

関西実験動物研究会会報

Kansai Journal of Laboratory Animals

平成 4 年 11 月 11 号

関西実験動物研究会

Kansai Laboratory Animal Research Association

目 次

< 第 2 7 回研究会 >

講演会

1. 輸入カニクイザルのエボラウィルス感染

山内 一也（東京大学医科学研究所） 1

2. WHHL rabbit の開発と現況

渡辺 嘉雄（前神戸大学医学部） 8

< 第 2 8 回研究会 >

会員の研究発表 24

特別講演

実験動物の環境統御

山内 忠平（元鹿児島大学医学部動物実験施設） 38

< その他 >

関西実験動物研究会だより 61

会員の動き 62

編集後記

輸入カニクイザルのエボラウイルス感染

東京大学医科学研究所*

山 内 一 也

1989年11月に米国の霊長類施設に輸入されたカニクイザルからエボラウイルスが分離された。当初はアフリカで人に高い死亡率を示したエボラウイルスそのものの感染が疑われ、バイオハザードの観点からサルの輸入規制を初め多くの社会的反響を引き起こした。幸い、その後の検討の結果、人での病原性はほとんどない可能性が示されてきた。

この事件は実験動物関係者に大きな衝撃を与えた。また一方、野生サルの輸入検疫に関連する重要な問題を提起した。本稿ではその経緯を簡単にまとめるとともに、いまだ断片的ではあるがこれまでに報告された疫学およびウイルス学的知見を紹介する。

なお、本ウイルスについては当初はエボラウイルスの名称が用いられていたが、後述するように分離ウイルスの性状が人から分離されたエボラウイルスとは若干、異なり、とくに本ウイルスの感染で発病した人がまったくみつからなかったことから、エボラウイルスと区別してフィロウイルスの名称が用いられることが多くなってきている。1990年ベルリンで開かれた第8回国際ウイルス学会での報告を見るとエボラウイルス、フィロウイルス、エボラ関連ウイルス、エボラ様ウイルスとさまざまな名称が用いられている。本稿ではエボラウイルスの名称を用いることとする。

(1) 人でのエボラ出血熱

エボラ出血熱の最初の発生は表1にまとめたように1976年、スーダンのザイール国境近くで起こり、つづいてザイールで起こった。スーダンでは284例の発生があり151名(53%)が死亡した。ザイールでは318名の患者発生があり、そのうち280名(88%)が死亡した。その後1979年にスーダンでふたたび発生した。この致命率はそれまでに知られていたマールブルグ病(23%)やラッサ熱(41%)をはるかに上回るもので、公衆衛生関係者に非常に大きな衝撃を与えた。米国では米国人がもしもエボラ出血熱になって帰国を希望した際のために、トレーラーを改良して航空機に積み込める完全隔離のMobile Quarantine Unit (図1)を急ぎょ製作したほどである。

その後の検討の結果、少なくともザイールでは病院内で汚染注射器などを介して濃厚感染が起こりそのために致命率が極めて高くなったことが推測された。

* (現所属：日本生物科学研究所)

表1 ラッサ熱、マールブルグ病およびエボラ出血熱
— 疫学、臨床およびウイルス学的特徴 —

	ラッサ熱	マールブルグ病	エボラ出血熱
病原体	ラッサウイルス	マールブルグウイルス	エボラウイルス ザイール株 スーダン株
分類	アレナウイルス科	フィロウイルス科	フィロウイルス科
自然宿主	マストミス	?	?
潜伏期(日)	7 ~ 10	3 ~ 9	4 ~ 16
致死率	41% (48/118) 1969 ~ 1976	23% (8/35) 1967, 1975	88% (280/318) 1976 53% (151/284) 1976 67% (22/33) 1979
死亡日(病日)	7 ~ 14	8 ~ 17	4 ~ 10
ウイルス分離(最長病日)			
血液	19	13	13
尿	32	+	—
咽頭ぬぐい液	19	+	—
糞便	—	—	—
前眼房水		80	
精液		83	61

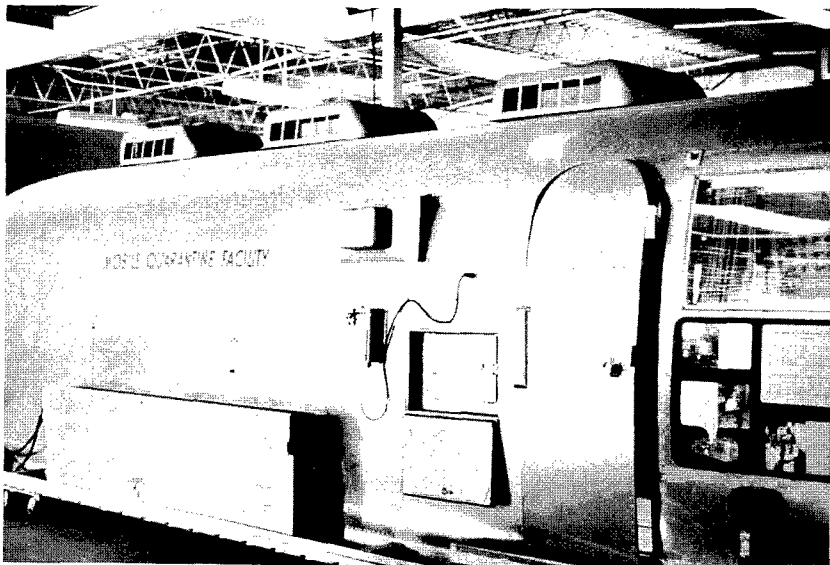


図1 CDCが製作した患者輸送用トレーラー

今回、輸入サルでのエボラウイルス感染で米国の公衆衛生当局が非常に厳しい対策を急ぎよったのはかつてのエボラ出血熱の際の記憶が強く働いたものと思われる。

原因ウイルスはスーダンとザイールでそれぞれ分離され、発生地域の近くのエボラ川の名前をとってエボラウイルスと名づけられた。エボラウイルスはマールブルグウイルスと形態的に似ており、抗原性にも共通性がある。現在、両ウイルスはフィロウイルス科に分類されている。

エボラウイルスの自然宿主についてはサルをはじめ多くの動物が調べられたがいまだに分かっていない。

(2) 輸入カニクイザルでのエボラウイルス感染の経緯

1989年10月4日にカニクイザル100頭がフィリピンからバージニア州レストンのヘーゼルトン霊長類検疫施設に送られてきた。最初の4週間の検疫中はとくに異常は見られなかったが11月の第1週に6頭が死亡し、異常死亡が目された。臨床的にサル出血熱の疑いがあったため、米国陸軍感染症研究所 (US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases : USAMRIID) にサンプルが送られた。11月16日にサル出血熱ウイルスが予想通り分離されたが、11月28日になって電子顕微鏡と蛍光抗体法でエボラ様ウイルスの存在が認められた。ついでウイルスが分離され、エボラウイルスと同定された。

ここでサルのエボラウイルス感染であることが確認された。この時点から一連の公衆衛生対策がとられることとなった。12月6-8日には残りのサルがすべて安楽死させられた。

感染経路についてはサルがフィリピンからアムステルダム空港経由でニューヨーク・ケネディ空港に送られて来ていたので、これらの空港でアフリカ産野生動物から感染したことが疑われたが、その可能性はほとんどないことが分かった。

一方、フィリピンから太平洋航路で輸入したカニクイザル (JAL が1便、China Air が3便) のうち、少なくとも3つの群からエボラウイルスが分離された。

米国ではサルを含めた野生動物は研究用のみが輸入を許可されており、その検疫は疾病管理センター Center for Disease Control (CDC) の管轄になっている。CDCは1月19日にサル類の輸送と検疫期間中の取り扱いガイドラインを発表した。3月中旬には米国最大の輸入業者4か所の検疫施設を査察し、3月22日にバックシャー・コーポレーションを除く3業者 (ヘーゼルトン、チャールスリバー、ワールドワイド・プライメイツ) の輸入ライセンスを停止した。米国のサル類の年間輸入数は総計22,000頭で、そのうちカニクイザルは15,000頭を占め、上記の4社がその90%を取り扱っている。

一方、ニューヨーク州衛生局は3月21日、カニクイザル、アカゲザル、アフリカミドリザルについて原産国で60日間の検疫を行ってエボラウイルス抗体の検査をしない限り、輸

入を禁止する処置をとった。これは事実上、全面的輸入禁止の処置である。ニューヨークは米国に研究用に輸入されるサルの約80%が到着する場所である。

アムステルダム、フランクフルト、西太平洋の各空港でも輸入サルの取り扱いを停止した。日本航空も同様の処置をとった。

これらの一連の処置により米国をはじめ我が国でも研究用サルの入手がストップする事態となった。

(3) 分離ウイルスの性状と病原性

1989年11月以降にフィリピンから輸入されたカニクイザルの7群がエボラウイルスに感染していたことが明らかにされた。

最初のウイルス（レストン株）はUSAMRIIDで分離された。このサルは顕著な脾臓の腫大と高い血清LDH値を示しており、サル出血熱ウイルス感染が疑われた。そのため、サル出血熱ウイルス分離に適したMA104細胞が用いられた。結果的にこの細胞の方がエボラウイルス分離に普通用いられるVero細胞よりも適していたことが分かった。この後、ペンシルバニア株も分離された。

これらのサル由来ウイルスと1976年に人から分離されたエボラウイルス・ザイール株とスーダン株との比較検討が行われている。まだ詳しい成績は発表されていないが、1990年の国際ウイルス学会での発表でみると、サル由来エボラウイルスは人由来のザイール株およびスーダン株と共通抗原性を示すが、大分異なっており、また、遺伝子構造の面でも差があることが示されている。

感染したサルを収容した検疫施設で働いていた技術者のうち4人は抗体検査の結果、最近感染を受けていたことが分かった。とくにそのうちの1名は感染サルの解剖中に指に怪我をしたため、怪我をした後、毎日血液を検査したがウイルス抗原は検出されなかった。これらの4名いずれもまったく発病はしなかった。

この結果からサル由来のエボラウイルスが人への感染は起こすが人での病原性は低いことが明らかとなった。

サルへの感染実験では3日後にウイルスが血液中出现し、9日で抗体が陽性になった。リンパ球や血小板の減少、LDHの上昇が認められた。そのほかの詳しい臨床経過については報告が見当たらない。サルでの病原性は人由来のザイール株がもっとも高く、ついでスーダン株が高く、サル由来のレストン株は低いといわれている。マウスでも同様の結果といわれている。

1989年11月の検疫施設での自然感染では403頭中163頭（40%）という高い死亡率が見られたのであるが、この際にはサル出血熱ウイルスの混合感染がこのように高い死

亡率の原因になっていることが推測されている。エボラウイルスだけに自然感染していたのであれば死亡率はもっと低かったのではないかと想像される。

サルでの持続感染の可能性は非常に低い。テキサス霊長類センターでの自然感染の際に生存した6頭についてウイルス分離とPCRによるウイルス遺伝子の検出が試みられたが、陰性であった。

(4) 人およびサルでのエボラウイルス抗体

サルのエボラウイルス感染が起こった米国の施設での関係者の抗体調査の結果は表2に示す通りである。

表2 エボラウイルス感染の起きた施設での抗体調査

施 設	サルへの接触者数／検査数		抗体陽性者数 (%)
バージニア (第1回発生時)	149	138	14 (10)
ペンシルバニア	14	14	0 (0)
テキサス	17	17	1 (6)
バージニア (第2回発生時)	39	39	4 (10)

フィリピンのサル輸出施設では187名中14名に抗体が検出された。

これらの結果を受けて米国では1090人の血清について蛍光抗体法(16倍以上を陽性)とWestern blotで抗体検査が行われた。これには1990年3-5月に8つの州の11か所の霊長類関連施設で採取した641名(その内訳は実験動物関係者332名とその他の仕事に従事している人またはその家族の計309名)の血清が含まれている。実験動物関係者の血清はカテゴリー1(検疫動物との接触のあったもの)とカテゴリー2(動物との接触が稀またはまったくなかったもの)に分けられた。対照として一般病院の外来患者449名の血清が用いられた。その結果は表3に示す通りである。カテゴリー1の実験動物関係者で高い抗体陽性率が見られる。一方、病院の外来患者12名が陽性である点が注目される。

さらに実験動物関係者では危険要因として、感染サルとの接触、年齢、サルでの作業年数、作業内容(ケージ洗浄から解剖まで多岐にわたる)、噛まれた経験、引っかかれた経験、切り傷の経験、注射針を刺した経験、過去6か月に病気になった経験などについて相対的危険度が解析されたが、いずれについても有意な結果は得られなかった。

1990年以前の実験動物関係者の血清についてはマスクと作業衣の使用状況の面から抗体陽性率が解析された。その結果は表4に示す通り、マスクの使用と作業衣の着用が抗体陽性率と関連することが示された。

表3 米国でのエボラウイルス抗体調査

	検査数	抗体陽性者数 (%)
霊長類関連施設		
動物飼育者 (カテゴリー 1)	157	23 (14.6)
(カテゴリー 2)	175	10 (5.7)
実験室勤務	153	9 (5.9)
その他	69	2 (2.9)
仕事不明	70	1 (1.4)
家族	17	0 (0)
対照 (病院外来患者)	449	12 (2.7)

カテゴリー 1 : 検疫動物との接触のあったもの

カテゴリー 2 : 動物との接触は稀またはまったくなかったもの

表4 霊長類関連施設従事者の1990年以前の血清についての調査

マスクの使用	作業衣の着用	抗体陽性率	p
良好	良好	3.9	1.0
良好	不良	7.8	0.26
不良	良好	14.3	0.26
不良	不良	31.3	0.0009

良好 : 常時または普通に使用

不良 : 時折使用またはまったく使用せず

ドイツでは1288名の人血清について調査が行われ89名(7%)で抗体が陽性であった。

サルでの抗体調査結果は断片的にしか報告されていない。CDCの調査ではカニクイザル987頭中の97頭(9.8%)、アフリカミドリザル224頭中17頭(7.6%)、アカゲザル96頭中11頭(11.4%)が抗体陽性であった。地域別ではフィリピン産よりインドネシア産のカニクイザルの方で高い抗体陽性率が見られたともいわれている。

一方、ヨーロッパでの調査ではフィリピン産のカニクイザル31頭中12頭(39%)、中国産アカゲザル37頭中6頭(16%)が陽性であったといわれている。

このような人およびサルでの抗体の存在が何を意味するのかは明らかでない。サルの中で新しいフィロウィルス科のウイルスが広く存在している可能性を示すものとみなされるが、

一方、ほかのウイルスとの交差反応の可能性など抗体検出法の特異性についての疑問も出されている。

(5) おわりに

輸入サルからのエボラウイルス感染はたまたまサル出血熱の疑いで検査が依頼された研究所（USAMRIID）がエボラ出血熱についての経験が豊富であったことから見いだされた。サルでのエボラウイルス感染はかつてのミドリザルのマールブルグ感染を思い起こさせた。幸い、今回のウイルスは当初予想されたように人に対して強い病原性を有するものではないことが明らかになってきたが、野生サルの輸入に係る多くの問題を提示している。

現在になってみると過剰ではなかったかとの批判もあるがCDCをはじめとする米国の対応は、はっきりした対応をしなかった我が国とは対照的である。米国では野生動物の輸入は研究用のみが許可され、CDCが検疫を受け持っている。一方、我が国ではサルの輸入は研究用のみならずペット用まで野放しで、国家検疫の制度も存在しない。

実験動物関係者がエボラウイルス感染の実態を理解し、適切な対応をすることは不可欠であり、本稿がその目的にいささかでも役立つことを期待するとともに、サル類の国家検疫制度の確立が必要であることをあらためて強調しておきたい。（1991年6月）

はじめに

遺伝性高脂血ウサギであるWHL（Watanabe heritable hyperlipidemic）rabbit は1973年に渡辺によって一匹の高脂血症の mutant が発見され、1979年に系統として確立されたヒトの家族性高コレステロール血症のモデル動物である[16][18]。家族性高コレステロール血症（Familial hypercholesterolemia, 以下FHと略す）の患者は、生下時より血中コレステロールが異常高値を示し、若齢時から冠状動脈の粥状硬化症が発症し、そのホモ接合体の患者は20歳位で心筋梗塞で死亡し、ヘテロ接合体の患者は40歳位から心筋梗塞が発症するといわれている。したがってFHの患者は古くから欧米諸国では深刻な遺伝病として注目され、研究が続けられてきた。

FHに関する研究が飛躍的に進展したのは、1974年から1977年にかけて、テキサス大学の Goldsteinと Brown両教授によって、コレステロール代謝にはLDL（Low density lipoprotein）受容体が最も重要な役割を果たすというLDL pathway学説が提唱され、同時にFHの患者には、LDL受容体が先天的に欠損していることが発見されてからである[4][5]。次いで1980年にWHL rabbit（以下WHLと略す）にはFHの患者と同様にLDL受容体が先天的に欠損していること、高コレステロール血症、動脈粥状硬化等の病態が著しくFHに類似していること等が確認されて[1][2][9][13]、ヒトではできない臓器レベル、in vivo の実験が可能となり、FHに関する研究はさらに促進された。

1985年に Goldstein, Brown 両教授がノーベル医学生理学賞を受賞したが、その研究にWHLが深く関与したことから、脂質代謝、動脈硬化、虚血性心疾患の研究に不可欠の病態モデル動物としてWHLは国際的に評価されるようになり、現在では欧米諸国のみならず、全世界の研究機関で利用されるようになった。以下WHLの系統開発の経過と病態等について述べる。

開発の経過

WHL系の Origin となった一匹の mutant は1973年に全く偶然に発見された。当時われわれは実験用ウサギの給餌法の省力化を目的とした栄養実験を行っていた。その実験中に血中コレステロールが 278 mg/dl（正常ウサギは30-50 mg/dl）と異常に高い値を示

した一匹の雄ウサギを発見した。もともと草食動物であるウサギは脂質の代謝調節作用が弱く、コレステロール等の脂質の負荷に良く反応し、高脂血症、動脈粥状硬化症（以下動脈硬化）を発症しやすいことから、古くからこれらの研究に利用されている。われわれが発見したコレステロールの異常高値を示したウサギも、当初コレステロールを負荷されたウサギがまぎれこんだもので、いずれ遠からずコレステロール値は正常値になるだろうと考えていた。しかし数カ月経時的にコレステロール値の測定を行ったが異常高値は続いた。そこでこのウサギの24項目の血清化学成分を調べたところ、総脂質、コレステロール、 β リポ蛋白だけが異常高値を示し、他の測定項目はすべて正常ウサギと変わらなかった。またリポ蛋白の電気泳動所見では正常ウサギと比較して、Pre- β と β バンドが濃染され、 α バンドがほとんど染色されない異常なパターンであった。その他糖負荷試験、眼底検査、血圧と心電図の経時的測定等を行ったが正常ウサギとの間に顕著な差はなかった[16][18]。

このウサギは発見後6カ月経過しても血中のコレステロール値が低下しなかったため、遺伝性のものかもしれないとの期待を抱いて育種実験を試みた。ところがこのウサギは予想されたことではあったが、健康状態とともに生殖能力も正常ではなかった。したがって人工授精等も試みながら悪戦苦闘した。その結果、やっと40匹のF₁を獲得することができた。しかしF₁では高コレステロール血症ウサギは一匹も出現しなかった。F₂において高コレステロールウサギが出現し、高コレステロールウサギと正常ウサギ（表現型）の割合は、親子交配の場合は1 : 1、兄妹交配の場合はほぼ1 : 3であった。明らかに遺伝性であることが確認された。以後集団内での高脂血ウサギのrandom mating を続けてきたが、繁殖能力も抗病性も弱く、奇形の続出等で幾度びか系統消滅の危機に見舞われた[19]。この繁殖能力、抗病性の低下は近交退化によるものではなく、後述するが、WHHLでは副腎にもLDL受容体が欠損していることが主たる原因と考えられた [11][12]。即ち、WHHLの場合、副腎で合成されるステロイドホルモンの合成素材であるコレステロールを、LDL受容体が欠損しているために効率的に血中から取り入れることができない。したがってWHHLの副腎では、副腎自体でコレステロールの生合成を続けることになり、副腎のover work による機能の低下が考えられている。

1979年になって繁殖能力も抗病性も開発当初に比較して格段の向上がみられ、かつ奇形等の不良因子も除去され、遺伝性の病態の概要も促えることができて、封鎖集団系が確立した。この間に生産された 154 匹のWHHLの1カ月齢の血清コレステロールの平均値は518 mg/dlであった。また5カ月齢以上のWHHL 61 匹を剖検した結果、61匹全部に大

動脈硬化の自然発生が認められ、約60% に黄色腫の発生が認められた。WHHLにはコレステロール負荷ウサギにみられるような肝臓の脂肪変性（脂肪肝）は1例もなく、明らかに内因性の脂質代謝の異常であることが分かった[16]。

1980年になってWHHLのLDL pathwayについて調べた。当時はすでに Goldstein, Brown のLDL pathway学説は定説となり、ヒトの遺伝性高脂血症はI型からV型に分類されていたが、LDL受容体が欠損した家族性高コレステロール血症（FH）はIIa型として新しく分類されるようになった。WHHLの所見を以前の分類に当てはめるとII型かIII型類似であったが、LDL pathwayの実験によって、WHHLはLDL受容体が正常ウサギの5%程度しか機能していないことが判明し、IIa型に分類されるタイプであることが明らかとなった [1][2][9][13]。

WHHLが欧米諸国で利用されるようになってからFHとWHHLとの間に、ヒトと動物との種差に起因する点を含めていくつかの相異点が見出されていた（後述）。そのうちFHで最も重視され、心筋梗塞に直結する冠状動脈硬化症の発生率が、WHHLでは著しく低率であることが指摘された。このことは虚血性心疾患を研究する上で非常に不利であった。そこでわれわれは1980年から約4年半かけて選抜交配による冠状動脈疾患好発系の開発を試みた。その結果図1にみられるように、冠状動脈の狭窄病変は、未成熟齢である生後4カ月齢ですでに40%のWHHLに発生するようになり、加齢とともに発生率は高率となり18カ月齢以後ではすべてのWHHLの冠状動脈に高度の狭窄病変が発生するようになった[17]。

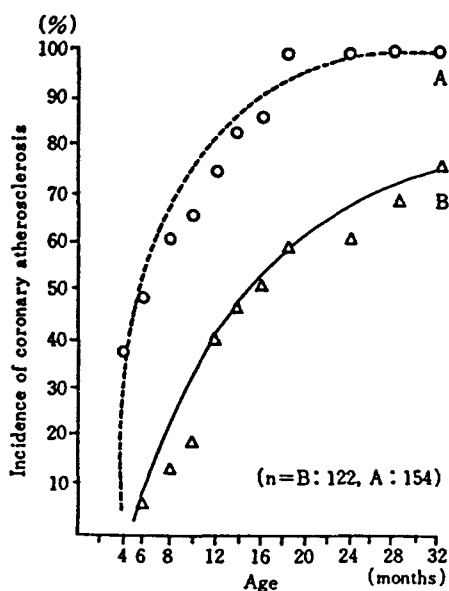


図1 冠状動脈疾患好発系 WHHL-rabbit
の選抜効果 選抜交配前(B: △——
△)と選抜交配後(A: ○-----○)
の発生率

1985年に冠状動脈疾患好発系の開発に成功したが、この系ではなお心筋梗塞の高率な発生には至らなかった。そこで1986年からさらに選抜交配を続けて心筋梗塞好発系WHHLの開発に着手した。すなわち心筋梗塞は冠状動脈に75%以上の狭窄病変がある場合に多発することが知られているので、冠状動脈に75%以上の狭窄病変が発生する系の作出に向けて選抜交配を行った。その結果図2にみられるように冠状動脈の狭窄病変は7カ月齢の成熟期になるとこの系の全部に発生し、7-18カ月齢における狭窄病変面積（病変面積／管腔面積）の平均は70%に達し、また75%以上の狭窄病変が発生したこの系のWHHLは全体の80%近くになった[20]。現在もまだこの系の開発は続けられている。以上がWHHL系の開発の経過の概要である。

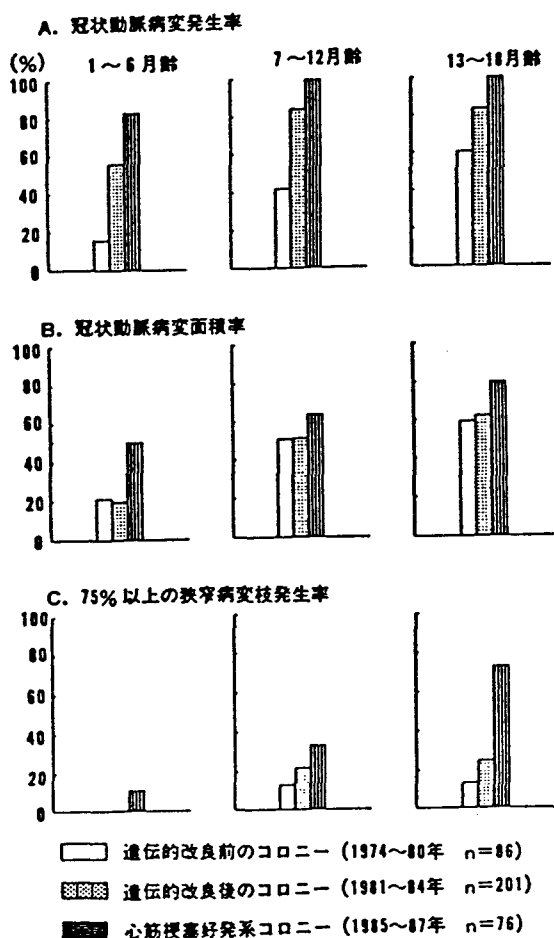


図2. WHHL rabbitの遺伝的改良による冠状動脈病変の発生状況

WHHL rabbit の病態

1. 脂質代謝異常

表1に1989年に生産した118匹のWHHLの離乳時の血清脂質値を示した。系統として確立した当時（1980年）の血清コレステロール（以下、Ch）値は、前述したように平均518 mg/dlであったが、冠状動脈疾患好発系、心筋梗塞好発系等の開発のための選抜交配を重ねたことによって、Chの平均値は正常ウサギの約20倍に相当する810 mg/dlとなった。また血清トリグリセライド（以下、TG）は正常ウサギの約10倍の高値となった。各リポ蛋白に含まれるChの量は、とくに悪玉コレステロールといわれ、動脈硬化の危険因子といわれるLDLの中には、WHHLでは533 mg/dlで、正常ウサギの6.2 mg/dlの約90倍も多く含まれている。逆に組織からChを回収する作用をもつところから、善玉コレステロールといわれ、動脈硬化の防御因子といわれているHDL（High density lipoprotein）の中には、WHHLでは正常ウサギの1/3である。このようなWHHLの高LDL血症、低HDL血症はLDL pathwayの異常に起因している。

表1. WHHL rabbit の血清脂質値とリポ蛋白コレステロール濃度

血清脂質 (mg/dl)	正常ウサギ	WHHL
コレステロール	41±10	810±110
トリグリセライド	34±19	417±117
リポ蛋白中のコレステロール (mg/dl)	正常ウサギ	WHHL
VLDL	1.4±0.7	118± 31
IDL	—	98± 28
LDL	6.2±10	533±127
HDL	16.0±0.7	6± 1

正常ウサギとWHHLの皮膚線維芽細胞におけるLDLの代謝経路を図3に示した。脂質は水に不溶のため血中ではアポ蛋白と結合して、リポ蛋白の形態で輸送されている。内因性の脂質は肝臓からTG richなVLDL（Very low density lipoprotein）として分泌され、リポ蛋白リパーゼによってTGが分解されてCh richなIDL（Intermediate density lipoprotein）となり、さらにIDL中のTGが分解されてChはLDLに移行する。このLDLは細胞表層のLDL受容体に認識されて、細胞内に取込まれ、分解されて遊離Chとなる。この遊離型Chは細胞膜の重要な構成成分として、また肝臓では胆汁酸、副腎ではステロイドホルモンの前駆物質として利用される。図3にみられるように正常ウサギのLDLは細胞表層のLDL受容体に認識され、結合し、細胞内に取込まれ分解され

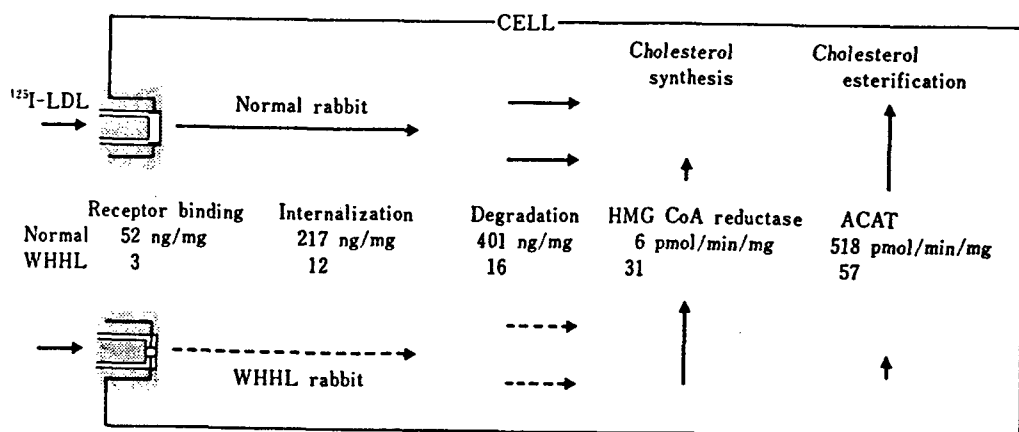


図 3. 正常ウサギと WHHL rabbit の皮膚線維芽細胞における LDL pathway

て Free Ch となる。また正常ウサギの細胞では細胞内Ch の過不足を調節する機構が働き、細胞内のCh 量が過剰になると、LDL 受容体の数を減らして血中から細胞内へ流入するLDL-Ch の量を制御する。同時に細胞内でのCh 生合成に関与するHMG (3-hydroxy-3-methylglutaryl) CoA reductaseの活性が低下して、Ch の生合成が抑止される。さらに細胞内で過剰になった free Ch はACAT (Acyl CoA cholesterol acyltransferase) が活性化してエステル型Ch として貯蔵する。逆に細胞内のCh が不足した場合は、LDL 受容体の数を増し、Ch の生合成も促進される。一方WHHLのLDL 受容体は、受容体遺伝子のLDL 結合に関与する領域に12塩基対が欠落しているために、LDL 受容体が血中のLDL を結合する能力は正常ウサギの僅か5%しかない[24]。したがってWHHLでは血中のLDL-Ch はLDL 受容体を経由してはほとんど細胞内に取込まれることがない。その結果血中ではLDL-Ch が停滞して高Ch 血症となり、やがて動脈壁に沈着して動脈硬化の原因となる。細胞内ではCh が不足するのでHMG CoA reductaseが活性化してCh の生合成をつづける。しかも細胞内でのCh の過不足を調節する機構はほとんど働かない。このようにWHHLの高Ch 血症、動脈硬化症のいずれもLDLの代謝障害が原因となっている。

2. 動脈病変

大動脈病変

WHHLの大動脈硬化病変は肉眼的には離乳時から認められる。表2に大動脈病変の月齢別発生率と病変面積を示した。3カ月齢までの発生率は87%であった。大動脈全面積に

表2. WHHL rabbit の動脈病変の発生率と病変面積 (1985-1988)

月 齢	大動脈病変			冠状動脈病変		
	(n)	発生率	病変面積	(n)	発生率	病変面積
2 ~3	(20)	87%	3.3±0.9% ^b	(15)	83%	44.7±9.9% ^b
4 ~5	(19)	100%	17.1±2.9%	(18)	90%	49.8±8.1%
6 ~7	(32)	100%	29.7±2.2%	(30)	100%	55.4±5.5%
8 ~9	(55)	100%	35.8±3.2%	(42)	100%	63.8±4.3%
10 ~12	(52)	100%	46.5±2.8%	(47)	100%	65.9±4.4%
13 ~15	(32)	100%	59.8±3.0%	(32)	100%	82.8±3.2%
16 ~18	(33)	100%	54.5±3.4%	(34)	100%	79.8±2.7%
19 ~24	(21)	100%	71.9±4.6%	(19)	100%	83.8±2.9%

^b 平均値±標準誤差. 冠状動脈の病変面積は各個体の最高病変面積の平均値.

対する病変面積は僅か3%で軽微であった。主として大動脈弓部に発生した。4カ月齢を過ぎると発生率は100%となり、病変面積も加齢とともに急速に拡大し、成熟齢である6-7カ月齢になるとその病変面積は約30%に進展し、15カ月齢では約60%、24カ月齢では約72%となる。このように大動脈の自然発生病変が加齢とともに拡大することが、大動脈硬化の抑止あるいは退縮実験にWHHLが不可欠な動物として利用される所以である。病理組織学的には4-11日齢の新生仔においてもすでに病巣部には脂質沈着層が認められ、2-3カ月齢になると脂質沈着を伴った内膜、中膜の肥厚病変が一層顕著となる。4-5カ月齢からは大動脈弓部、胸部大動脈にハート型あるいは丘状に盛り上がった孤立病巣が点在するがその病巣には泡沫細胞を含み、中膜の脂質沈着も認められる。6-7カ月齢の成熟齢になると、内膜の病巣の拡大が顕著となり、泡沫細胞と細胞外脂質ならびに壊死細胞の集積巣である粥腫が進展し、周辺には脂肪の沈着した細胞と線維性被膜が認められ、中膜の石灰化も認められ[3]、典型的な動脈粥状硬化の像が形成される(図4、5)。

WHHLの大動脈の病変の発生部位は図6にみられるように成熟齢においては、大動脈の全面に病変が拡大するが、最も高度の病変は大動脈弓部に発生し、腹部大動脈下部(腎動脈分岐部から腸骨動脈分岐部)の病変は最も少なくかつ軽度である。ヒトでは腹部大動脈上部は太い動脈の分岐部が密であり、渦流が生じるので最も病変が多発する部位といわれている。WHHLでは大動脈弓部に多発している。この違いは2足歩行動物の大動脈が垂直走行であるのに対し、4足歩行動物の大動脈は水平走行であることの血行力学的な差が原因の1つとして考えられる。

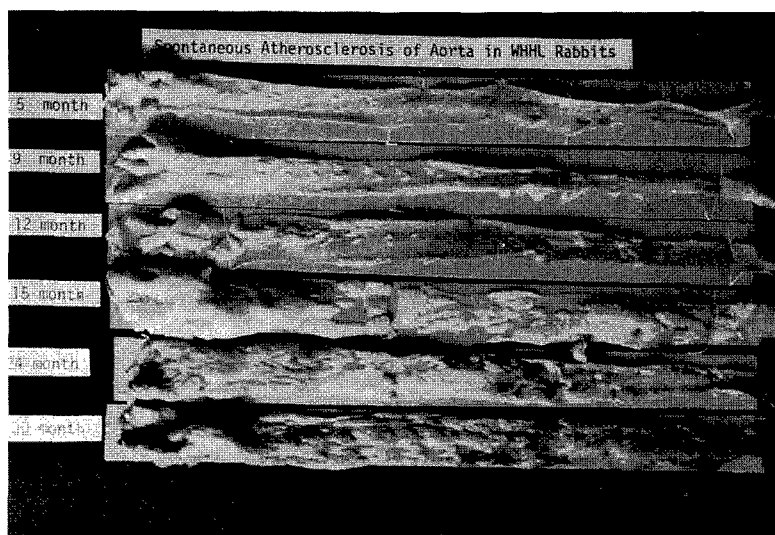


図4. WHHL rabbit の大動脈粥状硬化病変

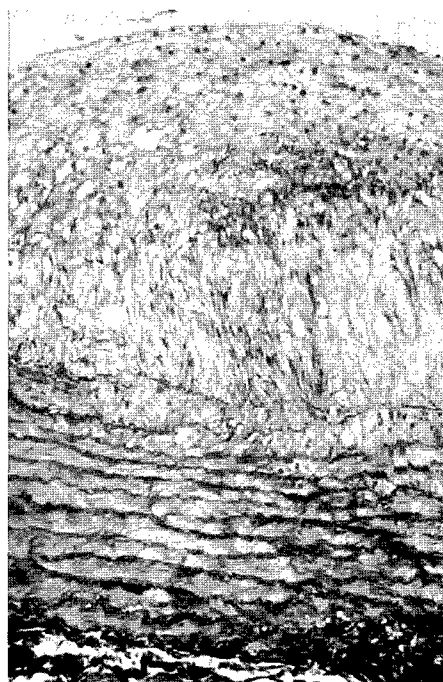


図5. WHHL rabbit の大動脈病変の病理組織像

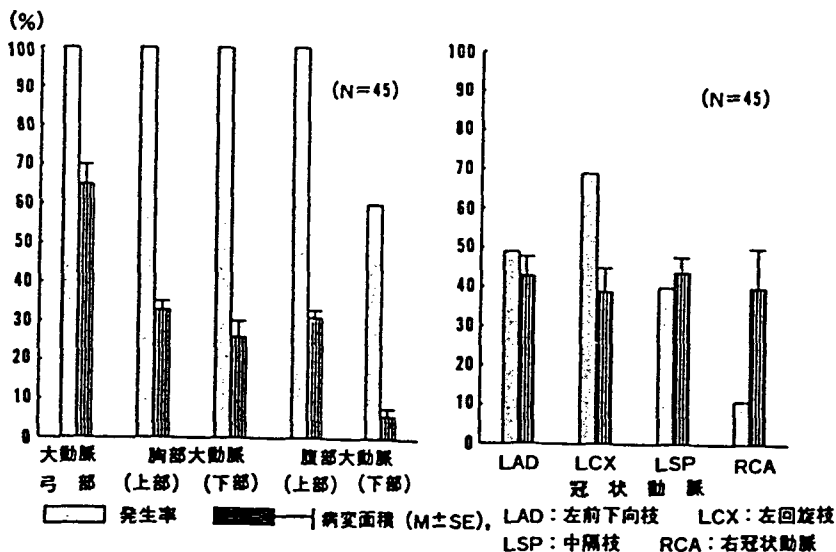


図 6 成熟齢 (7～8 月齢) における WHHL rabbit の動脈粥状硬化の発生状況

WHHL の成熟齢以後の大動脈のレオロジー特性として、大動脈の伸展性の顕著な低下があげられる。これは粥状硬化変性による壁厚の増大と、内膜の肥厚部分の石灰沈着ならびに線維の高度な増殖によるもので、弾性率を増大させるような大動脈の構築変化によって力学的変化が伴ったと考えられる[7]。また大動脈の伸展性の低下によって圧受容器の血圧—神経信号変換機能が低下し、血圧調節能の低下を来たしていることが明らかにされている[6]。

冠状動脈の病変

WHHL の冠状動脈病変の初発月齢は生後 2 カ月からであり、4 カ月齢になると発生率は 100% となる。一方狭窄病変面積率 (病変面積 / 管腔面積) は、左回旋枝、左前下向枝、中隔枝、右冠状動脈の冠状動脈 4 主幹枝のいずれかに、あるいは複数枝に発生した病変の平均値として、2 カ月齢では 45% 程度であり、成熟齢ではその病変は 56% 程度に拡大し、13—15 カ月齢になると 83% 程度に拡大する (表 2)。WHHL は冠状動脈においても大動脈と同様に自然発生病変は加齢とともに進展拡大するので、冠状動脈病変の抑止と退縮の実験に適する唯一の動物として利用されている。冠状動脈の狭窄病変の発生状況を冠状動脈枝別にみると病変発生率の最も高いのは左回旋枝である。また病変面積は 4 主幹枝ではほぼ同程度であった (図 6、7)。

Coronary Atherosclerotic Lesion of WHHL rabbits

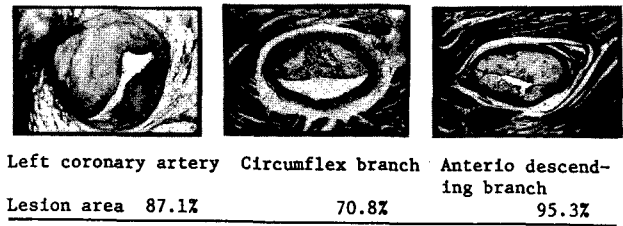


図7. WHHL rabbit の冠状動脈病変

表3. 心筋梗塞好発系 (M I系) WHHL rabbit の選抜交配による世代別成績 (63.11)

	F ₁ (n=27)	F ₂ (n=26)	F ₃ (n=27)	Non MI系 (n=9)
血清コレステロール (mg/dl)	882±27	795±19	844 ±17	808±26
(冠状動脈病変)				
発 生 率	100%(27/27)	100%(26/26)	100%(27/27)	100%(93/93)
病 変 面 積	66.2±4.0%	75.8 ±4.9%	76.7 ±3.9%	55.9 ±2.8%
75% 以上の病変発生率	40.7%(11/27)	65.3%(17/26)	66.7%(18/27)	25.8%(24/93)
75% 以上の病変の複数枝発生率	14.8%(4/27)	38.5%(10/26)	33.3%(9/27)	15.1%(14/93)
心筋梗塞発生率	14.8%(4/27)	19.2%(5/26)	25.9%(7/27)	13.1%(8/61)

剖検月齢は、F₁、F₂、F₃、Non MIのいずれも7-12月齢約60%、13-20月齢約40%の構成である。
病変面積は各個体の最高病変面積の平均値(M±SE)である。

前述したようにわれわれは1986年から心筋梗塞好発系（M I系）の開発のための選抜交配を行っている。心筋梗塞の発生のメカニズムは未だ明確にされていないが、冠状動脈に75%以上の高度の狭窄病変がある場合に多発することが知られている。われわれはそれを指標にして選抜交配を行ってきた。表3にその成績を示した。このM I系における冠状動脈の75%狭窄病変の発生率は、第1世代では40.7%であったが、第3世代では66.7%と高率となった。また心筋梗塞の発生率も第1世代の14.8%が第3世代では25.9%となり徐々にあるがこの系の開発が進んでいることが示されている[21]。

脾動脈、頸動脈、脳底動脈等の病変

WHHLの脾頭部領域を、その主要な血流支配動脈である上脾十二指腸とともに切り出し病理組織学的に観察すると、上脾十二指腸動脈およびその分岐動脈には6カ月齢以降内膜の線維性肥厚と脂質沈着を伴った粥状硬化が発生し、動脈の顕著な内腔狭窄が認められる。10カ月齢以上のWHHLの一部には血栓も認められた。脾組織は脂肪壊死巣、実質壊死巣、小葉間ならびに小葉内の線維化、腺房の変性、消失、小円形細胞浸潤、小脾間・腺房腔の拡大、小脾管増生様変化等ヒトの慢性脾炎に酷似した一連の変化が認められている[15]。内頸、外頸、総頸動脈には、大動脈と同様に2カ月齢から内膜の線維性肥厚、脂質沈着が認められるが、脳底動脈を中心とした脳血管には、内膜肥厚等の血管変化は認められない。時に脳の細動脈の脂肪栓塞の所見は認められるが、脳血管には動脈粥状硬化性変性による閉鎖性病変が高脂血症や加齢のみでは発生し難いことが示されている[8]。

その他の病変

高コレステロール血症に由来する病変としてエステルコレステロールが細胞内に蓄積して泡沫細胞が形成されてできる黄色腫は、ヒトでは手足の関節部、アキレス腱、眼瞼等に発生するが、WHHLも主として指関節部に多発し、成熟WHHLの90%に発生する。

大腿骨頭壊死はアルコール中毒患者、ステロイドの大量投与患者に多発し、高脂血症患者にも発生しているがその成因は未解明である。動物実験においてアルコールあるいはステロイドの大量投与を行っても骨頭壊死は得られない。ところが、WHHLの大腿骨頭の検索を行ったところ、WHHLの大腿骨頭の骨梁は高度に肥厚し、骨細胞の核の消失、濃縮等の壊死性変化ならびに脂肪滴で充満した骨髓、ハーバス氏管の脂肪栓塞等の所見が認められた。このようなヒトの大腿骨頭壊死と類似した所見がWHHLで自然発生している

ことが明らかにされ、同時に大腿骨頭壊死と脂質代謝とくにHDLコレステロールの低下との相関が指摘されている[10]。

脂質代謝異常が感音性難聴の原因となることが最近注目され、WHHLの聴性脳幹反応が調べられ、高脂血症と内耳障害についての検討が行われた。その結果WHHLは正常ウサギより強い音感刺激を与えないと聴性脳幹反応が出ないこと、あるいは側頭骨の基底回転のコルチ器の細胞成分の減少と硝子化が認められる等、WHHLには感音性難聴が認められている[14]。

FH、WHHL、Ch - f e dの病態の異同

ヒトのFHとWHHLはいずれもLDL受容体が先天的に欠損しているために、内因性の脂質代謝障害が起こり、高Ch血症、高LDL血症が発症する。前述したようにFH、WHHLの血中に蓄積する高Ch血症の原因となるリポ蛋白はLDLである。コレステロールを負荷した動物(Ch - f e d)は、大量のCh負荷によるいわば異物反応としての一過性の高Ch血症であり、血中に蓄積するリポ蛋白は、投与した外因性のChの分解産物であるCh - richなカイロミクロンレムナントと内因性のTG - richなVLDLの混合物である β -VLDLである。この点Ch - f e dとFH、WHHLとは高Ch血症の原因である血中に停滞するリポ蛋白が異なっている。Ch - f e dの血中に大量にできた β -VLDLはマクロファージに取込まれ、そのマクロファージが泡沫化して組織に沈着し、動脈硬化の原因となる。また同様にして肝臓では脂肪変性(脂肪肝)を来し、各種臓器には脂肪が沈着することになる。FH、WHHLではこのような脂肪肝も臓器の脂質沈着の所見も認められない。動脈病変もCh - f e dの場合は単なる泡沫細胞の集積巣にすぎないが、FH、WHHLの動脈病変は脂質沈着を伴う内膜肥厚と中膜障害、粥腫が形成される典型的な動脈粥状硬化(Atherosclerosis)である。このようにFH、WHHLとCh - f e dとの諸病態の違いは、高LDL血症であるか、高 β -VLDL血症であるかの違いに由来する。

つぎにFHとWHHLの相異点の1つとして両者のTGレベルに大きな差があることである。すなわちFHのTGレベルは正常人のレベルであるが、WHHLのTGはChと同様に異常高値を示す(表1)。これはリポ蛋白中のChとTGの構成比がヒトとウサギで異なっていることが原因の1つとして考えられる。とくにLDL中のChとTGの比は、ヒトでは5 : 1で、ヒトのLDLはCh - richリポ蛋白といわれている。一方ウサギの

LDL中のChとTG比は1:1である。したがってウサギの場合、WHHLのように高LDL血症になると、ChもTGのいずれもが高値となる。このような種差が考えられる[22]。FHとWHHLのもう1つの相異点は、ヘテロ接合体のChレベルと病態が異なっていることである。ヘテロFHもヘテロWHHLもLDL受容体は、正常のほぼ50%しか機能していない。したがってヘテロFHのCh値は正常人とホモ接合体FHの中間値を示し、動脈硬化も発生し、40-50歳頃から心筋梗塞も発生する。一方ヘテロWHHLのChレベルは正常ウサギのレベルである。(生後1-2カ月は若干高値)。この違いは、ヒトは生活上多量のChを摂取するので、LDL受容体が50%の機能しかない場合にはChの処理が不十分となりChの上昇を来す。ウサギの場合はCh含有量の極めて少ない牧草類を主体とした固型飼料を採食しているので、LDL受容体の機能が50%であっても微量のChの処理には支障がなくChの上昇はない。このように食生活環境の差と考えられる。ヘテロWHHLにChを負荷した場合、正常ウサギよりも少量の負荷でCh値が急上昇する。しかしヘテロWHHLはChを負荷しない限り高Ch血症も、動脈硬化症も発症しない。

WHHLの研究への応用と現状

前述したようにFHの患者は若齢時に心筋梗塞で死亡するので、欧米では古くから深刻な遺伝病として研究が続けられてきた。一方わが国では、最近まで食生活の事情もあり、FHを含む高脂血症よりも研究の主体は高血圧、糖尿病に向けられていた。このような事情でWHHLを使った研究はほとんど欧米諸国で行われていた。したがってWHHLに関する研究論文も欧米誌に集中していた。そこで1980年から1989年までに欧米誌に掲載されたWHHLに関する論文112編と、国内誌に掲載された33編の合計145編の論文の中からWHHLの研究への利用状況を調べた。最も多く利用されたのは動脈硬化に関する研究で34編の論文が発表されている。ついでコレステロール代謝に関する論文26編、薬物実験に関する論文11編、遺伝に関する論文9編、心筋虚血に関する論文6編、血液凝固、血小板に関する論文6編、6編以下の論文としては血圧調節能、肺炎、黄色腫、副腎機能、大腿骨頭壊死、難聴に関する研究等がある。最近の調査で、わが国のFHの患者の数は欧米諸国の数と同じでホモFHは100万人に1人、ヘテロFHは500人に1人存在することが判明し、国内においても今後WHHLの研究への利用が増えることが考えられる。

WHHLはこのように内科系、外科系、皮膚科系、耳鼻科、生化学、病理系、生理系、

薬理系等多方面で研究に利用されているが、前述したように生産性、抗病性の低下等宿命的な事情があって現在到底需要に対応することが出来ない。神戸大学では飼育面積、設備等の関係があって年間分与できる数は100 匹程度である。そこで大学、公的研究機関への分与を優先するとともに、1984年からはアメリカではNIHで、また1985年からはヨーロッパではフランスの科学技術局でそれぞれ生産し、分与する体制を整えてきた。しかし国内の需要を充たすことができず、不満の声もある。このような事情から、現在われわれはプロのブリーダーと共同でWHHLのSPF化とともに、各研究機関の需要に応えられるような生産規模にできるかどうかについて実験的に生産を行い検討を加えている。

以上WHHLの開発と病態と現状について概説した。

文 献

- [1] Attie, D., Pitman R.C., Watanabe Y. and Steinberg, D. (1981). Low density lipoprotein receptor deficiency in cultured hepatocytes of the WHHL rabbit; Further evidence of two pathway for catabolism of exogenous protein. J. Biol. Chem., 256(19), 9789-9792.
- [2] Bilheimer, D.W., Watanabe, Y. and Kita, T., (1982). Impaired receptor-mediated catabolism of low density lipoprotein in the WHHL rabbit, an animal model of familial hypercholesterolemia. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 79(10), 3305-3309.
- [3] Buja, L.M., Kita, T., Goldstein, J.L., Watanabe Y. and Brown, M.S. (1983), Cellular pathology of progressive atherosclerosis in the WHHL rabbit-An animal model of familial hypercholesterolemia. Arteriosclerosis, 3(1), 87-101.
- [4] Brown, M.S. and Goldstein, J.L. (1976). Receptor mediate control of cholesterol. Science, 199, 150.
- [5] Goldstein, J.L. and Brown, M.S. (1974). Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts. J. Biol. Chem., 249, 5153-5162.
- [6] Hosomi, H., Katsuda, S. and Watanabe, Y. (1986). Effect of atherosclerosis on the responsiveness of the rapidly acting arterial pressure control system in WHHL rabbits. Cardiovasc. Res., 20, 195-200.

- [7] 長谷川正光, 渡辺嘉雄(1985). 動脈硬化血管のレオロジー特性,
日本レオロジー学会誌, 13(4), 178-183.
- [8] 岩渕聡(1988). WHHL rabbit の頸動脈, 脳動脈における動脈硬化性病変の検討.
脈管学, 28(7), 487-498.
- [9] Kita, T., Brown, M. S., Watanabe, Y. and Goldstein, J. L. (1981). Deficiency of
low density lipoprotein receptor in liver and adrenal gland of the WHHL
rabbit, an animal model of familial hypercholesterolemia.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 78(4), 2268-2272.
- [10] Kawai, K., Maruno, H., Watanabe, Y. and Hirohata, K. (1980). Fat necrosis of
osteocytes as a causative factor in idiopathic osteonecrosis in heritable
hyperlipemic rabbits. Clin. Orthopaedics, 153, 273-282.
- [11] Shiomi, M., Ito, T. and Watanabe, Y. (1987). Effects of hyperlipidemia on
the reproductive ability of WHHL rabbits; An animal model for familial
hypercholesterolemia. Lab. Anim. Sci., 37(1), 84-88.
- [12] Shiomi, M., Ito, T. and Watanabe, Y. (1987). Increase in hepatic low density
lipoprotein receptor activity during pregnancy in Watanabe heritable hyper-
lipidemic(WHHL) rabbits; An animal model for familial hypercholesterolemia.
Biochi. Biophys. Acta., 917(1), 92-100.
- [13] Tanzawa, K., Shimada, Y., Kuroda, M., Tsujita, Y., Arai, M., and Watanabe Y.
(1980). A low density lipoprotein receptor deficient animal model for
familial hypercholesterolemia. FEBS. Lett., 118(1), 81-84.
- [14] 高島荘二(1985). 遺伝性高脂血症ウサギ(WHHL rabbit)の内耳病態. 耳鼻臨床,
78(12), 1-17.
- [15] Uchida, T., Tsuchiya, R., Harada, N., Tsunoda, T., Yamauchi, T., Eto, T.,
and Furukawa, M., (1988). Ischemic change in the pancreas of Watanabe heri-
table hyperlipidemic(WHHL) rabbits. Int. J. Pancreatology, 3, 261-272.
- [16] Watanabe, Y., (1980). Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyper-
lipidemia (WHHL rabbit)- Incidence and development of atherosclerosis and
xanthoma. Atherosclerosis, 36(2), 261-268.

- [17] Watanabe, Y., Ito, T., Shiomi, M., (1985). The effect of selective breeding on the development of coronary atherosclerosis in WHHL rabbits. *Atherosclerosis*, 56(1), 71-80.
- [18] 渡辺嘉雄, 伊藤 隆, 近藤光雄 (1977). 自然発症高脂血ウサギの育種と性状. *実験動物*, 26(1), 35-42.
- [19] 渡辺嘉雄(1980). 遺伝性高脂血症ウサギ. *遺伝*, 34(3), 14-19.
- [20] 渡辺嘉雄(1988). 遺伝性高脂血症ウサギの開発と動脈硬化病変. *実験医学*, 6(14), 160-165.
- [21] 渡辺嘉雄(1988). 遺伝性高脂血症ウサギから心筋梗塞を発症し易い系統の選別, 文部省特定研究, 血管の細胞生物学的, 分子生物学的ならびに代謝学的研究, 昭和63年研究成果報告集, 365-367.
- [22] 渡辺嘉雄(1988). 家族性高コレステロール血症モデルWHHL rabbit の性状, 垂井清一郎編, 高脂血症病態と治療, 28-43. 厚生省特定疾患調査研究班
- [23] 渡辺嘉雄, 伊藤 隆, 塩見雅志 (1984). 動脈硬化症ウサギWHHL rabbit の脂質代謝異常と動脈病変. *循環器科*, 14(7), 551-559.
- [24] Yamamoto, T., Bishop, R.W., Brown, M.S., Goldstein, J.L. and Russel, D.W. (1986). Deletion in cysteine-rich region of LDL receptor impedes transport to cell surface in WHHL rabbit. *Science*, 232, 291-298.

< 第 28 回研究会 >

会員の研究発表

日時：平成2年12月14日（金）

場所：京都教育文化センター

1. 幼若ビーグルにおける視覚器の発達について
2. Fischer 344 ラットにみられた鼻咽頭管腫瘍
3. ラット腎臓における $\alpha 2u$ -globulin の免疫組織化学的研究
4. 食餌性高脂血症を容易に発症するウサギの系統開発
5. 体細胞交雑法によるラット第IX、X連鎖群の第20、13染色体へのあてはめ
6. ラットおよびマウスの給水作業の検討
7. 消毒薬中で検出された *Pseudomonas* sp. に関する検討
8. モルモットの *Bordetella bronchiseptica* 検査に酵素免疫測定法(ELISA)を導入するための検討
9. JY-2 モルモットの繁殖生理に関する検討
10. PCR 法による動物胚の性別判定について
11. ラットの血液学的所見に及ぼす反復採血の影響
12. 自然発症てんかんラットの臨床化学的検討
13. 自然発症てんかんラットの心機能に関する研究

1. 幼若ビーグルにおける視覚器の発達について

山村高章, 久世 博, 川合是彰, 堀 正樹, 岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)

毒性試験において視覚器に対する薬物の影響を捉えることは極めて重要である。イヌを用いた毒性試験では視覚器の肉眼検査, 網膜電位検査および病理組織学検査は網膜異常の検索には不可欠である。実際の検査に際して, イヌにおける視覚器の発達過程を明確にしておくことは, 視覚器異常を的確にとらえるために大変重要なことである。そこで, 幼若ビーグルを用いて, 前眼部および眼底の肉眼観察, 眼圧測定, 網膜電位(ERG)ならびに視覚誘発電位(VEP)の測定および組織学検査を経時的に行い, 視覚器の発育過程を検討した。

眼圧は17日齢頃から成犬とほぼ同じ値を示した。眼底像は生後19日齢には中間透光体の混濁のため視神経乳頭や血管はほとんど観察されなかったが, 生後37日齢には中間透光体の混濁は消失し, 視神経乳頭および血管が観察され, タバタムゾーンも明瞭となった。ERG測定では13日齢でa波が認められ, 19日齢ではb波も確認された。a波およびb波の電位は6週齢頃まで増高し, その後は安定した。また, 43日齢では律動様小波も明瞭に認められ, 各波の頂点潜時時間もまた6週齢以降には安定した。VEP測定では12日齢で陰性波(N1)を認めたが, この波の頂点潜時時間は19日から26日にかけて急激に短縮した。眼瞼開裂は生後9日から12日齢の間にみられ, 開裂以前の1週齢時では神経線維層, 神経細胞層および内網状層は形成されていたが, 成熟ビーグルにみられる内顆粒層, 外網状層および外顆粒層は, 一層の外神経芽細胞層として存在していた。杆錐層は薄く, タバタム細胞は不整紡錘形で細胞配列は乱れていた。生後1週齢の電顕観察では, 内網状層にはシナプスの形成がほとんどみられなかった。生後2週齢時には, 1週齢時にみられた一層の外神経芽細胞層は, 外顆粒層, 外網状層, 内顆粒層の三層となっていた。生後3週齢時では, 杆錐層は内節と外節の二層に識別することができ, 内顆粒層の細胞は発達していた。生後6週齢では, 網膜の各層は成熟ビーグルとほぼ同様の組織像を示し, タバタム細胞層はよく発達し, 敷石状に整然と配列していた。また, 電顕観察では杆錐層の外節および内節はよく発達していた。さらに, 生後2週齢頃にはシナプスおよびシナプス小胞は少数であったが, 6週齢では数多く形成されていた。

以上の結果, ERGにおけるa波の発生は生後2週齢ごろにみられ, この週齢での外顆粒層の形成を確認した。また, b波の発生はa波の発生に引続き起こり, 内顆粒層の発達と関連するものと結論された。さらに, 電顕観察で内網状層においてシナプスあるいはシナプス小胞の形成が, 2週齢頃に始まり, 6週齢頃には増加していたことは, ERGの発達過程を考える上で, 興味ある点であった。また, 1週齢では網膜各層は未成熟で, 成熟ビーグルと異なった特徴を示しており, ビーグルの網膜は2週齢頃から光に反応し, 6週齢頃にほぼ完成することが確認された。網膜の形態発育の過程について検討したが, 網膜各層の個々の細胞について電顕的検討を加えることは, 電気生理学的所見の意義を考える上で極めて重要であると考えられた。

2.

Fischer344ラットにみられた鼻咽頭管腫瘍

林 新茂、堀之内彰、野々山孝（武田薬品・薬安研）

長期飼育したラットでは種々の自然発生病変がみられるが、鼻咽頭管部の病変についての報告はほとんどない。我々は過去5年間(1986-1990年)に実施した癌原性試験に供試した雌雄各1050例のFischer344ラットのうち、雌雄各2例(58~104週齢)の計4例の鼻咽頭管部に腫瘍を認め、軟X線撮影、光顕、電顕および免疫酵素組織化学的手法を用いて病理学的に検索した。

臨床的には、いずれの動物も体重の減少、呼吸促迫ないし困難および腹部膨満などを示し、1~2週間の経過で死亡あるいは瀕死状態に陥り剖検された。

肉眼的には胃、小腸および大腸に含気性の著しい拡張がみられた。これらの消化管に貯留したガスに異常臭は認められず、出血や炎症性的変化もなかった。一方、脳摘出後に実施した全身の軟X線撮影検査では鼻咽頭管部に限局性の軟組織陰影がみられ、それらの剖面では灰白色の腫瘍が認められた。

光顕的には雄2例および雌1例にみられた腫瘍は著しい角化亢進を伴う扁平上皮化生あるいは同癌であり、残りの雌1例にみられた腫瘍は口蓋腺に由来すると考えられる腺癌であった。

電顕的にはいずれの腫瘍にも tonofilaments, desmosomes, 管状ないし拡張した rough endoplasmic reticulum が特徴的で核小体は明瞭であった。

免疫酵素組織化学的にそれらの腫瘍細胞は抗サイトケラチン抗体に陽性を示した。

以上の成績から、鼻咽頭管部に自然発生した腫瘍が気道を閉塞ないし狭窄するとラットは強制呼吸に伴って空気を嚥下し、さらに消化管の運動性低下や暖気不能などの要因が加わると著しい消化管の拡張を招来するものと推定される。したがって、長期飼育した動物の剖検時に消化管の拡張だけがみられ、その死因が不明な場合には、通常の病理検査に加えて上部気道の精査が必須であり、軟X線撮影検査も有用である。

3. ラット腎臓における $\alpha 2u$ -globulin の免疫組織化学的研究

○城塚康毅 橋本直美 高谷 修 山本正樹 安藤孝夫 中井洋一 鈴木 剛
(武田薬品・薬剤安全性研究所)

[目的]

ラットの毒性試験において腎臓の近位尿細管上皮に硝子滴沈着がしばしば認められる。この硝子滴沈着にはしばしば性差が認められ、雌ラットでは発現しない場合がある。この硝子滴は雄特異蛋白である $\alpha 2u$ -globulinに起因すると考えられている。今回はラット腎臓における $\alpha 2u$ -globulinの免疫組織化学的染色方法を検討し、さらに雌雄ラット腎臓における既知の硝子滴誘発化合物であるTrimethylpentane(TMP)の影響について検討した。

[材料及び方法]

Jcl/F344ラット(9週齢)にTMPを雄では50mg/kg、雌では50及び500mg/kgを単回経口投与し、72時間後(50mg/kg投与群)及び4, 8, 24時間後(500mg/kg投与群)に腎臓を摘出し、ホルマリン固定してパラフィン切片を作製した。 $\alpha 2u$ -globulinはABC法を用いて免疫組織化学的に検出した。抗体はラットの尿から精製した $\alpha 2u$ -globulinとFCAをウサギに2週間に1回合計4回皮内投与して得られたウサギ抗ラット $\alpha 2u$ -globulin抗体を用いた。その他、H.E.染色及び蛋白染色であるLMBBF(Lee's methylene blue basic fuchsin)染色を行ない、鏡検した。

[結果]

まず、雄ラット腎臓を用いて $\alpha 2u$ -globulinの免疫組織化学的染色方法を検討した。Glycol-methacrylate(GMA)包埋切片が本染色には適しているという報告があるが、洗浄液、蛋白分解酵素処理、至適抗体希釈倍数を検討した結果、ホルマリン固定したパラフィン切片でも十分 $\alpha 2u$ -globulinが染色されることが明らかとなったことから、本試験ではパラフィン切片を用いて $\alpha 2u$ -globulinの免疫染色を行った。

雄では対照群においても近位尿細管曲部上皮細胞内に好酸性の硝子滴が認められたが、TMPの50mg/kg 単回投与によって同部位に硝子滴の著しい増加が認められた。これらの増加した硝子滴は細胞内に充満していたが、壊死はみられず、血液生化学的検査でも腎機能に異常は認められなかった。硝子滴は対照群を含めてLMBBF染色及び $\alpha 2u$ -globulin免疫染色陽性であった。 $\alpha 2u$ -globulinの免疫組織化学的反応は一次抗体で反応させなかった場合、 $\alpha 2u$ -globulinで吸収した抗体液あるいは正常ウサギ血清を用いた場合でも陰性であり、抗体の特異性が認められた。一方、雌の対照群では尿細管上皮に硝子滴はみられず、TMPの50mg/kgを単回投与しても硝子滴の発生は認められなかった。しかし、雌対照群では $\alpha 2u$ -globulin陽性の小顆粒が近位尿細管上皮内に認められ、雌ラットでも量的には少ないと考えられるが近位尿細管上皮内に $\alpha 2u$ -globulinが存在することが明らかとなった。そこで雌ラットに更に高用量のTMPを投与すれば硝子滴が認められるのではないかと考えて、TMPの500mg/kgを単回投与したが硝子滴はみられなかった。しかしながら、 $\alpha 2u$ -globulin陽性の小顆粒の増加が8, 24時間後にみられた。

以上の結果から硝子滴には $\alpha 2u$ -globulinが含まれること、硝子滴の発生には性差があること、雌ラットにも $\alpha 2u$ -globulin陽性の小顆粒が存在し、TMP投与により増加することが明らかになった。

4. 食餌性高脂血症を容易に発症するウサギの系統開発

新谷 聰、畑中薫、山本 章（循環器セ、研）、塩見雅志（神戸大、医）

Watanabe Heritable Hyperlipidemic (WHHL)ウサギは、遺伝性高脂血症、動脈硬化症などのモデル動物として、確立された系統であり、広く研究に用いられている。Heterozygous WHHLウサギ(WHHL-he) は症状を示さず、表現型としては正常日本白色種ウサギ（日本白色）と変わらないが、LDL-receptor活性に差があるかどうかは興味あるところである。また高脂血症のなかでも血清のトリグリセリド(Tg)値が優位に上昇するタイプのモデル動物の開発も望まれている。我々は以下の実験を行い、多少の知見を得たので報告する。

〔目的〕 1. WHHL-he および日本白色におけるLDL-receptor活性の差の有無を、コレステロール(Ch)添加食に対する血清Ch値の反応性によって推測する。2. 高脂血易発症ウサギの系統を開発するために、日本白色にCh添加食および脂肪添加食を給与し、血清総Ch値およびTg値を測定することによって、反応性の高い個体の選抜方法を検討する。

〔方法〕 1. WHHL-he (9匹) および日本白色 (15匹) に各濃度(0.2、0.15、0.1、0.05、0%)のCh添加食を5週間給与し、毎週1回血清脂質値を測定して、脂質値が明白に上昇する添加食の最低Ch濃度を求めた。2. 日本白色(15匹)に、0.2%Ch、8%ココナッツ油、10%バターの添加食を、一定の間隔をあけて5～7週間給与し、血清脂質値の推移を各々観察した。

〔結果〕 1. WHHL-he は0.1%Ch添加食の全例において、血清Ch値が120mg/dl以上に上昇した。日本白色は0.15%Ch添加食群においても血清Ch値が120mg/dl以上に達する例はなく、0.2%添加食群においてはじめてこの反応が見られた。Tg値の上昇はいずれの群においても見られなかった。2. 日本白色に0.2%Ch添加食を給与したところ、血清Ch値のかなり上昇する個体とほとんど上昇しない個体に分かれ、その反応性は雌が雄よりも高かった。Tg値は雌雄ともに上昇しなかった。8%ココナッツ油添加食では、Ch値もTg値も上昇が見られなかった。10%バター添加食では、雌でCh値の反応が少し見られ、Tg値は添加食給与後4週目より全例上昇傾向を示したが、雄はCh値、Tg値ともに低値を保った。

〔結論〕 1. 血清Ch値を上昇させる添加食の最低Ch濃度に2倍の差が見られたことから、LDL-receptor活性は、WHHL-heのほうが日本白色よりも低いことが示唆された。2. 各種添加食に対する血清脂質値の変動およびその推移から、血清Ch値の反応性の高い個体を選抜するには、0.2%Ch添加食が適しており、Tg値の反応性の高い個体を選抜するには、10%バター添加食が適しているものと考えられた。

5. 体細胞交雑法によるラット第IX、X連鎖群の
第20、13染色体へのあてはめ

○安江正明、芹川忠夫、山田淳三（京大、医、動物施設）

体細胞交雑法によるラットの遺伝子地図作成は、ラット×マウス雑種細胞において継代培養の過程でラットの染色体のみが選択的に消失し、それにともなってラットのゲノムに由来する諸形質(酵素や細胞表面抗原など)の発現がみられなくなることを利用して、その形質に関与している遺伝子座をラットの特定の染色体上にあてはめようとするものである。今回我々は18のラット×マウス雑種細胞クローンを作出し、これらを用いてラット第IX連鎖群に属するGlo-1(Glyoxalase-1)、第X連鎖群に属するFh(Fumarate hydratase)およびPep-3(Peptidase-3)、ラットではマッピングされていないものの、マウスではPep-3と連鎖しているIdh-1(Isocitrate dehydrogenase-1)の4つの生化学的遺伝子座のラット染色体へのあてはめを試みた。

ACI/Nラット(5週齢、♂)の胸腺細胞とマウスミエローマsp2/Ag14(Hprt⁻)をPEG法で融合してからHATによって雑種細胞を選択し、融合後1~2カ月目に合計18のクローンをクローニングした。各クローンについて染色体標本を作成し、GバンドおよびCバンド染色を施してからそれぞれ12細胞ずつ核型の分析を行い、どのラット染色体が保有されているかを調べた。さらに各クローンの抽出物をセルロースアセテート膜電気泳動にかけた後、GLO1、FH、PEP3、もしくはIDH1に特異的な活性染色を行ってラットのアイソザイムが発現されているか否かを調べた。

各クローンにおけるラット染色体と4種のラットアイソザイムの発現の分布を検討した結果、18のクローンにおけるラットのIDH1、FHおよびPEP3、GLO1の発現の有無はそれぞれラットの第9、13、20染色体の有無と完全に一致し、Idh-1はラット第9染色体、FhとPep-3は第13染色体、Glo-1は第20染色体上にそれぞれ存在することが明かとなった。そしてFhとPep-3はラット第X連鎖群に属していることから、この連鎖群は新たにラット第13染色体にあてはめられた。またマウスではIdh-1とPep-3は第1染色体上で連鎖しているが、ラットではそれぞれ別の染色体上にあることが明らかになった。しかしながら本研究におけるIdh-1およびPep-3のマッピングは、ラットの第9染色体と第13染色体のQバンド染色のパターンがそれぞれマウスの第1染色体の上部分(動原体のある側)と下部分に非常に似通っているという報告を裏付けるものであった。Glo-1とともにラットのMHC(主要組織適合抗原遺伝子複合体)であるRT1を含んでいるラット第IX連鎖群についてはこれまで第14、20染色体の2つの報告がなされていたが、本研究でのGlo-1のマッピングは後者を支持するものであった。

6.

ラットおよびマウスの給水作業の検討

須磨正人，赤沢義明，武下政一，岡庭 梓（田辺製薬 マルコ・リサーチ・サービス）

ラットおよびマウスの給水作業方式を確立する目的で，自動給水装置の配管内および給水瓶内の飲水汚染状況について一般細菌数を指標として検討した。

飲水は工業用水を濾過し，0.4ppmの塩素を添加後，動物施設の屋上貯水タンクに導入したものを用いた。なお，屋上貯水タンクの飲水について水道法に基づく水質検査を実施しているが，異常を認めていない。

自動給水装置内飲水汚染の月間推移：ドレーン排水前の給水ノズル内の飲水を月3回，1年間検査した。なお，給水装置のドレーン排水は1日1回，給水タンク，配管およびノズルの消毒は月1回実施した。その結果，1月～3月には細菌は検出されなかったが，4月下旬から細菌が検出されはじめ，5月上旬には水質基準値を逸脱した（細菌数100 個以上/ml）。この水質基準値からの逸脱は10月中旬まで続き，7月～9月にはピークに達した。10月以降の細菌数は減少し，11月中旬から12月には細菌は検出されなかった。以上の結果から，夏期に高度の水質汚染が発生することが判明した。次いで以下の項目について検討した。

夏期のドレーン排水回数の検討：1日1回，2回および3回のそれぞれの条件下で給水ノズルの飲水汚染状況をドレーン排水前に3週間検査した。ただし，休日は1日1回のみドレーン排水した。1日1回ドレーン排水では，3日目に，1日2回ドレーン排水では，4日目に水質基準値を逸脱した。1日3回ドレーン排水では，休日明けの1日～2日間水質基準値からの逸脱を認めた以外には基準値の範囲内にあった。

給水瓶を用いた給水の検討：200ml 給水瓶を用いて検討した結果，毎日の飲水交換および先管消毒ならびに週2回給水瓶消毒により良好な給水ができた。また100ml 給水瓶を用いて検討した結果，1日目から水質基準値からの逸脱が認められたが，塩素5～10 ppm 添加により2日～3日間良好な飲水の維持ができた。

まとめ：夏期に認められる高度飲水汚染は飲水中の塩素の蒸散によるものと判断されたので，塩素添加装置を設置した。夏期の自動給水装置を用いた給水方式では1日3回ドレーン排水を実施し，給水瓶を用いた給水方式では毎日の飲水交換および先管消毒ならびに週2回給水瓶消毒を実施する方式を確立した。さらに，樹脂製ケージの給水瓶を用いた給水を自動給水に切替中である。

7. 消毒薬中で検出された *Pseudomonas* sp. に関する検討

大野周三、石川尚明、高島俊行（藤沢薬品工業株式会社 実験サービスセンター）

近年、ブドウ糖非酵性グラム陰性桿菌による院内感染が問題視されている。我々のバリアー施設においても、1989年 9月頃より施設入口の手指浸漬消毒用の両性界面活性剤系の消毒薬（以下、消毒薬）中より、同定出来ない *Pseudomonas* sp. を検出したので以下の検討を行った。

方法：〔Ⅰ〕菌の由来 ①直接的要因：消毒薬原液、消毒薬調製用常水及び施設担当者の手指洗浄液を TSB で培養し菌の発育の有無を確認した。 ②落下菌検査：洗面器置場、飼育室等の落下菌を、TSA、NAC 及び血液寒天培地を用いて検討した。

〔Ⅱ〕消毒薬中での菌数の経時的変化 調製前後の消毒薬を経時的にサンプリングして、TSA で混釈培養し菌数を測定した。

〔Ⅲ〕消毒薬の殺菌効果試験 消毒薬の殺菌効力の判定を石炭酸係数法に準じて行った。

結果：〔Ⅰ〕菌の由来 ①直接的要因では手指洗浄後の 1/20 例に *Pseudomonas* sp. を検出した。

②落下菌検査では洗面器置場で TSA 培地のコロニー 1/51 に *Pseudomonas* sp. が検出されたが、NAC 培地では全く認められなかった。また、モルモット、ウサギの飼育室内の TSA 培地のコロニーで 0/99 と *Pseudomonas* sp. は全く検出されなかった。

〔Ⅱ〕消毒薬中での菌数の変化 ① 0.15%消毒薬洗面器中では消毒薬交換 2時間後より菌数の増加が認められた。 ② 0.15%消毒薬コルベン中では消毒薬の 5倍、100倍及び1000倍希釈でも消毒薬調製 2時間後より経時的な菌数増加が認められた。 ③ 0.15%消毒薬と希釈液の組合せでは消毒薬と常水、滅菌蒸留水、滅菌生理食塩水及び常水のみで試験を行った結果、消毒薬と常水の組合せの場合のみ経時的な菌数の増加が認められた。 ④常水で調製した消毒薬の濃度と菌数の関係を検討した結果、0.15% と 0.3% は 0.075% に比べて有意な菌数の増加を示した。

〔Ⅲ〕消毒薬の殺菌効果試験 ①消毒薬中で検出された菌の培地継代による感受性の変化は、菌を TSB で 1回増菌した場合は、消毒薬に感受性を示さなかった。しかし、この菌を TSB で再度増菌した場合は感受性を示した。 ②消毒薬のその他の菌株に対する効果は SPF ラット由来の *E. coli*. と *Staphylococcus* sp. 及び *B. subtilis* (No.3134) と *Ps. aeruginosa* (IAM1095) の菌株に対しては通常使用濃度で明らかな殺菌効果を示した。

考察：消毒薬中より検出した *Pseudomonas* sp. について種々検討を加えたが、由来は現在のところ明らかな結論は得られていない。一方、今回の我々の体験は消毒薬を過信した事によるとも考えられ、今後は消毒薬に対する認識を改めると共に、この結果を施設管理上の警鐘の意味を含めて報告した。

8. モルモットの *Bordetella bronchiseptica* 検査に酵素免疫測定法 (ELISA)を導入するための検討

○三日月勝見、境 陽子、大原真代子、根縫弘子、高橋恵子(塩野義・油日ラボ)

Bordetella bronchiseptica(*B. bronchiseptica*)は、モルモット、ラット、ウサギ等の実験動物やブタなどの家畜から分離され伝染力が強く異種動物間でも相互に感染が成立し、中でも感受性の高い動物はブタとモルモットであり、ブタでは伝染性萎縮性鼻炎や肺炎、モルモットでは気管支炎を起こすことが知られている。今回我々は、モルモットの *B. bronchiseptica* に対してELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay(酵素免疫測定法)について検討したので、その結果について報告する。

<材料および方法>

ELISA用抗原プレートの作製：抗原株はモルモット肺炎由来の *B. bronchiseptica* I 相菌を用い、ヒジク血液加糖リン酸緩衝液で寒天培地で培養後集菌し、リン酸緩衝食塩液(PBS)にて10%菌液とした。菌体は超音波処理後、遠心分離を行ないその上清を用いた。菌液量として10 μ g/mlに0.1M炭酸緩衝液(pH9.8)で希釈し、ELISA用マイクロプレートに200 μ l/wellずつ分注し、4℃で一晩抗原を吸着させた。翌日、抗原液を除きPBSにて洗浄し、1%BSA(ウシ血清アルブミン)加PBSを加えブロッキングを行ない乾燥保存した。

ELISAの方法：0.5%BSA加PBSにより希釈した被検血清を抗原プレートに分注し、37℃、60分間反応させた。その後、酵素標識抗体を入れ、37℃、60分間放置後、基質液を加えて発色させ、硫酸により反応を停止し、吸光度を測定した。

感染実験：感染実験にはHartley系SPFモルモットを用い、*B. bronchiseptica*菌液(2 $\times$ 10⁸/ml)5滴を経鼻感染させ、実験終了時まで7リットル内で飼育した。実験感染後、経時的に5匹ずつ剖検し、鼻腔、気管、肺より菌分離を行なうと同時に血清を採取し、凝集反応およびELISAを実施した。

<結果および考察>

実験感染モルモットに対して、今回検討したELISA法と菌分離法並びに凝集反応法とを比較した。凝集反応法では感染30日後および50日後に低い抗体価を有するものが2例認められたのみであった。また、菌分離法では肺において感染20日後に菌分離率は最高となりその後低下の傾向にあった。一方、ELISA法では感染15日後より全例陽転し、50日後の実験終了時まで陽性で推移し、感度、特異性共に凝集反応法に比しすぐれていた。また、検疫実験室に依頼されたモルモット血清についてELISA法にて検討したが菌分離の結果とよく一致しており、本法は *B. bronchiseptica* の血清診断法として有用であるものと考えられた。

9.

JY-2 モルモットの繁殖生理に関する検討

○中尾博之、角川勝代、竹之内詩乃、藤原充良（塩野義・油日ラボ）

市販 JY-2 の供給停止に伴い、船橋農場より分与された種動物を基にして、1982 年 5 月より自家繁殖を開始した。しかし繁殖過程で死産が多発し、基礎集団の作成も困難であった。死産の原因を検討するため、触診による母獣胎内での生存確認や母獣分娩状況、更に死産仔の状態を詳細に調べた結果、死産の大部分は陣痛微弱による産道での窒息死と考えられた。そこで陣痛増強作用のあるホルモン剤を用いて実験的に誘発分娩を試みたところ、分娩仔の生存率を高めることができた。

我々は導入後約 8 年間に渡り、誘発分娩法を併用して JY-2 を繁殖育成し、この系統の繁殖生理を把握すると共に、給与飼料により生存率が改善されるかを合わせて検討してきたので、これまでの概要と得られた諸成績について報告する。

〔方法〕：動物は近交系由来のクローズドコロニーを基礎とし、当施設の通常飼育室、温度 24～28℃、湿度 40～80% の環境下で繁殖育成し、誘発分娩法の確立後は兄妹交配による維持に切り替えた。ケージは繁殖用にプラスチック製平底（三菱樹脂）と育成用には金網床（日本クレア）を用い、床敷は鮑屑と鋸屑を併用し週 2 回交換した。飼料は、主に市販 A の自由摂取とし、生存率の比較検討には新たに 3 種類の飼料（B, C, D）を用いた。飲水は水道水を瓶や給水ノズルで、また週に 1～2 回キャベツを与えた。

- 〔成績〕：1) 誘発分娩法の実施により、分娩時の生存率や育成率が約 36～37% 改善され、更に誘発群における仔モルモットの発育も自然群のそれと殆んど変りがなかった。
- 2) JY-2 の性周期は 16.3 ± 2.0 日 ($n=79$) で、妊娠期間は 67.4 ± 2.5 日 ($n=155$) であった。初産日齢は生後 175.9 ± 33.0 日 ($n=98$) を示し、2～7 産の分娩間隔は平均 85～87 日と極めて安定していた。なお妊娠推定日齢は生後約 3.6 ヶ月齢に相当した。また平均産仔数は 3.2 匹 ($n=1272$) を示し、その性比は約雌 1 : 雄 1 であった。
- 3) 市販の異なる飼料を用いて、自然分娩において生存率改善ができないかを調べたところ、A 飼料（対照）の 44.8 % に比べ、B 飼料では 57.7 %、C 飼料 69.0 %、D 飼料 72.0 % と、給与飼料により改善傾向が認められた。
- 4) 系統間交雑時の F1 個体の生存率は、母獣が JY-2 では約 58 % を示し、Hartley では約 82 % と雌親の影響が顕著に認められた。

〔考察〕：以上の成績から JY-2 の死産は、この系統が有する遺伝的素因に栄養的要因などが関与し、分娩母獣の繁殖生理に影響を及ぼしていることが示唆された。

久保政美，東條英昭（富山医薬大，動物実験）

〔目的〕最近，Y-染色体に特異的なDNAの塩基配列を利用したPCR法による動物胚の性別判定が注目されている。今回，筆者らも，外来性遺伝子が偶然にY-染色体に挿入されたトランスジェニック（Y-Tg）マウスを材料に，PCR法による胚の性別判定の可能性について検討した。さらに，最近，報告されたヒトを含む真獣類に共通したY-染色体に特異的なDNA領域，pY53.3を利用した，ヒト及び各種実験用動物のDNAによる性別判定をPCR法で検討した。〔方法〕本実験で用いたTgマウスは，8.9KbのヒトA γ / β -グロビン連結遺伝子をY-染色体に15コピー保有する雄と，常染色体に50コピー保有するホモの雄である。Tgマウス雄と過排卵処理した通常のBDF₁雌マウスとの交配によりTg胚を得，各stageごとに培養発生させた。1コの胚を移植用ピペットを用いて，DNA抽出液に投入し，37℃の1時間培養によりDNAを抽出し，常法によりPCRを行った。使用したプライマーは， β -グロビン遺伝子の第2イントロン内の536bpの領域である。次に，ヒト及び各種実験用動物については，雌雄の白血球，または，肝臓からDNAを抽出し，同様にPCRを行った。プライマーは，pY53.3内の配列の一部を基に作製し，230bpの領域と270bpの領域を増幅させる2種類のプライマーを用いた。増幅DNAは，アガロース電気泳動法によって検出した。〔結果〕PCR法を利用して，各stageにおけるTg胚の性別判定を検討した結果，まず，常染色体のTgマウスの1および2細胞期胚では，30回のPCRにより，536bpの特異バンドが検出されなかった。しかし，4細胞期以後の胚では，特異バンドが検出された。また，特異バンドが検出されなかったTg胚については，再度20回のPCRを反復したところ，1細胞期胚でも，特異バンドが検出された。一方，Y-Tg胚について4細胞期までは，30回のPCRでは，特異バンドが検出されなかったが，8細胞期以後の胚では，特異バンドが検出された。なお，胚における特異バンドの検出率は，ほぼ1：1であった。このことから，本実験で標的となった遺伝子に関しては，Y染色体に10数コピー以上の遺伝子が存在すれば，1コの細胞からでも，容易に増幅DNAを検出できることから，PCRによる性別判定が可能であることが判明した。次に，pY53.3内の領域を利用して，PCR法により，ヒト及び各種実験用動物における雌雄の判定を検討した結果，2種類のプライマーのうち1種類については，バンドが検出された。しかし，その増幅DNAは約340bpであったことから，目的とするpY53.3領域内でなく，非常に共通した他のDNA領域が増幅されたものと考えられる。次に，もう1種類のプライマーを利用した場合には，ヒト及びニホンザルで，DNAによる性別判定が可能であることが示された。さらに，pY53.3内の領域を利用して，どの程度のDNA量，すなわち，どれほどの細胞数があれば，PCR法による性別判定が可能であるかを，供試した全ての動物種の雌雄で検討した結果，PCRを反復することにより，1コの細胞でも特異バンド検出されることが認められた。

11.

ラットの血液学的所見に及ぼす反復採血の影響

吉岡勝、山田初、安原吉高、水谷まゆみ、阿部敏男（武田薬品・薬剤安全性研究所）

薬剤の安全性試験においては、被験物質の血中濃度測定のために、同一動物から反復採血する場合がある。その際、採血量および採血頻度と血液学的所見との関連性を把握しておくことは、データを解析する上で重要である。我々は、6および18週齢のラットを用いて反復採血を実施し、血液学的所見に及ぼす影響およびその回復性について検討した。

実験方法：6および18週齢のF344/DuCrj雄ラットを使用した。動物を塩酸ケタミン麻酔下で、尾から1ml/回の採血量で1日1回、5日間の反復採血を行い血液学的検査を実施した。また、採血休止7日後の回復性についても検討した。なお、各採血日毎に無処置対照群を設けた。

結果および考察：1) 6週齢ラット；5日間の反復採血終了時には赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値は対照群の-30%~-40%に減少し、MCH およびMCV は同約+10%に増加、網状赤血球数は同約5倍に増加し、いずれの変化も採血回数に応じて増強した。一方、採血休止7日後ではヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値は、対照群の水準に回復したが、赤血球数（対照群の-15%）、MCH（同+14%）、MCV（同+14%）および網状赤血球数（同+70%）は回復しなかった。

2) 18週齢ラット；採血回数に応じて赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値は6週齢ラットとほぼ同様に推移したが、採血5日目にはいずれも対照群の-50%へと、より強い減少を示した。また、網状赤血球数は対照群の約4.5倍に増加したが、MCH およびMCV は6週齢ラットと異なりほとんど変化を示さなかった。一方、採血休止後においても、赤血球数（対照群の-26%）、ヘモグロビン濃度（同-23%）およびヘマトクリット値（同-23%）は回復せず、網状赤血球数も反復採血5日目と同程度の高値（対照群の約4.5倍）を持続していた。

以上、今回の反復採血条件はラットに失血性の貧血をひきおこし、その血液学的所見は採血休止7日後においても完全には回復しなかった。また、血液学的所見の推移およびその程度には週齢差がみられることから、反復採血を実施する上で、採血条件および造血反応の週齢差を考慮しておくことは重要と考えられる。

周 参見正行, 南出伸司, 本田勝也, 川合是彰

堀正樹, 岡庭梓 (田辺製薬・安全研)

芹川忠夫, 山田淳三 (京大, 医, 動物施設)

自然発症てんかんラット (S E R) の特性を明らかにするため 5, 9 および 13 週齢時の S E R, 同腹非 S E R (S E R - N) および K y o : W i s t a r ラット (K : W) の血液および肝臓について検討した。併せて、13 週齢時に S E R の起源系統である S D, t r e m o r および z i t t e r ラットについて検討した。

一晩絶食させた動物からエーテル麻酔下で採材し、血液学および血液生化学検査を行なった。さらに、甲状腺ホルモン (T 4, T 3) 濃度測定ならびに肝臓のホモジネートおよび遠心上清分画 (9000 g, 15 分) について脂質を測定した。

てんかん発作との関連で注目される、カルシウムおよびカリウムならびに血糖には、系統間で明らかな変動を認めなかった。

S E R および S E R - N の血漿中総コレステロール, H D L コレステロールおよびリン脂質濃度は、5, 9, 13 週を通じ K : W の約 50 % 程度の値を示した。また、肝臓では上清分画中の総コレステロールおよびリン脂質は S E R および S E R - N で低かった。しかし、末梢の脂質代謝に関与する甲状腺ホルモンには差を認めなかった。さらに、起源系統ラットとこのようなてんかんラットの特徴を比較した結果、S E R の脂質レベルは K : W や t r e m o r ラットと比べて明らかに低いが、z i t t e r ラットのそれとは大差なかった。

以上のことから、S E R および S E R - N の脂質代謝は、K : W や t r e m o r ラットと異なり、z i t t e r ラットの特性と類似していることが示唆された。

菱田尚樹, 湯浅啓史, 浅野裕三, 堀正樹, 岡庭梓 (田辺製薬・安全研)

芹川忠夫, 山田淳三 (京大・医・動物施設)

自然発症てんかんラット(SER)の基礎研究の一環として、SER、同腹非SER(SER-N)およびSERの親動物にあたるtremorラットの心機能(血圧、心電図)を、SERやtremorラットの起源動物にあたるKyo:Wistarラットと比較検討した。

〔方法〕 血圧は、4ないし5週齢時より12週齢時まで経時的に、無麻酔下で非観血的に収縮期血圧を測定した。心電図は、9週齢時に無麻酔下でⅠ誘導およびⅡ誘導を測定した。動物は14週齢時に剖検し、心臓を摘出、ホルマリン固定後に心房と心室を分離して心室重量を測定した。また、画像解析装置を用いて心室横断面の右心室壁、中隔、左心室壁の各領域の面積比を測定した。

〔成績〕 血圧：収縮期血圧は、いずれの動物とも4ないし5週齢時には100mmHg強であったが、その後8週齢時までに顕著な上昇を示し、140mmHg前後となった。それ以降血圧の上昇率は緩やかとなり、12週齢時には150mmHg前後となった。各時期において系統間に差異はなかった。

心電図：Ⅰ誘導においては、SERおよびSER-NでR波高の低下およびS波高の増高が認められ、SERでより顕著であった。tremorラットではR波高の低下のみが認められた。Ⅱ誘導においては、SERおよびSER-NでP波高の増高、R波高の低下およびS波高の増高ならびにP-R間隔の短縮およびQ-R-S幅の延長が認められ、SERでやや顕著であった。tremorラットではⅠ誘導と同様にR波高の低下のみが顕著であった。さらに、Ⅰ誘導およびⅡ誘導のQ-R-S波より各個体の平均電気軸を求め、比較したところ、Kyo:Wistarラットでは、平均電気軸は -30° から 60° の範囲にあり、特に 0° から 45° 付近に集中していたが、SER、SER-Nおよびtremorラットでは、ばらつきが大きいものの、Kyo:Wistarラットに比較して左軸に変位している例が多かった。変位の傾向は、SER $\geq$ SER-N $>$ tremorラットの順に軽減した。

心室重量：絶対重量ではSERが有意に低かったが、相対重量では系統間の差はなかった。

心室壁面積比：SERおよびSER-Nでは、左心室壁の面積比がKyo:Wistarラットに比べて有意に増加しており、左心室肥大の傾向がうかがわれた。

以上のように、SERおよびSER-Nでは心電図所見において特徴的な成績が得られ、一部ではあるが形態的に裏付けされた。今後は、より詳細な心電図検査により心機能状態を把握するとともに、形態学的検査をからめて、これらミュータント動物の心疾患モデル動物としての確立の可能性を検討してゆきたい。

実験動物の環境統御

山内忠平（元鹿児島大学医学部動物実験施設）

医学研究のための動物実験は、古くから行われていたが、わが国では、西洋医学の導入とともに行われるようになった。1950年代から、欧米諸国をはじめ日本において、近代的な実験動物学が誕生し、それとともに、実験動物施設の建築・設備、飼育管理技術も著しく発展してきた。

実験動物の飼育は、いかなる動物実験の分野でも行われる。各種の研究分野が扇の骨とすれば、動物の飼育管理と関係する環境分野は扇の要に相当するもっとも重要な分野である。環境要因には、気候的、物理・化学的、栄養的、生物的な各種の要因がある。個々の要因の研究は、進歩したものもあるが、環境因子の複合的な解析、理想と現実の調和等の面では必ずしも満足できない点も多い。

上記のすべての環境因子について詳述することはできないので、ここでは、実験動物施設の空調と関係する温熱因子と空気清浄度の要因について述べてみたい。

1. 実験動物施設

実験動物施設の基本原則は、

- 1) 動物に対して快適で衛生的な条件に維持されること
- 2) 施設内で作業するヒトに対して、快適で衛生的な条件に維持されること
- 3) 施設周辺への公害防止がはかられていること
- 4) 施設の運転に当たって、経済的であること

の四つの条件が要求される。

第1の動物に対する条件としては、信頼性と再現性のある実験結果が得られること、実験動物の生産や実験中における感染症の発生防止が要求される。初期の頃は、実験動物の環境統御というと、とくに空調による温度・湿度の調節が重視された。その理由はマウス・ラットの基礎代謝、薬物の毒性試験、催奇形性試験あるいは生理的測定値が高温または低温に影響されるからである。近年では、動物の福祉についても要求されるようになったが、集団飼育か個別飼育か、ケージの材質・形状、適性な動物1匹あたりの収容面積、1ケージあたりの収容数などについての倫理的と科学的との調和した結論はいまだ見出されていないようである。

感染症の発生防止には、SPF動物が開発され、バリア施設の設置や微生物モニタリングなどが発展してきた。それでも、実験動物の感染症を完全に撲滅できたとはいえない。今後は、病原微生物の疫学的な研究とともに、飼育管理の実際とも関係した、より科学的

な方法が確立されることが希望される。

第2はヒトに対する条件である。感染動物実験施設やRI動物実験施設ではヒトに対する考慮も払われているが、一般の動物実験施設での考慮は不足していたようである。たとえば、1972年から1984年までの間にわが国の各地の動物実験施設では、腎症候性出血熱が流行し、22の研究機関の142名が発病し、その中の一人は死亡した¹⁾。また、実験動物関係者に、鼻、咽喉、眼、皮膚のアレルギー症が発生することは、1957年以来多くの報告がある。われわれの調査結果²⁾でも、229機関の5,641名中1,296名(23.2%)が、なんらかのアレルギー症状を訴えていた。アレルギーの発症には各種の原因があるが、とくに気道性アレルギーは動物室の空中粉塵と関連するものもあり、問題が指摘される。

快適性は、人間の感覚と関連した部分があるが、汚い、臭い、危険(人獣共通感染症による)といった、いわゆる3Kのイメージは取り除かれていない。実験動物の飼育管理および動物実験は、重要な業務といわれても、3Kの職場では最近の求人難の時代には、喜んで就職する若い人も少なくなるのではないかと心配している。

第3の公害防止については、施設周辺への微生物やRI物質の拡散防止、污水处理、悪臭防止、死体の処理等は、ある程度行われてきたが、いまだ充分とはいえない。その理由は、公害防止設備の建設およびその運転に、多くの経費がかかることによるものであろう。

第4の経済的問題は省エネルギーとして、多くの関係者が関心をもっている。平成元年度の国立大学医学部の動物実験施設における年間の光熱水料の平均は、表1のように、1㎡あたり8,166円で、文部省から配分される予算の100.3%にも達し、運営上の大きな問題となっている³⁾。

表1 平成元年度の国立大学動物実験施設の予算と光熱水料の平均

グループ	予算額	光熱水料 (㎡当たり光熱水料)	予算額に対する 光熱水料の比率
A (6施設) (5,000㎡以上)	57,668千円	53,741千円 (9,163円/㎡)	93.2%
B (14施設) (4,000㎡以上)	34,776	32,445 (7,636円/㎡)	93.3
C (12施設) (4,000㎡以下)	16,692	21,627 (8,055円/㎡)	129.6
総合 (32施設)	32,287	32,381 (8,166円/㎡)	100.3

第17回国立大学動物実験施設協議会資料, 1991年より作成。

このような予算の状態では、飼料の購入、飼育器具や設備機械の補修、管理用の賃金なども支出できないので、実験者側に受益者負担料を供出してもらっている状況である。光熱水料の大部分は、空調用の電気・重油代等であるが、その原因は、動物施設は、年間、四季の区別なく24時間の空調が行われているためである。民間施設の光熱水料についての情報は無いが、国立の施設よりも著しく多いものと推察されている。

このような理由で、大学等においては、動物実験施設設置の科学的な重要性や利便性は認めながらも、施設は金がかかるとしてその設置を敬遠している機関もある。

以上のことから考えると、実験動物施設は科学的に、倫理的に、あるいは経済的に、総合的に調和のとれたものでなければならない。

2. 動物室の空調条件

実験動物の環境について考える場合には、動物の生理生態学的特性や熱の物理学的特性を知っておくことが必要である。

1) 温度、湿度、気流因子と体温調節

哺乳類や鳥類の多くは恒温動物といわれ、つねに一定の体温を維持して、生体の各種機能を正常に作動させるための体温調節機能をもっている。すなわち、体熱の産生と放散をバランスよくコントロールしている⁴⁾。

動物体の熱は、餌から摂取した蛋白や脂肪をエネルギーとして、筋肉や肝臓等で化学的に産生される。筋肉による発熱量は、マウスで35%，ラットで57%，肝臓による発熱量はマウスで20.4%，ラットで22.5%であるといわれる。絶食安静状態では、摂取エネルギーおよび体内での熱発生はほとんどないので、貯蔵しているエネルギーを使用して、熱を発生させている。このときの代謝は基礎代謝または標準代謝率とよんでいる。

熱の放散は、伝導、対流、放射及び蒸発の物理的变化で行われる。普通の状態では図1に示すように、伝導による放熱は少なく、対流、放射、蒸発による熱の放散が大きい。低温環境では、対流と放射による放熱が大きく、高温環境では蒸発による放熱が大きい⁴⁾。糞尿排泄による熱の放散もあるが、それは5%程度といわれる。

対流による放熱は皮膚面の空気が暖められ、その暖められた空気が軽くなって上昇し、冷たい空気と入れ替わるといった方法で行われる。したがって、皮膚表面の風速が増加すると、体熱放散は大きくなる。

空気の熱伝導は少ないために、空気を含む被毛や発泡スチロールは断熱効果がある。したがって、毛皮や羽毛は防寒衣料として、発泡スチロールは断熱材としてよく使用されている。また、寒冷地域においては、二重窓や二重になったペアガラス窓がよく使用されている。立毛も熱の放出を防止するのに役立っている。普通の動物は被毛があるので、低温環境には強いが、逆に高温環境には弱いこととなる。

熱の遮断能力はクロ値として現わされる。ヒトの場合、30℃のときに0 clo, 21.2℃で1 clo, 12.4℃で2 clo, 3.6℃で3 clo といわれる。衣服のclo 値は、95g の木綿のシャツで0.17 clo, 624gの裏つきの羊毛背広の上着で0.5 clo といわれる。マウスの被毛のclo 値は、18℃で0.25, 22℃で0.14, 26℃で0.04clo といわれ、日本サルでは15℃で0.19, 25℃で0.06clo といわれる。脱毛クリームで脱毛したICR 系マウスの体温は、脱毛しない普通のマウスよりも、早くかつ著しく下降する。ヌードマウスは低温になると、体温の放散も大きいので、図2に示すように、低温環境では摂餌量はICR マウスよりも多く、2℃環境では、1g も多い⁵⁾。

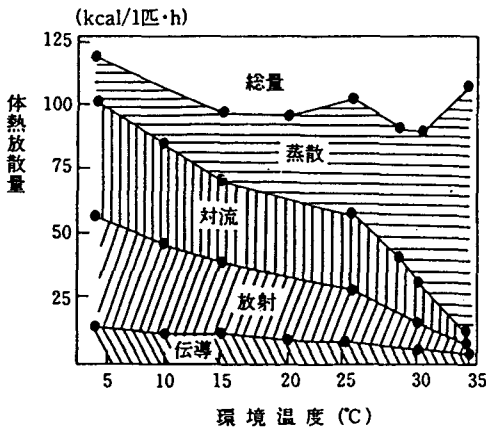


図1 経路別によるブタの体熱放散と環境温度との関係

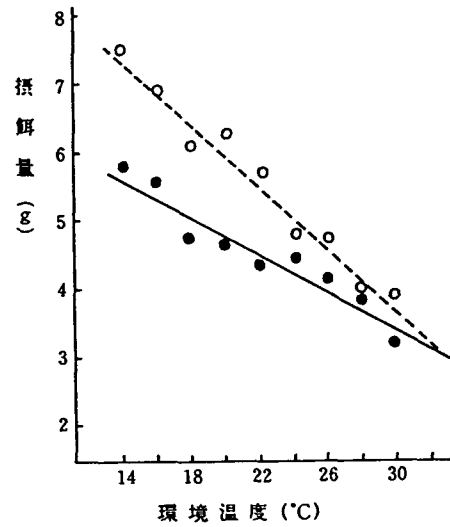


図2 ヌードマウス(○)とJcl:ICR マウス(●)の環境温度と摂餌量との関係(8週齢)

放射による熱の放出は、電磁波の形で周囲の物体に対して行われ、ヒトでは快適環境下でも、総放熱量の50%は放射によって失われるといわれる。腕の内側と胸側、大腿部の内側間等のように、向かい合った部分では互いに放射しあっている。放射による熱の放散は皮膚を流れる血液量を調節して、皮膚温度をコントロールすることによって行われる。寒冷環境で、動物がうずくまってまわっているのは放射面積を縮小して放熱面積を小さくしようとするものである。逆に、温暖環境で背部を下にして大の字になって寝ているのは、毛の少ない皮膚からの放熱面積を拡大しようとする動物の智慧である。ケージ内への収容匹数の増加は、相互に37℃の体温を放射しあって体温の保持に大きく役立っている。ケージ内の温度は1匹増えるごとに0.4℃程度ずつ上昇している。われわれのヌードマウスの実験では、ケージに1匹収容した場合には、18℃でも死亡したが、2匹以上を収容した場合には死亡することはなかった。

蒸散による放熱は、皮膚からの発汗、流涎、気道からの水分放出によって行われる。水1gの蒸発によって、0.585 Kcal の熱が失われ、ヒトでは発汗のないときでも1時間あたり約30 gの水分が蒸発して、17.55Kcal の熱が失われるといわれる。げっし類は、汗腺が発達していないので、蒸散による放熱は流涎や呼吸数の増加によって行われる。したがって高温環境では水分補給のために、図3のように、ラットの摂水量は増加することになる。

また、動物には、昼行性と夜行性の生態的な行動特性があり、夜行性のラットやウサギの夜間の発熱量は昼間の1.5 倍も多くなるといわれる。

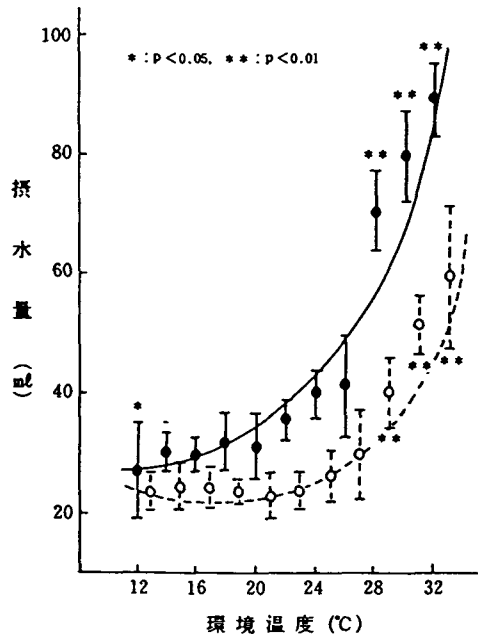


図3 環境温度とラットの摂水量
(Wistar, 10週齢, ●:♂, ○:♀, 範囲は $M \pm SD$)

温度ストレスによる生体反応の時間的關係は図4のように、第1には神経系を通じて、第2には内分泌系を通じて、第3には各種臓器を通じて体温調節が行われる⁶⁾。

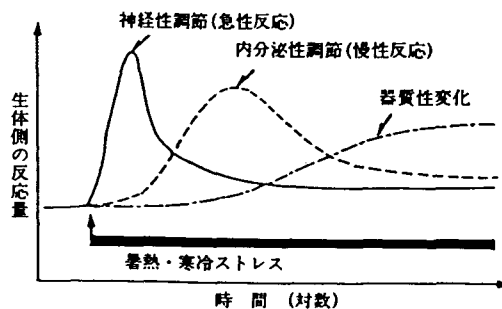


図4 温度ストレスによる生体反応(適応性変化)
(小坂より⁶⁾)

たとえば、マウスを人工気象装置内におき、温度を25℃から15℃または35℃に変化させたときの非保定状態の心拍数や呼吸数は図5のようになる。すなわち、15℃になると急速に増加し、25℃になるとほぼもとの状態にもどり、35℃になると急に減少する。この現象は、心拍数や呼吸数が、温度ストレスを神経的に感じて秒単位で急速に変化したものと考えられる。ホルモンの分泌は、分または時間単位で、臓器の重量や器質的变化は日または週単位でおこるものとみられている。

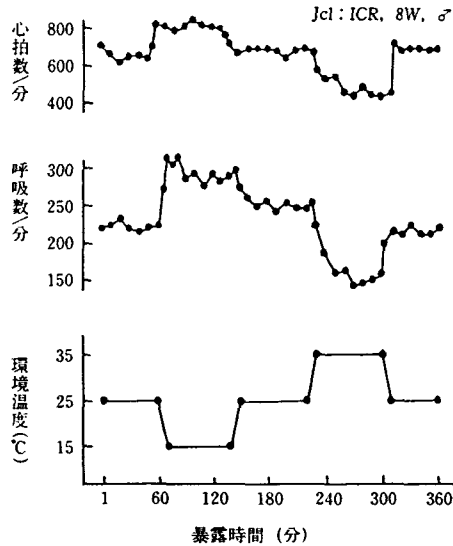


図5 環境温度の変化に伴うマウスの心拍数と呼吸数の変化

哺乳動物が、地球上に誕生してから、千数百万年になるといわれるが、現代までの長い年月の間に獲得した、生体の恒常性を維持するための複雑な体温調節機能は完成した。このような哺乳動物の生理生態学的特性の体温調節機能が、数年や数十年で簡単に変化するとは考えられない。

また、体温と産熱量、基礎代謝と環境温度との関係は図6のようになる。基礎代謝がもっとも少ないときの環境温度を温度中性域、体温が一定の範囲を越えて上昇あるいは下降するときの温度を臨界温度とよび、さらに体温が上昇すると熱中死をきたし、低下すると凍死をきたすことになる。文献的にみられる動物の低温と高温の臨界温度は、マウスで10℃と37℃、ラットで-10℃と32℃、モルモットで-15℃と32℃、ウサギで-29℃と32℃といわれる⁴⁾。生理的にみられる温度中性域は、マウスで30~33℃、ラットで28~30℃、モルモットで28~31℃、ウサギで20~30℃といわれる⁴⁾。また、温度中性域は年齢によっても異なり、ラットの10日齢では35~36℃、30日齢では27~29℃、65日齢では24℃であっ

たという報告⁷⁾もある。また, 90 日齢では21℃, 150 日齢では20℃であったという報告⁸⁾もある。

環境条件は, 許容しうる範囲の一定のゾーンのなかで低温と高温の刺激があった方がよいのではないかとの考えもある。筆者は湿度をほぼ50%に一定にして, 1日の温度が朝の7時に19℃, 午後2時に27℃に日内変動するプログラムコントロール変動環境で, マウス, ラットの繁殖育成の実験を行ったことがある。その結果, 恒温・恒湿の環境で飼育したマウス・ラットの繁殖育成成績とプログラムコントロール環境のそれとの間には大きな違いはなく, かえって後者の方がよい結果も得られた⁴⁾。

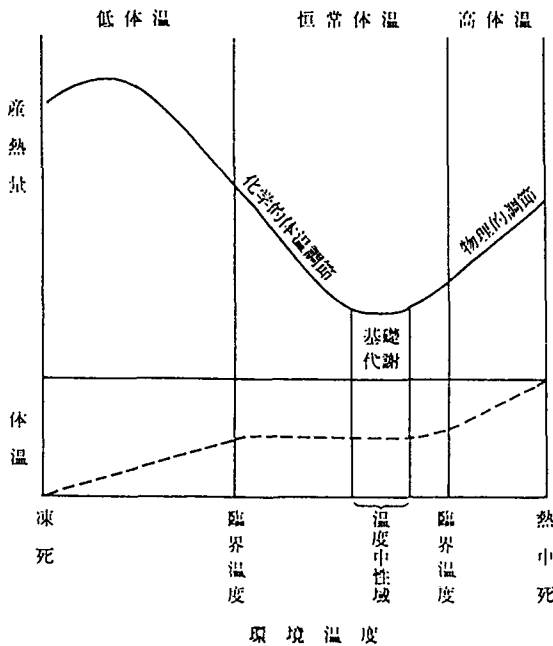


図6 産熱量, 基礎代謝, 体温と環境温度との関係

臨界温度や温度中性域の実験は, 1匹ずつで行った実験をもとにして行われたもので, 一般に飼育しているように, ケージ内で多数の動物を飼育している状態での実験ではない。そこで, 筆者ら^{9, 10)}は, 12℃から32℃までの2℃ずつ異なった11の温度条件でマウス・ラットの繁殖, 育成, 摂餌量, 摂水量, 臓器重量, 血液性状, または薬物の急性毒性試験を行った。このときのケージ内の収容匹数は繁殖時には雌は1匹ずつ, 離乳までは雌親と同居させ, 育成時および成長時には雌雄を分けてマウスでは5匹ずつ, ラットは3匹ずつをプラスチックケージに収容した。各種環境温度における2代にわたるマウスの繁殖成績は表2に示すようである。出産率は初産では12～32℃の各温度間で有意差は認められなかったが, 2産では30および32℃環境では有意に減少した。平均産子数は28℃以上の環境で

表2 各種環境温度におけるマウスの繁殖成績

産次	環境温度	出産率	平均産仔数	離乳率
初産	12℃	10/10 (100 %)	13.3± 1.3	90/100 (90 %)
	14	9/10 (90)	11.3± 2.1	88/100 (98)
	16	10/10 (100)	12.1± 1.5	98/100 (98)
	18	10/10 (100)	11.8± 1.8	99/100 (99)
	20	9/10 (90)	11.3± 1.4	80/ 90 (89)
	22	9/10 (90)	12.7± 1.9	89/100 (99)
	24	10/10 (100)	12.4± 2.7	95/100 (95)
	26	9/10 (90)	12.6± 1.7	90/ 90 (100)
	28	10/10 (100)	10.3± 2.4*	89/100 (89)
	30	10/10 (100)	9.8± 2.2**	80/ 86 (93)
	32	9/10 (90)	8.5± 1.4**	25/ 68 (37) **
2産	12℃	10/10 (100)	15.1± 1.5	94/100 (94 %)
	14	9/10 (90)	15.1± 1.3	89/ 90 (99)
	16	10/10 (100)	13.2± 2.6	97/100 (97)
	18	10/10 (100)	14.9± 3.2	99/100 (99)
	20	10/10 (100)	13.8± 2.3	100/100 (100)
	22	9/10 (90)	15.0± 1.7	100/100 (100)
	24	10/10 (100)	15.8± 2.5	100/100 (100)
	26	10/10 (100)	13.0± 2.0	97/100 (97)
	28	9/10 (90)	9.4± 4.1**	76/ 90 (84) **
	30	7/ 9 (78) **	10.3± 3.2**	44/ 53 (83) **
	32	5/ 9 (56) **	9.3± 4.6**	3 / 28 (11) **

有意差は20～26℃群の結果と比較，* P : <0.05, ** : P <0.01.

表3 各種環境温度下におけるラットの繁殖成績

産次	環境温度	出産率	平均産仔数	離乳率
初産	12℃	9/10 (90 %)	14±3	88/ 90 (97 %)
	14	10/10 (100)	12±4	96/100 (96)
	16	10/10 (100)	11±3	100/100 (100)
	18	10/10 (100)	15±2	98/100 (98)
	20	8/10 (80)	12±2	79/ 80 (99)
	22	10/10 (100)	13±2	100/100 (100)
	24	9/10 (90)	13±2	90/ 90 (100)
	26	9/10 (90)	11±2	89/ 90 (98)
	28	8/10 (80)	12±3	80/ 80 (100)
	30	10/10 (100)	10±3 *	78/ 90 (86) **
	32	2/ 8 (25) **	6 **	6/ 12 (50) **
2産	12℃	10/10 (100 %)	13±3	93/100 (93 %) *
	14	7/10 (70)	15±3	70/ 70 (100)
	16	9/10 (90)	13±4	90/ 90 (100)
	18	10/10 (100)	13±4	100/100 (100)
	20	9/10 (90)	14±2	90/ 90 (100)
	22	10/10 (100)	15±2	99/100 (99)
	24	10/10 (100)	13±4	100/100 (100)
	26	10/10 (100)	12±3	97/100 (97)
	28	10/10 (100)	12±4	100/100 (100)
	30	7/10 (70)	10±5	70/ 70 (100)
	32	0/ 4 (0) **	0	—

有意差は20～26℃群の結果と比較，* P <0.05, ** P <0.01.

は減少し、離乳率は初産では32℃で、2産では28℃以上の環境で低下した⁴⁾。

ラットでは、表3のように、30℃と32℃の各種温度環境における繁殖成績は有意に低下した⁴⁾。これらの結果からみると、マウスでは12～26℃の、ラットでは14～30℃の範囲では繁殖への大きな影響はないようである。

マウスやラットに対する薬物のLD 50 が飼育する温度条件で違うことはよく知られている。22℃条件下でJcl-ICR系マウスに対するペントバルビタールとアセチルコリンの腹腔投与によるLD 50 の量を、11の温度条件下で腹腔投与した場合の死亡率は表4のように、ペントバルビタールでは20℃から30℃の間で、アセチルコリンでは18℃から30℃の間では、有意差はまったく認められなかった⁴⁾。

表4 各種環境温度下における Pentobarbital sodium 88mg/kg と Acetylcholine 270mg/kg 腹腔投与によるマウスの死亡率

環境温度 (℃)	Pentobarbital sodium		Acetylcholine	
	死亡数/投与数	死亡率 (%)	死亡数/投与数	死亡率 (%)
12	20 / 20	100	3 / 20	15
14	19 / 20	95	0 / 20	0
16	18 / 20	90	1 / 20	5
18	20 / 20	100	5 / 20	25
20	8 / 20	40	7 / 20	35
22	8 / 20	40	6 / 20	30
24	14 / 20	70	7 / 20	35
26	12 / 20	60	6 / 20	30
28	11 / 20	55	6 / 20	30
30	8 / 20	40	6 / 20	30
32	5 / 20	25	13 / 20	65

Jcl: ICR, ♀, 6週齢, ns: not significant, χ^2 検定により各温度間に有意差の認められなかった範囲

これらの結果を総合的にみるために、各種の実験項目に温度間で有意差の認められなかった範囲を図示すると、マウスでは図7の、ラットでは図8のようである。マウス・ラットともに、20～26℃の各種温度環境では、すべての実験項目に有意差を認めなかった。また、18～28℃の範囲でも有意差の認められなかった項目も多かった。しかし、マウス・ラットの各種の系統について詳細に検討すれば、少々の違いはあるかもしれない。たとえば、ヌードマウスでは22、24および26℃の温度環境間では有意差を認めなかったが、28℃以上の高温になると赤血球数、ヘモグロビン量などが増加していた。このような各種の実験から、私は動物室の温度は普通の有毛のマウス・ラットでは20～26℃の範囲ならば大きな影響はないものと考えている。ヌードマウスについては、具体的なデータは示さないが、22～26℃の範囲ならば影響はないものとする⁴⁾。

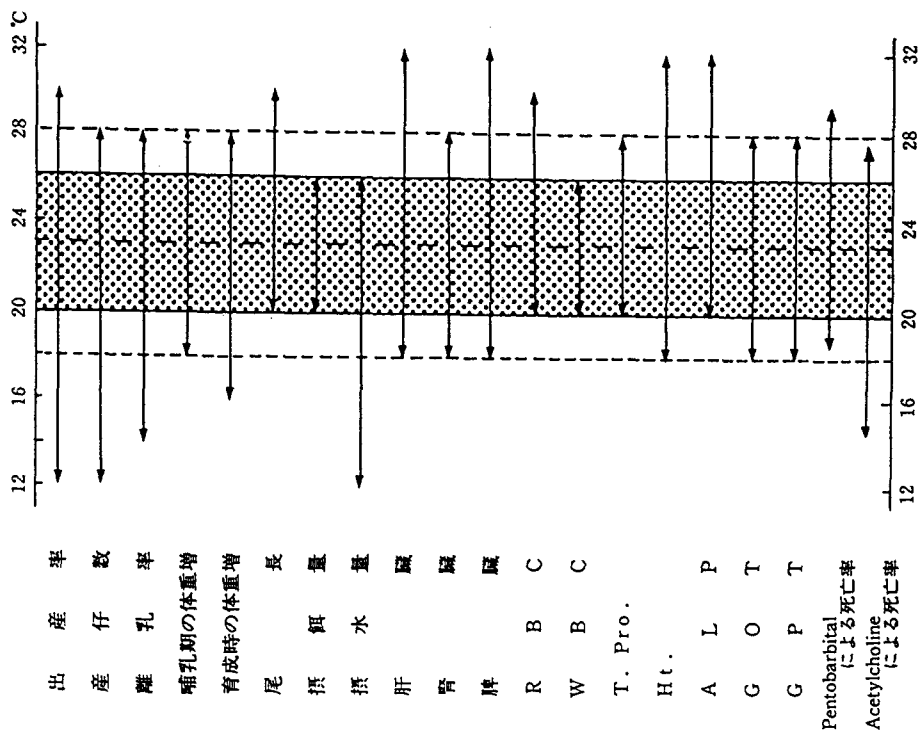


図 8 Wistar ラットの各種測定値に有意差の認められなかった温度範囲

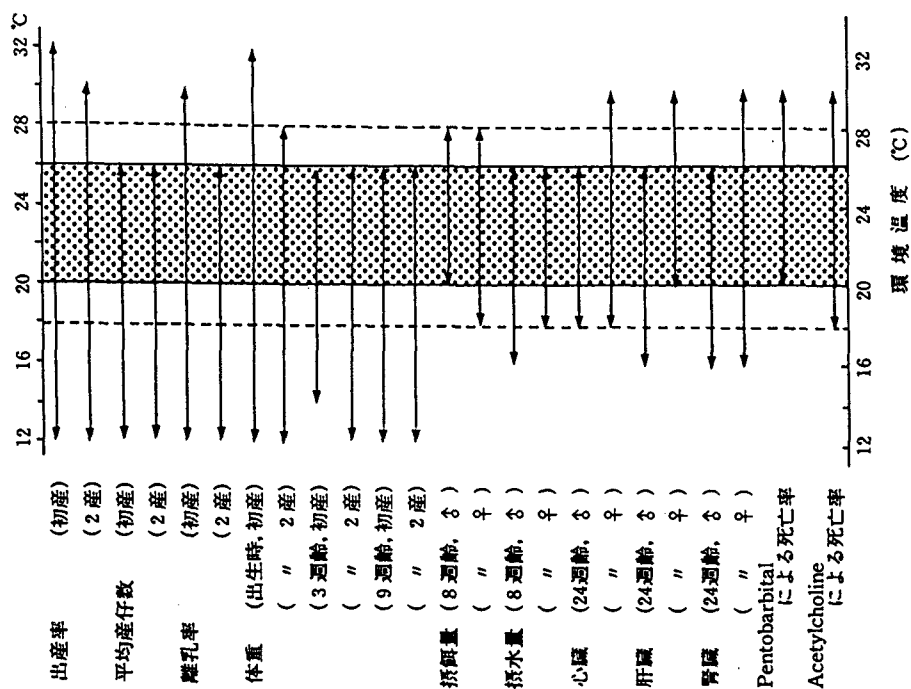


図 7 ICR マウスの各種測定値に有意差の認められなかった温度範囲

3. 動物室の環境基準

1) 温度の基準値

上記のように、動物の発熱量や生理生態的特性と温度との関係は、動物種、系統、年齢、昼夜の別、収容状態によって異なるので、動物室の温度を共通的な一定の条件として示すことは難しい。

国際的にみると、マウスの温度基準はアメリカの空調学会では22～25℃、アメリカの実験動物学会では21～27℃、ヨーロッパの実験動物学会では20～24℃、イギリスの実験動物センターでは19～25℃、日本の1982年ガイドラインでは20～26℃と提示している⁴⁾。私はこれらの条件を整理して、図9のように、最適値、目標値、推奨値、許容範囲といった考えを導入すべきであると提唱している⁴⁾。

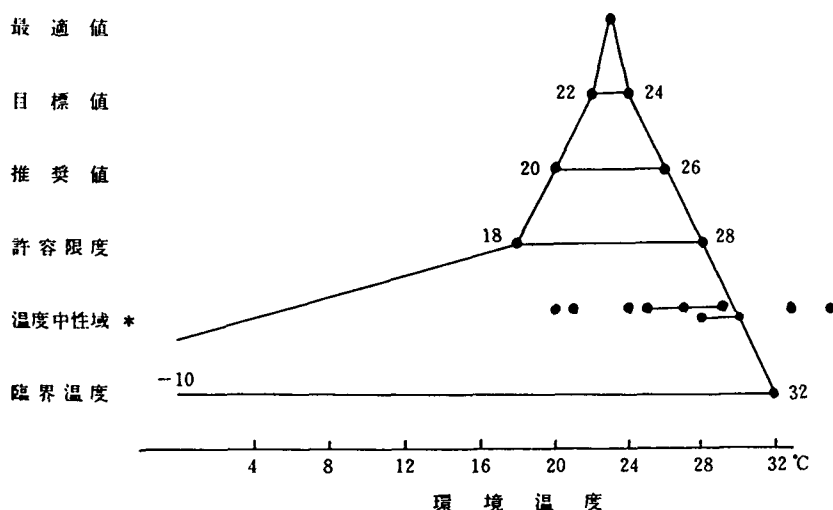


図9 ラットにおける各種温度条件の関係
(*動物の年齢、文献によって異なる)

最適値とはある動物の個体では明示できても、動物の種、系統、性、年齢あるいは収容密度の異なる多くの動物室に共通した一定の最適値を決めることはできない。

目標値とは、空調設計時の目標とする温度条件で、 23 ± 1 °Cで充分であろうと考える。

推奨値とは、施設運転上通常承認される温度条件で、20～26°C程度と考える。

許容範囲とは、実験動物飼育にあたって許容しうる温度範囲で18～28°Cと考える。

さらに、実験動物でも体温調節機能を作動することによって、臨界温度の範囲では生存できるので、飼育目的によっては温度調節の不要なこともあろう。

2) 湿度の基準

湿度が40%以下になると、幼若ラットの尾にリング状の壊死をおこすリングテイルという病気が発生し易いことがよく知られている。とくに25℃以下の低湿環境で出現し易い。また、同一温度でも低湿環境では、マウスの行動が活発になること、ラットの摂餌量が増加することも報告されている⁴⁾。マウスの心拍数、呼吸数あるいは体温は、25℃以下の環境では湿度間の差は認められないが、30℃以上の環境では、湿度の上昇とともに影響は顕著になる。一方、動物室の湿度が低い場合には粉塵量が増加すること、湿度の高い場合に空中細菌やアンモニアが増加することも知られている。しかし、適性な湿度条件についての詳細な研究報告は少ない。その理由は、湿度の調節が難しいこと、各種の温度条件との組み合わせで実験しなければならないことによるものであろう。今後、熱の総和であるエンタルピーの考えを取り入れて、環境複合のもとで解析すべきであろう。

気象的には、冬季には一般的に湿度が低く、温度(顕熱)のみを上昇させると湿度は下降するので、動物室の湿度調節は必要である。湿度の基準値について、わが国のガイドライン¹³⁾では、40～60%、(少なくとも30%以下、70%以上にならないことが好ましい)という条件を示している。この数値は国際的にもほぼ同様である。

3) 換気、気流、静圧、風速の基準

換気：換気の指標として、換気量や換気回数が使用されている。最小換気基準については、アメリカの空調学会で、1914年に建築環境の室内衛生保持のための換気基準が定められた。その後、幾度かの変遷を経て、1986年では25.5m³/h・人が国際的な基準とされている¹¹⁾。この値を、標準的な動物室の大きさといわれる3X6mの部屋の換気回数に換算すると、1回/時である。なお、換気回数1回/時でも、動物が酸素欠乏または二酸化炭素中毒になることはない。しかし、動物室では、換気回数が少ない場合には粉塵、空中細菌、臭気等が室内に停滞し易い。ちなみに、HEPAフィルターを設置した従来の乱流方式のラット飼育室での、ケージ交換後3日目の粉塵個数と換気回数との関係を示すと、表5のようである。換気回数の増加につれて、小さな粉塵も大きな粉塵も減少するのは明らかである。

換気回数の基準値は、わが国の基準案¹²⁾では、6回以上、10～12回/時とされていたが、ガイドライン¹³⁾では10～15回/時と示している。欧米の学会等では10～15回/時、15回/時または15～20回/時と示している。動物室の空気清浄度を増加するために30回/時で運転している施設もある。しかし、換気回数を増加すると、エネルギー使用量も相対的に増加するので、経済的には少ない方がよい。このとき、基準値は参考になるが、同時に静圧配置や気流の制御方式なども考慮しなくては意味がない。

気流：従来、動物施設では、動物室内の温湿度および気流分布をよくするために、一般の動物室では、室内の空気を攪拌する乱流方式がとられてきた。そして、動物室の空気清

浄度は換気量の増加で対応してきた。また、SPF 動物の飼育では、気流がヒトの方から動物の方に流れてはいけないとされてきた。実際に、クリーンラック、アイソラックのような層流ラックではHEPAフィルターで濾過された空気が後方から前の方に吹き出し、それらでヌードマウスが飼育できることは、経験的にもよく知られている。しかし、SPF 動物の飼育室内は、動物のトイレであるケージを配列した状態になっている。乱流方式の空調のもとでは、ケージ内の粉塵、微生物、臭気物質は動物室全体に拡散されている。われわれの測定結果では、室内の中央部の空気清浄度は排気口の前とほとんど同一レベルになっていた。(図10, 表 9 参照)

表 5 乱流方式のラット飼育室の粉塵個数と換気回数との関係

換気回数	0.5 μm レベルの粉塵数	5 μm レベルの粉塵数
4 回/時	116,778個/ ft^3 (3307 / m^3)	923個/ ft^3 (26.1 / m^3)
8 回/時	14,409 " (408 ")	445 " (12.6 ")
16回/時	7,522 " (213 ")	292 " (8.3 ")
24回/時	4,783 " (135 ")	212 " (6.0 ")

動物室容積: 6.02 m^3 , 収容匹数: 7 ~8 週齢ラット60匹
 測定: ケージ交換後 3 日目の 24 時間の平均値

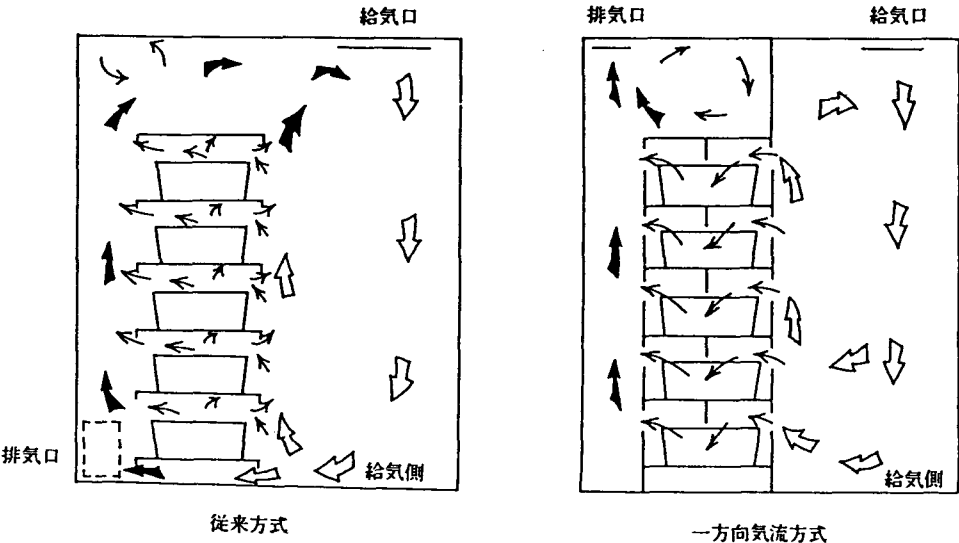


図10 従来方式と一方向気流方式の動物室の気流分布

そこで、われわれは一方向気流方式の空調システムを開発した¹⁴⁾。これは、図10のように、動物の飼育空間と作業空間とを完全に仕切り、給気された空気は作業空間からラック、ケージ内を流れて、排気側に一方向に排出されるものである。動物室中央部の作業空間は乱流方式の空調で給気されるので、温湿度、気流および風速の分布は殆ど均一である。したがって、作業空間ではほとんど臭気を感じせず、粉塵や空中細菌もほとんど検出されない。この方式では、換気回数4回/時の場合には、わずかに、飼育空間から作業室間の方に空気が逆流するが、8回/時以上ではまったく逆流しなかった¹⁴⁾。したがって、一方向気流方式での換気回数は従来の半分以下でよいのではないかと考えている。

全容積に対する換気回数10回/時の条件で改造した、各種の動物室を実測結果では、作業空間は13~17回/時、ケージ内は70~110回/時と著しく清浄な環境となっていた。¹⁵⁾

静圧：一般に空気は、気圧の高い方から低い方に流れる。このことを利用して、実験動物施設では、室内の静圧配置に留意されている。すなわち、バリア施設の飼育室は、静圧を廊下よりも1~2 mmAq高くし、また、廊下は外部よりも1~2 mmAq高くしている。

感染動物室やRI動物室では、逆に内部の静圧を低くして危険な病原体や放射性物質が外部に流れないように考慮されている。しかし、動物室では、ヒトや飼育器具類の移動もあるので絶対的な効果は期待できない。Sansoneら¹⁶⁾がバリア施設で、蛍光ナトリウム3g/Kgを混入した飼料をラットに一週間給餌したときの実験結果によると、床面の蛍光物質量は陽圧とした清浄廊下で飼育室の25%が、陰圧とした汚染廊下で57%が検出されたといわれる。

風速：気流速度は基準案¹²⁾では、ASHRAEの人を対象とした基準値がそのまま用いられ、一般には13~25cm/秒、推奨値として13~18cm/秒とされている。ガイドライン¹³⁾でも13~18cm/秒が採用されている。しかし、20cm/秒以下の微風は、熱線式風速計で正確に測定することは難しく、かつ誤差も大きい。今後、微風計の開発と動物の生理的研究とともに、実験動物施設での科学的な基準値が決められる必要がある。

3. 空気清浄度

動物室の空気清浄度には各種の要因があるが、ここでは、人の衛生および動物の感染病防止と関係の深い粉塵、空中細菌、臭気等について述べる。

粉塵：動物室の粉塵はケージ交換直後から1日までは多く、漸次時日の経過とともに減少の傾向を示す。これは、動物が新しいケージ内では活発な行動を示すこと、時日経過とともに床敷の水分含量が増加して粉塵の飛散が減少することによるものである。吉沢¹⁷⁾は粉塵は1級では5 μ 以上を0個/ml、0.5 μ 以下を5個/ml、2級で5 μ 以上を100個/ml以下、0.5 μ 以下を500個/ml以下と提案した。ガイドライン¹³⁾では、米国航空宇宙局の分類にしたがって動物を飼育していないバリア区域でクラス10,000(0.5 μ 以上の粉

塵個数を10,000個/ft³, 0.353 個/ml) と提示している。この基準値は前掲の表5にも示したように、換気回数16回/ 時のときにはほぼ満足できるようである。

粒子径別の粉塵数と空中細菌との間には、1 μ 以下の粉塵個数と空中細菌との間では、有意な相関は認められなかったが、2 μ レベルおよび5 μ レベルの粉塵個数と空中細菌数との間には極めて有意な相関が認められた。このことは、2および5 μ レベルの空中粉塵を測定しても、容易に動物室の空気清浄度が評価できるものと考えられる。

さらに、表6はモルモット飼育室の粒子径別の粉塵重量と蛋白含量を示す。粉塵中の蛋白は、気道アレルギーの発症原因になるが、2.1 μ 以上の粉塵中に67%が含まれ、1.1 μ 以下の粉塵中に30%程度が含まれていた。作業時にマスクをしても気道アレルギーが発生するのはそのためであろう。

表6 モルモット飼育室の粒子径別空中粉塵重量と蛋白含量

粉塵粒子径 (μ m)	粉塵重量 (mg/m ³)	蛋白含量 (ng/m ³)
7.0 以上	5.17 (18.1%)	273 (39.9%)
4.7 ~ 7.0	1.88 (6.6)	90 (13.2)
3.3 ~ 4.7	3.08 (10.7)	36 (5.2)
2.1 ~ 3.3	2.43 (8.5)	25 (3.7)
1.1 ~ 2.1	3.83 (13.4)	35 (5.1)
0.7 ~ 1.1	4.91 (17.2)	69 (10.2)
0.7 以下	7.32 (25.6)	155 (22.6)
Total	28.6 (100.0)	683 (100.0)

飼育室面積：43.2m²，1室当たりのモルモット収容数：280 匹。
換気回数：12回/時。

空中細菌：清掃消毒後の動物室では、空中細菌はほとんど検出されないが、一旦動物を収容すると日毎に増加してくる。また、マウス飼育室のケージ交換後の空中細菌は、図11に示すように、消灯直後や点灯前後、深夜に増加し、午後1～3時頃には著しく減少し、ケージ交換後の日数によって異なるが、1日の最大値と最小値との間には10～30倍の差がある。なお、空中細菌は換気回数の減少、飼育密度の増大とともに増加することも重視しなければならない。ガイドラインでは、落下細菌は動物を飼育していないバリア区域で3個以下、動物を収容していない通常の区域で30個以下とされている。

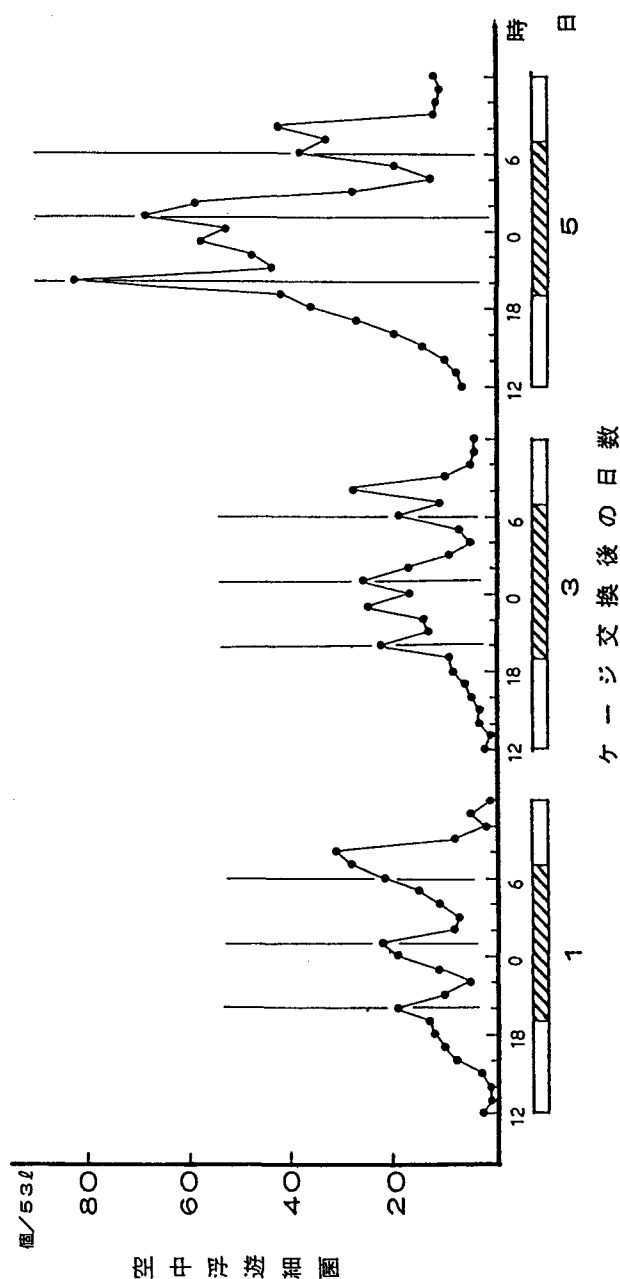


図11 マウス飼育室におけるケージ交換後1, 3, 5日目の空中浮遊細菌の日内変動
マウス(ddy)♀400匹収容, Pinhole Sampler 法

動物の飼育管理作業時には、マスクを着用することが推奨されている。そこで、各種市販マスクの空中細菌と0.5 μ レベルの粉塵の捕集効率を、表7に示す。手術用マスクや合成繊維製の質のよいマスクは80%程度の捕集効率があるが、防毒用マスク、ガーゼマスクあるいは簡易打抜型のマスクでは55%以下の捕集効率であった¹⁸⁾。このことからみて、

マスクの着用も絶対的な効果は期待できないが、細菌やウイルスの感染実験のとき、あるいは気道アレルギーの発症し易い人が動物室に入るときには、上質のマスクを着用すべきである。

表 7 各種市販マスクの空中細菌と0.5 μ レベル粉塵の捕集効率

マスクの種類	空中細菌			0.5 μ レベル粉塵		
	通過前	通過後	捕集効率	通過前	通過後	捕集効率
手術用（東レ）	97	19	76%	5,000	371	83 %
バイリン（X-642）	160	43	81	18,000	3,000	77
バイリン（X-302）	175	30	81	13,000	4,000	77
バイリン（打抜型）	195	125	35	14,000	11,000	42
防毒用	181	71	54	9,000	8,000	35
ガーゼ（28枚+GF）	191	87	54	13,000	9,000	50
ガーゼ（18枚）	195	125	54	15,000	13,000	32

GF：グラスフィルター， 数値：15～19回測定の平均値

臭気：動物室の臭気については、従来からアンモニアがもっとも注目され、基準案¹¹⁾ およびガイドライン¹³⁾ ともアンモニア濃度は20ppm 以下と示されている。しかし、アンモニアは0.6ppmから悪臭として感じ、9ppm になると強い刺激臭を感じるようになる。また、アンモニアはケージ交換後1日までは少ないが、3日以後からは増加する。これは、尿素分解細菌の作用によって、糞尿中の尿素が分解されてアンモニアが発生することに関係するものである。また、水洗ラックの動物室でも独特の臭気がある。最近の研究¹⁰⁾ によると、表8に示すように、アンモニアの他にも多くの臭気成分があることが明らかになった。人間の嗅覚の感知閾値をとりいれたラット室でのアンモニアの寄与率は10%以下であったが、トリメチールアミンの寄与率は、89%であった。また、トリメチールアミンの寄与率はマウス室で97%、イヌ室では87%と著しく高かったが、ウサギ室では9%と少なかった。さらに、トリメチールアミンの寄与率はマウス・ラットの飼料で高く、ウサギの飼料で低いことも明らかになった。今後、飼料原料との関係で詳細な研究が必要である。また、臭気成分の脱臭除去は公害防止、省エネルギーのための再循環空気の利用とも関係するので、脱臭除去技術は、今後とも検討する必要がある。

表8 ラット飼育室の臭気成分の測定例

	臭気物質	感知閾	測定値	寄与率
S化合物	硫化水素	0.41ppb	0.08ppb	—
	メチールメルカプトン	0.07 "	0.08 "	—
N化合物	アンモニア	1.5 ppm	12.8 ppm	6.8 %
	メチールアミン	35.0 ppb	0.26 ppb	—
	ジメチールアミン	33.0 "	0.21 "	—
	トリメチールアミン	0.02 "	3.01 "	89.0 %
有機酸	酢酸	4.2 ppb	0.43 ppb	—
	iso-吉草酸	0.078 "	0.286 "	3.0 %
	n-カプロン	0.6 "	0.2 "	—
	iso-カプロン	0.4 "	0.2 "	—
アセト アルデヒド類	アセトアルデヒド	1.5 ppb	2.10 ppb	1.1 %
	iso-バレルアルデヒド	0.069 "	0.39 "	—
計				100 %

ケージ交換後7日目の飼育室中央部

空調方式と空気清浄度との関係を見るために、表9に、従来方式と一方向気流方式の動物室にラットを導入する前と導入した後7日間の給気側（作業空間）と排気側（飼育棚の裏側）との0.5 μ レベルの空中粉塵数、落下細菌数およびアンモニア濃度を示す。落下細菌数およびアンモニア濃度は導入前には、両方式の給気側、排気側ともまったく細菌を検出できなかった。導入後にはとくに従来方式において日数の経過とともに菌数とアンモニアは増加した。従来方式の給気側は排気側とほとんど同様か僅かに少ない程度であった。これに反して、一方向気流方式の作業空間（給気側）は、いずれの測定項目とも、排気側よりは著しく少なかった。

表 9 乱流方式と一方向気流方式の空気清浄度

測定項目	ラット導入 前後の日数	乱 流 方 式		一方向気流方式	
		作業空間	排気側	作業空間	排気側
0.5 μ レベル 粉塵数 (個/ft ³)	導入前 1 日	142	113	170	227
	導入後 1 日	20475	18323	113	2124
	2	5862	7476	57	31888
	3	4673	6599	57	12829
	4	4616	4248	28	12546
	5	4786	4729	170	9770
	6	3172	3880	227	9629
	7	4361	4135	0	9176
落下細菌数 (個/シャーレ)	導入前 1 日	0	0	0	0
	導入後 1 日	0.2	0.3	1.0	27.0
	2	0.3	0	0.5	38.0
	3	1.0	1.0	0	7.5
	4	8.0	7.5	1.0	10.0
	5	11.0	12.0	0	54.0
	6	20.5	25.0	0.5	68.0
	7	23.5	27.5	0.5	85.0
アンモニア (ppm)	導入前 1 日	0	0	0	0
	導入後 1 日	3.5	16.5	0.1	0
	2	12.5	11.5	0	0
	3	33.5	43.0	0.1	0
	4	52.5	50.0	0	1
	5	81.0	91.0	0.1	1.5
	6	187.0	240.0	0.2	5.3
	7	131.0	142.0	0.1	14.0

粉塵は、パーティクルカウンターにより、午前 9～10 時に 28 回測定の平均

われわれの施設では空調システムの改造を行った結果、改造後、アレルギーに感受性のある人の83%は発症なくなり、また、その中で飼育されたSPF マウスも、十分な衛生管理のもとでは12ヶ月間にわたって感染症は発生しなかった^{14, 15)}。

動物室の清浄度を監視するために、落下細菌、アンモニアなどがよく測定され、ときによっては粉塵レベルまでも測定されている。しかし、これらの測定値には、各種の環境要因が複合するので、空調方式、換気回数、動物収容の有無、収容密度、ケージ交換後の日数、測定時刻、捕集・培養条件などが明記されていなくてはデータの評価はできない。また、バリアシステムの施設における静圧配置、清浄・汚染廊下の区分、前室、シャワー室の設置、温水シャワーとエアシャワーとの効果もさらに科学的に解明して、実際とも調和した方式を探し出す努力が必要である。

4. 今後の実験動物施設

科学技術は、各種の分野で急速に発展している。コンピューターなどは数年もたてば旧型といわれる。実験動物施設の建設思想も10数年も経過すると、改変しなければならない部分もある。過去20数年の実験動物科学の研究結果によって、ある程度の情報は蓄えられているが、現段階では、いまだ充分とはいえない。

今後の実験動物施設においては、過去を反省し、現状を眺め、自然科学の知識や情報をもとに、21世紀に向けての実験動物施設の有り方の理想と現実をいかに調和させるかを、多くの関係者で模索していく必要がある。そのとき、多くの実験動物は、ヒトとともに、哺乳類に属していることを忘れてはならない。人間に対する快適な環境の基準は、ある程度、科学的な根拠が蓄積されているが、その条件がそのまま動物にとっても快適で衛生的な条件であるとは限らない。

昨今、原油価格の高騰、オゾン層破壊による地球温暖化が叫ばれているが、このような国際的な経済、社会、地球規模の環境問題は、動物施設空調運転の足を引っ張ることになろう。実験動物がいくら大事であるといっても、自然に逆らうような施設の建設や管理では社会がうけいれなくなる。施設の運転上の経済的理由から動物施設の設置を敬遠する研究機関もあるが、すべての研究者が経済的要因で縛られることなく、しかも科学的にも容認できる施設の建設を目標とすべきであろう。

具体的には、生産施設と実験用施設とに分け、そこに収容する動物種、その微生物統御レベル、その使用目的に合致したものとするべきである。同一建物内に多種類の動物を収容する場合にも、動物種別、微生物統御レベル別、実験目的別に部屋を設けるべきである。各部屋の大きさは目的別に異なるとともに、空調系統や制御レベルもそれぞれ違ってもよいものとする。また、今後の施設は、温度・湿度のモニターのみならず、空中粉塵、微生物、臭気物質、あるいは化学物質等を常時モニターし、換気量も自動的にコントロール

するような方法も採用されるであろう。

省エネルギーの立場から、将来は自然をもっと効率的に利用し、冬はあまり寒くなく、夏はあまり暑くなく、春秋の中間期は空気だけを送る方法もあってよいものとする。適性な温度条件についての科学的情報の少ない現在では、具体的には、マウス・ラットの生産育成施設や、ウサギ、モルモット、イヌ、ネコ、ブタ、サル等の施設の温度は冬は18℃以上、夏は28℃以下で差し支えないものと思う。従来、考えられていたような22±1℃または23±1℃といった精密な温度条件の動物室は、とくに温度の影響をうけるような動物実験にのみ供試するようにして、中・長期の実験には20～26℃の範囲で季節に応じたコントロールでも実験成績にはほとんど影響しないものとする。

上田^{20, 21)}は、32℃または12℃の環境にマウスを移した場合には、ヘルパーT細胞の減少、T細胞の幼若反応及びNK細胞活性の抑制がみられることを明らかにしている。その結果から環境温度の大きな変化は感染症の誘発や顕性化の一因になると述べている。しかし、このような免疫学的機能も3日後から1週間程度で、完全に22℃の状態にもどるようである。上述のような施設で生産された各種動物が、実験用の施設に導入したときに、1週間程度の予備飼育で馴化して、その後の動物実験で、実験結果に影響するかどうかを各種の分野から研究して、実験動物関係者の合意が得られるように努力すべきであろう。

動物の苦痛排除のために、実験時に麻酔を行うことは必須であるので、外科的処置を実施した実験直後の動物を収容する部屋は、28～30℃に保温のことが必要である。

施設の運転には多大のエネルギーが必要であるので、温泉熱、地熱、太陽熱、排気熱、焼却炉の排出熱の活用、co-generation システム等の採用、動物の糞尿醗酵によるメタンガスの利用あるいは風力、水力、波力による自家発電等を、地域的特性を生かして推進することも必要である。

あとがき

19世紀は化学の時代、20世紀は物理の時代、21世紀は生命科学の時代といわれる。実験動物は人類や動物の健康や福祉につながるので、実験動物を使用する実験が、今後なくなるとは考えられない。もちろん、各種の代替実験も必要である。

実験動物の飼育はどんな動物実験分野でも必要で、そのなかでの環境問題を総体的に、反省的にとらえて検討すべきである。実験動物関係者は過去の歴史を学び、現状を眺め、国内のみならず世界を宇宙を眺め、21世紀に向けて、理想と現実を、科学と倫理をいかに調和させていくべきかを、英知をあつめて、真剣に検討すべき時期である。

歴史上のある時期の、学説や概念は不変の真理ではないことは、自然科学の歴史が教えるところである。学説は自然に適するようにあるべきで、学説に適するように自然を変えてはならない。いままでの学説が真理を現さなくなったときには、それをいつでも捨て去

るか変更するか、あるいは代替する勇気をもたなくてはならないといわれる²²⁾。基準や指針は、その時代の必要性から策定されたもので、金科玉条的なものではない。実験動物施設の基準やガイドラインもG L P基準を含めて、見直しのうえ改定すべき時期にきているようである。

参考文献

1. 山之内孝尚(1989). 動物実験に伴う腎症候性出血熱発生の予防制圧に関する研究, 文部省科研費報告書, 平成元年3月
2. 実験動物アレルギーの現状と対策に関する研究班(代表 山内忠平)(1987). わが国における実験動物アレルギーの発生状況, 実験動物 36, 95-101.
3. 第17回国立大学動物実験施設協議会総会資料(1991). 30~31, 国立大学動物実験施設協議会
4. 山内忠平(1986). 実験動物の環境と管理, 出版科学総合研究所, 東京
5. 水上惟文, 小原 徹, 山内忠平(1986). マウスの体温調節に及ぼす被毛の効果, 実験動物, 35(1) 101-105, 1986.
6. 小坂光男: 中山昭雄編(1981). 温熱生理学, 理工学社, 東京, pp. 481-491.
7. 土居勝彦(1980). 日生気誌, 17, 16-21.
8. Blackmore, D. J. (1970). Appl. Physiol, 29, 556-559.
9. Yamauchi C., Fujita S., Obara T., and Ueda T. (1981). Effects of Room Temperature on Reproduction, Body and Organ Weights, Food and Water Intake, and Hematology in Rats, Lab. Anim. Sci., 31, 251-258.
10. Yamauchi C., Fujita S., Obara T., and Ueda T. (1983) Effects of Room Temperature on Reproduction, Body and Organ Weights, Food and Water Intake, and Hematology in Mice, Exp. Anim. 32 1-11.
12. 環境調節実験室委員会小動物班(文部省総合研究班)(1966). 実験動物飼育施設の建築及び設備計画の基準案, 実験動物, 15, 17-41.
13. 実験動物施設基準研究会編(1983). ガイドライン 実験動物施設の建築および設備 昭和58年版, 清至書院, 東京.

14. Yamauchi C., Obara T., Fukuyama N. & Ueda T. (1989). Evaluation of a one-way airflow system in an animal room based on counts of airborne dust particles and bacteria and measurement of ammonia levels. *Laboratory Animals* 23, 7-15.
15. 山内忠平 (1990). 一方向気流方式の給排気システムを設備した実験動物室の評価に関する研究, 文部省科研費報告書.
16. Sansone, E.B., Losikoff, A.M., and Pendleton, R.A. (1977). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 39, 435-450.
17. 吉沢 晋(1971). 国立公衆衛生SPF 実験室における環境性能(1) 工学的立場より, 実験動物 20, 89-91.
18. 水上惟文, 小原 徹, 山内忠平(1986). 各種マスクの粉塵及び細菌の捕集効率, 実験動物, 35(3), 293-297.
19. 小原 徹, 福山伸隆, 上田智之, 山内忠平, 得田健一, 築谷 徹, 浜口正明(1990). 実験動物施設の臭気と脱臭 1. 動物飼育室の臭気成分, 第37回日本実験動物学会講演要旨集, 153.
20. 上田智之, 山内忠平(1986) マウスの胸腺・脾臓重量及び血液中のリンパ球に対する環境温度の影響, 実験動物, 35(4) 479-483.
21. Ueda T. (1990). Effects of Environmental Temperature on the Population of T-cell Subsets, the Blastogenic Responses of Lymphocytes in Blood and Splenic NK cell Activity in Mice. *Exp. Anim.* 39(3), 389-396.
22. 澤潟久敬 (1964). 医学の哲学, 誠信書房, 東京

＜その他＞

関西実験動物研究会だより

関西実験動物研究会会報10号に掲載した第30回研究会以後、以下の研究会が開催された。

1) 第34回研究会(平成4年6月5日 京大会館)

講演会

Gene Therapy : Prospects and Progress

Dr. Edward H. Schuchman (Mount Sinai School of Medicine, N.Y.)

2) 第35回研究会(平成4年10月9日 千里ライフサイエンスセンタービル)

講演会

1. 毒性試験における臨床検査正常値 ―製薬協が行ったアンケート調査から―

海野 隆(鐘紡・薬品安全研)

2. GCPと医療倫理

須原 郁雄(武田薬品・監査役)

3. 毒性試験における国際的ハーモニゼーション ―ICHのめざす効果―

菊池 康基(製薬協・基礎研究部会長)

訂 正

会報10号P.70「関西実験動物研究会だより」の中に、記載の誤りがありましたので訂正
しお詫びします。

誤

1) 第30回研究会(平成3年3月6日 大阪府立大学学術交流会館)

正

1) 第30回研究会(平成3年6月14日 楽友会館)

会員の異動

1. 一般会員

退会者

五十島 澄彦	日本チャールスリバー
岩田 四郎	金城学院大学
竹下 修史	メル・ダウ製薬

入会者

塩見 雅志	神戸大・医・動物実験施設
本山 守夫	(株)実医研
大坪 義和	沢井製薬(株)大阪研究所
藤井 恒雄	藤沢薬品(株)
澤清 雅人	日本チャールスリバー
国友 一朗	岡崎産業(株)大阪営業所
岡崎 彰亮	エドストロム・ジャパン(株)
山崎 俊幸	武田薬品工業(株)実験動物管理室

2. 維持会員

入会者

日本チバガイギー(株)前臨床研究部安全性研究室
白井松器械(株)
(株)実医研

3. 逝去

塩見 千利	三共(株)安全性研究所
深く哀悼の意を表します	

《関西実験動物研究会 維持会員》

(五十音順) (平成4年10月現在)

(株) 大塚製薬工場 鳴門研究所	722	鳴門市撫養町立岩字芥原 115
オリエンタル酵母工業(株) 大阪営業所	564	吹田市江坂町 1-12-28 大昇ビル
加商 (株)	103	東京都中央区日本橋 14-9
鐘紡 (株) 薬品安全性研究所	534	大阪市都島区友誼町 1-5-90
北山ラベス (株)	615	京都市西京区西京極葛野町 28
(株) ケアリー	531	大阪市北区豊崎 4-12-1
(株) ケー・エー・シー	566	摂津市島飼本町 5-3-4
参天製薬 (株)	533	大阪市東淀川区下新庄 3-9-19
塩之義製薬 (株) 油日ラボラトリーズ	520-34	滋賀県甲賀郡甲賀町五反田 1405
(株) 実医研	104	東京都中央区京橋1-6-14 YK ビル 3 階
白井松器械(株)	540	大阪市中央区森ノ宮 1-19-16
(株) 新薬開発研究所 京都事務所	601-13	京都市伏見区醍醐僧尊坊町 1-47
武田薬品工業 (株) 研究開発本部 実験動物管理室	532	大阪市淀川区十三本町 2-17-85
田辺製薬 (株) 研究総括センター 渉外部	532	大阪市淀川区加島 3-16-89
大日本製薬 (株) 総合研究所	564	吹田市江の木町 33-94
(株) 夏目製作所	113	東京都文京区湯島 2-18-6
日本新薬 (株) 研究開発室	601	京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14
日本エスエルシー (株)	431-11	浜松市湖東町 3371-8
日本クレア (株) 大阪営業所	550	大阪市西区京町堀 1-13-2 藤原ビル
日本商事 (株) 医薬研究所	567	茨木市庄 2-24-3
日本チバガイギー(株)前臨床研究部安全性研究室	665	宝塚市美幸町 10-66
日本チャールス・リバー (株) 大阪営業所	550	大阪市西区西本町 1-11-7 杉野ビル
日本ベーリンガーインゲルハイム (株) 川西医薬研究所	666-01	川西市矢間高田 103
藤沢薬品工業 (株) 実験サービスセンター	532	大阪市淀川区加島 2-1-6
扶桑薬品工業 (株) 研究開発センター 学術課	536	大阪市城東区森之宮 2-3-30
(株) 船橋農場 京都営業所	607	京都市山科区御陵鶴戸町 46-6
丸石製薬 (株) 中央研究所	538	大阪市鶴見区今津中 2-2-18
(株) ミドリ十字 (株) 安全性研究所	679-22	兵庫県神崎郡福崎町山崎 214-1
(株) 美濃ラボ	503-03	岐阜県海津郡平田町今尾 1195-1
(株) ラビトン研究所	677	西脇市中畑町 718

編集後記

この夏、バルセロナオリンピックの開催が世界の大きなイベントであった。
水泳の岩崎恭子選手が金メダルを獲得し、大いに日本中をわかせた。世界の檜舞台で活躍した彼女も、帰国後のインタビューでは普通のあどけない中学生として見る事ができた。
この少女のどこにあのような大きなパワーが秘められていたのか不思議ですらあった。
最近のスポーツのトレーニングには、個人の努力もさることながら科学的に対応されている部分もあるのだろう。

実験動物を研究する分野においても遺伝子を取り扱う手法等、新しい技術の応用が目を引くようになってきた。一昔前には到底考えられなかったことである。実験動物研究領域においても確実に時代の流れを感じさせられる。

この稿を書く手を止めて実験室の窓から野山を見てみると、秋の到来を感じさせる夕映えであった。

――きっと今年もきれいな紅葉が見られるであろう――

－ K・M 記－

平成 4 年 11 月 20 日 印 刷
平成 4 年 11 月 24 日 発 行

編集兼発行者 山 田 淳 三
発 行 所 関西実験動物研究会
〒606 京都市左京区吉田近衛町
京都大学医学部附属動物実験施設
印 刷 所 関西ナショナル印刷株式会社
〒532 大阪市淀川区十三本町 3-4-23