

NIBS LETTER 2010 SEPTEMBER  
No. 564

# 日生研おより

2010年(平成22年)9月号 第56巻第5号(通巻564号)

## 挨拶・巻頭言

個体発生は系統発生を繰り返す  
.....長谷川篤彦(2)

## 獣医病理学研修会

第49回 No. 990 コアラの椎体部腫瘍  
.....日本大学獣医病理学研究室(3)

第49回 No. 983 イヌの精巢腫瘍  
.....東京農工大学獣医病理学教室(4)

## レビュー

動物実験の適正化 —基準や指針の制定  
とこれからの課題—.....八神健一(5)

## 発表論文紹介

豚トルクテノウイルス  
.....平 修(10)



NIBS

財団法人 日本生物科学研究所  
NIPPON INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SCIENCE  
<http://nibs.lin.gr.jp/>

## 個体発生は系統発生を繰り返す

長谷川篤彦

確か最初に耳にしたのは中学校の理科の時間かなにかのように思われるが、その後高校の生物の時間に有名な生物学者であり、哲学者である Ernst Haeckel (1834-1919) の言葉であることを知った。個体発生は系統発生の過程を辿ると言う、発生と系統との関連が反復説として一世を風靡した。しかし、受精から出生までの間に系統発生を辿ることへの疑問もあり、実証もないようである。このことに関して、科学的検討がどの程度行われ追究されてきたかについては寡聞にして知らないが、そのことをここで問題にする心算はない。反復説についてはそれほど気にも留めていなかったが、大学で教育・研究に従事するようになって、時に触れて Haeckel のこの言葉が頭を過ぎるようになった。

例えば、研究について言えば、当然自分の仕事はその研究分野における歴史と言う座標軸においてどの位置にあるかを明確しておく必要がある。したがって、先人の業績を反芻し、その研究分野の発展の一里塚を十分理解して研究を遂行しなければならない。この過程を短期間のうちに上手く把握出来るか否かが系統発生に相当し、個体発生に相当する研究者の将来が左右されることになるものと思うようになった。

一方、教育においても当然のことであるが、特に大学院生を指導する立場にあつて、将に上述した通り、系統発生を支えることが重要であると思ひ努めようとしてきた。難しいことは、自発的に系統発生を体験することが重要であり、画期的な業績を羅列して外部から強制したのでは逆効果になりかねない。学部教育においても、この系統発生に相当する部分の伝達が困難である。なぜなら、講義する内容は多岐にわたり、しかも加速度的に膨張の一途を辿っており、講義時間の制約と相まって知識集積の軌跡を要領よくまとめて紹介するのは至難の業であると考えてしまっていた。

このような問題は、どうやら教育そのものに内包されている課題のように考えられる。一般的に言って、現在の教育の状況を窺見すると、概して系統発生に相当する部分に関する教育は軽視されているように感じられ、寧ろ欠落しているのではないかと憶測される。それでは本質的な教育とは言えないように思われ、このような状況が続くと早晩大学教育は通俗的に陥り、大学の存在意義も消滅するのではと危惧される。このような危機感が杞憂に終わる事を願うのみである。免疫学を例にとれば Chemokine とか、Toll-like receptor とか、その遺伝子などの話から講義が始められると、学生にはその背景が十分理解されていないことが多いように思われる。割愛されている伝染病と対峙してきた人類の苦闘の歴史について、以前の学生なら基礎知識もあり、不明の点があれば自らも勉強したであろうが、情報化社会と言われる昨今の学生の多くは寧ろ無頓着である。仄聞するところ、Edward Jenner, Louis Pasteur, Robert Koch の名前も知らない高校生が少なくないとか、このようなことはどの分野でもあるように思われる。各領域において系統発生に相当することへ配慮した教育体制が構築されて、教導の成果が上げられることを期待している。

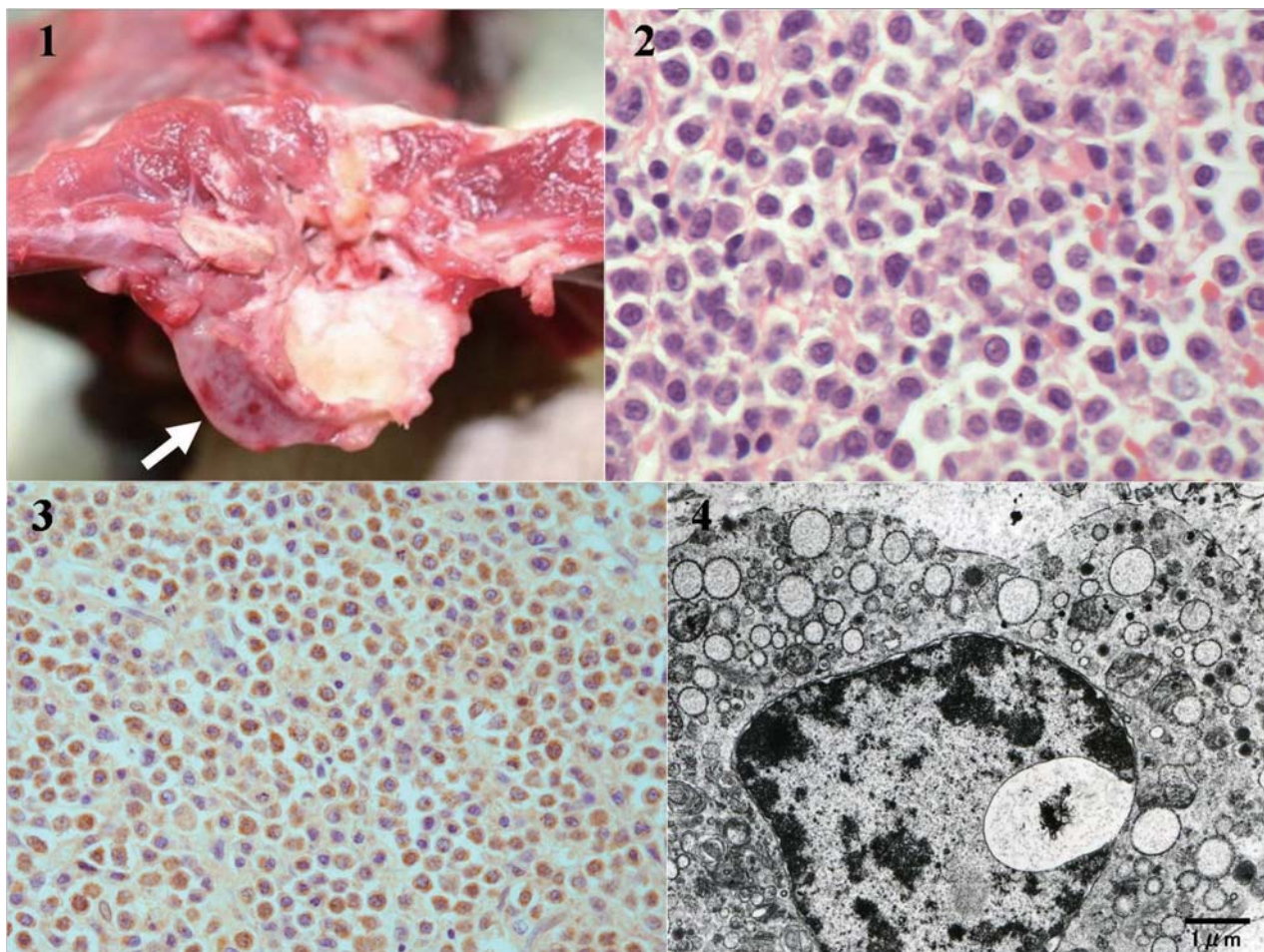
歴史と聞くと、奈良時代がどうの、幕藩体制がどうの、明治維新がどうであったかなどと考えてしまうが、実は日常の事象の継続性とか、隔絶性とかを見極める視点を体得することが必要である。歴史的観点で物事に対処する習慣を身につけることが肝要であり、系統発生を上手に体験することこそ個体発生を成功させる鍵であり、自己実現を達成する要点であると思考される。

(日本生物科学研究所 監事)



## コアラの椎体部腫瘍

日本大学獣医病理学研究室 第 49 回獣医病理学研修会 No. 990



動物：コアラ（クインズランドコアラ），雄，10歳，体重7kg

臨床事項：症例は動物園の展示動物。2007年8月に痙攣，運動麻痺などの神経症状が認められ，感染症を疑い治療したところ，3週間ほどで症状は改善。その後，2008年2月に後肢麻痺により木から落下。椎間板ヘルニアを考慮して治療を開始。半月後，CT，MRI検査を行ったが，撮影終了間際に心室細動に陥り死亡した。

剖検所見：第11から13胸椎椎体部左側に出血を伴う扁平な腫瘍（図1）が存在。腫瘍の大きさは3cm×2cm，椎体から肋骨頭に及び，骨に固着。腫瘍断面は灰白色，充実性。その他の所見として，血様腹水30mL貯留。腸間膜，下顎，頸部リンパ節が軽度に髄様腫脹。心臓は血様の心嚢液充滿，心内膜出血，心筋退色。脾臓はやや柔軟，断面から血液流出なし。肺は全体に暗赤色水腫状。胃粘膜，特に胃底から幽門にかけて1から2cm大の糜爛多数存在。腸管粘膜に点状あるいは斑状の出血が散在。  
組織所見：リンパ球様の腫瘍細胞がび漫性，シート状に増殖（図2）。椎体部腫瘍は近接する筋組織内，骨髄また脊髄硬膜外まで浸潤。肺，横隔膜，胃，腸間膜リンパ節，下顎リンパ節，肝，脾に転移巣が認められ，ほとん

どの臓器の血管内に腫瘍細胞が存在。核は小から中型，円形で中等度の好酸性細胞質を有し，ラッセル小体様の細胞も散在。メチルグリーンピロニン染色で胞体が赤染。免疫染色ではOct-2（図3），Vimentinに陽性，Kappa鎖，CD79b，CD138に弱陽性，PAX5，Lambda鎖に陰性を示した。電顕では拡張した粗面小胞体（図4）を多数確認できたが，層板構造は認められなかった。またDense body，細線維束，ゴルジ装置が発達していた。

診断：形質細胞への分化を示すリンパ腫

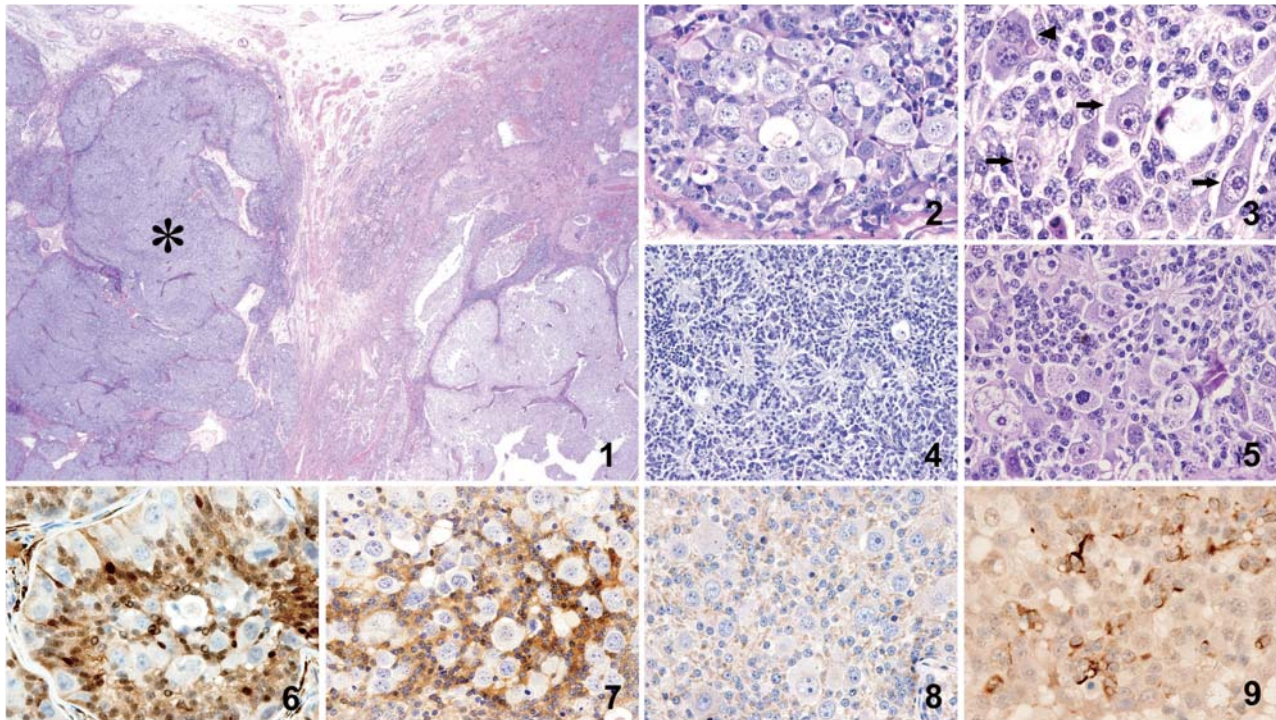
考察：コアラのリンパ腫・白血病の原因であるコアラレトロウイルスはオーストラリアのみならず，国内の動物園でも蔓延していることが知られている。免疫組織化学および電子顕微鏡学的検索により形質細胞への分化が示され形質細胞骨髄腫と診断し，Nonsecretory multiple myeloma（非分泌型多発性骨髄腫）の可能性を示唆したが，骨髄腫の臨床的な特徴である高ガンマグロブリン血症，骨融解，尿中ベンス・ジョーンズ蛋白，M蛋白が確認できなかったことより，診断をリンパ腫に改めた。

（渋谷 久）



## イヌの精巣腫瘍

東京農工大学獣医病理学教室 第 49 回獣医病理学研修会 No. 983



動物：イヌ，ウェスティ，雄，8歳。

臨床事項：2008年5月，左側精巣腫大（陰嚢，3.5×2 cm）を主訴に来院。右側精巣は陰嚢内にあり萎縮していた。血液学的検査に著変なし。同月内に去勢手術が行われ，摘出された左右精巣のホルマリン固定材料が当研究室に送付された。

肉眼所見：左側精巣の腫瘍剖面では，灰白色と赤褐色充実性の腫瘍がそれぞれ隣接して認められた。

組織所見：左側精巣内に2個の大型結節が認められた（図1）。提出標本は肉眼的にヘマトキシリン濃染部（\*領域）を対象とし，他方は悪性セルトリ細胞腫と診断された。\*領域では，精細管由来の管腔内に小型～大型多角形の精母細胞様細胞の腫瘍性増殖が認められ（図2），増殖巣内には大型核と明瞭な核仁を1～数個有する奇怪な形態の巨細胞や多核巨細胞が散見された（図3矢印，矢頭）。これらの像に加え，ヘマトキシリンに濃染する類円形核を有する小型細胞の増殖，更にロゼット及び偽ロゼット様構造が散見された（図4）。精母細胞様細胞はPAS陰性（図5），異型性は高く，クロマチンは細線維状で有糸分裂像も散見された。ロゼット形成部位の小型細胞はS-100（図6），NSE（図7），synaptophysin（図8），neurofilament（図9），MAP-2及びvimentinに陽性を示し，nestin及びGFAPに陰性であった。

診断：原始神経外胚葉性腫瘍（PNET）を伴う精母細胞

性セミノーマ

考察：研修会では，本症例はWHO分類に沿ってMixed germ cell-sex cord stromal tumorと診断するべきというご指摘を頂いた。しかし，悪性セルトリ細胞腫との境界は明瞭であり，\*結節内の一部にみられた悪性セルトリ細胞腫成分は片側の腫瘍からの浸潤像とみなし，衝突癌と判断された。また，イヌのセミノーマはその組織発生から雄性生殖細胞由来の古典的セミノーマと成熟精母細胞由来の精母細胞性セミノーマの2タイプに分類され，構成細胞の形態学的差異に加え，後者はPAS陰性と報告されている。本症例は以上の分類から精母細胞性セミノーマと考えられ，それに神経系マーカーに陽性を示すPNETの成分を伴う腫瘍と考えられた。

（三枝由紀恵，渋谷 淳）

参考文献：

- Grieco, V., Riccardi, E., Rondena, M., Ciampi, V. and Finazzi, M. 2007. Classical and spermatocytic seminoma in the dog: histochemical and immunohistochemical findings. *J. Comp. Pathol.* **137**:41-46.
- Maiolino, P., Restucci, B., Papparella, S., Paciello, O. and De Vico, G. 2004. Correlation of nuclear morphometric features with animal and human world health organization international histological classifications of canine spontaneous seminomas. *Vet. Pathol.* **41**:608-611.

## 動物実験の適正化—基準や指針の制定とこれからの課題—

八 神 健 — (筑波大学大学院人間総合科学研究科 生命科学動物資源センター)

### 1. はじめに

国際的な環境保護団体シー・シェパードとわが国の調査捕鯨団体との攻防、ワシントン条約会議でのクロマグロの国際取引規制に関する採決のニュース等、動物の利用と社会的な合意は国家、文化、宗教等の要因も含み解決への道は険しい。動物実験を行う研究者とそれに反対する動物愛護家の攻防も、19世紀末にクロード・ベルナールが実験医学の手法として動物実験を体系化した頃より続く果てしない問題である。1970年代末から始まった動物権（アニマルライツ）運動は、反動物実験の過激な非合法活動にまでエスカレートし、多くの国で深刻な問題を引き起こしている。そのような中で、わが国では1980年頃より実験動物や動物実験に関する法規制がなされていたが、最近、大きな改革が相次ぎ、実験動物や動物実験の法令や指針による規制が格段に進行した。その経緯と今後の課題について、私見を交えて紹介する。

### 2. 動物愛護法の改正から基本指針の制定の経緯

昭和48年に議員立法で制定された「動物の保護及び管理に関する法律（動物保管法）」は、わが国の動物愛護施策の遅れに対する海外からの圧力とそれに呼応した動物愛護団体の要望から、動物愛護や生命尊重の情操の涵養を謳い、動物への虐待の防止や適正な飼養への飼い主の責任を努力義務として規定した。そして、動物の利用区分に応じて各種動物を対象とした飼養保管基準が定められ、実験動物については、昭和55年に「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」が定められた。一方で、この基準には動物実験の実施方法については規定されておらず、日本学術会議は当時の内閣総理大臣に対して「動物実験ガイドラインの策定について（勧告）」を出し、国による統一的なガイドラインの策定を求め

た。しかし、実現には至らず、昭和62年に文部省から局長通知として「大学等における動物実験の実施について」が出されたのみであった。それでも、国立大学の医学部には動物実験施設が整備されていたことから、ほとんどの大学（特に医学部）では、この行政指導を受けて動物実験指針が定められ、動物実験計画を委員会で審査する体制が普及した。また、製薬企業等においても同様な指針や委員会の設置が進んでいった。大学でも農学部、理学部、薬学部などではこの通知も十分に浸透せず、公的研究機関でも対応は遅れていた。

一方、動物愛護の問題は、平成9年に起きた児童連続殺人事件で加害者の少年に動物の虐待歴があったことに関連し、動物虐待などの生命を軽視する行為を抑止することに社会的関心が高まり、動物保管法の改正論議が再燃した。そして、改正に向けた検討作業は、平成10年1月に自由民主党環境部会に「動物の愛護と管理に関する小委員会」が設置されたことで開始され、同年1月～6月まで6回にわたり日本獣医師会、日本動物福祉協会などの愛護団体、日本動物園水族館協会、日本鳥獣商組合連合会、東京都衛生局等の関連団体の関係者からヒアリングを行った上で進められた。特に、獣医師会は「わが国の動物福祉法制のあり方」に関する要請書を小委員会に提出する等、盛んにロビー活動を進めた。また、動物愛護団体は「動物の法律を考える連絡会」を結成し、「改正の骨子案」を同年10月に提出した。この案の中には、①実験動物生産業者を動物取扱業に含め許認可制として、1年毎の更新と立入り調査を行うこと、②動物実験に対して、ライセンス制（プロジェクト、個人、施設に対して）、民間委員を含む審査委員会による査察制度の導入、が盛り込まれていた。このため、同年10月に、急遽、動物実験を実施する側に対するヒアリングが行われ、当時の千葉大学医学部長が対応した。その際、前述したような日本学術会議による動物実験ガイドラインの制



定に関する勧告、それを受けた文部省通知により大学医学部では動物実験指針の制定や委員会の設置が進んでおり、研究者側の自主的管理で適正に動物実験が行われていることの説明が効を呈し、動物実験についてはこのときの改正の論点からは外れることとなった [1]。しかし、率直に言って、研究者や実験動物生産業者もこの問題に対する危機感は極めて希薄だったと言わざるを得ない。

こうして、平成 11 年に動物保管法は改正され、「動物の愛護及び管理に関する法律（動物愛護管理法）」となって公布された。動物愛護管理法では、ペットショップやペットブリーダー、動物園などを動物取扱業とし規制が強化されたが、動物実験の問題が動物愛護法改正に反映されなかったことに対して、動物実験に反対する動物愛護団体（特に、アニマルライト運動に呼応する団体）は、情報開示請求や内部告発による情報を使いさまざまなキャンペーン活動を繰り返し、海外の過激活動家を日本に招き非合法活動を行う者も出てきた。このことを憂慮した日本学術会議は、平成 16 年に「動物実験に対する社会的理解を促進するために（提言）」を公表し、わが国では学術研究、試験研究の不可欠な手段である動物実験を法律で規制するのではなく自主管理体制により適正化することを改めて強調した。同時に、現状では諸外国のような統一ガイドラインがないため規制の具体性が分かりにくいこと、各機関における自主管理体制を客観的に評価・検証する仕組みがないことを問題点としてあげ、統一ガイドラインの策定と第三者評価システムの構築の必要性を示した [2]。

動物愛護管理法には 5 年毎の見直し条項があり、平成 16 年頃にはその議論が活発に行われており、日本学術会議の提言はこの問題についてわが国の進路を明確にする絶好のタイミングで公表された。動物愛護管理法を所管する環境省は、中央環境審議会動物愛護部会の下に実験動物小委員会を設置し、ここには獣医師会、動物愛護団体、行政関係者だけでなく、動物実験を行う研究者、動物実験施設の管理者、製薬企業や実験動物生産業の関係者も加わり、4 回にわたる審議と関係団体のヒアリングを経て、動物愛護管理法および飼養保管基準の改正案が作成された。動物愛護団体は「動物との共生を考える連絡会議」を介してロビー活動を続けたが、このとき

は動物実験の廃止を求める過激な団体が別行動をとったこともあり、動物実験関係者と穏健な動物愛護団体の関係者との真摯な議論を経て、実験動物の適正管理と動物実験の倫理原則を法令で定め、動物実験の具体的な実施手順や方法は指針で定め、機関の責任で自主自律的な管理体制とすることで議論は収束した。そして、動物実験の国際的な倫理原則である 3R（Replacement, Reduction, Refinement）が動物愛護管理法に明記され、実験動物飼養保管基準では動物の順化や検疫等の実験動物の飼養保管に加えて、動物実験の際の麻酔、術後管理、人道的エンドポイント等、苦痛の軽減に関する記述が盛り込まれた。こうして 3R の理念を明記した改正動物愛護管理法は平成 17 年 6 月に施行され、18 年 4 月には「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（実験動物飼養保管基準）」が制定された。一方、平成 18 年 6 月には文部科学省、厚生労働省、農林水産省が動物実験の実施に関する統一ガイドラインとして、基本指針を制定した。このとき、基本指針の制定をリードしたのは文部科学省であり、科学技術・学術審議会の下におかれたライフサイエンス委員会動物実験指針検討作業部会で案が作られ、この案をもとにして厚生労働省や農林水産省は一部を修正してそれぞれの基本指針とした。また、基本指針案の作成と平行して、文部科学省と厚生労働省は日本学術会議に対して、動物実験実施機関が規程を策定する際に参考となる詳細なガイドラインの作成を依頼した。日本学術会議は第 2 部会の中に WG を設置し、「動物実験の適正化に向けたガイドライン」を各省の基本指針の公表と同時に 18 年 6 月 1 日に公表した [3]。これは、国際的なガイドラインに匹敵する内容であり、ここにわが国における動物実験の新たな管理体制が構築されたのである（表 1）。

### 3. 新たな法令・指針の枠組み

平成 17 年の動物愛護管理法の改正と 18 年の各種指針の制定により、わが国における動物実験に関する法令・指針の枠組みが明確になった。動物愛護管理法では、動物実験の国際的な倫理原則である 3R が第 41 条に謳われ、同条に基づき制定された実験動物飼養保管基準で、実験動物を適正飼育するためあるいは動物実験における動物の苦痛軽減のため具

表 1. 実験動物および動物実験に関する規制の経過

	実験動物の適正管理（法令による規制）	動物実験の適正化（指針による規制）
昭和	48年：動物の保護及び管理に関する法律（所管総理府） 55年：実験動物の飼養及び保管等に関する基準（総理府）	55年：動物実験ガイドラインの策定について（日本学術会議勧告） 62年：大学等における動物実験について（文部省通知）
平成	12年：動物の愛護及び管理に関する法律（動物愛護管理法）の改正 13年：動物愛護管理法の所管が総理府から環境省へ 17年：動物愛護管理法改正 18年：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	16年：動物実験に対する社会的理解を促進するために（提言）（日本学術会議第7部会） 18年：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（文部科学省） 18年：厚生労働省の所管する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（厚生労働省） 18年：農林水産省の所管する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（厚生労働省） 18年：「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（日本学術会議第2部会）

体的基準が定められた。これらは環境省所管の法令であるため、当然、違反の事実が動物の虐待や動物の遺棄等とみなされれば、告発、刑罰の対象となる。一方で、動物実験は科学技術の進展や医療技術の開発のために不可欠であり、これらの事業を推進する立場にある文部科学省、厚生労働省、農林水産省は、動物実験を実施する研究機関等が機関の長の責任において動物実験の管理体制を明確化するよう基本指針を定めた。そして、同時に公表された日本学術会議のガイドラインを参考にして、各研究機関等が動物実験の規程を定め、動物実験計画の審査、承認、動物実験実施者の教育訓練、動物実験実施施設等について、自主自律的な管理体制を構築するというものである。

こうしたわが国の方式は、大まかに言えば、実験動物の適正管理と動物実験の適正化をそれぞれ法令と指針に区分して規制するものであるが、これは政府や自治体が動物実験実施施設を指定し、実施者の免許（personal license）や実験計画の審査、承認（project license）を行う EU 諸国のシステムとは異なる。わが国の方式はアメリカのそれに類似しており、動物愛護管理法に相当するものがアメリカの動物福祉法（Animal Welfare Act）であり、日本学術会議のガイドラインは米国科学アカデミー下の ILAR (Institute for Laboratory Animal Research) による実験動物の管理と使用に関する指針“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”に相当す

る。動物愛護団体の中には、わが国も EU 諸国の方式をとるべきであるとの主張を続ける者もいるが、EU 諸国の方式であっても研究者と動物愛護団体との対立は果てしなく続いているのが現状である。わが国は、実験動物と動物実験の管理についてアメリカ方式を選択し、動物実験を科学的にも動物愛護の視点からも適正に進めるために、国が定めた指針のもとで研究機関の管理体制の強化を徹底することとした。

#### 4. 動物実験関係者に求められること

法令や指針が制定されて4年、大学や研究機関での管理体制は確実に浸透し、3Rを考慮した動物実験計画の立案、審査、動物実験実施者等の教育訓練、実験動物管理者等による動物の飼育管理や飼育施設の衛生管理が、指針や実験動物飼養保管基準に則して進められつつある。しかし、動物実験を行う分野は極めて幅広い。大学等においても、医学部には従来から動物実験施設が設置され専任の教職員が配置されてきたこと、医学・医療分野では対社会的な意識が高く生命倫理の諸問題を抱えていること、臨床研究やヒト組織の利用研究等に関する指針の遵守が進んでいることから、動物実験に関しても法令、指針の規制に対して抵抗なく受け入れられている。一方で、理学系、農学系では従来から委員会の設置や動物実験計画の審査等が普及していなかったため、

やや意識が低い傾向や具体的な手続き等での戸惑いも見られるが、ほとんどの大学等で自主管理体制が構築されているようである。

では、今後、動物実験関係者に何が求められるのだろうか？ 各機関が定めた動物実験の規程に従って、正規の手続きを経て動物実験を行うこと、実験の実施に当たっては3Rを実践すること、そして、動物実験の実施結果や動物の飼育状態を自ら点検・評価することである。動物実験の実施過程では、事前に必要な実験技術を習得し、動物への苦痛の程度を予想し可能な限りの苦痛緩和策をとること、苦痛の程度の高い実験においては人道的エンドポイントを設定し、それに沿った安楽死を施すことは、特に重要なポイントである。苦痛緩和策としても、適切な麻酔はもちろん、大規模手術では術後管理として鎮痛薬の投与や補液管理も必須となるだろう。動物の健康管理、特に霊長類やイヌ、ブタ等の健康管理においては獣医学的な管理の重要性も再認識され、実験動物の専門知識や経験を有する獣医師の認定制度（日本実験動物医学会による実験動物医学専門医の認定）も拡がりつつある。

さて、動物実験の適正化のために法令や指針、様々な手続きやマニュアル類が整備されても、それ

を守るのは人である。私は、動物実験に携わる研究者や技術者に対して、敢えてプロフェッショナルとしての誇りと覚悟を求めたい。スポーツの世界では、フェアプレーが大原則であり、アスリートは肉体と精神を鍛錬し、一定のルールの中で戦うことが許される。ルールを守るのは当然であり、アンフェアなプレーは恥ずべき行為であり、それを繰り返せば引退を勧告されたり、スポーツ界から追放されることもあるだろう。動物実験を行う者は、社会的な必要性の中で、動物の命を絶つという特別な仕事を託されたプロフェッショナルである。重い責任に応えるだけの覚悟と動物の身体を傷つけるあるいは命を絶つ作法（スキル）を身につけなければならない。

## 5. 動物実験の実施機関に求められること

平成18年以来、動物実験を実施する大学や研究機関では、機関内の動物実験委員会（IACUC: Institutional Animal Care and Use Committee）や実験動物管理者の活動を通じて、自主管理体制が強化されつつある。次の課題として、動物実験の実施状況や実験動物の飼養保管状況について自己点検・評価を行い、さらに外部の者による検証が求められている。

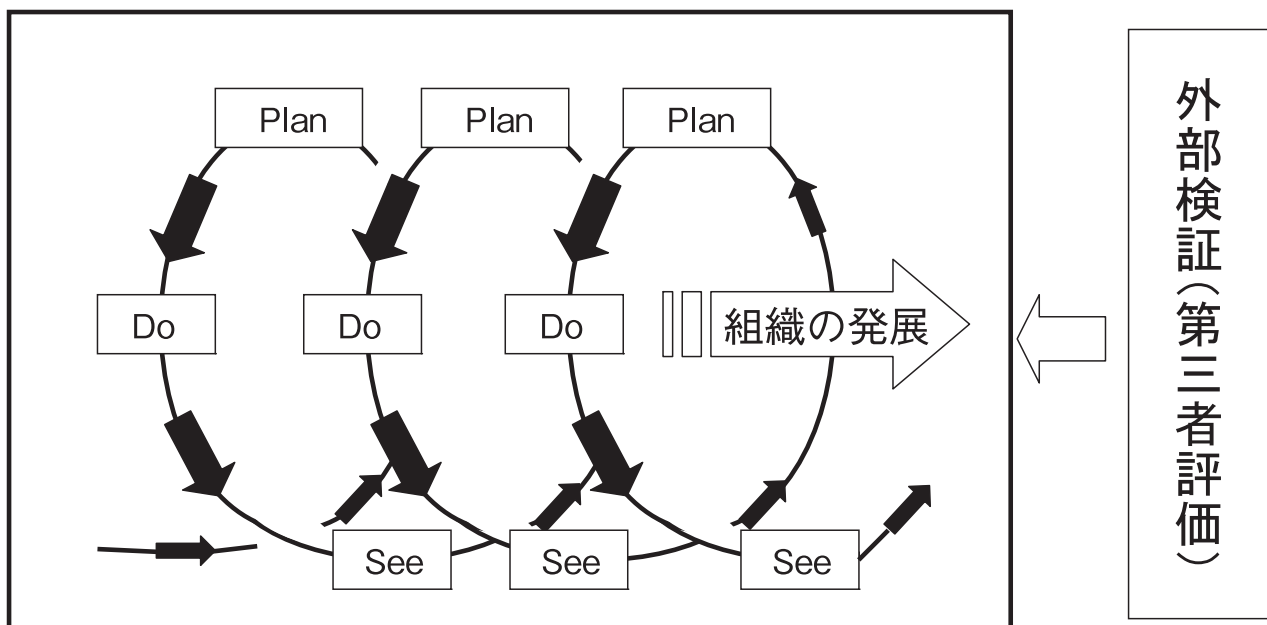


図1. PDS (PDCA)\*サイクルと自己点検・評価, 外部検証

組織あるいはその構成部局や構成員が、「達成目標の設定」「実行」「点検・評価」を経て、結果を次の達成目標に反映させる。このサイクルが機能することで、段階的改善、継続的な発展が可能である。動物実験の管理体制においても、自己点検・評価の結果を次の目標設定に反映させることが重要で、外部検証（第三者評価）には、このサイクルが機能していることを専門家のピアレビューにより確認する意義がある。

\* PDS : Plan-Do-See, PDCA : Plan-Do-Check-Action



自己点検・評価とは、決して実験動物の福祉や動物実験の適正化に限った問題ではなく、組織の改善、活性化のために有効な PDS(PDCA) サイクルの考え方が基本である (図 1)。動物実験について各機関の中で PDS サイクルが回転し機能していることを、外部の者により検証すると考えてもよいだろう。ここでいう検証とは、日本学術会議による提言で指摘された第三者評価と同義であり、現在、国内の 3 団体が評価制度を確立し、第三者評価を開始している [4]。大学等では、国立大学法人動物実験施設協議会 (国動協) と公私立大学実験動物施設協議会 (公私動協) が合同事業として「動物実験に関する相互検証プログラム」による検証を平成 21 年より開始し、厚生省所管の研究機関や製薬企業に対してはヒューマンサイエンス振興財団が「動物実験の外部評価・検証事業」を 20 年より開始した。また、日本実験動物協会は、実験動物生産企業等を対象とした評価制度を 16 年より試行的に開始し、20 年より本格的な評価制度に移行した。海外でも同様な実験動物施設の認証評価を行う団体 (AAALAC international) があり、わが国でも製薬企業等の 7 施設が認証されている。これらの評価制度は、評価項目や手順に多少の違いがあるものの、各機関における動物実験の状況を専門家が行うピアレビューとして評価するもので、評価により社会的透明性を高めるばかりでなく、評価を通じて関係者の意識を向上させ、継続的な改善につなげる手段として極めて有効と考えられる。

大学や研究機関において規程の制定や動物実験委員会の設置などソフト面の体制整備は順調に進んでおり、次に求められることは、施設・設備の整備等のハード面の改善と実験動物の飼養保管の標準化であろう。多くの実験動物飼育施設では、実験動物管理者を中心に飼養管理の手順を定めたマニュアルや SOP により、日常的な動物の飼育管理や健康管理、施設の衛生管理が進められている。問題となるのは、一部の小規模施設では、研究者自身が実験動物管理

者、動物実験実施者、飼育担当者のすべてを兼ね、劣悪な環境で非衛生的な管理に陥りかねない点である。機関長の責任で、これらの小規模施設の存廃を含めた再編・集約化が求められるであろう。また、科学的根拠に基づく飼育管理方法や飼育環境の改善 (環境エンリッチメント) は、飼育スペース、床材、シェルターや巣材の要否等、研究目的や動物の状況に合わせて適用することになるだろう。こうした流れは実験動物に限らず展示動物や産業動物でも同様であり、国際獣疫事務局 (OIE) による実験動物の福祉綱領の検討も進んでおり、今後、国内への影響も考えられるため、OIE の動向には注意が必要である。

実験動物や動物実験に関する法改正や指針の制定が続き、新たな制度による体制を整備した機関は着々と増えている。次は、新制度による管理を確実に履行することが求められ、各機関は施設や設備の整備、改修等の中長期的な計画を真剣に考えなければならない時期に差しかかっている。

(本レビューは平成 21 年 12 月に (財) 日本生物科学研究所において講演した内容に加筆したものである。)

#### 参考文献

1. 動物愛護管理法研究会編 (2001). 改正動物愛護管理法 解説と法令・資料. 3-32. 青林書院
2. 日本学術会議 (2004). 第 7 部報告 動物実験に対する社会的理解を促進するために (提言). <http://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-19-t1015.pdf>
3. 日本学術会議 (2006). 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン. <http://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-20-k16-2.pdf>
4. 佐神文郎 (2010). 動物実験の第三者評価 (外部検証) 制度. 日本薬理学雑誌 135: 71-75.

# 豚トルクテノウイルス

平 修

## 1. はじめに

豚におけるウイルス感染症のうち、古典的な急性感染症である豚コレラ、オーエスキー病、豚伝染性胃腸炎等はワクチンの普及によって効果的に防御されてきたが、近年、豚サーコウイルス2型感染症(PCV2)や豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(PRRSV)等のように単独感染では重篤な病気を起こさないものの他のウイルスやマイコプラズマ、細菌などとの複合感染により大きな経済的損耗を与える複合感染症が重要となっている。豚呼吸器複合病(PRDC)や離乳後多臓器性発育不良症候群(PMWS)等がその例である。これらのウイルス感染症は従来のように単一のウイルスワクチンのみで防御することは困難であり、衛生対策と同時に考慮することが重要となってきている。こうした急性転帰をとらないウイルス感染症が豚に蔓延する中、豚サーコウイルス関連疾病PCVAD(PMWS, 豚皮膚炎腎症症候群PDNS, PRDC等のPCV2を起因とする一連の疾患)の増悪因子として豚トルクテノウイルスが注目されはじめてきた。本稿では筆者らが最近調査を実施した「国内養豚農場における豚トルクテノウイルスの浸潤状況」[18]を元に、本ウイルスに関する最近の文献的知見を交えて概説する。

## 2. 背景

トルクテノウイルス(TTV)は1997年、我が国において人の輸血後肝炎患者から起因ウイルスを同定する過程で発見された[11]。TTVは30-32 nmのエンベロープを持たない小型球形粒子で、マイナス一本鎖環状DNAを持つ[5, 14]。TTVは健常者から検出されるほか、HIV患者、血友病患者(67-75%)、薬物常用者(40%)、および透析患者(46%)等で高い検出率が報告されている[13, 19]。本ウイルスの病原性に関しては不明なところが多いが、これらの疾病との間に何らかの因果関係が示唆されている

[2, 17]。TTVは環境中に常在すると考えられており、糞便あるいは汚水処理場水から検出されることなどから、その伝搬様式として水平伝搬の可能性が考えられている[4, 12]。

TTVはヒト以外にウシ、ブタ、ヒツジ、イヌ、ネコ、および鳥類など多数の動物種から検出されており、その検出部位は肝臓を主に、脾臓、腎臓、肺、骨髄、リンパ節、扁桃、および空回腸など多岐にわたる[14]。TTVのゲノム構造は動物種によって異なり、ヒトで3.8 kb、ブタで2.8 kb、またネコでは2.1 kbとなっており、動物種に特異的なウイルスが存在している[14]。豚トルクテノウイルス(Swine torque tenovirus; sTTV)はゲノム全長の解析により2種の遺伝子型(sTTV1 and sTTV2)の存在が確認されており、日本を始めアメリカ、カナダ、中国、タイ、韓国、イタリア、フランス、およびスペインなどの養豚場調査で24-100%の検出率が報告されている[1, 9, 10, 14]。Segalésらによるレトロスペクティブな調査報告によると、スペインではsTTVの豚群への侵入は1985年に遡り、既に養豚場に広く常在していたことが示唆されている[16]。sTTVとPMWSとの関連性は上記の国々においても多数報告されており、PMWS豚におけるsTTV検出率の統計的解析から、PMWSの増悪因子の一つとして浮上してきている。特にスペインではsTTV2がよりPMWSに関与しているとの報告もある[6]。こうした背景の中、sTTVがPMWSの増悪因子になり得る可能性を実験的に調べた報告がカナダ、アメリカで発表された[3, 7, 8]。これらの報告によると、無菌子豚にPRRSVとsTTV1を同時接種することによりPDNSの特徴病変を、さらにsTTV1を無菌子豚に単独接種しPDNS関連病変の一つである膜性糸球体腎症をそれぞれ再現できたとしている。しかしながら、これらの研究で用いたsTTVは分離ウイルスではなく遺伝子陽性の血清をウイルス材料としていることなどから、PCVADとの関連性に関しては更に検討の余地がある。これまでのsTTVに



関する研究報告では sTTV の PMWS への関与が強くと示唆されているものの、豚その他の動物種における TTV の生物学的性状・病原性に関する明確な知見は全く得られていない。大きな理由として、これら解析に必要な不可欠である sTTV の分離に必要な細胞培養系が樹立されていないためであり、今後の進展が期待される。

### 3. 国内養豚場における TTV の浸潤状況

上述のように sTTV に関する知見は世界各国で報告されてきたが、我が国の養豚場における浸潤状況に関しては詳細な解析がなされていなかった。そこで筆者らは 2008 年に弊所にて病性鑑定を実施した臨床的 PMWS 豚の検体（血清）を用いて sTTV の浸潤状況を nPCR により解析した。

16 都道府県 16 農場より 153 検体の血清から DNA を抽出後、sTTV 非構造タンパクをコードする領域を既報のプライマーを用いて nPCR に供した [6]。表 1 は都道府県毎の、表 2 は日齢毎の結果を示す。ス

ペイン、アメリカ、カナダなどの報告にあるように、sTTV の検出率は国によって 24-100% と開きがある。今回の調査では、我が国における豚群は表 1 に示すように 51% が sTTV1 または sTTV2 の何れかに感染していた。遺伝子型での検出率の差異は sTTV1 単独が 30%、sTTV2 が 31% となり、同等の結果となった。諸外国では sTTV2 検出率が高い傾向となっており今回の結果とは異なっていたが、この結果が我が国の現状を正確に反映しているかどうかは定かではない。地域毎の検出率の差異に関しても両遺伝子型で有意な差は認められなかった。また、共感染している個体も 10% 認められたことより、sTTV は同一農場に遺伝子型を問わず広く浸潤していることが明らかとなった。得られた PCR 産物のシーケンスからも地域による検出率の差異は認められなかった (図 1)。

また、日齢による sTTV の検出率に関しては 30 日齢の豚を除いた全てのステージで両遺伝子型が検出された (表 2)。sTTV1 は 30 (11%) および 90 日齢 (5%) の検出率と比較して、60 (36%)、120

表 1. 日本における地域毎の豚トルクテノウイルス検出率

都道府県	Prevalence of swine TTV genogroups			
	genogroup 1 or 2	genogroup 1	genogroup 2	genogroups 1 and 2
北海道 (n=2)	0/ 2 ( 0%)*	0/ 2 ( 0%)	0/ 2 ( 0%)	0/ 2 ( 0%)
群馬 (n=12)	8/ 12 ( 67%)	4/ 12 (33%)	6/ 12 (50%)	2/ 12 (17%)
栃木 (n=10)	4/ 10 ( 40%)	1/ 10 (10%)	3/ 10 (30%)	0/ 10 ( 0%)
茨城 (n=10)	8/ 10 ( 80%)	3/ 10 (30%)	8/ 10 (80%)	3/ 10 (30%)
千葉 (n=8)	5/ 8 ( 63%)	3/ 8 (38%)	2/ 8 (25%)	0/ 8 ( 0%)
東京 (n=12)	5/ 12 ( 42%)	4/ 12 (33%)	1/ 12 ( 8%)	0/ 12 ( 0%)
長野 (n=12)	6/ 12 ( 50%)	5/ 12 (42%)	2/ 12 (17%)	1/ 12 ( 8%)
静岡 (n=6)	0/ 6 ( 0%)	0/ 6 ( 0%)	0/ 6 ( 0%)	0/ 6 ( 0%)
愛知 (n=6)	6/ 6 (100%)	4/ 6 (67%)	3/ 6 (50%)	1/ 6 (17%)
広島 (n=12)	7/ 12 ( 58%)	5/ 12 (42%)	3/ 12 (25%)	1/ 12 ( 8%)
徳島 (n=8)	4/ 8 ( 50%)	2/ 8 (38%)	2/ 8 (13%)	0/ 8 ( 0%)
愛媛 (n=12)	2/ 12 ( 17%)	1/ 12 ( 8%)	1/ 12 ( 8%)	0/ 12 ( 0%)
大分 (n=10)	7/ 10 ( 70%)	5/ 10 (50%)	5/ 10 (50%)	3/ 10 (30%)
熊本 (n=12)	6/ 12 ( 50%)	5/ 12 (42%)	4/ 12 (33%)	3/ 12 (25%)
宮崎 (n=9)	3/ 9 ( 33%)	2/ 9 (22%)	1/ 9 (11%)	0/ 9 ( 0%)
鹿児島 (n=12)	7/ 12 ( 58%)	2/ 12 (25%)	6/ 12 (42%)	1/ 12 ( 8%)
<b>Total (n=153)</b>	<b>78/153 ( 51%)</b>	<b>46/153 (30%)</b>	<b>47/153 (31%)</b>	<b>15/153 (10%)</b>

\* 陽性個体 / 検査個体 (%)

表 2. 日齢毎の豚トルクテノウイルス検出率

Age (day)	Prevalence of swine TTV genogroups			
	genogroup 1 or 2	genogroup 1	genogroup 2	genogroups 1 and 2
30 (n=37)	4/ 37 (11%)*	4/ 37 (11%)	0/ 37 ( 0%)	0/ 37 ( 0%)
60 (n=22)	12/ 22 (55%)	8/ 22 (36%)	6/ 22 (27%)	2/ 22 ( 9%)
90 (n=22)	15/ 22 (68%)	1/ 22 ( 5%)	14/ 22 (64%)	0/ 22 ( 0%)
120 (n=24)	15/ 24 (63%)	10/ 24 (42%)	11/ 24 (46%)	6/ 24 (25%)
150 (n=22)	18/ 22 (82%)	11/ 22 (50%)	14/ 22 (64%)	7/ 22 (32%)
sows (n=26)	14/ 26 (54%)	12/ 26 (46%)	2/ 26 ( 8%)	0/ 26 ( 0%)
<b>Total (n=153)</b>	78/153 (51%)	46/153 (30%)	47/153 (31%)	15/153 (10%)

\* 陽性個体 / 検査個体 (%)

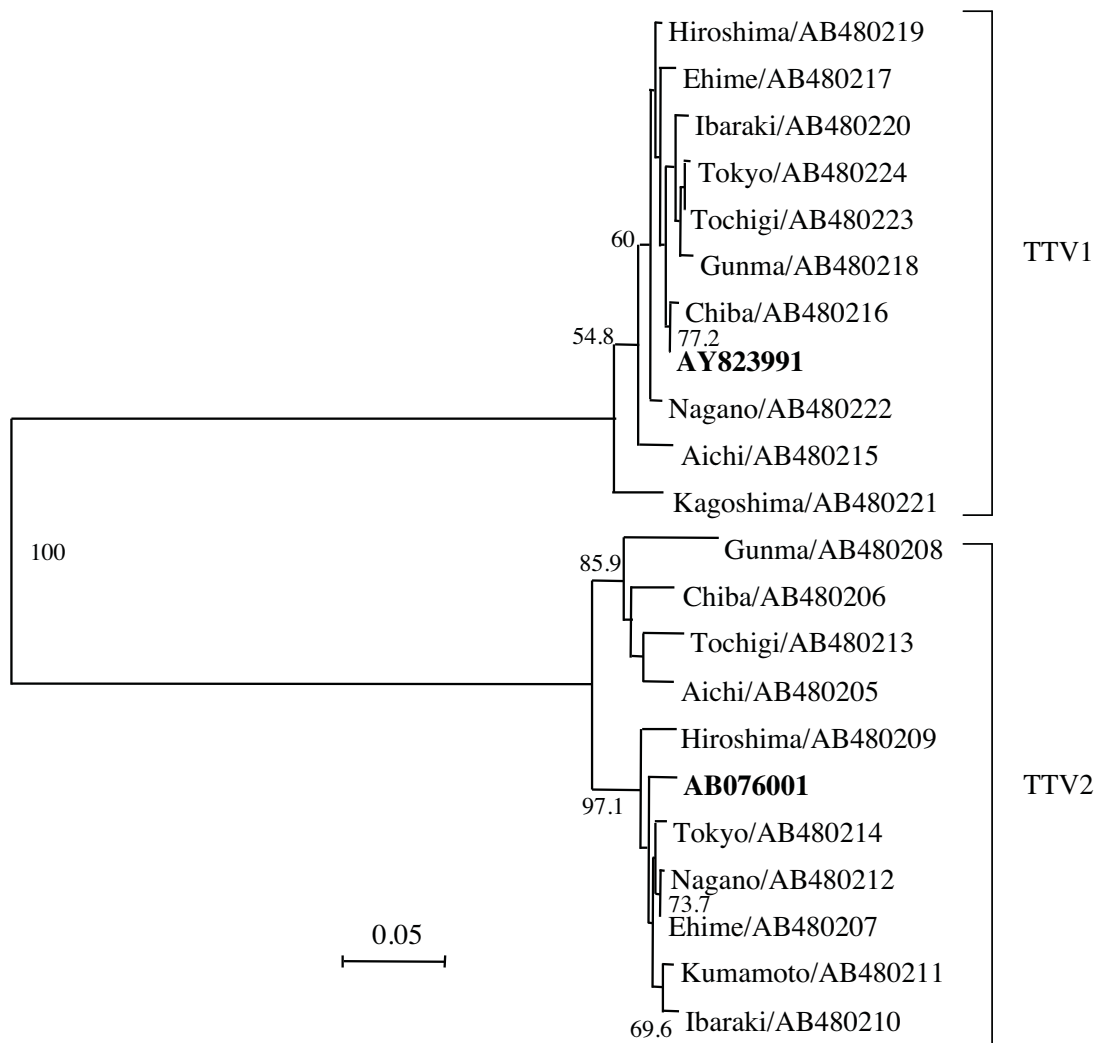


図 1 豚トルクテノウイルス非構造領域の分子系統樹。

日本におけるプロトタイプは太字で示した。



(42%), 150日齢(50%), および母豚(46%)で高い検出率となった。一方, sTTV2に関しては60日齢(27%) および母豚(8%)の検出率と比較して, 90(64%), 120(46%), および150日齢(64%)で高い検出率となった。ヒトのTTVでは検出率の差異に年齢が関与しているとの報告もあるが[15], 今回の結果からはそのような知見は得られなかった。しかしながら, 30日齢での低い検出率を考慮すると, sTTVは離乳後比較的早期の段階で豚群に侵入しているのかもしれない。

#### 4. おわりに

今回の調査では, 臨床的にPMWSが疑われる個体からsTTVの検出を行ったため, 疫学的な解析としては不十分ではあるが, 国内農場においてもsTTVの存在が明らかとなり, 今後はその病原性を含めてさらなる調査・研究が必要と考えられた。また, 最近ではTTVのほかにポカウイルスというパルボウイルス科に属するDNAウイルスがPMWSに関与しているとの報告もあるため[20], 今後の動向に留意しつつPMWS全貌の解明が期待される。(本稿は, *Veterinary Microbiology* (2009) **139**(3-4): 347-350. doi:10.1016/j.vetmic.2009.06.010 に掲載された論文を訳し, 一部加筆したものです。)

(研究員)

#### 参考文献

- Bigarre, L., Beven, V., de Boisseson, C., Grasland, B., Rose, N., Biagini, P. and Jestin, A. 2005. Pig anelloviruses are highly prevalent in swine herds in France. *J. Gen. Virol.* **86**:631-5.
- Christensen, J.K., Eugen-Olsen, J., Ullum, H., Gjedde, S. B., Pedersen, B. K., Nielsen, J. O. and Krosgaard, K. 2000. Prevalence and prognostic significance of infection with TT virus in patients infected with human immunodeficiency virus. *J. Infect. Dis.* **181**:1796-9.
- Ellis, J. A., Allan, G. and Krakowka, S. 2008. Effect of coinfection with genogroup 1 porcine torque teno virus on porcine circovirus type 2-associated postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic pigs. *Am. J. Vet. Res.* **69**:1608-14.
- Haramoto, E., Katayama, H. and Ohgaki, S. 2008. Quantification and genotyping of torque teno virus at a wastewater treatment plant in Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**:7434-6.
- Itoh, Y., Takahashi, M., Fukuda, M., Shibayama, T., Ishikawa, T., Tsuda, F., Tanaka, T., Nishizawa, T. and Okamoto, H. 2000. Visualization of TT virus particles recovered from the sera and feces of infected humans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **279**:718-24.
- Kekarainen, T., Sibila, M. and Segalés, J. 2006. Prevalence of swine Torque teno virus in post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs in Spain. *J. Gen. Virol.* **87**:833-7.
- Krakowka, S. and Ellis, J. A. 2008. Evaluation of the effects of porcine genogroup 1 torque teno virus in gnotobiotic swine. *Am. J. Vet. Res.* **69**:1623-9.
- Krakowka, S., Hartunian, C., Hamberg, A., Shoup, D., Rings, M., Zhang, Y., Allan, G. and Ellis, J. A. 2008. Evaluation of induction of porcine dermatitis and nephropathy syndrome in gnotobiotic pigs with negative results for porcine circovirus type 2. *Am. J. Vet. Res.* **69**:1615-22.
- Martelli, F., Caprioli, A., Di Bartolo, I., Cibin, V., Pezzotti, G., Ruggeri, F. M. and Ostanello, F. 2006. Detection of swine torque teno virus in Italian pig herds. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health.* **53**:234-8.
- McKeown, N. E., Fenaux, M., Halbur, P. G. and Meng, X. J. 2004. Molecular characterization of porcine TT virus, an orphan virus, in pigs from six different countries. *Vet. Microbiol.* **104**:113-7.
- Nishizawa, T., Okamoto, H., Konishi, K., Yoshizawa, H., Miyakawa, Y. and Mayumi, M. 1997. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **241**:92-7.
- Okamoto, H., Akahane, Y., Ukita, M., Fukuda, M., Tsuda, F., Miyakawa, Y. and Mayumi, M. 1998. Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J. Med. Virol.* **56**:128-32.
- Okamoto, H., Nishizawa, T., Kato, N., Ukita, M.,

- Ikeda, H., Iizuka, H., Miyakawa, Y. and Mayumi, M. 1998. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatology Research*. **10**:1-16.
14. Okamoto, H., Takahashi, M., Nishizawa, T., Tawara, A., Fukai, K., Muramatsu, U., Naito, Y. and Yoshikawa, A. 2002. Genomic characterization of TT viruses (TTVs) in pigs, cats and dogs and their relatedness with species-specific TTVs in primates and tupaias. *J. Gen. Virol.* **83**:1291-7.
15. Salakova, M., Nemecek, V., Konig, J. and Tachezy, R. 2004. Age-specific prevalence, transmission and phylogeny of TT virus in the Czech Republic. *BMC Infect. Dis.* **4**:56.
16. Segalés, J., Martínez-Guino, L., Cortey, M., Navarro, N., Huerta, E., Sibila, M., Pujols, J. and Kekarainen, T. 2009. Retrospective study on swine Torque teno virus genogroups 1 and 2 infection from 1985 to 2005 in Spain. *Vet. Microbiol.* **134**:199-207.
17. Shieh, B., Chang, M. J., Ko, W. C., Chen, E. J., Wu, J. C., Lee, C. F., Chang, T. T. and Li, C. 2003. Effects of multiple virus coinfections on disease progression in HIV-positive patients. *Intervirology*. **46**:105-13.
18. Taira, O., Ogawa, H., Nagao, A., Tuchiya, K., Nunoya, T. and Ueda, S. 2009. Prevalence of swine Torque teno virus genogroups 1 and 2 in Japanese swine with suspected post-weaning multisystemic wasting syndrome and porcine respiratory disease complex. *Vet. Microbiol.* **139**:347-50.
19. Takayama, S., Miura, T., Matsuo, S., Taki, M. and Sugii, S. 1999. Prevalence and persistence of a novel DNA TT virus (TTV) infection in Japanese haemophiliacs. *Br. J. Haematol.* **104**:626-9.
20. Zhai, S., Yue, C., Wei, Z., Long, J., Ran, D., Lin, T., Deng, Y., Huang, L., Sun, L., Zheng, H., Gao, F., Chen, S. and Yuan, S. 2010. High prevalence of a novel porcine bocavirus in weanling piglets with respiratory tract symptoms in China. *Arch. Virol.* in press.



—— テーマは「生命の連鎖」——  
 生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを快いリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士の揮毫

日生研たより 昭和30年9月1日創刊(隔月1回発行)  
 (通巻564号) 平成22年8月25日印刷 平成22年9月1日発行(第56巻第5号)  
 発行所 財団法人 日本生物科学研究所  
 〒198-0024 東京都青梅市新町9丁目2221番地の1  
 TEL: 0428(33)1056(企画学術部) FAX: 0428(33)1036  
 発行人 林志鋒  
 編集室 委員/黒田丹(委員長), 竹山夏実, 鈴木敬之  
 事務/企画学術部  
 印刷所 株式会社 精興社  
 (無断転載を禁ず)