令和2年9月1日発行　年3回発行
ISSN 1345-9147

Japanese Society for Laboratory Animal Resources

LABIO 21

ラビオ No. 81
SEP. 2020

公益社団法人
日本実験動物協会
Tel. 03-5215-2231　Fax. 03-5215-2232
http://www.nichidokyo.or.jp/　E-mail: jsla@nichidokyo.or.jp

【特集　教育セミナーフォーラム2020】

先端医療におけるコモンマーモセットの役割

【連載特集】

実験用ブタを巡る情報（Ⅱ）

イギリスの一般市民への動物実験に関する情報発信の状況（Ⅲ）

【トピックス】

実験動物の安楽死の課題

新しい発見を
変わらない品質で

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

CLEA Japan, Inc.

絵　石井　朗

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

目　次

巻頭言　日本実験動物学会の理事長就任にあたって（三好一郎）―― 4

特集　教育セミナーフォーラム2020
― 先端医療におけるコモンマーモセットの役割
1. マーモセットの研究利用と供給体制の概況 ―― 5
2. 飼育繁殖技術、動物実験技術の実際（齋藤亮一、片貝祐子）―― 6
3. コモンマーモセット遺伝子操作技術（佐々木えりか）―― 9
4. 精神疾患治療薬の研究開発における非ヒト霊長類の有用性（池田和仁）―― 10

連載特集　実験用ブタを巡る情報（Ⅱ）
豚熱（CSF）とアフリカ豚熱（ASF）（山川睦）―― 12

トピックス　実験動物の安楽死の課題
安楽死処置に用いるバルビツール酸誘導体の国内における規制と倫理的問題　（花井幸次、岡村匡史、黒澤努）―― 17
安楽死処置におけるセコバルビタールの有用性（赤木佐千子、平山晴子、椛木勝巳）―― 22

私の研究
動物園動物への遺伝資源保全に対応した橋渡し研究とマンモス（古生物）への応用（安齋政幸）―― 27
ゲノム編集による肉厚マダイの生産（家戸敬太郎）―― 31

連載特集　イギリスの一般市民への動物実験に関する情報発信の状況訪問調査研究の報告（Ⅲ）
実験動物福祉推進機関NC3Rsと代替法推進機関FRAME（加隈良枝、久原孝俊、笠井憲雪）―― 35

読者との対話LA-house ―― 39
海外文献情報（久和茂）―― 40
連載コラム「特例認定校出身の実験動物技術者紹介」（6）（渡邊伶奈）―― 42
「第54回日本実験動物技術者協会総会 in 旭川」の開催中止のお知らせ（清水範彦）―― 43
日本実験動物技術者協会の動き ―― 44
日本実験動物学会の動き ―― 44
日本実験動物協同組合の動き ―― 44
協会だより ―― 45
KAZE ―― 46

私たちは「実験動物技術者集団」です。
We are Technologist of Laboratory Animals.

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

● 実験動物総合受託事業
● 技術者派遣事業
● 職業紹介事業

本　社　〒160-0022 東京都新宿区新宿５丁目18番14号 新宿北西ビル７階　TEL 03-6457-3751　FAX 03-6457-3752
西日本事業部　〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田1丁目11番 4-1100号 大阪駅前第四ビル 11階 10号室　TEL 06-4799-9820　FAX 06-4799-9011
九州事業部　〒810-0001 福岡県福岡市中央区天神５丁目５番８号 福椎ビル５階　TEL 092-753-6697　FAX 092-753-6698
【一般労働者派遣事業（般）13-080297】
【有料職業紹介事業 13-ユ-080309】

株式会社 アニマルケア
www.animal-care.co.jp

●お気軽にお問い合わせください
0120-011419

巻頭言

日本実験動物学会の理事長就任にあたって

公益社団法人　日本実験動物学会
理事長　**三好　一郎**
（東北大学大学院　医学系研究科附属動物実験施設　施設長・教授）

この度、公益社団法人日本実験動物学会（学会）の令和2～3年度の理事長を拝命致しました。学会は、昭和26年（1951年）に実験動物研究会として設立されて以来63年の長きにわたる歴史を有しており大変光栄でございます。一方、私は、歴代理事長の先生方に遥かに及ばないことを自覚し、身の丈を越えているとの思いも強く、特に、新型コロナウイルス禍の非常時に大役を務める責任の重さを感じております。

学会設立当時の基本的な目標－微生物学的・遺伝学的に均質な動物の供給、均質な飼料の供給や飼育管理方法の改善－は概ね達成され、その後、多様な目的に対応した高品質の実験動物や疾患モデルに代表される特性を持った実験動物の開発へと展開されました。特に、1980年代半ばから、遺伝子組換えマウスの作製が可能になり、生体の持つ様々な機能を個体レベルで解析するための常套手段となりました。この潮流はゲノム編集に発展し、マウスに限らず多様な病態モデル動物が樹立されております。これらに関する学術面及びその周辺の領域について、本学会員らによる研究成果や開発技術は国内外で高く評価されると共に基礎研究分野及び産業界へ広く波及し、医療技術の開発や生命科学研究の発展を支えるための基盤技術として、また重要な遺伝資源として実験動物が認識されるに至りました。

この度の新型コロナウイルス禍では、今後も予想される人類・動物の健康と幸福への脅威に対して、実験動物を用いた生命科学・医学研究が如何に重要であるかという事実が改めて認識されました。同時に、実験動物の生産・供給、各々の機関のBCPに応じた動物実験施設の管理運営など、研究の基盤となる適正な実験動物の飼養保管と適切な動物実験の実施に関して、さらには学会のあり方や運営についても俯瞰的視点から克服すべき課題が浮き彫りとなりました。

学会は、現実的な課題を達成するために、広く異分野・異業種の研究者や技術者が参集し、多様性と包含性を維持しつつ時代の要請と調和を図りながら発展してまいりました。原点に立ち返り、学会の根幹である学術集会や 学術情報の提供などサイエンスの基盤に基づき、実験動物学及びその関連領域の進展、普及を図り、学術の発展及び科学技術の振興に寄与して参りたいと考えております。同時に、動物実験の適正化という共通課題に取り組む日本実験動物協会（日動協）との連携が一層必要と考えております。次世代を担う人材の育成は優先すべき急務であり、日動協や関連学協会等と連携して若手会員の活躍できる環境づくりが必要です。コンプライアンスへの取り組みという重要な課題では、動物愛護管理法の見直しへの対応を始め、これまで推進してきた適正な動物実験実施のための機関管理体制の強化に向けて外部検証制度の推進事業をさらに進化させてまいります。客観性・透明性の確保の観点から動物実験の機関管理の実効性の向上のために不可欠とされる検証・認証制度は、我が国では2004年に日動協が他団体に先駆けて開始し現行の実験動物生産施設等福祉認証事業に発展させました。日動協により実施されている技術者の教育認定事業、実験動物の微生物モニタリングや新たな実験動物の生産事業、並びに広報普及事業等には多くの学会員が参画させて頂いております。また、我が国の実験動物の領域の発展のために、社会的理解の促進に向けた情報の発信は内外から要請が高まっており、これら多くの課題に対し両団体は各々の適応力を向上させたうえで柔軟且つ強固な連携を図ることが必要です。

社会からの期待に応え、学会の発展と使命の達成に向け、誠心誠意努力する所存です。皆様のご理解、ご支援、ご指導をいただきますよう何卒宜しくお願い申し上げます。

特集

教育セミナーフォーラム2020

先端医療におけるコモンマーモセットの役割

1. マーモセットの研究利用と供給体制の概況

■井上　貴史
公益財団法人　実験動物中央研究所
マーモセット医学生物学研究部

ブラジル原産の新世界ザル類であるコモンマーモセット *Callithrix jacchus*（以下、マーモセット）は、霊長類としてのヒトとの高い類似性を有しながら、ラット程度の体サイズでハンドリングしやすく、繁殖効率が良いといった実験動物としての特性を持ち合わせている。この特性から、マーモセットは、マウスとヒトとのギャップを埋める霊長類の実験動物の一種として、神経科学、感染症、発生・再生分野、創薬など幅広く医学生物学研究において利用されている。特に、最近では遺伝子改変技術の進展もあいまって、脳科学研究におけるモデル動物としてマーモセットの利用が世界的に増加している。ここでは、マーモセットの研究利用と供給体制のこれまでの状況と今後の展望について、実験動物中央研究所（実中研）での取り組みをまじえて概説する。

マーモセット研究利用の歴史と展望

マーモセットは古くから展示動物、愛玩動物として飼育されていたようであるが、実験動物として利用されるようになったのは1960年半ばから1970年代にかけてである。この時期に、欧州や米国を中心に複数の実験動物用マーモセットの繁殖コロニーの基礎がつくられた。1975年以降、ワシントン条約（CITES）によって野生由来のサル類の国際取引は規制されていることから、現在使用されている動物の大半はこの時期に確立されたコロニー由来のものと考えられる。その後、動物の生理、繁殖に関する研究がすすみ、飼育・繁殖方法の整備、基礎データの蓄積がなされ、1990年代には生産供給体制が整い安定して研究に使用されるようになった。

マーモセットの研究利用は現在に至るまで増加の一途をたどっている（図1）。利用分野としては、当初は近縁種のワタボウシタマリン等とともにウイルス感染症研究を中心に用いられていた。1970年代半ばからは、神経科学、行動学、繁殖学などの研究に利用されるようになり、サリドマイドの催奇形性研究においてはヒトと同様の奇形が再現されたことで注目され、医薬品の評価試験にマーモセットが使用されるようなった。1990年代以降は利用分野が多様化し、高血圧治療薬の開発やパーキンソン病、多発性硬化症、脊髄損傷などの神経疾患の病態解析や創薬・新規治療法開発に貢献している。研究利用が多様化するなかで、動物実験技術が整備され、ゲノム情報や抗体などの研究ツールも充実してきている。2000年代以降は、特に発生工学技術が進展し、安定した生殖補助技術が整備されるとともにトランスジェニックマーモセットの作出法が確立され、さらにゲノム編集技術による標的遺伝子ノックアウト動物の作出にも成功している。今後は、遺伝子改変マーモ

「教育セミナーフォーラム 2020」は、「先端医療におけるコモンマーモセットの役割」をテーマとし、3月7日（東京）と3月14日（京都）開催予定で企画しましたが、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の感染拡大リスクが高まったことから中止となりました。本号では講演を予定した4題の内容を掲載いたします。

セットによる種々の疾患モデルが開発され、これまでに解明されていない難治性疾患の病態メカニズムが明らかとなり、新薬や新規治療法開発に貢献することが期待される。

わが国における実験動物マーモセットの供給体制

実中研では、1970年代から動物を導入し、飼育繁殖が開始されている。当初は栄養不良や細菌感染で動物が死亡することもあったが、1980年代初めに英国のImperial Chemical Industries社(当時)より導入した動物をもとに、環境や飼育方法の改良を進めて繁殖コロニーが確立された。その後、これらの個体をもとに特性や実験利用についての研究が行われ、1990年代には繁殖コロニーを日本クレアに移管した。日本クレアでは生産規模を拡大し、一時期は年間1000頭の供給可能数に至った。実中研－日本クレアコロニー由来の動物はこれまでに国内の多数の研究機関に分与され繁殖維持されており、海外へも供給されている。日本クレアでは、その後、需給バランスの不安定を経験しつつも、長年にわたり繁殖コロニーの維持と動物供給を継続している。

最近は、特に脳科学研究における有用性が注目され、国内ではマーモセットをモデル動物としたAMED「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明(革新脳)プロジェクト」(https://brainminds.jp/)が進行するなど、マーモセットの需要が急増している。これは国内のみの状況ではなく、米国や中国においても同様にマーモセットの利用が急増しており、供給不足となっているとのことである。マーモセットの交配適期は2歳齢であり、ブリーダーでの繁殖には時間を要するため、需要の急増に対して一時的な供給不足が生じてしまうことがあるのが現状である。また、ユーザーや研究利用分野が増加、多様化するなかで、体格や疾病といった動物の品質、飼育管理方法の課題も再認識されるようになっている。今後、ユーザーとブリーダーが協力してこれらの課題を改善し、安定した供給体制が構築されることが期待される。

参考資料

- 野村達次監修、谷岡功邦編集、コモンマーモセットの特性と実験利用、1989年、ソフトサイエンス社
- 佐々木えりか監修、井上貴史、黒滝陽子、三木理雅編集、マーモセットラボマニュアル-はじめての取扱いから研究最前線まで-
- Anestidou L, Johnson AF, editors. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine; Division on Earth and Life Studies; Institute for Laboratory Animal Research; Roundtable on Science and Welfare in Laboratory Animal Use. Care, Use, and Welfare of Marmosets as Animal Models for Gene Editing-Based Biomedical Research: Proceedings of a Workshop. 2019, National Academies Press, Washington (DC).

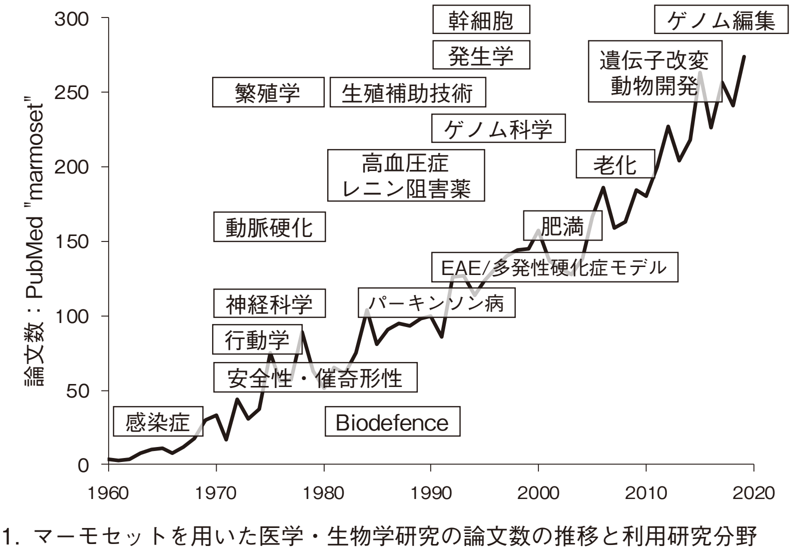


図1. マーモセットを用いた医学・生物学研究の論文数の推移と利用研究分野
Tardif S. (Care, Use, and Welfare of Marmosets as Animal Models for Gene Editing-Based Biomedical Research: Proceedings of a Workshop, 2019)の図を改変. 主な研究分野のおおよその開始年代を示した.

2. 飼育繁殖技術、動物実験技術の実際

■齋藤　亮一
国立研究開発法人
国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　霊長類管理室

■片貝　祐子
一般社団法人　予防衛生協会

はじめに

コモンマーモセット(以下マーモセット)の国内生産・販売が開始されたのは1991年からで、す

でに30年近い年月が経過している。当初はマカク属サル類の代用として捉えられていたため、マカクとの生理学的、遺伝学的な差異を探索して利用の是非を議論することに終始した感がある。しかし2009年に佐々木（実中研）等が、繁殖能力に優れたマーモセットの利点を活かしたTGマーモセットの継代に成功し、科学雑誌「nature」（28May2009）に掲載されたことがエポックとなり、生殖・発生工学的分野での需要とともに高次脳機能研究への使用が加速し現在に至っている（図-1）。

一般に実験用霊長類（特にマカク属サル類）の飼育技術は、先人の経験から紆余曲折を経て現在のようなスタンダードが出来上がったといえる。その点マーモセット類の飼育は歴史も浅く、その作業に携わる人員や機関が少数であったために、それらの機関が開発した飼育方法がそのままマーモセット類の飼育技術のスタンダードになったと考えられる。しかしこれらは黎明期における状況であり、現在では動物福祉や使用目的によって求められる技術も多様化してきているのが現状である。

国立精神・神経医療研究センター霊長類研究施設（以下NCNP）では、2006年からマーモセットの飼育・繁殖を開始し、以来外部からの供給を受けることなく自家生産した動物を用いて研究を継続している。今回はこうしたNCNPにおけるマーモセットの飼育管理、繁殖及び動物実験手技を紹介する。

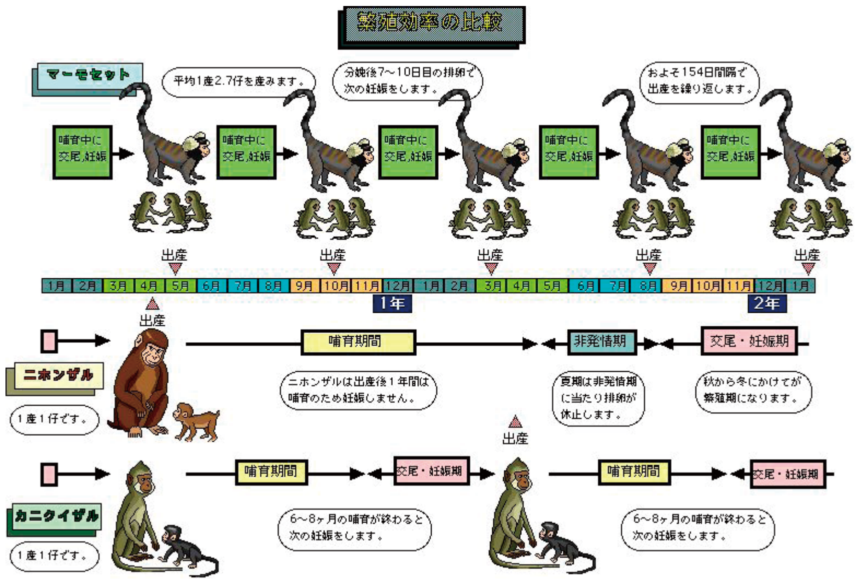


図-1．マーモセットとマカクの繁殖効率の比較

飼育

NCNPマーモセットの飼育環境は、温度28.0±2℃、湿度60±10％を維持している。

照明は12時間明暗（7:00点灯19:00消灯）、空調はヘパフィルターを介したオールフレッシュエアを供給し、換気回数は18～20回／時である。飼育管理では、動物飼育室の清掃は水洗方式で1回／日で毎日行い、給餌は昼と夕方2回／日を毎日行っている。給餌飼料は日本クレア社製「マーモセット用固型飼料 CMS-1M」を主食として与え、この他に補助食としてCMS-1Mを水で練った「練りエサ」やCMS-1Mを原料としたパン等を給餌している。また体調の悪い個体や、産後や育仔中の母獣には蒸かしイモ、食パン、ヒト用離乳食「バナナプリン」、「ニンジンポテト」（キューピー株式会社製）等を適宜与えている。飼育ケージは大型（W 400×D 850×H 1600mm）、中型（W 500×D 600×H 800mm）、小型（W 300×D 500×H 600mm）の3種類を用途に応じて使用している。大型ケージは繁殖母群で使用し、2～3産分の産仔と両親が同居可能である。中型ケージは複数頭飼育に用いており、新規ペアの飼育や出産・育仔もこれで行っている。実験に用いる個体は、通常個別飼育（単独飼育）のため小型ケージで飼育することが多い。

繁殖

繁殖は雌雄同居（ペア飼育）での通年繁殖を行っており、生産の主体となる「繁殖母群」と次期繁殖用ペアを確立するための新規ペア群とで構成されている。マーモセットの性周期は26～30日で、季節性のない周年繁殖である。また分娩後7日～14日の間（10日目前後が最も多い）に排卵が起こるため、ペア飼育をすることで「追いかけ妊娠」が可能となる。妊娠期間は145～148日であり、追いかけ妊娠をした場合分娩から次の分娩の間隔は155日～158日となり、優良な繁殖ペアではこの間

	NCNP年間分娩件数					
	2015	2016	2017	2018	2019	計
1仔	4	14	3	10	11	42
2仔	7	22	17	25	42	113
3仔～	16	36	40	44	57	193
計	27	72	60	79	110	348

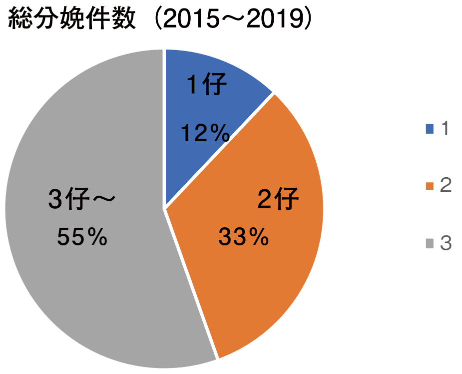


表-1．NCNPにおける年間分娩件数と産仔数の比率

Fig-1．NCNPマーモセット繁殖飼育室

隔で妊娠･出産を繰り返すことになる。産仔数は一般に2仔産と言われているが、NCNPでは出産の約60%が3仔産である（表-1）。繁殖に用いる年齢は、雌雄共に1歳齢以上であるが、メスの排卵、オスの精子形成は生後7か月頃から認められる。しかし体重が300gを超えるのは、平均して12か月齢以降であるため、繁殖への使用を1歳以上としている。母群で生まれた仔は育児を学習させるため、1歳を過ぎても両親と同居させていることもある。

飼育繁殖技術について

NCNPの飼育と繁殖の概要は、上述した通りである。飼育に関しては、設定した環境と設置した機材の維持管理、飼料に関しては材料の衛生管理を遂行することで、その目的は達成できる。繁殖に関しては、3仔産むのも、追いかけ妊娠するのも、マーモセットの能力である。ではここにどのような技術が求められるのであろうか。動物の飼育管理や繁殖･生産の現場で最も重要なことは飼育動物の健康維持であり、それをより効率的に行うための試行錯誤から生まれた手法が飼育繁殖技術と考える。従って飼育環境や飼料の設定は、経験的に確立された技術と云える。しかし、より効率的な動物飼育は常に求められるべきであり、その発想の種は日常の動物管理作業の中にあると考える。

動物実験技術

動物実験には様々な分野があり、多種多様の実験スタイルが存在するのは周知のことである。NCNPにおいては、当然のことながら研究対象部位は脳である。しかしここで言う動物実験技術は、専門的な部位に対する施術や処置ではない。専門的な実験処置を施す場に、対象動物を安全に遅滞なく提供することと、実験処置終了後に安全に事故なく術後管理を施すスキルを動物実験技術と定義する。具体的には外科的処置とその術後管理、採血、投与（静脈、筋肉、皮下、腹腔、経口、経鼻等）である。また実験による処置（施術）部位の保護や防護は、術後管理上の重要な手技と言える。サル類の特徴である手指の器用さはマーモセットも例外ではなく、術創を自ら破壊する行為は頻繁に発生する。そのため術創保護にはテーピングやエリザベスカラー等を用いて対応するが、個体ごとに反応が異なるためその手法も臨機応変な対処が求められる。特にマーモセットでは殆どの場合において、こうした処置行為を無麻酔下で実施する。このため最も重要なのが動物の保定である。実験個体の施術部位は、頭部、腹部、背部あるいは四肢など様々である。従って術後管理においては、施術部位に配慮した動物保定が必要とされ、教科書的な保定方法だけでは対応できない場合が多い。今回は採血、投与といった一般的な実験手技に加え、技術者とマーモセットの知恵比べとも云える術後管理についても幾つかの事例を紹介する予定であった。

3. コモンマーモセット遺伝子操作技術

■佐々木　えりか
公益財団法人　実験動物中央研究所
マーモセット医学生物学研究部

創薬研究では、開発中の薬の非臨床試験において、得られた結果のヒトへの外挿性の点から、げっ歯類と非げっ歯類の2種類の動物種を用いた評価が望まれている。コモンマーモセット（マーモセット）は、非ヒト霊長類の中でも性成熟するまでの時間が短いこと、繁殖力が高いこと、小型なため少量の被験物質で有効性などの評価が可能なことなどから、近年、非げっ歯類の非ヒト霊長類モデルの一つとしてマーモセットの重要性が再認識されている。また、遺伝子改変マーモセットモデルは、げっ歯類のモデルを用いた動物実験の結果ではヒトに外挿が困難な研究領域において有用なモデルとなることが期待されている。

非ヒト霊長類の遺伝子改変動物の作出は、2001年に米国から報告されたトランスジェニックアカゲザルの報告が最初である[1,2]。しかしながら、アカゲザルは、季節繁殖動物であることから一年を通して実験ができないため、近年では遺伝子改変モデル作製などの研究ではあまり使用されなくなっている。一方、カニクイザル、マーモセットは、周年繁殖であるため、いつでも卵子や胚を移植するための仮親の準備が可能であり、遺伝子改変モデル作製研究には、これらの種が主に用いられている。

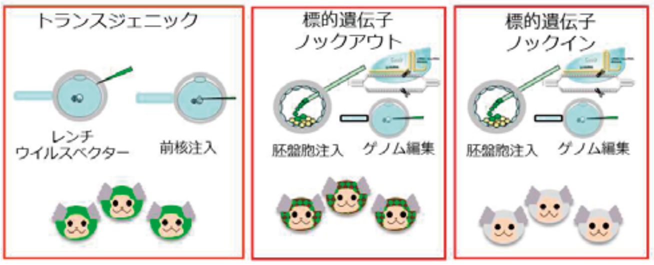
遺伝子改変技術は、主に外来の遺伝子を導入するトランスジェニック、内在の標的遺伝子を破壊するノックアウト、内在の標的遺伝子に外来の遺伝子を導入するノックインの3つに分けられる（図1）。例えば、組織特異的に標的遺伝子をノックアウト可能なCre-loxPシステムは、動物作製の技術としては標的遺伝子ノックイン技術が用いられる。

マーモセットの受精卵は、ホルモン処理による卵巣刺激を行っても20～40個程度しか得られないため、トラスジェニックモデル作製には、効率良く遺伝子を導入可能なベクターが必要となる。そこで遺伝子導入効率の高いレンチウイルスベクターが主に用いられている。レンチウイルスベクターは、染色体に導入されないとベクターに搭載されている遺伝子を発現しないので、全身性に発現可能なプロモータ下に目的遺伝子と共に蛍光タンパク質遺伝子を搭載したベクターを用いることで、遺伝子導入された受精卵が蛍光タンパク質を発現するため、導入遺伝子が挿入されたトランスジェニック胚のみを選択して仮親へ胚移植する事が可能である。この方法によって高確率（ほぼ100%）でトランスジェニック産仔を得る事が可能となる有用性が高いベクターである[3]。

非ヒト霊長類では、マウスのような個体化可能な胚性幹（ES）細胞を持たないため、遺伝子改変モデルを作製する際、胚または配偶子を用いる必要がある。長期間in vitroで培養可能なES細胞と異なり、受精卵をin vitroで培養可能なのは、約10日間に遺伝子改変を施す必要がある。つまりマウスで行われているように、ES細胞に標的遺伝子をノックアウトもしくはノックインして、目的通りに遺伝子改変された細胞を選択した後、胚に注入するといった手法がとれないため、胚の内在性の標的遺伝子ノックアウト/ノックインモデルの作製は困難だった。しかしながらゲノム編集が開発され、マーモセットにおいても胚を用いた標的遺伝子ノックアウトモデルの作製が可能となった。我々の研究室では、この技術により、IL-2 receptor common gamma chain遺伝子をノックアウトした免疫不全モデルの開発を行っている[4]。

一方、標的遺伝子ノックインについては、マウスでは数々のモデルが作製されているがマーモセットの場合、ノックインがモザイクになる事が多く現時点で個体作製の報告はなく今後の技術開発が望まれる。

遺伝子改変動物技術と種類



トランスジェニック：外来性遺伝子を人為的に導入して過剰発現させることで表現型を得る

標的遺伝子ノックアウト：内因性の標的遺伝子を破壊して遺伝子機能を喪失させることで表現型を得る

標的遺伝子ノックイン：内因性の標的遺伝子の特異的部位に特定の遺伝子を導入することにより遺伝子発現の制御機構を解析する

引用文献

1. Chan AW, Chong KY, Martinovich C, Simerly C, Schatten G. Transgenic monkeys produced by retroviral gene transfer into mature oocytes. *Science.* 2001;291(5502):309-312.
2. Wolfgang MJ, Eisele SG, Browne MA, et al. Rhesus monkey placental transgene expression after lentiviral gene transfer into preimplantation embryos. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(19):10728-10732.
3. Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, et al. Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature.* 2009;459(7246):523-527.
4. Sato K, Oiwa R, Kumita W, et al. Generation of a Nonhuman Primate Model of Severe Combined Immunodeficiency Using Highly Efficient Genome Editing. *Cell Stem Cell.* 2016;19(1):127-138.

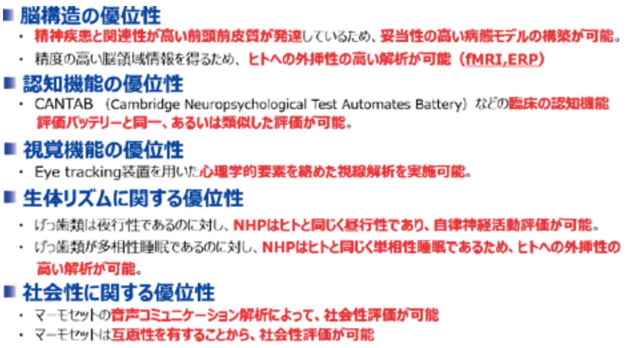
4. 精神疾患治療薬の研究開発における非ヒト霊長類の有用性

■池田　和仁
大日本住友製薬株式会社
リサーチディビジョン
基盤技術研究ユニット
高次脳機能研究担当フェロー

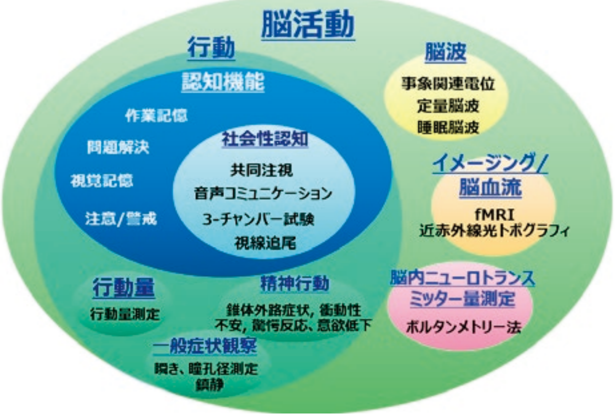
新薬開発費は年々増大し、さらに統合失調症やうつ病といった精神疾患の領域においては画期的新薬の登場もなく、多くの製薬メーカーが同分野の縮小・撤退を行ってきた。臨床入りした開発化合物が最終的に承認される確率は精神疾患の分野が最も低く6.2%であり、さらに疾患への効果が問われる第2相試験において成功確率は34%であるが、50%に上げるだけで約400億円の経費削減が見込まれることが試算されることから、非臨床試験で如何に臨床試験での薬効の予測を高めるかが死活問題となる。そのため、1)適切な動物モデルの作製、2)臨床と非臨床をつなぐトランスレーショナル研究手法の探索、3)ヒト細胞(iPS, ES)評価系の構築、4)パスウェイ解析・システムバイオロジーの利用、5)ビックデータの活用(コフォート研究)が検討し始められている。我々は1)、2)について探求し、精神疾患との関連が強い前頭前皮質の発達した非ヒト霊長類を用いた疾患モデルの作製、さらに臨床へのトランスレーショナル性の高い研究手法の開発を試みてきた。

一方、精神疾患の本質を理解するため、各精神疾患をさらに層別化する必要性が唱えられ始めている。例えば米国のNIMH(National Institute of Mental Health)では症状別にドメインを分類し、例えば快の感情、不快の感情、認知機能などを遺伝子－分子－細胞－神経回路－生理－行動の各ユニットで解析を行うことで精神疾患の本質に迫ることを試みるプログラム：RDoC(Research Domain Criteria)が開始され、日本神経精神薬理学会においては、バイオマーカーを用いて各精神疾患の層別化を試みるワーキンググループが立ち上げられた。我々もマーモセットとマカクサルを用いて、臨床試験と同一あるいは同じパラダイムに基づいた認知行動試験、あるいは臨床への外挿性の高い脳波解析等を取り入れ、RDoCのドメインに準じたNHP研究体制を整備中である。

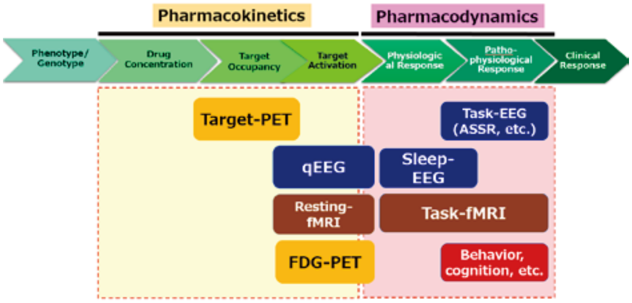
非臨床研究では大きく2つの段階があり、1つ目はpharmacokinetics、すなわち薬剤がターゲットにどう作用するかを、血中濃度、ターゲットへの占有率、アクション(活性・不活性化)を検証する段階であり、2つ目はpharmacodynamics、すなわち投薬した個体全体の病理生理学的作用を検証する段階である。具体的には、pharmacokineticsにおいてはPET, fMRIなどのイメージングが中心となり、投薬の影響定量化する脳波解析(qEEG：quantitative electroencephalography)も重要なツールとなる。そして



①精神疾患領域におけるNHP（non-human primate）研究の必要性



②NHPを対象にした薬理試験方法



③臨床試験における各ステージと評価試験法

pharmacodynamicsでは脳波解析の貢献度は大きくなり、sleep EEG、タスクや刺激による脳波への影響を検査する様々な事象関連電位（ERP：evoked related potential）があり、さらに認知バッテリー、視線解析をはじめとして様々な行動解析が挙げられる。本講演では、これらを整備したNHPの評価系の一部を紹介したい。

（日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照）

株式会社ケー・エー・シー 京都市中京区西ノ京西月光町40番地
URL：https://www.kacnet.co.jp/

連載特集

実験用豚を巡る情報（II）

豚熱（CSF）とアフリカ豚熱（ASF）

国立研究開発法人　農業・食品産業技術研究機構
動物衛生研究部門　海外病研究拠点
山川　睦

1. はじめに

21世紀間近になって、世界的に重要家畜伝染病の流行地域の拡大や新興・再興感染症の発生が目立つようになり、人獣共通感染症の重要性も増大するなど、人・動物を含め新たな感染症時代を迎えることとなった。その背景には、人の移動や物流の増加･迅速化、人類の生活圏の拡大、アジア地域における畜産業の振興、気候変動（地球温暖化）などの社会及び自然環境の変化といった様々な要因がある。このような状況下で、わが国では一度撲滅に成功した豚熱（Classical swine fever；CSF、旧名称；豚コレラ）が2018年9月岐阜県の養豚場において26年ぶりに発生した。また、風土病として発生地域が限定的であったアフリカ豚熱（African swine fever；ASF、旧名称；アフリカ豚コレラ）が、2007年に黒海とカスピ海に挟まれたジョージアに飛び火して以降、徐々に周辺国に拡大し続け、ついに2018年8月、世界最大の養豚国かつ豚肉消費国である隣国中国に侵入した。中国を含むアジア地域ではCSFの発生も確認されているが、これら2疾病は臨床症状が酷似しているために制御不能状態に陥っているといっても過言ではない。特に未だ有効なワクチンが存在しないASFに関しては摘発淘汰以外に打つ手がないのが実情である。今や遠隔地で発生している感染症がいつ日本国内で発生してもおかしくない事態を迎えている。

本稿では、最近家畜伝染病予防法や特定家畜伝染病防疫指針、飼養衛生管理基準の改正が行われたばかりであることを契機に、豚の飼育施設にとって最大の脅威となっているこれら2つの伝染病について概説する。

2. 豚熱（CSF）

1888年の北海道での初発例以降、国内で発生が継続していたが、1969年から弱毒生ワクチンの使用が開始されたことにより、発生が激減し、1992年の熊本県での発生以降確認されていなかった。今回のような大規模にイノシシを巻き込んだ発生がないまま、2007年には国際的に清浄国と認定された。2018年に中国でのASF発生が報告され、国内では緊張が高まっていたが、その直後に岐阜県の養豚場で見つかったのは、ASFではなく関係者の誰もが予想していなかったCSFであった。

1）国内流行株の分子疫学的特徴

CSFウイルスは、フラビウイルス科ペスチウイルス属に属し、約12.3 kbのプラス一本鎖RNAゲノムとエンベロープを持つ不整球形状のウイルスである。抗原的には単一で血清型はないが、ウイルス遺伝子の塩基配列によって3つの遺伝子型に分けられ、さらに亜型に細分されている。遺伝子解析により、岐阜県初発農場の感染豚から検出されたウイルスは、2.1d亜型のグループに属していることが明らかとな

った。2.1d 亜型のウイルスはこれまで日本で検出されておらず、中国あるいはその周辺国から侵入したことが示唆された。その後、豚及びイノシシから検出・分離されたウイルスの遺伝子を比較した結果、いずれも初発例から分離されたウイルスと同一であることが示された。これらの遺伝子情報や疫学調査によって、海外旅行者の手荷物や国際小包を介して持ち込まれたCSFウイルス汚染豚肉あるいは豚肉加工品の残渣が不適切に廃棄され、それを食べたイノシシ群が感染した後、初発農場の豚にウイルスが伝播した可能性が高いと考えられている。そして、イノシシによる持ち込みや豚の移動、人の介在（汚染した車両や物品の移動）によってウイルスが拡散して行ったと推定されている。

2)2018年分離株の病原性

CSFの病型は死亡までの日数によって急性型（約20日）、亜急性型（約20～30日）、慢性型（30日以上）、不顕性型のように分けられる。近年の発生は、過去に見られた急性型を引き起こす強毒株より病原性が低い株によるものが多いと言われている。CSFの目安となる臨床症状としては、耳翼・下腹部・四肢等の紫斑、発熱・元気消失・食欲不振、便秘・下痢、結膜炎（目やに）、歩行困難・後躯麻痺・痙攣、削痩・被毛粗剛（いわゆるヒネ豚）、死流産、白血球減少など多岐にわたる。実際には一目でわかるような臨床症状がほとんどないのが特徴であり、同一豚房または豚舎で上記のいずれかの症状を示す個体が複数存在する、あるいは増加している場合には、まずCSFを疑って実験室内診断を行う必要がある。

我々は初発農場の感染豚血液からCSFウイルスを分離し、豚を用いた感染試験を行った。その結果、分離株の病原性は標準株である米国分離強毒株（ALD株）より明らかに低く、豚は発熱や食欲不振、白血球減少、結膜炎を示す程度で、ウイルス接種後1か月経過しても死亡しないことが判明した（写真1及び2）。同居豚への伝播には1週間程度（4～8日）を要し、解剖時には胃炎、脾臓の梗塞、リンパ節の出血、紫斑、ボタン状潰瘍、扁桃炎、腎臓・膀胱の点状出血などが観察された。しかし、これらの病変は個体によっては必ずしも確認できず、実際に野外でCSFを疑う症例に遭遇した場合、複数の死亡豚や鑑定殺した豚を剖検すべきであることが示された。一方、イノシシのモデルとして用いたイノブタの感染実験でも豚同様の実験結果が得られた。一連の感染実験により、農場でのCSFの発見が難しい上に、一旦イノシシに侵入すればイノシシ間で感染が広がりやすいことが示唆された。また、CSFワクチン（豚用及びイノシシ用）を投与した豚及びイノブタへの攻撃試験により、流行株に対する既存のワクチンの有効性が確認された。

写真１．発熱・元気消失し、食欲不振となって豚房の隅に重なるようにうずくまる（CSF感染実験）

写真２．結膜炎（CSF感染実験）

3）発生状況

CSFはアジア、中東、アフリカを中心に広く蔓延している一方で、北米や欧州、オセアニア、南米では38カ国が清浄国として国際獣疫事務局（OIE）から認定されている（2020年6月現在）。わが国は現在清浄国としてのステータスが「一時停止中」という状態にあり、2018年9月の初発以降2020年3月までに岐阜（22件）愛知（18件）、長野（2件）、三重（1件）、福井（2件）、山梨（1件）、埼玉（5件）、沖縄（7件）の8県の農場で合計58件の発生が確認されている。疫学

関連農場の豚や多数の死亡・捕獲イノシシからもCSF感染個体が見つかっている。現在では発生県、CSF陽性イノシシ検出県を中心にイノシシの感染拡大を防ぐための経口生ワクチンが散布されるだけでなく、豚用弱毒生ワクチンが使用されるようになったため、養豚場での発生は3月以降沈静化している。しかしながら、野外株感染イノシシは、2018年9月中旬から2020年7月末までに上記のうち沖縄を除く7県のほか、富山、石川、滋賀、群馬、静岡、新潟、京都、神奈川、茨城、東京の10都府県で依然として発見されており、すでに2400頭を越えている。徐々に拡大傾向がみられる中、今後、捕獲やワクチン散布によって如何に効果的に感染イノシシの数を減らしていくか、農場への侵入防止を図るかが課題となっている。

3. アフリカ豚熱（ASF）

20世紀初頭にアフリカで初報告された当時、CSFとの臨床的類似性から、土着のCSF様感染症としてその名が与えられた。長きにわたりサハラ砂漠以南を中心に流行を繰り返していたが、2007年以降は風土病からグローバルな感染症へと変貌を遂げ、世界中の獣医畜産関係者に広く認知されるに至った。東欧やロシアを経て豚の飼育が盛んなアジア地域に拡大したことにより深刻な事態を迎えている。

1）世界に広がる流行株の特徴

ASFウイルスはアスファウイルス科アスフィウイルス属に分類される。直径約200nmの巨大ウイルスであり、そのゲノムは170～190Kbからなる直鎖2本鎖DNAで、170種以上のウイルス蛋白質をコードする。本ウイルスは一般的にp72カプシド蛋白質の塩基配列に基づいて分類され、24種の遺伝子型が存在すること知られている。現在世界的に流行している株は東アフリカ分離株に近縁であり、遺伝子型Ⅱに属している。ジョージアに寄港した船舶から出された東アフリカ由来汚染厨芥が豚へ給餌されたことを発端に、豚及びイノシシの間に感染が起こり、これら感染個体の移動に伴って間に拡大していったと考えられる。ASFの伝播経路はCSFとほぼ同じで、感染豚・イノシシの移動により感受性個体に直接接触する他に、感染豚の肉やその加工品が食品残渣となって豚に給餌されることや、汚染した車両や物品を通じて人がウイルスを農場に持ち込むことによって、農場間、地域間だけでなく国境を越えて広がっていく。CSFと異なり、軟ダニ（*Ornithodoros*属）の吸血によってもウイルスが媒介されるが、現在の流行においてはダニの関与は示されていない。

2）遺伝子型Ⅱの株の病原性

感染豚は甚急性、急性、亜急性、慢性、不顕性と幅広い病態を示し、致死率も数～100%と多様である。甚急性及び急性型では、高熱と食欲不振、白血球減少、皮膚の出血、全身のチアノーゼなどが観察され、脾臓や腎臓、心臓、肺、その付属リンパ節を始めとする諸臓器の激しい出血病変を特徴とする。甚急性型では顕著な病変が認められないまま数日で、急性型では1週間前後で死亡する。亜急性型の症状や病変は急性型とほぼ同様であるが、死亡までに3～4週間を要する。慢性型では発熱、肺炎、関節炎、皮膚の壊死や潰瘍が観察され、出血病変は比較的軽度で致死率は2～3%と低いものの、病期は約1か月にも及ぶ。アジアで蔓延している遺伝子型Ⅱの株は依然として強い病原性を維持していることが急性・亜急性例の多い発生報告からうかがえる。

急性・亜急性型の臨床症状や病変はCSFの症状に類似するため、類症鑑別が重要となる（写真1及び3）。CSFの発生があり、ASFの侵入危機にさらされているわが国においては、現場で活用可能な両疾病の鑑別点や診断の指標となる症状及び解剖所見を明確にしておく必要がある。我々は海外研究機関から遺伝子型Ⅱの株を導入し、豚を使った感染実験を実施した。その結果、肺水腫や消化管粘膜の出血、血液の凝固不全といった典型的な急性型の症状及び病変が

確認された。ASFウイルス感染豚に共通して観察される特徴的な脾臓の腫大と腹腔内リンパ節の暗赤色化の2点がCSFとの鑑別点として特に有用であることが示された（写真4及び5）。最終的な診断は実験室内での精密検査に委ねざるを得ないが、これらの鑑別点はASFを疑うべきか否かの良い指標となると思われる。一方、ニホンイノシシを使って感染実験を行ったところ、豚同様の症状と病変が確認された。万が一ASFが国内に侵入した場合は、CSF同様に在来野生イノシシによるウイルスの拡散に警戒が必要となることが示された。

3）発生状況

2007年4月にジョージアに侵入後、隣国のアルメニア、アゼルバイジャンなどのコーカサス諸国やロシアを始めとして徐々に東欧へと広がった。欧州では現在（2020年7月）までの間に20カ国で発生が報告され、未だその勢力は衰えていない。ロシアでの発生は当初ウラル山脈以西に限られていたが、2017年3月には東に4000km以上離れたシベリア地域のイルクーツク州で発生が確認され、アジアの国々への侵入リスクが非常に高まった。その懸念が的中し、2018年8月アジアで初めてとなる発生が中国遼寧省で報告され、その後5ヵ月の間にほぼ中国全土において発生が確認されるに至った。翌2019年にはモンゴル、ベトナムなど中国周辺国から東南アジア（タイ、マレーシアを除く）、朝鮮半島に拡大し、フィリピン、インドネシア及び東ティモールと言った日本と同じ島国でも発生報告が相継いだ。さらに、2020年には南アジアの一角インドやパプアニューギニアにまで波及している。我が国では、2019年にアジア地域のASF発生国より入国した旅行客の不法持ち込み豚肉ソーセージから感染力のあるASFウイルスが分離されており、その脅威が足下まで迫っていることが報告された。

4. 防疫対策

CSFやASFは家畜伝染病予防法によって家畜（法定）伝染病に指定され、その防疫は特定家畜伝染病防疫指針に則って実施される。昨今の危機的事態に対処するため、本年法律が改正され、野生動物の家畜伝染病蔓延防止措置の法定化や、家畜の所有者・国・都道府県・市町村・関連事業者の責務の明確化、飼養衛生管理基準の遵守に係る是正措置等の拡充、家畜防疫官の権限等の強化がはかられた。動物検疫による徹底した侵入防止対策に加え、万が一侵入した場合には摘発淘汰、移動禁止、緊急ワクチン接種、予防的殺処分など蔓延防止のための迅速かつ的確な防疫対応が求められる。もちろん、早期発見と封じ込めを成し遂げるためには、生産現場における日常的な対策が基本となる。CSFやASFであろうと、国内の常在感染症であろうと、感染症対策の基本は何も変わらない。病原体を農場や飼育施設内に持ち込まないよう、仮に侵入しても異常にすぐ気づくよう、衛生状態を常日頃から高レベルに維持しておかなければならない。もっとも、実験動物としての豚の飼育施設は、一般の養豚場とは飼育目的や生産・流通形態、施設構造などが異なるだけでなく、外界から隔離状態にあ

写真3．耳翼の紅斑（ASF感染実験）

写真4．黒色調を呈して著しく腫大した脾臓（ASF感染実験）

写真5．暗赤色を呈して著しく腫大した腸間膜リンパ節（ASF感染実験）

る上、畜産分野との接触がない。したがって、実験用豚は「豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」の留意事項16に記載されているような「高度な隔離・監視下にある豚等」としてみなすことができる。CSFワクチン接種区域内にあってもワクチン接種対象から除外可能であり、このことは普段の管理が適正に持続的に行われる限り、ことさらCSFやASFを恐れる必要がないことを意味している。しかしながら、わずかな隙間をつくかのように侵入してくる病原体に対し、ハード面を過信することなく、ソフト面となる飼育スタッフの防疫スキルの強化やバイオセキュリティに対する意識の共有・維持をはかることは重要と考える。

5. おわりに

今後の悪性伝染病の侵入に備えるためには、常に海外における発生状況や学術情報を把握しておくこと、特に近隣アジア地域の発生情報を入手し関係者間で広く共有しておくことが大切である。これらの情報を元に、国家レベル（動物検疫による水際防疫）から現場レベル（農場における飼養衛生管理）に至るまで、関係者一人一人が強い警戒心を持って侵入及び蔓延防止対策にあたらなければならない。国・自治体・生産者・関連業者が一丸となってそれぞれの責務を果たしつつ、工夫と努力を凝らしてこの苦難を乗り越えていくことが今求められている。

参考資料

・農水省HP「家畜の病気を防ぐために（家畜衛生及び家畜の感染症について）」
https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku_yobo/index.html
CSF及びASF他の重要家畜感染症にかかる多数の最新情報が公開されているので、是非参考にしていただきたい。
・農研機構動物衛生研究部門HP
http://www.naro.affrc.go.jp/laboratory/niah/index.html
CSFやASFなどの重要家畜伝染病を詳しく知るための疾病・研究情報やトピックスが公開されている。

（日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照）

洗練された技術
理想への貢献

動物実験導入教育訓練用マウスシミュレータ
Mimicky Mouse

製品内容　ボディ：1体／尾1本
付属品：専用潤滑剤1本／ベビーパウダー 1本

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

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

販　売　●実験用動物 ●関連商品 ●実験動物輸送
飼育受託　●実験動物全般の飼育管理業務（オープンシステム・バリアシステム・アイソレータシステム等）●飼育施設環境管理（洗浄業務から各種環境測定まで）●実験支援・代行 ●各第三者認証への対応
技術受託　●遺伝子組換え動物の維持・繁殖 ●無菌動物の作出・維持 ●実験受託（非GLP）●施設クリーンアップ

最新、詳しい情報はこちらで
www.sankyolabo.co.jp

Topix
トピックス

実験動物の安楽死の課題
安楽死処置に用いるバルビツール酸誘導体の国内における規制と倫理的問題

花井　幸次（沖縄科学技術大学院大学）
岡村　匡史（国立国際医療研究センター研究所）
黒澤　努（鹿児島大学）

はじめに

安楽死処置とは、苦痛を伴うことなく、速やかな意識の消失と、不可逆的に心肺機能を停止させることにより、死を誘導する人道的な殺処分行為である。非終生飼養である実験動物では、繁殖生産施設における退役動物や実験への使用が終了した動物に加え、動物福祉の観点から実験等の過程で通常の鎮痛措置では軽減できない苦痛を示す動物が、安楽死処置の対象となる。バルビツール酸誘導体のなかでもペントバルビタール（PB）は、催眠作用が強力で、心臓血管系および呼吸器系の抑制作用が強く、さらに作用時間が長く、かつ即効性が期待できるため、実験動物の安楽死処置に長く用いられてきた。しかしながら、2007年にネンブタールが、続いて2019年に動物用医薬品として販売されていたソムノペンチルが販売終了となり、国内で医薬品グレードのPBを入手することができなくなった。PBに替わる安楽死薬が求められているが、バルビツール酸誘導体の医薬品は全て「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（以下、“薬機法”という）」で習慣性医薬品として管理されるうえ、向精神薬に分類される薬剤もあり、適切な管理が必要である。本稿では、国内におけるバルビツール酸誘導体に関する法規制、および安楽死処置に用いるときの注意点について概説したい。

安楽死薬としてのバルビツール酸誘導体

米国獣医師会の動物の安楽死処置に関する指針2020年版[1]によると、安楽死処置を評価する際に考慮すべき事項として、(1) 最小限の痛みや苦痛で意識の喪失と死を誘導する (2) 意識消失までの時間 (3) 信頼性（確実な死）(4) ヒトへの安全性 (5) 不可逆性 (6) 目的に適している (7) 実施者等の感情への配慮 (8) 安楽死後の検査への適合性 (9) ヒトの乱用の危険性 (10) 種、年齢、健康状態への適合性 (11) 器具・機材のメンテナンス (12) 捕食者が残骸を捕食したしたときの安全性 (13) 法規制 (14) 残骸が残ったときの自然界への影響、以上を総合的に評価し、選択することを提唱している。

バルビツール酸誘導体は、$GABA_A$受容体のサブユニットに存在するバルビツール酸誘導体結合部位に結合し、中枢神経系を抑制する。この作用により強い鎮静・催眠作用を示し、過剰投与により呼吸中枢および循環機能を強く抑制するため、安楽死薬として推奨される[1]。特にPBは、効果が強力で長く続くこと、刺激性がなく、溶液内で安定であり、高価ではないことから安楽死薬として非常に適しているとして、実験動物の安楽死に広く使用されてきた。また、セコバルビタールの過剰投与も付加条件なしに許容される安楽死処置法であるとされる[1]。なお、PBは過去には実験動物の外科麻酔に使用された経緯があるが、鎮痛作用がほとんどなく、適切な麻酔深度に達しないため、単独投与による全身麻酔は適切ではない[2)3)]。

国内におけるバルビツール酸系麻酔薬の法規制

バルビツール酸誘導体、チオバルビツール酸誘導体およびそ

れらの塩は全て薬機法で習慣性医薬品に指定され（厚生省告示第十八号）[4)]、習慣性医薬品は全て処方箋医薬品に指定されている。これは、作用の強弱に関わらずバルビツール酸系麻酔薬には習慣性があるために厳重な管理が必要であり、医師、歯科医師又は獣医師から処方箋の交付を受けたもの以外には販売又は授与が行えないように規制されていることを意味する。ただし、動物実験への使用に関しては、例外規定として「学術研究のための使用を行う教育研究機関」および「法令に定められた試験検査のための使用を行う試験検査機関」に対しては処方箋を必要とせず入手が可能である（薬食発 0318 第 4 号）[5)]。また、バルビツール酸系麻酔薬は劇薬に指定され、盗難、紛失、不正使用がない厳重な管理が必要である。

一部のバルビツール酸誘導体は更に麻薬及び向精神薬取締法（以下、“麻向法”という。）により向精神薬に指定されている（麻向法施行規則別表第一）[6)]。向精神薬は、麻薬・覚せい剤よりは一般的に依存性の程度が低く、その中で睡眠薬、抗不安薬等のように医療上の有用性が高いものも含まれる。医師の適正な指示がないまま濫用すると、やがて向精神薬依存状態に陥り、その使用を自制することが困難となることから、向精神薬は保管、納入記録等に関する規定が麻向法に設けられている。学術研究又は試験検査のため向精神薬を製造し、又は使用する施設の設置者は、地方厚生（支）局長又は都道府県知事への登録が必要で、保管は施錠管理が義務付けられる。麻向法第 50 条の 23 第 3 項及び第 4 項により、第 1 種向精神薬又は第 2 種向精神薬を譲り受け、譲り渡し、又は廃棄したときは、(1) 向精神薬の品名（又は販売名）・数量、(2) 譲り受け、譲り渡し、又は廃棄した年月日、(3) 譲受け又は譲渡しの相手方の営業所等の名称・所在地を記録し、この記録を最終記載の日から 2 年間保存しなければならない。第3種向精神薬については、譲受の記録、在庫管理が推奨されている。なお、いずれの向精神薬も施設内で施用のために交付した場合、および施用のために譲り受けた向精神薬の廃棄については詳細な記録は求められない（麻向法施行規則第 42 条[6)]、試験研究施設における向精神薬取り扱いの手引き[7)]）。すなわち、麻薬や覚せい剤とは異なり使用毎の詳細な記録は残すことを求められてはいない。これは、当局による「向精神薬には、医療及び学術研究に広く使用され、医療上有用な薬品として用いられることが多く、その有害性の程度も麻薬、覚せい剤などと比較しても一般に低いため、本来の目的である医療及び学術研究の活動に大きな支障がないよう、その譲り受けや使用については、麻薬ほど厳しく規制されていない。」との説明で明確にされている（麻薬等関係質疑応答集：平成 21 年 厚労省医薬食品局）[8)]。ただし、これは管理が不要ということではなく、適切に使用・管理が行える方法を各施設が設定する必要があろう。

向精神薬の分類

PB は第 2 種向精神薬、PB に代わる安楽死用の薬剤として期待されているセコバルビタールは第 1 種向精神薬に分類される（参考：三種混合麻酔薬に用いられるミダゾラムは第 3 種向精神薬、鎮痛剤として用いられるブプレノルフィンは第 2 種向精神薬）（表 1）。この分類は、1971 年の国連で採決された「向精神薬に関する条約（Convention on Psychotropic Substances, 1971）」において、医療上の有用性と濫用された場合の危険性の程度を考慮して分類された、4 つの分類（付表Ⅰ～Ⅳ）に基づいている。我が国でも、批准国として条約を履行するために国内法を整備し、国際法と同様の分類方式に従って、第 1 種、第 2 種、第 3 種向精神薬に分類された。第 1 種向精神薬は、濫用の危険性があり医療価値があまり高くない薬剤、第 2 種向精神薬は、濫用の危険性があり医療価値が比較的高い薬物、第 3 種向精神薬は濫用の危険性が低い薬物、として分類されている。向精神薬輸出入業者が輸出入する際には、

第１種向精神薬と第２種向精神薬で規制が異なるが、学術研究あるいは教育に関わる研究者等にとって管理の必要な業務、すなわちそれらの譲り受けや使用については上述のとおりであり、保管時の施錠及び記録の保管等、規制に違いはなく第３種向精神薬に比べて厳しい管理を必要としている[6]。

ペントバルビタールの代替薬としてのバルビツール酸誘導体

PB の代替薬となり得るバルビツール酸誘導体を表２にまとめた。セコバルビタールは第一種向精神薬、チオペンタールとチアミラールは超短時間作用型であり、向精神薬には分類されていない。医薬品グレードの薬剤がある場合、非医薬品グレードの薬剤を用いるべきではないが[9]、米国においては医薬品の PB は、非常に高価であるため“unavailable category”に分類されており、複数の機関で非医薬品グレードの PB の使用が承認されている。そのため、PB を調整するためのプロトコールも公開されている[10)-12)]。国内においては、「向精神薬製造製剤業者でなければ、向精神薬を製造し、製剤し、又は小分けしてはならない（麻向法第 50 条第 15 号）」。しかしながら、例外事項として、「向精神薬試験研究施設において、学術研究又は試験検査に従事する者が、学術研究又は試験検査のため製造し、製剤し、又は小分けする場合」はこの限りではない。国内において、医薬品の PB 製剤を入手することは不可能であるため、表２に示したバルビツール酸誘導体と共に、非医薬品グレードの PB の使用も選択肢となり得るかもしれない。しかしながら、非医薬品グレードの薬剤を使用するためには、代替薬および代替安楽死法の適用等について、動物実験委員会等で十分な議論が必要であり、非医薬品グレードの PB の使用を無条件に推奨するものではない。

表1　バルビツール酸系麻酔薬の法規制

向精神薬	輸出入の規制		保管管理の規制	バルビツール酸誘導体の例	その他の薬物の例
	輸出入業者	研究者等			
第1種	許可（年1届出）	許可（年1届出）	施錠、記録（*）2年保管	セコバルビタールNa	
第2種	届出	許可（年1届出）	施錠、記録（*）2年保管	ペントバルビタールNa アモバルビタール	ブプレノルフィン
第3種	不要	許可（年1届出）	施錠（譲受の記録、在庫管理を推奨）（#）	フェノバルビタール バルビタール	ミダゾラム
習慣性医薬品	N/A	N/A	（製品に表示が必要）	全てのバルビツール酸誘導体とその塩	上記＋ プロポフォール デクスメデトミジン

＊）記録：①向精神薬の品名・数量、②譲り受け、譲り渡し、又は廃棄した年月日
③譲受け又は譲渡しの相手方の営業所等の名称・所在地

（施行規則第42条）記録が不要な場合
・施設内で施用のために交付した向精神薬（譲渡し、譲受け双方とも）
・施用のために譲受た向精神薬の廃棄

使用について記録は必要なし
（#）（試験研究施設における向精神薬取り扱いの手引き）

表2　ペントバルビタールの代替薬となり得るバルビツール酸誘導体

	ペントバルビタール（ネンブタール）	セコバルビタール（アイオナール）	チオペンタール（ラボナール）	チアミラール（イソゾール）
作用時間	短時間作用型	短時間作用型	超短時間作用型	超短時間作用型
製剤形態	液剤（5%）	用時溶解型粉末製剤 バイアル瓶	用時溶解型粉末製剤 ガラスアンプル	用時溶解型粉末製剤 バイアル瓶
液量	50mL（5%）	4mL（0.2g, 5%）	20mL（0.5g, 2.5%）	20mL（0.5g, 2.5%）
溶液安定性	室温3年	室温24時間：99.5% 冷蔵24時間：99.4%	室温24時間：99.1% （類縁物質の増加により24時間は規格外） 冷蔵24時間：99.9%	室温24時間：96.7% 冷蔵24時間：96.1%
添加剤	エタノール、 プロピレングリコール、 pH調整剤	なし	炭酸ナトリウム 塩化ナトリウム、 pH調整剤	炭酸ナトリウム pH調整剤
pH	9.5（9.4）	9.7～11.0（10.2）	10.2～11.2（10.9）	10.5～11.5（11.0）
摘要（iv, im）	―	全身麻酔、麻酔導入、 不眠症、不安緊張	全身麻酔、麻酔導入、 痙攣（破傷風等）等	同左
法規制	（劇薬、向精神薬（2種）、習慣性医薬品）	劇薬、向精神薬（1種）、習慣性医薬品	劇薬、習慣性医薬品	劇薬、習慣性医薬品
注意事項			im：2%溶液とする	im：2-2.5%溶液とする

実験動物の安楽死はより倫理的に施行しなければならない

動物を死に至らしめる行為に関しては倫理的な観点から社会一般の目は厳しい。臨床獣医学の分野では国際的に重篤な疾病に陥った動物に関しては安楽死も獣医療の一部として考えることが勧められている。これを援用して実験動物の安楽死に安易に適用することは必ずしも適当ではない。まれには実験動物も重篤な疾病に自然に陥ることもあるが、ほとんどの場合は研究目的で意図的に重篤な疾病を惹起させたり、傷害を与えた実験動物に対して安楽死処分が行われるからである。研究者の中には“安楽”死処分さえ不要だと考える者もいるが、昨今の動物実験反対運動の底にはこうした

研究者の倫理観を欠如した考え方への批判が含まれることを十分注視する必要がある。ましてや生産過剰動物、とくに死亡が必要のない実験動物の安楽死処分には十分な配慮が必要である。たとえば伴侶動物として一般的なイヌやネコでは実験終了後は安楽死するのではなく、一般の飼い主を探して、いわゆる里親を見つけて譲渡することも欧米では一般的になってきている。いずれにせよ実験動物では研究目的等で意図的に疾病や傷害を惹起させているのであるから他の動物の安楽死より、より倫理的な方法を選択し施行しなければならない。

安楽死に適した薬剤ではその薬効薬理に関しても深い考察が必要となるが実験動物の安楽死においてはそれに加え、倫理的側面からの深い考察が必要となる。AVMAの動物安楽死の指針[1]では薬剤の選択のための条件が示されているが、倫理的な観点からは薬物の濫用防止も挙げられている。こうした倫理的な観点から安楽死用薬剤の選択が求められている。例えば、麻薬を大量に投与して安楽死を施行することに関しては薬理薬効の観点からは他の薬剤よりも相当優れた安楽死法となる可能性がある。苦痛も少なく、多幸感の中で死に至らしめるのであるから、本来の安楽の考え方からはより良い選択であると考えても一見問題がないように思いがちである。しかし、安楽死を施行するという行為自体が高い倫理性のもとで行われることが前提であり、人の薬物の濫用を防止するため種々の規制法が制定されていたり、国際条約が設けられていることを考えると、より規制の強い薬剤をことさらに選択することは控えるべきである。薬剤の濫用防止のための規制法は種々制定されているが、良く知られている法律以外にも麻薬特例法（国際的な協力の下に規制薬物に係る不正行為を助長する行為等の防止を図るための麻薬及び向精神薬取締法等の特例等に関する法律）もある。

今回の議論は実験動物の安楽死薬として長年使われてきた医薬品としてのPBが市販されなくなったことからその代替薬剤で適当なものはないかという点である。PBは第2種向精神薬であることを考えると、倫理的な観点から適切な代替の薬剤を求めるのであれば、より規制の少ない薬剤が推奨される。ただ薬剤の規制は各国の法制により違いが大きく、単純に諸外国での推薦薬剤を選択することには注意が必要である。国際条約では向精神薬は4つに区分されPBはブプレノルフィン、ペンタゾシンなどともにスケジュール3とされている。スケジュール4にはバルビタール、ジアゼピン、ミダゾラムなどが列挙されている。ちなみにセコバルビタールはスケジュール2とされている。わが国では医療などへの影響を考慮して、国際条約に基づいた向精神薬分類はしたものの、第1類と第2類の取り扱には区別を設けていない。したがって我が国の法律だけを検討して、取り扱いは同じなのでPBが第2類だったので取り扱いが同じ第1類の向精神薬を代替安楽死薬とするのは、取り扱いの簡便さだけに注目すると使用したくなるが、国際的にも国内法でもより規制の強い薬剤とされていることからPBの代替としては倫理的には適当ではない。また前述の通り、規制薬は世界各国でその取扱いが大きく異なることから、たとえAVMAの動物安楽死指針に記載されていたとしても、それは米国国内法を主に検討して記載されている可能性がある。学術論文は国際的に使用されること、およびARRIVE指針[13]などでは投与した薬剤は安楽死薬も含め記載することを求めていることなどを勘案すると、安楽死法の選択とりわけ安楽死薬の選択に当たってはAVMAの動物安楽死指針に記載されているからという理由だけで決定するのではなく、より倫理的な薬剤、すなわち国内法、国際条約なども勘案の上、より規制の少ない薬剤の選択が求められていると考えられる。また薬剤の選択ではその背景、根拠に関しても説明責任が求められることは当然であり、PBの代替薬剤として、より規制の強い薬剤を選択した場合にはその説明責任は論

文著者にあることは間違いない。セコバルビタールをPBの代替薬剤として使用する場合は、他の薬剤では適当ではない、規制がより強くとも薬理薬効などからそれを凌駕する利点などを、より慎重に検討する必要がある。とくに実験動物の安楽死薬は十分な背景知識が無い者も使用することも多く、倫理的により厳格な考慮の上で選択しなければならない。

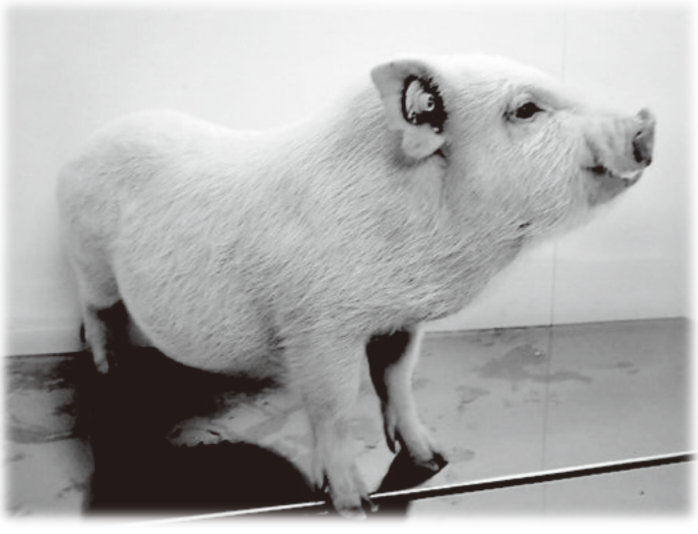
引用文献

1. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition
2. Flecknell, P. Laboratory Animal Anaesthesia 3rd ed., Academic Press, London, 2010.
3. Kawai, S., Takagi, Y., Kaneko, S. and Kurosawa, T. Effect of three types of mixed anesthetic agents alternate to ketamine in mice. Exp. Anim. 60: 481–487, 2011.
4. 厚生省告示第十八号(1961)：医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律第五十条第十一号の規定に基づき習慣性があるものとして厚生労働大臣の指定する医薬品
5. 薬食発 0318 第4号(2014)：薬局医薬品の取扱いについて
6. 麻薬及び向精神薬取締法施行規則(1953)：厚生労働省
7. 試験研究施設における向精神薬取扱いの手引　(2012)　厚生労働省医薬食品局　監視指導・麻薬対策課
8. 麻薬等関係質疑応答集(2009)　厚生労働省医薬食品局　監視指導・麻薬対策課
9. 実験動物の管理と使用に関する指針 第8版、Guide for the Care and Use of Laboratory Animals 8th ed., 2010
10. UCDAVIS office of research; https://research.ucdavis.edu/policiescompliance/animal-care-use/iacuc/use-of-non-pharmaceutical-grade-sodium-pentobarbital-for-anesthesia-of-laboratory-animals/
11. University of MARYLAND School of Medicine; https://www.medschool.umaryland.edu/media/SOM/Offices-of-the-Dean/OAWA/docs/non-usp-grade-pentobarbital-policy.pdf
12. ROSALIND FRANKLI University; https://rfums-bigtree.s3.amazonaws.com/files/resources/non-pharmaceutical-grade-pentobarbital-use19.pdf
13. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. Plos Biology 2020; https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000411

Göttingen Minipigs™

aaalac INTERNATIONAL

- Global Standard
- 大人しい、賢い、緩やかな体重曲線
- ヒトへの外挿性が高い
- 厳密な遺伝管理
- Technical＆Scientific　support



・飼育用器材、ハンドリング用器材
・実験動物用飼料
・生体試料　　・トレーニングサービス
・受託飼育　　・受託試験

お気軽にお問い合わせください

オリエンタル酵母工業株式会社

バイオ事業本部ライフサイエンス部
〒174-8505　東京都板橋区小豆沢三丁目6番10号
TEL：03-3968-1192　FAX：03-3968-4863

Topix
トピックス

実験動物の安楽死の課題
安楽死処置における
セコバルビタールの有用性

赤木　佐千子、平山　晴子、樅木　勝巳
（岡山大学　自然生命科学研究支援センター　動物資源部門）

1. はじめに

実験動物の安楽死処置は、化学薬剤を使った方法と物理的な方法に大別され、一般的に化学薬剤を使った非観血的な方法は、処置者の心理的な負担が比較的軽減されることから物理的な方法より好まれるとされる[1]。化学薬剤、中でもバルビツレートは実験動物の血液中に入ると脳内にすみやかに移行、急速に麻酔作用を示しつつ用量依存的に呼吸抑制を示し、投与された実験動物はゆるやかに死に至ることから安楽死薬として広く用いられている[1-3]。特にペントバルビタールは、薬剤の作動特性、化学的安定性、及び薬剤価格等の理由から第一の選択薬とされている[1、3]。しかし、日本では、2009年に医療用のネンブタール注射液の販売が中止[4]、2018年には動物用のソムノペンチル注射液の終売がアナウンスされ、2020年4月1日現在、ペントバルビタールナトリウムの粉末試薬を入手できるものの医薬品としてペントバルビタール注射液を入手することはできなくなった。

2. ペントバルビタールの代替薬について

2018年のソムノペンチル注射液の終売告知時点で筆者の一人である樅木は、国立大学法人動物実験施設協議会（国動協）中型動物委員会を委員長として主宰していた。この委員会の所掌範囲は、ウサギ、イヌ、ブタ等の家畜をはじめ、マカク属のサルやコモンマーモセットといった実験動物として用いられる霊長類に関する情報収集等である。その委員会において霊長類を取り扱っている動物実験施設に所属する委員からソムノペンチル注射液終売後の霊長類の安楽死処置について問題の提起がなされた。そこで、ペントバルビタールを用いた安楽死処置に代わる代替方法の情報を集めるために国動協会員施設向けに「ソムノペンチル終売後の安楽死方法について」と題したアンケートを2019年1～2月にかけて実施した[5]。

このアンケートでは、超短時間作動型バルビツレートであるチオペンタール及びチアミラールをペントバルビタールの代替薬として使用することを検討しているとの回答が有効回答の60%程度に認められた。これはおそらく獣医学教育においてペントバルビタールに並んでこれらのバルビツレートが採り上げられ、現場の獣医師にとって馴染みがあったことによると考えられる。一方で、獣医医療現場等でチオペンタール及びチアミラールを安楽死薬として用いたことのある経験者からは、これらの薬物では個体間での生体応答にばらつきが見られるので他の化学薬剤を使った方法、又は物理的方法との併用が必要であるとの意見も寄せられた。いずれにせよ、これら超短時間作動型バルビツレートを用いた実験動物の安楽死処置に関する情報が少なく、このアンケートからはこれらの薬剤を安楽死処置におけるペントバルビタールの代替薬と推奨できるか否かについて結論を出せなかった。

このような経緯に加え、中型動物に限らずマウス・ラットを含むほぼすべての動物を用いた動物実験の実施上、バルビツレートを用いた安楽死処置が必要であること、粉末試薬からの自己調整によって作製された薬溶液では溶液中の添加物のコントロールがなされていない等の理

由で実験動物福祉の観点からその使用の是非については議論されていること、及び向精神薬として管理しなければならない試薬から調整した薬溶液をストックして使用する場合における管理上の問題点が考えられるので、我々は、医薬品として市販されているセコバルビタールに着目、これがペントバルビタールの代替薬となりうるのかを検討することにした。

3. セコバルビタールについて

バルビツレートは、表1に示したように尿素に脂肪族ジカルボン酸が結合したピリミジン構造を持つ複素環式化合物を基本骨格とした化合物群である[2]。基本骨格に含まれる尿素由来構造中の酸素原子の硫黄原子への置換、又は炭素原子に結合する官能基の違いで多く派生物が作られている。これらは作用持続時間によって超短時間作動型、短時間作動型、中時間作動型、長時間作動型に大きく分類され、超短時間作動型と短時間作動型に分類される全身麻酔や麻酔導入に用いられるバルビツレートが実験動物の安楽死処置にも用いることが可能であるとされている[1, 3]。日本では、ペントバルビタールを除くと超短時間作動型のチオペンタールとチアミラール、並びに短時間作動型のセコバルビタールの注射液が、それぞれラボナール、イソゾール、アイオナールの商品名で市販されている。

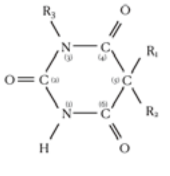
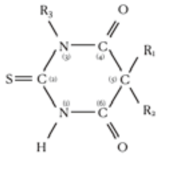
ペントバルビタールを含むこれらのバルビツレートは化学構造的によく似ており、チオペンタールとペントバルビタール、チアミラールとセコバルビタールが互いにそれぞれチオバルビツレートとオキシバルビツレートのアナローグの関係にある。これからセコバルビタールは、チオペンタールに対してチアミラールがそうであるようにペントバルビタールより強い麻酔作用と薬効の早期発動性を示すとともに、オキシバルビツレートがもつ化学的安定性が与えられた化合物であると推測できる。なお、セコバルビタールは米国において人の尊厳死にも用いられているが[6]、我々が調べた限りにおいて、実験動物の安楽死に使うことができるバルビツレートとされていること[1]以外の安楽死処置に関する情報をほとんど見いだすことができなかった。

4. セコバルビタールならびにチアミラールの安楽死処置への適用可否についての検討

本検討では、1998年に薬価が大幅に引き上げられたチオペンタールについて薬剤価格に加え、チアミラールと比較して安楽死処置に用いる動機となる点が見出せなかったので検討から除外し、ペントバルビタール、セコバルビタール及びチアミラールを投与したときのラットの生体応答を以下の方法で取得、これら生体情報等を比較した。

この比較実験では、体重360～550gのオスのWistarラットを用いた。最初に、ラットをランダムに5匹ずつ3群にグループに分け、2～3%イソフルランの吸入により安定した全身麻酔下に置き、右側総頸動脈を剖出、剖出部より左心室内へ向けてカニューレを挿入した。カニューレに血圧測定用の圧トランスデューサーを接続することにより動脈血圧を測定した。また呼吸数を測定するためラットを体動測定用の圧トランスデューサーの上に静置し、呼吸に伴う体動を測定、この値から呼吸数を算出した。心電図用電極を左右前肢および左後肢に設置、右後肢端には光学パルストランスデューサーを装着し、心電図並

表1. ペントバルビタール, セコバルビタール, チオペンタール, チアミラールの比較

物質名	基本骨格	作動性	R_1官能基	R_2官能基	R_3官能基	注射液の添加物[4, 7]
ペントバルビタール		短時間型	ethyl	1-methyl-butyl	-H	プロピレングリコール, エタノール等
セコバルビタール		短時間型	allyl	1-methyl-butyl	-H	添加物なし
チオペンタール		超短時間型	ethyl	1-methyl-butyl	-H	炭酸ナトリウム等
チアミラール		超短時間型	allyl	1-methyl-butyl	-H	炭酸ナトリウム等

びに経皮的動脈血酸素飽和度(SpO_2)を測定した。これらの生体情報はPowerLabシステム(ADInstruments社)を用いて経時的に記録した。なお、確実にバルビツレートを腹腔内へ投与するために、留置針を経皮的に腹腔内に穿刺、これを留置することにより投薬ルートを確保した。測定は図1に示した手順で実施した。すなわち、測定および投与の準備を完了した後、動脈血圧の安定化を確認、その後、イソフルランの供給を停止した。イソフルラン供給停止後の血圧上昇を確認、直後に投与部位の確認のための墨汁を混和したバルビツレート注射液の投与を開始した。用量は、予備実験とセコバルビタール及びチアミラールの医薬品インタビューフォームからの情報[8, 9]を参考にラットにおけるペントバルビタールの安楽死用量である150 mg/kgに合わせた。

ペントバルビタールでは、投与2分以内に血圧および心拍数の低下が始まり、次いで呼吸数の低下が起こった。その後、深く不規則な呼吸が出現、SpO_2は検出限界の70%以下となり、10～16分後(平均11分53秒 ± 2分17秒)に呼吸が停止した(図2)。呼吸停止後には心拍数も低下、血圧安定時の心拍数の20%レベルになる徐脈出現までの所要時間は、15分9秒 ± 2分43秒であった。その後、心拍数はさらに低下し、10分程度経過後、心電図からQRS波が消失した。一方、心電図のQRS波が消失せずに、30分以上継続する個体も観察される場合があったので、安楽死処置の死亡判定における心拍数の確認は無意味ではないが、実地レベルでの目安としては用い難い印象を与えた。セコバルビタールもペントバルビタールと同様の経過を辿って死に至るが、その薬効作用が強いために呼吸停止までと20%レベルの徐脈出現までの所要時間は、それぞれ7分55秒 ± 56秒、12分24秒 ± 2分5秒とペントバルビタールに比べて短時間であった。しかし、心電図からのQRS波の消失は呼吸停止後約10分以内には出現しなかった。

一方、チアミラールの呼吸停止までの所要時間は平均8分33秒 ± 3分5秒で、平均値こそセコバルビタールのそれに近似したレベルであったが、20%レベルの徐脈出現までの所要時間は14分31秒 ± 3分6秒とペントバルビタールと同レベルであった。チアミラールでは個体間での生体応答にばらつきが見られ、呼吸停止1分以上経過後に心肺機能が回復したような兆候を示す場合や、喘ぎ呼吸様の体動を示す例が観察された(図1～3)。これは先のアンケート回答にあった安楽死における超短時間作動型バルビツレートに関する意見と一致する。しかし、いずれの個体も最終的には追加処置なく死に至っているので、少なくともラットの安楽死処置では、チアミラールを用いることはできると思われる。一方で、動物が痛みを感じていると誤解する要因となりうる想定外の体動等は、安楽死処置に慣れていない処置者にとって心理的な負担となる可能性が考えられ、また、何よりも見方によっては実施している安楽死処置について誤解を生じさせる可能性も十分に考えられるので、本剤を用いる安楽死処置では追加作業の準備と合わせ、作業実施時に特別に注意を払っておく必要がある。ちなみに、このような体動は、本検討中においてペントバルビタールおよびセコバルビタールを用いた場合には観察されなかった。

5. まとめ

以上の結果からペントバルビタールの代替薬としてチアミ

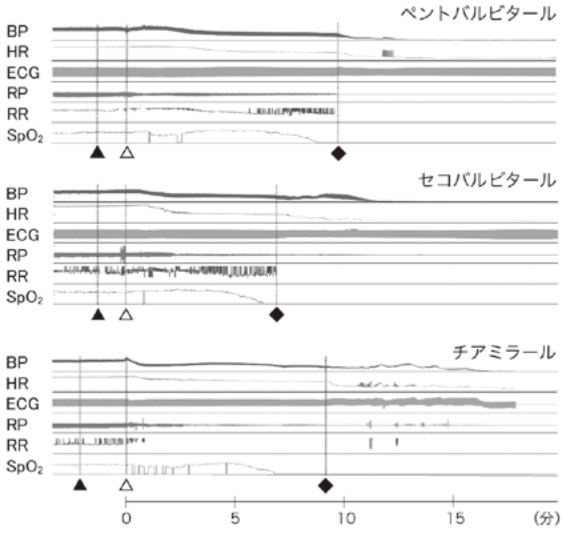


図1. バルビツレートによる安楽死処置時の生体情報の推移
BP：血圧, HR：心拍数, ECG：心電図, RP：呼吸圧, RR：呼吸数, SpO_2：経皮的動脈血酸素飽和度
▲：イソフルラン供給停止, △：バルビツレート投与, ◆：呼吸停止

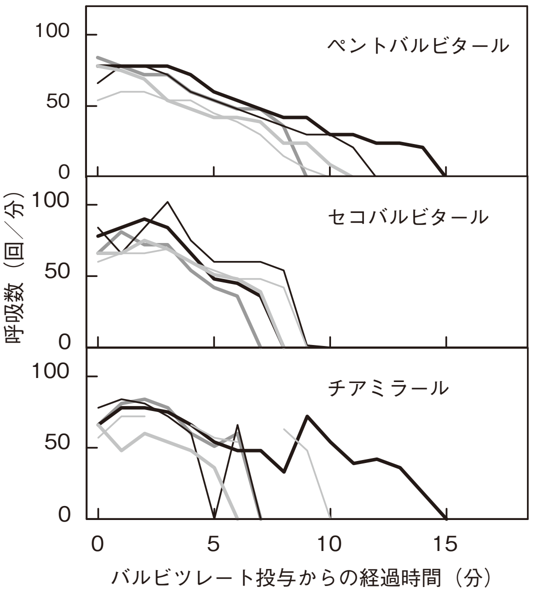


図2. 三種類のバルビツレートを用いた時の安楽死処置における呼吸数変化

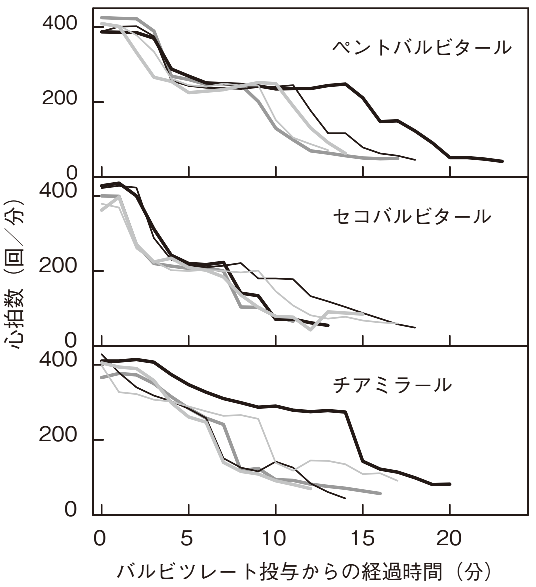


図3. 三種類のバルビツレートを用いた安楽死処置における心拍数変化

ラール、セコバルビタール両薬剤とも実験動物の安楽死処置に使用することはできると結論できる。しかし、チアミラールは向精神薬として規制を受けていないという利点を持つが、化学的安定性に乏しく基本的に要時調整が必要であること[8]、および動物の状態をコントロールし難いといったペントバルビタールにはない特性を示す薬剤である（図1、図2）。よって、手慣れた処置者がこの薬剤の特性を理解した上で安楽死処置に用いる必要がある。一方、セコバルビタールはペントバルビタールに非常によく似た作用特性を示すのみならず、麻酔作用はより強力であることから個体間のばらつきもペントバルビタール使用時に比べても比較的抑えられ、動物の状態をコントロールしやすい印象を与える（図2、図3）。また、薬効の早期発動性という特性から処置時間の短縮化も可能である。化学構造的にもペントバルビタールに非常に類似（表1)、代謝されても似たような化合物が残余することが予想されるので、これまでの実験結果との整合性の確保の面からも有利である。さらに、セコバルビタール注射液にはペントバルビタール注射液のような添加物が含まれていないので[4]、これら添加物の影響も実験結果から排除することも可能となる。したがって、通常市場流通下において3年間安定であるという薬剤の保存性[9]を加味した上での価格面とセコバルビタールが麻薬及び向精神薬取締法において第1種向精神薬に分類されていることによる管理面について折り合いがつけば、セコバルビタールはペントバルビタールの代替安楽死薬の第一候補として強く推奨することができる。なお、我が国では製造や輸出入に関わらない教育及び学術研究の目的で使用する場合には、セコバルビタールをペントバルビタールが分類されている第2種向精神薬と同様の取り扱うことができるとされている。

さて、以上の結論の元となった実験結果は、実験手技の都合上、麻酔深度第3期第3相のいわゆる外科的麻酔深度からスタートしての検討であった。そこで、参考例として無処置のラットをペントバルビタールとセコバルビタールで安楽死処置したときの経過例を雌雄1例ずつであるが表2に示す。すなわち、ペントバルビタールでは、薬剤投与90秒ほどで不動化、4～5分後に引っ張り試験での無応答化、15～16分後に呼吸停止は認められるが、セコバルビタールでは60秒ほどで不動化がおこり、引っ張り試験での無応答化は約3分後に見られる。呼吸の停止は5～6分後に認められ、図1とほぼ同じような結果となった。いずれの場合も性差は認められなかった。したがって、図1からも示唆されるように呼吸停止から4～5分ほどのマージンを確保しておけば、この間にほぼ不可逆的な中枢神経系の抑制が起こっていると推測できる。すな

表2. Wistarラットを用いた安楽死処置例

	ペントバルビタール		セコバルビタール	
性別	♂	♀	♂	♀
体重	588.4g	302.0g	560.7g	318g
不動化	1分10秒	1分20秒	50秒	60秒
正向反射消失	1分45秒	1分40秒	1分20秒	1分20秒
後肢引っ張り試験の無応答化	5分	4分30秒	3分15秒	3分
呼吸停止	16分15秒	14分20秒	5分20秒	5分
呼吸停止後の体動	なし	なし	なし	なし

わち、セコバルビタールを用いたラットの安楽死では、呼吸停止とチアノーゼ状態にあること確認すれば、仮に心拍動があったとしても呼吸停止からのマージンとなる時間経過をもって死亡と判定することができる。

本稿で紹介した動物実験（承認番号OKU-2018937及びOKU-2018938）は、岡山大学動物実験規則に基づき実施された。

Reference

[1] Andrews, E.J., Bennett, B. T., Clark, J. D., Houpt, K. A., Pascoe, P. J., Robinson, G. W., Boyce, J.R. Euthanasia., in “Lumb & Jones’ Veterinary Anesthesia 3rd ed.” Thurmon, J.C., Tranquilli, W.J., Beneson, G. J.eds., Williams & Wilkins, Maryland, 1996, 862–882.

[2] Lumbs, W. V. & Jones, E. W., Injectable Anethetics, in “Lumb & Jones’ Veterinary Anesthesia 3rd ed.” Thurmon, J.C., Tranquilli, W.J., Beneson, G. J.eds., Williams & Wilkins, Maryland, 1996, 210–240.

[3] The AVMA Panel on Euthanasia, Methods of Euthanasia, in “AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition.” The AVMA Panel on Euthanasia eds., American Veterinary Medical Association, Illinois, 2020, 22–55.

[4] 公益社団法人日本麻酔学会医薬品ガイドライン改定ワーキンググループ，催眠鎮静剤，麻酔薬および麻酔関連薬使用ガイドライン第3版，公益社団法人日本麻酔学会, 2018, 5–37

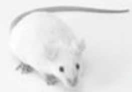
[5] 国立大学法人動物実験施設協議会2018―2019年中型動物委員会，ソムノペンチル終売後の中型動物の安楽死法アンケート（国動協内部資料）, 2019.

[6] Oregon Health Authority, Oregon’s Death with Dignity Act 2013 Report, 2014.

[7] 公益社団法人日本麻酔学会医薬品ガイドライン改定ワーキンググループ，静脈関連薬，麻酔薬および麻酔関連薬使用ガイドライン第3版，公益社団法人日本麻酔学会, 2018, 86–98.

[8] 日医工株式会社，イソゾール注射液0.5ｇ医薬品インタビューフォーム第5版, 2018.

[9] 日医工株式会社，注射用アイオナール・ナトリウム（0.2）医薬品インタビューフォーム第10版, 2020.


貴重なデータを保持した実験動物を
安全・確実・清潔に全国へお届けします。

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

お客様の多彩なニーズにお応えできる車両をご用意

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

マウス・ラット輸送箱
滅菌した輸送箱を事前にお届け致します。
サル輸送ケージ
特定外来生物の飼養等の許可を受けているケージをご用意しております。
ブタ用荷台柵
ケージに入らないブタ・遺伝子改変ブタにご対応致します。

最大 1 億円の車両保険
保冷装置、温度調節機などの破損、故障の際に運送中のものが壊れたり、死んでしまった場合は補償になります。
万が一動物輸送中に冷蔵機が故障した場合の対処は菱重ｺｰﾙﾄﾞﾁｪｰﾝの全国のロードサービスで 24 時間 365 日対応します。

Kuzuu Vector Science Inc.
~Siccus imperium transportation of ago bestia pro medical~
有限会社葛生運送　メディカルバイオ・アニマル輸送部
千葉県成田市新田 280-1
TEL 0476-73-2403
FAX0476-73-2419
葛生運送
http://www.kuzuu.transport.com
info@kuzuu.transport.com

私の研究

動物園動物への遺伝資源保全に向けた橋渡し研究とマンモス（古生物）への応用

近畿大学　先端技術総合研究所
安齋　政幸

1. はじめに

突然ですが、皆さんは動植物園には行ったことはありますか？

我が国には動物園89園、水族館62施設が「（公社）動物園水族館協会」へ加盟しており、「種の保存」・「教育・環境教育」・「調査・研究」・「レクリエーション」4つの役割を目標として、来場者の期待に応える機関として多くの動物種および個体群が管理されている(1)。特に2012年より新たに導入されたJAZA Collection Plan（JCP）では、動物園水族館協会の有機的な連携のもと、動物の繁殖と遺伝資源の保存に日本の動物園と水族館が一丸となって、繁殖の効率化に伴う動物の収集や繁殖スペースの改善、獣医療施設の拡充などの取組みが開始されている。一方で、この動植物たちの資源としての衰退と地球環境の悪化が懸念されており、長い地球の歴史のなかでは、生物の「誕生・繁栄・衰退・絶滅」ということが数多く何度も繰り返されている。これからの時代、現存する動物から遺伝形質の変化や繁殖効率の変化を損なわせることなく積極的に保存および保全とすること、そして、動物の絶滅の原因とは何なのか。その歴史を探るとで、将来にわたる生態と環境さらには個体の生理と進化を探索ことも必要なのかもしれません。

2. 飼育下動物を使った遺伝資源保存の研究～鳥類の実施例から学ぶ～

遺伝資源の保存方法としては、野生動物の生息域内での生息数の確保といった「域内保全」が望ましいが、我が国においては住民の生活への配慮などの観点から、生息地を指定・保護することが難しいのが現状である。生息地での保存が困難な場合には、動物園や水族館などの飼育下繁殖施設、繁殖施設などによる「生息域外保全」が試みられている。しかしながら、動物園や水族館における遺伝資源の保全として、国内で150以上の施設において大小を問わず約6,000種以上にのぼる動物種が飼育されているなかで、生体による遺伝資源の保存のための研究開発には、特定の機関のみで進められているのが現状であり、動物園間において自然繁殖技術にも複数の要因が重なることで障壁が生じることもある（図1）。これらの問題を解決するための配偶子や初期胚の凍結保存、人工授精や胚移植による様々な遺伝資源の保存法が開発されている。しかし、季節性による生殖細胞の成熟や加齢とともに配偶子回収の困難な場合に遭遇することも珍しくなく、そのリスクや時間と費

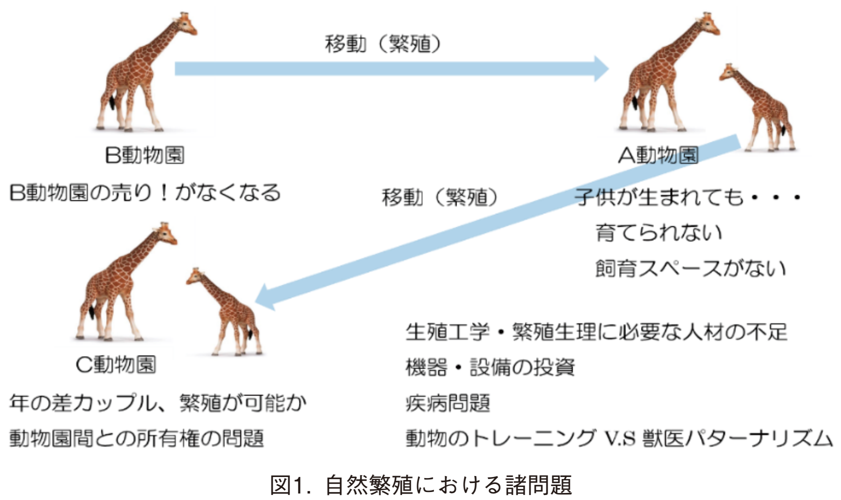


図1. 自然繁殖における諸問題

図2. マッサージによる射出精液の採取

用を要するという問題も考察されている[2,3]。

一例として、和歌山アドベンチャーワールドの協力を得て、国内有数の飼育規模を誇るキングペンギン（*Aptenodytes patagonicus*）を例に解説する。ペンギン目における国内機関での人工繁殖の成功例は、射出精液や冷蔵保存精子を用いてミナミイワトビペンギンなどが成功している。世界的に見てもまだ4機関で成功しているにすぎない。著者らのグループでは、ハズバンダリートレーニングによりマッサージ法で回収した射出精液を希釈して運動性を確認している（図2）。しかし、鳥類は放卵直後まで受精率が低いとされており、射出精液を精子貯留腺にて長時間運動性を保持した状態で待機する独自のシステムがある。そこで、精液希釈液の組成を見直し浸透圧を変更した独自の希釈液を調整した。ハズバンダリートレーニングが可能になった個体において、図3に示す通り夾雑物を取り除いた精液を人工授精に用いることで今年、国内2例目となるキングペンギンの産児獲得に成功した（https://www.aws-s.com/pressrelease/pdf/200302.pdf）。

3. クローン技術を駆使して動物園動物・絶滅動物を研究する

動物が生理的寿命を迎えると、解剖などによる所見を終え、一部の組織は剥製標本や骨格標本として回収されるものの、その殆どは、ネズミでもゾウでも等しく廃棄物として処理される場合が多い。

筋肉の源となる筋衛星細胞は活性化されると、その後、筋芽細胞 → 筋細胞 → 筋管細胞へと分化し、最終的に多核化した細胞として遺伝情報を保存したまま一生を終える（図4）。動物園動物や野生動物から試料を採集する場合、高齢化による生殖細胞の採取が困難になる個体あるいは死後、自己融解による生殖細胞の採取が不可能になる場合がある。この場合、代替手段としてより多くの組織の回収が可能である筋肉組織は、初代培養による各培養細胞の樹立も可能である。さらに、死後動物を活用することで直接的な遺伝情報として筋肉組織から体細胞核を取り出し、個体再生に繋がる遺伝情報だけでなく生物学的特性も得られることを意味している。

著者らは、この新たな遺伝資源を回収する試みとして、筋肉組織を用いた遺伝資源保存の検討を開始した。まず、筋肉組織から網羅的データの定量的な情報取得を目的に、アジアゾウとケープハイラックスの筋肉組織を用いて、Triple TOF LC/MS/MSと配列データベースを利用してタンパク質同定を検討したところ、いずれも50種以上の動物種との類似性を認めた。さらに、同定されたタンパク質は、先行解析で最も多く登録されているアフリカゾウと比較した結果、アジアゾウ50%、ケープハイラックス15%のタンパク質が一致した（図5）。さらに、興味深いことにマンモスとも類似性を示し、既に絶滅した動物組織においても生物資源情報が得られることを意味した[5]。

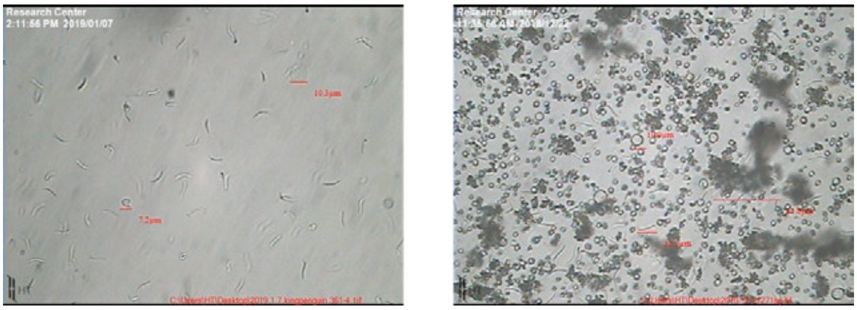


図3. ペンギン類射出精液の観察（左：夾雑物少ない精液 右：夾雑物多い精液）

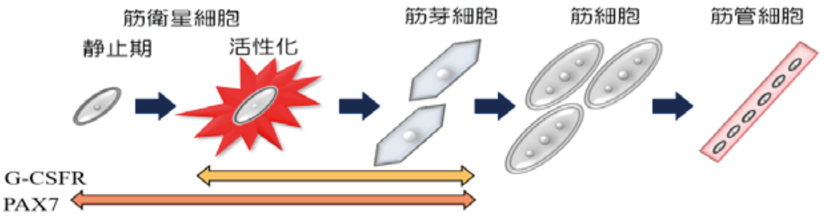


図4. 筋衛星細胞からの筋肉形成（文献4を改変）

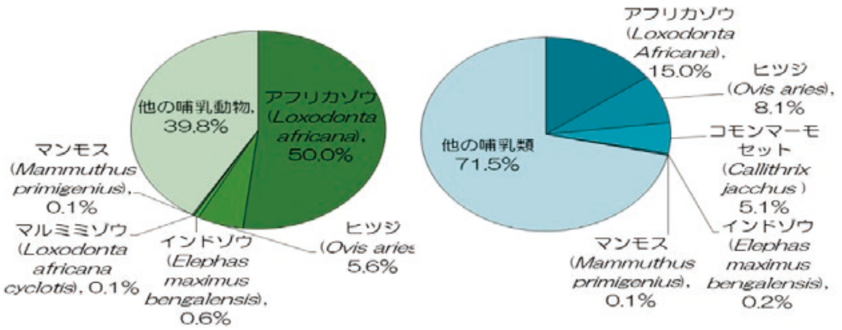


図5. 同定されたタンパク質のBlast検索結果（動物種選定）
左：アジアゾウ 右：ケープハイラックス（安齋ら、2017より引用）

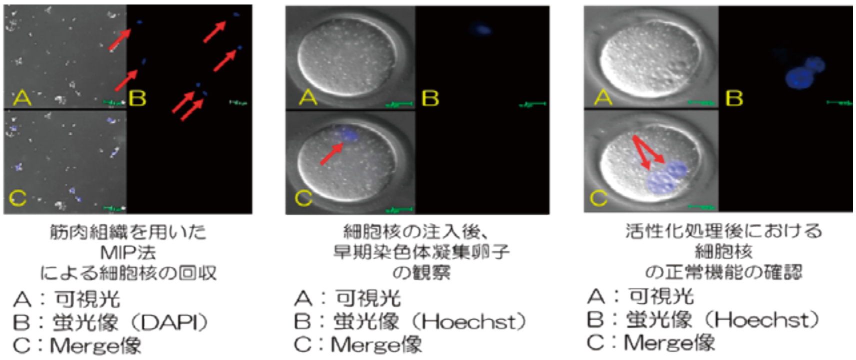


図6. アジアゾウ筋組織から回収した体細胞核を用いた異種間クローン技術の一例
（安齋ら、2017より引用）

図7. YUKAマンモス（加藤撮影 原図）

筋肉組織の有効利用を目的に、特に生理的寿命を終えた動物個体における組織を用いて筋肉組織内にある体細胞核の機能は「どのような生物学的特性を維持しているのか？」。Greenらはウシの胎児由来筋肉組織塊から筋管細胞を取り出して、体細胞クローン技術によって作成したクローン胚あるいは筋肉組織から線維芽細胞を作成して得られたクローン胚は、胚盤胞までの発生には悪い影響はないことを報告している[(6)]。これは、死体動物や絶滅動物からクローン技術を用いることで生物学的特性を調べる突破口となると考えられている。著者らも、回収した体細胞核の機能を調べるためアジアゾウ筋肉由来体細胞核をマウス卵子へ体細胞核移植をおこなったところ、体細胞核には再生する機能を有していることを確認できた（図6）。では、既に絶滅した動物の生物学的特性は現代において機能するのか。同様に著者らの研究グループでは、2010年に発見され2013年に近畿大学へ提供された約2万8千年前に生存していたユカギルマンモス（図7）の組織を用いて生物学的特性を調べた[(7)]。

前述と同様にタンパク質の質量分析をおこなったところ、これまでに登録されていた126種類を大幅に上回る869種類のたんぱく質を同定することに成功した。さらに、このタンパク質のデータから核内のヒストンのタンパク質が多く含まれていることが特定され、極度に脱水された状態の筋肉組織でも細胞核が存在する可能性を示した。次に、マンモス由来細胞核がマウスの卵子内でどのような活性を示すかを検証するため、筋肉組織から体細胞核を取り出し予め蛍光プローブを注入したマウス未受精卵へ体細胞核移植をおこない、卵子細胞質内で起こっている現象を生きたまま可視化できる「ライブセルイメージング」技術にて卵子を観察した（図8）。その結果、マウス卵子に移植したマンモス由来細胞核への「ヒストンH2B」が取り込まれ、その注入核の周辺では、紡錘

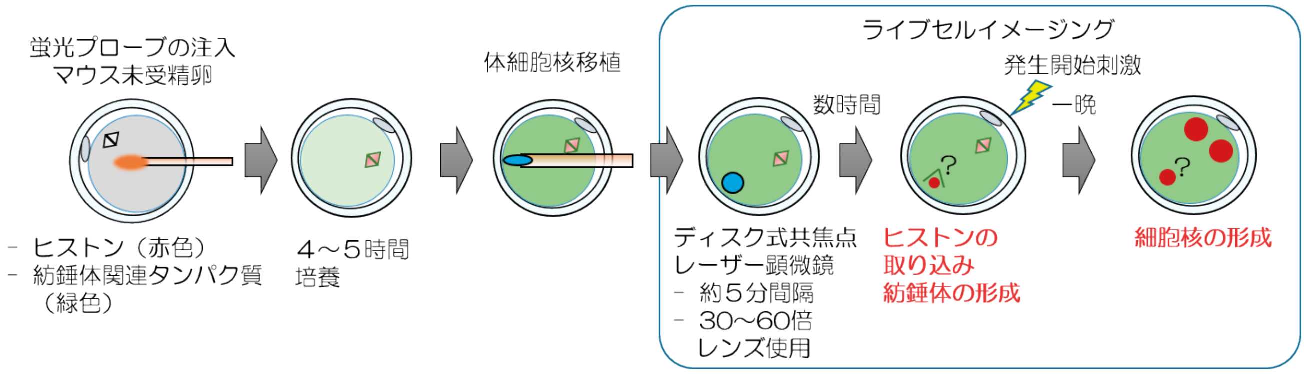


図8. 体細胞核移植とライブセルイメージング（Yamagata *et al*.、2019を改変）

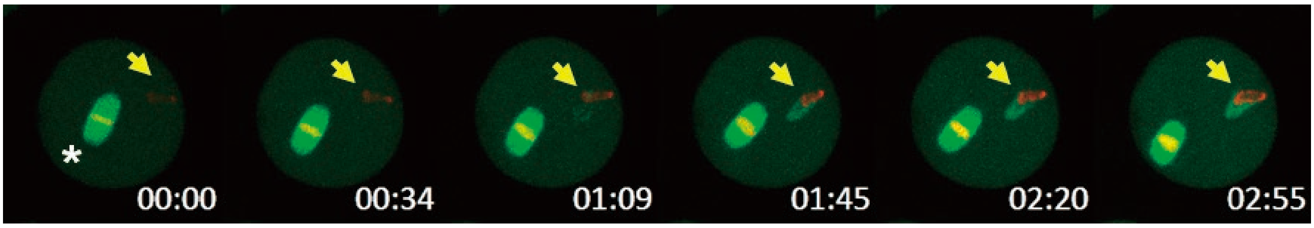


図9. マンモス由来細胞核の注入後ヒストンの取り込みと紡錘体の形成（Yamagata *et al*., 2019を引用）
赤色：細胞核 緑色：紡錘体 矢印は注入マンモス由来核 ☆はマウス卵子由来核

体が形成され、細胞分裂の兆候を示す初めての現象を捉えることに成功した（図9）。

4. おわりに

現在の生物が絶滅するするスピードは加速度的であると言われている。恐竜の生きていた時代ではこの地球上で1年間に絶滅する種は殆どなく繁栄していた。ところが現代では4万種以上が危機に曝されている。例えば、著者らのグループでは絶滅したマンモスの生物学的特性の研究を開始して20年以上が経過して、ようやく1つの生物情報のキーワドの一端を見たに過ぎない。これからも多くの研究を重ねながら日進月歩の高度な周辺技術と共有化により、これまでに無いような「研究する動物園」や既に絶滅した「マンモス」に代表されるような古生物への応用研究が期待されることでしょう。

謝辞

本研究に関して、ご協力を頂きました、近畿大学 山縣一夫先生、永井宏平先生、豊橋総合動植物公園 高見一利先生、宇部市ときわ動物園 宮下実先生、アドベンチャーワールドAWS動物病院 尾崎美樹先生、安達那央子先生に感謝申し上げます。

参考文献

1. 堀秀正. (2016) 動物園の個体群管理. どうぶつと動物園. 68, 12-17.
2. 大沼学. (2014) 絶滅危惧種の遺伝資源の保存. 獣医畜産新報. 67, 35-44.
3. 佐藤喜和. (2004) ヘアトラップによる体毛回収とDNA個体識別を用いたクマ類の個体数推定の現状と課題. 哺乳類科学. 44, 91-96.
4. P.S Zammit *et al.* (2006) The skeletal muscle cell: The stem cell that came in from the cold. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 54, 1117-1191.
5. 安齋政幸ら. (2017) 動物園動物由来組織を用いた保存研究 ～動物園・水族館との知の共有に向けて～. 近畿大学先端技術総合研究所紀要. 22, 25-37.
6. Green A.L *et al.* (2007) Cattle cloned from increasingly differentiated muscle cells. Biology. Reproduction. 77, 395–406.
7. Yamagata K *et al.* (2019) Sings of biological activities of 28,000-year-old mammoth nuclei in mouse oocytes visualized by live-cell imaging. Scientific Reports. 9, 4050.

（日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照）

私の研究

ゲノム編集による肉厚マダイの生産

近畿大学 水産研究所・教授
家戸 敬太郎

はじめに

マダイは海水養殖魚の中で生産量がブリに次いで2番目に多い重要な養殖魚種であり、人工種苗生産技術が古くから確立されておりその生産尾数が最も多く、海水養殖魚の中では最も育種が進んでいる魚である。近畿大学水産研究所では、1960年代前半から成長の早い養殖用マダイの選抜育種による品種改良に着手し、現在では10世代を超える選抜を経た成長の早い品種が生み出されている[1,2]。用いた手法は、集団選抜と呼ばれるもので、養殖集団の中から成長の早い複数個体を選抜して次世代を生産するための親とするものである。これにより養殖期間が約半分に短縮されるという大きな効果が得られているが、その効果が現れ始めたのは開始から15年ほど経過した3世代目頃からであり、さらに顕著な効果が得られるようになったのは20年以上経過した5世代目以降で(図1)、長い時間を要するのが問題点であった。

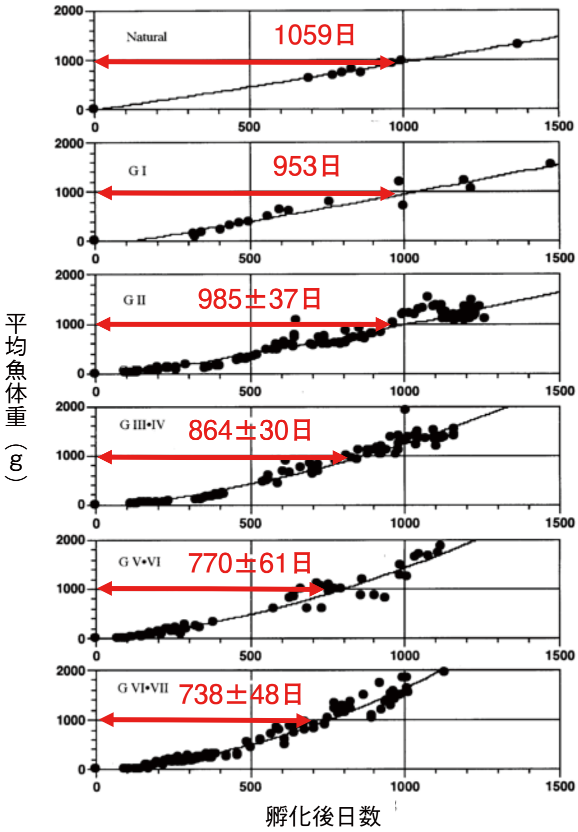


図1．選抜育種マダイの継代に伴う成長の変化

そこで我々は、より短期間で育種効果が得られることを期待してマダイのゲノム編集に2013年より取り組んでいる。本稿ではマダイを材料にしてゲノム編集によって可食部の割合を増加させた「肉厚マダイ」を作出した方法とその成果、さらに養殖産業への応用の展望について述べる。

1. マダイへのゲノム編集

1）マダイの親魚養成、採卵・採精および人工授精

ゲノム編集や遺伝子導入で行われる魚卵への注射(先端を可能な限り細く加工したガラス針を用いたマイクロインジェクション)が卵に及ぼすダメージは小さくない。従って、これらの実験操作を成功させる鍵は卵質にあるといっても過言ではない。我々は無処理である場合の孵化率が90%以上のマダイの良質卵を実験に用いている。この卵にマイクロインジェクションすることによって孵化率は約半分の50%程度まで低下する。無処理の孵化率が50%程度である卵にマイクロインジェクションをすることで25%程度が孵化するかといえば決してそうではなく、孵化率は0%近くにまで低下することが多い。

採卵に用いる親魚群は海面の小割式網イケスで飼育している。和歌山県白浜町の近畿大学水産研究所白浜実験場では、産卵の開始は3月下旬、終了は6月上旬で夕刻に産卵する。産卵時刻に網イケスから腹部が膨らんだ産卵間近と思われる雌個体を取り上げて腹部を圧迫して採卵する。良質卵が得られると雄個体を取り上げて採精する。採卵に比べて採精

の方が容易で、ほとんどの雄個体から採精可能である。

未受精卵に精液を加えて混合する。この時点では受精はしないが、ここに海水を加えて混ぜると精子が運動を開始して受精する。未受精卵は採卵後2時間程度までであれば人工授精可能であるが、マイクロインジェクションによる影響が時間の経過とともに大きくなって生残率は低下する傾向にある[3]。

2)マイクロインジェクション

人工授精直後の卵は卵膜の硬化が進んでいないので柔らかく、ピペット操作などによって傷ついてやがて死んでしまうので授精後1分間は静置する。1分が経過すると茶こしなどのネット内で海水で卵を洗浄して余分な精液や卵巣腔液などを洗い流し、Leibovitz's L-15培養液あるいは生理食塩水である岩松溶液に浸漬する[3]。L-15あるいは岩松溶液とともにアクリルプレート上の溝にピペットを使って並べる(図2)。L-15あるいは岩松溶液を使う理由は2つあり、マダイの卵は分離浮性卵なので海水中では表面に浮上するため、アクリルプレートに並べる際に時間がかかることと、ガラス針を突き刺すことによるダメージがL-15あるいは岩松溶液中では軽減されるからである[3]。実体顕微鏡で見ながら1粒ずつインジェクション操作を行う。人工授精後、5～10分経過すると卵膜の硬化が進んでガラス針が刺さりにくくなるため、5分毎に人工授精を繰り返して、硬化する前の卵へのインジェクションを繰り返す。この方法で、1人当たり1日に1000～3000粒の卵へのマイクロインジェクションが可能である。

3)CRISPR/Cas9

我々はマダイのゲノム編集にCRISPR/Cas9を用いている[4]。マダイは魚体重に占める可食部の割合が4割以下と少なく、それが6割以上あるブリに比べて加工した場合のコストが高くなるという欠点がある。そこで、体内で筋肉が増えすぎるのを抑える働きをしているミオスタチン(*mstn*)という遺伝子に着目した。この*mstn*遺伝子の突然変異体が多くの動物で知られており、肉牛ではベルジアンブルー種やピエモンテ種、国内でも短角牛の一部で*mstn*遺伝子が機能しておらず、その結果「ダブルマッスル」と呼ばれて通常の牛よりも筋肉量が圧倒的に多いことが知られている[5]。魚類もこの*mstn*遺伝子を有しており、人為的に*mstn*遺伝子を機能欠損させたメダカにおいて筋肉量が増大することが報告されている[6]。マダイにおいてこの遺伝子を機能欠損させることができれば、可食部割合を増加させることが期待できる。

マダイの*mstn*遺伝子の配列を調べ、CRISPR/Cas9システムで使用するsgRNAを設計し合成した。マダイの*mstn*遺伝子の翻訳領域の後半部分にミオスタチンタンパク質の機能ドメインである重要な配列が存在するので、その配列の前半部分2箇所にsgRNAを設計した。別に合成したCas9 RNAと2種類のsgRNA(sgRNA1、sgRNA2)をそれぞれ混合してマダイ人工授精卵にマイクロインジェクションした。その結果、sgRNA1とCas9 RNAは966粒の卵にマイクロインジェクションし、孵化率は58.9%、52日齢の生残率は55.2%で314尾が得られた。sgRNA2とCas9 RNAは1、399粒の卵にマイクロインジェクションし、孵化率は44.9%で70日齢の生残率が30%以上であり、200尾程度が得られた。

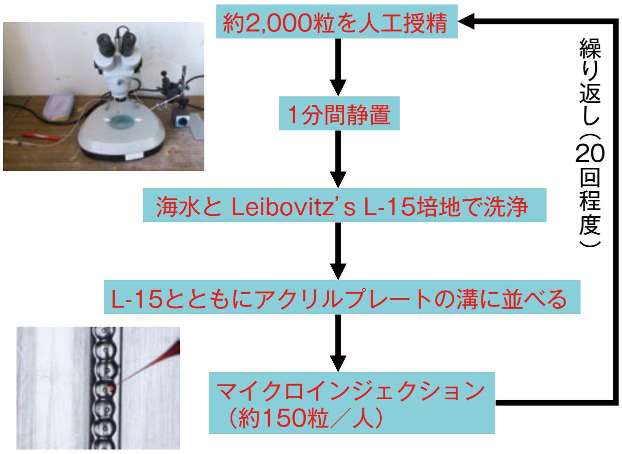


図2. マダイ受精卵へのマイクロインジェクション

2. 作出されたゲノム編集マダイ

1)ゲノム編集第一世代

sgRNAおよびCas9 RNAをマイクロインジェクションした授精卵内では、細胞分裂を繰り返しながらCRISPR/Cas9システムによるターゲット遺伝子の切断と細胞自身による修復が繰り返されることになる。やがて注入されたRNAおよびそのRNAから翻訳・生成されたCas9タンパク質は分解されて消失するが、それまでの過程でターゲット遺伝子が元通りに修復された細胞(野生型)と修復に失敗して数塩基のDNA

が変異した状態の細胞(変異型)の両方が混在する状態で発生が進む。したがって、マイクロインジェクションにより作出したゲノム編集第一世代では、野生型と変異型のターゲット遺伝子を体内でモザイク状にもった魚と、マイクロインジェクションが適切に行われなかったか、注入したRNA量が少なかったなどの理由により野生型のみをもつゲノム編集に失敗した魚が混在することになる。

そこで、孵化後5ヵ月間程度飼育した段階で腹腔内に個体識別するためのIDタグを埋め込むと同時に、鰭の一部をサンプリングして鰭からゲノムDNAを抽出した。このゲノムDNAのミオスタチン遺伝子の状態をPCR法などによって調べることで、その個体のミオスタチン遺伝子の変異の程度を知ることが可能になる。ミオスタチン遺伝子の変異を上記の方法で6ヵ月齢の段階で調べたところ、2種類のsgRNAの平均で変異が高程度であった個体は全体の42%、中程度の変異個体が10%、変異がないかその程度が低い個体が48%であった。変異が高程度であった個体をまとめて飼育し、次世代の作出に用いた。

2)ゲノム編集第二世代

上述の通り、ゲノム編集第一世代は野生型と変異型のターゲット遺伝子を体内でモザイク状にもつことになる。しかし、その第一世代同士を交配して第二世代を得ることができれば、第二世代の中には全身の全ての細胞で変異型の遺伝子をもつ魚が現れる。その理由は、第一世代が成熟して次世代を産むときに作られる配偶子(卵、精子)は、それぞれ一つの生殖細胞からなるため、その生殖細胞に変異が入っていればそのまま次世代に伝わることになり、卵と精子の両方が変異を持っている場合にはその卵と精子が受精してできた子供は全身の全ての細胞で変異をもつ個体となるためである。

ミオスタチン遺伝子をゲノム編集した高程度に変異を持ったマダイ第一世代を飼育していたところ、2歳魚となった2016年4月に水槽内で自然産卵してゲノム編集第二世代を得ることに成功した。それらのマダイを飼育して、第一世代と同様にIDタグで標識して鰭の一部をサンプリングして調べた結果、予想された通り、両親から変異の入っていないミオスタチン遺伝子を受け継いだ完全な野生型の魚(野生型)、両親のいずれか片方から変異を受け継いだヘテロ型で変異を持った魚(ヘテロ型)、両親から変異を受け継いだホモ型で変異をもった魚(ホモ型)が現れた。ホモ型で変異をもった魚(変異体)は、孵化後数ヵ月で明らかに体形が野生型の魚とは異なり、筋肉量の増大が肉眼でも容易に分かるようになった(図3)。変異体では、野生型と比べて体重に顕著な差はないが肥満度は高くなり、尾叉長は短いことが明らかになっており、筋肉量は約1.2倍に増加していた[7]。

3)ゲノム編集第三世代

ゲノム編集第二世代では、卵や精子となる生殖細胞を含む全身の細胞で同じ変異を持つことになるので、第二世代で変異のタイプを調べておけば、その子供の遺伝子型が予想できると同時に、変異を持ったマダイの量産化が可能となる。マダイは多回産卵で1日に1個体の雌が数万粒以上の卵を産むためである。我々はヘテロ型2歳魚の雌雄各1尾から得た卵と精子を人工授精し第三世代を作出た。これによって野生型、ヘテロ型およびホモ型の全きょうだい(兄弟姉妹)が得られた。上述の通り第二世代のホモ型では筋肉量が約1.2倍に増加していたが、筋肉量が増加してもその分たくさんの飼料を食べるようだと養殖コストは変わらないことになり筋肉量を増やした意味がなくなってしまう。そこで第三世代の全きょうだいの野生型稚魚とホモ型稚魚とを比較する飼育試験を実施した。その結果、ホモ型稚魚は、野生型稚魚と比べて日間摂餌率に差はなく同じように摂餌するが、摂餌した飼料を効率よく利用して野生型よりも大きく成長し、さらに摂取したタンパク質を蓄積する能力も高いことから、生産性の高い養殖魚であると考えられた(表1)[8]。現在、出荷サイズに近いより大きな魚を用いて同様の試験を実施して解析しているところである。

図3. ミオスタチン機能欠損個体(上)と通常個体(下)

表1. 野生型マダイ稚魚とミオスタチン遺伝子を機能欠損したホモ型マダイ稚魚との飼育成績の比較

		遺伝子型			
試験開始時の魚体重	(g)	野生型	41.1	±	0.2
		ホモ型	42.7	±	0.3*
試験終了時の魚体重	(g)	野生型	85.7	±	1.9
		ホモ型	94.7	±	1.0*
日間摂餌率	(%)	野生型	1.48	±	0.04
		ホモ型	1.49	±	0.04
Specific growth rate (SGR)		野生型	1.31	±	0.04
		ホモ型	1.43	±	0.03*
増重率	(%)	野生型	108.4	±	4.8
		ホモ型	122.3	±	4.3*
飼料効率	(%)	野生型	84.4	±	0.4
		ホモ型	89.9	±	2.2*
見かけのタンパク質蓄積率	(%)	野生型	26.3	±	0.1
		ホモ型	29.4	±	1.0*

平均 ± 標準偏差, n=3.
* 野生型とホモ型との間に有意差あり (Mann-Whitney's U-test, $P < 0.05$).
日間摂餌率(%)=100×総給餌量/[(*Iw*+*Fw*)/2]/飼育日数. 増重率 (%)=100×(*Fw*–*Iw*)/*Iw*
SGR＝100×(ln*Fw**–ln*Iw**)/飼育日数 *自然対数変換. 飼料効率 (%)= 100×(*Fw*–*Iw*)/総給餌量
見かけのタンパク質蓄積率=100×[(Fw×Fp－Iw×Ip)/(総給餌量×飼料タンパク質含量)]
Iw：試験開始時の総魚体重. *Fw*：試験終了時の総魚体重. *Ip*：飼育試験開始時の全魚体タンパク質含量(%). *Fp*：飼育試験終了時の全魚体タンパク質含量(%)

3. 産業への応用に向けて

上述の通り、ゲノム編集技術を海水魚の育種に応用すると、従来よりも短期間に大きな効果が得られる。ゲノム編集食品の取り扱いについての関係省庁の方針と手続が決まり、事前相談して食品としての安全性などを確認した上で、届け出ることでゲノム編集食品の流通が可能になった。しかし、ゲノム編集のような新しい技術が食品産業に応用されることに関しては、消費者には様々な受け止め方や意見があり、我々開発を行っている研究者はそれらの意見に丁寧に対応していく必要があるように思う。また、現状ではゲノム編集食品に表示義務は課されていないが、生産者および流通業者のコンセンサスを得ながら表示を徹底し、消費者自らが選択できるようにすべきではないかと著者は考えている。さらに、ゲノム編集した養殖魚の環境への影響も考慮する必要がある。現在は遺伝子組換え動物と同様に堅固な施設内で厳重な拡散防止措置を施して飼育しているが、今後は生物の遺伝的多様性を含む環境への影響を考慮しつつも、産業規模での養殖技術の運用を検討していく必要があろう。

おわりに

我々の取り組みは、最新のゲノム編集技術を養殖産業に応用しようとするわが国では初めての試みであり、世界的にも巨額の資金を使って急速に進んできた遺伝子解析とそれにより人類が得た知見を食料生産に応用しようとするものである。このような新しい技術を利用して、水産業の振興、地方創生や間近に迫っているといわれている人口増加に伴う食料問題や魚粉を始めとする飼料資源の逼迫などの解決に貢献できれば幸甚である。本研究は、中心的な役割を果たしておられる京都大学の木下政人助教、近畿大学水産研究所の鷲尾洋平助教および大学院修士課程に在籍した大濱光希氏、京都大学博士研究員であった岸本謙太博士および荻野哲也博士をはじめ、国立研究開発法人水産研究・教育機構の吉浦康寿主任研究員、国立遺伝学研究所の豊田 敦教授らとの共同研究である。皆様の精力的な研究活動に敬意と謝意を表します。

1) Murata, O., Harada, T., Miyashita, S., Izumi, K., Maeda, S., Kato, K., Kumai, H. (1996): Selective breeding for growth in red sea bream. Fish. Sci., 62: 845-849.
2) 家戸敬太郎・村田　修 (2010)：マダイの品種改良の現状と今後の展望. 養殖, 47, 34-35.
3) Kishimoto, K., Washio, Y., Murakami, Y., Katayama, T., Kuroyanagi, M., Kato, K., Yoshiura, Y., Kinoshita, K. (2019): An effective microinjection method for genome editing of marine aquaculture fish: tiger pufferfish Takifugu rubripes and red sea bream Pagrus major. Fish. Sci., 85 (1), 217–226.
4) 山本　卓 (2018). クリスパー・キャス9 (CRISPR-Cas9). ゲノム編集の基本原理と応用. 東京：裳華房, pp. 25-31.
5) 鈴木暁之・太田原健二・杉本喜憲ら (2004). 日本短角種におけるウシ筋肉肥大(Double muscling)原因遺伝子の同定と産肉性への影響. 岩手県農業研究センター研究報告, 4, 11-20.
6) Chisada, S., Okamoto, H., Taniguchi, Y., Kimori, Y., Toyoda, A., Sakaki, Y., Takeda, S., Yoshiura, Y. (2011). Myostatin-deficient medaka exhibit a double-muscling phenotype with hyperplasia and hypertrophy, which occur sequentially during post-hatch development. Dev. Biol., 359: 82-94.
7) Kishimoto, K., Washio, Y., Yoshiura, Y., Toyoda, A., Ueno, T., Fukuyama, H., Kato, K., Kinoshita, M. (2018). Production of a breed of red sea bream Pagrus major with an increase of skeletal muscle mass and reduced body length by genome editing with CRISPR/Cas9. Aquaculture 495, 415–427.
8) Ohama, M., Washio, Y., Kishimoto, K., Kinoshita, K., Kato, K. (2020). Growth performance of myostatin knockout red sea bream Pagrus major juveniles produced by genome editing with CRISPR/Cas9. Aquaculture (in press).

（日動協ホームページ、LABIO21 カラーの資料の欄を参照）

連載特集

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

― 実験動物福祉推進機関NC3Rsと代替法推進機関FRAME ―

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

1．英国3Rs研究センター（National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research：NC3Rs）[1)]

（1）NC3Rsの概要

2018年9月5日、英国3Rs研究センター（NC3Rs）を訪問し、英国における動物福祉ならびに動物実験に関する英国一般市民の見解等について、わが国の現状と比較検討しながら、意見交換および情報収集をおこなった。NC3Rsは、ロンドン市内のユーストン・ロードに面したウェルカム・トラストのギップス・ビルの中に事務所を構えている。今回は、Viki Hurst博士（実験計画担当）、Samuel Brod博士（動物福祉規範担当）、およびKasia Makowska博士（広報担当）の3名の科学者が対応してくださった（写真A）。NC3Rsの名称は、われわれには、「ARRIVE（Animals in Research：Reporting *In Vivo* Experiments）ガイドライン」を作成した機関としてよく知られている。このガイドラインは、動物実験にもとづく科学論文の再現性を向上させるために提唱されたものであり、これら論文にどのような情報を記載すべきかのチェックリストになっている。

NC3Rsは、英国議会上院の動物実験に関する専門委員会の報告書にもとづいて、2004年に設立され、動物実験における3つのR（3Rs）の理念のもと、実験動物の福祉を推進しており、英国政府から資金の提供を受けている。そして、英国内外の生命科学分野の機関と協力しながら活動している。協力機関には、大学や製薬企業のみならず、化学企業、さらには規制当局（英国内務省など）など、さまざまな機関が含まれている。

NC3Rsは、さまざまな領域において、3Rsを推進するための研究資金を提供しており、さらにさまざまな規範や規則等の改善にもかかわっている。このため、多数のガイドライン、出版物、オンライン情報源を作成し公表しており、英国実験動物学会や英国動物技術協会などの学協会とも密接に連携して活動をおこなっている。

（2）NC3Rsの動物実験／実験動物に関する適切な情報の発信

NC3Rsは、さまざまな方法を活用して有用な情報を発信している。それらの情報には、科学者や大学へのものから一般市民向けのものまでさまざまなものが含まれている。それらの多くは、NC3Rsのウェブサイト、ニュースもしくはブログ、あるいは出版物などをとおして発信されている。

ちなみにNC3Rsのウェブサイトには、「3Rsの資料（3Rs resources）」という項目があり、さまざまな有用な資料を閲覧することができる。また多くのガイドラインを作成しており、これらはすべてウェブ上で読んだりあるいはダウンロードでき、誰もが利用することができる。「ARRIVEガイドライン」もここからダウンロードすることができる。さらにビデオ教材をはじめ各種教材もあり、きわめて有用である。すべての資料を列挙することはできないが、代表的な資料をいくつか示す。

・マウスの取り扱い
・採血法

写真A　NC3Rsスタッフ（左側三人）から説明を受ける

・毒性学における3Rs
・麻酔に関するeラーニング
・安楽死処置に関するeラーニング
・遺伝子改変マウスにおける“Refinement”と“Reduction”

NC3Rsは、各機関（大学を含む）が動物実験計画書（プロジェクト）を作成する際に、3Rsの観点から助言を与えるサービスもおこなっている。場合によっては、各機関の動物実験委員会（英国においては「動物福祉・倫理審査委員会“Animal Welfare and Ethical Review Body”（AWERB）」とよばれることが多い）に参加して、直接プロジェクトに関する助言もおこなっている。またNC3Rsは、若い研究者のために研究資金を提供し、3Rsに関する研究の促進をはかっている。

(3) NC3Rsの“生命科学研究における動物の使用にかかわる責任"

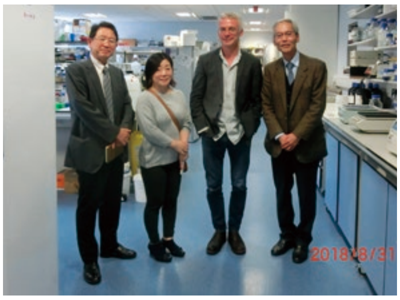
NC3Rsは、「生命科学研究における動物の使用にかかわる責任“Responsibility in the use of animals in bioscience research”」を示しているので、簡単に紹介しておきたい。国の研究資金であれ、民間の研究資金であれ、英国において動物実験を実施する場合は、このガイドラインを遵守しなければならない。

・法律「動物（科学的処置）法“Animals（Scientific Procedures）Act”（ASPA）」に従わなければならない。ASPAに規定された3つのライセンス（本報告書3（1）参照）を取得しなければならない。
・実験処置に関して法律上の疑義が生じたときは、かならず、内務省査察官の助言を求めなければならない。
・研究者のみならず、獣医師や飼育管理スタッフも動物実験の計画および実施に関する責任を有する。
・研究者は、動物実験の実施にあたって、3Rsに配慮しなければならない。また、そのことを動物実験計画書に記載しなければならない。
・研究者のみならず、獣医師や飼育管理スタッフも3Rsの推進に努めなければならない。
・動物実験委員会は、各機関において動物の使用を監督する責任を有する。動物実験委員会は、動物の福祉に悪影響が及ぼされるおそれがあるときは、そのような状況を改善しなければならない。
・ヒト以外の霊長類、イヌ、ネコ、またはウマを実験のために使用する場合は、NC3Rsのガイドライン「生命科学研究における動物の使用にかかわる責任」に従わなければならない。また、ヒト以外の霊長類を実験のために使用するときは、NC3Rsのガイドライン「霊長類の住居、ケア、および使用」に従わなければならない。
・研究者は、動物実験計画書において、無作為化および盲検化について記載しなければならない。
・必要に応じて、適切な人道的エンドポイントを定めること。
・英国以外の国と共同研究をおこなう場合においても、本ガイドラインに従わなければならない。
・動物実験がかかわる論文を投稿するときは、「ARRIVEガイドライン」に従うこと。

2. 医学実験における動物代替のための基金（Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments：FRAME）[2)]

2018年8月31日、われわれはFRAMEを訪問し、その活動などについて情報収集をおこなった。FRAMEは、ロンドンから列車に乗って2時間くらいのイングランド中部の美しい都市ノッティンガムにある。われわれは、ノッティンガム大学医学部のなかにあるFRAMEオールターナティヴ研究室にAndrew Bennett博士（研究室長、分子生物学教授）を訪ねた（写真B）。

FRAMEは、1969年に設立された慈善機関であり、国や地方自治体からの資金提供は受けていない。その資金は、すべて個人または企業などからの寄付や遺産によって賄われている。その機関名からも容易に想像することができるように、FRAMEが目的とするところは、医学研究において“Replacement”（動物を使用しない方法に置き換えること、または系統発生的により下位の動物／生物を使用すること）を推進することである。“Replacement”を推進することに特化した機関ではあるが、動物実験に反対しているわけではない。動物実験の必要性は認めつつ、“Replacement”を推進し、



写真B　Andrew Bennett博士（右から二人目）と筆者ら（FRAME研究室にて）

いつの日か動物を使用せずに医学生物学研究ができる日が来ることを望んでいる。そして若い研究者のために研究資金を提供し、3Rs（特に“Replacement”）に関する研究の促進をはかっている。われわれが訪問した翌年（2019年）7月には、設立50周年を記念したシンポジウムがノッティンガム大学にて開催された。

FRAMEは、3Rsの提唱者であるWilliam Russell博士とRex Burch博士ゆかりの場所としてよく知られている。1995年、Russellは、FRAMEに「Russell & Burchハウス」を開設した。また、Russellの死後、彼とその夫人Claire Russellの膨大な蔵書（約25、000冊）ならびに資料/文書はノッティンガム大学に寄贈され、それらをもとにして、ノッティンガム大学に「William M. S. Russell & Claire Russellアーカイブ」が設立された。

FRAMEは、実験動物を使用せずに、医学や科学の研究、試験、教育を実施するための新たな科学的な方法を開発することに焦点を当てている。現在の科学のレベルにおいては、動物の使用が必要な場合があるが、そのような場合には、FRAMEは、“Reduction”（できるかぎり使用する動物の数を少なくすること）や“Refinement”（できるかぎり苦痛を軽減すること）を支持している。またFRAMEは、その活動の一環として、学術雑誌“Alternatives to Laboratory Animals”（ATLA）（実験動物の代替）を隔月に発行している。

今回のノッティンガム訪問では、上記「Russell & Burchハウス」を訪ねることが大きな目的であったが、残念ながら財政的な理由によりすでに閉鎖され、いまはもうない。他方「William M. S. Russell & Claire Russellアーカイブ」は、現在もノッティンガム大学に存続しているが、われわれがノッティンガム大学を訪れた日は、たまたま管理担当者が不在のため視察することができなかった。「次の月曜日であれば、案内することができます」というBennett博士の好意的な申し出を受けたものの、日程の調整がつかず、残念ながら叶わなかった。

3. 英国における動物実験

(1) 動物実験実施のためのライセンス

英国で動物実験を実施するためには、「動物（科学的処置）法（ASPA）」により3種類のライセンスが必要である。すなわち、個人免許、プロジェクト免許、ならびに施設認定証である。いずれも、内務大臣によって与えられる。

個人免許は動物実験を実施する者に与えられるライセンスであり、その保有者が使用できる動物種、実施できる実験処置、実験の実施ができる施設などが規定されている。個人免許は5年ごとに更新しなければならず、18歳未満の者には与えられない。

プロジェクト免許は、実験プロジェクトの統括責任者に与えられる。この免許には、使用することができる動物種、実施することができる実験処置、実施することができる施設などが規定されている。プロジェクト免許を認可するか否かを決定する際には、プロジェクト免許に記載された研究計画の結果として生じる便益と使用する動物が被る苦痛（危害）の程度を慎重に比較検討する（危害便益分析：harm-benefit analysis）。危害便益分析においては、次の事項について考察することが重要である。

- 研究の目的が達成される見込みがあること
- 新しい知見が得られること
- 他の先行研究との関連があること
- 適切な動物モデルの選択
- 適切な実験計画
- 実験実施者の能力/適性
- 適切な施設
- 3Rsへの配慮

プロジェクト免許は、最長5年間有効である。

施設認定証は、当該動物実験施設の責任者に与えられる。認定施設以外では動物実験を実施することはできない。実験動物を繁殖や供給する施設にも、施設認定証が必要である。施設認定証には有効期限はないが、内務省の査察官は、定期的に認定施設を訪問し、当該施設認定証の条件が遵守されているかを調査する。

なお、ASPAのもとでは、保護の対象となる動物は、ヒト以外のすべての生きた脊椎動物である。また、この胎仔や幼生も、妊娠期間または孵化期間の2/3以上を経過した時点から保護の対象となる。ちなみに、わが国の動物愛護管理法では、保護対象の動物は、哺乳類、鳥類ならびに爬虫類のみである。

(2) 動物実験に対する英国一般市民の見解[3)]

英国では、一般市民（15歳以上の成人）の動物実験意識に関するアンケート調査が、1999

年以来概ね2年ごとに調査会社（Ipsos MORI）に委託されて実施されている。

全体としては、代替法のない医学研究のためであれば、約2/3（71%）の人たちが動物実験を容認している。しかし傾向分析によると、動物実験を支持する人の割合は漸減傾向にある。たとえば、2010年には、その割合は76%であったが、2014年には64%に減少し、2016年にはやや増加したものの（71%）、2010年の割合には戻っていない。

しかし、多くの人（53%）は、英国において動物実験に関する規制法（ASPA）が適切に機能していると考えており、52%の人たちは、英国の動物実験に関する規制法が厳しいものであると考えている。

一方、動物実験を全面的に禁止することを望む人の割合はそれほど多くはない（26%）ものの、動物実験そのものに関心を示す人の割合（19%）や研究者がおこなっている代替法や動物福祉向上への取り組みに対する一般市民の認知度(15%)も低下している。

さらに、2014年は79%の人たち、そして2016年は74%の人たちが代替法の推進を支持している。これらの数値は、これまでの調査結果と同等である

動物種によって、動物実験に対する一般市民の容認度に違いがみられる。たとえば、マウス、ラット、ブタを医学研究に使用することを容認する一般市民の割合は、それぞれ、47%、48%、25%であった。

一般市民の3Rsの認知度は、かなり高い。“Replacement"、“Reduction"、“Refinement" について知っていると回答した一般市民の割合は、それぞれ、71%、69%、68%であった。

科学者が実験動物に不必要な苦痛を及ぼさないよう努めていると考える一般市民は、40%である。他方、約1/3（34%）の一般市民は、科学者はそのような努力をしていないと考えている。また、動物実験が規制を受けずに実施されたり、あるいは不必要な重複実験が実施されていると考えている一般市民も少なくない（約20%）。

動物の権利擁護団体が動物実験に反対して展開している行動のなかで、一般市民が容認することができる行動は、手紙を書く、パンフレットを配布する、請願書を作成する、あるいは動物実験反対のステッカーを貼ることなどである。大部分の一般市民は、テロ行為（たとえば、手紙や自動車に爆弾を仕掛けること）、身体的暴力、所有物の破壊、いやがらせの手紙、ことばによるいやがらせなどには賛同していない。

我が国においても2017年に本科学研究費研究により一般市民の動物実験に対する意識調査が実施され、本誌に報告されているが、動物実験支持の傾向はこの英国の調査結果に類似しているので参照されたい[4)]。

4. おわりに

最近、英国においては、“Public Engagement”（PE）という用語をよく聞く。日本語には訳しにくい用語であるが、「一般市民が、行政や大学などの研究機関と共同して、公共的なことがらに積極的に関与・参加すること」という意味であると理解される。そのためには、動物実験／実験動物にかぎらず、正しい情報を透明性をもって、一般市民に発信することが肝要である。英国のいくつかの大学では、ウェブ上に写真や動画を駆使して、動物施設の内部を公開している。その意味において、英国においては、今回訪問した“Understanding Animal Research”（UAR）のような機関が重要な役割を果たしていることを強く感じた[5)]。

わが国においても、このような動物実験／実験動物に関する適切な情報発信が必要であると考え、本科学研究費研究班が発足し、研究成果を発信するためのウェブサイトを立ち上げたが、この様な試みが盛んになることが望まれる[6)]。

参考資料

1) NC3Rsのwebsite: https://www.nc3rs.org.uk/
2) FRAMEのwebsite: https://frame.org.uk/
3) IpsosMORIの英国市民の動物実験に関する調査
-Public attitudes to animal research in 2016: https://www.ipsos.com/sites/default/files/publication/1970-01/sri-public-attitudes-to-animal-research-2016.pdf
4) 打越綾子、笠井憲雪「動物実験に対する一般市民の認識と今後の情報発信」LABIO21, No77, P26-31, 2019
5) 加隈良枝、久原孝俊、笠井憲雪「イギリスの一般市民への動物実験に関する情報発信の状況、訪問調査研究の報告(Ⅰ)―市民へ動物実験の理解を促す活動団体“UAR”」LABIO21, No79, p30-32, 2020
6) 実験動物福祉コミュニケーションのwebsite: https://www.lab-awcom.org/

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

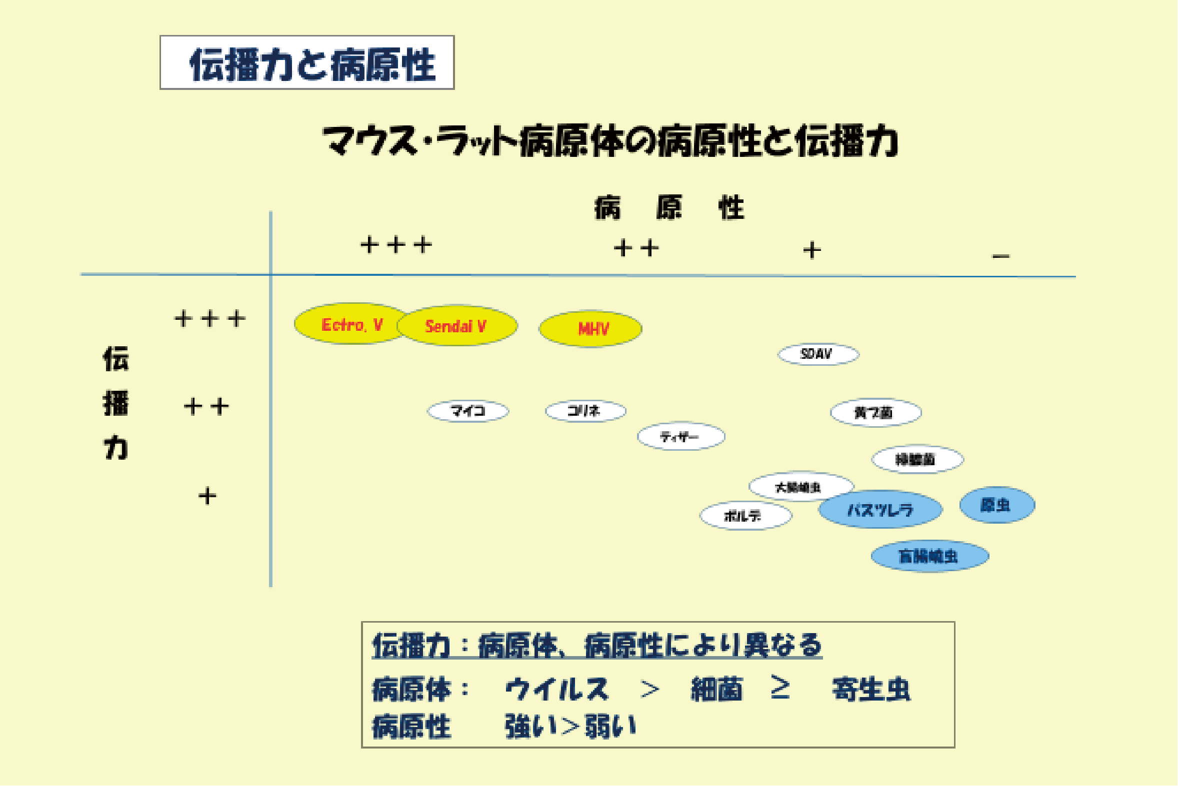
LA-house 読者との対話

モニタリング技術委員会
委員長　**高倉　彰**

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

Q1：動物飼育室で病原微生物の感染が起こり、飼育室をクリンナップした後、飼育室の陰性を確認するためには、どの位の期間おとり動物を飼育するのが妥当でしょうか（3か月～6か月との意見もあります）？

A1：おとり期間は、各病原体の病原性と伝播力の関係を念頭に決める必要があります。通常は、病原性が強いほど伝播力が強く、弱いほど伝播力は弱いと言えます。つまりセンダイウイルスやエクトロメリアウイルスなどの病原性が強い病原体は、体内での増殖が速く、その結果として沢山の病原体が飼育環境に排出されるので、強い伝播力を持っていると言えます。一方において、肺パスツレラや消化管内原虫などは病原性が弱く、体内での増殖も遅いため伝播力は弱いと言えます（下記表参照）。また一般的に細菌や寄生虫は、ウイルスに比べ伝播力は弱く、感染摘発まで、2か月以上要することが有ります。例えば蟯虫類は、感染後虫卵排出まで50日程度かかると言われています。これらのことから、おとり期間は少なくとも3か月は必要であると言えます。



「参考資料」
1. DVD「マウスラットの微生物モニタリング」日動協編、2013
2. 新版家畜寄生虫学、板垣博、大石勇、朝倉書店、1988

海外文献情報

東京大学　大学院農学生命科学研究科　実験動物学研究室
久和　茂

約1年ぶりである。前回、このコーナーを担当した頃はちょうど元号が変わり、社会にも華やいだ雰囲気が感じられた。それがどうだろう。新型コロナウイルスのパンデミックで社会は一変し、またここ数日は線状降水帯による豪雨で土砂崩れ、河川の氾濫・浸水あるいは突風があちこちで発生し、日本列島は災害のるつぼと化してしまった。連日、テレビでこのようなニュースを見ていると気が滅入ってくる。共感疲労（compassion fatigue）ということばを耳にしたことがある人は多いだろうが、当事者ではないのに当事者の気持ちに共感し精神的に疲れることをいう。他人の苦しみを理解する能力が、私にも人並みにあるということだろうか。

ところで、実験動物が被る苦痛は動物実験における主要な倫理的課題である。実験責任者は、実験動物が当該実験においてどれくらいの苦痛を被ると予測されるか動物実験計画書に記載しなければならない。その際に、多くの機関で利用されているのがSCAWのカテゴリー分類（国立大学法人動物実験施設協議会の「動物実験処置の苦痛分類に関する解説」[1]参照）である。以前から実験動物の苦痛の指標となる一般行動、外観あるいは生理機能に関する報告はあったが、2010年に発表された「顔の表情によるマウスの苦痛評価」（いわゆるgrimace法）は画期的な報告だったと思う。本法を考案した背景として、ダーウィンはヒト以外の動物においても感情は顔に表れると主張していたこと、実際に小児科医はまだことばを話せない乳児の顔の表情で痛みの程度を推測していることなどが述べられている[2]。その後、grimace法はラット、ウサギ、ウマ、ヒツジ、ブタなどにも応用されているようである。顔の表情の表出に関連する筋肉の基本的な構造と機能が、哺乳類では進化の過程で保存されていることがgrimace法の基盤になっている[2]。

前置きはこの辺で止めて、本題に入ろう。今回取り上げる論文は“Why Zebrafish ?”[3]と題された論文である。まず、魚類はマウスに次いで動物実験に多く用いられている脊椎動物だそうである。動物実験に用いられる魚類のわが国の使用数に関する統計はよく知らないが、日本ではそのような実感はあまりない。本当なのだろうか。また、自身の理解力の不足のせいかもしれないが、本論文は不明瞭な部分が多く、スッキリしないところもあった。もしかしたら間違って解釈しているところもあるかもしれない。ご容赦願いたい。

この論文はアンケート調査の結果をまとめたものである。アンケートの回答者は魚類研究者、魚類研究技術者、実験動物技術者および一般人で、グループ毎にデータをまとめ、グループ間の比較を行っている。質問項目は5つのようだが、主な質問は3つのようだ（印刷されたアンケート用紙の写真が論文に掲載されていたが、不明瞭で判読できなかった）。

まず、1枚のゼブラフィッシュの頭部写真を少し加工し、3枚の写真A、B、Cを作製した。哺乳動物では激しい苦痛を受けると眉間に皺を寄せた表情になるが、写真Aはそれに倣ってゼブラフィッシュの顔面を加工した。写真Bは加工していないゼブラフィッシュの頭部写真、写真Cは哺乳動物が少し苦痛を感じている時の表情に倣ってゼブラフィッシュの頭部写真を加工した。同時に、ゼブラフィッシュの姿は全く同じだが、背景の濃淡だけを変えた3枚の写真も用意

した。なお、魚類は進化的に哺乳類とはかなり離れており、苦痛を感じても哺乳類のような表情は表さない（魚類には顔面の表情筋がない[4)]）。

回答者にこれらの写真を提示し、各写真のゼブラフィッシュの苦痛の程度を判定してもらった。結果は、実験動物技術者の正解率が9割を越え一番高く、次いで魚類研究者と魚類研究技術者が同率2位で正解率約8割、一般人の正解率が約6割で一番低かった。

次いで、実験動物のラットとゼブラフィッシュの使用数について尋ねたところ、魚類研究技術者は「ゼブラフィッシュが多い」と全員正解したが、その他のグループは回答が「ラットが多い」と「ゼブラフィッシュが多い」に半々に分かれたそうだ。

最後の質問は、「魚類と哺乳動物のどちらを用いた研究に従事したいか」というものであった。魚類研究者は全員が魚類を選び、魚類研究技術者と一般人の75％は魚類を選び、実験動物技術者では50％が魚類を選択したと報告されている。

Discussionにはいくつか興味深い考察があった。実験動物技術者が哺乳動物の顔写真を判定できるのは想定内だが、多くの一般人も正答した（本論文のResultsには、その記述はない）。動物の表情からその感情を読み取る能力がヒトには元々備わっているだろうと推論している。

また、研究対象として魚類と哺乳動物のどちらを選ぶかの質問に対して、魚類を選択した人が多かったわけだが、魚類は子孫を多く得ることができる、発生・発育が早いなどの利点を挙げた回答者もいたが、魚類はその表情から感情を読み取ることはできないので、共感疲労を誘導しにくいことも1つの理由として挙げられるのではないかと考察している。

ところで、伴侶動物としても飼われているイヌやネコ、あるいはサル類はマウス・ラットに比較すれば、表情が明らかに豊かである（ヒトである私はそう感じる）。したがって、動物実験で苦しんでいるイヌの表情は同等の苦痛を感じているマウスよりも周囲の人間に共感疲労を誘導しやすいだろうと推側する。一般的には、動物実験では感覚のある生物（sentient being）に対する配慮が求められるが、むしろ感覚のある生物が発する姿や音（具体的には、苦悶の表情や鳴き声）による共感疲労を忌避したいという人間の本性に配慮するというのが真実ではないかとも思える。なぜなら、共感疲労で苦しみたいと思っているヒトは誰もいないだろうから。

話は飛ぶが、7年前に「植物はそこまで知っている」（グニエル・チャモヴィッツ著、矢野真千子訳、河出書房新社）という本がわが国で出版された。読まれた方もいると思うが、植物にも視覚や嗅覚などがあるという科学的証拠を解りやすく紹介した本である。動物とはシステムが異なるが、植物も光を感じて反応するし、また化学物質を感知する能力もある。植物はこれらの感覚をそれぞれの種の生存戦略に生かしているらしい。例えば、虫に食われた植物の葉はジャスモン酸メチルという化学物質を出しているそうだ。近くの葉がそれを感知し、また同様にジャスモン酸メチルを放出するとともに、虫に対する防御体制を整えるそうだ。ただし、植物には痛覚はない。なぜなら、植物には中枢神経系がないからである。侵害刺激の感知とそれに対する忌避反応は生物の生存に必須である[5)]。もし、痛覚を生物個体の生存を脅かす侵害刺激を感知する能力と広く定義すれば、上で述べたように植物も「痛覚」があると言えるかもしれない。

植物の侵害刺激の感知やその伝達を、幸いにして、ヒトは五感で感知することはできない。したがって、侵害刺激を受け防衛反応している植物が近くにあったとしても、ヒトは共感疲労に苛まれることはない。共感疲労を避けるために動物実験を行いたくないという人はいるかもしれないが、同じ理由で植物実験を行いたくないという人はいないだろう。

参考文献

1) https://www.kokudoukyou.org/index.php?page=siryou_index
2) Nat Methods 7:447-449, 2010.
3) Anim Tech Welfare 18:206-208, 2019.
4) https://gendai.ismedia.jp/articles/-/51944
5) J Comp Physiol A 195:1089–1106, 2009.

特例認定校出身の実験動物技術者紹介(6)

株式会社ホクドー　渡邊　伶奈

私が卒業した北海道ハイテクノロジー専門学校バイオテクノロジー学科は、遺伝子、細胞、微生物、植物、食品、動物実験など様々な分野を幅広く学ぶことが出来る学科です。私の在学中は3年制と4年制に分かれており、動物実験を学ぶことが出来るのは4年制でした。

1年生の頃はバイオテクノロジーの基礎を全員同じく学ぶことが出来て、それを踏まえて入学の時に選択した分野に進むか分野を変更するか決めることが出来ました。私は入学時点で動物実験のコースを選択しており、1年生のマウスの解剖実習で動物実験コースへ進むことを決めました。初めての解剖実習で私の世界は一気に広がったと思っています。それまでの人生の中で生きている動物を解剖する、なんて経験はもちろん無かったのでとても貴重な経験だと思いました。2年生になってからは、実験動物技術者2級の学科対策をしながら、動物の扱い方など基本的な事から学んでいきました。北海道ハイテクノロジー専門学校では動物実験コースで扱う動物の飼育室もあり、動物のケージ交換や給餌、給水なども生徒が行っていました。最初は慣れない動物に怖いなと思うこともありましたが、こちらが怖がって正確な手技ができなければ苦しい思いをするのは動物だと講師の先生に言われ、技術者の手技によって動物の苦痛のレベルが変わることを学びました。実際に長年動物実験に携わっている講師の先生が行う保定や投与は素早く、正確で動物への苦痛もほとんど無いように思えました。私の目指すところはここだと感動したことを今でも覚えています。

3年生になり、人工授精などもっと実験らしい内容の実習も増え、技術として身につくまではいきませんでしたが、学生の身にはあまるほど貴重な経験ができました。

いよいよ実験動物技術者2級の試験が近づいてきた折、日本動物実験協会主催の講習会に参加しました。それまでは漠然としていた試験の概要が明確になり、試験での注意点やポイントを丁寧に教えていただき、同級生と繰り返し対策を練りました。

北海道ハイテクノロジー専門学校では毎年、動物実験技術者2級の合格率が100%で、私たちの代で不合格者を出すわけにはいかないとプレッシャーに思った事を覚えています。無事、同級生全員で合格することができとても安堵しました。

取得した資格を活かせる仕事がしたいと、株式会社ホクドーへ入社しました。初めて配属された拠点では主に飼育管理を任されておりテキストや試験対策で頭に詰め込んだ知識が本当の意味で身になったと感じました。業務を通じて、飼育管理や一般状態観察、個体識別、施設の空調システムなど動物実験に必要な基礎を学びました。学生時代から動物実験の世界へ入ることができたら、実験動物技術者1級も取得したいと漠然と考えており、会社の上司からの後押しもあり動物実験技術者1級の受験を決めました。受験の際には、卒業校である北海道ハイテクノロジー専門学校で実技の練習の場として貸していただき、とても感謝しております。無事、動物実験技術者1級に合格することができて、在学中も卒業してからもお世話になった先生方へ合格の報告ができてとてもうれしく思います。

私の動物実験技術者としての経験はまだまだ浅く、これからも学ぶことばかりです。動物実験技術者1級の試験のために学んだ知識を、しっかり身に着けることがこれからの課題であると思っております。動物福祉や動物愛護が強く求められている現在では技術者の手技の向上は必須であると考えます。今までは教えていただくばかりでしたが、これからは私も教える側の立場に立てるよう日々精進いたします。

「第54回日本実験動物技術者協会総会 in 旭川」の開催中止のお知らせ

第54回日本実験動物技術者協会総会 in 旭川
大会長　**清水　範彦**

令和2年10月23～24日に予定しておりました「第54回日本実験動物技術者協会総会 in 旭川」は開催を中止とさせて頂きます。中止にあたりまして、多くの皆様にご迷惑をおかけしますことを心よりお詫び申し上げます。

新型コロナウイルスの感染拡大防止のため令和2年4月7日に全国に向け緊急事態宣言が発出されたことを受け、旭川大会の開催の是非を大会組織委員会にて協議してまいりましたが、大会の開催が不確実のまま開催に向けた準備は進められないとの判断に至りました。

全国で新型コロナウイルス陽性者の確認が広がりをみせる中、とりわけ北海道は先行して独自に緊急事態宣言を発したにもかかわらず未だ収束がみえずにいます。各事業所や職場においても行動制限のため大会組織委員会としての準備活動も十分に行えない状態が続いております。大会に参加される予定の多くの皆様も同様の状況であろうことを踏まえますと、開催を強行して準備が不十分なまま大会を迎えてしまう恐れや、参加される皆様の健康・安全面を考慮して最終判断をさせて頂きました。

10年ぶりの旭川大会には、参加を楽しみにして頂いていた皆様は沢山いらっしゃったとことと存じます。中止という大変残念な結果となりましたことには、大会組織委員会一同を代表して深くお詫び申し上げます。また、本大会へご協賛戴いていた企業様方には、協賛金の返金という形で対応させて頂きますことを、ご理解頂けると幸いです。

大会中止には、賛否の声はあろうかと存じますが、苦渋の選択であったことをどうかご理解頂き、次大会ではより一層のご支援を賜りますよう、重ねてお願い申し上げます。

来年、次の大会が無事に開催されることを切にお祈り申し上げます。

2020年6月25日

日本実験動物技術者協会の動き

北海道支部

講習会等	期　日	場　所	テーマ
2級実技講習会	2020年11月予定	未定	実験動物技術者認定試験2級の試験対策としての実技講習会

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

関東支部

講習会等	期　日	場　所	テーマ
実技講習会 微生物統御	2020年11月6日（金）～7日（土）	（公財）実験動物中央研究所（川崎市）	微生物検査、微生物クリーニング等の座学と実技講習
REG部会 第21回特別講演会	2020年11月～2021年1月頃	関東近辺で検討中	生殖工学、発生工学の話題提供を企画検討中
令和2年度総会 ・懇話会	2021年2月27日（土）	川崎市産業振興会館（川崎市）	中動物部会及び実験動物福祉部会の講演会とあわせて企画検討中

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

東海北陸支部

講習会等	期　日	場　所	テーマ
基本的動物実験手技（第13回）	2020年11月上旬予定	藤田医科大学（豊明市）	基本的な技術の習得・向上を中心とし、動物実験における技術者の倫理観、心構えなど、日常業務に反映できる内容
実験動物実技講習会	2020年11月上旬予定	藤田医科大学（豊明市）	2級試験対策を中心とした講習会

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

関西支部

講習会等	期　日	場　所	テーマ
新型コロナウイルス感染症の影響により、各種講習会等の予定が未定となっております。最新情報は関西支部ホームページ等でご案内いたします。			

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

九州支部

講習会等	期　日	場　所	テーマ
第25回九州地区実験動物技術研修会	2020年9月5日（土）～6日（日）予定	熊本保健科学大学（熊本市）	実験動物に関する講義およびマウス・ラット等を用いた基礎技術研修
第40回九州支部研究発表会および第43回総会	2020年11月28日（土）～29（日）予定	鹿児島大学郡元キャンパス（鹿児島市）	特別講演（本部共催）および一般口演（日常業務の最前線を含む）等の講演会。第38回九州実験動物研究会との合同開催の予定

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

日本実験動物学会の動き

第68回日本実験動物学会総会の開催予定

テーマ：「医薬に貢献しつづける実験動物」
日　時：令和3年5月19日（水）～21日（金）
会　場：タワーホール船堀
〒134-0091 東京都江戸川区船堀4-1-1
https://www.towerhall.jp/4access/access.html
大会長：今井良悦（武田薬品工業）
開催案内は大会URL（準備中）をご参照ください

日本実験動物協同組合の動き

2020年5月30日に開催予定だった第48期通常総会については、新型コロナウイルス感染拡大の状況を踏まえ、4月の理事会での決議を受けて、通常総会議案書を用いた書面議決での総会となりました。第48期事業報告書・決算書、第49期事業計画・収支予算案など議案のすべてが承認されました。

48期の動きとして、全組合員対象に2回と関西・九州各支部員対象に2回の研修会の実施、実験動物福祉委員会による組合員に対する適切な管理・運営の実施状況調査と小規模事業者に対する福祉体制整備へのサポート、5年後の動愛法改正に向け組合としての最大関心事項である3R義務化と動物取扱業の登録等についての組合方針の検討と提示などを行いました。また出資金管理を帳簿管理方式（ペーパーレス化）に変更し、定款変更を行い出資金一口の金額変更と全組合員一口出資に統一しました。

49期の運営方針として①動愛法の次回改正に向け農水省や関連団体との連携強化、②小規模事業者に対する福祉体制整備のためのバックアップ、③現状の組合員数に応じた体制検討、④HPの専用ページを用いた組合員への情報提供などが掲げられました。

実験動物業界の状況もその時の社会状況により大きく変わり、先行きが不透明な部分もありますが、適切な情報提供を通じて個々の組合員の活動をサポートしてまいります。

今後も日本実験動物協同組合の活動に対して変わらぬご支援をよろしくお願い申し上げます。

■ 協会だより

1．第36回定時総会

本協会は令和2年6月12日に第36回定時総会を、東宝土地高橋ビルにおいて開催し、平成31年度決算を承認した。貸借対照表はホームページに掲載した。

また、任期満了に伴い次期役員（令和2～3年度）を選任した。次いで開催された理事会にて役職を次のとおり決定した。

◇役員

会長：　福田勝洋（代表理事）

副会長：　髙木博義（代表理事）、吉川泰弘（業務執行理事）、小山公成（新任、業務執行理事）

専務理事：　田口福志（業務執行理事）

常務理事：　武石悟郎（業務執行理事兼事務局長）

理事：　齋藤敏樹（新任、業務執行理事）、椎橋明広（業務執行理事）、外尾亮治（業務執行理事）、三宅誠司（業務執行理事）、新井秀夫、三好一郎（新任）、武石勝、伊藤恒賢、北村典、清水何一（新任）、関口冨士男

監事：　夏目知佳子（新任）、村松久美子（新任）

更に、総会において、永年にわたり理事として協会に貢献された清水英男氏及び務臺衛氏に協会会長功労賞及び記念品を贈呈した。また、永年にわたり委員として当協会事業に貢献された小山公成氏及び関田清司氏に委員功労賞と記念品を贈呈した。

受賞者：小山公成様（左）と務臺衛様（右）

2. 委員会等活動状況

行事	開催日	備考
第1回情報委員会	4.17決議	LABIO21 No.81の企画
監事会	5.12	平成31年度事業、収支決算の監査
第1回総務会	5.19	平成31年度事業報告他
第74回理事会	5.28決議	平成31年度事業報告他
第1回実験動物福祉調査・評価委員会	6.12決議	令和2年度福祉認証事業他
第36回定時総会	6.12	平成31年度収支決算、事業報告他
試験問題作成小委員会	7.4	1級、2級技術者学科試験問題の作成
第1回教育・認定委員会	7.7	技術者試験及び研修会の計画他
実験動物2級技術者学科試験	8.2	全国各所
第1回モニタリング技術委員会	8.21	微生物モニタリング技術研修会について他

3. 行事予定

行事	開催日	備考
実験動物1級技術者学科試験	9.19	東京、大阪 他
通信教育スクーリング	9.26	東京、大阪
微生物モニタリング技術研修会	10.30 ～ 31	（公財）実験動物中央研究所
日常の管理研修会	11.7	日本獣医生命科学大学
ウサギ及びブタ実技研修会	11.7-8	日本獣医生命科学大学
実験動物2級技術者実技試験	11.28	東京、名古屋、大阪、熊本
実験動物1級技術者実技試験	11.29	日本獣医生命科学大学、京都大学

＊：令和2年度事業のうち、実験動物技術者資格認定試験及び各種研修会に関しては、新型コロナウイルス感染症に係る状況等を踏まえ、日程及び会場等を一部変更し、さらに一部の研修会については中止としています。今後の予定につきましても、変更等がある場合には、その都度ホームページでお知らせいたしますのでご確認願います。

4. 平成31年度実験動物生産施設等福祉認証事業の概要報告

平成31年度の実験動物生産施設等福祉認証事業に係る福祉認証調査は、11機関、16施設について行った。そのうち更新のための調査が14施設、新規調査が2施設であった。その結果、令和2年3月末の時点でいずれも認証「可」となった。よって、当協会において現時点での認証施設数は計41施設（平成29年度認証13施設、平成30年度認証12施設、平成31年度認証16施設）となった。平成31年度の認証施設のうち、公表を希望された施設を下表に示す。

なお、令和2年度については、事業内容としてはほぼ前年度と同様の予定で計画し、9月から調査を開始している。

平成31年度実験動物生産施設等福祉認証 施設一覧（掲載希望施設）

機関名	施設名
日本チャールス・リバー（株）	厚木飼育センター
日本エスエルシー（株）	春野支所
日本エスエルシー（株）	引佐支所
（株）オリエンタルバイオサービス	南山城研究所
（株）オリエンタルバイオサービス	神戸BMラボラトリー
（株）星野試験動物飼育所	星野試験動物飼育所
日本クレア（株）	富士生育場
日本クレア（株）	石部生育場

機関名	施設名
北山ラベス（株）	箕輪生産場
北山ラベス（株）	伊那生産場
（株）特殊免疫研究所	宇都宮事業所
（株）イブバイオサイエンス	イブバイオサイエンス研究所
日本クレア（株）	八百津生育場
（株）アイビーテック	成田ラボ
（株）ホクドー	洞爺ラボ

KAZE

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は2019年12月に中国武漢市で発生し、瞬く間に地球全体に拡散し、2020年7月30日現在までに196の国・地域で感染者総数約1700万人、死亡者数約66.7万人と猛威を振るっている。我が国では2020年1月から主に大都市圏で流行し、しかも重症者が多く医療体制が逼迫したため、政府は4月7日に全国的に緊急事態宣言を発令し外出や都道府県境をまたぐ移動の自粛や人が密集するイベントの中止、飲食店等の休業を要請した。その結果、流行は収束するかに見えたが、5月25日の緊急事態宣言解除後には大都市圏のみならず全国的に感染が再流行・蔓延し、7月下旬には毎日のようにそれぞれの地域での新規感染者数が過去最多を更新し、7月30日までに我が国の感染者総数34132人、死亡者数1006人に達した。

COVID-19蔓延の影響で社会活動の停滞・疲弊は著しく、実験動物界への影響も甚大である。大学や研究機関においては、感染防御のため学生・職員のキャンパス内立入が制限され、不要不急の動物実験や実習の中止・延期が指令されたため、実験動物の需要が激減している。また、実験動物施設では飼養者の感染防御に配慮しながらの実験動物の飼養保管に苦慮している。更に、関連学協会が2020年に予定した学術集会や研修会等のほとんどが中止に追い込まれた。

一方、数十年に一度といわれる豪雨による水害を被災した地域では、避難所は感染防御のため密集を避ける措置をとらざるをえず、結果、遠隔な避難所にあるいは被災現場にとどまらざるを得なかった被災者も少なくなかった。また、災害復興にはボランティアに依存する作業も多いが、熊本県のように被害地域のCOVID-19流行防止のためにボランティア募集は県民に限ったために災害復旧作業がかなり遅れている例もあり、他の被災地域でも同様な事態が生じていると推察される。

今回のCOVID-19パンデミックにより、感染症流行自体のみならず、それがもたらす社会的疲弊を痛感する次第である。一刻も早い、治療薬およびワクチンの開発が望まれる。　〔三枝　順三〕

STAFF

情報委員会

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

制作　株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

● LABIO 21 No.81　令和2年9月1日発行 ● 発行所 公益社団法人日本実験動物協会 ● 編集 情報委員会
● 住所 〒101-0051 東京都千代田区神田神保町3-2-5 九段ロイヤルビル5階 ● TEL 03-5215-2231　FAX 03-5215-2232
● URL　http://www.nichidokyo.or.jp/ ● E-mail　jsla@nichidokyo.or.jp

charles river

～Every Step of the Way.～

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

プロダクトおよびサービス

遺伝子改変動物の作製	実験用動物	手術・処置動物の作製
受託飼育・繁殖サービス	受託微生物モニタリング	受託試験サービス（国内外）
バイオ医薬品サービス	生体試料	動物実験関連器材

日本チャールス･リバー株式会社

本社　〒222-0033 横浜市港北区新横浜3-17-6イノテックビル11F
TEL.045-474-9340 FAX.045-474-9341

http://www.crj.co.jp

Supporting Your Dream Of Innovation For Life Science
「生命科学の発展」へのベストパートナー
Japan SLC, Inc.
日本エスエルシーは動物愛護の精神を尊び
大切な研究テーマにあった実験動物を提供してまいります。
SLC
日本エス エル シー株式会社
—http://www.jslc.co.jp—