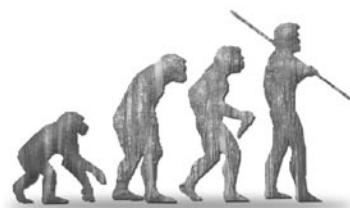
赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) と非病原性の *E. dispar* は実験用サル類にも検出されますが多くは *E. dispar* です。従来は両者を病原株と非病原株の赤痢アメーバとしていましたが、1997年WHOの専門委員会を受け

E. histolytica のみが赤痢アメーバと診断されることとなりました。診断は糞便内原虫の鏡検により原虫の検出は可能ですが、形態的に2種の判別はできないため、同定にはザイモデームパターン解析、IHA、IFA、ELISA、PCR法による解析が必要となります。サル類での *E. histolytica* 感染は2003年にフランスの動物園において、クモザル、マンドリル、コロンブスモンキーで報告されています。カニクイザルでは原虫が検出されたサンプルのうちの1例のみに *E. histolytica* がPCRで同定された報告があります3)、4)。感染経路は、糞便中に排泄された赤痢アメーバの嚢子が経口的に感染することにより成立し、マカカ属サルではほとんどが無症状です。ヒトが赤痢アメーバに感染した場合も90%以上は無症状キャリアとなることが知られています。サル類における病原性については明らかではありませんが、無症状のサルから *E. histolytica* が分離されていることから、ヒトと同様の無症状キャリアとなっている可能性が考えられます。

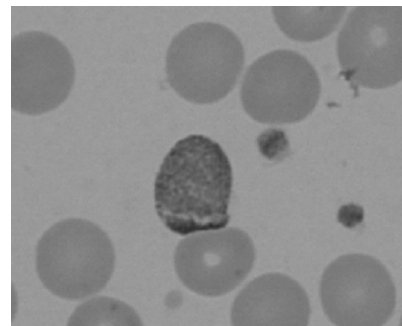
E. dispar と同定された場合は特に治療を行う必要はありません



E. dispar



が、*E. histolytica* が検出された場合はメトロニタゾール 40mg/kg 5日間の投薬による駆虫を行います。治療後も嚢子の排出はあるので、処置後の定期検査も望まれます。



サルマラリア (マクロガメート)

マラリア

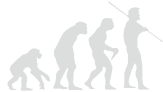
カニクイザルやアカゲザルでは *Plasmodium cynomolgi*, *P. bastianellii*, *P. fragile*, *P. coatneyi*, *P. inui*, *P. knowlesi* の感染が知られています。カニクイザルでは感染しても明らかな症状を認めず、不顕性で自然治癒の経過をとりますが、アカゲザルの *P. knowlesi*、ニホンザルの *P. coatneyi* 及び、リスザルの *P. brasilianum* では致死的な経過をたどる場合もあることが報告されています。感染経路は中間宿主であるハマダラカによって伝播され宿主体内に入った原虫は肝細胞内で増殖後、赤血球に侵入して分裂増殖し、赤血球の破壊とともに貧血、脾腫等、血管内停留による脳症等の臨床症状の発現をみます。

診断は、血液塗抹標本によるギムザ染色、アクリジンオレンジ染色法による鏡検によりおこないます。予防は中間宿主の蚊の侵入防止策をとることが必須です。

サル感染症について

—細菌・寄生虫感染症とその臨床—

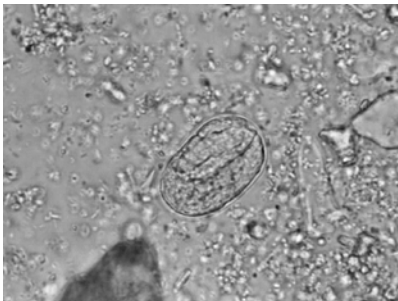
糞線虫



サル糞線虫症は旧世界サル、類人猿には一般的な寄生虫です。ヒトへの感染例も報告があり、人獣共通感染症と認識する必要があります。臨床症状は少数寄生の場合はほとんど無症状ですが、実験動物の場合、免疫抑制等の処置により虫体が増殖し、重篤な下痢、貧血等、消瘦等の症状を呈する場合があります。診断は糞便中の虫卵検査により行います。

治療はイベルメクチン200 μ g/kgの皮下投与を2週間間隔で2回、ミンテゾール 50mg/kg経口投与3日間、もしくはブラジカン

テル5mg/kg経口投与1回を行います。



糞線虫卵

参考文献

- 1) Capuano SV 3rd, Croix DA, Pawar S, Zinovik A, Myers A, Lin PL, Bissel S, Fuhrman C, Klein E, Flynn JL.
Experimental Mycobacterium tuberculosis infection of cynomolgus macaques closely resembles the various manifestations of human M.

tuberculosis infection.

Infect Immun. 2003 Oct;71(10):5831-44.

- 2) 高阪 精夫 輸入カニクイザルにおけるサルモネラ症の集団発生
TPCニュース、Spring 1986 Vol.5, No.1 (No.9)
- 3) Takano J, Narita T, Tachibana H, Terao K, Fujimoto K.
Comparison of Entamoeba histolytica DNA isolated from a cynomolgus monkey with human isolates.
Parasitol Res. 2007 Aug;101(3):539-46.
- 4) Takano J, Narita T, Tachibana H, Shimizu T, Komatsubara H, Terao K, Fujimoto K.
Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar infections in cynomolgus monkeys imported into Japan for research.
Parasitol Res. 2005 Oct;97(3):255-7.

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いております。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いております。

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。

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

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

愛媛大学再生医療研究センターの開設とその意味するところ

愛媛大学大学院医学系研究科 生化学・分子遺伝学分野 教授
大学院医学系研究科 附属再生医療研究センター・副センター長
東山 繁樹

はじめに

国立大学が独立行政法人化され、見かけ上は各大学の自由度が広がり、独自の運営ができるかの様ですが、実質のところは運営交付金が毎年1%ずつ6年間カットされ、中間評価の後さらに6年間、同様にカットされる見込みであり、大学運営が窮地に追い込まれているのが現状です。運営交付金の7割が教員や事務員の給与を賄う人件費であることを考えれば、何処により良い大学を作っていける余裕があるのでしょうか？ 国政は、科学技術立国を唱え、COE、グローバルCOE、若手自立支援プログラム、等など次々と大型プログラムを推進してはいますが、地方大学医学部ではこれらのプログラムに応募することすらかなりの負担を強いられています。なぜなら、一県一医大構想のもと新設された医学部（医科大学）には（愛媛大学医学部もこの一つ）、研究を中心とするセンターや附属研究所はほとんどなく、愛媛大学大学院医学系研究科にもむろん何もありません。地方大学での従来の医学教育を中心とした教育活動は当然ながら、将来の地域医療従事者を養成するためのものであり、われわれはその責務を負わねばなりません。大学運営の財政が困窮し、教員削減、研究資金の獲

得枠は大型化し旧帝大を中心に都市部の大学に優位に働く、医学教育は従来以上のものが求められる、こんな中で、より多くの外部資金を獲得して、より良い研究・教育を推進していくことは果たして可能なのでしょうか？

私はサラリーマン川柳が好きで（自分では作りませんが）、年に一度は発表されるサラリーマン川柳大賞発表を楽しみにしています。いつの作品だったか記憶は定かではありませんがその中の一つに「俺の人生下り坂、振り返ってみれば上り坂」と言う一句がありました。地方大学は向かい風の中を進まねばならない時代ですが、この句の様に「向かい風、振り返ってみれば追い風」とポジティブに考え、何らかの手を打つことをしなければ大学存続でさえ「風前の灯」となってしまいます。こんな思いで、逆風の中、大学院医学系研究科附属の研究センターを作ることを進めたのです。このような思いでいるのは決して私一人ではありません。特に臨床教室は新人の研究制度改革以来、入局者数の激減の追い打ちをくらい、研究どころではなく臨床現場でも手が足りない状況なのは何処の地方大学も同じ様です。このような状況下で研究を続ける手だては一つ、基礎と臨床が研究テーマをできる限り近づけ、共有し合うこと

で、人手不足を補い合うことです。さらに、基礎教室でも共通の技術を共有し合うことで、この現状を打開していくことが重要です。そこで、愛媛大学大学院医学系研究科がこれまで行ってきた先端医療の中で各科共通して推進していける領域が再生医療であり、また大きな実績を持つ領域でもあります。基礎研究においても多くがリンクできる研究テーマであることから、基礎研究から臨床応用への道筋をたどるトランスレショナルリサーチを掲げ『再生医療研究センター』を設置することにした訳です。もちろん再生医療が今後益々重要な医療戦略となっていくことは疑う余地はなく、四国地方における先端医療を担い、推進していくことが目的であることは言うまでもありません。

再生医療研究センターが 目指すもの

損傷を受けた臓器を正常機能を持った組織に再生させる治療法、この夢のような再生医療が現実のものになろうとしています。外傷や手術で失われた組織の再生、血管再生による循環動態の改善、脊髄損傷による麻痺の回復、免疫不全状態から正常免疫への再構築、さらには中枢神経再生による認知症の克服など、これまでの薬物療法や手術などでは治療

できなかった全ての難治性疾患に対して、再生医療への期待が高まっています。

愛媛大学附属病院においてもこれまでに、上皮系組織や造血幹細胞などを用いた高度先進医療を推進し、治療成績の向上に貢献してきました。例えば、培養表皮シート移植法を確立し、東海村臨界事故、小浜原発事故での治療に大きな貢献を果たしました。また、眼科・耳鼻科領域では羊膜を併用した培養角膜や鼓膜の移植法を開発し、臨床応用を開始しています。さらには、造血幹細胞を用いたがんや難治性ウイルス感染症に対する新たな治療戦略の開発にも力を入れています。

このように再生医療に対する期待は大きく膨らんでいますが、克服すべき課題が多いのも事実です。安全で効果的な再生医療法の確立のためには、細胞増殖や分化機構の解明など、基礎医学研究を進展させることが重要です。愛媛大学はこの分野においても、細胞増殖時に起こる増殖抑制解除の分子機構解明など、大きな貢献を果たしてきました。

愛媛大学大学院医学研究科附属再生医療研究センターは、これまで教室単位で行ってきた先端基盤技術を集約化して、研究の効率化と水準向上を図ることを目的に設置されました。さらに、附属病院内に基礎研究成果を臨床応用する部門を開設し、組織再生医療・細胞治療のトランスレーショナル・リサーチを推進することを目標に掲げています。本センターを拠点として、難治性疾患の治療成績向上に貢献できる成果を、愛媛大学から世界に向けて発信できることを目指しています(図)。

再生医療研究センターは2部門4分野からなる

このような本事業では、これまで各臨床教室が独立して行ってきた幹細胞の応用研究を細胞治療応用部門として統一し、拠点化することによる効率化を図り、その研究成果を臨床試験に結びつけることを目標にしています。

一方、細胞増殖・分化誘導技術開発においては細胞増殖時に起こる増殖抑制解除の新たな分子機構が愛媛大学から明らかにされ、この分子機構に基づく、細胞の自己増殖コントロールならびに分化方向性の制御も可能となってきました。

臨床応用可能な各種幹細胞のクローニングと量産化技術の確立ならびに分化誘導技術の確立はこのように基礎研究によって支えられており、これまで基礎教室が単独で行ってきた研究の共通の先端基盤技術を集約化して先端基盤技術応用部門として統一し効率化を図ります。

このようにして2つの部門を有機的に結び、運営し、組織再生医療・細胞治療のトランスレーショナルリサーチを推進する再生医療研究センターを開設しました。設置する2部門、4分野は以下の通りです。

再生医療応用部門

【再生医療応用分野】

附属病院内に細胞治療、再生医療を実践できる細胞プロセッシングセンターを設置し、基礎研究から得られた成果を臨床応用(トランスレーショナル・リサーチ)する分野です。この分野では、様々な難治性疾患を対象とした臨床試験を推進して行きます。これまでに、皮膚、角膜、鼓

膜などの上皮系組織の再生医療、造血幹細胞移植療法、樹状細胞やペプチドワクチンを用いた細胞免疫療法などを行ってきました。今後、これらの治療法を推進するとともに、基礎研究成果をもとに、倫理性と安全性が確保された新たな治療法の開発を目指します。愛媛大学から世界に発信できる新たな細胞治療、再生医療の確立が期待されます。

先端基盤技術開発部門

医学部研究棟に、遺伝子、蛋白質、細胞動態を解析する3分野を設置し、各側面から細胞の増殖・分化・生存の分子機構を明らかにする研究プロジェクトや、再生医療に応用可能な各種組織の幹細胞の同定と、その特性を明らかにする研究プロジェクトを最新のテクノロジーで支援し、新たな細胞移植技術等による再生医療への道を切り開くことを目指しています。

【遺伝子ネットワーク解析分野】

各種幹細胞の自己複製・分化・増殖・生存の機構解明を遺伝子ネットワーク解析の側面から支える分野です。共通の最新技術として、ゲノム情報に基づく遺伝子情報の抽出、各種発現ベクターの構築、遺伝子サイレンシングテクノロジーのsiRNA技術をプラスミドベクターとウイルスベクターをベースにしたゲノムワイドsiRNAライブラリーの構築、各種遺伝子ノックダウン細胞の作製や個体での遺伝子操作技術の提供、各種幹細胞と組織特異的分化を個体で追跡可能にするマウスの作成等の高度技術を提供し、総合的遺伝子解析とその応用を支援しています。

【蛋白質ネットワーク解析分野】

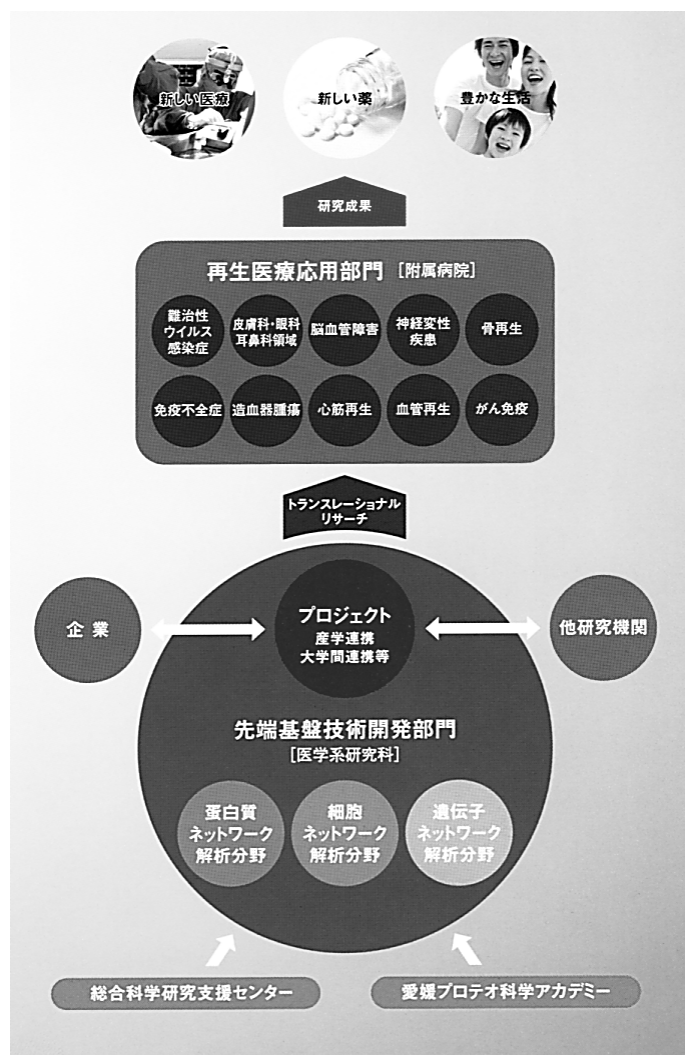
各種幹細胞の自己複製・分化・増殖の機構解明を蛋白質ネットワーク解析の側面から支える分野です。最新の蛋白質分離技術と質量分析技術による蛋白質の同定、蛋白質修飾反応解析、蛋白質相互作用解析を行い、コンピューター解析によるシステムバイオロジーで、新たな蛋白質ネットワークを提案します。また【遺伝子ネットワーク解析分野】との連携により、細胞表面蛋白質の解析から新しい細胞表面マーカーを検索する技術開発とその応用を支援しています。これらの技術支援により細胞移植に有用な特異的細胞の選別を可能にしていきます。

【細胞ネットワーク解析分野】

各種幹細胞のクローン化と樹立、ならびに自己複製制御による量産化を技術的側面から支える分野です。【遺伝子ネットワーク解析分野】と【蛋白質ネットワーク解析分野】とのタイアップで同定する各種幹細胞マーカーを駆使して、個体より幹細胞を分離し、クローン化していきます。さらに、各種臓器別に単離、樹立した幹細胞が個体の中で生育する場所（ニッチ）を同定し、組織を再生・構築する様子をイメージングします。この技術はマウス個体を用いて行い、得られる情報をヒトに還元していきます。

おわりに

愛媛大学大学院医学系研究科に附属の研究センターを、この今設置することは大きな冒険です。特に、今後の運営については多くの課題を残したままですが、各教室の力を結集すると同時に、民間企業との連携を深め、従来の形にとらわれない運営態勢で乗り切っていきたいと考えています。今だからこそ地方大学に吹く逆風を追い風とし、底力を見せる時だと思うのです。



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

CHANNEL SCIENCE CO., LTD.
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

日本実験動物学会マウス・ラット感染症対策委員会の紹介

日本実験動物学会マウス・ラット感染症対策委員会

委員長：伊藤 豊志雄

(財団法人実験動物中央研究所)

マウス・ラット感染対策委員会の設立

2005年第52回日本実験動物学会総会の特別シンポジウム「実験動物の微生物学的品質を考える」後に関係者が集まり、1) 学会員の感染症に関する知識と経験の底上げが必要、2) バリアとは異なるコンセプトに基づく動物実験用飼育管理システムの検討が必要、3) 1と2の現状認識に基づき、微生物学的品質や感染症に対する調査・対策等の提言、基準の策定と普及の目的で、長期的展望に立った常設の委員会設置が提言された。そして、翌年の第53回日本実験動物学会総会で、「マウス・ラット感染対策委員会」の新設が報告された。その委員会設立趣意書の概要と委員会の申し合わせは以下のごとくであった。

1. 設立趣意書の概要

背景：ここ10年間のマウスやラットの感染症発生状況の観察から、バリア施設の普及によって発病を伴う感染症発生は減少したものの、その後は遺伝子操作マウスの増加によって病原性の弱い微生物あるいは非病原性とされる寄生虫感染が増加、そして現在はその汚

染状況も改善の傾向にあることが示された。この遺伝子操作動物の出現は、実験動物・動物実験の分野に動物供給源として生産業者以外に遺伝子操作動物を開発した研究機関が加わったこと、遺伝子操作動物の微生物学的な品質についての特別な対応が必要となったこと、そして、文科系や工学系での動物実験など実験動物使用者の多様化といった三つの新たな状況を作り出した。また別の問題として、発症を伴う感染症発生の減少は、動物実験現場での感染症経験の乏しさに起因する感染事故への間違った対応なども起こっている。一方で、バリア以外の感染症コントロールを目的にした多様な飼育器具・システムも新たに開発されている。なお、本委員会の対象動物種は、最も広く使用され、品質管理が十分になされているという理由で、マウスとラットに限定した。

委員構成：委員長、委員ならびにアドバイザーで構成され、必要に応じ、会員を追加する。さらに、より広範な意見を取り入れる目的で、所属に関係なく、実験動物の感染症や微生物学的品質に興味を持つ研究者の参画を得る目的で、拡大委員会も組織した。

2. 委員会申し合せ

委員構成：微生物学、感染症学、検査の専門家である委員とアドバイザーによって構成される。適宜、必要な委員の参画を依頼する。

委員の任期：2年で、再任を認める。

委員長の選出：委員長は委員の互選によって選出する。

事業計画：

1. 実験動物（マウス・ラット）の感染に関する学会の窓口
2. ワークショップ・シンポジウムの開催
3. 微生物モニタリング項目のミニマムリクアイアメントの提示
4. テキストブックの編集
5. 動物実験現場での微生物コントロールのアンケート調査など

マウス・ラットの微生物モニタリング実態把握のためのアンケート調査の実施

重篤な疾病を引き起こす感染症発生が激減し、日和見病原体汚染が散見されるようになった我が国の実験動物としてのマウス・ラットにおいて、有効性と経済性に立脚した微生物モニタリングシステムの再構築が求められている。一

方、遺伝子操作マウスに見られるように動物の国際間授受は盛んになり、その時に動物に添付する健康証明書に書き込むモニタリング項目については国や施設ごとに違いが認められ、国際間での動物の授受を円滑に行うために国内で多様な検査項目に対応できる体制を確立する必要もある。

このような多様なニーズの実態を把握するために、委員会はマウス・ラットの微生物モニタリングに関するアンケート調査を実施した。

1. マウス・ラット感染対策委員会アンケート調査結果

調査方法は委員会と拡大委員会にてアンケート調査票を準備、2007年1月、315施設に調査票を送付、2月に調査票を回収・集計した。171施設からご返事をいただき、その中で微生物モニタリング実施は156施設、未実施は27施設、残りの15施設は動物を維持していないというものであった。微生物学的品質検査はマウス・ラットの生産施設において常識となっているものの、使用施設においては未だ不十分な施設も存在することが明らかとなった。本調査の中で、微生物学的品質管理を新たに実施あるいは改訂しようとする施設から、一般的に薦められる微生物モニタリングの指針の提示が求められた。

2. 基本検査項目の提示

調査によって、モニタリング実施機関の中で、日動協、国動協、

公私動協およびICLASモニタリングセンター（MS）の推奨する検査項目を採用している施設が、生産（専用）施設で70%、実験施設のうち、大学で70～80%、製薬企業で80%、研究機関で70%と、微生物モニタリングを実施している施設の70%以上が4つの団体の提案を採用し、それ以外は独自の方法を実施していることが判明した。それぞれの団体では施設の目的に合致したモニタリング項目を複数のグレードに分けて示している。4団体がそれぞれ薦める基本となる検査項目については少し差異がある。アンケート回答施設の多くから、基本検査項目に関するこれら統一案の調整が求められた。そこで学会が中心になり、その案を提示し、上記4団体に再検討をお願いし、モニタリングの基本的な部分の考え方や検査項目について統一していくことを試み、現在はその統一案を4団体に提示し、検討していただいているところである。

その骨子は、一部病原体のカテゴリー見直しと、通常の動物と易感染性動物の二つのグループに対応した検査項目の提案であった。すなわち、MCが提案している検査対象微生物のカテゴリーの見直しとその見直しの結果に基づく基本検査項目の提示で、その項目には人獣共通感染症、動物に対する病原性の強い、そして病原性は強くないが現在わが国のマウス・ラット施設で散見され、動物実験成

績に対する影響が明らかな病原体が含まれている。さらに、近年はヌードマウスやscidマウスなど免疫不全動物や感染防御に係る遺伝子を操作された動物、いわゆる易感染性動物が普及している。その状況に対応すべく、上記2つのグループに対応した検査項目の提案を行った。

この提案はあくまでも実験動物施設で使用する動物の品質のボトムアップを意図した4団体の微生物モニタリング項目の基本部分における認識の共有が目的である。一方で、動物の生産供給施設、海外に動物を供給する施設、あるいは動物に対する負担の大きな実験や、より詳細な生体反応を収集する必要のある動物実験施設においては、日和見病原体や非病原性とされる寄生虫感染の有無まで把握する必要があるものと考ええる。委員会の事業内容として基本検査項目以外に、今後、微生物の病原性や動物実験への影響の見直しや新興感染症としては少し古くなったが、*Helicobacter*、パルボウイルスあるいはノロウイルスのモニタリング項目としての意味付けの検討が必要と考える。

なお、ここで挙げた基本検査項目とは、関係者との間で、これまでMinimum Requirementとして検討されてきたものである。より適切な用語をお教えいただければ幸いです。

フィリピン 海外散歩 フィリピンのコウモリ採取

東京大学大学院農学生命科学研究科

教授 吉川 泰弘

College of Veterinary Medicine Los Banos, Univ. Philippines

Joseph Masangkay



洞窟のコウモリ捕獲

なぜコウモリか？

近年、ヒトが感染した場合に致命的となる動物由来感染症が目立って増加している。その中でもラブドウイルスに属する狂犬病を含めたコウモリリッサウイルス（直接、ヒトに感染する）、パラミキソウイルスに属するニパウイルス（ブタを介してヒトに感染した）やヘンドラウイルス（ウマを介してヒトに感染した）、あるいはSARSコロナウイルス（ハクビシンを介してヒトに感染したと考えられる）など翼手目（コウモリ）に由来するウイルス感染症が世界的に問題となっている。またフィロウイルスに属するエボラウイルスやマールブルグウイルスの自然宿主としても疑われている。このように翼手目がこれまで考えられ

ていた以上に、病原体の宿主動物である可能性が指摘されはじめている。それにも拘らず、これまで翼手目を対象とした研究は、エコロケーションのような超音波機能や、その特殊な生殖戦略、冬眠、社会行動などに限られており、感染症という視点からの基礎的研究は世界的にも欠落していた。こうした空白地帯を埋めようと考えて、ここ7～8年、少しずつ研究を進めてきた。

病原体の宿主としてのコウモリの位置

コウモリは約7000万年前に翼手目として分岐し、哺乳類でありながら空を飛ぶ生活を選んだ。小型コウモリ（約850種）と大コウモリ（約150種）の2亜目からなり、小型コウモリは極地をのぞく

世界中に分布した。4000種の哺乳類のうち2000種の齧歯類について約1000種という第2位の多様性を誇っている。大コウモリは旧世界の熱帯、亜熱帯に局限して生活している。小型コウモリには食虫、果食、吸血、魚食など多様な食性があるが、大コウモリはほとんどが果食コウモリである（fruit batあるいは顔かたちからflying foxといわれる）。

コウモリはしばしば1群数十万頭～数百万頭という大コロニーを形成する。また、小型コウモリと大コウモリが同一の洞窟に生息することもある。このような群生は病原体にとっては非常に都合がよい。一度群れに入った病原体は常にナイーブな宿主を探して感染を繰り返すので、群れに定着する可能性が高い。人でも産業革命以後、都市の人口が数十万人を超えるようになってからウイルス病のアウトブレイクやヒト固有のウイルスとしての定着が容易になったと考えられる。群れの中での病原体は、宿主からの選択圧を受け、変異を繰り返す結果、弱毒化し、宿主と共存できるようになる。コウモリの長い歴史と、多様性はいろいろな病原体との共存を可能にしたと考えられる。特に生物種の豊富な熱帯雨林、亜熱帯に生息する大コウモリは、多くの病原体と共存可能

な地位にある。

近年、コウモリに由来する感染症が目立つようになった原因としては、環境汚染の進行と熱帯雨林の開発が考えられる。環境汚染物質の多くは変異原性と免疫抑制機能を有している。これは共存しているウイルスの変異を促進し、また押さえこんでいるウイルスとの共生関係を崩壊させる原因となる。さらに熱帯雨林の開発は、これまで接触しなかったコウモリとヒトや家畜が接触する機会を増加させる。これらの因子が重なり合って、コウモリ由来の感染症が目立つようになってきていると思われる。

フィリピンを選んだ2つの理由

翼手目、特に大コウモリの多くは、各国で絶滅危惧種や野生保護動物種に分類されており、捕獲して研究に利用しようとしても政府の許可が取れないことが多い。アンダーグラウンドで研究が成立している間とはもかくとして、正式にコウモリを採取して共同研究を進めるには環境省（国によっては林野省、農水省、野生動物保護省など）の正規の許可が必要となる。幸いフィリピン大学獣医学部には自然史博物館があり、その専門官及びフィリピン大学との共同研究で、野生翼手目の捕獲許可を得ることが出来た。これが第1の理由である。

第2は、フィリピンが多くの島から出来ており、新更新世期にす

でに5つの異なる動物叢（ルソン域、ミンダナオ域、パラワン域、ネグロス諸島、その他諸島）に別れ、非常に豊かな生物叢を有していることである。翼手目に関してはこれまでに約80種の報告があり、フィリピンだけで世界の約10分の1弱の異なるコウモリを有している。生物進化からも、病原体との共生関係から見ても非常に興味深い地域といえる。



コウモリの捕獲

コウモリの捕獲は洞窟に生息しているものを捕獲する場合と、宵に飛んでいるコウモリを捕獲する方法がある。洞窟のコウモリも飛んでいるコウモリの捕獲も、専門家の助けが必要である。コウモリの生態がわからないで、闇雲にかすみ網をかけても取れるものではない。また、最初に捕獲計画を立てて、余分に捕獲された種に関してはリリースすべきである。

かすみ網には、コウモリ以外にも野鳥やフクロウなどもかかる。大型のフクロウなどがかかると網が複雑に絡んで、はずすのにかなりの時間と根気がいる。自然史博物館の専門家は実に丁寧に、しかし余分な時間をかけないで、驚くほど巧みに網からはずしていく。また、網にかかったコウモリは結構するどい歯で噛み付くので、うかつにつかむと噛み付かれる危険性がある。かすみ網のポールはいつも現地調達で、野生の棕櫚の枝をはらってポールとし、使い捨て



洞窟のコウモリ捕獲

である。野生の棕櫚はどこにでもあり、群生すると雨林の日当たりを悪くするので、邪魔者扱いされており、枝を払い使用することには問題はない。専門官は狭い熱帯雨林の小道沿いに、実にうまくかすみ網を張っていく。

捕獲は、夕方までにかすみ網を張り終え（夕方5～6時）、8時から9時ころまで現場に待機して、かかった個体を捕獲する。その後、翌朝早くに現場に行き、夜にかかった個体を回収するとともみ、かすみ網を回収する。



現地レポート（行き）

2007年1月にロス・バニオスでコウモリの捕獲を行ったが、今回のコウモリの捕獲（2007年7月）はルソン島の東にあるポリロ島という小さな島の熱帯雨林で行われた。前夜、教授・准教授等のロートル・グループがホテルで軽く一杯やろうというときに部屋に電話があり、朝3時半に迎えに来るとい連絡があった。時間を間違えているのではないかと思い2～3度確かめたが間違いなかった。先

発隊（学生とフィリピン大学の教授、自然史博物館の専門官ら）はすでに島にわたっていたが、現地からの情報はなかった。

夜のアルコールをほどほどにして、各自配布されたヘッド・カンテラ、電動虫除け機、蚊取り線香、着替え類をリュックやかばんに詰め込んで朝を待った。4時前にホテルを出て、霜がつくほどに冷えた車で約2.5時間、ひたすら東に走り、7時前には船着場に到着した。海から上がる朝日がとてもきれいで、バット・ハンティングの前途を祝福してくれるように思われた。軽い朝食を食べ100人乗りの船でポリ口島にわたった。雨季にもかかわらず快晴で、島並みも美しく、波も穏やかで約2時間半の船旅は快適であった。

ポリ口島では観光ホテルで一泊か？という甘い期待は消し飛んで、中古のジープにのり、島の西から東に横断することになった。舗装道路はほんの10分ほどで消え、後は凸凹の山道を2時間半ほどひた走りに走って、東海岸の町に着いた。ここで先発隊と合流したが、彼らはすでに洞窟でコウモリの捕獲を経験しており、すっかりプロらしくなっていた。代表者は町の警察署に挨拶に行き、コウモリの捕獲計画等について説明した。熱帯雨林の浜に渡るため、先発隊（学生3名、専門官2名、フィリピン大教授、生態学者、料理人2名等）と後発隊（教授・准教授ら4名、専門官）の総勢がボー

トに乗り込んだ。マット、長靴、鍋釜等々、なんとなくヒマラヤ登山のキャラバン隊のようないでたちで、潮の引いた海岸を腰まで塩水につかりながら、ボートに乗り込む格好はなかなか絵になる姿であった。約1時間半で最終目的地のさんご礁の浜に到着した。朝の3時半に出発して、午後の3時過ぎなので、ほぼ12時間車、船、ジープ、ボートと乗り継いだことになる。

浜に1つだけあるバンガローに荷揚げをして、一息つくと、着替えをすまして裏の山に入ることになったが、これが熱帯雨林であった。2群に分かれて、若者隊はコウモリの洞窟へ、ロートル組は熱帯雨林でかすみ網を張ることになった。いでたちは帽子、頭にはカンテラ、首は手ぬぐい、手には電動虫除け機、腰には吊り下げ型蚊取り線香、手足は虫除けスプレーをたっぷりしませ、長靴あるいはズックである。ほかに、専門官はコウモリ・ケージ、捕獲袋、かすみ網、ビニールテープ、鉋、ナイフなどを携帯する。ほんの10分か20分山をあがると熱帯雨林であった。見上げると樹林の間に青空が見えるのに、周りの湿度は100%で、息をするにも眼鏡が曇る。じっと座っていてさえ汗が流れる。噛み付き蟻と蚊の攻撃から身を守らなければならない。香取線香の香りがこんなに心強いとは思わなかった。網を張って、後はじっと待つだけである。闇の中で



捕獲されたオオコウモリ

あるが、慣れるとかすみ網のかすかな揺れでコウモリのかかったことが判るようになる。8時半ころに洞窟グループが十分な数のコウモリを捕獲して合流した。バンガローに帰り、捕獲したコウモリの種の同定、解剖、必要な臓器の採取を始めた。ロートル組は早々に寝てしまったが、学生は夜半まで働きつめであった。もっとも12時には電気がなくなって真っ暗闇になってしまった。朝5時に鶏の合唱で目覚めた。私は2階の簡易ベッドで寝てしまったが、床に寝ている人の方が多かった。

現地レポート（帰り）

ボートの迎えは午後3時。朝からそれまでの時間は、さんご礁の海でシュノーケルを楽しんだり、カヌーで釣ってきた貝や魚料理を楽しんだり、何より木陰で海から来るやさしい風を受けながらハンモックでうたた寝を楽しんだり、この世ならぬ、ゆったりした時間をすごした。何度か「時間よとまれ！」という昔見たテレビ番組を思い浮かべた。ボートは途

中で2～3度エンジンが止まって心配をかけたが無事に港町に戻った。

町では新任の市長にコウモリの捕獲の報告に行った。専門官が作成した一覧表を基にホルマリン固定した捕獲試料を見せ、申請書と合致していることを市の野生動物保護官が確認する。市長は初仕事でとても張り切っていた。日本人を珍しがって一緒に記念撮影をし、熱帯雨林をエコ・ツーリズムとして売り出したいという抱負を語っていた。夕方から中古ジープで山越えをして、西海岸の町に着いたときはとっぴりと夜も暮れていた。野生動物保護センターで玄関、1、2階の床、簡易ベッドに分かれて寝たが、夜中の12時で

電気が切れるため、トイレに行くにはカンテラが必要であった。扇風機が切れるので、暑くて、玄関の床に寝るのが正解であったかもしれない。朝5時起床という連絡を受けて、何故そんなに早く起きなければならないのか判らなかった。夜半にはものすごい雨と雷がなったが、疲れていて気づかない人も多かった。

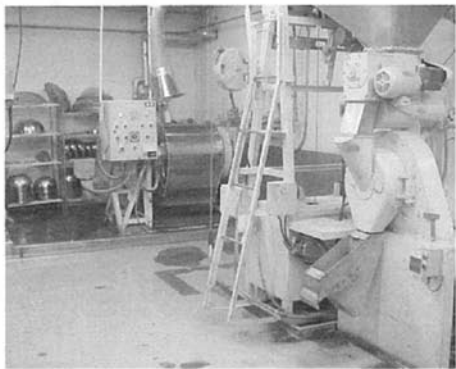
朝5時、星を抱きながらカンテラの明かりを頼りに歩いた。船着場までは徒歩で15分ほどであった。帰りの船は混んでいたが、スペースを見つけて横になるや否や、寝込んでしまった。ルソン本土についてから、朝食後、地域の通関局に出頭した。ポリロ島から大学に標本を移動させるための許

可書が必要であるということであった。通関局には不法に移動しようとして押収された品、木材、車、家具等々がうず高く積まれていた。実は、これが本当に大変な作業で、ポリロ島のチェックより数段厳しかった。書類の不備があったらしく、全ての書類を整え終えたのは昼過ぎであった。車で大学に戻ったのは午後3時を過ぎていた。通関の煩雑さを知るに及んで、何故あんなに早く出発する必要があるのか、よくわかった。大学に着くと雨季特有のスコールがきたが、コウモリ捕獲中は雨季にもかかわらず、ずっと雨にもあわず、快晴続きで幸運であった。来年の二月にはイロイロ島での捕獲を計画している。

テラーメイドは医薬ではありません。

オリエンタル酵母の特注飼料

お客様の試験目的にふさわしい飼料をご用意させていただきます。



各種モデル飼料

- 肥満
 - 高脂血症
 - インスリン抵抗性
 - 脂肪肝
 - 〔アルコール性〕
 - 〔非アルコール性〕
 - コリン無添加食
 - アミノ酸混合飼料
 (特定のアミノ酸過剰、無添加)
 - 高脂肪食
 - 高糖食
 - 低タン白食
 - 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製します。



オリエンタル酵母工業株式会社
ORIENTAL YEAST CO., LTD.

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
<http://www.oyc-bio.jp> E-mail: fbi@oyc.co.jp

営業所 ●東京バイオ営業所 ●大阪バイオ営業所 ●札幌営業所
関係会社 ●株式会社オリエンタルバイオサービス ●株式会社オリエンタルバイオサービス関東 ●株式会社ケービーティーオリエンタル

動物実験における人道的エンドポイント

日本新薬(株) 研究開発企画センター 中井 伸子

はじめに

動物実験および実験動物における福祉の理念として、Russell and Burch (1954) により提唱された3Rの原則（Replacement: 代替法の利用、Reduction: 必要最小数の利用、Refinement: 苦痛の軽減）が広く国際的に普及し定着している。

実験に用いられる動物は、誘発された疾病や実験処置などにより苦痛を被ることが多い。実験動物が被る苦痛は、人道的観点から、科学的な目的達成のために避けられない最低限の内容および時間に限定すべきであり、緩和でき

ない重度の苦痛を伴う場合は、実験処置の途中であっても、激しい苦痛から解放するため実験を打ち切り苦痛のない方法で安楽死させるべきである。その科学的な一手段として、無用の苦痛を与えることを回避し、科学的妥当性をもって早期に実験を中止し終了させる判断基準、すなわち人道的エンドポイント（humane endpoint）が設定される。実験動物の死をもってエンドポイントとする実験計画（death as endpoint）や重度の苦痛を伴う実験系では、人道的エンドポイントを組み込む配慮が必要である。

今回は、はじめに人道的エンドポイント確立の前提となる実験動

物における苦痛の評価方法について解説し、次に既に採用されている人道的エンドポイントを毒性試験、がん研究、および遺伝子組換え動物を例に概説する。更に、瀕死状態を人道的エンドポイントの指標とする考え方、および客観的に実験動物の死を予測する戦略としてのスコアリングシステムについて紹介する。

実験動物における苦痛の評価

人道的エンドポイントを確立するには、言語表現力のない実験動物が苦痛を被っているかどうかを判断し、その程度を適切に評価する必要がある。

外観や行動の変化を常に注意深

表1 実験動物における痛みの指標 *

動物種		外観	生理機能
マウス ラット モルモット	活動性低下、摂水量の低下、食欲低下、舐める、四肢を庇う、自傷行為、攻撃性の増大、発声、グループからの別離、ヒゲの動きが増す（マウス）、ハンドリング時に鳴くようになる（モルモット）、鳴き声の減少（モルモット）	被毛の汚れ、起毛、異常姿勢、うずくまり姿勢（ヤマネのような姿勢）、赤涙（ラット）、まぶたが部分的に閉じる、毛細血管拡張、鼻汁、横臥	睡眠障害、低体温、浅速呼吸、努力呼吸
ウサギ	不穏、隠れる、鳴く、攻撃的、引っ掻く、嘔む、食欲低下、食殺、動かなくなる	明確な変化が認められない場合もある	流涎、浅速呼吸
イヌ	嘔む、引っ掻く、防御的、喘ぎ、唸り声、鳴かなくなる、ハンドリングに対して抵抗しなくなるか攻撃的になる	硬直姿勢、動きの減少、横たわり、卑屈な外貌、尾を股間にはさむ姿勢	振戦、パンティング、あえぎ、排尿
ネコ	沈静、さかんに吹く・唸る、隠れる、しきりに舐める、四肢を引く、硬直した足取り、食欲低下、ハンドリングからの逃避	不穏な表情、四肢を隠す、頭部下垂、被毛の汚れ、耳を扁平にねかせる、うずくまる	
サル類	高い鋭い叫び声、うめき声、摂餌摂水量の低下、攻撃性	うずくまり、悲しそうな表情、毛づくろいをやめる	

*：文献1より引用

く観察することが痛みの兆候を把握するための一助となり、動物に施された処置に関する情報もその参考となる。体重変化、外観所見、臨床症状、自発行動の変化および外部刺激に対する反応などは、動物が被る苦痛を評価するための最も一般的な観察項目である(表1)。局所的な外科処置などによる急性の痛みを被っている動物では、処置を施した局所において、痛み、痛覚過敏、もしくはアロデニアの兆候が見られる。一方、病理学的変化に基づく慢性の痛みについては、時間をかけて進行するためその兆候の発見は困難を伴うが、グルーミング頻度の低下、体重や活動量の減少などがよい指標となる。うずくまりのような姿勢や外観の変化が指標となることもある。動物は自発的にもしくは触れると発声する場合もあるが、これは必ずしも痛みを示すものではなく、また痛みがある動物が必ず発声するわけでもない。従って、動物の苦痛を評価するには、各々の動物種特有の行動パターンに関する知識が重要となる。

痛みはストレスの要因であり、また、環境・心理学的ストレスの多くは、痛みに対する感度を変化させることも知られている。そのため動物の痛みを評価する場合、痛みのレベルは他のストレス要因により影響されることも認識しておく必要がある。

各種動物実験における人道的エンドポイント

ガイドライン等で引用され、国際的にも広く採用されている人道的エンドポイントの適用例を表2に示す。

実験目的、実験モデルの種類、動物種や系統、その他の実験条件によって人道的エンドポイントとしての安楽死の判定基準が異なるので、エンドポイント設定の際は細心の注意が必要である。例えば、進行性の体温低下は、ワクチンの効力試験などの感染実験における人道的エンドポイントとして知られているが、体温には以下の変動要因があるのでこれらも考慮すべきである。①温湿度、床敷きの種類、ケージ内飼育密度などの環境

要因の影響を受けること。②実験動物の系統または種によって、実験処置に対する反応が異なること。③実験処置の種類によってエンドポイントとなる体温が異なること。④体温測定方法により値に影響があること。

また、知見が蓄積するにつれエンドポイントが改良される例もある。骨髄腫細胞株接種マウスにおいて、死に至る2～7日前に転移性脊椎圧迫の徴候としての後肢麻痺が発現することが判明し、その後は「死」もしくは瀕死状態に代わり、後肢麻痺が早期安楽死の指標として採用された。即ち、経験を積みデータを蓄積し解析することにより、エンドポイントを改良することが重要である。

毒性試験における人道的エンドポイント

ガイドライン等による薬事規制上の試験として実施される毒性試験の多くは「死」をエンドポイントとしている。しかし、過去数年間に多くの人道的エンドポイントに関係する新しいガイドライン、手順およびモデルが提案され採用

表2 死亡に替わる人道的エンドポイントの例 *

人道的エンドポイント	兆候 (安楽死指標)	適用
腫瘍の成長、影響	腫瘍の重量が体重の10%を超える場合、腫瘍径が20mm (マウス) もしくは40mm (ラット) 以上、腫瘍の潰瘍化・壊死・感染、歩行障害、摂水・摂餌障害	皮下の腫瘍 腹水型腫瘍 ハイブリドーマ
摂餌不良、悪液質	コントロールと比較して20%以上の低体重、7日間に25%以上の体重減少、悪液質	代謝異常を伴う疾病、慢性的な感染
移動障害	持続的な横たわり、うずくまり	各種
臓器、組織障害の兆候	呼吸器：呼吸速迫、努力呼吸、咳、喘ぎ 循環器：ショック、出血、アナフィラキシー 消化管：重症の下痢もしくは嘔吐 末梢神経：弛緩性もしくは痙攣性麻痺 中枢系：旋回、盲目、認知症、痙攣	毒性試験 全身性の疾患
進行性の低体温	正常体温より10%以上低下 齧歯類では4-6℃の体温低下	感染実験、 ワクチンの効力試験
瀕死状態、前瀕死状態	予め、特定の臨床症状を定義し、この症状が認められた場合は安楽死させる	各種

*：参考文献3,4より一部改変し引用

されるようになってきた。

急性致死毒性試験の目的は、被験物質を単回投与した後に動物の半数が死亡すると予測される用量（LD₅₀）を推定することであった。標準的には3群のラットに3用量の被験物質を投与し、被験動物を14日間観察して致死率を求めるものであったが、最新の試験ガイドラインでは、瀕死動物の人道的な安楽死処置も自然死と同一と考えるべきとされ（EPA 1998；OECD 1987）、人道的エンドポイントの指標も示されている（OECD 2000）。例えば、急性経口毒性を検討するfixed dose procedureでは、明らかな毒性徴候が認められた時点で被験動物を人道的に安楽死処置することが求められており、明らかな毒性を示す一般状態が、死亡する前もしくは瀕死状態になる前の人道的エンドポイントとされている。

慢性毒性試験やがん原性試験などの長期試験では、様々な疾患を発症し、多くは痛みや苦痛を伴う。しかし、これらの試験においても一般状態が初期段階の人道的エンドポイントとなりうる。例えば、著しい体重減少は回復不可能な重度の肝障害や腎障害などの臓器障害、あるいは腫瘍等による二次作用の徴候である可能性が高い。これらの重症疾患あるいはがんの転移等の検出率を高めるため、体重の測定回数を試験開始後12カ月以降は週1回に増やすことが推奨されている。また、血液生化学的検査も、重大な臓器不全や差し迫った死を特定する場合に有用である。

規制上の試験では代替法の開発も進んでおり、代替法を取り入れることにより初期段階で人道的エンドポイントを採用することができる。例えば、皮膚腐食性試験では、細胞培養系やラット経皮電気抵抗試験などの代替法が普及している。これらの代替法で皮膚腐食性陽性と判定された場合は、以後は動物を用いた試験を実施する必要はない。また、in vitroの細胞毒性試験結果からin vivoの50%致死量を推定し、この結果をもとにin vivo試験の開始用量を設定することにより、無用な苦痛を被る動物を減らすことが可能である。更に、従来のモルモットを用いた皮膚感作性試験の代わりに、マウス局所リンパ節増殖試験（LLNA）を用いると、比較的苦痛の少ない感作誘導期に評価できるため、紅斑、腫脹、そう痒など苦痛を伴う症状が誘発される誘発期に評価を行う従来法に比べて、早期の人道的エンドポイントが実現できる。

がん研究における 人道的エンドポイント

治療法の開発やがん原性の評価などにおいて、多数の実験動物が、誘発されたがんや治療処置により重度の苦痛を経験する。従って、実験動物の死亡または著しい苦痛の所見を実験のエンドポイントとして用いることは避けるべきである。腫瘍を体内で増殖させる実験では、腫瘍自身による負荷と腫瘍に関連した症状の強さの両要素を含め、効果的なモニタリングシステムを確立してエンドポイントを判定する必要がある。このよ

うな場合は、一般状態より生理学的、生化学的なバイオマーカーの方が、客観的でかつ再現性が高いエンドポイントの判定につながるケースが多い。

実験の目的を明確に定めることも、科学的エンドポイントだけでなく人道的エンドポイントを設定する上でも重要である。例えば、実験の目的が腫瘍の継代もしくは株化細胞の腫瘍形成能を見極める等の場合、予め定めた大きさの腫瘍の発現が科学的小および人道的エンドポイントになる。腫瘍に対する治療効果を検討する場合には、治療による副作用が加わる可能性があるため、早期に安楽死処置を判定できる人道的エンドポイントを含んだ試験方法の開発が必要となる。

腫瘍の増殖や治療法に関する試験では、in situまたは摘出腫瘍を用いた試験系により、腫瘍増殖パターンや細胞生存パターンの変化が明らかにされることも多い。固形腫瘍の増殖を評価する場合、腫瘍増殖の遅延、腫瘍倍加時間、腫瘍の退縮を科学的エンドポイントとする方法もある。

内部臓器の腫瘍についてその経過を観察する方法として、動物の経時的安楽死処分、試験的外科手術、医学的画像診断法、または臓器肥大もしくは腫瘍発生に対する触診法などが挙げられる。死に至る試験内容の代替法として、持続的な体重減少や行動学的・神経学的変化などの代用マーカーが使用されることもある。また、蛍光タンパク質GFP（green fluorescent protein）やホタル由来の発色タ

ンパク質（ruciferase）などで、腫瘍細胞を標識することにより、腫瘍細胞の検出精度を上げ、微小転移巣を確認することも可能である。更に、顕微撮影により生きた動物において標識された微小転移巣を発見することもできる。

遺伝子組換え動物における 人道的エンドポイント

遺伝子組換え動物を用いた研究は、疾病の研究において重要となってきた手段であるが、これらの研究の多くは結果の予測が難しい。従って、同モデルに予測される有害な転帰と予測できない有害な転帰の両方に対応できる計画を盛り込むべきである。

遺伝子組換え動物は継代を重ねるにつれ、表現形質が変化する例や、遺伝子がホモ接合でないと明確にならない形質もあることから、子孫何代にもわたって継続的にモニタリングする必要がある。

遺伝子組み換え動物に生じた障害を解決もしくは軽減できる新しい解決方法も報告されている。例えば、バックグラウンドとなる系統の変更やプロモーターや制御配列の変更により問題となる表現形質を制御する方法、ターゲット遺伝子の不活化により欠損した蛋白質や酵素を投与することにより治療し、問題となる症状を回避しながら研究を継続する方法も報告されている。

遺伝子組換え動物の使用にあたっては、試験の経過を継続的に調査し、問題発生時はその都度それを確認し、適切な人道的エンドポイントを確立していくことが重要である。

人道的エンドポイントとしての 瀕死状態

各種動物実験において瀕死とみなされる状態は早期安楽死を選択する指標となり、人道的エンドポイントとして採用することができ。瀕死状態の動物を安楽死させることにより末期の苦痛を軽減できると考えられるため、死亡よりも瀕死状態をエンドポイントとする方が好ましい。しかし、そのためには瀕死状態の明確な定義と、死を科学的に予測する方法が必要となる。

死に先行して変化が認められる評価項目を特定することにより、瀕死状態を定義でき、早期安楽死の指標とすることが可能となる。これらの評価項目は各実験系に適したものであり、同時に通常のデータ収集の一環として評価できるものである必要がある。死亡に至った動物のデータと死亡しなかった動物のデータを比較することにより、死亡や瀕死の予測因子となりうる評価項目が明らかになる。観察項目や測定回数、病状が変化した時間、および死亡した時間などの情報も重要である。この種の評価・検討は多くの場合、初期の予備実験やパイロット実験期間中に実施できるものであるが、その動物モデルの特性を熟知することが、瀕死状態を科学的に把握することに繋がる。個々の動物の死を予測できる評価項目を特定し、統計学的バリデーションを行うことにより、同一モデルにおける試験で適用可能な評価指標を確立することが可能となる。評価項目とし

ては客観的もしくは定量可能な変数を用いる事が好ましい。

瀕死状態の徴候となる一般状態および行動の変化として、次のような項目が含まれることが多い。

- ・歩行障害－摂餌・摂水が困難となるもの
- ・過度の体重減少および極度の衰弱
- ・身体的もしくは精神的な覚醒不十分（意識障害、昏睡）
- ・努力性呼吸困難
- ・長時間にわたる起立不能

しかし、これらの一般状態のみでは死を適切に予測できないケースもあり、瀕死状態をより客観的に定義するには、疾病、痛み、および苦しみのうち、何が原因で瀕死状態にあるのかを区別することが推奨される。複数の行動異常や生理的な異常に基づくスコアリングシステム（スコアシートを用いた評価方法）を利用することにより、瀕死状態を客観的に評価する上でより有用な判断基準が得られるものと考えられる。

スコアシートを利用すれば、死や重度の痛みの予兆も適切に把握することが可能となる。スコアシートによる評価方法は、すべての動物に適用でき、施設が異なっても適用できることが理想である。しかし、あらゆる実験において、発現すると考えられるすべての一般状態のリストを作成することは不可能であるため、スコアシートは各実験系に特有なものになる。また、一般状態は動物種間や系統

間で異なる場合があるため、スコアシートは各々の背景因子（実験内容、種、および系統）に特有なものとなる。

スコアシートの作成手順

動物に新規の処置を行う場合、まず少数に処置を施したのち詳細に観察し、一般状態リストを作成する。同リストを更に経験に基づき修正し、当該実験期間中に実験動物の多くに発現し、かつ苦痛や瀕死状態を評価する上で重要な症状が確認できるまでこの作業を繰り返す必要がある。スコアシートにはこれらの主要な一般状態を日付・時刻と対比させて配置し、観察者による判定のばらつきを避け

る工夫を施して記録する。特に、苦痛が発生する可能性が高い時期（手術直後、腫瘍の増殖や移植臓器の拒絶が予測される時期など）に症状のスコアを適切に判定できるようにすることが望ましい。スコアシートには飼育管理上の注意、獣医学的処置、一般状態の記録方法、人道的エンドポイントの実施基準などのガイド、安楽死させる場合に講じるべき措置に関する指示なども併記しておく。

スコアシートを用いた人道的エンドポイントの例

ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットの一般状態を記録する目的で作成されたスコアシートの例を表3に示す。

本例では、4日目には被毛が逆立った状態で、体温が低下し、呼吸は速まり苦しそうな状態となった。5日目には体重の著しい減少（22%）も認められ、歩行異常から腹痛も示唆された。他の一般状態も含め、この個体は生理学的に高度の障害を受けており、すでに当該動物実験の科学的目的を満たす妥当な状態ではないと考えられた。体温が32℃に下がり極めて体調不良である徴候を示したため、輸液するとともに暖かい環境で3時間観察したが、その効果はなく、夜間の死亡が予測されたため、人道的および科学的見地から安楽死を決定した。

表3 Wistar系ラットにおけるストレプトゾトシン誘発糖尿病*

	動物番号：	処置実施日：	試験 NO.：	試験開始時体重：214g		
日付	5/10	5/11	5/12	5/13	5/14	5/14
経過日数	0	1	2	3	4	4
時刻	8:40	9:00	8:50	8:55	8:05	11:00
距離を置いた観察所見						
飼料マッシュ/ゼリー/穀類	Y	Y	Y	Y	Y	Y
活動性低下		—	—	—	—	+
孤立		—	—	—	—	—
《観察項目 9 項目を省略した》						
軽く触れただけで発声		—	—	—	—	—
摂水量（1 ケージ平均値）(mL)		50	113	133	140av	0
体重 (g)	204	209	203	192	170	168
処置開始前からの変化率 (%)	7	5	7	12	22	
体温 (℃)		37.5	37.4	37.6	32.4	34.7
《観察項目 8 項目を省略した》						
その他	Day 0 ストレプトゾトシン 65mg/kg 投与					安楽死
署名		KL	KL	KL	KL	

飼育時の注意：糖尿病誘発の2～3日前に放射線滅菌飼料を給餌し、飼料に順応させる。2日に1回は動物の飼育設備を洗浄。紫外線殺菌水の入ったボトルを1ケージあたり2本準備し1日に2回満タンにする。

スコア詳細：省略

人道的エンドポイントおよび人道的措置

1. 試験開始後24～48時間以内に昏睡が認められた場合、当該動物を安楽死させる。
2. 動物の体重が試験開始時より7日後に体重減少率が20%を超えた場合にはその時点で安楽死。
3. 爪先歩行または歩行異常が認められた場合は、当該動物を安楽死させる。
4. 複数の症状が発現した場合には、獣医師および実験責任者にその旨を通知する。
5. 科学的措置：保存すべき組織－10%ホルマリンと生理食塩液の混液に腎臓を浸漬して保存する。

*：文献1より一部省略して引用

おわりに

人道的エンドポイントが確立している実験系は少なく課題も多いのが現状である。しかし、人道的エンドポイント設定に関する知識があれば、実験方法を検討する際に人道的エンドポイントを取り入れる工夫が可能となる。ここでは、すでに採用されている人道的エンドポイントの例や人道的エンドポイント設定のための戦略について紹介した。

いずれの動物実験においても、適切なタイミングで実験動物を人道的に安楽死（人道的エンドポイントを実現）するには、死の徴候を発見するのに十分な回数、動物

を観察することが必要である。更に、研究者だけではなく、動物管理業務を担当するすべての者が、実験動物の日常の状態を把握し、当該モデルの特性、施された処置、予測される一般状態に関する情報などを共有し、時宜を得た対処ができるよう一致協力することが重要である。

本稿が動物実験における人道的エンドポイントの開発と普及に少しでも参考になり、生命科学研究の発展の中で、動物福祉も向上し続けられることを願っている。

参考文献等

1. 中井伸子翻訳 動物実験における人道的エンドポイント（原著：ILARジャーナル 41(2)）
（株）アドスリー、（2006）
2. 動物実験の適正な実施にむけたガイドライン、日本学会会議、（2006）
3. ARENA/OLAW Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook 2nd ed. (2002)
4. OECD Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. (2000)

ノーサンのバイオ技術

Nosan Corporation

ノーサンが永年培った動物栄養の技術は、実験動物用飼料、昆虫用飼料に活かされ、さらにトランスジェニック動物、薬物代謝、遺伝子発現と進化しています。

研究に携わる皆様のご要望を直接うかがい、満足して頂ける商品とサービスをご提供する事が、ノーサンのモットーです。

■ NOSANの実験動物飼料

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

■ NOSANの薬物代謝業務

ブルド肝マイクロソーム・凍結肝細胞
ヒトP450分子種発現系・抗体
薬物代謝・酵素阻害・誘導試験受託

■ NOSANの遺伝子発現業務

昆虫細胞を用いたタンパク質生産
Tg動物を用いた医薬品開発業務

NOSAN

■ NOSANの実験動物

Cleanビーグル犬【Nosan:Beagle】販売
NIBS系ミニブタ 販売
SPFベビー豚 販売
ビーグル犬の血漿・血清 販売

■ NOSANの受託業務

実験動物のSPF化
実験動物の受託飼育（コンベンショナル・SPF）
動物飼育室の貸出
各種動物受託試験

■ 遺伝子改変マウス作製業務

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

NOSAN

日本農産工業株式会社

〒220-8146 横浜市西区みなとみらい2-2-1 横浜ランドマークタワー46階 TEL 045 (224) 3713 FAX 045 (224) 3737
<http://bio.nosan.co.jp>

DNA免疫法による抗体作製

日本農産工業株式会社 バイオ部 横浜ラボ 黄 宝星

1975年にKohler と Milstein によってモノクローナル抗体作製技術⁽¹⁾が開発されて以来、一定の品質の抗体は幅広い疾患領域で検査薬または治療薬として利用されてきた。生命科学に關与する研究者にとって良質な抗体の需要は昔も今も変わらないが、治療用抗体の開発等で求められる機能性を有する抗体の需要は近年特に増大しているにもかかわらず、困難であることが多い。そういったケースにDNA免疫抗体作製法は非常に有用な技術であり、本稿でその基礎技術等を紹介したい。

DNA免疫抗体作製法の特徴

1992年に米国のTexas大学のグループはDNAワクチンの手法を活かして、抗原タンパク質の免疫に依存しない画期的なDNA免疫法⁽²⁾の開発に成功した。

DNA免疫抗体作製法とは、標的分子のcDNAを適当な哺乳動物細胞用発現ベクターに組み込み、そのベクターを直接免疫動物に投与する。動物体内の導入された遺伝子が一部の細胞でタンパク質として翻訳され、この抗原タンパク質

に対する抗体が免疫システムによって産生される技術である。この基盤技術の特徴は(1) 精製抗原を必要としない、(2) 動物体内で発現された抗原は免疫動物体内の翻訳後修飾システムの利用によって、native抗原の立体構造を正しく再現可能、(3) 様々の分子免疫学手法論^(3, 4)の応用によって、免疫応答性の誘起または免疫原性の増強が可能という点である。

この基盤技術が実現可能になったのは、80年代後半から90年代にかけて開発された様々な*in vivo*での遺伝子導入法^(2, 5-9)が背景にあった。本稿では、主にDNA免疫法の概要および特徴について紹介する。

実際の方法は図1に示したように、まずは標的分子のcDNAを適切な哺乳動物細胞用発現ベクターに組み込む。こういった遺伝子配列が期待通りの抗原タンパク質を発現可能かどうかは事前に当該遺伝子を組み込んだベクターで一過性発現した哺乳動物細胞で確認できる。標的分子のタンパク質をタグと一緒に発現されるように設計

しておけば、その発現細胞または培養上清を回収して、抗タグ抗体を用いた解析系(例：フローサイトメーターまたはウエスタンブロット)で簡単に確認できる。また、標的分子のcDNAが翻訳されたタンパク質は、細胞外に分泌されるかもしくは細胞膜上に確実に局在させることが重要である。抗原分子が細胞外または細胞膜表面上に分泌されない限り、せっかくのDNA免疫でも、液性免疫が惹起されることはない。この哺乳動物細胞における抗原タンパク質の発現確認作業が抗体作製の第一関門であるといえる。ここまでの作業が順調であれば、次は適切な*in vivo*遺伝子導入法を用いて、免疫動物にその目的抗原を発現できる哺乳動物細胞用発現ベクターを導入する。*in vivo*の遺伝子導入法は最適化されるまでに非常に不安定な結果をもたらすが、一度確立した手技があれば、非常に安定した遺伝子導入を行うことが可能になる。その後、抗血清の解析によって抗体産生の確認を行なう。図1に示したように、作業の後半は従来のモノクローナル抗体作製技

術と基本的に同様である。しかし、一般的な抗体解析系では何らかの形で調製した抗原分子または抗原分子アミノ酸配列の一部を人工的に合成した断片を使用する。その変性抗原を利用した抗体解析法では、せっかくDNA免疫法によってnative抗原を認識する抗体が得られていても、変性抗原に親和性の高いクローンしか樹立されない確率が高くなってしまいます。そのため、我々の解析系においては後半のモノクローナル抗体樹立作業に最初に用意した目的タンパク質を発現している哺乳動物細胞を利用した解析系を利用している。抗原タンパク質は哺乳動物細胞

の翻訳後修飾システムを利用して、native抗原として細胞膜上に局在するように設計されており、native抗原に親和性の高いクローンを樹立する可能性を高めていると言える。

ここでDNA免疫法による抗体作製の利点と問題点を列挙したい。

DNA免疫法の利点

1) 抗原タンパク質の確保や精製を必要としない

従来法では、抗原タンパク質もしくは合成ペプチドを動物に免疫するため、mg単位の抗原タンパク質の調製が不可欠であった。

DNA免疫法では、プラスミドを動物に導入し、発現した抗原タンパク質に対して免疫応答が起こるため、抗原タンパク質の調製の必要はない。

2) 免疫動物体内でのタンパク質翻訳および翻訳後修飾システムの利用

様々な*in vivo*遺伝子導入法で導入された遺伝子の殆どはケラチノサイトもしくは筋細胞に導入されるが、一部は樹状細胞に取組まれて、抗原タンパク質として発現され、重要な液性免疫応答を惹起する⁽¹⁰⁾。この哺乳動物の樹状細胞は単なる免疫応答の関与に止まらず、native抗原の提示にも非常に

The scheme of DNA immunization

1. Cloning of target antigen gene into mammalian expression vector



2. Immunization

To inoculate the mouse with target antigen DNA



3. Immune Response

To test the antiserum with antigen transfected cell on the FACS system



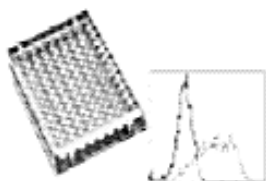
6. Monoclonal Antibody

Detecting the native antigen



5. Screening

To analyse the supernatant derived from hybridoma cell



4. Fusion

To establish hybridoma cell

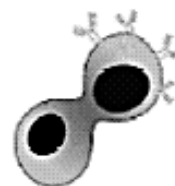


図1：DNA免疫による抗体作製のフローチャート

重要な役割を果たしている。DNA免疫法では標的分子がGPCRのような複雑な立体構造を有する場合であっても、動物体内でnativeな構造で発現されることから有用な阻害活性や機能性を示す抗体作製が可能になった^(11, 12)。

また、図2に示したように、ヒト由来の分泌性糖タンパク質を標的分子として、実施したDNA免疫では、得られた抗体は抗原分子の構造に付加する糖鎖を含めた立

体構造を選択的に認識していることがわかった。哺乳動物細胞と昆虫細胞で調製したリコンビナントタンパク質はまったく同一のアミノ酸配列を所有している。しかし、糖鎖解析の結果から、哺乳動物細胞由来リコンビナントタンパク質は複合型糖鎖の付加を受けているが、昆虫細胞で調製したリコンビナントタンパク質はハイマンノース型糖鎖しか付加されていない。この糖鎖の異なる抗原を用いて、

DNA免疫法で開発した抗体との反応性（抗原抗体複合体の乖離定数）を解析した。筆者のグループで作製したこの抗体は哺乳動物細胞由来の複合型糖鎖付加抗原タンパク質に対して、抗原抗体複合体は非常に形成しやすく、一度結合した複合体の解離定数値（ K_D ）は 10^{-9} 程度であり、非常に解離しにくい。一方、昆虫細胞から調製したハイマンノース型の糖鎖付加を受けた抗原タンパク質に対し

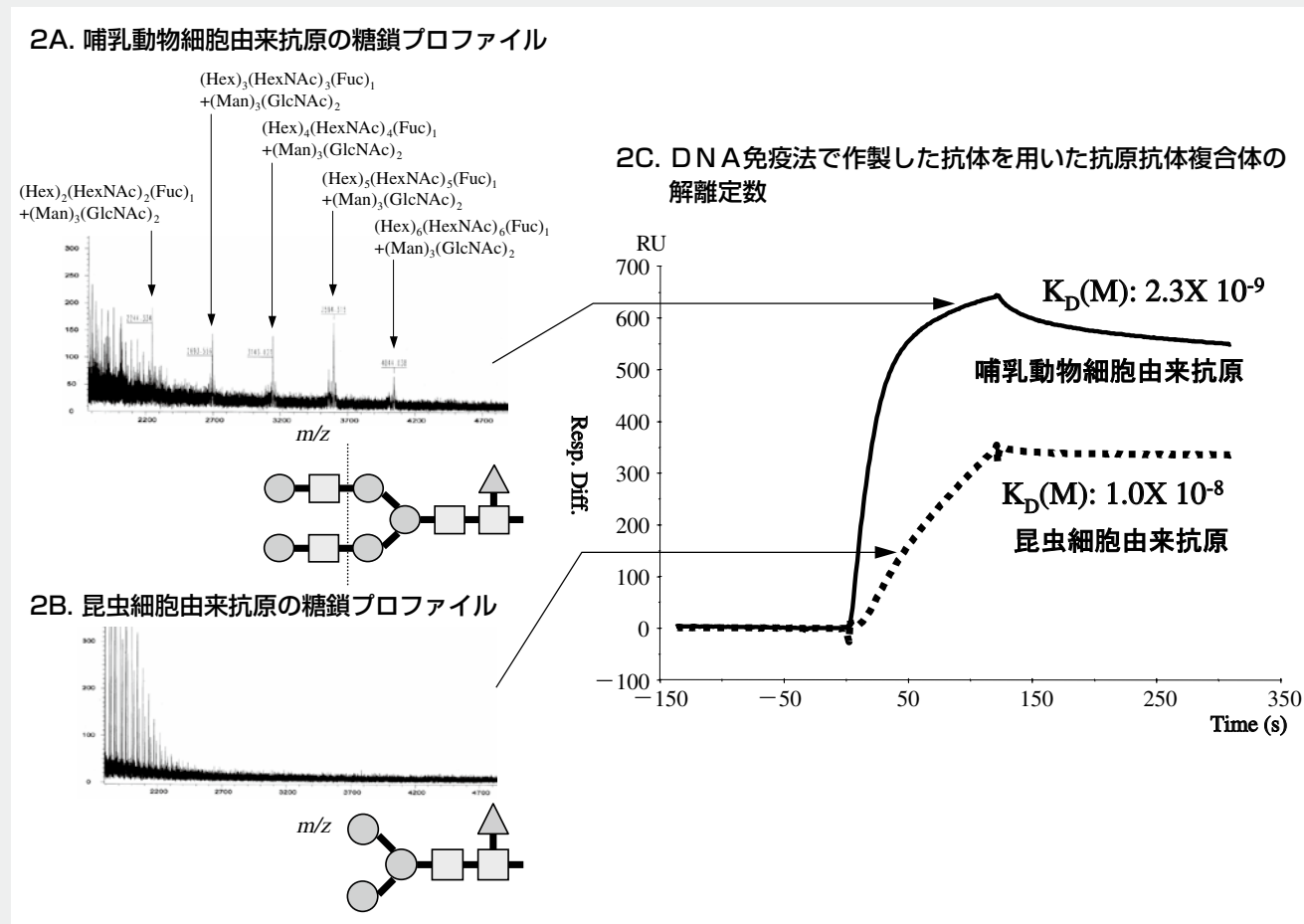


図2：遺伝子免疫で作成したマウス抗体が抗原の高次構造である糖鎖の違いを認識している事例。哺乳動物細胞より精製した抗原（2A）および昆虫細胞より調整した抗原（2B）は同様なアミノ酸配列を有するが、異なる糖鎖修飾をうけていた。哺乳動物（マウス）に遺伝子免疫法を利用して樹立した抗体はこの糖鎖修飾の異なる抗原に結合するが、形成した抗原抗体複合体の解離定数はまったく異なる（2C）。遺伝子免疫法で作成した抗体は哺乳動物細胞から調整した抗原分子の高次構造をより選択的に強く結合していることを示唆した。

て、複合体の K_D 値は 10^{-8} 程度とであり、糖鎖の違うタンパク抗原に一桁の異なる親和性を示した。

3) 免疫応答性の誘起または免疫原性の増強が可能

保存性の高い標的分子はそもそも免疫寛容の問題から抗原として認識されることが困難であることから抗体作製を断念せざるを得ないことがあった。しかし、近年は分子免疫学の進歩で免疫原性が低い標的分子に対する抗体作製が可能になった。例えばGM-CSFなどの遺伝子を同時に導入した場合、アジュバント効果が期待できることなどが報告されている^{3,4)}。弊社では顧客から依頼された4種類のマウス由来の標的分子を、DNA免疫法でマウスに免疫し抗体作製を試みたところ、免疫応答性の強弱に差が発生したものの、いずれにおいても抗体作製に成功している。

DNA免疫法の問題点

1) 哺乳動物細胞の発現量に依存する

事前の評価の結果、発現量が極めて少ないもしくは発現しない標的分子の場合はDNA免疫による抗体作製は困難である。

2) 標的タンパクの局在情報

細胞内に局在するタンパク質の多くは未同定の局在シグナルが含まれており、細胞外または細胞膜表面に局在を人工的にコントロール

するのは困難なケースが多い。このような細胞外に発現させることが難しい標的分子に対しては、DNA免疫での抗体作製は不向きとなってしまう。

3) 細胞外領域のサイズ

細胞外領域がある程度のサイズを超えない限り、動物体内の液性免疫システムが反応しない。この技術限界はむしろDNA免疫法特有の問題点でもなく、従来の免疫法においても同様なことだと思われるが、過去の経験で細胞外領域が極端に小さい事例が意外に多かったことからここに列挙した。

実際の事例に遭遇したことがないが、細胞毒性や免疫動物に対する過度の毒性を持った標的分子の場合もDNA免疫法には不適かもしれない。

おわりに

昨今、様々な抗体作製方法が開発され、国の研究機関、製薬企業、バイオベンチャーが競って導入して、自らの標的分子に対する抗体開発に応用している。抗体医薬の応用分野として注目を浴びているのは、ガン・リウマチ・難病であり、これらの病態に関わるタンパク質の中で標的分子となるのは、受容体などの細胞膜上に局在する膜タンパクである場合が多く、これらの標的分子に対する抗体開発にDNA免疫法は非常に適していると考えられる。当社はDNA

免疫法による抗体作製を受託業務として2004年から開始している (<http://bio.nosan.co.jp/dna/index.html>)。既に日本国内で数多くのプロジェクトに対する抗体開発を実施しており、今後も様々な基盤技術の開発によって、より多くの標的分子に対する抗体作製を行なっていきたい。

【文献】

1. G. Kohler, C. Milstein, Nature 256, 495 (Aug 7, 1975).
2. D. C. Tang, M. DeVit, S. A. Johnston, Nature 356, 152 (Mar 12, 1992).
3. W. B. Bowne et al., Cytokines Cell Mol Ther 5, 217 (Dec, 1999).
4. J. Encke et al., World J Gastroenterol 12, 7118 (Nov 28, 2006).
5. T. M. Klein et al., Proc Natl Acad Sci U S A 85, 4305 (Jun, 1988).
6. R. M. Klein, E. D. Wolf, R. Wu, J. C. Sanford, Biotechnology 24, 384 (1992).
7. J. A. Wolff et al., Science 247, 1465 (Mar 23, 1990).
8. R. Heller et al., FEBS Lett 389, 225 (Jul 8, 1996).
9. D. A. Dean, Am J Physiol Cell Physiol 289, C233 (Aug, 2005).
10. O. Akbari et al., J Exp Med 189, 169 (Jan 4, 1999).
11. A. Elagoz et al., Br J Pharmacol 141, 37 (Jan, 2004).
12. S. Krause et al., Mol Immunol 43, 1799 (Apr, 2006).

平成20年度から 実験動物技術者認定制度が一部変わります

社団法人日本実験動物協会
教育・認定専門委員会委員長 大和田 一雄

社団法人日本実験動物協会では、この数年間、実験動物技術者認定制度について種々の改定や変更を行ってきました。

平成16年にテキストを改訂し、「実験動物の技術と応用 入門編(アドスリー)」(二級用)、「実験動物の技術と応用 実践編(アドスリー)」(一級用)を刊行しました。また、試験における選択動物種群を改定し、学科試験の解答用紙をマークシート方式に変更しました。加えて、学科試験問題は当協会ホームページ上で公開し、受験者の便に供すると共に、本試験制度の周知に努めて参りました。

さらに従来の2級技術者受験に対する農業高校と専門学校の特例認定校制度に加えて、生物系4年生大学在學生に実験動物一級技術者試験の受験機会を与えるべく、認定要件を満たした大学には受験のための特例制度を定めました。

一方、より充実した実技指導体制を構築すべく、実験動物技術指導員・準指導員制度を発足させ、技術者の資質向上をはかっております。

これまで、実験動物技術者認定試験は学科においては、特例認定高校の生徒を対象とした二級試験、高度技術者養成研修会(白河研修会)の修了試験、一般の二級試験と一級試験、の計4回の試験がありそれぞれ別個に試験問題を作成し対応してきました。

ここ数年の試験制度の改定・変更の流れに沿い、また試験実施の効率化を図るため、教育認定専門委員会で、種々慎重に検討を重ね、平成20年度から下記のように実験動物技術者認定制度を変更することといたしました。

大きな変更点は次の2点です。

1. 実験動物二級技術者試験(以下二級試験という)は、学科試験と実地試験(実技試験)を別々に実施します。
2. 実験動物一級技術者試験(以下一級試験)の学科試験は、実験動物高度技術者養成研修会(白河研修会)の修了試験と同時に実施します。

この変更に伴い、通信教育、高度技術者養成研修会(以下白河研修会という)の補講(各論講義)等の実施時期・会場等も以下のように変更いたします。

I 実験動物二級技術者試験

①通信教育(二級技術者を対象)

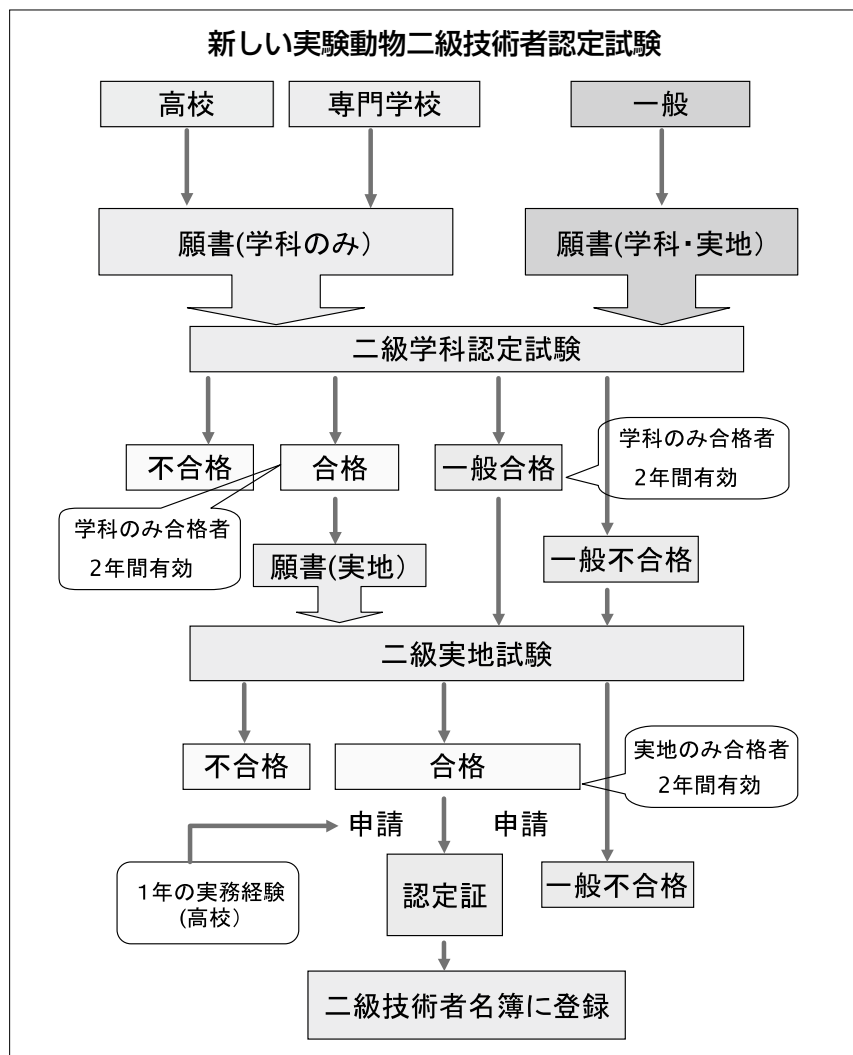
- ・3月開始となります(従来は6月開始)。
- ・3月に開始し、添削問題を5回配布し、7月末に修了します。
- ・スクーリングは従来通り、9月または10月に行います。

②特例認定高校対象学科試験

- ・高校生の二級学科試験日程は従来通りとし、原則として8月の第3日曜日に実施します。

③二級学科試験(一般および特例制度による認定専門学校学生)

- ・上記の特例認定高校と同時に、原



則として8月の第3日曜日に実施します。

- ・試験会場は、従来の高校生の試験場所である茨城、千葉、群馬または埼玉、神奈川、愛知または岐阜、長野、長崎の7箇所に加え、東京、京都または大阪などの追加を検討しています。

④二級実地試験（一般、特例高校生、特例専門学校学生）

- ・二級実地試験は、11月下旬に実施いたします。
- ・特例高校生、特例専門学校学生は学科合格者のみを受験対象とします。
- ・一般受験者は、学科の可否に関係なく受験することといたします。学科、実地の一方に合格し、もう一方が不合格の場合は、以降2年間は合格した学科または実地試験を免除します。

Ⅱ 実験動物一級技術者試験

①白河研修会

- ・従来通り、9月の第2～3週頃に実施いたします。
- ・従来10月に実施していた各論講義（高度技術者養成研修会の補講）は、白河研修会に組み込んで行います。
- ・白河研修会における必須（マウス、ラット、その他の小動物）の実地試験（実技試験）は、従来通りに実施いたします。
- ・白河研修会の修了学科試験（総論および各論のマウス、ラット、その他の小動物）は、白河研修会が終わった次の日（土曜日）に行います。同時に選択科目（動物種2科目選択）の試験を行います。

②一級学科試験

- ・試験日は9月2～3週の週末（土曜日）に実施します。

- ・試験科目は必須の総論および各論のマウス、ラット、その他の小動物と選択科目（動物種2科目選択）を必須は午前、選択科目は午後に分けて実施します。

- ・白河研修受講生と同時に別場所にて実施します。

- ・試験会場は、白河研修受講者は白河会場で、一般の受験者は東京、京都または大阪を予定しています。

- ・学科試験（必須、選択科目の両方）合格者は、以降2年間は学科試験を免除して実地試験を受験できます。

③一級実地試験

- ・11月下旬又は12月上旬に実地試験を行います。
- ・学科試験の合格者を対象とします。
- ・実地試験は必須（マウス、ラット、その他の小動物）と選択動物1種を対象に実施します。白河研修会で必須の実地試験合格者は必須の実地試験を免除します。
- ・実地試験で必須または選択動物のどちらかが不合格になった場合は、合格した科目については、以降2年間は実地試験を免除します。

④一級技術者向け実技研修会

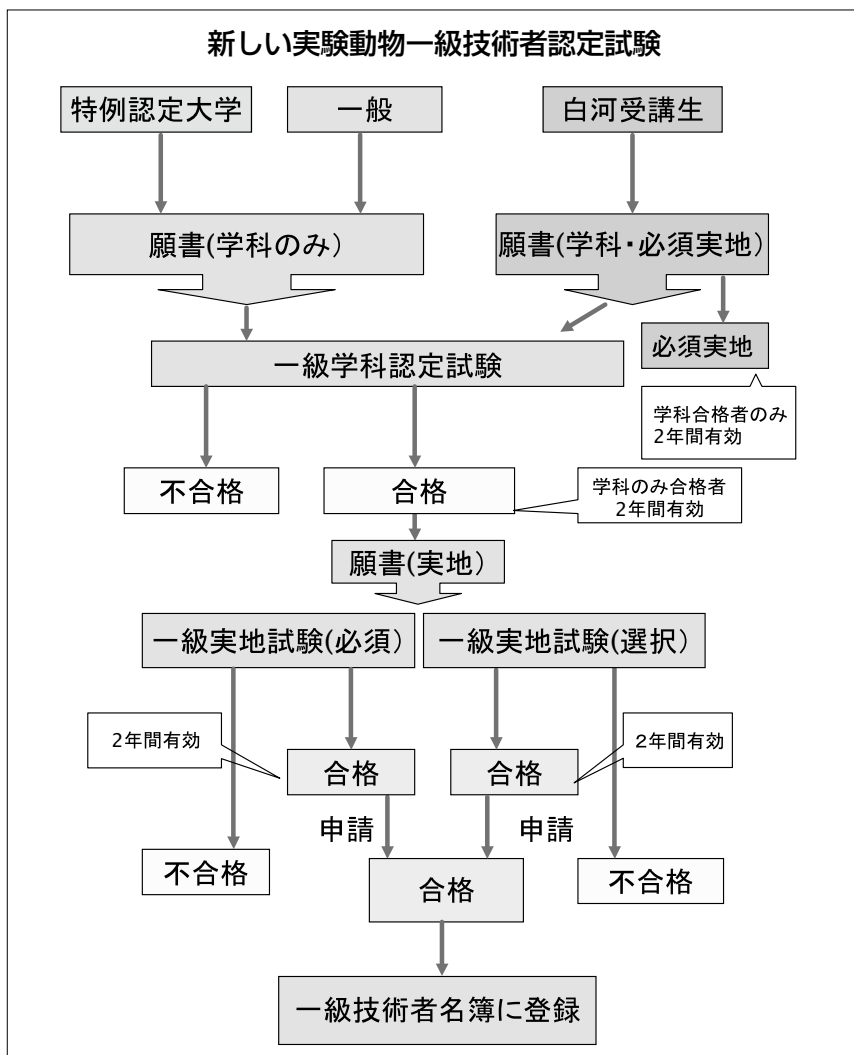
- 一級技術者（認定試験受験者）向けに、モルモットとウサギを対象にした実技研修会を10月頃に開催いたします。

参考まで、新たな制度下における1級及び2級技術者の受験から資格取得までの過程を図1及び図2に示しました。

以上、平成20年度から実験動物技術者認定制度の一部変更の概要について紹介しました。

今日の生命科学研究の進展のためには適正な資質を備えた実験動物技術者が不可欠であり、（社）日本実験動物協会は今後とも、その様な社会の要請に応えるべく、実験動物技術者の教育と認定を通じて、柔軟かつ適格に社会に貢献していきたいと考えております。

各位には、引き続き、本制度に対するご理解とご協力をお願い申し上げる次第です。





アメリカおよび諸外国の実験動物教育認定制度について

社団法人日本実験動物協会
教育・認定専門委員会委員長 大和田 一雄

アメリカおよび諸外国の実験動物教育認定制度の調査結果についてその概要を報告いたします。

1. 実験動物技術者認定制度の国際比較

International Certification Meeting (国際認定会議) のメーリングリストで行った実験動物技術者認定制度の国際比較に関するアンケート調査結果について報告する。このアンケートは2006年10月時点でのまとめである(資料1)。

アンケートは前年に国際認定会議に参加した各国(オーストラリア、英国、カナダ、ギリシャ、日本、メキシコ、ニュージーランド、米国)を対象に実施されたものであるが、回答したのは豪、日、米のみにとどまった。このことは実験動物技術者認定の国際的な標準化の難しさを感じさせる次第である。

しかしながら、このアンケート結果はわが国の認定制度の今後を考える上で大いに参考になることから、引き続きこれら関係各国の代表者、関係者との情報交換を緊密にしておく必要があると考える。

また、今後は米国以外の実情についても詳細な調査を行い、国際的な動向を適格に把握し、必要なものはわが国の制度に反映させるとともに、わが国の制度や資格についても積極的に世界各国に発信していくことが必要と感じている。

2. 技術者再登録の義務化(認定・登録委員会)

米国(AALAS)では、認定試験に

合格し、認定・登録委員会に登録すれば登録(R)認定実験動物技術者となることが出来る。認定試験に合格しただけでも認定技術者(ALAT, LAT, LATG)を名乗ることが出来るが、登録した技術者だけがその先も認定が継続される。

また、登録技術者は2年ごとに更新する必要があり、更新のためには所定の単位が必要となる(ALAT: 10ポイント, LAT: 14ポイント, LATG: 24ポイント)。また、登録技術者には、生涯教育委員会から所定単位の取得も含めた様々な教育・研修機会が提供される。非登録者はその特典の恩恵を受けられない。

その様な背景のもと、認定試験合格者の登録を義務化しようとの動きがあり、2006年のラウンドテーブルディスカッションでは、それについての説明と議論があった。認定・登録委員会並びに生涯教育委員会としては義務的に認定試験合格者全員の登録を達成し、その後の教育・研修機会を提供することを考えており、概ね了解されていたようである。

また、これまで認定試験に合格はしていたものの登録をしていなかった者に対しても、あらためて登録することを進めていた。

わが国でも、一級及び二級実験動物技術者は認定試験に合格すれば永久に認定されたままであるが、何らかの形でその後のトレースが必要であることや資格取得後の生涯教育システムの構築も必要と考えられるこ

とから、今後ともAALASの動向に注目しつつ、わが国の参考に出来ればと考えている。

3. 技術者認定試験の問題作成

長い間、AALASの認定試験問題は認定登録委員会が責任を持って作成し管理してきた。

これまでは同委員会のメンバーとそれ以外の立場の人たちの間では全く接点はなかったがより幅の広い問題を作成するために、同委員会はAALASの会員にも問題作成をサポートしてもらう機会をつくった。

しかし、この作業は極めて重要な任務であるため、問題作成のためのトレーニングが必要であり、AALASでは学会総会時にワークショップを開催し、希望者を対象に問題作成の研修機会を提供するとともに、ワークショップ修了者に登録技術者のための認定ポイントを与えている。

昨年、同ワークショップの受講機会を得たのでその時の体験等を報告する。

AALASの技術者認定は3段階に別れ、それぞれ問題の出題範囲が決まっており、出題範囲となるテキストが指定されている。

問題作成の実際

1. 問題作成に当たっては、予告されている各レベルの出題範囲を、それぞれのテキストから抽出する形で作成する。



2. 問題作成シートには、認定レベル、出題分野、引用テキスト（頁、行数）について記載し、問題が適正な範囲内から出されていることを確認する。
3. 問題は 4 者択一式で正解を選択する方式。
4. 解答は出来るだけ単純な形（例え

ば、キーワード 1 語、数字 1 個、など）で選べるような形式とすること。

作成した問題は認定登録委員会に保管され、実際の試験の時に適宜採用される。実際の試験におけるそれぞれのレベルの出題数と出題分野、試験時間は以下の通りである。

	ALAT	LAT	LATG
問題数	120	155	180
試験時間	2 hrs	2.5 hrs	3 hrs
動物取り扱い・健康状態 動物福祉	60-70%	45-55%	30-40%
施設の管理運営	7-13%	17-23%	35-45%
一般知識	22-30%	26-34%	23-28%

私自身、3 日間でそれぞれのレベルに応じて数 10 問を作成したが、全て委員会に回収され、問題作成に当たったのメモ等も持ち帰ることが許されなかった。

また、ワークショップの始めには、いわゆる「秘密保持に関する誓約書」を提出することが義務付けられ、このワークショップで知りえた試験問題に関する全ての情報については守秘義務を課された。

その様な事情で、自身の作成した問題はもとより、作成上の参考資料も持ち帰ることが出来なかったが、

出題範囲となるテキストは以下の通りである。

Assistant Laboratory Animal Technician (ALAT) レベル用テキスト一覧

- **ALAT Training Manual.** American Association for Laboratory Animal Science, Cordova, TN. 1998
- **Animal Welfare Regulations.** Code of Federal Regulations, Title 9, Subchapter A, Parts 1-3 (9CFR 1-3), <http://www.nal.usda.gov/awic/legislat/usdalegl.htm>
- **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.** National Research Council. Institute for Laboratory Animal Resources. National Academy Press, Washington, D.C. 1996. ISBN 0-3090-5377-3; <http://www.nap.edu/readingroom/books/labrats/>

Laboratory Animal Technician (LAT) レベル用テキスト一覧。
(註：下記のテキストに LAT レベルの一覧を加える)

materials found on both the ALAT and LAT levels.

- **LAT Training Manual.** American Association for Laboratory Animal Science. Cordova, TN. 1999
- **Public Health Service Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals.** Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services. Bethesda National Institutes of Health, Office of Laboratory Animal Welfare, MD. 2000, <http://grants.nih.gov/grants/olaw/references/phspol.htm>
- **Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.** CFR 21, Part 58, Subparts A-K., <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/opa-pt58.htm>; Code of Federal Regulations EPA 40 CFR Part 160: http://www.access.gpo.gov/nara/efr/naisidx_03/40cfr160_03.html; and 40 CFR Part 792: http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/naisidx_02/40cfr792_02.html.

- **2000 Report of the AVMA Panel on Euthanasia.** Journal of the American Veterinary Medical Association. 218:669-696, 2001, <http://www.avma.org/resources/euthanasia.pdf>

- **Clinical Laboratory Animal Medicine.** An Introduction. Hrapkiewicz, K, Medina, L, Holmes, DD. Iowa State University Press, Ames, IA. 2nd ed. 1998. ISBN 0-8138-2555-5

Laboratory Animal Technologist (LATG) レベル用テキスト一覧
(註：下記のテキストに ALAT および LAT レベルの一覧を加える)

- **LATG Training Manual.** American Association for Laboratory Animal Science. Cordova, TN. 2000
- **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** 93-8395 Superintendent of Documents, U.S. Government Printing Office, 4th ed. 1999 ISBN 0-1704-0547-4; <http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm>
- **Occupational Health and Safety in the Care and Use of Research Animals.** National Research Council, Institute for Laboratory Animal Resources. National Academy Press, Washington, DC, 1997. ISBN 0-3090-5299-8; <http://www.nap.edu/books/0309052998/html/index.html>
- **Guidelines for the Prevention and Treatment of B-virus Infections in Exposed Persons.** The B virus Working Group. Holmes, GP et al. Clinical Infectious Diseases 20:421-439, 1995
- **Cost Analysis and Rate Setting Manual for Animal Research Facilities.** National Center for Research Resources, National Institutes of Health. NIH Publication No. 00-2006. 2000 Edition. <http://www.ncrr.nih.gov/newspub/CARS.pdf>



問題作成のポイント、試験問題の管理や試験問題作成者の管理、出題テキストの設定の仕方など大いに参考になるものがあり、日動協における今後の教育認定活動に活かしていきたいと考えているところである。

3日間のワークショップに参加し、試験問題の作成などを経験したが、ここ数年のわが協会の試験問題も決してAALASの問題にひけをとらない内容であることを実感し、またわが国の技術者のレベルも米国に決して劣るものではないことを肌で感じた3日間もであった。

加えて、最終日に「approved item-writer」として「Certificate」を手に出たことは、何物にもかえがたい私自身の嬉しい出来事であった。

4. その他

2006年10月17日のソルトレーク・トリビューン紙にScientists defend lab animal workと題する記事が掲載され、動物実験は極めて有効な研究手法であること、ただしこれまでの様に社会から遠く隔絶させておくのではなく適正に実験を行っていることを一般社会に知らしめる必要があること、また動物実験反対過激派に対しては断固として徹底したセキュリティの強化が必要であることが大きな紙面を割いて報道されていた。とかく、科学者は動物実験に関してはサイレントメジャーといわれて久しいが、この分野の適正な発展のためにも科学者自身の声が社会に適正に届く仕組みの構築が急務であるとあらためて感じた次第である。

資料 実験動物技術者認定制度の国際比較

AALASが中心となって2006年にメーリングリストを立ち上げ、実験動物技術者の国際認定制度にむけた各国の調査を行った。

1. 各国の認定制度について応えていただいた国名は次のとおり。
オーストラリア、英国、カナダ、ギリシャ、日本、メキシコ、ニュージーランド、アメリカ、その他のうちオーストラリアA、日本、アメリカ、オーストラリアBの4件
(オーストラリアでは2つの組織が別途に認定していると思われる)
2. 何段階の認定制度があるか
オーストラリアA 2段階
日本 2段階
アメリカ 3段階
オーストラリアB 4段階またはそれ以上
3. 認定された技術者の呼称は？また、認定なのか免許なのか？
オーストラリアA Certificate III in Animal Technology (cert 3)
Diploma in Animal Technology (diploma)
日本 Japanese Junior Laboratory Animal Technician(JLAT)
Japanese Senior Laboratory Animal Technician(SLAT)
アメリカ Certification: Assistant Laboratory Animal Technician(ALAT)
Laboratory Animal Technician (LAT)
Laboratory Animal Technologist (LATG)
オーストラリアB Certificate in animal husbandry
Certificate in Laboratory Animal Technology
Membership Diploma
Fellowship Diploma
4. 認定または免許を与えているのはどこか？
オーストラリアA 政府
日本 公益法人
アメリカ 会員組織
オーストラリアB 政府、会員組織、その他
5. 研究機関等では実験動物に関わる仕事をする際に認定資格や免許等を求めているか？
いずれも いいえ
6. 受験資格はどのように決めているか
オーストラリアA 学歴、研修課程の修了
日本 業務内容、業務経験の長さ、学歴
アメリカ 業務内容、業務経験の長さ
オーストラリアB 業務内容、業務経験の長さ、学歴、研修課程の修了



7. 学歴の程度はどのくらいか

オーストラリア A	職場または認定研修過程の組み合わせで必要な基礎知識を習得済みであること
日本	学卒（認定校は在学中の受験可）、高卒（経験1年要、認定校は在学中の受験可）
アメリカ	高卒、学卒又はそれ以上の学位（学位により経験年数を短縮できる）
オーストラリア B	回答なし

8. 認定資格や免許はどの様にして与えられるか。

オーストラリア A	試験の合格、口頭試問、実技、各機関における研修修了証明（試験は標準的な能力をテストすることである。この能力をテストするために使われる方法は試験官により様々である（試験、面接、観察、行動、筆記、その他）が、認定された試験官によって評価されなければならない。）
日本	試験の合格、口頭試問、実技
アメリカ	一般的な学科テストの合格
オーストラリア B	知識と技術が基準範囲内にあるかどうかを評価

9. どのような試験方法を実施しているか。

オーストラリア A	筆記試験、コンピューター、口頭試問
日本	筆記試験、口頭試問、実技試験
アメリカ	筆記試験、コンピューター
オーストラリア B	筆記試験

10. 認定・資格試験はどの様に行われているか。（該当するもの全て）

- ①それぞれの筆記試験のレベルに応じた知識と技術を整理するため業務分析調査により技術者の数を調査。 アメリカ、オーストラリア B
- ②非技術者の専門家（獣医、ディレクター、研究者、科学者など）の委員会が筆記試験に関する知識と課題を整理。 日本、オーストラリア B

- ③専門家がそれぞれの試験レベルで知識と技術者の業務を関係付けて整理する。

アメリカ、オーストラリア B

- ④専門的な教材がそれぞれの試験レベルに必要な専門技術と知識を基に作成されている。

日本、アメリカ、オーストラリア B

- ⑤専門家が専門的な教材に基づいて試験問題を作成する。 アメリカ

- ⑥学科テストの原則に基づいて心理学の専門家が試験問題を編集する。 アメリカ

- ⑦試験問題について統計的なデータを蓄積するために技術者達による事前テストが行われる。

アメリカ

- ⑧試験問題は事前テストによって得られたデータを基に採用されたり削除されたりして編集される。 アメリカ

- ⑨試験問題は教材の特定の引用部分を参照して作成される。 アメリカ、オーストラリア B

- ⑩足きり点（合格点）が統計的に設定される。

アメリカ

- ⑪迅速に結果を出して、再挑戦の機会を与える。

オーストラリア A

- ⑫認定は幅広い能力の単位をパスすることである。評価者は職場の評価や実技、業務、筆記。

オーストラリア A

- ⑬試験、面接などの試験のための幅広い単位を使って判定する。 オーストラリア

- ⑭利害関係者、技術者、シラバスレビューグループ、IAT評議会、Lantraの議論と忠告に基づいて参照とする標準を決める。 オーストラリア B

11. どのくらいの頻度で試験の見直しを行っているか

日本、アメリカ、オーストラリア B	1年ごと
オーストラリア A	2～5年ごと

12. 認定試験は何ヶ国語で実施しているか。

すべて 1カ国語

13. その他 上記以外に関連する事項について

日本 認定実験動物技術者以外に実験動物技術指導員の認定制度を持っている。
Japanese Assistant Instructor for Laboratory animal Technologist (JAILAT).
Japanese Instructor for Laboratory Animal Technologist (JILAT)

翻訳30-1

Information

実験手技が動物実験のデータ解析および解釈に及ぼす影響：腹腔内注射の手技的な失敗に起因する実験結果における異常値およびばらつきの増大について

腹腔内注射は、動物実験において広く用いられている手技である。一般的に、腹腔内注射を失敗する確率は、10～20%にのぼると報告されている。しかし、腹腔内注射における失敗の可能性や、その失敗が実験結果に影響を及ぼすことは、その手技が広く利用されているほどには認識されていない。本論文では、腹腔内注射の失敗がいくつかのバイオアッセイの解析および解釈に重大な影響を及ぼすことを示す。また、動物実験において腹腔

内投与をおこなう場合に、考慮の必要なデータ解析に対する取り組み方を提案するとともに、実験の解析および解釈に際して腹腔内投与と失敗の可能性を認識、考慮する必要があることを示す。

(翻訳：上田直也)

R. Gaines Das and D. North: Laboratory Animals. 41(3), 312-320 (2007).



キーワード：マウス、腹腔内注射、異常値、ばらつき、自然免疫、統計解析

翻訳30-2

Information

腹腔内投与でのマウスの麻酔を目的としたプロポフォールの単独投与、ならびにフェンタニル、スフェンタニル、およびレミフェンタニルとの併用

プロポフォールとフェンタニル、スフェンタニル、レミフェンタニルなどの即効性オピオイドとの併用は、比較的安全で、人間によく用いられる経静脈全身麻酔技術である。また、その麻酔技術は実験動物を用いて研究されてきた。本実験の目的は、マウスの麻酔において、これらの薬剤の組み合わせを腹腔経路で投与した場合の効果を評価することである。67匹のマウスを4群に分け、プロポフォール単独、またはプロポフォールとフェンタニル、スフェンタニル、もしくはレミフェンタニルとの組み合わせを、それぞれの用量によって28通りに分け、腹腔内投与した。それぞれの用量範囲は、プロポフォー

ール50～200mg/kg、フェンタニル0.2～0.4mg/kg、スフェンタニル0.05～0.1mg/kg、およびレミフェンタニル0.2～1.0mg/kgであった。麻酔の持続時間および覚醒の度合いの指標として、立ち直り反射の消失と足引込め反射の消失を記録した。実験の結果は、ばらつきのあるものであった。同じ種類・用量のプロポフォールとオピオイドの組み合わせでも、個体によって異なる反応を示した。高投与量群においても、立ち直り・足引込め反射の消失がすべての動物で誘導されることはなかったが、死亡率は上昇した。適切な睡眠状態は、高用量のプロポフォールを投与した場合にのみみられた。プロポフ

オールとオピオイドの相乗効果は、外科手術に適用できるほど十分ではなかった。足引込め反射が消失したマウスでは、尾の硬直、四肢の震え、前肢で頭を引っ掻くなどの行動がみられた。高用量のオピオイドを投与したマウスでは呼吸抑制が起こり、死亡率が上昇した。群間または群内での麻酔効果のばらつきは、腹腔内経路で投与したと関係していると考えられる。今回の結果は、プロポフォール単独投与、またはフェンタニル、スフェンタニル、もしくはレミフェンタニルとの併用によるマウスの麻酔には、腹腔内経路での投与は適切でないということを示している。

(翻訳：伊波興一郎)

H. C. Alves, A. M. Valentim, I. A. S. Olsson and L. M. Antunes: Laboratory Animals. 41(3), 329-336 (2007).



キーワード：マウス、プロポフォール、オピオイド、腹腔内投与、麻酔

翻訳30-3

Information

地上輸送した後のラットの新しい動物施設への順応性

本実験の目的は、輸送未経験ラットが自動車での5時間の輸送後に、新しい環境に順応するまでに必要な時間について、生理学的パラメーターを順応の指標として用い、評価することである。動物輸送用の箱と自動車は、輸送に伴

うストレス要因を最小限にする標準的な仕様にした。輸送前と輸送後における心拍数、体温、および活動水準を、事前に体内に埋め込んでおいたラジオテレメトリー発信機によって測定した。また、体重も記録した。体温以外のすべ

てのパラメーターにおいて、有意な変化が認められた。実験の結果から、体重、心拍数、活動水準を指標にすると、ラットは新しい環境に順応するために3日を要するということが示唆された。

(翻訳：伊波興一郎)

S. Capdevila, M. Giral, J. L. Ruiz de la Torre, R. J. Russell and K. Kramer: Laboratory Animals. 41(2), 255-261 (2007).



キーワード：ラット、輸送、テレメトリー、順応

感染症診断・予防実技研修会（モニタリング研修会）においては、受講生から様々な質問が出されます。前回から平成18年度の研修会において出された質問とそれに対する回答を紹介していますが、今回は検査技術以外の質問・回答を紹介します。

Q：おとり動物の系統に関し質問があります。現在マウス室では、C57BL/6をラット室ではSDをおとりとして置いています。理由はC57BL/6は抗体上昇が良いことですが、ラットはSDで大丈夫でしょうか？また♂、♀どちらが良いのでしょうか？

A：過去血清反応の主流がCF反応であった時、抗体検出感度を向上させるために抗体産生が良いC57BL/6がおとり動物として推奨された時期がありました。しかし血清反応の主流がELISAに替わった現在では、免疫機能が正常であればおとり動物系統にはこだわらなくなりました。その理由は、ELISAが高感度であることから、系統の違いによる抗体検出感度の差を解消したからです。また、おとり動物間の闘争を避けるために♀をお勧めします。

Q：C57BL/6において時々脱毛が認められますが、感染か非感染かを見極める方法がありますか？

A：C57BL/6において認められる脱毛のほとんどは、同居マウス間における毛抜き行為が原因です。脱毛が認められるケージに同居しているマウスを観察すると、1匹だけ脱毛が認められないマウスがいると思います。このマウスが他の同居マウスの毛を抜いている訳です。これはC57BL/6の系統の特性であると思われます。ただ同一ゲージマウス全例に脱毛が見られ、発赤、湿疹、痂皮、糜爛等が認められる時は、その原因を早急に究明しなければなりません。

Q：私たちの施設では、Tgマウスにおいて親が育仔放棄し、食殺することが多く見られます。改善策はありますか？

A：まずは、その原因が感染か否かを確認する必要があると思います。哺乳中の親が何らかの感染が起きている時、このような状態が見られます。感染が否定された時に考えられる原因としては、飼育環境です。飼育環境から受けるストレスにより起きることもあります。温・湿度、騒音、飼育管理法等を再点検してみることもひとつの方法です。あとは、マウスの特性も原因のひとつに挙げられます。特にTgマウスであることから、通常のマウスにはない特性があるのかもしれません。

日本実験動物学会の動き

1. 平成19年維持会員懇談会の開催

本年度の維持会員懇談会の日程が以下の通り決定しました。

日時：平成19年11月28日（水）14：30～20：00（懇親会を含む）

場所：中央大学駿河台記念館（JR御茶ノ水駅徒歩3分）

（http://www.chuo-u.ac.jp/chuo-u/access/access_surugadai_j.html）

内容：動物実験に関わる最近の動向について

2. 第55回日本実験動物学会総会

標記の総会が平成20年5月15日（水）～17日（金）の期間、仙台国際センターで開催される予定です。

奮ってご参加下さい。詳細につきましては日本実験動物学会ホームページ（<http://www.soc.nii.ac.jp/jalas/>）を参照して下さい。

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
本部共催実技講習会（疾病）	H.19.9.7～ 19.9.8	麻布大学	「実験動物の感染症と検査および微生物クリーニング」
本部共催実技講習会（手技）	H.19.11.1～ 19.11.3	慶應義塾大学医学部	「実験動物の取り扱い、実験手技及び比較解剖」
第9回REG部会（講演会）	H.19.11.17	順天堂大学医学部	・特別講演1題（サルES細胞） ・教育講演2題（卵子卵巣の凍結保存、染色体検査法） などを予定 ・研究発表数題

関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
秋季岡山大会	H.19.10.20～ 19.10.21	加計学園国際学術交流センター（倉敷市）	調整中
第62回実験動物学習会（実技）	H.19.11.17	大阪大学医学部	実験動物二級技術者レベルの実技講習

九州支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
第27回日本実験動物技術者協会九州支部研究発表会	H.19.11.11	熊本大学遺伝子実験施設・6階講義室	「微生物モニタリングに関する話題」 「遺伝子改変動物の輸送に関する話題」等

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

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
実験動物福祉調査・評価委員会	19. 7. 3	模擬調査の評価基準について他
平成19年度実験動物技術指導員面接	19. 7. 10	指導員の面接審査
第2回情報専門委員会	19. 7. 11	「LABIO21」No.30の企画について
指導員認定小委員会	19. 7. 17	指導員の認定について
第1回教育・認定専門委員会	19. 7. 17	教育・認定に関する課題の検討
モニタリング研修会	19. 7. 20～21	実中研にて
第1回試験問題策定委員会	19. 7. 24	高校試験問題の策定
平成19年度実験動物二級（高校）学科試験	19. 8. 19	全国7箇所にて
第1回動物福祉専門委員会	19. 8. 21	実験動物の航空輸送に関する問題について
第2回試験問題策定委員会	19. 8. 28	白河試験問題の策定
第1回合否判定委員会等	19. 8. 28	高校試験結果の判定等
平成19年度通信教育スクーリング	19. 9. 8～9	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学にて
平成19年度高度技術者養成研修会	19. 9. 17～21	白河の家畜改良センターにて
第3回モニタリング技術専門委員会	19. 9. 26	日動協メニューについて他

2. 行事予定

(1) 協会関係

行事	開催日	場所
各論講義	19. 10. 25 ~ 26	森川ビル、当協会会議室
実験動物一級学科、二級学科・実地試験	19. 11. 25	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
実験動物一級実地試験	20. 3. 2	日本獣医生命科学大学
教育セミナー フォーラム（京都会場）	20. 2. 23	京都府立医科大図書館ホール
教育セミナー フォーラム（東京会場）	20. 3. 8	東京大学弥生講堂

(2) 関係協会団体行事

◆ 第25回九州実験動物研究会総会

日 時：2007年11月10日（土）

会 場：熊本市厚生会館〈ふれあい〉

◆ 第39回日本実験動物環境研究会

日 時：2007年12月1日（土）

会 場：未定

内 容：総会及び学術集会

.....

(3) 海外行事

米国実験動物学会の日程表は <http://www.azaaalas.org/calendar.html> で検索できます。

◆ 58th AALAS National Meeting

日 時：2007年10月14～18日

会 場：Charlotte, NC

詳 細：<http://www.aalas.org>

◆ Am College of Lab Animal Medicine Forum

日 時：2008年4月14～17日

会 場：Myrtle Beach, SC

詳 細：http://www.aclam.org/aclam_calendar.html

※ 関連団体の行事については出来るだけ多くの関係者に周知したいので、行事計画が決定した場合には事務局まで御連絡下さい。



地球温暖化により、ここ10年間の急速な昇温は明らかであると言われています。今年は8月16日に埼玉と岐阜で40.9度を記録し、最高記録が74年ぶりに更新されました。

目を実験動物分野に転じると、遺伝子改変動物の使用数増加等に伴い、実験動物の感染が又注目を集めています。本紙20ページにありますように平成18年度には日本実験動物学会に「マウス・ラット感染対策委員会」が設置され、日動協を含む各組織と協議の上、マウス・ラットの微生物モニタリング Minimum requirement が提案されようとしています。ただ、それが提案されれば感染の問題が解決されるわけではありません。言うまでもなく感染とは、川喜田愛郎先生の名著「感染論」（岩波書店、1964）に見られますように、宿主の中に微生物が入り込んで増殖する二重の生物学であり、変化し続けていく生物を相手としているわけです。それ故、時間が経てば Minimum requirement を見直す必要もありますし、病原性、診断等検討しなければならない問題も多く、実験動物の感染は永遠のテーマの一つと言えるでしょう。

33年前の秋風の中、長嶋茂雄は「わが巨人軍は永久に不滅です」という有名な言葉を残しました。

〔川本 英一〕

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
〃	櫻井 康博	YASUHIRO SAKURAI
〃	日柳 政彦	MASAHIKO KUSANAGI
〃	久原 孝俊	TAKATOSHI KUHARA
〃	椎橋 明広	AKIHIRO SHIIHASHI
〃	河野 公雄	KIMIO KAWANO
〃	中川真佐志	MASASHI NAKAGAWA
〃	川本 英一	EIICHI KAWAMOTO
〃	大島誠之助	SEINOSUKE OHSHIMA
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

● LABIO 21 No.30 平成19年10月1日発行 / ● 発行所 社団法人日本実験動物協会 / ● 編集 情報専門委員会
 ● 住所 〒101-0032 東京都千代田区岩本町2-8-10 神田永谷マンション602号室 / ● TEL 03-3864-9730 FAX 03-3864-0619
 ● URL <http://jsla.lin.go.jp/> / ● E-mail jsla@group.lin.go.jp

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)	

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>