

平成29年度帝京科学大学実験動物舎活動報告

近藤保彦 渡辺隆之

帝京科学大学生命環境学部アニマルサイエンス学科

The Heisei 29th annual report of Experimental Animal House in Teikyo University of Science

Yasuhiko KONDO Takayuki WATANABE

キーワード：実験動物、ラット、マウス、飼育管理、微生物検査、実験動物標準取扱い手順（SOP）

はじめに

帝京科学大学実験動物舎は、アニマルサイエンス学科近藤保彦が2017年4月より千住キャンパスより上野原キャンパス（現東京西キャンパス）に異動となった際、生命科学科の前田康行教授の後を引き継ぐ形で管理を任されることとなった。そこで動物舎の使用方法に大幅な変更を加えることになったため、本稿では新しくなった実験動物舎について、昨年度1年間の活動とともに報告する。

実験動物舎

ご存じない方も多いと思うが、実験動物舎は実験研究棟の屋上（屋上および実験動物舎は、使用登録していないと出入りできない）に別棟として建てられている。図1に示すように3部屋から成り、前室として投薬や外科処置などを行う処置室があり、その奥の行動実験室と飼育室で構成されている。飼育室に入るには2つの扉があり、処置室と飼育室の間に前室を設けてある（この2つの扉は同時に開けないことがルールで、飼育室側の扉があいているとき

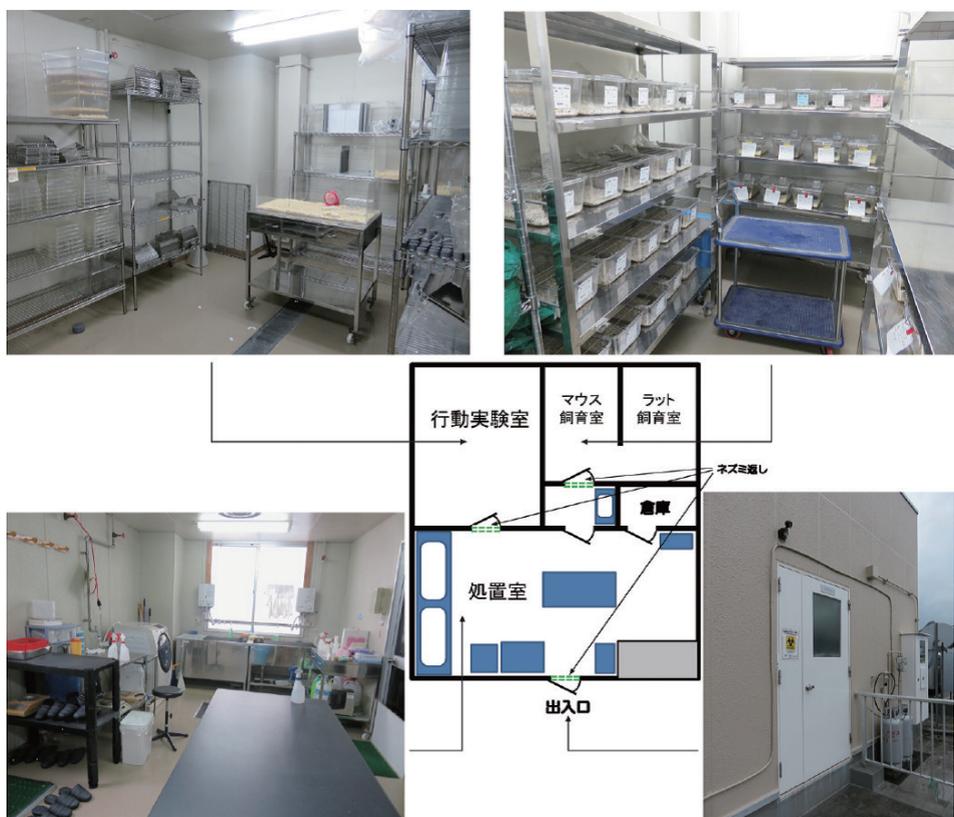


図1 帝京科学大学実験動物舎。平成29年度4月より室内使用方法の大幅変更を加えた。平成28年度までの吊り下げ型のステンレス製ラット自動水洗飼育架台を破棄し、すべて床敷を入れたポリカーボネート製のケージで飼育を開始した。また、マウスとラットの飼育場所を仕切るため、ビニール製のカーテンを設置した。

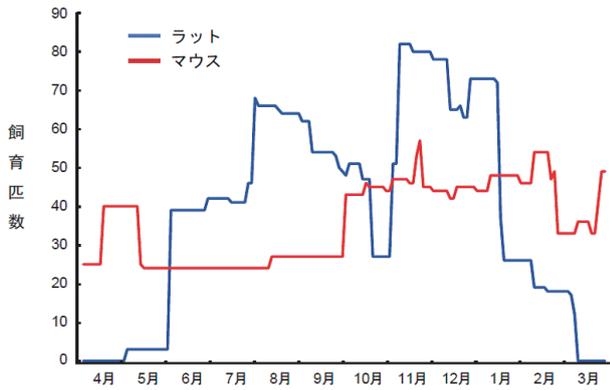


図2 帝京科学大学実験動物舎における1日あたりの動物飼育数の年間推移。

には処置室側のランプが点灯し、処置室側の扉が閉まっているときには飼育室側のランプが点灯する)。飼育室内は、マウス飼育領域とラット飼育領域とに分かれ、ビニールのカーテンで仕切っている。行動実験室は、ケージのストックルームとしても使用しており、行動テストを行うときに適宜装置を並べて測定を行っている。平成30年度からは、上記すべての部屋を封じ込めレベルP1Aの登録し、遺伝子組換え動物の飼育を可能とする予定である。

利用者数と動物飼育数

平成29年度に実験動物舎を利用した教員は4名、学生19名(大学院生4名、学部生15名)だった。また、使用した動物数は、ラット148匹、マウス104匹となった(1日あたり平均飼育数、ラット39.0匹、マウス35.8匹)。

図2に1日あたりの飼育匹数の年間推移を示している。ラットは、学生の卒業研究が始まる6月頃から飼育が始まり、夏休みと卒業論文・修士論文の終了が近くなる11~12月にピークがみられる。一方、マウスは系統維持があるため、飼育数は年間を通してほぼ一定匹数を示した。

微生物検査

平成29年11月に微生物検査を行った。実験を終了したマウスおよびラットの中から無作為に1匹ずつ、検体として選び、それらの動物の各臓器について検査を行った。その結果を表1に示す。本試験は、ELISAはプレザイム「生研」4D(デンカ生研株式会社)、凝集試験はラボチェック「生研」4D(デンカ生研株式会社)を用いて実施した。また、細菌分離同定検査は、「医学細菌同定の手びき第3版」¹⁾、ならびに「臨床材料にみられる腸内細菌以

外のグラム陰性、好気性および通性嫌気性桿菌の同定」²⁾に準じて同定を行った。また、寄生虫卵検査は、結腸内容物について飽和食塩水を用いた浮遊法を行った。

ELISAの結果、実験動物として特に問題となるパラミクソウイルス(*Paramyxoviridae Paramyxovirinae Respirovirus Sendavirus*, HVJ)、コロナウイルス(*Coronaviridae Coronavirinae Betacoronavirus Murine Coronavirus*, MHV)、マイコプラズマ(*Mycoplasma pulmonis*)、でクロストリジウム(*Clostridium piliforme*, Tyzzer's disease)に関しては、いずれも検出されなかった。

凝集検査では、クツチェリならびに気管支敗血症菌は陰性であった。浮遊法による寄生虫卵の検査も陰性であった。

一方、細菌培養検査として各臓器について調べたところ、腸球菌(*Enterococcus* spp.)や大腸菌(*Escherichia coli*)などのほかに脾臓等からパステラ菌が検出された。脾臓から分離されていることからパステラ症であった疑いがもたれる。これはペットのイヌやネコの口腔の約95%にみられる常在菌であるが、齧歯類にも多く常在している³⁾。パステラ菌による人獣共通感染症として、人は、リンパ節の腫大、蜂窩織炎、敗血症、呼吸器系疾患(パステラ症)を引き起こす可能性があるため、昨年度末にその対応をし、実験動物標準取扱い手順書の見直しを行った。

実験動物標準取扱い手順書(SOP: Standard Operating Procedure)

実験動物飼育室 使用者心得

ヒト及び実験動物の感染症を予防し、健康な実験動物を用いて適正な動物実験を行うためには実験動物の汚染防止に留意し、適切な飼育管理と取扱いを行うことが必要です。帝京科学大学実験動物飼育室(以下、動物舎)を使用するにあたっては、以下の使用者心得を遵守し、責任を持って管理を行って下さい。

管理責任者：近藤保彦

(内線2527、携帯090-xxx-xxxx)

使用者への注意事項

1. 帝京科学大学動物委員会が実施する動物実験講習会を受講し、動物実験従事者として登録された者しか利用できない。

表1 帝京科学大学実験動物舎の飼育マウスおよびラットにおける微生物検査結果

実験動物で問題となるウイルスならびに細菌の検査 (ELISA キット)

	マウス	ラット
<i>Paramyxoviridae Paramyxovirinae</i> <i>Respirovirus Sendavirus (HVJ)</i>	-	-
<i>Coronaviridae Coronavirinae Beta-</i> <i>Coronavirus Murine Coronavirus</i> (MHV)	-	-
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	-	-
<i>Clostridium piliforme</i> (Tyzzer's disease)	-	-

細菌培養検査

	マウス	ラット
胸腺	<i>Pasteurella multocida</i>	-
気管支	ND	α - <i>Streptococcus</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Staphylococcus spp</i>
肺	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pasteurella pneumotropica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
膀胱	ND	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella multocida</i>
肝臓	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pasteurella pneumotropica</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i>
脾臓	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pasteurella pneumotropica</i>	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pasteurella pneumotropica</i>
膵臓	ND	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pasteurella multocida</i>
子宮	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterococcus spp</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella spp</i>
腎臓	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella pneumotropica</i>
食道	ND	<i>Pasteurella spp</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus spp</i>
盲腸	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter spp</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i>
小腸	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i>
直腸	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter spp</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i>
大腸	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	<i>Enterobacter spp</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella spp</i>
胃	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella spp</i>
十二指腸	<i>Enterococcus spp</i>	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella spp</i>
心臓	<i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pasteurella spp</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella spp</i>

血清診断 (凝集反応)

	マウス	ラット
気管支肺炎菌 (<i>Bordetella bronchiseptica</i>)	-	-
クツチェリ (<i>Corynebacterium kutscheri</i>)	-	-

寄生虫卵検査

	マウス	ラット
浮遊法	-	-

2. 動物舎内に誰もいなくなる時には必ず動物舎並びに屋上の扉を施錠し、責任をもって鍵を管理する。
3. 関係者以外は入室させない。
4. 自身の健康状態に注意し、体調が悪い場合は入室しない。
5. 動物舎内における飲食は一切を禁止する。
6. 動物舎の封じ込めレベルはP1Aであり、微生物管理レベルはクリーン動物である。
7. 動物は、できるだけ毎日動物の健康状態を確認し記録する。

入室と退室

1. 動物舎への入室は速やかに行い、入室後、扉が完全にしまっていることを確認する。
2. 入口において消毒液槽において靴底の消毒を行い、備えの室内履きにアルコールを噴霧したうえで履き替える。薬用石鹸により手指の洗浄、アルコールによる消毒を行った上、ゴム手袋、マスク、帽子、動物舎専用白衣を着ける。
3. 入室簿に時間、所属、氏名を記録する。
4. 室内における作業終了後、床や棚に床敷き、糞尿等を認めた場合、ただちに清掃を行い、常に衛生面に気を使うこと。
5. 退室の際にも入室簿に時間を記録し、ゴム手袋、帽子は破棄する。室内履きは靴裏にアルコール噴霧したうえで棚に戻す。
6. 動物舎の扉が完全に閉まっていることを確認し、舎内に誰もいないときには施錠する。

実験動物導入に関する注意事項

1. 動物舎における動物飼育は、帝京科学大学動物委員会に実験計画を申請し、承認された研究にかかわるものであり、信用ある生産業者によって提供されるSPF動物または微生物検査が行われ、病原体に汚染されていないことが確認された動物を導入する。
2. 遺伝子組み換え生物を扱う際にはカルタヘナ議定書を遵守し、あらかじめ帝京科学大学遺伝子組み換え実験安全委員会に申請し、承認を受ける必要がある。
3. 動物の飼育を開始したら飼育予定表に動物の種類（種・系統など）及び飼育期間を記入する。飼育期間を変更する場合には、必ず飼育予定表（ノート・ホワイトボード）を更新する。
4. 繁殖を目的とする場合以外、雌雄を同居させな

い（離乳前はこの限りでない）。

5. 動物を繁殖させる場合には飼育予定表にそれを記し、動物のケージにも繁殖中のラベルを付ける。出産後は、飼育予定表およびケージのラベルに仔の匹数を書く。
6. 離乳以降（標準は21日齢）は雌雄を分離飼育とし、ラットでは体重170g以上になった場合には以下の匹数制限に従うものとする。
7. ラットではラット用ケージを用い、体重300g以下においては1ケージに最大4匹まで、300g以上では1ケージに最大3匹までとする。雄ラット・雄マウスは、一度分離または隔離した場合、他の雄と同居させない。
8. マウスではマウス用ケージを用い、1ケージに最大6匹とする。ただし、雄マウスでは、一度分離または隔離したマウスを他の雄と同居させない（闘争防止のため）。

動物の飼育管理

1. 動物は動物舎の飼育室内で飼育・管理する。飼育室では専用の飼育室専用サンダルに履き替える。飼育室での一連の作業を終了した後は室内履きの靴底にアルコールを噴霧して滅菌する。
2. 飼育ケージは週1回以上（月曜日）、洗浄したものと交換する。ケージは、次亜塩素酸ナトリウム水溶液に10分以上浸漬後、洗剤で洗浄する。完全に乾燥したものを使用し、滅菌した床敷きとともに交換する。各月の最初のケージ交換時には、蓋も同様に洗浄したものと交換する。ケージの状況に応じて、ケージと床敷きの交換は、週2回となる場合もある。
3. 繁殖や実験上の理由により、実験者自身が飼育ケージを管理したい場合には、「床替え不要」の札をケージに付けて表示すること。
4. 餌の補給、給水瓶の交換は、週3回（月水金曜日）とする。給水瓶は、次亜塩素酸ナトリウム水溶液に浸漬後、十分に洗浄して使用する。
5. 白衣は週1回洗濯し（月曜日ケージ洗浄後）、洗濯済みのものと交換する。
6. 床は、散乱した床敷きや糞を取り除いた後、各飼育作業後にモップで水拭きをする。ただし、水曜の飼育作業後では、次亜塩素酸ナトリウム水溶液でモップ掛けをし、室内サンダルも同液にて消毒を行う。
7. 空調機器、照明設備の動作とタイマーの時刻、温湿度を確認して記録する。各月最終のケージ

交換日には空調フィルターを洗浄する。

8. 飼育ケージ中に死体を認めた時は、速やかに実験責任者に連絡し、ケージおよび床敷きの交換を行う。飼育ケージ中に著しく健康を害した個体を認めたときは、速やかに実験責任者に連絡し、安楽死を促す。
9. 死体はビニール袋に入れて口を確実に閉じ、専用の冷凍庫で保管する。
10. 汚物等を入れたビニール袋は口を確実に閉じて搬出する（破棄する床敷きや餌は通常ごみとして処理）。
11. 退室する際には、常に床を清潔に維持し、動物が逸走していないことを確認する。

動物実験

1. 手術用具、試験液容器、筆記用具などは可能な限り表面をアルコール消毒して使用する。
2. 実験開始前に、実験台の周りもできる限り整理整頓し、アルコールにて消毒する。
3. 投与や採血などの実験処置は、室内の決められた場所、決められた手順で行う。
4. 動物に苦痛を与えないよう正しい麻酔の導入を行い、動物をよく監視する。
5. 薬物投与、手術等を行う場合には、当該技術について十分に習熟している必要がある。技術的に不十分である場合には、習熟者を同伴の上で執り行うこと。動物福祉について十分に配慮し、動物に苦痛を与えないよう正しい技術で行うこと。
6. 実験中は、ヘッドホンで音楽を聴くなど不必要なことを一緒に行わない。
7. 動物舎から外へ連れ出した動物は、原則として元に戻すことはできない。
8. 遺伝子改変動物を飼育室から出し入れする際には、動物舎外扉のネズミ返しを設置して行うこと。また、遺伝子改変動物を行動実験室に持ち込む際も実験室扉にネズミ返しを設置すること。

動物逸走時の対応

1. 動物がケージから逸走した場合は速やかに捕獲する。元のケージが明らかな場合は元に戻す。明らかでない場合は新たなケージに仮収容し、動物実験責任者および近藤に報告して指示を仰ぐ。その他、不明な点は近藤に確認すること。

(2018年4月2日)

平成30年大寒波

平成30年1月22日～23日、関東甲信地方は豪雪に見舞われ、その後も2月中旬まで最低気温が-10℃を下回る大寒波となった。この寒波によって実験動物舎の老朽化したボイラーシステムはパイプ破断がおこり、2～4月の間、実験動物舎の暖房がストップする事態となった。緊急措置として飼育室内に電気ストーブを持ち込み温度維持に努めたが、朝方は室温が15℃を下回ることも多く見られた。予算の関係でボイラー修理が年度明けにせざるを得なかったため、空調システムが復旧するまでの間、学生たちにもいろいろと気を遣わせてしまうことになった。

おわりに

厳密な実験動物の管理は、動物の福祉や実験結果の質の維持のために必要不可欠である。また、これらのルールは、利用者の動物福祉などの意識を高める役目もあるかもしれない。しかし、それが過度になってしまうことによって、実行面の不便や機能的不都合が生じてしまうこともある。したがって、それらのバランスを考えた適切な管理が必要となってくるであろう。平成29年度はこのシステムを採用した初年度であり、まだ、今後も様々な改善が必要となると思われる。帝京科学大学には、動物にかかわる先生方に限っても他大学にはない広がりを持っている。実験動物の管理の質を上げることは、研究の質を上げることに外ならなく、多くの先生方のご意見を賜りたい。

謝辞

平成29年度の飼育日誌から飼育動物のデータを起こしてくれた松田和人君にこの場を借りて感謝の意を表します。

引用文献

- 1) Barrow, G. I.編 (坂崎利一監訳) : *Cowan and Steel's 医学細菌同定の手びき* <第三版>, 近代出版, 東京, 1993.
- 2) アメリカ合衆国疾病防疫センター編 (坂崎利一監訳) : *臨床材料にみられる腸内細菌以外のグラム陰性, 好気性および通性嫌気性桿菌の同定*, 近代出版, 東京, 1993.
- 3) 岡田淳他 : *臨床検査学講座 微生物学/臨床微生物学 第2版*. 医歯薬出版, 東京, 2007