

神戸大学医学研究科附属動物実験施設

Institute for Experimental Animals, Kobe University Graduate School of Medicine

塩見 雅志^{1,2)}、伊藤 隆¹⁾、小池 智也¹⁾、中村 俊一^{1,3)}Masashi Shiomi^{1,2}, Takashi Ito¹, Tomonari Koike¹, Shun-ichi Nakamura^{1,3}神戸大学医学研究科¹⁾附属動物実験施設、²⁾生理学・細胞生物学講座 疾患モデル動物病態生理学分野、³⁾生化学・分子生物学講座 生化学分野¹⁾Institute for Experimental Animals, ²⁾Division of Comparative Pathophysiology, Department of Physiology and Cell Biology, and ³⁾Division of Biochemistry, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Kobe University Graduate School of Medicine

1. はじめに

医学及び生命科学の発展に動物実験が果たした役割は計り知れない。治療方法の開発、疾病の発症メカニズムの解明、生命現象の解明には動物実験は不可欠である。しかし、信頼できる研究成果を得るためには動物を適切な環境で飼育することが重要であり、研究機関が社会から信頼されるためには動物実験実施体制を整備し、動物福祉に配慮した動物実験の実施が求められる。さらに、研究目的に対応した疾患モデル動物の開発や、研究目的に対応した動物種の選択（比較生物学的な研究の集積）が重要である。動物実験施設はこれらについて中核的な役割を担うことが求められている。本稿では神戸大学医学研究科附属動物実験施設の現在までの取り組みを紹介したい。

2. 動物実験施設の沿革

1961年9月、兵庫県立神戸医科大学時代、医学研究で使用される実験用動物を適切に飼育することを通して医学研究の推進に貢献することを目的に、実験動物舎建設委員会（臨床系教授2人，基礎系教授2人，成長機構研究所助教授1人）が設置され、実験動物を集中管理する実験動物舎の建設が検討された。1962年3月、実験動物舎建設が兵庫県議会で議決され、同年8月25日に起工式を迎え、1963年2月に当時としては全国の大学に類例の無い空調設備を備えた画期的な実験動物舎が竣工した。当時の実験動物舎は、総床面積963 m²、空調設備（ウサギ以下のサイズの小動物は22±2℃、湿度50～60%、殺菌灯による除菌、イヌは換気のみ）を完備し、照明制御、防音構造であり、X線室、無菌手術室を整備していた。施設管理と実験動物の飼育管理を担当する専任の技官を配置し、収容可能匹数は、ラット1,800匹，マウス3,000匹，ウサギ450匹，イヌ228頭，サル10頭，鳥類約30羽であった。動物実験のあるべき姿を洞察していた諸先輩の卓見に敬意を表するばかりである。

1964年4月に国立に移管され、兵庫県立神戸医科大学は神戸大学医学部となり、1973年に実験動物舎は文部省の省令施設（神戸大学医学部附属動物実験

施設）となり、専任の助教授席が配置された。1979年3月、実験動物舎が建設された旧臨床研究棟と飼育設備等の老朽化および医学の進歩や増加する実験動物の需要に対応する目的で、基礎学舎北棟に新たに動物実験施設が竣工した。総床面積4,069 m²、収容可能匹数は、ラット6,500匹，マウス6,500匹，ウサギ500匹，イヌ180頭，ネコ50匹，サル25頭，ミニブタ・ヤギ15頭，鳥類25羽，両生類・魚類であった。1980年に助手定員が新設され、動物実験施設の体制が整備された。飼育スペースは約4倍に拡大したが、2年後には飼育スペースはフル活用されていた。1995年1月に阪神淡路大震災に被災し、動物実験施設も壊滅的な被害を受けた。文部科学省、国立大学動物実験施設協議会、滋賀医科大学、京都大学、大阪大学、広島大学等の多大なご支援によって復旧することができた。

2008年11月、動物実験施設は、耐震改修した旧共同研究館および増設された寄附建物の3、4階に移転し、2009年4月に医学部附属から医学研究科附属に改組され、現在に至る。現在の動物実験施設は、神戸大学においては3代目の施設となる。

3. 現動物実験施設の概要

神戸大学医学研究科では、統合的膜生物学次世代シグナル伝達医学、感染症研究を研究テーマと掲げており、これらのテーマを中心として遺伝子組換えマウス等を用いてさまざまな研究を多角的に実施している。また、当施設の大きな特徴の一つが、1985年のノーベル賞受賞研究に貢献し、高コレステロール血症や動脈硬化に関する研究に貢献している疾患モデル動物、WHHL ウサギである。新動物実験施設の建設にあたり、医学研究科の研究テーマを推進することを目的とし、以下の基本方針を定めた。(1) 遺伝子組換えマウスの飼育スペースの拡大、(2) 動物福祉への配慮、(3) 防臭対策、(4) 衛生的な飼育管理、など。

空調機械室を含める総床面積は4,077 m²、収容可能匹数を旧施設と比較すると、マウスは約5倍に増加し、P2Aを含む感染実験、行動実験、X線CT装置等の特殊実験スペースを拡大した。一方、ラット

は1/4、ウサギは1/2、イヌは1/18、ブタ等は1/3に減少した。

動物福祉に配慮した飼育においては、阪神淡路大震災後に更新した飼育ケージ等は、従来使用していた飼育ケージに比較して床面積及びケージ内の高さを拡大し、床材を変更し、ケージの構造を工夫することによって飼育管理技術者の作業性を損なうことなく動物の居住性を高めた¹⁾。新規に開発したウサギのケージでは、ウサギの行動が豊かになり、ケージ内で軀を伸ばしてリラックスしている様子を観察できる¹⁻³⁾。さらに、ウサギについてはケージ内に遊具として滅菌済みの布を配置した。ウサギ用の遊具として市販されているダンベル等は、ケージ内に配置後2-3日で興味を示さなくなるが、布については長期にわたって関心を示している。マウス・ラットについては市販の環境エンリッチメント遊具の使用を推奨し、イヌについては飼育エリアに奥行約10mの廊下を配置して、施設内でイヌとヒトが触れ合うスペースを確保した。飼育管理における動物福祉については、飼育器材等のハードのみならず、飼育管理技術者サイドのソフト面の充実も重要である。その基本は実験動物の健康状態の観察であると考え、健康観察項目を列挙した観察記録簿を考案して365日毎日観察する体制とした。当施設では、特殊実験を除いて、実験動物の飼育管理は飼育管理技術者が元旦を含めた365日行う体制とし、実験動物の適正な飼育に努めている。

当施設は、住宅地に隣接しているため、防音、防臭は極めて重要な問題である。防臭対策として、排気には脱臭フィルターを使用するとともに、施設内での脱臭にも配慮した。脱臭効果と広範囲の殺菌効果を有する弱酸性次亜塩素酸水の製造装置を最上階に設置し、施設全体に噴霧装置を配置した。条件は一定ではないが、旧施設に比較して飼育室のアンモニア濃度が顕著に低下した³⁾。

実験動物の感染症発生子予防については、施設の構造、設備、運用(ソフト)が重要である。施設の構造面では、エレベータ3基を設置して、飼育器材の動線を一方向とした。設備面では、ビルトインのオートクレーブを3基設置し、ケージ洗浄装置で洗浄したケージに床敷きを投入して滅菌台車に収容し、高圧蒸気滅菌後に滅菌台車のまま飼育エリアに搬入し、交換した使用済みケージは滅菌台車に収容して洗浄室に搬出している。飼育室に供給する給気は、空調機械室でHEPAフィルターで除菌し、飼育室に配置しているラミナフローラックに直接供給している。さらに、弱酸性次亜塩素酸水噴霧装置を施設全体に配置したことにより、条件は一定ではないが、旧施設に比較して飼育室の落下細菌数が顕著に低下した³⁾。また、弱酸性次亜塩素酸水は広い抗菌/抗ウイルス作用を示すことから、施設全体に弱酸性次亜塩素酸水用の蛇口を配置し、毎日の飼育室の清掃・消毒に活用している。感染症発生時に、感染症が施設内に拡大することを防止する目的で、

飼育動物の施設内の移動を許可制にするとともに、体重計等の共用器具の使用における注意事項をはじめ、施設利用者感染症発生子予防対策の周知徹底を心掛けている。徹底した衛生対策により、撲滅が困難であったマウス・ラット類の消化管内寄生虫も近年では検出されなくなった。感染症対策でもう一つ重要な点は導入動物の検疫である。近年、遺伝子組換え動物の授受が活発に行われ、医学研究の推進に大きく貢献している。研究機関等から導入される遺伝子組換え動物については、感染症対策上、注意が必要な場合がある。当施設では、提供元の研究機関の飼育状況および微生物検査状況に応じて5種類の受け入れ態勢で対応している。この検疫体制により、汚染動物の導入を未然に防止できている。

1995年に阪神淡路大震災に被災した当施設では、ハード面のみならずソフト面でも、自然災害等に対する危機管理に配慮している⁴⁾。災害発生時には、ヒトと実験動物の安全確保に配慮が必要である。実験者及び作業者の安全確保のためには、速やかに避難できることが重要である。したがって、大地震の際に避難経路を塞ぐことがないように飼育棚等を壁等に固定している。飼育棚を壁に固定するとケージが落下する危険性があるため、飼育棚には作業性を損なわないケージ落下防止装置を配置している。感染実験室等においても平常時は使用しないが避難時に使用するパスルームを設置している。また、ソフト面では、飼育管理技術者用および施設利用者用のマニュアルについて、勤務時間帯用と夜間等の非勤務時用の4種類を作成し、当施設のホームページに掲載している⁵⁾。これらのマニュアルには、災害発生時の連絡網、集合場所、責任者の順位に加えて、実験処置中に災害が発生した場合における実験動物への対応についても記載している。災害発生時に作成したマニュアルがそのまま利用できるとは考えていないが、事前に作成したマニュアルを災害の状況に合わせて修正して使用することが可能となり、判断に要する時間を短縮できると考えている。

動物実験施設の運営には多くの時間を要する。当施設では、1980年代後半から飼育管理費の計算ソフトをVisual basicを用いて自主作成し、必要に応じて適宜ソフトを修正して使用している。計算ソフトを外委託で作成すると高額であるばかりか、状況の変化に俊敏に対応することが困難であるが、自ら作成すると臨機応変にソフトを更新できる。本ソフトの導入により、飼育管理費及び受益者負担額の計算を効率化、透明化することが可能となった。具体的にはケージ単価を定めず、それぞれの月に支出した経費のみを施設利用分野が負担するシステムになり、施設運営会計の説明責任を果たすことが可能になった。また、すべて

の業務をマニュアル化することによって、施設運営の効率化、問題発生時の迅速かつ適正な対応を可能とした。

4. 動物実験実施体制

1990年以降、動物実験に反対する活動が活発化し、過激な破壊活動、動物の連れ出し、施設への侵入等の非合法活動とともに、一般社会人、健全な動物愛護団体、健全な動物福祉団体、文化人、マスコミへの働きかけ等の合法的活動が活発化し、動物愛護に関連する政治・行政にも少なからず影響を及ぼしかねない状況にある。文部科学省は自主管理体制（機関管理体制）の推進により動物実験が適正に実施されるよう指導してきた。自主管理体制の是非はここでは議論しないが、研究機関が動物実験を適切に管理し、説明責任を果たすことが、社会から信頼される動物実験実施体制を構築するうえで重要である。動物実験施設は、実験動物および動物実験に関する種々の多くの情報入手できる立場にあることから、機関内での自主管理体制の中心的役割を果たす動物実験委員会に情報提供し、問題発生時に対応策を提言する役割を担っている。

神戸大学では、1987年に神戸大学医学部動物実験委員会を設置し、「神戸大学医学部動物実験に関する指針」を策定した。1994年に「神戸大学医学部動物実験に関する指針」を改正し、「神戸大学医学部動物実験委員会内規」を制定した。動物実験計画書は書式を修正し、4ページからなる3Rsの概念を盛り込んだ様式とし、動物実験計画書の審査を強化した。現在使用している動物実験計画書は、1994年に作成した様式に微細な修正を行ったものである。神戸大学では複数のキャンパスで動物実験が実施されていることから、動物実験施設の専任教員が中心となって、神戸大学全体の動物実験実施体制の整備を進め、2000年に神戸大学動物実験委員会を設置し、「神戸大学における動物実験に関する指針」、「神戸大学動物実験委員会規則」を制定した。また、動物実験のあるべき姿や動物実験における動物福祉についても学内外に提言を行い⁵⁹⁾、適切な動物実験実施体制の構築に努力している。

5. 動物実験施設における固有の研究活動

動物実験施設に専任の教員が必要か、動物実験施設の専任教員に研究成果を求めるかは、研究機関によって異なる。神戸大学医学部/医学研究科では、施設開設当初（1963年）から、動物実験施設に専任教員を配置し、施設の専任教員が研究活動を行うとの方針であり、国立に移管した1973年に助教授定員が新設された。動物実験施設を適切に運営するためには、施設管理者自身が第一線の研究を遂行し、研究を理解していることが、現実に即した施設運営においては重要である。また、施設運営方針に理解を求める場合においても、施設利用者に必要以上に謙ることなく対応することが可能であり、施設利用者

も同一の立場で説明を理解できる。したがって、施設の管理者は研究成果を上げることによって、施設運営をよりスムーズに遂行することが可能となる。当施設では、1973年に発見した1匹の高脂血症を示す突然変異ウサギを系統開発し、1979年に高コレステロール血症と動脈硬化を自然発症する疾患モデル動物、Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) ウサギを確立した^{10,11)}。WHHL ウサギは、研究者の要望に対応して国内外の研究機関に分与され、ヒトのリポタンパク代謝、家族性高コレステロール血症の病因の解明に利用され、1985年のノーベル賞（生理学・医学）受賞研究に大きく貢献した¹¹⁾。その後も、動脈硬化の発生機序の解明¹²⁾、脂質低下剤等の開発にも用いられた¹¹⁾。次のノーベル賞の候補の一つであるスタチン（コレステロール合成阻害剤、世界で3,000万人以上に処方と推定）の開発及びスタチンの動脈硬化抑制作用の解明にもWHHL ウサギは貢献した¹¹⁾。さらにWHHL ウサギを系統改良し、心筋梗塞を自然発症するWHHLMI ウサギを開発した¹³⁾。現在、WHHLMI ウサギを用いて、心血管疾患の中心テーマである急性冠症候群のモデル動物の開発、急性冠症候群発症に関連するバイオマーカーの開発に取り組んでいる。WHHLMI ウサギは現在なお毎年150匹以上を国内外に分与しており、当施設はWHHLMI ウサギのバイオリソースとしての役割を果たし、世界の死因の第一位、国内の死因の第二位である心血管疾患に関する研究に貢献し続けている。

6. おわりに

本稿では、本学医学部/医学研究科の動物実験施設に関する方針と、その方針に基づいて動物実験施設が実践してきた適切な施設運営、危機管理対策、動物実験実施体制の充実、施設独自の研究活動について紹介した。欧米先進国と同様にアジア諸国において動物実験の法制度化が進む中、我が国においても世界に通用する動物実験実施体制を構築することが今後の課題となるであろう。動物実験施設は、実験動物の適正な飼育、動物実験の適正な実施、および機関内における動物実験実施体制の充実に今後とも中核的な役割を果たしていくことが求められている。

7. 参考文献

- 1) 塩見 雅志, 伊藤 隆, 田村 敏昌, 矢田 龍男, 天野 宣正: 耐震性, 居住性, 取り扱いの容易さを考慮した飼育設備の開発. アニテックス 1997; 9: 35-44
- 2) 田村 敏昌, 伊藤 隆, 塩見 雅志: 神戸大学医学部附属動物実験施設で開発したウサギ用大型ケージの特徴と使用経験. 実験動物と環境 1997; 10: 145-150
- 3) 塩見 雅志, 山田 悟士, 平山 信恵, 伊藤 隆. 耐震改修にともなう動物実験施設移転の一例. 実験

動物と環境 2010; 18: 120-124

- 4) 塩見 雅志, 伊藤 隆: 実験動物施設における災害対応 (危機管理) について. *Labio* 21. 2008; 34: 11-14
- 5) 神戸大学医学研究科附属動物実験施設ホームページ. <http://www.med.kobe-u.ac.jp/iea/index.html>
- 5) 塩見 雅志, 伊藤 隆, 宮下 信泉, 鳥居 隆三: 動物実験における動物の福祉, 権利と法規制. *アニテックス* 2006; 18: 46-57
- 6) 塩見 雅志, 伊藤 隆: 動物実験に関する基本姿勢に基づいた情報開示請求への神戸大学医学部の対応ー開示できる内容と開示できない内容ー. *実験動物ニュース* 2003; 52: 88-89
- 7) 塩見 雅志, 伊藤 隆: 動物実験に関する説明責任ー動物実験に関する法規制と情報公開ー. *オペリス* 2003; 8: 8-10
- 8) 塩見 雅志, 伊藤 隆, 伊藤 勇夫, 松田 幸久, 鬼頭 純三: 医学研究における動物実験の必要性について< I >適正な動物実験の徹底と動物実験反対運動に対する反論. *アニテックス* 1993; 5: 257-266
- 9) 塩見 雅志, 伊藤 隆, 伊藤 勇夫, 松田 幸久, 鬼頭 純三: 医学研究における動物実験の必要性について< II >適正な動物実験の徹底と動物実験反対運動に対する反論. *アニテックス* 1993; 5: 309-318
- 10) Watanabe Y. Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyperlipidemia (WHHL-rabbit). *Atherosclerosis* 1980; 36: 261-268
- 11) Shiomi M, Ito T. The Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbit, its characteristics and history of development: A tribute to the late Dr. Yoshio Watanabe. *Atherosclerosis* 2009; 207: 1-7.
- 12) Shiomi M, Fun J. Unstable coronary plaques and cardiac events in myocardial infarction-prone Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits: questions and quandaries. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 631-6.
- 13) Shiomi M, Ito T, Yamada S, Kawashima S, Fan J. Development of an animal model for spontaneous myocardial infarction (WHHLMI rabbit). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 1239-1244