

日本実験動物技術者協会
平成21年度 奥羽・東北支部合同勉強会
講演要旨集



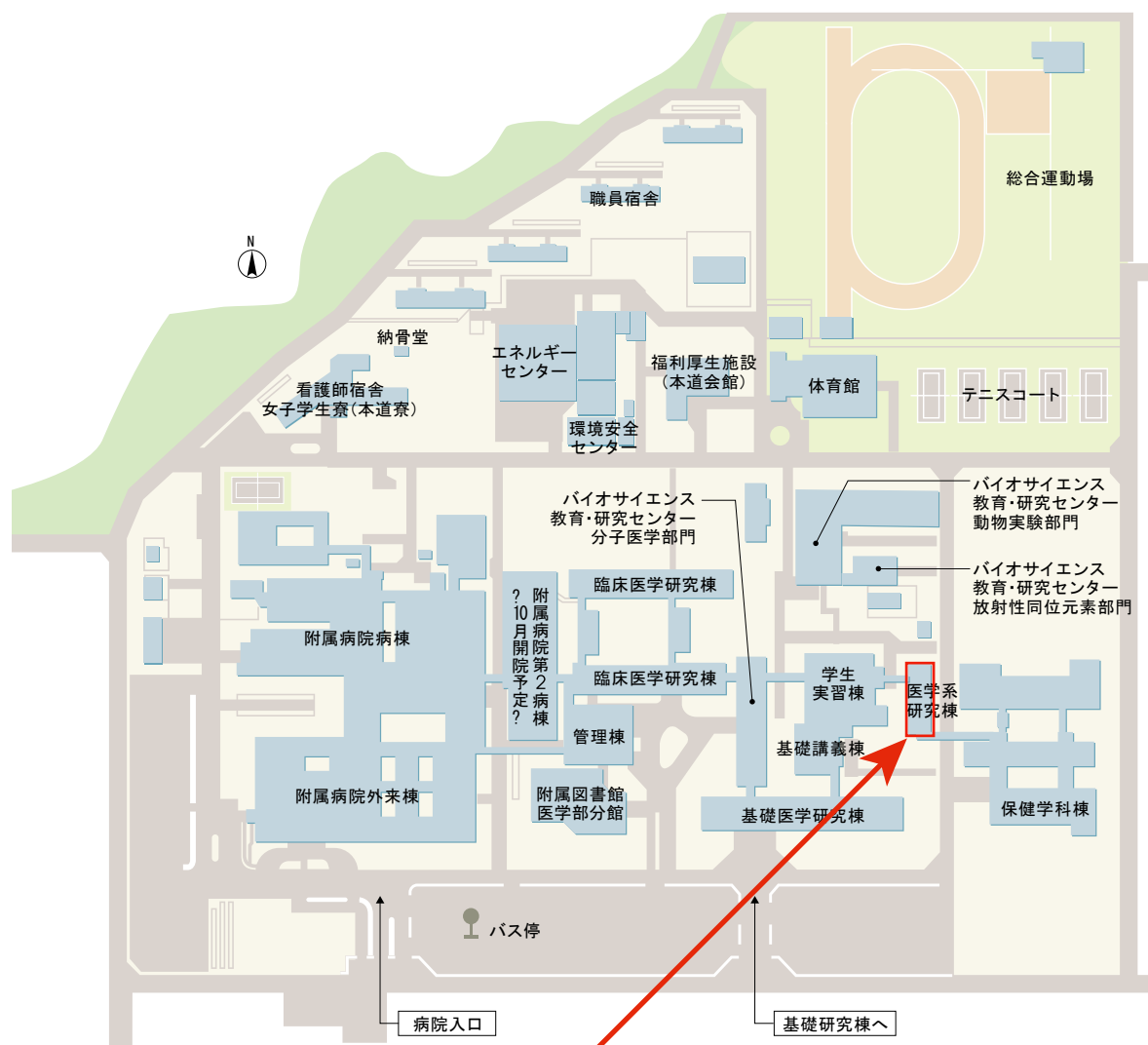
日 時：平成21年11月14日（土）9:30～14:30
場 所：秋田大学医学部 医学系総合研究棟2F 講義室2

主 催：日本実験動物技術者協会奥羽支部・東北支部
共 催：東北動物実験研究会
主 管：秋田大学バイオサイエンス教育・研究センター

会場周辺MAP



会場案内図



平成21年度 奥羽・東北支部合同勉強会 会場

医学系 総合研究棟 2F 講義室2

日本実験動物技術者協会

平成21年度 奥羽・東北支部合同勉強会

プログラム

日 時：平成21年11月14日（土）9:30～14:30

場 所：秋田大学医学部 医学系総合研究棟2F 講義室2

共 催：東北動物実験研究会

9:00～9:25 受 付

9:25～9:30 開会挨拶 伊藤恒賢（東北支部長）

◎ 教育講演 9:30～10:30

9:30～10:30 教育講演 司会 伊藤恒賢（山形大・医・動物実験施設）

演 題：「実験動物技術者のための比較解剖・生理学」（第305回本部共催講演会）

演 者： 片平清昭 先生（福島県立医科大学医学部附属実験動物研究施設）

10:30～10:45 休憩

◎ 一般講演（1） 10:45～12:00（講演8分／討論4分）

10:45～11:09 座長 馬場秀明（弘前大・医・動物実験施設）

1. 福島県立医科大学における実験動物施設20年の変遷

○丹治静保、遊佐寿恵、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）

2. マウス精子・胚の凍結・融解技術の研修について

○深澤貴史、高橋恵理、花木賢一（岩手医科大学動物実験センター）

11:09～11:33 座長 石橋 崇（東北大・加齢研・実験動物管理室）

3. 平成21年度における温室効果ガス削減に向けた取り組みの現状

○森川正喜、宮本 徹、岡野伸哉、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）

4. 秋田大学動物実験部門における検疫状況について

○池田勝久、柴田淑子、稲垣秀晃、松田幸久

（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）

□ 11:33～11:57 座長 川越政美（秋田大学バイオサイエンス教育・研究センター）

5. 飼育管理の適正化をサポートするための SOP ポスター掲示の効果

○石橋 崇、工藤洋平、佐々木秀一、高梨千代、鳥海里依子、洞口克彦、井上吉浩
（東北大学加齢医学研究所実験動物管理室）

6. 東北大学動物実験センターの役割について

○笠井憲雪^{1,2}、佐藤未季¹、吉田知香¹、岡野伸哉^{1,2}、末田輝子^{1,2}
（¹東北大学動物実験センター、²東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設）

□ 12:00～13:00 休憩（昼食）

◎ **一般講演（2）** 13:00～14:20（講演8分／討論4分）

□ 13:00～13:24 座長 遊佐寿恵（福島医大・医・実験動物研究施設）

7. マウス・ラットを動物施設から研究室に持出すための移送用ケージの改良

○工藤洋平¹、石橋 崇¹、佐々木秀一¹、高橋智裕²、井上吉浩¹
（¹東北大学加齢医学研究所実験動物管理室、²日本クレア（株））

8. 小動物用吸入麻酔器作製の試み

○高橋智輝、佐藤綾子、高橋恵理、深澤貴史、牛崎克哉、花木賢一
（岩手医科大学動物実験センター）

□ 13:24～13:48 座長 木伏智美（東北大・院・医・動物実験施設）

9. 動物飼育室におけるロールスクリーンの効果の検討

○小畑孝弘、佐藤政義、川越政美、柴田淑子、稲垣秀晃、松田幸久
（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）

10. セリウスソフト水の長期摂取がマウスに及ぼす影響（第1報）

○川越政美、佐藤政義、九島秀美、池田勝久、柴田淑子、小畑孝弘、戸井田和実、稲垣秀晃、
松田幸久（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）

□ 13:48～14:12 座長 高橋智輝（岩手医科大・動物実験センター）

11. 鎮静・鎮痛剤による非麻薬系混合薬のラットにおける麻酔効果

○遊佐寿恵¹、片平清昭¹、河又 淳²、河合澄子³、黒澤 努³
（¹福島県立医科大学実験動物研究施設、²千葉小動物クリニック、
³大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室）

12. 分娩遅延胚移植仮親マウスに対するオキシトシン製剤の応用

－自然交配妊娠マウスへの基礎的検討－

○伊藤恒賢¹、野田純也²、青沼宇倫²、大和田一雄^{1,3}
（¹山形大・医・動物実験施設、²山形大・医学部3年、³（独）産業技術総合研究所）

□ 14:20～14:25 閉会挨拶 高橋智輝（奥羽支部長）



実験動物技術者のための比較解剖・生理学

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

動物は、環境に適応し、適切な食物を獲得・摂取して自己保存を行い、感覚系を介して生殖行動の相手を選択し、種の保存を図っている。体内の諸機能は適切に調節され統合されているからこそ動物は逞しく生きている。動物の食物と摂食、消化、呼吸、血液による気体の運搬、循環と心機能、排出と腎機能、筋肉と運動など生体の働き（機能）を対象とする学問領域が生理学である。生体の働き（機能）を理解するためには、表裏一体の関係にある体のしくみや構造（解剖）の知識も必要である。ある特定の機能を発揮させるためにはそのための構造がそなえられている。さらに、血液の比重とか水素イオン濃度(pH)などの用語にみられるように、生体機能の理解には基本的な物理学や化学に関する知識も要求される。

2. 比較解剖学・比較生理学

動物の機能の解明には動物種の相違による比較が重要な手がかりとなる。動物の体の構造や機能の理解を深めるためには動物種間や系統間で比較することも効果的であることから、比較解剖学や比較生理学の分野が発展してきた。実験動物の各器官の位置・形態・構造を知り、それぞれの器官がどのような働きをしているのかを学ぶことは、実験動物の遺伝、生殖、栄養、病気などを理解するために必要なことである。実験動物の飼育や実験補助に従事する実験動物技術者にとって、動物の状態を観察し、異常の有無を瞬時に判断する技量が求められている。この意味からも実験動物技術者は比較解剖学や比較生理学を習得し、動物の状態を正確かつ迅速に観る「眼力」を養うことに努める必要がある。

3. 恒常性の維持

クロード・ベルナール (19c, フランス) は、生体の大部分の細胞を取り巻く細胞外液を「内部環境」と呼び、この内部環境を一定に保つことが、生命維持と機能の発現に重要である、と主張した。ベルナールの考えを発展させて、ウォルター・キャンノン (20c, アメリカ) は「ホメオスタシス (恒常性)」という概念を提唱した。ホメオスタシスは生体内の各器官系の相互作用により、細胞外液だけでなく内部の環境を一定の安定した状態に保つことを意味する。恒常性の維持のためには、環境の変化 (刺激) を感知する「受容器 (センサー)」、受容器から送られてきた情報を受け取り維持すべき範囲を設定する「調節中枢」、調節中枢から指示を受けて応答 (出力) する「効果器」、のような一連のシステムが形成されている必要がある。

4. 動物の体温調節

恒常性の例として恒温動物の体温があげられる。恒温動物の深部体温 (核心温) はほぼ一定の状態に維持されており、動物種によって差異がみられる。核心温はヒトの場合

37℃程度であり、ラットでは38℃、ニワトリでは41℃と高くなる。生命活動が維持されているかぎり熱の産生があり、その一方で体熱は体表面や呼吸器を介して絶えず失われ、動物種特有の体温が維持されている。動物の体温調節は、温度条件によって引き起こされる自律神経性の物理的調節域と化学的調節域に分けて考えられる。体温が下降し、あるいは上昇するときには調節能の限界点があり、このときの環境温度を臨界温度という。臨界温度は動物種によって異なり、マウスの場合10℃と37℃、ラットで-10℃と32℃といわれている。温度中性域（基礎代謝の最低時）はマウスの場合30～33℃、ラットでは28～30℃とされている。飼育室の推奨温度は臨界温度の範囲内であり、かつ、温度中性域よりも低い条件が要求される。

環境温度と動物の生理的特性との関係は、動物種の他に、系統、性、年齢、明暗、飼育密度等によって異なる。同一個体内であっても、厳密には体温（核心温）は活動の時間帯には高くなり、睡眠時のような安静時には低くなるというように日内リズム（明暗リズム）が観察される。

5. おわりに

講演では、比較解剖学や比較生理学について事例を取り上げ、動物の体のしくみ（構造）やはたらき（機能）のすばらしさを紹介する。参考までに、哺乳類（人体）の系を構成する主な器官とそのはたらきについてまとめておく。

参 考：系を構成する主な器官とそのはたらき

(1) 外皮系（皮膚，皮膚の付属物（毛・爪・汗腺・皮脂腺））

- ・ 外界からの有害な影響から身体を保護する。
- ・ 発汗によって体内の水分量と体温を調節する。
- ・ ビタミン D の産生に寄与する(ビタミン D 前駆体は皮膚へ紫外線が照射されることによってビタミン D となる)。
- ・ 温度，圧，疼痛などの感覚刺激を受ける。

(2) 骨格系（全身の骨，軟骨，関節，靭帯）

- ・ 体型を構成し，体運動を可能にする。
- ・ 身体を保護する(例；頭蓋骨は脳を保護する)。
- ・ カルシウムなどの無機栄養素を貯蔵する。
- ・ 骨髄で血球を産生する。

(3) 筋系（全身の骨格筋，腱）

- ・ 収縮運動を行う。
- ・ 体熱を産生する。
- ・ 深部臓器・組織を保護する(例；大概の主要動脈は骨格筋の間を走り，損傷から守られている)。
- ・ 姿勢を維持する。

(4) 神経系（脳(大脳・間脳・小脳・脳幹)，脊髄，抹消神経，感覚器(眼球・耳のど)）

- ・ 精神活動を行う（精神の座である）。
- ・ 各器官と連絡し，身体活動を統合・制御する。

- ・ 感覚器を通して環境を認識する。
 - ・ 体内環境を調節する。
- (5) 内分泌系 (ホルモンおよびホルモン様物質を産生するすべての腺(下垂体・松果体・甲状腺・上皮小体・副腎・膵臓ランゲルハンス島・性腺など))
- ・ ホルモンを介して他の器官の働きを制御する(ホルモンは血中に放出され,血液循環で標的臓器に到達する。内分泌系の働きは神経系の働きより緩慢である)。
- (6) 循環器系 (心臓, 血管, リンパ管)
- ・ 血液を運搬する。
 - ・ 細胞に酸素や栄養, ホルモンなどを送り, 細胞から二酸化炭素や代謝産物を運び去る。
 - ・ 体温を調節する。
 - ・ リンパを静脈系に回収する。
- (7) 免疫系 (リンパ節, 胸腺, 脾臓, 扁桃など)
- ・ 異物 (細菌・ウイルスなど) を認識し, これを排除する。
 - ・ 終生免疫を獲得し, 生体を防御する (種痘などの場合)。
 - ・ 炎症や創傷治癒に関与する。
- (8) 呼吸器系 (気道 (鼻・咽喉・喉頭・気管・気管支), 肺)
- ・ 酸素を取り入れ, 二酸化炭素を外に出す。
 - ・ 体内の酸塩基平衡の維持に寄与する。
- (9) 消化器系 (口, 歯, 唾液腺, 食道, 小腸, 大腸, 肝臓, 胆嚢, 膵臓)
- ・ 食物を摂取し, 消化を行う。
 - ・ 栄養素を吸収する。
 - ・ 水を吸収する。
 - ・ 食物残渣を糞便として排泄する。
 - ・ 有害物質を分解し, 体内環境を維持する (肝臓は最大の解毒器官である)。
- (10) 泌尿器系 (腎臓, 尿管, 膀胱, 尿道)
- ・ 血液中の老廃物を尿として排泄する。
 - ・ 体液の電解質濃度を調節する。
 - ・ 水分量を調節し, 浸透圧を適正に保つ。
 - ・ 酸塩基平衡を維持する。
 - ・ 血圧調節に寄与する。

福島県立医科大学における実験動物施設 20 年の変遷

○丹治静保、遊佐寿恵、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)

福島県立医科大学における実験動物の飼育施設は、旧キャンパスでは動物舎として設置されていた。1987年に専任教職員を配属した組織が附属研究実験動物研究室として発足し、1988年3月に光が丘キャンパスへの移転事業の一環として新施設が開設されました。当施設は建築面積735.1 m²、延床面積2,601.0 m²、鉄筋コンクリート構造4階建てである。3階は高性能(HEPA)フィルターを介した新鮮な清浄空気を飼育室に供給し、空調及び換気系統を細分化・独立させている。2階と1階の空調は中性能フィルターによる給気でオールフレッシュ型の空調・換気装置の設備となっている。清浄領域は陽圧に、汚染領域は陰圧にという原則に従い室圧を設定している。感染室は1階に配置し他の領域とは分離した構造とし、専用の出入り口を設け微生物の物理的封じ込め(P2水準)が可能な構造としてある。

実験動物の飼育状況は、研究動向に大きく影響されることから、これまでに飼育室や飼育装置の見直しを繰り返してきた。中でも、捕獲犬の使用中止や、ノックアウトマウスの急増等、困難な対応をせまられることもあった。今回は、施設開設時からこれまでの20年間における変遷について、実験動物種ごとの飼育数、飼育室や飼育形態等の変更、それらに要した費用等について総括し、これからの展望の参考とすることとした。

マウス精子・胚の凍結・融解技術の研修について

○深澤貴史、高橋恵理、花木賢一（岩手医科大・動物実験センター）

独立行政法人理化学研究所で行われた「マウス精子・胚の凍結保存方法に関する技術研修」に参加し、学んできた内容を報告する。

【目的】当センターでは研究支援業務の一つとして、利用者から委託を受けた遺伝子組換えマウスの飼育管理及び交配による系統維持を行っている。しかし、遺伝子組換えマウスの委託数は近年増加傾向にあり、飼育スペースや飼育管理のための労力は限界にきている。また、新たに動物を導入する際、生体を直接搬入する以外に術はなく、病原微生物を持ち込むリスクが常に憂慮されている。そこで、これらの問題を解決する技術導入のため上記研修に参加した。

【主な研修内容】

- ・器具準備：胚操作用ピペットの作製等を行う。
- ・試薬準備：体外受精用培養液や凍結保存液、融解液の調整を行う。
- ・精子の採取：3～12ヶ月のなるべく交配経験のある雄を頸椎脱臼の後に速やかに精巣上体尾部を摘出する。注射針を膨大部に刺し、出てきた精子塊を培養液へ入れる。
- ・未受精卵の採取：雌を頸椎脱臼の後に卵管だけを摘出する。シリコンオイルの中に入れ、注射針で卵管膨大部に切れ目を入れ、出てきた卵子を培養液中に誘導する。
- ・精子濃度の測定：精子液5 μ lを10倍希釈し、血球計算盤にて濃度を測定する。
- ・胚の洗浄：胚操作用ピペットで新鮮な培養液に移動して卵丘細胞等を取り除く。
- ・精子の凍結・融解：保存用ストローに精子液を封入し、液体窒素内に浮かせた容器に入れて10分間徐々に冷やした後に液体窒素内で凍結させ保存する。
融解時はストローを取り出し、空中で10秒程保持した後37℃の温水で15分温め融解する。
- ・胚の凍結・融解：胚操作用ピペットを使い2細胞期胚を平衡液に入れ、胚が収縮した後にガラス化液に移す。1分後液体窒素に入れ凍結保存する。
融解時は37℃に温めた融解液をチューブ内で20秒程出し入れし、融けたら溶液を全てディッシュに移す。溶液の中から胚を探し、濃度の異なる融解液に入れ、二回移動を繰り返した後培養液に入れる。

【まとめ】当センターでの遺伝子組換えマウスの需要は増加傾向にある。そのため、マウス精子・胚の凍結保存技術の導入は急務である。しかし、今回の研修を受け、精子・胚の凍結保存技術の難しさを実感した。今後、当センターの問題解決の為、早急な技術の導入を目標とし、器具や試薬の用意、そして手技の向上に励みたい。

平成21年度における温室効果ガス削減に向けた取り組みの現状

○森川正喜、宮本 徹、岡野伸哉、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)

東北大学では、昨年6月に「東北大学における温室効果ガス排出削減等のための実施計画」が発効され、「平成20年度から平成24年度まで、二酸化炭素排出量を排出原単位（建物の単位面積当たりのCO₂排出量：t-CO₂/m²）で毎年度2%削減する」を削減目標とし、温室効果ガス排出削減に取り組んでいる。

動物実験施設における二酸化炭素の排出原単位は0.384 t-CO₂/m²であり、これは、東北大学全体における排出原単位0.128 t-CO₂/m²の約3倍に相当する。また、当施設での具体的なCO₂削減目標は約50 t-CO₂/年である。

そこで、我々は現在の実験動物の飼育環境を維持しながら、年間CO₂削減目標を達成するためにはどのようなことができるのかを模索し、そこで挙げられた項目についてシュミレーションをした結果、飼育室照明、冷蔵庫など電気機器の省エネ型への交換、暖房や冷房、オートクレーブでの蒸気器機の効率化、屋上の緑化、そして、動物実験施設特有である床敷の利用法についての見直しが項目として挙げられ、期待されるCO₂削減量は約210 t-CO₂となった（平成20年度 奥羽・東北支部合同勉強会にて報告）。

本大学の実施計画発効後、動物実験施設では設備的な面で、飼育室における照明器材120台を40W仕様から32W仕様への更新と家庭用冷蔵庫19台を省エネタイプへと更新を行った。いずれも本年度施行したため、温暖化ガス削減効果は来年度確認することになるが、両項目で想定される削減効果は約21 t-CO₂であり、当施設においてこの5年間に目標とする削減量の約10%を占めることになる。

また、人為的な面では昨年9月より、必要最小限度の点灯、帰宅時におけるOA機器の電源OFFの周知及び定期的な点検、そしてエレベーター利用に関して、階段の2up 3downの推奨を行ってきた。これらの効果もまた、次年度に検証する予定である。

今年度までの2年間で、当施設におけるCO₂削減目標の10%は達成できつつあるが、残りの90%についての対策はコストの面から考えても非常に困難なのが現状である。このような中、我が国の現政権は温室効果ガス排出を2020年までに1990年比25%削減を公約した。仮に、我々のシュミレーションがすべて現実のものになったとしても、達成不可能な目標である。つまり、設備の更新等では目標の達成が非常に困難である。

最後に、動物実験施設の運営に携わる皆様が、これまでの経験と知識を十分に活かし、実験動物の適正な飼育管理の下、「温室効果ガス排出の少ない動物実験施設」を考える機会になってくれればと思います。

秋田大学動物実験部門における検疫状況について

○池田勝久、柴田淑子、稲垣秀晃、松田幸久
(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)

【緒言】近年、遺伝子改変マウスを用いた研究が主流になり、研究施設間での動物の授受が盛んになって来ている。それにもなって、感染事故発生の可能性が増大しているため、当施設では譲渡元の微生物学的証明書に加え、搬入時に検疫し検査するという二重チェック体制をとることになった。今回、検疫を開始した2003年から2008までの6年間における検疫状況について報告する。

【受入れ数の推移】検疫を開始した2003年は導入件数が年間30を件越え、2005年にいったん減少したが、2006年以降は20件前後で推移した。これは2002年から5年間21世紀COEに採択されたことに続いて、2006年から5年間グローバルCOEに連続して採択されたことを反映しているのではないかと推察された。またこの間、国内の大学からの導入件数が年間10件前後とあまり変化はなかったが、国内の大学以外の研究機関からの導入件数は減少する傾向が認められた。一方、外国の大学を含めた研究機関からの導入件数は増加する傾向がみられた。

【検疫方法】遺伝子改変マウスを導入する際は事前に譲渡元から最新の微生物学的証明書を提出してもらい導入の可否を判定し、導入許可後マウスを譲渡元から検疫室に搬入した。導入マウスはエデストロム社製のベントラックに個別に飼育し、週に一度ケージ交換時に導入マウスの糞を含んだ床敷きを少量採取し、モニターマウス（ICRメス3匹）のベントラックケージに混入した。これを4週間繰り返した後、(財)実験動物中央研究所に依頼してモニターマウスにおける微生物学的検査を実施した。

【検疫検査の結果】全検疫数130件の内、譲渡元の証明書で陰性であったにもかかわらず、当施設での検疫によって陽性と判明したのは7例あり、その内訳をみると、国内の大学からの導入件数55件中6件で、国内の大学以外の研究機関からの導入件数59件中1件であった。感染が判明した病原体はパストレラ、腸管内原虫と蟯虫であり、感染例7例の内、パストレラが3件、腸管内原虫が3件、蟯虫が1件であった。

【感染マウスへの対応】感染が確認されたマウスへの対応は研究者と協議し、施設内に導入を希望する場合は薬物治療やクリーニングの後に再度検疫を行い、陰性であることを確認してから施設内の飼育室へ搬入した。

【考察・まとめ】病原体が侵入する危険性は検疫件数全体からすれば130件中7件で5.4%、国内の大学からの導入例に限定すれば55件中6件で11%であり、搬入時の検疫は不可欠であると考えられた。当施設では今後も継続的に検疫を行ってくとともに、治療技術やクリーニング技術などを組み合わせることによって、貴重な遺伝子改変マウスを有効に活用できるよう環境を整備していきたいと考えている。

飼育管理の適正化をサポートするための SOP ポスター掲示の効果

○石橋 崇、工藤洋平、佐々木秀一、高梨千代、鳥海里依子、洞口克彦、井上吉浩
(東北大学加齢医学研究所実験動物管理室)

当施設の飼育動物はマウス・ラットの 2 種類のみで、中でも遺伝子組換えマウスを中心にマウスが圧倒的多数を占めている（マウス約 8,100 匹、ラット約 40 匹）。現在、飼育ケージとして約 2,100 ケージ（全て給水瓶による給水）を管理しているが、これらの飼育管理は、施設スタッフだけでなく、一部、実験者も担当している。具体的には、遺伝子組換えマウスを保有し、繁殖を伴う飼育室においては、実験者がルーチンとして週 1 回のケージ交換（飼育室 20 室の内 13 室のケージ交換を担当、同時に給水やボトル交換も行う）を行っている。ケージ交換等の飼育管理作業は、当施設で作成したマニュアル・プロトコルに従い実施しているが、初めて飼育を担当する研究室あるいは研究グループに対しては、飼育開始時に飼育管理作業のデモンストレーションを実施し、指導している。また、毎年 5 月に行われる所内新人研修会の中で動物施設利用者講習会を開催し、新人や実験初心者に対して施設の使用方法について教育訓練を行っている。しかしながら、年度が代わる度に各研究室には新人（研究生や学生）が加入・配属され、これらの新人に対する飼育管理技術の具体的な継承は、研究グループ内の先輩からの引き継ぎに頼っているのが実状である。特に、例年 3 月から 4 月にかけての年度が切り替わる時期に、この引き継ぎが適切に行われていない場合には、ケージ交換に係る飼育管理の不備（ケージフタの設置ミス、給水ボトルの設置ミス、飼育ラック内の清掃の不備、繁殖管理の不備等）が頻発していた。その都度、施設スタッフが適正な飼育管理を行うよう指導・助言を行ってはいるものの、何か有効な手立てはないのかと検討を重ねてきた。

そこで今回、実験者に対して適正な飼育管理を実施してもらうための 1 手段として、飼育管理の標準作業手順（SOP）のポスターを作成し、その掲示効果を検証した。すなわち、『ケージ交換等作業の手順を解説したポスター』、『感染事故予防・動物福祉の観点から配慮しなければならない注意事項をまとめたポスター』、この度、全飼育室の飼育ラックに完備した『ケージ落下防止ガイドの取扱を示したポスター』を作成し、各飼育室、実験室、エレベーター内に掲示した。実際の飼育管理の現場である飼育室に掲示することで、ケージ交換の作業手順や要領を示したポスターを参照しながら、先輩の実験者が後輩の実験者に飼育管理技術を漏れなく引き継ぐことができるように工夫した。ポスターの作成は、印刷は所内共通機器センターに設置の大判プリンターを使用し、ソフトウェアはオープンソースソフトウェアである OpenOffice.org 3.0 を使用した。当施設の Web サイトを通じて実験者がポスターを閲覧できるようにすることも念頭に置き、最終的に PDF ファイルとして出力した。

その結果、飼育ラック内の清浄度を上げるための工夫をポスターに書き込む等、積極的にポスターを活用して飼育管理技術の継承を図るグループもみられた。また、大型連休時において床敷を増量することによって起こりやすい給水ボトルの漏水事故は、ポスター掲示前が 0.04~0.13% の割合で発生していたのに対し、ポスター掲示後は 0.02% と減少した。通常時においても漏水事故の頻度が減少してきている傾向にある。以上のことから、SOP ポスターの掲示は、少なからず

効果があることが実証された。

今後、飼育管理の SOP 策定においては、実験動物福祉の充実に鑑み、より適正な飼育管理の実施に向けて、今回の SOP ポスター掲示後の実験者の反応等の経験を参考に反映させていきたいと考えている。当日は、いくつかポスターを持参し会場内に掲示するのでご参照いただければ幸いです。

東北大学動物実験センターの役割について

○笠井憲雪^{1,2}、佐藤未季¹、吉田知香¹、岡野伸哉^{1,2}、末田輝子^{1,2}

(¹東北大学動物実験センター、²東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設)

東北大学に新しく設立された動物実験センターについて紹介する。

昨今、我が国の大学における研究倫理をめぐる問題が発生しており、特に遺伝子組換え実験のカルタヘナ法や文科省の動物実験基本指針を巡っては、東京理科大学や神戸大学での遺伝子組み換え動物や微生物の不適切な管理についてなどが記憶に新しい。特に神戸大学の例は問題を起こした当事者のみならず大学全体の遺伝子組み換え実験が1ヶ月間の停止という致命的な結末となった。本学でもカルタヘナ法の順守に関する問題が発生しており、遺伝子組み換え実験と動物実験の適正な実施は大学の研究活動の進展において、極めて重要である。このために東北大学は研究倫理や各規程のコンプライアンスを司る組織として本年4月に動物実験センターと遺伝子実験センターを設立した。これは我が国の大学における初めての画期的な組織である。

動物実験センターは以下のような任務をもつ組織である。すなわち東北大学の動物実験に関する法令順守、教育訓練及び安全管理等に係る全学的業務を行う、東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会を支援する、そして東北大学における動物実験の水準向上に貢献することである。このために具体的には以下の8項目についての業務を行っている。

- 1 教育訓練の実施
- 2 動物実験計画書作成助言と事前調査
- 3 飼養保管施設・実験室の適正化
- 4 自主点検、評価の書類作成検証
- 5 飼養保管施設への微生物モニタリングサービス
- 6 実験動物取り扱い実技講習会
- 7 Campus Veterinarian & Animal Nurse としての任務
- 8 センターホームページ作成・運営、情報公開

ここではこの組織の概要を紹介する。

マウス・ラットを動物施設から研究室に持出すための移送用ケージの改良

○工藤 洋平¹⁾、石橋 崇¹⁾、佐々木 秀一¹⁾、高橋 智裕²⁾、井上 吉浩¹⁾

(¹⁾東北大学加齢医学研究所実験動物管理室、²⁾日本クレア(株))

【はじめに】当施設は所内の共通利用施設としてマウス・ラットの飼育管理を行い研究に供している。中でも遺伝子組換えマウスが飼育動物の圧倒的多数を占めている。動物実験は、施設内の実験室または研究者が施設から動物を所内研究室に持出して実施している。施設から研究室に動物を持出す際には既存のアルミケージ（蓋付）を専用を使用している。これは、研究室までの移動の間、敷地屋外を通るために動物が直接一般市民の目に触れないために、不測にも地上に落とした場合に破損による動物の逃亡を防止するために、また、施設における飼育ケージ（プラスチックケージ）と明確に区別するためである。一方、カルタヘナ法（遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律：研究開発二種省令）における「運搬に当たって執るべき拡散防止措置」第七条では、遺伝子組換え生物等が漏出、逃亡その他拡散しない構造の二重に容器に入れることとある。しかしながら、現行のアルミケージでは落下等の強い衝撃が加わった際に蓋が開いてしまう危険性があること、また、運搬容器において二重の措置をしていなかったことから、当施設においては、カルタヘナ法に則り、次のように対処したので紹介する。

【移送用ケージの逃亡防止措置の内容】(1) 動物施設からマウス・ラットを持出し、所内研究室に移送する場合は、従来通り蓋付のアルミケージ[（マウス用：180×305×110mm、540g）、（ラット用：225×325×110mm、650g）]を使用することとした。(2) 移送用アルミケージが地上に落下した場合でも、動物が逃亡しないようにケージ本体と蓋が外れないように止金加工を施した。(3) 上記移送用ケージをさらに蓋付のプラスチックコンテナ（外寸 308×450×169mm、950g）に入れて、動物を研究室に運搬することとした（二重の逃亡防止策）。

【使用方法】使用方法は、飼育室において床敷を入れたアルミケージにマウスまたはラットを入れ、蓋（止金）をロックする。さらに、動物を入れたアルミケージをプラスチックコンテナに入れて蓋をして研究室に運搬するという流れである。使用済のアルミケージおよびプラスチックコンテナは洗浄・オートクレーブ滅菌後に再利用している。これまで、動物の逃亡等のトラブルも無く、不具合無く実施されている。

小動物用吸入麻醉器作製の試み

○高橋智輝、佐藤綾子、高橋恵理、深澤貴史、牛崎克哉、花木賢一
(岩手医科大学動物実験センター)

【目的】 本センターでは、実験動物の安楽死及び麻酔についてエーテルは労働安全衛生上、使用を禁止している。さらには、塩酸ケタミンの麻薬指定に伴う対応として、マウス・ラット等小動物に用いる吸入麻酔器の導入を進めている。しかし、複数台新規に導入する事は予算の都合からも容易ではなく、現段階で新規に導入したものは一台に留まっている。

そこで、我々は麻酔科学講座の協力を得て、不要となった麻酔気化器を再利用し、自作の小動物用吸入麻酔器を作製したので報告する。

【材料】

- ・気化器：セボフレン用、フォーレン用
- ・フローメーター：2.0ℓ
- ・麻酔ボックス：保存容器（タッパー：パッキン付）
- ・ホース：ブレードホース（緑・O₂用）、シリコンホース、ホースエンド
- ・その他：ジャックバンド、三又金具、タイトシール、ストップコック、カラーアングル、フラットバー

【注意点】

- ・気化器の固定：麻酔薬の補充、または排出等の都合から実験台から気化器まで一定の高さが必要であり、また気化器自体の重量がかなりあることから市販のカラーアングル、フラットバーを用い対応した。
- ・結合部等からのガス漏れ：ホース結合部にジャックバンド等を用い、麻酔ボックスにはパッキン付の保存容器を用いた。
- ・余剰ガス：ドラフト等の使用、または排気ダクトへ直結して排気する方法とした。

【まとめ】 麻酔気化器は無償提供、フローメーター、ブレードホースについては専用の物品が必要であったが、この他の麻酔ボックス、ストップコック、ホースエンド等はホームセンター等で市販されているものを用いた。それにより、一台当たりの単価が市販のものに比べかなり安価に作製することが出来た。

しかし、気化器の定期点検、余剰ガスを安全に排気すること等、課題も見られた。今後更なる改善が必要と考え、定期点検に係わる予算計上、維持麻酔用マスクの改良を進めて行きたいと考える。

動物飼育室におけるロールスクリーンの効果の検討

○小畑孝弘、佐藤政義、川越政美、柴田淑子、稲垣秀晃、松田幸久
(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)

【緒言】 従来の飼育室は作業部分とケージ部分を一つの空間としており、室内に給気された清浄空気はケージから発生する臭気と粉塵を含む汚染空気と直ちに混合される構造となっている。そのため作業に携わる研究者および飼育者の23%にアレルギー疾患等の問題があることが知られている¹⁾。当施設では平成20年度概算要求で建物の増改修工事を行うこととなったので、改修工事に合わせてアレルギー対策として、飼育室の一部に作業部分とケージ部分を区別するロールスクリーン(新日本空調製)を導入した。今回は、新たに設置されたロールスクリーンの使用時と非使用時の臭気(アンモニア濃度)および落下細菌数を測定することで、当施設におけるロールスクリーンの効果を検討したので報告する。

【実験方法】 測定は3飼育室(A飼育室:マウス820匹、B飼育室:ラット120匹、C飼育室:マウス500匹)で行い、床敷交換後6日目(AおよびB飼育室)または5日目(C飼育室)から連続2日間同時刻に測定し、1日目はロールスクリーンを開放した状態(ロールスクリーン非使用時)、2日目はロールスクリーンを閉鎖した状態(ロールスクリーン使用時)で実施した。各飼育室における測定地点は、作業部分7箇所とケージ部分の8箇所合計15箇所とし、2日間同地点で行った。アンモニア濃度測定はアンモニア検知管(ガステック社製)を用い、落下細菌数測定にはトリプトソーヤ寒天培地を使用し、ロールスクリーン使用時と非使用時の測定値をそれぞれ比較した。

【結果】 作業部分のアンモニア濃度は、3飼育室すべてにおいてロールスクリーン使用時のほうが非使用時よりも有意に減少した。落下細菌数は、使用時のほうが非使用時よりもAおよびB飼育室において有意に減少し、C飼育室では有意差は認められなかったが減少する傾向がみられた。

一方、ケージ部分のアンモニア濃度は、ロールスクリーン使用時のほうが非使用時と比べて、A飼育室では有意差は認められなかったが減少する傾向がみられ、B飼育室では変化がなく、C飼育室では有意に増加するといった、三種三様の結果が得られた。落下細菌数は、使用時のほうが非使用時よりもB飼育室において有意に増加し、残り2飼育室では有意差は認められなかったが増加する傾向がみられた。

【考察・まとめ】 以上の結果、ロールスクリーンは作業部分においてアンモニア濃度及び落下細菌数とも非使用時に比べて減少していたことからヒトに対してアレルギー対策効果のあることが示唆された。

計画当初の予想ではケージ側の飼育環境においてもアンモニア濃度および落下細菌数の低下を期待したが、予想に反し飼育環境の改善はほとんど認められなかった。このことの原因の一つとして、建物側の空調能力も考慮する必要があるだろう。各飼育室の換気回数は15回/時あることを確認しているが、ロールスクリーンを取り付けてケージ側の飼育環境を改善するには飼育室の換気回数を15回/時以上にあげる必要のあることが示唆された。

1) 小原徹 平成15年度奥羽・東北支部合同勉強会 特別講演 動物実験施設の環境統御—実験動物アレルギー防止対策—

セリウスソフト水の長期摂取がマウスに及ぼす影響（第1報）

○川越政美、佐藤政義、九島秀美、池田勝久、柴田淑子、小畑孝弘、戸井田和実、
稲垣秀晃、松田幸久

（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）

【緒言】

次亜塩素酸は芽胞菌を含むほとんどの細菌、カビ、およびウイルスに対して強力な殺菌力を有していることから、効果的な消毒薬として使用されている。また、ヒトの飲料水に添加されているほど安全性が高い。弱酸性水は次亜塩素酸と塩酸を成分とした中性～弱酸性、無刺激の消毒水であり、非常に高い殺菌力と安全性を有することから食材の洗浄などに使用されている。また、幾つかの動物実験施設において実験動物の飲料水に適するか否かの検討がなされている。当施設では以前から弱酸性水の一つであるセリウスソフト水（株式会社オーク）を飼育器具等の消毒や床の清掃・消毒に一部使用してきたが、昨年度の施設増改築に伴い、セリウスソフト水生成装置の設置と全館配管が行われた。そして現在、セリウスソフト水を実験動物の飲料水として応用することを検討中である。そこで、実際に飲料水として応用する前にマウス生体への影響を検証するため、遊離有効塩素 7ppm を含む弱酸性水を 12 週間摂取させる給水実験を実行中である。今回、その途中経過について報告する。

【実験方法】

マウス（ICR）40 匹を 20 匹ずつセリウスソフト水群（雄 10 匹、雌 10 匹）と滅菌水道水群（雄 10 匹、雌 10 匹）の 2 群に分け、5 週令より遊離有効塩素 7ppm を含むセリウスソフト水あるいは滅菌水道水をそれぞれ飲水させた。そして、飲水摂取期間中の体重変化、固形飼料の摂餌量、および飲水量を週に一度記録した。得られた結果について、セリウスソフト水群と滅菌水道水群とで比較した。

【実験結果】

今までデータの得られた実験開始後 8 週間について、マウスの体重変化および摂餌量においてセリウスソフト水群と滅菌水道水群との間に有意な差異は認められなかった。飲水量については、雄においてセリウスソフト水群の方が滅菌水道水群よりも有意に少なかったが、雌では有意な差異は認められなかった。

【考察・まとめ】

今回の実験から、途中経過ではあるが、セリウスソフト水を飲料水として使用してもマウスに与える影響は小さいことが示唆された。今後、実験開始後 12 週まで同様のデータ記録を行った後、被験動物の血清学的検査ならびに病理学的検査を実施する予定である。そして、すべての結果を総合的に考察し、セリウスソフト水の飲料水としての応用について今後さらに検討していきたいと考えている。

鎮静・鎮痛剤による非麻薬系混合薬のラットにおける麻酔効果

○遊佐寿恵¹、片平清昭¹、河又 淳²、河合澄子³、黒澤 努³
(福島県立医科大学実験動物研究施設¹)、千葉小動物クリニック²)、
大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室³)

【目的】動物実験の際、麻酔は動物福祉の点からも実験処置から生じる苦痛や恐怖を緩和するために重要である。ケタミンが麻薬指定されたことにより、実験者からは麻薬指定以外の薬剤でかつ高価な器具を使わない簡便な麻酔方法を教示してほしい旨の要望がある。河合らはケタミンに代わる麻酔薬として、塩酸メドミジン(以下 Med)、ミダゾラム(以下 Mid)、酒石酸ブトルファンール(以下 But) の三種混合薬がマウスの注射用麻酔剤として有用であることを報告した。我々も、マウス ICR を供試動物として上記混合薬投与効果について確認した結果、同様な結果が得られた。今回、この混合薬についてラットにおける麻酔効果を検討し、さらに、テレメトリー法を活用して深部体温の経過観察も行ったので報告する。

【方法】供試動物はラット Wistar オスである。投与量は河合らに準じた Med0.3 群 (Med 0.3 mg/kg BW、Mid 4.0 mg/kg BW、But 5.0 mg/kg BW)、混合麻酔薬を 1/2 量を投与する 1/2 群 (Med 0.15 mg/kg BW、Mid 2.0 mg/kg BW、But 2.5 mg/kg BW)、1/3 量投与する 1/3 群 (Med 0.1 mg/kg BW、Mid 1.3 mg/kg BW、But 1.7 mg/kg BW)、混合薬の Med のみを半量投与する Med0.15 群 (Med 0.15 mg/kg BW、Mid 4.0 mg/kg BW、But 5.0 mg/kg BW)、ペントバルビタールを 50mg/kg BW 投与する PB 群とした。腹腔内投与後 5 分ごとにサーミスター温度計 (日本光電製、MGA-III) を用い直腸温を測定した。同時に前肢の引込み反射、後肢の引込み反射、尾の反射、眼瞼反射から麻酔スコアを求め、スコア 3 以上を麻酔時間とした。また、データ取得分析装置 (DSI 製、ART/Gold4.2) を用いて 5 分ごとに体温、活動量、心拍数を測定した。

【結果および考察】三種混合麻酔薬をラットへ投与した結果、マウスと同じ用量の Med 0.3 群では呼吸数が減少し深くなる呼吸抑制減少が著しかった。スコア 3 以上の麻酔時間は、Med 0.3 群が最も長く、Med0.15 群、1/2 群、1/3 群、PB 群の順であった。また、麻酔薬の腹腔内投与後の体温は 1~2℃の低下であり、マウスのような著しい体温の低下は見られなかった。以上のことから三種混合麻酔薬はラットの場合も有用であることを知りえた。さらに、実験処置の目的に応じて投与量を Med 0.15 mg/kg BW、Mid 2.0 mg/kg BW、But 2.5 mg/kg BW、または Med 0.15 mg/kg BW、Mid 4.0 mg/kg BW、But 5.0 mg/kg BW を使い分けることも考えられるから、さらに詳細な追加実験を計画している。

分娩遅延胚移植仮親マウスに対するオキシトシン製剤の応用 — 自然交配妊娠マウスへの基礎的検討 —

○ 伊藤恒賢¹、野田純也²、青沼宇倫²、大和田一雄^{1,3}
(山形大・医・動物実験施設¹)、山形大・医学部3年²)、(独)産業技術総合研究所³)

【背景】胚を移植した仮親マウスに分娩遅延を確認することがある。これは妊娠胎仔数が少ない場合に認められ、娩出されない胎仔は過熟仔となり死亡し、仮親マウスは重度のストレスを受ける。従って、成書には胚を移植する仮親マウスとは別に、予め里親マウスを準備することが記載されている。しかし、里仔処理した仮親マウスは安楽死処分され、逆に仮親マウスが正常に分娩した場合は里親マウスが不要となる。仮親マウスが正常に分娩および哺育することが可能であれば、上記のような予備的な交配の必要がない。そこで我々は、オキシトシン製剤を用いた分娩促進作用を分娩遅延胚移植仮親マウスに応用することを計画した。オキシトシン (Oxytocin) は視床下部で合成され下垂体後葉から分泌されるペプチドホルモンであり、末梢組織では主に平滑筋の収縮に関与し分娩時の子宮収縮や乳腺の筋線維を収縮させて乳汁分泌を促すなどの働きを持つため、子宮収縮薬や陣痛促進剤として使用されている。

今回の実験では基礎的検討として、自然交配による妊娠雌マウスに対するオキシトシン製剤の分娩促進効果及び安全性を検討した。

【材料と方法】18-19 週齢の Jcl:ICR 雌マウスを用いて同系統の雄マウスと交配し妊娠個体を作成した。妊娠 19 日目の午後 2 時にオキシトシン製剤 (アトニン-O、あすか製薬社製) を 1 匹当たり 0.25IU (0.25IU 群、n=5)、0.5IU (0.5IU 群、n=5)、1.0IU (1.0IU 群、n=5) の用量で鼠蹊部皮下に投与した。対照 (対照群、n=4) には 0.4ml の生理食塩水を投与した。上記 4 群 (n=19) について、投与後 2 時間までの分娩の有無、産仔数、死産数を観察した。未分娩の個体については翌朝午前 9 時に再度確認し、以後離乳時まで哺育状況を観察した。上記における各群の 2 時間分娩率、総産仔数、総乳仔死亡数を比較検討した。

【結果】0.25IU 群、0.5IU 群、1.0IU 群及び対照群の 2 時間分娩率 (2 時間以内に分娩した母数/例数×100) は、それぞれ 40、80、20 及び 0%であり、翌日の午前 9 時 (妊娠 20 日目) までにはほとんどの個体 (対照群の 1 匹を除く) が分娩を終了した。各群の総乳仔死亡数はそれぞれ、5、5、15 及び 3 匹であり、乳仔死亡率 (乳仔死亡数/総産仔数×100) は 9.1、8.2、24.2 及び 5.8%であった。

【考察】オキシトシン製剤は明らかな分娩促進作用を示し、特に 0.5IU 群に良好な成績を認めた。0.5IU 群の乳仔死亡率から分娩仔への安全性も認められ、妊娠 19 日目の妊娠マウスに充分に応用可能と考えられた。今後は、現実的投与時期である妊娠 20 日目の妊娠マウスに応用しオキシトシン製剤の効果を検討する予定である。