

|         |  |  |
|---------|--|--|
| 離乳時一腹体重 |  |  |
|---------|--|--|

資料「the rabbit」

## 2. 実験用

問24 実験用ウサギでコンベンショナル、クリーン、SPF等に区別されますが、どういうことですか。

答

これらは微生物的コントロールと呼ばれ、コントロールが何も行われず、開放型ウサギ舎で飼われるウサギをコンベンショナルと呼び、帝王切開で取り出したウサギを閉鎖型のバリアーと呼ばれる施設内で飼い、定期的に疾病が陰性であることを確認しているものをSPF (Specific Pathogen Free(特定疾病不在))と呼びます。クリーンと呼ばれるものには明確な定義はありませんが、コンベンショナルなものに抗生物質等を与えて疾病をなくしたものやSPFのものを開放型ウサギ舎に移して飼育しているものなどが含まれます。従ってクリーンに仕分けされるウサギは正確にはコンベンショナルに区分されるべきものですが、かなり微生物的清浄度の高いものと考えられます。

表38 微生物コントロール水準別ウサギ販売割合

単位：％、頭

| 調査年      | 1985    | 1991    | 1995    | 1998    | 2001    | 2004    |
|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| コンベンショナル | 77.9    | 57.7    | 50.2    | 40.6    | 20.3    | 18.9    |
| クリーン     | 16.3    | 26.1    | 16.2    | 38.9    | 47.2    | 57.1    |
| SPF      | 5.7     | 16.3    | 33.6    | 20.5    | 32.5    | 24.0    |
| 販売頭数     | 333,824 | 248,819 | 209,382 | 159,125 | 187,357 | 122,061 |

資料「平成16年度 実験動物の年間総販売数調査報告書」(社)日本実験動物協会

こうした分類以外にも、特殊な用途に使用されるものとして無菌動物(ジャームフリー)とノバイオート(無菌動物に明確に同定された微生物を植え付けたもの)があり、これらはアイソレータの中で飼育されます。

問25 ウサギは実験用としてどのような分野で使用されているのですか。

答

ウサギの使用分野として一番多かったのは薬物の発熱性(パイロジェン)試験用(雄)であり、その他としては毒性試験(一般毒性試験、催奇形性試験、刺激性試験(皮膚、眼粘膜)等)、生理(繁殖、代謝等)、外科(整形、形成等)分野で利用されています。実験用以外にも材料用としてワクチン製造用(ウイルスの弱毒化)、抗血清採取用として用いられており、製薬会社が薬品の原料として皮膚から生理活性物質(抗アレルギー物質)を抽出している例もあります。

問26 ウサギの実験動物としての使用頭数はどうなっていますか。またそれはなぜですか。

答

問24に示したとおり、ウサギの使用頭数は平成16年には122,061頭(平成13年調査比35%減)と減少しています。これは、実験動物全体の傾向として言えることであり、その原因として

は①動物を繰り返し使用することができるようになったこと、②使用頭数の多かった発熱性試験において代替試験法が開発され、動物を使用しないで培養細胞や薬物反応で済ませることが多くなった③動物愛護運動の高まりによって刺激性試験などにあまり使用されなくなったなどが考えられます。

問27 ウサギをSPFにすることはこういったメリットがあるのでしょうか。

答

飼育面から言うと「特定の疾病がない」というのがSPFですから、疾病の心配はほとんどありません。ほとんどというのは、飲水、飼料、毛等に起因する消化器系の異常は起こる場合があるということです。またSPFにすることで発育性が良くなることも知られています。これは一般のウサギでは症状が出なくても、不顕性の疾病に感染していることがあり、体内ではこれらの疾病を抑え込むために免疫システム等が活発に活動しなければならないことがあることが原因の一つと考えられます。

問28 SPFウサギでの特定疾病というのはこういったものがあるのでしょうか。

答

以下の7疾病であり、年に4回ウサギをICLASモニタリングセンター\*へ送付してこうした疾病に感染していないか確認(微生物的モニタリング)を行っています。

- パスツレラ菌 (*Pasteurella multocida*)
- 気管支敗血症 (*Bordetella bronchiseptica*)
- サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*)
- コクシジウム (*Eimeria* spp.)
- 耳疥癬ダニ (*Psoroptes cuniculi*)
- センダイウイルス (HVJ) (*Sendai virus*)
- ワクチニアウイルス (*Vaccinia virus*)

\*ICLASモニタリングセンター;(財)実験動物中央研究所(実中研)における実験動物の品質モニタリングを行う部門であり、1979年に国際機関であるICLASから検査機関として認定、指定されている。

ICLAS;International Council for Laboratory Animal Scienceの略で国際実験動物学会議のことである。

問29 微生物モニタリングとは具体的にどのようなことを行うのですか。

答

ウサギにとって特に重要なパスツレラ菌とコクシジウムの検査方法の概要を以下に紹介します。

1. パスツレラ菌 (*Pasteurella multocida*)

- 気管粘膜を綿棒で採取し、5%馬血液寒天平板に塗抹し培養(37℃、48時間)
- P.multocida*は3～4mm径の扁平な無色透明の水滴様集落を形成

## P.multocidaの確定診断のための生物性状

### 生化学テスト

| ブドウ糖発酵             | 乳糖発酵    | ガス産生  | 硫化水素産生   | 運動性 | インドール | IPA |
|--------------------|---------|-------|----------|-----|-------|-----|
| +                  | +       | —     | —        | —   | +     | —   |
| ウレアーゼ <sup>a</sup> | Simmons | 硫酸塩還元 | ペニシリン感受性 |     |       |     |
| —                  | —       | —     | +        |     |       |     |

## 2. コクシジウム (Eimeria spp.)

### 〔集卵法〕

- 糞便3～4gに蒸留水300mlを加え、乳剤とし、ガーゼで濾過
- 濾液を10分以上静置して、上澄みは捨てる
- 容器を攪拌して傾け、容器の底面を2／3程度露出させる
- 容器の底面と液の接触部の液をピペットで吸い取り、スライドグラスに取り200倍から400倍で鏡検

図56 オーシスト



45・8 Eimeria intestinalis のオーシスト、× 400

原図「目で見える実験動物の病気」

問30 SPF施設とはどのような構造をし、どんな設備が備わっているのでしょうか。

答

SPF施設は別名「バリアー」と呼ばれ、外部の空気と内部のウサギが直接触れることがないように、障壁がいくつか設けられています。

具体的には①外気をフィルターにより濾過することで粉塵に付着している細菌やウイルスを取り除く、②ウサギ舎内部を外気の空気圧より高くして隙間から外気が内部に侵入しない（一般には5mmH<sub>2</sub>Oの圧力差）、③隙間から外気が入り込まないようにウサギの収容されている部屋の周囲を廊下等で囲み2重構造にする、④内部にヒトが入る際に、病原体を持ち込まないようにシャワーを浴びたり、無塵衣と呼ばれる着衣で体を完全に覆う、⑤内部に飼料等の物を持ち込む際にオートクレーブと呼ばれる大型の蒸気滅菌器で滅菌した上で内部に持ち込まれ、加熱できないものはパスボックスと呼ばれる殺菌灯の付いたステンレス製の箱の中にアルコール等消毒薬を噴霧し一昼夜置いた上で内部に持ち込まれる、⑥施設内を清浄地域及び汚染地域に明確に区分して、汚染側から清浄側へヒトや物を絶対に移動させない等を行っています。

このため、SPF施設内で最も雑菌が多い（不潔である）部分は、作業者の顔のうちマスク等で覆われていない目の周りということになります。

以下に長野牧場のSPF施設を紹介しておきます。

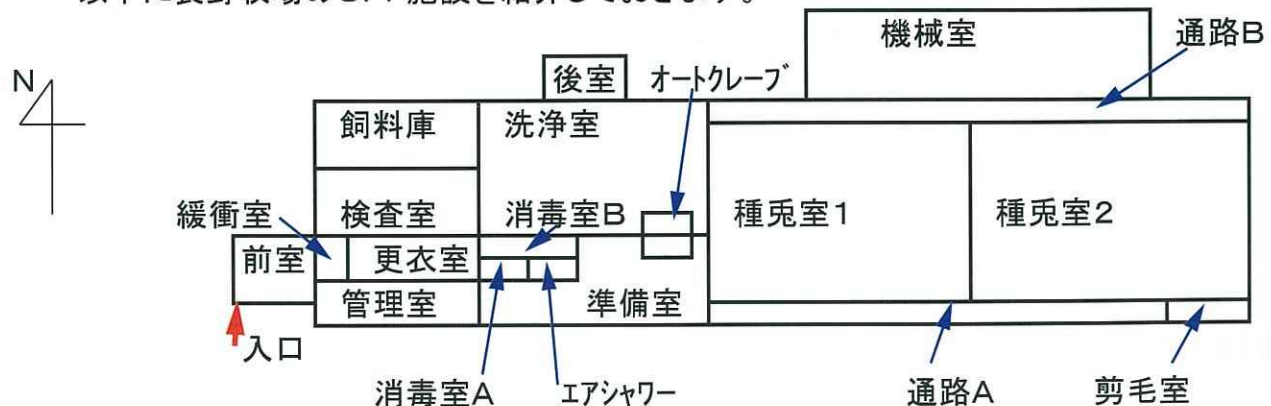




図57 長野牧場SPFウサギ舎



図58 ウサギ舎内



図59 エアシャワー・オートクレーブ  
・パスボックス

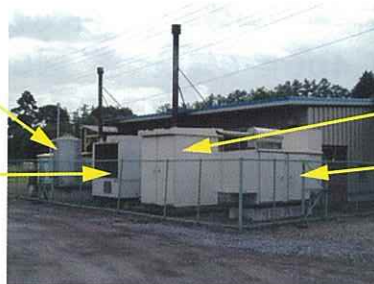


図60 作業者の服装(无尘衣)



図61 機械室内

ボイラー  
チラーユ  
ニット



受電装置(キューピクル)  
自家発電装置

図62 外部機械

問31 実験動物施設におけるウサギの飼育環境に関して基準値のようなものはありますか。

答

以下の基準がウサギ(実験用)に対して示されています。

表39 ウサギの飼育環境基準

| 項 目   |      | 基 準 値                         |
|-------|------|-------------------------------|
| 温 度   |      | 18～28℃                        |
| 湿 度   |      | 40～60%(30%以下、70%以上になってはならない)  |
| 清 浄 度 | 塵 埃  | クラス10, 000*(動物を飼育していないバリア区域)  |
|       | 落下細菌 | 動物を飼育していないバリア区域3個以下、通常区域30個以下 |
|       | 臭 気  | アンモニア濃度20ppmを超えない             |
| 気流速度  |      | 動物居住域で0. 2m/s以下               |
| 気 圧   |      | 周辺廊下よりも静圧差で20Pa高く(SPFバリア区域)   |
| 換気回数  |      | 6～15回/時間                      |
| 照 度   |      | 150～300ルクス(床上40～85cm)         |

\*米国航空宇宙局の分類によるクラス分け。1立方フィートの空気中に含まれる0. 5μ以上の粒子の累積個数

問32 SPFのウサギはどのようにして作るのですか。

答

いろいろな方法がありますが、長野牧場では以下の方法により既存の系統をSPF化しています。

1. SPF施設内にSPFウサギを導入(ブリーダーから購買)
2. SPFウサギを種付け2日～3日後にSPF化する既存系統の種付けを行う
3. SPFウサギが分娩した1日後(既存ウサギ分娩予定1日前)に既存ウサギの子宮を切断し、消毒液で消毒の上、SPF施設内に持ち込む
4. SPFウサギに持ち込んだ既存ウサギの子供を里子として育てさせる。
5. 里子が大きくなったら、微生物検査を行いSPF状態にあることを確認する

問33 SPF動物はどんな動物でも同じ飼い方をされているのでしょうか。

答

基本的には帝王切開により取り出した子畜をバリアーと呼ばれる施設内で飼育しながら、特定の疾病の侵入(コンタミネーション(汚染))が起こっていないかを定期的に検査(モニタリング)するということは実験動物でいうSPFでは共通です。しかし、家畜特にブタでのSPFというのはこれら実験動物の世界での概念と必ずしも一致しておらず、「プライマリー」と呼ばれる帝王切開由来のブタ群は本当の意味でのSPFと呼んでも問題はないレベルのものです。「セカンダリー」と呼ばれるコマーシャル豚はウサギで言うところのクリーン(問2参照)に相当するものと言えます。

問34 日本白色種ウサギにはどういった系統がありますか。

答

現在系統として認定されている系統としては日生研、北山ラベス、SLC、長野牧場(2系統)などがあり、認定は必ずしも統一された方式があるわけではありませんが、長野牧場の系統の場合は日本実験動物学会が下顎骨分析等を行い、他系統と識別できることを確認した上で行われています。以下に国内におけるウサギの系統について紹介します。

○日生研

日本白色種 JW-NIBS 近交系小型  
ニュージーランドホワイト種 NW-NIBS  
ダッチ種 Du-NIBS/Y

○北山ラベス

日本白色種 Kbl:JW 昭和43年に長野均一系日本白色種のクローズドコロニーとして確立し、昭和47年にSPF化。  
ニュージーランドホワイト種 Klb:NZW  
ダッチ種 Kbl:Dutch

○SLC(旧 静岡実験動物) JW-Csk

○家畜改良センター長野牧場

日本白色種 大型系 Nib:JWNL 既存の毛肉兼用種を昭和63年にSPF化したもの  
中型系 Nib:JWNL 国内から収集した 系統をベースに平成元

年から7年にかけてSPF条件下で系統造成を行ったもの

その他

○日本医科学動物資材研究所

Jla: JW 日本白色種で昭和55年(1980)に国立予防衛生研究所から導入し、昭和63年からSPF化したクローズドコロニーのもの

KHC 昭和60年(1985)に発見された遺伝的高コレステロール血症ウサギ

問35 長野牧場の日本白色種の大型系(Nib:JWNL)、中型系(Nib:JWNS)とはどのような特徴を持ったウサギですか。

答

大型系はもともと長野牧場において毛肉兼用種として維持されていたウサギを平成63年にSPF化したもので、中型系は国内から収集した3系統を母集団として平成元年からSPF環境下で系統造成を開始し平成7年に完成したものです。体の大きさは大型系よりも小型で、実験用ウサギとしてより適性の高いものとなっています。

表40 日本白色種(長野牧場)の血液、血清生化学成分

| 項 目             |      | 大型系       |           | 中型系        |            |
|-----------------|------|-----------|-----------|------------|------------|
| 赤血球数*           | 2カ月令 | ♂568±88   | ♀639±81   | ♂560±85    | ♀558±164   |
|                 | 3カ月令 | ♂608±92   | ♀568±88   | ♂598±71    | ♀573±49    |
| 白血球数**          | 2カ月令 | ♂3.0±1.4  | ♀2.9±0.8  | ♂2.9±1.7   | ♀3.5±2.0   |
|                 | 3カ月令 | ♂4.7±1.8  | ♀3.2±1.5  | ♂4.7±1.6   | ♀5.9±1.3   |
| 血小板数**          | 2カ月令 | ♂229±254  | ♀249±376  | —          | —          |
|                 | 3カ月令 | ♂334±234  | ♀214±234  | —          | —          |
| ヘモグロビン※         | 2カ月令 | ♂10.8±1.1 | ♀12.2±1.5 | ♂11.3±1.0  | ♀10.6±2.2  |
|                 | 3カ月令 | ♂11.9±1.5 | ♀11.6±0.9 | ♂11.2±1.0  | ♀10.2±0.8  |
| ヘマトクリット値<br>(%) | 2カ月令 | ♂36.0±4.6 | ♀39.8±2.5 | ♂33.0±7.0  | ♀33.1±2.6  |
|                 | 3カ月令 | ♂41.3±3.1 | ♀38.6±2.9 | ♂37.7±4.2  | ♀38.9±2.6  |
| GOT★            | 2カ月令 | ♂18.7±5.3 | ♀13.8±4.5 | ♂36±23     | ♀35±22     |
|                 | 3カ月令 | ♂24.0±8.5 | ♀12.0±4.7 | ♂29±14     | ♀22±8      |
| GPT★            | 2カ月令 | ♂15.2±4.2 | ♀11.4±1.7 | ♂33±14     | ♀28±7      |
|                 | 3カ月令 | ♂21.3±9.2 | ♀12.0±5.6 | ♂52±25     | ♀35±9      |
| ALP★            | 2カ月令 | ♂109±45.1 | ♀128±23.2 | ♂503±71    | ♀510±76    |
|                 | 3カ月令 | ♂122±68.6 | ♀119±27.1 | ♂393±51    | ♀417±67    |
| グルコース●          | 2カ月令 | ♂83±12.2  | ♀117±16.5 | ♂115±20    | ♀119±17    |
|                 | 3カ月令 | ♂98±21.1  | ♀132±10.3 | ♂120±13    | ♀120±10    |
| 総タンパク質○         | 2カ月令 | ♂4.7±0.5  | ♀5.4±0.2  | ♂5.3±0.4   | ♀5.3±0.3   |
|                 | 3カ月令 | ♂5.3±0.7  | ♀5.3±0.3  | ♂5.6±0.3   | ♀5.6±0.3   |
| BUN●            | 2カ月令 | ♂23.8±4.1 | ♀23.9±0.9 | ♂23.8±4.1  | ♀23.9±0.9  |
|                 | 3カ月令 | ♂30.4±3.3 | ♀27.4±2.6 | ♂30.4±3.3  | ♀27.4±2.6  |
| クレアチニン●         | 2カ月令 | ♂1.1±0.2  | ♀1.1±0.1  | ♂0.53±0.13 | ♀0.54±0.13 |

|            |      |           |           |            |            |
|------------|------|-----------|-----------|------------|------------|
|            | 3カ月令 | ♂1.3±0.2  | ♀1.3±0.1  | ♂0.82±0.10 | ♀0.83±0.10 |
| 中性脂肪 ●     | 2カ月令 | ♂169±112  | ♀61±8.5   | ♂74±29     | ♀68±15     |
|            | 3カ月令 | ♂117±56   | ♀38±7.6   | ♂62±28     | ♀63±22     |
| 総コレステロール ● | 2カ月令 | ♂78±33    | ♀70±11    | ♂49±9      | ♀55±8      |
|            | 3カ月令 | ♂41±13    | ♀57±6     | ♂42±11     | ♀54±8      |
| カルシウム ●    | 2カ月令 | ♂13.1±0.8 | ♀14.3±0.2 | ♂12.8±0.6  | ♀3.1±0.5   |
|            | 3カ月令 | ♂14.2±0.5 | ♀14.8±0.5 | ♂13.0±0.6  | ♀13.7±0.5  |
| 無機リン ●     | 2カ月令 | ♂6.2±1.3  | ♀8.3±0.5  | ♂8.4±0.8   | ♀8.8±1.1   |
|            | 3カ月令 | ♂5.8±1.2  | ♀5.8±0.8  | ♂7.5±0.7   | ♀7.3±0.6   |

\*;  $\times 10^4 / \text{mm}^3$  \*\*;  $\times 10^3 / \text{mm}^3$  ※; g/dl

★; mU/ml ●; mg/dl ○; g/dl

詳細については(社)日本実験動物協会が作成したリーフレット「日本白色種ウサギ(Nib:JWNL他)」及び「農林水産省家畜改良センターで作出された日本白色種ウサギnib:JWNSデータ集(No. 1)」を参考にして下さい。

問36 系統として認定されるとはということで、どのような方法によって行われるのですか。

答

ウサギが系統として確立されていて、他の系統と独立したものとして認められるかどうかはウサギの下顎の形を分析する「下顎骨分析」により判定されます。具体的には成体(10カ月令以上)のウサギ(♀)の下顎骨標本について12部位を測定し、これらの値から主成分分析(複数要素の各寄与率を分析)を行った上で判別分析を行い、既に確立された他の系統や当該系統を作成する際に材料として用いた系統と違いが分かる(判別できる)かどうかを調べます。

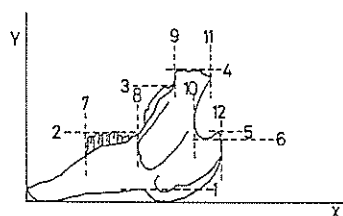


図2 ウサギ下顎骨測定部位

図63 下顎骨の測定部位  
測定部位1～6;下顎骨の高さ  
測定部位7～12;下顎骨の長さ  
(主成分分析によると測定部位1～3  
の寄与率92.3%)

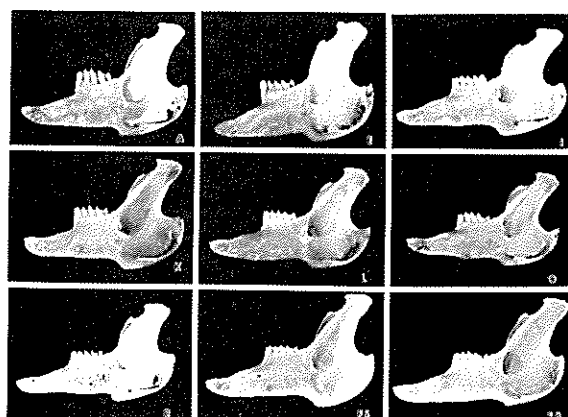


図64 下顎骨

長野牧場系  
(Nib:JWNS)

問37 日本白色種において「標準系」とはどのようなものを言うのですか。

答

実験用に用いられるウサギの品種は世界的に見てニュージーランドホワイト種が圧倒的です。しかしながら我が国では日本白色種も少なからず利用されており、ニュージーランドホワイト種に比べて耳が大きいなどの特徴を持っています。このため、(社)日本実験動物協会の検討会等において日本白色種(Japanese White)を実験用ウサギとして海外でも通用するようなものとして行く必要があるとの結論が得られ、その際、そもそも日本白色種とはニュージーランドホワイト種に比べて体の大きさや繁殖性等に比べてどのような違いがあるのかを明確にする必要があるとの意見も出されています。しかし、いざ国内において日本白色種ウサギの系統として成立しているものを見ると大きさ等の形質に差が大きく基準がないため、何をもって典型的な日本白色種ウサギと言えばよいのか判断が難しい状況にありました。このため、長野牧場において毛肉兼用種として改良されてきた日本白色種をベースとして典型的な日本白色種、すなわち「標準系」を作成し、既存の各ブリーダーの系統は標準系と比較して日本白色種として小型であるか大型であるか、また生理値は高いか低いかなどを判断しようと言うことになり、昭和61年度から長野牧場において「兎の標準系統造成事業」が開始されています。こうした結果大型系(Nib:JWN L)、中型系(Nib:JWNS)の2系統が造成されており、中型系が大きさの面から標準系とは言えますが、生理データ等のバックグラウンドデータの蓄積がなかなか進まないため、本当の意味での標準系とは言えないまま現在に至っている状況にあります。

問38 実験用ウサギでクローズドコロニー、近交系とはどういったものですか。

答

これらは遺伝的コントロールと呼ばれ、ウサギが個体毎に大きさや薬に対する反応が大きくぶれないように、作成された血縁的に近い個体集団のこと。例えば近交系とは親子や兄妹による交配を20代続けて近交係数が99%程度となったもので、ほとんどの遺伝子がホモ(相同)となっているため各個体が各々1卵性双生児やクローンのように遺伝的な違いがなくなっています。このことから近交系は個体差が出ると困る生理的な研究に用いられますが、毒性試験等では個体差がないので閾値を超えると一斉に反応が出ることから1頭で毒性を調べるのと差がないことになるため、適さないとと言えます。クローズドコロニーはある程度遺伝的には揃っているものの、一定のパラツキを集団内に保有している(すなわち遺伝子がヘテロになっている部分が残っている)ことから、毒性試験等において反応性が正規分布等一定の幅でばらけるため、処方量を決定する上で有用です。

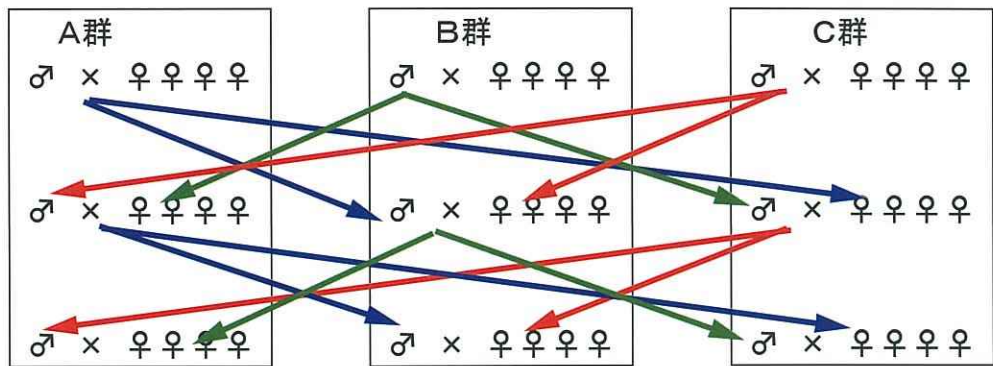
問39 ウサギでクローズドコロニーにおいてローテーション交配とはどういうことですか。

答

クローズドコロニーとは豚でいうところの系統豚に相当するものであり、群内に一定のパラツキを持ちつつ、形質としてはかなり斉一な遺伝的集団のことです。こうした集団を維持するためには群全体としての血縁係数の平均が上昇しないように気を付けて交配を行っていく必要があります。このため行うのがローテーション交配です。当场では以下のローテーション交配を行っています。具体的には群全体をA、B、Cの3群に分け、A群で生産されたウサギのうちめはB群、♀はC群、B群で生産されたウサギのうちめはC群、♀はA群、C群で生産されたウサギのうちめ



はA群、♀はB群として次の世代に振り分けるという方式を行っています。



問40 クローズドコロニーを維持する上での群の大きさとして適正な規模というものはありますか。

答

遺伝的な変化は群の規模が大きければ大きいほど小さくなります。しかし、実際には経費のこともあり、それほど大きな群で維持することは不可能なため、1世代当たりの近交係数の上昇を1%以下にすることというのが一般的な目安となっており、25ペア以上と考えられます。ある群における1世代当たりの近交係数の上昇率( $\Delta F$ )を求める計算式は以下の通りとなっています。この式から分かることは、雄の頭数を13頭以下にすると雌の数がいくら多くても1世代当たりの近交係数は1%を上回ってしまうということで、雄の数が少ないと雌の数がいくら多くても近交係数はどんどん上昇してしまうということです。

$$\Delta F = \frac{1}{8N_f} + \frac{1}{8N_m}$$

Nf; 群内雌親数  
Nm; 群内雄親数

問41 ウサギを近親交配するとどうなりますか。

答

日生研においてウサギの近交系(JWY-NIBS)を造成した時のデータを以下に紹介してありますが、受胎率や産子数が直線的に増加する一方で奇形については、波があるようです。これは特定遺伝子の頻度が高くなり、ホモになる場合に異常が出現するためだと考えられます。

表41 近交系造成過程における繁殖性、奇形率の変化

| 兄妹交配<br>世代数 | 受胎率<br>(%) | 産子数<br>(頭) | 離乳率<br>(%) | 外部異常<br>出現率(%) | 近交係数<br>(%) |
|-------------|------------|------------|------------|----------------|-------------|
| 0           | 100        | 10.1       | 99         | 0              | 0.0         |
| 1           | 100        | 8.0        | 94         | 0              | 25.0        |
| 2           | 100        | 8.5        | 88         | 0              | 37.5        |
| 3           | 60         | 4.9        | 79         | 0              | 50.0        |
| 4           | 92         | 5.1        | 91         | 0              | 59.4        |
| 5           | 66         | 5.0        | 52         | 7.0            | 67.2        |
| 6           | 59         | 4.0        | 48         | 7.0            | 73.4        |

|    |    |     |    |      |      |
|----|----|-----|----|------|------|
| 7  | 66 | 4.3 | 43 | 33.0 | 78.5 |
| 8  | 58 | 4.6 | 61 | 26.7 | 82.6 |
| 9  | 49 | 4.3 | 58 | 21.0 | 85.9 |
| 10 | 55 | 3.8 | 33 | 18.0 | 88.6 |
| 11 | 46 | 3.4 | 48 | 0    | 90.8 |
| 12 | 36 | 4.4 | 78 | 0    | 92.5 |
| 13 | 40 | 3.4 | 70 | 15.0 | 94.0 |
| 14 | 64 | 3.0 | 80 | 8.5  | 95.1 |
| 15 | 48 | 3.0 | 44 | 10.2 | 96.1 |
| 16 | 34 | 2.2 | 58 | 29.0 | 96.8 |
| 17 | 31 | 2.8 | 40 | 0    | 97.4 |
| 18 | 47 | 2.7 | 72 | 2.0  | 97.9 |
| 19 | 27 | 2.6 | 89 | 7.1  | 98.3 |
| 20 | 45 | 2.3 | 77 | 2.0  | 98.6 |

一旦、近交系として確立されれば不良遺伝子は系統造成の段階で排除されているものであり、かつ各遺伝子ともホモになっており、かつクローン動物のように各個体の遺伝子構成はほとんど同じであるため、不良遺伝子が発現するという可能性は限りなく小さいと言えます。

問42 近交係数及び血縁係数とはどう言ったもので、ウサギの交配を考える場合にどのように参考にすれば良いのでしょうか。

答

ごくごく単純に言いますと「近交係数」とは、近親交配の結果、ウサギの各遺伝子がどの程度同じ遺伝子のペア（遺伝子が「ホモ」の状態になっていると言います）になってしまっているかの指標であり、「血縁係数」とは異なるウサギの間においてどの程度遺伝子構成が類似しているかの指標と言えます。このことを端的に表す事例としては雑種のウサギ（近交係数は0に近い）のクローンを作成すると、クローン各個体の近交係数はほぼ0%でありながら、クローンどうしは血縁係数が100%であることとなりますし、由来の全く異なる2系統の近交系のウサギについては各個体の近交係数は100%近いものでありながら、系統間の血縁係数は0%に近いということになります。



交配を考える場合には血縁の近い個体どうしを交配すると同じような遺伝子が揃ってしまい（ホモになってしまい＝近交になってしまい）、隠れていた劣性の不良遺伝子が表面化する可能性がありますので極力血縁係数の低い個体どうしを交配するようにする必要があります。血縁

係数の計算方法は以下のとおりの手順で行います。

1. 計算しようとする2個体の祖先(交配計画を立てる場合には大まかな数値で良いので曾祖父、曾祖母程度までで良い)を調べる。
2. 共通祖先があれば、その個体から計算しようとする2個体は何世代離れているかを調べ、その世代数の合計数を出す。
3.  $(1/2)$ に対する2. の合計数の累乗を求める。(合計数が4なら $(1/2)^4=0.0625$ )
4. 共通祖先の近交係数に1を加えた数字と3. の数字を乗じた結果が血縁係数。(近交係数が50%なら $(1+0.5) \times 0.0625=0.0938$ (9.38%))
5. 共通祖先が複数ある場合には2. ～4. の計算を行い、各数値の合計が血縁係数。

【血縁係数の例】

|                    |     |
|--------------------|-----|
| 親と子                | 50% |
| 全兄弟(父母が同じ個体どうし)    | 50% |
| 半兄弟(父母の片方が同じ個体どうし) | 25% |
| 祖父母と孫              | 25% |

交配を考える場合に近交係数は血縁係数ほど重要ではありませんが、参考までに計算方法を示しておきます。

1. 計算する個体の両親に共通の祖先がないかを調べる(細かい数値が必要でなければ曾々祖父、曾々祖母程度までで十分)。
2. 共通祖先があれば、その個体から計算しようとする個体の両親まで何世代離れているかを調べ、その世代数の合計数を出す。
3.  $(1/2)$ に対する合計数+1の累乗を求める。(合計数が4なら $(1/2)^{4+1}=0.0313$ )
4. 共通祖先の近交係数に1を加えた数字と3. の数字を乗じた結果が近交係数。
5. 共通祖先が複数ある場合には2. ～4. の計算を行い、各数値の合計が最終の近交係数。

問43 ミュータント(突然変異)のウサギとはどういったものですか。

答

ミュータントウサギとは突然変異により特殊な生理特性等の形質を有することが確認されたウサギのことで、この特性がヒトの疾病等の研究にモデル動物(ヒトと同じ疾病を持つ動物)として利用(外挿)できる場合には非常に重要な意味を持つことになります。ただし、通常はミュータントであることが確認されても、ヒトの疾病等との関連が明確でない場合に、目的が明確でないまま多大な経費のかかる維持を行うことは難しい場合が少なくありません。

ミュータントウサギとして一番有名なものとしては、神戸大学医学部動物実験施設で1973年に渡辺教授により発見されたWHHLウサギです。これは日本白色種であり、血清総コレステロール値が正常ウサギの10倍の値を示すことからヒト家族性高コレステロール血症の自然発症モデル動物として、動脈硬化や心筋梗塞等の研究に重用されています。当初WHHLはHLR(Hyperlipidemic rabbit; 高脂血ウサギ)と命名され、1980年に系統として確立された際にWHHL(Watanabe heritable hyperlipidemic; ワタナベ遺伝性高脂血症)ウサギとの名称を付けられてい



る。世界的に高脂血症に対する研究は非常に重要となってきたことから、WHHLウサギは海外13カ国、40機関、国内55機関に分与されています。その他発見されたウサギのミュータントとしては運動失調症(AX/J)のものがあるほか、長野牧場のアンゴラ種ウサギについても配布先の畜産試験場育種部(当時;現 独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所)において補体欠損のものが発見されていますし、日本白色種(大型系)においても眼球の白濁したウサギ(水眼症症候群、先天性緑内障?)が生まれることがあります。



図65 眼の白濁

[参考] 遺伝子が突然変異を起こす確率 10万分の1

問44 ウサギのアイランドスキンとはどういうもので、これがあるとどうしてダメなのでしょう。

答

ウサギを皮膚の刺激性試験に使用しようとして、背中の中毛を刈り取った場合に本来ヒトの皮膚のようにつるつるになるのが理想ですが、毛が残っていてつるつるにならない部分(肥厚部)が出てきます。この部分をアイランドスキン(島状皮膚)と呼びます。このアイランドスキン部分は皮膚の反応(刺激性物質により発赤する)が分かりにくいので、刺激性試験に使用するウサギとしては適さないものと考えられます。

問45 消毒薬の常用濃度や何に効果があるのかを教えてください。

答

消毒薬は濃度が高すぎたり低すぎたりすると効果が全く期待できないばかりか、耐性菌を作ってしまう可能性もあるので、所定の使用濃度を必ず守って下さい。また雨水が流入することで濃度が薄まることもあるので必ずフタをすることも重要です。消毒薬は各々が化学薬品であるので2種類の物を混合したりすると化学反応を起こして毒ガスが発生したり、消毒効果がなくなったりするという点にも注意して下さい。ウサギの重要疾病のほとんどはグラム陰性菌であるので、オスバン等第四級アンモニウム塩以外の消毒薬はどれでも有効です。

表42 消毒薬の使用濃度及び効果

○有効、△効果が少ない×効果が期待できない

| 消毒薬         | 常用濃度                   | ウイルス | 細菌芽胞 | 好酸菌 | グラム陽性菌 | グラム陰性菌 | 真菌 | 備考              |
|-------------|------------------------|------|------|-----|--------|--------|----|-----------------|
| エチルアルコール    | 70-90%3                | △    | ×    | ○   | ○      | ○      | ○  | 洗浄効果あり。刺激性      |
| イソプロピルアルコール | 0-50%                  | △    | ×    | ○   | ○      | ○      | ○  | 洗浄効果あり。刺激性      |
| ホルムアルデヒド    | 15-20ml/m <sup>3</sup> | ○    | ○    | ○   | ○      | ○      | ○  | タンパク浸透性、刺激性、腐食性 |
| 過酢酸(噴霧)     | 2-2.5%                 | ○    | ○    | ○   | ○      | ○      | ○  | 刺激性、腐食性         |
| フェノール       | 3-5%                   | ×    | ×    | ○   | ○      | ○      | ○  | 刺激性             |
| クレゾール石鹼     | 3-5%                   | ×    | ×    | ○   | ○      | ○      | ○  | 刺激性、有機物の影響なし    |
| 酸化エチレン      | 12%2-5h                | ○    | ○    | ○   | ○      | ○      | ○  | 引火性、毒性強         |
| 第四級アンモニウム塩* | 0.05-0.1%              | △    | △    | ×   | ○      | △      | ○  | 無臭、刺激性なし        |

|              |             |   |   |   |   |   |   |            |
|--------------|-------------|---|---|---|---|---|---|------------|
| 次亜塩素酸**      | 100-200ppm1 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 有機物により効果低下 |
| ヨウ素***       | 00-200ppm0. | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | 着色性        |
| クロルヘキシジン**** | 1-0.5%      | △ | △ | △ | ○ | ○ | △ | 刺激性なし。低毒性  |

商品名 \*オスバン、ハイアミン、マイクロカット\*\*ビューラックス、フジラックス

\*\*\*マスキロクリーン、イソジン \*\*\*\* ヒビテン

注;次亜鉛素酸は酸性域で効果大。ヨウ素は中性～酸性域で効果大。

資料「Q & A実験動物の病気と衛生」

## 【参考】

ウイルス→粘液腫

グラム陰性菌→パスツレラ菌、気管支敗血症菌、野兔病、サルモネラ菌、ティーザー病

グラム陽性菌→ブドウ球菌症

なお、消毒薬は万能ではなく、特に糞等が付着したような汚れた容器、ケージに消毒薬をいくら使用しても汚れの内部の菌やウイルスには効果はありません。細菌数を減少させる上で最も効果的なことは洗浄して乾かすことだということを理解しておいて下さい。

問46 ウサギからの採血はどのようにして行うのでしょうか。

答

採血は耳介静脈、耳介動脈、心臓採血等により行うことができます。各々の方法については次のとおりです。

### 1. 耳介静脈採血

1カ所2～5ml程度採血することができます。繰り返し採血する場合は通常耳の先端部から5～6cm下の耳根部に近い部位の静脈(耳の外側)から採血を開始し、先端部から耳根部に向かって採血部位を移動して行きます。静脈は片耳につき2本耳の周辺部に走っています。具体的な手順としては以下の通りです。

1) カミソリや毛刈り剪刀で採血部位の毛を刈り取ります。

2) 採血部位を消毒用アルコールで拭く又は軽く摩擦したりたたくなどを行うことにより血管を怒張させます。

3) 左手で採血部位を挟んで持ち(耳の内側と外側)静脈を圧迫させた上で怒張した血管に耳根から先端の方向に針(22～23G)を5～6mm程度差し込みます。

4) 注射筒をゆっくり引き採血します。

静脈(青) 動脈(赤)

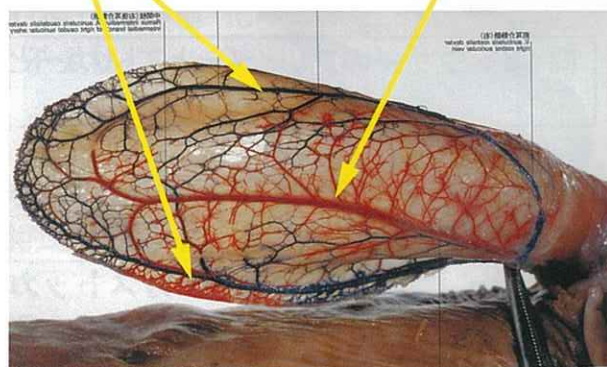


図66 耳の血管

「原図 実験動物の断面解剖アトラス(ウサギ\*編)」

### 2. 耳介動脈採血

基本操作は静脈採血と同じですが、動脈は耳の中央部を走っていること、針を差し込む方向が逆で先端から耳根に向かって針を刺すこと、止血にくいのでガーゼを採血部位に充てて親



指と人差し指で2～3分圧迫する必要がある点異なります。

### 3. 心臓採血

心臓採血は1回に40ml程度まで採取することができます。具体的な手順としては以下の通りです。

- 1) .ウサギを仰向けにし、両手をバンザイのような形に保定した上で触診して心臓の位置を探す。(第2肋骨と第4肋骨の間にある)
- 2) 50mlシリンジ+18G針を用いて左側より3cm程度刺します。心臓に当たれば針は微動します。
- 3) ゆっくり注射筒を引き、採血します。



図67 心臓採血

### 4. その他

大量に採血する場合には頸動脈を切断またはチューブを挿入することで80～120mlを採血することが可能です。少量の血液で良い場合には深爪をして出血させるという方法もあります。

原図「初心者のための動物実験手技Ⅱ」

問47 ウサギを実験動物として利用する上でバックグラウンドデータが必要と聞きました。これはどういったもので、どうして必要なのですか。

答

動物実験を行うといろいろなデータが出てきて、その値が正常値の範囲なのか異常値なのかの判断に苦しむことがあります。この場合たくさんの頭数が類した実験に使用されてきて正常値、異常値の範囲が正確に判断できる、すなわちバックグラウンドデータ(実験データの蓄積)が揃っているものが実験者にとっては安心して使用できるということになります。従って、毒性試験の分野においては使用する動物が潤沢なバックグラウンドデータを蓄積しているということが必須となります。長野牧場の2系統については、生理値に関するバックグラウンドデータは不十分ですが、繁殖性や発育性に関するデータは潤沢となっています。

問48 ウサギのブリーダーとストッカーとはどういうことで、どういった違いがありますか。

答

**ブリーダー**という言葉はかなり一般的ですので分かりやすいと思いますが、これらはウサギを増殖(繁殖)させて利用者(ユーザー)に供給するものを言い、国内の多くの実験動物生産、販売企業がこれに該当します。一方**ストッカー**とはウサギの形質の変化を最小限にしつつ系統を維持したり、新たな系統を造成するものを言い、これらはウサギの系統を作出した機関、企業に限定され、余剰分は販売することが多いためブリーダーとしての側面を持っています。長野牧場は従来よりストッカーとしての機能を果たしてきましたが、生体での系統の維持から凍結受精卵としての維持に移行することとなり、平成18年度から本格的な受精卵作成に取り組みました。

問49 国内におけるウサギの流通はどうなっているのでしょうか。

答

大雑把に区分すると生産者、使用者、集荷業者の3者に分かれるのですが、実態としてはもっと複雑かつ多種多様です。これはユーザー自らがウサギを維持、繁殖して自社内で使用するとともに余剰分を他者に販売することや大学等においても使用するウサギを農場内で生産するということが行われていること、また中小規模のブリーダーの典型として、ブリーダーとして自社でウサギを生産する傍らで委託農家からウサギを集荷販売しているところも少なくないことによっています。ブリーダー間でウサギをやりとりするということも行われています。農家もユーザーへ材料用として直接販売する一方で高値で取引される場合には集荷業者やブリーダーへも販売することがあります。ユーザーも材料用として年間を通じて大量に購入しているところにおいては、不足時期には中国等から生体で輸入するということも行われています。

これはユーザーサイドからの需要が不安定である一方で生産者もウサギの生産量が年間を通じて安定せず、春は大量に生産できるが秋には生産量が低下するということが大きな原因となっています。すなわち、需要面では薬品の開発や試験研究が一定の段階に達していざ動物実験が必要となった場合にユーザーは特定性別（例えば雄だけ必要等）、特定月齢・体重（体重2kg～2.5kg等）、特定条件（妊娠等）のウサギが一気に数十から数百頭必要となる場合があり、供給面では定時・定量の需要以外のものについてはコスト面から外部から調達せざるを得ないという事情があります。

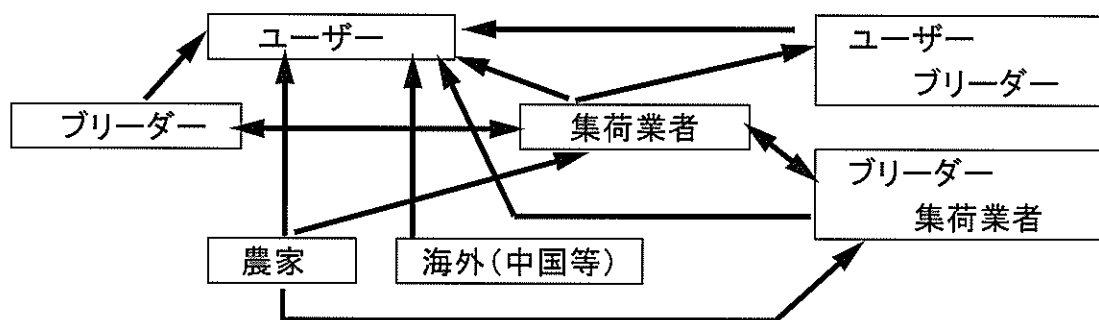


図68 実験用ウサギの流通

ユーザー ; 製薬会社、化学会社、大学(医・薬・獣医・畜・化学)  
ブリーダー ; 実験動物生産業者、製薬会社(子会社)

### 3. 受精卵移植

問50 受精卵のガラス化凍結とはこういった凍結方法ですか。

答

従来の1時間以上かけて受精卵の凍結を行う緩慢冷却法に対して、急速に凍結を行い保存液に氷晶を形成させない方法であるガラス化凍結法が1985年に報告されています。このガラス化凍結法とは氷晶の成長を抑制する急速冷却法に併せて高濃度の凍害保護物質を添加すること等により細胞内外の水分をガラス状の固体にさせる方法です。

問51 受精卵の洗浄とはこういった処理のことですか。

答