

実験動物の微生物学的品質検査システムの確立・

受託検査事業の展開・海外機関との動物の授受

中村 直子, 川辺 正等美, 大杉 剛生, 中嶋 直己, 浦野 徹

熊本大学生命資源研究・支援センター

1. 概要

動物実験施設では、再現性のある動物実験成績を得るために様々な微生物を対象にした実験動物の微生物学的品質検査およびコントロールがおこなわれており、熊本大学生命資源研究・支援センター 動物資源開発研究施設 (CARD) 本館では、搬入する全てのマウスを対象に、入手時から他機関への分与まで、段階に分けた対策を実施している。今回は、その中の、入手時および他機関への分与時における微生物学的品質管理システムと共に、実験動物の微生物学的品質検査の受託検査事業および海外機関との動物の授受の際の輸出検疫について紹介する。

2. CARD 本館における微生物学的品質検査システム

CARD 本館で飼育される実験動物については、入手時、飼育中、搬出時の三つの段階に応じた微生物学的品質をおこなっており、今回は特にマウスを中心に述べる。表 1 には、平成 16 年からのマウス検査数の推移を示した。

① マウス入手時：原則として、動物生産業者から CARD 本館へ搬入可能なマウスは、CARD が定める特定の動物生産業者で specific pathogen free (SPF) として生産されている動物に限定している。各動物生産業者において毎月定期的に発行される検査成績をあらかじめ入手して書類審査をおこなって SPF を確認しているため、搬入時には微生物検査を省略して、体重測定と臨床症状の観察のみを行なっている。これに対して、特定の動物生産業者以外の機関から本館一般飼育室へのマウスの搬入時は、以下の方法によりビニールアイソレータ (アイソレータ) を用いた隔離飼育 (検疫) および微生物学的品質検査をおこなっている。すなわち、入手したマウスは到着後すぐに微生物品質検査用に動物生産業者より入手した SPF、ICR、6 週令、雌マウス (検査用マウス) とともにアイソレータに搬入し、28 日間同居させた後、常法に従って検査用マウスを微生物学的検査に供し、我々自身で SPF を確認した後に本館飼育室へ搬入する。搬入時に陰性の必要がある微生物、寄生虫は、肺マイコプラズマ、腸粘膜肥厚症菌、ティザー菌、ネズミコリネ菌、ヘリコバクター ヘパティカス、肺パストツレラ、マウス肝炎ウイルス、センダイウイルス、ネズミ大腸蟻虫、ネズミ盲腸蟻虫、ジアルジア、スピロクレス、トリコモナス、外部寄生虫である。検疫期間中、アイソレータは無菌動物の維持方法に準じた方法で維持しており、アイソレータ内では放射線滅菌飼料、高圧蒸気滅菌飲水・飼育器材等を用い、アイソレータの消毒薬には二酸化塩素を使用している。前述の微生物や寄生虫が陽性の場合、SPF の仮親と生殖工学的手法を用いた微生物学的クリーニングの後、仮親の微生物品質検査で前述の微生物や寄生虫の陰性が確認された後に一般飼育室への搬入が許可される。

② マウス飼育中の対策である微生物モニタリングについては、本研究会にて川辺らがポスターにて発表する「我が国の拠点としての実験動物の微生物学的検査」にて述べる。

③ マウス搬出時：CARD からのマウスを搬出は次の 3 つのケースに大別される。

1) 飼育室で飼育していたマウスを供給あるいは譲渡する場合は、SPF を確実に保証するため、搬入時の検疫と同様に、搬出予定マウスのすべてを検査用マウスと共にアイソレータで 28 日間検疫した後、検査用マウスを微生物学的品質検査に供し、成績を発行することを原則としている。なお、搬出するマウスは、輸送の為に滅菌した輸送箱に梱包される直前まで継続してアイソレータでの飼育をおこなっている。

2) 飼育室で飼育していたマウスを日本国内の研究機関へ供給あるいは譲渡する際に、供給 (譲渡) を受ける側がアイソレータによる検疫・微生物検査を伴う厳密な対応を必要としない場合は、供給 (譲渡) 先へ、CARD から送り出すマウ

スが確実に SPF である保証は出来ないマウスであることに対する同意書の発行を依頼し、同意書を確認した後に、毎月定期的に実施している飼育室単位の微生物モニタリング成績を添付して供給する。

3) 遺伝子改変マウスおよびその仮親は、胚移植直後から供給に至るまでアイソレータで隔離飼育しており、1 台のアイソレータあたり最高 2 匹の仮親を搬出して微生物モニタリングをおこなって SPF を確認し、検査成績を発行している。

表 1 熊本大学生命資源研究・支援センター動物資源開発研究施設におけるマウス検査数の推移

	平成 16 年*	平成 17 年	平成 18 年	平成 19 年	平成 20 年	平成 21 年
施設外からの搬入時検査 (海外由来)	72**	141	51	41	61	49
施設外からの搬入時検査 (国内由来)	480	272	360	278	498	363
飼育中の検査 (おとりマウスおよび臨時検査)	2,888	2,813	2,197	1,733	1,771	1,797
施設からの搬出時検査	326	324	293	294	239	324
合計	3,766	3,550	2,901	2,346	2,346	2,346

* : 年度、** : 匹

④ その他の動物については、原則として施設外研究機関への搬出はおこなわれていないため、動物種ごとに搬入時の微生物学的品質のみが定められている。

1) ラット：動物生産業者から CARD 本館へ搬入可能なラットは、原則として CARD が定める特定の動物生産業者で SPF として生産されている動物に限定している。特定の動物生産業者以外の機関から搬入する場合は、飼育施設の状況を調べるとともに添付される微生物検査成績参考に搬入を決定している。飼育中は、マウスと同様に飼育室ごとに毎月の微生物モニタリングを実施している。

2) ウサギ：動物生産業者においてクリーン又は SPF として生産、維持されていなければ搬入できないことが定められており、微生物統御がおこなわれていないウサギは搬入することができない。動物生産業者から送付されてくる微生物検査成績を事前にチェックし、到着時には性別の確認、体重測定および外観の観察等の検収を実施する。飼育中は異常個体の検査をおこなっている。

3) モルモット、フェレット、イヌ、サル、スunks、ウズラ等は、搬入時の微生物学的品質は定めていない。動物生産業者が発行した検査成績が存在すれば確認し、動物到着時には性別の確認、体重測定および外観の観察等の検収をおこなっており、さらにイヌの場合は血液中のイヌ糸状虫のマイクロフィラリアの検査および人獣共通感染症の起因菌であるブルセラ菌の検査を、サルの場合は人獣共通感染症の原因ウイルスである B ウイルスの検査を実施している。ブルセラ菌あるいは B ウイルスが陽性の場合、淘汰の対象となる。飼育中は異常個体の検査をおこなっている。

4) 細胞：CARD 内への胚性幹細胞を含む各種細胞の持ち込みは、ポリメラーゼ連鎖反応を用いたマウス肝炎ウイルス検査で陰性が確認された後に許可される。これまで表 2 に示す細胞について検疫をおこなったが、陽性例はない。

表 2 熊本大学生命資源研究・支援センター動物資源開発研究施設への細胞搬入件数の推移

	平成 16 年*	平成 17 年	平成 18 年	平成 19 年	平成 20 年	平成 21 年
細胞	357**	24	23	42	13	22

* : 年度、** : 匹

3. 受託検査事業

CARDでは、これまで培って来た実験動物の微生物学的品質の自家検査のノウハウをもとに、平成17年より研究支援業務として、熊本大学内および学外を対象として、マウス、ラット、ウサギ、モルモットおよびマウス細胞の微生物検査受託をおこなっている。価格は微生物や寄生虫の種類によって異なるが、ウイルス、真菌および細菌を1検体あたり990円～1,920円、寄生虫を20～120円に設定している。大学事務によって受託事業用の口座が開設してあり、検査依頼後、検査依頼者宛に請求書と共に入金先の口座情報（振込書）が送付されるので、指定された期日までに検査料を前納する事が求められている。これまでに表3に示す検体の依頼を受け、検査をおこなっており、昨年度はおよそ340万円の成果があった。

表3 熊本大学生命資源研究・支援センター 動物資源開発研究施設における微生物学的品質受託検査

	平成17年*	平成18年	平成19年	平成20年	平成21年
マウス	388 (15) **	461 (31)	308 (40)	331 (74)	305 (51)
ラット	20 (3)	40 (11)	44 (12)	71 (15)	72 (15)
ウサギ	60 (4)	90 (6)	45 (3)	106 (8)	90 (6)
モルモット	0	160 (1)	0	0	0
細胞	32 (2)	40 (2)	60 (4)	79 (4)	64 (3)

*: 年度、**: 匹・細胞についてはライン（依頼件数）

4. マウスの輸出検査

CARDでは、海外にマウスを輸出する際の支援のために、検査に必要な書類の一つとして、飼育室の微生物モニタリング用モニターマウスの微生物品質検査成績を発行しており、輸出先の機関より要求される Health Survey Form for Incoming Animals 等の様々な書類の作成にも協力している。

また、家畜伝染病予防法（昭和26年法律第166号）第45条第2項の規定に基づき、平成19年度より、農林水産省動物検疫所より、実験動物界では国内で唯一動物の輸出検査場所として農林水産大臣の指定を受けており、スペインなどの海外へ輸出する際の輸出検査に必要な微生物学的品質検査が実施出来るようになった。

5. まとめ

我々はこれまで、再現性の高い動物実験成績が得られるよう、施設内で飼育する実験動物を微生物学的な汚染から守るための微生物学的モニタリング・コントロール・クリーニングの三つを柱にしたシステムを構築し、運用して来た。その結果、施設内の一般飼育室では、10年間、動物の淘汰を必要とするような病原微生物の汚染は起こっていない。今後、海外の研究機関との実験動物の授受がさらに頻繁になる事が予想されるため、海外で流行している病原微生物等も検査対象とする事を視野に入れつつ、状況に応じた微生物学的管理体制の遂行に努めたいと考える。