

## 動物実験における動物の取り扱いと基本的な手技

マウス・ラットを例にした

ハンドリング・投与方法・採血法・殺処分法

医学部附属動物実験施設 前田宜俊

我々は施設の業務として利用者の実験に参加し、飼育や投与などの処置を行うことはない。しかし、利用者からの投与方法や採血方法、保定方法などの相談については技官レベルで対応していることから、今回はこのようなテーマとした。

今回は手技について話をするが、動物を使わずに説明するのが難しいため、注意点を話の主体にする。同時にこれらの技術（手技）が再現性のある実験データを得る上で、重要であることを再認識してもらえたらと考えている。

### 1. はじめに

#### 1) 動物を取り扱う前に 一心構えとして

少なくとも、動物の命を奪う仕事であり、それなりの心構えを持って動物実験をする必要がある。

まず第1に動物飼育、取り扱いは生命尊重・動物愛護の立場から慎重に実施されなければならない。第2に実験動物は「生きた試薬」として考え、試薬と同様に取り扱い、再現性のある実験結果を導き出す。第3に実験動物の病原体にはヒトへ感染する危険性のあるものがあり、自らを守るために細心の注意が必要である。

(人獣共通感染症の問題)

第1はWHOの医学研究諮問委員会勧告に基づく、国際医科学関係組織協議会による「動物を用いる生物医学研究のための国際指導原則」などでもうたわれている。具体的にはシミュレーション等の積極的な導入、動物の苦痛の軽減、積極的な麻酔の使用などである。これらは実験を行う時に決して忘れてはならないことである。

第2に不測の遺伝的交雑により期待した特性が得られなかったり、微生物汚染により、実験データに影響が出ることが知られている。何が混入しているか分からない試薬を用いて実験ができないのと同様のことが、実験動物においても言えると解釈している。

第3の人獣共通感染症の問題は動物を扱う上では重要な問題である。軽微なものから生命にかかわる病気まで色々なものがある。自分の体を守るためにはその人獣共通感染症がどの様な経路で感染するのかを理解し、防御する必要がある。現在、実験動物として生産される動物ではほとんど心配ないと思われるが、野生由来のサル等では問題が多く、エボラやBウイルスの様にヒトには致死的な病気が数多くある。

### 2. ハンドリング

基本的な心得として次のようなことが上げられる。

- ・ 動物の警戒心、緊張感を高めない。(急激な動作、音)
- ・ 動物からの危害を最小限に食い止めるための防衛策。
- ・ 細心の注意と勇気をもって行う。

ストレスにより、血液の生化学値が変動したり、臓器重量に変化が見られることが知られている。ヒトが近付くだけで「また、嫌なことをされる」と警戒、緊張させることは、大きなストレスとなる。またこれらが攻撃的な行動を起こさせる原因ともなる。

一方、ヒトが怖がりながら動物に接すると、動物の多少の動きに対し、過剰に反応をすることが多い。これも動物の警戒心、緊張感を高めてしまう。よって動物が本当に攻撃する態勢でいるのか見極める必要がある。同時にその動物の「武器」が何であるか理解しなければならない。動物を保定する時には動物の状態を十分観察し、思いきり良く、素早く行動（驚かせないようにしながら）しなければならない。

#### 1) ハンドリングの実際 — マウス、ラットを中心に — マウス、ラット

これらには、都合がよいことに長い尾がある。長時間、尾を持ってぶら下げてはならないが、短時間であれば（たとえばケージから体重計へ載せるなど）十分対応できる。ラットでは尾根部をつかむが、マウスでは中央部を摘むようにする。尾根部を摘むと体を反転させ、噛みつかれることがある。

長時間の場合、マウスでは掌に乗せたり、ケージの蓋に乗せておく。ラットでは腋窩から腹部に人差し指から小指までの4本の指で、親指で反対側の腋窩を保持するとよい。動物はむやみに噛みつくものではないことが分かると、リラックスして接することができるようになる。

保定方法は、どのような処置をするかにより様々なものがある。完全な保定がなければ安定した投与も採血もできないくらい、重要なものである。これらは実際に動物を触りながら行うべきもので、別の機会に詳しく紹介したい。

#### その他の動物での注意点

ハムスターは寝起きの機嫌が悪く、眠っている動物に触ったりするといきなり攻撃してくることがある。そのため、触る前にはケージを軽くトントンと叩いてから触る必要がある。またマウス・ラットとは違い、尾が短く皮膚がたるんでいる。尾をつまみ上げることはできない。必然的に背部の皮膚を摘むようにして持ち上げることになる。保定する場合、皮膚をたぐり寄せるようにしないと頭が動いてしまうので注意が必要である。

#### コツはなんだ？

- ・日頃から動物に触れ、ヒトに馴れさせる。（ヒトも動物に馴れる）
- ・動物の行動特性を理解する。  
（マウス・ラットの尾を引っ張ると、前足でつかまろうとする等）
- ・動物の武器を抑え込む。「頭の押さえ方」首が回らないようにつかむ。ネコなどは同時に「手足の爪」が使えないつかみ方を工夫する。

### 3. 投与

薬剤等を動物に投与する場合に最も重要なことは「物質の一定量を正確に目的とする部位へストレスを与えずに投与すること。」である。

投与経路、投与形態、投与濃度、投与速度が異なると吸収率や吸収速度等に差が生じ、動物に現れる反応が異なる。そのため投与を行う場合、安定した投与テクニックと投与に適した保定テクニックが必要となる。また投与可能な容量を検討して実験計画をたてる必要がある。

#### 1) 投与量・投与容量の計算は正確に！

正確な投与量を求めることが大切である。ヒトへの投与の場合、厳密に体重あたりの投与量を求めることはほとんどない。そのためか施設の利用者を見ていると意外に無頓着な人が多い。体重が少ないため、投与容量の小さな誤差が体重あたりの投与量に大きな差を生じてしまう。麻酔薬などでは5倍希釈、10倍希釈をして用いると安全である。

#### 2) 投与方法の種類

##### 腹腔内投与

一見簡単そうに見えるが、熟練者でも腸管内に入れたり、臓器に傷を付けるなど、失敗することがある。

- ・針先を腹腔内で振らない。不用意に針を刺入しない。
- ・足の固定が重要。注射器を蹴られると臓器を傷つける。
- ・消化管内容物や血液の逆流がないか確認する。
- ・盲腸に針が入りやすい。頭を下げるように保定。

##### 経口投与

経口ゾンデを使用する。マウス用、ラット用など動物に合わせたゾンデが用意されている。また最近は Disposable のゾンデが用いられる。

- ・保定時の姿勢が重要。
- ・気管に入れられないよう注意。
- ・胃を通り過ぎて十二指腸まで挿入してしまうことがある。事前に剣状突起の位置を確認して、胃のおおよその位置を把握するとよい。
- ・投与容量が多いと注入した液体が胃を通過してしまう。容量に注意が必要。

##### 静脈内投与

マウス・ラットでは通常尾静脈を使う。静脈内投与専用の保定器を使うとやりやすい。

- ・血管は細いが目視下でできる投与方法である。
- ・尾の汚れを取り、十分に血管を怒張させ血管がよく見えるように準備する。
- ・血管に入ったら、注射器の内筒を引くと少量ではあるが血液の逆流がある。
- ・先端から行い、失敗した時は尾根部側へ移動する。
- ・有色の場合、血管が見にくく、熟練を要する。
- ・針は数回刺したら交換する。切れの悪い針は失敗のもと。

##### 皮下投与

動物の口が届かない投与部位に投与する。通常は背部皮下を用いる。皮膚の弛みがあるため、一定の場所に投与するのが難しく、保定方法にもコツがある。また、被毛があ

り針が皮膚を貫通しても気付かないことがある。そのため注入前に注射器内筒を引き、空気が入らないか確認する必要がある。

#### 4. 採血法

採血は少量の血液を採取する部分採血（一部採血）と採れる限りの血液を採取する全採血とに分けられる。部分採血は、経時的に繰り返し採血をしたり、抗体価を見るため試験的に採血する場合などに用いられる。あまり頻繁に採血すると貧血となり、正常な値が得られないことがある。全採血は採血時に動物は死亡する。検査に必要な血液量が多いときや、抗体作製時などに用いられる。採血量は動物の体重により異なってくる。いずれの方法で採血するにしろ、採血可能な量を知らないと、実験計画がたてられない。

#### 5. 殺処分法（安楽死法）

殺処分は、できるだけ人目に触れない所で動物の苦痛を避け、短時間で絶命させることが重要である。物理的方法は一見、残酷な方法に見えても瞬間的に動物の意識を無くし、苦痛を与えない方法である。このあたりを誤解されないよう注意していただきたい。

物理的方法で行う場合、熟練を要することが多い。未熟な技術で殺処分を行うと動物に多大な苦痛を与えることを忘れてはいけない。麻酔剤を使う場合には、獣医師、医師、歯科医師の指示が必要である。また深麻酔状態となっても死に至らないことがあるので、死亡確認が必要である。過去には筋弛緩剤の単一投与での殺処分なども行われていたらしいが、この場合、意識がある状態で呼吸ができないため、安楽死とは言えない。

殺処分方法を選択する場合、実験目的に合わせ、各方法の特徴を理解して行う必要がある。

#### 殺処分の方法

物理的方法：薬物の影響を受けない。

頸椎脱臼、頭蓋打撲、断首

化学的方法：麻酔薬の過剰投与、炭酸ガス吸入など

#### 6. おわりに

動物実験では、飼育環境、動物の品質など様々な要因、さらに正確な処置を行うことで再現性のあるデータを得ることができると考えている。

日頃、飼育管理や各種手技が軽視され、実験で得られたデータやその解析結果だけに目が向けられがちである。しかしここで紹介した手技が、正確なデータを引き出すための重要なポイントであることを実験者も技官も再認識する必要がある。