

新規講習会資料

はじめに

本学において動物実験を行う研究者(もしくは卒論等で動物実験に関わる学生)は、疾患モデル教育研究センター利用心得(教職員用あるいは卒論生用)を熟知し、本資料を参考にしてください。なお、本資料は後述する正書を参考に、本学の新規講習者に周知していただきたいことを抜粋・記述しました。

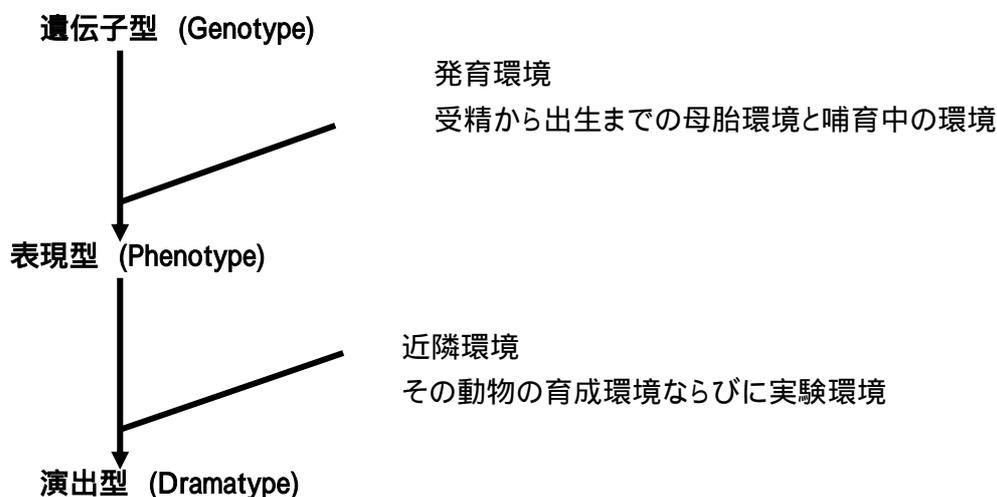
動物実験において認識しておきたい重要事項

3Rの原則について

1959年、イギリスのRussellとBurchによって提唱された人道的動物実験の3Rの原則とは、Reduction(使用動物数の削減)、Refinement(実験動物の苦痛の軽減)、Replacement(動物を使わない実験への代替)のことである。この3Rの精神は、平成17年に改正された「動物の愛護及び管理に関する法律」にも義務事項あるいは配慮事項として盛り込まれた。動物実験を計画する場合、常に考えるべき事項である。

RussellとBurchの演出型説について

動物実験の再現性には、RussellとBurchが提唱した演出型にかかわるすべての要因に配慮した動物実験を行うべきである。



法律を遵守する精神について

上記の「動物の愛護及び管理に関する法律」による動物実験の基本的なルール、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(カルタヘナ議定書)による遺伝子組換えマウス・ラットや動物接種実験あるいは感染動物実験の封じ込め、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の改正」によって、整備された「動物の輸入に関する届出制度」、「特定外来生物による生態系等に係る被害防止に関する法律」による特定外来生物の飼養に関する申請等の関連法規を遵守した上で、適正な動物実験を行っていただきたい。

Ⅰ 概論

1. 実験動物と動物実験

1) 実験動物

実験動物とは、研究、教育、試験、また生物学的製剤などの製造に重要であるとして、その目的に沿って繁殖、生産される動物をいう。上記の厳密な意味での実験動物(狭義の実験動物)以外に、いわゆる家畜、ならびに野生動物が試験、研究に使われる。これらをまとめてよぶときは、実験用動物という言葉が使われる。

実験用動物	
群	内 容
実験動物 Laboratory Animals	研究、教育、試験及び製造の目的のために、飼いなされ繁殖・生産されている動物
家畜 Domestic Animals	人類社会に重要であるとし、飼いなされ繁殖・生産されている動物
野生動物 Animals obtained from Nature	自然界から捕獲した動物人為的な繁殖・生産は行われていない

2) 動物実験

動物実験とは、実験処置によって動物が示す反応を観察し、その反応を通して加えた実験処置がヒトや他の動物種にどのような効果をもたらすかを推測することにある(外挿)。そのためには、個体や場所、時間(年月)による違いが殆どなく、反復実験において同じ成績が得られることつまり、再現性が重要である。そこで、**遺伝的統御と微生物学的統御**が必要不可欠となる。

3) 実験動物の分類

動物実験の再現性を得るために、実験動物は遺伝的統御と微生物学的統御を考慮すべきである。

実験動物の遺伝的統御による分類	
群	規 定
近交系 * Inbred strain	兄妹交配あるいは親子交配を20代以上継続している系統。親子交配の場合、次代との交配は両親のうち後代のものを行うものとする。ただし兄妹交配と親子交配を混用してはならない。
ミュータント系 Mutant strain	遺伝子を持って示し得るような遺伝子型を特性としている系統、および遺伝子記号を明示しなくても、淘汰選抜によって特定の遺伝形質を維持することができる系統。
クローズドコロニー Closed colony	5年以上外部から種動物を導入することなく、閉鎖集団で繁殖を続けた群。
交雑群 Hybrid	近交系間、近交系とクローズドコロニー間、あるいは、クローズドコロニー間の雑種第1代、第2代、戻し交雑、三元交雑、四元交雑の総称である。近交系間のF1交雑が良く用いられる。

* 他にリコンピナント近交系、コンジェニック近交系あるいは分離型近交系がある。

実験動物の微生物統御による分類

群	定義	作出方法	維持
無菌動物 Germfree animals	検出し得るすべての微生物・寄生虫を持たない動物	帝王切開・子宮切断由来	アイソレータ
ノトバイオート Gnotobiotics	保有する微生物叢のすべてが明確に知られている動物	無菌動物に明確に同定された微生物を定着させる	アイソレータ
SPF動物 Specific pathogen-free animals	とくに指定された微生物・寄生虫のいない動物 指定以外の微生物・寄生虫の有無は問わない	無菌動物・ノトバイオートに微生物を自然定着	バリアシステム
コンベンショナル動物 Conventional animals	持っている微生物・寄生虫のすべてが明確に知られていない動物		一般環境

4) 疾患モデル動物

疾患モデル動物とは、ヒトの疾患と同じ病態を示す動物であり、動物実験に役立つ動物をいう。作出方法によって、自然発生突然変異動物と遺伝子組換え動物がある。

(1) 自然発生突然変異動物

自然発生突然変異動物の一部では、塩基置換(ある塩基が別の塩基に置換することによって、アミノ酸の置換やアミノ酸の翻訳が停止する)、DNAの欠失(DNAが欠失することによって、機能するタンパク質が作られない)やスプライシングの異常(エクソンからmRNAに転写する際に異常が生じて機能するタンパク質が作られない)等責任遺伝子の変質部位が明らかになりつつある。ヒト若年性ネフロン癆の疾患モデルである pcy マウスでは、1塩基変異(T1841G)によってアミノ酸が置換(I614S)することによって腎臓に嚢胞が発生する。常染色体劣性遺伝的多発性嚢胞腎症の疾患モデルである PCK ラットでは、イントロン 35 のアデニンがチミンに代わることによってエクソン 36 が欠失する。一方、ヒトの癌細胞を移植することができるヌードマウスの責任遺伝子である Hfh11 (nu, rnu) は、1塩基置換によるナンセンス変異やスプライシングの異常によって、無胸腺(T細胞機能不全)が生じる。

(2) 遺伝子組換え動物

遺伝子組換え動物とは、組換え体のうち、動物の生細胞を宿主とする組換え DNA 実験により作出された動物(受精卵、胚、胎仔、成体及びそれらの一部を含む。)及び導入された形質を保持するその後代をいう。代表的なものとして外来遺伝子を導入するトランスジェニックマウスと本来持っている遺伝子を破壊するノックアウトマウスなどが挙げられる。遺伝子組換え動物は遺伝子の解析のみならず、疾患の病態解析、治療の開発などに重要な役割を果たしている。歴史的には、ヒトのポリオウイルスレセプター遺伝子を発現させたトランスジェニックマウスが有名であり、サル類に変わるポリオウイルス毒力検定モデルとして用いられている。

5) 適正な動物実験の立案及び実施

再現性のある実験結果を得るためには実験条件を十分整えて実験を行う必要がある。とくに動物実験に関しては影響を及ぼす要因が多数存在する(Russell と Burch の演出型説を参照)ので、それらの要因を充分考慮する必要がある。また動物実験は適正な実験であることを前提とし、単に「科学的に適性である」のみならず、「社会的に適性である」ことへの配慮も大切である。動物実験を行うにあたって留意すべき基本的事項を以下に挙げる。

適正な動物実験の立案について

- ・実験目的を明確にする。
- ・動物を用いない実験系の利用など代替の可能性を検討する。
- ・遺伝学的・微生物学的に適切な動物種や系統を選択することによって、使用動物数を削減する。
- ・実験方法の検討においては、動物がこうむる苦痛や症状を予測し、できる限り苦痛を軽減する具体的方法や実験のエンドポイントをあらかじめ検討する。
- ・動物の苦痛の程度や犠牲について評価し、実験によって得られる成果と比較し、cost-benefit の観点から、実験の正当性について考える。

*なお、SCAW(Scientific Center for Animal Welfare)の倫理的カテゴリーは、動物実験を計画する上で重要である。

SCAW(Scientific Center for Animal Welfare)の倫理的カテゴリー

- A: 生物個体を用いない実験あるいは植物、細菌、原虫、又は無脊椎動物を用いた実験
 - B: 脊椎動物を用いた研究で、動物に対してほとんど、あるいはまったく不快感を与えないと思われる実験操作
 - C: 脊椎動物を用いた実験で、動物に対して軽微なストレスあるいは痛み(短時間持続する痛み)を伴う実験
 - D: 脊椎動物を用いた実験で、避けることのできない重度のストレスや痛みを伴う実験、さらには麻酔薬や鎮痛剤、精神安定薬を用いることのできない実験、長期にわたる潜在性のストレスを伴う実験操作や安楽死を適用できない実験操作
 - E: 麻酔していない意識のある動物を用いて、動物が耐えることのできる最大の痛み、あるいはそれ以上の痛みを与えるような処置
-

適正な動物実験を実施するにあたって、飼育担当者は下記の点に気をつける。

- (1) 適正な飼育管理を行うこと: 設定された環境条件下で飼育し、必要十分な栄養分を給与し、感染防御に努める。また、給餌、給水、ケージ交換、飼育室の清掃等の日常管理を定められた時刻に行うなどの配慮をする。
- (2) 実験計画に従って分担事項を行うこと: 担当者が責任を持って分担し、計画通りに的確に実施する。担当者以外の者が許可無く、無断で実験に携わることがあってはならない。(絶食中の動物に給餌されるなどのトラブルが発生する恐れがある。)
- (3) 動物個体を取り間違えないようにすること: 動物の個体識別を完璧に行い、個体を取り間違えないように努める。

2. 繁殖

繁殖は、系統あるいはモデル動物として維持し、需要に応じた生産をするために重要である。最近、従来の自然交配による繁殖生産とともに、胚操作による生産も行われている。また、発生工学と結びつくことで理解すべき領域である。

1) 繁殖の実験手技として必要な性周期について

マウス、ラット、ハムスター類の性成熟したメスの卵巢には数百個の原始卵胞があり、この卵胞は順次一定のリズムで成熟卵胞に発達していく。排卵は交尾刺激とは無関係に繰り返されるが、形成された黄体は持続的にプロゲステロンを分泌せず短期間で機能を消失する、いわゆる不完全性周期を示す。マウス、ラットなどのげっ歯類では、性周期に応じて卵巢、子宮、膣などの生殖器官は特有の変化を示す。性周期は発情前期、発情期、発情後期、休止期に分類される。

2) 膣垢検査

性周期の各期は膣の粘膜組織の変化によって容易に判定することができる。

膣垢の採取にはスポイトまたは綿棒を用いる。スポイトを用いる場合には、スポイト(先端を丸くしたパストールピペットでもよい)に少量の水道水(または蒸留水)を吸い取り、そのままスポイトの先端を膣口に軽く挿入して、液を 2-3 回吸排させ、液中に膣垢を採取する。採取した膣垢を含んだ液をスライドグラスに塗抹し、乾燥後メタノールで固定、ギムザ染色(ギムザ液1:蒸留水1、15分以上放置)した後、水洗、乾燥して100倍程度の倍率で鏡検する。

発情前期：膣上皮細胞が増殖するため、有核細胞が見られる。交尾に適している。

発情期：エストロゲンにより膣上皮細胞が角化するため、角化細胞が見られる。

発情後期：死滅しかけた有核細胞の周りに白血球が出現する。

発情休止期：各細胞がパラパラとみられるだけである。

3. 病気と衛生

実験動物にかかわる微生物は、以下の5つの選択基準によって分類される。

実験動物に係る微生物の選択基準

A：動物からヒトに感染し、ヒトを発病させる恐れがある。(人畜共通伝染病)

B：動物を致死させることができる高度病原微生物で、伝染力も強い。

C：動物を致死させる力はないが、発病の可能性があり、生理機能を変化させる。

D：健康なマウスやラットの体内にしばしば存在するが、実験処置いかんでは病気を誘発する恐れがある(日和見感染病原体)。

E：通常は病原性を示さない。飼育環境の微生物統御の良否を判断する指標として有用である。

設定された動物の微生物学的状態が変化していないことを定期的に確認するための検査である微生物モニタリングの結果は、種親動物の授受や生産場からの動物入手に際して、微生物学的品質を証明する資料として重要であり、実験コロニーで得られた実験データが動物固有の感染症の影響を受けているかどうかを判断する有力な資料になる。

定期的に行う必要性が高い微生物モニタリング検査項目

微生物名	マウス	ラット
ハンタウイルス Hantavirus		
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス Lymphocytic choriomeningitis virus (LCM)		
センダイウイルス Sendai virus (HVJ)		
マウス肝炎ウイルス Mouse hepatitis virus (MHV)		
唾液腺涙腺炎ウイルス Sialodacryoadenitis virus (SDAV)		
エレクトメリアウイルス Ectromelia virus		
肺マイコプラズマ Mycoplasma pulmonis (Mp)		
ティザー病 Clostridium piliforme (Tyzzer)		

()内は略言

以下に、特に注意すべき感染症について若干記述する。

(1)ハンタウイルス Hantavirus

カテゴリー:A 人畜共通伝染病

宿主:ラット、ヒト

疫学状況:腎症候性出血熱 hemorrhagic fever with renal syndrome(HFRS)を発症する。

極東アジア(中国、数万例/年)と北欧・東欧(数千例/年)が流行地域であるが、ユーラシア大陸全域に発生がある。わが国では1960～70年代に発生が報告されている。現在中央管理方式による実験動物施設で感染例はないが主要港湾地区で感染ドブネズミが確認されることがある。

感染経路:不顕性に持続感染しているげっ歯類が自然宿主となる。糞尿中に排泄されるウイルスによる経気道、飛沫感染。咬傷によっても伝播する。

潜伏期:10～30日。

診断と治療 臨床症状:突然の発熱、頭痛、悪寒、脱力、めまい、背部痛、腹痛、嘔吐がある。発熱とともに出血傾向の出現(顔面紅潮、点状出血、結膜充血)する。平均5日間高熱が続いたのち突然解熱する特有の熱型を示す。重症例では、出血傾向が著しく、DIC、突然の血圧低下とショック症状をきたす(致死率約10%)。その後乏尿、蛋白尿など腎不全の徴候がみられる。軽症例では一過性の尿量の減少のみで急速に回復する。

検査所見:白血球増加(4～6病日)、血小板減少(3～14病日)、蛋白尿(3～14病日)、腎不全所見、血清抗体価の上昇(7病日頃から出現し、2～3週頃ピークとなる。その後長期間存在する)。

確定診断:血中抗体価の出現の確認による。抗体の検出は間接蛍光抗体法(IFA)、ELISAによる。白血球からのPCRによるゲノム検索も可能である。

2次感染予防:ヒトからヒトへの感染は確認されていないが、急性期にはウイルス血症を起こしていると考えられるので、それに対する対応が必要である。本ウイルスは70%消毒用アルコールで容易に不活化される。

(2) センダイウイルス (sendai virus, Hemagglutinating Virus of Japan: HVJ) : パラミクソウイルス科

カテゴリー: B

宿主: マウスとラット(ハムスター類、モルモット、ウサギ)

感染経路: ウイルスは鼻汁とともに排出される。感染動物との直接的な接触、あるいは鼻汁の飛沫で汚染された飼育器具や飼育者の手指による間接的な接触により伝染する。基本的には経鼻感染である。比較的少量のウイルスで感染が成立し、かつ、一旦ウイルスが侵入した動物施設内では、ケージ間の病原体の伝播を防ぐ手当が講じられないと、きわめて急速に伝播する。

感受性: マウスでは感受性に系統差(高感受性: DBA/2, 129/J 低感受性: C57BL/6)がある。乳仔は高感受性・高死亡率を示す。

症状: マウスでは感染後2-3日で摂餌・摂水量の減少、削瘦、立毛、呼吸困難などの症状を示し、異常呼吸音を発するが、鼻汁排出は顕著でない。死亡する場合は感染後1週間から10日以内が多い。繁殖コロニーの汚染事例では喰殺、発育不良、妊娠率の低下など生産効率の低下が観察される。ラットはマウスにくらべて感受性が低いいため、無症状のものも多い。ヌードマウスでは例外的に持続感染し、慢性の経過をたどってついには消耗病(wasting syndrome)を呈し死亡する。

剖検: マウス、ラットとも肺の充血と肝変化が観察される。

消毒、滅菌: 脂溶性の消毒剤、次亜塩素酸系の消毒剤

(3) マウス肝炎ウイルス (Mousehepatitisvirus: MHV) : コロナウイルス科

カテゴリー: B

宿主: マウス

感染経路: ウイルスは消化管粘膜上皮細胞や鼻粘膜上皮細胞で増殖するため、感染経路は経口、経鼻あるいはその両者である。多くは感染マウスとの直接接触、あるいは汚染した糞便や床敷などの接触によりマウス間に伝播する、また、空気伝播の可能性も否定できない。特殊な例としては、腫瘍の移植実験において移植材料がMHVに汚染していたために動物が感染した事例が散見されている。

感受性: マウスでは感受性はマウスの系統差(高感受性: BALB/c, C57BL/6 低感受性: C3H)がある。幼若マウスは感受性が高く、哺乳中のマウスでは下痢をして死亡することがある。

症状: 汚染コロニーでは、たとえ一部の動物だけが抗体陽性であったとしても、すべての動物が感染しているものと考えたほうがよい。マウスのMHV感染では不顕性感染の経過をたどることが多い。まれに発病することがある。ヌードマウスが感染すると1ヵ月ぐらいの間に徐々に体重が減少し、削瘦して、いわゆる消耗病(wasting syndrome)を呈し死亡する。免疫不全マウス、あるいは実験的免疫抑制マウスではMHVによる感染死が起こり得る。

剖検: 肝臓の表面に灰白、白あるいは淡黄色の限界が比較的明瞭な斑点(壊死巣)が散在する特徴的な病変が見られる。

消毒、滅菌: エーテル、クロロホルムなどの脂溶性物質に感受性がある。次亜塩素酸液や脂溶性の消毒剤、あるいは56℃の加熱により不活化される。

(4) 唾液腺涙腺炎ウイルス(Sialodacryoadenitis virus:SDAV) : コロナウイルス科

カテゴリー : B

宿主 : ラット

感染経路: エアゾールあるいは接触による気道感染である。ラットは感染後1週間ウイルスを排出し、このウイルスが塵埃に付着して空中を浮遊し、同一室内の全ラットに伝播する。

感受性: 本病の感染率は高いが、発症率は5～100%とかなりの幅がある。7週齢以上のラットでは顕著な症状を示し、体重が減少するのに反して、若齢ラットではほとんど症状がみられない。経過は一過性で、発病ラットの一部では眼に後遺症が認められるが、死亡することはない。

症状: “紅涙”や“鼻出血”とよばれる眼瞼部や鼻端部の血様赤色物の付着をみることがある。この赤色物はハーダー腺より分泌されるヘマトポルフィリンで、感染に伴う分泌の昂進が原因である。感染後期には、眼球の白濁、突出や巨眼球症など、眼病変を示すものがある。これは涙腺や眼球の炎症に伴う後遺症で、発病ラットの10%以内に認められる。

剖検: 下顎部の腫脹(皮下および唾液腺周囲における多量のゼラチン様滲出物の存在と、顎下線や耳下腺の著しい腫大)が特徴的である。これは皮下ならびに唾液腺周囲や間質の浮腫が原因で、初期には触診によってはじめてわかるが、最盛期には視診でも判別できる。

消毒、滅菌: 本ウイルスは次亜塩素酸水溶液や脂溶性の消毒剤によって速かに不活化され、加熱にも比較的弱い。

(5) 肺マイコプラズマ(Mycoplasma pulmonia:Mp)

カテゴリー : B

宿主 : マウス、ラット

感染経路: 経鼻感染によって伝染する。

感受性: マウスやラットがMpに一度感染すると年余にわたって保菌状態が続き、老齢になって発病するから注意しなければならない。汚染コロニーの繁殖退役動物では、多くの場合ほぼ全個体からMpが分離される。ケージ内のアンモニア濃度が高くなる(50 ppm以上)とMpの増殖が促進され、肺炎や中耳炎の発症が促進される。

症状: Mpによる主要な病気は気管支肺炎と中耳炎である。感染初期にはクックッあるいはカッカッというような乾燥した感じの鼻音を発し、被毛の光沢がやや悪くなる。肺病変を形成すると臨床症状も明らかになり、体は痩せて、呼吸に伴って脇腹の動きが激しくなる。病気は慢性経過をとるので、発病した動物が回復することはほとんどないが、死亡するものも少ない。旋回運動を起こすものもあり、侵された中耳を内側にして旋回する。

剖検: 肉眼病変として感染初期には肺に赤色 - 赤褐色の肝変化病変がみられ、慢性に経過すると、さらに灰白色の結節性病巣を形成する。病巣内には膿性あるいはチーズ様の滲出物がみられる。中耳炎では、中耳腔内に膿性の滲出物が貯留する。

(6) ティザー菌 Clostridium piliforme (Tyzzer's organism)

カテゴリー: C

宿主: マウス、ラット、モルモット、ウサギ(ハムスター類)

感染経路: ティザー菌は偏性細胞内寄生性で、人工培地では発育せず、芽胞を形成する。栄養型は外界で感染性を速かに喪失するが、芽胞は乾燥に強く、熱や消毒剤に付してある程度の抵抗性を有しているため、病気の伝播には芽胞が重要な働きをする。芽胞は主として糞便より排出される。本菌は偏性細胞内寄生性であり、消化管粘膜上皮細胞、粘膜筋板、筋層の平滑筋細胞、肝細胞、胆管上皮細胞、心筋細胞、神経細胞などで菌の増殖が認められている。

剖検: 菌の増殖部位に一致して、おもに壊死性の病変が形成される。肝や心の壊死斑あるいは回腸粘膜の肥厚などティザー病が疑われる病変をみつけたら、まずその部分の断面をスライドグラスにスタンプし、ギムザ染色する。アズール顆粒を有する針状の桿菌ならびに芽胞が細胞内に見出されれば本病と診断できる。

消毒、滅菌: ティザー菌の栄養型は生体外においては常温で速やかに感染性を失うため、消毒、滅菌の対象となるのは芽胞である。本菌の芽胞は過酢酸、次亜塩素酸、ヨードホルム、ホルマリンやエチレンオキシドガスなどの消毒剤で不活化されるが、エタノール、逆性石けん液、クレゾール石けん液やヒビテンなどは無効である。とくに過酢酸や次亜塩素酸が本菌芽胞の不活化に有効である。

4. 汚染動物施設の消毒手順

動物は全頭処分する。

室内をホルマリン燻蒸後清掃、洗浄する。汚物や動物飼育器具などのうち廃棄する物はオートクレーブ滅菌後処分する。

再使用する飼育器具器材はオートクレーブ滅菌し、加熱できない物についてはガス滅菌か0.05%次亜塩素酸液に浸漬する。

施設内に消毒済みの飼育器具器材を搬入後、ホルマリン燻蒸する

II 各論

1. マウス

1) 特徴

マウスは成熟しても体重が 50g 以上にはならないため、実験動物を初めて扱う技術者や研究者にも取扱いが容易である。そのため、遺伝学、腫瘍学、免疫学等広い分野で使用されており、実験動物として用いられている動物種の中で最も多くのデータが報告されている。

成熟時体長: 約 8cm 尾長: 約 7cm 体重: 30g 前後 寿命: 2-2.5 年

妊娠期間、哺乳期間: ともに約 20 日

系統: 約 1000 系統が国際登録されているのに加え、毎年、遺伝子改変動物が数多く報告されている

代表的な系統の特徴を表に示す。

系 統	特 性
A	アルビノで多くの亜系(サブライン)がある。 自然発症肺腫瘍が認められる。寿命はSPF動物になると比較的長い。
AKR	アルビノ。亜系によっては太りすぎて繁殖が難しい。 4~5ヶ月齢頃より胸腺の腫脹を伴う白血病を高発する。
BALB/c	アルビノで多くの亜系があるとともに歴史の古い系統である。 多くの研究に使用されている。 寿命は比較的長く、高齢になるとリンパ系の腫脹が見られる。
CBA	野生色で歴史が古い系統である。亜系により免疫反応に差が認められる。 寿命は長いほうである。 C3H系のマウスと同様、網膜の変性を起こす遺伝子によりほとんど物がみえない。 ビタミンKに感受性が高い。
C3H/He	野生色。多くの亜系があり、特性に差が認められる。 乳因子により高い乳がんの発生がみられ、メスの寿命はこの発生率に影響される。 オスには高い肝癌の発生が認められる。 網膜の変性遺伝子(rd)により視力はゼロに等しい。
C57BL/6	黒色。体型は比較的小さく、離乳期に脱毛することがある。 自然発症腫瘍が少ないので、寿命は長い。 無眼、白内障などが多くみられる。
DBA/2	淡褐色(ダイリュートブラウン)。目は黒。 出産仔数が少ないので、繁殖は難しい。聴原発作がみられる。 体重の割合対する脳の比重は低く、心臓に石灰の沈着が多くみられる。

2) 飼育管理

環境: 動物の健康を保つために、動物室に入ったらず、ガイドラインを基準に設定されている温度(22 - 24)、湿度(50 - 60%)、換気(12 - 15 回/時間)の状況をチェックする習慣を身につけるとよい。これらの設定範囲内から大きくはずれている場合には、すみやかにセンター教職員に連絡する。

給餌:動物の健康状態を知る上で、飼料の消費量は大事なチェックポイントになる。給餌量は適量にすべきで多すぎる飼料の供給は、吸湿により変質を招くので好ましくない。給餌器の中に吸湿して固まった飼料がある場合は給餌器を交換しないとカビが発生する。

給水:給水作業で重要なことは、漏水のないようしっかり栓をし、給水ピンを逆さにしても水がでないことを確認することである。漏水による事故は以外と多いため、ケージに給水ピンをセットアップ後、再度漏水していないかチェックするとよい。給水ピンの先管が床敷き(チップ)に触れても漏水が生じるため、セットアップ後の確認も重要である。自動給水装置の場合は、ケージ交換ごとに先管に食べかすや床敷きが詰まってないか確認する必要がある。

ケージ交換:ケージ交換は飼育作業の中で重要な作業の一つであり、動物の健康状態を把握する最もよいときである。必要数の交換用ケージ(洗浄・乾燥、必要であれば滅菌したもの)に床敷き(チップ)を適量入れる。動物は1匹ずつつかみあげ、新しいケージに移す。このときに、動物の行動、被毛の色・つや・汚れ、脱毛と外傷の有無、眼・鼻・口・尾・肛門などに色・形・汚れ・外傷の有無を観察する。必要に応じ体重を測定する。カードに記録されている動物数と実際の数が合うことを確認する。給餌器に飼料を補充し、フタを完全に閉じて新しい給水ピンをセットアップする。柵を清拭し、ケージを元の位置に戻して、飼育室の掃き掃除、拭き掃除を行ってケージ交換作業が終了する。

器具・器材の洗浄・消毒・滅菌:ケージ、給餌器、フタ、給水ピン等は交換後洗浄、必要であれば消毒、滅菌する。特に給水ピンの栓と先管は十分にブラシで洗浄し、飼料の食べかすを除去することが大事である。

性別判定:生後3～4週齢になると、容易に「肛門と外部生殖器の距離」と「外部生殖器の様子」で判定できる。雌は肛門と外部生殖器の距離が短く、外部生殖器の突出が少ない。雄は距離が長く外部生殖器の突出が大きく、また、精巣が下降していることから判定できる。幼若な場合、特に出産後数日のものは、肛門と外部生殖器の距離、外部生殖器の突出の程度(雌では小さく、雄では大きい)あるいは乳房の数(メスでは乳房の数が5対で、オスでは1対のみ)により判定することができる。

3) 実験補助

体重測定:体重測定は動物の健康状態を知る重要な項目である。体重の変化は、環境状況の変化が起こっていないか、飼育管理が正しく行われているか、そして実験による影響が出ていないかなどを知る重要な手がかりとなる。

マウスの場合、体重計は秤量 100g、感量 0.1gものが便利である。一般的には動物が逃亡しないように箱等を秤量皿の上に取り付け、その中に動物を静かに入れて測定する。

動物の保定・固定法:実験処理を行なう時、その目的を達成するために動物を器具を用いずに一時拘束状態にすることを保定という。一方、固定とは器具を用いて拘束状態にすることをいう。実験処置を正確かつ確実に実施できるか否かは保定・固定法にかかっているので、繰り返し練習し、しっかり身につけておかねばならない。

- (1) 経口投与時の保定: ケージのフタなどにマウスをのせ、軽く尾を手前に引くと動物は抵抗し、体を伸ばすので、反対の手の親指と人差し指でマウスの頸部をしっかりとつかみ、さらに背部皮膚を中指と薬指でつかみ、持ち上げる。このとき、薬指の先でマウスの尾根部を押さえると動物は手の中でおとなしくなる。この方法は首が動かないようにすることが重要なポイントとなる。
- (2) 静脈内投与に用いる固定: 静脈内投与には尾静脈が利用される。動物の大きさにより適当な固定器を選び、動物を固定器に入れる。動物の体は固定され、尾のみが固定器外に出る。尾を十分に消毒し、血管を怒張させ、左右いずれかの静脈血管が水平に見えるように左手で固定する。このとき、左手は実験台にしっかり固定しておくことが大切である。
- (3) 腹腔内投与時の保定: 経口投与に用いる保定法で動物を持ち上げ、尾根部と左後肢を薬指や小指で保定する。頭部を腹部より低い位置にし下腹部を良く見えるようにすると、腸管や肝臓を傷つけない位置に針を刺入することができる。
- (4) 皮下投与時の保定: マウスはケージのフタにはわせたままでよい。背部皮膚を大きくつまみあげ、その位置に動物の頭部から針を刺入するか、またはやや左寄りの背部皮膚をつかみ、尾部より針を刺入することができる。
- (5) 筋肉内投与に用いる保定: マウスをケージのフタにはわせ、右手で尾を引くと、動物は抵抗して体を伸ばすので、左手で大きく背部皮をつかみ、フタの上にやや押さえ気味に保定する。このとき右後肢が術者の前に位置するようにする。

2. ラット

1) 特徴

ラットは栄養学、繁殖学、腫瘍学、薬理学等のために、マウスについて広い分野の研究に使用されている。マウスに比べ体が大きい分、血液やその他の生体材料が多く利用できるので有利である。

成熟時体長: 約 20-25 cm 尾長: 約 15-20 cm 体重: オス 300-700g、メス 200-400g

寿命: 2-2.5 年

妊娠期間、哺乳期間: とともに約 20 日

系統: ラットの代表的な系統として、高血圧自然発症ラット SHR、単純性肥満モデルである Zucker ラット、T細胞機能不全であるヌードラット、肝炎を発症する。LEC ラット等やクローズドコロニーとして汎用される SD 系及び Wistar 系である。

2) 飼育管理方法: マウスの項参照

3) 実験補助

体重測定: マウスの項参照

ラットの場合、体重計は秤量 500-1000g、感量 0.5-1.0g のもので、動物が動いても針が大きく揺れない制動式のものが良い。

動物の固定法:マウスの項参照

(1)経口投与時の保定:

ラットが幼弱な場合:マウスと同様に行う。頸背部の皮膚を大きくつかむとき、首が動かないようにしっかりつかむことが重要である。

ラットが成獣な場合:ラットを背部からつかみ、術者の胸にはわせ、人差し指と中指の間に頭を挟むようにして持ち上げる。尾は小指で挟むか、またはラットの後肢を術者の胸に押し付けて保定する。

(2)静脈内投与時の固定:マウスの項参照

(3)腹腔内投与時の保定:マウスの項参照

(4)皮下投与時の保定:マウスの項参照

(5)筋肉内投与時の保定:ラットは背部より人差し指と中指の間に頭を挟むようにして持ち上げる。もう一方の手で、ラットの臀部を抑えながら親指で後肢のつけ根をしっかり固定し、術者の前に出す。

3.ハムスター

1)特徴

ハムスターはいくつかの種類に分けられるが、国内で実験動物として使われているのは染色体数 $2n = 44$ のシリアンハムスター(ゴールデンハムスター)と $2n = 22$ のチャイニーズハムスターの2種類である。

身体的特徴として両頬に頬袋を持っていることに加え、性周期が安定しており、染色体数が少ないなどの特徴を活かして感染学、腫瘍学、歯学、遺伝学、栄養学、生理学等の分野で利用されている。

シリアンハムスター

成熟時体長:12-15cm 尾長:1.5-2.5cm 体重:80-140g 寿命:2年前後

妊娠期間:15-17日 哺乳期間:18-24日

系統:ハムスター類の系統分類に関して、マウスのような国際的な定義と表示法に関する取り決めがない。そのためマウスに準じて近郊系、クローズドコロニー、ミュータント系に分類している。現在までに BIO14.6 や UM-X7.1 など約 30 系統の近郊系が作出されている。

チャイニーズハムスター

成熟時体長:8cm前後 尾長:1cm前後 体重:25-40g 寿命:2年前後

妊娠期間:20-21日 哺乳期間:18-20日

系統:チャイニーズハムスターの近交系は非常に少ない。自然発症糖尿病の近交系がいくつかの機関で維持、繁殖されているのみである。

2)飼育管理

環境:マウスの項参照

給餌:成熟時の摂餌量はシリアンハムスターで 10-15g、チャイニーズハムスターで 3-4g である。

給水: ハムスター類は給水ビンの先管に飼料や床敷をよくつめることがあり、漏水の原因となるので注意が必要である。

ケージ交換: ハムスターは警戒心が強く、興奮すると激しい声を発し、攻撃姿勢をとったりかみついたりするので、新しいケージに動物を移動させるときは、動物を十分に目覚めさせ、静かに水をすくうように両手で持ち上げるか、動物がケージの壁に前肢をかけた状態のときには頸背部の皮膚をそとつかみあげて移す。

器具・器材の洗浄・消毒・滅菌: ハムスターは尿石がケージに付着するため洗浄の際には薬品(サンアライ、クエン酸等)を使用して尿石を除去することが望ましい。

性別判定: マウスの項参照

3) 実験補助

体重測定: マウスの項参照

動物の保定・固定法: 尾がないので、ハムスター類の取り扱いはずべて頸背部皮膚によって行なう。しっかりと動きを止めたい場合は頸背部から腰部にかけての皮膚を大きくつかむ。

4. スナネズミ

1) 特徴

刺激によりてんかん様発作を起こし、脳梗塞、脳虚血モデルが作成できることから、脳・神経系の研究に用いられてきたほか、寄生虫や放射線感受性の研究に用いられる。

成熟時体長: 12-13cm 尾長: 約9cm 体重: 60-70g 寿命: 2-3年

妊娠期間: 24-26日 哺乳期間: 20日

系統: 現在、近郊系がいくつか作出されているが、実験動物として生産・販売されている系統は少なく、維持機関による亜系(サブライン)や突然変異によってできたアルビノ系などがいくつか報告されている。

2) 飼育管理:

環境: マウスの項参照 なお、湿度が高くなると体温の熱放散が難しく、むれて被毛がベタベタしてくるので、注意が必要である。

給餌: 成熟すると太りすぎるので、高脂肪や高カロリーの飼料は避けた方が良い。

給水: スナネズミは給水ビンの先管に飼料や床敷をつめることがあり、漏水の原因となるので注意が必要である。

ケージ交換: 動物を移す際に抵抗している場合は無理に引っ張ってはならない。尾の皮膚がスッポ

り抜け、出血の恐れがある。

器具・器材の洗浄・消毒・滅菌：基本的にはマウス・ラットと同じである。

性別判定：マウスの項参照

3) 実験補助

体重測定、保定・固定方法ともにマウスに準じて行なえば良い。しかし、抵抗している時に無理に扱っていると、尾の皮膚がむけて出血するので注意する。

5. スンクス

1) 特徴

スンクスは食虫目トガリネズミ科ジネズミ亜科ジャコウネズミ属に属する小型哺乳動物であり、ジャコウネズミという和名をもつが実験動物としてはげっ歯目と区別するために「スンクス」という名称が用いられている。食虫目は哺乳類の祖先と考えられているので、スンクスを用いることにより、従来のげっ歯目動物を用いた実験ではできなかった分野の生命現象の解明が進むことが期待される。

成熟時体長：20-21 cm 尾長：7-8 cm 体重：オス 50-70g、メス 30-50g 寿命：1.5-2 年

妊娠期間：約 30 日 哺乳期間：約 14 日

系統：野生色とクリーム色の2つがあり、どちらもクローズドコロニーである。

2) 飼育管理

環境：寒冷に弱いため、15℃以下には絶対にしないようにする。

給餌：スンクス用飼料を与える。週2回ほど、飼料の摂取量をチェックして餌不足にならないようにする。

給水：水不足になると急激に弱ってしまうため、給水は1日おきに見回ることが大切である。

ケージ交換：動物を神経質にしないためにケージが相当汚れない限り、過度の交換は避けた方がよい。

器具・器材の洗浄・消毒・滅菌：スンクスは独特の臭いがあるため器具・器材を他の動物と併用して使用するときは、十分に消毒液に浸漬し、除臭しておく必要がある。

性別判定：雌の鼠径部には3対の乳頭が観察できる。それらの周囲(乳頭域)には毛がなく、容易にわかる。一方、雄では乳頭、乳頭域ともになく、鼠径部全体が毛で覆われている。また、陰部の腹側を押すと陰茎が突出する。乳頭の有無により新生仔、さらに胎仔でも性別は判定できる。

3) 実験補助

体重測定、保定・固定方法ともにマウスに準じて行なえば良い。

6. モルモット

1) 特徴

モルモットは体内でビタミンCを合成できない数少ない動物種の1つである。解剖学的特徴としては尾がなく、乳腺は下腹部に1対しかない。四肢は短く、前肢に4趾、後肢に3趾をもつ。また胸腺が頸部の皮下にある点あげられる。アレルギー状態になりやすいことや結核菌に対して感受性が高いことから、抗生物質の力価検定やアレルギーの研究に用いられている。

成熟時体長: 約 25cm 体重: 800-1000g 寿命: 5-7 年前後

妊娠期間: 62-72 日 哺乳期間: 14 日

系統: マウスやラット同様に系統が確立されているが、その数は極めて少ない。

非近交系としてハートレイ系、近交系: No.2 系、No.13 系などがある。

2) 飼育管理

環境: マウスの項参照

給餌: 飼料は市販のモルモット用固形飼料を用いる。成熟個体の1日の給餌量は 20-30g であるが、モルモットは過食しないため一度に多量を与えて自由採食させても構わない。ただし、長期間給餌器に飼料を入れたままにしておくとかびが生えたりするため、1回に与える量は2-3日分を越えないようにする。

給水: 1日の飲水量は 80-120ml である。給水ピンで水を与える場合は、口腔内の食べかすが先管に逆流して水が汚れるので、ピンだけでなく先管も細いブラシを通してよく洗浄する必要がある。

ケージ交換: 床は、床敷を敷くか、あるいは金網床を使用する。床敷を使用する場合は、週に2-3回交換する。金網床、すのこ床は週に1-2回は交換する。

器具・器材の洗浄・消毒・滅菌: ケージならびに給餌器、給水ピン等は定期的に洗浄し、消毒または滅菌することが望ましい。消毒・滅菌方法はマウスやラットのケージの場合と同様であるが、ケージが大きいため、薬剤消毒が一般に広く行われる。

性別判定: 幼若モルモットでは、生殖器の外観だけで雌雄を判別するのが難しい。雄では、生殖器の近くの下腹部を指で圧迫すると陰茎(ペニス)が突出するので判別できる。成熟個体では陰茎の部分が隆起しているため、外観だけでも雌雄の判別は可能である。モルモットは、他の動物種と異なり、肛門と陰部の距離が雌雄であまり変わらない。

3) 実験補助

体重測定: マウスの項参照

モルモットの出生直後の体重は 60-120g で、成熟雄では 1kg 前後になるものもあるため、秤量 1.5-2

kg、感量 5g のものが必要である。

動物の保定・固定法：

- (1) 静脈投与時の保定：後肢の静脈を用いる場合には片手でモルモットの前肢を後頭部に回すようにしたうえで、もう一方の手で後肢の関節をのばし鼠径部をしっかりとつかむ。
- (2) 腹腔内投与時の保定：補助者はモルモットの前肢を後頭部に回すようにして片方の手で後頭部をつかみ、前躯を仰向けにする。後肢をのばすようにして一方の手で後躯をもって体躯をのばし、頭部を下げるようにして台の上に固定する。
- (3) 皮下投与時の保定：モルモットを作業台の上に置き、移動しないように、補助者はそれぞれの手のひらで頭部と臀部を軽く押さえる。注射部位は頸背部である。
- (4) 筋肉内投与時の保定：後肢の大腿部の筋肉に注射するのがもっとも簡便である。モルモットを作業台にのせ、片手で頭部を、もう一方の手で背部を包むようにかぶせて固定する。
- (5) 皮内投与時の保定：背部の皮膚を注射部位とするのが簡便である。皮下投与時の保定法に準じる。
- (6) 心臓採血時の保定：モルモットでは心臓採血がよく行われる。補助者はその片手で前肢を後頭部に回すように保定し、他方の手で後肢をしっかりとつかみ、体躯をのばすように保定する。そのようにして保定したモルモットの体躯を縦または横に位置するように作業台上あるいは採血しやすいように採血者の手元に保定する。その際、採血者の側にモルモットの腹部が向くようにする。心臓穿刺は、原則として麻酔科で行なう。

7.ウサギ

1) 特徴

性質は非常に温順で取り扱いやすく、大きさも手ごろであることから使用範囲の広い動物である。発熱物質名に対する感受性が高く、適度に敏感であり耳静脈が太く明瞭で注射や採血が容易である上、抗体を産生しやすいため、血清の作製に古くから用いられている。さらに、交尾排卵動物のため胎仔の日齢が正確に把握できるため催奇性試験に多く用いられている。その他に薬物代謝試験、薬効試験、一般毒性試験などに使用されている。

生理学的特徴として、未吸収の栄養分を再吸収するための食糞行動がある。また、血液学的には好中球に相当するものは、エオジン好性の顆粒を持つ偽好酸球であることが挙げられる。

成熟時体重：2-8kg(品種によりかなりの幅がある。)

妊娠期間：30-35 日 哺乳期間：30-45 日

系統：クローズドコロニー系統として日本白色種をもとにした Kb1：JW、Kbt：JW、Jla：JW、Slc：JW/CSK、Nib：JWN などがあり、近郊系として JWY-NIBS、JW-CSK、NWY-NIBS、DUY-NIBS などがある。

2) 飼育管理

環境：室温は 18-28、湿度は 40-60%、換気は 10-15 回/時間が基本である。

給餌：飼料は市販のウサギ用固形飼料を用いる。給餌量は 1.5kg 前後のウサギで 1 日約 80g、2-3kg

のもので 100-150g、妊娠中、及び哺育中のもので 150-170g を目安とする。

給水: 1日の摂取量は 300-500ml である。給水ビンで与える場合は、容量 600ml 程度のものを準備し毎日新鮮な水と交換する。

ケージ交換: 自動飼育式架台、受け皿つきケージともにケージ自体の交換は月 1 回程度で十分であるが、受け皿は毎日水洗する。ウサギは尿中の炭酸塩が尿石として器具に付着しやすく、水洗時にはブラシなどで完全に洗い流す。

器具・器材の洗浄・消毒・滅菌: ケージ、給水ビン等は水洗、洗浄に加えて定期的に消毒、滅菌を実施する。

性別判定: 新生仔の性別判定が難しいが、見分け方としては陰部と肛門の距離陰門のかたち、及び陰囊痕の有無などによって判別する。成熟固体では、雄は生殖器近くの下腹部を指で圧迫すると陰茎(ペニス)が突出するので判別できる。

3) 実験補助

体重測定: 測定は一定の時刻に行なうように心掛ける。離乳前の仔ウサギの場合は感量 2g、秤量 800-1kg、それ以上の大きさのウサギの場合は感量 10g、秤量 4-6kg 程度のものを使用する。

動物の保定・固定法: 手による方法と固定器を用いる方法がある。手による方法は実験目的によって様々であり、それぞれ基本的な固定法を修得しておく必要がある。一方、固定器には円筒型、箱型、首かせ型、背位型などがある。

- (1) 経口投与時の保定: 保定者はウサギの背部から両前肢と耳根部をしっかりと握って両前肢をまっすぐ上にあげ、腰部を股間にはさんで保定する。
- (2) 腹腔内投与時の固定: 固定器を使用する場合は背位に固定する。補助者がいる場合は両前肢の関節をのばして左手であわせもち、右手で両後肢をつかんで保定する。
- (3) 静脈内投与時の固定: 円筒型または箱型固定器に入れて固定する。

実験に必要な手技

1. 投与方法: 実験動物への投与は、薬物の毒性や代謝を調べるばかりでなく、動物の麻酔やワクチン接種のさいにも実施される。本章では、特にマウス、ラットの投与方法について記す。

- 1) 経口投与方法: 金属製胃ゾンデが多く使用される。術者自身が左手でしっかりと動物を保定し(経口投与時の保定参照)、右手に薬液を入れた注射筒を持つ。胃ゾンデの先端を保定した動物の口腔内に入れ、先端を上顎に沿って進める。咽頭部に達すると、抵抗を感じて胃ゾンデが進まなくなる。

そこで胃ゾンデを動物の体と平行にすると食道に入るので、そのまま胃ゾンデを進めることができる。口から胃までの長さはマウスではゾンデの 1/2-1/3、ラットでは胃ゾンデのほぼ全長である。胃に入ったら、内筒を押し薬液を投与する。投与が終わった後は胃ゾンデを静かに速やかに抜き、動物をケージに戻す。注意点としてゾンデを進めている途中で抵抗を感じたらゾンデを抜き、最初からやり直す。さもないと食道等を突き破り動物を死なせることになる。

- 2) 静脈内投与法:主に尾静脈に注射する。動物を静脈内投与用固定器に固定する(静脈内投与に用いる固定参照)。尾全体をアルコール綿で消毒する。投与部位は尾端から 1/3-1/4 で、左右いずれかの静脈に注射針を刺入し、内筒を引き血液の入ってくるのを確認した後、薬液を注入する。注射後は速やかに針を抜き、乾綿などで押さえて止血する。
- 3) 腹腔内投与法:投与部位は下腹部の正中線を左右いずれかにそれた部分で、投与時動物の頭部が下になるように保定し、(腹腔内投与時の保定参照)注射針を刺入する。注射針を皮下に5mmほど進めた後注射針を立てて、腹腔内に針を進める。内筒を引いて血液や黄褐色の液体(腸管内容物)などが入ってこないことを確かめてから薬液を注入する。
- 4) 皮下投与法:主に頸背部に行く。この部位は動物自身になめられず、かつケージや床敷などでこすられないからである。動物をケージのフタの上などに置き(皮下投与時の保定参照)左手の親指、人差し指と中指で皮膚をつまむ。すると三角形のテントのように皮膚が盛り上がるのでそこに注射針を刺す。内筒を引き血液が入ってこないことを確かめたら薬液を注入する。なお、注射針を皮下に入れた後に左右にあまり大きく動かすと血管あるいは周囲に組織を傷つけるので注意が必要である。
- 5) 筋肉内投与法:大腿部(大腿四頭筋または大腿二頭筋)に行われることが多い。マウスの場合は左手で経口投与時と同じ方法で保定(筋肉内投与に用いる保定参照)し、さらに左後肢を薬指と小指にはさんで内股部が見えるようにする。注射針は大腿内側のやや後方から刺す。注射器内筒を引いて血液の入ってこないのを確かめたら薬液を注入する。筋肉内で針を動かしてはならない。ラットの場合は補助者が経口投与と同様にもち、さらに尾を反対の手で下方に引いて下半身を動かさないようにする。そして実験者が投与する後肢を左手で引っ張りながら大腿外面に注射針を刺入する。その後はマウスと同様である。

動物種別の投与経路と投与量

マウス

投与法	使用器具		投与量 (/10g BW)	投与部位
	注射筒	注射針		
経口	1 ml	-	0.1-0.2 ml	
腹腔内	1 ml	25-27G	0.2-0.3 ml	下腹部の正中線から左右どちらかに 0.5cm 程度離れたところ
皮下	1 ml	25-27G	0.1-0.2 ml	頸背部
静脈内	1 ml	25-27G	0.05-0.2 ml	尾静脈
筋肉内	1 ml	25-27G	0.03-0.05 ml	大腿部

ラット

投与法	使用器具		投与量 (/100g BW)	投与部位
	注射筒	注射針		
経口	1-5 ml	-	1 ml	
腹腔内	1-10 ml	23-25G	1-2 ml	下腹部の正中線から左右どちらかに 1cm 程度離れたところ
皮下	1-5 ml	23-25G	1 ml 以下	頸背部
静脈内	1-2.5 ml	23-25G	0.5 ml 程度	尾静脈
	1 ml	25-27G		背中足静脈
筋肉内	1-2.5 ml	23-25G	1 ml	大腿部

* スナネズミ、ハムスターの経口投与、腹腔内投与、皮下投与、筋肉内投与はマウスの要領で行うとよい。

モルモット

投与法	使用器具		投与量 (/匹)	投与部位
	注射筒	注射針		
経口	1-10 ml	-	7 ml 程度まで	
腹腔内	1-5 ml	23-24G	2 ml 程度まで	下腹部の正中線から左右どちらかに 1-2cm 離れたところ
皮下	1 ml	23-25G	1 ml 程度まで	頸背部
静脈内	1-5 ml	25-27G	1 ml 程度まで	サフェナ静脈、陰茎静脈、耳翼辺縁静脈
筋肉内	1 ml	23-25G	1 ml 程度まで	大腿部内側
皮内	1 ml	27G	0.05 ml 程度	背部

ウサギ

投与方法	使用器具		投与量	投与部位
	注射筒	注射針		
経口	10-20ml	-	20ml程度	
腹腔内	1-20ml	23-25G	10ml程度	下腹部の正中線から左右どちらかに 1-2cm離れたところ
皮下	1-5ml	22-23G	5ml以下	背部、腹部、股部など皮下脂肪の少ない部分
静脈	10-20ml	23-25G	20ml程度	耳翼辺縁静脈
筋肉内	1-5ml	25-27G	成熟ウサギ 2ml以内	腹部、大腿部などの筋肉内 針の深さ5mlくらいが良い
皮内	1ml	27G	0.1-0.2ml	背部

2. 採血方法(麻酔下で行う)

- 1) 眼窩静脈叢採血: マウス、ラット、スナネズミなどの小動物に応用される。動物を経口投与時と同じように保定し、下眼瞼内側に半分に折ったガラス製のヘマトクリット管の折れた側を挿入し、目頭から目尻に向かって管をひねるようにして静脈叢を切る。最初の 1-2 滴は涙などが混じっているため捨て、次から試験管などに血液を集める。採血後はガーゼなどで目を押さえ止血する。
- 2) 尾静脈採血: マウス、ラットを静脈内投与と同じ方法で固定する。尾根部から先端に向かってアルコール綿で尾をよくこする。乾燥したガーゼでアルコールをよく拭きとり、尾の先端から 1/3-1/4 の部分の左右いずれかをカミソリで切る。切ると同時に切り口を上にすると血液が盛り上がってくるのでヘマトクリット管やメランジュールで採取する。採血後は乾燥したガーゼで圧迫して止血する。
- 3) 後大静脈採血: 動物を麻酔して保定板に仰向けに固定する。外尿道口の上部から剣状突起まで皮膚と腹筋を同時に切開し、次に最後肋骨にそって皮膚と腹筋を左右に切る。そして腸管を右側によけ、体の中央部に見える脂肪組織をガーゼなどを使って排除すると、暗褐色の後大静脈を直視できる。マウスでは 23-24G、ラットでは 22G の針をつけた注射筒で採血する。刺入部は腎静脈の 5-10 mm 下方である。
- 4) 腹大動脈採血: 後大静脈採血と同様に固定し、開腹する。脂肪組織をよけて静脈が見えたら、さらに静脈の左下方を走っている白桃色の腹大動脈を注意深く周囲の脂肪組織などと分離する。マウスでは 23-24G、ラットでは 21-22G の針をつけた注射筒で採血する。
- 5) 心臓採血: マウス、ラットでは通常開胸して行う。動物を保定板に仰向けに固定し、胸部の皮膚を切開する。次に剣状軟骨の両側から肋骨を切断して開胸する。マウスでは 24-25G、ラットでは

22-23G の針をつけた注射筒を用いて針を心臓に刺し内筒を引き採血する。

- 6) 頸静脈採血: 動物を麻酔下で保定板に仰向けに固定し、前肢の付け根から眼の方向に向かってマウスでは 1.5cm、ラットでは3cmほど切皮する。頸静脈がみえるが静脈に直接針を刺さずに、筋肉を通して頸静脈に注射針を刺入する。

採血部位と採血量の目安

採血部位	マウス	ラット	モルモット	ウサギ
尾静脈(一)	0.03-0.05 ml	0.3-0.5 ml		
背中足静脈(一)		0.1-0.3 ml		
耳翼辺縁静脈(一)			0.5 ml 以下	5 ml
頸静(動)脈(全)	0.5-1 ml	3-5 ml	3-5 ml	100ml(3KgbW)
心臓(一)			5-7 ml	15 ml まで
心臓(全)	0.5-1 ml	3-10 ml	5-10 ml	80-100 ml
後大動脈(全)	0.5-1 ml	2-4 ml	3-5 ml	
腹大動脈(全)	0.5-1 ml	5-10 ml	5-10 ml	

1匹当たりの平均採血量(一):一部採血(全):全採血

スナネズミ、ハムスターはマウスと同量である。

3. 除毛方法:(場合によっては1)のみで十分である。)

- 1) 動物を深麻酔して手術に必要な範囲よりやや大きめにバリカンまたは剪毛はさみで毛を刈る。毛の向きと逆にバリカン等を進め、皮膚を傷つけないように注意する。
- 2) 10%硫酸バリウム液または市販除毛液をたっぷり塗り 5-10 分放置する。ぬるま湯に浸したガーゼでいねいに除毛剤を拭き取る。このとき皮膚はこすらないよう一定方向に向け軽くぬぐうこと。
- 3) チンク油かオリーブ油をつけておくと皮膚の損傷を防ぐことができる。

4. 採尿・採糞方法

1) 採尿方法: 以下の4つの方法がある。

- (1) 1回採取法: 尿検査用試験紙による定性反応に利用。小動物を背側から左手で保定し、右手で下腹部を尿道口に向けてゆっくりと圧迫摩擦すると排尿するので、尿を時計皿などに採取する。
- (2) 蓄尿法: 排尿量、投与薬物などの尿中への排泄の有無、生体内代謝物質の検出等に利用。市販されている代謝ケージに動物を収容し、一定期間内に排泄した尿を採尿する。
- (3) カテーテルによる採尿法: 中動物に実施可能な方法で、膀胱内に貯留している尿をカテーテルに

よって強制的に採取する。

(4)膀胱穿刺による採尿法:動物の解剖時に開腹し、直接膀胱から注射針で採尿する。採取時に血液等の混入に注意すること。

2)採糞方法:採糞棒(綿棒)などを肛門から挿入し、直接新鮮糞を採取する方法がよく用いられる。その他としてケージのトレーなどに自然に排泄されたものを採取する方法や動物を解剖し、腸管を切り開いて盲腸内容物を直接採取する方法もある。

5. 麻酔法

大きく分類して注射麻酔法と吸入麻酔法の2つの方法がある。

1)注射麻酔法

(1)ペントバルビタール(向精神薬):静脈内投与、腹腔内投与のいずれも可能で広い範囲の動物種で使用できる。ただし重度の心血管系と呼吸器系の抑制が生じ、抑制が生じ、本薬剤は鎮痛作用に乏しい。腹腔内で投与量 30~40mg/ml で 30~60 分の安定した手術手適期が得られる。

(2)チオペンタール:静脈注射によって容易に即座に麻酔導入ができ、事実上すべての動物種で使用可能である。チオペンタールは、鎮痛作用が乏しく、静脈内注射後一時的な無呼吸を生じる。血管の周囲に漏れると刺激性がある。反復投与すると覚醒時間が極めて長くなる。

(3)ケタミン(麻薬 H19 年 1 月 1 日より):ほとんどの動物種を不動化させることができ、筋肉内、腹腔内及び静脈内のいずれの経路でも投与できる。ほとんどの動物種で中等度の呼吸抑制が生じ、血圧が上昇する。キシラジンと混合して使用する場合が多い。

2)吸入麻酔法

(1)エーテル(危険物第四類):気化させやすく麻酔瓶などを用いて初心者でも容易に使用可能である。副作用刺激性があり、咳やおびただしい気管支分泌物および、唾液の分泌がみられ、時には喉頭痙攣の原因となる。爆発性があるためその使用に当たっては十分に注意する必要がある。エーテルは代謝を受けるので、エーテルへの曝露で肝臓の酵素活性が誘導される。

(2)イソフルラン(劇薬):麻酔の導入及び覚醒は速く、そのため麻酔深度を容易に迅速に変えることができる。非刺激性で、非引火性である。実験動物におけるイソフルランの使用上の主な利点は生体内変化が少ないことで、ほとんど呼気中に除去される点である。そのため肝臓のミクロソーム酵素への影響は少なく、薬剤の代謝および毒性実験研究にはほとんど影響しない。

(3)セボフルラン(劇薬):イソフルランに類似した特徴がある強力な麻酔薬である。セボフルランは、代謝の程度がイソフルランと類似している。

動物実験に用いられる代表的な麻酔薬

薬品名	商品名	薬品含有濃度
ペントバルビタール(pentobarbital)	ネンブタール	50mg/ml
	ソムノペンチル	
チオペンタール(thiopenttal)	ラボナール	64.8mg/ml
ケタミン(ketamine)	ケタラール 50	57.6mg/ml
イソフルレン(isoflurane)	フォーレン	100%
セボフルラン(sevoflurane)	セボフレン	100%

ラボラトリーアニアルの麻酔(PFlecknell 著、倉林 譲監修 学窓社 1998)より引用

6. 安楽死法

大きく分類して化学的方法と物理的方法の2つの方法がある。

1) 化学的方法

- (1) ペントバルビタールの過剰投与: 通常の2 - 4倍量(60-120mg/kg) 静脈内に急速に注入する。
- (2) 炭酸ガス吸入: 動物を密閉容器に入れ、容器のフタを少し開けて炭酸ガスの吹き込みホースを差し込み底に近いところまで下げ、静かにガスを流し込む。ガスが充満したらガスを止めてホースを引き抜き、密閉容器のフタを閉じる。動物の呼吸が完全に止まったことを見届けてからさらに10分間放置した後、容器から動物を取り出す。

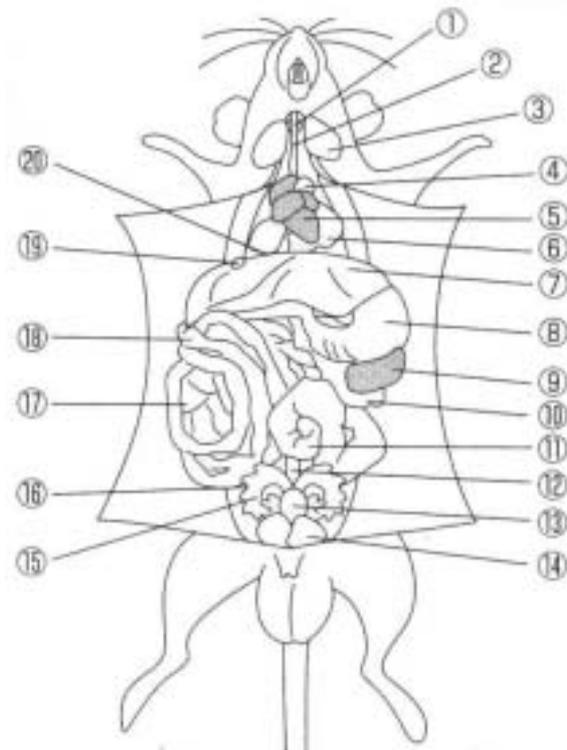
2) 物理的方法

頸椎脱臼法: 頸椎を機械的に離脱させる操作で、指またはピンセットなどの棒状のものを用いて、頸部と頭部を一気に伸長する。マウスと200g以下のラットに用いられる。熟練者が行うことが安楽死法としての条件である。

解剖と生理

マウス解剖図およびマウス、ラットにおいて主要臓器のうち、ヒトと形状が異なる肝臓、肺ならびにマウスの生殖器について図示した。

マウス解剖図



甲状腺	気管	顎下腺	胸腺	心臓	肺	肝臓
胃	脾臓	膵臓	盲腸	直腸	膀胱	包皮腺
凝固腺	精囊	腸間膜	回腸	胆嚢	横隔膜	

肝臓の外形

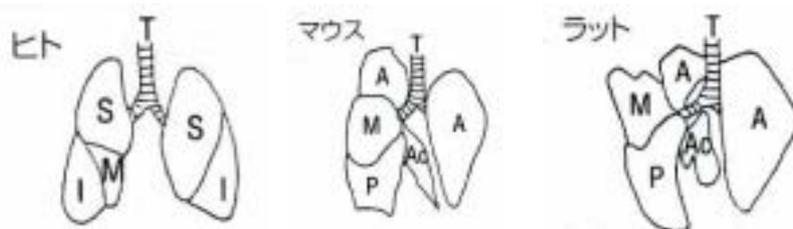
マウス、ラットの肝臓はヒトに比して分葉が多い。またラットには胆嚢がない。



1. 左葉、2. 外側左葉、3. 内側左葉、4. 方形葉、
5. 右葉、6. 外側右葉、7. 内側右葉、8. 尾状葉

肺葉の区分

マウス、ラットの右肺は、4つに分葉している。

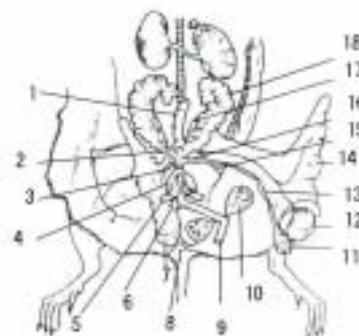
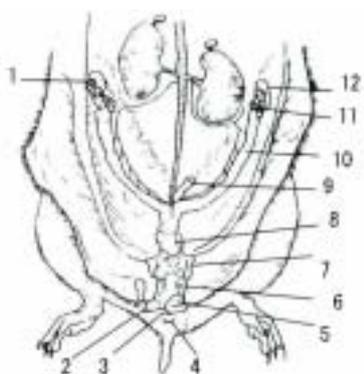


T: 気管、A: 前葉 (S: 上葉)、A1: 前葉前部、A2: 前葉後部、
P: 後葉 (I: 下葉)、M: 中葉、AC: 副葉

マウスの生殖器

メス

オス



1. 卵巣嚢内の卵巣
2. 陰核
3. 膣口
4. 肛門
5. 陰核腺
6. 膣
7. 骨盤切断部
8. 膀胱
9. 直腸
10. 子宮
11. 卵管
12. 卵巣

- | | |
|----------|----------|
| 1. 直腸 | 13. 精管 |
| 2. 前立腺背葉 | 14. 脂肪 |
| 3. 膀胱切断部 | 15. 大腿静脈 |
| 4. 前立腺腹葉 | 16. 精管腺 |
| 5. 尿道球腺 | 17. 凝固腺 |
| 6. 尿道球 | 18. 精嚢 |
| 7. 陰嚢 | |
| 8. 肛門 | |
| 9. 陰茎 | |
| 10. 包皮腺 | |
| 11. 精嚢上体 | |
| 12. 精嚢 | |

出典

- ・日本実験動物協会 編、実験動物の基礎と技術 技術編、丸善、1992
- ・今道友則、高橋和明、信永利馬、実験動物叢書2 実験動物の飼育管理と手技、ソフトサイエンス社、1979
- ・近藤恭司 監修、スンス(実験動物としての食虫目トガリネズミ科動物の生物学)、学会出版センター、1985
- ・(社)日本実験動物協会、(財)実中研モニタリングセンター 編、実験動物の微生物モニタリングマニュアル
- ・日本実験動物協会 編、実験動物の技術と応用 入門編、実践編、アドスリー、2004
- ・日本医師会 編、感染症の診断・治療ガイドライン、医学書院、2004

参考図書

- ・野村慎太郎、細胞工学別冊マウス解剖イラストレイテッド(動画でわかる解剖手技と細胞組織像)、秀潤社、2002