

17. 動物管理室

室長 山田 靖子

概要

平成 17 年度は実験動物に関連する法律が大きく変わった。まず、動物福祉に関する法律である「動物の愛護及び管理に関する法律」(動愛法)が平成 17 年 6 月 22 日に改正された。実験動物に関して、これまでも記述されていた苦痛の軽減(refinement)に加えて、代替法の活用(replacement)及び使用動物数の削減(reduction)という動物愛護の 3 原則(3R)が法律に明文化された。施行は 1 年以内とされ、その間に関連する基準、指針等の見直し、策定作業が進められている。平成 17 年 6 月 1 日より、日本固有の動植物を保護する観点から、特定外来生物を飼養する施設は環境省へ届出が必要となり、カニクイザルが該当するため村山庁舎は届出を行った。また、輸入動物による感染症の移入を予防する観点から、平成 17 年 7 月 1 日より輸入サル飼養施設は厚生労働省へ届出が義務となり、さらに平成 17 年 9 月 1 日よりすべての動物の輸入に際して厚生労働省または農林水産省への届出が義務付けられ、実験動物もその範疇となった。さらに、危険な動物の飼養を規制するため、動愛法の下で特定動物飼養施設は自治体から許可を得ることとなる(平成 18 年 6 月 1 日より施行)。

感染研の動物実験施設は、使用開始から 13 年を経て、機器等の補修の時期を迎えている。戸山庁舎の動物実験施設では空調機のオーバーホールのため、一部区域で 2 日間空調が停止し、その間の飼育装置等の対応を行った。村山庁舎では空調リヒーターの修理を行った。今後も機器等を含めて補修が必要となる事態が予想され、事前に対応策を立てておくことが必要と思われる。また、戸山庁舎の一部区域は動物の清浄度を優先させるため陽圧飼育装置を使用しているが、これを従事者の作業環境を優先させる陰圧飼育装置に移行する試みを行っている。

人事では平成 17 年 10 月に松野久美子研究員が退職し、平成 18 年 3 月に星谷 武研究員が定年退官を迎えた。

動物管理室では、動物実験施設の微生物検査及びコントロールを業務としている。研究は、昨年度に引き続

いたテーマで行われた。実験動物の感染症に関する研究では、国内で流行のあったリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスの実践的検査の一端を担った。また、免疫不全マウスのマウス肝炎ウイルスへの感受性について研究を進めた。モデル動物の開発研究では、麻疹ウイルス病態モデルとしてのカニクイザル、およびガングリオシドーシスの治療モデルの研究を行った。重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究では、実験動物の中で発症が確認されているフェレットのウイルスリセプターについて研究が行われた。

動物管理室は動物実験委員会の事務局を担当している。平成 17 年度も前年度と同様に、新規に動物実験を行う研究者を対象に隔月に動物実験委員会の全所対象の講習会を開催した。平成 17 年度に申請された動物実験計画は 266 件であった。平成 17 年 7 月に動物愛護団体から情報公開法に基づいた霊長類に関わる動物実験計画書の開示請求が出された。動物実験計画書の開示については東北大学の事例で内閣府の答申が出されており、それに基づき主任研究官以上の氏名及び研究内容で開示が不適切である部分を除き開示を行った。研究者の協力により、不開示部分は非常に少なく、ほとんどの部分を開示することとなった。

動物管理区の利用状況

新規に動物実験を行う研究者を対象に、前述の動物福祉に関する動物実験委員会の講習会(全所対象)に加えて、戸山・村山各庁舎の動物実験施設利用方法の講習会を行っている。各施設の利用登録者数は平成 18 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 372 人、村山庁舎 218 人である。

実験動物施設利用者講習会および動物実験講習会 実績

開催月日	開催場所	受講者数 (新規)		
		施設利用 (戸山)	施設利用 (村山)	動物実験 (全所)
4月11日	戸山	24	0	34
4月13日	村山	0	20	0
6月6日	戸山	13	0	15
7月28日	戸山(臨時)	1	0	1
8月9日	戸山	11	0	13
10月5日	戸山	5	0	7
10月11日	戸山	0	0	1
10月18日	村山	0	3	0
10月24日	戸山(臨時)	0	0	1
11月7日	戸山(臨時)	1	0	3
12月6日	戸山	9	0	12
1月5日	戸山(臨時)	1	0	0
1月10日	村山	0	2	0
2月6日	戸山	8	0	13
3月7日	村山	0	4	0
3月8日	村山	0	2	0
合計		73	31	100

(斜字は外国人対照講習会)

業績

I 動物実験施設の微生物モニタリング

I-1 定期検査

戸山、村山両庁舎の各飼育室にモニター動物を配置し、月一回定期的に微生物モニタリングを行っている。平成17年度より検査項目に人獣共通感染症であるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスの抗体検査を加えた。結果は別表1に示す。緑膿菌、黄色ブドウ球菌に陽性が散見されたが、これらはいわゆる日和見病原体で免疫機能が正常な動物には病原性はない。それ以外の病原体については全て陰性であり、飼育室は清浄に保たれている。

(網 康至、須崎百合子、松野久美子、滝本一広、田原口元子、座本 綾、星谷 武、増子芳郎、大池正明、吉岡利夫、小川敏雄、山田靖子)

I-2 戸山庁舎動物管理区で発生した緑膿菌汚染について

定期微生物検査で1飼育室のモニターマウスから緑膿

菌が検出された。緑膿菌は飲水を介して感染するので、同室で飼育されているマウスの給水ピンのノズル及びフタの裏側の拭き取り検査をしたところ、実験者5人分の77ケージ中68ケージの給水ビンから緑膿菌が検出された。マウスに10ppm次亜塩素酸ナトリウム添加水を3週間(週2回飲水交換)与えた後の再検査では、1実験者が飼育しているSCIDマウスのケージでは38ケージ中26ケージが陽性のままであったが、その他の全ケージは陰性となった。また、常時次亜塩素酸ナトリウム添加水を与えているマウスから緑膿菌は検出されなかった。

(滝本一広、田原口元子)

II 実験動物の感染症に関する研究

II-1 実験動物施設で発生した LCMV 汚染検査における ELISA 法の実践的評価

国内某施設でマウスの SPF 化の過程で発覚した LCMV 汚染の検査を通じ、組換え LCM-NP を抗原として用いた ELISA と IFA、RT-PCR の結果を比較した。ELISA で陰性の血清が IFA で陽性の場合もあり、二次抗体等の検討を要することが示唆された。RT-PCR では、帝王切開によって得られた全産子が陽性であったが、抗 LCMV 抗体が検出されたのは産子 22 匹中 7 匹のみであった。この産子は垂直感染により免疫寛容状態にあり、このようなマウスの場合には抗体検査と RT-PCR を合わせて行う必要性が示された。

[滝本一広、山田靖子、森川 茂¹⁾、池 郁生²⁾(¹⁾ウイルス1部、²⁾理研 BRC]

II-2 マウス肝炎ウイルス感染におけるマスト細胞の役割の解明

ウイルス感染におけるマスト細胞の役割について解明する目的で、遺伝的にマスト細胞を欠損する WBB6F1-W/W^V マウスおよびそのコントロールマウス+/+ マウスに、マウス肝炎ウイルス (MHV) を感染させた結果、WBB6F1-W/W^V マウスは WBB6F1-+/+ マウスと比較して、致死率が高く生存率が低下することが明らかになった。そこで、WBB6F1-W/W^V マウスに WBB6F1-+/+ マウスから得た骨髄培養マスト細胞 (BMMCs : Bone marrow-derived mast cells) を摂取してマスト細胞欠損を修復したマウスで同様の実験を行い、マスト細胞の有無による差を比較した。その結果、修復した WBB6F1-W/W^V マウスと未修復 WBB6F1-W/W^V マウスに生存率の差は、認められなかった。(田原口元子、山田靖子)

III モデル動物の開発

III-1 麻疹ウイルス感染モデル動物の開発と病態解析

麻疹ウイルスの脳内侵入経路を明らかにする目的で、感染自己単核細胞を視床に接種したカニクイザル2頭について、脳内における麻疹ウイルスの持続感染について検討を行っている。うち1頭においては、感染後約160週においても脳脊髄液中の麻疹ウイルス中和抗体が持続して検出され、脳脊髄液中のIgG index に変化は認められないものの、IgG量は、増加傾向を示した。

(網 康至、須崎百合子)

III-2 低分子化合物 NOEV の GM1 ガングリオシドーシス治療効果について

培養細胞系で酵素還元効果が認められている NOEV (1mM) を飲水に混ぜて BK48 マウスに8週間投与し、GM1 およびアジアロ GM1 の蓄積量の変化について生化学的に調べた。投与群の GM1 は非投与群に比べ、大脳で56%、小脳で55%、脳幹で68%に減少した。投与群のアシアロ GM1 は非投与群に比べ、大脳で52%、小脳で46%に減少したが、脳幹では差が認められなかった。肝臓では、両群ともに GM1 は検出されず、アシアロ GM1 は含有量に差はなかった。腎臓では、両群ともに GM1 は検出されず、アシアロ GM1 は投与群の方が増加する傾向が認められた。[滝本一広、鈴木義之¹⁾(¹⁾国際医療福祉大学大学院)]

IV 重症急性呼吸器症候群(SARS)に関する研究

IV-1 フェレット ACE2 における SARS-CoV の増殖

SARS-CoV の実験的感染によって、フェレットは致死性である。また、SARS-CoV のレセプターであるフェレットの ACE2 について配列を調べたところ、マウスにくらべヒトと似ている。このため、さらにフェレット ACE2 の機能を調べるためにウイルスを感染させ、その増殖をみた。フェレット、マウス、ヒトの ACE2 全長を pTarget に組み込み、発現細胞クローンを作成して SARS-CoV frankft-1 を感染させたところ、フェレット ACE2 がマウスより高く、また、ヒトと同等の感受性を有していることが示唆された。[座本綾、山田靖子、福祉秀悦¹⁾、森川茂¹⁾(¹⁾ウイルス1部)]

発表業績一覧

I 誌上発表

I-1 欧文発表

- 1) Arita M, Shimizu H, Nagata N, Ami Y, Suzaki Y, Sata T, Iwasaki T, Miyamura T (2005): Temperature-sensitive mutants of enterovirus 71 show attenuation in cynomolgus monkeys. *J Gen Virol.* 86:1391-1401.
- 2) Takeuchi K, Takeda M, Miyajima N, Ami Y, Nagata N, Suzaki Y, Shahnewaz J, Kadota S, Nagata K (2005): Stringent requirement for the C protein of wild-type measles virus for growth both in vitro and in macaques. *J Virol.* 79:7838-7844.

I-2 和文発表

- 1) 山田靖子(2005): 動物感染実験施設について。アニテックス (17) No.6, 208-211.
- 2) 社団法人日本実験動物協会 編(山田靖子分担執筆) (2005): 実験動物の微生物モニタリングマニュアル。アドスリー

学会発表

II-1 国際学会

- 1) Zamoto A, Taguchi F, Fukushi S, Morikawa S and Yamada Y K. Identification of ferret ACE2 and its receptor function for SARS-coronavirus. Xth International Nidovirus Symposium. Colorado. September 2005, Colorado, U.S.A.

II-2 国内学会

- 1) 滝本一広・田原口元子・森川 茂・山田靖子: 小型齧歯類実験動物のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスに対する感受性と ELISA 法による抗体検出。第52回日本実験動物学会総会、平成17年5月、東京。
- 2) 山田靖子: 動物感染実験におけるバイオセーフティー。日本実験動物技術者協会九州支部第28回総会、平成17年4月、佐賀市。
- 3) 山田靖子: 感染実験を含む動物実験施設のありかた。第52回日本実験動物学会、平成17年5月、東京。

動物管理室

(別表1)

定期的微生物モニタリング成績

病原体検査項目		検査方法	年間検査結果 (陽性数/検査数)					
			戸山庁舎			村山分室		
			マウス	ウサギ	モルモット	マウス	ウサギ	モルモット
サルモネラ	Salmonella spp.	培養	0/269	0/2	0/10	0/192	0/74	0/96
ティザー菌	Clostridium piliforme	血清反応	0/269	0/2	0/10	0/192	0/74	0/96
緑膿菌	Pseudomonas aeruginosa	培養	1/269	0/2	0/10	22/192	0/74	0/96
黄色ブドウ球菌	Staphylococcus aureus	培養	25/269	0/11	29/55	31/192	0/74	68/96
腸粘膜肥厚菌	Citrobacter rodentium	培養	0/269			0/192		
肺バツレラ	Pasteurella pneumotropica	培養	0/269			0/192		
ネズミコリネ菌	Corynebacterium kutscheri	培養	0/269			0/192		
肺マイコプラズマ	Mycoplasma pulmonis	培養・血清反応	0/269			0/192		
ウサギバツレラ	Pasteurella multocida	培養		0/11			0/74	0/96
気管支敗血症菌	Bordetella bronchiseptica	培養		0/11	0/55		0/74	0/96
溶血連鎖球菌	Streptococcus zooepidemicus	培養			0/10			0/96
肺炎球菌	Streptococcus pneumoniae	培養			0/55			0/96
センダイウイルス	Sendai virus (HVJ)	血清反応	0/269	0/2	0/10	0/192	0/74	0/96
マウス肝炎ウイルス	Mouse hepatitis virus(MHV)	血清反応	0/269			0/192		
エクトロメリア	Ectromelia virus	血清反応	0/98			0/192		
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス	Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV)	血清反応	0/98					
ジアルジア	Giardia muris	鏡検	0/269					
スピロスクレウス (ヘキサミタ)	Spirochete muris (Hexamita muris)	鏡検	0/269					
ネズミ盲腸蟻虫	Syphacia spp.	鏡検	0/269					
ネズミ大腸蟻虫	Aspicularis tetraptera	鏡検	0/269					
囊尾虫	Cysticercus fasciolaris	剖検・肉眼所見	0/269					
ネズミケモチダニ	Myobia musculi	鏡検	0/269					
ラドフォルジア	Radfordia affinis	鏡検	0/269					
コクシジウム	Eimeria caviae, Eimeria spp.	鏡検		0/2	0/10			
囊尾虫	Cysticercus pisiformis	剖検・肉眼所見		0/2				
ウサギ疥癬ダニ	Psoroptes cuniculi	鏡検		0/2				

(空欄は検査を実施していない)