

埼玉医科大学における動物実験ガイドライン

埼玉医科大学 動物実験委員会編

埼玉医科大学(以下本学)において、動物実験委員会で承認することの可能な動物実験計画を示すため、本ガイドラインを作成した。本学では、限定した動物実験実施場所(飼養保管施設・実験室)でのみ動物実験を許可している。本ガイドラインは動物実験委員会で作成し、動物実験を計画する教職員、動物実験を含む研究課題で外部公的資金(文部科学省科学研究費など)の申請を計画する教職員、動物実験を含む学位論文の審査を予定する大学院生・指導教員を対象としている。

【動物実験を実施できる場所】

| 埼玉医科大学の飼養保管施設等 | | | |
|----------------|---------------------------------|--------------|-----------|
| キャンパス | 飼養保管施設名 | 飼育室(飼養保管室)数※ | 実験室数※※ |
| 医学部 | | | |
| 毛呂山キャンパス | 中央研究施設・実験動物部門 実験動物施設(第三研究棟) | 24 | 25 |
| 日高キャンパス | 中央研究施設日高ランチ・実験動物部門 実験動物施設(ゲノム棟) | 4 | 1# |
| 川越キャンパス | 研究部 動物実験施設(第一研究棟) | 17 | 0 |
| 保健医療学部 | | | |
| 日高キャンパス | 保健医療学部 実験動物施設(保健医療学部B棟) | 1 | 6 |
| 全体合計 | | 46 | 32 |

※ 実験動物を48時間以上飼養・実験の目的で使用する場所

※※ 実験動物を48時間以内飼養・実験の目的で使用する場所

国際医療センター内視鏡手術トレーニングセンターに設置

【研究概要の区分】

急性:24時間以下の動物実験(時間単位で反応をみる実験)

亜急性:24時間を超えて、168時間未満(1週間未満)の期間で経時的処置または観察を行う

動物実験

慢性:168時間(1週間)を超える期間で経時的処置または観察を行う動物実験

(例)

- 1) 組織・サンプル採取を day 1、day 3、day 5、day 7、day 14 で実施する場合には、急性・亜急性・慢性をすべてクリック
- 2) 組織・サンプル採取を 1 h、4 h、8 h、12 h、24 h の場合は急性をクリック

【組換え DNA 実験における物理的拡散防止措置(P)、動物接種実験・感染動物実験(安全度)レベルについて】

本学の第二種使用等拡散防止措置承認申請書の組換え DNA 実験の承認レベルと同じとし、また実施期間の期限が有効か確認する。

第二種使用等拡散防止措置承認申請書の有効期限が切れる場合、速やかに組換え DNA 安全委員会へ新規申請し承認を受ける。

承認後に動物実験計画書(本書)と「第二種使用等拡散防止措置承認申請書」及び「承認書」コピーを利用動物施設へ提出する。

- ・原則として最もカテゴリの高いものにクリックする。
- ・詳細の組換え DNA 実験指針についての区分に関しては、文部科学省ライフサイエンス課
HP 参照 <http://www.mext.go.jp/>

【苦痛のカテゴリについて】(3 ページ目 表参照)

原則として最もカテゴリの高いものにクリックする。

苦痛度 A: 生物個体を用いない実験あるいは細菌、原虫などを用いる実験。

苦痛度 B: 動物に対してほとんど、あるいは全く不快感を与えないと思われる実験。

苦痛度 C: 動物に対して軽微なストレスあるいは痛み(短時間持続)を伴う実験。

苦痛度 D: 避けることのできない重度のストレスや痛み(長時間持続)を伴う実験

苦痛度 E: 無麻酔の意識ある動物を用いて、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

【人道的エンドポイントに関して】

実験のエンドポイントの判断基準として、生体での増殖性が考えられる細胞の移植実験、腫瘍形成を目的とした実験、及び自然発生的な腫瘍等の腫瘍の大きさが体重の 10%を超える場合、腫瘍内部の融解が始まった場合、あるいは、全身状態の悪化(食欲廃絶、排泄困難または不能、不自然な姿勢・自傷行為)や急激な体重減少(2~3 日で 20%以上の体重減少)等をもって判断する。また、頻繁な観察により動物の苦痛や死の兆候を見逃さないようにし、それ以上の実験継続の必要性和動物の苦痛を cost-benefit の観点により判断する^{*1)}。

- ・実験計画の遂行にあたっては、動物に苦痛を必要限度以上与えないように十分配慮し、頻繁な観察により使用動物の苦痛の徴候がないか確認すること。「死」をエンドポイントした実験は実施しないこと。但し、加齢マウス・遺伝子改変マウスの寿命実験・がん接種実験等で Kaplan-Meier 曲線を描かず実験の場合は許可される。
- ・万が一、全身状態の悪化(食欲廃絶、排泄困難または不能、不自然な姿勢・自傷行為)、顕著な体重減少(2~3 日で 20%以上の体重減少)が確認された場合、適切な時期に人道的エンドポイントを考慮し、実験を中止すること。
- ・腫瘍細胞接種実験においては、腫瘍細胞が個体の 10%に達した場合(体重 30 g のマウスでは 3 g、長径 20 mm が目安)、あるいは腫瘍内部の溶解が認められた場合は、適切な時期に人道的エンドポイントを考慮し、実験を中止すること。

【使用動物の♂♀何れか片方の性の使用の根拠の記載に関して】

- ・動物実験における性別の偏重利用に関する昨今の状況を勘案すると、雄性あるいは雌性動物のみを実験に供する合理的な根拠についての記載が必要である。
- ・雌では性周期の影響等、性差を考慮して解析は雄にて行う。
- ・ホルモン変動などで生体反応が不安定になることを避けるため、雄個体のみを使用する。

実験処置カテゴリガイドライン*2)

| 分類 | 処置 | カテゴリ | |
|-------------------------------|-------------------------|--------------------------|---|
| 個体識別 | 色素塗布 | B | |
| | 毛刈り | B | |
| | 耳バンチ/耳カット | B | |
| | 耳ピアス/タグ/イヤリング | B | |
| | 入れ墨 | B | |
| 保定(持続時間により苦痛度が変わる) | マイクロチップ(ICチップ) | B | |
| | 用手 | B | |
| | 筒状マーマーセット保定器 | C | |
| | ボールマンケージ | C | |
| 制限(2、3日で体重が20%以上減少した場合は直ちに中止) | モンキーチェア | C | |
| | 給餌(12時間以上、24時間以内) | C | |
| | 給餌(24時間を超える) | D | |
| | 給水(2時間以上12時間以内) | C | |
| 身体計測/測定(無麻酔) | 給水(12時間を超える) | D | |
| | 体重・体格測定 | B | |
| | 体温測定 | B | |
| | 握力測定 | B | |
| | 運動量測定(非強制) | B | |
| | 行動観察(自発的レバー操作を含む) | B | |
| | 脳波測定 | B | |
| 身体計測/測定(麻酔下) | 超音波エコー | B | |
| | 血圧測定 | B | |
| | 心電図検査 | B | |
| | MRI | B | |
| | CT | B | |
| | PET | B | |
| 採血・採材(無麻酔) | 超音波エコー | B | |
| | 静脈(単回) | B | |
| | 動脈(単回) | B | |
| | 静脈(経時的) | C | |
| | 眼窩静脈叢(無麻酔が必要な理由を明記すること) | C | |
| | 腹水 | B | |
| | 採尿 | B | |
| | 採糞 | B | |
| | 被毛 | B | |
| | 毛根 | B | |
| | 皮膚バイオプシー | B | |
| | 精液 | B | |
| | テールカット | C | |
| | 採血・採材(麻酔下) | 静脈(単回) | B |
| 動脈(単回) | | B | |
| 眼窩静脈叢 | | B | |
| 心臓 | | C | |
| 留置カテーテル | | B | |
| 採尿 | | B | |
| 投与(無麻酔) | テールカット | B | |
| | 吸入 | B | |
| | 点鼻 | B | |
| | 経口 | B | |
| | 経口(胃ゾンデ/カテーテル) | B | |
| | 経皮(パッチ)/経粘膜 | B | |
| | 皮内 | B | |
| | 皮下 | B | |
| | 筋肉内 | B | |
| | 静脈内 | B | |
| | 動脈内 | B | |
| | 腹腔内 | B | |
| | 直腸内 | B | |
| | フットパット内 | C | |
| | 混餌 | B | |
| | 飲水溶解/混濁 | B | |
| | 投与(麻酔下) | 点鼻・経鼻 | B |
| 気管内 | | B | |
| 静脈内 | | B | |
| 眼球内 | | C | |
| 脳または脊髄内 | | C | |
| 脳室内 | | C | |
| 門脈内 | | C | |
| 消化管内 | | C | |
| 安楽死処分(最終処分/無麻酔) | | 頸椎脱臼(要トレーニング) | B |
| | | 断頭(適切な保定と切れるブレード[専用断頭器]) | B |
| | 炭酸ガス(ボンベより) | B | |
| | 安楽死処置として認められた、その | B | |

| | 他のガス | | |
|----------------------------|-----------------------|--------------|---|
| 安楽死処分(最終処分/麻酔下) | 麻酔薬の過剰投与 | B | |
| | 放血 | B | |
| | 全採血 | B | |
| | 断頭 | B | |
| | 手術・移植手術 | 気管内挿管 | B |
| | | カテーテル/ポンプ留置 | C |
| | | 動脈内カニューレーション | C |
| | | 静脈内カニューレーション | C |
| | | 脳内カニューレーション | C |
| | | バルーンカテーテル | C |
| | | 動脈結紮(深部) | C |
| | | 静脈結紮(深部) | C |
| | | 精管結紮 | C |
| | | 卵管結紮 | C |
| 採卵 | C | | |
| 胚移植 | C | | |
| 卵巣移植 | C | | |
| 精巣内細胞移植 | C | | |
| 皮下移植 | B | | |
| 静脈内移植 | B | | |
| 腹腔内移植 | B | | |
| 臓器内移植 | C | | |
| 臓器移植 | D | | |
| X線照射(骨髄の機能破壊) | D | | |
| X線照射(免疫抑制) | C | | |
| テレストリー埋め込み | C | | |
| 電極埋め込み | C | | |
| 電気刺激 | B | | |
| 帝王切開 | C | | |
| 新生児蘇生 | B | | |
| 人工哺育/里子 | B | | |
| 疾患モデル(最大限の病態が得られることを前提とする) | 心筋梗塞・虚血 | D | |
| | 脳梗塞・虚血 | D | |
| | 脊髄損傷 | D | |
| | 末梢神経損傷 | D | |
| | 末梢神経変性 | D | |
| | パーキンソン病 | D | |
| | 認知症 | C | |
| | 自己免疫疾患 | D | |
| | 肥満 | C | |
| | 糖尿病 | D | |
| | 高血圧症(脳卒中モデルを含む) | D | |
| | 筋ジストロフィー | D | |
| | 嘔吐 | C | |
| | 坦癌 | D | |
| プリオン病 | D | | |
| 薬理毒性 | テールフリッキング | C | |
| | ホットプレート | C | |
| | 単回投与毒性 | D | |
| | 反復投与毒性 | D | |
| 腫瘍 | 生殖発生毒性 | C | |
| | 癌原性 | D | |
| 感染寄生 | 発癌(最大限の病態が前提) | D | |
| | 薬剤投与(副作用により苦痛度が異なる) | B/C | |
| 感染寄生 | 顕性(致死を含む) | D | |
| | 不顕性 | C | |
| | 抗体作製(アナフィラキシーショックを回避) | C | |

(引用文献)

- *1) 実験動物の技術と応用 (社)日本実験動物協会(改変引用)
- *2) 日薬理誌 131, 187~193 動物実験の倫理指針と運用の実際 鍵山 直子 (財)日本実験動物中央研究所 動物実験委員会 動物実験計画審査要領(改変引用)

【実験室設置と学内実験動物の移動に関して】

- ・実験室設置の申請をする場合は、実験室設置承認申請書(様式 6)を提出し、動物実験委員会での承認が必要である。
- ・実験室には、実験動物に合わせた逃亡防止措置(出入りにネズミ返し、二重扉など)を必要とする。
- ・実験室内での実験動物保管時間は 48 時間以内とする。
- ・飼養保管施設から実験室への実験動物(生体)の移動の際には、逃亡防止および関係者以外の目に触れぬよう配慮すること。
- ・実験室で安楽死した屍体は、実験室に一時保管することなく、適切に処置後(感染実験動物等でオートクレーブ処置が必要な場合)、速やかに飼養保管施設に搬入し冷凍保存、その後専門業者による焼却をすること。

【使用動物数の根拠の記載に関して】

- ・実験群・使用予定の実験動物の系統毎の詳細な使用予定匹数を記載し、合計の使用予定匹数を算出して記載すること。
- ・「使用動物数の根拠は、解析するために必要な試料の量を得るため、統計解析するための最低限の n を確保するために必要な最小限の数であると考えている。」旨を記載すること。

【実施可能な動物実験に関して】

- ・各キャンパス飼養保管施設により、飼養可能な実験動物には制限があるため、実験計画を立てる際に注意すること。
注意:各キャンパス飼養保管施設に共通して、ウシ・ヤギ・ヒツジ・家禽類(ニワトリ・アヒル・カモなど)・爬虫類は飼養できない。
注意:日高キャンパス 保健医療学部 実験動物施設(保健医療学部 B 棟)では、遺伝子改変動物は飼養できない。
注意:ブタ使用実験では、家畜伝染病予防法に基づき、毎年埼玉県川越家畜保険衛生所へ飼養届(飼養数と衛生管理状況)の提出を行うこと。

●飼養を許可する実験動物

1) 毛呂山キャンパス 中央研究施設・実験動物部門 実験動物施設(第三研究棟):

- ・マウス・ラット(繁殖専門業者・大学等研究機関からの搬入、SPF グレードあるいは微生物学的保証がなされた実験動物)。
- ・霊長類(コモンマーモセットのみ、コンベンショナルグレード)。
- ・イヌ(繁殖専門業者から搬入)。
- ・ブタ(農協・繁殖業者から搬入、40 kg 以下、コンベンショナルグレード)。

2) 日高キャンパス 中央研究施設・実験動物部門 日高ランチ実験動物施設(ゲノム棟):

- ・マウス(繁殖専門業者・大学等研究機関からの搬入、SPF グレード)。

3) 川越キャンパス 研究部 動物実験施設(第一研究棟):

- ・マウス・ラット(繁殖専門業者・大学等研究機関からの搬入、SPF グレードあるいは微生物学的保証がな

れた実験動物)。

- ・イヌ(繁殖専門業者からの搬入)。
- ・ブタ(農協・繁殖業者から搬入、新生仔のみ、コンベンショナルグレード)。
- ・ウサギ(クリーングレード)。

4) 日高キャンパス 保健医療学部 実験動物施設(保健医療学部 B 棟) :

- ・マウス・ラット(繁殖専門業者・大学等研究機関からの搬入、SPF グレードあるいは微生物学的保証がなされた実験動物)。

【免疫低下・不全動物(ヌードマウス・NOD/SCID マウスなど)の飼育に関して】

- ・動物の飼育に当たっては、滅菌水・滅菌飼料を使用すること。
- ・クリーンベンチ・ラミナーフローラックの使用が望ましい。
- ・少なくともフィルターキャップを各ケージに装着し、動物の一般状態を常に観察して感染に留意すること。

【遺伝子改変動物の搬入に関して】

- ・適切な教育訓練・講習の受講および組換え DNA 安全委員会で「第二種使用等拡散防止措置承認申請書」の承認後に、動物実験委員会へ「動物実験計画書」を提出すること。
- ・搬入に際しては、予め飼養保管施設の規定に従って行うこと。
- ・飼養保管施設と事前に打ち合わせを行ってから搬入すること。
- ・実験の実施に当たっては、「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(平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号、最終改正:平成 19 年 3 月 30 日法律第 8 号)」および「埼玉医科大学組換え DNA 実験安全管理規則(昭和 63 年 12 月 16 日制定、平成 23 年 3 月 18 日改正)」を遵守するとともに、生物災害の発生を防止するための知識および技術(特に無菌操作)を会得したのちに当該実験を行う等、実験上の安全管理に十分配慮すること。

【使用動物数の削減努力に関して】

- ・遺伝子改変動物作製実験およびモデル動物作製実験を実施する際には、繁殖・育成にあたり適正に計画を立案した上で行い、余剰個体そして使用動物数の削減に努めること。

【疼痛剤を使用する実験に関して】

- ・推奨:環境省「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解説」131 ページ:ブプレノルフィン 0.05-0.1 mg/kg¹、12 時間毎皮下投与。ブプレノルフィンは、「劇薬、麻薬及び向精神薬取締法の第二種向精神薬」に該当するため注意が必要である。
- ・環境省「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解説」131 ページ:疼痛剤として酒石酸ブトルファノール(劇薬)の投与量は、1-2 mg/kg、4 時間毎に 24 時間皮下投与する。
- ・アメリカ実験動物専門医協会 ACLAM のガイドライン:酒石酸ブトルファノールの投与量は、1-5 mg/kg、4 時間毎に皮下投与する。

【麻酔薬として向精神薬を使用する実験に関して】

- ・3 種混合麻酔に使用するミダゾラム(麻薬及び向精神薬取締法の第三種向精神薬に該当)・ブプレノルフィン(劇薬、麻薬及び向精神薬取締法の第二種向精神薬に該当)・ペントバルビタールナトリウム(麻薬及び向精神薬取締法の第二種向精神薬に該当)の取扱い・保管(施錠可能な場所に保管)に十分注意し、使用記録を作成すること。

【麻薬を使用する実験に関して】

- ・塩酸ケタミン(ケタラール注:ケタラール静注用 200 mg・筋注用 500 mg)は、平成 19 年 1 月 1 日より麻薬及び向精神薬取締法により規制された薬剤である。
- ・動物実験の麻酔薬として使用する場合には、医師等が持つ麻薬施用・管理者免許ではなく、「麻薬研究者免許」を取得し、適切な管理・使用に十分配慮すること。
- ・麻薬研究者免許の更新は 2 年ごと(申請した保健所から麻薬研究者宛に毎年 11 月に通知が届く)であるため注意すること。
- ・麻薬研究者は、年 1 回の管轄保健所(毛呂山・川越キャンパス:坂戸保健所、日高キャンパス:狭山保健所)への使用・保管量の報告を行うこと。
- ・動物実験計画書の「その他必要事項欄」へ麻薬研究者氏名、麻薬研究者番号、免許の有効期間を記載すること。
- ・動物実験委員会の審査時に麻薬研究者免許のコピーまたは PDF を提出すること。

●本学で承認された麻薬使用実験例

1)ブタへの使用

- ・麻酔のために、筋注用 500 mg(ケタラール注)(10 mg/kg、筋肉内投与)、硫酸アトロピン(0.05 mg/kg 筋肉内投与)後各吸入麻酔。
- ・安楽死のために、筋注用 500 mg(ケタラール注)(10 mg/kg、筋肉内投与)の投与後に KCl(1M 10~20 mL または 1 mg/kg)を静脈内投与。

2)マウスへの使用

- ・麻酔のために、塩酸ケタミン(80-100 mg/kg)とキシラジン(10 mg/kg)を腹腔内投与。

3)ウサギへの使用

- ・麻酔のために、塩酸ケタミン(50 mg/kg)とキシラジン(10 mg/kg)を筋肉内投与し、追加麻酔は塩酸ケタミン(25 mg/kg)とキシラジン(5 mg/kg)を投与。
- ・コカイン溶液(20 mg/kg、0.2 mL)7 日間連日腹腔内投与、断薬期間 10 日間後に同量のコカインを 1 日のみ腹腔内投与。
- ・マイクロダイアリスプローブをクモ膜下腔へ留置し、コカイン自己投与装置を用いて自発的に運動装置内のコカイン注入システムよりマイクロシリンジからコカイン溶液を注入(6~12 µg/回)。

【安楽死に関して】

●マウス・ラットの麻酔・安楽死

安楽死法の記入部位は 5 番に記入

- 1)前麻酔処置後に物理的・脱血安楽死法を組み合わせる

- ・イソフルラン・ハロセン(導入 2-4%、維持 1-2%吸入麻酔)
- ・2.5% Avertin 0.02 ml/g, i.p.(使用許可していない)
- ・Sodium pentobarbital(ソムノペンチル®: 64.8 mg/mL) 50 mg/kg, i.p.
- ・Sodium pentobarbital(ネンブタール®: 50 mg/mL) 50 mg/kg, i.p.

※現在では、ネンブタール®ソムノペンチル®は共に製造中止のため、在庫を使用されている実験者のみが記載している。基本論文では、sodium pentobarbital(ペントバルビタールナトリウム)として記載する。英語・カタカタ何れも記載可能とする。

・混合ガス吸入麻酔(1-2% イソフルラン・0.5% 笑気・0.25% 酸素)または塩酸メドミジン(0.3 mg/kg) + ミダゾラム(4 mg/kg) + 酒石酸ブトルファノール(5 mg/kg)の腹腔内投与による麻酔下

+

- ・頚椎脱臼
- ・腋静脈(動)脈切断による脱血死
- ・腹大静脈(動)脈から採血による脱血死
- ・経心臓灌流による脱血死

の何れかを選択。

2) 過剰麻酔薬の投与は 1 番に記入

- ・2.5% Avertin を 0.02 ml/g × 2~3 倍量, i.p.(使用許可していない)
- ・Sodium pentobarbital(ソムノペンチル®) 100 mg/kg, i.p.(麻酔時の倍量)

3) 炭酸ガスの場合は 2 番に記入

●仔マウスの安楽死

仔マウスの安楽死に関して、10 日齢未満は低温状態での無麻酔断頭、10 日齢以降はイソフルラン吸入軽麻酔後頚椎脱臼を行う。

●ブタの麻酔・安楽死(塩酸ケタラールを使用しない方法)

すべての処置は鎮痛、鎮静効果のあるメドミジン(40 µg/kg)、酒石酸ベトルファール(0.2 mg/kg)、ミダゾラム(0.3 mg/kg)を筋肉内に前投薬を行う。その後、眼軟膏塗布、洗浄、剃毛を行う。鎮静が不十分な場合は追加でメドミジン(40 µg/kg)を筋肉内投与する。カテーテルを両耳介静脈に留置し、プロポフォール(6 mg/kg)を静注し気管内挿管(カテゴリ B)を行い、吸入麻酔セボフルラン(2-4%)で全身麻酔を維持する。また、鎮痛薬としてフルニキシム(2 mg/kg)、ブプレノルフィン(0.02 mg/kg)を皮下投与する。安楽死は、上記の麻酔下に、KCl(1M 10~20 mL または 1 mg/kg)を静脈内投与する。

【組換え DNA 動物実験(P1A・P2A 実験)】

- ・遺伝子改変動物の繁殖・使用実験(殆どがマウス P1A 動物)、実験動物への遺伝子組換え生物(組換えウイルスベクターなど)投与実験と、組換え DNA 導入細胞の移植実験が含まれる。
- ・実験動物へのゲノム編集技術で作製した組換え DNA 細胞の移植実験ならびに受精卵でのゲノム編集で作製した遺伝子ノックアウト動物は、外来 DNA が染色体上に残存していなくとも組換え DNA 動物実験とみなしている。

- ・実験動物へのプラスミドの投与実験は、組換え DNA 動物実験から除外している(カルタヘナ法規制対象外の動物実験)。
 - ・実験開始に当たっては、組換え DNA 安全委員会に(「第二種使用等拡散防止措置承認申請書」を提出し、講習受講し、承認を得てから動物実験委員会へ「動物実験計画書」を提出すること。
 - ・組換え DNA 動物実験は、組換え DNA 実験安全委員会による査察・承認を得ている各キャンパス飼養保管施設の指定飼育室(P1A・P2A 飼育室)で行うこと。特別な場合により、遺伝子組換え動物を持ち出す場合には、組換え DNA 実験安全委員会へ「組換え DNA 実験施設設置等承認申請書」を提出し、組換え DNA 実験安全委員会の査察を受けて承認された限られた P1A・P2A 実験室で 48 時間ルール(最長飼養時間)を遵守して実施すること。
 - ・遺伝子組換え動物の各キャンパス飼養保管施設への搬入手続きは、別途定める施設利用マニュアルに準拠した手順で行うこと。搬入動物の微生物学的モニタリング表の提出・評価を行い、一定期間の検疫を行ってから飼育室内に搬入すること。
 - ・遺伝子組換え動物を各キャンパスの飼養保管施設より他研究機関へ搬出する場合には、組換え DNA 実験安全委員会へ「遺伝子組換え生物等譲渡届」を提出し、「遺伝子組み換え生物等の譲渡、提供、委託に当たって提供する情報(譲渡)」の書類の手続きを行うこと。
 - ・遺伝子組換え生物の動物への投与は、安全キャビネット内で行うこと。また、遺伝子組換え生物を接種・遺伝子組換え細胞を移植した実験動物の飼養には、感染飼育用ネガティブアイソレーションラック(密閉式独立型アイソレーションボックス)を使用すること。
 - ・実験に当たっては、各キャンパス飼養保管施設の管理者と、日程・規模・実験期間・実験内容等に関し十分な打ち合わせを行い、実験開始と終了時の連絡を随時行うこと。
 - ・組換え DNA 動物実験の際に出る感染物(動物死体、使用済み床敷、残滓、汚物)は、実験実施者が責任を持って除染滅菌を行い、周辺環境・他の飼養動物への汚染防止に関し十分な配慮を行うこと。
 - ・滅菌後の死体、汚物等は密封のうえ、オートクレーブにてウイルスの不活化処理の上、廃棄処理(滅菌後の死体を飼養保管施設あるいは専門会社に依頼し焼却処理)すること。
- 本学で承認された組換え DNA 動物実験例
 - ・組換えアデノ随伴ウイルス(P1A)、組換えアデノウイルス(P2A)、組換えレトロウイルス(P2A)、組換えレンチウイルス(P2A)、組換えワクシニアウイルス(P2A・大臣承認実験)の投与実験(投与方法:脳室内、腹腔内、静脈内、筋肉内、網膜下)。
 - ・プロスタグランジン類の合成酵素遺伝子を欠失した B16 メラノーマ細胞をゲノム編集技術により作製した細胞(B16 メラノーマ組換え DNA 導入細胞)を野生型マウスに尾静脈投与(P1A)。

【感染性微生物感染実験(ABSL1・ABSL2)に関して】

- ・感染性微生物(ウイルス・細菌・真菌)を使用した実験動物への感染実験を行う場合には、予め病原微生物等管理委員会事務局に問い合わせし、「病原体等取扱申請書」「指定実験室使用申請書」の提出・講習受講と、承認を得てから動物実験委員会へ動物実験計画書を提出すること。
- ・感染性微生物感染実験(ABSL1・ABSL2)は、毛呂山キャンパス 中央研究施設 実験動物部門 実験動物施設(第三研究棟 4F 感染動物実験室)でのみ許可している。

- 接種する感染性微生物の調整は安全キャビネット内で行うこと。感染動物飼育には、感染飼育用ネガティブアイソレーションラック(密閉式独立型アイソレーションボックス)を使用すること。
- 感染性微生物を接種した実験動物の飼養には、感染飼育用ネガティブアイソレーションラック(密閉式独立型アイソレーションボックス)を使用すること。
- 実験実施に関し、飼養保管施設側と日程・規模・実験期間・実験内容等に関し十分な打ち合わせを行うこと。
- 感染性微生物接種実験の際に出る感染物(動物死体、使用済み床敷、残滓、汚物)は、実験実施者が責任を持って除染滅菌を行い、周辺環境・他の飼養動物への汚染防止に関し十分な配慮を行うこと。
- 滅菌後の死体、汚物等は密封のうえ、オートクレーブにてウイルスの不活化処理の上、廃棄処理(滅菌後の死体を飼養保管施設あるいは専門会社に依頼し焼却処理)すること。

●本学で承認された感染実験例

- Herpes simplex virus (BSL2) の腹腔内投与、
- Candida albicans* (BSL2) 静脈内投与。
- BCG (ABSL1) の膀胱内投与。
- Salmonella typhimurium* (YS1646 株 BSL2) の静脈内投与。
- Fusobacterium nucleatum* (JCM6328 BSL2) の経口投与。
- Influenza A virus (BSL2) の経鼻投与。
- Streptococcus mutans* (BSL2) ・*Poryhyromonas gingivalis* (BSL2) の静脈内投与。
- 旋毛虫(幼虫(BSL2) 100 仔/0.2 mL/匹) の経口投与。
- Herpes simplex virus (BSL2) ・アデノウイルス(BSL2) 感染細胞投与。
- 赤色蛍光タンパク質 TdTomato を遺伝子導入した弱毒化サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (Vnp-tdT, BSL2-P2A) の細菌接種実験・感染腫瘍細胞接種実験
- Clostridioides (Clostridium) difficile* (BSL2) の経口投与。
- HTLV-1 陽性 ATL 細胞株(SU9T-01) 及び HTLV-1 感染 T 細胞株(HUT102, MT2)、ATL 患者末梢血 HTLV-1 陽性白血病細胞(倫理委員会承認 BSL2 実験) の静脈内投与。

【ヒト由来の細胞を用いた実験動物への移植実験に関して】

- 患者もしくは正常ヒトボランティア由来の細胞やヒト iPS 細胞などは、入手に際し倫理審査委員会の審査が必要なので、注意すること。一般に市販されているヒト細胞株の多くは、この限りではない。
- 倫理審査委員会承認後に、動物実験計画書を動物実験委員会へ提出すると共に、倫理審査委員会への年度末報告書の提出と、随時倫理教育を受講すること
- 人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(本文)(令和3年3月23日)及び人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針ガイダンス(令和3年4月16日)に準拠して研究を実施すること。
- 移植実験に使用する細胞は、実験を行う前にマイコプラズマ、HIV (Human Immunodeficiency Virus)、HCV (Hepatitis C Virus) 感染を含む二次感染の可能性が疑われる感染性微生物の有無を簡易キット等により陰性であることを確認し、感染がないことを確認後、移植実験に用いること。

- 患者由来の検体を使用する際には、未知の感染源の可能性を考え、できるだけ注意深く、可能な限り BSL2 レベルでの取扱いを勧める。

【放射性同位元素・放射線使用実験に関して】

- 放射性同位元素を使用する動物実験は、毛呂山キャンパス中央研究施設 RI 部門(第三研究棟 1F)の限定した実験室と、川越キャンパス 研究部 RI 研究施設(第一研究棟 3F)の限定した実験室でのみ許可している。
- 放射線使用実験に関しては、毛呂山キャンパス 中央研究施設 実験動物部門 実験動物施設(第三研究棟 3F 実験室:X 線照射装置)、機能部門(基礎医学棟 3F 実験室:マイクロ CT 撮影装置)、日高キャンパス 中央研究施設 実験動物部門 日高ランチ実験動物施設(ゲノム棟 1F 実験室:マイクロ CT 撮影装置)、川越キャンパス 研究部 動物実験施設(第一研究棟 1F・X 線撮影室:血管造影を目的とした DSA 機能付き X 線撮影装置・軟 X 線撮影装置)の限定した実験室でのみ許可している。
- 放射性同位元素・放射線使用実験にあたり、原子力規制庁の放射線同位元素等の規制に関する法律(RI 法)・埼玉医科大学の放射線障害予防規程・厚生労働省の電離放射線障害防止規則を遵守し、事故・汚染のないよう特に安全に関し最大限配慮し実験を行うこと。
- 実験に当たっては、毛呂山・川越キャンパス飼養保管施設の管理者と RI 研究施設の放射線取扱主任者と、日程・規模・実験期間・実験内容等に関し十分な打ち合わせを行い、実験開始と終了時の連絡を随時行うこと。

●本学で承認された放射線同位元素使用実験例

- ^3H -cholesterol、 ^3H -sitosterol、 ^3H -sitostanol、 ^{14}C -cholesterol (5 μCi) トリオレイレン (100 μL) の胃ゾンデを用いた経口投与あるいは経静脈投与。
- ^{14}C -cholesterol (1 μCi)、 ^3H -oleic acid (5 μCi) トリオレイレン (100 μL または 200 μL) の胃ゾンデを用いた経口投与。
- $3\text{-}^3\text{H}$ -glucose (5 μCi , 0.1 $\mu\text{Ci}/\text{min}$ 240 min) 計 29 μCi の静脈内投与。
- $3\text{-}^3\text{H}$ -glucose (4 MBq) の静脈内投与。
- D-[$3\text{-}^3\text{H}$]-glucose (1 MBq) の静脈内投与。
- $3\text{-}^3\text{H}$ -glucose (0.1 $\mu\text{Ci}/\text{min}$ 240 min) の静脈内投与。

●本学で承認された放射線使用実験例

- X 線撮影装置・マイクロ CT 撮影装置にて実験動物を撮影する実験。
- X 線照射装置を使用した 5 Gy/fraction 5 日間(計 25G y) 照射実験(皮下腫瘍モデルマウスの放射線治療)。
- X 線照射装置を使用した 2 Gy/fraction 5 日間(計 10 Gy) 照射実験(脳腫瘍モデルマウスの放射線治療)。
- X 線照射装置を使用した 4 Gy 単回照射実験(実験的自己免疫疾患モデルマウス作製)。
- X 線照射装置を使用した 2.4 Gy 単回照射実験(実験的免疫抑制モデルマウス作製)。

【毒物(薬)・劇物(薬)使用実験に関して】

- ・毒物(薬)・劇物(薬)は、施錠薬品庫に保管して取扱に十分注意し、ドラフト内で薬剤調整を行うこと。
- ・飲水・給餌実験を行う場合は、投与後の実験動物をドラフトまたはアイソレーター内で飼養・管理すること。
- ・毒物(薬)(単回投与も)・劇物(薬)の反復投与・経口投与・飲水等による継続投与の場合に、ケージ等への暴露に配慮し、専用の飼育ケージを使用して実験すること。
- ・実験計画の遂行にあたっては、動物に苦痛を必要限度以上与えないように十分配慮し、頻繁な観察により使用動物の苦痛の徴候がないか確認すること。「死」をエンドポイントした実験は実施しないこと。
- ・万が一、全身状態の悪化(食欲廃絶、排泄困難または不能、不自然な姿勢・自傷行為)、顕著な体重減少(2～3日で20%以上の体重減少)が確認された場合、適切な時期に人道的エンドポイントを考慮し、実験を中止すること。

●本学で承認された毒物(薬)・劇物(薬)に関する評価実験例

- ・百日咳毒(毒物 200 ng/200 μ L)の皮下投与。
 - ・エスラックス:毒薬・筋弛緩剤(麻酔の補助薬として使用)(0.6 mg/kg)の静脈内投与。
 - ・AB928:アデノシン A_{2A}・A_{2B}受容体拮抗薬(劇物 0.4 mg/mL、100 mL)の飲水投与、胃ゾンデ(0.4 mg/mL、100 μ L)経口投与、1%(w/w)薬剤混餌飼料を給餌投与。
 - ・ジクロロ酢酸(劇物 500 mg/L)の飲水投与。
 - ・四塩化炭素(劇物 2.5 mL/kg)の腹腔内投与。
 - ・免疫チェックポイント阻害剤(劇物 Atezolizumab 250 μ gを生理食塩水 0.1 mLにsuspend)。リンパ球血管内投与直後から2、3日に1回計9回、腹腔内投与。
 - ・酒石酸ブトルファンール:劇薬・鎮痛薬(2 mg/kgを4時間毎に24時間)を皮下投与。
 - ・イソフルラン:劇薬・吸入麻酔薬(導入3-5%、維持1-2%吸入)
 - ・リドカイン:劇薬・局所麻酔薬(1-2%局所皮下注射)
 - ・プリピバカイン:劇薬・局所麻酔薬(1-2 mg/kg皮下注射)
 - ・パラホルムアルデヒド:劇物・固定液(2%溶液)
 - ・グルタルアルデヒド:劇物・固定液(2%溶液)
 - ・3-アミノプロピオニトリル:劇物
 - ・Metformin:劇薬(300 mg/kg/day 19日間)飼料または飲水が忌避される場合等、混餌(飲水)投与が困難な場合には、強制投与
 - ・Semaglutid (glucagon-like peptide-1 receptor agonist: GLP-1RA):劇薬(0.23 mg/kg/day 19日間)飼料または飲水が忌避される場合等、混餌(飲水)投与が困難な場合には、強制投与
 - ・分子標的薬(osimertinib, sotorasib, crizotinib, selpercatinib):劇薬(0.1% tween 80に溶解し、25 mg/kgで標準的な体重のマウス(30 g)には100 μ L程度となるように濃度を調整し、5回/week経口投与)
 - ・有機リン系農薬のダイアジノンの飲水投与。
 - ・有機リン系農薬のフェントロチオン(MEP)(10 mg/kg/day、1 mg/kg/day)の経口投与。
- ・本学で実施されている動物実験に使用する劇薬(劇物)をスクリーニングすると、麻酔剤(イソフルラン・セボフルラン・キシロカイン・リドカイン他)、抗がん剤、固定液(ホルマリン・パラホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド他)を含めて非常に多数の薬剤(試薬)が該当する。本学においては、安全管理部門 薬剤分野が中心となり、劇薬(劇物)の管理を適切に行うよう指導してきている状況にある。
- ・動物実験委員会としてコメントの対応

各飼養保管施設での飼育スタッフへの作業環境を考慮する観点から、劇薬(劇物)を給水瓶・ケージ内で持続的に飲水・給餌により投与する場合のみ、委員会コメントとする。また、この場合に、飼育スタッフへの注意喚起も重要と考える。残留濃度が不明な場合もあるため、個別管理することも検討する。

【腫瘍細胞接種実験に関して】

- ・倫理的な観点から、動物への腫瘍接種実験は、1 個体につき腫瘍細胞を 1 箇所にする。
- ・移植実験に使用する細胞は、実験を行う前にマイコプラズマ、MHV (Mouse Hepatitis Virus)、HIV (Human Immunodeficiency Virus)、HCV (Hepatitis C Virus) 感染を含む二次感染の可能性が疑われる感染性微生物の有無を簡易キット等により陰性であることを確認する。感染がないことを確認後、移植実験に用いること。
- ・腫瘍細胞を接種する動物が免疫低下・不全動物(ヌードマウス・NOD/SCID マウスなど)であることから、動物の飼育はアインレーター内で行うこと。
- ・実験計画の遂行にあたっては、動物に苦痛を必要限度以上与えないように十分配慮し、頻繁な観察により使用動物の苦痛の徴候がないか確認すること。「死」をエンドポイントした実験は実施しないこと。
- ・万が一、全身状態の悪化(食欲廃絶、排泄困難または不能、不自然な姿勢・自傷行為)、顕著な体重減少(2～3 日で 20%以上の体重減少)が確認された場合、適切な時期に人道的エンドポイントを考慮し、実験を中止すること。
- ・腫瘍細胞接種実験においては、腫瘍細胞が個体の 10%に達した場合(体重 30 g のマウスでは 3 g、長径 20 mm が目安)、あるいは腫瘍内部の溶解が認められた場合は、適切な時期に人道的エンドポイントを考慮し、実験を中止すること。

【完全フロイントアジュバントの投与に関して】

- ・環境省「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解説」
[a:https://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2_data/pamph/h2911.html]においてもカテゴリ C に分類されている。
- ・刺激の強い完全フロイントアジュバントはカテゴリ D とされている場合もあり、フットパッドへの投与は苦痛が大きいことから避けるべきと判断している。

【学生実習で実施する動物実験に関して】

- ・実習前に動物実験の教育訓練を行い、実習を開始すること。
- ・実習室で安楽死を含めた実習を行う場合、飼養保管施設から動物を移送するため、逃亡防止と動物が外部から見えないよう周辺環境に配慮すること。
- ・「学生実習においては、実際の組織を用いた実験操作を体験することが教育上不可欠であり、映像、シミュレーション等の仮想的な理解では効果が得られない。試供動物数は、実習の到達目標を達成するために必要最小の数である。」を動物実験計画書に記載すること。
- ・投与(経口投与・静脈内投与・腹腔内投与・筋肉内投与)実習の内容の記載は、「1 回の投与量は下記とする」旨の記載をすること(経口投与:0.1-0.15 mL/10g BW、静脈内投与:0.05-0.1 mL/10g BW、腹腔内投与:0.1-0.15 mL/10g BW、筋肉内投与:0.03-0.05 mL/10g BW)。

【軍事(兵器開発)研究との関連性が疑われる動物実験に関して】

- ・動物実験委員会では、軍事(兵器開発)研究との関連性が疑われる動物実験の承認を行った実績はない。
- ・化学兵器・生物兵器・衝撃・殺傷兵器・防護装具などの開発に繋がる研究、あるいは関連性が疑われる動物実験は認めていない。

【ニワトリ胚使用実験に関する考え方】

ニワトリ胚(発育鶏卵)を含む鳥類胚を教育や試験研究に使用するにあたっては、その安楽死法及び動物実験計画書を提出すべきか否かについて、国際的にも多様な考え方や方式がある。鳥類胚の使用実験については、安楽死の国際的なガイドラインである“AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 edition”では、鳥類胚は孵卵期の50%以上に達すると十分に痛み知覚を持つ神経管が発達すると述べている。また、孵化したものは脊椎動物として取り扱われ、動物実験委員会における審査対象研究とする。

安楽死法

- ・19日齢以上のニワトリ胚は、新生児と同様に扱う。すなわち麻酔薬の過量投与、断頭、20分以上の80-90%炭酸ガスへの暴露、頸椎脱臼などである。
- ・11日齢から18日齢までのニワトリ胚は、新生児と類似の方法を推奨する。すなわち麻酔薬の過量投与、断頭、20分以上の90%炭酸ガスへの暴露が勧められる。
- ・10日齢より若いニワトリ胚は痛みを感じることができないと想定されるので、低体温法、すなわち4℃以下の冷蔵庫で最低4時間または冷凍庫で保存、または炭酸ガスで20分以上暴露することで安楽死させる。なおニワトリ胚は炭酸ガスに耐性を持つので、長時間(20分以上)の暴露が必要である。これは孵化前の環境は、炭酸ガス濃度が高い(14%)ためである。また、炭酸ガス源としてドライアイスの使用は許容しない。
- ・動物実験計画書の審査は、孵化3日前すなわち19日齢以降のニワトリ胚の使用実験は、新生児(仔)使用実験と同様に動物実験専門委員会へ動物実験計画書を提出し、審査を受けるものとする。18日齢以前のニワトリ胚使用実験は、動物実験計画書審査は不要とする。

2025年4月1日

動物実験委員会(事務局 内線:41-2498, E-mail: ani_com@saitama-med.ac.jp)