

# 動物実験フォーラム 2011 in 福島

## 講演要旨集

### 「これからの動物実験と実験動物技術」

第 22 回東北動物実験研究会

平成 23 年度日本実験動物技術者協会奥羽・東北支部合同勉強会

日 時：平成 23 年 11 月 18 日（金）13 時 30 分～17 時  
19 日（土）9 時～16 時

会 場：福島県立医科大学 7 号館（旧光が丘会館）大会議室

主 催：動物実験フォーラム 2011 in 福島 実行委員会

共 催：東北動物実験研究会

日本実験動物技術者協会奥羽支部・東北支部

福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設

動物実験フォーラム 2011 in 福島 実行委員会

片平 清昭（委員長）

若井 淳（福島医大）、遊佐寿恵（福島医大）

伊藤恒賢（山形大・医）、高橋智輝（岩手医大）

末田輝子（東北大院・医）、安藤隆一郎（東北薬科大）

事務局：福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設

担当：若井 淳 ([wakai@fmu.ac.jp](mailto:wakai@fmu.ac.jp))

遊佐寿恵 ([tyusa@fmu.ac.jp](mailto:tyusa@fmu.ac.jp))

TEL：024-547-1677（直）

FAX：024-548-1712

〒960-1295 福島市光が丘 1 番地

## 第22回東北動物実験研究会プログラム

### I. 第22回東北動物実験研究会

日 時: 平成23年11月18日(金) 13:00~17:00

総 会 13:00~13:30

研究会 13:30~17:00

1. 開会及び会長挨拶 東北動物実験研究会会長 大和田一雄  
(山形大学医学部附属動物実験施設)

2. シンポジウム:「画像処理技術による動物実験の新たな展開」

座長: 片平清昭 (福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設)

基調講演1 「断層撮影の基本的原理と伴侶動物医療における検査利用の現状」 13:30~14:20

宇塚雄次 先生 (岩手大学農学部教授)

(日本実験動物技術者協会第328回本部共催講演会)

基調講演2 「実験動物における神経科学イメージング技術の展開」 14:20~15:10

遠山稿二郎 先生 (岩手医科大学教授)

<休 憩>

画像機器紹介

座長: 笠井憲雪 (東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設)

花木賢一 (岩手医科大学共同研究部門動物実験センター)

(1) 小動物用X線CT装置 15:30~15:50

日立アロカメデイカル(株)

(2) 小動物用MRI装置 15:50~16:10

DSファーマバイオメディカル(株)

(3) 超音波イメージング 16:10~16:30

プライムテック(株)

(4) 光 in vivo イメージング装置 16:30~16:50

住商ファーマインターナショナル(株)

総合討論

3. 閉会の挨拶 東北動物実験研究会副会長 松田幸久

(秋田大学バイオサイエンス教育・研究センター)

## 懇親会

日 時：平成23年11月18日(金) 18:30～20:00

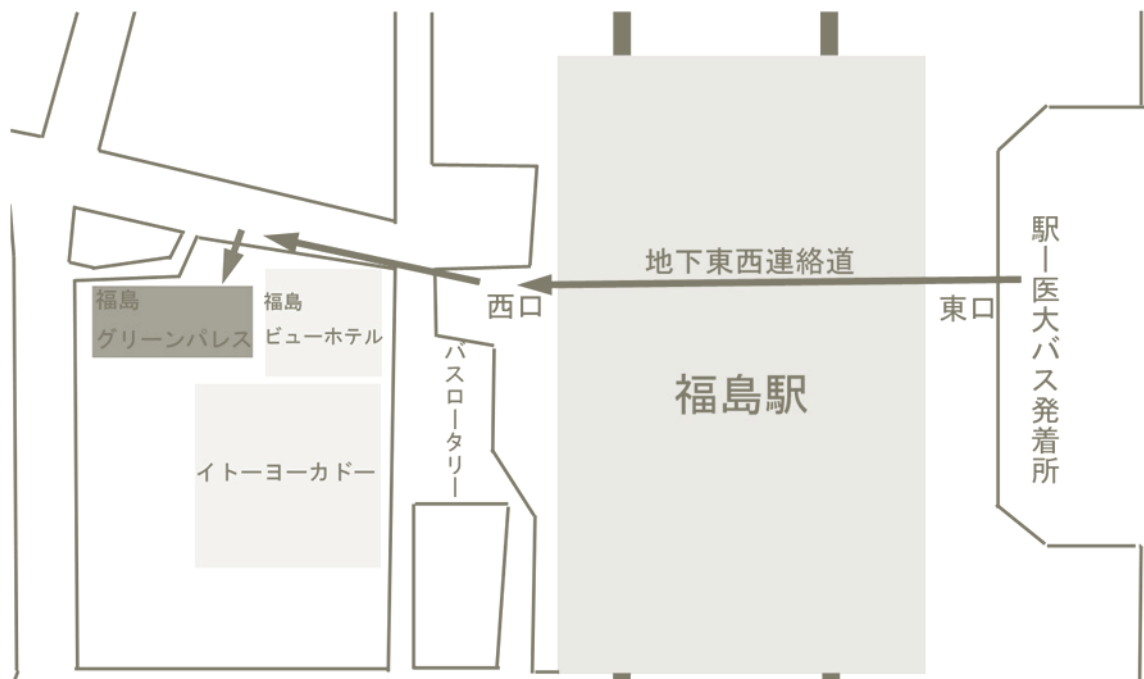
場 所：福島市 JR駅西口 ホテル グリーンパレス (Tel : 024-533-1171)

大学からグリーンパレスへの案内

タクシー：病院前～

バス：医大前～

行き先	出発時刻		到着時刻
桜台・南福島タウン経由福島駅東口	17:01	→	17:43
バイパス・福島駅東口経由荒古屋	17:25	→	17:50
伏拝経由福島駅東口	17:31	→	17:59
バイパス・福島駅東口経由大笹生	17:45	→	18:10
伏拝経由福島駅東口	18:11	→	18:40



# シンポジウム開催にあたって

片平清昭

## 福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設

近年、生体を対象とした非侵襲的可視化（イメージング）技術が飛躍的に進歩し、マクロからミクロ領域にわたりさまざまな測定機器が開発されています。マウスやラット等の生体内構造を無侵襲でリアルタイムにスキャンし、解剖学的に精細画像情報を取得し、機能的にも定量的評価を行うことが可能となっております。分子イメージングという切り口で、創薬開発研究から臨床研究への橋渡しを加速させたり、臨床における事象に対して基礎的な機能解析を行うという手法が重要視されてもいます。生きた実験動物を用いた *in vivo* イメージングや、実験前後でチェックが不可欠な細胞レベルでの *in vitro* イメージングは、非常に重要な役割を担うと考えられています。先端的研究を推進するためにこれらの装置を導入する研究機関が増えているものと思われます。

福島県立医科大学では、県内の産学官連携研究拠点構築のために、独立行政法人科学技術振興機構（JST）の地域産学官共同研究拠点事業（ふくしま医療-産業リエゾン支援拠点）に参画し、X線CT装置や磁気共鳴画像装置（MRI）、発光・蛍光によるイメージング装置、超音波イメージング装置等の導入を行いました。

そこで、これを機会に、「画像処理技術による動物実験の新たな展開」と題して本シンポジウムを企画いたしました。シンポジウムでは、宇塚雄次先生（岩手大学農学部教授）と遠山稿二郎先生（岩手医科大学教授）に基調講演をお願いしました。宇塚先生には「断層撮影の基本原理と伴侶動物医療における検査利用の現状」について解説していただき、遠山先生には「実験動物における神経科学イメージング技術の展開」についてご講演いただきます。いずれも内容に富む講演であり、聴講者にとって大変参考になるものと確信しております。

基調講演に引き続き、小動物用X線CT装置、小動物用MRI装置、超音波イメージング、光 *in vivo* イメージング装置についてそれぞれのメーカー側担当者から機器の特徴や性能について説明していただきます。

このシンポジウムから今後の実験手法の手がかりや展開のためのヒントを得ていただければ幸いです。

## 「断層撮影の基本的原理と伴侶動物医療における検査利用の現状」

宇塚雄次

岩手大学農学部獣医学課程小動物外科学研究室

〒020-8550 岩手県盛岡市上田 3 丁目 1 8-8

TEL&FAX : 019-621-6265

E-mail address : ujiiwa@iwate-u.ac.jp

### 要約

CT とは X 線を利用した断面像を得る機器である。しかし、画像は X 線吸収度合いを相対的にグレー表示したものであるため、検査者自身は得られた画像を調整して画質を操作する必要がある。一方、MR I 検査では、核磁気共鳴現象を利用して組織の画像を作成している。画像を得る過程には様々な要因が絡み、撮像法にもいろいろな方法がある。したがって画像を作る段階での調整が必要となる。これらのことを理解することで、目的とした検査対象をより明確にすることができ、初めて効果的な画像を得ることができるものと考えられる。

### はじめに

近年の診断機器の発達に伴い、医療分野と同様に動物医療分野においても診断精度が、従前に比べてはるかに高まってきている。この診断機器の発達の代表が Magnetic Resonance Imaging (MR I) であろう。これらの機器の発達は診断や治療への貢献と同時に、実験動物への適用という意味では、実験系の世界においても世界観を変えつつあるのではないだろうか。私事ではあるが、筆者は岩手医科大学において実験施設としての 3 Tesla MR I を時に利用させていただいているが、この施設での撮像対象の多さにはいつも驚かされている。今回は、筆者が日常的に診ている犬や猫を対象とした伴侶動物医療における診断への実際を例として、断層撮影、とくに CT と MR I の撮像原理に触れながらその活用法を説明していきたい。

### 1. Computed tomography (CT)

CT 撮影の原型は 1953 年、弘前大学の先生（後に名古屋大学に移動）によって行われたと言われている。その後、1972 年英国 EMI によって、商業的 CT が発表された。この時の断層撮影には約 4 分かかっており、そのせいか動きの無い脳の断層画像が作られている。日本においても 1975 年に脳腫瘍を捉えたのが始まりと言われている。これらの事実から、一般の動物医療臨床家にとっては今だに脳疾患に対しては CT 検査という誤認がある。しかし、実際には伴侶動物医療において、頭蓋内出血や骨折などの病変が少なく、主に脳炎や脳腫瘍が検査対象になるという意味では、後述する MR I 検査の方が脳に関して言うとはるかに適応度が高い。

CT とは X 線を利用して断面像を得る機器である。開発者にちなんで Hounsfield Unit (HU : 通常は CT 値と呼ばれる) を被写体の X 線吸収度にあわせて白い部分から高い部分へモノクロ画像として表している。空気を -1000、水を 0 として組織の X 線吸収度を相対的に表示している。相対的表示のためにウィンドウレベルとウィンドウ幅と呼ばれるグレースケールの中心と範囲を検査者自身が調整しながら画像を評価しなくてはならない。さらに画面は通常 512 × 512 のマトリックスと呼ばれる面積と厚さを持った「ボクセル」と言われる組織の平均 CT 値で表示されることから、撮影時の厚さやマトリックス面積が画質に影響を及ぼす。空間分解能と濃度分

解能は相反することから撮影時の条件決定には撮影の目的を明確にしておかなければならない。

## 2. 核磁気共鳴画像法 (Magnetic resonance imaging : MR I)

MR Iとは体内の原子核の中にある磁性体(通常は最も体内に豊富な水素原子)を磁石の性質を利用して(核磁気共鳴現象)生体内内部情報を画像にする方法である。CTがX線を利用していることから骨病変や石灰化病変に有効であるのに対し、MR Iは撮像原理が水(水素原子とは実質水分のこと)を画像構成の主体としていることから、骨病変の評価にはあまり期待できず、その分炎症性病変や軟部組織の描出に優れている。したがって上で述べたとおり、脳の検査では緊急性を要するような出血など以外であれば、CTよりもMR Iの方が有用である。また近年では血管造影に代わってのMR Angiographyや脳や脊髄の活動に起因する血流動態の反応を見るfunctional MR I (f MR I)などの特殊な撮像法も利用されるようになってきている。

MR Iでは撮像の違いにより、組織は様々な画像パターンをとる。そのためいくつかの撮像法を組み合わせることで、水、脂肪、炎症、血腫などと判断していく。したがって、MR I検査ではデータの解釈にCT検査以上に撮像の仕方、画質の成り立ちの理解が必要になる。加えるならば、共鳴信号を効率的に受信するためには、被写体と信号受信コイルの位置的關係も画質の向上に重要な要素である。同じような大きさの人体を撮影する人の検査とは異なり、様々な大きさの被写体を対象とする場合には信号受信コイルの選択は画像作成過程における大きな一因となるので注意深い対応が必要であろう。

## 3. 動物の麻酔、不動化

CTでも似たような状況ではあるが、MR Iではとくに撮像時間が長くなるために、動物への麻酔・不動化が必要になる。CTでは近年ヘリカル、さらに多列式といった撮影時間を短縮できる手段が活用され、無麻酔下での撮影も実施することができる。MR Iでは、撮像法の進歩や解析コンピューターの発達により撮像時間は短縮される傾向にはあるものの、不動化は必須と思われる。したがって検査するときは常にどのような麻酔を使用するかという組み合わせで計画をたてるべきである。蛇足ではあるが、我々の施設ではCT検査時の呼吸の体動を避けるために、検査時はほとんど遠隔操作付きの人工呼吸器を使用して自発呼吸を止めて撮影している。

## 4. 伴侶動物医療での断層撮影検査の現状

獣医学分野では、その名の通り犬や猫は現在伴侶動物と呼ばれ、つまり家族と同等あるいはそれ以上の医療レベルを求められてきている。したがって断層撮影に関する社会的ニーズも高い。全国に国公立と私立の獣医科系大学が16あるが、その附属動物病院においてCTは全て、MR Iも3施設を除き導入されている。さらに一般動物病院においてもCT機器は現在全国で100施設以上が稼動していると考えられる。さすがにMR I機器はCT機器に比べれば数は少ないものの、それでも3、40の施設には導入されていると推察される。ただし、ランニングコストの観点から、永久磁石方式の低磁場のMR I機器が主流であり、超電導方式の高磁場型は限られた施設にしか無い。現在動物医療においては日本獣医生命科学大学が昨年導入した3 TeslaのMR Iが最も高い磁場を持った機器である。また、近年は断層撮影検査に特化した検査外注機関といった会社もできてきている。

## 5. 問題点とまとめ

このように、獣医学分野でも断層撮影検査は全くの日常的な検査の1つとして認知されている。とくにCT検査機器では臨床腫瘍学の発展とともに、その応用範囲や適応症例が今も増えつつある。伴侶動物医療におけるCT検査の適応としては、脳腫瘍、鼻腔疾患、椎間板ヘルニア、門脈シャント、胸腔内および腹腔内腫瘍の診断と手術支援、頭頸部の複雑な骨折や脱臼、その他

関節疾患といった整形外科分野の症例などが挙げられる。また、MR I 機器では臨床神経病学、および脳外科学の発達と相まってその需要は日々増えてきている。とくに伴侶動物医療における神経病学の普及により、MR I 検査への関心が高まっている。今後は関節の靭帯評価や筋疾患などにも応用は広がっていくかもしれない。

しかし、前述のように伴侶動物医療において、これらの機器が十分に性能を発揮しているとは言い難い面もある。それは、例えば「脳疾患」であれば性急に CT 検査だとか、あるいはMR I 検査であれば単純に T1 強調、T2 強調画像だ、といった悪しきマニュアル化の発想があるためではないかと感じている。また、いずれの検査でも造影による撮影は重要（あるいは必須）であるにもかかわらず、この検査法を省く（あるいは必要性の理解が不足）といった事例も耳にしている。これらの事実は検査者自身が十分に検査法を理解せず、画像さえ作像出来ればなんとかなる、といった安易な発想から生じているのではないかと思う。また動物医療分野では、医学分野における放射線技師のような専門的支援職が無いこともこれらに拍車をかけている。

以上のことを鑑みると、どのような分野でどのような目的でどのような職種の方々が断層撮影を利用することになると、検査の目的の明確化とそれに合わせたモダリティの選択、さらにその検査法の基本的理解は、仕事を的確に進めていく上での必要な要件であると言える。



## 「実験動物における神経科学イメージング技術の展開」

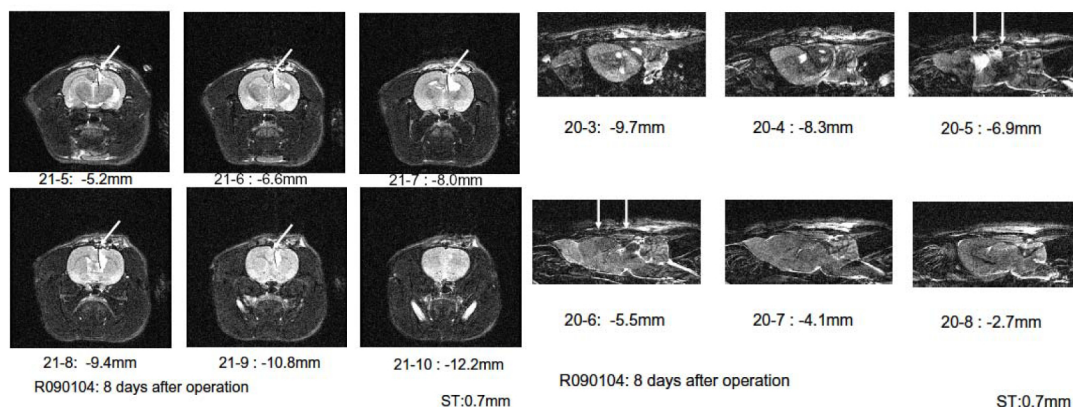
岩手医科大学医歯薬総合研究所・超微形態科学研究部門 遠山 稿二郎

昨今、社会の高齢化に伴い、神経疾患に関する関心が増してきた。神経活動は必ずしも年齢にリンクしたものではないが、神経細胞が一般の細胞と比べ、再生能力が圧倒的に低く、従って、障害後の修復が極めて難しいためと考えられる。

本研究分野でも細胞培養を主体とした *in vitro* の研究手法が広く活用され、多くの重要な事実を明らかにしてきた。しかし、*in vitro* のデータには限界があり、これを克服するためには実験動物を活用する *in vivo* での研究が必要となる。種々の断片的な *in vitro* のデータを統合し実際の生命現象で検証することが重要である。これらの要請に応じて、生体において対象物質の遺伝子を除去し、あるいは過剰発現させる遺伝子操作技術が発展した。また、実験動物で擬似的に病態を再現するモデル動物を活用されている。これらにより、対象とする分子が実際に生体内のどの組織でどのように働いているのかを明らかにすることに一歩近づいた。そこで重要となるのは、個体を対象とした解析法の発展である。

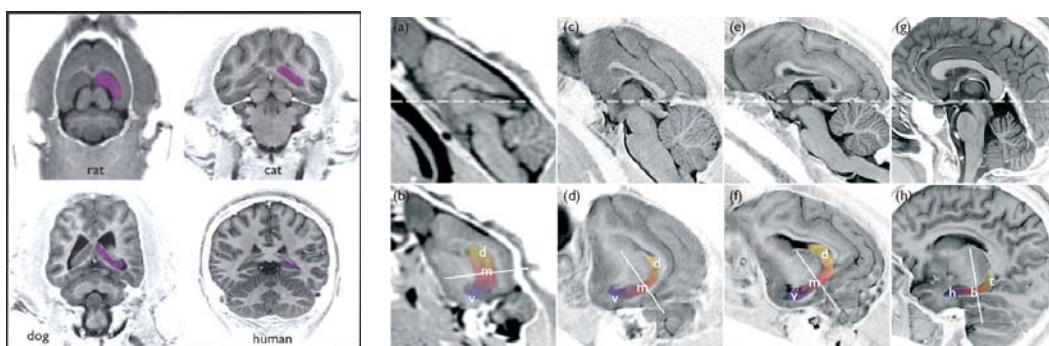
これに応えるように、近年、イメージング（可視化）技術の発展はめざましいものがある。特に、生体を対象とした非侵襲的イメージング技法が飛躍的に発展した。また、形のみイメージングにとどまらず、生理活動も可視化できるようになった。既に一般でも実験動物への応用が可能な手法としては、X線CT、MRI、超音波イメージング、光 *in vivo* イメージングなどがあり、特に超高磁場MRIは同一個体での脳の変化を捉えることができる【図1】。また、専門的な研究者による活動電位依存的に神経情報伝達を可視化する先進的な手法も登場した<sup>1)</sup>。

図1：ラットの脳梁切断手術後の脳を超高磁場MRI(3テスラ：本学施設)で撮像した例。同一個体での経過観察も可能である。0.7mm厚の画像である。



なお、神経科学においては、動物により中枢神経系の形態や機能が大きく異なるため、目的に応じた実験動物を選択する必要がある。近年、社会的問題となっている神経疾患—例えば、認知症、うつ病、統合失調症あるいは自閉症など—は高次脳機能に関わる。従って、これらの研究には実験動物としてマウス・ラットなどの齧歯類より霊長類が適している【図2】。

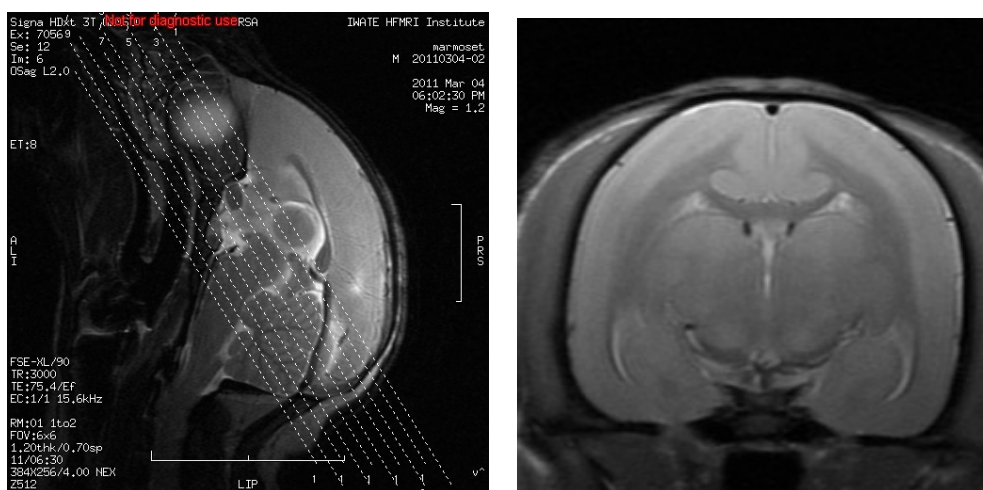
図2：ラット・ネコ・イヌでは海馬の背側部(d)が発達している。これに対しヒトの海馬ではこれに当たる部位(t)は小さく、臨床的にも殆ど注目されない。つまり、海馬に関する統合的研究でラットなどで得られた結果がヒトの海馬の機能として必ずしも挿入できないことがあり得る<sup>2)</sup>。

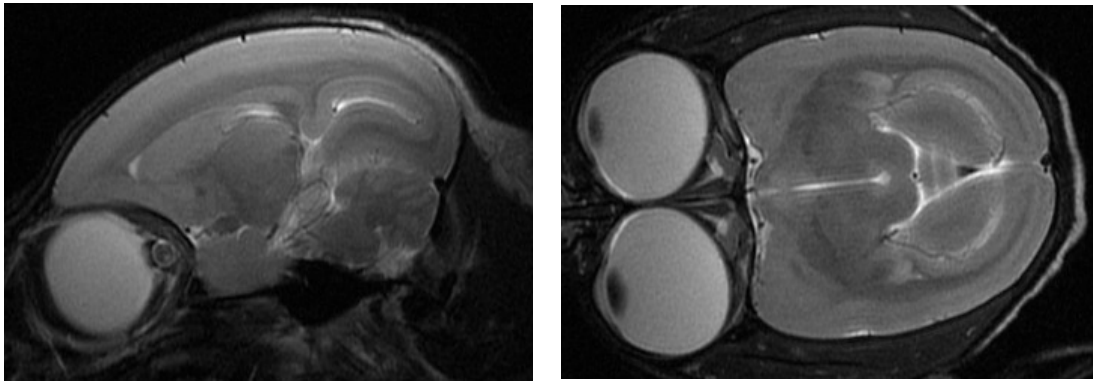


(Sasaki M, Tohyama K, et al: Neuroreport 15: 14. 2173-2176, 2004 より)

しかし、これまで主に使用された大型の霊長類は、飼育管理および繁殖力の点で問題があった。このような問題を解決できる可能性のある実験動物として小型で繁殖力の高いコモンマーモセットが注目されて来た。本学でも、実験動物として導入し繁殖も試みている。これらの動物の脳も磁場の高いMRIにより解析することができる【図3】。

図3：本学3テスラMRI施設で撮影したコモンマーモセット（麻酔下）の脳画像





各方向とも高い解像度を得ている。大脳皮質・基底核・脳梁・脳室・視床・海馬・脳幹部の諸構造など明確に識別できる。

一方で、50 年余に亘る研究実績のある研究技術である電子顕微鏡を用いた解析が、いまだに過去の自縛から抜け出せない、という現状がある。本分野に永年関わってきた研究者個人として誠に残念なことである。

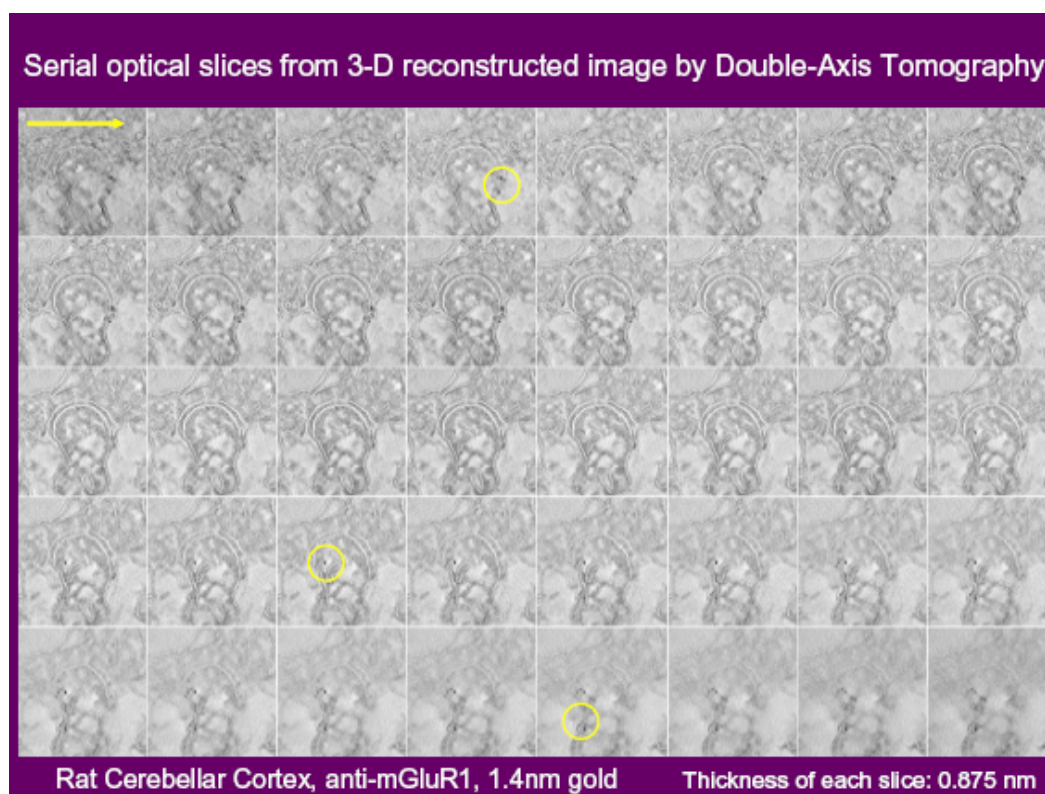
言うまでもなく生体組織は立体である。しかし、電子顕微鏡など組織学的解析は基本的に一断面での所見を基に考察される。

光学顕微鏡で使用する切片の厚さは、4–10 $\mu\text{m}$ 、電子顕微鏡の切片は、約 0.1 $\mu\text{m}$ 。従って、この厚さ内の構造は皆重なった「影絵」となり、また、どのように形が変化していくか、は一枚では把握できない。つまり、切片の厚さを超えた立体構造と、切片内に閉じ込められた立体構造は共に把握できないのが現状である。これまでも、3 次元的に把握する必要がある場合は、「力業」で何とかデータを出し、結論を導いてきた。しかし、効率も悪く、正確さにも欠ける。

ここでは、これまでの現状と、この壁を乗り越える新たな二つの方策について述べる。

その一つは、電子線トモグラフィ法である。これまで全体を透かして透過像を得ていた電子顕微鏡用の超薄切片の厚さ方向の情報を得る手法である。電子線に対して観察する切片を傾斜させる。ただ、90° 傾斜しても像が得られないので、通常は、一方向にプラス・マイナス 60° に傾斜し、1° ~2° ごとに画像を取得し、コンピュータにより 3 次元再構築を行う。なお、私たちは、精度を上げるため、日立ハイテクノロジーズと共同で 2 軸による電子線トモグラフィ法を実現した。小脳のシナプスでの小径金コロイドを標識した免疫電顕の光学的スライス像を図 4 に示す。

図 4 :



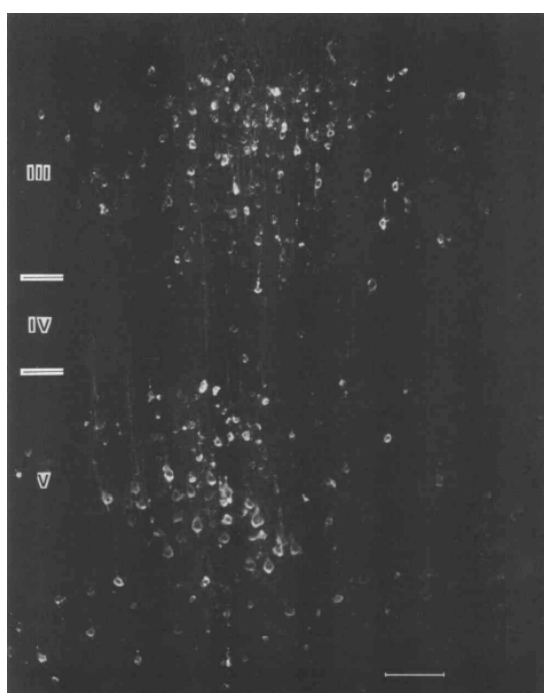
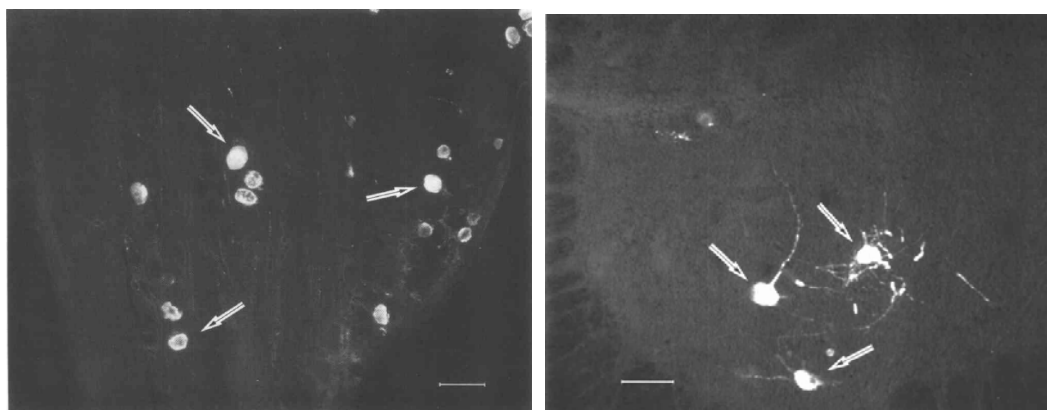
2軸電子線トモグラフィ法により得られた理論的厚さ0.875nmの光学的スライス像全スライスから80枚を示す。○で囲った箇所に、免疫染色により標識された1.4nmの金コロイド粒子が見える。

二つ目は、切片を超えた構造を把握する方法である。ここ数年、反射電子像を応用する様々な手法が注目を浴びている。残念ながらこの技術では、電頭を誇ってきた日本が、少し立ち後れ、ヨーロッパとアメリカで研究が盛んに行われ、最新の論文として次々にデータが公表されている。私たちが実際にこの手法によるデータを取得し、その有望性を確信しつつある。できれば、最新の私たちのデータを交えお話ししたい。

最後に、神経鎖のイメージングについて言及する。私たちはブタコロナウイルス (sHEV) が実験動物 (マウス・ラット) の神経系に親和性が高く、感染すると神経路に沿って伝搬することを見出し【図5】<sup>3),4),5),6)</sup>、神経細胞の連絡網を細胞レベルで明らかにするツールとしての応用を考えている。

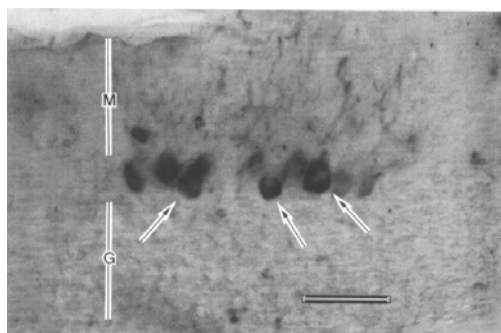
図5 ブタコロナウイルス (sHEV) をラット坐骨神経に接種後、中枢神経内をウイルスが伝搬する様子を示す。

脊髄後根神経節 (DRG) 【左下】と脊髄前角 (VH) 【右下】内のウイルス陽性細胞 (矢印：白い細胞) 共に接種後 3 日。Bar=100 $\mu$ m



【左】大脳皮質のウイルス陽性細胞 (白い細胞)  
接種後 4 日：大脳皮質 III 層と V 層の錐体細胞がウイルス陽性。スケール：100 $\mu$ m

【下】小脳皮質ではウイルス陽性の Purkinje 細胞が見られる。接種後 4 日 スケール=50 $\mu$ m



以上、マクロからサブナノレベルの生体イメージング法について概説した。

#### 【謝辞】

本講演で使用するデータは、本学バイオイメージングセンター、超高磁場 MRI 施設、動物研究センター、の各スタッフの支援により得られたものです。記して感謝いたします。

【参考文献】

- 1) Takashima I, Kajiwara R, Iijima T.: Voltage-sensitive dye imaging of intervibrissal fur-evoked activity in the rat somatosensory cortex. *Neurosci Lett.* (2005) 24;381(3):258-63. Jun
- 2) Sasaki M, Tohyama K, Matsunaga S, Nakamura M, Tomizawa N, Inoue T, Ogawa H, Ehara S, Ogawa A (2004) MRI identification of dorsal hippocampus homologue in human brain. *Neuroreport* 15: 14. 2173-2176 Oct
- 3) Hirano N, Nomura R, Tawara T, Tohyama K (2004) Neurotropism of swine haem- agglutinating encephalomyelitis virus (coronavirus) in mice depending upon host age and route of infection. *J Comp Pathol* 130: 1. 58-65 Jan
- 4) Hirano N, Tohyama K, Taira H, Hashikawa T (2001) Spread of hemagglutinating encephalomyelitis virus (HEV) in the CNS of rats inoculated by intranasal route. *Adv Exp Med Biol* 494: 127-132
- 5) Hirano N, Haga S, Sada Y, Tohyama K (2001) Susceptibility of rats of different ages to inoculation with swine haemagglutinating encephalomyelitis virus (a coronavirus) by various routes. *J Comp Pathol* 125: 1. 8-14 Jul
- 6) Hirano N, Tohyama K, Ootani N, Hashikawa T (2001) Infection of hemagglutinating encephalomyelitis virus (HEV) at the visual pathways of rats. *Adv Exp Med Biol* 494: 149-154

連絡先 : [ktohyama@iwate-med.ac.jp](mailto:ktohyama@iwate-med.ac.jp)

## 小動物用 X 線 CT 装置

加藤康二

日立アロカメデイカル株式会社

医療装置としての X 線 CT の有用性は周知のこととして知られ、現在では医療以外の用途、例えば工業用非破壊検査等に広く利用されています。

動物を対象とした X 線 CT には、動物用医療器機と実験動物を対象とした非医療器機があり、前者の X 線 CT は、人間用 X 線 CT が転用される場合が多く、その目的は診断です。後者の実験動物用 X 線 CT 装置は、主にマウス・ラット等の摘出骨を対象とした装置、麻酔下で生体マウス・ラットを撮影・観察する装置に大別され、その目的は実験による組織の体積、密度などの計測です。最近では、PET、蛍光イメージング装置で得られた試薬の集積情報と、CT より得られた形態情報をフュージョンすることで、投与した試薬がどの部位に集積しているかを評価するようになってきました。

実験動物用 X 線 CT LCT-200 は、コンビームアーチファクトの影響を抑えることにより、高解像度な撮影を可能とし、造影剤を利用することで、がん、血管、臓器を描出、生体マウス・ラットの骨密度および体脂肪などを再現性よく測定します。また呼吸同期機能、心拍同期機能により、肺、横隔膜周辺部を、より鮮明に撮影できます。今回は本装置の特長と撮影例についてご紹介いたします。

### LCT-200 の特長

#### ・検出器

コンビームを採用し検出器の列数が増える場合、検出器両端に “ミッシングコーン” によるコーン角アーチファクトが発生します。この影響を抑えるため、検出器は 2200×60 の CdTe 半導体検出器を採用しています。

#### ・撮影視野と被写体との関係

撮影対象の大きさに応じて  $\phi 120\text{mm}$  ～  $\phi 24\text{mm}$  の視野固定具を用意しており、画像マトリックス 2048×2048 ～512×512 に対応します。

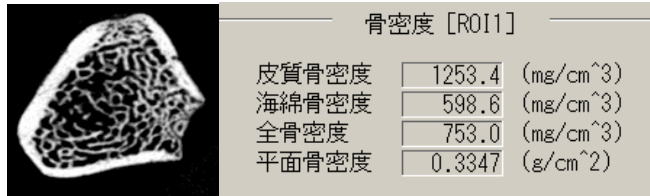
#### ・スカウト画像（一般撮影画像）

同じ検体を再度撮影する場合、前回撮影した一般撮影画像が表示され、検体姿勢、撮影部位を確認して、断層撮影できるので左右解析部位の間違いなど人為的なミスを回避できます。

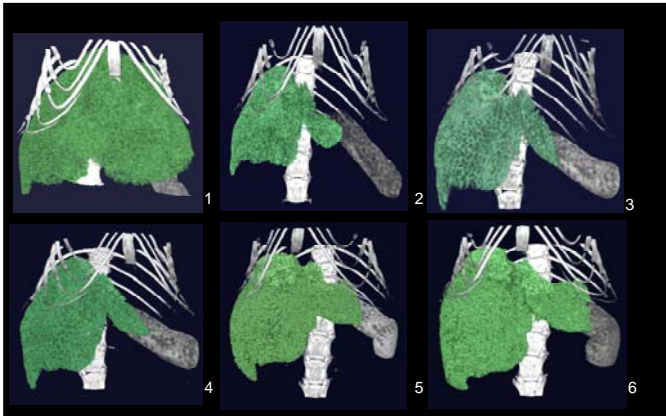
#### ・QCT 法（定量的 CT 法：Quantitative Computed Tomography）による各種定量

キャリブレーション実施時に校正したデータを基に、目的とする組織の CT 値から定量を行います。

計測例: 骨密度

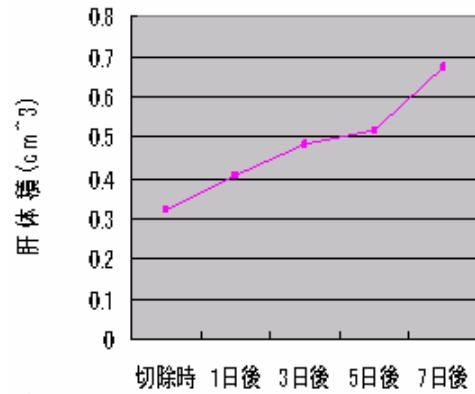


### 肝切除マウス再生解析



1. 切除前 2. 切除時 3. 1日後 4. 3日後 5. 5日後 6. 7日後

### 肝切除実験体積測定結化



北海道大学大学院 分子制御外科 教授 尾崎倫孝先生 ご提供

### ・呼吸・心拍同期

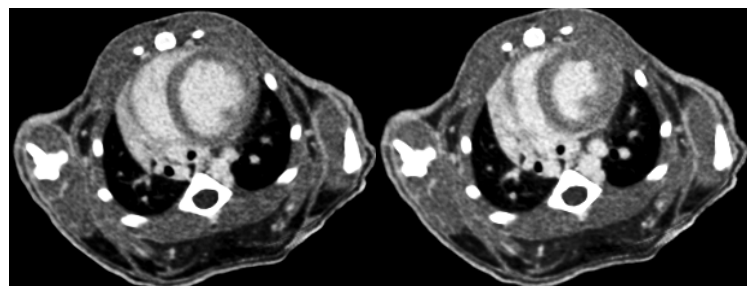
CT撮影時、360°方向よりX線を照射し、各角度から透過したX線をCdTe半導体検出器で直接電気シグナルに変換、X線の強度・減衰量を計算しますが、同じ角度よりX線を照射した場合でも、呼吸・心拍による臓器の動きで透過率・減衰量も変化します。このときの変化をモニターし、特定した位相の画像を再構成します。

また、検体の体動周期が一定でない場合、モーションアーチファクトを除去しきれないことがあります。このような場合は、モーションアーチファクトが生じた部位に対して、くり返し(リトライ)撮影を行います。(モーションアーチファクトの有無は、ソフトウェアにより自動判別を行います。)

### 呼吸同期撮影例: 肺



### 心拍同期撮影例: 心臓



拡張期

収縮期



## 実験小動物用コンパクト MRI 「MRmini SA」の特長とアプリケーション

木村浩志

DS ファーマバイオメディカル株式会社  
営業本部テクニカルサービスグループ



図 1. MRminiSA 1508N 構成写真

### 1. はじめに

近年生きたままの状態での体内を観察できるラット・マウスを中心とした小動物イメージング技術が急速に発達しているが、MRI（磁気共鳴画像法）に関しては、大型の超伝導磁気回路を用いるため特殊施設や専任の技術者、多大な初期投資とランニングコストを必要とし、コンパクト化がほぼ不可能というのが現状であった。本製品は小動物用 MRI としては世界初の 1~2T（テスラ）の高磁場永久磁気回路と筑波大学発ベンチャーが有するシステム技術という国内技術を結集した、漏洩磁場のほとんどない（5 ガウスライン：半径 1m 以内）動物実験施設エリア内に設置可能なメンテナンスフリーコンパクト MRI である。操作に関しても基礎研究から創薬におけるルーチン評価まで様々な研究者の方々に使用しやすい Windows ベースのソフトウェアを採用する等、簡便性を重視した設計となっている。

今回は MRminiSA で撮像した実験動物(マウス、ラット)の MR 画像を紹介する。

### 2. 撮像画像例

#### 2-1. 脳虚血モデル(マウス)

脳梗塞マウスの MRI 撮像画像を図 2 に示す。撮像シーケンスは 2D スピンエコー(マルチスライス)、撮像パラメータは T1 強調画像で TR=500ms, TE=9ms、T2 強調画像で TR3000ms, TE=69ms である。T2 強調画像では、脳虚血部位が高輝度となり、虚血部位を明確に区別することが可能となった。

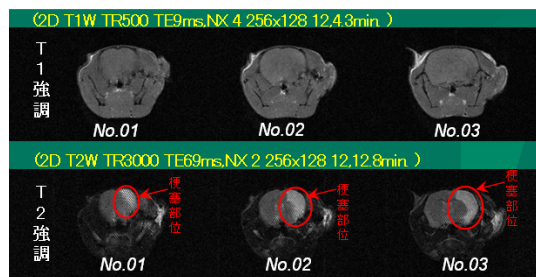


図 2. マウス脳梗塞画像(上段 T1、下段 T2 強調画像)

## 2-2. マウス腫瘍モデル

マウスのMRI 撮像画像を図3に示す。撮像シーケンスは2D スピンエコー(マルチスライス)、撮像パラメータはT1 強調画像で TR=500ms, TE=9ms, T2 強調画像で TR2000ms, TE=69ms である。T2 強調画像では、腫瘍部位が高輝度となり、正常組織との境界も明確に区別することが可能であった。

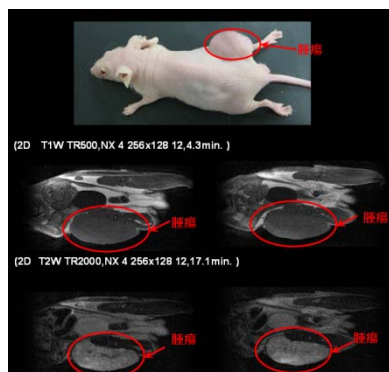


図3. マウス腫瘍画像(上段 T1、下段 T2 強調画像)

## 2-3. マウス造影画像(肝臓)

MRI の造影剤としては、陽性造影剤(ガドリニウム系)と陰性造影剤(鉄系)がある。動物専用のものはまだほとんどなく臨床用の造影剤を使用している。MRI 造影剤は現在市販されているもので臓器特異性の高いものは肝臓の造影剤(プリモビスト、リゾビスト)位であるが、現在色々な動物実験用 MRI 造影剤が開発中であり近い将来には、特異性の高い造影剤が開発されることが期待できる。図4に正常マウスにプリモビストを腹腔内注したMRI 画像を示す。撮像シーケンスは、3D 高速勾配エコー法、撮像パラメータは TR=50ms TE3.6ms である。

投与数分後より、徐々に肝臓が高輝度に描出された。

このように、特異性の高い造影剤を使用できれば、従来では判別できなかった臓器も容易に区別することが可能となる。

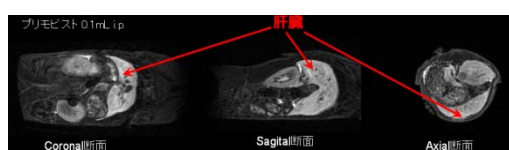


図4. マウス造影画像(プリモビスト)

## 2-4. マウス造影画像(血管造影)

図5に本年7月より弊社で発売している MRI 血管造影用の造影剤「ガドリゾーム」を使用した画像を示す。

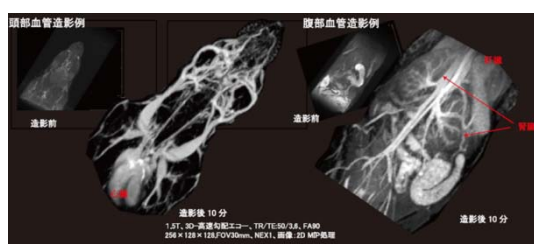


図5. マウス血管造影画像(ガドリゾーム)

撮像シーケンスは、3D 高速勾配エコー法、撮像パラメータはTR=50ms TE3.6ms である。取得した MRI 画像を MIP (Maximum Intensity Projection) 画像にして示した。このように造影剤を使用することで、より高解像度の MRI 画像を得ることも可能となる。

### 3. まとめ

コンパクトでかつランニングコストのかからない簡便な MRI 装置が開発されたことで、創薬評価での脳梗塞や癌などの従来不可能であった各種病態モデル動物の *in vivo* での経過観察が簡便に行えると同時に、新たな手法は従来の実験データでは得ることができなかったデータの取得が可能となった。また、MRI は柔部組織の解剖学的描写に優れていることから、PET や各種光学イメージングなど位置情報に乏しい装置との融合画像評価でも有用であると考えられる。各種 MRI 機能造影剤やこれらを用いたさらに新たな機能的イメージング手法が開発されれば更にイメージング研究の強力なツールとして威力を発揮することが期待できる。

## 超音波イメージング

山下正博

プライムテック株式会社 アプリケーションスペシャリスト



**VISUALSONICS**  
A division of  SonoSite.

実験動物の生体内を精細に視覚化します！

### 小動物用 超音波高解像度イメージングシステム Vevo

カナダ VisualSonics 社製

Vevoは、実験マウスの子宮内胎児 (E5~) の生体内構造を精細に視覚化することが可能な、顕微鏡に近い分解能 (~30 $\mu$ m) を有した、in vivo 超音波マイクロイメージング装置です。実験小動物の生体内構造を無侵襲でリアルタイムにスキャンし、解剖学的に精細に視覚化、機能学的に高精度の定量化を行うことが可能です。小動物実験だからこそ必要となる周辺機器も充実しています。

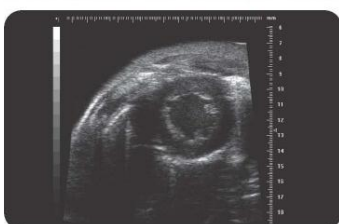
また、2100モデルは、近赤外可変レーザー波長 (680-970nm) タイプのフォトアコースティックオプションと共に利用することができ、超音波の高い分解能・深度による解剖学的情報に加え、フォトアコースティックによる高感度の分子動態情報を同時に得られ、ひとつの画像上に情報を統合表示することができます。



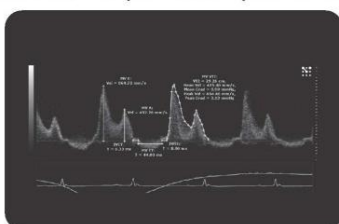
VisualSonics 社のマイクロ超音波イメージングシステムは、世界で 700 台以上のシステムが利用されています。高分解能で無侵襲に評価できる方法であり、同一個体の実験小動物を用い、疾患の早期段階から長期に渡り、症状の進行や治療効果を経時的に観察することができます。使用する動物数の削減にも効果的です。

## Cardiovascular Research

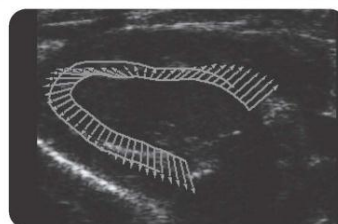
最小 30 ミクロンの高分解能により、マウスやラット等小動物における心血管疾患 ( 虚血性心疾患、心筋症、弁膜症、アテローム性動脈硬化症、動静脈瘤、血栓 等 ) の早期発症段階から進行段階、治療効果を非観血的・経時的に精細観察することが可能です。心機能評価パラメータ (250 種以上) を算出できる Measurement 機能も搭載しています。



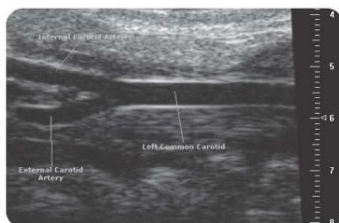
2D (B-Mode) | 上段 : アダルトマウス左室  
下段 : マウス頸動脈分岐付近



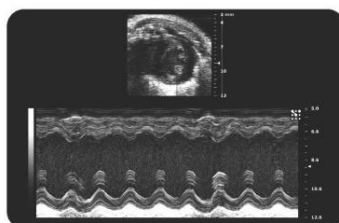
上段 : Pulsed Wave Doppler |  
下段 : M-Mode



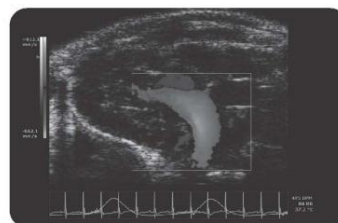
上段 : Strain 解析 | 下段 : Color  
Doppler による僧帽弁逆流の検出・観察



2D (B-Mode) | 上段 : アダルトマウス左室  
下段 : マウス頸動脈分岐付近



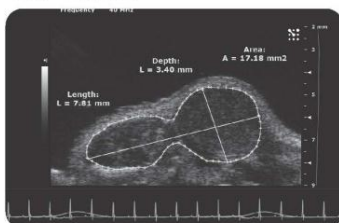
上段 : Pulsed Wave Doppler |  
下段 : M-Mode



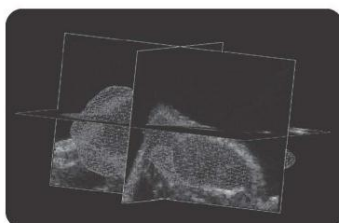
上段 : Strain 解析 | 下段 : Color  
Doppler による僧帽弁逆流の検出・観察

## Cancer Research

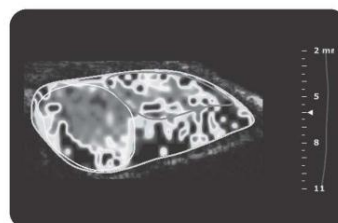
小動物の腫瘍の形状や大きさを、繰り返し単一動物を用い、in vivo にて経時的かつ立体的に計測・解析することが可能です。立体計測した対象腫瘍は、容積計算を行ったり、任意の切断面を表示するなど、あらゆる角度から観察することができます。



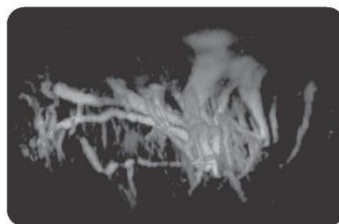
上段 : 2D (B-Mode) | 下段 : 3D Power  
Doppler | マウス前立腺腫瘍



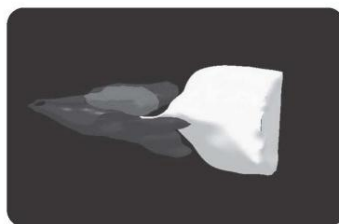
3D | 腫瘍の経時的な立体形状観察や、  
容積の定量測定が可能



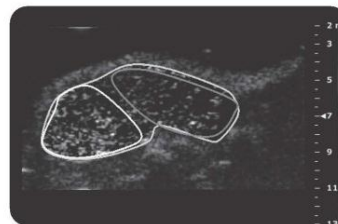
コントラスト定量 | MicroMarker 造影剤  
使用。正常組織と腫瘍内の複数の関心  
領域間での不均一性を定量比較可能。



上段 : 2D (B-Mode) | 下段 : 3D Power  
Doppler | マウス前立腺腫瘍



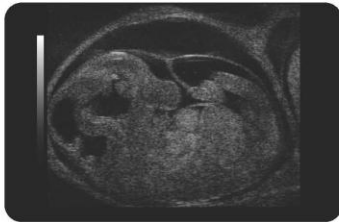
3D | 腫瘍の経時的な立体形状観察や、  
容積の定量測定が可能



コントラスト定量 | MicroMarker 造影剤  
使用。正常組織と腫瘍内の複数の関心  
領域間での不均一性を定量比較可能。

## Developmental Biology and Other Research

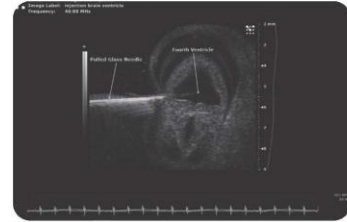
胎仔から成体マウスに至るまで、同一個体を用いて経時的に解剖学的・生理学的評価を行うことが可能です。その他にも、肝臓、胆嚢、腎臓、副腎、脾臓、膵臓、膀胱、血管系... 前立腺・精巣、卵巣・子宮・胎盤等、様々な腹部臓器全体・内部の構造を視覚化、血流の定量評価を行うことができます。



上段：E12 子宮内胎児 (B-Mode)  
下段：マウス胆嚢内腫瘍 (3D)



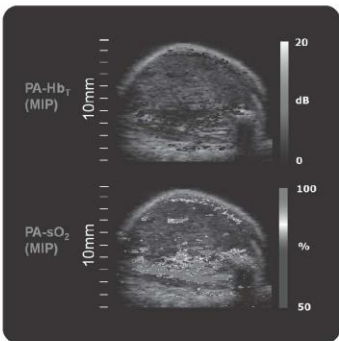
上段：E13 子宮内胎児 (B-Mode)  
下段：マウス膵臓 (2D Power Doppler)



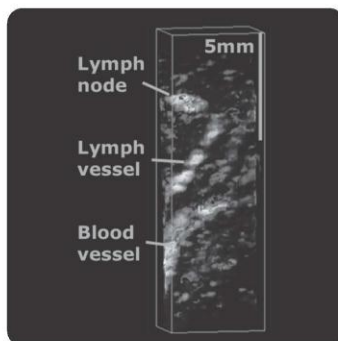
上段：E12 胎児脳内インジェクション (B-Mode)  
下段：マウス脾臓内血流 (ColorD)

## Photoacoustic Imaging

レーザーによるフォトアコースティックオプション-Vevo® LAZR (680-970nmの範囲内で可変 (1nm ステップ)/マルチ周波数の同時利用が可能) を活用することにより、超音波だけでは難しかった高い感度を得ることができ、腫瘍内の微小環境や血流動態の変化を観察可能にすると共に、蛍光試薬やナノ粒子を用い、腫瘍内の分子動態を検出し、細胞内の変化を捉えたり、脳血管内で特定の分子/受容体を標的としたイメージングを行うことができます。また、ヘム・シグナルを利用 (脱酸素化ヘモグロビン: 750nm/酸素化ヘモグロビン: 850nm) し、酸素飽和度・総ヘモグロビン量を計測することも可能で、腫瘍微小環境内における、不均一な血管新生ネットワーク/腫瘍成長を観察したり、脳活動の変化 (例えば外部の刺激に対するニューロン活動の変化) を検出し、脳の低酸素状態、脳卒中・脳虚血・脳梗塞等による、低酸素の原因を調査することを可能にします。



マウス皮下腫瘍 | 上段：総ヘモグロビン量  
下段：酸素飽和度@750nm・850nm / 21MHz



センチネル・リンパ節の検出 (マウス腋窩)  
@680nm、メチレンブルー、3D MIP 表示



## IVIS Lumina II による In vivo 発光・蛍光イメージング

越川隆史

住商ファーマインターナショナル（株）

### 【はじめに】

生体を非侵襲的に観察することができるイメージングは、臨床においては言うに及ばず、動物を用いた前臨床の研究分野においても有用である。イメージングは大きく二つに分類することができる。一つはMRIやCTに代表される形態を観察することに主眼が置かれたもの（形態イメージング、morphological imaging）、もう一つはPETに代表される機能を観察するためのもの（機能イメージング、functional imaging）があり、発光や蛍光といった光を用いたイメージングは、どちらかと言えば後者に含まれる。

In vitro において遺伝子の発現を定量する方法の一つに、ルシフェラーゼ遺伝子をレポーターとして用いるレポーターアッセイがあるが、in vivo における光イメージングはこれを応用したものである。光細菌、ホタル、ウミシイタケ等のルシフェラーゼ遺伝子や蛍光タンパク質遺伝子を transfect した癌細胞や感染菌を用い、各種病態モデルを作製すれば医薬品のスクリーニングや薬効メカニズムの解析や、さらに遺伝子改変動物を用いた病因遺伝子の解析等が容易に行うことができる。また、抗体、siRNA、nano-particles 等を蛍光物質でラベルして、生体内での動態を観察することも行われている。さらに最近では、疾患部位を特定するために蛍光物質と結合させた各種 Probe の開発が盛んに行われ、その中には臨床用としての開発も視野に入れられ、“光”を指標としたイメージングは益々広がりを見せている。そして IVIS Lumina II は発光、蛍光が容易に観察できる装置である。

### 【光イメージングの方法と種類】

光イメージングで最も重要な事は光源の波長である。一般に組織透過性が高いのは 600nm 以上の光であり、光イメージングに使われる光のマーカーには 600nm 以上の光を用いることが望ましい。

次に、光を用いた in vivo imaging には発光によるものと蛍光によるものがあり、目的に応じて使い分ける必要がある。

#### 1) 発光による in vivo imaging

光細菌、ホタル (Firefly) やコメツキムシ (Click beetle) などの甲虫、さらにウミシイタケ (Renilla) などの海洋生物は発光酵素であるルシフェラーゼを有している。真核細胞の場合、ルシフェラーゼは基質と反応して、ATP と酸素の共存下でオキシルシフェリンを生成する。オキシルシフェリンはルシフェラーゼの種類によって違いがあり、異なった波長の光を発する。一方、原核細胞（光細菌）の場合は発光のメカニズムは異なり、フラビンモノヌクレオチドの酸化反応によって光が生成される。このようなルシフェラーゼで癌細胞や細菌をラベルしてやれば、細胞の数を光の強さとして捉えることができる。また病因遺伝子のレポーターとして組み込んでやれば生体の生理状態などに依存して変化する遺伝子の発現を観察することができる。なお、発光は前述のように酵素反応であるため動物への基質の投与が必要になる。通常は腹腔内投与 (ip) が用いられる。

基質の体内分布について、ホタル・ルシフェラーゼの基質であるルシフェリンの場合は、胎盤を通過することも確認されており、またほぼすべての臓器・組織にも分布することが報告されている。IVIS シリーズでは、この発光量を  $\text{photon/sec}$  という物理量で数値化が容易にできる。この物理量は測定条件に影響されることなく、従い測定では最も良い条件で測定すれば良い。

## 2) 蛍光による *in vivo* imaging

蛍光によるイメージングはさらに2通りに分けることができ、一つは蛍光タンパク質遺伝子をレポーターとして用いる方法と、もう一つは抗体、薬物、あるいは *nano-particle* 等を蛍光物質によって標識して用いる方法に分けられる。蛍光の場合でも発光の場合と同じように、組織透過性を考えると 600nm 以上の光を用いることが望ましい。前者のレポーターによる方法は、発光の場合と同様に細胞の数を蛍光量として捉えることが可能である。ところで、蛍光は蛍光物質に励起光を当てることにより物質内部でエネルギーの遷移が起こり、次に物質が安定状態に戻るときに余剰のエネルギーを光として放出する時に出る光と定義される。この時、強い励起光であれば強い蛍光が、弱い励起光であれば弱い蛍光が出ることになり、発光の場合に比べて定量性を得ることが難しい。IVIS シリーズでは *Radiant Efficiency* という新しい単位を設け、比較定量ができるようにしている。なお、蛍光タンパク質は細胞が死んだ後も蛍光を発するため、制癌剤の薬効評価のような場合は発光を用いた方が良い。

蛍光レポーターとして最も良く用いられているものに GFP (*Green fluorescence protein*) があるが、*in vitro* や *in situ* では扱い易く、また光の組織透過性は問題にならないが、*in vivo* では励起・蛍光ともに波長が 600nm 以下 (励起: 488nm、蛍光: 510nm) であるため組織を透過しづらく、限定された利用にならざるを得ない。最近、遺伝子の改変や新規物質の発見によって励起・蛍光ともに長波長の蛍光タンパク質が利用できるようになった。

抗体や薬物を蛍光物質で標識し、臓器や組織内での分布を観察する場合にも、Cy5.5 などの 600nm 以上の蛍光を発するものを利用することが望ましい。多数のラベル用の蛍光試薬が市販されているが、中には細胞用の試薬 (例、DIR) も存在し、実験系や目的に応じて選択する必要がある。蛍光による *in vivo* イメージングにおいて蛍光物質の波長以外の留意事項としては、動物の皮膚表面からの自家蛍光と通常のエサに含まれる葉緑素 (クロロフィル) 誘導体による消化管の蛍光がある。前者は、GFP などの低波長の蛍光物質を用いた場合に問題になり、IVIS シリーズでは *image math* ツールとして、ソフトウェアによって除去する方法が工夫されている。後者は繊維源として飼料に加えている植物 (アルファルファ) を含まない飼料 (特注品) で飼育すれば解決できる。最近では輸入品になるが無蛍光飼料も市販されている。

## 3) レポーターからプローブへ

生体における疾病のプロセスや生体反応を解析したり、病変部位の同定などを目的としたプローブの開発が進んでいる。検出には蛍光を使用するのがほとんどで、中には化学発光を利用するものもある。Caliper 社からもいくつか市販されている。例を挙げると、ヒトで PET を用いてがん診断する場合に  $[^{18}\text{F}]\text{DG}$  を使用するが、 $[^{18}\text{F}]$  の代わりに 750nm の蛍光物質を付加した 2-Deoxy Glucosone-750 があり、マウス担癌モデルにおいて癌病巣を検出できる。ただし、蛍光物質は分子量が比較的大きく、アイソトープラベルに比べると格段に分子形状も大きくなり、生体内での動態が異なる可能性もあるので、用いる場合は注意が必要である。もう一つの例は、白血球の一つである好中球が有する MPO (*myeloperoxidase*) 活性を利用して炎症部位を同定する *Inflammation Probe* である。このプローブには MPO 活性により発光する基質が含まれていて、化学発光によって炎症の初期反応およびその場所を同定できる。その他、骨の再生などで生成されるヒドロキ



シアパタイト (hydroxyapatite) に特異的に結合する蛍光プローブや細菌の細胞壁内のリン脂質に結合する蛍光プローブなども開発されており、今後益々増えてくるものと思われる。一方、臨床においても癌に特異的に集積する蛍光物質および検出する装置の開発が進められていることを付記しておく。

### 【装置について】

光を用いた *in vivo* イメージング装置の構造は、動物をセットして観察するための暗箱、光を捉え定量するための高感度冷却 CCD カメラ (または光電子増倍管) および捉えた光 (photon) をデジタル処理するための PC とソフトウェアからなる。さらに蛍光を観察するためには励起光源 (ハロゲンランプまたはレーザー) が搭載される。米国 Caliper LifeSciences 社 (旧 Xenogen 社、[www.caliperls.com](http://www.caliperls.com)) の IVIS<sup>®</sup> Imaging System (日本総代理店: 住商ファーマインターナショナル (株)) は世界で 1000 台超、日本においても 120 台の販売実績があり、多くの文献数、アプリケーション例を誇る。

観察は動物を麻酔下で実施し、動物の低体温防止のため加温式のステージになっている。また、同一の動物で経時変化を追うことができるため動物の屠殺数が軽減でき、動物愛護の観点からも優れた装置と考えられる。IVIS<sup>®</sup> シリーズの中には発光・蛍光の三次元解析が可能で、CT や MRI 画像との融合によってより多くの情報を取得することが可能になっている (同社 Spectrum)。

### 【アプリケーションおよび評価方法】

光イメージングを用いたアプリケーションは多く、癌、感染症、再生医療、さらには遺伝子改変モデルを用いた各種病態解析等々、多岐に亘る。その中で癌と再生医療を例に挙げて、光イメージングを用いた評価方法について述べたい。最もポピュラーな領域は癌研究である。とくに癌研究の中で、転移の制御や治療は大きなテーマであるが、細胞に Luciferase 遺伝子を組み込んだ細胞を用いて転移モデルを作製すれば、いつどこにどのぐらい癌ができるかを観察することができる。その他、遺伝子治療用の遺伝子ベクター、抗体、nano-particle などの分布集積や免疫に関係する細胞の移動や集積などの観察にも応用できる。前述したプローブとの組み合わせや、さらには他の imaging 装置との融合によって、複雑で多様な生物反応を容易に可視化し、評価できるものと考えられる。

### 【参考文献】

Dan M. Close, Tingting Xu, Gary S. Saylor and Steven Ripp

In Vivo Bioluminescent Imaging (BLI): Noninvasive Visualization and Interrogation of Biological Processes in Living Animals

Sensors 2011, 11, 180-206

B. W. Rice, M. D. Cable, M. B. Nelson

In vivo imaging of light-emitting probes

Journal of Biomedical Optics 6(4), 432–440 (October 2001)

Scott K Lyons

Advances in imaging mouse tumour models in vivo

Journal of Pathology 2005; 205: 194–205



日本実験動物技術者協会  
平成23年度 奥羽・東北支部合同勉強会  
プログラム

日 時：平成23年11月19日（土）9:00～16:00  
場 所：福島県立医科大学7号館（旧光が丘会館）大会議室  
共 催：東北動物実験研究会

- 8:30～8:55 受付
- 8:55～9:00 開会挨拶 伊藤恒賢（東北支部長）

**I. 教育講演 9:00～10:00**

- 9:00～10:00 教育講演 司会 伊藤恒賢（山形大学医学部附属動物実験施設）

演題：「感染症対策と人権 –ハンセン病対策から見えてくるもの–」  
（第327回本部共催講演会）

講演者： 森 修一 先生（国立感染症研究所・ハンセン病研究センター 室長）

- 10:00～10:10 休憩

**II. 震災関連シンポジウム 10:10～12:35**

- 10:10～12:35 震災関連シンポジウム 司会 井上吉浩（東北大学加齢医学研究所）  
高橋智輝（岩手医科大学医歯薬総合研究所  
動物研究センター）

テーマ：「東日本大震災を体験して  
–実験動物技術者は災害に対し何を備えておくべきか?–」

<事例報告を中心に考える>

1. 東日本大震災を経験して–施設移転完了まで– 10:10～10:20  
高橋智輝（岩手医科大学医歯薬総合研究所動物研究センター）
2. 東日本大震災が東北大・臨床分室に与えた影響 10:20～10:40  
末田輝子（東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設）
3. 東北大・加齢研・動物実験施設における被災状況と現場対応 10:40～10:55  
井上吉浩（東北大学加齢医学研究所）
4. 大規模震災におけるライフライン遮断時の対応と課題 10:55～11:15  
○小島修樹、安藤隆一郎（東北薬科大学実験動物センター）
5. 福島医大実験動物研究施設における被災状況と現場対応 11:15～11:35  
遊佐寿恵（福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設）

□ 11:35～11:45 休憩

<災害対策の総括を中心に考える>

6. 総括的に震災対策を考える 11:45～12:05  
笠井憲雪（東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設）

7. 原発事故を含めた複合災害対策の必要性 12:05～12:25  
片平清昭（福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設）

<質疑と総合討論> 12:25～12:35

□ 12:35～13:30 休憩(昼食)

### Ⅲ. 一般講演 13:30～16:00（講演8分/討論2分）

□ 13:30～14:10 座長 成田浩司(弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設)

1. 実験動物高度技術者養成研修(白河研修会)に参加して  
畠山莉加（岩手医科大学医歯薬総合研究所動物研究センター）
2. 東北大学動物実験センターの活動報告～飼養保管施設・実験室の視察業務について～  
○吉田弥生、小林秀明、末田輝子、佐藤未季、笠井憲雪（東北大学動物実験センター）
3. 東北大・加齢研・動物施設におけるカルタヘナ法に準じた拡散防止措置の実際  
○井上吉浩、石橋 崇、工藤洋平、松居靖久（東北大学加齢医学研究所実験動物管理室）
4. Wi-Fi 携帯端末を用いた動物実験施設内相互連絡の試み  
○深澤貴史<sup>1</sup>、畠山莉加<sup>1</sup>、佐藤綾子<sup>1</sup>、高橋智輝<sup>1</sup>、花木賢一<sup>1,2</sup>（<sup>1</sup>岩手医科大学医歯薬総合研究所動物研究センター、<sup>2</sup>同実験動物医学研究部門）

□ 14:10～14:40 座長 若井 淳(福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設)

5. 実験動物用飲用水の適切な保管場所の検討  
○塩谷朋子<sup>1</sup>、長谷川久美子<sup>1</sup>、遊佐寿恵<sup>2</sup>、丹治静保<sup>2</sup>、片平清昭<sup>2</sup>（<sup>1</sup>株式会社ジェー・エー・シー、<sup>2</sup>福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設）
6. 秋田大学における SPF マウス飼育エリア(A)の飼育環境改善の取組みと工夫  
○戸井田和美<sup>1</sup>、池田たま子<sup>1</sup>、二部恒美<sup>1</sup>、鈴木美帆子<sup>1</sup>、佐藤正義<sup>1</sup>、小畑孝弘<sup>1</sup>、九島秀美<sup>1</sup>、川越政美<sup>1</sup>、助川康子<sup>1</sup>、池田勝久<sup>1</sup>、柴田淑子<sup>1</sup>、津谷優子<sup>2</sup>、松田幸久<sup>1</sup>（<sup>1</sup>秋田大学バイオサイエンス教育・研究センター動物実験部門、<sup>2</sup>株式会社ジェー・エー・シー）
7. 動物実験に倫理的思考を取り入れると飼育管理が変わる-看護的飼育管理の紹介-  
末田輝子（東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設）

- 14:40～15:10 座長 尾崎順子（山形大学医学部附属動物実験施設）
8. ICR と C57BL/6 の性周期の検討  
○白濱育美、葛西律子、今井信子、馬場秀明、成田浩司、中根明夫（弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設）
9. テレメトリーによるマウスの体温および自発活動の長期観察—B6 と ICR の比較—  
○若井 淳、片平 清昭（福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設）
10. インフルエンザ感染症治療におけるポリオキソメタレートと Ribavirin の相乗効果の解析—インフルエンザ感染マウスモデルに観察された NO 誘導を中心に—  
○森 修一<sup>1</sup>、錫谷達夫<sup>2</sup>、山瀬利博<sup>3</sup>、茂田士郎<sup>2</sup>（<sup>1</sup>国立感染症研究所感染制御部、<sup>2</sup>福島県立医科大学微生物学講座、<sup>3</sup>東京工業大学）
- 15:10～15:30 座長 遊佐寿恵（福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設）
11. マウス肝炎ウイルス迅速検出法としての RT-LAMP 法の開発  
○花木賢一<sup>1</sup>、池郁生<sup>2</sup>、平野紀夫<sup>3</sup>（<sup>1</sup>岩手医科大学・医歯薬総合研究所・実験動物医学研究部門、<sup>2</sup>理化学研究所・バイオリソースセンター・実験動物開発室、<sup>3</sup>岩手大学・農学部・獣医学課程・獣医微生物学研究室）
12. *Pasteurella pneumotropica* 汚染の対応と今後の感染防止対策について  
○伊藤恒賢<sup>1</sup>、尾崎順子<sup>1</sup>、本間貞明<sup>1</sup>、関 敬之<sup>1,2</sup>、江原彩歌<sup>1,2</sup>、長橋 武<sup>1</sup>、鈴木浩美<sup>1</sup>、加藤みなみ<sup>1,2</sup>、山崎祥子<sup>1,2</sup>、須藤まゆみ<sup>1</sup>、福田直樹<sup>1</sup>、大和田一雄<sup>1,3</sup>、藤井順逸<sup>1</sup>（<sup>1</sup>山形大学医学部附属動物実験施設、<sup>2</sup>株式会社ジェー・エー・シー、<sup>3</sup>独立行政法人産業技術総合研究所）
- 15:30～15:35 閉会挨拶 高橋智輝（奥羽支部長）

## 感染症対策と人権 —ハンセン病対策から見えてくるもの—

森 修一

（国立感染症研究所ハンセン病研究センター 感染制御部 第7室 室長）

ハンセン病の隔離政策は絶対隔離と相対隔離に二分される。前者は医学的エビデンスに基づき感染源としての患者を療養所などの施設で厳格に隔離し、一般人への感染の拡大を防止しようとするものである。後者は患者を感染源としては認めながらも、宗教などの慈愛の心で、診療所を近くに持つ患者村などに緩やかに隔離し、ターミナルケアを行うものであり、その中心は一般的にはキリスト教ミッションであった。前者は近代医学の成立過程で感染症対策（公衆衛生政策）として進展した。対して後者は西欧中世における宗教的隔離の流れであった。この二者は近代の隔離として平行して進展し、この近代医学と宗教の混在がプロミンなどの化学療法剤開発以降に世界に隔離からの患者の解放を導いた。

本講演ではこの過程を、近代医学の成立過程と隔離政策進展の関係、ハンセン病医学の歴史的な研究（疫学、治療法など）、世界各国の隔離政策の歴史とその実態の比較、WHOにより途上国を中心に行われたハンセン病の外来治療制度のプロセスなどを明らかにすることによって、ハンセン病隔離政策の検証の中かから感染症対策と人権について考察する。

## 東日本大震災を経験して ―動物施設移転完了まで―

高橋智輝

(岩手医科大学医歯薬総合研究所動物研究センター)

### 【はじめに】

2011年3月11日14時46分、マグニチュード9.0の地震(東日本太平洋沖地震)が発生した。盛岡市に於いても震度5強、矢巾町では震度6弱の揺れが観測された。太平洋沿岸部を襲った大津波の被害はもちろんのこと、停電によるライフラインの停止、道路損壊による交通網の遮断、燃料不足による物資運送の遅延など、生活に直接影響する被害が岩手県内陸部においても発生した。震災当時進行中であった内丸キャンパスから矢巾キャンパスへの移転事業についても例外ではなかった。今回、動物施設移転を進めていた中での震災の影響について、また施設管理並びに今後整備しなければならないと考えられる防災対策について報告する。

### 【震災時の状況】

#### <内丸キャンパス>

盛岡市中心部は、地盤の強固な地域であると言われている。また、動物施設は地下にあるため、過去の大きな地震においても揺れを感じたことはほとんどなかった。今回の震災では、大きな地鳴りと次第に強くなる長い揺れを感じ激しい揺れの最中に停電となり、空調機は停止し、照明は全て消え、使用できる電源は非常用コンセントのみとなった。

震災直後の点検で、ラックの転倒、ケージの落下等の被害は確認されなかった。そこで、緊急対応は停電対策のみとしてベンチレーションラック、クリーンラック等をすべて非常用コンセントに接続し、遺伝子組換え動物のクリーン度維持を優先した。

#### <矢巾キャンパス>

矢巾キャンパスは、水田を整地して建設しているため、本部棟(研究棟、講義実習棟)で15~20センチメートルほどの地盤沈下が確認された。動物施設は震災当時新規機器の搬入中であった。職員不在で搬入業者のみでの作業であったが、内線電話が使用できたことで連絡を取ることが出来、人員の無事が確認できた。その後の確認では、施設の損壊、搬入済みラック等の転倒は確認されなかった。

#### <移転事業の遅延>

燃料の供給不足により、運送業者の業務に多大な影響があり、移転(引っ越し)に遅延が発生した。また、重油の供給が安定せず、動物施設の試験運転ができなかった。以上のことから移転完了は4月上旬完了予定から5月連休明けへと1ヶ月遅れることとなった。

### 【施設の防災対策・危機管理】

飼料納入業者(盛岡)に一定量(2週間分程度)のストックをするよう要請した。

飼育ラックは全て非常用コンセント接続とし、施設の空調が停止しても一定期間クリーン度を維持できるようにした。

停電対策として、各飼育室前室及び実験室に非常用ライトを設置した。

安全対策として、非常時(災害時)用のヘルメットの購入を検討中である。

矢巾動物研究センターは2階建ての独立棟(飼育エリアは1階)であるためラックの転倒防止策としては、キャスターロックをせずに設置し対応することとした。

ロッカー等は転倒防止のために壁固定とした。

非常電源（コンセント）については中央からの供給となっているが、ボイラー等の燃料は動物施設地下タンクとなっているため、緊急時の対応を大学と協議する必要がある。

**【終わりに】**

震災時、移転へ向けて実験動物数の削減を実験実施者の協力により実施していたため、飼料等消耗品不足の事態には至らなかった。停電・燃料不足の対応についても大学の対応により自家発電からの電力供給で空調機を稼働し（温湿度状況を見ながらの一部運転の期間あり）、中央ボイラー室からの給蒸でのオートクレーブによる滅菌業務をすることが出来た。しかし、内丸の動物施設においては、大学病院機能維持に対する重油の供給があったため対応できたものであり、矢巾動物施設での独立棟としての対応は異なると考えられ、今後センター独自の防災マニュアル、危機管理マニュアルを作成しなければならないと考える。



## 東日本大震災が東北大・臨床分室に与えた影響

末田輝子

(東北大学大学院医学系研究科付属動物実験施設)

3月11日午後2時46分、マグニチュード(M)9.0という世界最大級の大地震と広域の津波が、東日本を襲い、おびただしい数の死者や行方不明者が出た。加えて、福島第一原子力発電所事故に伴う放射能汚染。本シンポジウムでは、当施設の2ヶ所あるうち、臨床分室を中心に被害と対応について報告する。

東北大学キャンパス内での被害総額は800億円とも言われているが、幸いに人的被害はなかった。しかし、キャンパス外では津波により学生3名が犠牲になった。当施設は飼育設備については事前に地震対策が取られていたため、実験動物への被害は極めて軽微であった。問題は電気、ガス、水道等のライフラインの停止であり、未曾有の大震災においては、それらの復旧の見通しを正確に予想することの難しさを改めて痛感することとなった。

震災当日、立ってられないほどの大きな長い揺れにもかかわらず、施設職員の対応はとても冷静であり、職員同士助け合い、研究者の誘導を行った。最初の揺れが一段落した後、動物の逃亡と火災の気配の無いことを確認し、翌日から本格的な被害状況の確認を行ったところ、中央棟では、自動給水装置の不具合から約80匹のマウスの死亡が確認された。臨床分室は医学部の12階建て研究棟(3号館)の最上階にあり、この建物は医学部キャンパスで最も揺れが激しく、震災直後から「立ち入り禁止」となってしまった。余震が続く中でも私達は飼育管理を続けたが、私達の行動が正しかったのかどうか、今も分からない。でも、ケージから出られない実験動物が餓死することが分かっている、何もしないことはできなかった。

ライフラインの内、電気は3日、水は5日間で復旧したが、ガスの復旧には25日を要したため大型オートクレーブと暖房の運転ができなかった。SPF環境を守るためケージ交換の中止、1日に2回の換気運転、幼若マウスラットを間引く対策を取った。市民生活の方は、ライフラインと物流が壊滅したため、食料やガソリン等の入手は困難だった。幸いにも、震災3日後頃からは各地から支援物資が集まりだし、私達職員は大学から配給を受けることができ、仕事に専念できた。

今回の災害は1000年に1回という未曾有の災害であり、難しい判断を迫られることも多かった。災害時にあって実験動物を守るためには、自家発電装置や燃料等の確保が十分にあることが理想であるが、それにも増して必要なのは人間の知恵と責任感、そして相互扶助であったように思う。実験動物仲間からの激励メールに励まされ、関係機関や企業等からは滅菌床敷きや食料を送っていただき、とても有り難く感じた。この場を借りて心から感謝の言葉を述べさせていただきます。ご支援をどうも有り難うございました。

## 東北大・加齢研・動物実験施設における 東日本大震災の被災状況と現場対応

井上吉浩

(東北大学加齢医学研究所 実験動物管理室)

3月11日午後2時46分に発生した東北地方太平洋沖地震（東日本大震災；M9.0、最大震度7）により、電気・水道・ガス・蒸気等のライフラインが停止し、当施設は様々な困難な状況に直面した。その被害状況と現場対応、復旧経過および今後の対策について報告する。

**【被災状況と現場対応】** 予期しない巨大地震が発生し、激しい横揺れが2分程続いた。飼育用クリーンラックは50cmから1m程ずれ動いたが、ラックの転倒およびケージの落下は全くなかった。一部にラック棚内でのケージ転倒が見られたものの、室内にて脱走したマウスを捕獲し、飼育室外への動物の逃亡事故は発生しなかった（LMO 拡散なし）。揺れ方が東西への横揺れだったのでラックとケージが同じ動きをしたものと推測され、全ラックに装備していたケージ落下防止ガイド（地震対策）が効果を発揮したものと考えている。一方、ライフラインの断絶により、空調システムの停止（環境統御ができない）による室温低下（飼育室により12～17℃まで低下）とアンモニア濃度の上昇、エレベーターの停止（運搬に支障）、そして蒸気不通によるSPF環境を保持できるかどうか危惧された（ケージ等をオートクレーブできない）。空調は50時間後の復電で再開することができ、飼育は大量に在庫していた滅菌ケージで2週間隔でのケージ交換を実施することで対応し、給蒸再開まで約1.5ヶ月は凌げる見通しが立った。飼料、床敷きの入荷も地震前に確保していたことも幸いした。結果として地震後14日目に給蒸再開し、オートクレーブ滅菌が可能となり、飼育管理の復旧の目途が立った。4.7大規模余震（震度6弱、M7.4）も含めて連続した余震による後遺症的な被害として、建物（特に内壁）の至る所に大小のひび割れ、空調機ダクトの一部破損等、施設の老朽化もあり雨漏りや水道配管からの漏水事故等もみられた。

**【今後の防災対策】** 震災後に判明したことは、空調機や熱源設備であるチラーユニット、細胞や遺伝タンパクなどを凍結保管する低温フリーザー等への非常用電源のバックアップが機能しなかったことである。所内においては危機管理対策委員会を設置し震災対策に関する検討を行い、電源確保のための電気システムの改修だけでなく、災害対策本部の組織と役割、責任体制を明確にし、アクションカードの作成、緊急連絡網と携帯メールMLの活用、災害対策用の備品の備蓄、物品の耐震固定等の整備を行うこととした。当施設としてもこれらマニュアルに沿って対応すると共に、現場での実際面として、地震後の空調設備やガス・蒸気・電気の各設備を再立ち上げする際には再立ち上げに伴う電気火災や事故等にも配慮する必要があると、各設備の入念な点検が重要である。また、ライフラインが復旧するまでの期間（約1ヶ月相当）を凌げるだけの飼育資材（滅菌済ケージ・床敷、飼料、保管可能な水）の備蓄も重要であることを体験した。非常時の対応として、地震の規模、発生時の季節、時刻、現場の状況、被害レベル、様々な状況が想定されるため、備えあれば憂いなしの事前の準備と、実際はその時の状況に応じた適切な決断と対応ができるかどうかにかかっている。

## 大規模震災時におけるライフライン遮断時の対応と課題

○小島修樹、安藤隆一郎  
(東北薬科大学実験動物センター)

-はじめに-

2011年3月11日午後2時46分、東北地方太平洋沖を震源とする東日本大震災が発生した。地震の規模はマグニチュード9.0で気象庁観測史上最大の地震となった。宮城県北部で震度7を記録したほか、各地で震度6強から6弱を観測した。当施設周辺も同様である。この地震により発生した大津波が東北地方から関東地方の太平洋沿岸に襲来し、各地に甚大な損害をもたらした。そこで、震災の影響で長期に渡るライフライン（電気・ガス・水道(以下、LLと略。))の供給停止による経験からLL遮断時における演者らの対応と今後の課題について当施設の設備を参考に報告する。

-LL遮断時の対応について-

当施設は、地震発生後、建物に軽微な損傷は確認されたが、地震動による人的被害、飼育動物への被害も無く施設の対応に当たった。大地震で必ず問題になるのがLLの供給停止による空調、消毒設備の停止である。これらは、どの施設でも問題になった事だと思う。当施設では、大学内の共用自家発電装置により施設の動力・照明も含めた非常電源回路のみの電源供給が停電直後から行われ、停電復旧まで電気における大きな問題はなかった。また、停電の復旧は3日目に復旧したものの、水道の復旧には2週間、ガスの復旧には3週間の時間を要する事となった。このことは過去の震災事例を見ても十分予想された事である。しかしながら、幸運にも水道については大学内の受水槽に上水360トン、中水180トンの十分な量があり、断水復旧まで節水しながら水の供給も問題はなかった。ただし空調熱源設備に対する本学の運営方針により、主に都市ガスを燃料とした事により、ガスの供給停止が最大の問題となった。都市ガスはコストの面から非常に大きなメリットが有る一方、ガス炊の熱源設備（冷温水発生装置）の採用が空調熱源（冷温水）の供給に支障をきたす状況となり、結果的に当施設の長期間に渡る空調機能が失われた。さらに、蒸気もガス炊蒸気ボイラーの採用からオートクレーブによる滅菌作業も行えない状況となった。未使用の滅菌済み床敷きおよびケージにも数が限られており全ての動物を維持するには限界があった。なお、電気が復旧しても空調機は一時的な換気のみ行えたが、長時間の運転は室内の温度低下が著しく、季節柄不可能であった。空調停止による飼育環境の悪化、滅菌済み床敷きおよびケージ不足から施設全体で多数の動物が安楽死処置の対象となった。また、LLの復旧後、施設の通常稼働までには、汚染された飼育室等の洗浄消毒作業も含め約1ヶ月半の期間を要した。

-今後の課題-

多くの設備機器を起動するには電気が必要になる。通常、非常電源として内燃機関である自家発電装置が多くの研究施設、大学に設置されている。当施設も停電の際、共用自家発電装置により利用者の避難誘導、施設被害調査点検および飼育管理にも問題なく迅速かつ円滑に対応することが出来た。一般的に自家発電装置の燃料は重油を用いており、大容量貯蔵地下タンクが併設されている。そこで、現在の自家発電装置の燃料および電気を利用してLL遮断時における空調、

消毒設備の稼働の可否を模索してみた。すなわち、電気のみで熱源を作る設備機器（電気式冷温水発生装置や蒸気ボイラーなど）あるいはガス以外の化石燃料を利用すれば、より高効率で熱源を供給できる可能性もある。以下、具体的に列挙すると、1) 自家発電装置の非常電源回路の増設による電気式の予備熱源設備（冷温水発生装置、蒸気ボイラー等）の設置、2) 自家発電装置の燃料（A重油）を利用した予備熱源設備の設置、3) より大容量の受水槽、燃料タンクへの増設、4) 再生可能エネルギーの利用等を検討した。

今回の震災は、我々に恒常的な施設環境の維持にバックアップ機能を有する設備機器の必要性を強く認識させた。従って、設備機器に対する知識を技術者は身につけておくべきである。将来また起こるとされる大地震に備え、長期にわたる LL 遮断時の飼育環境を維持するため、前述したハードの面から考察する。

## 福島医大実験動物研究施設における被災状況と現場対応

遊佐寿恵

(福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設)

平成 23 年 3 月 11 日 14 時 46 分に発生した東北地方太平洋沖地震、福島県立医科大学（以下福島医大と略）がある福島市の震度は 5 強であった。福島医大の実験動物研究施設は鉄筋コンクリート構造の 4 階建てで 1 階から 3 階までを飼育室や実験室として供用している。4 階は機械室と倉庫であり普段は人の出入りは少ない。幸いにも震災による人的被害がなく、建物にも大きな被害がなかった。今年 1 月に消防法の規定に基づき大学における防火・防災管理業務について定めた消防計画を見直したばかりであり、地震直後にはその防災対策行動マニュアルにそって対応した。動物施設における災害対策の対応方法の原則として以下の 3 点が上げられている。①人命の安全：いかなる場合でも施設関係者（職員、実験者、保守管理者、来訪者等）や災害時の救援活動者の安全を最優先する。②動物実験の継続：人命の安全が確保された次の段階として、できる限りの手段を講じて飼育環境の保持と動物飼育の継続に努める。ただし、人や他の動物への感染の恐れのあるものについてはただちに処分する。③動物福祉への配慮：飼育や実験の継続が困難となった場合や、実験動物に著しい苦痛がおよぶと予測される場合には所定の方法により動物を速やかに処分する。

今回の災害発生直後の対応とその後の施設での動物飼育の管理方法、震災を経験して今後の災害への備えを検討した。

1. 地震発生直後は避難、危険な装置の停止、飼育室・実験室の状況点検と災害マニュアルどおりに対応した。飼育室では落下防止角棒を使用していなかった一部のステンレス架台からマウスケージ数個が落下したが、逸走マウスは全て捕獲した。基礎系の実験者も飼育室の状況確認におとずれ、とても助けられた。また、飼育器材の確認をしたところ飼料は 1 ヶ月相当量、プラ手や帽子等の消耗器材も 2 ヶ月間分の備蓄があった。附属病院を除いて給水が制限されたため職員全員で約 3 時間を費やして動物用飲用水を確保した。結局断水は 8 日間におよび、飲用水確保の重要性を強く認識した。

2. 停電はまぬがれたがガス、蒸気、上水が停止した。また、熱源停止により空調機も運転不能となった。このようにライフライン機能が著しく低下したため附属病院を優先することとされ医学部職員は自宅待機とされた。上水が復活するまでの 8 日間、実験動物施設は最小限の職員（教職員 2 名と飼育委託要員 2 名）が出勤し、飼育管理は休日に準じた対応を行った。温度管理と換気不可能とケージ交換ができないことに加え、余震が続き一部の飼育室で給水瓶から水が漏れてアンモニア濃度が上昇し飼育環境の悪化が心配された。地震翌日に施設の被害状況の説明と動物飼育の維持が可能であることを実験者にメールで知らせた。その後も現状と今後の見通しをきめ細かく連絡した。

3. 上水復帰 3 月 18 日 17 時、滅菌作業可能 3 月 23 日 8 時 30 分と徐々に施設の機能が改善した。しかし 3 月末まで空調は復帰せず飼育室の室圧、温度、湿度の制御ができなかったため、マウス・ラットの SPF 水準の維持が懸念された。4 月と 5 月に微生物モニタリング検査を実施し SPF が維持されていることを確認してやっと安堵した。このような対応の結果、動物の処分のほとんどは実験が終了したために処分したものであり、飼育ケージで 16%であった。

4. 今後の災害時に向け、ケージ落下防止策の工夫、動物用飲用水の確保等を再検討し順次実行している。災害を体験し施設や設備の特徴を熟知し、弱点を補うような対策を検討している。

## 総括的に動物実験施設の震災対策を考える

笠井憲雪

(東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設)

3.11 大震災は全てで想定外であり、想定内容の良否はもとより、想定することそのものの良否も議論されている。想定に頼って避難したところ、想定外の津波が押し寄せて多くの人命が失われた。

動物施設はどうであっただろうか。私どもの施設では、動物の地震そのものによる被害は軽微であったが、研究器材の落下損傷や自家発電装置の整備不良、オートクレーブ停止など、問題は山積している。

いつくるか分からない、逆に言えば来ないかもしれない巨大地震に備えるのは、なかなか大変であり、今回、大きな震災を受けたにもかかわらず、ある部分ではすでに喉もと過ぎれば、の気分がわいており、現時点で十分な対策をとっているとは言えない状態である。

地震の現れ方は今回のものだけを想定していれば良い訳ではないだろう。確かにマグニチュード 9.0、震度 6 強は最大規模の地震であったが、1995 年 1 月の阪神淡路大震災と比較しても、ビルや橋等の被害の状況は大きく異なる。阪神地区での多くのビルの倒壊や高速道路の崩壊、火事による多くの死傷者などは直下型のせいであろう。また、発災時間も今回は勤務時間中の午後 2 時 46 分、阪神淡路大震災は午前 5 時 46 分、更には 1978 年 6 月の宮城県沖地震は午後 5 時 14 分であり、それぞれの時間帯の職員の勤務状況、それぞれの家庭の被災状況が異なる。阪神淡路大震災では家庭での被災にともなう出勤できないという問題が起こり、今回の震災では勤務場所で被災に伴う職員の安全性や帰宅が困難になる問題も起こった。

このように考えると、今後の震災対策はどうあるべきか頭の痛いところである。まずは、今回の震災を受けて、この時点で考えられる事前に備えるべきものを人、施設設備、そして実験動物に分けて網羅的に取り上げ考えてみる。

## 原発事故を含めた複合災害対策の必要性

片平清昭

(福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設)

### 1. はじめに

東北地方太平洋沖地震(2011. 3. 11, 14:46, M9. 0)は、広範囲にわたる地震災害の他に、太平洋沿岸部に大津波をもたらし、多くの犠牲者を出した。さらに、東京電力福島第一原子力発電所(以下「福島原発」と略。)での爆発事故による放射性物質の環境汚染は歴史的複合災害といえよう。従来の概念からでは想定できなかったさまざまな大きな問題や課題が生じている。そこで、実験動物施設における危機管理の面から今回の震災について考察する。

### 2. 複合災害について

日本列島は地震列島であり、そして台風の通過地域でもあることから地震や津波、洪水等の大規模災害が各地で発生する恐れがある。地震の他に、津波・火災・台風・大雨・洪水・土砂崩れ・地盤沈下・液状化・竜巻・落雷等のいくつかが同時にまたは連続して発生する場合がある。東日本大震災では自然災害に伴って、精油所や化学工場、原子力発電所、ダム等の大規模構造物が破壊され、複合災害が現実のものとなった。複合災害の場合、交通手段が分断され、被災者の救済や救援はじめ、物流やさまざまな活動が阻害される。時間の経過とともに被害が拡大し、二次的、三次的災害が派生することも懸念される。

### 3. 原発事故への対応

福島原発から57 kmの福島医大においても外気放射線量は事故直後に通常値の9.3倍に上昇した。5ヶ月経過時点でも平時の約1.5倍の測定値であった。1ヶ月後および2ヶ月後の2回、GMサーベイメータ(ALOKA 制 TGS-136 型)を用いて飼育室や実験室等の放射線量を測定したところ、空調吹出部、排気部および中央作業台上の3ヶ所の測定結果は、全飼育室等において吹き出し部が最も高い値を示し、測定日が遅いほど高値を示す傾向が認められた。排気部と作業台上の放射線量はサーベイメータのバックグラウンド値とほぼ同レベルであり、施設周囲の外気の1/4~1/5程度であったことから、施設内における放射線の低線量被曝の危険性はないものと考えられた。

震災から7ヶ月が経過し、放射線量の詳細調査が進むにつれて福島市内においても $3 \mu\text{S}/\text{h}$ を超える地点(ホットスポット)の存在することが明らかとなっている。原発事故による放射能汚染は、福島県および周囲県の広大な地域に及ぶ大環境汚染事故となった。今後の課題は除染対策である。一部農地や園庭、校庭等で表層土削除や洗浄による除染も試みられているが、大学キャンパスや住居等建物の本格的除染は未だ実施されていない。除染に伴い発生する汚染汚泥の仮置き場や中間処理施設さえ決められていない。まして高濃度汚染物の最終処理施設はどうか? 果たして地域住民が満足する環境状態まで回復させることができるのか? 解決すべき課題があまりにも多過ぎる。

### 4. 複合災害への備え

複合災害対策には、人間工学的視点からの安全管理、リスクマネジメント体制の整備、事業

継続計画（BCM: Business Continuity Plan）の策定等について総合的に考え、被災をできる限り減少させること（減災）が重要である。我々の施設では、これまでの防災対策の他に、①動物用飲用水（限外濾過水）や弱酸性水の汲み置きの徹底、②固形飼料や消耗器材類の在庫管理の徹底、③ケージ落下防止の工夫、④ステンレス蓋がはずれにくく落下しにくいカードケージ使用の徹底、⑤作業用ヘルメットの常備、等を追加した。

さらに、今後の検討課題として、・設備（非常用電源の設置や多系統化）、備品、消耗機材等のリスク分散（メーカーや購入先）、・職員等スタッフの非常食や衣類（防寒具、着替え等）、・カセット型ガスコンロの常備、・原発事故時の退避場所（クリーンルーム）の指定、・災害伝言板等による家族への連絡手段の習熟、その他について考慮中である。

寺田寅彦は、「文明が進めば進むほど天然の暴威による災害がその劇烈の度を増す」と、複合災害への警鐘を数十年前に記述していることを知り、感嘆した。



## 実験動物高度技術者養成研修（白河研修会）に参加して

畠山莉加

（岩手医科大学医歯薬総合研究所動物研究センター）

平成23年度9月12日から16日までの5日間、福島県にて実験動物高度技術者養成研修（白河研修会）が行われた。この研修は例年、実験動物一級技術者をめざす技術者の資質向上を目的として開催されている。当施設ではすでに二人が一級技術者の資格を取得している。私もこれに続くべく、実験動物を用いた手技の習熟と実験動物一級技術者試験の合格を目指し研修に参加した。

研修前半は、テキスト「実験動物の技術と応用（実践編）」に対応する講義が行われた。また、各論講義として、モルモット・イヌ・ウサギ・サルについて、それぞれの受験科目を選択し受講した。私はウサギ・モルモットについて受講した。

研修後半は、実際に動物を使用して実習を行った。ラットおよびマウスでは、動物の取扱・投与・採血・手術（精管結紮・卵巣摘出）・解剖を、ハムスターおよびスナネズミでは、動物の取扱について学んだ。他に、顕微鏡を用いて腔垢像・組織像・白血球・寄生虫卵の観察も行った。

テキスト内容に準じた試験対策的な講義では、筆記試験を受けるにあたって非常に参考になった。直接的な試験対策とは異なる講義もあったが、そのような講義では、日常業務を行うにあたって必要な知識や心構えを学ぶ事ができた。

実習では、事前練習では習熟が不十分だった手技について理解を深められた。さらに、自己流に陥っていた手技について矯正し、より洗練された技術を習得する事ができた。

研修中は、講義や実習の後も筆記試験に向けた最後の学習に励んだ。夜遅くまでひたすらテキストや過去問と向き合う時間は非常に苦しかったが、周りを見れば皆が同じように机に向かっていて、同じ志の仲間が集まっているというその状況は、試験勉強をする環境としては最適であったと思う。

苦しい5日間を乗り越えた甲斐あって、筆記試験およびマウス・ラットの実技試験には無事合格できた。次は11月末に控えたモルモットの実技試験について合格目指して全力を尽くしたい。

## 東北大学動物実験センターの活動報告 ～ 飼養保管施設・実験室の視察業務について ～

○吉田弥生、小林秀明、末田輝子、佐藤未季、笠井憲雪  
(東北大学動物実験センター)

東北大学動物実験センターが発足してから、2年半が経った。

東北大学動物実験センターは、東北大学における動物実験の適法性の確保及び動物実験に係る安全管理を推進することを目的とした特定事業組織として発足し、事務的業務を主要業務とし、その他に技術的業務を行うことで東北大学全学の動物実験の適法性と安全管理の推進に努めてきた。

今回の発表では、動物実験センターの技術的業務の主軸である飼養保管施設・実験室の視察業務についての活動報告を行う。

東北大学は5つのキャンパスに、平成23年4月現在で67箇所の飼養保管施設と92箇所の実験室が存在する。その全ての施設・実験室の助言指導を行うためセンター職員による視察を行っている。

現在、動物実験センターが行っている視察は下記の4種類となっている。

- ① 動物実験専門委員による飼養保管施設設置時の視察の同行
- ② 実験室設置時の視察および飼養保管施設・実験室の変更申請時の承認に関わる視察
- ③ 遺伝子実験センターによる遺伝子実験室の視察への同行
- ④ 飼養保管施設・実験室の設置後のフォローアップ視察

動物実験センターが発足するまでは、動物実験専門委員による飼養保管施設設置時の視察のみであったが、動物実験センターが発足してからフォローアップ視察が始まり、今では実験室の新規設置や飼養保管施設の変更の承認に関わる視察を行う事もある。

遺伝子実験センターと連携を取り、場合によっては合同で視察を行うことにより、遺伝子組換え動物実験のカルタヘナ法遵守および逸走等の拡散防止措置の徹底を行い、尚且つカルタヘナ法を遵守するための飼育管理の助言を行っている。特に逸走の指導・助言は、先の東日本大震災において管理区域外への動物の逸走を防ぐことが出来た第一の要因だと考えられる。

また、視察先の飼養保管施設・実験室の先生方とコミュニケーションを取ることができ、動物実験や飼育管理に関する相談を受けたり情報を提供することができる。

視察は、適切な飼育管理、安全管理を促し、東北大学全体の飼養保管施設・実験室の適正な管理・運営を推進する上で重要な業務の一つと考えられる。

今後も大学内の飼養保管施設・実験室のより良い管理・運営を目指し、頑張っていきたいと考えている。

## 東北大・加齢研・動物施設におけるカルタヘナ法に準じた 拡散防止措置の実際

○ 井上吉浩、石橋 崇、工藤洋平、松居靖久  
(東北大学加齢医学研究所 実験動物管理室)

### 【背景と目的】

本学では、平成 21 年 4 月に遺伝子実験センターおよび動物実験センターが新設され、遺伝子組換え実験や動物実験の適法性の確保と安全管理を強化するため、種々の施策が図られている。その手続きの中で、平成 22 年度より新たに「遺伝子組換え実験室等の登録制」が開始した。遺伝子組換えマウス等を飼育あるいは実験を行う飼養保管施設においても、この登録が義務付けられ、承認の要件を満たすための種々の対応を行ったので紹介する。

### 【登録のための拡散防止措置の対応】

(1) P1A 管理区域（洗浄・滅菌室エリア、飼育室・実験室エリア）および P2A 管理区域（感染飼育室）を設定した。そのための対応策として、遺伝子組換えマウスのケージを洗浄室まで運搬する際のカートでの拡散防止措置（2 重の構造となるよう運搬方法を改善）を図った。すなわち、大小 2 タイプのボックス型コンテナの準備と運搬ルールを策定した。また、ケージ等の飼育器材をカートで運搬する際に支障のないように開閉式のネズミ返しを考案、特注で設置した。さらに、施設内において遺伝子組換えマウスを飼育室から実験室に運搬する際のルールを策定した。

(2) 遺伝子組換えマウスを施設外の所内研究室へ運搬する際の容器の改善（止金ロック式アルミケージとプラスチックコンテナの組合せで 2 重の拡散防止措置）とルールを策定した。

(3) 学内ルールとしての遺伝子組換え新生仔マウスの取扱い（生後 1 週間以内の遺伝子組換え仔マウスがいるケージの床敷き交換作業方法と手順）に対応した。

(4) 遺伝子組換えマウスのケージラベルの統一化を図った。すなわち、ケージラベル表示の必須要件を規定し、遺伝子組換えであるか否かを明確に識別が可能な表示を例示し、匹数管理の徹底化を図った。

### 【まとめ】

第二種使用等を含む動物実験の適法性の確保のためには、1. 実験従事者・管理責任者に対する法令や安全な取扱い等に関する定期的な教育訓練（基礎講習、法令講習）が重要である。2. 拡散（逃亡・漏出）防止措置は、ハード（2 重以上の物理的封じ込め）・ソフト（法令順守のためのルール作り）の両面から拡散の可能性を封じ込めることが重要である。

## Wi-Fi 携帯端末を用いた動物実験施設内相互連絡の試み

○深澤貴史<sup>1</sup>、畠山莉加<sup>1</sup>、佐藤綾子<sup>1</sup>、高橋智輝<sup>1</sup>、花木賢一<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>岩手医科大学医歯薬総合研究所 動物研究センター、<sup>2</sup>同 実験動物医学研究部門)

**【目的】**動物実験施設は動物種、微生物管理グレード、用途別の多数の部屋から構成されている。そのような施設の中で技術者は個々に別れて作業を行っており、技術者間の連絡手段はエリア毎に設置された固定電話または全館放送を通じた呼び出しによる場合が一般的である。5月より運用を開始した動物研究センターには IP 固定電話と防災用全館放送があらかじめ設置されていたが、固定電話の場合は飼育室内に入ってしまうと呼び出し音が聞こえない、全館放送では動物に無用なストレスを与えることが予想された。本発表では新たな相互連絡手段について検討したことについて報告する。

**【方法】**既設の学内無線 LAN ネットワークを活用するため、Wi-Fi (wireless fidelity) 携帯端末として iPod touch (Apple) を購入し、標準搭載のビデオ通話ソフト FaceTime およびサードパーティーのビデオ通話ソフト Skype の評価を行った。何れも利用するためには E-mail アドレスの登録が必要で、それぞれの端末に対してフリーメールアドレスを新規に作成して割り当てた。評価は実際の通話によって行った。

**【結果】**FaceTime はソフトウェアを立ち上げなくてもコールがあれば反応し、応答できない場合には着信履歴が残った。一方、Skype はソフトウェアを立ち上げていなければ着信履歴も残らなかった。この点において、選択肢として FaceTime に絞られた。実用性については、部屋によっては無線 LAN の電波の弱い場所があり、通話不良または音信不通の場合があったが、音声品質は電話並であった。また、Bluetooth (無線) 仕様の無線イヤホンと併用することにより、ハンズフリーで通話ができることも確認した。

**【考察】**はじめに IP 携帯電話の導入を検討したが、市販の携帯電話機の倍以上の費用を要することから断念した。一方、Wi-Fi 携帯端末は携帯電話機の半額以下であり、上述のように電話機の代用として十分な役割を果たすことから、最も実用的な通信デバイスと考えられる。現在、合計 6 台を導入して個人に配布して利用しているが、センター立ち上げ当初に比べて連絡の必要性が下がっており、使用頻度は少なくなっている。しかし、iPod touch にはビデオ通話以外に、写真撮影、動画撮影、音声録音、メモ、時計、タイマー、E-mail 送受信機能等が備わっており、動物実験施設管理の様々な場面において重宝している。

## 実験動物用飲用水の適切な保管場所の検討

○塩谷朋子<sup>1</sup>、長谷川久美子<sup>1</sup>、遊佐寿恵<sup>2</sup>、丹治静保<sup>2</sup>、片平清昭<sup>2</sup>  
( (株) ジェー・エー・シー<sup>1</sup>、福島県立医科大学実験動物研究施設<sup>2</sup>)

### 【はじめに】

3月の東日本大震災を振り返ると、非常時に備えた動物飲用水が確保されていなかったために、震災直後に慌てて用意する事態となった。今回は一週間分の飲用水を確保することができたが、次の災害時でも同様とは限らない。普段からの備蓄、事前準備が大切であると痛感した。

対策として今年度から当施設に導入された限外ろ過式給水装置(ミクニキカイ(株)/UFPK-3050)および薬液(ピューラックス)添加装置(CPPK-0030)より、残留塩素濃度 3ppm に調整したろ過水を容量約 7L の白色ポリ容器に充満させ保管することとした。それらの保管方法による残留塩素濃度の減少傾向について比較検討した。

### 【実験 1】

残留塩素濃度は日光(紫外線)や温度等の環境要因の影響を受けることが知られていることから、施設内における適切な保管場所を以下の 4 条件で比較検討した。

- ①日光の影響がない冷暗所(約 10℃、湿度 91%)
- ②日光の影響がない暗所(約 21℃、湿度 67%)
- ③日光の影響がない室内(約 23℃、湿度 59%)
- ④日光が当たる窓際(約 25℃、湿度 43%)

いずれも空調により室内温度を管理されている場所である。

測定には、残留塩素計(ハンナ・インスツルメンツ・ジャパン(株)/HI95711 型)を用いて、上記ポリ容器に 7L 注水したものを 3 検体用意し、各場所へ配置、週 1 回の測定を 6 週に亘って行った。

### 【結果】

残留塩素は紫外線により分解が促進されるが、この測定結果はそれを実証した形となった。①の冷暗所が残留塩素濃度が最も高く、次いで②、③、④の順に減少していた。④は 2 週目で測定限界以下となった。

### 【実験 2】

震災時には、停電等による空調停止の恐れもあるため必ずしも冷暗所が確保できるとは限らない。そのため、日光の当たる窓際という条件下で、圧布で被覆し日光を遮断した場合の効果について追加検討した。2L の透明ペットボトルを用いて被覆群(3 本)と非被覆群(3 本)の残留塩素濃度を測定した。その結果、前記実験 1 の場合と類似の結果を確認できた。

以上のことから、日光を遮断できる環境であれば残留塩素濃度を相当期間維持することを知り得た。保管場所としては室内でも十分であることが示唆された。そのため、現在実験動物用飲用水の備蓄には、容器を圧布で覆い室内保管とし、容器数 35 個、計 245L の水を、4 週ごとに交換することとしている。

## 秋田大学における SPF マウス飼育エリア (A) の飼育環境改善の取組みと工夫

○戸井田 和実<sup>1</sup>、池田 たま子<sup>1</sup>、二部 恒美<sup>1</sup>、鈴木 美帆子<sup>1</sup>、佐藤 正義<sup>1</sup>、小畑 孝弘<sup>1</sup>、九島 秀美<sup>1</sup>、  
川越 政美<sup>1</sup>、助川 康子<sup>1</sup>、池田 勝久<sup>1</sup>、柴田 淑子<sup>1</sup>、津谷 優子<sup>2</sup>、松田 幸久<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>秋田大学バイオサイエンス教育・研究センター動物実験部門、<sup>2</sup>(株) ジェー・エー・シー)

近年、遺伝子改変・胚操作技術の向上により、様々な遺伝子改変マウスが、数多く作製されている。それに伴い、当施設でも、国内外の動物施設からの動物搬入の希望は多くなってきた。さらに、搬入される動物は、SPF 区域での飼育を希望する事が多く、SPF 区域における「防疫」の重要性が増している。

当施設では、搬入された動物を検疫した後、検査結果により、2箇所 (A/B) の SPF 飼育領域 (マウス・ラット) に分けて飼育している。SPF-B 領域では、“SPF に準拠した動物の飼育”を行い、SPF-A では、“易感染性動物の飼育”を行っている。それ故、SPF-B よりも、SPF-A の方が、清浄度は高い。この様に、飼育区域を分け清浄度を上げても、両区域共に、時々、蟻虫感染が発生している。その対策として、今年春から、当施設の“SPF-A 領域”において、飼育担当職員の作業の効率化・作業動線の見直し・飼育担当職員の意識レベルを高める取り組みを行ってきたので報告したい。今後は、この勉強会での意見を取り入れた改善を行い、さらに研究者等の利用者への啓蒙を行っていく事を考えている。

## 動物実験に倫理的思考を取り入れると飼育管理が変わる -看護的飼育管理の紹介-

末田輝子

(東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設)

20 世紀末から 21 世紀にかけて、社会、環境、医療、倫理が大きく変わろうとしています。それは時代の波とともにゆっくりではありますが、とても大きな意義をもって私達の「あり方」を変えることになるでしょう。その一つに動物実験倫理があります。倫理という言葉は古来よりありましたが、私達にとって新しい課題でもあります。倫理はヒトの踏むべき道や道徳の規範となる原理をいいますが、私達技術者が日常の業務の中に「倫理的思考」を取り入れることで、飼育管理の質が大きく変わるように思います。倫理とは「こうあるべき」とか「あれをしてはいけないとか、あれはダメ」とかいったネガティブなイメージがありますが、よりよい動物実験のあり方を考えていくことも「動物実験倫理」の一つだと思うからです。法律に 3R が明文化されたことも、そうした動きの一つでしょう。

研究者と実験動物の世話をする技術者では、実験動物との関係性も異なります。ですから、飼育管理をする者に求められる倫理は、実験動物の QOL をより良いものにするにあるのではないのでしょうか。私は、その取り組みを「看護的飼育管理」と名付けました。「看護」という言葉は、その意味に多様性があり、一様に定義できるとは言い難いですが、実験動物福祉にとって重要な意味があることは疑いがないでしょう。技術者の役割を、「看護」をもって明示することに批判もありますが、筆者は「看護」が実験動物にとって不要であるとは考えません。むしろ実験動物福祉の本質がそこにあると捉えています。

本発表では、看護的飼育管理の実践として、イヌとブタの馴化および術後管理についてご紹介させていただきます。

## ICR と C57BL/6 の性周期の検討

○白濱育美、葛西律子、今井信子、馬場秀明、成田浩司、中根明夫  
(弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設)

**【目的】** マウスの性成熟は、雄が 30~40 日齢、雌が 20~30 日齢。雌は周年繁殖で自然排卵を行うことが知られている。交尾刺激がない場合、排卵後形成された黄体がプロゲステロン分泌能を欠くため、副生殖器に変化は起こらない（不完全性周期）。ラットの性周期は規則正しく 4~5 日周期を繰り返すが、マウスはラットほど規則正しくなく、また、雌を群飼すると性周期は極めて不規則になると言われている。

当施設では凍結胚の移植実験の過程で受容雌を探す時、雌マウスの膣垢を採取する方法で性周期の判別をしている。そこで今回我々はその方法を用い、マウスの性周期がどのくらいの期間で繰り返されるのか、異なる系統のマウスで性周期に差異があるのかを調べた。

**【材料と方法】** 使用した系統は ICR（9 週令）、C57BL/6（8 週令）で、雌を各系統毎に 3~5 匹ずつ群飼した。飼養環境は 12 時間明・12 時間暗とし、飼料と水は自由摂取とした。観察は滅菌蒸留水 80 $\mu$ l で膣内を洗浄して膣垢を採取し、スライドガラスに滴下する方法で膣垢像の観察を行った。膣垢は 24 時間の自然乾燥後、ギムザ染色液で染色して鏡検した。

**【結果と考察】** ICR マウスは、一周期平均が 6.64 日、発情前期平均が 0.92 日、発情期平均が 2.50 日、発情後期平均が 1.75 日、休止期平均が 0.92 日となり、ラットのように規則正しいとは言えない結果となった。現在計測の完了している ICR 3 匹を個別に見ても、一周期の平均が 5 日・8.5 日・6.5 日と、性周期の現れ方にも個体差があった。また、性周期が長引く場合、各ステージの中で発情期が長く現れる傾向が多く見られた。C57BL/6 は長く発情期が続く等、性周期が見られなかったが、雄の床敷材を添加したところ、性周期が見られるようになった。このことから、C57BL/6 は雄の匂いによって性周期が誘発される可能性が示唆される。現在、この点についての追加観察中であり、また、ICR においても雄の床敷材を添加した場合の性周期を観察中である。



## テレメトリーによるマウスの体温および自発活動の長期観察 —B6 と ICR の比較—

○若井 淳、片平清昭

(福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設)

### 【背景・目的】

テレメトリーシステムはあらかじめ動物の体内に送信器を埋め込むことにより無麻酔・無拘束で体温や自発活動量、血圧などの連続測定を可能とする実験系である。この実験系の利点としては、麻酔や拘束ストレスによる影響を除外でき、通常の飼育ケージにおいて生理パラメータが取得できることである。本研究では雌マウスの交配前（定常状態）から妊娠中、出産前後、授乳中そして離乳後にかけての体温および自発活動量の3ヵ月に及ぶ連続測定を行なった。また、ICRとC57BL/6J(B6)の系統間でそれらに差があるかどうかを検討した。

### 【結果】

定常状態におけるマウスの体温および自発活動量は明期に低く（ICR-1：37.1℃・4.3counts/10min、ICR-2：36.7℃・2.8counts/10min、B6-1：36.6℃・3.0counts/10min、B6-2：36.7℃・3.7counts/10min）、暗期に上昇（ICR-1：37.8℃・9.2counts/10min、ICR-2：37.6℃・5.7counts/10min、B6-1：37.8℃・25.0counts/10min、B6-2：37.5℃・8.8counts/10min）することが分かった。妊娠中は体温が明期(ICR-1：37.7℃、ICR-2：37.6℃、B6-1：37.5℃、B6-2：37.6℃)においても暗期(ICR-1：37.7℃、ICR-2：37.7℃、B6-1：37.9℃、B6-2：37.8℃)と変わらない値に上昇することが明らかとなった。さらに授乳中(ICR-1：38.0℃、ICR-2：38.1℃、B6-1：37.9℃、B6-2：37.9℃)は妊娠中と比較して体温が高い傾向にあった。出産前後の変化に注目して解析を行ったところ、出産直前に自発活動は減少し、一時的な体温の低下（1–2℃）が観察された。離乳後は速やかに定常状態の体温および自発活動量に近い値を示した。

### 【考察】

今回の結果から、同一個体における交配から離乳後までの体温および自発活動の変化が明らかになった。妊娠中の体温上昇は他の動物と同様に黄体ホルモン（プロゲステロン）の上昇によるものと考えられる。出産直前の自発活動量の低下は出産に備えるためのものであり、出産時の体温低下の理由としては、自発活動量減少、プロゲステロンの急激な低下、出産に伴う痛みに起因する神経性要因や熱放散等が考えられる。B6は定常状態においてICRより暗期の自発活動量が高い傾向が観察された。今後は例数を増やし、さらなる詳細の検討を行いたい。

## インフルエンザ感染症治療におけるポリオキソメタレートと Ribavirin の相乗効果の解析

### — インフルエンザ感染マウスモデルに観察された NO 誘導を中心に —

○森 修一<sup>1</sup>、錫谷達夫<sup>2</sup>、山瀬利博<sup>3</sup>、茂田士郎<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>国立感染症研究所感染制御部、<sup>2</sup>福島県立医科大学微生物学講座、<sup>3</sup>東京工業大学)

#### 【目的】

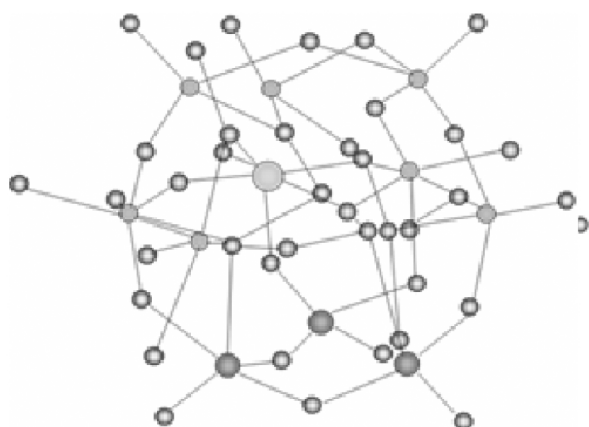
遷移金属元素を核とする高分子化合物であるポリオクソメタレートと核酸誘導体である Ribavirin に *In Vitro*, *In Vivo* においてインフルエンザウイルス増殖に対し、非常に高い相乗効果が観察されるが、その作用機序は不明であった。本研究では NO とウイルス感染症全般の抑制の関係に注目し、NO の測定、NO 誘導に関わるサイトカインなどの測定などによってその作用機序を明らかにすることを目的とする。

#### 【方法】

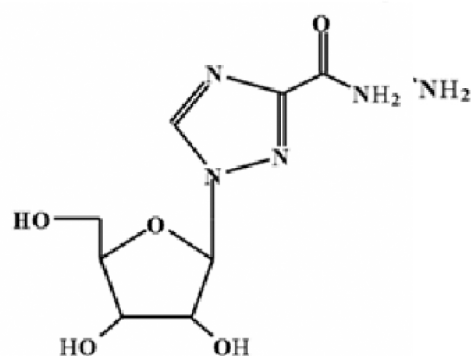
マウス適合インフルエンザウイルス(A/PR8/H1N1)を用いたマウスモデルを作成し、定量吸入暴露装置で薬剤の噴霧吸入を行い、生存率、生存日数を指標としてポリオクソメタレートである PM523 ([PriNH<sub>3</sub>]<sub>6</sub>H[PTi<sub>2</sub>W<sub>10</sub>O<sub>38</sub>(O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O) と Ribavirin の単独の治療効果、相乗的治療効果を検討し、最も高い相乗効果を示した混合割合において、マウスの肺内の IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、NO の測定を行った。また、同様に組織培養を用いて相乗効果を Median-Effect 法で測定し、その相乗効果が *In Vivo* のみならず *In Vitro* でも観察されるのかを確認した。

#### 【結果】

*In Vivo* では PM523 2.4mM+Ribavirin 40mM の混合比率で生存率、生存日数が劇的に改善され、最大の相乗効果が確認された。本条件下で肺内のインフルエンザウイルス量は未治療群に比較し約 2500 分の 1 に低下したが、各薬剤単独では約 100 分の 1 であった。また肺内の IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、NO の測定からは NO は未治療群、各薬剤単独群に比較し感染早期に高い濃度で誘導がおこなわれていた。また、本相乗効果は *In Vitro* にも観察され、*In Vivo* 特有の現象では無いことも明らかとなった。



PM 523



Ribavirin

## マウス肝炎ウイルス迅速検出法としての RT-LAMP 法の開発

○花木賢一<sup>1</sup>、池郁生<sup>2</sup>、平野紀夫<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>岩手医科大学・医歯薬総合研究所・実験動物医学研究部門、<sup>2</sup>理化学研究所・バイオリソースセンター・実験動物開発室、<sup>3</sup>岩手大学・農学部・獣医学課程・獣医微生物学研究室)

**【目的】** マウス肝炎ウイルス (MHV) は、日本実験動物協会/ICLAS モニタリングセンターによる微生物カテゴリーの B に分類されるマウスの衛生管理上重要な病原微生物である。今日、MHV の検査は血清学的方法が一般的であるが、感染初期動物や感染免疫不全動物の摘発には適さない。そのため、遺伝子検出法の一つである Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法によるウイルス RNA の検出が採用される場合がある。しかし、RT-PCR 法は操作が煩雑で時間を要するという欠点がある。そこで、本研究では新しい遺伝子検出法の一つである Reverse Transcription-loop-mediated isothermal AMPlification (RT-LAMP) 法による MHV の検出について検討を行った。

**【方法】** プライマーは MHV 株間で保存されている 5' 末端領域で設計した。ゲノム RNA は 17 株の MHV 培養上清よりハイピュアウイルス RNA キット (日本ロシュ) を用いて抽出した。遺伝子増幅の有無は、Mg<sup>+</sup>イオン濃度により色調が変化するヒドロキシナフトールブルーを反応指示薬とする目視判定で行った。

**【結果】** MHV は RNA ウイルスであるため、株間での遺伝子変異が多い。そのため、選定したプライマーセットの中で F3 プライマー配列において、株によってはミスマッチが生じた。また、遺伝子増幅反応を亢進する loop プライマーの内、LF プライマーは設計できなかった。5 つのプライマーを用いて RT-LAMP 法を行った結果、対象とした 17 株の MHV すべてが 63°C1 時間で検出された。しかし、ラットコロナウイルス (RCV) と唾液腺涙腺炎ウイルス (SDAV) もまた陽性となった。検出感度は反応組成を改良することにより、RT-PCR 法の 100 倍 (所要時間 約 2 時間)、nested RT-PCR 法 (所要時間 約 4 時間) と同等となった。

**【考察】** MHV と RCV, SDAV とは遺伝学的に相同性が高く、血清学的にも交差する。そして、本 RT-LAMP 法は N 蛋白をコードする領域を標的とする RT-PCR 法同様に MHV と RCV, SDAV との区別ができなかった。結論として、本 RT-LAMP 法は MHV 感染の確定診断には応用できないが、迅速診断には非常に有用と考える。今後は、マウス糞便懸濁液から直接 MHV を検査する技術について検討を行っていく。

## *Pasteurella pneumotropica* 汚染の対応と今後の感染防止対策について

○伊藤恒賢<sup>1</sup>、尾崎順子<sup>1</sup>、本間貞明<sup>1</sup>、関敬之<sup>1,2</sup>、江原彩歌<sup>1,2</sup>、長橋 武<sup>1</sup>、鈴木浩美<sup>1</sup>、加藤みなみ<sup>1,2</sup>、山崎祥子<sup>1,2</sup>、須藤まゆみ<sup>1</sup>、福田直樹<sup>1</sup>、大和田一雄<sup>1,3</sup>、藤井順逸<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>山形大学医学部附属動物実験施設、<sup>2</sup>(株)ジェー・エー・シー、<sup>3</sup>(独)産業技術総合研究所)

【背景と目的】平成 23 年 1 月に山形大学医学部附属動物実験施設の飼育室のマウス 1 匹から肺パストレラ菌 (*Pasteurella pneumotropica*) が検出された。その後に行った動物の抜き取り生体検査によって飼育室の約半数に感染動物が確認された。そこで感染が認められた飼育室で維持されているマウスの全ての系統をクリーニングするとともに、感染の原因、感染経路並びに今後の感染防止対策について検討した。

【感染の発覚と対応】本菌の感染が初めて発覚した直後にマウス・ラットの全飼育室について生体からの抜き取り検査 (10 匹以上/飼育室) を行ったところ、6/16 飼育室 (38/226 個体) に陽性個体が認められた。直ちに実験の継続が可能なように動物の維持とクリーニングの両方を行うこととし、実験者には陽性飼育室のマウスの縮小化、他飼育室への移動、クリーニングのためのドナー供与について了解を得た。陽性動物は淘汰または陽性飼育室に封じ込めた。動物不在となった陽性飼育室は水洗浄とエクスポアを用いた消毒で順次清浄化を継続した。現在まで清浄化した飼育室には陽性個体は検出されていない。

【感染マウスのクリーニング】SPF および準 SPF エリアの飼育室を対象に、マウス 33 系統 (ドナー) について帝王切開法および胎仔が得られない場合は受精卵移植法を用いてクリーニングを行った。帝王切開時の仮親には Jcl:ICR を用いた。仮親の交配は月・火・水に、ドナーの交配は 2 日後の水・木・金の夕方に、それぞれ同系統の雄マウスと同居することにより行い、翌朝の Plug 確認と同居 7 日目の触診による妊娠診断を行った。ドナーは 1 系統当たり 3 腹を目標に実験者から譲渡され、この交配シリーズを 6 回行った。ドナーに対し妊娠 19 日目の午前 10 時から帝王切開を行った。蘇生後の摘出胎仔は仮親 1 匹に対し実仔 3 匹と共に哺育させた。実仔は哺育開始 3 日後に除去した。クリーニングに用いたマウスは仮親が 93 匹、ドナーが 33 系統 107 匹であった。ドナー 107 匹のうち、帝王切開開始までに 2 匹が既に分娩していた。帝王切開したドナー 105 匹の子宮内胎仔数は 801 匹 (平均 7.63 匹)、そのうち正常に蘇生した乳仔は 684 匹 (蘇生率 85.4%) であり、離乳できた乳仔は 330 匹 (里仔成功率 48.2%) であった。33 系統のうち 30 系統は帝王切開が成功したが、残りの 3 系統は受精卵移植法により産仔を得た (3 系統 15 匹)。仮親は当施設の微生物検査項目を、また里仔は *Pasteurella pneumotropica* の全頭生体検査を行い、全ての動物が陰性であった。

【感染源と経路】感染源の特定は困難だが、実験者 (実験器具) からの感染菌の持ち込みとブリーダー以外の搬入動物からの感染菌の持ち込みの 2 点が考えられた。後者は 4 週間の検疫後に 2 匹だけを自家検査 (2 週間) し、陰性の場合には分与された全ての動物がそのまま搬入されてしまう。実際に 4 動物 2 匹の一般検査で陰性であったにもかかわらず、残りの動物を生体検査したところ 3/9 の陽性個体を検出した事例があった。

【感染拡大の要因と今後の感染防止対策】生体抜き取り検査で 6 部屋に同時に感染が認められたことから、本菌は既に潜伏していたと推測され、定期モニタリングにおける 4 動物に本菌がキッチンと反映されていない事が判明した。今後我々は、実験者に対し手指や持ち込み材料の消毒を徹底するように喚起すること、ブリーダー以外の動物を搬入する場合は、2 匹の一般検査に加え、搬入する全ての動物にパストレラの生体抜き取り検査を行うこと、および定期微生物モニタリングにおいては 4 動物を用いた通常検査に加え、実際に飼育されている動物 (10 匹以上/飼育室) の生体検査を行うこととした。