

動物実験に関するQ & A

(制定：R5年8月20日)

1. 動物実験計画書、各種書類の作成・申請について

1) 研究目的とその意義について

Q1: 動物実験の必要性(科学的・社会的利益)や代替法の検討は記載する必要がありますか？
また記載する場合は、どのように記載したらよいですか？

A: 動物実験の必要性(科学的・社会的有益性)については、その分野の専門家でなくても、その動物実験の必要性(科学的・社会的有益性)を理解できるように研究の背景や目的を含めてできるだけ平易な文章で、「研究の目的とその意義」の欄に記載して下さい。

代替法については、動物実験を必要とする理由欄で1「検討したが、動物実験に替わる手段がなかった」もしくは2「検討したが、代替手段の精度が不十分だった」を選択していれば、記載の必要はありません。ただし、3の「その他」にマークする場合には、動物実験以外の方法で代替できない旨を「研究目的とその意義」欄に記載して下さい。

2) 実験責任者と実験実施者について

Q1: 教育訓練を受けていれば、非常勤教員(特任教員、客員教員)や医員、技術系職員でも動物実験責任者になれるか？

A: 所属教室の常勤教員(当該動物実験に関係する教授、准教授、助教)だけでなく、科研費などの外部資金を獲得している、あるいは常勤の教職員と同様の勤務実態を有している特任教員、客員教員等の非常勤職員も、「動物実験に関する教育訓練」を受講済であれば動物実験責任者になります。附属病院の医員や技術系職員の場合も、「動物実験に関する教育訓練」を受講済でかつ常勤であれば動物実験責任者になります。

Q2: 教育訓練を受けていない学生や教員等を、動物実験実施者欄に記入してもよいですか？

A: 原則として、動物実験実施者は教育訓練受講済「有」であることが必要です。

ただし、申請時に、受講していない場合でも、実習などで受講予定日等が決まっている場合のみ、「有」に記載して申請して下さい。

Q3: 教育訓練を受けていない教員等であるが、主任教授等、当該実験計画への代表者である場合は、動物実験実施者欄に記入してもよいですか？

A: 原則として、実施者は教育訓練受講者に限ります。

Q4: 生きている動物を直接触ることはないが、屍体からの臓器や組織の採取のみを手伝う場合も、該当者を動物実験実施者欄に記入しなければなりませんか？

A:実験処置者(生きた動物を安楽死処理する該当者)のみを動物実験実施者欄に記入して下さい。

Q5:実験責任者や実験実施者の部局名は、略称で記載してもよいですか？

A:教育訓練者受講者をリスト化し、ID とともに氏名や部局名などを登録していますので、登録した内容の通りにプルダウンで選択して下さい。

3) 実験実施期間について

Q1:実施期間の最長は、何年まで許されますか？

A:承認後の開始時から3年間までが認められています。

Q2:すでに承認された計画書の実施期間の延長は、認められますか？

A:延長期間を含めた実施期間の全体が3年間以内であれば、認められますので「動物実験計画(変更・追加)承認申請書」に必要事項を記入して事務局へ申請し、審査を受けて下さい。

Q3:変更が繰り返されたため、実施期間が3年を超えますが、どのような手続きが必要ですか？

A:3年が経過した時点で一旦、終了報告書を提出し、同じ内容で再度計画書を申請して審査を受けて下さい。

Q4:変更前の計画書の有効期限はどうなりますか？

A:変更された計画書の承認日をもって無効となります。

4) 変更・追加申請について

Q1:研究課題名を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:変更・追加申請では認められませんので、計画書を新たに提出して下さい。

Q2:研究目的とその意義の内容を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:変更・追加申請では認められませんので、計画書を新たに提出して下さい。

Q3:実験責任者を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:変更・追加申請では認められませんので、計画書を新たに提出して下さい。

Q4:実験実施者を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:実験実施者の変更や追加については、教育訓練受講済であれば、変更・追加申請で認められます。

Q5:実験実施期間を延長したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:計画書の承認日より最大3年以内の場合に限り変更・追加申請で認められます。追加により、3年以上の実施期間となる場合には、計画書を新たに提出して下さい。

Q6:計画書に記載している実験室を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:変更(追加)する実験室が設置承認を受けたものであり、かつ計画書の有効期間と設置承認期間とが整合している場合に限り、変更・追加申請で認められます。

Q7:計画書に記載している飼養保管施設を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:変更する飼養保管施設が設置承認を受けたものであり、かつ計画書の有効期間と設置承認期間とが整合している場合に限り、変更・追加申請で認められます。ただし、飼養保管施設については、計画書とのリンクが必要なため、設置変更届で、当該計画書がリンクする旨を申請しておく必要があります。

Q8:使用動物種を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:変更・追加申請では認められませんので、計画書を新たに提出して下さい(実験処置が同じで複数種の動物を使用する必要がある実験計画は1件の計画書にまとめ申請してもよいですが、実験処置が動物種によって異なる場合は、別々に申請が必要です)。

Q9:使用動物の系統を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:系統の変更や追加については、変更・追加申請で認められます。

Q10:使用動物数を追加したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:科学的、論理的根拠があり、承認された研究目的内の研究を遂行するための微細な変更や追加であれば認められます。使用動物数の追加については、承認された計画書に記載されている使用予定数の0.5倍を上限として変更・追加申請で認められます。それ以上の大幅な追加については、計画書を新たに提出して下さい(ただし、承認された計画書の使用予定数が数十匹以下で少数の場合にはこの限りではありません)。

Q11:研究計画と方法を変更したいのですが、変更・追加申請をすればよいですか？

A:科学的、論理的根拠があり、承認された研究目的内の研究を遂行するための微細な変更であれば認められます。承認された研究内容を逸脱する場合は計画書を新たに提出して下さい。必要に応じて各地区委員あるいは地区委員長に御相談下さい。

Q12: 研究計画と方法にX線照射実験を追加したいのですが、変更・追加申請で認められますか？

A: 照射線量が少なく作用が一時的で、照射を受けた動物の生理機能が回復することや、X線照射実験を追加することで苦痛カテゴリーに変更がない場合のみ認められます。ただし、照射線量が多い場合(複数回の照射等)や、全身あるいは胸腹部照射により、元の計画書に記載されている苦痛カテゴリーを変更する場合には、変更・追加申請では認められませんので、計画書を新たに提出して下さい。

Q13: 計画書に記載のない新たな遺伝子組換え動物の追加をしたいのですが、どのような申請書が必要ですか？

A: 変更・追加申請では認められませんので、計画書を新たに提出して下さい。ただし、科学的、論理的根拠があり、承認された研究目的内の研究を遂行するための微細な変更であれば認める場合もあります。必要に応じて各地区委員あるいは地区委員長に御相談ください。関連する遺伝子組換え実験計画書の変更申請も必要になります。

Q14: 承認されている遺伝子改変動物を交配した遺伝子改変動物を作製して使用したいのですが、どのような申請書が必要ですか？

A: 計画書の「研究計画と方法」および「研究目的とその意義」に記載されている内容に即した微細な変更(例えば、購入した遺伝子改変動物で実験する計画だったのが、動物数が足りなくなったため繁殖する場合)であれば、変更・追加申請で認められます。承認された研究内容を逸脱する場合(例えば、すでに承認されている遺伝子改変動物を交配して、ダブルKOなど新たな遺伝子改変動物にする場合)は計画書を新たに提出して下さい。関連する遺伝子組換え実験計画書の変更申請も必要になります。

* 変更届の必要がない事例:

使用マウス系統に C57Bl/6 が記載されている計画書で、飼育実験申込書により C57Bl/6-Tg(CAG-EGFP)の購入依頼があった場合は、計画と方法欄に CAG-EGFP マウスについて記載されていれば、変更届の提出は必要ありません。また計画と方法欄に記載がなくても遺伝子組み換え実験計画書に記載されているものであれば、変更届の提出は不要です。

5) 飼養保管施設及び実験室について

Q1: 飼養保管施設及び実験室の名称や承認番号はどのように調べますか？

A: 鳥取大学研究推進機構 HP」の「学内の方」で「動物実験委員会ページ」をクリックして下さい。その中の「参考資料」から資料2の「米子地区に於ける飼養保管施設ならびに実験室のリスト」あるいは資料3の「鳥取地区に於ける飼養保管施設ならびに実験室のリスト」をダウンロードして下さい。

Q2:飼養保管施設や実験室の名称の記載欄は略称で記載してもよいですか？

A:HP掲載の飼養保管施設ならびに実験室のリストを参照して、施設名ならびに実験室名欄に記載されている名称をプルダウンで選択して下さい。

Q3:飼養保管施設や実験室欄の記述について名称と承認番号の2項目のみの記載でもよいですか？

A:飼養保管施設での飼育室名や、実験室での部屋番号などは、審査の範疇外となりますので記載の必要はありませんが、鳥取地区の場合は、飼育室の欄に飼育室番号を記入して下さい。

Q4:飼養保管施設で動物実験を行う場合も、別途、実験室の設置承認申請が必要ですか？

A:飼養保管施設は実験室としての機能を有しているため、飼養保管施設で実験を行う場合は、実験室としての設置承認は不要です。

Q5:飼養保管施設で動物実験を行う場合も、実験計画申請書の実験室欄に当該施設名や承認番号の記載が必要ですか？

A:実験計画申請書に記載された飼養保管施設で動物実験を行う場合は、実験室欄の記載は不要です。ただし、実験計画申請書に記載された飼養保管施設以外の場所で実験を行う場合には、実験室欄に実験室名と承認番号の記載が必要です。

Q6:実習で、家畜(ウシ)を野外使用する場合でも、当該の牧場を実験室としての設置承認を受ける必要がありますか？

A:獣医学的な研究や実習における野外使用の場合は、当該の牧場等も実験室としての設置承認を受けることが必要です。畜産や産業用家畜については該当しません(動物実験規則第34条)。

Q7:本学以外の外部研究機関で動物実験を行う場合に、動物実験計画書を申請する必要がありますか？

A:本学所属の研究者が代表(責任者)か分担(共同研究者)かにより対応が異なります。

本学所属の研究者が代表(責任者)として他施設で動物実験を実施する場合

⇒鳥取大学動物実験委員会に動物実験計画書を申請し承認された後に実施する。原則として他施設でも動物実験計画が承認されている必要がある。

本学所属の研究者が共同研究者として他施設で実施する動物実験に参加する場合

⇒鳥取大学動物実験委員会に動物実験計画書を申請する必要はない。ただし、動物実験を実施する他施設の動物実験委員会にて承認されている必要がある。なお、この場合でも本学所属の研究者が希望する場合は、本学動物実験委員会でも審査をする。

例 1) 医療機器開発のために、他施設でブタを用いた実験を行う場合

⇒鳥取大学動物実験委員会での審査を義務付ける。

例 2) 開発した医薬品候補物質の薬理薬効を検証するために、外部の開発業務受託機関(CRO)に委託してマウスを用いた実験を行う場合

⇒鳥取大学動物実験委員会での審査を義務付ける。

例3) A 大学に出張し、A 大学にて A 大学動物実験委員会で承認されている動物実験に共同研究者として参加する場合

⇒鳥取大学動物実験委員会で審査する必要はない。

6) 使用動物について

Q1: 業者から購入するマウスやラットなどの実験動物の微生物学的品質は？

A: 各地区の実情に基づき記載してください。なお米子地区ではコンベンショナル動物の利用は認めていません。

Q2: 使用動物の定義は？

A: 「研究計画と方法」に記載している実験に用いる実験動物のことであり、実際の実験に使用する動物です。購入や自家繁殖を問わず、計画に基づいて使用動物数をカウントして下さい。

Q3: 実験目的に繁殖が含まれる場合の匹数は？

A: 繁殖で得て実験に使う動物数に、繁殖に用いるメスの匹数と交配に使用するオスの匹数を加えて下さい。

Q4: 離乳前の動物も使用匹数に加算すべきですか？

A: 実験に用いることなく離乳前に処分するのであれば、離乳前の動物匹数は加算しなくてよいです。

Q5: 繁殖により生まれたヘテロについても加算すべきですか？

A: 繁殖により生まれたヘテロについて、離乳前に処置して実験に使用しない場合は加算しなくてよいです。

Q6: 導入後の動物を繁殖して使用する場合の匹数は？

A: 繁殖に用いるメスの匹数と交配に使用するオスの匹数に、離乳後に使用予定の匹数も加算して下さい。

Q7: 動物実験は終了したのですが、終了時に生存している動物を基礎配属学生のための実習に用いることは可能ですか？また、書類等の手続きはどのようにしますか？

A: 3Rにおける使用動物数の削減に寄与する意味でも可能です。ただし、終了した実験につい

ては、新たに計画継続もしくは新規計画として実験計画書の申請が必要です。基礎配属学生が実際に動物実験を行う場合には、事前に教育訓練を受けておく必要があります。教官によって安楽死処分した動物や採取した臓器などを学生に与えて実習を行う場合には実習についての実験計画書の申請は不要です。

Q8:安楽死処分後の動物屍体を他の実験で使用したり、他の研究者へ譲渡したりすることはできますか？

A:安楽死処分後の動物屍体を使用する実験は、「動物実験」の範疇ではありませんので、使用可能であり、譲渡することも可能です。ただし、動物屍体や死亡動物の譲渡を受けた者は「死亡動物取扱報告書」を事務局宛に提出する必要があります。「死亡動物取扱報告書」の書式は動物実験委員会のHP(死亡動物取扱に係る様式)よりダウンロードできます。

Q9:魚類(メダカ、ゼブラフィッシュ等)、両生類(イモリ、カエル等)を用いる動物実験を行う場合、動物実験計画を申請する必要はありますか？

A:魚類・両生類は、本学動物実験規則では「実験動物」として取り扱っていないため動物実験委員会の審査対象外です。そのため、これらを用いた動物実験を行う場合、動物実験委員会に動物実験計画書を申請する必要はありません。ただし、研究代表者が審査や承認を希望する場合は、動物実験委員会で対応しますので、従来通りにWeb申請してください。

なお、遺伝子組換え(ゲノム編集を含む)の魚類・両生類を扱う場合は、遺伝子組換え実験安全委員会に実験計画を申請する必要があります。また特定外来生物(ブラックバス、ウシガエル等)を扱う場合は、特定外来生物法に基づく申請が必要になります。

7) 想定される苦痛のカテゴリーに関して

Q1:想定される苦痛のカテゴリーは、どのように判断したらよいですか？

A:動物実験委員会HP掲載の資料1([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](#))にある「表3 動物実験処置の苦痛度分類」(SCAW のカテゴリー)を参考に判断して下さい。個々の事例については本Q&Aの実験処置における苦痛度レベルを参照して下さい。なお上記に記載されていない場合、あるいは判断がつかない場合は、動物実験の国際指導原則に示されている「実験にたずさわるものは、人間にとって苦痛になる処置は、他の脊椎動物にとっても同種の苦痛を与えるものとする」という原則に基づき判断して下さい。

Q2:苦痛のカテゴリーがDの場合は？

A:苦痛のカテゴリーはDの場合は、この実験を行わなければならない科学的根拠(代替法ではなく実験動物を用いなければ目的を達成できない科学的根拠)を、「研究目的とその意義」の項目に記載してください。またこの場合は、p14-p16を参考にして人道的エンドポイントを設定し、その具体的な方法を「研究計画と方法」に記載してください。

2. 動物実験実施におけるQ&A

1) 実験動物の苦痛軽減

Q1: 苦痛の軽減(Refinement)とは？

A: 動物実験の責任者や実施者は、実験実施に際し、動物に加えられる実験処置および処置後に継続する苦痛を予測し、動物ごとに表現の程度の異なる苦痛度を的確に把握できるように努め、苦痛減少の手だてを講じる責務があります。特に処置後あるいは麻酔覚醒後に発生する苦痛についての予測は大切です。苦痛度を減少させる方法には動物の匹数の適正化、繰り返し処置の有無も含まれます。

Q2: 苦痛度の分類は？

A: レベルA～E(カテゴリーA～E)に分類されます(以下に Scientists Center for Animal Welfare (SCAW)の苦痛分類表を示します)。

苦痛度分類	内 容
レベル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。」レベルAは委員会の審査対象としない。 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。発育鶏卵を用いた研究。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。
レベル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。」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。深麻酔下で処置し，覚醒させずに安楽死させる実験。短時間（2～3時間）の絶食絶水。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。
レベル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。」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。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。フロインドのアジュバントを用いた免疫。苦痛を伴うが，それから逃れられる刺激。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カテゴリー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。
レベルD	<p>「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。」</p> <p>行動面に故意にストレスを加え，その影響を調べること。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。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。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。本来の母親の代わりに不適切な代理母を与えること。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。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。カテゴリー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。</p>
レベルE	<p>「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。」</p> <p>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。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。精神病のような行動をおこさせること。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。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。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。</p>

2) 実験処置における苦痛度レベル

Q1: 投与処置とその苦痛度レベルは？

A: 熟練者が実施する限りにおいて、ほとんどの投与処置自体の苦痛度レベルは低いですが、

実験実施者は、投与の結果個体に生じる物理的・機能的障害に注意すべきです。以下に投与処置とその苦痛度レベルの例を示します。これらの例を参考に、実際の操作や動物種を考慮して苦痛度レベルを評価して下さい。

<投与処置とその苦痛度レベル>

	実験処置	苦痛度レベル
投与経路	混餌	B
	経口ゾンデ	B
	腹腔内（含む浸透圧ポンプ）	B
	筋肉内	B
	皮内／皮下	B
	動脈／静脈内	B
	皮膚塗布	B
	吸入	B
	足裏肉球部分への投与	C
	脳内投与	D
	大槽内（小脳と脊髄背面にあるクモ膜下槽）投与	B
	経鼻／耳	B
	麻酔下での眼窩静脈槽への投与	C
	点眼	C
	両目への刺激物点眼	D
	麻酔下気管内	D
	麻酔下門脈内	B
	麻酔下胃腸内	B
	直腸	B
	Bレベルでの反復投与	C
開腹して臓器（肝臓、腎臓など）への投与	D	
	実験処置	苦痛度レベル
投与物質	乳酸球菌の経口投与	B
	DDS 粒子の投与	B
	FCA を含む抗原の投与	D
	両足への FCA を含む抗原の投与	E
	FCA 以外のアジュバンドを含む抗原の投与	C
	腹腔内へ蛋白抗原を投与し抗体作成	C
	動物が死亡するような毒性用量投与	D

発癌物質投与	D
LPS の投与	C
毒性用量の LPS 投与	D
腹腔へ刺激性の著しい薬剤（チオグリコレート溶液、ZymosanA、複合糖質他）を投与して細胞を浸潤させる	D
ハイブリドーマ細胞を腹腔内に注射して腹水を貯留させる	D
幹細胞あるいは癌細胞の投与	D

Q2:採血処置とその苦痛度レベルは？

A:熟練者が実施する限りにおいて、ほとんどの採血処置自体の苦痛度レベルは低いですが、実験実施者は、採血の結果個体に生じる物理的・機能的障害に注意すべきです。

以下に採血処置とその苦痛度レベルの例を示します。

<採血処置とその苦痛度レベル>

実験処置	苦痛度レベル
尾静脈、耳介静脈、伏在静脈、頸静脈穿刺による一部採血	B
尾先端の切除による一部採血	C
留置カテーテルからの一部採血（カテーテル留置は別手技）	B
麻酔下での舌下静脈からの一部採血	C
麻酔下での眼窩静脈からの一部採血	D
麻酔下での全採血（放血）	B

Q3:拘束処置とその苦痛度レベルは？

A:動物の長時間拘束を伴う実験の場合、計画書に拘束器具への順応法、拘束中の動物観察、実験の中断、終了時期の判断、また拘束中の給餌、給水について記述しなければなりません。

以下に拘束処置とその苦痛度レベルを示します。

<拘束処置とその苦痛度レベル>

実験処置	苦痛度レベル
拘束器具による 15 分以内の固定	B
代謝ケージを用いて尿、糞、胆汁採取	B
麻酔下の固定	B

2, 3 時間以内の固定（モンキーチェアー、ボールマンケージなどによる）	C
6~8 時間までの拘束（モンキーチェアー、ボールマンケージなどによる数時間以上の拘束） *この場合、給水が行われていることを原則とする	D
吸入暴露チャンバー内で 1 日 6 時間、週 5 日間トータル 1 ヶ月微粒子水溶液を暴露する	D
実験箱に入れて長時間光刺激を遮断（暗闇）する	D
摂食・摂水出来る状態での 2 週間までの拘束（体重が 15%以上減るような実験では、cost & benefit を明示する必要がある）	D

Q4: 非生存手術とその苦痛度レベルは？

A: 以下の表を参考にして下さい。

ただし、動物は手術中の麻酔から覚醒する前に安楽死することが条件です。

<非生存手術とその苦痛度レベル>

実験処置	苦痛度レベル
胆管カニューレーション	B
脳内へのカニューレーション	B
脳への電極挿入	B
胎児の低温麻酔	B

Q5: 生存手術（手術後の動物を麻酔から覚醒後に実験に使用する場合）とその苦痛度レベルは？

A: 以下の表を参考にして下さい。

ただし、手術に際しては、麻酔しているから痛みがないと判断するのではなく、術後の痛みに対する鎮痛剤投与、感染防止抗生物質の使用、麻酔覚醒時の保温、必要に応じた補液なども考慮すべきです。痛みの判定は、術後の痛み、生体への生理学的・物理的・機能的傷害についても考慮すべきです。

<生存手術とその苦痛度レベル>

実験処置	苦痛度レベル
皮下、腹腔へ浸透圧ポンプ埋め込み	C
動（静）脈へカテーテル留置	C
脳内へマイクロダイアリシスプローブ（微小透析管）を挿入	C

マイクロダイアリシス法 (脳の実質には感覚がないが、脳に損傷を与えている)	
脳硬膜を貫通してガイドカニューレを設置 (セメント固定)	C
血管内へバルーンカテーテル挿入 (血管拡張による血管損傷によって再狭窄)	C
動 (静) 脈結紮 (狭窄、あるいは閉塞) (血流遮断後の解除を含む) 血流再開までの時間が長い場合は「D」	C/D
中大脳動脈に栓系を挿入して脳虚血を作成 (糸は一定時間後、引き抜き、再環流)	C
胃腸の結紮 (狭窄の場合は「C」、閉塞の場合は「D」)	C/D
片側尿管結紮 (狭窄、あるいは閉塞) 腎不全モデル (狭窄の場合は「C」、閉塞の場合は「D」)	C/D
腎血管結紮 (狭窄の場合は「C」、閉塞の場合は「D」)	C/D
胆管結紮 (狭窄の場合は「C」、閉塞の場合は「D」)	C/D
小切開しての卵巣摘出など	C
小切開しての精管結紮	C
5/6 腎摘出による慢性腎不全モデル	D
片側頸動脈狭窄 (cuff injury model 片側頸動脈にカフを巻いて狭窄して作成する血管内膜肥厚モデルなど)	C
子宮に胚を移植する	C
皮下へ高分子材料を移植する	C
下垂体を摘出除去する	D
ラット大腿骨に 5mm の欠損作成	D
ラット口蓋骨に直径 2.4mm の欠損作成	D
ウサギ大腿骨に直径 2.6×11mm の欠損作成	D
ウサギ膝関節軟骨に 5×3mm の欠損作成	D
小切開して幹細胞を脾臓、腎臓、盲腸皮下に注射する	D
片側頸動脈を結紮処置、その後結紮解除して狭窄処置する	C
血流傷害の結果、血小板破綻が起き血栓が形成され、動脈硬化を作る テレメトリーセンサーと発信機 (血圧、心拍数、ECG、体温その他) を体内、腹大動脈などに埋め込む	C
開腹、子宮を露出し胎児の脳に DNA を注入後パルス電流を流し、脳室に面した神経細胞に DNA を導入する。その後閉腹する (子宮内エレクトロポレーション法)。	C
ラットの大腿骨に 1.5mm 角の穴を開ける	D

脳へ電極を埋め込むこと（開頭せずにドリルで頭蓋骨に穴を開けて脳に刺入）この処置により神経的・身体的機能傷害が生じない場合。電極刺入部位によっては傷害が生じる場合があるので、神経的・身体的機能傷害が生じる場合は苦痛度レベルを「D」とする。	C/D
頭部固定用金具装着（サル）	C
眼位測定用アイコイルを結膜下に埋め込む	C
皮膚および骨膜を切開し骨に穴を開け、スクリューを挿入する	D
」」マウス背部皮膚全層を直径 1.6cm 切除する	C
麻酔下における外科処置で処置後に著しい不快感を伴うもの（同一個体にこのような処置を複数箇所加えることはしない）	D
脳にキノリン酸などの薬物を注入して脳損傷部位を作成する （Boulougouris et al. 2007） 部位および損傷の大きさにより苦痛度が変わる	C/D
光感受性物質（ローズベンガルなど）を静注後、ファイバー光源により標的部位（あらかじめ骨を薄く削っておく）に光を照射し局所的脳梗塞モデルを作成する（Photothrombosis 法） 部位および損傷の大きさにより苦痛度が変わる。	C/D
無麻酔動物の手術	承認しない
手術する際に麻酔薬を使わず、筋弛緩薬あるいは麻痺性薬剤（サクシニールコリンその他クラーレ様作用薬剤）を使うこと	承認しない
DPCP 感作による皮膚炎ラットの実験（炎症による苦痛が想定される場合）	D

Q6:手術によらない病態モデルの作成とその苦痛度レベルは？

A:以下の表を参考にして下さい。ただし、作成した病態モデル動物の症状が重篤になったときの処置法を実験計画書に記述する必要があります。モデル動物の病態の程度によって苦痛のレベルが異なる点も考慮して下さい。

<手術によらない病態モデルの作成とその苦痛度レベル>

実験処置	苦痛度レベル
糖尿病モデル（ストレプトゾトシンなどの投与）	C
腎障害モデル（免疫性の腎傷害ほか）	C
急性肝炎／肝障害（四塩化炭素モデルなど）	D
腫瘍細胞移植（がん細胞を含む）	D
抗体作成（FCA 使用の場合は投与の項参照）	C
抗原蛋白混餌投与による食物アレルギーモデル作成	C

薬物（LPS など）ip 投与による炎症モデルラット作成	C
過敏症モデル	C
動脈硬化モデル（飼料、遺伝子組換え動物）	C
麻薬覚醒剤依存モデルマウス作成	D
感染モデル作成	D
薬物（6-ヒドロキシドーパミン）大槽内投与による脳発達障害モデル作成	D
Nature 261(1976) 153-155; Science 191(1976) 305-308 薬物（デキストランスルホン酸ナトリウム：DDS、トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）、オキサザロンなど）投与による大腸炎モデル作成	D
薬物（フェンシクリシンなど）投与による統合失調症モデル（神経疾患）作成	D
薬物（カイニン酸など）投与によるテンカンモデルラット作成	D
薬物（抗うつ剤など）投与によるうつ病モデルラット作成	D
最長 16 時間拘束によるうつ病モデルラット作成	D
最長 24 時間手足水浸によるうつ病モデルラット作成	D
12 時間ごとの明暗条件かく乱によるうつ病モデルラット作成	D
発がん物質投与による癌モデル作成（Ethyl-carbamate：ウレタン）	D
遺伝子改変動物を含む重篤な疾患モデル作成	D
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で重度な痛みやストレスを生じる実験	D
処置後の苦痛を伴う解剖学的あるいは生理学的欠失、あるいは傷害を起こすこと	D
他の病態モデル作成	委員会判定
サル類、イヌ、ネコに精神病のような行動を起こさせる実験（ラットへの代替はできないか検討）	E
麻酔下で重度の火傷や外傷を引き起こすこと（術後の観察、鎮痛薬、抗生剤の投与、人道的エンドポイントの考慮）	E
無麻酔で重度の火傷や外傷を引き起こす	承認しない
中枢神経を傷害し、自身あるいは同居動物を損傷させるような攻撃的行動をとらせること	承認しない

Q7: 無麻酔下で行う処置とその苦痛度レベルは？

A: 以下の表を参考にして下さい。

絶食や特に絶水は、生理学的に影響が大きいので実験上の必要性について十分吟味すべ

きです。

<無麻酔下で行う処置とその苦痛度レベル>

実験処置	苦痛度レベル
2～3時間の絶食・絶水	B
摂水できる状態での24時間までの絶食	C
摂水できる状態での48時間までの拘束（体重が15%以上減るような実験では、cost & benefitを明らかにする必要がある）	D
<p>摂水できない状態での16時間以上の絶食（マウス、100g以下のラット）このような実験では、cost & benefitを明らかにする必要がある。摂水制限をする場合は以下の記録をとるよう努める。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・毎日の摂水、摂餌量と体重 ・実験期間と動物の将来の使用予定 ・加えられるすべての処置 <p>次の場合には、水を与える量を多くする。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・脱水症状が認められるとき <ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少が認められるとき（水が飲めないときは固形飼料を食べなくなる） 	D
尾端切除（できれば耳パンチによる材料採取へ変更）	C
トランスジェニック動物などの繁殖・育種	B
本来の母親に代わり不適切な代理母を与えること （除く、マウス、ラット、ウサギなどのSPF化の際の里親）	D
行動学的実験において故意にストレスを加えること	D
腫瘍部位に限局して放射線を照射すること	C
放射線障害（免疫応答除去を惹起すること、結果として免疫不全、易感染性など）	D
紫外線を照射する	D
低酸素あるいは酸素富化条件下（5～30%）で2時間までの飼育（ストレス実験）	D
低温状態（4℃）で1日最大12時間、連続して最大2週間までの飼育（ストレス実験）	D
化学的ストレスとして薬物を経口、腹腔、吸入投与し最大4週間飼育する	D
ストレスやショックの実験	D
麻酔薬を使用しないで痛みを与えること、例えば毒性試験で動物が死に至るような処置をすること	D

Q8:機能測定、生理学的測定などとその苦痛度レベルは？

A:以下の表を参考にして下さい。

試験に際し、拘束/絶食/手術などの他の要素を含むときは、実験計画書にその処置の苦痛度レベルも併記する必要があります。

<機能測定、生理学的測定などとその苦痛度レベル>

実験処置	苦痛度レベル
水迷路試験 (Barnes circular maze, Y-maze, Plus-maze 高架式十字、他) (学習、記憶力の評価)	B
スキナー箱でのレバー押し行動測定など (学習、記憶力評価)	B
迷路試験 (学習、記憶力の評価) 動物を強制的に水につけることは胃潰瘍ができるほどのストレスとなることに留意	C
ローターロッド試験 (回転棒による運動機能測定)	B
オープンフィールド試験 (不安や恐怖などの情動性の評価)	B
探索能、行動量測定試験 dipping test	B
餌取り試行 (学習、記憶力の評価)	B
外部刺激に対するレバー押し応答試験 (学習、記憶力の評価)	C
非観血的血圧測定 (尾静脈、テレメトリー埋め込み動物など)	B
観血的血圧測定 (麻酔から覚醒させない)	B
心電図測定	B
直腸温測定	B
行動観察	B
測定・記録器を用いた行動量測定	B
短時間の痛覚試験 (鎮痛効果測定) 圧刺激試験、テールフリック試験、つまみ試験、ホットプレート試験、フリンチジャンプ試験 痛覚の試験はより苦痛度の少ない実験法への代替を検討する	C
麻酔下固定状態でX線, PET, MRI, ECHO 機器により体内部の臓器、血管などの状態を測定する	B
血流量測定 (麻酔下で動脈プローブ用いる)	B
脳に挿入された電極を用いて脳に電気刺激を与え、神経活動を電気生理計測する。電流刺激の頻度、電流 100mA 以上など脳細胞に損傷を与えるならば苦痛度は高くなる。	C/D

Q9:げっ歯類の放射線照射による苦痛度レベルは？

A:以下の表 (線量 200kv、10mAのX線照射による皮膚表面レベルでの線量による)を参考にして下さい。

照射条件	苦痛度レベル
線量4 Gy以下での全身あるいは胸腹部への照射（放射線の影響は一時的である。）	B
線量8 Gy以下での手足・頭部への1回限りの局所照射（放射線の影響は一時的である。）	B
線量4～8 Gyでの全身あるいは胸腹部への照射（生理機能が一時的に損なわれるが、回復する。リンパ球などが一時的に減少する。）	C
線量8～12 Gyでの手足・頭部への1回限りの局所照射（生理機能が一時的に損なわれるが、回復する。リンパ球などが一時的に減少する。）	C
線量8 Gy以上での全身あるいは胸腹部への照射（生理・生態・習性を損なう障害が残る。骨髄死による致死的障害をもたらす。）	D
線量20 Gy以上での手足・頭部への1回限りの局所照射（生理・生態・習性を損なう障害が残る。骨髄死による致死的障害をもたらす。）	D

2) 実験動物の安楽死処置・人道的エンドポイント

Q1: 安楽死法とは？

A: 出来る限り動物に苦痛を与えない方法を用いて速やかに心機能または肺機能を停止させる方法です。最近では、3RのReductionを意識して予備実験を行わない傾向もありますが、実験処置後の動物が示す苦痛症状と程度を、予備実験で把握することによって本実験での適切な人道的エンドポイントを把握することが出来ます。

Q2: 安楽死処置を施さねばならない場合とは？

A: 安楽死処置は、以下の場合に実験者（責任者および実施者）の責任において行います。

1. 実験が終了したとき
2. 実験終了以外では、次の様な場合
 - ・実験目的上、検査のために致死の必要があるとき
 - ・実験処置により、動物の苦痛症状が明らかなき、または動物の状態回復が見込めない状態になったとき
 - ・なんらかの理由で実験を中止し、動物を処分する必要があるとき
 - ・感染動物の存在が確認され、当該動物飼育室を消毒するため、動物を処分する必要があるとき
 - ・過剰に繁殖した動物を淘汰する必要があるとき
 - ・人道的エンドポイントが生じたとき

Q3:安楽死処置を実施する際の注意点は？

A:以下の4項目は重要です。

1. 安楽死とは単に苦痛を最小限にして動物を処分することを意味するだけでなく、安楽死の直前の過程も含んでいる。安楽死前に動物を移動したり、準備したりする場合には、動物に恐怖や苦しみを与えないように配慮する必要がある。動物は鳴き声を立てたり、フェロモンを放出したり、行動を変化させたりすることにより、恐怖や苦しみを他の動物に伝達することができるといわれている。従って、安楽死するまでの期間、および意識消失までの期間はできるだけ短くしなければならない。
2. 安楽死は行為そのものが他人に不快感を与えかねないので、動物実験関係者以外の人の目に触れない場所で行う(施設外では行わない)。
3. 見た目に呼吸が停止したように見えても息を吹き返すことがあるので、反射の消失、筋の緊張消失、心臓の拍動停止を確認し、確実に死亡していることを確認する。
4. 手技が未熟であると、動物が処置中に暴れたりもがいたりし、苦痛を与えることになるので、頸椎脱臼などは、あらかじめ屍体で十分な練習を積んでおく。

Q4:実験動物の安楽死法は？

A:安楽死は、できるだけ外科手術に対応する全身麻酔下で実施します。

動脈血管切断またはカニューレーションによる放血処置をする場合は、必ず麻酔を施してから行います。以下に5つの方法を挙げます。

1. チオペンタールの過量投与

ペントバルビタールナトリウム(商品名:ネンブタール、ソムノペンチルなど)は、不安・興奮を伴うことなく、速やかに意識を消失させることから、マウスからイヌ・ブタ・鳥類まで各種の実験動物の安楽死処置に用いられていましたが、現在は動物医薬品としての販売は中止されています。ペントバルビタールの代替品として、チオペンタール(商品名:ラボナール)の利用を検討してください。

2. 炭酸ガス吸入法

炭酸ガスには麻酔作用があり、まず意識消失が起こり、ついで酸素欠乏により死亡します。安楽死処置専用容器内に動物を入れ、容器内の容積の10~30%/minの流入量で内部の空気をCO₂で置換する方法が推奨されます。ホームケージでなく専用の容器を用いる場合には、使用するたびに容器を空にして洗浄します。高CO₂濃度条件下では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す。

3. 麻酔薬吸入法

イソフルレンなどの吸入麻酔薬を吸入させて死に至らしめる方法です。

保定が困難な場合には有効ですが単独で使用する場合は死に至るまで長時間を要します。吸入麻酔への忌避行動がある場合は鎮静剤を投与します。吸入麻酔薬の過剰投与後、その他の方法で確実に安楽死させる必要があります。

注) エーテル(ジエチルエーテル)は引火性および爆発性があり、労働安全衛生上極めて危険です。気道刺激とそれに伴う気道分泌液過剰および喉頭痙攣などの副作用があり、医薬品として販売されておらず倫理的観点からも推奨されません。エーテル処分した動物屍体をそのまま冷蔵庫に入れると、引火・爆発の危険性があり安楽死処置の目的でも使用することはできません。また労働安全基準の観点から、動物実験従事者に健康被害を及ぼす危険性があります。すでに多くの研究機関で安楽死を含めて動物実験での利用は禁止されています。ハロタン、クロロホルムは人体への毒性があり、クロロホルムは人および獣医臨床から除外されているので安楽死薬としては推奨できません。

4. 頸椎脱臼法

頸椎を脱臼することによって脊髄が切断されて即死します。マウスや幼弱ラット(200g以下)で用いられています。熟練した実験者・技術者が実施する場合には容認されます。実験に支障が無ければ麻酔下での実施が望ましいです。片手で尾を持って軽く引っ張りながら、ケージの金属製蓋の上に動物を載せて置きます。ピンセットあるいは手指で頸背部をしっかりと押さえつけ、同時に尾根部近傍を持って後方斜め上に一気に強く引くとボキッという感触とともに頸椎がはずれ、直ちに死に至ります。ラットの場合は尾の皮膚が抜けやすいので、尾根部をしっかりと持って体部をひねるように引っ張ることがコツです。実施に当たっては屍体を使って十分に訓練する必要があります。

5. 深麻酔による意識喪失下での放血、灌流固定、開胸

動物種を問わず麻酔薬の過剰投与による安楽死処置の補助手段として、苦痛軽減処置をした意識喪失下での放血、灌流固定、開胸は容認されます。

Q5: 齧歯類の胎子・新生子の安楽死方法は？

A: マウスやラットなどの胎子、7日齢未満新生子は疼痛や不快を知覚することがないことから、麻酔を施すことなく液体窒素に浸漬する方法や鋭利な刃物を用いた断頭などにより安楽死させることが可能です(動物実験委員会による科学的必然性が審査されることが望ましい)。妊娠 34日齢以降のモルモットなどの胎子・新生子、生後 7日齢以降のマウスやラットなどの新生子は、成獣と同様に、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します。死に至る時間を考慮すると、マウスやラットなどの新生子では低酸素症に抵抗性があり、吸入麻酔薬単独等により死に至らすことは人道的ではありません。げっ歯類の胎子・新生子の安楽死法は以下の順に推奨されます。

- ・ペントバルビタールなどの腹腔内・胸腔内への過量投与
- ・塩化カリウムの心臓内投与
- ・イソフルラン・セボフルランなどの吸入麻酔薬あるいは二酸化炭素(胎子及び7日齢未満のマウスやラットなどの新生子は適用外)
- ・液体窒素への浸漬
- ・深麻酔下にて固定液への浸漬

- ・断頭
- ・頸椎脱臼

Q6: 実験動物の安楽死法でやってはいけない方法は？

A: 塩化カリウムや神経遮断薬を単独で安楽死処置に用いる方法は容認されません。同様に意識喪失前に神経筋遮断薬の作用が発現するようなペントバルビタールの併用も容認されません。ジエチルエーテル、クロロホルム、シアン化合物、抱水クロラル、ストリキニーネ等の使用も不適切です。また、頭蓋打撲や空気塞栓、無麻酔での放血も容認されません。

Q7: 安楽死処置とその苦痛度レベルは？

A: 各種安楽死処置における苦痛度を下記に記します。

<安楽死処置とその苦痛度レベル>

安楽死処置	苦痛度レベル
頸椎脱臼（マウスと200g以下のラットで実施）	B
断頭（マウス・ラットの胎児、7日齢未満新生児のみ実施）	B
CO ₂ ガス吸引	B
過剰量の麻酔薬投与（吸入麻酔、注射麻酔）	B
麻酔下放血（全採血）または静脈切開	B
家庭用電子レンジあるいは硝酸ストリキニーネを用いて動物を殺すこと	承認しない
避けることの出来ない重度のストレスを与えて殺すこと（長期にわたる絶食、絶水、拘束、溺死、その他）	承認しない

Q8: 人道的エンドポイントとは？

A: 実験処置により重度の苦痛をあらわす症状が観察された時、実験処置を中断または中止し、安楽死が必要な場合その処置を行う時点のことです。

Q9: 人道的エンドポイント評価の観察項目は？

A: 以下の5つの観察項目に注意して下さい。

1. 体重減少(摂餌・摂水量の減少も含む)
2. 外観の変化(体位、姿勢、毛のつや、立毛など)
3. 測定できる臨床的サイン(心拍数、呼吸数、体温など)
4. 行動の変化(動き回る、動かない、攻撃的など)
5. 外部刺激に対する応答(音に対する反射、接触刺激に対する反射など)

* 動物の示す状態変化はさまざまなので、人道的エンドポイントの設定は、実験に応じていくつかの状態の組み合わせで行うのがよい。

Q10:一般的な動物実験での人道的エンドポイントは？

A:実験の種類によらず苦痛や衰弱・瀕死のような全身症状は似ており、以下の8項目が挙げられます。

1. 体重減少(飼料と水の摂取量の変化の反映)
動物の状態を示す重要なサインであり、体重減少を対照群と比較し、一定の減少点(例:数日で20%以上減)を定め人道的エンドポイントとする。
2. 低体温
動物の全身状態悪化の重要な指標であり、特定の実験の場合は、安楽死させる時期の指標として指定された体温まで下がる点(4~6℃低下)を人道的エンドポイントとすることができる。
3. 目やになど分泌物の付着、全身被毛の汚れ
状態悪化で毛づくろいをしなくなるため、あるいは行動不活発のための排泄による汚れ
→痛みの表現形
4. 跛行または足を引きずる等異常な姿勢 →痛みの表現形
5. 体の一部をなめたり、引っ掻いたりする永続的自損行為による傷の発生 →痛みの表現形
6. 立ったり動いたりすることを嫌う →痛みの表現形
7. 糞便や尿の排泄の仕方の変化 →痛みの表現形
8. 取扱者に対する態度の変化
9. 攻撃的になったり逃げたりする →痛みの表現形

Q11:免疫研究での人道的エンドポイントは？

A:以下の3項目が考えられます。

1. 投与部位に感染や潰瘍を起こしたとき
フロイントのコンプリートアジュバント(FCA)は、FCA以外のアジュバントでは免疫が難しい場合のみ使用し、小動物、ウサギのフットパットには科学的に正当な理由(細胞性免疫反応惹起)がない限り投与しない。投与が許されたときは片方のフットパットにのみ投与する。
投与後4週間は少なくとも週3回投与部位の観察を行う。
2. 免疫処置により動物が苦痛、衰弱、脱水などの症状を示したとき
3. 永続的自損行為による傷の発生が認められたとき→痛みの表現形

Q12:腫瘍研究での人道的エンドポイントは？

A:以下の7項目が考えられます。

1. 腫瘍重量が、マウス・ラットで体重の10%を超えたとき
2. マウスの場合、腫瘍塊のサイズが、長径 1.7cm を超えたとき
3. 腫瘍塊が動きを制限する位置に発生し正常な身体機能を物理的に妨げるようになったとき

4. 腫瘍塊を考慮して、体重が対照動物の体重より20%以上減少したとき
5. 腫瘍部分の潰瘍化または感染が起きたとき
6. 局所化された腫瘍が周囲の組織に転移したとき
7. 永続的自損行為による傷の発生が認められたとき→痛みの表現形

Q13:腹水採取実験での人道的エンドポイントは？

A:以下の2項目が考えられます。

1. 苦痛、衰弱、脱水などの症状が見られたとき
2. 腹水量が正常体重の20%を超えたとき

頻回の腹水採取は、感染症の危険や腹腔への出血などを起こす危険性がある。最終過程での腹水採取は、麻酔下で行う。モノクローナル抗体産生のための実験では、げっ歯類を用いて腹水が採取される。腹腔内に接種された腫瘍の成長により産生される腹水の蓄積は体重の増加をもたらし、動物に苦痛を与える。

Q14:痛みを伴う実験の人道的エンドポイントは？

A:手術・病態モデルの作成などの実験処置により苦痛の表現が強かったり長引いたりする場合は、その時点が人道的エンドポイントといえます。科学的必要上、実験を継続する場合は、鎮痛剤の投与などの苦痛軽減処置を施します。激痛があるはずなのに、げっ歯類やウサギなどの動物は行動変化を見せない場合があるので、これらの動物では普段の状態をよく観察しておき、処置動物の痛みの表現や姿勢を識別することが大切です。

<外科処置及び術後の痛みと表現>

目や耳の手術	不快感から、こすったり引っ掻いたりする。耳に痛みがある場合は頭を傾けたり、頭を振ったり四肢で耳をこすったりする。
断肢術	広範囲にわたる筋肉の外傷によって強い痛みがある。
頸部の手術	強い痛みがあり、頭や首の異常な姿勢をとる。
腹腔内の手術	胸骨側からのアプローチでは強い痛みがある。側方からのアプローチではそれほど痛みはなく、処置後動物は迅速に歩き回り、苦痛を感じている様子も見られない。
腹部の手術	明らかな痛みはなく、動物は処置後迅速に歩き回る。広範囲にわたる手術の場合は、背を外側に弓なりに曲げたり、腹部を引っ込めたり、腹部を守ろうとする姿勢で痛みを表現する。

3) 実験動物の麻酔

Q1:麻酔法とは？

A: 麻酔は、動物福祉の観点から、実験によるすべての処置によって生じる動物の苦痛、恐怖をやわらげることが主目的として行われます。また実験者にとっても動物の取扱い、観察、測定、手術などを安全かつ容易にする手段ともなります。さらに動物実験に伴う疼痛と苦痛が多くの器官の生理学的反応に影響し、実験結果を修飾することがあるため疼痛の排除や緩和はその影響を減弱させ動物実験の精度や再現性を向上させます。

1. 全身麻酔: 全身の鎮痛を伴う意識喪失と筋肉を弛緩させ、主に外科手術に用いられます。注射麻酔法と吸入麻酔法があります。げっ歯類ではほとんどが全身麻酔です。
2. 局所麻酔: 特定の知覚神経線維をブロックし、同時に支配下の筋肉を弛緩させ、短時間で行える限局した部位の手術や尿道カテーテルなどの挿入時の苦痛軽減に使われます。

Q2: 麻酔を行う際の動物福祉の配慮とは？

A: 体温管理、循環器・呼吸器の機能管理、手術部位の消毒による感染予防といった動物福祉の配慮が必要です。また麻酔薬として、麻薬、向精神薬、劇薬が使用されます。

特にげっ歯類の麻酔では、以下の点に注意して下さい。

1. 体重当たりの体表面積が大きいので、低体温になりやすい(保温が必要)。
* 体温低下を防ぐには、温度調節機能のついたパッドの使用が有効です。
2. 体表の静脈が細いので静脈内投与部位が制限される。
3. 喉頭が小さいので、気管内挿管が困難。
4. 体が小さいので、薬剤の投与量が非常に少ない(希釈して使用)。

Q3: 麻酔の効き方を示す状態は？

A: 麻酔処置による状態は以下の4段階に分けられます。

1. 鎮痛 (analgesia) : いくらかの疼痛を軽減させる効果がある。
2. 不動化 (immobilization) : 動物は動けないが、疼痛に対しては反応する。
3. 浅麻酔 (light anesthesia) : 動物は動かず、意識もないが小手術には反応する。
4. 深麻酔 (deep anesthesia) : 外科麻酔。すべての手術に対して反応しない。

Q4: 麻酔の判定は？

A: マウス、ラットでは、まず立ち直り反射(正向反射)の消失を確かめ、次に有鉤ピンセットなどで足指や尾への刺激に対する反射を確かめます。呼吸数が極端に減り(正常はマウスで180回/分、ラットで90回/分)、大きな息をするのは過剰麻酔の危険な状態です。吸入麻酔であれば麻酔ガスを遠ざけ、胸部を圧迫したり、ゴムスポイトなどで人工呼吸することによって回復することがありますが、注射麻酔では回復しません。

モルモット、ウサギでは浅麻酔、麻酔期、深麻酔の段階を判定します。

- ・浅麻酔: 痛覚反射が残っているので、痛み刺激に対して呼吸数や心拍数が増加し、眼瞼反射や瞳孔の収縮が見られ、咽喉反射が残っている。

・麻酔期(手術適期):呼吸数は減少するが、規則的な胸腹式呼吸を繰り返し、血圧や心拍数が安定し、眼瞼反射は鈍く、瞳孔は散大気味だが安定している。咽喉反射は消失し、舌を引き出すと引き込む反射も消失する。

・深麻酔:腹式呼吸となり、呼吸数が顕著に減少する。心拍数、血圧が低下し、眼瞼、角膜反射の消失、角膜乾燥、腹筋の異常運動が見られる。

Q5:小型げっ歯類に常用される麻酔薬は?

A:吸入麻酔薬と注射用麻酔薬について下記を参照して下さい。

1. 吸入麻酔薬:麻酔深度の調整が容易で覚醒が早いため、長時間の安定した麻酔や外科手術に用いられます。

イソフルラン、セボフルラン、エンフルラン、メキシフルランなどがあります。

2. 注射用麻酔薬:注射麻酔は手技が容易で実験小動物に短時間の処置を行う場合などは有用ですが、一般に麻酔深度や持続時間の調節が困難です。単独投与で全身麻酔の三要素を全て満たす理想的な麻酔薬が無いため、二剤や三剤を組み合わせる必要があります。

メドミジン+ミダゾラム+ブトルファンール(三種混合麻酔薬 MMB)、チオペンタール、ケタミン+メドミジン、ケタミン+キシラジン、プロボフォールなどがあります。なお、ミダゾラムとケタミンはそれぞれ向精神薬と麻薬に指定されていますので、使用するには麻薬及び向精神薬取締法や関連するガイドラインなどを遵守しなければなりません。

Q6:よく使用される吸入麻酔薬の特徴は?

A:一般的な吸入麻酔薬については下記の表を参考にして下さい。

イソフルラン	薬効	気化させやすい。 導入および覚醒が非常に早い(麻酔深度は容易かつ迅速)
	副作用	呼吸抑制作用を有する。心血管系の抑制作用は少ない。刺激臭がある(ウサギを除くほとんどの種で問題ないが、ウサギは忌避反応を示す)。
	特記事項	生体内変化が少ない。ほとんど呼気中に排泄される。薬剤の代謝および毒性実験にほとんど影響しない。非刺激性、非引火性、非爆発性である。

<イソフルランの投与量(%)>

	マウス	ラット	ウサギ	イヌ
--	-----	-----	-----	----

導入麻酔	3.0	3.0	3.0	4.0
維持麻酔	1.0	1.5	1.5	3.0

セボフルラン	薬効	最も導入が早く覚醒も早い。刺激臭もなく、麻酔深度の調節性に優れ、導入にも維持にも用いることができる。
	副作用	悪性高熱、横紋筋融解症、ショック、アナフィラキシー様症状、痙攣、肝機能障害、黄疸。
	特記事項	気化器は専用のものが必要。閉鎖系麻酔回路でソーダライムに接触させると分解する。
エンフルラン	薬効	気化させやすい。 導入および覚醒が早い（麻酔深度は容易かつ迅速に変えられる）
	副作用	心血管系および呼吸器系の抑制作用を有する。
	特記事項	肝臓でほとんど代謝されない。肺を経由することでほとんど排泄される。非刺激性、非引火性、非爆発性である。
メトキシフルラン	薬効	鎮痛・鎮静作用がある。麻酔導入が遅いので大型動物の注射薬に続く維持麻酔に使用される。小型動物では不慮の過剰投与の危険性が少ない。新生仔における導入および維持麻酔にすぐれる。
	副作用	わずかな心血管系および呼吸器系への抑制作用を有する。 腎臓障害（フッ素イオンの放出）
	特記事項	気化しにくい。空気あるいは酸素下では非刺激性、非引火性、非爆発性である。

Q7: 一般的によく使用される注射用麻酔薬の特徴は？

A: 注射用麻酔薬の特徴については下記の表を参考にして下さい。

チオペンタール (バルビツール系)	薬効	静脈内投与により即座に麻酔の導入ができ、すべての種で使用可能。鎮痛作用が乏しい。
	副作用	投与後、一時的無呼吸を生じる（補助呼吸は必要ない）。血管の周囲に漏れると刺激性がある（1.25～2.5%での使用が望ましい）。反復投与すると覚醒時間が著しく長くなる。

	特記事項	水溶性の状態では不安定（一度溶かしたら7～10日以内で使用）。投与は半量を急速に投与し、残りを1分以上かけて投与する。
--	------	-------------------------------------------------------------

ケタミン（麻薬）	薬効	ほとんどの動物を不動化させることができる。強直様の鎮静が生じ、周囲のものを認識しなくなる。強い無痛状態が誘導される動物種では自発運動がしばしば起こる。動物によっては角膜反射が長時間失われる。
	副作用	ほとんどの動物で中等度の呼吸抑制が生じ、血圧が上昇。骨格筋の緊張が増加する。小型げっ歯類では外科麻酔に必要な高容量を投与すると重篤な呼吸抑制を生じる。
	特記事項	筋肉内、腹腔内、静脈内のいずれの経路でも投与できる。咽頭および喉頭反射は残るが、唾液分泌が増加するため気道閉塞の危険性がある。唾液の分泌量を減らすため、アトロピンやグリコピロレートを使用することが望ましい。大型動物（イヌ、ネコ、ウサギ）を不動化させるのに選択される。げっ歯類に対する効果は一様でない。メデトミジン、キシラジン、ジアゼパムと併用して投与すると効果的。麻薬であるため使用するためには、麻薬及び向精神薬取締法及び鳥取県麻薬及び向精神薬取締法施行細則を遵守しなければならない。

アルファキサロン／ アルファドロ ン （ステロイド系）	薬効	静脈内投与により、容易に麻酔の導入ができる。反復投与によって、覚醒時間にさほど影響を与えない。非刺激性。ほとんどの動物で広い範囲の安全域を持つ。代謝が早いいため、長時間の麻酔に優れている。筋肉内および腹腔内への投与による効果は一様には現れない。
	副作用	イヌでヒスタミン放出を促進するために、使用できない。ネコでも軽いヒスタミン放出が起こり、足・鼻孔部・耳に浮腫を引き起こす。
	特記事項	2種類のステロイドの混合液であり、ポリオキシエチル化ひまし油に溶かしている（市販物は総ステロイド

	の mg/Kg)。バルビツール酸誘導体と併用してはならない。明らかな分泌作用はない。
--	--------------------------------------------

プロポフォール (アルキルフェノール系)	薬効	静脈内投与により、迅速に麻酔の導入ができる。効果はチオペンタールと同様であるが、覚醒は速やかで迅速。素早く静脈内投与する必要がある。
	副作用	呼吸抑制作用がある。腎機能、肝機能、血液凝固に影響は見られない。
	特記事項	水に溶けにくいいため、大豆油の懸濁液となっているので、投与すると脂肪血症となる。

Q8: 麻酔薬の実験動物への投与量は？

A: 注射用麻酔薬の投与量については下記の表を参考にして下さい。

MMB: メトミジン(*)とミダゾラム(**)とブトルファノール(***)の混合液の投与量 (mg/Kg) と麻酔時間

	マウス	ラット	ウサギ
投与量	0.3*+4**+5***	0.15+2+2.5	0.5+2+0.5
投与経路	腹腔内	腹腔内	静脈内
効果	外科麻酔	外科麻酔	外科麻酔
麻酔時間	30分	30分	60分
覚醒時間	60分	60分	120分

チオペンタールの投与量 (mg/Kg) の目安と麻酔時間

	マウス	ラット	ウサギ	イヌ
投与量	30~40	10~15	30	10~20
投与経路	静脈内	静脈内	静脈内	静脈内
効果	外科麻酔	外科麻酔	外科麻酔	外科麻酔
麻酔時間	5~10分	10分	5~10分	5~10分
覚醒時間	10~15分	15分	10~15分	20~30分

ケタミンとキシラジンの混合液の投与量 (mg/Kg) と麻酔時間

	マウス	ラット	ウサギ	イヌ
投与量	80*+10**	75+10	10+3	5+1~2
投与経路	腹腔内	腹腔内	静脈内	静脈内

効 果	外科麻酔	外科麻酔	外科麻酔	外科麻酔
麻酔時間	20～30分	20～30分	20～30分	30～60分
覚醒時間	60～120分	120～240分	60～90分	60～分

*: ケタミン **: キシラジン

プロポフォール投与量 (mg/Kg) の目安と麻酔時間

	マウス	ラット	ウサギ	イヌ
投与量	26	10	10	5～7.5
投与経路	静脈内	静脈内	静脈内	静脈内
効 果	外科麻酔	外科麻酔	外科麻酔	外科麻酔
麻酔時間	5～10分	5分	5～10分	5～10分
覚醒時間	10～15分	10分	10～15分	15～30分

Q9:術後の疼痛管理と使用される鎮痛薬は？

A:手術後に動物が痛みの症状を示す場合は、下表の鎮痛薬投与が痛みの軽減に有効とされています。

動物 鎮痛剤	マウス	ラット	モルモット	作 用
アスピリン	120mg/Kg 経口	100mg/Kg 経口	87mg/Kg 経口	解熱鎮痛消炎剤 サルチル酸系 血液を固まりにくく する作用あ り。 プロスタグランジン 抑制
イブプロフ エン	30mg/Kg 経口	15mg/Kg 経口	10mg/Kg 経口	解熱鎮痛消炎剤 非ピリン系 作用はアスピリンよ り強い。 即効性、副作用少な い。 プロスタグランジン 抑制
インドメタ シン	1mg/Kg 経口	2mg/Kg 経口	8mg/Kg 経口	鎮痛、麻疹、収れ ん、消炎

				非ステロイド プロスタグランジン 抑制
ブプレノル フィン	0.05～ 0.1mg/Kg 皮下注 8時間ごと	0.01～ 0.05mg/Kg 皮下注 8時間ごと	0.05mg/Kg 皮下注 8～12時間 ごと	オピオイド系、モル ヒネより強い鎮痛作 用、作用時間が長 い。持続する鈍痛に 効果、術後の鎮痛

Q10:術後の痛みに伴う動物の行動例は？

A:術後の痛みに伴う動物の行動例については、「外科処置及び術後の痛みと表現 (P16)」を参考にして下さい。

Q11:げっ歯類の新生児や胎児への麻酔における注意点は？

A:胎子・新生子は、侵害刺激には反応しても脳は疼痛や不快を知覚する状態にないことが示されています。したがって、マウスやラットなどの胎子・7日齢未満の新生子は実験に際して鎮痛・麻酔を施す必要はないが、モルモットでは妊娠34日齢以降の胎子には疼痛管理が必要とされます。なお、モルモット新生子、生後7日齢以降のマウスやラットなどの新生子は、成獣と同様の麻酔法が適用されます。

推奨される麻酔法を以下に記載します。

1. イソフルラン・セボフルランなどの吸入麻酔薬の使用。ただし、マウスやラットなどの新生子は麻酔期に至るまでに時間を要することに配慮してください。
2. 注入可能な薬剤の使用。ただし肝機能が十分に発達していない場合があるため、用量、用法に配慮してください。また、リドカインなどの局所麻酔薬や鎮痛薬の使用を推奨します。

Q12:推奨されない麻酔薬は？

A:従前から使用されていたペントバルビタール (単剤で使用する場合)及び、アバチン(トリブロモエタノール)、ウレタン、ジエチルエーテルは、原則として全身麻酔薬として使用することは推奨されません。その特性から他の薬剤では代替できないと判断された場合は、科学的根拠を動物実験計画書に記述し動物実験委員会の審査を経てその指示に従う必要があります。また、これらを麻酔薬として使用して実施した動物実験の成果を論文発表する場合、論文査読の時点で掲載を拒否される可能性があります。

Q13:麻薬(ケタミン)を用いる場合の注意点は？

A:麻薬は、麻薬及び向精神薬取締法と鳥取県麻薬及び向精神薬取締法施行細則で規制されています。麻薬を動物実験で利用する場合は、鳥取県に麻薬研究者免許を申請して、麻薬研究者免許を取得しなくてはなりません。また、次の事項を遵守しなければなりません。

- 堅固な麻薬専用の保管庫で保管すること。
- 保管、使用、譲受け、譲渡し、廃棄などを記録すること。
- 使用の有無にかかわらず、鳥取県に、年間報告書を提出すること。

なお、麻薬に関する手続きは、担当部局の事務担当者にご相談下さい。医学部は米子地区事務部経営企画課、農学部は農学部庶務係が担当になります。

Q14: 向精神薬(ミダゾラム、ペントバルビタールなど)を用いる場合の注意点は？

A: 向精神薬は、麻薬及び向精神薬取締法と試験研究施設における向精神薬取扱いの手引(厚生労働省)で規制されています。向精神薬を動物実験に用いるためには、中国四国厚生局に向精神薬試験研究施設の登録を行わなくてはなりません。その際に、組織(部局)毎に、①向精神薬の保管場所、②向精神薬を使用する場所、③向精神薬の品目が登録されています。また第1種と第2種向精神薬(ペントバルビタールが該当)は譲り受け(購入)、譲り渡し、廃棄を記録して最終記載日から2年間保存しなければなりません。第3種向精神薬(ミダゾラムが該当)に関しては、譲り受け(購入)を記録し、定期的な在庫確認をすることが望ましいです。

なお、向精神薬に関する手続きは、担当部局の事務担当者にご相談下さい。医学部は米子地区事務部総務課、農学部は農学部庶務係が担当になります。

4. 動物実験に関する研究成果の情報発信に関するQ&A

Q: 動物実験に関する研究成果をメディアに情報発信する場合の留意点は？

A: 研究成果はメディアなどに積極的に発信すべきであるが、動物実験に関する画像や動画などがメディアで公表された場合、研究成果とは異なる誤解を社会に対して生じさせる可能性があります。研究成果とは直接関係のない動物実験に関する情報(画像や動画など)や動物愛護の3Rの原則の遵守に疑義を感じさせるような情報の公開は控えるよう留意して下さい。動物実験に関する研究成果の情報発信に関して不明な点がある場合には、動物実験委員会事務局まで問い合わせして下さい。

資料の根拠

1. アニマルマネジメント(動物管理・実験技術と最新ガイドラインの運用)
大和田一雄 監修・笠井一弘 著 アドスリー

2. アニマルマネジメントⅡ(管理者のための動物福祉実践マニュアル)
大和田一雄 監修・笠井一弘 著 アドスリー
3. 実験動物の不適切な麻酔方法 大阪大学医学部実験動物医学教室HP
4. ラボラトリーアニマルの麻酔—げっ歯類・犬・猫・大動物—
P. Flecknell 著・倉林 譲 監修 学窓社
5. 大阪大学医学部附属動物実験施設「施設便り 2013」
大阪大学医学部附属動物実験施設 編集
6. 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
環境省自然環境局総務課動物愛護管理室 編集(平成 29 年 10 月発行)