

Japanese Society for Laboratory Animal Resources

# LABIO 21



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](mailto:jsla@nichidokyo.or.jp)

【特集 教育セミナーフォーラム2022(Ⅱ)】

## 実験動物における行動評価について

【連載特集】

## 実験動物を支える飼料の役割(Ⅱ)

## 実験動物の再利用について(Ⅰ)

【研究最前線】

## 父親マウスの養育行動を引き出す神経回路の変化



# 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（びあ）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56回日本実験動物技術者協会総会のご案内（江藤智生）	4
特集 教育セミナーフォーラム2022（Ⅱ）実験動物における行動評価について	
6. 動物の社会と痛み（菊水健史）	5
連載特集 実験動物を支える飼料の役割（Ⅱ）	
栄養環境依存的な精神疾患モデルマウスの開発を通じた実験動物飼料の理解 （佐久間敦丈、新保裕子、平井志伸）	8
連載特集 実験動物の再利用について（Ⅰ）	
動物福祉とreductionの観点から総論として（國田智）	12
研究最前線	
父親マウスの養育行動を引き出す神経回路の変化（稲田健吾、宮道和成）	16
トピックス	
EUにおける動物実験規制をめぐる議論：欧州市民発議（European Citizens Initiative, ECI）と動物実験（本庄萌）	20
動物実験の禁止をめぐるスイスの国民投票（磯部剛仁）	24
AVMA動物の安楽死指針：2020年版の解説 （岡村匡史、森松正美、浅野淳）	27
ラボテック 技術紹介	
実験動物への「体内埋め込み式運動量/温度計測装置 nano tag®」の紹介 （田口勇次郎）	31
3Rs × 実験効率の向上にマウス尾静脈シミュレーターの開発 （栢本直行、村上誠、浜野真梨子）	34
海外文献情報	
行動と生理に関するビッグデータから読み解くマウスの「古い」（久和茂）	38
連載コラム「会員からの情報」（6）	
ORIENT BIO社製 MSRS IIIについて（金子哲也）	40
日本実験動物学会の動き／日本実験動物協同組合の動き	42
日本実験動物技術者協会の動き	43
令和4年度認定実験動物技術指導員／ほんのひとりごと	44
協会だより	45
KAZE	46

バイオサイエンス  
トータルサポート企業として  
生命科学の発展に  
大きく貢献する  
株式会社ケー・エー・シー

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

株式会社 **ケー・エー・シー** 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

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

# 第56回

## 日本実験動物技術者協会総会のご案内

第56回日本実験動物技術者協会総会大会長

江藤 智生

(公益財団法人 実験動物中央研究所)

第56回実技協総会を、関東支部が主管して本年10月に長野県松本市で開催致します。秋の信州は山々が紅葉に彩られ、市内には国宝の松本城や旧開智学校、重要文化財の旧制松本高等学校などが点在します。修業の合間に自然や文化に触れる散策も一興かと。

本総会では“Technologists”をメインテーマとして、実験動物技術者達を取り巻く技術、手技、検査、機器、施設および実験動物福祉、そして技術者としての考え方や社会性などの話題を取り揃えました。何故このテーマにしたのかは、各セッションを網羅的に聴講頂くと、ご納得頂けると確信しております。

総会記念企画は「技術者倫理」

に関する単独講演と、世界各国の技術者(USA・タイ・台湾・日本)を招聘したシンポジウム“世界の施設から”を準備致しました。

関東支部主管で恒例となった、専門部会と実技講習会の企画にもご期待下さい。実験動物福祉部会はSDGsと動物福祉をキーワードとして、REG部会はゲノム編集とマウス透明標本にターゲットを絞って、中動物部会は環境エンリッチメントに関するセミナーを展開します。そして微生物統御のWSは微生物モニタリングに関する現場の声を反映し、動物実験基本手技の座談会は実技を通じた技術者の将来像を聴講者と一緒に考えます。

加えて一般演題(口頭・ポス

ター)、有志企画シンポジウム、ランチオンセミナー、ホスピタリティールーム、Well-beingひろば、そして器材展示も予定致します。さらに日本実験動物学会、日本実験動物環境研究会およびSHAPE-Japanの皆様にもセミナーを共催頂きます。これらの概要を下記致しました。詳細はホームページを閲覧頂けましたら幸いです。

<https://www.adthree.com/jaeat2022/index.html>

未だコロナ禍は本業界にも影響を与えていますが、できる限り参加者が直に対面できる総会を、私たちは目指しております。実技協総会の初開催地である松本にて、皆様のご来訪をお待ち致します。宜しく御願ひ申し上げます。

会期	2022年10月13~15日(木~土)	
会場	長野県松本市 10/13(木): Mウイング、10/14(金)、15(土): キッセイ文化ホール	
内容	10/13 PM	・シンポI: 実験動物福祉とSDGs
	10/14 AM	・第56回総会記念講演: 技術者倫理2.0 —Technologistsに求められる倫理的資質とは何か— ・シンポII: 技術者が技術者を育てるために ・一般演題(口頭)
	PM	・WS I: 実験動物の環境エンリッチメントへの反応、どう解釈しよう? —動物園動物・畜産動物の行動学に学ぶ— (SHAPE-Japan共催) ・WS II: 第21回REG部会特別講演会 ・WS III: 微生物モニタリングにおけるQ&A —現場の声を中心に— ・座談会: 私たちが目指すべき将来とは? —テクノロジストについて考えてみよう— ・意見交換会(アルピコプラザホテル)
	10/15 AM	・第56回総会記念シンポ: 世界の施設から ・一般演題(ポスター・コアタイム)
	PM	・シンポIII: 実験動物施設の感染防御技術と衛生管理(実験動物環境研共催) ・シンポIV: 実験動物マウスの行動を見つめる(JALAS共催)
	10/14-15	・一般演題ポスター展示 ・器材展示 ・ホスピタリティールーム ・ランチオンセミナー ・Well-beingひろば



### 実験動物における行動評価について

#### 6. 動物の社会と痛み

##### ■菊水 健史

麻布大学 獣医学部

ヒトを含め、動物は身体的苦痛や心理的ストレスを感じると、そのストレスを表出します。外部から見ていて痛んでいる様子がわかりますし、場合によってはそれを見ることで痛みが伝わってきます。では、なぜ動物は痛みを表出するのでしょうか。そもそも痛みを個体の内部の問題として処理するだけでなく、表出するような行動が進化したのか。それを解くカギは動物の群れの機能にあります。

群れの機能として、群れの中にあることでの「安心」があげられます。これは社会的緩衝作用としても知られているものです。危険にさらされストレスを受けた個体が群れに帰ると、他個体が守ってくれるという安心を得ることができます。群れで生活する動物を隔離し、単独生活させると強いストレスがかかります。例えば、群れ生活のヒツジを群れから離すと、群れに帰るまで鳴き、動き回り、

心拍数も増加し、ストレスホルモンが上昇します。このヒツジを群れに返すと、とたんにこのようなストレス応答は消失します。つまり、群れでいることは、ストレスを軽減させる機能を持つことが知られて、社会的緩衝作用と呼ばれています。群れでいることでのストレスの社会的緩衝作用は、見知らぬ個体間よりも、親和的關係性、とりわけ絆を形成している個体間でより顕著に観察できます。つまり絆形成の神経機構と社会的緩衝作用の神経機構が共通な神経基盤の上に成り立っていると仮定できます。

生物学的な絆は心理的な機能です。そのため、直接的に観察することが難しい概念上の關係性といえます。しかし、動物では心理尺度を測定することができないので、行動学的あるいは生理学的な指標を用いて、その存在を調べる方法が作られてきました。たとえば絆が形成された個体同士を物理的に隔離すると、ストレス指標である血中のグルココルチコイドの濃度

が上昇します。また、絆が形成された個体同士を分離後に再会させることでストレス応答が軽減します。このように社会的緩衝作用は絆の形成の有無の1つの指標としても使われます。社会的緩衝作用の強さは個体同士の親和性の強さに依存するため、母仔間のような絆のある個体間でもっとも強い効果を持ちます。このような母仔間の結びつきの重要性はボールビー (John Bowlby) による「アタッチメント理論 (attachment theory)」として提唱されましたが、その中でも特筆すべきことは、養育者の果たす役割として、安全基地 (secure base) が述べられていることです。つまり、幼若個体が、養育者のもとでは安心して守られている、という安心をえる対象であるということです。実際にその後の研究によりヒトを含めた哺乳類の母仔間において社会的緩衝作用が観察され、母は仔のストレスを軽減できることが報告されています。

オキシトシンは哺乳類の様々な生理機能を調整しますが、その役

割の1つとして社会的緩衝作用が挙げられます。心身へのストレスはストレス応答系である視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 軸を活性化させますが、同時に視床下部室傍核のオキシトシン神経も活性化します。末梢性または中枢性に分泌されたオキシトシンはHPA軸の活性を抑制することが示唆されています。ヒトでは、経鼻投与によってオキシトシンを中枢に直接作用させられることが示されていますが、心理的ストレス負荷による情動及びコルチゾール分泌反応はオキシトシンの経鼻投与によって低下することも報告されています。このことから、親和的な他個体との接触などを含むやり取りがオキシトシン活性を上昇させ、結果としてストレス反応を軽減すると考えられています。社会的緩衝作用にはストレス反応を低下させるだけでなく、不安を軽減する作用があります。この不安軽減もオキシトシンによる可能性があります。扁桃体はヒトを含めた動物の情動を制御する中枢で、不安や緊張、攻撃などの行動を司ります。扁桃体内部にもオキシトシン受容体が発現し、様々な行動反応を制御していますが、その1つが不安軽減効果です。オキシトシンを脳室内に投与された動物では、不安行動が低下すること、また授乳中のメスラットは脳内のオキシトシン神経系が強く活性化していますが、同時に不安行動の軽減が認められる、ことなどからオキシトシンが扁桃体に作用することで、不安行動が軽減されると考えられています。またオキシトシンが扁桃

体に作用すると自律神経系における交感神経系の活性が抑制されることなどから、社会的緩衝作用による緊張軽減にもオキシトシンの関与が考えられています。ヒトでは、母親から娘へのやさしい声掛けが緊張状態にある娘のオキシトシンの放出を促進し、不安感情を低下させると共にストレス反応を減少させることが示されています。

上で紹介したように、個体の痛みは、周囲の仲間に対する痛みのシグナルとして伝達され、痛みが共有されるという特徴を持ちます。一般的には共感性ともいわれますが、その起源的なものとして情動伝染が知られています。痛み情動伝染とは、他者が受けている痛みを見ることで、自身の痛みや恐怖の行動が発現するようになることであり、みなさんも誰かの手に注射針が10本刺さっている動画を見ると、自分の痛みのような思いをしたり、不快な情動が起こったりします。それが痛み情動伝染です。痛みの情動伝染はマウスでも観察可能です。例えば、目の前の仲間が電撃ショックを受けていると、その見ていることが不快刺激となり、見ているマウスのすくみ行動を示します。あるいは仲間のマウスが腹腔内に酢酸を投与され、お腹を痛がる行動を示していると、自分自身の痛みの閾値が低下し、観察個体もより痛がるようになります。このような痛みの情動伝染の反応性は、見知らぬ個体では観察されにくく、仲間のマウスの場合により顕著に起こることから、ヒトと同じような痛み情動伝染の機構が働いていると考えられてい

ます。

他者の痛みをみて、自分の脳の中にある記憶が想起されるのでしょうか。その場合、自分が痛みを感じた時に活性化した神経回路は、他者の痛みを見た時にも同じように活性化されるのでしょうか。ヒトを含めた霊長類では、ミラーニューロンシステムというものがあり、他者の動きがあたかも自分の動きのように脳内で再現される現象があります。マウスにおいても痛みのミラーニューロンシステムが存在するのでしょうか。それを調べるためには、自分が痛みを感じている時に活性化する神経細胞と、他者の痛みを見ている時に活性化する神経細胞が同じかどうか、というのを調べなくてはなりません。サルでは電気生理学的に、ヒトではfMRIを用いて実験されてきました。マウスでは、様々な遺伝子や分子の操作が可能であることを考えると、このような痛みの情動伝染を制御する神経メカニズムの解明に向け、特に共感性の分子や遺伝子に迫る、画期的な第一歩と言えるかもしれません。

社会的緩衝作用の中に、痛みの軽減効果も知られています。痛みを受けている動物の傍らに親和的な個体がいると、痛み行動が低下します。この他者の存在による痛みの軽減にもオキシトシンが関与するかもしれません。そもそもオキシトシンには鎮痛効果があることが知られています。これはオキシトシンが後根神経節という痛みの情報を伝達する神経核に作用し、痛み伝達を弱めるためであることが明らかとなっています。「手当」

という日本語がありますが、これは現在、支援活動や給付という意味合いでも使用されている言葉です。由来の一つは医学的な治療を意味したものでもありました。つまり、手を当てることで治療効果があることを暗示したものと考えられています。手を当てるなどの親和的な身体接触は中枢でのオキシトシン神経系を活性化させることが報告されています。つまり、手を当てることで中枢でオキシトシンが分泌され、痛み伝達を低減させることが語源であるかもしれません。子どもが怪我をした際に「痛い痛い飛んでいけ」といって患部付近を触る行為はまさしく社会的緩衝作用であり、オキシトシンの効果である可能性が考えられます。

自分の痛みが他者、特に親和的な仲間と共有されることの他のメリットの1つとして、援助行動があげられます。援助行動は「他者の苦痛を認知しそれを軽減させる行動」と考えることができるので、弱者を守るような神経機構や行動の発現を促す動機付けは、共感性という脳機能で説明されます。これは群れのメンバーが遺伝的に近縁であることから、援助することで自己の遺伝子の生存確率を高めることが可能となり、適応度の観点で理解されます。そのため特に顕著なのは母親が幼若個体を過剰なストレスから守り、助ける行動が最も広く観察されるものです。この母性行動や母親の庇護は仔の正常な情動・社会行動の発達に重要な役割を担います。

このように、個体は様々な痛みやストレスを感じますが、それは個体の問題にとどまりません。社会がそれを包含し、共有し、そして癒す仕組みを発達させてきたことがわかります。痛みの治療において、プラセボ効果が強く出るのはこのような機能がより出やすいからでしょう。ヒトの痛みも、個人だけでなく医者、看護師、コメディカルだけでなく、家族、仲間とどのように包含共有し、癒していくのか。個人に任せるだけでなく、そのような協力と共感によって痛みを受け止めることの必要性があると感じます。

**Mouse**  
マウス型実験動物シミュレーター

**Mimicky®**  
Experimental procedure Simulator

**Vessel New**  
サル橈側皮静脈シミュレーター

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

## 実験動物を支える飼料の役割 (II)

### 栄養環境依存的な精神疾患モデルマウスの 開発を通じた実験動物飼料の理解

東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野  
フロンティア研究室・脳代謝制御グループ  
佐久間 敦文、新保 裕子、平井 志伸

#### はじめに

低糖質、低脂肪、高タンパクなどといった健康志向なフレーズを見聞きしない日は少なくなった昨今、研究者は自身の食事だけでなく、実験動物たちの飼料にも今一度目を向けてみる良い機会が訪れているのかもしれない。今回は飼料に含まれる砂糖（スクロース）がげっ歯類に引き起こす影響について紹介していきたい。

#### AIN飼料におけるスクロース含有量の変遷

20世紀初頭から実験動物としてげっ歯類が使われ始めたが、当初はげっ歯類の成長や恒常性維持に必要な栄養素の種類や量がほとんど分かっておらず、明確な栄養基準ができたのはそれから半世紀以上も経った1960年代になってからであった<sup>1</sup>。その基準ができるまでにもげっ歯類を用いた様々な研究が行われていたが、それらの研究に用いられた飼料には、そこに含まれる栄養素が個体の成長や恒常性維持にとって不十分なものも存在し、論文の中には使用した飼料の栄養素配合についての記述がない、あるいは

飼料自体の特定ができないものも多かった<sup>2</sup>。その欠乏が重篤な疾患を引き起こす危険性のあるビタミンやミネラル関しても同様の傾向であり、その結果、得られたデータが意図して設定した状況に基づくものなのか、あるいは栄養素の欠乏に起因するものなのかの判別がつかず、研究内容の信憑性を損なう原因となっていた。

このような状況を受けた米国国立栄養研究所（American Institute of Nutrition, AIN）は、ラットおよびマウスの成長や恒常性維持に必要な栄養所要量を満たす精製飼料のレシピの開発に踏み切った<sup>3,4</sup>。その結果1976年に発表されたAIN-76（スクロース50%含有）、およびその翌年の1977年に発表されたAIN-76の改良版であるAIN-76A（ビタミンKや抗酸化剤が追加、スクロース含有量は据え置き）は研究用のラットおよびマウス飼料の標準組成として研究者に広く用いられるようになった。そうしている間にもAIN-76Aの組成の見直しが行われ、1993年には新たな標準飼料の組成であるAIN-93G（成長期の

げっ歯類用）、およびAIN-93M（成体のげっ歯類の恒常性維持用）が同じく米国国立栄養研究所により発表された<sup>5</sup>。

AIN-76AからAIN-93GおよびAIN-93Mへの大きな変更点は、ミネラルとビタミンの組成を変更したこと、 $\alpha$ -リノレン酸量を増加させるために脂質源であったコーン油を大豆油へ変更したこと、タンパク質源であるカゼインの栄養素を補うアミノ酸として使われていたDL-メチオニンをL-シスチンへ変更したこと、腎臓の石灰化を防ぐためにリンの含有量を削減したことなどであるが、その中でも特に注目していただきたいのはスクロースの含有量を大幅に削減したことである。米国国立栄養研究所は、スクロースの過剰摂取が血中の中性脂肪の増加、脂肪肝、耐糖能異常、酸化ストレスの上昇などの予期せぬ悪影響をラットやマウスにもたらす可能性があるとし<sup>5,6</sup>、AIN-76Aの組成を検討している段階からAIN-76に含まれるスクロースを全てグルコースに置き換える、スクロースの半分をグルコースに置き換える、スクロースを全て

コーンスターチに置き換えるなど様々な案を出していたようであるが、どれもAIN-76Aには採用されることはなかった。その後、AIN-76Aの炭水化物源であるコーンスターチ15%とスクロース50%は、AIN-93Gではコーンスターチ53%とスクロース10%に、AIN-93Mではコーンスターチ62%とスクロース10%に変更され、いずれもスクロース含有量は50%からわずか10%にまで減少した。

### スクロースの過剰摂取が実験動物の脳機能に与える影響

スクロース過剰摂取により予想されうる弊害は、前述の血中の中性脂肪の増加、脂肪肝、耐糖能異常などの生活習慣病に関するものだけであろうか。ここで、コーンスターチ食あるいはスクロース食を与えて生育したマウスを比較することで、幼少期のスクロース過剰摂取による脳機能への影響を明らかにした我々の最新の研究成果を紹介したい。

その前にまず“AGEs”について説明する。これはAdvanced glycation end productsの略称であり、不可逆的な非酵素学的架橋反応によりグルコース、フルクトースなどの還元糖とタンパク質などのカルボニル化合物が結合することなどで生成される数多くの化学物質の総称である。AGEsは体内でも合成され、糖質の過剰摂取などが原因で血中の糖質濃度が高い状態であればその反応は促進される。ちなみにスクロースは還元糖ではないが、体内に取り込まれるとすぐに還元糖であるグルコースとフルクトースに加水分解されるた

め、スクロースの過剰摂取も体内でAGEsを生み出す原因となりうる。フルクトースはグルコースよりも容易にAGEsを生成することが*in vitro*実験により報告されている。また、いくつかのAGEsは高い毒性を持つことが近年の研究で明らかとなっており、様々な組織で酸化ストレスの上昇や炎症を引き起こして、いわゆる細胞の“障害や老化”を促進する。さらに、統合失調症や双極性障害などの精神疾患患者において炎症性サイトカイン量の上昇や酸化ストレスの増大が脳実質や血中で観察されるという証拠も多数あり、体内において同様の変化を引き起こすAGEsが精神疾患の発症や病状にも関与する可能性が示唆されている<sup>7-10</sup>。一方で、グリオキサラーゼ1 (GLO1) と呼ばれる酵素が関与する、AGEsの毒性から細胞を保護する機構も存在することが分かっている<sup>11</sup>。実際にうつ状態の双極性障害患者

においてはGLO1のmRNA量の減少が報告されており、統合失調症患者ではGLO1のタンパク質機能が減弱するような遺伝的バリエーションが報告されている<sup>12</sup>。GLO1の発現や機能低下と糖の過剰摂取の組み合わせが、これらの精神疾患患者の体内で起きている炎症と酸化ストレス増加の一因であることが推察される。

以上の背景から、我々は糖質の過剰摂取と精神疾患患者でみられる遺伝的変異の組み合わせが精神疾患の発症にどのように関与しているのかを調査すべく、コーンスターチ食 (コーンスターチ68%含有) 野生型マウス、スクロース食 (スクロース68%含有) 野生型マウス、コーンスターチ食 *Glo1* ヘテロ欠損マウス、スクロース食 *Glo1* ヘテロ欠損マウスについて、行動学、生理学、生化学、組織学的実験等を包括的に行い、精神疾患のモデルマウスとしての妥当性を検証した<sup>13</sup>。(表①)

表①. 我々の実験用に作成したコーンスターチ食、スクロース食の組成表

含有成分	コーンスターチ食 (gm %)	スクロース食 (gm %)
Cellulose	4.27	4.27
Cocoa Butter	2.59	2.59
Soybean Oil	2.39	2.39
Sucrose	0	65.44
Casein	19.95	19.95
Dextrose	14.32	0
beta-Corn starch	51.12	0
Others	5.36	5.36
Total (g)	100	100
3大栄養素による カロリー配分	コーンスターチ食 (kcal %)	スクロース食 (kcal %)
Protein	18.7	19.9
Fat	11.7	13.3
Nitrogen-free extract	69.6	66.8
トータルエネルギー	コーンスターチ食 (kcal/100g)	スクロース食 (kcal/100g)
	360.2	361.5

まず行動試験の結果だが、プレパルス抑制、物体位置認識試験(このテストは3分でおこなっているため、作業記憶を反映していると推察します)、自発運動量、においてはスクロース食*Glo1*ヘテロ欠損マウスのみが有意なスコアの異常を示した。しかし自己グルーミング、巣作り試験においては遺伝型に関係なくスクロース食のマウスで有意なスコアの異常が確認された。これらは、既存の精神疾患モデルマウスと同様の行動異常であった。(図①)

また、より詳細な脳内の変化に関してはスクロース食マウスにおいて精神疾患患者で観察されるようなパルブアルブミン陽性ニューロン数の減少や脳波の変化が遺伝型に関係なく生じた。非ニューロン細胞種の変化としては、スクロース食マウスの脳毛細血管内皮細胞やミクログリアにおいて有意にAGEsが増加し、それらの細胞は細胞障害や炎症性マーカーの増加を示した。アストロサイトもまた、異常な活性化状態へと遷移していた。また、上記に示した変化はスクロース食*Glo1*ヘテロ欠損マウスで決定的

な増悪傾向を示した。

以上の我々の研究結果から、マウスの発達期におけるスクロース過剰摂取は、精神疾患患者様の行動変化や脳機能変化を確かに引き起こすことが判明した。それゆえ、スクロースを全体量の半分も含んでいたAIN-76Aまでの飼料を与えられた齧歯類を用いた研究結果は、不安定な土台の上になり立っていたものだったのではないかと推察される。

### スクロースの少量摂取が実験動物に与える影響

ところでスクロース50%とは言わないものの、それを10%ほど残したAIN-93GとAIN-93Mの組成の飼料でも健康への影響は出ないのだろうか?いくつかの研究の結果が、そうとは限らないことを示唆している。以下に具体例を挙げる。

2015年に発表された研究では、野生型ラットに対して人の思春期にあたと考えられる期間中に限り飲水を水のみ、もしくは水と10%スクロース溶液を自由に選べる状況にして生育した後、成熟期において飲水を水のみに戻

してからその影響が調べられた<sup>14</sup>。その結果、スクロース溶液を飲んで育ったラットは物体位置認識テストのスコアの低下や海馬と前頭前皮質におけるPV陽性ニューロンの数の減少を示した。これらは認知機能低下がそのコア症状の一つであるアルツハイマー病や統合失調症患者に見られる特徴と一致している。

驚くべきことに、野生型ラットにさらに低い濃度のスクロース溶液を与えた場合でも影響が出たという研究結果が2018年に発表されている。実験の概要は上記に紹介したものとほぼ同様だが、スクロース溶液の濃度が5%であるという点が異なっている。思春期に5%スクロース溶液を与えられたラットは、成熟期においてスクロースへの嗜好性の低下、報酬系の機能低下、強制水泳試験のスコア低下、つまり快感への興味・関心の薄れや危機的状況への対処意欲の低下などが起こり、抑うつ様状態を示した<sup>15</sup>。

以上の結果は、少量のスクロース(5~10%のスクロース溶液)摂取でも、実験動物の行動パターンを変化させるほどの大きな影響を有することを明確に示している。ただし、上記の実験ではラットが生まれつき持っているカロリー摂取量の調整能力の為、摂取した5%もしくは10%スクロース溶液のカロリー分、飼料の摂取量が減少している可能性が高いため、スクロースが何%含有する飼料を与えた場合と同等の処置なのか、飼料に含まれる栄養素の摂取量がどの程度減少しているのか、そしてそれが実験結果に影響を与えるのかについては

スターチ食	野生型	GLO1半減	DISC1半減
結果に大きな有意差は認められない			
スクロース食			
プレパルス抑制	→	↓	↓
作業記憶	→	↓	↓
自発運動量	→	↑	→
ドーパミン放出	→	↑	N/A
巣作り行動	↓	↓	N/A
自己グルーミング	↑	↑	N/A
社会性行動	→	→	N/A

図①. 思春期におけるスクロース食の給餌と精神疾患に対する遺伝的脆弱性の組み合わせによるマウスの行動、生理機能への影響  
灰色矢印は異常値を示す。(Hirai et al., *Science Advances*, 2021のデータより改変)

定かではないことは留意すべきである。とはいえ、食事の内容の違いでマウスの体内環境の様々なパラメーターが明確に変化することは紛れもない事実であり、その変化が実験データの正確性をこちらが気付かぬうちに損なわせている可能性があることは確かである。

### おわりに

もちろん動物実験の結果に影響を与えるのは食事だけではないだろう。室温、湿度、光、音、ケージの広さ、ケージ内の仲間の数など、飼育環境が要因となる様々なストレスもまた影響してくることは想像に難くない。しかし、現実的には“遺伝要因以外は

全く生活環境が同じ実験動物”などというものを作り出し、理想的な健康状態のパラメーターを数値化して、世界中の研究者に遵守させるのは不可能に等しい。とはいえ、それでも研究者はより信頼できる実験データの採取方法の追求を諦めてはならないと考える。この総説がどれほどの人々の目に留まるかは分からないが、こういった小さな問題提起の積み重ねがAIN-93に代わる新たな実験動物の飼料基準を作り上げるきっかけとなり、科学データの確からしさの土台がより強固なものになることが期待される。

### 引用文献

1. Klurfeld D. M. *et al. J. Nutr.* 151, 1380-1382 (2021).

2. Greenfield H. & Briggs G. M. *Annu Rev Biochem.* 40, 549-72 (1971).
3. AIN *J Nutr* 107, 1340-8 (1977).
4. AIN *J Nutr* 110, 1726 (1980).
5. Reeves P. G. *et al. J. Nutr* 123, 1939-1951 (1993).
6. Nielsen F. H. *J. Nutr.* 148, 1667-1670 (2018).
7. Bitanhirwe B. K. Y. & Woo T. U. W. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 878-893 (2011).
8. Volk D. W. *et al. Am. J. Psychiatry* 172, 1112-1121 (2015).
9. Nucifora L. G. *et al. Transl. Psychiatry* 7, e1215 (2017).
10. Cai H. Q. *et al. Mol. Psychiatry* 25, 761-775 (2020).
11. Thornalley P. J. *Chem. Biol. Interact.* 111-112, 137-151 (1998).
12. Fujimoto M. *et al. Neurosci. Lett.* 438, 196-199 (2008).
13. Hirai S. *et al. Sci. Adv.* 7, Issue 46 (2021).
14. Reichelt A. C. *et al. Learn. Mem.* 22, 215-224 (2015).
15. Gueye A. B. *et al. Neuropsychopharmacology* 43, 2627-2635 (2018).

# MSRSII

Maximum Safety Research Space

個別換気ケージシステム

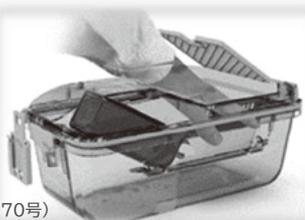
高品質・低価格を実現！

限られたスペースに対応します！

- ◆ ケージカバーを外さずに給餌・給水が可能
- ◆ カーボン及びHEPAフィルター排気により脱臭、  
空気汚染を防止
- ◆ ラベルは3色から選択可能
- ◆ ILAR指针对応

Top open Grill

特許登録番号(特許第6431470号)



6ケージ～ 幅広くご用意しております



**オリエンタル酵母工業株式会社**

バイオ事業本部 リサーチソリューション部

TEL : 03-3968-1192 FAX : 03-3968-4863 <https://www.oyc.co.jp/bio/>

Webサイトはこちら



## 実験動物の再利用について (I)

### 動物福祉と reduction の観点から 総論として

■ 國田 智 (自治医科大学)

#### 連載企画「実験動物の再利用」について

多くの実験動物は、1つの計画書に基づく動物実験に使用され、実験終了に伴って安楽死処置 (euthanasia, humane killing) によりその一生を終えます。しかし、厳しい基準を設けて実験動物を別の動物実験に用いることは、2つの実験の合算として見れば、3R原則の1つである「できる限り実験に使用する動物数を削減すること (reduction)」に貢献する取り組みと考えることができ、実際に一部の実験動物で再利用は行われています。実験動物の再利用 (reuse) は、同一機関内で1匹の動物を有効活用することになり、機関全体として reduction に貢献できますが、1個体への苦痛度が上乗せになることは避けるべきであり、その意味で再利用を許容する条件を明確にしておくことが重要です。実験動物を他機関に譲渡して別の実験に利用する移管 (transfer) も、両機関の合計としてみれば reduction に貢献できますが、譲渡先への移送や馴化の過程で大きなストレス負荷が生じたり、reuse と同様に1個体

への苦痛度が上乗せになることは避ける必要があります、明確な適用条件の設定がやはり欠かせません。また、安楽死処置後の動物から採取した臓器・組織・細胞を二次・三次の利用者に提供し、新たな研究用の生体試料として利用したり、実習用の材料として教育上の目的で利用することは、苦痛の軽減 (refinement) への影響なしに reduction に大きく貢献できる分配利用 (sharing) の取り組みとして推奨されます。

このような実験動物としての再利用や研究・教育目的での生体試料の二次利用の取り組みは、我が国でも従来から行われてきましたが、近年はこれらの取り組みに加えて、実験動物を家庭動物や展示動物として終生飼養するリホーミング (rehome)、あるいは産業動物の実験動物としての共利用 (dual-purpose use) などの試みが、欧米諸国を中心に行われるようになってきました (図1)。このような国際的な動向を踏まえ、我が国でも最近になって、一部の実験動物関係機関において小規模ながらも rehome の検討が始められています。(公社) 日

本実験動物学会の動物福祉・倫理委員会では、上述したような近年の国内外での取り組みに注目し、第69回日本実験動物学会総会 (2022年5月18-20日開催、仙台) において、シンポジウム「実験動物の再利用」を企画・開催いたしました。このシンポジウムでの講演内容をより多くの関係者に紹介するとともに記録に残し、今後の継続的な活動や新たな取り組みの検討に役立てることができるよう、LABIO 21の紙面をお借りして、連載企画としてシリーズでお届けすることとなりました。実験動物の再利用の問題について我々はどのように取り組むべきかを考える基盤として、まずはその意義、国内外での現状、問題点について情報を共有することが本企画の目的です。

#### 実験動物としての再利用 reuse、移管 transfer、分配利用 sharing の実例と許容条件

実験終了後の動物を実験動物として再利用する実例としては、数種類の化合物の非臨床薬物動態試験を同一個体を使用して一定のリフレッシュ期間を設けて

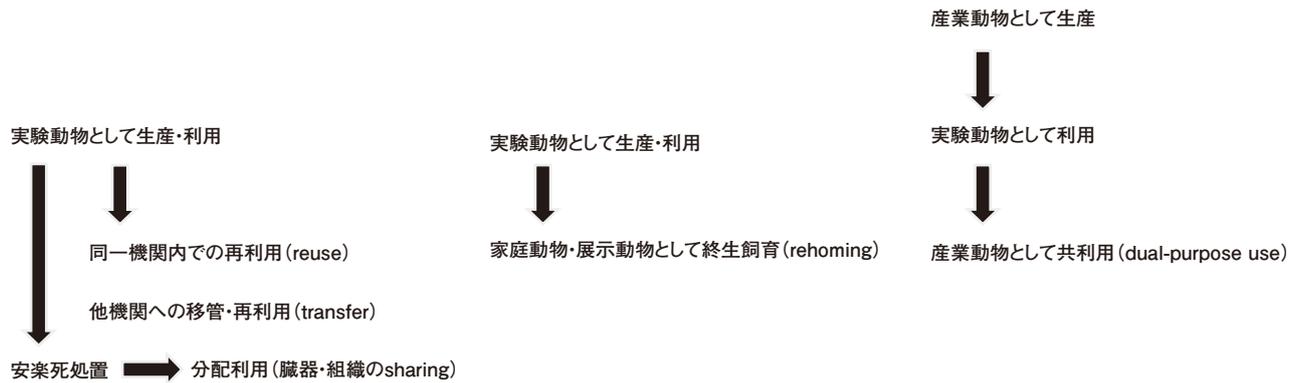


図1 実験動物の再利用に関わる各種の取組み

繰り返し実施することが、イヌやサルなどの非げっ歯類で一般的に行われています。複数の診療科による外科手術手技のトレーニングを1頭のブタを用いて麻酔下で連続して実施し、覚醒させることなく安楽死処置で終了することも可能です<sup>1)</sup>。Sharingの実例としては、実習や研究で使用した実験動物の臓器、組織、細胞を安楽死処置後に採取し、別の実験や実習のために他の研究者に提供すること、あるいはex-vivoでの外科実習用に凍結保存しておくこと等の取り組みを、本学においても動物実験施設の研究支援部門が仲介することで頻繁に行っている実績があります<sup>2)</sup>。また、実験動物生産業者においては、一定数の余剰生産個体やリタイア個体が出ることは避けられないため、それらの個体を有効活用する目的で、安楽死処置後に臓器、組織、細胞として販売が行われており、これもsharingの1つの実例と言えます。

実験動物を複数の実験に利用するreuseやtransferを実施する際には、あらかじめ動物実験委員会による審査と機関承認の手續

きを経る必要があります。委員会での審査にあたっては、初回利用時の実験処置に起因する苦痛度と動物への長期的な影響、再利用までの期間とその期間中に完全な回復が見込めるか否か、対象動物の通算での利用期間などに基づいて、動物実験委員会でreuseの妥当性を評価し、実施の可否を十分に検討することが不可欠です。Transferの場合には、対象動物の移管元と移管先の両研究機関において、上記と同様に対象動物に累積負荷される苦痛度に配慮した審査を各動物実験委員会が行い、その実施の妥当性を両機関が認めることで、初めて移管・転用が可能になります。動物実験計画書には、実験終了時の実験動物の最終処分方法（安楽死で終えるのか、再利用の可能性があるのか、再利用の場合の条件）を明確に記載し、委員会で注意深く確認、審査することが重要となります。使用動物数のreductionを優先するあまり、reuseされる個々の動物における苦痛レベルが増大しrefinementが損なわれる事態が発生しないよう、慎重な審査が委員会には求められます。

### 産業動物の共利用dual-purpose useについて

家畜を使用する動物実験では、産業動物として生産された個体の一部を実験動物として転用することがあります。近年、医療技術トレーニングあるいはヒト疾患治療法や医療用デバイス開発等のトランスレーショナル研究に使用されることの多いブタでは、実験専用のミニブタが使用されるケースもありますが、圧倒的に産業動物からの転用が多いのが実情であり、このこと自体は実験動物として余剰個体を生じさせないため、理に適った方法であると考えられます。一方で、家畜を栄養学、繁殖学、行動学等の非侵襲的な動物実験に使用した場合やゲノム編集家畜の作出過程で実験動物としての子世代が多数生産された場合に、これらを産業動物として再び有効活用しようという考え方もあります。動物福祉の視点に加えて、SDGsの一環としての生物資源の持続的生産利用、食の安全確保の観点も含め、海外の動向も注視しながら、産業動物と実験動物のdual-purpose useを許可する条件を引

き続き慎重に検討することが必要であると思われます。

### 終生飼養動物としてのリホーミングrehomngの意義と課題

近年、欧米においては、実験動物を一般家庭、農場、動物園、水族館などに譲渡し、家庭動物や展示動物として第二の生活の機会を与えるrehomngの試みも行われています。Rehomngは、スタッフの士気向上、研究者や飼養者の動物に対するモラルの醸成、動物を殺処分するストレスからのスタッフの解放、実験動物の運命に対する国民の懸念の払拭に貢献することなど、ポジティブな効果が期待できるとされています。しかしながら、動物の健康や福祉がrehomngによって逆に損なわれる可能性があること、研究上の必要性から実験利用後の個体のほとんどが安楽死処置と採材に供され実際にはrehomngできないこと、特定の動物（遺伝子組換え動物など）はrehomngに適さないこと、rehomngの過程で時間と労力を要すること（健康チェック、社会化、里親探し、里親の審査・指導、手続きなど）、施設職員は施設外での動物飼育を禁止されている場合が多く自らは里親になれないことなど、rehomngのデメリットや障壁として考慮されるべき問題点が多数あることも踏まえた慎重な対応が求められます。さらに、我が国では、動物愛護管理法において終生飼育動物（家庭動物、展示動物）と非終生飼育動物（実験動物、産業

動物）とで規制の在り方を区別しており、この区分の境界が不明確になり混乱を生じることも危惧されるところです。その他にも、野生動物を捕獲して実験後や処置後に自然環境に戻す行為 release / setting free、すなわちヒトの飼育管理下から解放して野生に戻すことで成立する研究活動もあります。この場合、対象動物個体の生存・健康への影響に配慮するだけでなく、環境への影響や公衆衛生上の影響についてもあらかじめ検討する必要があります。

日本国内での実験動物のrehomngやreuse/ transferの取り組みは極めて限定的ですが、海外においてもこの活動が急速に普及しているという状況では必ずしもないようです。実験動物のrehomngに関する倫理上の問題や科学的な影響を詳しく解析した学術論文はまだ少なく、研究施設や里親家庭を対象とした調査やrehomngの成功例に焦点を当てたいくつかの報告がドイツ、英国、フィンランドなどから公表されているに過ぎません<sup>3)</sup><sup>4)</sup><sup>5)</sup>。Rehomngのガイドラインやガイダンス等の整備を進めている国もありますが、現状ではイヌなどの特定の動物に偏りがあるようです<sup>6)</sup><sup>7)</sup><sup>8)</sup><sup>9)</sup>。このように、国際的にもまだ発展途上ではあるものの、rehomng等の取り組みは着実に実績をあげつつあると思われます。動物実験計画の作成に関するガイドラインとして2018年にNorecopaが策定した

PREPAREガイドラインにおいても、実験終了後の動物の再利用や新しい飼い主への譲渡の可能性について計画段階で検討しておくことが推奨されています<sup>10)</sup>。動物実験計画書の委員会審査における実験動物の最終処分方法に関する現在の審査では、最終処分が安楽死処置であれば、その手技の妥当性をrefinementの観点から主に評価しますが、再利用の可能性を積極的に審査することが我が国でも次第に求められるようになるかも知れません。

### おわりに

以上、実験動物の再利用に関する概略を総論として紹介しましたが、reuse、transfer、sharing、dual-purpose use、rehomngといった取り組みは、適切なプロセスに基づいて条件の適合する個体に限定して行うのであれば、動物自身にとってメリットの多い選択肢であるのみならず、研究機関にとっても潜在的なメリットのある選択肢であると考えられます。ただし、多くの労力と配慮を要する活動でもあることから、動物への愛情と必ず成功させる覚悟を持って取り組まなければ目指す成果は得られないであろうことが予想されます。このような解決すべき課題の複雑さは承知の上で、rehomngを含む実験動物の再利用を前提とする考え方が国際的に広がり始めている状況は、環境エンリッチメントについて我々がかつて意識し始め、今や標準になりつつある時代の流

- 1) 実験動物生産施設におけるげっ歯類の再利用：高木久宜（日本エスエルシー株式会社）
- 2) 創薬研究におけるイヌ・サルの再利用：小山公成（株式会社ケー・エー・シー）
- 3) 実験動物供給グローバル企業でのリホーミングの取り組み：安倍宏明（マーシャル・バイオリソース・ジャパン株式会社）
- 4) 海外の研究施設におけるリホーミングの実際とガイドライン：PEARSON James（国立循環器病研究センター, Monash University, Australia）
- 5) 非ヒト霊長類研究施設でのチンパンジーのサンクチュアリ設立：平田 聡（京都大学）

図2 本企画に寄稿予定のトピックス

れに似ている印象を抱きます。次号以降では、5名の先生方に、それぞれの研究・事業活動分野における実験動物再利用に関わる取り組みの現状と今後に向けた課題を具体的に解説いただく予定です（図2）。この連載企画が、実験動物の再利用の問題について、読者の皆様への最新情報の提供

に役立ち、具体的な活動を検討・推進する契機となることを期待しております。

参考文献

- 1) 國田 智. LABIO21, 2019, 78: 21-25.
- 2) Kobayashi, E. et.al. Exp. Anim. 2018, 67(1): 7-13.
- 3) Döring, D. et. al. PLoS ONE 2017, 12(7): e0181303.
- 4) Skidmore, T. and Roe, E. PLoS ONE 2020, 15(6): e0234922.

- 5) Hanninen, L. and Norring, M. Altern. Lab. Anim. 2020, 48(3): 116-126.
- 6) LASA Guidance on the rehoming of laboratory dogs. 2002
- 7) Advice Note 03/2015 Animals (Scientific Procedures) Act 1986
- 8) NCad opinion Rehoming of former laboratory animals 2016
- 9) NSW Research animal rehoming guidelines 2020
- 10) Smith, A.J. et. al. Lab Anim. 2018, 52(2):135-141.



### 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） <b>9</b> 台	4 t 保冷車エアサス（空調車） <b>1</b> 台	 <p>カーテン・フィルタ・ネズミ返し</p> <p>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。</p>
2 t 保冷車（うち空調車3台） <b>4</b> 台	4 t 保冷車エアサス PG（空調車） <b>2</b> 台	
3 t 保冷車 PG（空調車） <b>3</b> 台	4 t 保冷車（温調車） <b>1</b> 台	
	4 t 保冷車（空調車） <b>2</b> 台	



輸送箱（小）  
マウス・ラット輸送箱

サル輸送ケージ

ブタ用荷台柵

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三菱冷凍・フエンの全国のロードサービスで 24 時間 365 日対応します。



◆ Kuzu Vector Science Inc.  
~Sicuis 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.kuzuvector.com>  
[info@kuzuvector.com](mailto:info@kuzuvector.com)

# 父親マウスの養育行動を引き出す神経回路の変化

稲田 健吾 宮道 和成

理化学研究所 生命機能科学研究センター

哺乳類の子供（仔）は、独り立ちするまで親に養育してもらわなければ生きていけない。親にとって子育て行動（養育行動）は、親自身の生存を脅かす側面も持つ。しかし自分自身の子孫を確実に残すには必要不可欠であるため、ヒトを含め多くの哺乳類種の親は積極的に養育行動を行う。養育行動は親となった動物に特徴的な行動で、交尾未経験の雄や雌では見られない。それどころか交尾未経験の雄や雌は、概して（他者の）仔に対して攻撃的である。これは自分の遺伝子を受け継いでいない仔を排除することで、自分の子孫が生存・繁殖する確率を上げるための適応的行動だと理解されている。こうした行動学的な知見から、哺乳類の脳内では親になるまでの間、すなわち交尾から出産までの間に、仔への攻撃性を和らげつつ、親和性を上げるような神経回路の変化が起きていると考えられているが、詳しいことは分かっていない<sup>1,2)</sup>。特に妊娠や出産といった生理的な変化を経験する雌と比べ、雄が父親になる過程で脳にどのような変化が生じるのかは、十分に理解されていない。本稿では、この点に関し、我々が最近発表した研究論文<sup>3)</sup>の内容を紹介しつつ議論する。

交尾未経験の雄マウスは、仔マウスに対して極めて攻撃的で

ある。ところが、雌マウスとの交尾やパートナーとの同居を経て父親になる時期が近づくと、攻撃性がなくなり、他のマウスの仔であっても保温したり、巣から離れた仔を連れ戻したりといった養育行動を示すようになる<sup>4,5)</sup>。脳の視床下部と呼ばれる領域には、養育行動の発現に重要な神経核が多数存在している。このうち室傍核という神経核に存在するオキシトシン神経細胞は、マウスを含むげっ歯類の雌において出産や射乳、そして養育行動を促進させる働きを持つ<sup>6,7,8)</sup>。そこで筆者らは、オキシトシンが雄マウスの養育行動に関与しており、また父親になる過程でオキシトシン神経細胞の興奮性を上げるような神経回路の変化が起きているのではないかと考

え、実験を行った。

## ■オキシトシンは雄マウスの養育行動促進に必須である

オキシトシン神経細胞は、細胞内で神経ホルモン物質オキシトシンを合成し分泌する。まず雄マウスの養育行動の発現におけるオキシトシンの関与を示すため、父親マウスの脳内でオキシトシンが十分に分泌されない状況を作り出すことを計画した。そのためにオキシトシン遺伝子のコンディショナルノックアウト（cKO）マウスを新たに作成した。このマウス系統では、CRISPR-Cas9をベースとしたPITCh法<sup>9)</sup>を用いて、オキシトシン遺伝子の *exon1* を *loxP* 配列で挟んだ (*floxed*) アリルをノックインした (図 1A-C)。この

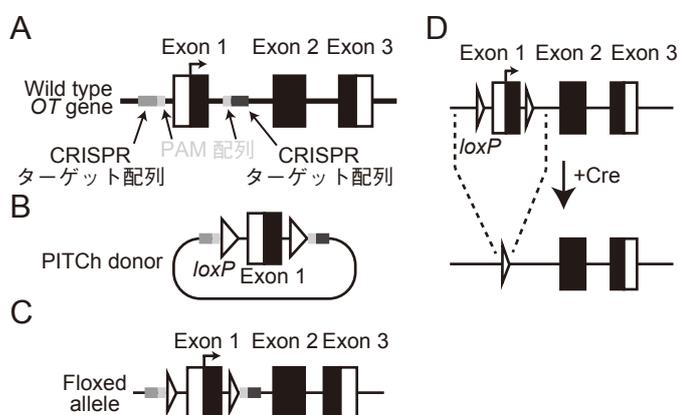


図1. PITCh法によるオキシトシンcKO用マウスの作成

(A) オキシトシンの合成を司る *exon1* の上流と下流をCRISPRターゲット配列で挟む。白四角は非翻訳領域、黒四角はコーディング領域を表す。(B) *Exon1* を *loxP* (白三角) で挟んだものをPITChドナーとした。(C) ノックインにより *floxed* アリルが作成される。(D) Creを発現している細胞内では *exon1* が欠損し、オキシトシンの合成ができなくなる。

アレルでは、DNA 組み換え酵素 Cre の発現下で、*loxP* で挟まれた遺伝子領域が欠損する。オキシトシン遺伝子の *exon1* には開始コドンなどオキシトシンを合成するための配列が含まれているため、Cre を発現した細胞だけで、オキシトシンの合成能を欠損させることができる (図 1D)。Cre の局所発現はアデノ随伴ウイルス (AAV) を成獣の室傍核に注入することで行った。実際 Cre を発現させた cKO 個体でオキシトシンの mRNA を解析したところ、mRNA レベルが有意に低下していることを確認した。また PITCh 法では *floxed* アレルがノックインされずオキシトシン遺伝子の *exon 1* が欠損した従来型の KO マウスも同時に作成することができる。この KO マウス系統も本研究で使用した (後述)。

オキシトシン *floxed* マウス系統の雄マウスを正常な雌マウスと交尾させ、その後妊娠中から

出産 5 日後まで同居させることで「父親マウス」とした。これまでの研究から、父親マウスは自分の仔でなくとも養育行動を示すことが知られており、Cre を発現していない対照群の父親マウスは養育行動を示した。これに対し、オキシトシン合成能を失わせた cKO 父親マウスは、養育行動を示す割合が低下し、仔を無視するようになった (図 2A)。AAV で Cre を発現させる場合、全てのオキシトシン神経細胞でオキシトシンの合成能を欠損させられるわけではない。そこで残存しているオキシトシン合成能をもつ神経細胞と、養育行動を実行していた時間の総和の関係性をみたところ、両者には比例関係が見られた (図 2B)。すなわちオキシトシン合成能が欠損するほど、つまりオキシトシンの分泌量が減るほど、父親マウスの養育行動が発現しなくなることが分かった (図 2C)。

交尾未経験の雄マウスは、仔に対して攻撃的である。もしオキシトシンが養育行動を促進するならば、交尾未経験の雄マウスであっても、オキシトシン神経細胞を人為的に活性化させてオキシトシンの分泌を促せば、養育行動を示す可能性がある。そこで次に、薬理遺伝学的手法を使って、交尾未経験の雄マウスのオキシトシン神経細胞を活性化させた。するとこれらの雄マウスは仔を攻撃せず、代わりに父親マウスの様に養育行動を見せた (図 2D)。養育行動を実行した時間の総和は、刺激されたオキシトシン細胞数に比例する (図 2E)。そのためオキシトシン神経細胞の活動レベル、ひいてはオキシトシンの分泌量が高いほど、交尾未経験の雄マウスは養育性を示すと考えられる (図 2F)。さらに、オキシトシン KO マウスにおいてオキシトシン神経細胞を刺激する実験を行う

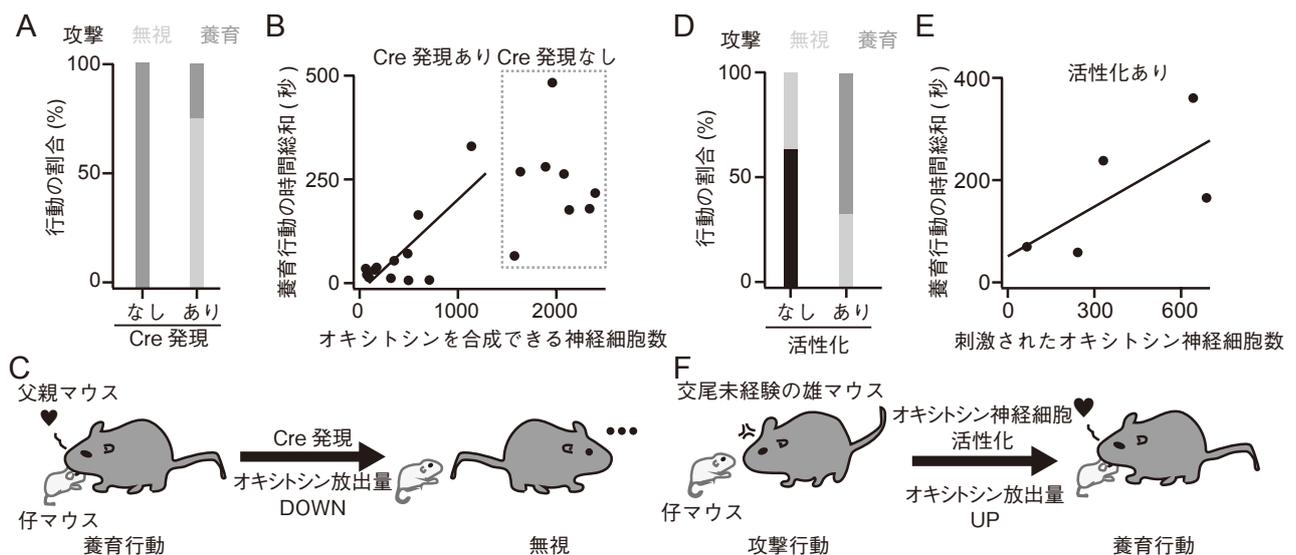


図2. 父親マウスと交尾未経験雄マウスにおけるオキシトシンの効果

(A) 父親マウスの行動の割合。cKOにより無視の割合が高くなる。(B) 養育行動を行う時間は、残存オキシトシン神経細胞数の数に比例する。(C) 実験結果の模式図。オキシトシン放出量が抑制された父親マウスは、養育行動を示さず、仔を無視するようになる。(D) 交尾未経験の雄マウスの行動の割合。オキシトシン神経細胞を活性化すると、仔に対する攻撃性が抑制され、代わりに養育行動が発現する。(E) 養育行動を行う時間は、刺激されたオキシトシン神経細胞数に比例する。(F) 実験結果の模式図。交尾未経験雄マウスのオキシトシン神経細胞を活性化させ、オキシトシンの放出量を上げると、仔に対する攻撃行動が抑制され、代わりに養育行動が発現する。

ことで、オキシトシン分泌の重要性を検証した。この場合のオキシトシン神経細胞は、KOによりオキシトシンを合成・放出できないが、グルタミン酸などその他の神経伝達物質や神経修飾物質は放出できる。この実験でも交尾未経験の雄マウスは養育行動を見せたが、そのパフォーマンスはオキシトシン合成能がある場合よりも顕著に悪かった。

これらの結果は、オキシトシン神経細胞の活性化、そしてオキシトシンの分泌が雄マウスの養育行動を引き起こすために重要であることを示している。

### ■養育行動を生み出す脳神経回路変化の解析

オキシトシン神経細胞の活性化、そしてそれによるオキシトシン分泌が養育行動を引き起こすのであれば、交尾からパートナーの出産に至るまでの過程において、雄マウスの脳内で、オキシトシン神経細胞が活性化しやすくなるような神経回路の変化が起きているのではないか。すなわち父親マウスの養育行動は、この神経回路変化に支えられている可能性がある。筆者らはこの仮説を2種類の異なる実験手法で検証した。

まず、オキシトシン神経細胞に直接入力を送る神経細胞群を同定した。この実験では、狂犬病ウイルスがシナプス後細胞からシナプス前細胞へ広がる性質を持つことを利用したトランスシナプス標識法<sup>10)</sup>を用いた。具体的には、特殊な受容体をオキシトシン神経細胞に発現させた

上で、改変型狂犬病ウイルスを感染させる(図3A)。すると受容体を介してオキシトシン神経細胞に感染した改変型狂犬病ウイルスが、オキシトシン神経細胞のシナプス前細胞に広がる。シナプス前細胞において、改変型狂犬病ウイルスは、緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現するため、シナプス前細胞を蛍光で可視化することができる(図3A)。この実験を父親マウスと交尾未経験の雄マウスで行い、両者のシナプス前細胞を比較解析した。その結果父親マウスのオキシトシン神経細胞は、交尾未経験の雄マウスよりも多くの入力を受けていることが分かり、特に外側視床下部と呼ばれる領域からの入力数が、父親マウスで著しく増えていることが分かった。さらにこのシナプス前細胞が興奮性か抑制性か、*in situ* ハイブリダイゼーション法という組織化学的手法を用いて調べたところ、興奮性の入力が増えていることも分かった(図3B)。

トランスシナプス標識法により、父親マウスの個々のオキシトシン細胞は、より多くの外側視床下部の興奮性細胞とシナプスを形成していることが分かった。そこで次に、この増えたシナプス数が、神経伝達強度の増強も伴っているのか解析した。この実験では、光遺伝学と電気生理学的手法を用いた(図3C)。まず光遺伝学では、光に反応して陽イオンを細胞外から細胞内に輸送する性質を持つタンパク質を、標的とする神経細胞群に発現させる。すると光を当てることによってその細胞の膜電位が上昇し、神経伝達物質の放出を誘起することができる。本実験では

外側視床下部の興奮性細胞群にこのタンパク質を発現させた。一方オキシトシン神経細胞からは、電気生理学的手法のうち、全細胞記録法という手法を用いて、神経細胞の電気活動を高精度で記録した。これは電極を入れたガラスピペットを、細胞表面にギガΩ以上の高抵抗で密着させた後に、細胞膜に穴をあけることで細胞内の微弱な電気活動までも高精度で記録できる方法である。本実験では光刺激により放出された神経伝達物質が、オキシトシン神経細胞に生み出すシナプス後電流(応答)を計測した(図3D)。交尾未経験の雄マウスと父親マウスでそれぞれ実験を行って比較解析したところ、外側視床下部からの興奮性入力は、父親マウスのオキシトシン神経細胞において、より強い応答を生み出すことが分かった(図3E)。

これら2つの独立した実験により、外側視床下部興奮性細胞からオキシトシン神経細胞への入力強度が、父親マウスにおいて増強されていることが分かった。

### ■外側視床下部の興奮性神経細胞は仔への攻撃性を抑制する

外側視床下部の興奮性神経細胞からオキシトシン神経細胞への入力強度が、父親マウスで増えていることには、一体どのような意味があるのだろうか。外側視床下部はこれまで睡眠や摂食行動、ストレス応答などへの関与が知られているが、養育行動の研究ではあまり注目されてこなかった。そこでまず、外側視床下部と養育行動の関連性を示すため、父親マウスが仔と触れ合う際に、外側視床下部興奮

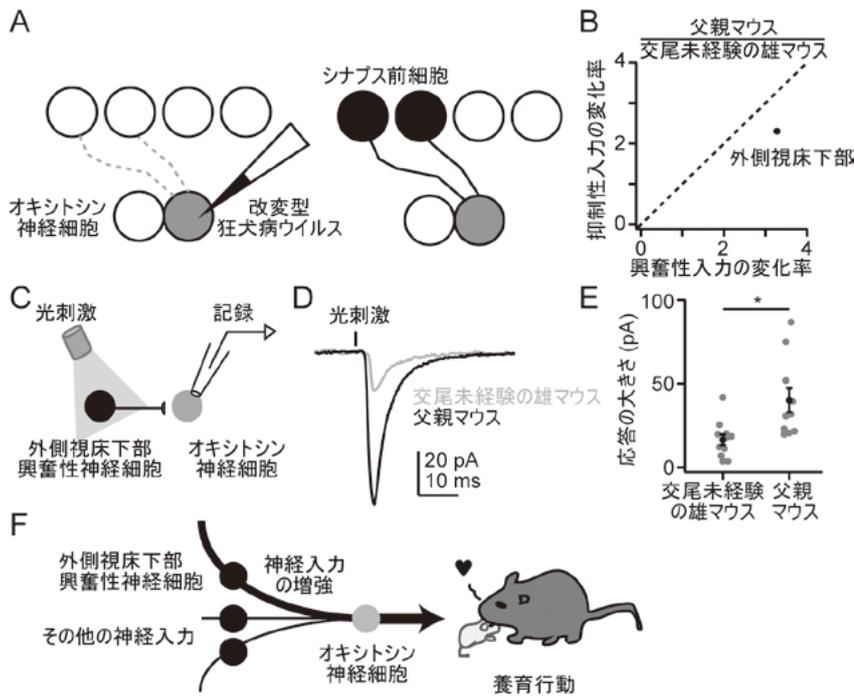


図3. 父親となったマウスの脳で起きる神経回路変化とオキシトシンを介した養育行動の促進

(A) トランスシナプス法の模式図。(B) 外側視床下部からの興奮性入力、父親マウスでは約3倍に増えている。(C) 光遺伝学と電気生理学的手法の模式図。(D) オキシトシン神経細胞からの応答。(E) 外側視床下部からの興奮性神経伝達強度も有意に増加している (\*はp値が0.05以下を示す)。(F) 実験結果の模式図。交尾から出産に至る過程で、外側視床下部興奮性細胞からオキシトシン神経細胞への神経入力が増強される。その他の神経細胞からの入力と合わせて、養育行動が発現すると考えられる。

性細胞が活性化するのか調べた。具体的には神経活動の指標となる最初期遺伝子 *c-fos* の発現を解析した。すると仔と触れ合った父親マウスの方が、触れ合わなかった父親マウスよりも、外側視床下部の興奮性神経細胞において *c-fos* を発現している細胞の割合が高かった。この結果は、仔との触れ合いにより、父親マウスの外側視床下部の興奮性神経細胞が活性化していることを示している。

次に、外側視床下部の興奮性神経細胞の養育行動における機能を調べるため、交尾未経験の雄マウスを用いて、外側視床下部の興奮性神経細胞を人為的に活性化させた際の、仔への行動を調べた。すると養育行動こそ

出なかったものの、仔への攻撃行動が顕著に抑制された。さらに、この攻撃性の抑制が、オキシトシンを介することでなされているのかどうか解析するため、オキシトシン KO マウスにおいて、同様に外側視床下部の興奮性神経細胞を活性化させてみた。するとこの実験では、攻撃行動の抑制がみられなかった。このことから、外側視床下部は下流のオキシトシン神経細胞の活性化を介して攻撃性の抑制を行っていることが示された。一方で外側視床下部興奮性細胞の活性化だけでは養育行動を生み出せないことから、他の脳領域からオキシトシン神経細胞への様々な入力が協調的に働くことで、父親の養育行動が発現されてい

る可能性も示唆された (図 3F)。

今回筆者らは交尾から出産までパートナーの雌マウスと連れ添うことで、父親マウスの脳内、特にオキシトシン神経細胞への神経入力強度が変化することを明らかにした。しかし具体的にどのような刺激がこの変化の引き金になっているのかは不明である。また背景にある分子・神経メカニズムも分かっていない。今後さらに研究を進め、神経回路変化を引き起こす要因の解明や、進化的保存性の検討などを通して、ヒトを含む哺乳類の養育行動を支える神経基盤を明らかにしたい。

参考文献

- 1) Elwood, R.W. (1994). Temporal-based kinship recognition: A switch in time saves mine. *Behav Processes* 33, 15-24.
- 2) Dulac, C. *et al.* (2014). Neural control of maternal and paternal behaviors. *Science* 345, 765-770.
- 3) Inada, K. *et al.* (2022). Plasticity of neural connections underlying oxytocin-mediated parental behaviors of male mice. *Neuron*, 10.1016/j.neuron.2022.03.033.
- 4) Wu, Z. *et al.* (2014). Galanin neurons in the medial preoptic area govern parental behaviour. *Nature* 509, 325-330.
- 5) Tachikawa, K.S. *et al.* (2013). Behavioral transition from attack to parenting in male mice: a crucial role of the vomeronasal system. *J. Neurosci.* 33, 5120-5126.
- 6) Marlin, B.J. *et al.* (2015). Oxytocin enables maternal behaviour by balancing cortical inhibition. *Nature* 520, 499-504.
- 7) Pedersen, C.A. *et al.* (1982). Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science* 216, 648-650.
- 8) Yoshihara, C. *et al.* (2018). Oxytocin and parental behaviors. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 35, 119-153.
- 9) Sakuma, T. *et al.* (2016). MMEJ-assisted gene knock-in using TALENs and CRISPR-Cas9 with the PITCh systems. *Nat Protoc* 11, 118-133.
- 10) Miyamichi, K. *et al.* (2013). Dissecting local circuits: parvalbumin interneurons underlie broad feedback control of olfactory bulb output. *Neuron* 80, 1232-1245.

## EUにおける動物実験規制を めぐる議論：

### 欧州市民発議(European Citizens Initiative, ECI)と動物実験

長崎大学 環境科学部 本庄 萌

#### 1. はじめに

EUにおける主な実験動物福祉法は、指令2010/63/EUである<sup>1</sup>。指令2010/63/EUは3Rを明文化し、動物の飼育に関する規定や、動物実験に関する情報収集について定めている。また、動物に内在的価値を認めたとえ動物実験から代替法への完全な転換を最終的な目標として掲げるなど、動物福祉を考慮した宣言的な特徴をもつ。しかし近年、EUの動物実験規制については、指令2010/63/EUでは不十分であるという市民運動が展開されている。同指令は動物実験を前提にした規制であるが、宣言だけではなく、具体的かつ確実に最終的な目標に向けた道筋を示すべきだと主張されている。

EUには市民が政策決定に参加する仕組みがいくつかあるが、欧州市民発議(European Citizens Initiative, ECI)はそのひとつである<sup>2</sup>。EU市民は、1年間ですべての構成国の4分の1以上(7か国以上の構成国)において100万人以上の署名を集めるなどの要件を満たせば、欧州委員会に法案提出や政策実施を求めることができる<sup>3</sup>。これまで厳しい要件を満たして発議に成功したECIは6件であるが、そ

のうち1件は動物実験全廃を求めるECI(生体実験の中止(Stop Vivisection)<sup>4</sup>ECI)である。また、化粧品のための動物実験禁止を遵守するよう求めるECI(クルエルティフリー化粧品を守る(Save Cruelty Free Cosmetics)ECI)が2021年に登録され、先月まで署名を集めていた。本稿は、動物実験規制に関するECIの概要を示し、EUにおける動物実験をめぐる議論状況を明らかにする。

#### 2. 欧州市民発議(ECI)とは

ECI制度は、政治的な意思形成にEU市民が参加できるように定められた制度のひとつである<sup>5</sup>。ECI制度の導入によって、EU市民は一定の条件を満たせば欧州委員会に対して発議する権利が認められている(EU条約11条4およびEU運営条約24条1)。ECI実施規則によると、ECIは欧州委員会に登録されてから、署名集計システムの証明などを経て署名収集に至り、署名が集められたEU構成国の監督当局によって署名の認証がなされてから欧州委員会に提出される<sup>6</sup>。2021年3月19日までに欧州委員会に登録されたECIは76件であるが、同時期に条件を満たして発議され、欧州委員会の判

断が下されたECIは5件であった。最近、新たに畜産動物のケージ飼育を段階的に廃止することを求めたECIについて欧州委員会の判断が下された<sup>7</sup>。本稿で検討する生体実験の中止ECIは、これらのうち3件目であり、クルエルティフリー化粧品を守るECIは、他のECIより早く発議に成功すれば、7件目となる。

#### 3. Stop Vivisection ECI

生体実験の中止ECIは、動物実験が現段階で不可欠であるという考えに疑問を呈し、動物実験を禁止する方策をとることを欧州委員会に求めた<sup>8</sup>。

同ECIは、動物実験の意義に懐疑的な科学者を中心とした11人のEU市民からなる「組織者」(organisers)<sup>9</sup>によって起草された発議であり、2012年6月22日に登録された。登録から12か月の間に117万人を超える署名を集めて署名数の条件を達成し、2015年3月3日に欧州委員会に提出された。同ECIにおいて、署名者が最も多かったのはイタリア(約69万人)<sup>10</sup>、次に多かったのはドイツ(約16万人)、続いてフランス(約6万人)であった。全体で26か国から117万3千130人の署名を集めた。

表1：生体実験の中止ECIに関するタイムライン

2012年6月22日	組織者が登録をし、署名を集め始める
2015年3月3日	署名の有効性が確認される 生体実験の中止ECIが欧州委員会に提出される
2015年5月11日	組織者が欧州委員会の担当者と会合
2015年5月11日	欧州議会で公聴会が開催される
2015年6月3日	欧州委員会による判断が下される
2016年12月6-7日	欧州委員会による会議が開催される
2017年4月18日	欧州オンブズマンが調査結果を公表

登録以降のタイムライン<sup>11</sup>は表1の通りである。

2015年3月3日、組織者は要求内容を1頁に簡潔にまとめた関係書類(annex)<sup>12</sup>と、108頁の資料(dossier)<sup>13</sup>を欧州委員会に提出した。

1頁の関係書類には、動物実験への倫理的な反対に加えて、動物モデルを通してヒトへの反応を予測するという旧来の考え方を、科学的原則に基づいて無効化(invalidate)するだけの経験的な証拠があるという主張をECIの前提として挙げている。これらの前提に基づき、ECIは、動物実験を事実上容認している指令2010/63/EUを無効にし、動物実験を廃止するための新しい提案をすることを欧州委員会に対して要求した。資料は、ECIの要求をより詳細に表した10の要請と、その背景となる調査結果や調査結果への見解をまとめている。生体実験の中止ECIによって示された10の要請は、以下の通りである。

① 2021年までにEUは動物実験を廃止すること

- ② 動物実験は不可欠であるという法律の文言を、EUにおける関連法から削除すること
- ③ 提案①と提案②をテーマとした会議を2年に1度開催すること
- ④ 代替法の使用を義務付けること
- ⑤ 代替法の優先度を政策、資金、説明責任において高めること
- ⑥ 代替法の妥当性検証の迅速性を確保すること
- ⑦ 代替法の妥当性検証をこれまでとは異なる方法(動物実験との比較に基づかない方法)で行うこと
- ⑧ 国を超えた代替法の義務付けの取組みを行うこと
- ⑨ 代替法の妥当性検証の費用をEUが負担すること
- ⑩ 代替法に関する年次報告をECVAM(European Centre for the Validation of Alternative Methods)が作成すること(情報提供を行い、代替法の活用を研究者の裁量に任せている現状を変えること)

同ECIに対する欧州委員会の回答は、当面の間は指令2010/63/EUは依然として必要

である、というものであった<sup>14</sup>。つまり動物実験は当面必要だと欧州委員会は判断した。欧州委員会は、以下の点を確認した上で、EU指令2010/63/EUを無効にする提案を提出する予定はなく、新しい法的枠組の採用を提案する予定もない、と結論付けた。

欧州委員会は、構成国から個別研究組織までのすべての関係者に、同指令における3Rという目標を達成するよう努力を続ける重要性を強調している。欧州委員会によれば、同指令は代替法の発展と取組みを促進するものでもあり、同ECIの要請とも一致するものである。欧州委員会は、構成国に対して、同指令の完全実施と執行のための努力や、代替法の発展への積極的な取組みを要請した。

なお、欧州委員会は、同ECIの意義も明確に示している。欧州委員会によれば、動物福祉を支える市民参画は歓迎されるものであり、同ECIはEUが代替法に移行する試みをいかに強化するかを批判的に評価する機会を提供している。その結果、ECIに対応するために、欧州委員会は具体的な4つの行動計画を掲げた。

#### 行動計画①

情報共有を通して、3Rの適用の進捗を加速させること。

#### 行動計画②

代替法を開発し、妥当性を検証し、実施すること。

#### 行動計画③

3Rの遵守を執行し、関連する分野の法制度を調整すること。

#### 行動計画④

動物を利用せず、かつ科学的に有効なアプローチを開発するための科学の進歩をいかに開拓していくかについて、科学者団体と利害関係者の間の対話を促進すること。

行動計画②には、2015年の回答時点までに行ってきたEUの代替法に関する取組みの継続も含まれる。欧州委員会はその後、生体実験の中止 ECI の要求を受けて会議を開催するなど（行動計画④）、ECI の要求を部分的に受け入れて実行に移している。

同 ECI に対する欧州委員会の回答は、既存の法制度を大きく変えるものではなかった。しかしながら、ECI 制度は、100 万以上の EU 市民の署名を集めるなどして提出された ECI については、欧州委員会が組織者と会合の場を設け、欧州議会で公聴会を開催されたうえで判断されるというプロセスを規定しており、同 ECI についてもこれらのプロセスを経た判断となっている。欧州委員会の回答後、回答に納得できないとして組織者は欧州オンブズマンに調査を依頼したが、欧州オンブズマンは、同 ECI への対応として欧州委員会は行動計画の明確化と実施をしており、その対応は適切であったと評価している。

## 4. Save Cruelty Free Cosmetics ECI

クルエルティフリー化粧品を守る ECI は、2021 年 6 月 30 日に登録された。組織者は動物保護団体「動物の倫理的扱いを求める人々の会」(People for the Ethical Treatment of Animals, PETA) のメンバーなどであるが、同 ECI の運営のために最も多くの金額を出資しているのは化粧品企業数社である<sup>15</sup>。署名収集期間は 2021 年 8 月 31 日から 1 年間である。2022 年 9 月 1 日には 100 万を越える署名を集まったという報道もあるが、今後署名の有効性が確認されることになる。同 ECI の要請は、大きく分けて以下の 3 つである。

- ① 化粧品動物実験禁止規定を守り、強化すること
- ② EU の化学物質に関する規制を転換すること
- ③ EU の科学を現代化すること

まず①について。EU がこれまで段階的に化粧品のための動物実験の禁止を進めてきたのは周知の通りであるが、同 ECI によると、これらの禁止規定は、欧州委員会と欧州化学物質庁のスタンスによって弱められている<sup>16</sup>。というのも、欧州委員会と欧州化学物質庁によると、化粧品動物実験禁止規定は、労働者の健康や環境のために行われる試験や、REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals) 規則に登録される化粧品以外に用いられる化学物質のために行わ

れる試験に関しては適用されない<sup>17</sup>。そこで組織者は、動物実験を実施した場所や目的に関わらず、化粧品成分の安全性評価において動物実験データを拒否しなければならないことを明確化することや、消費者、労働者、環境が新たな動物実験なしに保護されるよう、化粧品動物実験禁止規定を強化・拡大するための法整備を開始することを求めている。

しかし、同 ECI の射程は、化粧品に関する動物実験規制を超えて、動物実験規制一般に及ぶ。すなわち、②「EU の化学物質に関する規制への転換」と③「EU の科学の現代化」は、化粧品のための動物実験という枠を超えて、EU としてあらゆる動物実験の代替法への転換を促している。化学物質の分野横断的な利用や科学政策の方向性の転換がなければ、化粧品の動物実験禁止の適切な執行もままならないと判断した動物保護団体が今回 ECI という行動に出たと言えよう。組織者は、有害化学物質を特定するための代替法を開発、検証、実施するために、資金投入、野心的なスケジュール、部門横断的な支援を伴う具体的な手段を導入すること、そして化学物質、殺生物剤 (biocide)、植物保護製品、薬品、その他の分野で行政責任を負う欧州機関の間で、代替法の迅速な導入を図ることなどを求めている。

さらに組織者は、「EU 構成国の成人の 72% が、動物実験を廃止するという最終目標に向けて、

EUが（具体的で測定可能な目標とそれに伴うスケジュールを含む）ロードマップを描くべき時が来たという意見に同意している」<sup>18</sup>として、EUにおけるすべての動物実験を段階的に廃止するためのロードマップを描く立法案に尽力することを求めている。具体的には、指令2010/63/EUそれ自体が完全な代替へのロードマップではないことを認めること、EU予算、欧州グリーン・ディール、持続可能性のための化学物質戦略、COVID後の復興計画などの新しい包括的政策において、動物を用いない実験法の開発と検証を優先させ、資金を動物実験から代替法へと振り向けることなどを要請している。

100万を超える署名の有効性が確認されなければ、同ECIに対する欧州委員会の回答を見ることはできない。しかし、市民団体があらゆる制度を利用して動物実験規制の適切な運用や制度の進展を要求する動きは今後も続くだろう。

## 5. 考察：おわりに代えて

ある法体系の法を理解するためには、法の条文（文面）だけでなく、その法の背景、議論過程、運用の在り方を検討する必要がある。EUには、市民団体などの非政府団体がEUレベルの政策決定に参画するしくみが複数用意されている。本稿は、そのうち、ECIに着目したものである。2つのECIは、指令2010/63/EUが定める、動物実験から代替法への完全転換を目指すという方向

性に強く期待し、着実な進展を欧州委員会に求めている。EUでは、3R、なかでも代替法への展開について、明確なロードマップ、資金投入などの働きかけを示すことが常に求められ続けているのである。また、代替法が開発されても活用されず動物実験がなされていることを指摘する研究者もいる。実際の運用としては、化粧品分野に限っても動物実験の禁止の完全実施が困難である現実があるが、常に公的な議論を重ねる努力がなされているというのがEUの特徴だといえよう。

1. 同指令の邦訳として、植月献二（2012）「EUの実験動物保護指令」『外国の立法』254号がある。
2. EU条約11条は、市民のEUレベルの政治参加という目的を達成するために、ECI以外にも、EU機関と市民および代表団体との意見交換、EU機関と代表団体および市民社会との対話、欧州委員会とステークホルダーとの協議といった制度も定めている（中西優美子（2015）『EU法』〔初版第3刷〕新世社、46頁）。
3. Regulation (EU) 2019/788 of the European Parliament and of the Council of 17 April 2019 on the European citizens' initiative, OJ 2019 L130/55, Articles 2 and 5 (5).
4. “Vivisection”は通常、「生体解剖」と訳されるが、このECIの要求は、あらゆる動物実験の廃止であり、解剖実験に限定されない。したがって、ここでは「生体実験」とする。
5. ECI制度の最近の動向をまとめたものとして、本庄萌（2021）「欧州市民発議（ECI）の展開」『EU法研究』10号を参照されたい。
6. Regulation (EU) 2019/788 of the European Parliament and of the Council of 17 April 2019 on the European Citizens' Initiative, OJ 2019 L130/55.
7. Commission, “Successful Initiatives”, <http://ec.europa.eu/citizens-initiative/public/initiatives/successful>（最終閲覧日：2022年7月20日）。
8. Commission, 3.6.2015 C (2015) 3777 final.

9. 組織者の専門や経歴は様々である。たとえば、獣医学を専門とするフランスのアンドレ・メナシュ（André Ménache）、欧州議員の経歴をもつイタリアのジャンニ・タミノ（Gianni Tamino）、フランス国立科学研究センターの理事（director）を務めたこともあり、健全な科学的な研究手法を推進する非営利団体Antidote Europeの共同創設者であるフランスのクロード・ライス（Claude Reiss）などが含まれる。この3人は、欧州議会の公聴会で組織者の代表として生体実験の中止ECIについて説明した。
10. イタリアからの署名者数が最も多かった理由は、指令2010/63/EUの国内立法の遅さと、その遅延に対する批判の表れも考えられるが、キャンペーンが積極的に行われたかどうかとも関連していると考えられる。
11. Commission, Commission's Answer and Follow-up, <http://ec.europa.eu/citizens-initiative/public/initiatives/successful/details/follow-up/2012/000007/en>（最終閲覧日：2022年7月20日）。
12. Annex: Stop vivisection, European Citizens' Initiative: Stop vivisection, available at EU Commission's website, <http://ec.europa.eu/citizens-initiative/public/initiatives/successful/details/2012/000007>（最終閲覧日：2022年7月20日）。
13. Stop Vivisection, European Citizens' Initiative 1,173,131 Signatures to Phase Out Animal Experimentation, Dossier (May 11, 2015).
14. Commission, 3.6.2015 C (2015) 3777 final, 10.
15. ECIの公式HPには、同ECIを支持し資金援助している団体や企業のリストや、署名したEU市民の人数が出身国別に掲載されている（European Union, Save Cruelty Free Cosmetics-Commit to a Europe without Animal Testing (Last visited: July 20, 2022) [https://europa.eu/citizens-initiative/initiatives/details/2021/000006\\_en](https://europa.eu/citizens-initiative/initiatives/details/2021/000006_en)）。
16. Save Cruelty Free Cosmetics-Commit to a Europe without Animal Testing, Annex.
17. European Chemicals Agency (a) Clarify on Interface Between REACH and the Cosmetics Regulation, [https://echa.europa.eu/view-article/-/journal\\_content/content/title/clarify-on-interface-between-reach-and-the-cosmetics-regulation](https://echa.europa.eu/view-article/-/journal_content/content/title/clarify-on-interface-between-reach-and-the-cosmetics-regulation)（最終閲覧日：2022年7月20日）。
18. Savanta: ComRes, “Cruelty Free Europe, Perceptions of Animal Testing in the EU” (2020) (Last visited: July 20, 2022) <https://comresglobal.com/polls/cruelty-free-europe-animal-testing-in-the-eu/>

## 動物実験の禁止をめぐる スイスの国民投票

中外製薬株式会社 研究本部  
礒部 剛仁

スイスにおいて動物実験の禁止を求めるイニシアティブ（国民発議）が立ち上がり、その是非を問う国民投票が今年2月に行われた。投票の結果、有権者の約80%が反対し、イニシアティブの提案は退けられた。動物実験をテーマとして、市民、企業、大学、政府など国全体を巻き込んだ議論がなされたことは興味深い。本稿では、イニシアティブの内容とそれに反対した製薬業界等の対応を中心に、動物実験の禁止をめぐる国民投票の概要を紹介する。筆者は本稿を執筆している現在、スイスのバーゼルに拠点をもつ製薬企業のロシュ社に赴任している。スイスにおける動物実験の現場を知る者の視点から、動物実験をとりまくスイス社会の様子を紹介したい。

### スイスにおける国民投票の仕組み

スイスの政治システムは直接民主制を特徴としており、広範囲にわたる様々な政治案件について国民投票により決定する権利が国民に与えられている。それを実現する仕組みの1つがイニシアティブ（国民発議）と呼ばれ、スイス国民はイニシアティブにより憲法の改正を請求す

ることができる。イニシアティブを立ち上げ、提案内容に賛同する10万人の署名を18ヶ月以内に集めることができれば、憲法改正をかけた国民投票が実施される<sup>1)</sup>。動物実験の禁止をめぐる今回の国民投票もこの仕組みに則り実施された。

### イニシアティブの内容

動物実験禁止を求めるイニシアティブの正式名称は、“Yes to the ban on animal and human experiments - Yes to research that brings safety and progress”（動物実験と人体実験の禁止に賛成—安全と進歩をもたらす研究に賛成）である。その提案内容は、動物実験およびヒトを対象とした研究を無条件に禁止し、それらを対象とした研究によって開発された製品の全部または一部の取引と輸入を全面的に禁止することを求める、というものであった。このイニシアティブを立ち上げたのは自然療法医や医師、有機農家らから構成される市民団体であり、動物福祉や環境保護などの分野で活動する約80の団体や企業がそれを支持した。

### イニシアティブに対する反応

仮にイニシアティブの主張が

採択された場合、新薬の研究、学術研究、病院だけでなく、化学工業や食品工業、農業など、スイスの人々の生活に多大な影響を与えることになるとして、スイス連邦政府および連邦議会の全政党がイニシアティブの主張に反対し、投票者である国民に対して同案に反対するよう呼びかけた。スイスの製薬工業協会に相当するInterpharma、大学など高等教育機関の統括組織であるSwissuniversities、民間の動物保護団体であるSwiss Animal Protectionなども反対の立場を示した。このように、今回のイニシアティブに対して政界、産業界、学界、民間から多くの反対意見が提示された。具体例として、Interpharmaがウェブサイト上に掲載した主張の概要を示す（図1）。

このようなInterpharmaの見解は、スイスの政界、学界、他の産業界の考えと一致するものであった。そこで各界が協力して、イニシアティブがスイスにもたらす影響を有権者に伝え、動物実験の必要性に関する有権者の理解を深め、イニシアティブに反対票を投じるよう促すことを目的としたカウンターキャンペーンを展開した。キャンペーンでは、ポスター

メッセージ

このイニシアティブは、動物やヒトを対象としたあらゆる研究を禁止する、世界でも類を見ない急進的なものである。このイニシアティブが採択されれば、スイスの人々と動物の健康が大きな危機にさらされ、研究とイノベーションの拠点としてのスイスは崩壊する。したがってInterpharmaはこのイニシアティブに反対する。

イニシアティブが採択された場合の影響

<p>スイスの人々は新薬や医療技術の革新の恩恵を受けられなくなる</p>	<p>ヒトを対象とした研究、つまりスイスでの臨床試験は禁止される。患者さんは臨床研究に参加できなくなる</p>
<p>スイスではヒトや動物に関する研究(心理学や社会科学など含む)が禁止され、研究やイノベーションの拠点としてのスイスの魅力は大きく損なわれてしまう</p>	<p>動物実験はスイスから法規制レベルの低い海外に移される。家畜は医療から切り離され、野生動物の保護を目的とした研究も禁止される。したがって、動物保護、動物福祉が大幅に悪化する</p>

図1 動物実験禁止イニシアティブに対するInterpharmaの主張まとめ

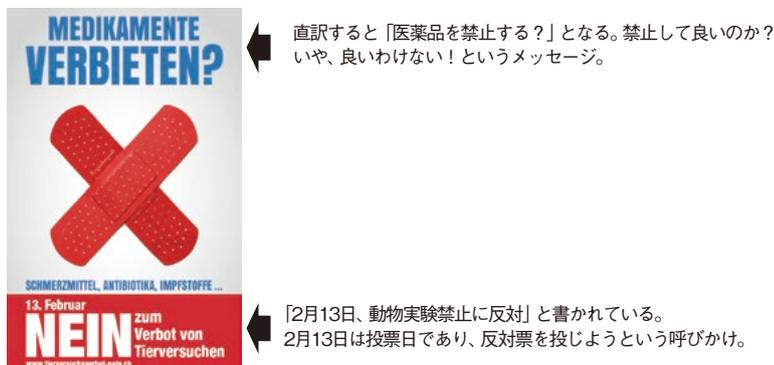


図2 反対投票を求めるポスター

掲示、広告、イベントフォーラムの開催、そしてウェブサイト<sup>2)</sup>の作成という様々な媒体を通じた発信が行われた。ウェブサイトはよく作られており、一般市民に向けたメッセージがわかりやすくまとめられている他、配布用のポスター資料(図2)やメールのバナーなどもある。サイトを訪れていただければ、キャンペーンの雰囲気を感じ取ることができる。なおスイス国民が皆読めるよう、サイトはドイツ語、フランス語、イタリア語に対応している。以上のように、イニシアティブの主張とそれに対する反対意見はスイス国内の様々なメディア(新聞を含む)を通じて発信、紹介され、国民はそれら情報に触れ

る機会が多くあり、そして情報を参考に投票した。

動物実験の法規制と動物実験をとりまく社会

このような過激に思われる内容のイニシアティブだが、スイスにおいて動物実験禁止に関する国民投票が行われたのは、1985年の初回以降今回が4回目である。国全体を巻き込む議論として繰り返し動物実験がトピックになっていることから、動物実験に対する社会の関心の高さが伺える。実際に、スイスの法律に定められた動物福祉基準は世界で最も厳格なレベルである。例えばマカク属のサルを飼

育する場合の条件として、飼育空間の広さは45 m<sup>3</sup>以上(床面積は15 m<sup>2</sup>以上)必要であり<sup>3)</sup>、これは欧州基準であるETS123<sup>4)</sup>およびDirective/2010/63/EU<sup>5)</sup>に定められる飼育空間の広さの5倍もある。さらにスイスの法律ではマカク属のサルは群れで飼育することが原則必須であり、単独飼育は極めて限定的な条件下においてしか許容されない。また、スイスでも他の欧州各国と同様に当局が動物実験の計画書審査を行うが、スイスの場合は審査委員会の構成員に動物保護団体のメンバーが含まれることが特徴である。スイスの動物保護団体は、基本的に動物実験に反対であるものの、同時に動物実験の必要性も理解し、産業界と対話して動物実験の3Rsのために協働するという団体である。動物をとりまく倫理について非常に成熟したスイス社会を象徴する存在と考えられる。

動物実験に関する市民への情報発信や市民の理解促進を目的とした活動は、スイスで一般的に行われている。スイスにおいて動物実験の3Rsは注目されるテーマであり、動物実験に関する年次統計情報が官庁(Federal Food Safety and Veterinary Office)のウェブサイトに掲載されている<sup>6)</sup>。ここには例えば、スイス全体で実験に使用された動物の総数や、苦痛度(スイスではseverity 1から3に分類)ごとの試験数などの情報が公開されている。また、このような活動を企業も独自に行っており、

例えばロシュ社はグループ企業全体での使用動物数の情報を公開し、同社が取り組む動物実験代替技術などを紹介している<sup>7)</sup>。さらに近年、スイスにおいて産官学民が連携し、動物福祉と科学の発展のために3Rsを推進することをミッションとしたSwiss 3R Competence CenterというNPOが設立された<sup>8)</sup>。この機関は3Rsに貢献する研究への出資や、国が公開する統計情報の詳細な分析データの公開などを行っており、これらは動物実験に関する透明性の向上と、国民の理解向上につながっている。

動物実験をめぐり、国民投票という大規模な行事が発生したのは約20年ぶりだが、スイスでは動物福祉に対する社会的な関

心が高く、動物実験の是非について意見や立場が異なる組織や人々が存在する。しかしながら、互いに意見を交わす機会が多く設けられており、3Rsのような共通目標に向かって協力し、その結果として動物福祉と科学の発展を両立している点は、スイスの優れている点であると思われる。

最後に、本稿の執筆にあたり多くの情報を提供してくれたロシュ社のTobias Schnitzer氏、Nathalie Stieger氏に感謝申し上げます。

#### 参考資料

1) Swiss Federal Department of Foreign Affairsウェブサイト：<https://www.eda.admin.ch/aboutswitzerland/ja/home/politik-geschichte/politisches-system/direkte-demokratie.html>

- 2) カウンターキャンペーンのウェブサイト：<https://www.tierversuchsverbotnein.ch/>
- 3) Animal Protection Ordinance of 23 April 2008 (status as at 1 March 2018)
- 4) European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123)
- 5) Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes
- 6) FSVO Animal experimentationウェブサイト：<https://www.blv.admin.ch/blv/en/home/tiere/tierversuche.html>
- 7) Animal Research at Rocheウェブサイト：<https://www.roche.com/innovation/ethical-standards/animal-research/>  
同サイトに公開されている資料：[https://assets.cwp.roche.com/f/126832/x/ac08e63ddb/position\\_animal\\_research\\_at\\_roche\\_status-apr2022.pdf](https://assets.cwp.roche.com/f/126832/x/ac08e63ddb/position_animal_research_at_roche_status-apr2022.pdf)
- 8) Swiss 3R Competence Centerウェブサイト：<https://swiss3rcc.org/>

## 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](http://www.animal-care.co.jp)

●お気軽にお問い合わせください

 0120-011419

## AVMA動物の安楽死指針： 2020年版の解説

岡村 匡史（国立国際医療研究センター研究所）

森松 正美（北海道大学大学院 獣医学研究院）

浅野 淳（鹿児島大学 共同獣医学部 獣医学科）

### はじめに

日本実験動物医学専門医協会（JCLAM）は、AVMAと翻訳契約を取り交わし、「米国獣医学会動物の安楽死指針（安楽死ガイドライン）：2020年」の翻訳本（翻訳者代表：黒澤努、鈴木真、監修：JCLAM）を出版した。本ガイドラインは、国際的に容認される具体的な安楽死法を示しており、主に動物の安楽死を行う、あるいは監督する獣医師を対象に記載されているが、動物実験に携わる研究者、技術者にも利用していただきたい重要な文献である<sup>1)</sup>。2020年版は、2013年版からのマイナーバージョンアップという位置づけであるが、安楽死のために配慮すべき実施方法のみならず、実施環境についてもまとめられているなど、最新の情報を網羅している。本稿では、本ガイドラインの理解をより深めるために、主な変更点について解説する。

### AVMA動物の安楽死指針（安楽死ガイドライン）とは

動物に関わる人道的および倫理的な諸問題が、近年社会の関心事として広く認知されつつある。例えば、人間が愛玩動物・

産業動物・実験動物・展示動物・野生動物などとして動物を人道的にケアしつつ利用すること、すなわち「動物のケアと使用」（the care and use of animals）に対する関心が高まっており、法令や基準・指針の整備が進められている。中でも、動物を用いる際に不必要な疼痛や苦痛・苦悩から如何に解放するかについては、様々な議論が行われてきた。米国では半世紀以上前から、人間が利用する動物の苦痛・苦悩からの解放手段として推奨される安楽死法の検討が進められ、「AVMA動物の安楽死指針（安楽死ガイドライン）」として公表されてきた。日本でも多くの研究機関や動物実験に携わる人々が実験動物の安楽死に関する指針として本ガイドラインを参照している。

AVMA安楽死ガイドラインは、1963年に第1版が発行された。この年、安楽死を実施する、あるいは安楽死を監督する獣医師のためのガイドラインを作成するため、AVMAに「安楽死に関する研究会」（Panel on Euthanasia）が設置された。第1版は研究会のイヌ・ネコ・小型哺乳類の安楽死法とその推奨

事項に関する報告書として作成された。その後、1972年・1978年には実験動物や家畜、1986年には変温動物、水生動物、毛皮動物、1993年にはウマ、野生動物についての安楽死法も収録された。さらに、安楽死に見られる動物の生理学的・行動学的反応、安楽死の実施が周囲の人や環境に及ぼす影響、経済的な側面についての情報も追記され、安楽死に関する総合的なリファレンスとして発展した。2007年には“AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals”に名称が変更され、2013年には現在のガイドライン構成、すなわち「第1部：概論（I）」、「第2部：一般的な安楽死法（M）」、「第3部：種や状況ごとの安楽死法（S）」が採用された。2020年版は第9版となる。

本ガイドラインは実験動物に限定されず、伴侶動物、農業用動物、展示動物、野生動物など状況の異なる動物に関して、安楽死法のみならず安楽死の実施環境についてもまとめられている。従って、動物の安楽死を実施する、あるいは監督する多くの動物専門家（各方面の臨床獣医師、動物実験に携わる研究者、

技術者、学生)に向けたガイドラインであると言える。

## 主な変更点とその解説

### (1) 鎮静と麻酔

鎮静薬、鎮痛薬および麻酔薬の違いを明確にするための説明が追加された。薬剤で鎮静あるいは不動化した動物は、意識があるため十分な刺激により覚醒する状態にあることを認識する必要がある。つまり、意識の喪失が瞬時で確実な物理的安楽死法(例:と畜銃、銃撃、感電死)と異なり、他の安楽死法(ペントバルビタールの心内投与、塩化カリウムや硫酸マグネシウムの静脈内投与、放血など)は、動物が完全に意識がない状態で実施しなければならない。デクスメトミジン、メドトミジンおよびキシラジンなどの鎮静薬は、単独では本当の意味での無反応、無意識の状態に至らしめることはできない。意識を喪失する前に苦痛や有害刺激を生ずる安楽死法を実施する際には、必ず麻酔薬を使用する必要がある。

### (2) 意識と無意識

全身麻酔は、理想的には、無意識を誘発するか、意識を環境から切り離すことで、手術を受けていることや疼痛を感じることなく、行動上の無反応の状態に置くことである。麻酔薬により、情報を統合する脳の機能が遮断あるいは阻害されることで、大脳皮質が受け取る情報を減らすことによって、無意識を引き起こす。バルビツール酸塩は大

脳皮質の抑制に始まり、麻酔の進行に伴って意識の喪失を生ずる。過量投与すると、深麻酔から呼吸中枢の抑制により無呼吸を生じ、その後、心停止に至る。麻酔に用いられる全てのバルビツール酸誘導体は、静脈内投与による安楽死に用いることができる。作用の発現が速やかであり、ほとんど痛みを生ずること無く意識を喪失させ、あっても投与時に注射針を血管に刺入する際の痛みであるため、付加条件なしに容認される安楽死法である。また、ケタミンなどの解離性薬物とメドトミジンおよびキシラジンなどの $\alpha$ 2アドレナリン受容体作動薬の混合液も、安楽死に有効な用量や経路が確立している動物種では、その過剰投与は容認される安楽死法である。なお、メドトミジン-ミダゾラム-ブトルファノールの3種混合麻酔薬においては、過剰投与による安楽死法が確立されていないため、現段階では安楽死法として用いる場合は慎重な検討が必要である。

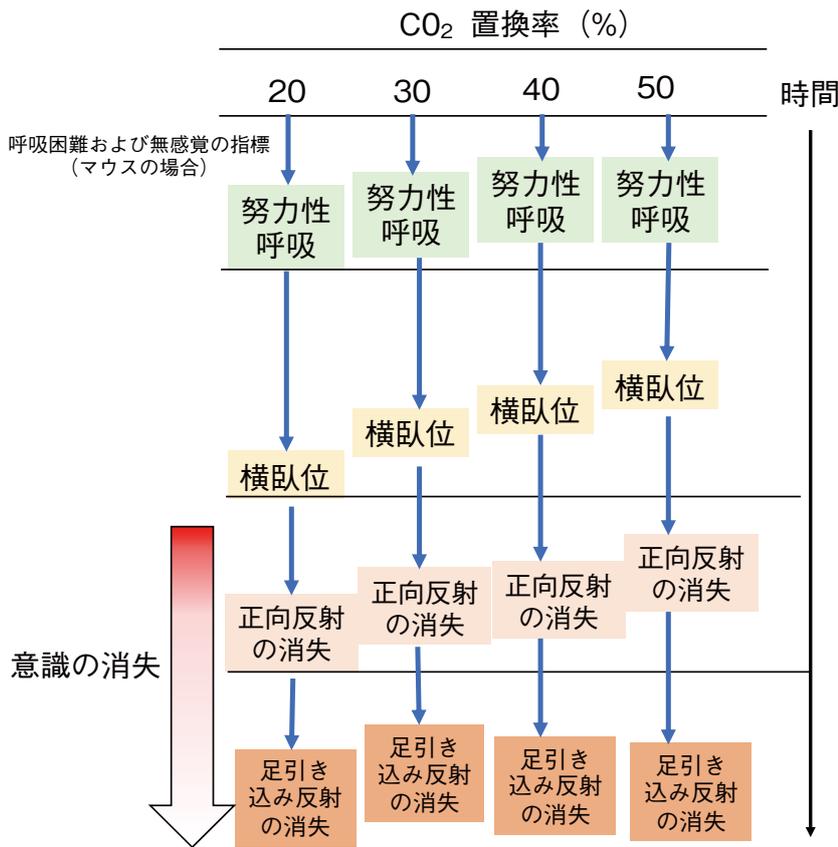
### (3) 炭酸ガス(CO<sub>2</sub>)を用いた安楽死法の推奨条件

#### 1) CO<sub>2</sub>の置換率の変更

実験動物のげっ歯類にCO<sub>2</sub>を用いる推奨条件が、徐々に濃度を上げる方法からより早い置換率に変更された。2007年版では、より意識の消失を急速に誘導できるという理由で、(苦痛を引き起こさない範囲内で)70%あるいはそれ以上のCO<sub>2</sub>が満たされたチャンバーを用いることが推奨されていた。2013年版の改定

により、徐々に暴露するCO<sub>2</sub>濃度を上げる方法は、意識を消失する前に炭酸ガスによる侵害受容体の活性化に起因する疼痛を引き起こしにくいという理由で、毎分容器体積の10~30%の置換率でゆっくりとCO<sub>2</sub>濃度を上昇させる方法が推奨された。2020年版では、CO<sub>2</sub>に暴露してから意識消失までの時間短縮を目的に、容器内の体積の30~70%/分の置換率で漸次CO<sub>2</sub>濃度を上昇させることが推奨された。呼吸停止後、少なくとも1分間はCO<sub>2</sub>を流入させ続けなければならない。マウスをCO<sub>2</sub>に暴露すると、時間経過と共に、低酸素による努力性呼吸、横臥位(脱力)、正向反射の消失および足引き込み反射の消失、という反応を示す(図1)。横臥位以降に意識の消失がおけると考えられるため、より苦痛を軽減するためには、足引き込み反射の消失までの時間を短縮することで、動物の苦痛が軽減すると考えられる。CO<sub>2</sub>置換率を上昇させることで、足引き込み反射の消失までの時間の短縮はみられなかったものの、努力性呼吸から横臥位までの時間、および努力性呼吸から正向反射消失までの時間は有意に短縮したため、2020年版ではより置換率を早くする方法が推奨された<sup>2)</sup>(図1)。

CO<sub>2</sub>は速やかに鎮静、鎮痛および麻酔効果を発現するが、その反応性は均一ではなく、種差、系統差および個体差があり、マウスおよびラットでは3~20%濃度のCO<sub>2</sub>を回避し、10~35%



Moody CM et al, Laboratory Animals 2014, Vol. 48(4) 298-304より作図

図1. 各置換率でマウスにCO<sub>2</sub>を暴露した時の、意識消失までの時間。置換率を上げることで横臥位 および正向反射の消失までの時間が短縮する。

の場合恐怖反応を引き起こす。容器内のCO<sub>2</sub>濃度が40%以上になると、無感覚になる前に苦痛を感じるレベルになるため、意識が消失する前に40%以上にはならない。意識がある状態では、多くの種には嫌悪感をもたらす、苦痛を生ずる可能性があるため、流量をコントロールすることが重要である。なお、O<sub>2</sub>の添加は意識を消失するまでの時間を遅延させ、低酸素血症で死に至るまでの時間を延長させるため推奨されない。さらに、あらかじめ吸入麻酔薬で麻酔下に置くことに、動物福祉上の観点から利点はない<sup>3)</sup>。

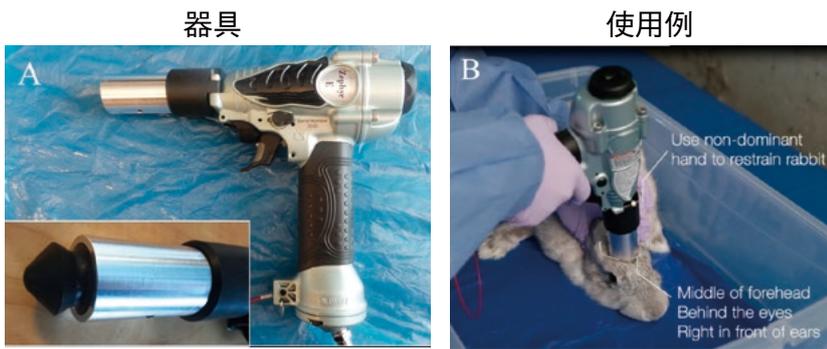
## 2) ホームケージでの実施

理想的な安楽死は、急速な意識の消失とそれにつづく心肺機能の停止、そして最終的には脳の機能停止までのすべての過程で、苦痛が全くない状況を作り出すことである。しかしながら、実際には飼育室を移動するなどの環境の変化、保定あるいは安楽死処置など、動物に何らかのストレスを与える行為を行わない限り安楽死は行えない。この過程におけるストレスをできるだけ軽減するため、2013年版に記載されていた、“動物をまとめて入れなければならない場合においては、同種の動物のみにし、そして自身や他の動物を傷害す

ることを防ぐために、必要に応じて、保定しなければならない。”が削除され、げっ歯類の場合、内部を暗くしたホームケージで実施することが推奨されている。安楽死を実施する際には、実施方法のみならず、実施環境ならびに実施者の心的ストレスあるいは安全にも十分配慮する必要がある。

### (3) ウサギの物理的な安楽死法 (非貫通式と畜銃)

一般的に、非貫通式と畜銃は動物を失神させるのみなので、単独で安楽死用いることができなかったが、安楽死用に設計された非貫通式と畜銃が近年開発され、哺乳期の子ブタ、あるいは反芻類の新生子の安楽死に用いられている。実験室や生産所でウサギを安楽死する場合、ウサギ用の非貫通式と畜銃は条件付きで容認され、100%の確率で速やかな意識の消失を生じることが示されている<sup>4)</sup>(図2)。滑らない床の上で、口(上部)が開いている拘束器具にウサギを入れ、動物の臀部を器具の壁に押し付けるようにして保定する。利き手ではない手のひらで肩甲骨を押して保定し、親指と人差し指をウサギの首に優しく置くことで、頭部を動かないようにする。額の中心(両眼の後方で両耳の前方)に銃身を定め、動物の大きさや年齢に適した圧力で速やかに2回銃撃する。的確な処置のために、あらかじめ遺体等でトレーニングした熟練者が実施する必要がある。



Walsh JL et al, *Animals* 2017, licensed under CC BY 4.0.

図2. ウサギの安楽死に用いる非貫通式ボルト型器具。利き手の反対の手でウサギを固定し、額の中心（両眼の後方で両耳の前方）に銃身を定める。

動物種	容認される方法	条件付きで容認される方法
げっ歯類	S2.2 バルビツール酸誘導体、もしくはバルビツール酸誘導体と解離性薬物との混合剤の投与	S2.2 吸入麻酔薬、CO <sub>2</sub> 、CO、トリフロモエタノール、エタノール、頸椎脱臼、断頭、ビーム収束式マイクロウェーブ照射

本文の項目  
S2.2 小型のげっ歯類 (p99)

付表1の例

動物種	容認される方法	条件付きで容認される方法
げっ歯類	S2.2 バルビツール酸誘導体、もしくはバルビツール酸誘導体と解離性薬物との混合剤の投与	S2.2 吸入麻酔薬、CO <sub>2</sub> 、CO、トリフロモエタノール、エタノール、頸椎脱臼、断頭、ビーム収束式マイクロウェーブ照射

付表2の例

薬物・方法	コメント
抱水クロラル	イヌ、ネコ、および小型の哺乳類には容認されない。

図3. 付表1, 2の例。枠で囲まれた番号 (S2.2) は、本文の項目 (小型のげっ歯類) の番号に一致しているので、必ず本文も参照されたい。

#### (4) 鳥類の胚の安楽死法

2013年版では、“鳥類の胚は孵化期間の50%を越えると神経管が十分に発達し、苦痛を知覚する”と記載されていたが、2020年版では、“孵化期間の80%以上を経過した鳥類の胚は、疼痛を知覚する能力が示唆されるため、幼生雛と同じ安楽死法を用いるべきである”と改定された。しかしながら、この分野は現在研究が進行中であり、発達過程における種特異的な違いがあるため、鳥類の胚の安楽死は、最新の情報に基づき、細心の注意を払いながら実施する必要がある。

#### 付表の利用法

本ガイドラインの巻末 (p198 -) には付表が添付されている。付表1は動物種ごとの安楽死法と安楽死薬、付表2は一時的安楽死法として容認できない薬剤および方法、付表3は本文中で引用している図が収録されている。付表1および2は安楽死法の簡易マニュアルとして利用できる。例えば、付表1にはげっ歯類の容認される安楽死法、条件付きで容認される安楽死法が記載されている (図3)。付表に記載されている番号 (例:S2.2) は、本文で示されている動物種の項目番号に一致しているので、本文を参照する際に便利である。

付表には、週齢や投与方法などの情報が記載されていないため、実際に使用する際には、対応するセクションを必ず参照する必要がある。

#### おわりに

本ガイドラインは、主に北米の法規制に則って記載されている。わが国では医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律 (薬機法) および関連法令等による規制がある。本ガイドラインに記載されている薬剤の多くは、それらに則って使用しなければならず<sup>5)</sup>、必要に応じて獣医師に相談することを強く勧める。

日本実験動物医学会 (JALAM) および日本実験動物医学専門医協会 (JCLAM) は、本ガイドラインの解説動画を公開しており<sup>6)</sup>、こちらも参考にしていきたい。

#### 参考文献

1. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition
2. Moody CM, Chua B, Weary DM. The effect of carbon dioxide flow rate on the euthanasia of laboratory mice. *Lab Anim* 2014;48:298-304.
3. Hawkins P, Prescott MJ, Carbone L, et al. A good death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. *Animals (Basel)* 2016;6:50.
4. Walsh JL, Percival A, Turner PV. Efficacy of blunt force trauma, a novel mechanical cervical dislocation device, and a non-penetrating captive bolt device for on-farm euthanasia of pre-weaned kits, growers, and adult commercial meat rabbits. *Animals (Basel)* 2017;7:100.
5. 花井幸次, 岡村匡史, 黒澤勉, 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, *LABIO21* 2020年9月号; 17-21
6. 日本実験動物医学会ホームページ (<https://jalam.ne.jp>)

## 実験動物への「体内埋め込み式 運動量/温度計測装置 nano tag<sup>®</sup>」の紹介

キッセイコムテック株式会社 田口 勇次郎

### 1. はじめに

弊社は脳波や筋電といった生体から計測できる信号を解析するノウハウを活かし、2000年に睡眠解析研究用プログラム SleepSign<sup>®</sup>を開発し販売を開始した。

このソフトウェアは、その名が示す通り睡眠状態を把握し解析をすることを目的としている。このソフトウェアはヒトも実験動物も同様の考え方で解析を行うが、ヒトも実験動物も脳波を計測する必要がある。脳波を計測するには機材が高価であり、特に実験動物での計測には手術手技の繊細さが必要で現在も困難が伴う。

そこで、ヒトの睡眠状態を簡易的に計測できる MicroTag 活動量計（図2）という小型のアクチグラフに対応した、睡眠/覚醒リズム研究用プログラム SleepSign<sup>®</sup>-Act（図1）を2009年に発売した。腰部に装着するだけで、ヒトの睡眠/覚醒リズムや睡眠量を長期（100日）に渡って低負荷で計測し解析できる。

ある時、この MicroTag 活動量計にパラフィンを使って防水加工を施し、ラットの体内へ埋め込み、運動量を計測した研究者が現れた。その結果は、それ

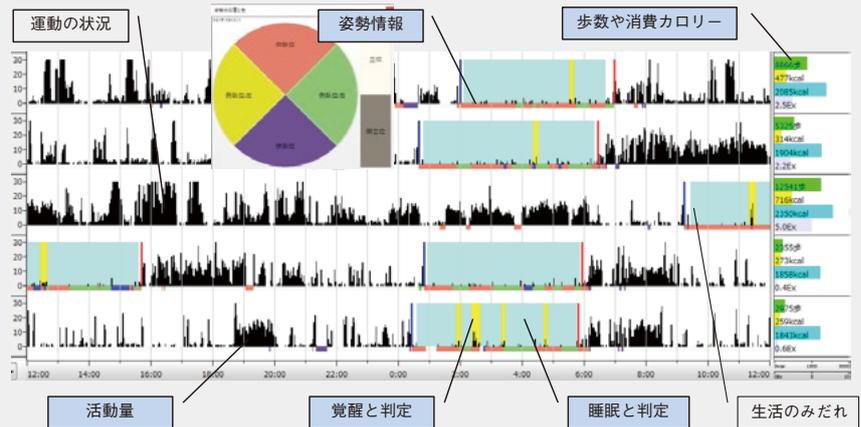


図1. 睡眠/覚醒リズム研究用プログラム SleepSign<sup>®</sup>-Act



図2. ラットに埋め込んだ当時の MicroTag 活動量計 (27mm×9.1mm, 9g)



図3. 運動量/温度計測装置 nano tag (18.8mm×14.2mm×7.1mm, 2.7g)

までの赤外線センサーで計測された運動量と遜色ないデータであった。体内にセンサーを埋め込むことで、赤外線センサーでは計測できない環境下での計測を可能にできるものと考え、可能な限り小型化し完全防水を施した。このような経緯で生まれたのが「体内埋め込み式運動量/温度計測装置 nano tag」（図3）である。

### 2. nano tagの特徴

nano tag は、実験動物の体内に埋め込むことを想定し、小型化・完全防水化した運動量計測装置である。これまで運動量を計測するには、飼育ケージの上部に取り付けた赤外線センサーでの計測が一般的であったが、飼育ケージの広さや深さによって感度の調整が必要であった。更に回転輪やトンネル等の遊具

を入れる、または、複数匹を同一ケージに入れると赤外線が妨げられてしまっていた。

nano tag は機器を体内に埋め込むことによって、前述のような計測環境の制約を大幅に軽減することができた。更に、計測データは本体の内部メモリへ記録されるため、計測環境による電気的な影響も受け難い。

一方で、体内に埋め込むことで、当然、動物に負荷がかかることになる。機器自体が2.7gあるため、体重が軽い小さな動物や、自発運動が弱まっている動物では高負荷になってしまう。また、完全防水化したことにより、電池交換ができず使い捨てである。計測データは本体の内部メモリへ記録されるため、長期間計測するには、時間分解能を低くしたり、計測途中でデータを一旦取り出したりと運用上の工夫が必要である。

### 3. nano tagでの計測項目

nano tag では、単位時間当たりの運動量と温度の他に、3軸の加速度センサーからの生値（3軸値と合成値）が計測できる。但し、運動量と生値は同時に記録することはできない。

#### 3-1. 運動量

3軸加速度センサーから計測した各 X, Y, Z（約 25Hz）の合成波に対して、感度にあたる閾値を任意に設定する。この閾値を下から上に横切った回数を単位時間当たりの運動量として記録する。（図4）

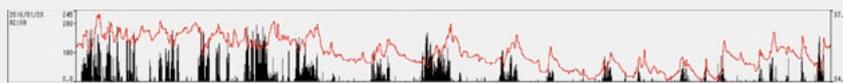


図4. nano tagで計測した24時間1分毎の運動量（棒グラフ）と体温（折れ線グラフ）

#### 3-2. 3軸の加速度センサーからの数値

3軸加速度センサーから計測した各 X, Y, Z 生波形データ（図5）と、それらを合成した3軸合成波データ（図6）を記録できる。但し、X, Y, Z 生波形データと3軸合成波データを同時に記録することはできない。

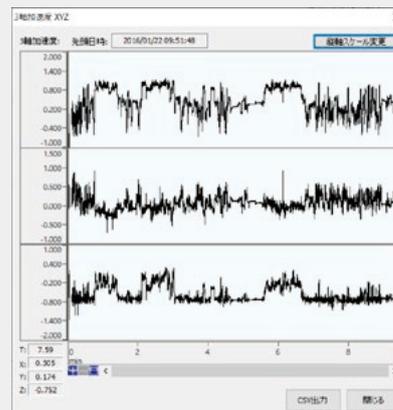


図5. X,Y,Z生波形データ

#### 3-3. 温度

温度は15℃幅を測定でき、温度幅の下限値として10～30℃の任意の温度を指定する。例えば、下限値を22℃とすると37℃（22℃+15℃）までの測定が可能である。尚、nano tag 本体内部にある温度センサーの測定値が、データを記録するタイミングで保持される。機器を埋め込む場所により測定温度に違いがあるため、深部体温を測定したいのであれば、腹腔内に埋め込んだ方がよいという報告がある。

### 4. 計測

#### 4-1. 通信距離とタイマー機能

nano tag は、PC に接続されたソニー社製非接触 IC カードリーダー/ライター PaSoRi（以下カードリーダー）との近距離無線通信で制御する。通信距離は約 10mm 以内であり、nano tag のアンテナ面をカードリーダーに向けて通信しなくてはならない。そのため、体内に nano tag を留置した状態で計測の開始、終了等の制御を行う場合には、nano tag のアンテナ面が皮下から 10mm 以内にある必要がある。しかし、腹腔内など深部で計測する場合は、この状況

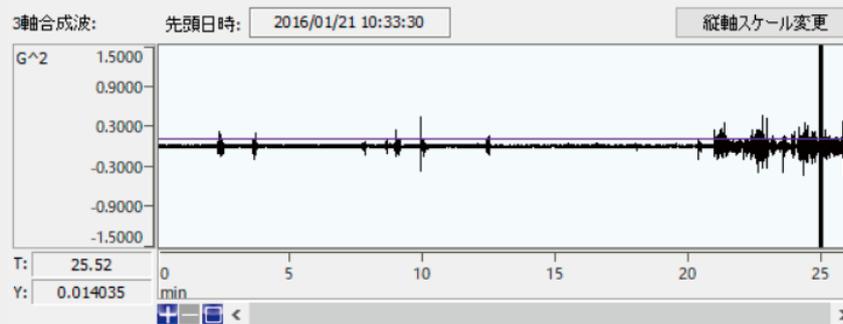


図6. 3軸合成波データ

を作れない。

そこで、nano tag の計測にはタイマー機能が搭載されている。予め計測の開始時刻と終了時刻をセットしてから体内に埋め込むことで、カードリーダーを近づけることなく自動的に計測の開始・終了が行われる。計測終了後に体内から nano tag を取り出しデータを PC に取り込むことが可能である。機器内に記録された計測データは、次の計測を開始するまで保持されている。尚、後述 4-2. 項に記載の稼働累計時間には、タイマー機能を使って計測開始するまでの待機時間も含まれる。

## 4-2. 電池寿命とメモリ容量

2 項に記載の通り、nano tag は完全防水化したために電池交換ができず使い捨てである。約 60 日稼働（計測・通信・予約待機時間の累計）できるように設計されている。ソフトウェア上で稼働累計時間を表示（図 7）し、稼働残日数を予測しながら実験計画を立てることができる。尚、温度のみの計測では更に省電力化されており、累計で 180 日稼働できる。但し、一般的な電池（CR1220）を使用しているため、保管状況や保管期間によっては

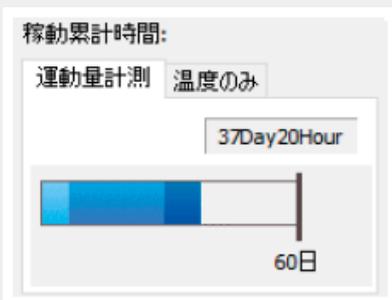


図7. 累計稼働時間の表示

機器設計通りの稼働日数にならない場合がある。

また、保存できる日数は本体の搭載メモリ容量に制限を受ける。例えば、1分毎に運動量と温度を保存した場合には、20日間でメモリが一杯になってしまう。実験内容から保存周期を適切に設定する必要がある。具体的な保存周期と保存日数の関係は6項を参照されたい。

## 5. 機器構成

- 運動量 / 温度計測装置 nano tag
- nano tag ビューアプログラム（制御ソフトウェア）
- パーソナルコンピュータ（Windows10/11 Pro、USBポート2つ以上、内蔵NFCポート無）
- ソニー社製非接触ICカードリーダー / ライター PaSoRi

## 7. 今後の発展性

今後、更なる小型・軽量化と稼働時間延長の検討を行っている

る。現行より小さな電池を搭載すれば小型・軽量化はできるが、稼働時間が短くなってしまふ。そのため、計測装置の省電力化を進める必要があるがこれについても限界がある。

そこで、長期的な視点で電池に頼らない給電を検討している。それが実現した場合には、以下のような機器の利便性を確保できると考える。

- リアルタイムでのデータ通信を実現できる。
- より時間分解能の高いデータを、より長期間記録できる。
- より多くの種類のセンサーを搭載できる。
- リアルタイムでのデータ通信ができることで、体外での計測データと同期記録ができる。

（日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照）

## 6. 仕様

検出方法	3軸加速度センサー、温度センサー						
通信方法	近距離無線通信（FeliCa <sup>®</sup> 方式 通信距離：約10mm）						
時計精度	月差±60秒						
内部電池	CR1220（電池交換は不可）						
電池寿命	約60日*（ご購入後1年以内 24時間計測で、通信1日1回2分以内）						
計測モード	1：ループ、2：メモリフルで停止、3：任意時刻指定						
振動・温度計測	運動量	振動数					
	温度	10～45.875℃ 計測温度幅15.875℃ (分解能：0.0625℃、誤差：±0.5℃)					
	保存周期	12秒	30秒	1分	2分	4分	5分
	保存日数	4日	10日	20日	37日	60日	60日
3軸加速度データ	合成波：約27分、生値：約9分 約25Hz						
サイズ	18.8mm × 14.2mm × 7.1mm（固定用穴付き）						
重量	約2.7g						
材質	ABS樹脂、エポキシ系接着剤						

\*温度のみを記録する場合には、約180日

## 3Rs × 実験効率の向上に マウス尾静脈シミュレーター の開発

株式会社ハンドレッド 栢本 直行、村上 誠  
日本クレア株式会社 浜野 真梨子



動物実験は科学の発展、社会環境の向上に欠かせず、我々は動物達による深い恩恵を受けてきました。一方で、動物福祉 (Animal Welfare) という言葉がある通り、同じ命を持つものとして動物達と向き合うことは、それ以上に欠かしてはいけない道理と考えます。動物福祉とは、人間が動物に与えるストレス等の苦痛を最小限に抑えるための配慮のことで、近代以降西洋で生まれ家畜動物を対象に発展した概念ですが、近年、日本でも動物愛護管理法が改正され、実験動物においては3Rの原則 (Replacement: 代替法の利用、Reduction: 動物数の削減、Refinement: 苦痛の軽減) が法的に定められています。このような背景から、弊社では動物福祉と作業者の安全及び実験効率を両立する研究器具開発を目標としています。

### 1. 開発の経緯

尾静脈採血/投与は、実験手技の中でも難易度が高く、作業者の技術が求められます。先述の「動物福祉と作業者の安全及び実験効率を両立する研究器具開発」という観点から、動物の

ストレスを軽減しつつ、作業を簡便化し技術の難易度を下げることで、研究精度を上げる「実験動物用翼付採血・投与針25G(以下採血投与針と称する)」「マウス・ラット用保定器」を発売して参りました。

上記に加え、尾静脈採血/投与の初心者向けに、短期間で手技を習得するためのトレーニングキットとしてマウス尾静脈を忠実に再現した「マウス尾静脈シミュレーター (以下シミュレーターと称する)」を開発致しました。

本稿では、2021年12月に発売開始した「シミュレーター」を主軸に、「採血投与針」「マウス・ラット用保定器」をご紹介します。

### 2. マウス尾静脈シミュレーター (1) 構造 (図1)

シリコン製の尾に、尾骨 (ポリスチレン製)、尾静脈を模したループ状のチューブ (内径0.5mm) が内蔵されています。サイズ・色味ともにICRをモデルとしており、模擬血液を注入すると2本の尾静脈が視認出来ます。採血投与針は外径0.51mmのため、針は尾静脈を拡張しながら挿入されます。血管確保成功時には、針が尾静脈内に滑り



図1. 模擬血液注入時

込む感触が得られ、一方で、血管確保に失敗した場合には他組織に干渉するような抵抗が感じられます。

製品は、シミュレーター1本、ノンベベル針2本、採血投与針5本セットです。

### (2) 使用方法

#### 【準備】

市販の模擬血液または食紅、水性インク等で模擬血液を作成します。色素が濃いほど尾静脈は鮮明に見えるので、作業者の熟練度に応じて濃度を調整します。チューブ両端にノンベベル針をセットし、チューブに模擬血液を注入したら保定器へセットします。

#### 【採血】 (図2)

ノンベベル針へシリンジ (模擬血液入り) をセットし、もう一方のチューブ端部をクリップで固定します。採血投与針に市販のヘマトクリット毛細管を強く押し込みます。尾を保定したら、採血投与針のフラップを摘



図2. 採血の様子



図3. 投与の様子

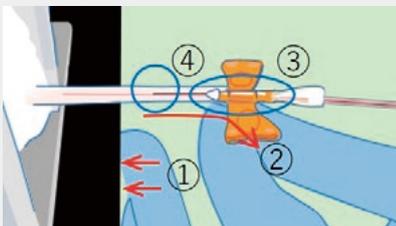


図4. 保定のコツ (尾と針を安定させる)

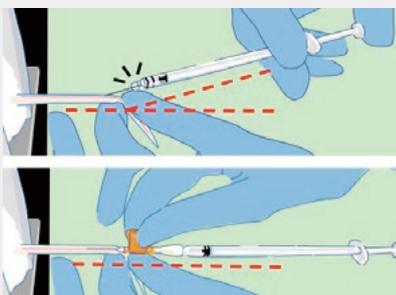


図5. 上：一般的な針、下：採血投与針



図6. 針先アップ

まみ尾静脈へ刺入します。フラップからシリンジに持ち替え模擬血液を押し出すと、ヘマトクリット毛細管へ血液が流入します（血圧×毛細管現象による採血の再現）。流入しない場合は、尾静脈から針が外れているので、刺入し直してください。

#### 【投与】(図3)

採血投与針に模擬薬液（水道水等）を入れたシリンジをセットし、エア抜きします。尾を保定したら、採血投与針のフラップを摘み尾静脈へ刺入します。フラップからシリンジに持ち替え、内筒を引き逆血を確認してから、模擬薬液を投与します。模擬血液がノンベベル針から吐出されたら成功です。

#### 【後処理】

シリンジに水を通し、チューブ内の模擬血液・模擬薬液を洗い流します。圧力を掛け過ぎると穿刺跡が拡張する恐れがあるので、ゆっくり流し込みます。内部を十分に洗浄したら、シリンジで空気を通し、水抜きをします。十分乾かし、次回の使用まで数日置いてください。

#### (3) 採血/投与のコツ (図4)

- ①左手の中指、薬指を作業台の縁に押し当てます。
- ②尾を親指と人差指で挟み、親指で尾を折り曲げます。尾は真っ直ぐピンと張り、穿刺部位を平行に保ちます。
- ③採血投与針のボディを左手親指に乗せ支えます。
- ④針の全長 1/2 程度まで尾に平行に挿入します。

### 3. 実験動物用翼付採血・投与針 25G

#### (1) 構造

フラップ付きの翼状針で、投与時に後部接続部にシリンジを接続します。採血時にはヘマトクリット毛細管を連結し、毛細管現象による自然な流れで採血します。

#### (2) 特長

フラップを摘まむことで、血管確保時には針が血管内に滑り込む滑らかな感覚が得られます。一般的な針はシリンジの縁が尾のないし指に干渉し、尾に対して針の角度が付いてしまいが、採血投与針には厚みがほぼ無いので、尾静脈に対して平行に刺入することが可能です (図5)。

また、針は2段階に湾曲してカットされているので、傷口はより小さく扁平になります (図6)。生体へのダメージが抑えられることで頻回採血/投与も実現します。採血の際は毛細管現象により血を回収するので、赤血球の破壊が少なく溶血を防ぐことが可能です。

### 4. マウス・ラット用保定器

#### (1) 構造 (図7)

動物自ら保定器に入り、自ら頭方向へ出るワンウェイ方式の保定器です。

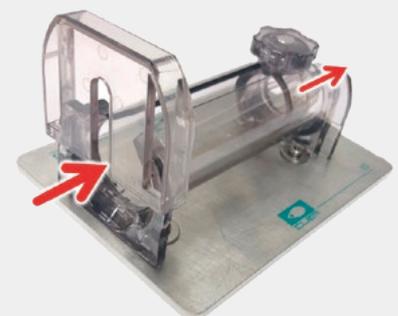


図7. 保定器

## (2) 特長

### 【高い耐熱性】

ステンレス、PSF樹脂、シリコンから成るので高圧蒸気滅菌が可能です。

### 【動物の苦痛軽減】

保定器入口に動物の頭を添えると、自ら保定器内に侵入します。従来の保定器のように、抵抗する動物の尾を無理に引っ張る必要がないので動物の苦痛軽減に繋がります。

### 【作業中・動物の怪我防止】(図8)

動物の抵抗が少ないので、作業中の咬傷事故を防ぎます。従来同様奥側から尾を引いたとしても、保定器の出入口は凹凸がなくテーパー状に広がっているため、動物が指や爪を怪我することもありません。



図8. 保定器出口

### 【確かな安定性】

土台が肉厚なステンレスで滑り止めも付いているので、作業中に保定器がずれ動くことはありません。目前の作業に集中することが出来るので、作業効率がアップします。

## 5. 導入のメリット

採血/投与に不慣れな方は、尾静脈の位置や深さがイメージ出来ない、保定が甘く動物が動いてしまう、刺入にためらいがある等、成功のイメージを掴めずに苦慮されています。針を刺す度に動物がビクッと強張り、尾が傷んでいく様子を見るのは、動物にも作業中にも肉体的・精神的な苦痛を伴います。本製品は、採血/投与の処置感が生体と非常に近いので、そのような負担なく感覚を養うことが可能です。即ち、動物を使わずに(Reduction, Replacement)、技術の洗練(Refinement)が出来ることで3Rの原則を実現します。

近年では、実習目的での動物の購入や使用を棄却されるケースも耳にします。動物を本製品に代替することで、実験計画書の申請や動物を購入・飼育する手間も省けるので、時間や場所等の制約を受けずに実習が可能となります。初めて動物に触れ処置に臨む学生の不安を払拭し、繰り返し練習し技術を習得することが、実践での自信に繋がります。加えて、3Rの原則の概念を学び、命を持った生物への敬意を払うための教材にもなり得ます。

## 6. おわりに

今回ご紹介した「マウス尾静脈シミュレーター」は、ICRをモデルとしたアルビノマウスの、より生体に近づけたリアルなシミュレーターとなっておりますが、今後、他種類のシミュレーターの開発も更に取り組んで参ります。

本製品が、実験動物を取り扱う初心者の方々や指導される先生方に貢献出来れば嬉しく思います。

最後にこの場をお借りして、開発に関わってくださった福島県医科大学 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 片平 清昭先生、山形大学 有機材料システムフロンティアセンター 川上 勝先生に心より感謝申し上げます。

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)



シミュレーター使用動画

Youtube 掲載中



東京ビジネスサービス株式会社は、今年で創立 60 年を迎える事となりました。ラボ・サービス部も実験動物飼育管理を始めて 50 年を迎えます。これからも皆様のご要望にお応えできるようサービス提供に努めて参ります。



## 東京ビジネスサービス株式会社

〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6 丁目 14 番 1 号

TEL 03-3344-4551(代表) FAX 03-3344-6695

お問い合わせ ラボ・サービス部 TEL 03-3344-4550

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



## 行動と生理に関するビッグデータから読み解くマウスの「老い」

東京大学大学院 農学生命科学研究科 附属食の安全研究センター  
久和 茂

小職は2022年3月31日をもって、東京大学を定年退職した。多くの方々の助けにより何とかここまで無事に生きてこられた。心より感謝申し上げたい。

さて、人間の寿命が延びたことも手伝い、老いを科学する老年学 Gerontology に注目が集まり、それに伴い動物実験においても、この領域に関する実験は増加傾向にあるようだ。以前、このコーナーで実験動物学の大御所である Toth 博士の老齢マウスを用いた実験のエンドポイントに関する文献を紹介した<sup>1)</sup>。Toth 博士は豊富な知識と長年の経験から体重と体温に着目し、これらの数値が寿命の3週前から共に急激に低下することから、老齢マウスの寿命をマウスの体重と体温の積の低下から推測することができ、それを老齢マウスに対する人道的エンドポイントの基準として採用することが可能であると主張した。Toth 博士の研究では、体重と体温という比較的容易に測定できるパラメーターを用いることが「みそ」であった。例えば、運動能力を測る試験などを評価項目に組み入れ

ば、寿命をより正確に推定することができるとは思えないが、動物に運動を負荷することは少なからず寿命に影響するだろうと予想され、適当ではないかもしれない。

今回、紹介する論文はもっと現代的なアプローチでマウスの「老い」を評価したものである<sup>2)</sup>。実験内容をもう少し具体的に説明しよう。まず、動物はジャクソン研究所で作出された多様性に富むアウトブリードである DO マウス<sup>3)</sup>の雌が用いられている。6週齢から40.5か月齢までの総計415匹のマウスからデータが取得されている。しかし、すべてのデータ取得が同時進行で行われているわけではなく、6週齢から実験に使用されているマウス、7か月齢から、14か月齢から、21か月齢から、あるいは25か月齢から実験に用いられているマウスが存在するという具合に、分節的に実験が組まれている。マウスは一般的なプラスチック製平底ケージ（群飼）と多種のデータが一定時間毎に自動的に取得できる特殊なケージ（単飼）の2種類のケージで飼育された。特殊ケージでは内部の酸素お

よび二酸化炭素の濃度、摂餌量、摂水量、およびマウスの体重が測定できる。また、ケージ内には「輪車」が設置され、その回転数も常時、モニターされている。さらに、ケージ内に3次元の赤外線センサーが張り巡らされており、マウスの位置が記録されている。マウスの経時的な位置情報から、移動距離や移動スピードなどの情報も入手できる。データ取得における人の介入を極力避ける工夫がなされている。各マウスは1週間特殊ケージで過ごしデータを取得され、その後3週間は普通のケージで仲間と過ごす。このサイクルを繰り返して、一定期間（約2～20か月間、平均15か月）飼育された。もし、マウスが途中で死亡した場合は、同じ月齢のマウスを補充し、特定の月齢のデータが少なくならないように配慮されている。データには、時間的に左打ち切り、右打ち切りのものが含まれている。介入操作を伴う一般的な動物実験というより、むしろヒトの縦断的な疫学調査を思い浮かべていただくとよいかもしれない。

では、得られた結果はどうだろ

うか。マウスの体重は21～24か月齢まで増加したが、その後徐々に減少した。これはよく知られていることで、前述のToth博士も体重に着目していた。他の加齢に伴う変化としては輪車走行、摂餌量、摂水量、エネルギー消費量および水分損失率の減少が報告されている。

マウスは夜行性であり、動物行動学的に暗期には走行するなどの高活動状態の時間が多く、明期は睡眠や休息などの低活動状態で過ごす時間が多い。本研究で老齢マウスは若齢マウスに比較して、暗期でも明期でも低活動状態の時間が長いことが示された。ヒトにおいても、若者が元気に飛び回り、老人はしょぼしょぼしていることが普通なので、当たり前の結果だろうと思ってしまう。年寄りがあたたかも若者のように振る舞うと「年寄りの冷や水」と冷やかされる。

著者らは、高齢マウスでは生理学的機能の低下により光周期への同調が弱まるのではないかと予想していた。しかし、実験結果は必ずしもそうはならなかった。この背景は少し複雑で、若い動物は暗期には運動（ここでは「輪車」）に励むので、飲食をする時間が明期にずれ込んでしまうようだ。ヒトでも不規則な生活をする若者は少なからずおり、食事の時間も乱れがちである。マウスの結果は然もありなんと納得した。

睡眠や食餌についても興味ある結果が示された。老齢マウスも若齢マウスも睡眠の合計時間には差

がなかった。しかし、1回あたりの睡眠時間が大きく異なった。具体的にいえば、3か月齢までの若いマウスの1回あたりの睡眠時間は平均1.1時間であったが、9～12か月齢のマウスでは平均0.6時間に減少していた。他の月齢の老齢マウスも概ね0.5～0.8時間くらいで、1回あたりの睡眠時間は短かった。睡眠の回数は、逆に老齢マウスで多くなっていた。つまり、睡眠の合計時間は同じだが、老齢マウスでは睡眠の断片化が起こっているということである。眠りが浅い睡眠障害はヒトにおいてもみられ、かつ老人に多いようである。

食餌に要する時間は月齢とともに直線的に増加していた。老齢マウスは若いマウスより少ない量の餌しか摂取していないというデータも示されているので、老齢マウスは非効率的な摂餌をしていることが示唆される。ヒトでも、幼児や老人では「食べこぼし」が多くなるが、マウスにおいても同じ現象が観察されている<sup>4)</sup>。その他の特徴として、老齢マウスでは基礎代謝が減少していること、走る速度が遅くなることが記載されていた。

本研究によってマウスの加齢に伴う生理学的および行動学的変化が明らかにされた。さらに、著者らはマウスの加齢性変化はレジリエンスの低下として捉えられることを示した。レジリエンスは復元力、回復力あるいは弾性と訳されるようだが、本論文では「変化に直面しても機能を維持できるシス

テムの能力」と説明されている。つまり、レジリエンスの高いシステムでは、そのネットワークの一部で小さな障害が発生しても、そのゆらぎはシステム全体で吸収され、特定のサブシステムには影響しない。一方、レジリエンスの低いシステムでは同じ程度の小さな障害でも特定のサブシステムに強い影響が及び、特定のサブシステム間の相関が上昇すると予想される。この原則に則り、得られたマウスの生理学および行動学的な特徴の関係を定量化してみると、年齢とともにサブシステム間の相関が上昇することが示された。この結果から、加齢とともにレジリエンスが低下すると結論づけられた。

私は老年学に詳しいわけではないが、もしかしたら本研究で示されたマウスの「老い」の特徴はヒトでも既に指摘されているものではないかと推測する。しかし、本研究で「老い」を科学するプラットフォームが構築され、今後「老い」に関する詳細な研究が可能となったことが意義深いと考える。サンプル数をもっと増やす必要があるだろうが、「老い」に関する個別の遺伝子についても今後、解析が進むだろうと期待される。

#### 参考文献

- 1) Toth LA. *Comp Med* 2018 ; 68 : 439-51.
- 2) Chen Z *et al.* *eLife* 2022 ; 11 : e72664.
- 3) Churchill GA. *et al.* *Mammalian Genome* 2012 ; 23 : 713-8.
- 4) Starr ME, Saito H. *J Gerontol* 2012 ; 67 : 1043-8.

## ORIENT BIO社製MSRS IIについて

オリエンタル酵母工業株式会社 金子 哲也

## ◆初めに

LABIO21をご覧の方は、オリエンタル酵母と聞けば『実験動物用飼料』を思い浮かべる方が多いと思います。今回は弊社で取り扱っておりますIVC(個別換気ケージシステム); MSRS IIをご紹介します。IVCはケージ毎にHEPAフィルターを介した空気を給気し、ケージ内の空気をHEPAフィルターを介して強制的に排気することによってクリーン環境を維持し、ケージ間の相互感染、施設内や管理者への微生物汚染を防止するシステムです。また、ケージ単位で運用できるため、限られたスペースでの飼育・実験が可能な飼育ラックです。飼育室単位の微生物統御が不要でSPF飼育施設を維持するよりもコストが低く抑えられる上、ケージ単位に微生物学的管理が可能なため検疫などにも利用できるIVCは、国内でも多くの施設で採用されています。

オリエンタル酵母工業株式会社ではグループ会社の株式会社オリエンタルバイオサービスの神戸BMラボラトリー(以下、OBS神戸BMラボ)および株式会社日本バイオリサーチセンター(以下、NBR)にて、韓国ORIENT BIO社のIVCを採用し、長年使用しています。

## ◆IVCとの出会い

弊社がなぜIVCの紹介を?と思

われる方も多いと思いますので、今回ご紹介するIVCと弊社のご説明をさせていただきます。弊社のグループ会社のOBS神戸BMラボは、2004年より神戸市のポートアイランド内の多くの研究者様の動物実験の受け皿となるべく、実験動物の受託飼育・レンタルラボ施設としてスタートしました。

施設の運用をSPFにすると容易に動物の出し入れができず、研究者様が来所して実験いただくことも容易ではないため、お客様および管理側の利便性を考慮してケージ単位で微生物統御が可能なIVCを採用しました。

当時も多くのメーカーが有りましたが、ORIENT BIO社のMSRS(今回ご紹介するMSRS IIの前タイプ)の採用にあたり、国内の環境検査機関に委託し、ケージ単位で微生物統御が出来ることを確認しました。HVJ(センダイウイルス)、マイコプラズマなど病原体に感染したマウスとSPFマウスを同一ラック内で飼育し、伝搬しないことが確認できたため、採用を決定しました。採用に際し、ORIENT BIO社が米国チャールス・リバーのライセンスを受け、韓国にて実験動物の生産・販売を行っている実績や、IVCの韓国内での採用実績なども考慮しました。

OBS神戸BMラボがIVCを採用した当時は、ORIENT BIO社もIVCに参入して間もない時期であ

り、使用に際し多くの課題がありました。しかしながら課題に対して、両社で取り組み、改良を重ねることで、現在のMSRS IIが完成しました。

長年にわたるOBS神戸BMラボでの使用実績を踏まえ、広くお客様に自信をもってご紹介できると判断し、販売を行っております。

## ◆使用現場からの声(NBR)

弊社ではMSRS IIを感染に弱い免疫不全マウスやヌードマウスの飼育に用いています。

MSRS IIのECUの操作盤はカラータッチパネルディスプレイのためとても見やすく、ケージ内の給排気設定も換気回数を入力だけでよいため管理がとても簡単です。また、給排気口のフィルターの交換や、飼育ケージの分解・清掃・組み立てが簡単に行えるため装置のメンテナンスがとても楽です。

弊社では2015年からMSRS IIを使用していますが動物の感染事故が起こったことはないためこれからも使用していきたいと思っています。

## ◆使用現場からの声(OBS神戸BMラボ)

弊社では2004年からMSRS IIを用いて1つの動物室でいろいろな微生物グレードの動物を飼育しています。免疫不全動物も同室で飼育していますが、感染事故を起

こすことなく長期飼育しています。MSRS、MSRS IIともに気密性が高く、ケージ一つ一つが独立

空間であるので、いろいろな微生物グレードの動物を安心して一室で飼育することができます。ま

た、MSRS IIは、ケージトップのHEPAフィルターのサイズが大きくなったので、窒息等のリスクが低減され、いろいろなお客様が使用するレンタルラボには、欠かすことのできないアイテムです。

### ◆MSRS IIの特徴

ケージ	
1. ケージ内を360度方向に空気が循環します。	2. 視認性が高くケージ内の動物の観察が容易です。
3. ケージトップのHEPAフィルター部分(グリル)のみを開けて飼料交換や動物の取り出しが可能です(Top Open Grill)。	4. 高い気密性を維持します。
5. ケージトップのHEPAフィルターのサイズが大きいため、停電時などの窒息等のリスクが低減されます。	6. ケージトップのHEPAフィルター部分(グリル)やラベルのカラーバリエーションが豊富で、試験毎に色で見分けるように設定が可能です。
7. 保管時はケージ、ケージトップ、HEPAフィルターなどを分離し、積み重ねての保管が可能です。	
ECU (Environment Control Unit)	
1. 液晶タッチパネルで設定が容易です。	2. 高さが1,350mmで女性でも扱いやすい高さです。
3. シンプルな構造でフィルター交換が容易です。	4. 排気にはカーボンフィルターとHEPAフィルターを採用しており、飼育室内の臭気を軽減、空気汚染を防止します。
5. 小型用のアナログタイプもございます。	
ラック	
1. ご希望のケージ数に合わせて小型から大型のものまで様々なサイズに対応可能です。	2. ラック部分はアルミニウム、シリコンなどを採用しており軽量で容易に移動できます。
3. ケージ接続部にはマグネットノズルを採用しており容易に確実に接続が可能です。	4. 耐熱性(260度)及び耐薬品性がありオートクレープや薬剤噴霧が可能です。
5. 分解清掃・組み立てが容易な設計です。	

### ◆最後に

弊社は1951年の実験動物用飼料製造供給開始時より、多くの実験動物関連産業に携わってまいりました。弊社グループ内に受託飼育施設や受託試験施設を有しており、可能な限り自社内の施設で検証し、お客様にご紹介するようにしています。今回、IVCのMSRSシリーズも弊社グループ内での20年近い使用実績を踏まえ、自信をもってご紹介します。また、製品の紹介だけでなく、実際の飼育担当者などが、お客様の使用前のお悩みや、ご質問にお答えすることも可能です。ぜひ、お気軽にお声がけください。

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

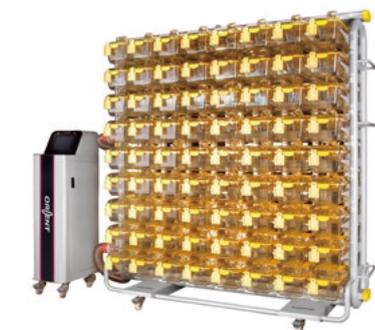


写真1 MSRS II M72S  
(72ケージシングルタイプ)



写真3 EUC タッチパネル

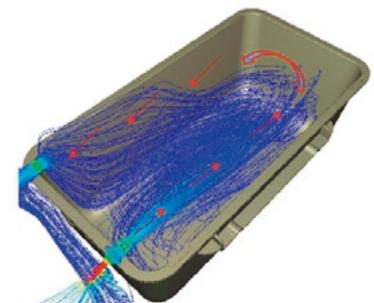


写真5 MSRS II ケージ内気流



写真2 MSRS II M9S  
(Mini Rack Model)



写真4 MSRS II ケージ紫タイプ



写真6 MSRS II Top Open Grill

## 日本実験動物学会の動き

### 令和4年度維持会員懇談会の開催

テーマ：“老いと死” 老化に関わる最新研究

日時：令和4年11月11日（金）13：00～17：00

会場：川崎生命科学・環境研究センター（L i S E）

<https://kawasaki-lise.jp/access.php>

参加費：無料

参加方法やプログラムは学会HP（<https://www.jalas.jp/meeting/ijikai.html>）をご覧ください

### 第10回実験動物科学シンポジウムの開催

テーマ：創薬研究のためのヒト化動物最前線

日時：令和4年11月18日

場所：鳥取大学医学部記念講堂（予定）

参加費：無料

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

### 第18回実験動物管理者等研修会の開催

日時：令和5年2月（予定）

開催：オンデマンド配信（1か月配信予定）

参加費：日本実験動物学会会員 4000円、非会員（維持会員団体職員）5000円、非会員 6000円

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

### 第70回日本実験動物学会総会の開催

テーマ：語ろう実験動物 ～より広く・より深く～

日時：令和5年5月24日（水）～26日（金）

会場：つくば国際会議場

〒305-0032 茨城県つくば市竹園2丁目20-3

大会長：杉山文博（筑波大学生命科学動物資源センター）

大会事務局：[jalas70@md.tsukuba.ac.jp](mailto:jalas70@md.tsukuba.ac.jp)

開催案内は大会URL（準備中）に掲載します。

### 動物福祉ポスターについて

日本実験動物学会 動物福祉・倫理委員会では、実験動物を用いた生命科学・医学研究の重要性を、関係者のみならず、一般の方々にも広く理解してもらう必要があると考え、動物実験の必要性を啓蒙するポスターを2022年よりシリーズ化して作成することを企画しました。詳細については、以下のURLを参照願います。  
<https://www.jalas.jp/fukushi-kyouiku/poster.html>

## 日本実験動物協同組合の動き

令和4年5月14日に第50期通常総会が開催されました。新型コロナウイルス感染状況を鑑み、また遠方からでも負担なく総会への参加が可能となるように、前年同様に日本実験動物協同組合（実動協）会議室に三役他少数が集まりつつ、リモートの形を取りました。総会では、第50期事業報告書・決算書の承認、第51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。

コロナ禍で会議や研修会などの企画が満足にできなかった第49期の反省から、第50期はコロナ禍でも着実に活動を行うことを心掛けました。新型コロナウイルス感染防止対策としての有用情報の配信、組合ホームページの改修による対外的な情報発信や組合員との情報共有、理事会等の会議のWeb開催、動愛法改正に関連し農水省や他団体（日動協・製薬協）との情報交換、実動協のスタンスの説明と組合員理解を深めるための動愛法改正Q&Aの作成、実動協創立50年にもなう記念誌の発行準備、前期は開催できなかった教育講演のWeb開催など、かなり具体的な動きができた1年でした。

第51期も具体的に動く1年間とすべく運営方針をまとめました。動愛法改正に向けて動愛法Q&Aをまとめることで実動協スタンスを明確にしつつ組合員の理解を得て農水省や関連団体との連携強化をする、50周年記念誌を発刊し前回の30周年記念誌発刊以後の20年間の活動記録を後世に残す、教育講演の継続実施、組合ホームページを対外発信ツールとすることなどを予定しています。これらの活動により、実動協の存在意義を再確認できる1年としたいと考えております。

今後も実動協の活動に対して変わらぬご支援を賜りますようよろしくお願い申し上げます。

## 日本実験動物技術者協会の動き

### 北海道支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
実技講習会	2022年11月	札幌市内で検討中	マウス・ラットの基本的操作と器具器材の説明
勉強会	2022年12月	札幌市内で検討中	企画

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。

### 関東支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
実験動物福祉部会 講演会	2022年10月13日(木)	Mウイング (長野県松本市)	第56回日本実験動物技術者協会総会にて「実験動物福祉とSDGs」をテーマに実施予定
REG部会 講演会	2022年10月14日(金)	キッセイ文化ホール (長野県松本市)	第56回日本実験動物技術者協会総会にて「第21回特別講演会」を実施予定
中動物部会講演会	2022年10月14日(金)	キッセイ文化ホール (長野県松本市)	第56回日本実験動物技術者協会総会にて「実験動物の環境エンリッチメントへの反応、どう解釈しよう？ - 動物園動物・畜産動物の行動学に学ぶ -」をテーマに実施予定
微生物統御 実技講習会	2022年11月18～19日	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
令和4年度総会第48回懇話会	2023年2月25日	ZOOMウェビナー	「実験動物技術者と器材」をテーマに企画

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	2022年11月5日(土) 予定	藤田医科大学 (豊明市)予定	2級試験対策を中心とした講習会
技術交流会	2023年2月頃	検討中	企画
東海北陸支部 第10回支部総会・春期大会	2023年4月頃	未定	企画

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-tokaihorikuri.org/](http://www.jaeat-tokaihorikuri.org/))を参照ください。

### 関西支部

講習会等	期 日	場 所	テーマ
2022年度 ウサギ・モルモット 上級技術講習会	2022年9月頃	オンデマンド形式 (予定)	動物種毎に、生態、繁殖、感染症、実験手技などを解説、一級試験の受験者は必見
関西実験動物研究会 合同研究会	2022年9月9日(金)	オンライン開催	「動物の顔の認知と表情表出(仮)」
2022年度支部総会	2022年秋ごろ	書面開催	
マウス・ラット 上級技術講習会 (オンライン)	未定	Web開催(予定)	頸静脈採血、精管結紮術および尾静脈内投与を成功させるポイントを詳しく説明
2022年度春季大会	2023年3月予定	オンライン開催 (予定)	内容未定

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27回 九州地区 実験動物技術研修会	2022年9月10日(土)～ 11日(日)予定	熊本開催あるいはオンライン開催	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を行う
第42回 九州支部研究発表会 (第45回総会)	2022年11月12日(土)～ 13日(日)予定	福岡大学およびオンラインを含めたハイブリッド開催予定	特別講演および一般演題等の講演会

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。



## 協会だより

### 1. 第38回定時総会

本協会は令和4年6月14日に第38回定時総会を本協会会議室で開催し、令和3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4年6月14日～令和6年度定時総会終結時）を選任した。次いで開催された臨時理事会にて役職を次のとおり決定した。

会 長： 福田勝洋（代表理事）

副 会 長： 高木博義（代表理事）、吉川泰弘（業務執行理事）、  
黒木宏二（新任、業務執行理事）

専務理事： 外尾亮治（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： 木本重信（新任、業務執行理事）、齋藤敏樹（業務執行理事）、  
椎橋明広（業務執行理事）、三宅誠司（業務執行理事）、新井秀夫、  
伊藤恒賢、北村典、清水何一、関口富士男、武石勝、三好一

郎監 事： 夏目知佳子、松村久美子



受賞者：田口福志様

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田口福志氏に協会会長功労賞及び記念品を贈呈した。

### 2. 委員会等活動状況

委員会名等	開催日	備考
監事会	5.12	令和3年度事業、収支決算の監査
第1回総務会	5.17	令和3年度事業報告他
第78回理事会	5.27	令和3年度事業報告他
第1回実験動物福祉調査・評価委員会	6.7	令和4年度福祉認証事業他
第1回実験動物利用計画審査委員会	6.7	日常の管理研修会の審査他
第38回定時総会	6.14	令和3年度収支決算、事業報告他
令和4年度臨時理事会	6.14	代表理事・業務執行理事等の選出
日常の管理研修会	6.18	(公財)実験動物中央研究所
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	6.29	オンライン面接
第1回教育・認定委員会	7.1	技術者認定試験の計画他
微生物モニタリング技術研修会	7.8～9	(公社)実験動物中央研究所
試験問題作成小委員会	7.9	1級、2級技術者学科試験問題の作成
第2回モニタリング技術委員会	7.22	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
実験動物2級技術者学科試験	8.7	全国各所
通信教育スクーリング(東京、京都)	8.27～28	日本獣医生命科学大学、京都大学
実験動物基本実技研修会(2級及び1級水準)	8.27～28	日本獣医生命科学大学
第1回試験採点・合否判定委員会	9.9	実験動物2級技術者学科試験及びスクーリング修了試験の判定
実験動物高度技術者養成研修会(白河研修)	9.14～16	(独)家畜改良センター中央畜産研修施設
実験動物1級技術者学科試験	9.17	全国各所
第2回情報委員会	9.20	LABIO21 No.88の企画

### 3. 行事予定

行事	開催日	備考
実験動物2級技術者実技試験	11.26	東京、大阪 他
実験動物1級技術者実技試験	11.27	東京、京都
教育セミナーフォーラム2023	—	調整中
第18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。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。

## KAZE

2年ほど前のKAZEに年齢を重ねる度に月日の流れが加速度的に速くなっていると書かせていただいたが、大きな環境変化もあり、更に、その流れが速くなっており、ちょっと気を抜くと流されかけていると実感しているこの頃です。

私たちを取り巻く環境はライフサイエンス関連の技術革新(ゲノム編集、遺伝子の網羅的解析、再生医療、創薬モダリティーの多様化など)、動物福祉の観点から3Rsに対する意識の高まりに加え、2019年12月に第一例が発見され、その後、パンデミックを引き起こした新型コロナウイルス感染拡大の影響を受けてのニューノーマルの定着(DX加速や思い切った働き方改革など)や健康意識の高まり(健康寿命の伸長によるQOL向上など)など、ここ数年で予想もしていなかった大きな変化が加速度的に起き、それに必死に適応しようとしていると感じております。

これまで長い間、確立されていたセオリー、慣行や常識が簡単に覆され、これまでの固定概念に捕らわれず、時代の変化に柔軟に適合する為に何が必要かを今一度、真剣に考え、そのヒントとなるような情報を本誌を通じて皆さんにお届けできるように努めたいとこのKAZEを書きながら改めて思いました。

[木藤 実]

#### 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

# MISSION

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

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

## メールニュースのご案内

JAX IN JAPAN NEWS AND INSIGHTS



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

ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社

WEBサイトURL: [www.jax.or.jp](http://www.jax.or.jp) | お問い合わせアドレス: [ask@jax.or.jp](mailto:ask@jax.or.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。



日本エス エル シー株式会社  
—<http://www.jslc.co.jp>—