

平成 20 年度名古屋大学技術職員研修(生物コース)を受講して

○森ララミ^{A)}、三澤伸明^{B)}、正岡実^{B)}

^{A)} 部局系技術支援室 研究所・センター技術系 (環境医学研究所)

^{B)} 部局系技術支援室 医学技術系第 1 医学系

概要

我々は昨年 8 月に行われた平成 20 年度名古屋大学技術職員研修生物コース「マウス・ラットの飼育管理から実験手技まで」を受講した。研修は実習形式で主に行われ、マウス・ラットの基本的な取り扱い方を学んだ。今回はこの研修で学んだ、実験動物技術者、実験者として必要とされる知識や技術を紹介する。

1 はじめに

2006 年 6 月から動物実験に関する法律等が改正され、動物実験を取り巻く環境は大きく変化した。このことにより、動物実験は科学的に行われるのはもとより、動物福祉の観点からも適正に行われることとなった。現在、動物実験を実施する機関では、動物実験に関する規定が定められ、動物実験委員会で実験計画書の審査を行い、機関等の長から承認された実験のみが行われている。そして国際的に広く普及している 3R (Replacement、Reduction、Refinement) の原則を尊重しつつ、適正な動物実験の実施を図ることが求められるようになった。

動物実験の場における飼育管理業務とは、単に動物に餌や水を与え世話をするという作業ではなく、“実験動物を一定の条件下で健康に維持するために行われる総合的作業”をいう。また、実験動物の適正な取り扱いと実験手技は動物に対するストレスを減じ、実験成績のバラツキを少なくすることに役立ち、実験者自身の安全にもつながる。今回は研修で学んだ動物実験に関わる技術者や研究者に必要とされる知識や技術を紹介する。

2 動物実験とは

動物実験とは、実験処置によって動物が示す反応を観察し、その反応を通して加えた実験処置がヒトや他の動物種にどのような効果をもたらすかを推測することにある(外挿)。そのためには、個体や場所、時間(年月)による違いがほとんどなく、反復実験において同じ成績が得られること、つまり再現性が重要である。この再現性を得るためには、実験動物の遺伝学的統御と微生物学的統御が重要である。

実験動物とは、研究、教育、試験、生物学的製剤の製造、その他科学上の使用のため、その目的に沿って繁殖、生産される動物(実験動物として使うために生産された動物: パーパスブレッド)である。上記の厳密な意味での実験動物(狭義の実験動物)以外に、いわゆる家畜、ならびに野生動物が試験、研究に使われる。これらをまとめて呼ぶときは、実験用動物という言葉が使われる。

3 適正な動物実験に向けて

再現性のある実験結果を得るためには実験条件を十分整えて実験を行う必要がある。とくに動物実験に関しては影響を及ぼす要因が多数存在するのでそれらの要因を充分考慮する必要がある(図 1)。

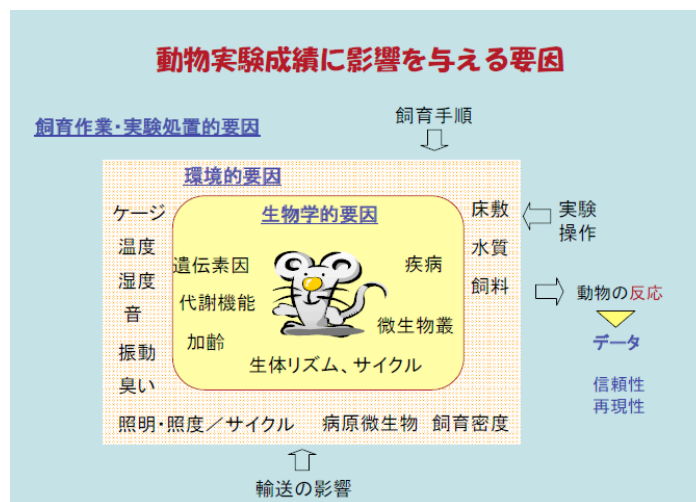


図 1. 実験成績に影響を与える要因

また動物実験は適正な実験であることを前提とし、単に「科学的に適性である」のみならず、「社会的に適性である」ことも重要とされ、以下に述べる条件を満たすことが求められている。いずれに片寄ってもいずれが欠けてもならない。

- 科学的であること

個体や反応のバラツキを小さくするため、十分考慮された条件のもと動物が飼育され、実験に供されねばならない。つまり、動物を健康に維持し、飼育と実験の環境を一定に保ち個体差の幅を少なくし、正確な実験技術で特徴のある反応を引き出すことが求められる。

- 人道的であること

動物の生命を尊重し、生理・習性をも考慮し、動物への苦痛を軽くするように実験を計画・実施しなければならない。実験を計画・実施する際は、3R (Replacement、Reduction、Refinement[※]) の原則を考慮する必要がある。

※ **Replacement** (置き換え)

できるだけ動物にたよらない方法を計画、検討するべきということである。丸ごとの動物の代わりに単細胞生物や微生物、培養細胞・組織を用いた手法を利用しようとするものであり、単純なものへと置き換えていく代替法を検討することをいう。

Reduction (削減)

使用する動物の数の最小化に努め、実験計画を十分に練り、精度の高い実験を実施することである。最小化というのは単に数を減らすことではなく、求める結果を得るための最小数を使用することを意味する。

Refinement (洗練)

動物の苦痛の排除と軽減に努力するべきである。**Refinement** 実施には、適切な指導者による教育・訓練が必要である。

- 法や機関の内規が遵守されていること

わが国の動物実験は「動物の愛護および管理に関する法律」、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」および文科省、厚労省、農水省の定めた動物実験指針並びに日本学術会議の「動物実験適正な実施に関するガイドライン」に従って、自主管理されることとなっている。このことから、研究者や実験技術者は、社会的責任を持って動物実験を実施する責任がある。

4 実験動物技術者とは

実験動物技術者は動物実験を行ったり、実験動物の飼育管理を行ったりと、実験動物に関する業務全般を行う。動物実験は実験結果の信頼性が非常に重要である。飼育管理は動物の状態と飼育環境を適正に維持・管理し、信頼性の高い結果を得る上で重要な役割を持つ。そのため実験動物技術者は、動物および飼育環境の変化や異常を察知し、的確な判断と対処ができる知識と技術が要求される。

欧米では、実験動物の取り扱いに免許が必要とされる。日本の場合、大学等の研究機関では、独自の講習会によるライセンス制度が普及し始めてはいるが、実験動物の取り扱いに国家資格に準じる免許制度は存在しない。日本で関連する資格としては、社団法人日本実験動物協会による「実験動物技術者」認定試験がある。認定試験は学科試験と実地試験からなり、いずれも高度な専門性を問われる。試験内容には知識や技術だけでなく、実験動物と社会、動物福祉に関する内容についても含まれている。資格は一級と二級があり、受験には協会が定めた一定の実務経験を有する必要がある。

5 マウス・ラットにおける実験に必要な手技

5.1 保定法

保定とは、動物にできるだけストレスを与えずに動物の行動を制限することである。このことは、実験者自身が動物から危害を受けずに（噛まれない、引っつかれない）実験操作を行うことにも役立つ。正しい保定は、投与や採血などを正確に行うために必要な基本的手技である。

5.2 性別判定

マウス・ラットの性別は生後3～4週齢になると容易に「肛門と外部生殖器の距離」（図2、赤矢印）と「外部生殖器の様子」で判定できる。雌は肛門と外部生殖器の距離が短く、外部生殖器の突出が少ない（図2、左写真）。雄は肛門と外部生殖器の距離が長く、外部生殖器の突出が大きいことや、精巣が下降していることから判定する（図2、右写真）。幼若な場合（特に出産後数日の個体）は、肛門と外部生殖器の距離、外部生殖器の突出の程度あるいは乳房の数（マウスの雌では5対、ラットの雌では6対、雄では1対のみ）により判定することができる。

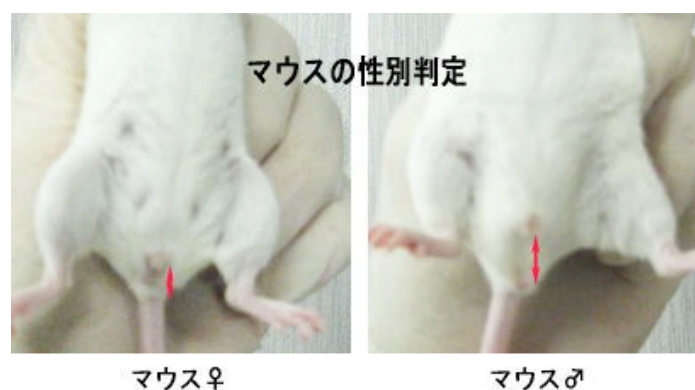


図2. マウスの性別判定

5.3 個体識別

個体別に管理するため体に番号を表す目印をつけることをいう。マウスでは耳パンチ法が広く用いられているが、他にも入墨法やマイクロチップ法、色素塗布法などがある。個体識別は、動物を取り間違えないために必要な手技である。

5.4 薬物投与方法

投与にあたっては、被検物質などが正確に投与部位に注入されなければならない。異なった部位に注入されると、吸収の時間が短縮、延長されたり、血管周囲の炎症をおこしたりし、実験結果にバラツキが生じる原因となる。投与方法には、経口投与、腹腔内投与、皮下投与など様々な手法があり、実験の目的に合った方法を選択して行う。

5.5 採血法

採血は、動物の致死させることなく数回にわたって比較的少量の血液を採取することのできる一部採血法と、動物を致死させるが一度に大量の血液を採取できる全採血法に大別される。実験目的や必要とする血液量、採血回数を考慮して適切な採血法を選択する必要がある。また、採血は動物に苦痛を与える処置であるので、必要に応じて麻酔を施す。

5.6 安楽死法

実験動物の致死の実施は、「動物の処分方法に関する指針」の原則に則り、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」に従って、できるかぎり動物に苦痛を与えない方法（安楽死）を選択しなければならない。安楽死処置に使用する薬剤や方法は、動物種および実験目的に応じて選択する。実験動物を用いて実験を行っている者は自らの責任において実験動物の安楽死処置を実施する。

6 まとめ

実験動物の適正な飼育管理と実験手技は、動物に対するストレスを減じ、実験成績のバラツキを少なくする（再現性の確保）に役立つ。今回の研修では、動物実験を取り巻く環境を知ることができ、いかに綿密な計画を持って動物実験に臨まなければならないかが判った。また、マウス・ラットの基本的な取り扱い方から実験手技のポイントを実技形式で丁寧に指導していただいた。今後もより理解を深め、動物実験や実験動物を取り巻く環境の変化を自ら察知し、対応できるようになりたい。

7 謝辞

今回の研修に際して、ご指導を頂きました医学系研究科附属医学教育研究支援センター実験動物部門の小木曾昇技術班長、大矢康貴技術職員、矢野久美子技術職員に深く感謝いたします。また、研修に協力していただいた実験動物部門の皆様に感謝いたします。

参考文献

- [1] 小木曾昇, 大矢康貴, 矢野久美子 (2008): マウス・ラットの飼育管理から実験手技まで, 平成 20 年度名古屋大学技術職員研修テキスト.
- [2] 社団法人日本実験動物協会 (2004): 実験動物の技術と応用 入門編. アドスリー.
- [3] 社団法人日本実験動物協会 (2004): 実験動物の技術と応用 実践編. アドスリー.
- [4] 大和田一雄, 笠井一弘 (2007): アニマルマネジメント 動物管理・実験技術と最新ガイドラインの運用. アドスリー.