

平成17年度関西支部総会ならびに研究発表会

12:30 支部総会

13:30 特別講演

座長 荒木 しおり (日精バイリス株)

「動物・施設の信頼性を得るために技術者に望むこと」

青野 皆基 先生 (株武田ラビックス)

(元武田薬品工業株)・医薬研究本部・研究監査室)

14:40 一般演題

座長 澤浦 雅人 (日本チャールス・リバー株)

・「動物飼育区域に搬入した物品の使用期限の裏付け研究」

野々口 ルミ子^{1),2)}, 首藤 高雄^{1),2)}, 松尾 正明^{1),2)}, 安井 国雄^{1),2)},
西井 茂樹³⁾, 白石 弘之¹⁾

¹⁾マルホ(株)京都R&Dセンター, ²⁾株ケー・エー・シー,

³⁾株ファルコライフサイエンス

・「採取糞便放置日数によるMHV特異的RT-PCR産物検出率の変化」

小沢 康彦^{1),3)}, 田島 優^{1),2)}, 鍵山 壮一郎¹⁾, 加藤 貴史²⁾, 太田 晶子¹⁾,
愛原 勝己¹⁾, 黒澤 努^{1),2)}, 金田 安史^{1),2)}

¹⁾大阪大学医学部附属動物実験施設, ²⁾大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室,

³⁾三協ラボサービス株

・「膀胱運動機能の薬効評価 -摘出膀胱標本を用いた評価法の紹介-」

佐治 大介, 木村 恵人

日精バイリス株 滋賀研究所

15:20 教育講演

座長 坂本 雄二 (千寿製薬株)

「実験動物の正しい麻酔方法 -塩酸ケタミンの麻薬指定をめぐって-」

黒澤 努 先生 (大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室)

16:20 特別講演

座長 田島 優 (大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室)

「リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス感染 -その経緯と対応-」

高倉 彰 先生 ((財)実験動物中央研究所 ICLASモニタリングセンター)

終了後、懇親会 (東館1階レストラン「朱雀」)

総会式次第

開 会

岡本 明 副支部長

議長選出

- | | |
|----------------------|------------|
| 1 . 平成 17 年度事業報告 | 坂本 雄二 支部長 |
| 2 . 平成 17 年度決算報告 | 会計(田村副支部長) |
| 3 . 平成 17 年度会計監査報告 | 吾郷 昭夫 監査 |
| 4 . 平成 18 年度事業計画(案) | 坂本 雄二 支部長 |
| 5 . 平成 18 年度予算(案) | 会計(田村副支部長) |
| 6 . 役員改選 | |
| 7 . その他(2006 全国総会など) | |

質疑応答

議長

閉 会

坂本 雄二 支部長



特別講演

「動物・施設の信頼性を得るために技術者に望むこと」

(株)武田ラビックス

(元武田薬品工業株)・医薬研究本部・研究監査室

青野 皆基 先生

動物・施設管理の大切さを知り、信頼性を保つためにあなた方に何を期待していて、どうあってほしいかを理解し、**科学の発展と人類の健康に寄与**できる社員になるために望むこと。

施設設計・維持管理、健康な動物の維持管理を行うために科学的根拠を持った方法で行うためにはどのような配慮をするのかを知り、信頼性高い能力と実行力を持った技術者を求めていることを知る。



記念講演

「実験動物の正しい麻酔方法

-塩酸ケタミンの麻薬指定をめぐって-

大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室

黒澤 努 先生

麻酔という概念は多くの実験動物関係者が思っているのとは少し違い、生体侵襲からどのように生体を保護するかという観点で研究が進んでいる。それに対して実験動物関係者の多くは、麻酔を痛みを止める効果を期待して使っている。これは麻酔学の観点からは狭義の麻酔という意味となろう。動物実験の施行に当たっては動物を適切に保定することが必須であるが、過去にはこのための方法として麻酔を捉えた時代があった。これは不動化 (immobilization) ともいわれ、麻酔の極一部の作用である。動物愛護法は動物実験に関してはできるだけ苦痛を与えないようにしなければならないと定めているが、ここでいう苦痛の軽減は不動化によっては得られない麻酔の効果を求めているので、不動化と麻酔を混同してはいけない。また痛みだけを止めることが求められるのであれば鎮痛薬を用いることができる。ただし、鎮痛薬は、痛みは止めるが苦しみをとめることはできない。すなわち動物愛護法は苦痛軽減を求めているのであって、不動化をしたり、鎮痛だけをしたりすることは十分ではない。麻酔には局所麻酔と全身麻酔があると解説されているので、実験動物学の教科書に麻酔学の教科書を丸写してしまう自称専門家もいるが、局所麻酔は局所の鎮痛効果が主たるものであり、痛みは止めるが苦しみを止めるものではない。したがって動物愛護法が求める苦痛の軽減目的では局所麻酔はきわめて限定的にしか使えない。自然と実験動物の麻酔とは全身麻酔を意味することとなる。ようするに動物の意識自体を抑制して、痛みを感じないだけでなく、苦しいことも感じなくすることが重要となる。全身麻酔には麻酔薬が使われるが、実験動物関係者が麻酔薬とするものの中には麻酔学では麻酔薬とは見なさないものが多く含まれる。もっとも有名なものはエーテル、クロロフォルムなどで、かつては麻酔薬として使われたが、その副作用、あるいはより良い麻酔薬の開発により麻酔薬としての使命が終了したものを未だに麻酔薬としている実験動物教科書がある。副作用はあきらかに苦痛を増大するものと考えられるので、こうしたかつての麻酔薬はできるだけ苦痛を軽減する目的には使ってはならない。またペントバルビタールナトリウムも同様で、かつては使われたが医学においても獣医学においても臨床的には麻酔薬としてはすでに顧みられないものである。薬品には試薬も入ることから混乱があるが、いわゆる臨床的な薬剤は、すべてその安全性が確認されたものをいう。しかし、実験動物に使われる麻酔薬の中にはこの安全性試験が十分なされないままに使われるものがある。代表的なものがアパーチンでマウスの受精 卵操作に良く使われている。しかし、安全性試験などが厳格に行われたものではなく、調剤が必要で、さらに保存方法によっては極めて悪性の副作用が知られているので、麻酔薬としては不適格である。臨床的に用いられる薬剤は薬事法で厳格に使用が規制されていて、通常の試薬とは別の法律で規制されていることを知らない者が意外と多い。とくに研究 関では毒物、劇物取締法により規定される試薬等が労働安全衛生法で規制されているので、

毒薬、劇薬も同じ法体系で規制されていると誤解するものが多い。毒物、劇物取締法の定義では、“「毒物」とは別表第一に掲げる物であって、医薬品及び医薬部外品以外の物を言う”と明確に規定されている。薬事法の規制は個々で定義される医薬品の扱い、とりわけ投与する行為を有資格者に限定することにより、それ以外の者が濫用するのを防止している。麻酔薬はその用量を誤るとただちに生命を脅かすので、薬事法の規定で毒薬、劇薬、要指示薬などとして厳格に使用が規制されている。保管には薬剤師も関与するが投与する行為は医療行為として医師等に限定されている。ヒトには医師、歯科医師だけが投与できる。動物には獣医師だけが投与できる。これら医師等は規制された薬剤を保管、調剤することも許されている。ところが実験動物は医学研究でも多く使われることから、あらかじめ規制された医薬品を取り扱う有資格者が多数周辺にいた。本来はヒトに対してしか使用が許されているはずであるにもかかわらず、実験動物にも使用していたのである。しかし、医薬品もその薬理薬効などを検討する場合には単なる試薬とも解釈されるので、それらを医薬品を投与していると目くじらをたてるほどの物ではないかも知れない。ところが麻酔薬は本来の実験目的からいえばとくに使わなくても良い、あるいは本来は使いたくないモノであるが、動物愛護法の規定によりできるだけ苦痛を軽減するようにされているので使う場合がほとんどである。すなわち実験動物の麻酔薬の使用は苦痛の軽減という医療上の問題であり、それは対象が動物であるから、獣医療となるべきものである。医薬品とくに麻酔薬の中には薬事法上の規制に加えて、麻薬及び向精神薬取締法により、さらに厳格に規制される薬剤がある。これらは社会的に濫用される事が多く、また習慣性、沈溺性があり、一度濫用するといわゆる禁断症状などにより、悪事をはたらいでも使いたくなくなるような薬剤である。したがって一般の医師等ですら使用に規制があり、医師等の免許のうえにさらに麻薬施用者の免許制度を設けている。その薬剤の保管等も専用の金庫などを用意し、厳格に使用量の管理を行わなければならないこととなっている。劇薬であった塩酸ケタミンが、社会の濫用のために麻薬指定されることとなった。これまでも医薬品は本来適切な管理のもとに使われていたはずではあったが実験動物界では極めて杜撰に使われていた。このため塩酸ケタミンを麻薬として適切に使う事ができないのではないかと強く危惧している。実験動物の麻酔を我が国の医薬品規制の現状に即して適切な使用方法ができるように関係者が努力する必要がある。いずれにせよ、麻薬の動物への投与を苦痛軽減目的という医療行為で行うためには麻薬施用免許をもつ獣医師の関与が必至となろう。



特別講演

「リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス感染

-その経緯と対応-」

(財)実験動物中央研究所 ICLASモニタリングセンター

高倉 彰 先生

理化学研究所バイオリソースセンター（理研 BRC）では国内・海外の研究者に高品質なマウスを提供するため、厳格な検疫と微生物モニタリングを実施し、導入されたすべての系統に SPF 化操作を施し、病原微生物の感染の検出、除去と防止に努めている。また（財）実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター（MC）では、実験動物の微生物学的な品質向上のためにモニタリングの普及活動とその受託検査を実施している。しかしながら、今回複数の要因が重なり、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（Lymphocytic Choriomeningitis Virus: LCMV）に感染したマウスがフランス・パスツール研究所より導入され、検疫検査で検出されず飼育されていたという事態が発生した。この事態の重要性を受け、BRC と MC では国立感染症研究所および長崎大学先端生命科学研究支援センターに協力を仰ぎ、共同でその原因追求と、発生防止のための検討を実施した。

その結果、(1) LCMV 感染マウスの飼育等に従事した者への感染はなかったこと、(2) LCMV 感染はパスツール研究所より導入されたマウスに限局され、他の系統への感染はなかったこと、(3) 感染マウスは外部機関へは配布されていないこと、(4) 感染マウスを駆除し、現在 LCMV は理研 BRC のマウスから検出されないことが確認された。つぎに、MC の LCMV 検査系で検出できなかった原因を追究した。その結果、里親、囲マウスの抗体検査には LCMV 感染細胞を用いた間接蛍光抗体（IFA）法を用いること、LCMV 垂直感染の恐れがある時には、核蛋白(nucleoprotein)領域を検出する RT-PCR を用いることにより、高感度で精度の高い LCMV 検査法・検疫体制を確立することができた。また MC では、MC が 2002 年 4 月から導入し、今回の BRC における LCMV 感染を検出できなかった旧検査法により検査された全検体の再検査を、新検査法（感染細胞を用いた IFA 法）により実施することにした。現在 2003 年依頼分まで終了したが、全検体の陰性が確認されている。

今後さらに、国際間でのマウスの授受が増加することが予想される中、BRC および MC は今回の感染事故を教訓に、LCMV のみならず他の病原微生物に関しても、迅速かつ精度の高い検査・検疫体制を整備し、従事者の安全を確保するとともに、凍結胚による授受の促進、病原微生物の特性に応じた SPF 化処置を施し、高品質なマウスを提供すべく努力する所存である。



一般演題

動物飼育区域に搬入した物品の使用期限の裏付け研究

野々口 ルミ子^{1),2)}, 首藤 高雄^{1),2)}, 松尾 正明^{1),2)}, 安井 国雄^{1),2)}, 西井 茂樹³⁾,
白石 弘之¹⁾

¹⁾ マルホ(株)京都R&Dセンター, ²⁾ (株)ケー・エー・シー, ³⁾ (株)ファルコライフサイエンス

【目的】

SPF 動物の飼育区域は病原体から守られた清浄な環境でなければならない。マルホ(株)京都 R&D センターでは清浄な環境を維持するために、差圧設定等のハードと、入退室手順や飼育区域内で使用する物品の滅菌・消毒の義務づけ等のソフトで対応している。これら物品については、使用毎に滅菌・消毒して搬入すれば常に清浄なものを使用できると考えられるが、多くの試験を円滑に流すため、あらかじめ大量の物品を滅菌・消毒し、飼育区域内でストックする運用を行っている。本来、清浄な環境では搬入した物品はいつまでも清浄であるはずだが、飼育区域はヒト、動物、物品等のさまざまな出入りがあり、その影響から保存期間が長くなると汚染する可能性が考えられた。そこで、滅菌・消毒した物品の使用期限を決めるための研究を行った。

【材料および方法】

飼育区域に搬入する物品の中から用途、保管場所、形状および滅菌・消毒作業等を考慮し、検査試料として モップの柄、滅菌缶(床敷入り)、ポリカーボネートケースおよび無塵衣を選択した。各検査試料を滅菌・消毒後、各保管場所に搬入した。物品の清浄度の測定は日局 14 無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法のコンタクトプレート法で行うこととし、搬入後、0, 2, 4 および 6 週間目の各検査試料について 3 箇所から試料を採取し、調べた。なお、当施設は塵埃においてNASAクラス 10000 で運用しており、日局 14 の環境微生物評価基準ではグレードB (5 CFU/20 ~ 30cm²) に相当することから、これを清浄か否かの判定基準とした。

【結果】

4 週間目の無塵衣の細菌の結果において 1 箇所で 1 CFU/25cm²の値が示されたが、それ以外はすべて 0 CFU/25cm²であり、滅菌・消毒後 6 週間までグレードBの基準に適合すること、すなわち搬入後 6 週間は物品が清浄であることが示された。従って安全域を見込み、飼育区域内に搬入した物品の使用期限を滅菌・消毒後 1 カ月と定めた。



採取糞便放置日数による MHV 特異的 RT-PCR 産物検出率の変化

小沢 康彦^{1),3)}, 田島 優^{1),2)}, 鍵山 壮一郎¹⁾, 加藤 貴史²⁾, 太田 晶子¹⁾, 愛原 勝己¹⁾, 黒澤 努^{1),2)}, 金田 安史^{1),2)}

1) 大阪大学医学部附属動物実験施設, 2) 大阪大学大学院医学系研究科実験動物医学教室,
3) 三協ラボサービス株

背景

動物実験施設において、マウス肝炎ウイルス(MHV)の汚染事故は深刻な問題である。MHV 汚染の早期発見にはウイルス・ゲノムを直接検出できる RT-PCR が有効であるとされている。当施設ではマウスから直接採取した新鮮糞便を用い MHV 検査を行っているが、マウスの保定が困難な場合や糞便排出に時間がかかる場合があり、労力が必要とされている。ケージ内の糞便を検査材料として使用することができれば、新鮮糞便を採取する方法に比較し、時間と手間が省略できると考えられた。

目的

MHV ウイルス感染マウスより採取した新鮮糞便を放置後、ウイルス RNA の変化と、何日後まで MHV ウイルス RNA が検出され得るか検証することを目的とした。

材料および方法

MHV ウイルス感染マウスより糞便採取後、0 ~28 日間、飼育室内に放置した。

RNA 抽出は RNeasy Mini Kit(QIAGEN)を用いた。RT-nested PCR は RNA より cDNA を作製し、PCR 用キット Ready-To-Go RT-PCR Beads (Amersham Biosciences)を用い 1stPCR と 2ndPCR を行った。

結果および考察

糞便採取後、0 日から 14 日間放置の糞便まで検査を行ったが、それらでは明瞭なバンドが検出できた。したがって 2 週間以内までは MHV ウイルスの検査に用いることができるものと考えられた。ケージ交換を週に 1 回行っている現状の飼育方法では、ケージ内の糞便は 1 週間以内のものであり、ケージ内糞便は MHV ウイルス検査の材料として適当であると考えられる。



膀胱運動機能の薬効評価 -摘出膀胱標本を用いた評価法の紹介-

佐治 大介, 木村 恵人

日精バイリス(株) 滋賀研究所

近年、高齢化社会の膀胱機能障害や下部尿路機能障害が増加している。下部尿路機能障害は大きく蓄尿障害と排尿障害に分けられる。蓄尿障害において、過活動膀胱は頻尿や尿意切迫感を有する症候群として定義され、膀胱の主要な疾患として近年注目されている。下部尿路機能障害の原因としては脳血管障害や脊椎損傷など神経性の異常によるもの、加齢に伴う平滑筋機能の異常など様々であるが、治療法としては薬物療法が第一選択となっている場合が多く、下部尿路機能障害改善薬の開発が進められている。

膀胱運動機能の薬効評価法には、生体から膀胱のみを摘出し膀胱平滑筋に対して直接的に薬物の作用を評価するマグヌス法、生体内で膀胱容量や排尿閾値圧などに対する薬物の作用を評価するシストメトリー法（膀胱内圧曲線測定法）などがある。

マグヌス法は、摘出平滑筋標本の収縮・弛緩反応を等張性又は等尺性に記録して薬物受容体に対する作用又は平滑筋直接作用を評価することができる。特に複雑な機器を使用する必要はなく、手技が容易であることから学生実習やスクリーニングなど幅広く用いられている実験法である。

今回は摘出膀胱標本を用い、平滑筋直接作用を検討する目的でCaCl₂収縮に対する薬物評価について紹介する。



懇親会

(東館1階レストラン「朱雀」)

