

第 24 回東北動物実験研究会

プログラム・抄録集

期 日 平成 25 年 12 月 6 日(金)

会 場 弘前文化センター



主 催 東北動物実験研究会

共 催 公益社団法人 日本実験動物学会

日本実験動物技術者協会 奥羽・東北支部

主 管 弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設

第 24 回東北動物実験研究会プログラム

日 時：平成 25 年 12 月 6 日（金）10：30～17：55（受付 10：00～）

場 所：弘前文化センター 2 階 中会議室（弘前市下白銀町 19-4）

開会挨拶

10：30～10：40

大和田一雄 先生（東北動物実験研究会 会長）

中根 明夫 先生（弘前大学理事・副学長、大学院医学研究科感染生体防御学講座 教授）

東北地区若手研究者研究フォーラム（1）

10：40～12：00

座長 大和田一雄 先生（山形大学医学部附属動物実験施設）

成田 浩司 先生（弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設）

若手研究者研究フォーラム開催にあたって

成田 浩司 先生（弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設）

1. 無毒変異 TSST-1 免疫により誘導される IL-17A バイスタンダー効果による黄色ブドウ球菌感染防御機構

成田 浩司 先生（弘前大学大学院医学研究科感染生体防御学講座、附属動物実験施設）

2. ～麻布大学大学院在学中における修士論文研究～

EL 系統に由来する痙攣発作感受性 QTL を導入したコンジェニック系統の形質解析

場崎 恵太 先生（麻布大学動物工学研究室、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）

3. 神経障害性疼痛発症時に生じる脊髄内での機能的変化

右田 啓介 先生（弘前大学大学院医学研究科脳神経生理学講座）

4. Gata2 発現低下による単球性白血病の発症メカニズムの解析

原田 伸彦 先生（東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設）

役員会（2 階 第 1 会議室）

《 昼 食 》

12：00～13：10

東北地区若手研究者研究フォーラム（2）

13：10～13：50

座長 大和田一雄 先生（山形大学医学部附属動物実験施設）

成田 浩司 先生（弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設）

5. 食後高トリグリセリド血症ウサギにおける脂質代謝関連遺伝子の発現の特徴

福田 直樹 先生（山形大学医学部附属動物実験施設）

6. イメージング装置やテレメトリーシステム等新しい機器を用いた実験動物の生体现象の解明

若井 淳 先生（福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設）

《 休 憩 》

13：50～14：00

特別講演

14 : 00~15 : 00

マウス臍帯血移植モデルを用いた免疫系再構築に関する研究

伊藤 巧一 先生 (弘前大学大学院保健学研究科医療生命科学領域生体機能科学分野 教授)

座長 上野 伸哉 先生

(弘前大学大学院医学研究科附属動物実験施設 施設長、脳神経生理学講座 教授)

《 休 憩 》

15 : 00~15 : 15

動物実験教育訓練セミナー (共催 : 公益社団法人 日本実験動物学会)

15 : 15~17 : 15

—動物実験と動物福祉—

1. 人道的な動物実験技術の 3R 原理 : Russell と Burch が述べたこと

笠井 憲雪 先生 (東北大学動物実験センター/医学系研究科附属動物実験施設)

2. 動物実験の法規制と透明性に関する諸外国の現状

池田 卓也 先生 (公益社団法人日本実験動物学会 動物福祉・倫理委員会)

3. 動物実験における Refinement の実践 : 実験動物の今日的麻酔法と安楽死法の課題

黒澤 努 先生 (元大阪大学医学部)

《 休 憩 》

17 : 15~17 : 20

総 会

17 : 20~17 : 50

閉会挨拶

17 : 50~17 : 55

成田 浩司 先生 (第 24 回東北動物実験研究会 会長)

懇親会 (東北動物実験研究会、日本実験動物技術者協会 奥羽・東北支部合同) 18 : 45~20 : 45

会 場 : 舶来酒場 わいん食堂 (弘前市百石町 9 サンクビル 2F TEL 0172-31-3317)

会 費 : 3,000 円

東北地区若手研究者研究フォーラム

1. 無毒変異 TSST-1 免疫により誘導される IL-17A バイスタンダー効果による黄色ブドウ球菌感染防御機構

成田 浩司 先生 (弘前大学大学院医学研究科感染生体防御学講座、附属動物実験施設)

2. ～麻布大学大学院在学中における修士論文研究～

EL 系統に由来する痙攣発作感受性 QTL を導入したコンジェニック系統の形質解析

場崎 恵太 先生 (麻布大学動物工学研究室、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)

3. 神経障害性疼痛発症時に生じる脊髄内での機能的変化

右田 啓介 先生 (弘前大学大学院医学研究科脳神経生理学講座)

4. Gata2 発現低下による単球性白血病の発症メカニズムの解析

原田 伸彦 先生 (東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設)

5. 食後高トリグリセリド血症ウサギにおける脂質代謝関連遺伝子の発現の特徴

福田 直樹 先生 (山形大学医学部附属動物実験施設)

6. イメージング装置やテレメトリーシステム等新しい機器を用いた実験動物の生体現象の解明

若井 淳 先生 (福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設)

無毒変異 TSST-1 免疫により誘導される IL-17A バイスタンダー効果による 黄色ブドウ球菌感染防御機構

成田 浩司^{1,2}、胡 東良^{1,3}、浅野 クリスマ¹、中根 明夫¹

¹ 弘前大学大学院医学研究科感染生体防御学講座、² 附属動物実験施設、

³ 北里大学獣医学部獣医学科人獣共通感染症学研究室

Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) は *Staphylococcus aureus* の産生する外毒素の 1 種である。TSST-1 はスーパーであり、抗原提示細胞の MHC Class II 分子と T 細胞受容体をクロスリンクし、大量の炎症性サイトカイン産生を誘導してショックを引き起こす。我々は無毒変異 TSST-1 (mTSST-1) を作製し、mTSST-1 でマウスを免疫後 *S. aureus* を感染させたところ、非免疫群マウスに比べ臓器中の生菌数が減少し、mTSST-1 免疫は感染防御効果があることを報告した。しかし、その防御効果の機序に関しては十分に明らかにされてはいない。本研究では感染病巣部位への好中球の浸潤を促進し、*S. aureus* 感染防御に関与することが報告されているサイトカイン、IL-17A に焦点をあて、mTSST-1 免疫の感染防御効果の機序を検討した。

野生型マウス (WT マウス) を mTSST-1 で免疫し、脾細胞中のヘルパー T 細胞のサブセットを調べたところ Th17 細胞が増加していた。最終免疫 1 週間後の WT マウスに *S. aureus* 834 株を感染させた場合、生存率は上昇し、臓器中の生菌数は減少していたが、免疫群 IL-17AKO マウスでは感染防御効果は見られなかった。免疫群 WT マウスでは *S. aureus* 834 株感染後、脾臓、肝臓の IL-17A、好中球やマクロファージの遊走に関与するケモカイン mRNA の発現が増加し、好中球、マクロファージの病変部位への浸潤が増加していた。

mTSST-1 特異的 Th17 細胞による IL-17A 産生は抗原特異的であるが、IL-17A により病巣部に浸潤した好中球などによる菌の貪食は抗原特異性とは無関係に進行する。そこで、免疫群 WT マウスを mTSST-1 で刺激後 *Listeria monocytogenes*、*Candida albicans* を感染させたところ、非免疫群 WT マウスと比べ臓器中の生菌数は減少していたことから、mTSST-1 免疫によって誘導された Th17 は IL-17A 依存性に *S. aureus* のみならず、*L. monocytogenes*、*C. albicans* に対しても感染防御効果を示し、バイスタンダー感染防御効果を示すことが示唆された。

一方、最終免疫 12 週間後のマウスに *S. aureus*、*L. monocytogenes*、*C. albicans* を感染させたところ、免疫群と非免疫群で臓器中の生菌数に差はなかった。Th17 は長期の時間経過に伴い IL-17A 産生能の欠如や、IFN- γ 産生細胞への変化など、その可塑性が報告されている。最終免疫 12 週間後のマウスの脾細胞を mTSST-1 で刺激したところ、IL-17A 産生は低下し、抑制性サイトカインである IL-10 産生が上昇していた。IL-10 は Th17 細胞の IL-17A 産生を抑制することが知られているため、免疫群マウスに抗 IL-10 mAb を投与後、*S. aureus*、*L. monocytogenes*、*C. albicans* を感染させたところ、非免疫群と比べ臓器中の生菌数が減少したことから、mTSST-1 特異的 Th17 細胞は IL-10 産生細胞へと変化し、IL-10 はオートクライン的に Th17 細胞に作用し、IL-17A 産生を抑制することが示唆された。

～麻布大学大学院在学中における修士論文研究～

EL 系統に由来する痙攣発作感受性 QTL を導入したコンジェニック系統の形質解析

場崎 恵太^{1,2}、渡辺 夏奈^{1,3}、滝沢 達也¹、田中 和明¹

¹麻布大学動物工学研究室、²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、

³株医療システム研究所 CRC

【背景及び目的】

マウス EL 系統は、痙攣発作を自然発症するてんかんのモデル動物である。EL 系統の痙攣発作感受性形質は、複数の QTL により支配される多因子性の遺伝様式をとる。このうち主要な QTL として、2 番染色体上に *E12*、9 番染色体上に *E14* がマップされている(Rise *et al.*,1991, Frankel *et al.*,1995a)。我々は、EL 系統由来の 9 番染色体上の *E14* を含むゲノム領域 D9Mit89(29.2Mbp)~D9Mit243(113.2Mbp)を C57BL/6J(B6)系統に導入した B6.EL-*E14* ならびに、2 番染色体上の *E12* を含むゲノム領域 D2Mit365(27.8Mbp) ~D2Mit266(181.6Mbp)を対象としたコンジェニック系統をそれぞれ樹立し、表現型の解析を行った。

【方法】

コンジェニック系統の作出は、標準法に基づき EL 系統を B6 系統に N10 世代以上戻し交配および選抜を行うことで、3 つの系統の樹立に至った。すなわち、2 番染色体上 D2Mit365(27.6Mbp)~D2Mit280(145.9Mbp) 区間を保有する B6.EL-*E12pro* および D2Mit156(56.9Mbp)~D2Mit266(181.6Mbp)区間を保有する B6.EL-*E12dis*、そして 9 番染色体上 D9Mit89(29.2Mbp)~D9Mit243(113.2Mbp)区間を保有する B6.EL-*E14* である。樹立したコンジェニック系統の発作感受性評価を行うため、4~19 週齢までの期間に 1 セット当たり、20 回の抛り上げ刺激を 3 から 4 日毎に合計 30 セット与え、刺激を負荷してから 10 分間行動観察し、**スコア 0**(変化なし)、**1**(鳴く)、**2**(頭部もしくは体の震え、尾の硬直)、**3**(前肢クローヌス、挙尾)、**4**(強直間代性けいれん)の 5 段階で評価した。

【結果】

B6.EL-*E12pro* は雄 90%(9/10 匹)、雌 50%(5/10 匹)、B6.EL-*E12dis* は雄 17.4%(3/17 匹)、雌 37.5%(3/8 匹)が、30 セット中少なくとも 1 度は強直間代性痙攣(大発作)を起こした。また B6.EL-*E14* で大発作を起した割合は、雄 64%(7/11 匹)、雌 37.5%(3/8 匹)であった。他方、B6(雄 9 匹、雌 7 匹)では、同条件で大発作を起こした個体はいなかった。これらのことから、本研究で対象とした EL 由来のゲノム領域には、それぞれ B6 に対して発作感受性を高める効果のある遺伝子が内在することが示された。さらに、B6.EL-*E12pro* と B6.EL-*E12dis* の間で、雄の発作経験個体の割合が有意($p<0.01$)に異なったことから、2 番染色体 27.6~181.6Mbp の区間には、痙攣発作感受性を高める遺伝子が互いに離れた場所に少なくとも 2 個存在することが示唆された。

神経障害性疼痛発症時に生じる脊髄内での機能的変化

右田 啓介、山田 順子、二階堂 義和、上野 伸哉
弘前大学大学院医学研究科脳神経生理学講座

糖尿病、ガンあるいは神経損傷が原因で生じる神経障害性疼痛は、現在使用されている鎮痛薬の効果が低く、難治性であり、早急に治療効果の高い新薬の開発が必要とされている。痛覚情報伝導路には、脊髄から大脳皮質への入力経路や視索前野から脊髄への下行性疼痛抑制系が知られており、ATP が結合する P2X 受容体 (P2X1-P2X7) を含む多くの興奮性あるいは抑制性受容体が関与している。神経障害性疼痛では、痛覚伝導路における神経線維の脱落や受容体の発現量の変化あるいはリン酸化の変化により、神経障害性疼痛の主症状であるアロディニア (異痛症) が生じている。

本研究では、ストレプトゾトシン誘発糖尿病モデル (STZ) マウスと坐骨神経部分結紮モデル (PSNL) マウスを疼痛モデル動物に用いて、両モデルマウスの後根神経節および脊髄における P2X 受容体の機能的変化について検討を行った。STZ マウスの後根神経節では、P2X2 および P2X3 受容体 mRNA の発現増加が見られた。また、STZ マウスの髄腔内に P2X2 および P2X3 受容体拮抗薬を投与すると、疼痛反応に対する抑制効果が観察された。一方、PSNL マウスの後根神経節においても P2X2 および P2X3 受容体 mRNA の発現増加が見られ、その受容体拮抗薬の髄腔内投与により疼痛反応は抑制された。さらに、PSNL マウスの脊髄では、坐骨神経結紮側においてミクログリアの顕著な増加が見られたが、神経細胞には変化は見られなかった。STZ マウスの脊髄では、グリア細胞の増加は確認できなかった。そこで、ミクログリア活性を抑制することが知られているミノサイクリンを結紮前に投与した結果、ミクログリアの増加およびアロディニアが抑制された。疼痛発症後のミノサイクリン投与では、ミクログリアの増加および疼痛の抑制効果は得られなかった。

以上のことから、疼痛発症には、後根神経節の P2X2 や P2X3 受容体が深く関与しており、坐骨神経部分結紮による疼痛と糖尿病による疼痛の発症メカニズムは異なることが示唆された。また、神経損傷による疼痛には脊髄内のミクログリアの発現増加が鍵となっており、今後は、神経損傷後の処置によりミクログリアの発現を抑制する方法を見出すことが必要となるであろう。

Gata2 発現低下による単球性白血病の発症メカニズムの解析

原田 伸彦¹、村田 典子²、清水 律子^{1,3}

¹東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設、²東北大学大学院医学系研究科医化学分野、

³東北大学大学院医学系研究科分子血液学分野

造血は常に動的な状態にあり血液細胞は常に産生と破壊を繰り返しながら全体としての血球数は定常状態に保たれている。造血は階層性を持ち秩序立って行なわれており、その頂点である自己複製能および多能性を持つ造血幹細胞から始まり造血前駆細胞を経て各成熟血球まで分化する。この分化の方向性の調節に遺伝子発現調節を行なう転写因子群が重要と考えられている。一方で、造血調節機構が破綻している状態である造血器腫瘍では、遺伝子変異などによりこれらの転写因子の機能が変調を来していることが多いことが知られている。

GATA 転写因子群は、グロビン遺伝子転写調節領域に存在する GATA 配列に結合する転写因子として発見され、これまでに脊椎動物では GATA1~6 まで存在することが明らかになっている。なかでも GATA1~3 は相同性が高く、GATA1 は血球系細胞で、GATA2 および GATA3 は血球系細胞ならびに神経系細胞で主に発現している。GATA2 は造血幹・前駆細胞で発現が高く、これらの血球細胞の維持、増殖または分化に必須な転写因子として考えられている。GATA2 ノックアウトマウスは胎生期に造血不全による貧血により死亡することが報告されている。近年の分子生物学的研究の進歩により、実際の造血器腫瘍患者の血液細胞を網羅的に解析することが可能となり、様々な遺伝子に変異があることが分かってきた。なかでも転写因子 GATA2 の遺伝子に家族性の変異があることが急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群などの患者の血液細胞からみつかった。しかしながら、GATA2 遺伝子変異とこれらの病態との関係性についての分子メカニズムは明らかにされていない。これまでに単球増多を示す急性骨髄性白血病 (FAB 分類 ; M5) および若齢性骨髄単球性白血病の患者の血液細胞で GATA2 が発現低下していることが報告されている。我々が作製した *Gata2* ノックダウンマウスは骨髄細胞で *Gata2* が野生型の 20%程度の発現まで低下しているのに加え単球増多を呈する。この病態モデルマウスを用いることで GATA2 の発現低下による単球性白血病の発症メカニズムを解明し、GATA2 遺伝子変異と白血球系疾患の関係性の一端を個体レベルで明らかにすることができると考え解析を行なっている。

食後高トリグリセリド血症ウサギにおける脂質代謝関連遺伝子の発現の特徴

福田 直樹^{1,2}、伊藤 恒賢¹、大和田 一雄¹、藤井 順逸²

¹山形大学医学部附属動物実験施設、²山形大学大学院医学系研究科生化学・分子生物学講座

近年、脳血管疾患・心疾患の危険因子として、メタボリックシンドロームが注目されている。山形大学医学部附属動物実験施設で開発された食後高トリグリセリド血症（PHT）ウサギは、食後にのみ高トリグリセリド血症を呈し、ヒトのメタボリックシンドロームのモデル動物として研究が進められてきた。しかし、その病態発症の原因は未だ明らかになっていない。本研究では、PHT ウサギの脂質代謝異常に関わる原因遺伝子を明らかにすることを目的とし、関与が考えられる 11 種類の脂質代謝関連遺伝子について、それぞれの mRNA の発現を定量的 PCR により測定し、PHT ウサギと正常対照群の間で比較した。

PHT ウサギは対照と比較して、小腸における脂質の吸収に関わる CD36 mRNA と NPC1L1 mRNA は、PHT ウサギで高値を示す傾向が見られた。脂質合成過程に関わる SREBP-1 mRNA の発現は絶食時に、脂肪酸合成酵素（FAS） mRNA の発現は食後に、それぞれ有意に高値を示した。脂質輸送に関わる遺伝子の mRNA 発現は対照と有意な差を認めなかったが、脂質分解に関わる肝性リパーゼ（HTGL） mRNA の発現は、絶食時と食後の両条件で有意に低下していた。脂質取り込みに関わる LDL 受容体 mRNA の発現は食後に増加した。以上の結果から、PHT ウサギにおける食後高トリグリセリド血症の発症に HTGL が重要な役割を担っていることが示唆されたため、これについて、さらに検討した。血液中の HTGL 活性を測定したところ、PHT ウサギでは対照と比較して有意に低値を示した。また PHT ウサギにおける HTGL 遺伝子の全エクソン領域と、プロモーターを含む 5' 上流領域の 2 kb を対照と比較した結果、HTGL の第 5 エクソン領域に 1 塩基置換を見出したが、アミノ酸置換を伴わない変異であった。5' 上流領域については、両系統間で塩基配列に違いは認められなかった。

今回の一連の実験により、FAS mRNA の発現増加と、HTGL mRNA の発現低下が明らかとなり、また HTGL は、その活性も低下していた。このことから、トリグリセリドの合成の増加と分解の低下が、PHT ウサギにおける食後高トリグリセリド血症の主な原因として考えられた。今後、今回得られた結果を踏まえて、PHT ウサギの病態発症の機構を明らかにしていきたい。

イメージング装置やテレメトリーシステム等新しい機器を用いた 実験動物の生体現象の解明

若井 淳¹、関口 美穂¹、片平 清昭²

¹福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設、²福島県立医科大学
ふくしま国際医療科学センター 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター

動物実験において、所期の結果を得るためには実験動物の形態と生理現象を詳細に知ることが必要不可欠である。近年、実験動物の形態学的・生理学的解析に用いる機器は著しく発展してきた。福島県立医科大学附属実験動物研究施設においても、小動物用 X 線 CT や小動物用 MRI などのイメージング装置やテレメトリーシステムなど高性能機器が設置されている。これらの機器を用いて、各種実験動物における比較解剖学的解析や比較生理学的解析結果を集積し、それらの統合化による生体現象の解明を行うことが現在の研究テーマである。今回は、以下の通り、これまでに得られた研究結果および今後の研究展開について発表する。

現在までの研究

- ①呼吸調節系における化学反射機序の解明を目的として、酸素濃度が低い環境（低酸素環境）、二酸化炭素濃度が高い環境（高二酸化炭素環境）あるいは低酸素かつ高二酸化炭素環境にラットが置かれた際の呼吸の変化や、化学受容器である頸動脈小体の形態学的・分子学的変化の解析を行った。
- ②マウス・ラットの生体現象の比較行動学的観察方法の確立の一端として、テレメトリーシステムを用いて、交配から離乳経過を伴うマウスの体温および自発活動量の長期観察を行った。併せて、イソフルレン麻酔下におけるマウスおよびラットの心拍数・血圧の経時的変化および麻酔濃度を变化させた際の差異を解析した。
- ③各種イメージング装置による動物実験への応用方法の開発を目的として、小動物用 X 線 CT、小動物用 MRI および X 線 TV システムを用いて、マウスの成長に伴う骨格など形態学的変化の観察を行った。

今後の研究展開

- ①テレメトリーシステムと分子学的解析を組み合わせ、炭酸ガス安楽処分の際の二酸化炭素濃度および酸素濃度などの至適条件を解明する。
- ②小動物用 X 線 CT、小動物用 MRI および X 線 TV システムを用いて、ラットの成長に伴う骨格など形態学的変化の観察を行う。

特別講演

マウス臍帯血移植モデルを用いた免疫系再構築に関する研究

弘前大学大学院保健学研究科医療生命科学領域生体機能科学分野 教授

伊藤 巧一 先生

マウス臍帯血移植モデルを用いた免疫系再構築に関する研究

弘前大学大学院保健学研究科
医療生命科学領域生体機能科学分野 教授

伊藤 巧一

造血幹細胞は自己複製能と多分化能を有する細胞と定義されている。すなわち、すべての血液細胞の産生を担っているのが造血幹細胞であり、白血病や骨髄機能不全といった血液系疾患に対する有効な再生治療法としてこれまで骨髄移植が数多く実施されてきた。骨髄移植を支えているのは骨髄中に含まれる造血幹細胞である。骨髄由来造血幹細胞に関してはマウスなどの実験動物モデルを用いた基礎実験が盛んに行われており、自己複製能や分化の方向の決定に関わる機構についての解析が進んでいる。その後、ヒト臍帯血に骨髄と同等の造血幹細胞が含まれていることが示されて以来、臍帯血移植への関心が急速に高まっている。日本臍帯血バンクネットワークによると日本における臍帯血移植の実績はすでに 3000 件を超えている。骨髄に比べて臍帯血の移植ソースの利点として、(1) 多くのドナーの確保、(2) ドナーに対する負担の解消、(3) 拒絶反応の軽減、(4) ウイルス感染の排除などが挙げられる。反面、生着率の低さや一人のドナーの臍帯血では一人の患者の需要を満たせないといった不利な点も抱えている。さらに、臍帯血移植で再構築された免疫細胞の機能評価はレシピエントの予後を知る上で重要であるが、これまで自由度の高い動物実験系がなかったため機能解析には限界があった。講演では、近年確立したマウス臍帯血移植モデルを用いた免疫学的機能解析の実際と共に今後の研究課題について紹介する。



マウス臍帯血採取

動物実験教育訓練セミナー

— 動物実験と動物福祉 —

1. 人道的な動物実験技術の3R原理：Russell と Burch が述べたこと

笠井 憲雪 先生（東北大学動物実験センター／医学系研究科附属動物実験施設）

2. 動物実験の法規制と透明性に関する諸外国の現状

池田 卓也 先生（公益社団法人日本実験動物学会 動物福祉・倫理委員会）

3. 動物実験における Refinement の実践：実験動物の今日的麻酔法と安楽死法の課題

黒澤 努 先生（元大阪大学医学部）

期 日 ： 平成 25 年 12 月 6 日（金）

場 所 ： 弘前文化センター

本動物実験教育訓練セミナーは、公益社団法人 日本実験動物学会との共催により開催されます。受講者には「受講修了証」が授与されます。教育訓練受講歴としてご活用ください。

主 催 ： 東北動物実験研究会

共 催 ： 公益社団法人 日本実験動物学会

人道的な動物実験技術の 3R 原理：Russell と Burch が述べたこと

笠井 憲雪

東北大学動物実験センター／医学系研究科附属動物実験施設

「人道的実験技術の原理(The principles of humane experimental technique)」が出版されてから今年で 54 年経つ。この間、ここで Russell&Burch が唱えた 3R の原理は、世界中に広がり、47 年後の 2006 年には我が国の法律（動物愛護管理法）にも取り入れられた。いまでは、我が国の実験動物や動物実験に携わる人々の共通の理解となっている。しかし、この本はこれまで日本語には訳されておらず、またその英語も極めて難解なために、原本を読んだ日本人は極めて少ないと思われる。Russell&Burch は実際何を述べたのか、これを知るために、私は日本語訳を出版した。この内容について、簡単に紹介する。

彼らはまず、非人道性の概念とその源、発生そして除去法について述べている。非人道性を実験上避けることのできない直接的なもの和不注意の副産物としての偶発的なものを区別する。そしてこれらを除去ないし削減する方法として 3R を提唱した。まず Replacement（置換え）には絶対的なものと相対的なものがあり、前者は寄生虫や植物、微生物さらに生命のない物理化学的装置の使用であり、後者は麻酔を施された動物や安楽死後の標本を用いる実験があげられる。そしてヒトの置換えモデルには 2 つの要素があり、忠実度と識別度と呼んだ。たとえば人のモデルとして哺乳動物は高度忠実度モデルであるが、微生物は研究内容によっては識別度モデルとして重要となる。Reduction（削減）における課題として変動がある。この変動要因を考える場合に実験動物の「表現型」と「演出型」の概念を提唱した。これらの変動をコントロールするためには環境要因、特に近隣環境のコントロールが重要である。Refinement（苦痛軽減）は動物に強いる苦痛の量を絶対的に最小限へ削減する事である。著者はこの観点から研究をストレス性研究と中性研究に分類し、前者は痛みや苦しみ、自律神経性や内分泌性の続発症メカニズム研究をいい、後者はこれらの目的を持たないその他の研究をいう。そして後者は refinement における克服できない障害はないが、前者は苦痛それ自体の研究の様に、避けがたい非人道性があると思われるが、しかしこれも恐怖の研究で取られている方法を見ると、refinement に従う希望があると述べている。

この本が出版されて以降の 54 年間の生命科学の発展はすさまじいものがある。しかし、彼らが述べた 3R の概念は、50 年以上経た今日でも輝いており、今日益々この概念の重要性が増している。この概念を提唱した Russell と Burch 両博士に敬意を表さずにはいられない。

動物実験の法規制と透明性に関する諸外国の現状

池田 卓也

公益社団法人日本実験動物学会 動物福祉・倫理委員会

先の動物愛護管理法改正の過程では、自主管理体制の推進や透明性の確保という観点から、実験動物や動物実験に関わる法規制の強化に向けて多くの議論がなされた。そしてその中には動物愛護を標榜する団体だけでなく一部の実験動物関係者からも、欧米各国の状況と比較して日本の対応は不十分であると言う指摘があった。しかし、一部の規制強化を求める人々は、欧米を中心とした諸外国の法制度やその運用状況をよく理解することなく、欧米並みの規制強化を求めている。また規制強化の反対論者の中にも、欧米の規制に対する漠然としたイメージだけで、不安や恐怖感を抱いて反対を唱える者もあった。

一方、多くの分野においてハーモナイゼーションや標準化という言葉に代表される国際化が求められており、実験動物分野においても今や避けて通れない道となっている。近年わが国のみならず諸外国においても実験動物に関する諸規制が改正され、3Rの原則に基づいた実験動物福祉の実践が今まで以上に強く求められるようになってきた。しかしながら、実験動物やその福祉にかかわる諸規制やその運用には、各国の歴史や文化あるいは宗教など多くの背景要因が複雑に影響している。そのため欧米ではと一概に論ずることはできないだけでなく、実験動物にかかわる法規制やその運用を国際的に統一することは容易ではない。しかし、歴史的に古くから動物福祉に対して多くの取り組みを行ってきた国々の状況を知ることは、国際化を進めるにあたり極めて重要である。

そこで動物福祉に対して厳しい法規制を施行して、実務的な運用に関しても行政が深く関与している欧州の国々の事例として、英国の法規制やその運用を紹介する。また欧州とは異なり、各機関の自主管理を基本としながらその管理体制を中心に行政が把握し管理している例として、米国の法規制の枠組みとその運用についても紹介する。

今後、わが国の動物福祉のあり方や自主管理の推進とその透明性の確保という問題を検討し解決するためには、英米を含めた諸外国の実状を知ることは必須であると考えられる。そして一口に欧米と言っても、英国と米国の2カ国を見るだけでもその法制度と運用には大きな差異があり、利点だけでなく問題点もあることを今回のセミナーで理解して頂きたい。その上で国際的にも評価される日本としての実験動物福祉を確立し、いっそうの自主管理体制の推進や透明性の確保を実践するための施策を検討して頂ければ幸いである。

動物実験における Refinement の実践 実験動物の今日的麻酔法と安楽死法の課題

黒澤 努

元大阪大学医学部

動物実験の是非については未だに激しい議論がある。バイオメディカルサイエンスを推進するためには動物実験は必須であり、反対意見が多いからということでおいそれとは動物実験をやめることはできない。反対意見を良く解析すると、動物実験には実験動物の苦痛が伴うから反対という意見が相当あると思われる。これに対応するために3Rsの概念が提唱され、現在この考え方に基づいて国際的な動物実験のための標準(ISO,OIE)、指針(CIOMS,ILAR)および動物実験規制法は構成されている。とくに動物実験を行うにあたってはRefinementの考えのもと施行することとなっている。この考え方を実践することを条件に多くの一般市民に動物実験に賛成していただくことで動物実験は行うことができるとされている。

動物実験はそもそも科学者が自らの意志で施行するものであるから、その基本は自主管理である。科学者自らがRefinementの実践を行うことで動物実験をさせていただいているというのが現状である。ところがそれを実践しない科学者がたびたび出現し、その対策が講じられてきた。それが動物実験規制法である。何らかの動物実験の監視の枠組みを作ってみるとそれが明らかとなり、そのたびにその防止法についての規制が増加し、現行の欧米の動物実験規制はわが国より相当厳格なものとなっている。したがって、自由な研究を望むわが国の研究者は断固として監視の枠組みの構築に反対する。しかし、本来は自主的に管理して、不適切な動物実験を行わなければよいのであって、監視の枠組みを否定する者は実は不適切な動物実験が行われていることを知っている可能性が高い。

その一方、動物実験の規制が進むと、各研究者はその法律を良く理解することに相当の時間が必要となることを知る。さらに具体的な動物実験の施行においてもできるだけ苦痛の少ない方法を習熟せねばならず、その知識、技術獲得に多大な時間が必要となる。そこで考えられたのが獣医学的ケアの充実である。動物実験を行う各個の研究者は最低限のルールは守るとしても、詳細な法律の原理、中身さらにはその遵守は獣医学的ケアチームにゆだね、本人は研究の重要な部分だけに専念したくなる。当然獣医学的ケアチームの中心は実験動物医学専門医などの高度な訓練と長期間の経験を有する者が担当し、またその専門家をサポートする高度な福祉技術を持った実験動物技術者が組織される。実際これを法律で定めてしまっている。欧米先進国ではこの分業が適切に進み多くの偉大な発見、発明が行われることとなる。獣医学的ケアは実験動物の苦痛をいかに防止するかであり、その中心技術が麻酔鎮痛そして安楽死である。すなわち3Rsの原則にしたがった適切な動物実験の施行の多くの部分が実験動物医学の専門家による麻酔鎮痛、および安楽死に依存していることとなる。したがっ

て、この分野の底上げを行うことでバイオメディカルサイエンスは一層の発展が期待できるのである。残念ながらわが国は政府自身がこれに未だ気づいていないようで、この分野への支援は十分に行われていない。このため実験動物医学分野の麻酔鎮痛、安楽死の専門家は極めて少なく新規の方法の開発が遅れがちである。もちろん各個の実験動物医学専門医は適切な麻酔鎮痛の施行、安楽死の実施は行えるが、新たな方法の開発を手掛けるものが著しく少ないのである。

近年簡便な注射麻酔鎮痛薬のニーズが高まっている。これまで汎用されていたペントバルビタールは単剤で使用しても苦痛除去は困難で、適切な麻酔法とはされなくなったことが原因の一つである。さらにキシラジンと組み合わせた塩酸ケタミンの投与は極めて汎用的な注射麻酔ではあったが、塩酸ケタミンが麻薬指定され、使い勝手が悪くなってしまったこともその一因である。そこで切羽詰まったある実験動物医学専門医は従来の注射麻酔薬に変わる方法を開発せざるを得なくなった。これが3種混合麻酔である。メデトミジン、ミダゾラム、ブトルファノールを混合し、簡易な注射麻酔を行えることを企図して開発された。また注射麻酔の最大の短所のひとつである、患者自身の麻酔薬の代謝のみによって麻酔覚醒が行われることを改善し、メデトミジンの拮抗薬であるアチパメゾールを用いることにより、麻酔覚醒を行えるように工夫した。現在この3種混合麻酔は広く普及しつつあるが、しかし、所詮は注射麻酔薬であり、厳格な呼吸管理はできないなどあくまでも簡易な麻酔法であることには変わらない。また3つの薬剤の組み合わせであるから、研究目的を損ねないかについては、各薬剤の薬理薬効を良く理解したうえでしか使用できない。安全域はペントバルビタールの単剤投与より相当拡大したとはいえ、反射を失った麻酔下の患者はいつでも失命する危機にある。なお一層の麻酔モニタリングが必要となり、その上で、麻酔事故からのレスキュー技術の向上が必要となっている。

我が国では相変わらず、できるだけ苦痛を与えない動物実験を求めているとはいっても、その前に研究目的を損なわない範囲での制限がついている。すなわち研究目的が損なわれると考えられたら、実験動物に苦痛を与えても良いのかとの疑問がわく。さらに研究目的が損なわれると誰が考え判断したら、苦痛軽減措置をやめても良くなるのかの質問が思いつく。その結果として、実は研究目的は損なわれはしないのだが、面倒であったり、経費がかさむという理由で苦痛軽減措置を怠っている場合があるのではないかとの疑念が生ずる。これに対して OECD は画期的な規定の改訂を行った。それはドレーズ試験(ウサギの眼刺激性試験)の方法 TG405 を改訂し、試験前には、全身的鎮痛薬の投与と眼への局所麻酔の投与を行うこととした。さらに術後にも鎮痛薬を投与して苦痛治療を行う規定を設けた。そして実験動物の苦痛の判断と試験からの離脱の判断を実験動物獣医師に委ねるとしたのである。安全性試験において実験動物を治療するという獣医学的ケアの充実を試験結果に優先させることとしたと解釈される。

こうした国際的な Refinement の厳格な施行、獣医学的ケアの充実、そして実験動物の苦痛の軽減を重視する姿勢がわが国はないことは最大の懸念であり解決されるべき課題である。

— 技術に生きる —



手術治療材料・医療設備機器・研究設備機器・介護福祉機器・物品物流管理



株式
会社



医理科



Since 1967

〒036-8084	弘前市大字高田3丁目7-1 E-mail: shibatoa@jomon.ne.jp	☎ 0172(27)2221(代)
〒030-0964	青森市南佃1丁目14-10 E-mail: shibatok@jomon.ne.jp	☎ 0172(27)1222
〒031-0821	八戸市大字白銀3丁目8-1 E-mail: shibatos@jomon.ne.jp	☎ 017(743)322(代)
〒017-0872	大館市片山町2丁目12-15 E-mail: shibatof@jomon.ne.jp	☎ 017(743)3221
〒035-0063	むつ市若松町2-54 E-mail: shibaton@jomon.ne.jp	☎ 0178(34)1122(代)
〒037-0023	五所川原市大字広田榊森7-1 E-mail: shibatoy@jomon.ne.jp	☎ 0178(34)1123
		☎ 0186(45)1222(代)
		☎ 0186(44)5222
		☎ 0175(23)8760(代)
		☎ 0175(23)8761
		☎ 0173(30)5222(代)
		☎ 0173(30)5221

～信頼・創意工夫～

CONFIDENCE・ORIGINARITY&INGENUITY

創造性あふれる建物の環境とセキュリティーを管理する
空間コーディネーター



総合ビルメンテナンス

東洋建物管理(株)弘前支社

TOHYOH BULIDING JANITOR CO;INC;HIROSAKI OFFICE

〒036-8186 弘前市富田一丁目2-5
TEL 0172-34-6566 FAX 0172-34-6575 E-mail hirosaki-1@toyo-bj.co.jp

本社：〒030-0823 青森市橋本一丁目7-3
TEL 017-734-5281 FAX 017-722-6575 URL <http://www.toyo-bj.co.jp/>
E-mail into-2@toyo-bj.co.jp

◆営業品目

清掃・設備管理・警備・除排雪・清掃用品販売・その他

各支社・営業所

東京支社・函館支社・八戸営業所・むつ営業所・六ヶ所営業所・黒石営業所・五所川原営業所
秋田営業所・大館営業所・盛岡営業所・仙台営業所

化学工業薬品分野
Chemical industrial medicine

農業資材分野
Agricultural materials

臨床検査試薬分野
Clinical examination reagents

食品分野
Food

生命システム情報研究所
Research Institute of Bio-System Informatics

臨床検査・研究分野の試薬・消耗品・機器
トータルソリューションを提供する

東北化学薬品株式会社

本社

TEL : 0172-33-8131 FAX : 0172-33-6800

八戸支店

TEL : 0178-43-9236 FAX : 0178-44-7629

青森支店

TEL : 017-738-4451 FAX : 017-738-0278

むつ小川原営業所

TEL : 0175-73-2271 FAX : 0175-73-2272

秋田支店

TEL : 018-824-1201 FAX : 018-824-1166

大館営業所

TEL : 0186-45-0566 FAX : 0186-45-0570

岩手支店

TEL : 0197-68-2271 FAX : 0197-68-2440

盛岡営業所

TEL : 019-614-9800 FAX : 019-614-9777

仙台支店

TEL : 022-345-4870 FAX : 022-345-4495

山形支店

TEL : 0237-47-0068 FAX : 0237-47-0285

鶴岡営業所

TEL : 0235-24-9786 FAX : 0235-24-9875

米沢営業所

TEL : 0238-24-7622 FAX : 0238-24-7667

東京支店

TEL : 03-3866-9777 FAX : 03-3866-9735

生命システム情報研究所

TEL : 019-629-2661 FAX : 019-629-2663



東北化学薬品株式会社
TOHOKU CHEMICAL CO., LTD.

TEL 0172-33-8131 FAX 0172-33-6800
<http://www.t-kagaku.co.jp/>

〒036-8655 青森県弘前市大字神田一丁目3番地の1

オリエンタル酵母が 研究のAからZまで あらゆるシーンをサポートします

in vitro

大量微生物培養・精製

大量細胞培養・精製

遺伝子解析

抗体開発・生産

動物・ヒト臨床検査

組換え蛋白質開発・生産

実験動物 マウス・ラット(Crlj)・ウサギ(Kbl:JW/NZW・
Kbs:JW/NZW・Dutch・WHHL)
ビーグル(TOYO/Narc)・HBD(mongrel)
ミニプタ(ゲッチンゲン)・ネコ・カニクイザルなど

実験動物飼料・特注飼料

遺伝子改変動物開発・繁殖

薬効薬理試験(信頼性基準対応)

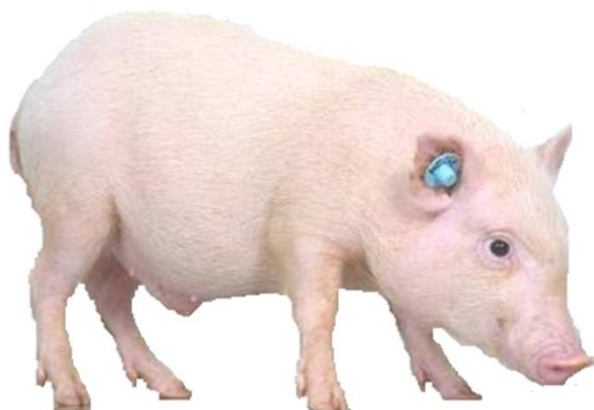
安全性試験(GLP対応)

発熱性物質試験(GMP対応)

実験動物用器材・ステンレス製ケージ類

処置動物・生体材料

in vivo



Göttingen minipig

Cufitec®(抗ウイルス:マスク/クロス/ガウン)
(株)NBCメッシュテック製造

URL:<http://www.oyc-bio.jp>



オリエンタル酵母工業株式会社

〒174-8505 東京都板橋区小豆沢3-6-10 TEL: 03-3968-1192

各種産業の滅菌ニーズに 最適なソリューションをご提供

udono sterilization system



●全自動蒸気滅菌装置 (医薬メーカー納入)



医療機器メーカーの滅菌済製品をはじめ製薬・製剤、化粧品、食品など広範な製造施設での滅菌ニーズをフルサポートいたします。ウドノ医機は、滅菌システムの専門メーカーとして各種産業の滅菌ニーズにカスタムメイドでお応えしています。

滅菌システムの専門メーカー

株式会社 ウドノ医機
<http://www.udono.com> E-mail: sales@udono.com

●本社
〒192-0063 東京都八王子市元横山町2-1-9
Tel (042) 642-6301 Fax (042) 644-8350
営業部Tel (042) 642-6153 Fax (042) 642-4784
●榎原工場
〒193-0803 東京都八王子市榎原町1453-2
Tel (042) 625-3661 Fax (042) 627-6334



本社・榎原工場認証取得

世界初のオリジナルシステムを搭載した
滅菌器新発売!

ECOPALZER

日本発、世界へ。 エコパルザー滅菌器 PS-140 R/P

待望の「ホルムアルデヒドガス滅菌器」ついに誕生。



医療機器承認番号 22100 BZX 00829000

経費削減を目指されている
施設様に朗報!
滅菌業務のコストを
再検討してみませんか。

■安全・環境対策

滅菌ガス分解無毒化装置
搭載。

■低ランニングコスト

ガス滅菌のコストを
大幅に削減します。

お問い合わせ、資料請求はお電話で

0120-631-170

営業時間 平日 9:00~17:30
(土日祝日休み)



ISO13485
認証取得



清潔・快適をクリエイトする

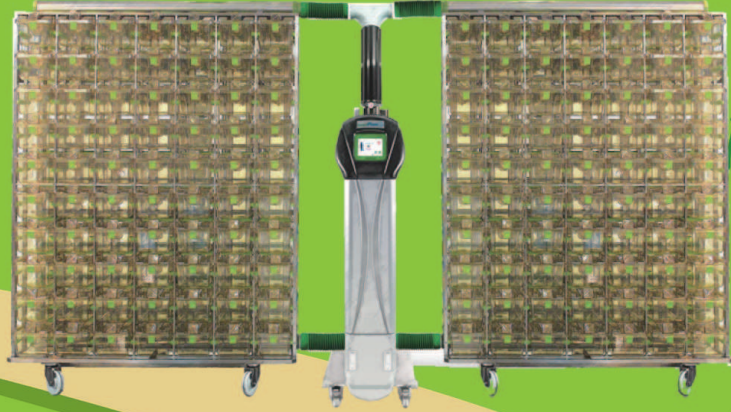
株式会社 メディエート

本社 〒611-0041 京都府宇治市槇島町目川117-5
TEL.0774-28-1170(代) FAX.0774-28-1169

工場 TEL.0774-28-1160 FAX.0774-28-1199

第二種医療機器製造販売業許可番号26B2X10003
医療機器製造業許可番号 26BZ2000013

ホームページアドレス <http://www.mediate-gp.co.jp>
メールアドレス ecopal@mediate-gp.co.jp



HOUSING



**LAMINAR
FLOW**



WASHING



テクニplast・ジャパン株式会社
〒106-0047 東京都港区南麻布五丁目2番32号
電話:03-5447-3490 FAX:03-5447-3491
<http://www.tecniplastjapan.co.jp/>



AUTOMATION

