

LABIO 21

Japanese Society for Laboratory Animal Resources



公益社団法人

日本実験動物協会

Tel. 03-5215-2231 Fax. 03-5215-2232

<http://www.nichidokyo.or.jp/> E-mail: jsla@nichidokyo.or.jp

【連載特集】

長寿医療研究を支える実験動物技術(Ⅲ)

実験動物としてのゴールデンハムスターの有用性(Ⅰ)

厚生労働省所管機関における動物実験

— 厚生労働科学特別研究事業の実施報告 —(Ⅰ)

【研究最前線】

総説:Nanobody

【トピックス】

長崎大学BSL-4施設



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

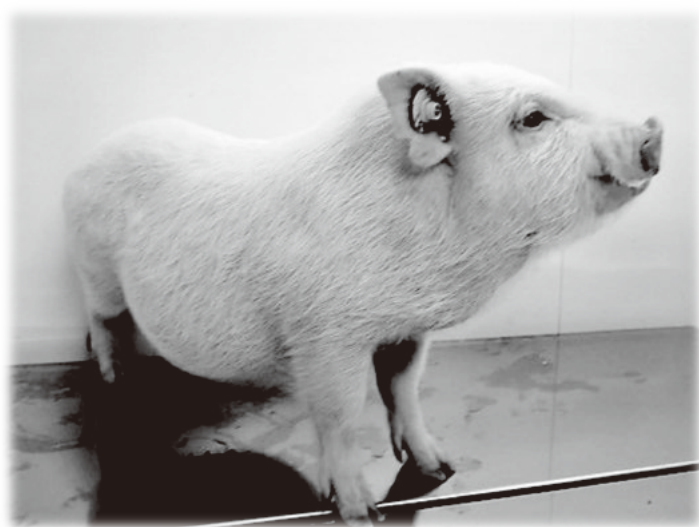
1984年よりイラストレーター及川正通氏のスタジオに所属し、エアブラシによるイラストの作成。2000～2012年まで及川スタジオの依頼でコンピューター作画での情報誌（ぴあ）表紙の制作に携わる。2012年以降は、これ迄に蓄積したコンピューター技術を用いて、イラスト以外にもアニメーション・音楽制作など範囲を拡げて活動している。

エーアイ・イラスト・コンプ社 代表

目 次

巻頭言 第55回日本実験動物技術者協会総会2021 Gifuの開催にあたって（千原猛）	4
連載特集 長寿医療研究を支える実験動物技術（Ⅲ） 生体内酸化の亢進と老化との関連を行動実験を通じて追及する（福井浩二）	5
連載特集 実験動物としてのゴールデンハムスターの有用性（Ⅰ） ゴールデンハムスターの実験動物としての歴史と特徴 （小倉淳郎、廣瀬美智子）	9
ゴールデンハムスターゲノムと遺伝子（蓮輪英毅、塩見春彦）	14
研究最前線 総説：Nanobody（戸高玲子、芳賀慧、片山和彦）	18
トピックス 長崎大学のBSL-4施設（安田二郎）	22
連載特集 厚生労働省所管機関における動物実験 厚生労働科学特別研究事業の実施報告（Ⅰ）（山海直）	26
ラボテック 技術紹介 実験動物飼育管理の自動化に向けての検討とご提案（山岸義尚）	30
海外文献情報（久和茂）	34
論文紹介 アメリカの「動物福祉法」における動物実験規制の位置付け（笠井憲雪）	36
読者との対話 LA-house	37
連載コラム「会員からの情報」（3） 動物実験委員会業務受託サービスのご提供について（紺屋好美）	38
連載コラム「特例認定校出身の実験動物技術者紹介」（7）（澤田唯）	40
ほんのひとりとど	41
日本実験動物学会の動き／日本実験動物技術者協会の動き	43
日本実験動物協同組合の動き	44
協会だより	45
令和3年度認定実験動物技術指導員及び準指導員	46
KAZE	46

Göttingen Minipigs™



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



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

お気軽にお問い合わせください



オリエンタル酵母工業株式会社

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

第55回日本実験動物技術者協会総会 2021 Gifu の開催にあたって

大会長

千原 猛

(四日市看護医療大学 看護医療学部 臨床検査学科)

このたび第55回日本実験動物技術者協会総会2021 Gifuを、当協会の東海北陸支部が主管となり10月14日（木）～16日（土）の3日間開催させていただきます。本総会は大会実行委員一同、通常開催を切望しておりましたが、新型コロナウイルス（COVID-19）の感染状況を鑑み、ご参加いただく皆様の安全確保と社会的な感染拡大防止の観点から、WEB開催とさせていただきます。

さて、この大会のテーマを「実験動物技術者の未来をさぐる」といたしました。実行委員一同は、本総会が昨年開催中止を余儀なくされました第54回協会総会in旭川との合同大会であるとの認識で運営、企画することをまず最初に決定しました。テーマは旭川大会の「実験動物技術の開拓者たちよ、大志を抱け！」からさらなる飛躍を目指したものです。現在、実験動物技術者が関わる分野は、日常の動物管理、施設管理から実験者への講習など非常に多岐にわたっており、私達が果たす役割も日々大きくなってきています。さらには今後は急速な研究ニーズ等への柔軟な対応も必要になってくると思います。そしてこれまでの継承と発展性を両立させることが必要であると考えています。本総会では実験動物科学・技術

の発展のために、私達実験動物技術者が今、そして今後に果たすべき役割は何かを、皆様からご意見をいただき、考える自己研鑽の場にできればと思い企画を思案して参りました。

10月15日に開催するシンポジウム1では「実験動物技術者の教育と育成のこれから」をテーマに様々な立場の先生方に、今後どのような教育や育成が実験動物技術者に必要かをご議論いただきます。10月16日のシンポジウム2では、「動物実験における適切な麻酔方法と安楽死を目指して」をテーマに、麻酔薬の基礎と安楽死薬の特性とともに、ソムノペンチル注射薬の終売告知以降の代替薬検討についてご講演をいただきます。16日のシンポジウム3ではコロナ禍の本協会支部活動の状況を報告していただいた後に、教育セミナーとしてCOVID-19の現状の対策について、大学施設での対応、生産場での対応をご報告いただきます。さらに、動物実験を取り巻く機器の変遷、実施可能な動物福祉とは何か、環境材料を用いた微生物のモニタリング検討、東海実験動物研究会共催企画、一般演題（口頭、ポスター）の講演、発表を予定しています。

なお、15日の午前中には、特別講演として世界淡水魚園水族館アクア・トリギフ 館長 池谷

幸樹先生に、教育講演として名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経科学研究所・認知症科学分野 教授 齊藤貴志先生にご講演いただきます。

できるだけ多くの講演、発表を拝聴し、参加していただきます皆様からご意見、ご指導をいただき、私達実験動物技術者がこれからの未来に向かって果たすべき役割を塾考し、意見を交わしあうことができればと思います。日本実験動物技術者協会の今後の発展のためには、会員はもとより関係各位の皆様の一層のご指導、ご協力が必要不可欠であります。引き続き格別のご支援を賜りたくよろしくお願い申し上げます。何よりも積極的なご参加を心よりお待ちしております。

この大会は苦渋の選択でWEB開催となりました。しかし、私達実行委員一同は通常開催と同様に、参加者の皆様に満足いただける有意義な会となりますよう鋭意努力し準備を進めて参ります。WEB開催についての詳細はこれから検討、決定することになります。最新情報は大会ホームページに掲載させていただきますので、大会ホームページ（<http://www.jaeat-tokaihokuriku.org/2021gifu/>）をご覧くださいませようお願い申し上げます。

長寿医療研究を支える
実験動物技術 (Ⅲ)生体内酸化の亢進と老化との
関連を行動実験を通じて追及する芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科 分子細胞生物学研究室
教授 福井 浩二

1. はじめに

健康寿命の延伸が叫ばれる中、巷では「アンチエイジング」との表記が踊り、あたかもこれらに絶大な効果があるかのように謳っているサプリメントや食品が市場にあふれている。これらは裏を返せば、人々の「長寿」に関する関心がいかに高いかを示していることにもなろう。多くの人が関心を持っている老化であるが、その定義は複数存在する。しかし、自分なりに、「加齢とともに不可逆的に進行する生理機能の退行的変化」ではないかと考えている。加齢と老化の区別についても議論が分かれるところではあるが、加齢現象とは誕生した瞬間から始まっている「不可逆的」現象であり、老化現象は成熟期以降に始まる「退行的」現象、との認識が広まりつつあるように感じる。しかし、英語表記となると Aging という単語には老化だけでなく加齢という意味も含まれること、その一方で、Senescence には老化と

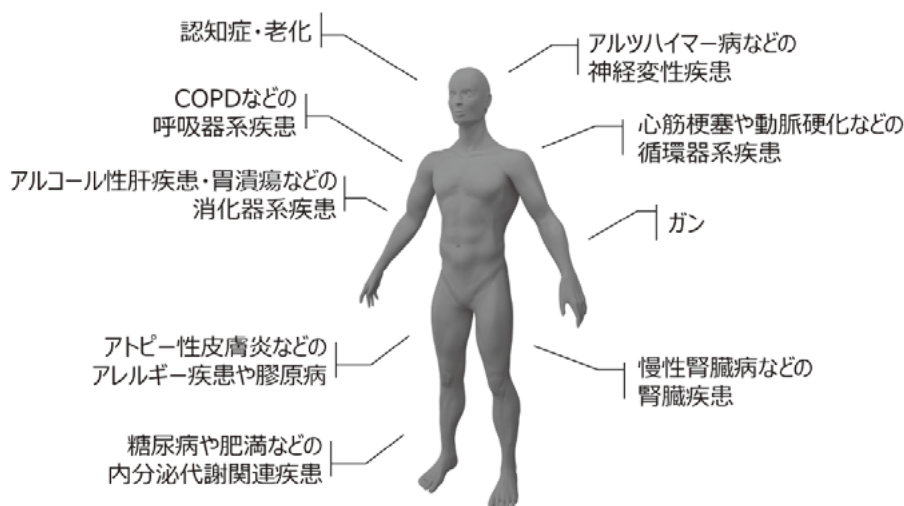
いう意味合いが強いことを考えると、世間ではアンチエイジング＝抗老化と認識されているように正確な使い分けができていないのかもしれない。

加齢現象は誰にでも起きる現象だが、老化の進行度は個体によって大きく異なる。見た目に若々しい人もいれば、しわが多い人もいる。軽やかに運動をこなす人もいれば、日常の活動ですら満足にできない人もいる。同じ年齢であるにもかかわらずなぜこのような違いが生じてくるのか？これらは、老化の進行が一様ではなく何か理由があることを我々に示している。老化に伴いアルツハイマー病や認知症など様々な神経変性疾患の発症リスクも上昇する。ということは、正しい老化のメカニズムが解明できれば、老化に伴い発症リスクが上昇する様々な疾病に関しても発症リスクを低下させ、また治療できるのではないかと考えている。一昔であれば老化は誰にでも起きる現象だから仕方がない、

との考えが主流であった。しかし、老化の進行には理由があり、防ぐことはできないがメカニズム解明を通じて、健康寿命の延伸へと繋げることができればと思いながら日々研究を行っている。

2. 老化の酸化ストレス説

個体による老化の進行度の違いに関し、我々の研究グループでは「生体の酸化傷害の蓄積」に着目して研究を行っている¹⁾。屋外に自転車や釘を放置しておくと同様に、我々の生体を構成する DNA や脂質、タンパク質が加齢に伴い酸化、その酸化物の蓄積が様々な機能不全を引き起こすというものである。この「老化の酸化傷害説」自体は 1950 年代後半に Denham Harman 氏によって提唱²⁾されたもので、今日まで多くの研究者がこの説に基づいて研究を重ねている。(小生も日本酸化ストレス学会、またその上部組織の国際フリーラジカル学会に所属している) この仮説



(出典元©2016 DBCLS TogoTV/CC-BY-4.0)

図1 酸化が関与するとされる疾患

は興味深いことにヒトだけに限らず、様々な好気性生物に当てはめることができる。体重当たりの酸素消費量が大きいげっ歯類では寿命が短く、逆であるゾウでは寿命が長い。また、近年では様々な疾患に「生体内酸化」が関与しているとの報告が相次いでいる。この点から我々は様々な疾患が「生体内のある一部の組織・細胞群が急激に老化（つまり酸化）した結果」として発症・増悪化しているのではないかと考えている。このように考えることで老化と疾患を「生

体内酸化」という共通ワードで結び付け研究を重ねている。

3. 行動試験による脳老化の判定

前述した仮説から、げっ歯類であっても生体内酸化の蓄積と老化の亢進に関係性が認められるため、我々は主にマウスを用いて検討を行っている。「老化」といってもその範囲は広く、我々のような小さな研究室では全てを網羅的に検討することは不可能である。そこで特に脳老化に特化して検討を重ねている。脳老化として真っ

先に考えられるのは認識機能の減衰ではないだろうか？そこで様々な行動実験装置を用いて酸化亢進に伴う脳老化のメカニズム解明に取り組んでいる。

モーリス水迷路試験はマウスをプールで遊泳させ、エスケーププラットフォームにつくまでの時間を測定することで、学習・記憶能力を判定することができる。当研究室では10年以上の使用実績があり、総試行回数は2万回を超えている。マウスの場合、興味深いことに遊泳速度は月齢が異なってもほぼ不変である。よって、単純にゴールタイムを測定することで認識機能の評価が可能となる。我々の検討では、加齢に伴い学習能力は低下、老齢群とビタミンE欠乏食で飼育した若齢群は同程度の結果を示している³⁾。ビタミンE欠乏マウスでは脳酸化が亢進し、一部では脳神経細胞死も起きていることから、脳酸化と認識機能の減衰には深い関係のあることがわかる。

行動実験の場合、1種類の試験のみで認識機能を判別することは難しい。なぜならば、それぞれの装置が非常に特徴的なためである。例えば、水迷路試験ではマウスは自力でエスケーププラットフォームに辿り着くか実験者が救助しなければ溺死する危険性があり、実験動物にとっては懲罰的な試験である。その一方で、Y字迷路や

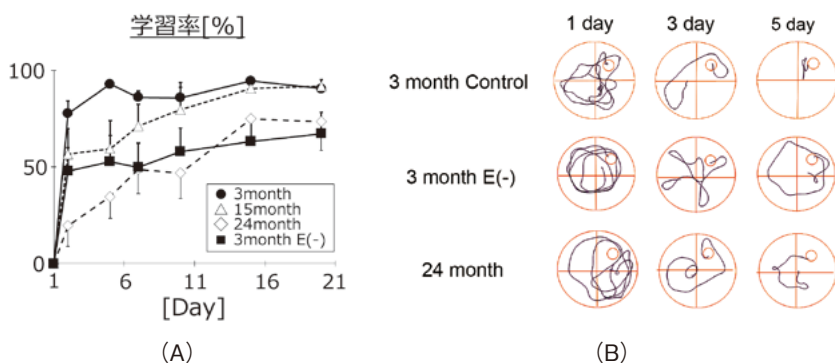


図2 マウスによるモーリス水迷路試験の結果。学習率 (A) と遊泳軌跡 (B)³⁾。

オープンフィールド試験は自発的行動によるところが大きい。当研究室では、放射状迷路装置、オープンフィールド装置、Y字迷路装置を保有しており、複数の行動実験を同一個体で行うことで老化や酸化と認知機能の関係について評価している。更に近年では肥満や遺伝子改変マウス、さらにはビタミン・ミネラルなどの効果の検討も行っている⁴⁾。

しかし、行動実験の場合は、実施・評価方法が明確に統一化されていないという問題点がある。そもそも行動を数値化するという点で通常の生化学的解析とは大きく異なる。細かい条件が異なり、実験者の習熟度に頼る部分があることは否定できない。そのため、再現性の確保が難しく各研究室のノウハウの蓄積が成功の可否を握っているといっても過言ではない。余談ではあるが、数多くのマウスの遊泳を見ていると色々な個性がある。「賢さの違い」についても時間があれば検討してみたいと思っている。

4. 運動・代謝機能の評価

近年、高齢者の間ではフレイルが問題視されている。我々もマウスを用いて体幹、前後脚の協調運動をローターロッド装置にて判定している。通常、ローターロッド試験では回転する棒からの落下時間は体重に比例する。しかし、老齢マウスやアルツハイマー病モデルマウスでは、体重過多でないにもかかわらず落下時間が早いことが分かっている。水迷路試験の結果を合わせて行うことで、認知機能と運動機能との関係も評価が可能となる。また、持久力評価をトレッドミル装置にて行っている。これはいわばマウス用のランニングマシンである。週3回、1回60分の運動トレーニングを2週間実施した結果、老齢マウスでは約30%の持久力アップを確認した。我々はトレッドミル装置を用いて、食品成分の投与によるトレーニングの増強効果の検討なども行っている。

トレーニングでは単に筋力が上昇しただけではなく、ミトコンド

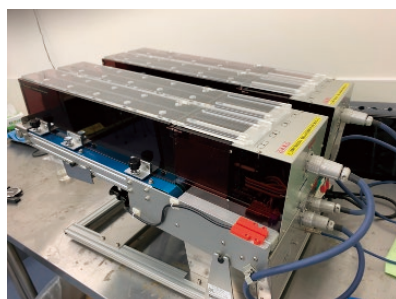
リアでのエネルギー代謝や呼吸代謝能が変化している可能性がある。そのため、我々は酸素分圧や二酸化炭素分圧を測定することで呼吸代謝能を測定できる装置を導入し検討も行っている。本装置では単に酸素消費量が分かるだけでなく、呼吸代謝能 (VCO_2/VO_2) の値から糖質代謝か脂質代謝かどちらが亢進しているかを判定することができる。また、本装置では自発運動量や摂餌量の測定も可能となっている。一例を図4に示すが通常マウスは夜行性であり、明るい時間帯にはほとんど活動しない。そのため、活発に活動する夜間では酸素消費量が多い(図4B)。しかし、老齢マウスでは日内時計が乱れているのか酸素消費量は一日を通じて大きく変動することはなく、また若齢と比べると少ないものの日夜問わず一定度活動しているのが明確にわかる(図4C)。

5. まとめ

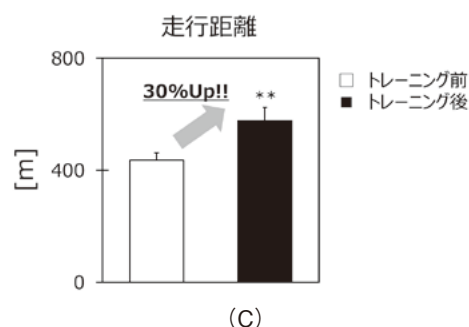
これら一連の装置を用いて、



(A)



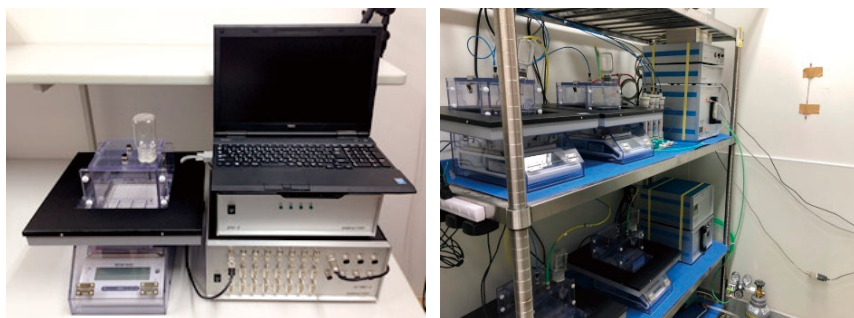
(B)



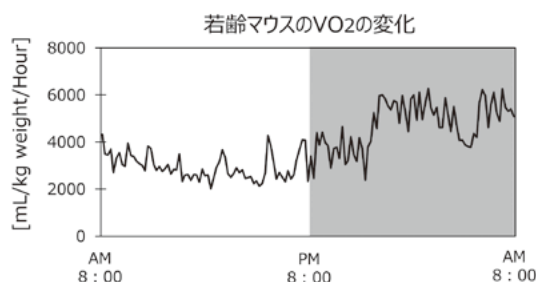
(C)

図3 ローターロッド装置 (A)。トレッドミル装置 (B) と老齢マウスでのトレーニング前後での持久力試験の結果 (C)。老齢マウスにある食品を2か月間摂取させた後、2週間トレーニングを実施したところ、持久力が約30%上昇した。

(A)



(B)



(C)

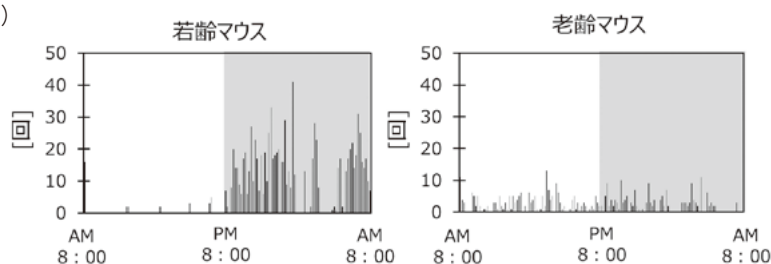


図4 呼吸代謝測定装置を用いた呼吸商と自発運動量の測定結果

認識機能や運動機能、代謝機能について個体レベルでの測定を行っている。もちろん、実験終了後には解剖を行い、脳内の生化学的解析も行っている。これらにより、タンパク質や遺伝子レベルの解析から個体行動までを一貫して解析し、脳老化のメカニズム解明に取り組んでいる。また、我々は「治療」よりも「予防」に力を入れている。薄学故、有機合成や医学的知識・技術を有していないため、可能な限り生理機能を減衰させない・疾病

を発症させない、またそのために日常的に摂取可能な天然由来成分の摂取や日常的な運動等によりこれらを回避することを目指している。一連の実験系は単に老化研究のみならず肥満や各種疾患モデルでも使用しており、トランスレーショナルリサーチの一環として貢献できればと思っている。

老齢マウスをある一定数確保することはこれまで非常に困難であった。これまでは老齢マウスを保有している研究室と共同

研究を行ったり、独自で2年計画でマウスを飼育するなどしてきた。特に後者の場合、3年分のマウスが飼養室になることになり、スペース・コスト・作業量は膨大であった。しかし、近年では安定的に老齢マウスが一部企業から購入できるようになった。このことは個体動物を使った老化研究に対するニーズが研究分野で大きくなっていることの証ではないだろうか？我々の基礎研究が健康寿命の延伸や加齢に伴う様々な疾患予防や治療の一助となれば幸いである。

謝辞

本執筆の機会を頂きました国立長寿医療研究センター研究所の小木曾昇先生、東京都健康長寿医療センター研究所の野田義博先生に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Fukui K, Onodera K, Shinkai T, Suzuki S, Urano S, Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging and changes in antioxidative defense systems, *Ann NY Acad Sci*, 928, 168-175, 2001
- 2) Harman D, Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry, *J Gerontol*, 11, 298-300, 1956
- 3) Fukui K, Nakamura K, Shirai M, Hirano A, Takatsu H, Urano S, Long-term vitamin E-deficient mice exhibit cognitive dysfunction via elevation of brain oxidation, *J Nutr Sci Vitaminol*, 61, 362-368, 2015
- 4) Fukui K, Shirai M, Ninuma T, Kato Y, Anti-obesity effects of tocotrienols and bran in high-fat diet-treated mice, *Nutrients*, 11 (4), 830, 2019

実験動物としての ゴールデンハムスターの有用性 (I)

ゴールデンハムスターの 実験動物としての歴史と特徴

理化学研究所 バイオリソース研究センター
小倉 淳郎、廣瀬 美智子

ハムスターとはどのような動物なのか

ハムスターという言葉を知ると、愛玩動物としてのハムスターを思い出される方も多いであろう。実際に、マウスやラットと同じ齧歯類に属するものの、ハムスターはずんぐりとした体型を持ち、動きが遅く、人を警戒しないなど、飼いやすい愛玩動物としての条件を備えている。分類学的には、「ハムスター」は齧歯目のキヌゲネズミ科 (Cricetidae) に属する複数の種の総称として使われる。ペットショップで良くみかけるハムスターは、主にゴールデンハムスター、ジャンガリアンハムスター、ロボロフスキーハムスターなどである。一方、実験用のハムスターとしては、ゴールデンハムスター、チャイニーズハムスター、ジャンガリアンハムスターの名前を聞くことが多い。ただし、チャイニーズハムスター (*Cricetulus griseus*) が論文に登場するのは Chinese Hamster Ovary cell (チャイニーズハムスターの卵巣、CHO 細胞) としての場合が多く、動物そのものが実験に使われることは少ない。また、ジャ

ンガリアンハムスター (*Phodopus sungorus*) は小型のハムスターで、やや名前に混乱があるが、論文ではシベリアンハムスター Siberian hamsters と記されることも多い。実験で使用されているハムスターは、圧倒的にゴールデンハムスター (*Mesocricetus auratus*) が多く、実際に、タイトルなどで単に「hamster」と記載されている論文のほとんどはゴールデンハムスターを用いている。我が国でも多くの場合、実験用ハムスターはゴールデンハムスターと同義である。本連載では、この実験動物として広く用いられているゴールデンハムスターの有用性を紹介する (以下、適宜「ハムスター」と省略する)。

ゴールデンハムスターの実験動物としての特徴

ゴールデンハムスター (golden hamster) は、その原産地からシリアンハムスター (Syrian hamster) と呼ばれることもある。成体の体重は、120 ~ 180 g 程度で雌雄差は少なく、同日齢では雌の方が大きいことも多い。ラットやマウスと同じ環境 (飼料、水、温湿度など) で飼育・維持ができ

る。妊娠期間は、真獣類で最も短く、約 16 日である。また、長日環境 (14 時間明 :10 時間暗など) では、雌は極めて正確な 4 日性周期を示す。産子は通常数匹程度であるが、10 匹以上を育てることもある。約 21 日で離乳し、約 2 ヶ月で性成熟する。このようにマウスよりもやや短い期間で世代が進み、多産である点は、系統育種に有利である (図 1)。しかし、雌親による新生仔の食殺が多いために、予定通りに実験が進まないこともある。また、雌の生殖可能期間に個体差が大きく、3 産目以降を得ることが難しいこともあるので、注意が必要である。なお、現在、世界中のゴールデンハムスターは、野生で捕獲された極めて少数の個体のうちで生き延びた子孫に由来するため、遺伝的にほとんど均一であると言われている (愛玩動物となっているハムスターには、自然突然変異によるさまざまな毛色が観察される)。実験室においては、がん (がん細胞の移植実験)、寄生虫学、感染症学、生殖生物学などの研究に広く使われてきた。最近では、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) ウ

イルス (SARS-CoV-2) がハムスターに容易に感染することが報告されており (1)、新型コロナウイルス研究に使われる頻度が増えている。

生殖生物学研究における貢献

これまでゴールデンハムスターが最も貢献した研究領域の一つとして、哺乳類の受精機構研究が挙げられる。1963年、柳町隆造とM.C. Changは、ハムスターの精巣上体から採取した精子を用いることにより、体外での精子受精能獲得および先体反応の誘起法を開発し、体外受精に成功した (2)。それより以前にも、ウサギで体外受精が成功していたが、子宮から回収した精子であったため、この精巣上体精子を用いた報告が哺乳類初の体外受精の成功とみなされることが多い。この体外受精の成功には、過排卵処理により多数の卵子が採取できること、そして生きたまま通常の位相差顕微鏡で容易に精子先体反応が確認できるというハムスターの特徴が生かされて

いる (図1)。その後、1976年に柳町らは、ハムスターを用いて精子の顕微注入による受精 (顕微授精) に成功している (3)。1993年には円形精子細胞を用いた受精も報告された (4)。なお、マウスにおいては、ハムスターよりやや遅れ、体外受精は1971年 (5)、顕微授精は1995年 (6) に報告された。

このように、研究用ハムスターは生殖生物学研究に広く利用される可能性があったものの、受精卵の培養が極めて難しいという最大の欠点を持っていた。このために、胚操作後の産子を得る実験がほとんどできず、多くの生殖生物学研究のモデルは、胚培養が容易なマウスに取って代わることになる。ハムスターの受精卵は、体外操作後に典型的な2細胞期による発生停止、いわゆる2-cell blockを示し、さらにその後の発生ステージでも容易に発生停止が生じる。おそらく、胚培養が試みられた哺乳動物の中でも最も胚培養が困難な動物種であると思われる。1980年代よりBavisterらのグループ

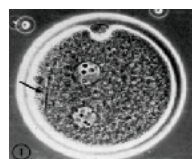
は、ハムスターの胚培養実験を精力的に進め、ハムスター胚の発生停止が培養液中に含まれるグルコースとリン酸により引き起こされることを明らかにした (7)。また、胚発生を促進または阻害するアミノ酸も同定し (8)、培養液に添加するウシ血清アルブミン (BSA) もロットによって胚発生を大きく阻害することを明らかにした (9)。Bavisterらは、これらの結果からhamster embryo culture medium (HECM) シリーズを開発し、ついに体外受精胚を胚盤胞、そして産子まで発生させることに成功した (10)。この当時すでに体外受精の成功から30年近くが経過しており、いかにハムスターの胚培養が困難であったかがうかがわれる (図1)。私たちも、体外受精後の胚培養時間を最小限にするために、体外受精由来1細胞期胚を発情期雌 (偽妊娠交配直前) の卵巣嚢へ移植し、産子を得ることに成功した (11)。なお、最初のハムスターの顕微授精産子は2002年の報告であり (12)、こちらも最初の顕微授精の報告から26年かかっている。ハムスターの生殖生物学への貢献の詳細は、総説にまとめられている (13)。

【ハムスターの実験動物としての長所】

- ・安定した体外受精 (最初の精巣上体精子による体外受精)
- ・正確に4日性周期を維持する (数ヶ月後の実験まで計画可能)
- ・妊娠期間が有胎盤動物で最も短い (16日) → 性成熟も速く、世代交代速い
- ・多産である (5-10匹)
- ・通常のPMSGを用いて過剰排卵が可能である (40-50個/雌)
- ・体重100-150 g 程度であり、飼育コロニー維持が容易 (ラットより小さい)
- ・進化したマウス・ラットの系統から早く分かれており、遺伝子改変によりマウス・ラットとは異なる結果を得ることが期待できる (特に無表現型KO)
- ・脂質代謝や糖代謝システムがヒトに近い

【ハムスターの実験動物としての短所】

- ・超強力な in vitro 2-cell block が発生工学技術の応用を阻害してきた



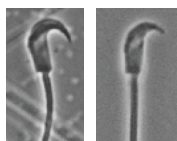
体外受精の成功
Yanagimachi and Chang 1963
(文献2より)

29年後に産子が誕生

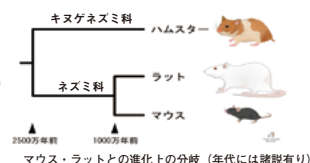


体外受精由来産子の誕生
Barnett and Bavister 1992
(文献10より)

図1. ゴールデンハムスターの実験動物としての長所と短所。



容易に区別できる先体反応前 (左) と反応後精子 (右)



ノックアウトハムスターの誕生

上記のとおり、医生物学研究における現在の主役はマウスであるが、その実験動物としてのマウス地位を固めたのがES細胞の開発であろう。当時、マウスES細胞は、キメラマウスを経て、安定して次世代のゲノムに寄与できる唯一の細胞であった。そこでジーンターゲティング技術をES細胞

に応用することによって、初の遺伝子ノックアウトマウスが誕生した⁽¹⁴⁾。同様の目的でハムスターにおいてもES細胞樹立の試みが行われ、多能性を持つ4株の樹立が報告されたが⁽¹⁵⁾、その後キメラ実験に関する報告はない。もう一つのノックアウト動物作出法である核移植クローン技術は家畜で実用化されているものの、体外受精産子を得ることさえ難しいハムスターでは実施はほぼ不可能である。以上の事情によって、近年までノックアウトハムスター作出の道はほぼ完全に閉ざされていた。

しかし、ゲノム編集技術によって状況は一変した。特にガイドRNAを変えるだけで自在に遺伝子を破壊できるCRISPR/Cas9法の登場によって、マウス以外の哺乳動物にもノックアウト個体作出の道が開かれた。2013年のCRISPR/Cas9法によるノックアウトマウス作出の報告⁽¹⁶⁾に続き、早くも2014年には、中国鄭州大学と米国ユタ大学のグループが同様の方法でノックアウトハムスターを作出した⁽¹⁷⁾。同グループは、前核注入法を用いており、その詳細は動画プロトコル誌に掲載されている⁽¹⁸⁾。その後、いくつかのノックアウトハムスターの報告があるが、特にハムスターの生理学的特性を利用して強力に研究が進められているのが、高コレステロール・動脈硬化疾患研究である。ヒトとマウスでは血清リポタンパク質の代謝が異なるため、これに関連する因子のノックアウトマウスの表現型の解釈については、議論が続いている。一方、ハムスターの血清リポタンパク質の代謝

はヒトに類似していることから、CRISPR/Cas9技術を応用した優れたモデルが開発されている。例えば、余分なコレステロールを肝臓に送り込むHDLの働きに必要なLCAT（レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ）を欠損させたハムスターは、ヒトと同様に高コレステロール血症と動脈硬化様病変を呈しやすくなる⁽¹⁹⁾。同じグループから、LDL受容体ノックアウトハムスター⁽²⁰⁾およびApoC2ノックアウトハムスター⁽²¹⁾も作出され、その疾患モデルとしての有用性が報告されている。

In vivo transfection法によるノックアウトハムスターの作出

以上のように、マウスでは難しい実験モデル動物がハムスターで作出できる可能性は高いものの、ノックアウトハムスターを顕微注入操作によって作出するための技術的なハードルは極めて高い。そこで私たちが着目したのが、東海大学の太田正人教授らが開発したGONAD（Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery）法である⁽²²⁾。GONAD法は、受精卵を含む卵管にゲノム編集用のCas9 mRNAとガイドRNAを注入し、ピンセット型電極によりelectroporationを実施するものである。この方法は完全なin vivo transfection法であるので、ハムスターのように胚が体外環境に弱い動物でもゲノム編集が可能になる。私たちの研究室においても、オリジナルのGONAD法によりマウスのノックアウト系統が作出できること

を確認したが、どうしてもノックアウトハムスターは作出できなかった。しかし、EGFP mRNAは卵管上皮に導入されること、蛍光デキストリンは受精卵へ導入されること、透明帯を弱める還元型グルタチオンの同時注入による導入効率の上昇など、さまざまな実験結果から、Cas9 mRNAがハムスター受精卵の透明帯を通過しにくいことが判明した。そこでCas9 mRNAの代わりにCas9タンパク質を用いたところ、すぐにノックアウトハムスターが作出できるようになった。このCas9タンパク質を用いる改良法は、太田教授によりi-GONAD法として発表され⁽²³⁾、現在ではラットでも広く用いられている⁽²⁴⁾。

私たちは、最初にチロシナーゼのノックアウトを試み、直ちにホモノックアウトのアルビノハムスターを得た（未発表）。次に私たちの専門分野の一つである受精に関わるタンパク質のノックアウトを試みた。実は、これまで受精に関わる（と予想される）因子のノックアウトマウスが数多く作出されているが、その多くは明確な表現型を示さない⁽²⁵⁾。その典型例の一つが、精子先体の主要な酵素（セリンプロテアーゼ）であるアクロシンのノックアウトマウスである。アクロシンノックアウトマウスの雄は正常な妊性を持ち、その精子は体外受精でも正常に卵子を受精できる⁽²⁶⁾。これはアクロシンノックアウトラットでもほぼ同様の結果であった⁽²⁷⁾。そこで私たちは、アクロシンノックアウトハムスターの作出を試み、ガイドRNAを同時に複数用いること

により、作出に成功した。その結果、アクロシンノックアウト雄は完全に不妊であり、その精子は透明帯を通過できないことが明らかになった⁽²⁸⁾ (図2)。卵子の透明帯を除去すれば、ノックアウト精子でも卵子と受精できる (図2)。マウスとラットの精子は、他の哺乳動物の精子に比べて、先体が小さいことが知られている。ラットとマウスでは、先体酵素アクロシンに依存しない精子の透明帯通過機構が進化したのかもしれない。

次に私たちがノックアウトを行ったのは、生殖細胞における PIWI-piRNA 系の因子である。piRNA は低分子 RNA の一つで、その結合タンパク質である PIWI とともにトランスポゾンのはたらきを抑え、生殖細胞を守っている。しかし、マウスは他の哺乳動物と異なり、PIWI タンパク質が卵子には存在しないため、PIWI ノックアウトは雄のみ不妊の表現型を呈し、雌における PIWI-piRNA 系の役割は不明であった。そこで、私たちは piRNA 産生に必須のヘリカーゼである MOV10L1 のノックアウトハムスターを作出し、チェコの共同研究者がその解析を行った。その結果、ノックアウト雄は無精子症になり、さらに雌も不妊になることが明らかになった。よって、PIWI-piRNA 系が雌の生殖機能にも必須であることが初めて示されたが、意外にも卵子は作られ、受精卵も得られた。不妊の原因は、受精卵の2細胞期停止であった⁽²⁹⁾。なお、ほぼ同時に慶應大学の塩見春彦教授のグループが、注入法によるノックアウトハ

ムスターの実験系を立ち上げ、卵子に発現する PIWI タンパク質である PIWIL1 と PIWIL3 のノックアウトハムスターを作出した⁽³⁰⁾。これらの研究の詳細は、本連載の次回に記載される予定である。

終わりに

私たちの研究室では、以上の例以外にも、さまざまな分野の共同研究者とともにノックアウトハムスターを作出し、マウスでは明らかにできなかった遺伝子の機能を明らかにしつつある。このように、以前には全く夢物語だったノックアウトハムスターが容易に作れるようになったのは、CRISPR/Cas9 のゲノム編集法および i-GONAD 法の開発のおかげであると言える。今後、ハムスターが広く生命科学に使われるためには、さらにノックイン技術の開発、そして系統保存法の開発が必要である。ハムスター胚のガラス化保存法はすでに報告されているが⁽³¹⁾、より再現性の高い方法の開発が望まれる。一方で、最近、別の想定外の問題がハムスターに生じている。ハムスターの利点である、高い繁殖能が落ちてきている傾向が見られているのである。交

配後の妊娠率の低下、母親による産子の食殺、PMSG 過排卵処理後の性周期の乱れなどが顕著であり、我が国のハムスターを利用しているほとんどすべての研究室の悩みとなっている。もともと遺伝的にはほとんど均一なはずなので、何か遺伝的な要因以外の影響が生じているのかもしれない。この問題の解決も、ハムスターの有用性を高めるために必須である。

- 1) Imai M et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 14. 16587-16595 (2020)
- 2) Yanagimachi R, M C Chang. Fertilization of hamster eggs in vitro. *Nature* 200 281-282 (1963)
- 3) Uehara T, Yanagimachi R. Microsurgical injection of spermatozoa into hamster eggs with subsequent transformation of sperm nuclei into male pronuclei. *Biol Reprod*. 15. 467-470 (1976)
- 4) Ogura A, Yanagimachi R. Round spermatid nuclei injected into hamster oocytes from pronuclei and participate in syngamy. *Biol Reprod*. 48. 219-225 (1993)
- 5) Toyoda Y et al. Studies on the fertilization of mouse eggs in vitro. I. In vitro fertilization of eggs by fresh epididymal sperm. *Jpn. J. Anim. Reprod*. 16. 147-151 (1971) (in Japanese).
- 6) Kimura Y, Yanagimachi R. Intracytoplasmic sperm injection in the mouse. *Biol Reprod*. 52. 709-720 (1995)
- 7) Schini S A, Bavister B D. Two-cell block to development of cultured hamster embryos is caused by phosphate and glucose. *Biol Reprod*. 29. 1183-1192 (1988)
- 8) Bavister B D, Arlotto T. Influence of

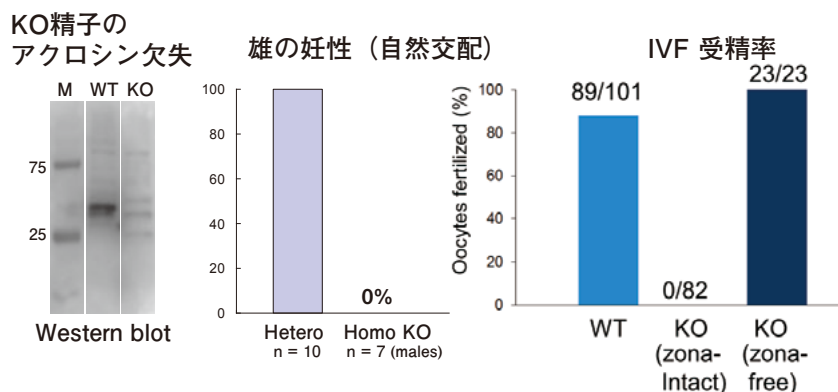


図2. アクロシンノックアウト雄ハムスターの表現型。マウスと異なり、アクロシンノックアウト雄ハムスターは、完全不妊の表現型を呈する。

- single amino acids on the development of hamster one-cell embryos in vitro. Mol Reprod Dev. 25. 45-51 (1990)
- 9) Kane M T, Bavister B D. Protein-free culture medium containing polyvinylalcohol, vitamins, and amino acids supports development of eight-cell hamster embryos to hatching blastocysts. J Exp Zool. 247. 183-187 (1988)
 - 10) Barnett D K, Bavister B D. Hypotaaurine requirement for in vitro development of golden hamster one-cell embryos into morulae and blastocysts, and production of term offspring from in vitro-fertilized ova. Biol Reprod. 47. 297-304 (1992)
 - 11) Ogura A et al. Birth of pups after Intra-ovarian bursal transfer of hamster zygotes. J Reprod Dev. 41. 339-343 (1995)
 - 12) Yamauchi Y et al. Full-term development of golden hamster oocytes following intracytoplasmic sperm head injection. Biol Reprod. 67. 534-539 (2002)
 - 13) Hirose M et al. The golden (Syrian) hamster as a model for the study of reproductive biology: Past, present, and future. Reprod Med Biol. 18. 34-39 (2019)
 - 14) Capecchi M R. The new mouse genetics: altering the genome by gene targeting. Trends Genet. 5. 70-76 (1989)
 - 15) Doetschman T et al. Establishment of hamster blastocyst-derived embryonic stem (ES) cells. Dev Biol. 127. 224-227 (1988)
 - 16) Wang H et al. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. Cell. 153. 910-918 (2013)
 - 17) Fan Z et al. Efficient gene targeting in golden syrian hamsters by the CRISPR/Cas9 system. PLoS One. 9. 109755 (2014)
 - 18) Li R et al. Production of genetically engineered golden syrian hamsters by pronuclear injection of the CRISPR/Cas9 complex. J Vis Exp. 131. 56263 (2018)
 - 19) Dong Z et al. Loss of LCAT activity in the golden syrian hamster elicits pro-atherogenic dyslipidemia and enhanced atherosclerosis. Metabolism. 83. 245-255 (2018)
 - 20) Guo X et al. LDL receptor gene-ablated hamsters: a rodent model of familial hypercholesterolemia with dominant inheritance and diet-induced coronary Atherosclerosis. EBioMedicine. 27. 214-224 (2018)
 - 21) Gao M et al. ApoC2 deficiency elicits severe hypertriglyceridemia and spontaneous atherosclerosis: A rodent model rescued from neonatal death. Metabolism. 109. 154296 (2020)
 - 22) Takahashi G et al. GONAD: Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery system: a novel microinjection independent genome engineering method in mice. Sci Rep. 22. 11406 (2015)
 - 23) Channabasavaiah B G et al. Creation of CRISPR-based germline-genome-engineered mice without ex vivo handling of zygotes by i-GONAD. Nat Protoc. 14. 2452-2482 (2019)
 - 24) Kobayashi T et al. Successful production of genome-edited rats by the rGONAD method. BMC Biotechnol. 18. 19 (2018)
 - 25) Okabe M. Sperm-egg interaction and fertilization: past, present, and future. Biol Reprod. 99. 134-146 (2018)
 - 26) Baba T et al. Sperm from mice carrying a targeted mutation of the acrosin gene can penetrate the oocyte zona pellucida and effect fertilization. J Bio Chem. 269. 31845-31849 (1994)
 - 27) Isotani A et al. A delayed sperm penetration of cumulus layers by disruption of acrosin gene in rats. Biol Reprod. 97. 61-68 (2017)
 - 28) Hirose M et al. Acrosin is essential for sperm penetration through the zona pellucida in hamsters. Proc Natl Acad Sci USA. 117. 2513-2518 (2020)
 - 29) Loubalova Z et al. Formation of hamster's spermatogonia and fertile oocytes requires piRNAs. Nat Cell Biol. (2021) (in press)
 - 30) Hasuwa H et al. Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters. Nat Cell Biol. (2021) (in press)
 - 31) Lane M et al. Containerless vitrification of mammalian oocytes and embryos. Nat Biotechnol. 17. 1234-1236 (1999)



貴重なデータを保持した実験動物を
安全・確実・清潔に全国へお届けします。

お客様の多彩なニーズにお応えできる車両をご用意

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



マウス・ラット輸送箱
滅菌した輸送箱を事前にお届け致します。

サル輸送ケージ
特定外来生物の飼養等の許可を受けているケージをご用意しております。

ブタ用荷台柵
ケージに入らないブタ・遺伝子改変ブタにご対応致します。



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



最大 1 億円の車両保険

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

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

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

葛生運送

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

ゴールデンハムスターゲノムと遺伝子

蓮輪 英毅¹⁾、塩見 春彦²⁾

1) 慶應義塾大学 医学部動物実験センター

2) 慶應義塾大学 医学部分子生物学教室

はじめに

ゴールデンハムスター (Golden Syrian hamster/golden hamster : *Mesocricetus auratus*) はヒトの生理学および薬理学的反応に似た多くの特徴を示すため、ヒトの病気、特に癌の発症研究や生殖研究に早くから実験動物として用いられてきた歴史がある。しかしながら、マウスやラットのように近交系が十分に樹立されていないこと、ゲノム情報が不足していること、卵子や初期胚が光、温度、pH などの影響を受けやすく発生工学技術の応用が難しいことから、遺伝子機能を解析するモデル動物として利用されることはなかった。ところが、次世代シーケンス技術によるゲノム DNA や遺伝子発現解析の発展がゴールデンハムスターの可能性について新たな道を作り始めた。本稿では、ヒト疾患モデル動物として利用するために不可欠な、ゴールデンハムスターゲノム DNA と遺伝子の情報について紹介する。

ゴールデンハムスターゲノム

マウスが生命科学研究の中心的な実験動物となったのは、飼育管

理面から遺伝子改変技術など多岐にその理由があるが、その中の1つにゲノム配列情報の充実が挙げられる。2000 年以前はマウスゲノムもラムダファージのゲノムライブラリーからスクリーニングしてそれぞれの研究者が 10kb 程度のゲノム配列を独自に取得することが主であった。そのため、ノックアウトマウス作製もプラークハイブリダイゼーション法によるゲノム DNA のスクリーニングに始まり、キャピラリーやゲル板を用いたサンダーシーケンスでゲノム情報を取得し、ターゲティングベクターをデザイン構築する必要があった。その後、NCBI やセセラ社のゲノム情報が充実し、任意のゲノム配列を簡単に PCR で増幅し利用できるようになり、ノックアウトマウス作製スピードが加速し、多くの研究者がノックアウトマウスを作製・解析できるようになった。このように、ゲノム情報は遺伝子機能と生命現象の関わりを理解するために必要不可欠な情報である。

ゴールデンハムスターの染色体数は $2n = 44$ で総長は 2.4 ギガ塩基長、21 対の常染色体と性

染色体で構成されている。ゴールデンハムスターのドラフトゲノム配列解析は Broad Institute で実施され、2013 年に公開されている (MesAur1.0, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000349665.1/)。このゴールデンハムスターゲノム配列はゲノムの 17% がギャップ (N) となっており、2 万以上の断片化された配列となっている (表 1)。2019 年には Baylor College of Medicine の Aiden らによって、Oxford Nanopore によるロングリード、染色体立体配座捕捉法 (Hi-C : high-throughput chromosome conformation capture) により、22 本の染色体レベルの配列にアップデートされた (MesAur1.0_HiC, DNA Zoo : <https://www.dnazoo.org/post/chewsing-a-better-assembly-for-covid-19-research>)。しかしながら、依然として 16% のギャップが存在する状態であった。そのため、筆者らの研究グループはさらに PacBio による長鎖配列解析を組み合わせ、ギャップ配列を 0.25% まで大きく減少させたゴールデンハムスターのゲノム配列を構築した¹ (DDJB アクセ

ッションナンバー PRJDB10770) (表1)。このゴールデンハムスターのゲノムアセンブリには、4,104個のシングルコピー遺伝子のうち3,991個の完全な遺伝子 (97.2%)が含まれている非常に高品質なゲノムであることが確認された。また、このギャップが少ないゲノム配列はトランスポゾン (転移因子) のマッピングも可能にし、SINE、LINE、LTR レトロトランスポゾン、および DNA トランスポゾンがゴールデンハムスターゲノムの9.2%、16.9%、12.1%、1.3%を占めることが明らかになった。トラン

スポゾンの割合は、マウスやラットと同等であるが、SINE の割合が高く LINE の割合は低くなっていた。より詳細に解析した結果、ゴールデンハムスターのゲノムを特徴づける若いトランスポゾンを見出した。具体的には、ゴールデンハムスターに固有の B1 SINE のサブファミリー、LINE-1 の3つのグループ (中でも特に L1-4_MAU と L1-5_MAU)、LTR レトロトランスポゾンの ERV2 ファミリー (完全長あるいはLTRや逆転写酵素ドメイン) がゲノム中に挿入されていた。今回、筆者

らが再構築したゴールデンハムスターゲノムはギャップを少なくすることで、遺伝子情報だけでなくゲノム上の多くの領域を占めるリピート配列の情報もカバーしている。UCSC ゲノムブラウザで利用できるバージョンを公開しているので利用していただきたい (図1) (<http://siomilab.med.keio.ac.jp/hamster>)。

PIWI遺伝子

次世代シーケンス技術により様々な哺乳動物のゲノム配列が明らかになると、先に述べたトラ

表1 ゴールデンハムスターゲノムデータの比較

	Ensembl reference (MesAur1.0)	DNA zoo (MesAur1.0_HiC)	Our draft genome
Number of scaffolds	21 484	22	22
Total bases	2 504 925 039	2 351 684 983	2 302 785 321
Max length	79 790 405	158 839 776	155 812 073
Min length	1000	29 446 437	29 820 714
Average length	116 595	106 894 772	104 672 060
Number of gaps	216 216	199 141	594
Total bases of gaps	428 748 785 (17%)	367 776 424 (16%)	5 784 938 (0.25%)

*Ishino et al. 2021 を改変

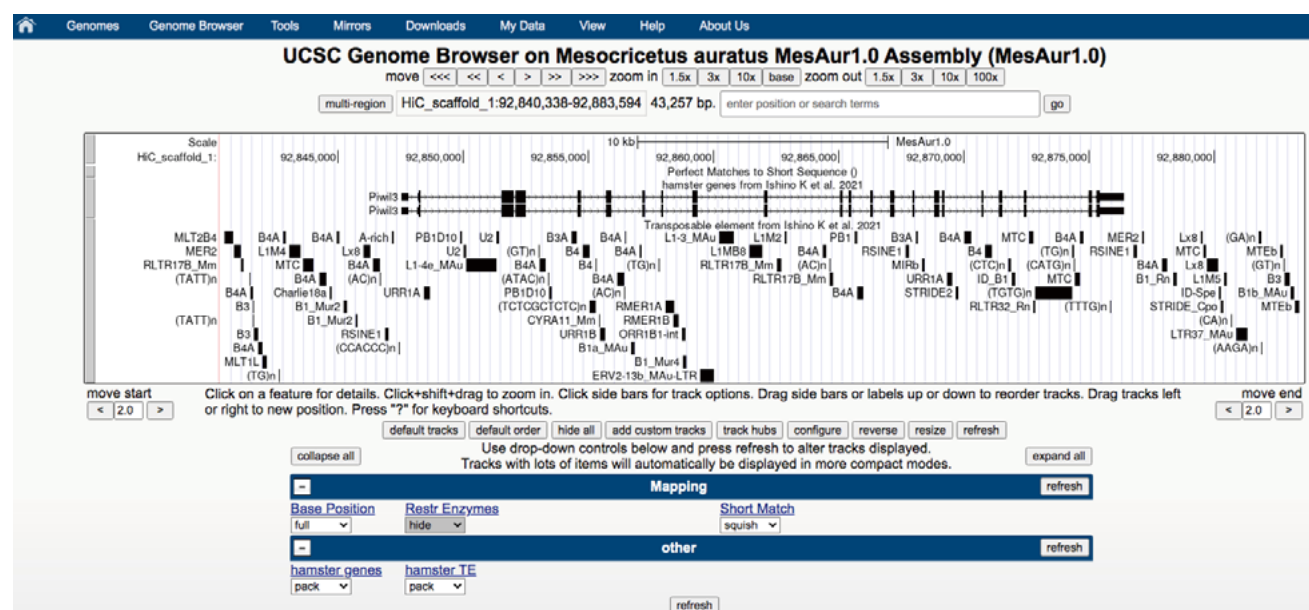


図1 新たに構築したゴールデンハムスターゲノム

本稿の執筆時点ではゲノム配列と遺伝子およびトランスポゾンの情報を表示することが可能である。本文中のURLあるいはQRコードからアクセスできる。



ンスポゾンだけでなく、タンパク質をコードする遺伝子も動物種間で異なっていることが見えてきた。その例として、PIWI 遺伝子ファミリーについて解説する。PIWI 遺伝子は哺乳類だけでなく多くの動物に保存された遺伝子群である。それらは生殖細胞に特異的な小分子 RNA である piRNA (25-33 塩基長) の生合成に関与し、PIWI-piRNA 複合体を形成する。PIWI-piRNA 複合体はゲノムの構造変化を引き起こしたり、piRNA の相補性を利用して標的となる RNA に干渉し遺伝子の発現を制御する。マウスでは 3 種の *Piwi* 遺伝子 (*Piwi1*, *Piwi2*, *Piwi4*) が存在する。それらを欠損したノックアウトマウスの雄は不妊の表現型を示す。マウスの雄性生殖細胞特異的に *Piwi* 遺伝子は発現しており、*Piwi* 遺伝子の欠損は精子形成不全を引き起こす。*Piwi4* (*Miwi2*) は出生前後の雄性生殖細胞に発現している。PIWIL4 はプレパキテン piRNA と複合体を形成し、トランスポゾン DNA をメチル化しトランスポゾンの発現を抑制する^{2,3}。*Piwi1* (*Miwi*) は減数分裂のパキテン期から、伸長精子細胞で発現している。パキテン piRNA と複合体を形成し、主な機能は転写後の標的 RNA に干渉し遺伝子の発現を調整している⁴⁶。*Piwi2* (*Mili*) は出生前後と減数分裂期に発現しており、プレパキテン piRNA とパキテン piRNA の両方と複合体を形成する。そのため、*Piwi4* と同様にパ

キテン期前の段階で精子形成が止まる⁷。*Piwi1* のみが減数分裂後まで精子形成が進むが円形精子細胞の段階で止まる⁴。一方でマウスの雌性生殖細胞 (卵細胞) では *Piwi* 遺伝子の発現が弱く目立った表現型を示さないため、PIWI-piRNA 経路は哺乳類の卵子形成において機能しないと考えられている。これらの解析結果から、哺乳動物における *Piwi* 遺伝子は雄の生殖細胞でのみ機能し、正常な精子形成に不可欠な分子群であると理解されている。

ところが、近年、多くの哺乳動物のゲノム情報や遺伝子情報が明らかになると、ほとんどの哺乳動物は 4 種の PIWI 遺伝子 (*PIWIL1*, *PIWIL2*, *PIWIL3*, *PIWIL4*) を有し、*PIWIL1* と *PIWIL3* が卵巣で強く発現していることが明らかになった。そのため、ヒトをはじめとする多くの哺乳動物ではマウスと異なる PIWI-piRNA 経路が雌の生殖細胞に備わっている可能性がある。実際に最近の研究で、ヒトやウシは 4 種の PIWI 遺伝子を持ち、それらの卵子には piRNA 様の分子が多く存在することが報告

されている⁸⁻¹¹。ゴールデンハムスターは、マウスとは異なりヒトと同様に 4 種の PIWI 遺伝子を有していることが、私達が新たに構築したゲノム配列から明らかにされた¹。図 2 で示すようにゴールデンハムスターの *PIWIL3* 遺伝子は *WSCD2*, *SGSM1* 遺伝子には含まれたゲノムの領域に存在している。マウス、ラットゲノムでも同様の位置関係を示す領域があるが、そこには *PIWIL3* は存在せず進化の過程で *PIWIL3* は脱落し、一方、*PIWIL3* と同等の機能 (*PIWIL3* が担う機能と同等の他の遺伝子発現制御の仕組み) をマウスとラットは獲得したものと考えられる。

ゴールデンハムスターの PIWI 遺伝子の機能に話を戻すと、*PIWIL1* と *PIWIL3* は卵子で強く発現しており、それぞれに特徴的な長さの piRNA が結合していることが明らかになっている¹。具体的には①排卵前の卵巣では *PIWIL1* には 29-30 塩基長の piRNA が結合し、*PIWIL3* には piRNA が結合していないこと、②排卵後の未受精卵では *PIWIL1*

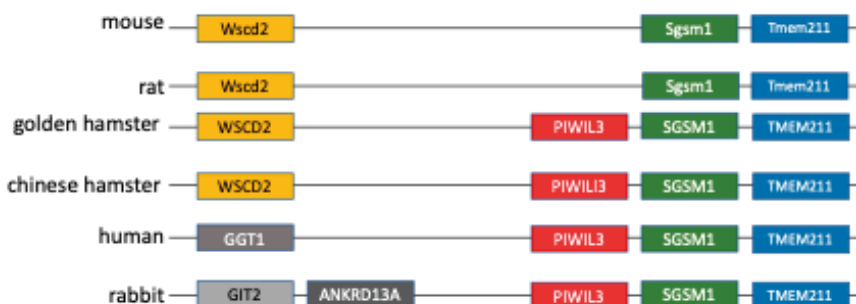


図2 哺乳動物のPIWIL3遺伝子とその近傍の遺伝子
Ishino et al., 2021 を改変

には22-23, 29-30塩基長、PIWIL3には18-20塩基長のpiRNAが結合していること、③2細胞期胚ではPIWIL1には22-23塩基長のpiRNAが結合していること、PIWIL3にはpiRNAが結合していないことが明らかになっている。このように卵子や胚ではPIWIタンパク質とpiRNAは時期特異的な変化を起こし、生命現象を演出していることが推測される。実際に、筆者らのグループはPIWIL1およびPIWIL3を欠損したゴールデンハムスターの卵子由来の胚が初期発生異常を示すことを明らかにしている¹²。PIWIL1を欠損した卵子由来の胚は2細胞期までしか発生せず、PIWIL3を欠損した卵子由来の胚は初期発生の遅延や卵割異常を示した。また、チェコのSvobodaと理研バイオリソースセンターの小倉らのグループもpiRNAの生合成に必須のMOV10L1遺伝子を欠損したゴールデンハムスターを作製し、PIWIL1と類似した表現型を示すことを明らかにしている¹³。これらの結果は卵子におけるPIWI-piRNA経路が哺乳動物の発生に必須であることを示すものである。

PIWI遺伝子以外にも理研バイオリソースセンターの小倉らのグループは、マウスやラットにも遺伝子は存在するがその機能がノックアウト動物では明確に示すことができなかったACROSINについて、ゴールデンハムスターを用いてACROSIN欠損が雄の不妊を引

き起こすことを証明している¹⁴。近年立て続けに報告された遺伝子欠損ゴールデンハムスターを用いた解析結果は、マウスを用いた研究では得られないものであり、哺乳動物の遺伝子解析におけるゴールデンハムスターの価値が示されたとと言っても過言ではないだろう。

おわりに

ゴールデンハムスターは胚操作が困難である点やマウスにくらべて多くの飼育スペースが必要になるといったマイナスの面があるが、それらを遥かに上回るメリットがある。近年、社会を混乱させているCOVID-19の感染モデルとしても利用され、短期間に多くの知見をもたらしている¹⁵。免疫の分野でもヒトとマウス間での細胞表面マーカーの違いや刺激にตอบสนองし分泌されるサイトカインに違いがあることを、研究者は知っている。現時点ではゴールデンハムスターがヒト型なのかマウス型なのか分からないが、今後の研究で明らかになっていくだろう。ゴールデンハムスターはマウスでは実現できなかった遺伝子の機能解析を可能にするだけでなく、よりヒトに近い疾患モデル動物として、今後の生命科学研究や医学研究に大きく貢献していくことが期待される。そのとき、今回筆者らが構築したゴールデンハムスターゲノムが役に立てば幸いである。

1. Ishino K *et al.*, Hamster PIWI proteins bind to piRNAs with stage-specific size variations during oocyte

- maturation. *Nucleic Acids Research* **49**, 2700-2720 (2021).
2. Carmell A *et al.*, MIWI2 is essential for spermatogenesis and repression of transposons in the mouse male germline. *Dev Cell* **12**, 503-514 (2007).
3. Watanabe T *et al.*, MIWI2 targets RNAs transcribed from piRNA-dependent regions to drive DNA methylation in mouse prospermatogonia. *EMBO J* **37**, (2018).
4. Deng W *et al.*, miwi, a murine homolog of piwi, encodes a cytoplasmic protein essential for spermatogenesis. *Dev Cell* **2**, 819-830 (2002).
5. Reuter M *et al.*, Miwi catalysis is required for piRNA amplification-independent LINE1 transposon silencing. *Nature* **480**, 264-267 (2011).
6. Vourekas A *et al.*, Mili and Miwi target RNA repertoire reveals piRNA biogenesis and function of Miwi in spermiogenesis. *Nat Struct Mol Biol* **19**, 773-781 (2012).
7. Kuramochi-Miyagawa S *et al.*, Mili, a mammalian member of piwi family gene, is essential for spermatogenesis. *Development* **131**, 839-849 (2004).
8. Hirano T *et al.*, Small RNA profiling and characterization of piRNA clusters in the adult testes of the common marmoset, a model primate. *RNA* **20**, 1223-1237 (2014).
9. Sasaki T, A. Shiohama, S. Minoshima, N. Shimizu, Identification of eight members of the Argonaute family in the human genome. *Genomics* **82**, 323-330 (2003).
10. Roovers F *et al.*, Piwi proteins and piRNAs in mammalian oocytes and early embryos. *Cell Rep* **10**, 2069-2082 (2015).
11. Yang Q *et al.*, Single-cell CAS-seq reveals a class of short PIWI-interacting RNAs in human oocytes. *Nat Commun* **10**, 3389 (2019).
12. Hasuwa H *et al.*, Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters. *Nature cell biology* (2021). DOI: 10.1038/s41556-021-00745-3
13. Loubalova Z *et al.*, Golden hamster piRNAs are necessary for early embryonic development and establishment of spermatogonia. *Nature cell biology* (2021). DOI: 10.1038/s41556-021-00746-2
14. Hirose M *et al.*, Acrosin is essential for sperm penetration through the zona pellucida in hamsters. *Proc Natl Acad Sci USA* **117**, 2513-2518 (2020).
15. Imai M *et al.*, Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *P Natl Acad Sci USA* **117**, 16587-16595 (2020).

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

総説：Nanobody

北里大学 大村智記念研究所 ウイルス感染制御学
戸高 玲子、芳賀 慧、片山 和彦

はじめに

ラクダ科の動物、アルパカ (Vicugna pacos) やリャマ (Lama glama) などの抗体は、我々同様に2つの重鎖 (H鎖: Heavy chain) と軽鎖 (L鎖: Light chain) からなるIgG抗体のほかに、H鎖のみからなる重鎖抗体 (HCAb: Heavy chain antibody) が存在する。存在比率は、IgGの約20～40%程である。この特徴的なHCAbは、L鎖と結合して安定したヘテロダイマー構造を維持する必要が無い場合、重鎖定常領域 (CH1: Heavy chain constant region 1) が欠落しており、可変領域がコンパクトに折り畳まれている。HCAbの可変領域をVHH (variable domain of heavy chain of heavy chain antibody) という^[1]。VHHの分子量は12～15kDaであり、ヘテロダイマーからなる通常の抗体のFab断片よりも小さく、VHHだけでも抗体として機能することからNanobodyと呼ばれ、医薬品や診断薬への応用が期待されている。

本稿では、近年注目されている抗体薬としての側面だけでなく、総合的な医薬品、診断薬への応用が可能な新規モダリティとしてのNanobodyについて概説する。

Nanobodyの歴史と特徴

Nanobody (図1D) は、ラクダ科の動物の有するHCAb (図1B) の可変領域部分VHHのみを発現させ、利用することを考案したベルギーの企業Ablynx[®]社が名付けたリコンビナントVHHのことである。このリコンビナントVHHは、長さ4nm、幅2.5nm、分子量15kDの大きさの単一の分子であり、モノクローナル抗体として機能する^[2, 3]。従来のH鎖、L鎖のヘテロダイマーからなる通常のモノクローナル抗体 (mAb、図1A) に比べ、Fc領域が無く、さらに、L鎖 (L) とH鎖定常ドメイン (CH) が欠如しているため、非常にコンパクトな分子である。

Nanobodyは、以下に示す代表的な3つの特徴を有している。第一は、相補性決定領域 (CDR: complementarity-determining regions) を3箇所所有していることである。CDRは、3～28アミノ酸 (AAs) からなり、ヒトVHドメイン (H鎖の可変ドメイン; 8～15アミノ酸からなる) と同様か、あるいはさらに長くなっている。第二は、標的抗原への結合様式である。通常のmAbは、標的抗原の凸面を好んで認識する傾向があるが、NanobodyのCDR領域は、指状構造を形成し、標的分子の窪みや隙間、谷間に結合す

ることに加え、平面や凸面にもピンポイントのアミノ酸残基の認識で結合することができる。この特徴はNanobodyの結合親和性や特異性を高めるだけでなく、受容体結合ポケットや酵素活性部位を含む新規薬理標的の発見を可能にする^[4,6]。さらに、CDR1, 2, 3はそれぞれ別のエピトープを認識し、単一の抗体上に複数のパラトープが存在可能であり、複数の分子を繋ぐように結合することもある。第三に、Nanobodyは優れた安定性、親水性、水溶性を示し、様々な異なる条件においても結合親和性を維持できる。発現させたNanobodyを凍結乾燥させ、粉体化しても水分を含めば速やかに可逆的に構造が復帰し、優れた結合力を発揮する。このような性質は、フレームワーク領域 (FR: framework regions) の鍵となるアミノ酸残基を置き換えることでさらに補強できる (図1C)^[7-9]。その他にも、Nanobodyは様々な特徴を有する。しかしその特徴は、使用目的によってはメリットではなくデメリットになることもある。

Nanobodyの大きさは、腎臓の糸球体膜の濾過閾値を下回っているため、ペプチドや低分子タンパク質と同じように速やかに尿を介して排泄されることが知られてい

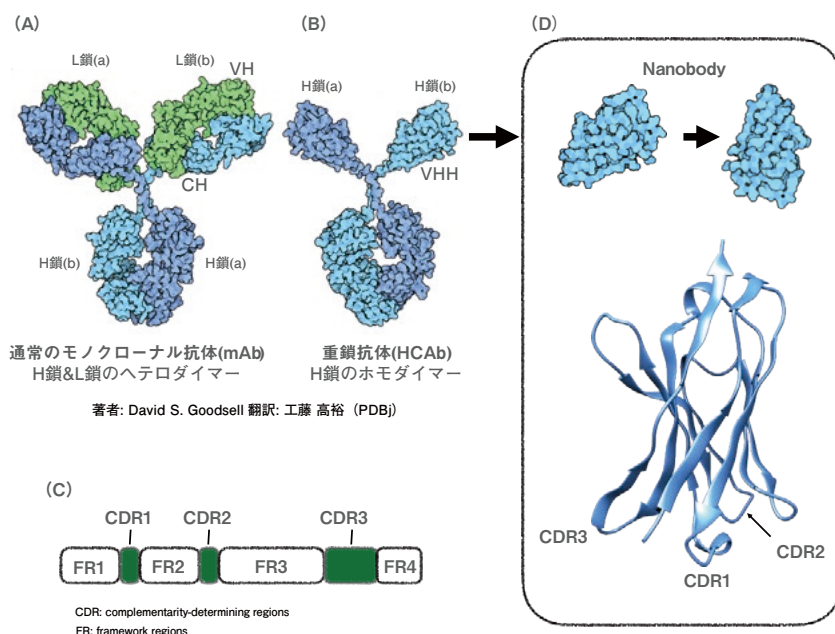


図1. 通常の抗体とNanobodyの違い

(A) 通常のモノクローナル抗体 (mAb) はH鎖&L鎖のヘテロダイマーでできている。(B) 重鎖抗体 (HCAb) はH鎖のホモダイマーからできている。HCAbの変換領域をVHHと呼ぶ。(C) VHHの遺伝子はこうになっている。CDRは相補性決定領域であり、FRはNanobodyの構造を保つために重要な役割を果たす部分。この遺伝子を微生物に導入してタンパク質合成を行うと、(D) に示したNanobodyが発現する。

Nanobodyが腎臓に集まり排泄されていくため、画像の取得は困難になる。このような現象を回避するため、Nanobodyはグリコシル化、PEG化、またはアルブミン結合ユニットとの融合などの修飾を与え、その血中半減期を延長させつつ、腎貯留を低下させる工夫が施されることがある^[16,17]。このようなNanobodyの修飾は治療薬としての安定性と薬効の増強を図ることができる。また、ヒト抗体のFcドメインをNanobodyに融合させたキメラ抗体を作出すれば、胎児性Fc受容体による抗体のリサイクル経路が働き、血中抗体濃度と維持時間とを延長できる。しかし、Fcドメインの付加は、Nanobodyに免疫細胞媒介性または補体依存性細胞傷害の機能を付加してしまう。このような性質の付与は、用途によっては求められない場合もある。

Nanobodyは、先述のとおりラクダ科の動物から発見されたHCAbのVHH部分を利用したものであり、ヒト体内には存在しないタンパク質である。そのため、人体に投与する場合、Nanobodyの由来元である動物のVHH部分に対する抗体が誘導される心配がある。このような副反応を避けるため、Nanobodyのヒト化が行われる。ヒト化には、一般的にCDR-graftingが用いられる。CDR-graftingとは、組換えDNA技術を使って、NanobodyのCDR1～3以外をすべてヒト由来の配列に変更し、ヒトに対する抗原性を低減する方法である。具体的なヒト化は、NanobodyのFR1～4を全て相同性が高いヒト配列と置き換えることにより実施

ラクダ科由来Nanobody

ヒト型ユニバーサルNanobody

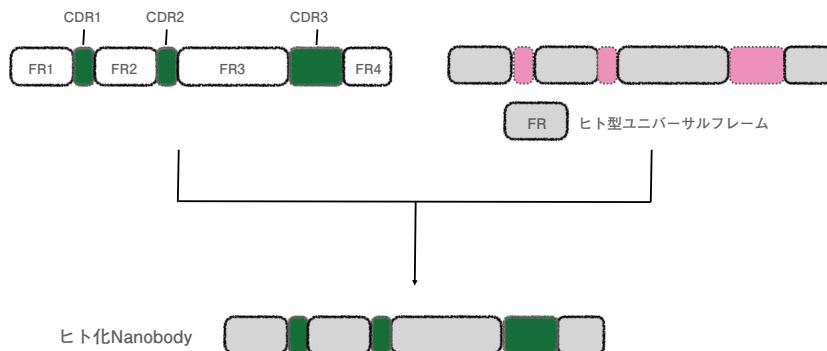


図2. ヒト型Nanobodyの作製

ラクダ科Nanobody由来のFRを、ヒト型ユニバーサルNanobody由来のFRに組み替えることでヒト化する。

る^[10-12]。このような迅速なクリアランスは、静注薬として利用する場合、血中濃度を保つことができず、そのままの形状では薬効を保つことが難しい場合がある。その一方、Nanobodyを用いた標的分子のイメージングを行う場合、画像トレーサーとしてラベルし

たNanobodyを注入後、バックグラウンド信号の強度が速やかに低下するため、標的部位の画像が速やかに取得可能であり、標的部位以外に与えるダメージを最小限に止めることができる^[13-15]。ただし、腎臓内または腎臓に隣接する部位に標的部位がある場合、

する。図2に模式図を示した^[18]。

治療用Nanobody

Nanobody は、抗原特異的結合能を有する最小のタンパク質構造体と考えられる。遺伝子配列合成からタンパク質構造体の産生まで、試験管内で実施可能であり、抗ウイルス剤として期待されている。通常のモノクローナル抗体と同様に、Nanobody は膜貫通受容体や可溶性リガンドと結合して下流のシグナル伝達経路を調節することができる^[19]。Nanobody の長い CDR ドメインは、モノクローナル抗体が到達できないエピトープに結合することができるため、標的エピトープは、分子内に折りたたまれたペプチド配列でも良く、そこに手を伸ばすように CDR を挿入して結合することができる^[46]。VHH の遺伝子进行操作することにより、多価または多重特異的な Nanobody を調製して、従来の抗体と同様またはより強い結合を発揮できるようにすることもできる。我々は、このような Nanobody の特長を生かし、VHH-cDNA ディスプレイライブラリーより、SARS-CoV-2 S1 タンパク質に対する VHH を *in vitro* で選択した (図3)。この方法では、 10^{13-14} 種類の多様な cDNA ライブラリーから SARS-CoV-2 S1 タンパク質に高い親和性を示す Nanobody を選択し、同時にその Nanobody の遺伝子配列も入手できる。スクリーニングは極めて迅速であり、我々は、僅か2週間で SARS-CoV-2 S1 タンパク質特異的

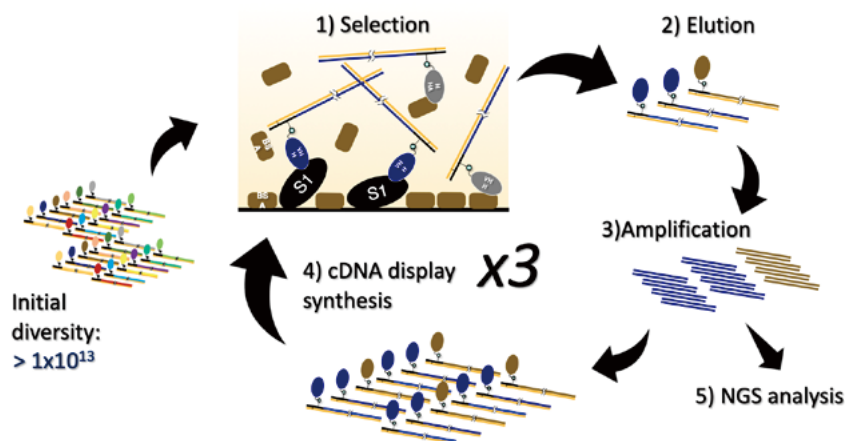


図3. VHH cDNAディスプレイライブラリーからのスクリーニングの模式図

1) 抗原に対する反応、2) 溶出、3) PCRによる核酸増幅、4) cDNAディスプレイを合成し直し、行程1) から繰り返す。この作業を3~5回実施して、特異性の高いNanobodyを得る。5) 選択されたNanobodyの遺伝子配列情報は次世代シーケンサー (NGS) で得られる。

な結合能力を有し、且つウイルス感染を中和する活性を持つ Nanobody を得ることができた。この Nanobody は、COVID-19 の小動物モデルであるシリアンハムスターへの SARS-CoV-2 の感染・COVID-19 の治療において顕著な効果を示した^[20]。Nanobody は、Fc ドメインを有さないため、通常の抗体が有する免疫細胞媒介性または補体依存性細胞傷害の能力を持たないが、別の抗炎症性ペプチドで修飾するなど、多機能タンパク質/ペプチドを形成させれば、急性呼吸器疾患などで問題となるサイトカインストームを抑えつつ、ウイルスの中和によって治療効果を増強させるようにデザインすることも可能である。

分子イメージング用Nanobody

異なる同位体または蛍光団による標識をした Nanobody は、単光子放出コンピュータ断層撮影

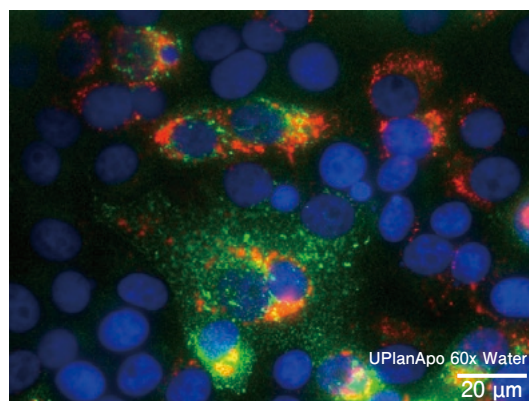


図4. SARS-CoV-2感染後32時間後のVero細胞の免疫染色
青色は細胞核、核の周りの細胞質全体にウイルスタンパク質 (緑: Sタンパク質、赤: NSP8) が発現している。(細胞固定、北里大・片山ら、免疫染色、理研・宮脇ら)

(SPECT)、ポジトロン放出断層撮影 (PET)、光イメージングなどの標準的な画像技術を用いて、非侵襲的に生体内または細胞内の標的分子の挙動を追跡することができる。さらに、標的分子とリガンドとの相互作用を、高感度かつ定量的に可視化することも可能である^[8,21,22]。我々は、現在、理化学研究所の宮脇敦史博士らとの共同研究において、抗 SARS-CoV-2 S タンパク質 Nanobody と彼らの開発した高輝度かつ退色のない蛍光タンパク質を融合タンパク質として発現、修飾して、SARS-

CoV-2 感染細胞内における S タンパク質の挙動を追跡している (図 4)。

診断薬としての Nanobody

ハイデルベルグ大学のハンスマン博士らは、ヒトに急性胃腸炎を起こす主な原因ウイルスであるヒトノロウイルスのイムノクロマトグラフィーによる診断薬に、Nanobody を利用した。ヒトに感染するノロウイルスは、遺伝的に多様な集団からなり、40 種類以上の抗原性が異なる遺伝子型に分類されている。診断薬では、これら全てのヒトに感染するノロウイルスを認識できる特異性の高い抗体が数種類要求されるが、それらを従来のモノクローナル抗体で準備するのは、高い特異性と広い反応スペクトルという相反するファクターを兼ね備えるブロードレンジモノクローナル抗体を作出するの必要があり、非常に難しい。彼らは、複数の異なる遺伝子型のヒトノロウイルスのウイルス様中空粒子 (VLP) を固相化表面に敷き詰め、それを標的に 10^8 種類以上のバラエティーを有するアルパカ由来の Nanobody ライブラリースクリーニングに供した。スクリーニングによって得られた Nanobody の CDR は、ノロウイルス粒子の安定したアミノ酸領域に深く入り込み、抗原性の大きく異なる 4 つの遺伝子型 (GII.4, GII.10, GII.12, GII.17) を認識可能であった。このように、Nanobody の特徴を生かし、優れた診断薬として利用することが可能である [23]。

おわりに

本稿では、Nanobody の概略、

特徴、それを用いた診断・療法の最先端技術について概説した。Nanobody の治療薬への利用は急速に進んでおり、SARS-CoV-2 に対する抗体薬の開発競争に目を向けると、短期間に非常に熾烈な開発競争が展開されていることが分かる。Nanobody は、全く動物に依存せずに作出可能な人工合成抗体として、治療薬、分子イメージング試薬、診断薬の新たなモダリティとして、今後ますます活用されていくと思われる。

引用文献

1. Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, Robinson G, Hamers C, Songa EB, et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature* 363(6428):446–8, 1993.
2. Revets H, De Baetselier P, Muyldermans S. Nanobodies as novel agents for cancer therapy. *Expert opinion on biological therapy* 5(1):111–24, 2005.
3. Wolfson W. Ablynx makes nanobodies from llama bodies. *Chem Biol* 13(12):1243–4, 2006.
4. Muyldermans S, Atarhouch T, Saldanha J, Barbosa JA, Hamers R. Sequence and structure of VH domain from naturally occurring camel heavy chain immunoglobulins lacking light chains. *Protein Eng* 7(9):1129–35, 1994.
5. Lauwereys M, Arbabi Ghahroudi M, Desmyter A, Kinne J, Holzer W, De Genst E, et al. Potent enzyme inhibitors derived from dromedary heavy-chain antibodies. *EMBO J* 17(13):3512–20, 1998.
6. Mujic-Delic A, de Wit RH, Verkaar F, Smit MJ. GPCR-targeting nanobodies: attractive research tools, diagnostics, and therapeutics. *Trends Pharmacol Sci* 35(5):247–55, 2014.
7. Van Audenhove I, Gettemans J. Nanobodies as versatile tools to understand, diagnose, visualize and treat cancer. *EBioMedicine* 8:40–8, 2016.
8. Oliveira S, Heukens R, Sornkom J, Kok RJ, van Bergen En Henegouwen PM. Targeting tumors with nanobodies for cancer imaging and therapy. *J Controlled Release* 172(3):607–17, 2013.
9. Ingram JR, Schmidt FI, Ploegh HL. Exploiting nanobodies' singular traits. *Annu Rev Immunol* 36:695–715, 2018.
10. Senders ML, Hernot S, Carlucci G, van de Voort JC, Fay F, Calcagno C, et al. Nanobody-facilitated multiparametric PET/MRI phenotyping of atherosclerosis. *JACC Cardiovas Imaging* 12(10):2015–26, 2019.
11. Debie P, Lafont C, Defrise M, Hansen I, van Willigen DM, van Leeuwen FWB, et al. Size and affinity kinetics of nanobodies influence targeting and penetration of solid tumours. *J Controlled Release* 317:34–42, 2020.
12. Rossotti MA, González-Techera A, Guarnaschelli J, Yim L, Camacho X, Fernández M, et al. Increasing the potency of neutralizing single-domain antibodies by functionalization with a CD11b/CD18 binding domain. *mAbs* 7(5):820–8, 2015.
13. Vaneycken I, D'Huyvetter M, Hernot S, De Vos J, Xavier C, Devoogdt N, et al. Immuno-imaging using nanobodies. *Curr Opin Biotechnol* 22(6):877–81, 2011.
14. Castelli MS, McGonigle P, Hornby PJ. The pharmacology and therapeutic applications of monoclonal antibodies. *Pharmacol Res Perspect* 7(6):e00535, 2019.
15. Nejadmoghadam MR, Minai-Tehrani A, Ghahremanzadeh R, Mahmoudi M, Dinarvand R, Zarnani AH. Antibody-drug conjugates: possibilities and challenges. *Avicenna J Med Biotechnol* 11(1):3–23, 2019.
16. Harmsen MM, van Solt CB, Fijten HP. Enhancement of toxin- and virus-neutralizing capacity of single-domain antibody fragments by N-glycosylation. *Appl Microbiol Biotechnol* 84(6):1087–94, 2009.
17. Pan H, Liu J, Deng W, Xing J, Li Q, Wang Z. Site-specific PEGylation of an anti-CEA/CD3 bispecific antibody improves its antitumor efficacy. *Int J Nanomed* 13:3189–201, 2018.
18. Cecile Vincke et al. *J Biol Chem* 284:3273–3284, 2009.
19. Menzel S, Schwarz N, Haag F, Koch-Nolte F. Nanobody-based biologics for modulating purinergic signaling in inflammation and immunity. *Front Pharmacol* 9:266, 2018.
20. bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2021.04.09.439147>; this version posted April 9, 2021.
21. Chakravarty R, Goel S, Cai W. Nanobody: the “magic bullet” for molecular imaging? *Theranostics* 4(4):386–98, 2014.
22. De Vos J, Devoogdt N, Lahoutte T, Muyldermans S. Camelid single-domain antibody-fragment engineering for (pre)clinical in vivo molecular imaging applications: adjusting the bullet to its target. *Expert Opin Biol Ther* 13(8):1149–60, 2013.
23. Doerfinger SY, Tabatabai J, Schnitzer P, et al. Development of a Nanobody-Based Lateral Flow Immunoassay for Detection of Human Norovirus. *mSphere* vol.1(5) e00219-16, 2016.

(日動協ホームページ、LABIO21
カラーの資料の欄を参照)

長崎大学BSL-4施設

長崎大学 感染症共同研究拠点・BSL-4 施設設置準備室長
教授 安田 二郎

はじめに

COVID-19 のパンデミックは、発生から1年半以上の年月が経過してもなお終息の見通しが立たない状況である。既に全世界で1億9千万人以上の感染者、4百万人以上の死者が報告されており(2021年7月20日現在)、人々の生命や健康を脅かすだけでなく、従来の社会活動が大きく制限されることになり、経済にも深刻な影響を与えている。人類は改めて感染症の脅威を認識させられる状況となっている。

感染症を制圧あるいは制御するためには、感染症を引き起こす病原体の増殖機構や病態発現機構の解明、ワクチン・治療薬の開発などが必要である。その為には、人類の英知を結集させて研究・開発を進めなければならない。病原体はそのリスクに応じてバイオセーフティレベル(BSL) 1-4の何れかに分類され、研究開発を進めるためには病原体のBSLに応じた封じ込めレベルの実験室で安全に病原体を取り扱うことが求められる。しかしながら、現在、わが国には平時の研究開発に利用可能な最高レベルの安全度のBSL-4施設はない。COVID-19の病原体である新型コロナウイルス(SARS-

CoV-2) はBSL-3であるが、今後も既存の感染症や新興感染症が新たな脅威となる可能性が高く、BSL-4病原体による感染症も例外ではない。したがって、すべてのBSLの病原体に対応可能なようにBSL-4施設を国内に整備することは喫緊の課題である。

予てより、国内の感染症研究者の間ではBSL-4施設の必要性が認識されており、長崎大学が中心となり多くの学術コミュニティ、関係団体等の協力を得てBSL-4施設設置計画を進めてきた。そして、2021年7月末にいよいよ長崎大学キャンパスにBSL-4施設が竣工する。

そこで、本稿では、この施設竣工を機に長崎大学のBSL-4施設設置の経緯、必要性、施設仕様、今後の展望などについて紹介する。

経緯

わが国では、1981年に国立感染症研究所(以下、感染研)村山庁舎にBSL-4施設が整備されたが、近隣住民等の反対により30年以上もの間、BSL-4としては運用されて来なかった。

1976年以降中部アフリカでは繰り返しエボラウイルス病のアウトブレイクが発生し、また、

西アフリカでは毎年推計5千人以上がラッサ熱で死亡しており、1987年にはラッサ熱の輸入症例がわが国でも報告されている。これらBSL-4の病原体による感染症のみならず、今世紀に入ってから、重症急性呼吸器症候群(SARS)、中東呼吸器症候群(MERS)など新興感染症が次々と出現する中、感染症の脅威が身近なものとして認識されるようになった。

このような社会情勢を受け、2006～2008年度に実施された内閣府科学技術振興調整費「高度安全実験(BSL-4)施設を必要とする新興感染症対策に関する調査研究」では、BSL-4施設の必要性と新たなBSL-4施設の設置が提言され、新たなBSL-4施設の建設地として「基盤的研究の遂行を考慮すれば、地域は必ずしも大都市部に限定される必要はないが、他の研究施設・機関との連携が可能な地域であるべきである。即ち、大学等の研究施設が周辺にあるなど科学的基盤が十分に整備されている地域を考慮すべきである。」と提言された。

その後、いくつかの大学、研究機関においてBSL-4施設の設置が検討されたが、具体的な進

展は見られなかった。そんな中、2010年5月に長崎大学の片峰茂学長（当時）はBSL-4施設設置の検討を開始することを学長メッセージとして公表し、外部有識者を含めた学長ワーキンググループを立ち上げた。また、同時に地域住民や地元団体等への説明、BSL-4施設や感染症に関する公開講座などを始めた。これら説明会や公開講座、地域住民との協議会の開催数は現在までに計200回を数える。

2014年3月には、日本学術会議から「我が国のバイオセーフティレベル4施設の必要性について」の提言書が出され、主に下記5項目が提言された。

(1) 重篤な感染症の対策上、病原体分離に基づく検査を行い得るBSL-4施設が必要である。

(2) 重篤な感染症に対する対策および国際貢献の観点から、病原体検査に加え、病原体解析、動物実験、治療法・ワクチン開発等の研究が可能な最新の設備を備えたBSL-4施設の新設が必要である。

(3) 新施設の建設には、大学等の研究機関がある等、科学的基盤が整備されている場所が望まれる。また、地震等自然災害による使用不能事態に備えてできれば複数の地域に建設することが望ましい。

(4) 新施設の建設に当たっては、地元自治体、地域住民とのコミュニケーションを準備段階からとり、十分な合意と理解と信頼

を得つつ進める必要がある。

(5) 新施設は国が管理・運営に責任を持ち、また、国の共同利用施設としての組織運営がなされるべきである。

2015年6月には、長崎県、長崎市、長崎大学による感染症研究拠点整備に関する基本協定も締結されたが、国からの施設建設予算の獲得など多くの課題が存在していた。大きな転機となったのが、2014～2016年西アフリカで発生した史上最大規模のエボラウイルス病のアウトブレイクであった。わが国でも輸入症例の疑いが8件報告され、それまでBSL-4施設を迷惑施設のように報道していたメディアの扱いが180度転換し、わが国でBSL-4施設が稼働していないことが国家的な危機として報道されるようになった。それに伴い、国民の認識もBSL-4施設＝感染症対策に必要な施設として変化していった。こうして、わが国におけるBSL-4施設稼働が喫緊の課題としてメディアでも取り上げられるようになり、我々の活動にも追い風になっていった。

こうした状況の中、30年以上BSL-4施設としての使用が凍結されていた感染研村山庁舎のBSL-4施設に関して、2015年8月に武蔵村山市長の同意のもと感染症に基づくBSL-4施設の指定が厚生労働大臣によってなされた。ただ、村山庁舎のBSL-4施設の使用は、「感染者の生命を守るために必要な診断や治療等

に関する業務に特化する。」となっており、現在も基本的には平時のBSL-4研究に使用することはできない。

そこで、政府は、2016年2月関係閣僚会議においてBSL-4施設を中核とした感染症研究拠点の形成を重点施策に決定し、さらに同年11月には同じく関係閣僚会議において長崎大学のBSL-4施設設置計画を国策として進めるとともに長崎大学への支援など「国の関与」を決定した。これを受けて、長崎大学では、2017年4月にBSL-4施設設置計画を担当する感染症共同研究拠点（研究部門、人材育成部門、施設安全管理部門、地域連携部門、総務部門の5部門で構成）が学長直下に組織された。

長崎大学のBSL-4施設

本学のBSL-4施設は、文部科学省によって建設費等が措置され、2018年12月に工事が開始された。2021年7月末の竣工予定で現在最終整備が進められている。免震構造・鉄骨鉄筋コンクリート造地上5階建て建築面積

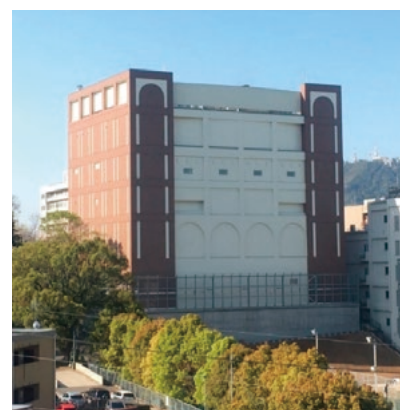


写真1 長崎大学BSL-4施設の外観

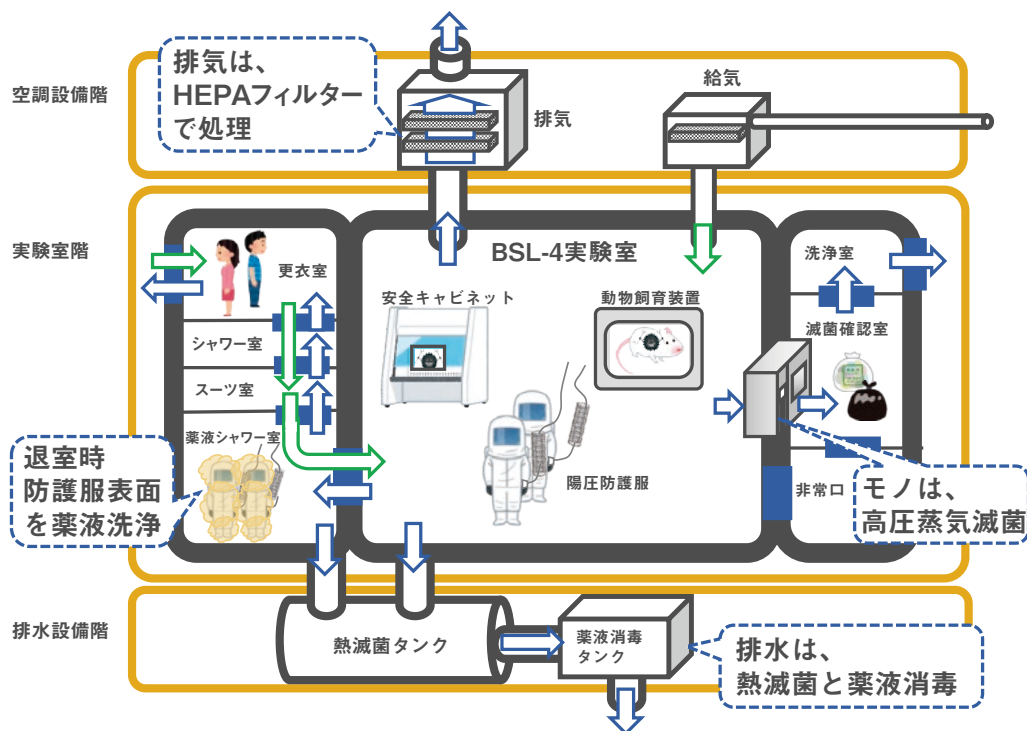


図1 病原体封じ込めのためのBSL-4実験室の基本構造

約1,300m²、延床面積約5,200m²の建物であり、独立2系統のBSL-4実験室を有している（写真1）。各系統には*in vitro*実験用のBSL-4実験室と*in vivo*実験用のABSL-4実験室が整備されている。ABSL-4実験室には小動物用（マウス、ハムスター、モルモットなど）の飼育室に加えて、中動物用の飼育室及び処置室もあり、非ヒト霊長類を用いた感染実験も実施可能な仕様になっている。ABSL-4実験室には、生体反応を同一個体で経時的にリアルタイム観察することが可能な小動物及びサル用のCT装置、*in vivo*蛍光／発光イメージングシステムも完備されている。

BSL-4実験室の仕様としては、クラスⅢの安全キャビネットを一次封じ込めの基本システムとするキャビネット型と陽圧防護

服を着用してクラスⅡの安全キャビネットで作業するスーツ型（写真2）の2タイプあるが、長崎大学のBSL-4施設はスーツ型を採用している。実験室内において、実験者が着用する陽圧防護服には実験室内に配置されているチューブを介して常に空気が送り込まれるため、万が一にも実験者が防護服外の病原体に暴露しないよう陽圧状態が確保される。

BSL-4実験室においては、安全運用のために、バイオセーフティ、バイオセキュリティの観点から主に以下のような対策がとられている（図1）。

(1) 入退室管理：施設およびBSL-4実験室への立ち入りは、厳格な教育訓練と資格審査を経て許可された者に限定される。各

エリアには複数のセキュリティシステムがあり、入退室もすべて記録される。

(2) 密封構造と陰圧管理：BSL-4実験室エリアは気密性の高い密封構造となっており、さらに、奥の実験室に行くほど室圧が低くなるように制御されている。

(3) 入室と作業：実験室への入室と室内での作業は、緊急時対応と相互監視の両面から必ず二人1組で実施する。

(4) 監視：実験室内での作業は常時中央監視室からモニターで監視される。

(5) 陽圧防護服：実験者は更衣室で実験衣に完全更衣し、シャワー室を通過し、スーツ室で陽圧防護服を着用し、薬液シャワー室を通過してBSL-4実験室に入室する。退室する際には陽圧防護服を着たまま薬液シャワー



図2 世界のBSL-4施設

を浴び、スーツ室で陽圧防護服を脱ぎ、シャワー室手前で実験衣も脱ぎ、シャワーを浴びた後、更衣室で着衣して退出する。

(6) 病原体操作：病原体容器の開封や開放系での実験操作はクラスⅡ安全キャビネット内でのみ行う。

(7) 排気：実験室内の空気はすべて2重以上のHEPAフィルターで清浄化した後、外部へ排気される。給気もHEPAフィルターを通して行われる。

(8) 排水：実験室内および薬液シャワー室からの廃水はすべて高温滅菌および薬液処理された後、環境負荷のない状態で外部に排出される。

(9) 実験室で使用した廃棄物はすべて貫通型の壁面オートクレープで滅菌した後に外部に搬出する。毎回、インジケーターを用いて滅菌状態の確認を行う。

現在、世界には24か国・地域に59以上のBSL-4施設が設置されている（図2）。世界で最初の

BSL-4施設が設置されて50年以上経過するが、BSL-4施設から病原体が出て外部に被害をもたらしたという事例は1件もなく、この施設の安全度を証明するものである。

施設内にはBSL-2及び3の実験室もあり、サンダーシーケンサー、次世代シーケンサー、リアルタイムPCR装置、セルソーター、共焦点レーザー顕微鏡のほか各種バイオイメージ解析装置なども整備されている。遺伝子解析、生化学的解析、免疫学的解析、病理解析など感染症研究に必要なほとんどすべての解析を施設内で完結できるような設備仕様になっている。

おわりに

私は2010年12月に長崎大学熱帯医学研究所に赴任し、約11年間BSL-4施設設置プロジェクトに従事してきた。西アフリカのエボラウイルス病の流行以前は国や関係省庁に働き掛けても門前払いに近い状況であったが、

多くの関係者の努力の結果、何とか施設竣工にまでこぎつけることができた。しかしながら、施設の竣工はゴールではなく、単なる通過点に過ぎない。稼働までには、各種規則やマニュアルの整備、恒常的な安全運用に必要な人材や安定的な運用資金の確保など課題は山積している。これらの課題を一つずつクリアしていきつつ、今後、厚生労働大臣からBSL-4施設としての指定を受け、さらに特定一種病原体の所持に関する大臣指定も受け、いよいよ本格稼働となる。その時点でようやく諸外国と同じ土俵で感染症研究を実施できるようになる。

長崎大学のBSL-4施設は全国の研究者が利用できる施設である。全国の研究者がこの施設に集まり、切磋琢磨することで感染症対策に資する優れた研究成果が多く出され、多くの優れた人材がこの施設から輩出されていくことが期待される。長崎大学BSL-4施設は、感染症研究・人材育成の両面から世界トップレベルの研究拠点を目指す。



写真2 陽圧防護服（南アフリカ国立伝染病研究所にて）

厚生労働省所管機関における動物実験 — 厚生労働科学特別研究事業の実施報告 — (I)

国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所
山海 直

はじめに

2020年度、厚生労働科学特別研究事業「厚生労働省所管の機関における動物実験関連基本指針の遵守徹底および適正な動物実験等の方法の確立に向けた研究」を実施した。本特別研究事業は2016年度の厚生労働科学特別研究事業「厚生労働省の動物実験の基本指針に基づく外部検証等の実施方法に関する特別研究」を受けて採択されたと理解している。2016年度の特別研究では、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」（以下、基本指針とする。）の対象となり得る機関の遵守状況を調査した。また、自己点検及び評価の具体的な項目および外部検証の実施方法、さらに情報公開に関する課題を整理し、方法等について提案した。それから4年が経過したこと、この間に「動物の愛護及び管理に関する法律」（以下、動物愛護管理法とする。）の一部が改正されたこともあり（令和元年6月19日公布、令和2年6月1日施行）、この時期に再度、

基本指針の遵守状況を把握することに大きな意義が認められた。

LABIO21より、2020年度の本特別研究について紹介する機会をいただいたので、3回に分けてその実施概要と成果について報告する。本稿では、目的、意義の説明を中心に概要を示し、次回からはより具体的に研究成果を提示していく予定である。

以下、研究報告書や事後報告資料等の内容を抜粋して概要を紹介していくこととする。

1 研究目的

基本指針の前文には、「動物実験等により得られる成果は、人及び動物の健康の保持増進等に多大な貢献をもたらしてきた」とあり、さらに「動物実験等は、動物の生命又は身体の犠牲を強いる手段であり、動物実験等を実施する者はこのことを念頭におき、適正な動物実験等の実施に努める必要がある」と明記されている。この基本指針の基となる動物愛護管理法の一部が改正され、動物の不適切な取扱いへの対応等について強化された

ことからわかるように、動物愛護の観点がより一層重要視されている。加えて、同法附則において、代替法の利用、使用動物数の削減等の動物の適正な利用の在り方について検討することとされている。また、統合イノベーション戦略2019や第二期の健康・医療戦略に基づく医療分野研究開発推進計画においても、基本指針等に則った適正な動物実験等の実施について示されており、政府としても重要な位置づけとしている。そこで、動物愛護管理法および基本指針を踏まえた適正な動物実験の実施を推進していくために、動物実験の各施設での対応等の実態を把握し、「代替法の利用」、「使用動物数の削減」に対する考え方を整理して基本指針の遵守徹底に向けた調査研究を実施することとした（図1）。

基本指針の遵守に関する現状を把握、整理することは、科学的観点に基づく適正な動物実験を推進するために必須かつ喫緊の課題であった。厚生労働省は、これまで継続して、厚生労働省

の所管する動物実験実施機関において動物愛護の観点に配慮しつつ科学的観点に基づく適正な動物実験等が実施されるよう周知徹底を図ってきた。2016年度厚生労働科学特別研究において、基本指針の遵守状況を把握するための大規模調査を実施し、基本指針を適正に理解し行動できるように外部検証や情報公開の具体的な手法についてまとめている。以後、厚生労働省の所管する研究機関等における対応状況については、厚生労働省が毎年調査を行いホームページで公表している。一方、その公表されている内容は大枠の事項に限られていること、前回の特別研究による調査から時間が経過していることから、あらためて実態の把握に努め、改正された動物愛護管理法の附則で触れられている「代替法の利用」と「使用動物数の削減」について、その考え方を整理することは大きな意義があった。

本特別研究は、動物愛護管理法はもちろんのこと統合イノベーション戦略2019等に記載されているとおり、我が国全体で対応が必要な課題に集中的に取り組むものであり、基本指針の遵守徹底に資する効果が期待された。

2 研究方法

方法の詳細は、次号以降で紹介することとし、本稿では概要を示すこととする。

本研究は、アンケート調査と

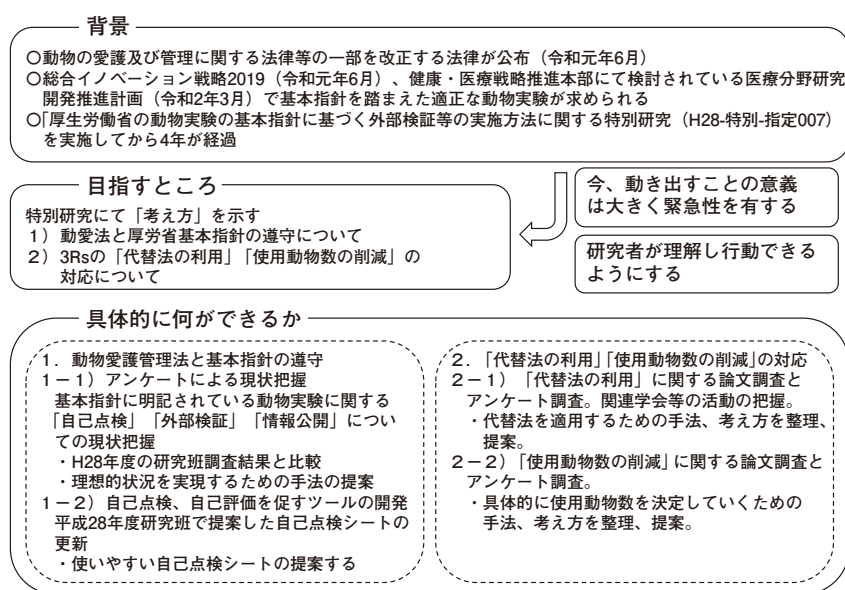


図1 特別研究の計画概要

論文調査により情報を収集し、現状を把握した上で分析を進めるという手法を採用したため、研究班は、動物実験の在り方、とくに3Rs（「代替法の利用」、「使用動物数の削減」、「苦痛の軽減」）に詳しい研究者で構成した（表1）。

以下の二つの課題を取り上げ、それぞれ二つの項目について検討した。

1) 動物愛護管理法と基本指針の遵守について

1-1. アンケートによる現状把握

基本指針に明記されている動物実験に関する「自己点検」「外部検証」「情報公開」と「使用動物数の削減」や「代替法の利用」に関して調査し、2016年度の特別研究の結果と比較して状況の変化について解析した。

1-2. 自己点検、自己評価を促すツールの開発

点検項目は、2016年度特別研

究の成果である「自己点検自己評価表の内容」を基本とし、国際動向にも対応できる内容とした。PDFファイルに自動変換されるなど、情報公開等に活用できるようなシステムとした。

2) 「代替法の利用」「使用動物数の削減」への対応について

2-1. 「代替法の利用」のための考え方の整理、提案

論文調査とアンケートにより情報を収集した。さらに、ヒアリングを実施して日本動物実験代替法評価センター等の情報を収集し国内外の状況を分析、整理し代替法利用の考え方をまとめた。

2-2. 「使用動物数の削減」のための考え方の整理、提案

論文調査とアンケートにより状況を把握することに努め、ヒアリングを実施して動物実験計画の立案、再現性ある実験方法、結果の解析等について理解を深

め使用動物数削減の考え方をまとめた。

3 研究結果

詳細は次号以降で提示することとし、本稿では概要を紹介する。

今回のアンケートにおいて、動物実験を実施している機関の半数以上が民間であること、動物実験を実施している機関が減少し外部委託する機関が増加していることなどが明らかになった。また、基本指針を遵守する機関が増えていることを示す結果が得られたが目指している100%ではなかった。

機能的かつ国際情勢にも配慮した内容の自己点検・評価シートを作成した。このシートは、簡便性かつ操作性にも優れたものであり、自己点検の実施を促すツールとなって、このシートの活用により動物実験施設における基本指針の遵守状況のさらなる改善につながるものであった。

代替法の利用の実現には、情報収集のみならず、それを活用、応用する知識と開発力が必要となる。新規代替法の開発、既存の代替法の改良、国際的なバリデーションの実施など、ステップを踏んで取り組むことの重要性について確認した。また、動物実験と代替法を組み合わせることで、代替法の利用を意識し、取り組み安くなる可能性が示された。

使用動物数の削減は、様々な

表1 班員構成

研究代表者	山海 直 (国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所)
研究分担者	牛山 明 (国立保健医療科学院)
	岡村 匡史 (国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所)
	小木曾 昇 (国立研究開発法人国立長寿医療研究センター研究所)
	塩谷 恭子 (国立研究開発法人国立循環器病研究センター研究所)
	高木 篤也 (国立医薬品食品衛生研究所)
	津村 秀樹 (国立研究開発法人国立成育医療研究センター研究所)

事項に配慮し熟考して動物実験に取り組むことで実現できることを確認した。動物実験実施前の立案は極めて重要な作業であり、動物種、系統、性別、年齢などの絞り込みから始まり、実験方法、得られた結果の解析方法などを十分に考えて実施する必要があることが示された。

4 考察

アンケート結果の解析により、動物実験を実施する機関が減少していることが判明したが、外部機関に動物実験を委託する企業が増加していた。動物実験は、安易に実施できないという理解が浸透している一方、責任回避につながる可能性があるという見方もできる。また、すべての質問項目が、2016年度の調査結果よりも改善されていた。このことは、動物実験に関わるわが国の体制が良好な方向に向かっていることを示しており、厚生労働省や各機関関係者の努力の結果であると評価できるが、基本指針はすべての機関で遵守されることを目指さなければならない。これまでと同レベルかそ

れ以上の頻度と内容で、研修会等を継続、実施すべきであると考ええる。基本指針の遵守対象となる機関に多くの民間企業が含まれていることは、厚生労働省の特性と言える。その民間企業には、情報公開がなされていない機関が存在する。民間であるがための事情が存在すると理解できるが、このことについては2016年度の特別研究の報告書でまとめている。そこでは、第3者による検証を受け、その検証を実施したことを公開するという提案がなされており、今回の報告書において再度、周知することとした。

動物実験を実施する者、機関は、基本指針を遵守しなければならないことは十分承知していると思われた。基本指針には自己点検を実施するよう記載されているが、具体的に何を点検する必要があるかは触れられていない。今回作成した自己点検・評価シートは必須であると考えられる点検項目が挙げられており、その項目は国際的にも通用するよう配慮されたものになっている。未だ実施できていない

機関には、まずはこのシートを使って自己点検を実施することを勧めたい。

代替法の利用、使用動物数の削減は3Rsのうちの二つであり、動物実験に関わる者は常にそのことを意識していなければならない。ただし、具体的にどのように取り組めば良いのかわからないという者も少なくないかもしれない。本研究で関連情報を収集したが、実験ごとに対応が異なることも多く、まずは自分が計画している実験の関連情報を収集し、バリデーションの実施が重要となる。しっかりと意識して、代替法の利用、使用動物数の削減への取り組みを開始することが大切であり、その後はレベルを上げるという組織体制が必要になるのかもしれない。また、極端に意識しすぎて代替法の利用、使用動物数の削減に取り組むと、その実験そのものが中途半端になってしまう可能性がある。実験そのものが無駄になっては実験する意味がなくなるため注意が必要である。

本研究を実施している過程で、各機関がもつ総合的な意識レベルは非常に高いということを感じた。とくに民間企業は、基本指針のみならず国際的な流れの中で構築されたルールに則って運営することを目指す傾向がある。しかし、十分な情報が得られないがために、具体的にどのように対応すれば良いか、判断に困ることもあると思われた。動物実験の在り方は年月の経過

とともに進化しているが、普遍的な考え方は存在する。3Rsはその一つと考えられるが、内容ごとに具体的な手法が異なる可能性があるため細かな部分にまで指示が出されていない現状がある。よって、啓蒙する立場にある者は、各人、各機関で対応できるように考え方を示していくことが重要になってくると思われた。動物実験に関わる者が、もっとも身近で教育を受ける機会、各機関で実施される研修会かと思われる。動物実験分野においては、研修会の実施は各機関に任されているところが多く、研修内容の統一性に少なからずとも疑問がでてくる。人の材料を扱う者に対しては一般財団法人公正研究推進協会（APRIN, Association for the Promotion of Research Integrity）のeラーニングプログラムによる講習システムが広く浸透しており、研究費獲得時等には受講番号を提示する仕組みが構築されている。このようなシステムも決して完璧なものではないが、共通の講習を受講できるという大きな利点がある。動物実験分野においても類似のシステムを導入する時期がきていると思われる。

おわりに

世界的な新型コロナウイルスの蔓延という特別な年であったが、概ね予定通り議論を深め成果をまとめることができたと考えている。動物愛護管理法が改正されるなど、動物の福祉、倫

理に対し厳正に対処することが求められる現状で、厚生労働省の基本指針の遵守状況について解析できたことは大きな意義があった。2016年度特別研究の結果と比較しその変動を知ること、今後の厚生労働省の姿勢の決め方に影響する結果を示すことができたと考えている。本研究成果を踏まえて、令和3年6月には厚生労働省から同省が所管する事業を行う法人に対して「[厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針]の遵守徹底について（依頼）」の通知が発出されている。

医学研究は常に進化しており、動物実験の内容や形態も変化する。動物実験に関わる倫理、手法等の研究を適時実施することで、動物実験の適正化を浸透させることができると考えられる。本特別研究が、動物実験の適正化に少しでも貢献できることを願っている。なお、報告書は厚生労働科学研究成果データベースで公開されている。

謝辞

本特別研究において、基本指針の遵守状況が明らかに良い方向に向かっていることを示したが、さらなる周知・啓蒙活動を継続することが重要であり、LABIO21への掲載はその一助になります。LABIO21の貴重な書面にて、研究成果を紹介する機会を頂戴したことに対し厚く御礼申し上げます。

実験動物飼育管理の自動化に向けての検討とご提案

株式会社夏目製作所
営業部 山岸 義尚

1. はじめに

現代社会は急速なテクノロジーの発展が進んでおり、業界ごとに様々な自動化が提案されている。自動化というと、業務作業を補うものや、データ管理が自動化されるもの、さらには工場での生産ラインすべてが自動化されているものなど、種類も様々である。今回は実験動物飼育管理の自動化に向けての検討とご提案と題し、夏目製作所が考える自動化についてご紹介させていただく。実験動物飼育管理の自動化によって、日常の飼育管理がどのように変化するか、使用する製品がどのように変わり自動化されるか、またさらに浸透が進んだ際の未来の実験動物飼育管理はどのようなになるのか、という今後の展望についてもご紹介させていただく。

2. 自動化に向けての考え方

最初に、飼育管理の自動化を考えるなかでは、実験動物の福祉にしっかりと留意し、何のために自動化を進めていくのかを明確に

するべきと考える。実験動物管理業務がどのように効果的、効率的になり得るものか、またそれがどう実験や動物、関係者に影響するのかを考慮する必要がある。今回提案する中でのポイントは、実験動物飼育管理や動物実験の精度向上と人・施設に依存しない正確なデータ(環境や実験動物の基礎データなど)の収集を目的とする自動化であるということである。実験動物飼育管理の共通基準に

ついて務める時、施設内においての作業手順は満たしていても、実際に日常の飼育管理で実情や数値的データを把握することとは必ずしも一緒ではなく、基準を満足に満たしていくには手間がかかり労働量が多くなる。

このことにより、実験の精度向上や人・施設に依存しない正確なデータの収集が簡単にできれば、現状を早急に知ることができ、またこれを自動化することによっ

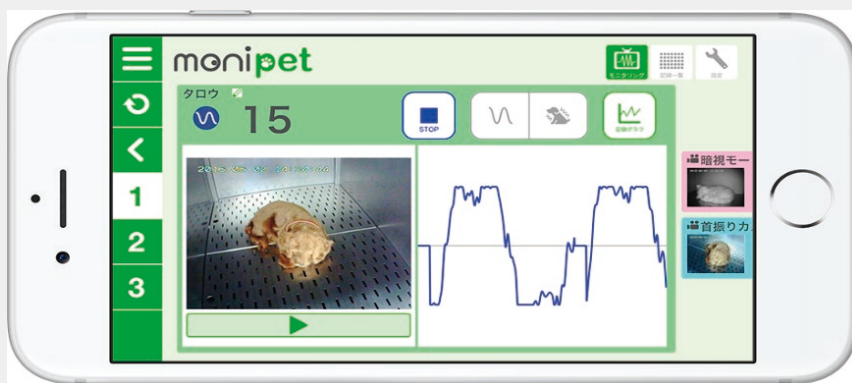


図1. 株式会社ジェイエスピー（神奈川県横浜市、以下「ジェイエスピー」）は、動物病院で獣医師・看護師をサポートする動物見守りシステム「monipet」を提供している。公式サイト：<https://www.monipet.com>

て、誰でもどの施設でも「均一な状態」の情報を獲得でき、実験の精度の向上に寄与できると考案する。実際に実現可能な「均一な状態」にする自動化の手法のとして今回二つの製品をご提案させていただく。

3. 動物見守りシステム

「monipet」とは

自動化製品のご提案をさせていただく前に、実用化されている製品「monipet」をご紹介します。この製品は、株式会社ジェイエスピー社の開発製品であり、この製品をベースとして、当社が実験動物飼育管理の自動化に向けて製品の開発と検討を行っている。動物見守りシステム「monipet」とは、手術後などの安静状態にあるペットの容体を記録し、異常を感知すると獣医師や看護師に即座にブザー音やモバイルアプリを通して、アラート通知が届くシステムである。24GHzマイクロ波レーダーを使用し、非接触で呼吸による微細なペットの体動を計測する。計測した体動はアプリ画面上で波形として表示され外出先や自宅でも異常を知らせる通知をリアルタイムに受け取れる。アプリからすぐに様子を確認できるため、入院中のペットの見守りを強力にサポートすることが可能だ。さらに居室内の温度・湿度・酸素濃度・二酸化炭

素濃度も常時計測・アプリ画面上で表示し、閾値を超えるとアラート通知が届くオプションもご利用いただける。(図1)

この製品を開発した背景は、全国の動物病院で獣医師が1人の施設は、令和3年5月時点で7,725箇所(※1)もあるにも関わらず、容体が深刻なペットや術後の麻酔覚醒を待つペットは、常に経過を観察していなければならないことがある。数多くの外来を受け持つ獣医師や看護師が同じペットのそばにいて経過観察を続けることは困難である。その課題を解決するために、「monipet」は、獣医師や看護師への負担を軽減するためのシステムとして、無人での見守りを可能にした。また、見守られる側のペットの負担を軽減するため非接触センサーを採用した。飼い主様にとって家族同然のペットに負担をかけずに、しっかりと見守ることができるシステムである。「monipet」の特長は、外出先や自宅から入院中のペットの容体を確認することが可能な点だ。「monipet」のアプリは、iPhone・Androidアプリ、またはWebブラウザ(Google Chrome推奨)で動作する。既存のパソコン・タブレット・スマートフォンで利用することができる。また、院内のネットワークは利用せず、個別のLTE回線でインターネット通信を実現するため、既存設備に影

響を与えず、大がかりな工事も不要で導入することが可能である。ペットに異常が起これると「アラート機能」で即座にお知らせすることができる。異常を感知すると、院内ではブザー音、外出先や自宅ではiPhone・AndroidアプリやEメールでお知らせする。設置するカメラは室内が暗くなると自動で暗視モードに切り替わるため、夜間の見守りにも対応可能。また、呼吸による微細な体動を1ヶ月分記録してグラフ化するため、夜間の体動状態も翌朝グラフで確認することもできる。

4. 実験動物飼育モニターシステムのご提案

前記述の「monipet」を、当社では実験動物飼育管理で応用ができるようを開良している。一つ目のご提案は実験動物飼育モニターシステムである。実験動物飼養保管基準のなかでも、動物の「観察」、「ケア」は大事であると何度も謳われており、ケージ内の実験動物の状態や環境記録を取ることが重要である。センサーユニットでケージ内/ラック内の環境データ収集を自動化して情報を転送する。具体的には、ケージ内酸素濃度・二酸化炭素濃度・温度湿度のデータの収集、体動/呼吸/二酸化炭素濃度異常アラート、その他の機能としてオンラインでのデータ閲覧、1ヶ月間のデー



図2. 実際の計測時の様子

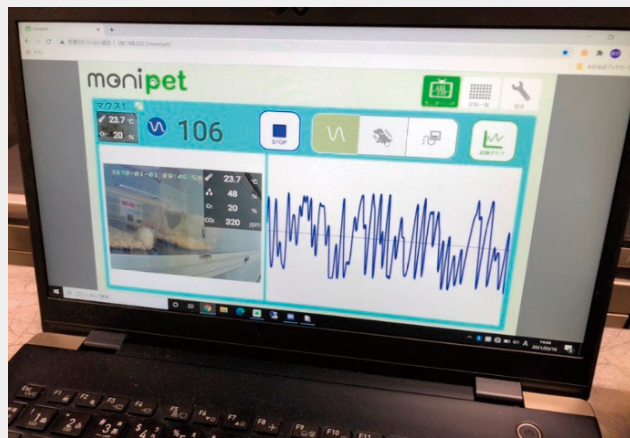


図3. 実際の計測データの画面



図4. センサーをラック天井面に設置した例



図5. センサーをラック壁面に設置した例

タ蓄積(検索機能あり)、専用アプリで直感的な操作ができることなどを兼ね備えたセンサーやシステムとなる。また位置可変式のカメラでケージ内を観察して、ケージ単位やラック単位ごとに状況確認をできることを目指している。具体的には24h暗視・サーモカメラでの監視・動物の粗方の体温と生存確認・水と餌の残量の検知・遠隔監視・緊急アラート機能などを組み込んでいくことも検討している。(図2)(図3)(図4)(図5)

5. 生体感知搭載型ワークベンチ

もう一つは生体感知搭載型ワークベンチを提案する。ワークベンチ内でケージ交換の際にカメラで自動的に生体感知を行うことができる仕組みを検討している。ケージ交換の際に、飼育エリアから誤って飼育管理中の動物を飼育エリア外へ出すことを防止することを目的としている。具体的には、ワークベンチ内でケージ交換を行い、ケージ交換が済んだケージをセンサーの下に置き、上方から赤外線で生体感知をし

て動物がいないことを確認するシステムを開発中である。

6. 当社の将来展望として

以上二つの自動化製品を実験動物飼育管理で用いることによって、実験の精度とデータの信頼性を向上させ、実験動物飼育管理の研究成果をより「均一な状態」に導けるお手伝いが、夏目製作所にできることと考えている。夏目製作所は『ライフサイエンスの未来と共に～人と動物にやさしいものづくり』を理念として動物や

命への感謝、実験・研究の社会的意義と向き合う動物実験関連機器メーカーである。当社のものづくりは、実験内容や動物種の違いを把握し、適切な機器・サービスを提案・提供することである。ユーザーのご要望に細やかに対応できる会社として『まずは夏目製作所に相談してみよう』という存在となり、ユーザーといっしょに考え、いっしょに形にしていくことをあり続けていきたいと考えている。

謝辞

最後になりますが、本研究に関してご協力いただきました、東京医科大学動物実験センター須藤カツ子先生、並びにご助言をいただきました実験動物中央研究所佐々木えりか先生、株式会社ジェイエスピーの関係者様に感謝申し上げます。

参考

(※1)農林水産省(令和3年5月13日公表)

<https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/animal/attach/pdf/index-5.pdf>

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

私たちは「実験動物技術者集団」です。

We are Technologist of Laboratory Animals.

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

- 実験動物総合受託事業
- 技術者派遣事業
- 職業紹介事業



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

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



株式会社 アニマルケア
www.animal-care.co.jp

●お気軽にお問い合わせください

0120-011419



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

今朝は大谷選手が二刀流で MLB オールスターゲームに出場するというので、思わずテレビに見入ってしまった。大谷選手の活躍を祈りながらスタンドやベンチを見てみると、誰一人マスクをしておらず、「大丈夫なのかな?」と少し不安を感じながらも、正直羨ましかった。

さて、本誌 62 号において、久原孝俊先生と共に ARRIVE ガイドライン (Animal Research : Reporting of In Vivo Experiments)¹⁾ を紹介した。その ARRIVE ガイドラインが改訂された (ARRIVE2.0)²⁾。欧米では、医学生物学実験の再現性が低いこと (「再現性の危機」) が再三にわたって議論されており、前回の紹介文にも引用されているが、Nature 誌のニュース記事に「医学生物学において 1 つだけ再現性のある事実がある。それは、実験結果を再現できない研究が連綿として行われているということである」と揶揄されている³⁾。英国 NC3Rs の Kilkenny らは従来の動物実験の報告のしかた (あるいは実験のデザイン) が不適切であり、それが医学生物学実験の再現性が低い原因の 1 つであるとして、それを改善するための手だてと

して ARRIVE ガイドラインを提唱したのだった¹⁾。

初版の ARRIVE ガイドライン (ARRIVE1.0) は 20 項目のチェックリストで構成されていたが、ARRIVE2.0 では内容が更新され「必須 10 項目」と「推奨セット」に 2 分割された。必須 10 項目は動物実験における基本的事項 (例えば、実験動物、サンプルサイズ、無作為化、盲検化、統計など) に関するもので構成され、推奨セットの 11 項目は実験結果を報告する際の留意点を論文の文章構成上の項目別に掲げたものとなっている。このように、ARRIVE 2.0 では内容が更新・再編されており、より実用的になったと思われる²⁾。近い将来、NC3Rs のホームページに ARRIVE2.0 の日本語版も掲載されるそうなので、是非確認していただきたい。

ARRIVE ガイドラインの著者らは、動物実験結果の再現性が低いのは実験デザイン、統計解析、および論文の発表のしかたに問題があるためであり、それらが改善されれば再現性は改善するとの立場であろう。しかし、動物実験結果の再現性が低い原因はもっと奥深いところにあると考えている人々もいる。例え

ば、Voelkl らは動物実験の再現性の低さは生物反応の多様性に根ざしており、科学者がそのことをずっと軽視し続けているせいであると主張している⁴⁾。本論文は、(私にとっては) なかなか難解な内容なので十分に理解できていないかもしれないが、多くの動物実験の成果は限定的な条件でみられた生命現象でしかなく、その結果を生物反応の多様性を十分に考慮しないで解釈しているため、得られた結論は再現できないという結末に至るのではないかという。例として挙げれば、雄マウスだけを用いた実験結果、あるいは B6 マウスだけを用いた実験結果、また特定の環境条件だけで検討された実験結果を根拠に、私たちは生命現象を語ってしまっているということらしい。動物実験の実験結果の再現性を高めるには、動物実験の計画を立案する段階で、検体や実験条件の多様性を高める体系的な不均一化 (heterogenization) が必要であり、研究に従事する研究者、行政、研究資金提供者および科学雑誌編集者のパラダイムシフトが必要であると説いている⁴⁾。

私は実験動物学研究室の教員であるので、当然ではあるが「実

験動物学」の講義を行っている。そして、「動物実験では適切な実験動物を選択し用いることによって、動物の使用数を減らすことができる。適切な実験動物を用いることは科学的観点からだけでなく、動物福祉の観点からも重要である」と教えてきた。例えば、近交系について、「(近交系) 動物を使用して行う実験は個体間の遺伝的差異による実験結果の変動がないことが予想されるため、近交系動物は優れた実験動物であるといえる。」とわが国の実験動物学の教科書にも記載されている⁵⁾。しかし、前述の Voelkl らの主張によれば、1つの近交系で得られたデータは生命現象を語るには不十分なかもしれない。

さらに、いろいろ検索しているうちに凄い論文を見つけてしまった。前述の「近交系は個体間の遺伝的差異による実験結果の変動がないことが予想されるため、(後略)」という仮定は実験データでは証明されなかったという報告である⁶⁾。本報告の責任著者はあの Grimace 法を報告したマギル大の Mogil である。彼らはいろいろな生命現象の測定値を近交系とアウトブレッド動物を用いて報告している論文データをメタ解析し、近交系とアウトブレッドの測定値のバラツキ(変動係数、標準偏差を平均値で割った値)には差がなく、アウトブレッドは多くの分野の研究で利用できる実験動物であると報告している。3年前に報告されたもので、今まで全く知ら

なかった。我が不勉強が露呈し、お恥ずかしい限りである。バラツキ (V_p) の構成要因として、遺伝的素因によるバラツキ (V_g)、環境要因によるバラツキ (V_e) および遺伝、環境の両方に依存するバラツキ (V_{ge}) が想定されるので、アウトブレッドのバラツキは $V_p = V_g + V_e + V_{ge}$ の式で表され、近交系のバラツキは $V_p = V_e$ (論文にはこのように記載されているが、 $V_p = V_e + V_{ge}$ が正しいのではないか?) と表される。近交系とアウトブレッドのバラツキに差がないということは、 V_e に比較して $V_g + V_{ge}$ (あるいは V_g) が著しく小さいということなのかもしれない。逆にいえば、実際に報告されている測定値のバラツキの主要な原因は環境要因ということになってしまう。

世界はまさにコロナ禍であり、従来の固定的価値観を捨て去り、新しい生活様式を取り入れた生き方が推奨されている(これもパラダイムシフトであろう)。しかし、パラダイムシフトは私たちに想像以上の大きなストレスとなって降りかかり、私たちが新型コロナウイルス感染症によって実際に被っている健康被害と同様に、私たち人間を苦しめているようにも感じる。従来、実験動物学においては、アウトブレッドのバラツキは近交系よりも大きいということが絶対的な真理として信じられてきた。それを否定する論文が出たことは、少なからず私を動揺させ、まるで底知れぬ湖に放り出され

たような感じである。

最後にコロナ繋がりで、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の変異株の宿主域に関する話題を提供したい。SARS-CoV-2 も SARS ウイルスと同様にコウモリ由来ではないかといわれているが、不明な点も多い。細胞のアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) がウイルスの感染する際の受容体として働くといわれ、SARS-CoV-2 はヒト以外にもネコ、ハムスターなどに感染するがマウスにはほとんど感染しないのは、ACE2 の種差のせいと考えられてきた⁷⁾。ところが、SARS-CoV-2 には多数の変異株が出現しているが、その一部はマウスにも感染し、実際に肺病変も起こすという^{8,9)}。今から 50 年程前、ラットを介して実験動物施設内に腎症候性出血熱が拡がり、関係者に健康被害が起こってしまった。決して煽るつもりはないが、SARS-CoV-2 の変異株の宿主域に関する情報を収集するなどして備えておくほうが賢明であろう。

参考

- 1) PLoS Biol 8:e1000412, 2010.
- 2) PLoS Biol 18:e3000410, 2020.
- 3) Nature 500:14-16, 2013.
- 4) Nat Rev Neurosci 21:384-393, 2020.
- 5) 獣医学モデル・コア・カリキュラム準拠「実験動物学」第2版(久和茂編)、朝倉書店、2018年
- 6) Nat Methods 15:994-996, 2018.
- 7) mBio 12:e03149-20, 2021.
- 8) <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.03.18.436013v1>
- 9) Proc Natl Acad Sci U S A. 118:e2106535118, 2021.



論文紹介

東北大学 名誉教授 笠井 憲雪

[アメリカ「動物福祉法」(Animal Welfare Act)における動物実験規制の位置付け—農務省による査察の検討を中心に—] 一橋法学、19 (2)、963-1019、2020.

著者：本庄 萌

日本の動物実験に関する法制度の基本的な枠組みは「自主管理方式」あるいは「機関管理方式」とよばれ、アメリカの制度に準じているとされている。これに対し、イギリスは「法規制方式」とよばれ、国が法律に基づき研究機関や研究者を管理しているとされている。また、アメリカ方式は、農務省による査察制度のある点が日本方式と異なるとされている。一見些細な違いに思えるが、じつは連邦政府農務省の査察はまさに行政（国）が動物実験の管理を行っていることに他ならない。論文を読むと日本の「自主管理方式」はアメリカのものとは似て非なるものとさえ思う。

農務省の査察は Animal Welfare Act (AWA) に基づいて、動植物衛生検査局の担当部署 Animal Care (AC) によって行われている。マウスやラット、鳥を除くとされているため、個体数ベースでは9割の実験動物が除外されているが、それ以外の実験動物、すなわちイヌ、ネコ、霊長類、モルモット、ハムスター、ウサギの輸送、販売、取り扱いが対象となっており、研究施設への査察は事前通告なしに少なくとも年1度行われている。さらにACを同省内の調査執行局が支援し、さらに困難な案件については法務審査局の判断に委ねられる二重三重の執行構造をとっている。そして査察の結果、AWA違反が発見された場合は、研究施設に是正要請を行うが、尚も不備が確認されると、動物の没収、罰金、停止命令、免許剥奪の制裁が課せられるという。

この論文は、農務省の詳細な査察制度とそれによ

る種々のペナルティの多くの事例、さらにはこれらの制度の歴史的な発展過程での改善内容が詳細に記されている。また、最後にこの論文の著者は「日本への示唆」として、アメリカの研究機関内動物実験委員会と農務省査察制度の二重チェックシステムを将来的に取り入れていくことにより、これまでの自主管理方式を活かしつつ、より透明性の高い制度の構築が可能になりうると述べている。

著者は、一橋大学で長年、EUとアメリカの動物法の研究を行っており、動物実験に関する法的な問題を研究する数少ない貴重な法学者である。この論文は著者のEUとアメリカにおける動物実験規制の比較をおこなった博士論文の一部を本稿とし、アメリカの連邦法 Animal Welfare Act における動物実験規制の発展経緯と運用を考察したものである。そして、専門の法知識を駆使しつつ、さらにアメリカの動物実験の状況を研究し、これまで我が国にほとんど紹介されてこなかったAWAに基づく農務省の査察精度の詳細を論じている。そこには単なる制度の説明にとどまらず、査察における多くの問題事例を取り上げ詳しく説明しており、非常に興味ある記述になっている。そして動物実験分野の専門家を自称する筆者には到底論じきれない法的な問題を丁寧にわかりやすく記載していることから、我々に我が国の「自主管理」の問題点をも浮かび上がらせており、是非多くの方々にお読みいただき、我が国の動物実験管理制度の評価と今後のあり方を広く論じていただきたい。

■論文は下記URLからダウンロードできます。

https://hermes-ir.lib.hit-u.ac.jp/hermes/ir/re/31341/?lang=1&mode=0&opkey=R161499018710235&idx=3&chk_schema=1000&cate_schema=1000&codeno=&fc_val=

または、検索エンジンで「実験動物福祉コミュニケーション」のトップページを開き、「実験動物福祉情報関連資料」を開き、「本庄萌 著 アメリカ「動物福祉法」(Animal Welfare Act)における動物実験規制の位置付け—農務省による査察の検討を中心に—」をクリックしてください。

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：ICLASモニタリングセンターの検査項目で、通常動物コアセット・免疫不全動物コアセットを指定されておりますが、*Mycoplasma pulmonis*を培養で行うメリットを教えていただけないでしょうか？

PCRでも*Mycoplasma pulmonis*を検査しており、PCRの方がメリットが多いように感じたのですがご教授くださいますと幸いです。

また、*Salmonella spp.*を培養で行っておりますが、血清反応やPCRではデメリットがあるということでしょうか。

A1：*Mycoplasma pulmonis*の検出において、培養検査と血清反応の検出感度を比較すると培養検査の方が高い傾向があります。特にマウスではその傾向が強く見られます。そのため当センターでは、検体が生体の場合検出感度を上げるため培養検査と血清反応を併用しています。これが培養検査のメリットになります。またPCRと培養検査どちらにメリットがあるかと言うことですが、基本的にはどちらでも構いません。ただPCRは培養と比較し、コストが掛かること、非特異反応が起きる可能性があることがデメリットになります。一方培養検査は、培地上で菌の発育が直接観察できることもメリットになります。

次に*Salmonella spp.*の検査についてですが、細菌はウイルスに比べてサイズも大きく、構造が複雑なことから、エピトープとなりうるタンパク質が多く、血清反応では非特異反応がしばしば起こります。ですので細菌検査において血清反応は、基本的にはスクリーニング検査として使うべき検査です。ただし、構造が特徴的なマイコプラズマやティザー菌などの一部の細菌はこの限りではありません。

また、一般的に細菌の検出・分類に使用される16SrRNA遺伝子の配列は、サルモネラの場合、他の腸内細菌科に属する細菌と酷似しております。ですのでPCRでは非特異反応が現れることがあります。このことから基本的には培養検査で検出し、生物学的、遺伝学的な性質から同定を行うことが重要です。

「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. 実験動物の感染症と微生物モニタリング、(株) アドスリー、2015

動物実験委員会業務受託サービスのご提供について

株式会社ケー・エー・シー 紺屋 好美

株式会社ケー・エー・シーでは、実験動物飼育管理業務の受託をはじめ受託試験や動物組織・ヒト組織などの試薬の提供、動物飼育資材の販売、実験手技等の社外者研修および実験動物に関する各種コンサルティングといった実験動物関連分野のサービスをご提供し、お客様からのご要望にお応えしてまいりました。

弊社ホームページのお問合せフォームには、実験動物に関するハード面、ソフト面両方における幅広いお問合せを多数いただいております。皆様にとって気軽に相談できる身近な会社になっている事を嬉しく思います。また、そのお問合せも年を追う毎に専門的かつ幅広いご要望となっており、プレッシャーを感じつつも一つでも多くのご要望にお応えしたいという気持ちが一層強くなっております。

そのような中、ここ最近のお問合せで多くなっていると感じていますのは、《動物実験の経験はあるものの、実験を行うための環境作りや適用されるルールについてあまりよく知らない》あるいは、《実験動物についての知識がまったく無い》といった方々からのお問合せです。何故そのようなお問合せ

が増えているのかは、皆様が抱えておられるご事情がそれぞれ違う為一概には言えませんが、一つには実験動物業界の基礎部分を築いてこられた団塊世代の方々の退職が大きなきっかけになっているのではないかと推測しております。その他にも、ベンチャー企業などのように、少数精鋭で従業員の構成が特定の専門分野に特化された企業および研究機関が増えてきていることも要因の一つではないかと考えております。

弊社では、このようなお客様のお悩みにお応えできるサービスといたしまして、『実験動物総合相談(無料オンラインサービス)』といった気軽にご利用していただけるものから、これから動物を用いた試験、研究を手がけられるお客様に向けた『動物実験委員会業務受託サービス』などを現在、ご提案させていただいております。

今回こちらのコラムでは、『動物実験委員会業務の受託サービス』について少しご紹介させていただきたいと思います。

弊社が提供する『動物実験委員会業務受託サービス』では、3種類のサービスを展開しております。一つ目は《動物実験委員会立上げ支援サービス》です。こちらは、

新しく委員会を設置されるお客様に対して委員会業務に精通した弊社スタッフがアドバイザーとなり、動物実験委員会業務の立上げを支援させていただくサービスとなります。お客様のご要望に応じて、弊社スタッフによる立上げ支援チームを構成し、各種規定や記録類の作成(または雛形のご提供)、委員会運営に関するアドバイスなどに対応いたしますので、よりスピーディーに委員会設置～業務開始を実現いたします。また、スポット的なアドバイスのみをお求めのお客様にもご利用いただけるよう、専任アドバイザーによるweb相談形式のサービスもご用意しております。

二つ目は、従来からご提供しております《委員長および委員業務の受託サービス》になります。こちらのサービスは、お客様施設の施設長により弊社のスタッフを委員長または委員として任命いただき、委員会メンバーの一員として動物実験申請書の審査や試験報告書の評価、自己点検といった業務に対応いたします。また、実験動物の専門家や獣医師、委員会業務の経験者など、ご要望に応じた人材をご用意させていただきますので、お客様自身で人材を探す手間

や時間を省くことができます。

三つ目は《動物実験委員会業務の全受託サービス》です。こちらは、お客様施設の規定に基づいて、委員会業務全般を受託するサービスとなっております。委員会業務の中でも管理能力が必要とされ、一番手間のかかる事務局業務が受託内容に含まれておりますので、お客様の負担を大きく軽減できる内容となっております。また、動物実験申請書の審査、承認業務、自己点検業務、各種記録の管理といった一連の業務は、透明性ある形で計画、実行、報告と管理がなされますので、お客様はいつでも業務の状況を正確に把握することが

できます。これにより、第三者認証の取得や更新をされる際においても必要とされる項目に不足が生じることはありません。

最後に、科学研究や製品開発において動物実験を必要とする企業や研究機関では、動物実験委員会の設置は不可欠なものとなっております。大学の施設やレンタルラボを利用されている場合は、その施設の動物実験委員会を利用することが可能な場合もありますが、全ての施設において利用できるとは限りません。日本では自主管理のもとガイドラインに沿って動物実験を実施していますが、動物実験を行うために組織が求められる

事はとても多く、決して楽なものではありません。そのような状況下において、人的資源の限られた小規模組織では、動物実験委員会の適正な運営の継続に少なからず負担を感じているところも多いのではないのでしょうか。私達は、お客様の負担を軽減し、より研究に集中できる環境を提供することで、動物福祉の向上および科学の発展に貢献できるものと考えております。

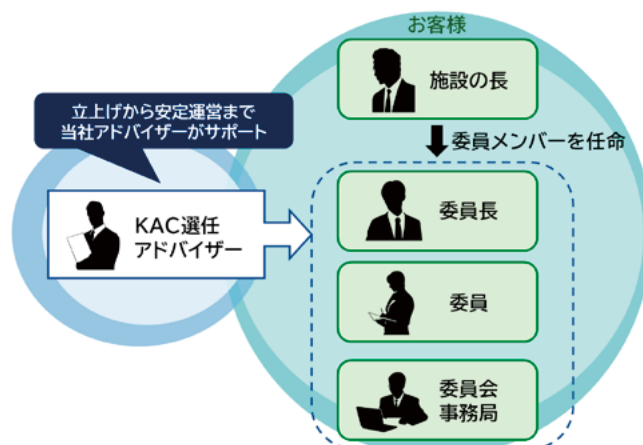
ケー・イー・シーでは、今後もお客様からの様々なご相談をお待ちしております。どうぞご遠慮なく当社 HP のお問合せフォームをご活用ください。

こんなお悩みはありませんか？

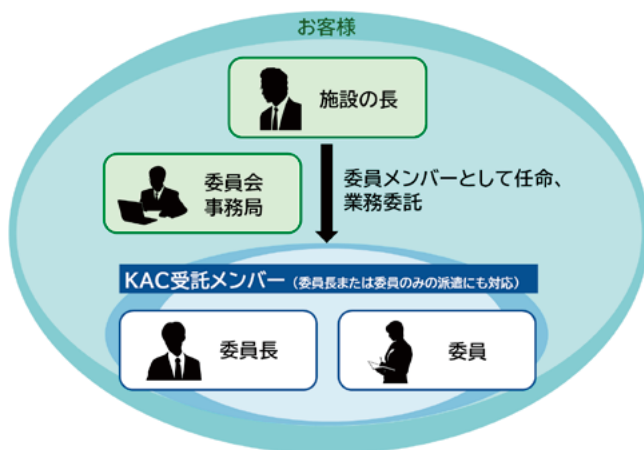


- 委員会業務の経験者がいないので、立上げや業務運営が困難。
- 委員に欠員が出るため各専門分野の方々に声をかけているが、中々代わりが見つからない。
- 日常の業務が忙しくて、委員会業務への対応が負担になっている。

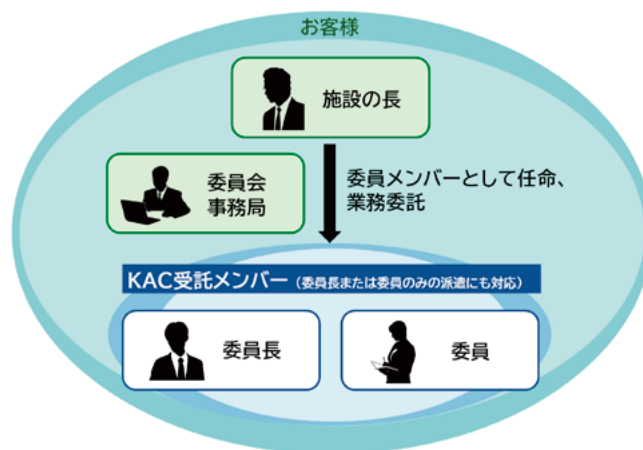
掲載図1



掲載図2 動物実験委員会立上げ支援サービスのイメージ図



掲載図3 委員長および委員業務の受託サービスのイメージ図



掲載図4 動物実験委員会業務の全受託サービスのイメージ図

特例認定校出身の実験動物技術者紹介(7)

一般財団法人 残留農薬研究所 澤田 唯

私は湘中央生命科学技術専門学校
の応用生物科バイオコースを卒業
しました。この学科は2年制で、
遺伝子工学、微生物発酵、食品衛
生、免疫科学、実験動物などバイ
オテクノロジーに関する様々な分
野を幅広く学ぶことが出来ます。

1年次では、主にバイオテクノ
ロジー実験の基礎となる実験器具
や実験対象物の取り扱いなど基
本的な手技を学び、2年次になる
と1年次に習得した知識や技術を
用いた実習が増え、より専門的な
技術を身に着けることが出来まし
た。応用生物科は1年間で4期制
になっていて1期ごとに集中して
授業が行われます。そのため科目
数も多くて、授業ペースも早く、
覚える事がたくさんあり大変でし
たが、自分たちで考えながら行う
実習はどれも楽しく学ぶことが出
来ました。

湘中央学園は日本動物実験協会の
特例認定校であるため、実験動物
について学ぶことが出来ます。実
験動物学は1年次より授業が開始
され全員を対象として授業が行わ
れますが、2年次からは希望者を
対象とした実習が行われます。こ
の実習に私は迷わず参加すること
を決めました。動物の扱い方など
基本的な事に始まり、薬液の投与
法、尿検査、採血、血液塗抹標本

の作製、解剖、手術（脾臓摘出、
卵巣摘出、精管結紮）と実験動物
技術者としてのより専門的な手技
を学びました。さらに2年次では
実験動物技術者2級の認定試験を
受験することが出来るため、資格
習得に向けた学科試験対策を行っ
ながら手技練習を何度も行いまし
た。最初は自分の手技に自信が持
てず不安でしたが、湘中央学園の先
生方の他に、卒業生や外部講師の
方々が親身になって教えて下さ
り、試験には無事に合格すること
が出来ました。

2年次の実験動物学の中に、1
年生に手技を教えるという実習が
あり、私は人に教えることの大変
さを知りました。なかなかうまく
伝えられず悩むこともありましたが、
人に教えることによって自分
自身も技術が身に着けられたよう
に思います。

卒業後は学んだことを活かせる
仕事がしたいと思い、一般財団法
人残留農薬研究所へ就職しまし
た。学生の頃は、教科書などでの
紙面上でしか分からなかったこと
が、実際に現場で働くことで理解
できるようになり、また、業務を
通じて基本となる様々な手技を教
えて頂きました。実践で学ぶこと
も多くありましたが、専門学校で
身に着けた知識や技術が日々の業

務にとっても役に立ったと感じてい
ます。

私は主にげっ歯類（マウス・ラ
ット）の飼育管理を行っていて、
自分の担当している動物の一般状
態の観察や、血液検査に必要な採
血、解剖など実務にあたっていま
す。他にも解剖後の標本作製を行
っていて、少しずつではありますが
出来ることが増えています。

学生時代に実験動物技術者2級
の資格を取ってから、さらに上
を目指したいと思っていたため、
実験動物技術者1級の認定試験を
受験する事を決めました。実験動
物技術者2級の試験より内容がか
なり難しく、学科、実技ともに大
変でしたが上司や先輩方が忙しい
合間を縫って教えて下さり、合格
することが出来ました。試験で身
に着けた知識、技術も業務で活か
すことが出来るように日々技術の
向上を心がけています。

私は技術者としてまだまだ未熟
で、教わることも多いですが、向
上心を持ち、いろいろなことに挑
戦してみたいと思っています。ま
た仕事を任されるという事に責任
を待ち、業務を通じて学んだこと
を後輩に教えることができるよう
に日々努力していきたいと思いま
す。



2017年 760円+税

著者は幕末から明治期の多数の文献を読み解き、それらに記載されているイヌにかかわる資料を収集・解析している。例えば幕末までは少数の朝廷人や大名によって飼われている狆を除き、イヌは特定の飼い主はいないが地域住人から残飯等を与えられ群生活している村犬・里犬であり、子供たちの遊び相手あるいは地区の番犬であった。開国後は多くの外国人がペット犬とともに租借地で生活する

のを見て、日本人も洋犬を購入し
ペットとして飼育するようになった。
つまりイヌは名前のある飼犬
となり、売買・交換の対象になる。
一方、ペットブームの反作用とし
て捨て犬が増え、洋犬の雑種化・
野生化による危害事故や狂犬病予
防等のため「畜犬規則」が制定され、
飼い主の名札を付けていないイヌ
は野犬とみなされ撲殺されるよう
になる。このように、明治維新を
境に日本人とイヌの関わりは激変
したことを本書で紹介している。

この他、明治天皇や西郷隆盛と

イヌとの関わりにも多くのページが割かれ、加えて明治初期には日本人は洋犬のことを「カメ」と呼称していた経緯や、副題にあるようにイヌの名前ランキングで何故「ボチ」がトップなのかを解き明かしていく。

その他にも興味尽きないエピソードが種々紹介されており、イヌ好きのみならず楽しめる一冊である。

〔選評 三枝 順三〕

42 \ LABIO 21 SEP. 2021

日本実験動物学会の動き

第69回日本実験動物学会総会の開催

日 時：2022年5月18日（水）～20日（金）

会 場：仙台国際センター

〒980-0856 宮城県仙台市青葉区青葉山無番地

大会長：三好一郎（東北大学）

内 容：特別講演、シンポジウム、ワークショップ、LASセミナー、
一般公演、器材展示、情報交換会等

日本実験動物技術者協会の動き

第55回一般社団法人日本実験動物技術者協会総会2021 Gifuのご案内

本総会は、新型コロナウイルスに対する会員の皆様の安全と感染拡大防止を重要視し、現地開催は行わずWEB開催とさせていただきますことになりました。

会 期：2021年10月14日（木）～16日（土）

大会テーマ：実験動物技術者の未来をさぐる

大会長：千原 猛（四日市看護医療大学）

事務局長：石河 秀樹（三重大学）

大会サイト：<http://www.jaeat-tokaihokuriku.org/2021gifu/>

* 詳細は大会ホームページをご参照ください。

北海道支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
実技講習会	2021年11月	札幌市内で検討中	実験小動物の取扱い(2級)試験対策

尚、本年度は新型コロナウイルス感染症の発生動向によって開催が困難であることが多いものと予想されますので、あらかじめご了承下さい。

関東支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
実験動物福祉部会 第8部会勉強会	2021年9月11日(土) 予定	Web開催(ZOOM)	企画中
微生物統御実技講習会	2021年11月5日(金)～ 6日(土)予定	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部会講演会	2021年9～11月 企画中	関東近辺	生殖工学・発生工学の話題を企画中
中動物部会講演会	2022年1～2月 企画中	関東近辺	企画中
関東支部総会・懇話会	2022年2月26日(土) 予定	川崎市産業振興会館 (川崎市)	技術者のスキルアップ

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
実験動物実技講習会	2021年11月上旬(予定)	藤田医科大学(豊明市)	小動物を用いた実技を中心とした講習会。 基本的な手技、2級試験受験対策。
第17回技術交流会	2022年1～2月(予定)	未定	企画中
東海北陸支部第8回支部総会 および春期大会	2022年4月(予定)	名古屋近郊(予定)	春期大会:内容未定

いずれも新型コロナウイルス感染症の拡大状況を鑑みて開催方法などを検討中。

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
2021年度マウス・ラット 上級技術講習会	未定	未定	昨年は講習会テキスト公開で開催に代えましたが、定評ある本講習会の再開に向けて、オンライン開催も含めて検討を進めています。
2021年度ウサギ・モルモット 上級技術講習会	未定	未定	定評ある本講習会の再開に向けて準備を進めます。
2021年度春季大会・支部総会	2022年3月予定	京阪神地区(予定) あるいはオンライン開催	新型コロナ感染症をめぐる状況下で不確定ではありますが、講演会・研究発表会を現地あるいはオンライン開催で計画します。

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41回九州支部研究発表会 (第44回総会)	2021年11月6日(土)～ 7日(日)予定	オンライン開催	特別講演および一般演題等の講演会。本会は第39回九州実験動物研究会総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。

日本実験動物協同組合の動き

令和3年5月22日に第49期通常総会が開催され、第49期事業報告書・決算書の承認、第50期事業計画・収支予算案の承認等が滞りなく行われました。

第49期は、例年通りの組合員向け本部・支部研修会の実施、慰霊祭開催、理事会等の会議を予定していたところ、新型コロナウイルス感染拡大の影響で活動の縮小を余儀なくされました。具体的には研修会は本部・支部ともに実施できず、慰霊祭は一部参加者のみの小規模開催となりました。理事会等の会議は年度始めこそ書面開催となりましたが、その後はリモート開催とし意見交換ができる形を作りました。「人との接触は最小限に」という方針を遵守したことで、当初予定した活動はほとんどできずに終わった1年でした。

第50期の運営方針として、動物の愛護及び管理に関する法律の次回改正に向けて、農水省や関連団体と

の連携強化、実験動物福祉面での小規模事業者への積極的アプローチ及びサポートの実施、組合員への新型コロナウイルス関連情報の提供、組合員に加え対外的な情報発信手段としてのHP活用のためのリニューアルなどが掲げられました。また昨年実施できなかった組合員への研修会については、リモート開催を予定し、現在準備を進めています。

今回の通常総会では役員選挙が行われ、総会後の理事会において第50期の体制が決まりました。理事長は高木博隆（日本エスエルシー株式会社）が重任し、専務理事には齋藤敏樹（日生研株式会社）が就き、計理事13名、監事2名の体制で運営してまいります。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賜りますようお願い申し上げます。

洗練された技術 理想への貢献

動物実験導入教育訓練用マウスシミュレータ
Mimicky Mouse

製品内容

ボディ：1体/尾1本
付属品：専用潤滑剤1本/ベビーパウダー 1本



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

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



www.sankyolabo.co.jp

協会だより

1. 第37回定時総会

本協会は令和3年6月14日に第37回定時総会を本協会会議室で開催し、令和2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。

2. 委員会等活動状況

委員会名等	開催日	協議内容及び決定事項・場所
第1回モニタリング技術委員会	4.14	動物実験施設における人獣共通感染症対応マニュアル(仮題)の編集について他
第1回情報委員会	4.20	LABIO21 No.84の企画
第1回請負・派遣対策委員会	5.10	ヒヤリ・ハット事例等に関するアンケート集計結果の確認と配付について他
監事会	5.12	令和2年度事業、収支決算の監査
第1回総務会	5.17	令和2年度事業報告他
第76回理事会	5.27 決議	令和2年度事業報告他
第1回実験動物福祉調査・評価委員会	6.9	令和3年度福祉認証事業他
第37回定時総会	6.14	令和2年度収支決算、事業報告他
実験動物技術指導員の面接及び実験動物技術指導員認定小委員会	6.19	オンライン面接
日常の管理研修会	6.26	(公財)実験動物中央研究所
試験問題作成小委員会	7.3	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	7.6	技術者認定試験の計画他
実験動物2級技術者学科試験	8.14	全国各所
通信教育スクーリング	8.21	東京、大阪
第2回情報委員会	9.17	LABIO21 No.85の企画
実験動物1級技術者学科試験	9.18	全国各所

3. 行事予定

行事	開催日	備考
微生物モニタリング技術研修会	10.15～16	(公財)実験動物中央研究所
実験動物2級技術者実技試験	10.30	東京、大阪 他
実験動物1級技術者実技試験	10.31	東京、大阪 他
教育セミナーフォーラム2022	—	調整中
第17回実験動物技術指導員研修会	—	調整中

行事によっては開催日等が変更になる場合もありますのでご留意ください。

令和3年度認定実験動物技術指導員及び準指導員

今年度、新たに認定された実験動物技術指導員及び準指導員は以下の方々です。

実験動物技術指導員認定 4名

三家本 慧	第一三共 (株)
赤荻誠一郎	ハムリー (株)
宮崎 章	(株) ケー・エー・シー
畑中なつみ	(株) ケー・エー・シー

実験動物技術準指導員認定 3名

伊藤大輔	(株) ケー・エー・シー
宮原 治	北山ラベス (株)
戸塚理穂	オリエンタル酵母工業 (株)



北米の東部で今年も17年ゼミ(周期ゼミ=素数ゼミ、他に13年ゼミがいる)が数十億匹大発生した。正確に17年(13年ゼミは13年)に1度発生する。赤い眼で黒い胴体に半透明の翅を持つ3cm程のセミである。今年の5月上旬から羽化した集団は「ブルードX(10)」と呼ばれる最大規模の集団で、一昨年2019年は「ブルードⅧ(8)」のコード番号を持つ集団だった。17年ゼミは*Magicada*属の①*M. cassini*、②*M. septendecim*、および③*M. septendecula*の3種で構成される集団で、「15種類ものブルード」がある17年ゼミ集団の中で唯一「ブルードⅧ(7)、2018年発生」のみが②の1種だけで維持されているという。何故17年と13年の周期で発生するかについては、沢山の仮説がある中で、日本の数理生態学者・吉村仁静岡大学・NY州立大学教授は「種の個体数が一定の数を割り込むと、一気に絶滅に向かう法則(アリー効果)」でのシミュレーションの結果17・13・19年周期の順で個体数が多くなり、その他は途中で絶滅。素数ゼミが生き残ったという仮定の再現に成功した。然し、どのような信号(体内時計)で正確に17・13年目に地上に出現するのかは未だ究明されていない。近くにいる人の声も聞こえない程のdBを出す「年次ブルード」の大発生は天敵の鳥類・動物・カビ等の襲撃リスクを予期した作戦のようにも見える。東部で足の踏み場も無くなるほど発生した幼虫や成虫を「チョコレートで包んだ菓子」や「野菜と炒めた料理」等として売られているが、6月3日、FDAは「セミはエビやロブスターと近縁関係にある」と説明の上で「甲殻類・魚介類にアレルギーのある人は食べないように」と異例の警告を発した。コロナ禍で人類の大きな犠牲とこのセミの大発生が何かを暗示しているように思える今夏だった。〔新聞 治男〕

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

～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>—