

## (S-3)

# 動物実験施設における動物福祉と環境保全に配慮した 床敷の選択に関する研究

石原 すみれ（岡山大学 機器分析・動植物資源技術課）

ISHIHARA Sumire : Research on Laboratory Animal Bedding  
Considering Animal Welfare and Environmental Conservation

In recent years, the SDGs advocated by the international community have called for efforts to reduce waste. In this study, based on the results of previous studies, we investigated nesting materials that are compatible with ALPHA-dri. As a result, “Clean Stick” was rated as a good choice, but would like to conduct the study again with humidity adjusted.

### 1. 目的

著者が勤務する動物実験施設では、マウス、ラット及びハムスター等 1 日平均約 10000 匹を、紙製床敷を入れたプラスチック製ケージで飼育している。ケージ交換間隔は、ケージ内アンモニア濃度を参考に 2 週間に 1 回とし、作業の効率化のために匹数に関わらず同じ間隔で実施している。

近年国際社会が提唱する SDGs により、廃棄物削減の取り組みが求められている。当施設での床敷の廃棄量は 90 リットルのゴミ袋で 1 日平均 10 袋と非常に多いことから、著者は、動物実験施設において動物福祉に配慮するとともに、廃棄物削減を含め環境保全に配慮した実験用マウスの飼育管理方法の最適化について検討してきた<sup>1)</sup>。この際供試した床敷の中ではバージンパルプ製床敷アルファドライ（Shepherd Specialty Papers 社）がアンモニア濃度の上昇を最も抑えることが明らかになった。また当施設ではマウスは 1 ケージ最大 5 匹まで収容できるものとしているが、ケージ交換は収容匹数にかかわらず同じ頻度で実施しているため、ケージ内の匹数の違いによるアンモニア濃度の上昇の違いについて調べた。その結果、4 匹以下の群では、各群で初めてアンモニア濃度が基準値の 20ppm を超えたのは飼育開始後 3 週間以上経過してからだった。これらの結果から、床敷をアルファドライに変え、1 ケージ当たりの最大飼育匹数を 4 匹以下にすることで、ケージ交換間隔を最大 3 週間に伸ばすことができることが示唆された。

一方で、アルファドライは、5mm 角の厚さ 1.5mm の小紙片であり、攪拌しやすい形状であるゆえにマウスが子育てを行う時に好む凹地を作りづらい素材であり、

一般的に繁殖ケージには不向きであると言われている。そのためバージンパルプ製床敷を施設に導入する際は、繁殖への影響を最小限に抑えるためにも、一般飼育と繁殖で使用する床敷を分けることが求められ、活用場面が限られることになる。

そこで、本研究では、アルファドライを床敷として使用する場合の繁殖への影響を調査し、廃棄物削減と母マウスの動物福祉への配慮に資するために、母マウスにとって適切な飼育環境を作り出し、環境保全にも配慮した営巢材の組み合わせを明らかにすることを目的とした。

### 2. 方法

本研究は図 1 に示す 5 群で実施した。



図 1. 各群の詳細

マウスは 9 週齢・妊娠 7 日目・C57BL/6J 雌（日本エスエルシー（株））を用い、各群 4 ケージ（1 匹/1 ケージ）用意した。そして、以下の①～④について検討を行った。

①ケージ内アンモニア濃度：妊娠 13 日目、18 日目及び産後 7 日目、14 日目、21 日目に、自作したプラスチック段ボール製カバーをケージに被せ、1 分後にケージの手前、中央、奥の順でケージ底から約 4 cm の位置にアンモニア検知管（アンモニア 3L, (株) ガステック）を挿入し、床敷面近くから空気を吸引し、アンモ

ニア濃度を測定した。

②母マウスの尿中コルチコステロン：母マウスのストレス軽減効果がある栄養材を調べるため、搬入日、妊娠13日目、18日目及び産後7日目、14日目、21日目にマウスをアルミホイルの上に置いて仙椎を刺激して採尿し、ストレスに反応して放出されるコルチコステロンの濃度をCorticosterone EIA Kit (YK240, (株) 矢内原研究所) を用いて測定した。

③仔の体重と離乳率：離乳率を検討するために、出産日以降の測定時または朝の点検時に仔の匹数を確認した。また生後21日目(実験終了時)に離乳した仔の体重を測定した。

④飼育ラック内の粉塵量：搬入日及び生後21日目(実験終了時)にラック内の粉塵の量(粒子径 $0.3\mu\text{m}$ 、 $0.5\mu\text{m}$ )をパーティクルカウンター(MODEL3886, 日本カノマックス(株))で測定した。

### 3. 結果

①ケージ内アンモニア濃度：測定したケージ内3カ所のアンモニア濃度の平均値を算出し、更に各群の平均値をグラフにした(図2)。測定値が30ppm以上の場合は30ppmとして参考値を算出した。その結果、コントロールのアルファドライ群のケージ内アンモニア濃度は、搬入後1週間で20ppmを超え、先行研究よりもアンモニア濃度の上昇が早い結果となった。また、コントロール群以外も3週間を経過する前に20ppmを超えていた。

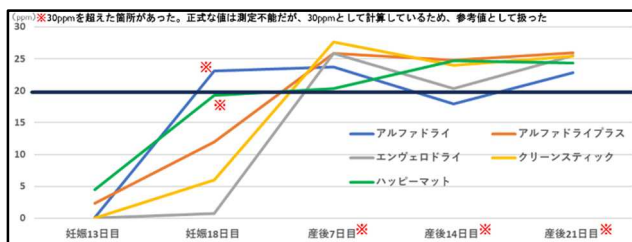


図2. ケージ内アンモニア濃度の推移

②母マウスの尿中コルチコステロン：母マウス尿中コルチコステロン濃度の各群の平均値をグラフにした(図3)。検査時の希釈倍率については40倍としたが、尿が $20\mu\text{l}$ 以上採取できなかった検体として、妊娠7日目アルファドライ群2検体は44.3倍と196倍、妊娠18日目クリーンスティック群1検体は66倍とした。その結果、各群の平均値の差については妊娠13日目のみ有意な差がみられた( $P<0.05$ )。その他の日程では群間での平均について有意な差は見られなかった。

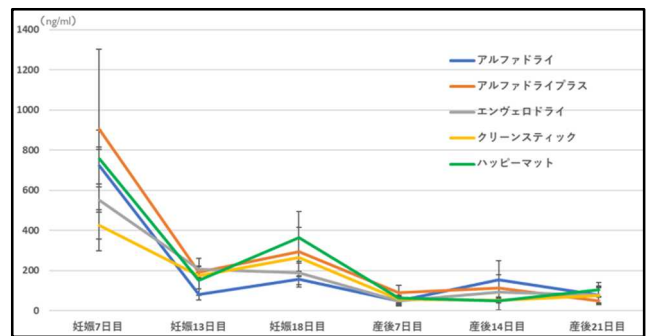


図3. 母マウスの尿中コルチコステロン濃度

③離乳率と離乳時の仔の体重：仔の匹数の推移では、仔の最大数を1として、その後の数の変化の比率をグラフにした(図4)。その結果、離乳率はクリーンスティック群が一番高く、次いでアルファドライプラス群、ハッピーマット群、エンヴェロドライ群、アルファドライ群の順だった。アルファドライ群では、すべてのケージで食殺や育仔放棄が起こり、1匹も離乳ができなかった。また、食殺や育仔放棄の多くは生後2日間で起こっていた。

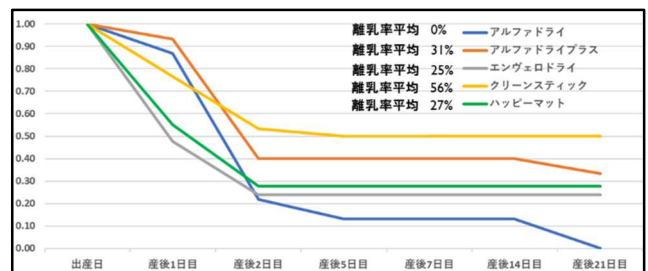


図4. 仔の匹数の比率

図5は各群の離乳時の仔の平均体重を示した。母マウスを購入した日本エスエルシー(株)の3週齢マウスの平均体重は雄が8.8g、雌が8.6gのため、その平均値をグラフ上に赤い線で示した。その結果、その線を超えたのはエンヴェロドライ群だけだった。次いで、クリーンスティック群、ハッピーマット群、アルファドライプラス群の順に高かった。コントロールのアルファドライ群は1匹も離乳しなかったので0とした。

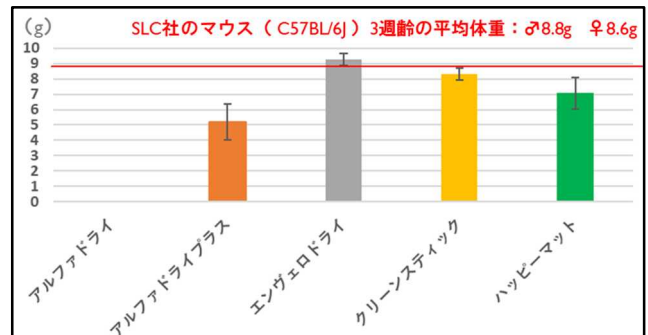


図5. 離乳時の仔の平均体重

④飼育ラック内の粉塵量：各平均値において群間での

有意な差は見られなかった。

#### 4. 考察

本実験ではコントロールとして営巣材を入れなかったアルファドライ群の離乳率が 0% となったことから、アルファドライの床敷を用いる際には、営巣材となるような素材を入れなければ繁殖の結果が悪くなるのが強く示唆された。また営巣材は、クリーンスティックの離乳率が最も高く、離乳時の仔の体重も 2 番目に大きかったことから、本実験においてはクリーンスティックが最も適した営巣材であることが示唆された。

営巣材の違いによる母マウスのストレス評価では、妊娠 13 日目の尿中コルチコステロンの濃度において群間での平均の差に有意な差が見られたが、その時点で最も濃度が低かったのはアルファドライ群であった。しかしアルファドライ群は離乳率が 0% だったことから、この時点での尿中コルチコステロン濃度と食殺・育仔放棄との関連性は低いことが考えられる。さらに、食殺・育仔放棄の多くは産後 2 日間で起こったが、その期間に採尿を行っていないため、本実験において各営巣材と尿中コルチコステロン濃度の関連性については明らかにできなかった。

ケージ内アンモニア濃度は、20ppm を超える時期が著者のこれまでの実験に比べて早い結果となった。著者のこれまでの実験では床敷としてアルファドライを用い、今回の実験で使用したマウスより体重が大きい ICR 雄マウスを 1 ケージ 5 匹で飼育したが、アンモニア濃度が 20ppm を超えたのは、実験開始から 28 日目だった。一方で本実験では、同じアルファドライ床敷を用いたケージで妊娠マウス 1 匹を飼育したが、1 週間で 20ppm を超えていた。原因としては、実験期間の飼育室の湿度が平均 81% (最低値 49%、最大値 94%) となりこれまでの実験の時より高く、飼育室の推奨湿度 40~60% を超えていたことが影響したことが考えられる。もう 1 つの要因として、マウスの巣作りが関係していることが示唆される。これまでの実験において尿を吸った床敷の固まりがあると床敷が乾燥しにくく、ケージ内アンモニア濃度の上昇が早くなっていた。今回の実験ではマウスは出産する際に営巣材で凹地を作っていたが、ケージの片方に巣をつくり、反対側に糞や尿が固まっている様子が見られた (図 6)。アルファドライ群は他群と異なり営巣材が入っていないため目視では巣の場所は他群と比べて分かり難かったが、アルファドライ群のアンモニア濃度の上昇が最も早い

結果となった。それは、床敷で営巣を行ったことにより、その分排尿を吸収する床敷が他群より少なくなりアンモニア濃度の上昇が早まったことも考えられ、営巣行動が影響したことも示唆される。

そこで、ケージ内の汚染度から最適なケージ交換頻度を導くためには湿度を調整して再度実験を行う必要があるが、著者のこれまでの実験と本研究の結果を踏まえると、1 ケージのマウスの最大飼育数を 4 匹にし、繁殖ケージにクリーンスティックを入れることでケージ交換頻度を 3 週間に 1 回に延ばせることが示唆される。しかし、1 ケージの最大飼育数を 4 匹にすると、現在 5 匹で収容しているケージを 4 匹以下にする必要があり、結果的にケージ数が増えることになる。ケージ数が増えても 3 週間に 1 回のケージ交換の方が廃棄量を減らせるのか、ケージ数が増えるのなら現状のままの方が良いのかは今後の課題として検討したい。

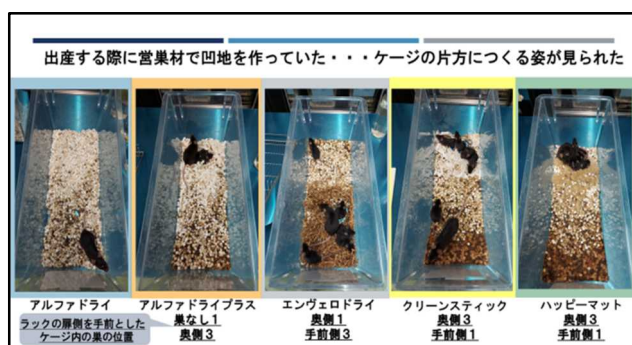


図 6. 実験終了時のケージ内での巣の位置

#### 謝辞

本研究では岡山大学自然生命科学研究支援センター・故樅木勝巳教授、平山晴子助教、矢田範夫技術職員にご指導いただきました。心より深く感謝いたします。

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金 (奨励研究 24H02752) を受け実施いたしました。

#### 参考文献

- 1) 石原すみれ (2023) 「動物福祉と環境保全に配慮した実験用マウス飼育管理方法の最適化についての研究」, 岡山実験動物研究会報 第 36 号 : 10-13