

薬学研究における動物実験代替法研究の重要性とその問題点

大野 泰雄

**Importance of Research on Alternatives to Animal Experiments
in Pharmaceutical Sciences**

Yasuo OHNO

National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501 Japan

(Received January 11, 2008)

The Japanese animal protection law was amended in 2005 to include the 3Rs principle in animal experiments. According to this new law, the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, the Ministry of Health, Labor and Welfare, and the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries developed announced several guidelines in 2006. These guidelines indicated responsibility of the president of each research institute conducting animal experiments to meet obligating of the animal experiment committee (AEC) and the education to be provided to scientists. About half a year after this notification, I conducted a survey on how these guidelines were put into practice in the pharmaceutical colleges and universities. I received 29 answers from 24 institutes. It seemed that every institute was following, the guidelines, however, there were many institutes where the details were inadequate. For example, questions on the existence of alternative methods and degree of distress and pain were not asked in some questionnaires sent to the AEC. Education on proper conduct of animal experiments (3Rs, methods to evaluate and decrease distress and pain, and methods of euthanasia) was not conducted in many institutes. Further improvement seems necessary.

Key words—animal experiment; alternative; japanese animal protection law; guideline, ethical committee

1. 序言

生物現象を明らかにし、医薬品や化学物質等のヒトへの影響を研究する薬学において、動物実験は基本的研究材料として欠かすことはできない (Table 1)。その結果得られた知見を基に医薬品開発を行う際にも、その有効性と安全性の確認には動物実験に頼らざるを得ないところが多い。また、生命現象を理解することなく、医薬品の適切な使用は行えないが、薬剤師教育の有効な手段としても、動物実験は重要である。

一方、動物実験における動物福祉に関する社会の関心は極めて高く、動物愛護や動物の権利を擁護するため多くの関連団体が設立され、活発な活動が行われている。しかし、Figs. 1-3 に示したように、動物実験への反感の程度はその目的や使用する動物

の種類、また、実験の行い方により異なる。適切な説明が行われることにより、必要かつ適切な動物実験に対する同意が増加すると思われる。すなわち、動物実験に係わるすべての研究者及び教育者は、そ

Table 1. Sale of Experimental Animals (JSLAS, 2004)

Species	Conventional	Clean	SPF	Sum
Mouse	232589	1285337	4751033	6268959
Rat	43839	449854	2062193	2555886
Other rodents	48		7468	7516
Guinea-pig	11514	227718	66293	305525
Hamsters	4486	963	32744	38193
Rabbit	23015	69746	29300	122061
Dog	12689	70	0	12759
Cat	260	0	626	886
Monkeys	2248	0	0	2248
Pig	1228	130	0	1358
Goat	0	0	0	0
Sheep	35	0	0	35
Birds	5094	0	12199	17293
Total*	352467	2033893	6961860	9348220

* Include Suncus, ferret, amphibians, and fishes.

国立医薬品食品衛生研究所 (〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1)

e-mail: ohno@nihs.go.jp

本総説は、日本薬学会第 127 年会シンポジウム S40 で発表したものを中心に記述したものである。

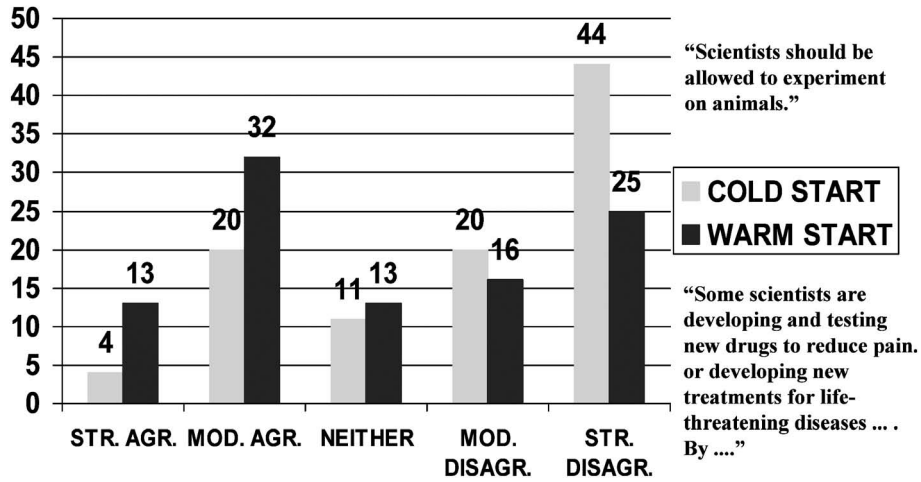


Fig. 1. Agreement on Animal Experiments (Difference Caused by Explanation)

(Aldhous P. *et al.*, New Scientist, 22 May, 1999, pp. 26–31), Light blue column: Explained as “Scientists should be allowed to experiment on animals.” Blue column: Explained as “Some scientists are developing and testing new drugs to reduce pain or developing new treatments for life-threatening diseases... by...”, Ordinate: Answer (%), Abscissa: STR. AGR.: strong agreement, MOD. AGR.: moderate agreement, NEITHER: neither, MOD. DISAGR: moderate disagreement, STR. DISAGR.: strong disagreement.

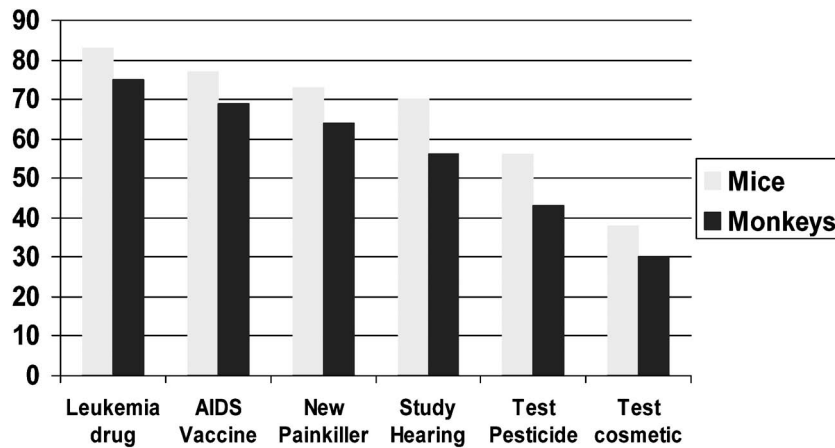


Fig. 2. Response to Animal Experiments (Difference Caused by Animalspecies and Object of Research)

(Aldhous P. *et al.*, New Scientist, 22 May, 1999, pp. 26–31), Yellow column: mouse, Blue column: monkey, Ordinate: Rate of agreement (%), Abscissa: Object of research.

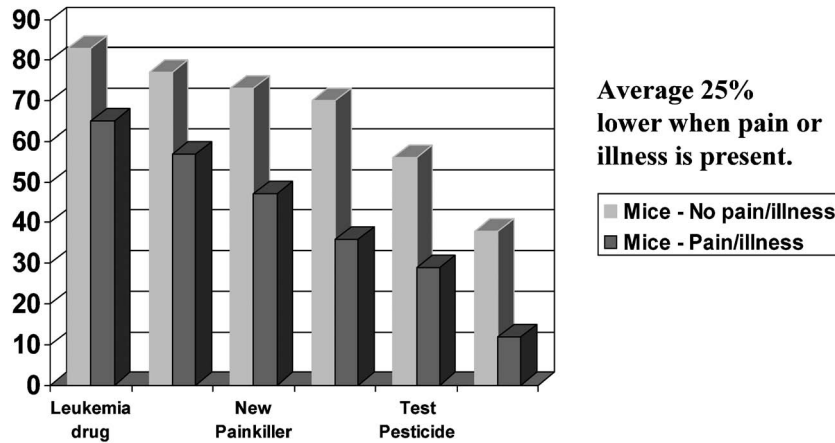


Fig. 3. Response to animal experiments (Difference by pain and illness)

(Aldhous P. *et al.*, New Scientist, 22 May, 1999, pp. 26–31), Yellow green column: Research without pain and illness, Red column: Research with pain and illness, Ordinate: Rate of agreement (%), Abscissa: Object of research.

の活動が社会の同意により許容され、支持されることにより、初めて可能となっていることを認識し、このような社会の動静に敏感に対応し、科学的・法的・倫理的に適切な研究を行わなくてはならない。

2. 動物実験の実施に関する指針

わが国においても科学研究においても動物福祉の尊重の必要性が認識され、平成17年6月の「動物の愛護及び管理に関する法律」(動愛法)の改定¹⁾で動物実験代替法に関する3R(Replacement, Reduction, Refinement)の原則が法に組み込まれた。また、平成18年6月までに、法令の目的を達成するため、環境省(環境省告示第88号「実験動物の飼育及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」)²⁾、文部科学省(文部科学省告示第71号「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」)³⁾、厚生労働省(厚生労働省通知科発0601002号「厚生労働省の所管する動物実験等の実施に関する基本指針」)⁴⁾及び農林水産省(農林水産省通知「農林水産省の所管する研究機関における動物実験等の実施に関する基本指針」)⁵⁾から実験動物の飼育・管理や動物実験についての指針が示された。日本学術会議からも動物実験に関する詳細指針「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」⁶⁾が示された。

3Rの達成は一研究者の努力だけでは不可能であり、研究機関全体としての対応が不可欠である。そこで、上記指針には実施機関(研究機関)の長の責任が明確に示された(文部科学省告示第71号「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」)。すなわち、実施機関の長は当該機関における動物実験等の実施に関する最終的な責任を有し、本指針に定める措置その他動物実験等の適正な実施のために必要な措置を講じること、と定められている。必要な措置とは、1)動物の愛護及び管理に関する法律(昭和48年法律第105号。以下「動物愛護管理法」という)や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(平成18年環境省告示第88号以下「飼養保管基準」という。)並びに各省庁からの指針その他の動物実験等に関する法令等の規定を踏まえ、動物実験等の施設等の整備及び管理の方法並びに動物実験等の具体的な実施方法を定めた規程を策定すること、2)動物実験委員会の設置、3)動物実験計画の承認、4)動物実験計画

の実施結果の把握、5)教育訓練等の実施、6)自己点検及び評価、並びに7)適切な方法で動物実験等に関する情報公開を行うこと、と定められている。動物実験委員会は実施機関の長の諮問を受け、動物実験計画が本指針及び機関内規程等に適合しているか否かの審査を行い、その結果を実施機関の長に報告するものであり、また、動物実験計画の実施結果について、必要に応じ助言を行うものとされている。この委員会は1)動物実験等に関して優れた識見を有する者、2)実験動物に関して優れた識見を有する者、3)その他学識経験を有する者で構成される。また、動物実験実施に際しては、科学的合理性を確保し、目的を達成するために必要な適正な動物実験等の方法の選択や代替法の選択、苦痛の軽減について考慮するとともに、適切に維持管理された施設及び設備において動物実験等を実施するよう定められている。

3. 薬学会及び薬学系研究機関における動物実験への対応

日本薬理学会では以前より動物実験を巡る社会状況に対応するために動物実験指針の改訂作業を行い、法や通知の改訂の結果も取り入れ、これに反する研究結果を学会誌から排除することが明示された(大野泰雄2007)⁷⁾。しかしながら、薬学会では薬学雑誌の投稿規定に「ヒトならびに動物実験に関する倫理基準として、——、動物実験に関する報告も所属機関の定める動物実験ガイドラインに基づいて行われるのみならず、文部省(現文部省科学省)の策定したガイドライン、No.141、1987年：“大学などにおける動物実験”に従って下さい」と古い指針を引用している。J. Health Sci.の投稿規定では「2)動物を対象とした論文は、所属機関の定める動物実験ガイドラインのみならず文部科学省など公的機関の策定したガイドラインに従って実施されたものに限り投稿を受け付けます。なお、当該論文はこれらのことを本文中に明記してください」とされているのみである。

一方、平成17年の日本薬理学会で動物実験結果をポスター発表した研究者にインタビューした結果では、医学部関係者の多くが、動物実験についての教育や動物実験委員会での審議について、明確に回答したのに対し、薬学系大学からの発表者の中には曖昧な回答者が多くいた。中には動物実験委員会が

Table 2. Survey on the Existence of Committee for Animal Experiment in 2004

Institution	Exist	Not exist	%
Medical school	9	0	100
Pharmaceutical school	4	2	67
Agricultural school	1	0	100
CRO	1	0	100
Research institute	1	0	100
Private company	59	10	86

* Result of question to young scientists presenting posters at the annual meeting of The Japanese Pharmacological Society in 2004. ** Mutai *et al* (2004) *Iyakuin Kenkyu* 35, 196-201.

存在しないとの回答もあった (Table 2: 大野泰雄 2005).⁸⁾ 平成 6 年に改訂された文部科学省の通知「大学等における動物実験について (文部省国際学術局長通知)」⁹⁾ では動物実験委員会の設置が明確に求められていたことから、動物実験委員会が存在しないとは考えられない。実際は存在しているが、適切に機能していないか、あるいは動物実験についての教育が若手研究者に十分に行われていないと推定された。今回、新たな動物愛護と管理に関する法令が改正され、省レベルの動物実験指針が示されたことから、薬学部における動物実験がどのように変わ

Table 3. Results of Survey on Animal Experiments in Pharmaceutical Schools

Number of answers		29		Number of Institutes		24	
1) Type of Institutes							
	Yes	Number of answers	%	members from own institute			
State university	9	24	37.50	216			
with Medical School	9	24	100.00	26			
with veterinary School	3	24	33.33	8.31			
Private University				17) Members?			
with Medical School	3	24	20.00	Sum	Number of answers	施設当たりの人数	
with veterinary School	0	24	0.00	General public	20	16	1.25
Pharmaceutical College	7	24	29.17	Veterinarian	5	12	0.42
2) Position in the Pharmaceutical School							
	Yes	Number of answers	%	Expert of animal care*	10	14	0.71
students	0	29	0.00	Expert of animal experiment*	117	21	5.57
Research assistant	2	29	6.90	Expert of alternatives	3	10	0.30
Associate professor	7	29	24.14	Others	71	18	3.94
Professor	20	29	68.97	*: Other than veterinarian			
3) Does your school conduct animal experiments?							
	Yes	Number of answers	%	18) How often do the committee meeting held?			
	28	28	100.0	Sum	Number of answers	平均	
4) Approximate number of animals used in a year							
	Sum	Number of answers	Mean	Number of times in a year	60.5	23	2.63
Mouse	119832	17	7049	19) How often do you submit application of animal experiment to the committee?			
Rat	39610	18	2201	Yes	Number of answers	%	
Hamster	72	12	6.0	At each purchase	3	23	13.0
Rabbit	424	14	30.3	At each planning	19	23	82.6
Dog	20	13	1.5	Once in a year	13	23	56.5
Moneky	0	13	0.0	twice in a year	1	23	4.35
Others	810	10	81.0	20) Descriptions of application form			
5) Do you conduct animal experiment?							
	Yes	Number of answers	%	Yes	Number of answers	%	
Did you conduct animal experiment recently?	27	29	93.1	Purpose of experiments	27	28	96.4
6) Do you know guideline notified by the Ministry?							
	Yes	Number of answers	%	Study director	28	28	100.0
	27	29	93.1	Study practitioner	28	28	100.0
7) Do you have the guideline?							
	Yes	Number of answers	%	Animal species	28	28	100.0
	23	28	82.1	Animal number	26	28	92.9
8) Can you access the guideline?							
	Yes	Number of answers	%	Alternatives	20	28	71.4
	24	28	85.7	Pain	21	28	75.0
9) Do you know the guideline issued by Japanese Science Council?							
	Yes	Number of answers	%	Method to decrease pain	25	28	89.3
	27	29	93.1	Reason not to decrease pain	21	28	75.0
10) Do you have the guideline?							
	Yes	Number of answers	%	21) Does your institute educate ethics on animal experiment?			
	21	27	77.8	Yes	Number of answers	%*1	
11) Can you access the guideline?							
	Yes	Number of answers	%	26	29	92.86	
	23	27	85.2	If education is conducted,			
12) Does your institute have institutional guideline on animal experiments?							
	Yes	Number of answers	%	22) To whom and how many hours do you educate?			
	28	29	96.6	Total hours	Number of answers	average (h)	target of education (%)**2
13) Do you have the guideline?							
	Yes	Number of answers	%	Students	60	24	2.50
	24	27	88.9	Post graduate students	41.5	22	1.89
14) Can you access the guideline?							
	Yes	Number of answers	%	Research stuffs	27.5	17	1.62
	24	26	92.3	Others	2.5	2	1.25
15) Is there Animal Experiment Committee in your institute?							
	Yes	Number of answers	%	23) Curriculum?			
	29	29	100.0	Yes	Number of answers	%*3	
16) number of committee members							
Sum	259	27	9.59	Animal protection law	21	24	80.8
				Physiology of experimental animals	17	24	65.4
				Methods of animal care	22	24	84.6
				3Rs principles	18	23	69.2
				Evaluation of pain	18	23	69.2
				Methods to decrease pain	19	23	73.1
				Method of euthanasia	21	23	80.8
				Alternative methods	15	23	57.7
				Others	11	17	42.3
				24) Have your institute received inspection on animal experiments by third party.			
				Yes	Number of answers	%	
				3	28	0.11	
				If you have,			
				25) By whom the inspection was conducted?			
				Yes	Number of answers	%*4	
				Stuff	2	2	0.67
				Outsiders	2	2	0.67

*1: calculated on the number of institutes that conducted animal experiments.

*2: calculated on the total number of answers (26).

*3: calculated on the number of institutes that conducted education on animal experiments.

*4: calculated on the number of inspected institutes.

ったかを知るため、平成 19 年の 2-3 月にかけて e-mail によるアンケート調査を行った。その結果は平成 19 年の薬学会年会でのシンポジウムで発表した。以下はその結果を示したものである。

アンケート調査の内容は Table 3 に回答とともに示した。アンケートは筆者の友人である薬学部職員に直接 e-mail で行い、29 人（重複があったため 24 施設）から回答を得た。その結果を Table 3 に示す。

動物実験委員会の設置状況を示したものである

が、今回はすべての動物実験実施施設に設置されていた。委員の数は 6-10 人が最も多かったが、16-20 人というのも 2 施設あった。なお、委員の構成は動物実験の専門家が中心で一般人とその他が加わっているところが多く、獣医師や動物飼育及び動物実験代替法の専門家を委員としているところは少なかった。また、動物実験届けが年に 1 回のみ施設が 56.5% を占めており、包括的な内容での審議が行われているものと推定される。一方、動物実験届けへ

Table 4. Classification of Pain and Distress Caused by Biomedical Experiments

Category A: Experiments involving either no living materials or use of plants, bacteria, protozoa, or invertebrate animal species.	Biochemical, botanical, bacteriological, microbiological, or invertebrate animal studies, tissue cultures, studies on tissues obtained from autopsy or from slaughterhouse, studies on embryonated eggs. Invertebrate animals have nervous systems and respond to noxious stimuli, and therefore must also be treated humanely.
Category B: Experiments on vertebrate animal species that are expected to produce little or no discomfort.	Mere holding of animals captive for experimental purposes; simple procedures such as injections of relatively harmless substances and blood sampling; physical examinations; experiments on completely anesthetized animals which do not regain consciousness; food/water deprivation for short periods (a few hours); standard methods of euthanasia that induce rapid unconsciousness, such as anesthetic overdose or decapitation preceded by sedation or light anesthesia.
Category C: Experiments that involve some minor stress or pain (short-duration pain) to vertebrate animal species.	Exposure of blood vessels or implantation of chronic catheters with anesthesia; behavioral experiments on awake animals that involve short-term stressful restraint; immunization employing Freund's adjuvant; noxious stimuli from which escape is possible; surgical procedures under anesthesia that may result in some minor post-surgical discomfort. Category C procedures incur additional concern in proportion to the degree and duration of unavoidable stress or discomfort.
Category D: Experiments that involve significant but unavoidable stress or pain to vertebrate animal species.	Deliberate induction of behavioral stress in order to test its effect; major surgical procedures under anesthesia that result in significant post-operative discomfort; induction of an anatomical or physiological deficit that will result in pain or distress; application of noxious stimuli from which escape is impossible; prolonged periods (up to several hours or more) of physical restraint; maternal deprivation with substitution of punitive surrogates; induction of aggressive behavior leading to self-mutilation or intra-species aggression; procedures that produce pain in which anesthetics are not used, such as toxicity testing with death as an end point; production of radiation sickness, certain injections, and stress and shock research that would result in pain approaching the pain tolerance threshold, <i>i.e.</i> the point at which intense emotional reactions occur. Category D experiments present an explicit responsibility on the investigator to explore alternative designs to ensure that animal distress is minimized or eliminated.
Category E: Procedures that involve inflicting severe pain near, at, or above the pain tolerance threshold of unanesthetized, conscious animals.	Use of muscle relaxants or paralytic drugs such as succinyl choline or other curariform drugs used alone for surgical restraint without the use of anesthetics; severe burn or trauma infliction on unanesthetized animals; attempts to induce psychotic-like behavior; killing by use of microwave ovens designed for domestic kitchens or by strychnine; inescapably severe stress or terminal stress. Category E experiments are considered highly questionable or unacceptable irrespective of the significance of anticipated results. Many of these procedures are specifically prohibited in national policies and therefore may result in withdrawal of federal funds and/or institutional USDA registration.

Table 5. Methods of Euthanasia (US Assoc. Veterinarians)

Species	Acceptable	Conditional acceptable
Cat	Barbiturates, inhalant anesthetics, CO ₂ , CO, potassium chloride in conjunction with general anesthesia.	N ₂ , Ar.
Dog	Same as above.	N ₂ , Ar, penetrating captive bolt, electrocution.
Non-human primates	Barbiturates.	Inhalant anesthetics, CO ₂ , CO, N ₂ , Ar.
Rabbit	Barbiturates, inhalant anesthetics, CO ₂ , CO, potassium chloride in conjunction with general anesthesia.	N ₂ , Ar, cervical dislocation (<1 kg), decapitation, penetrating captive bolt.
Rodents and other small mammals	Barbiturates, inhalant anesthetics, CO ₂ , CO, potassium chloride in conjunction with general anesthesia, microwave irradiation.	Methoxyflurane, ether, N ₂ , Ar, cervical dislocation (rats <200 g), decapitation.
Ruminants	Barbiturates, inhalant anesthetics, potassium chloride in conjunction with general anesthesia, penetrating captive bolt.	Chloral hydrate (IV, after sedation), gunshot, electrocution.
Swine	Barbiturates, CO ₂ , potassium chloride in conjunction with general anesthesia, penetrating captive bolt.	Inhalant anesthetics, CO, chloral hydrate (IV, after sedation), gunshot, electrocution, blow to the head (<3 weeks of age).

AVMA Guidelines on Euthanasia (2007).

の記載内容については、代替法の有無、動物に与える苦痛の程度、及び苦痛軽減措置を取らない理由について記載しないところが25%以上あった。また、実験の目的そのものを記載しないとする回答が1件あった。動物実験倫理に関する教育については、92%の施設で行っており、行っていないところは29件の回答の内2件であった。教育内容については、3Rの原則や動物の苦痛の評価、苦痛の軽減方法、安楽死の方法、また、動物実験代替法について教えていないところが多くあった。なお、第3者による査察・調査が行われている施設が3施設あり、

その内2施設では外部の者に依頼していた。

4. 結論

薬学部における動物実験実施状況と教育に関する今回のアンケート調査結果はすべての薬学部を網羅しているものではないが、大まかな傾向はつかめたものと思われる。動愛法の改定により3Rの原則が盛り込まれ、それを実行あるものとするため、指針が文部科学省をはじめとする行政機関から通知され、多くの施設で指針に基づき適正に行われていた。しかし、指針に示された動物実験委員会での適正な審議や研究者教育の内容に不十分なところもあると考えられた。それらの施設では今後の改善が望まれる。なお、倫理的な動物実験を行うための参考として、国立大学法人動物実験施設協議会が作成した苦痛の分類と米国獣医師会編が作成した安楽死の方法について、それぞれTable 4とTable 5に示した。

REFERENCES

- 1) Animal protection law, revised in June 2005
- 2) Ministry of Environment: Criteria on the housing, care, and reduction of pain of experimental animals. Notification No. 88. April, 2006.
- 3) Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Basic principles of animal experiments in research institutes. Notification No 71, 1 June 2006.
- 4) Ministry of Health, Labor, and Welfare, Basic principles of animal experiments in research institutes that are administered by MHLW. Notification Kahatu 0601002, 1 June 2006.
- 5) Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, Basic principles of animal experiments in research institutes that are administered by MAFF. 1 June 2006.
- 6) Science Council of Japan, Guidelines for Proper Conduct of Animal Experiments. 1 June, 2006.
- 7) Ohno Y., *Folia Pharmacol. Jpn.*, **129**, 5-9 (2007).
- 8) Ohno Y., *Folia Pharmacol. Jpn.*, **125**, 325-329 (2005).
- 9) Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Animal Experiments in Universities. Revised in 1994.