

尚絅学院大学における動物実験実施ガイドライン

1. 趣旨

動物実験等の実施に際しては、研究の意義および動物実験等を必要とする理由を説明できなければならない。動物実験等は科学的合理性に基づくとともに、当該研究の目的を達成するために必要な限度において、「動物実験の愛護および管理に関する法律の一部を改正する法律（平成17年6月22日法律第68号）」に明文化された動物実験の国際原則である3R（Replacement：科学上の利用の目的を達することができる範囲において、できる限り動物を供する方法に代わり得るものを利用すること、Reduction：科学上の利用の目的を達することができる範囲において、できる限りその利用に供される動物の数を少なくすること、Refinement：その利用に必要な限度において、その動物に苦痛を与えない方法による）の原則に配慮して立案され実行されなければならない。

2. 目的

本ガイドラインは、尚絅学院大学（以下「本学」という。）において動物実験を計画し実施するにあたって、「尚絅学院大学における動物実験等に関する規程」（以下「本学動物実験規程」という。）に基づいて科学および動物福祉の観点から適正に行われるように、原則的な考え方や具体的な方法を示したものである。

3. 適用範囲

本ガイドラインは、「本学動物実験規程」に則り本学で実施される全ての動物実験に適用する。

4. 動物実験計画の立案

本学で実施する動物実験は、「本学動物実験規程」と関連法規を遵守して計画し、「尚絅学院大学における実験動物の飼養マニュアル」に従って実施するものとする。

1) 動物実験計画の立案

動物実験責任者と動物実験実施者は、上記の趣旨を踏まえて動物実験を計画し、「本学動物実験規程」と本ガイドラインに従って「動物実験・教育研究研修計画書」（以下「計画書」という。）（様式1）を作成して、学長に動物実験実施の承認を申請する。学長は、実験計画の内容について妥当性を動物実験倫理委員会に諮問する。学長は、動物実験倫理委員会の審査結果の答申を受けて、実験実施の承認または不承認を通知する（様式2）。

動物実験責任者は、学長の承認が得られたのちに実験動物の購入を手配し、動物実験を実施する。動物実験責任者は、承認された実験計画に沿って動物実験が実施されるように動物実験実施者を指導・監督しなければならない。動物実験責任者は、承認された実験計画の目的または範囲を超える計画変更が必要な場合は、速やかに「動物実験計画(変更・追加)承認申請書」（様式3）を提出して、再審査を申請する。

また、動物実験責任者は学長から不承認の通知を受けた動物実験計画書等において、審査の判定に

異議があるときは、異議に根拠となる資料を添えて、学長に「動物実験・教育研修計画審査結果異議申立書」（様式4）を提出し、再審査の申請をすることができる。

以下に、動物試験計画の立案に際して動物実験実施者および動物実験責任者が最低限検討すべき事項を列挙する。

2) 実験計画書の種類

- (1) 試験・研究
- (2) 教育研修・訓練
- (3) モニタリング
- (4) その他

3) 動物実験計画の立案時に検討を要する事項

- ・ 動物実験の目的と必要性は明確かどうか
- ・ 動物実験の不要な繰り返しに当たらないかどうか
- ・ *in vitro* の実験系への置き換えが可能かどうか（代替法の検討）
- ・ より侵襲の低い動物実験方法への置き換えが可能かどうか（代替法の検討）
- ・ 使用する実験動物種ならびに遺伝学および微生物学的品質は適当かどうか
- ・ 使用する実験動物数は妥当かどうか
- ・ 動物実験実施者は動物実験に必要な知識と技術を身につけ、十分な教育訓練を受けているかどうか
- ・ 特殊なケージや飼育環境を適用する場合はそれが必要な理由が明確かどうか
- ・ 実験処置により発生すると予想される障害や症状および苦痛の程度を把握しているかどうか
- ・ 実験動物にとって耐え難い苦痛が予想される場合の苦痛軽減処置は適正かどうか
- ・ 鎮静、鎮痛、麻酔処置は適切か
- ・ 大規模な外科的処置の繰り返しに当たらないかどうか
- ・ 術後管理の方法に問題はないか
- ・ 実験動物の最終処分方法（安楽死の方法など）は適切かどうか
- ・ 人および環境に影響を与える可能性のある動物実験であるかどうか
- ・ 該当する場合は必要な措置および手続きをしているかどうか
- ・ 動物実験実施者への労働安全衛生に配慮されているかどうか

未知の課題に対する新しい動物実験において、実験方法の設定や使用動物数の算出が困難な場合がある。このような場合は、*in vitro* 試験の結果を考慮し、予備試験を行い、試験方法や使用動物数を検討したうえで、本実験の計画を立案するように努める。

また、実験動物が逃れることのできない激しい苦痛を伴う実験計画に関しては、動物実験責任者と動物実験実施者は文献検索等により代替法の有無を検索する必要がある。代替法がなく、研究上の理由により麻酔、鎮痛等の苦痛軽減措置が困難と思われる場合は、必要に応じて実験動物の専門家から助言を得て実験を実施することが望ましい。また、このような必要性は計画書に明記しなければならない。

4) 動物の選択

実験動物責任者は実験動物の選択に当たって、遺伝的及び微生物学的品質を考慮しなければならない。これらの要素は実験成績の精度並びに再現性を左右する。適切な品質の動物を選択することによ

り、使用動物数を最小限にとどめることができ、動物福祉の観点からも重要である。また、特に微生物学的品質に関しては、病原体に汚染された動物の導入により周囲の健康な動物に感染症を広げたり、あるいは、動物実験実施者、飼育者等に人獣共通感染症を起こすことがあるので、動物実験施設管理者の指示に従わなければならない。また、可能な限りより下等な生物との代替、株細胞の使用、あるいは数学的モデルやコンピューターシミュレーション等、動物を用いない実験との代替を検討すべきである。マウスやラットの遺伝的及び微生物学的な品質の分類を表1と2に示す。

表1 実験動物の遺伝的統御による分類（マウスの例）

群	規 定
近交系 Inbred strain	兄妹交配を20代以上継続している系統、親子交配を20代以上継続しているものも含まれるが、こ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。但し兄妹交配と子交配を混用してはならない。
ミュータント系 Mutant strain	遺伝子記号を持って示しうるような遺伝子型を特性としている系統及び遺伝子記号を明示し得なくても、淘汰選抜によって特定の遺伝形質を維持することのできる系統。
クローズドコロニー Closed colony	5年以上、外部から種マウスを導入することなく、一定の集団内のみで繁殖を続け、常時実験動物供試動物の生産を行っている群
交雑群 Hybrid	系統間の雑種

表2 微生物コントロールからみた実験動物の区分

群	定 義	備考		
		微生物の状態	作出方法	維持
無菌動物 (Germfree animals)	封鎖方式・無菌処理を用いて得られた、検出する全ての微生物・寄生虫を持たない動物	検出可能な微生物はいない。	帝王切開・子宮切断由来	アイソレーター
ノトバイオート (Gnotobiotics)	持っている微生物叢の全てが明確に知られている特殊に飼育された動物	持っている微生物が明らか	無菌動物に同定された微生物を定着させる。	アイソレーター
S P F 動物 (Specific pathogen-free animals)	とくに特定された微生物・寄生虫のいない動物。指定以外の微生物・寄生虫は必ずフリーではない。	持っていない微生物が明らか	無菌動物・ノトバイオートに微生物を自然定着	バリヤー（バリアシステム）

5) 動物試験計画書の様式

動物実験計画書は所定様式に従って作成する（様式1）。

5. 実験動物の飼育施設及び設備

動物実験において再現性のある安定した実験成績を得るためには施設、設備を適正に整備し、動物の飼育環境を整える必要がある。このことは、使用する動物数を減らし、動物福祉への大きな配慮となる。特に環境条件（温度、湿度、気流、光、音、臭気、床敷、ケージ、給水、飼料、飼育室、同居動物、飼育者技術等）は、動物の反応を修飾して実験成績に大きな影響を及ぼす例が多いので、これらの諸条件を制御することは極めて大切である。そして、動物の生態、習性を考慮し、快適な住居性に重点を置く必要がある。以下、特に留意すべき点を挙げる。

1) 飼育施設

- (1) 飼育施設は設備の行き届いた専用区域を用意すべきであり、一時的に研究室や居室の一部を割いて動物実験に充てるようなことをしてはならない。
- (2) 飼育室は温度、湿度、換気、気流、臭気、騒音、照明等を配慮しなければならない。動物の種類や実験の目的に応じて、施設等の環境を恒常的に保つために必要な空調設備等を設ける。
- (3) 本学飼育施設では、表3に示した実験動物施設基準研究会による環境基準値を目標値として、良好な飼育保管環境の保持に努める。

表3 環境基準（実験動物施設基準研究会）

温 度	マウス、ラット、ハムスター、モルモット 20～26℃
湿 度	望ましい基準値 40～60% （許容範囲 30～70%）
換気回数	10～15回／時
気流速度	望ましい範囲 13～18cm／秒 （許容範囲 10～25cm／秒）
臭 気	アンモニア濃度で20ppmを超えない。
騒 音	60ホンを超えない。
照 明	床上85cmの高さで 150～300ルクス
照明時間	タイマーにより明を12～14時間、暗を12～10時間に設定するのが一般的である。これは特にげっ歯類の繁殖を必要とする飼育において、安定した性周期を得るために有効である。

2) 飼育設備

- (1) 飼育棚や飼育器は飼育管理作業の省力化や動物間の感染症の予防に有効なものがあり、導入にあたっては考慮すべきである。
- (2) ケージは動物の頭が天井につかえず、横臥でき、ゆったり向きが変えられる広さ、足を痛めない床、そして動物種に応じた逸走防止の構造と堅牢な材質のものにする必要がある。
- (3) 動物に必要な広さについて、我国には明確な基準がないので、アメリカのNational Research Councilの基準（1996年）を参考にする（補遺1）。

6. 実験操作

動物実験の実施に当たっては、科学上の利用に必要な限度において実験動物に与える苦痛を軽減すべきである。動物実験実施者および動物実験責任者は当該動物実験計画における具体的実験処置と予想される苦痛の程度を計画書に記述し、動物実験倫理委員会の審査と学長による承認を得て実験を開始する。

動物実験責任者および動物実験実施者は、試薬・薬剤、実験機材の保管を適切に行う。特に、規制対象となっている向精神薬・麻薬、毒薬、劇物および有機溶剤等の保管と使用については、当該法令および「尚絅学院大学化学薬品管理規程」等を遵守する。

動物実験実施者は、実験操作の実施に際して下記事項に留意する。また、動物実験責任者は動物実験実施者が下記事項を遵守すべく指導・監督をしなければならない。

- ・ 実験動物の保定や薬剤投与、試料採取などの手技の習得
- ・ 外科的処置に関する手技の習得（長時間に及ぶ開腹手術、開胸手術、開頭手術、整形外科の手術などの操作は、その操作を実施するのに十分な知識と経験を有する者の指導下で行う。）
- ・ 実験動物への苦痛軽減処置（麻酔、鎮痛、鎮静など）
- ・ 実験の中断や終了の基準（人道的エンドポイント）の遵守
- ・ 安楽死処置に関する知識と技術の習得

1) 実験動物の導入と環境馴化

(1) 実験動物の導入

- ・ 実験動物は全て動物実験計画の審査を経て学長に承認を得たものでなければならない。
- ・ 実験動物の選択と導入は本学の動物実験施設の能力の範囲内で行わなければならない。
- ・ 実験動物は合法的に入手されなければならない。

(2) 環境馴化期間

- ・ 動物実験への使用に先立ち実験動物の生理学的、心理学的、栄養学的な面から馴化期間を設ける必要がある。馴化に要する期間は動物種および実験動物の使用目的によっても異なるが、7日間の環境馴化を推奨する。
- ・ 馴化期間が7日未満の場合には、実験計画書または教育研修計画書に理由を明示しなければならない。

2) 実験動物の観察と健康管理

- ・ 動物実験実施者は個々の動物をできるだけ毎日観察すべきである。動物の状態に加え、餌、水、飼育機器などの状況も監視する。
- ・ 動物に異常を発見した場合、直ちに動物実験責任者と動物実験施設責任者は連絡を取り合い、実験の中止を含め適正な処置を行う。
- ・ 実験目的ではない疾病に罹患するか、損傷を受けた動物は速やかに治療を行うか、安楽死させる。
- ・ 実験目的ではない感染症の感染が疑わしい動物は他の動物から隔離し、その他の動物への感染伝搬防止及び当該動物の処置を含む適切な対策を講ずる。

3) 実験操作における配慮

(1) 動物に与える苦痛の程度

実験操作中に動物に与える苦痛の程度を知り、それをできるだけ軽減する措置を講ずることは動物

実験実施者の責務である。しかし、正確な苦痛の程度を知ることは容易なことではない。例えば、動物の痛覚についての科学的な知識を得るには、比較解剖学、比較生理学及び比較病理学を基礎にした類推と、人間が経験する痛みに伴う多角的反応をもとにした推測による以外に方法はない。従って、動物実験実施者が動物実験を行うときには、動物の痛みに関する科学的な研究からの認識に加えて倫理的な観点からの苦痛を十分に認識し、その軽減に配慮することが大切である。

補遺 2に動物に与える苦痛をもとに作られた医学生物学実験分類法 (Scientists Center for Animal Welfare (SCAW), 1987 年) の解説 (国立大学法人動物実験施設協議会、2004 年) を示した。これが絶対的なものではないが、一応の基準として各自の実験がどのカテゴリーに入るかを自己診断し、できるだけ下位のカテゴリーに移行するように努力する必要がある。

尚、この分類でカテゴリー E に属する実験は決して行ってはならない。

(2) 身体の保定

身体の保定とは、各種実験処置、例えば検査、材料採取、投薬、あるいは治療等のために、用手的にあるいは器具を用いて、実験動物の正常な動作を局所的にもしくは全身的に制限することをいう。適切な保定は動物に与える苦痛を著しく軽減し、実験操作を容易にかつ動物実験実施者への危害を防止できる。保定の良否は経験に左右されるので、熟練した技術者の協力を求めることが望ましい。保定器具 (固定器等) は、適切な大きさと操作しやすく、実験動物に与える不快感や傷害のできるだけ少ないものが求められる。保定器具を使用する場合は、実験動物を訓練して器具と動物実験実施者に馴化させることが重要である。そして、長時間の拘束は避けるべきであり、必要最小時間とする。

尚、保定とは不安や恐怖を与えずに動物を捕らえ、その動きを封じ、目的とする処置を行いやすくする措置であり、固定とも言う。

ボールマンケージなどによる長時間の保定は、研究目的の遂行に不可欠な場合を除いて避けるべきである。

保定に関して配慮すべき事項を以下に示す。

- ・ 保定期間は、研究目的を果たすに必要な時間限りとする。
- ・ 実験動物の状態を頻繁に観察する。
- ・ 保定に伴い外傷や体調不良が生じた実験動物は保定器具から解放する。
- ・ 保定器具を飼育器具と考えてはいけない。
- ・ 保定器具を実験動物の飼育管理に便宜的に使用してはいけない。

(3) 給餌および給水制限

実験の目的によっては、実験動物に対して給餌・給水を制限する場合がある。たとえこのことが動物実験のデータの信頼性・再現性を高めるために不可欠である場合でも、以下の点を十分に考慮しなければならない。

- ・ 実験上の理由から給餌・給水を制限する場合でも、最低必要量の飼料および水が摂取できるように計画する。
- ・ 研究を理由とした給餌・給水制限には科学的根拠が必要である。
- ・ 脱水状態をモニターするため、生理学的あるいは行動学的指標の観察に加えて体重測定などを実施する。

尚、動物実験倫理委員会では、特別な理由がない限り、許容できる絶食・絶水は連続して 24 時間以内を推奨する。

(4) 個体識別方法

個体の識別には、マジックやピクリン酸を用いて標識する。実験動物に侵襲を与えて識別する方法

（耳の切り込み、指切断など）は動物愛護の観点から認められない。マジックやピクリン酸による標識以外の方法を用いる場合は、その理由と動物への配慮を計画書に記載して申請し、動物実験倫理委員会の判断を求める。

(5) 被験物質の投与

被験物質の投与（投与経路、投与容量）については、EFPIA（欧州連邦製薬工業協会）、ECVAM（欧州代替法バリデーションセンター）の手引きに準じる。（補遺 3）

(6) 部分採血

- ・ 採血量と採血頻度： EFPIA（欧州連邦製薬工業協会）、ECVAM（欧州代替法バリデーションセンター）の手引きに準じる。（補遺 3）
- ・ 採血方法： 尾静脈、外頸静脈または顔面動静脈からの採血を推奨する。
無麻酔下での眼窩静脈叢からの採血が必要な場合は、その必要性を実験計画書に記載して申請し、動物実験倫理委員会の判断を求める。

(7) 外科的処置および術後管理

- ・ 外科的処置による侵襲を実験動物に加える場合は、研究の目的を損なわない範囲で実験動物の苦痛をできるだけ軽減するため、特に以下のことに留意する。
- ・ 手技そのものを向上させることのほか、術中の無菌操作および術後管理が重要である。
- ・ 化管など非無菌的部位を外科的に露出し、あるいは当該処置によって免疫機能が低下すると思われる場合は、研究の目的を損なうことのない範囲で抗生物質を投与する。但し、抗生物質の投与は無菌操作に代わるものではない。
- ・ 大規模な存命手術（開腹術、開胸術、開頭術など）においては、体腔が侵襲・露出されるか、実質的な物理学的・生理学的損傷がもたらされるので、無菌操作、麻酔・鎮痛処理および補液、保温は不可欠である。
- ・ 小規模存命手術（傷口の縫合、末梢血管へのカニューレ挿入など）では体腔の露出はなく、物理的損傷はほとんど、あるいはまったく生じないので、その実施条件は大規模手術ほど厳密ではない。しかし、器材の滅菌と適切な麻酔は必要である。
- ・ 侵襲性の高い大規模な存命手術は、その操作を実施するのに十分な経験と知識を有する動物実験責任者もしくは試験担当者の指導・直接監督の下で実施しなければならない（十分な経験を持つ指導者を計画書に明記して申請する）。

(8) 鎮痛処置、麻酔

実験動物に無用な苦痛を与えないように麻酔薬、鎮痛薬及び精神安定剤を適切に使用することは、動物愛護の観点のみならず、実験成績の信頼性や再現性を確保するうえで重要である。

- ・ 鎮痛処置は、実験動物が示す痛み症状を感知することから始まる。動物が痛みを感じている場合、鳴き声をあげる、沈鬱になる、異常な表情あるいは姿勢をとる、動かなくなるなど、動物種それぞれに特有の行動を示す。
- ・ 異常を感知するためには、その動物種（あるいはその個体）が安らいでいる時の行動学的、生理・生化学的指標を事前に知っておくことが重要である。
- ・ 実験動物に与える不安、苦痛、痛みを避けるか、最小限にとどめるように努力する必要がある。
- ・ たとえ僅かであっても苦痛や痛みを与える実験では、科学的に明確な理由がない限り、適当な鎮静薬、鎮痛薬、麻酔薬を用いるべきである。
- ・ 激しい又は慢性の痛みや苦痛を与える実験で、実験終了後生存できない動物は無痛の方法で実験後、必要ならば実験中に安楽死させるべきである。
- ・ 研究の目的を損なうことのない鎮痛・麻酔方法を選ぶためには、必要に応じて医師、獣医師、

薬剤師などの専門家に助言を求める。

- ・ 実験遂行上これらの薬物を使用せずに痛みを伴う実験処置を行う際には、動物実験責任者は必要に応じて計画書にその処置を記載し、動物実験倫理委員会の判断を求める。
- ・ **補遺 4** に動物実験に用いられる代表的な麻酔薬とその方法を示す。さらに**補遺 5** に日本実験動物医学会の「げっ歯類の胎児・新生児の鎮痛・麻酔および安楽死に関する声明」を示す。

(9) 人道的エンドポイント

人道的エンドポイント (human endpoint) とは、実験動物を激しい苦痛から解放するための実験を打ちきるタイミング (すなわち安楽死処置を施すタイミング) をいい、実験動物が死亡するまで実験を続けるような実験計画の設定 (death as endpoint) に対比して使われる用語である。

- ・ 動物実験は死亡ではなく、瀕死をもって安楽死処置により終了することを原則とする。
- ・ 動物実験の最終段階において、あるいは、鎮痛薬、鎮静薬などでは軽減できないような疼痛や苦痛から実験動物を解放する手段として安楽死処置を行う (苦痛軽減方法のひとつ)。
- ・ 活動性低下、摂水量の低下、食欲低下などの一般行動、立毛、被毛の汚れ、異常姿勢などの外観、急激な体重減少 (数日間で 20%以上)、浅速呼吸などの生理機能と痛みの指標や腫瘍のサイズの著しい増大 (体重の 10%以上) などを人道的エンドポイントの適用の目安とする。
- ・ 苦痛度の高い動物実験、たとえば致死的な毒性試験、放射線照射などを行う場合、または外科的処置などの侵襲を加える場合、実験実施責任者は動物実験を計画する段階で得られる死の予測因子の情報 (死亡率の推定値、LD₅₀ の推定範囲、推定される臨床症状など) を事前に入手し、エンドポイントの設定を検討し、動物実験倫理委員会の承認を求める。

4) 実験終了時の措置

(1) 安楽死処置

動物実験計画に従って動物実験終了後に実験動物を処分する場合、あるいは動物実験の過程で実験動物に激しい苦痛がみられ、麻酔、鎮痛処置を加えることが研究の遂行上適用できないと判断された場合は、動物実験実施者が安楽死処置を行う。

- ・ 動物実験実施者は、実験が終了あるいは中断した時には、実験動物を「速やかに」かつ出来る限り「苦痛を与えない方法で」致死させなければならない。しかし、その方法が、死後の検索に障害となるものであってはならない。また、死の確認を確実に行うことは重要である。
- ・ 適正な安楽死法は、動物種毎に異なるため、事前に十分に検討されるべきである。麻酔薬の使用が一般に受け入れられており、ほとんどの動物種でバルビタール系薬剤の静脈内または腹腔内過剰投与により、速やかに人道的に致死させることができる。小動物の場合は、物理的方法 (頸椎脱臼、断頭) も認められる。また、チャンバー内で炭酸ガスまたはエーテルを作用させる方法も有効である。クロロホルムは人体に有害であり、発癌性が疑われるので使用しない。
- ・ **補遺 6** に実験動物の安楽死処置法を示す。

(2) 履行結果の報告

動物実験責任者は、承認された動物実験を履行した後、所定の様式で実験終了報告書を作成し (様式 5)、動物実験倫理委員会に提出する。実験終了報告書には使用実験動物数、計画からの変更の有無、変更内容および変更理由について記載を行い、動物実験倫理委員会の審査を受ける。

7. 実験動物の飼養および保管

施設等において、動物愛護に配慮しながら動物実験等のデータの科学的信頼性を高め、かつ、動物

実験実施者の安全を確保するためには、実験動物を適切に飼養・保管しなければならない。その際には、次の事項について検討する必要がある。

- ・ 飼養あるいは保管の目的（試験研究か教育かなど）
- ・ 動物種、系統、性別、齢、体格、行動、履歴、健康状態等の個体の特徴
- ・ 関連法令により、飼養等の許可が必要であるかどうか（特定動物や特定外来生物に該当する実験動物を飼養、保管する場合には、国または自治体の許可が必要である。）
- ・ 個別飼育か群飼育か
- ・ 飼育期間
- ・ 動物実験等の処置の内容（身体への侵襲とその程度、日常的な観察項目など）
- ・ 遺伝子組換え操作、免疫抑制処置、感染性あるいは発がん性物質の投与

1) 飼養および保管の基本

実験動物施設管理者および動物実験実施者は、当該実験動物に固有の生理、生態、習性が発揮され、ストレスをできる限り抑えることを目標に実験動物を飼養または保管する。異種又は複数の実験動物を同一の施設などで使用および保管する場合には、動物実験等の目的の達成に支障を及ぼさない範囲で、その組み合わせを考慮した収容を行う。動物実験実施者は、実験動物の健康及び安全の保持のため、動物実験等の目的の達成に支障を及ぼさない範囲で適切に給餌および給水を行う。

2) ケージ内環境と飼育室の環境

ケージ内および飼育室の環境は換気により連結しているが、温度・湿度等に隔たりが生じる場合もある。ケージ内環境の温度・湿度およびガス状・粒子状物質の濃度は一般に高値を示す。飼育する実験動物の代謝および生理学的機能等に予想外の影響を及ぼし、あるいは疾病に対する感受性を変化させないように、ケージ等の飼育機材には以下の配慮が必要である。

- ・ 動物種に応じた逸走防止の構造と強度を有すること。
- ・ 個々の実験動物が容易に摂餌、摂水できること。
- ・ 実験動物にとって安全であること（鋭利な辺縁や突出物がない、ケージ間隙等に体や四肢を挟まれない。
- ・ できるだけ動物の行動を妨げずに観察できること。
- ・ 給餌、給水作業および給餌・給水器の交換が容易であること。
- ・ 洗浄、消毒あるいは滅菌等の作業が容易な構造で、それに耐える材質であること。
- ・ 床敷き等の必要性およびその交換頻度が適正であること

3) 飼料

動物実験実施者は、基本的に実験動物の嗜好にあった汚染のない栄養学的に適正な飼料を毎日与える。また、飼料を介して病原微生物およびそれを伝搬するベクター（昆虫など）、あるいは汚物化学物質等が施設等に持ち込まれないように注意する。飼料およびその原料処理・保管する区域は清潔に保ち、害虫の侵入防止対策を整える。飼料の保存期間は、保存温度や飼料の品質等を踏まえて飼料毎に動物実験責任者が判断する。給餌器は摂餌しやすいように、また、糞尿で汚染されないように管理する。

4) 飲水

動物実験実施者は、給水瓶や自動給水装置などの給水器を毎日点検し、適切に機能していることお

よび清潔に保たれていることを確認する。自動給水装置からの飲水に慣れていない個体は、観察を怠ると脱水状態におちいるおそれがある。このような場合は、飲水方法を丁寧に訓練しなければならない。給水瓶は微生物の伝搬を予防するうえで、水を補充するのではなく給水瓶自体を洗浄、または交換する。

5) 記録類の保管

動物実験施設管理者は、実験動物の入手先、飼養の履歴、病歴等ならびに飼育環境等に関する記録台帳を整備する等、実験動物の記録管理を適正に行うように努め、施設等での実験動物の飼養および保管に役立てる。

8. 実験動物の健康管理

実験動物の健康管理は科学的に行われなければならない。実験動物施設管理者および動物実験責任者は、実験動物が動物実験等の目的と無関係に傷害を負い、または疾病にかかることを予防するため、必要な健康管理を行わなければならない。また、動物実験等の目的と無関係に傷害を負い、または疾病にかかった場合には、動物実験等の目的の達成に支障を及ぼさない範囲で、適切な治療等を行う。このため、動物実験施設管理者、動物実験責任者は実験動物の健康状態に関する情報を相互に提供し、速やかに必要な措置を講じるよう努めなければならない。

実験動物の健康管理は、動物種の生態、習性あるいは生理・解剖学的特性を理解し、その正常と異常を区別し、さらに実験処置等による異常とそれ以外の原因による異常を区別する必要があるため、実験動物施設管理者のみならず関係者の協力が不可欠である。また、必要に応じて、それぞれの動物種の疾病等の専門家に助言を求める。

実験動物の健康管理において、感染症の発症予防は動物や人への影響、実験成績への影響等から特に重要であり、動物種や動物実験等の目的に応じて、実験動物の検疫・隔離等を検討しなければならない。

9. 安全管理

学長は、関連法令に基づき施設等における作業について安全衛生の確保に努める。また、実験動物施設管理者および動物実験責任者が実験動物に由来する疾病にかかることを予防するため、必要な設備を整えるとともに健康管理を行う。物理的、化学的に危険な材料または病原微生物（以下、危険因子）を取扱う動物実験等、ならびに遺伝子組換え生物を用いる動物実験においては、人や実験動物の安全と健康、生態系への影響、実験動物が傷害を受けることによる実験結果の信頼性の低下等が起こらないようにしなければならない。また、動物実験実施者および周辺施設等に対する公衆衛生、生活環境及び生態系保全上の支障を防止するために必要な措置を講じなければならない。

1) 危険因子の把握と取扱い

学長および動物実験施設管理者は、労働安全衛生上の危険因子を把握する。その危険度評価に当たっては、必要に応じて専門家に意見を求める。動物実験責任者は、実験計画の立案段階で実験動物施設管理者に危険因子の種類と危険性について説明し、危険因子を有する実験動物の飼養・保管場所や安全設備の使用について協力を求める。また、動物実験責任者は、動物実験実施者に危険因子の危険性やその取扱い方法および災害防止等に必要な情報を提供する。

・病原微生物および化学物質の危険度に対する評価は、関連するガイドラインあるいはデータベース

等を参考に行う。

- ・危険因子を使用する区域や部屋には危険因子の表示を行う。尚、遺伝子組換え実験については、法の定めに従って表示する。

2) 実験動物による危害等の防止

動物実験等に関わる特有の危険因子として、病原体に自然感染した実験動物から人への感染、実験動物の被毛等によるアレルギー、実験動物による咬傷や搔傷などがある。実験動物施設管理者および動物実験実施者は、当該実験動物の取り扱い方法について相互に情報の提供等を行い、実験動物による危害を予防する。

- ・動物実験等の実施において実験動物による咬傷を受けないように、動物実験実施者に予め必要な教育訓練を行う。
- ・実験動物の飼養及び保管並びに動物実験等に関係のない者が、実験動物に接することのないよう必要な措置を講じる。

3) 実験動物の逸走時の対応

管理者等は、実験動物が保管設備等から逸走しないように、必要な措置を講じる。作業時以外は実験動物を収容するケージの蓋をきちんと閉める。

- ・飼育室のドアは常時閉鎖とし、動物実験区域への入り口は施錠する。
- ・作業の開始時および終了時に実験動物数を確認する。
- ・実験動物が施設等から逸走した場合を想定した措置方法等を予め決める。
- ・人に危害を加える等のおそれがある実験動物が施設等から外部に逸走した場合には、速やかに関連機関に連絡する。

4) 緊急時の対応

動物実験施設管理者は、地震、火災等の緊急時に採るべき措置に関する計画を予め作成する。

- ・緊急事態が発生したときは、速やかに、実験動物の保護ならびに実験動物の逸走による人への危害等および環境保全上の問題等の発生防止に努める。
- ・休日や夜間ならびに非常時の連絡網を整備し、緊急連絡体制を確立する。

5) 生活環境の保全

管理者等は、実験動物の汚物の適切な処理を行うとともに施設等を常に清潔にして、微生物等による環境の汚染および悪臭、害虫等の発生の防止を図る。また施設等の整備により騒音の防止を図ることによって生活環境の保全に努める。

- ・動物実験等により発生した実験動物の死体や汚物等の廃棄物は、名取市における廃棄物の分類に従って適正に処理する。これらを一時的に保管する場合、悪臭の拡散や衛生昆虫等の飛来を防止する。
- ・動物実験等に使用した注射筒や注射針は、感染性の医療廃棄物として専用の容器に回収し、内容物の飛散等が生じないように厳重に保管し、自治体の条例等に従って処理する。

10. 教育訓練等の実施

学長は動物実験施設管理者および動物実験実施者に教育訓練が確保されるように努める。教育訓練は、動物実験に従事する前に実施する必要がある、その後も必要に応じて実施することが望ましい。

教育訓練を実施した場合は、規程等の定めに従って、実施日、教育内容、講師および受講者の氏名等を記録し、保存する。

適正な動物実験等の実施の観点から、次の事項のいずれかを教育訓練の対象に含めるものとする。

- ・ 関連法令、条例、指針等および規程に関する事項
- ・ 動物実験等および実験動物の取り扱いに関する事項
- ・ 実験動物の飼養保管に関する事項
- ・ 安全確保に関する事項
- ・ 施設等の利用に関する事項

11. その他

学長は、動物愛護に配慮した科学的な動物実験の推進を図るため、指針等ならびに規程等への適合性に関し、定期的に自己点検・評価を行う。また、学外者の者による検証を行うことを考慮する。自己点検・評価の記録は、規程等に従って一定期間保存する。

学長は、規程等に基づき当学における動物実験等に関する情報について、個人情報や研究情報の保護への影響に配慮しつつ、それぞれ適切と判断された方法で公開を行い、当学における動物実験等に係る情報の社会的透明性の向上につとめなければならない。

12. 動物愛護・動物実験倫理に関する法令、指針

● 動物の愛護および管理に関する法律

(1973 年法律 第 105 号)

http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/law_index.html

(2005 年 6 月改正、2006 年 6 月施行)

http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/amend_law2/index.html

● 実験動物の飼養および保管並びに苦痛の軽減に関する基準

(2006 年 4 月 環境省告示第 88 号)

http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/nt_h180428_88.html

● 動物の処分方法に関する指針

(1995 年 7 月総理府告示第 40 号)

http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/shobun.html

● 研究機関等における動物実験等の実施に関する基本方針

(2006 年 6 月 文部科学省告示第 71 号)

http://www.mext.go.jp/b_menu/hakusho/nc/06060904.htm

● 厚生労働省における動物実験等の実施に関する基本指針

(2006 年 6 月 厚生労働省通知)

<http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/i-kenkyu/doubutsu/0606sisin.html>

- 農林水産省の所管する研究機関などにおける動物実験等の実施に関する基本指針
(2006年6月 農林水産省通知)

http://www.s.affrc.go.jp/docs/press/2006/0601/press_060601.pdf

- 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン
(2006年6月 日本学術会議報告)

http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/law_index.html

13. 本ガイドラインの制定及び改廃

本ガイドラインの制定及び改廃は、動物実験倫理委員会委員長が決定するものとする。

補遺 1 推奨される動物実験飼育スペース

* 米国 National Research Council (1996) より抜粋。

動物数	体重 (g)	床面積／動物		高さ (b)	
		平方 in	平方 cm (a)	in	cm
マウス	<10	6.0	38.7	5	12.7
	15 まで	8.0	51.6	5	12.7
	25 まで	12.0	77.4	5	12.7
	>25 (c)	≥15.0	≥96.8	5	12.7
ラット	<100	17.0	109.7	7	17.8
	200 まで	23.0	148.4	7	17.8
	300 まで	29.0	187.1	7	17.8
	400 まで	40.0	258.1	7	17.8
	500 まで	60.0	387.1	7	17.8
	>500 (c)	≥70.0	≥451.6	7	17.8

- (a) 原文にはメートル法による数値が示されていないので換算値を示す。
 (b) 床面からケージの上端まで
 (c) より大きい動物は、その行動形態にあうようにより大きいスペースが必要

補遺 2 動物実験処置の苦痛分類に関する解説 [SCAW の倫理カテゴリー]

国立大学法人動物実験施設協議会 (平成16年6月4日 一部改変削除)

わが国では統一された苦痛分類はないが、米国の Scientists Center for Animal Welfare (SCAW) の苦痛分類に準拠しつつ各研究機関がそれぞれの状況に合わせた苦痛分類表を作成し、活用している例が多い。

一般に、動物実験における苦痛の評価は、動物が被る苦痛と研究成果とのバランスの観点から実験者自身が行い、さらにその妥当性を動物実験委員会が判断すべきものである。しかし、さまざまな種の動物への多様な実験処置に対する苦痛の程度を一律に分類・評価することは極めて困難である。ここでは一資料として SCAW の苦痛分類の解説を行う。この資料の目的は、実験者自身が実験処置によって動物が受ける苦痛の程度を自己評価し、動物の受ける苦痛について理解を深めること、及び動物実験倫理委員会が実験計画の審査の上で苦痛の程度を評価する際の参考とすることである。

倫理基準による医学生物学実験処置に関する分類

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。

Experiments involving either no living materials or use of plants, bacteria, protozoa, or invertebrate animal species.

生化学的研究、植物学的研究、細菌学的研究、微生物学的研究、無脊椎動物を用いた研究、組織培養、剖検により得られた組織を用いた研究、屠場から得られた組織を用いた研究（解説1）。発育鶏卵を用いた研究（解説2）。無脊椎動物も神経系を持っており、刺激に反応する。従って無脊椎動物も人道的に扱われなければならない。

（解説1）生化学的研究、植物学的研究、細菌学的研究、微生物学的研究、無脊椎動物を用いた研究、組織培養、剖検により得られた組織を用いた研究、屠場から得られた組織を用いた研究
動物実験を規制するわが国の法律では、規制対象動物を爬虫類以上としている。そのためこれらの研究に関する実験計画書は動物実験委員会の審査対象外である。しかし、動物福祉の観点からは動物実験に代わる代替法を考慮する必要がある、もし動物を用いずに実験目的を達成できる場合には、これらの方法を考慮すべきである。また、他の研究者が実験に用いた安楽死後の動物の器官や組織を共有することは、動物の使用数を減らすことにつながるので望ましい。

（解説2）発育鶏卵を用いた研究

発育鶏卵を使用する場合には、もし孵化が実験に必要でないならば、卵は孵化の前に破壊されなければならない。孵化させる場合には苦痛のカテゴリーはB以上となる。
なお、胎児の実験については SCAW の分類に記されていないが、胎児の苦痛やストレスについては判断の分かれるところである。イギリスの Animals (Scientific Procedures) Act 1986 では妊娠期間の半分を越えた場合、動物個体として同等に扱っている。

カテゴリ-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。

Experiments on vertebrate animal species that are expected to produce little or no discomfort.

実験の目的のために動物をつかんで保定すること。あまり有害でない物質を注射したり、あるいは採血したりするような簡単な処置。動物の体を検査（健康診断や身体検査等）すること（解説3）。深麻酔下で処置し、覚醒させずに安楽死させる実験（解説4）。短時間（2～3時間）の絶食絶水（解説5）。急速に意識を消失させる標準的な安楽死法。例えば、麻酔薬の過剰投与、軽麻酔下あるいは鎮静下での頸椎脱臼や断首など（解説6）。

（解説3）実験の目的のために動物をつかんで保定すること。あまり有害でない物質を注射したり、あるいは採血したりするような簡単な処置。動物の体を検査すること。
動物診療所において、通常行われる診断・治療処置と同等の処置。例えば、健康診断のための最小限の拘束、薬物の投与などの注射、採血。脳波、心電図、筋電図の測定などがある。

（解説4）深麻酔下で処置し、覚醒させずに安楽死させる実験
外科的手術を伴う非存命実験などが該当し、処置中、処置後に意識が回復しない実験。使用する麻酔薬は、動物種に合った適切なもので、現在の医療あるいは獣医療で一般的に使われているものとする。なお、多くの麻酔薬は要指示薬として、劇薬、毒薬及び向精神薬の指示を受けている物もあり、適切な管理が薬事法により求められていることにも留意する。また、新しい技術や試薬についての知識を得るようつとめることが必要である。

（解説5）短時間（2～3時間）の絶食絶水
SCAWの分類では2～3時間（a few hours）となっているが、動物種によって代謝時間が異なることから、許容される絶食・絶水時間の長さを一律に定めることはできない。麻酔の前処置あるいは血清生化学検査のための採血等のために10数時間程度までの絶食（水は自由摂取）を行うことは認められる。また、マウス、ラット、ウサギのように麻酔による嘔吐をほとんど無視できる動物では、麻酔の前処置としての絶食は必要がない。なお、長時間の絶水は、絶食以上に動物の生理状態や代謝に影響することから特に注意を要する。

（解説6）急速に意識を消失させる標準的な安楽死法。例えば、麻酔薬の過剰投与、軽麻酔下あるいは鎮静下での頸椎脱臼や断首など。
深麻酔下での放血やKCl等の投与は、安楽死法として認められる。齧歯類の頸椎脱臼は、熟練者が行う場合は無麻酔でも認められる。
安楽死の方法は動物種によって異なるが、米国獣医師会（AVMA）の2000 Report of the AVMA Panel on Euthanasia が多くの国において参照されている。それによると安楽死法の評価基準として以下のような項目が示されている。

- 1) 痛みや不安を伴わずに意識の消失と死を誘発できること
- 2) 意識消失までに要する時間が短いこと
- 3) 致死までに要する時間が短いこと
- 4) 確実であり、不可逆的であること
- 5) 実施者にとって安全であること
- 6) 心理的ストレスが少ないこと
- 7) 目的や必要性に適していること
- 8) 実施者ならびに周囲の人に情緒的な影響が少ないこと
- 9) 動物種、年齢、健康状態に対して適切であること
- 10) 組織を病理学的に評価、検査するに当たり適切であること
- 11) 薬物の入手のしやすさと薬物による弊害を考慮すること
- 12) 安楽死装置が適切に作動するように常に維持されていること

カテゴリ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。

Experiments that involve some minor stress or pain (short-duration pain) to vertebrate animal species.

麻酔下で血管を露出させること、あるいはカテーテルを長期間留置すること（解説 7）。行動学的実験において、意識ある動物に対して短期間ストレスを伴う保定（拘束）を行うこと（解説 8）。フロインドのアジュバントを用いた免疫（解説 9）。苦痛を伴うが、それから逃れられる刺激（解説 10）。麻酔下における外科的処置で、処置後も多少の不快感を伴うもの（解説 11）。カテゴリCの処置は、ストレスや痛みの程度、持続時間に応じて追加の配慮が必要になる。

（解説 7）麻酔下で血管を露出させること、あるいはカテーテルを長期間留置すること。

これらの処置を行うに当たっては、術後の感染防止に配慮する。処置後に動物の意識を回復させない実験はカテゴリBに含まれる。

麻酔から覚醒後もカテーテルを留置させる場合には、解説 11 を参照。

（解説 8）行動学的実験において、意識ある動物に対して短期間ストレスを伴う保定（拘束）を行うこと。

ストレスが生体に及ぼす影響を調べるための実験。例として、拘束ストレス負荷後の血中ホルモン濃度の変化の測定。モンキーチェアやボールマンケージを用いる実験はこれに該当し、拘束器具への馴化、拘束期間中の監視あるいは頻繁な観察、実験の中断や終了時期の判断に特に配慮すべきである。情動的反応が高い霊長類などにおいては特に注意を要する。

（解説 9）フロインドのアジュバントを用いた免疫。

SCAW の分類ではフロインドのアジュバントを使用する実験はカテゴリCとしているが、コンプリートアジュバント（FCA）は動物が被る苦痛が大きいことから最近では CCAC の分類も含めカテゴリDとしているところが多い。FCA のフットパッドへの接種は苦痛が大きいことから避けるべきである。インコンプリートアジュバントを使用する実験はカテゴリCである。FCA 以外のより苦痛の低いアジュバントの選択も考慮する。

（解説 10）苦痛を伴うが、それから逃れられる刺激。

これらに該当する実験には麻酔薬や鎮痛薬の効果を調べるためのテイルフリック試験、ホットプレート試験、電気ショックを用いたプリンチジャンプ試験、つまみ試験などが含まれる。このような試験において動物に与える苦痛は効果を判定出来る最小限の苦痛でかつ、必要最小の時間で行うように制限する。例えば、ホットプレート試験では温度を 50 度以上にする必要があるが、動物の足組織の損傷を避けるために上限は 70 度以下とする等が一つの目安と考えられる。この種の実験のポイントは、苦痛を起こす刺激からの回避が可能なことである。実験装置の不具合等により刺激からの回避が不可能になると、実験の目的以外の苦痛を強いるので特に注意が必要である。

（解説 11）麻酔下における外科的処置で、処置後も多少の不快感を伴うもの。

例として、処置後の苦痛の程度が軽微な開腹手術、開胸手術、開頭手術、整形外科的手術が該当する。術後管理に配慮すべきであり、特にイヌ、ネコ、霊長類等においては、通常の臨床獣医学的な術後管理を目指すべきである。

体内に電極等の器具を埋め込む場合にも、麻酔下で無菌的に行われなければならない。術後の苦痛あるいは感染症を予防するために鎮痛剤や抗生物質の投与が考慮されるべきである。麻酔薬、鎮痛剤および鎮静剤の選択と投与量は、動物種によって異なるため、その動物種に適したもの、さらに実験の目的に適したものを使用する。同じ処置であっても、動物種、処置部位・程度、術者の経験、術後管理等により動物が被る苦痛は異なり、処置後の不快感の判断についても非常に難しい。そのため行おうとする処置がカテゴリCに属するかDに属するかは判断の分かれるところであり、各機関の委員会でも動物が被る苦痛と研究成果のバランスにもとづいて判断することとなる。

カテゴリ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。

Experiments that involve significant but unavoidable stress or pain to vertebrate animal species.

行動面に故意にストレスを加え、その影響を調べること（解説 12）。麻酔下における外科的処置で、処置後に著しい不快感を伴うもの。苦痛を伴う解剖学的あるいは生理学的欠損あるいは障害を起こすこと（解説 13）。苦痛を伴う刺激を与える実験で、動物がその刺激から逃れられない場合（解説 14）。長時間（数時間あるいはそれ以上）にわたって動物の身体を保定（拘束）すること（解説 15）。本来の母親の代わりに不適切な代理母を与えること（解説 16）。攻撃的な行動をとらせ、自分自身あるいは同種他個体を損傷させること（解説 17）。麻酔薬を使用しないで痛みを与えること。例えば、毒性試験において、動物が耐えることのできる最大の痛みに近い痛みを与えること。つまり動物が激しい苦悶の表情を示す場合。放射線障害をひきおこすこと。ある種の注射、ストレスやショックの研究など（解説 18）。カテゴリDに属する実験を行う場合には、研究者は、動物に対する苦痛を最小限のものにするために、あるいは苦痛を排除するために、別の方法がないか検討する責任がある。

（解説 12）行動面に故意にストレスを加え、その影響を調べること。

行動ストレスとして、強制走行、強制水泳、あるいは運動制限（半重力下の懸垂実験）などが相当し、ストレスの効果として筋肉の解剖学的あるいは生理学的変化をみる実験などが該当する。睡眠行動や食餌行動を変化させ、その効果をみる実験においても、重度のストレスや痛みを伴う実験であれば該当する。動物が被るストレスは実験目的を達成するために必要最小限のものとする。

（解説 13）麻酔下における外科的処置で、処置後に著しい不快感を伴うもの。苦痛を伴う解剖学的、生理学的欠損あるいは障害を起こすこと。

処置後の苦痛の程度が顕著な開腹手術、開胸手術、開頭手術、整形外科的手術が該当する。解説 9 にも記したが、カテゴリCの麻酔下における外科的処置で、処置後も多少の不快感を伴うものとの区別がつきにくい。また、同じ個体に対してこのような処置を複数箇所に加えることは慎むべきである。しかし、実験者によってその正当性が説明され、かつ、動物実験委員会がそれを承認すれば、その実施を認めてもよい。

（解説 14）苦痛を伴う刺激を与える実験で、動物がその刺激から逃れられない場合。

例として、痛みの研究に関する実験があげられる。これに関しては解説 10 及び 12 を参照されたい。また、腫瘍細胞の移植、毒性試験のための化学物質の投与、感染実験、遺伝子改変動物を含む重篤な疾患モデル動物の作出もこの中に含まれる。それらに関しては解説 18 も参照されたい。さらに、環境中の重力の場、照明、騒音、温度、湿度、大気圧、酸素などを変更する実験もその環境から逃れられないという点でこの中に含まれる。ただし、それにより重度な痛みやストレスが生じなければDに相当しない。

（解説 15）長時間（数時間あるいはそれ以上）にわたって動物の身体を保定（拘束）すること。

例えば、モンキーチェアやボールマンケージを用いる実験はこれに該当する。長期にわたる拘束は避けるべきであるが、動物を長期間にわたり拘束しなければならない場合には、摂餌水、排泄など動物にとって生物学的に必要な行動を可能とさせ、動物種によっては適度な運動を与えるべきである。

拘束器具への馴化、拘束期間中の監視あるいは頻繁な観察、実験の中断や終了の時期の判断に特に配慮し、拘束による障害が見られる場合には、動物を拘束器具から解放するか、あるいは拘束方法を改善しなければならない。

（解説 16）本来の母親の代わりに不適切な代理母を与えること。

マウス、ラット、ウサギ等ではそれらの SPF 化にあたり、代理母を与えることは一般に行われており、カテゴリDには当たらない。しかし、この処置は、緊密かつ長期間の親子関係を構築する霊長類において、特に配慮が必要である。

(解説 17) 攻撃的な行動をとらせ、自分自身あるいは同種他個体を損傷させること。

動物の中枢神経系を傷害するような研究において、自分自身あるいは同種同居個体を損傷させるような攻撃的行動を取ることが考えられる。そのような実験では、処置後の動物を十分に観察し、飼育方法についても特別な注意を払う必要がある。

(解説 18) 麻酔薬を使用しないで痛みを与えること。例えば、毒性試験等において、動物が耐えることのできる最大の痛みに近い痛みを与えること。つまり動物が激しい苦悶の表情を示す場合。放射線障害をひきおこすこと。ある種の注射、ストレスやショックの研究など。

放置すれば死に至るような発癌実験あるいは腫瘍の移植実験、感染実験、重篤な病気の疾患モデル動物や遺伝子改変動物を用いた実験などもカテゴリDに含まれる。このような実験においては、できるだけ早い時期をエンドポイントにして、動物が被る苦痛やストレスを最小限に抑えるべきである。頻繁な観察により苦痛の徴候を判断し、実験目的の範囲で苦痛軽減の処置や安楽死を施す。例えば、腫瘍が体重の10%を超えた場合、2～3日の間に20%以上の体重減少あるいは7日で25%以上の体重減少の場合、安楽死を考慮すべきである。それができない場合には、実験の正当性を実験計画書に詳述する必要がある。

実験処置により受ける動物の苦痛について、生理学的反応等から動物はヒトに比べて感受性が低いとする考え方がある。一方、動物が感じる苦痛の程度はヒトが感じる苦痛の程度と同程度であるとみなして判断しようとする考え方もある。このため、カテゴリCまたはDの判断については、実験処置の必要性や代替手段の有無、苦痛軽減のための配慮、研究の社会的意義などについて、研究者は十分な説明を行い、委員会はその妥当性を判断しなければならない。

カテゴリ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。

Procedures that involve inflicting severe pain near, at, or above the pain tolerance threshold of unanesthetized, conscious animals.

手術する際に麻酔薬を使わず、単に動物を動かなくすることを目的として筋弛緩薬あるいは麻痺性薬剤、例えばサクシニルコリンあるいはその他のクラーレ様作用を持つ薬剤を使うこと（解説 19）。麻酔していない動物に重度の火傷や外傷をひきおこすこと（解説 20）。精神病のような行動をおこさせること（解説 21）。家庭用の電子レンジあるいはストリキニーネを用いて殺すこと（解説 22）。避けることのできない重度のストレスを与えること。ストレスを与えて殺すこと（解説 23）。カテゴリEの実験は、それによって得られる結果が重要なものであっても、決して行ってはならない。カテゴリEに属する大部分の処置は、国の方針によって禁止されており、したがって、これを行った場合は、国からの研究費は没収され、そして（または）その研究施設の農務省への登録は取り消されることがある（解説 24）。

(解説 19) 手術する際に麻酔薬を使わず、単に動物を動かなくすることを目的として筋弛緩薬あるいは麻痺性薬剤、例えばサクシニルコリンあるいはその他のクラーレ様作用を持つ薬剤を使うこと。

筋弛緩薬は、適切な全身麻酔などの適切な処置が施されていないならば使用してはならない。筋弛緩薬だけを用いて動物を不動化することは認められない。これらの薬剤が麻酔薬と併用して使用される場合には、麻酔の深度が適切に保たれるように注意しなければならない。

(解説 20) 麻酔していない動物に重度の火傷や外傷をひきおこすこと。

SCAW の分類では麻酔していない動物に重度の火傷や外傷をひきおこすことは禁じられている。しかし、処置中、必要なら処置後に麻酔や鎮痛薬を投与して行うことは許される。ただしその際にも、十分な正当性があり、委員会の承認が必要となる。

(解説 21) 精神病のような行動をおこさせること。

イヌ、ネコ、霊長類などの高度の情動反応を示す動物に対して極度のストレスを加えることにより、精神病のような行動をおこさせる実験は止めるべきである。精神病モデルはラット等を用いることが多いが、イヌ、ネコ、霊長類などを使用しなければならない場合は、実験者によ

ってその正当性が提示され、動物実験委員会が、動物が被る苦痛と研究成果のバランスをもとにその正当性を確認すべきである。

(解説 22) 家庭用の電子レンジあるいはストリキニーネを用いて殺すこと。

小動物の安楽死のために専用の電子レンジが開発されているが、我が国では一般的でない。

硝酸ストリキニーネあるいは空気栓塞により動物を殺すことは、実験動物の飼養及び保管等に関する基準の解説（ぎょうせい、1980）にも記されているように禁止されている。

(解説 23) 避けることのできない重度のストレスを与えること。ストレスを与えて殺すこと。

動物を叩いたり、押しつぶしたりして殺すこともこの中に含まれる。動物を殺す場合には、わが国で認められている安楽死法を用いる。安楽死法に関しては解説 4 を参照のこと。

(解説 24) カテゴリー E の実験は、それによって得られる結果が重要なものであっても、決して行っ
てはならない。カテゴリー E に属する大部分の処置は、国の方針によって禁止されてお
り、したがって、これを行った場合は、国からの研究費は没収され、そして（または）
その研究施設の農務省への登録は取り消されることがある。

SCAW の分類では、「カテゴリー E の実験は米国の方針で禁止されている」となっているが、SCAW の分類が掲載されている論文（Consensus Recommendation on Effective Institutional Animal Care and Use Committees）では、カテゴリー E の処置については各研究機関で独自の方針を持つことが望ましいとされ、カテゴリー E の実験であっても研究機関の動物実験委員会が正当性を認めれば実施することも可能であると理解される。実際に、USDA の年次報告にもカテゴリー E の実験が行なわれていることが示されている。

補遺3 実験動物の被験物質の投与（投与経路、投与容量）及び採血に関する手引き

EFPIA（欧州連邦製薬工業協会）、ECVAM（欧州代替法バリデーションセンター）2000年2月作成よりマウス、ラット部分を抜粋

表1 推奨投与容量（許容最大投与容量を含む）

種	投与経路と投与容量(mL/kg *は mL/投与部位)					
	経口	皮下	腹腔内	筋肉内	静脈内 (急速)	静脈内 (低速)
マウス	10 (50)	10 (40)	20 (80)	0.05* (0.1)*	5	(25)
ラット	10(40)	5(10)	10 (20)	0.1* (0.2)*	5	(20)

表に関連する脚注：

- ・非水性注射物については吸収時間を考慮の上、再投与すること
- ・筋肉内投与の投与部位は1日あたり2箇所を超えないこととする
- ・皮下投与の投与部位は1日あたり2～3箇所までとする
- ・皮下投与の投与部位については Freund のアジュバンドの投与は含まない。

表2 反復静脈内持続注入－投与容量／投与速度
(許容最大投与量／投与速度を含む)

1日の投与時間	1日の総投与液量(mL/kg)		速度(mL/kg/h)	
	4時間	24時間	4時間	24時間
マウス	－	96(192)	－	4(8)
ラット	20	60(96)	5	2.5(4)

(-)：データなし

* 非水性注射物に関しては本文を参照

ラットへの注入速度は一般的に1～4mL/kg/hの範囲である(Cave et al 1995; Barrow & Heritier 1995; Loget et al 1997)が、催奇形性試験を行う際には2mL/kg/hを超えてはならない。マウス(van Wijk 1997)の値は1ヵ月反復投与試験の成績に基づいている。

表3 実験動物の循環血液量

動物種	血液量(mL/kg)	
	推奨平均値*	平均値の範囲
マウス	72	63-80
ラット	64	58-70

*：推奨平均値は平均値の範囲の中央値

表 4：採血許容量限界と回復期間

単回採血（毒性試験等）		反復採血（トキシコキネティクス試験等）	
採血量の循環血液量に対する割合（%）	およその回復期間	24 時間で採血する量の循環血液量に対する割合（%）	およその回復期間
7.5%	1 week	7.5%	1 week
10%	2 weeks	10－15%	2 weeks
15%	4 weeks	20%	3 weeks

トキシコキネティクス試験及び薬物動態試験では通常、少量の採血を反復しなければならず、採血量が多くなる（循環血液量の 20%）が、このように大量の血液を採取すると、血行動態に重大な影響が生じ、半減期の算出にも大きく影響することを忘れてはならない。

消失半減期は、動物を致死せしめる前 24 時間以内に最終の血液検体を採取すれば、算定できるものと思われる。上記表中の数値には、動物を最終的に麻酔で安楽死させる際に採取可能な最終の血液検体は含まれていない。提案の採血量についてはそのような介入処置を行うべきではないとしていることから、血液の補充（blood replacement）は考慮していない。

表 4 の値を用い、動物の正常な生理に著明な障害を与えない採血許容量の基準値(reference guide)を表 5 に示す。

表 5：各種動物種の総血液量及び推奨最大採血量（表示体重を基準とする）

種(体重)	血液量(ml)	7.5%(ml)	10%(ml)	15%(ml)	20%(ml)
マウス(25g)	1.8	0.1	0.2	0.3	0.4
ラット(250g)	16	1.2	1.6	2.4	3.2

表 6：各種採血法の利点と欠点

採血経路／静脈	全身麻酔	組織損傷 (1)	反復採血 の可否	採血量	動物種
頸静脈	不要	軽度	可	+++	ラット、イヌ、ウサギ
伏在静脈 ／外側足根静脈	不要	軽度	可	++(+)	マウス、ラット、マーモセ ット、マカク属、イヌ
舌下静脈	必要	軽度	可	+++	ラット
外側尾静脈	不要	軽度	可	++(+) +	ラット マウス、マーモセッ
尾の先切断 (1～3 mm 未満)	必要	中等度	制限あり	+	マウス、ラット
眼窩静脈叢	必要	中等度/ 高度	可	+++	マウス、ラット
心臓(2)	必要	中等度	不可	+++	マウス、ラッ ト、ウサギ

(1) 組織損傷の可能性は、組織損傷の発現率並びに後遺症（炎症反応、組織学的損傷など）の重症度に基づいている。

(2) 全身麻酔下での屠殺処理としてのみ実施

補遺 4 動物実験に用いられる代表的な麻酔薬と鎮痛薬

ここでは、当学で主に使用するマウス、ラットの全身麻酔法について紹介する（国立大学法人東北大学における動物実験等に関する規程とその解説（第6版）補遺6より抜粋引用）。この他の方法や実験動物については、専門書を参照ください。なお、麻薬及び向精神薬取締法に定められた麻酔薬（ペントバルビタール、ケタミン等）を研究に使用する施設は、厚生大臣又は都道府県知事に登録しなければならない。研究用として実験室等で使用する場合は、研究者個人が麻薬研究者の免許を取得し（問合せ先：宮城県保健福祉部薬務課）、厳密に管理する必要がある。研究室において研究を指導している責任者が、麻薬研究者の免許を取得すれば、他の研究員（学生等）は麻薬研究者の下、麻薬研究者の補助者としてケタミンを使用することができる。

1. マウス・ラットの全身麻酔法

(1) 注射麻酔

① ペントバルビタール

睡眠作用が強力で、心臓血管系及び呼吸器系の抑制作用が強く、鎮痛作用や筋弛緩作用はない。麻酔期が得られる用量は呼吸停止量に近いので、単独使用により睡眠状態を得る薬剤として少量を投与し、吸入麻酔薬（ジエチルエーテル、ハロタン、セボフルラン等）と併用することが望ましい。腹腔内投与が一般的に用いられ、投与量30～50mg/kgで30～60分の安定した手術適期が得られる。

マウスの麻酔には、ネンブタール注射液（濃度50mg/ml）を生理食塩水で10倍に希釈し、体重10g当たり0.06～0.1mlを腹腔内投与する。これにより30～50mg/ml投与したことになる。

ラットの麻酔には同じ10倍希釈液を体重100g当たり0.6～0.8ml腹腔内投与する。これにより30～40mg/kg投与したことになる。

② チオペンタール

投与量30～40mg/kgで5～10分の短時間麻酔が得られる。静脈内投与である。血管外に漏出すると刺激が強いので注意が必要である。

③ 塩酸ケタミン＋塩酸キシラジン混合麻酔

この組み合わせは、マウスではペントバルビタールに次いで多く利用されている。15～30分の深い鎮静ないしは浅い麻酔状態が得られるため、小処置に利用されているが、老齢動物にも使用できる。塩酸ケタミン単独では麻酔状態には至らず、塩酸キシラジンと併用することにより、処置はやりやすくなる。呼吸器、循環器抑制の強いペントバルビタールでは危険が予想されたり、深い催眠状態では行えない神経系の処置には有用である。しかし、体性痛を伴う手術等には用いてはならない。

マウス用：塩酸ケタミン＋塩酸キシラジン＝80～100mg/kg＋10mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、腹腔内投与をする。

ラット用：塩酸ケタミン＋塩酸キシラジン＝90mg/kg＋10mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、腹腔内投与をする。

④ 塩酸メデトミジン＋ミダゾラム＋酒石酸ブトルファノール混合麻酔

塩酸ケタミンが麻薬指定を受けたことにより、塩酸ケタミンを用いない麻酔の方法としてこの組み

合わせの麻酔法も用いられている。ただしミダゾラムは向精神薬であるので厳重な管理が必要である。
マウス用：塩酸メデトミジン0.3mg/kg＋ミダゾラム4mg/kg＋酒石酸ブトルファノール5mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、腹腔内注射する。

ラット用：塩酸メデトミジン0.4mg/kg＋ミダゾラム2mg/kg＋酒石酸ブトルファノール5mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、腹腔内注射する。

(2) 吸入麻酔

①ジエチルエーテル

極めて容易に気化し、手術麻酔期が得やすく、麻酔管理が簡単で安全で、麻酔が深過ぎない限り、血圧を始めとする循環機能が比較的よく維持される。更に、鎮痛作用は強く、筋弛緩を伴う良い麻酔が得られる。加えて、安価であることから、小型実験動物には広く用いられている。他方、引火性、爆発性があるので、実験室には十分な換気装置を備える必要がある。又、気道刺激性が強いことに注意が必要である。

麻酔ジャーに脱脂綿（またはペーパータオル）を置きエーテルをしみこませる。その上に金網の台などを置き、マウスまたはラットを乗せ、蓋をして吸入させる。又、小型ビーカーに脱脂綿を詰め、エーテルをしみこませ、動物の鼻に当て吸入させる方法等が一般的である。

②ハロタン、イソフルラン、セボフルラン等

キャリアーガスに酸素を用い、気化器により適正な濃度の吸入麻酔薬を供給する。当初5%の濃度で導入し、約3%で維持する。ジャー等を用いる時は、あらかじめ、約3%の濃度のガスに容器内の空気を置換しておく。直接吸入させるため、ノーズコーンを用いることを推奨する。短時間の麻酔では、麻酔ジャーを使うこともできる。

なお、ハロタンには肝毒性及び妊娠婦人に対する影響がある。又、クロロホルムは、人に対して発癌性が認められ、推奨できない。

(3) 麻酔の判定及び管理

まず立ち直り反射の消失を確かめ、次に有鉤ピンセット等による足指や尾への刺激に対する反応の消失を確かめる。一方、呼吸数が極端に減り（正常はマウス180回/分、ラット90回/分）、大きな息をするのは過剰麻酔の危険な状態である。吸入麻酔であれば麻酔薬を遠ざけ、胸部を圧迫したり、ゴムやシリコンのスポイト（乳首）等で人工呼吸したりすることにより回復することがあるが、注射麻酔では回復しない。麻酔中には体温低下をきたすので、保温マット等で保温することが勧められる。

2. 実験動物の術後管理と疼痛緩和

実験動物に外科的処置を行った後には鎮痛が必要である。適切な鎮痛薬を適切な期間与えるためには疼痛の度合いを評価することが重要である。このためには動物の通常の行動をよく理解している必要がある。疼痛の重要なサインには異常行動、姿勢の変化、食欲不振、体重減少などがある。

オピオイド（ブプレノルフィン、酒石酸ブトルファノールなど）や非ステロイド性消炎剤（メロキシカムやカルプロフェンなどのNSAID's）、または局所麻酔薬の投与により術後疼痛は軽くなる。一般的にオピオイドは術後疼痛のコントロールに使われる。ブプレノルフィンは多くの種で長時間（6～12時間）効果が続き、安全に使い、鎮痛効果が高い。NSAID'sは一般的に鎮痛作用が弱い、メロキシカムやカルプロフェンやその他の最近市販されている薬剤の多くはオピオイドに匹敵する効果を持つ。多くの例から術後24時間はオピオイドで、その後24時間以上をNSAID'sで行うのが効果

的である。

鎮痛剤は特定の実験プロトコールを邪魔する副作用がある。臨床的にはあまり重要ではないがオピオイドは呼吸抑制、低血圧、便秘の原因となりうる。またNSAID's はプロスタグランジンの産生を抑え、創傷治癒過程において血液凝固を阻害し、腎機能に影響を及ぼす可能性がある。しかし、市販されている様々な鎮痛薬の薬理を慎重に評価することにより、実験プロトコールに影響の少ない鎮痛剤投与計画を実施することが可能になる。鎮痛薬が禁忌の場合、手術の傷に比較的長期間効果が持続する局所麻酔薬のブピバカインを浸潤させ、4～6 時間の鎮痛を行う。

実験処置後1 日に数回は動物の様子を見に行かなければならない。手術の傷に注意をし、動物が嘔んだり、なめたり、引っ掻いたりして体を傷つけたり、埋め込まれた器具（カテーテルやトランスデューサーなど）を壊さないようにしなければならない。慢性実験では皮下にカテーテルや他の機器を埋め込んだほうがよい。

また、術後の感染防止のために衛生的な外科処置を行うことと術中や術後に適切な抗生物質を投与することが重要である。

代表的な鎮痛薬とその投与量を以下に紹介する。以下の投与量を目安にし、動物種ごとに様子を見ながら投与量を調節するとよい。

○ オピオイド

ブプレノルフィン	0.01～0.05mg/kg	筋注または皮下注	12 時間ごと
酒石酸ブトルファノール	0.1～0.5mg/kg	筋注または皮下注	4 時間ごと

○ NSAID's

カルプロフェン	4.4mg/kg	筋注または皮下注	24 時間ごと
メロキシカム	0.2mg/kg	筋注または皮下注	24 時間ごと

3. 麻酔薬、鎮痛薬等の商品名（参考）

薬品名	商品名	薬品含有濃度
ペントバルビタール*	ネンブタール	50mg/ml
	ソムノペンチル	64.8mg/ml
チオペンタール	ラボナール	300mg/ml, 500mg/ml, 5g/ml
塩酸ケタミン*	ケタラール静注用	10mg/ml
	動物用ケタラール	50 50mg/ml
塩酸キシラジン	セラクタール	23.3mg/ml
ジアゼパム*	セルシン	5mg/ml, 10mg/ml
	ホリゾン	10mg/ml
プロポフォール	ディプリバン	10mg/ml
塩酸メデトミジン	ドミトール	1mg/ml
塩酸アチパメゾール	アンチセダン	5mg/ml
ミダゾラム	ドルミカム	5mg/ml
塩酸クロルプロマジン	コントミン	10mg/2ml, 25mg/5ml, 50mg/5ml
硫酸アトロピン	硫酸アトロピン	0.05mg/ml
酒石酸ブトルファノール	ベトルファール	5mg/ml
ブプレノルフィン	レペタン注	0.2mg/ml
カルプロフェン	リマダイル注射液	50mg/ml
メロキシカム	メタカム0.5%注射液	5mg/ml
ハロタン	フローセン	99.99%
イソフルラン	フォーレン	100%
	イソフル	100%
セボフルラン	セボフレン	100%

*印の薬品は麻薬及び向精神薬取締法に定められた麻酔薬を示す。

補遺 5 げっ歯類の胎児・新生児の鎮痛・麻酔および安楽死に関する 声明

日本実験動物医学会は動物実験に用いられているげっ歯類の胎児や新生児の人道的な取り扱い方法や最良の安楽死法について検討していたが、この度一定の見解に達したので、ここに発表する。

我が国ではげっ歯類の胎児や新生児を用いた多くの研究がなされているが、これらの人道的な取り扱い方法や安楽死法についてのガイドラインは見当たらないため、研究者が動物実験を立案する際、あるいは動物実験委員会の実験計画書の審査に際してもどのように扱うべきか戸惑いが見られる。そこで本学会では専門委員会を立ち上げ、最新の知見を調査すると共に、胎児や新生児を利用する試験に関する（各国の）ガイドラインなども併せて調査し、議論・検討を行ってきた。その結果、ラット、マウス、ハムスターおよびモルモットなどのげっ歯類の胎児・新生児の安楽死に用いる方法の留意点について以下の見解に達した。

背景

げっ歯類の胎児や新生児は、新薬の開発過程における生殖発生毒性試験や、細胞を増殖させて *in vitro* 試験に用いる一次培養細胞の供給源などとして実験に用いられる。げっ歯類の胎児や新生児を動物実験に用いる場合には、成獣と同様に鎮痛・麻酔などの処置や、意識を消失した状態で安楽死を施すなどの人道的な取り扱いが必要とされる(1)。胎児を用いた研究から、胎児の発生初期の段階では脳・神経系は疼痛を知覚できるほど十分には発達していないが、妊娠後期の胎児は侵害刺激に対して忌避反応を示すことから、知覚神経系が十分に発達していることが報告されている(2, 3)。一方、胎児は低酸素状態に抵抗性である（この特徴は新生児にも共通するものである）ことから、二酸化炭素を代表とする低酸素症を作用機序とする薬剤を安楽死に用いることは、適切ではないとされている(1, 4)。従って、胎児に実験処置を施す場合には適切な鎮痛・麻酔を処置して実施すること、新生児を含めて安楽死を施す場合には、低酸素症を作用機序とする方法のみで安楽死を行わないことが必要であるとされている。また、米国や欧州では、適切な鎮痛・麻酔薬の使用や安楽死法についての議論が随所で行われ、政府機関や各種学会が、この問題に対する討議の内容を人道的な取り扱いに関するガイドラインとして制定している(1, 2, 3, 4, 5, 6)。一方、我が国においてはこのことに関して学会や政府機関からの発表は見当たらないため、国内において動物実験に最も多く用いられるげっ歯類であるマウスやラットの胎児や新生児に対する人道的な取り扱い及び安楽死について、最新の科学的な根拠の基に実験動物医学会としての見解を取りまとめた。

1. 疼痛管理

「人道的な取り扱いを考慮する必要がある」ことが意味するものは、動物が苦痛を感じていること、言い換えれば、個体として苦痛を感じるほど成熟していることである。このことに大きく寄与する因子として神経系の発達があることは言うまでもないが、加えて、神経系が機能していることも重要であり、両条件が揃って初めて個体は疼痛を知覚する(3, 7)。ここでは神経系の発達の程度を鑑み、胎児の発達段階を妊娠前期と妊娠後期に分け、さらに新生児を一つの段階として、それぞれに特異な疼痛管理の考え方を示す。さらに、以下に示す鎮痛や麻酔法、安楽死法についてもこの3段階に分けて、その最適な方法を示す。

1) 妊娠前期の胎児

妊娠前期の胎児は神経管の発達が未熟であり、疼痛を知覚するほど成熟していない。また、自身で

生命を維持する能力が備わっていないため、母体を安楽死させる、あるいは子宮から摘出すること等により、母体からの血流が途絶えると、直ちに死に至る。従って、神経系が未発達の状態にある妊娠前期の胎児については、鎮痛・麻酔を施すことなく実験に必要な処置を行って良い。また、胎児を安楽死させる方法を考慮する必要がない。

2) 妊娠後期の胎児

妊娠15日目以降のマウス、ラットやハムスター、および妊娠34日目以降のモルモット胎児は、侵害刺激に対して忌避反応を示すことから、疼痛刺激を知覚することができる程度まで、脳・神経系が発達しているとされている。また、子宮から摘出した胎児、特に妊娠末期の胎児は、摘出後も自立性呼吸を開始し、適切な環境が与えられれば、生存することも可能である。従って、多くのガイドラインにおいて、試験に用いる場合には、速やかに鎮痛・麻酔の処置を行うこと、あるいは意識を消失させて速やかに安楽死させることが規定されている。子宮内に存在して母体から血液の供給を受けているヤギの胎児は、母体から供給される強力な神経遮断作用、催眠作用や麻酔作用を有する物質により持続的に催眠状態にあり、疼痛刺激を知覚することがない状態に置かれていることが報告されている(8)。この状態は哺乳類一般に保持されているとして、オーストラリアのガイドラインでは、母体に対する鎮痛・麻酔処置が十分であれば、子宮内の胎児に対して配慮する必要性はないとしている(5)。本学会も同様に、母体が十分に麻酔された状態にある場合、子宮内の胎児に対して疼痛管理に配慮することなく実験に必要な処置を施しても良いと判断する。しかし、子宮から分離された胎児は、速やかに覚醒することが想定されることから、適切な鎮痛・麻酔処置を施すことが求められる。また、安楽死させる場合、子宮内にある胎児に対しては意識の消失に対する配慮は不要であるが、子宮から分離された胎児に対しては不可欠である。

3) 新生児

新生児の鎮痛・麻酔の適応、あるいは安楽死の方法の選択に関しては、一般に成獣に準ずる。しかし、生後10日までの新生児は、胎児と同様に低酸素状態に対する抵抗性が高いことから、安楽死の方法を選択する場合には、この点に配慮して選択しなければならない。新生児のオピオイド受容体の数は成獣に比べて非常に多く、成熟するにつれて成獣の状態に減衰することが報告されている(9)。加えて、ラットの新生児は疼痛反応が成獣と異なり、成獣と同様の反応を示すには生後2週間ほどを要することも報告されている(10)。これらのことは、新生児は疼痛に対して抵抗状態にあることを想像させる。しかしながら、疼痛を知覚していないことを明らかにした報告は見当たらないことから、本学会としては、新生児に対しては適切な鎮痛・麻酔を施すこと、また、安楽死させる場合には低酸素状態に抵抗性であることに配慮することを推奨する。

2. 鎮痛・麻酔

胎児や新生児は成獣と異なり、成長の過程にあることに配慮して、鎮痛薬や麻酔薬を選定することが必要である。特に、薬物の代謝・排泄に関わる肝機能や腎機能が適切に機能しないことに配慮して、用量・用法に注意する必要がある。本学会としては、この観点からペントバルビタールやケタミンは、低用量では効果が不定で高用量では致死的であるため、麻酔薬として使用することを推奨しない(11)。

1) 妊娠前期の胎児

この時期の胎児は神経系の発達が未熟であることから、実験に必要な処置を施す際に、疼痛に対する配慮は必要ない。従って、鎮痛・麻酔の処置を行わなくても良い。

2) 妊娠後期の胎児

子宮内にある胎児に何らかの処置を施す場合、母体を十分に麻酔することに配慮すれば、胎児には特別の配慮をする必要はない。しかし、子宮から摘出した胎児に何らかの処置を施す場合には、疼痛を知覚することに配慮して、鎮痛や麻酔などの処置を施す必要がある。胎児に麻酔を施す場合には、イソフルランやセボフルランなどの吸入麻酔薬の使用や体温を低下させる麻酔法などが推奨される。ただし、胎児は低酸素状態に抵抗性であることから、イソフルランなどの吸入麻酔薬を用いた場合には、麻酔に要する時間が延長することに配慮しなければならない。

本学会として推奨する麻酔法は以下の2種類である。

- ① イソフルラン・セボフルランなどの吸入麻酔薬の使用
- ② 胎児を直接、熱源に触れさせない条件での低体温
(胎児に直接触れる冷気は10℃から20℃に調節する (12))

また、本学会として、リドカインなどの局所麻酔薬、オピオイド類（ただし、パーシャルアゴニストであるブプレノルフィンは除外する）および非ステロイド性抗炎症薬を鎮痛薬として推奨する。

3) 新生児

生後10日までの新生児に何らかの処置を施す場合には、成獣と同様に、疼痛を知覚することに配慮して鎮痛や麻酔などの処置を施す必要がある。新生児に麻酔を施す場合には、胎児の場合と同様にイソフルランやセボフルランなどの吸入麻酔薬の使用や体温を低下させる麻酔法などが推奨される。また、新生児は胎児と同様に低酸素血症に抵抗性であることから、イソフルランなどの吸入麻酔薬を用いた場合には、麻酔に至る時間が延長することに配慮して、詳細な観察が必要である。

本学会として推奨する麻酔法は以下の2種類である。

- ① イソフルラン・セボフルランなどの吸入麻酔薬の使用
- ② 新生児を直接、温源に触れさせない条件での低体温
(新生児に直接触れる冷気は10℃から20℃に調節する (12))

また、本学会として、リドカインなどの局所麻酔薬、オピオイド類（ただし、パーシャルアゴニストであるブプレノルフィンは除外する）および非ステロイド性抗炎症薬を鎮痛薬として推奨する。

3. 安楽死

安楽死を実施する場合、安楽死に関わる作業者が経験する精神的不安、不快感、或いは苦痛に配慮して、科学的研究の目的を損なわない限り、最も心理的負担の少ない方法を選択することが望ましい。従って、頸椎脱臼や断頭などの方法は、熟練者が実施することが必然ではあるが、選択する順位としては下位に置き、かつ、深麻酔下で実施することを推奨する。なお、安楽死を目的として深麻酔を実施する際には、先に示した麻酔法に加えて、ペントバルビタールやケタミンなどの注射麻酔薬を使用することができる。安楽死法として吸入麻酔薬を用いることは、胎児や新生児は低酸素状態に抵抗性であることから死に至る時間が延長すること、死の確認が容易でないことから、委員会としては推奨しない。また、極超短波照射による安楽死法も胎児や新生児用の機材が市販されていないことから、推奨する方法から除外した。しかし、本学会が推奨しない方法であっても、科学的研究の目的を果たすために不可欠であるとの研究機関の動物実験委員会の判断があれば、成獣に使用している安楽死法を、胎児や新生児に適用することは可能であると考ええる。

1) 妊娠前期の胎児

妊娠前期の胎児は自身で生命を維持する能力が備わっていないため、特に安楽死させる必要はない

が、子宮から分離された胎児がVital sign を示す場合には、速やかに適切な安楽死の方法を講じ、死に至る時間を延長させてはならない。

2) 妊娠後期の胎児

妊娠後期の胎児を安楽死させる場合には、注射麻酔薬の過量投与や深麻酔下での化学的、あるいは物理的方法を推奨する。

本学会として推奨する安楽死法は以下の5 種類である。

- ① ペントバルビタールやケタミンの腹腔内・胸腔内への過量投与
- ② 深麻酔下に塩化カリウムの心臓内投与
- ③ 深麻酔下に液体窒素や固定液への浸漬
- ④ 頸椎脱臼
- ⑤ 断頭

3) 新生児

生後10 日までの新生児を安楽死させる場合には、胎児の場合と同様に、注射麻酔薬の過量投与や深麻酔下での化学的、あるいは物理的方法を推奨する。なお、鎮痛・麻酔の項では吸入麻酔薬の使用を推奨したが、吸入麻酔薬単独で安楽死させることは、死に至る時間を考慮すると人道的ではなく、深麻酔後に二次的な方法が必要な手段であると判断し、安楽死法として推奨するリストから除外した。なお、モルモットの新生児に対しては成獣と同じ方法を適用する。

本学会として推奨する安楽死法は以下の5 種類である。

- ① バルビツール系麻酔薬などの注専麻酔薬の腹腔内・胸腔内への過量投与
- ② 深麻酔下に塩化カリウムの心臓内投与
- ③ 深麻酔下に液体窒素や固定液などへの浸漬
- ④ 頸椎脱臼
- ⑤ 断頭

本声明では吸入麻酔薬の使用法については、適宜コメントしたが、二酸化炭素の使用については言及していない。しかし、胎児や新生児は低酸素状態に抵抗性であることから、二酸化炭素を麻酔として用いることは基より、安楽死法に用いることも適切ではないと判断している。また、鎮痛・麻酔に処置を必要とする胎児の日齢（胎齢）については、各研究施設（動物実験委員会）で判断すべきと考えられるが、本学会としては、この日数を超えた場合には必要であると判断した数字を記載している。

最後に、ここに記載されている内容は、現時点での科学が証明している事象から判断した結果をまとめたものであることから、新しい事象が判明した場合には、本学会として速やかに新たな見解を取りまとめるよう努力する所存である。

なお、ここにこの声明を取りまとめた専門委員の名前を記載し、その努力に敬意を表す。

鈴木真（委員長）、安居院高志、笠井憲雪、黒澤努、
久和茂、高島宏昌、中井伸子、山添裕之

2009 年12 月15 日
日本実験動物医学会

References

- (1) AVMA Guidelines on Euthanasia (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia), June 2007.
- (2) Report of the MRC Expert Group on Fetal Pain, 28 August 2001.
- (3) Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2, working party report. *Laboratory Animals* (1997) 31, 1-32.
- (4) Public Statements: Report of the ACLAM Task Force on Rodent Euthanasia, August 2005
- (5) Guidelines to promote the wellbeing of animals used for scientific purposes: The assessment and alleviation of pain and distress in research animals. Australian Government 2008
<http://www.nhmrc.gov.au/publications/synopses/ea18syn.htm>
- (6) NIH Guide: PHS Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals Clarification Regarding Use of Carbon Dioxide for Euthanasia of Small Laboratory Animals. (2002)
<http://grants.nih.gov/grants/guide/notice-files/NOT-OD-02-062.html>
- (7) DJ Mellor et al., The importance of „awareness“ for understanding fetal pain. *Brain Res. Review* (2005) 49, 455-471
- (8) DJ Mellor and TJ Diesch, Onset of Science: The potential for suffering in fetal and newborn farm animals. *Applied Animal Behav. Scien.* (2006) 100, 48-57.
- (9) AH Dickson and W Rahman, Mechanisms of Chronic Pain and the Development Nervous System in Chronic and Recurrent Pain in Children and Adolescents. In *Progress Research and Management* edited by McGrath & GA Finley, IASP Press (1999) 13, 1-34
- (10) GA Barr, Maturation of the biphasic behavioural and heart rate response in the formalin test. *Pharmacol. Biochem. Behav.* (1998) 60, 329-335
- (11) Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research (Committee on Guidelines for the Use of Animals in Neuroscience and Behavioral Research, National Research Council), The National Academies Press, 2003
- (12) Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. Edited by RE Fish et al., 2nd edition, ACLAM, 2008

補遺 6 実験動物の安楽死処置法

安楽死とは、迅速かつ苦痛を伴わない安楽な死を意味する。一方で、安楽死後の試料採取や検索に障害とならないよう実験目的に沿うような方法を選択しなければならない。又、重要なのは死の確認である。呼吸停止及び心停止を確実に確かめなければならない。安楽死の方法としては、大きく二つの方法がある。

(1) 物理的方法

頸椎脱臼、断頭、後頭部殴打等の方法があるが、これらの方法は熟練した実験者が行えばマウスやラット等の小型実験動物の安楽死法として有効である。万一失敗した時は、実験動物にとって苦痛となりかねないので、細心の注意が必要である。

*** 頸椎脱臼：**マウスを平らな台上に置き、一方の手の親指と人差し指で頭の後ろ（頸背部）を下方に押しつけ、他方の手で尾のつけ根の近くを持って身体を伸ばし固定する。次いで、頭を固定している手を前方へ押し、尾を持っている手を後ろ上方に一気に強く引く。正しく頸椎が脱臼されれば、瞬間でマウスの身体の色が抜けてしまう。一時的に体動が残るが間もなく止まる。瞬時に意識消失、死亡するため動物の苦痛は少ない。実験に支障がなければ事前に軽麻酔を行っておくのもよい。ラットの場合も同様の方法で行うことが出来るが、かなりの熟練と力がいる。

*** 断頭：**マウスの場合にはよく切れる鋭利なハサミを用いる。ラットの場合は専用の断頭器が市販されているので利用する。この場合も実験に差し支えなければ事前に軽麻酔を施すことが望ましい。

*** 後頭部殴打：**この方法は、ラットの場合に用いられる。堅い木製の棒か木槌を用いて確実に行う必要がある。正確に実施すれば、意識の消失は瞬間であるが、若いあるいは小さいラットであっても一撃で死に至らせるにはかなりの熟練が必要である。

(2) 化学的方法

*** ペントバルビタールの過量投与**

この麻酔薬は意識消失が早く、不安、興奮はなくその効果は用量、濃度及び投与速度に依存し、スムーズに安楽な状況にでき、安らかに死に至らしめることができる。又、マウスからイヌ・ブタまで各種の実験動物の安楽死に用いることができる。麻酔適用料の3～4倍量又は100～120mg/kgを静脈内又は腹腔内投与を行う。（補遺4参照）

*** ジエチルエーテル**

吸入麻酔薬であり、実験小動物で用いられる。動物を入れることのできる透明なガラス製の標本瓶やデシケータの底にジエチルエーテルを入れて気化させ、動物を入れる。死亡までに時間がかかるため、十分な暴露時間と死亡の確認が必要である。エーテルは引火性、爆発性があり、実験室での事故も報告されていることから、実験室には十分な換気装置を備える必要がある。

*** 炭酸ガス**

炭酸ガスには麻酔作用があり、まず意識消失が起こり、ついで無意識下で酸素欠乏により死亡する。つまり、死亡の第一の原因は酸素欠乏であるために、死後変化として血液ガスの変化とともにほかの

組織に対する低酸素血症による影響を考慮する必要がある。ガスは、炭酸ボンベやドライアイスから供給する。炭酸ガス安楽死専用容器かあるいは厚手のビニール袋にケージごと動物を入れてから空気を抜き炭酸ガスを送る。ドライアイスを使用する場合は、水の入った小容器を専用容器又は袋の中に置き、ドライアイスはその水の中に入れ、炭酸ガスを発生させる。いずれの場合も動物を入れた後、容器内のガス濃度を一気に（1分以内）に100%近くにしなければならない。またはあらかじめガス濃度100%の容器に動物を浸漬する。ガス濃度を徐々に上げると動物は苦しがるので、この方法は推奨できない。一方、炭酸ガス濃度の高い空気を吸えばヒトでも酸素欠乏を起こすため、室内の換気と装置の取扱いには注意が必要である。

*** 硫酸マグネシウム (MgSO_4)又は塩酸カリウム (KCL)**

高用量投与により完全な神経遮断と低酸素血漿により死亡する。これらの薬物は鎮痛・麻酔作用がないため、動物をあらかじめ全身麻酔を行う必要がある。