

整理番号	
前年度整理番号	

### 動物実験計画書

新規     変更     継続

国立研究開発法人産業技術総合研究所  
研究環境整備本部長 殿

申請者 所属：  
氏名：

#### 1. 申請計画 及び 実験責任者

研究課題名					
期	実験計画期間				年数
期	年	月	日	～	年 月 日
実験実施期間	年	月	日	～	年 月 日
実験責任者	所 属		備 考		教育訓練受講歴
事業所			電話		
			Email		
実験従事者名	所 属		役職	備考	資格

#### 2. 研究目的

#### 3. 動物を使用する根拠およびその数の根拠

4. 実験計画と処置<sup>※1</sup>に関する説明および苦痛・苦悩の分類<sup>※2</sup>

※1: 外科手術を伴う場合は、別紙に詳細を記載する事、

※2: 苦痛・苦悩の分類がEの場合、別紙2に代替についての考え方及び代替法を使用できない理由を記載すること。

--	--

苦痛度クラス	対応する実験項目
B C D E	
B C D E	

5. 苦痛軽減の為の処置 及び 苦痛の有無の判定法

--

6. 実験に用いる動物

一般名	系統等	週齢 年齢	性別	今年 度計 画数	微生物 学的背 景 <sup>※1</sup>	免疫 異常 の有 無	遺伝子 組換え体	入手 方法	供給元
						<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
						<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
						<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
						<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

※1: 「a. 無菌動物」「b. ハハ<sup>®</sup>イ-ド<sup>®</sup>」「c. SPF」「d. コンベンショナル」より該当する記号を記入。

7. 飼育室・実験室等

事業所等	建物名・部屋番号	飼育室	実験室	組換え体 ※1	実験動物管 理者名※2
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____.
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____.
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____.

※1 遺伝子組換え体を扱う場所には「組換え体」へチェックを記入。

※2 飼育室のみ記入。産総研外部施設の場合記入不要。

8. 移送

移送元	移送先	公道使用	移送手段／方法／設備等
		<input type="checkbox"/>	

※動物を移動させる全てが移送に該当

9. 使用薬品等

薬品名	用量 (単位)	投与経路	有害 化学 物質	抗生 剤	麻酔 ・鎮 静剤	筋弛 緩剤	鎮痛 剤	その 他
			<input type="checkbox"/>					
			<input type="checkbox"/>					
			<input type="checkbox"/>					
			<input type="checkbox"/>					

\*微生物を用いる場合はその他にチェックしてください。

10. 研究終了後の安楽死法と処分方法

--

安楽死方法（該当するものを下記から選択）

<input type="checkbox"/>	麻酔薬の大量投与	使用する麻酔薬 ( )	投与量 ( )
<input type="checkbox"/>	麻酔下の放血	使用する麻酔薬 ( )	投与量 ( )
<input type="checkbox"/>	二酸化炭素吸入		
<input type="checkbox"/>	頸椎脱臼		
<input type="checkbox"/>	断頭		
<input type="checkbox"/>	そのほか		

11. 年度を越えた飼育継続の場合の状況

--

12. 関連ライフサイエンス等実験計画

組換え DNA 実験	微生物	ヒト由来試料	RI 実験	X 線	ナノ
			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

※RI・X線は該当する場合チェックを入れ、他は実験計画番号を記載。申請中の場合はその旨明記すること。

13. その他必要な事項

--

別紙 1

外科手術の詳細

<p>1. 実施する外科処置を詳細に説明してください。例えば、絶食や鎮痛剤の処置手術前処置、手術中の管理と監視法、使用される滅菌法の説明等を含みます。</p>
<p>2. 術者の経験年数等を記入してください。術者が動物実験に関わる資格を有する場合はその資格を記入してください。</p>
<p>3. 手術をする場所と術後管理が行われる場所をそれぞれ記入してください。</p>
<p>4. 生存手術の場合は必要な術後管理、観察頻度、責任者の特定等について詳細に説明してください。勤務時間内及び勤務時間外、週末、休日における術後合併症の監視と管理の方法についても説明してください。</p>
<p>5. 非生存手術の場合は、人道的安楽死の方法及び死亡の確認方法について記載してください。</p>
<p>6. 手術中に筋弛緩剤のみを使う場合は、使用の理由と痛みの評価法について記載してください。</p>
<p>7. この研究に用いられる前に、動物に大きな生存手術（体腔を貫通ないし露出し、あるいは肉体的、生理的機能の重大な損失をもたらす手術、例えば、開腹手術、開胸手術、関節置換、肋骨切断術、等）が施されている場合は、それについて説明してください。</p>

別紙 2

苦痛・苦悩の分類が E となる理由とその説明

研究者の氏名	
動物を使用する研究計画の課題	
E クラスに分類される動物の種と年毎の使用数	
種	
数	
1 年目	
2 年目	
3 年目	
合計	
その種を選択した理由を含む研究計画の説明	
痛みやストレスを伴う処置が行われている間、あるいはその後で麻酔薬、鎮痛薬、鎮静薬、精神安定剤等を使わない（あるいは使う）科学的理由の説明	
研究者の署名	
日付	

計画書整理番号	
---------	--

## 動物実験報告書

終了    経過

国立研究開発法人産業技術総合研究所  
研究環境整備本部長 殿

申請者 所属：

氏名：

### 1. 申請計画 及び 実験責任者

研究課題名						
実験計画期間	平成 年 月 日	～	平成 年 月 日			年計画 期
実験実施期間	平成 年 月 日	～	平成 年 月 日			年目
実験責任者	所 属		備 考		教育訓練受講歴	
事業所			電話			
			Email			
実験従事者名	所 属		役職	備 考	資 格	教育訓練受講歴

### 2. 実験に用いた動物の数

一般名	系統等	週齢 年齢	性別	当該年度 計画数	実施数 (当該年度)	実施数 (累計)

※繁殖に使用し、実験に使用せず処分した動物数は行を分けて記載すること

3. 飼育室・実験室等

事業所等	建物名・部屋番号	飼育室	実験室	組換え体
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

※遺伝子組換えを扱う場所には「組換え体」へチェックを記入(ゲノム編集生物含む)

※実施期間中に軽微な変更があった場合は、変更箇所が明確に分かるように記載してください。

4. 事故あるいは安全に関わる問題の有無

5. 実験動物に対する倫理上の問題の有無

6. 実験結果(得られた結果および、関連する学会・誌上発表等について記載して下さい)

7. その他必要な事項

※動物導入報告書、情報提供文書等があれば添付ファイルとして添付してください。

## 動物実験計画書の記入の手引き

以下の説明に従って、実験計画書に漏れの無いよう記入してください。

### 【はじめに】

- ・ 申請番号欄は記入しないでください。
- ・ 申請者は実験責任者としてください。
- ・ 申請者(実験責任者)に複数の所属がある場合、所属は計画書を申請する研究ユニットを選択してください。
- ・ 細胞移植実験の場合は、用いる細胞株、移植する動物系統など、別紙「動物実験計画書の細胞移植実験の記載方法」に従って記入してください。

### 【1. 申請計画 及び 実験責任者】

- ・ 実験計画期間と期: 実験の実施を計画する全体の期間を記入してください。期間は最長5年で、5年単位の期間を期と呼びます。5年以上継続する場合は以降2期目、3期目となります。
- ・ 実験実施期間: 申請年度内の実施期間を記入してください。新規計画書の場合、実施期間の開始日は計画の承認を受けた日からになり、2年目以降の申請の開始日は、4月1日となります。また、終了日は最長で年度末になります。複数年度にわたる計画書の場合、年度末以外が終了日となるのは最終年度のみです。
- ・ 実験責任者: 役職欄には、人DBで表示される役職(申請する研究ユニットの役職)を記載してください。教育・訓練受講歴欄には直近の受講年月日をご記入ください。
- ・ 実験従事者: 実験計画で動物に処置をするすべての人の氏名を記入します。役職欄には人DBに表示される役職を記載してください。
- ・ 産総研の職員等ならびに産総研で実験を行う外部機関所属の者(産学官来所者)はすべて産総研の教育訓練受講が必須です。外部機関所属であって、産総研で実験を行わない者の場合は、産総研以外の機関での教育訓練の受講歴で替えることができます。産総研以外の教育訓練受講歴を記載する場合はどこで受けたものかを備考欄にコメントしてください。
- ・ 共同研究先で実験を行う場合、共同研究先の実験責任者を実験従事者に記載してください。業者に委託する場合は、麻薬研究者などの場合を除き、実験従事者への記載は不要です。
- ・ 麻薬研究者、X線装置使用者など、特殊な免許や所内手続きを必要とする実験の場合はその有資格者の資格欄に内容を記載してください。

### 2. 研究目的

- ・ 研究者でない一般の人にもわかるように、研究の目的を簡潔平易に説明し、何故その研究が人間や動物の健康にとって重要なのか、知識の向上やよりよい社会の形成にいかに関与しているのかを説明して下さい。

- ・変更申請の場合、期間延長/短縮の理由、実験追加の理由、動物系統追加の理由、動物数増の理由など、なぜその変更が必要なのか、その理由を必ず説明してください。
- ・特に5年の実験計画期間が終了する計画書で、実験計画期間を次期へ延長する変更申請の場合、実施した期間中に得られた成果、計画期間を延長する理由、ならびに次期での研究の展開について簡潔に説明してください。

### 3. 動物を使用する根拠及びその数の根拠

下記の三点についての説明を記載して下さい。

#### ① 動物を使用する根拠

動物を使う必要性、動物モデル以外のモデルが使えないかの理由も含めて記載してください。

#### ② 選択した動物種の妥当性の評価

その動物種や系統、性別など、選択した理由とその妥当性を説明してください。

#### ③ 使用する動物の数の評価

なぜその動物数になるのか、算出根拠を記載してください。特に、条件を変えた実験を複数行う場合、ひとつの実験系(一群)に必要な動物数と、実験全体での動物数が分かるように記載してください。複数の系統がある場合は、どの実験にどの系統を何匹使用するのかも説明してください。

使用する動物の数は統計学上有意な結果が得られる最小の数にすること(ただし、統計学的に意味をなさないと判断される数もまた不適切とされます)。

動物数の削減について配慮した事項があれば記入してください。

### 4. 実験計画と処置に関する説明及び苦痛・苦悩の分類

1) 外科手術を伴う場合は、別紙 1 に詳細を記載してください。安楽死後の採材などは外科手術の対象外です。

2) 簡潔に実験計画を説明し、実験処置について詳細に説明して下さい。この説明は「動物実験委員会」が実験の開始から研究の終了時点までの実験の経過を理解できるように記述して下さい。

3) 特記すべき事項は下記の通りです。:

- 投与物質(薬剤、新規化学物質、腫瘍細胞、感染性生物、アジュバンド等)、用量(mg/Kg,unit 等)、投与部位、容量(volume)、経路(経口、静脈、腹腔、皮下、皮内、気管内等)、投与スケジュール)。溶液の場合は濃度と容量両方の記載が必要です。
- 採血(量、頻度、採血部位、方法)
- 外科処置と部位(生存手術か非生存手術(覚醒させずに安楽死処置)かの詳細を記載のこと)
- 放射線照射、レーザー照射(照射量とスケジュール)、電気刺激、磁気刺激、温度刺激(刺激の強度、持続時間、繰り返し)

- 計測方法(所要時間)
- 拘束の方法(保定いす、首輪、ベスト、ハーネス、つり鎖、等)、採血のようなルーチン操作の場合でもどのように保定するかも記載のこと。長期にわたる拘束は、動物のストレスが確実に最小になるような方法を記載のこと。何らかの鎮静法、使用のための順化あるいは訓練等について記載のこと。
- 個体識別法(耳票、刺青、首輪、ケージカード、マイクロチップ、等)
- その他の処置(例えば、尾のバイオプシーなど)
- 結果として生じる影響、何か動物が被りそうな影響(痛み、苦悩、腹水産生、など)
- その他のストレス源として可能性のあるもの(絶食、絶水、有害刺激、環境ストレス、等)と苦痛軽減と監視法。
- 実験開始から実験終了までの期間と、実験終了時の処置。安楽死をもって実験の終了とする場合は、その説明。
- 実験的エンドポイントの基準:腫瘍細胞、生物体、感染性因子、放射線、毒性化学物質等が投与されたとき、重篤な臨床症状を示したり、死亡する可能性がある場合は、どのような場合に実験を中止し終了させるのか、その実験的エンドポイントの基準(腫瘍のサイズ、体重の増減比率、摂食・摂水不能、行動異常、臨床症状、毒性の兆候、等)を具体的に記載すること。
- 安楽死をするときの基準を挙げること。死としてのエンドポイントを常に科学的に評価すること。獣医学的管理(動物が病気になった時の望ましい対処法を示すこと。例えば治療の開始、処置をはじめる前の研究者の承諾、安楽死の実施、等)

#### 4) 苦痛度の評価及び苦痛・苦悩の分類の表

別表「痛みと苦悩の分類と例(SCAW の分類と例)」に従って、その実験のもたらす苦痛が B から E のどれに該当すると考えるのかを説明してください。1 件の計画書に苦痛度の異なる複数の実験が記載されている場合には、実験ごとに、その苦痛度を記載してください。個々の実験処置と全体としての実験の苦痛度の評価が異なる場合はその説明も記載してください。

「苦痛・苦悩の分類」の表には、実験処置ごとに、B から E のどれかを選択し、記入してください。苦痛・苦悩の分類が E の場合、別紙 2 に代替についての考え方及び代替法を使用できない理由を記載し、併せて提出してください。

なお、苦痛度レベルは、実験責任者の判断で記入しますが、委員会の審査で変更を指示される場合があります。

#### 5. 苦痛軽減の為の処置 及び 苦痛の有無の判定法

- ・ 苦痛軽減のために用いる薬品・方法、(麻酔薬、鎮痛剤、精神安定剤など)を記してください。
- ・ 実験途中で苦痛軽減のため安楽死させる状況を設定しなければならない実験では、その人道的エンドポイント(安楽死処置の判定基準となる動物の状態)について、できるだけ定量的な表現で記載してください。

苦痛度の異なる複数の実験が記載されている場合、それぞれの実験について記載してください。

## 6. 実験に用いる動物

動物は系統、性別、週・年齢ごとにわけて記入してください。繁殖用と実験用がある場合、別々に記載してください。

- ・ 一般名: マウス、ラットなどの名称を記入してください。
- ・ 系統等: 動物の系統名を記入してください。
- ・ 週齢・年齢: 実験に使用する動物の週・年齢を記入してください。
- ・ 性別: 不問は、繁殖した動物を使用するなどの場合のみとしてください。購入し、使用する場合はオスあるいはメスのどちらかを選択してください。
- ・ 使用動物の購入(譲渡)時の微生物学的背景: 「a.無菌動物」「b.ノブイオード」「c.SPF」「d.コンベンショナル」より該当する記号を記入してください。
- ・ 免疫異常の有無: 免疫不全の場合は口をチェックしてください。
- ・ 遺伝子組換え体: 動物が遺伝子組換え体の場合には、口をチェックしてください。
- ・ 入手方法: 「購入」「譲渡」等入手する方法を記載して下さい。
- ・ 供給元: 入手方法が購入の場合は会社名、譲渡の場合は相手機関名を明記すること。

細胞移植実験の場合は、別紙「動物実験計画書での細胞移植実験の記載方法」に従い、記載してください。

ひとつの計画書に複数の実験がある場合、どの実験にどの系統の動物を用いるのかがわかるように記載してください。

## 7. 飼育室・実験室等

- ・ 事業所名、建物名および、部屋名、部屋番号を記入してください。通称の部屋名(XX棟動物飼育室など)のみの記入はしないでください。ライフサイエンス実験管理室が管理する飼育場所については、用いる施設すべてについて、その施設の実験動物管理者氏名を記入してください。飼育を伴うすべての動物実験は、その動物飼育施設の実験動物管理者が実験計画の内容を確認・承認していることが必要です。
- ・ 実験室については実験動物管理者名の記入は不要です。飼育を伴うすべての動物実験は、その動物飼育施設の実験動物管理者が実験計画の内容を確認・承認していることが必要です。産総研で管理を行わない施設(共同研究先施設・飼育委託業者など)にて飼育・実験を行う場合には実験動物管理者名の記入は不要ですが、外部機関名と建物名称の記入は行ってください。
- ・ 組換え動物を飼育する飼育室および生きた組換え動物を持ち込む実験室は、組換え欄をチェックしてください。

## 8. 移送

- ・ 公道を使用する場合は、口をチェックしてください。公道を利用して動物を輸送する場合は、

関連規則を遵守する方法を、動物を研究機関の間で輸送(移動)する場合は、使用する容器と方法について記入して下さい。業者から購入する場合には、記入の必要はありません。

#### 9. 使用薬品等

- ・ 使用される精神安定剤、鎮静剤、鎮痛剤、麻酔剤など、実験中に生きた動物に投与されるすべてのものが対象です。
- ・ その薬品ごとに該当する項目をチェックし、薬剤等の名称、用量、投与経路を記入して下さい。
- ・ 動物に埋植される装置や器材も同様に記載してください。
- ・ 医薬品等は「成分名(商品名)」あるいは「成分名」で記載してください。
- ・ 微生物はその他の欄にチェックしてください。
- ・ 懸濁液や溶液にして投与する場合は、濃度とともに投与容量を記載してください。

#### 10. 研究終了後の安楽死法と処分方法

- ・ 計画している安楽死法について記入して下さい。安楽死の際の死亡の確認方法についても記載してください。また、記載された方法を再度該当する表にもご記載ください。
- ・ 頸椎脱臼の場合、マウス・ラットでは200g未満、ウサギでは1kgの体重の動物に対し、熟練した技術者によって行われることが望ましいとされています。
- ・ 化学物質を使用する場合、用量と投与経路について詳細に記入して下さい。
- ・ 炭酸ガスによる安楽死にドライアイスを用いることはできません。二酸化炭素ポンプを使用してください。
- ・ AVMA(米国獣医師会)で推奨している方法でない方法で安楽死を行う場合は、何故その様な方法を使用するのか科学的な判断を示して下さい。
- ・ 動物死体の保管および廃棄法についても述べて下さい。

#### 11. 年度を越えた飼育継続の場合の状況

- ・ 年度を越えて飼育する場合、実験終了後も系統維持等で飼育継続する場合はその状況について記入してください。

#### 12. 関連ライフサイエンス等実験計画

- ・ 該当する関連実験項目に実験計画書の整理番号を記載してください。
- ・ 実施に当たって必須の関連計画書が無い場合は、状況に応じ、「申請中」「変更申請中」「申請予定」等とご記入ください。
- ・ RI 実験・X 線装置使用実験、ナノ物質使用実験に該当する場合は、口をチェックしてください。
- ・ 採取した細胞などに RI 物質を投与する場合はここで記載が必要な“動物”RI 実験には該当

しません。X 線装置使用手続きの状況(許可済み、これから手続きを行う、など)については、次の「13.」に記載してください。

### 13. その他必要な事項

- ・ 安全キャビネットやドラフトなどの安全設備が必要な実験内容の場合は、当該設備がある実験室について記載してください。
- ・ 特別な安全管理上の配慮が必要な実験を行う場合、その配慮に関し、記載してください。
- ・ 外部機関で実験を行う場合、その機関の委員会の申請・承認状況について記載してください。承認済みの場合は承認番号と承認期間を記載してください。組換え動物を使用する実験の場合、動物実験と組換え DNA 実験計画の承認番号が必要です。また、可能であれば外部機関での承認が分る書類の写しを提出してください。
- ・ 以上の項目に該当しない事項で、特に記載が必要とみなされる事柄を記入してください。

### 別紙1 外科手術の詳細

1. 注射による投与は外科手術には該当しません。
5. 麻酔下で安楽死処置を行うだけの場合は該当しません。
6. 全身麻酔導入時、気管内挿管時、手術中に筋弛緩剤を用いる場合の説明について  
筋弛緩剤の投与時、動物は筋弛緩作用により不動状態になっても脳は覚醒状態にあり、痛みを耐えている状態にあります。どのような症状をもって痛みを評価するかを記載してください。筋弛緩剤投与後ケージ内や容器内などに動物を置く場合は、呼吸抑制で動物の死亡などを引き起こす危険があるので、観察を頻繁に行う必要があります。
7. 非生存手術とは、外科手術が麻酔下で行われた後、覚醒させることなく安楽死処置を行う手術を指します。

別表 痛みと苦悩の分類と例(SCAW の分類と例)

苦痛度 クラス	解説
クラス 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。
	例
	実験の目的のために動物をつかんで保定すること。
	深麻酔下で処置し、覚醒させずに安楽死させる実験
	動物の体を検査(健康診断や身体検査等)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。	
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	
クラス 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。
	例
	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
	アジュバントを用いた免疫(フロイドの完全アジュバントを除く)
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	
クラス D	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。
	例
	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	
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	
クラス E	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。
	例
	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。
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。	
高度の情動反応を示す動物に対して精神病のような行動をおこさせること。	

## 動物実験計画書での細胞移植実験の記載方法

投与物質として細胞を使用する場合、以下のルールで実験計画書に記載する。

### 1. 「4. 実験計画と処置」の記載について

投与する細胞の由来と種類について、以下の点を踏まえて記載すること。

- ① 「無操作」(組換えでもゲノム編集でもない)、「組換え」(ゲノム編集(外来遺伝子有り)を含む)、「ゲノム編集(外来遺伝子無し)」のいずれに該当するか。
- ② 投与する細胞に、外来遺伝子導入がある場合は、外来遺伝子の由来生物名と外来遺伝子の説明、外来遺伝子無しのゲノム編集細胞の場合は、どのような遺伝子操作を行ったかの情報
- ③ 細胞の入手方法。所内で動物から採取・購入・譲受等。
- ④ 組換え細胞とゲノム編集細胞を移植後の動物の拡散防止措置(P1A/P2A)

### 2. 「6. 実験に用いる動物」の表の記載方法

- ① 同系統で細胞移植動物と非移植動物がいる場合は、それぞれ別の行に分けて記載する。
- ② 細胞移植動物は、移植細胞の種類に応じ、『動物系統名(細胞移植)』、『動物系統名(組換え細胞移植<sup>1</sup>)』、『動物系統名(ゲノム編集細胞移植<sup>2</sup>)』と記載する。
- ③ ゲノム編集細胞及び組換え細胞の移植動物は遺伝子組換え体の欄にチェックを入れる。複数ある場合は、表に番号等で記載し、詳細は「4.実験計画と処置」の項目などに記載する。

### 3. 「9. 使用薬品」の表の記載方法

- ① 使用する細胞株が特定できるように、細胞の名称は略さずに記載する。また、購入した細胞を利用する場合は、メーカー名、カタログ番号などを記載する。譲受を受ける場合は、譲渡元の機関名等を記載する。もし細胞に関する文献情報が有る場合は、参考情報として文献名を記載する。

例) ×マウスがん細胞 → ○マウスメラノーマ細胞(B16-F1)等

- ② 使用する細胞の種類を次の4種類の中から選択して記載する。

「無操作」(この場合特別な記載は不要)、「組換え」、「ゲノム編集・外来遺伝子有り」、「ゲノム編集・外来遺伝子無し」

例)「Hela 細胞」「GFP 導入 Hela 細胞(組換え)」「●●遺伝子欠損 Hela 細胞(ゲ

<sup>1</sup> ゲノム編集によって外来遺伝子が導入されたものを含む

<sup>2</sup> ゲノム編集によって遺伝子操作はあるが、外来遺伝子の導入がないもの

ノム編集・外来遺伝子無し)」等

③ 同じ細胞株で複数の遺伝子操作が該当する場合は、欄を分けて記載すること。

4. 「7. 飼育室・実験室等」

遺伝子組換え細胞を移植した“遺伝子組換え動物”あるいはゲノム編集細胞を移植した“ゲノム編集動物”を飼育する施設、および実験で使用する実験室には組換え体の欄にチェックを入れる。

5. 「8. 移送」

細胞移植による遺伝子組換え動物、あるいはゲノム編集動物を移送する場合には、「移送手段/方法/設備等」の欄に、組換え動物の移送に関する注意事項を記載すること。

6. 「12. 関連ライフサイエンス実験」

遺伝子組換え生物あるいはゲノム編集生物に該当する細胞移植動物がいる場合、「組換え DNA 実験」の欄の記載が必要。

P2 実験に該当する場合は、「微生物実験」の欄に記載が必要。

## 動物実験報告書 記入の手引き

### 【はじめに】

- ・ 実験報告書は、実験実施期間(年度)中に行われた実験内容について報告します(但し、終了報告書の場合を除きます)。
- ・ 年度途中で変更があった場合、変更前後の内容を含む記載としてください。
- ・ 年度内に産総研の実験室あるいは飼育施設へ導入した全ての実験動物を記載した「動物導入報告書」を報告書と共に提出してください。産総研外の施設あるいは実験室へ導入した動物については、「動物導入報告書」の提出は不要です。
- ・ 遺伝子組換え動物の譲り受け、譲り渡しがあった場合には、「遺伝子組換え生物等の情報提供文書」の写しを提出してください。

### 【区分について】

- ・ 実験計画が完全に終了した場合は「終了」を、実験計画期間中の年度報告の場合は「経過」を選択してください。

### 【申請者および実験責任者・従事者】

- ・ 申請者は実験責任者名を記載してください。
- ・ 年度途中で実験責任者が変更になった場合は、備考欄にその旨を記載してください。
- ・ 年度途中で計画から削除した実験従事者は、「7.その他必要な事項」にその旨を記載してください。

### 【実験に用いた動物数の記載方法について】

- ・ 報告書には、当該実験計画期間(期)内の計画書に記載されたすべての動物の系統を記載してください。
- ・ 「計画数」の欄には、実験計画書に書いた当該年度の計画数を記入してください。前年度までに削除済みの系統の場合、行を追加して記載し当該年度の計画数は0としてください。
- ・ 実施数(当該年度)欄には、実際に年度内に使用した動物の数を記入してください。
- ・ 使用した数には、繁殖に使用した親動物や、離乳後ジェノタイピングの結果や状態悪化により処分・死亡した動物も含まれます。繁殖に使用した数と実際に実験に使用した数は分けて記載してください。
- ・ 実施数(累計)欄には、当該実験計画期間(期)内に使用した動物数の合計を記入して下さい。(「前年度までの計画期間実施数」+「実施数(当該年度)」)
- ・ 報告年度内に記載内容に変更があった場合は、「7.その他必要な事項」にその旨を記載してください。

### 【飼育室・実験室等について】

- ・ 産総研内で実験を実施した場合、事業所等を選択し、建物名および、部屋名、部屋コードを

記入してください。通称の部屋名(XX棟動物飼育室など)のみの記載は控えてください。該当する項目の□にチェックを入れてください。

- ・ 産総研外の施設で実験を実施した場合、組織名・施設名などを記載してください。
- ・ 年度内に記載内容に変更があった場合は、「7.その他必要な事項」にその旨を記載してください。

#### 【事故等に関する報告】

- ・ 問題となる事案があった場合、状況とその対応内容を記載してください。例えば、以下の場合は報告の対象となります。
  - ✓ 咬傷・針刺し・やけど等、事故報告、またはヒヤリハット報告を行った。
  - ✓ 飼育中の動物に感染事故があった。
  - ✓ 実験上想定していない原因による動物の死亡があった。

#### 【実験動物に対する倫理上の問題に関する記載について】

- ・ 実験等の手順を誤り、実験動物に苦痛を与えてしまった等の問題が発生した場合、または発生する可能性があったと考えられる場合は、その内容を記載してください。
- ・ 計画書に人道的エンドポイントについて記載している場合、適用した事例の有無と数について記載してください。適用しなかった場合はその理由を記載してください。
- ・ 計画数を上回る実施数になった場合にはなぜ実施数が増加したのか、その理由を記載してください。

#### 【実験結果に関する記載方法について】

- ・ 当該年度に実施した実験で得られた結果について具体的に記載してください。
- ・ 成果を外部へ発表した場合は、発表した学会名・論文名などを記載して下さい。  
実験計画期間の最終年度に当たる場合、あるいは実験計画を終了する場合は、当該年度内の結果に加え、実験計画期間の全体を通して得られた成果について記載してください。

#### 【その他、必要な事項】

- ・ 遺伝子組換え動物を共同研究先(産総研の他センターを含む)などへ送った場合には、その送付した年月日、相手先名称、動物名を記載してください。
- ・ 海外に動物を譲渡した場合は、相手先と譲渡した年月日、譲渡した動物名を記載してください。
- ・ 海外から動物を輸入した場合は、輸入元、輸入した年月日、動物名を記載してください。  
(業者からの購入を除く)
- ・ 実験従事者、実験に用いた動物、飼育室と実験室など、年度内に変更があった場合、その旨を記載してください。
- ・ 以上の項目に該当しない事項で、特に記載が必要とみなされる事柄を記入してください。

## 動物福祉と実験動物の麻酔（2020.12.1 改正）

動物実験における実験動物の苦痛の軽減は、苦痛によって生じる、各種器官の生理学的反応への影響を排し、信頼できる実験結果を得るために重要である。適切な苦痛の軽減（疼痛等の排除または緩和など）は動物モデルの有効性を向上させる。

我が国の「動物の愛護及び管理に関する法律」では、“動物を科学上の利用に供する場合には、その利用に必要な限度において、できる限りその動物に苦痛を与えない方法によってしなければならない”と規定していることから、研究者は苦痛軽減に関する最新の情報を入手し、適切な手技を行わなければならない。

古い文献を参照して、すでに苦痛軽減には適切でない麻酔法を実験動物に用いないよう厳に注意する。本資料の巻末に不適切な麻酔法についてまとめた。

## 動物実験に用いられる代表的な麻酔薬と鎮痛薬

外科手術の際に生じる疼痛は適切な麻酔薬を用いることにより完全に阻止することができる。また、術後疼痛や外科的な実験手技以外によって生じる疼痛は鎮痛薬の投与により緩和される。しかしながら、麻酔薬や鎮痛薬は多くの器官に作用し実験プロトコールに少なからず影響を及ぼす。これらの影響を最小限にするために、関係する薬物の薬効薬理を考慮して麻酔薬や鎮痛薬を的確に選択することが、動物の痛みの軽減と実験結果の安定につながる。

全身麻酔薬を用い動物に麻酔を施す場合、動物が手術に適した麻酔状態であるかどうかを確かめる必要がある。麻酔が浅く動物が痛みを感じてはいないか、または麻酔の過剰投与により麻酔が深すぎて死の危険にさらされていないか注意しなければならない。麻酔深度の判定法は、一般的に反射の有無、呼吸数や深さの変化、心拍数や血圧の変化、他の痛み刺激に対する反応の有無が用いられる。

加えて、動物に外科的処置などを行った場合、動物の状態が処置前の状態に回復しているかどうかを注意深く観察することも重要である。食欲の有無や行動の異常には特に注意が必要である。大きな外科手術などを行う場合、術中、術後の保温および手術直後に鎮痛剤や感染予防のための抗生物質を投与することは手術からの早期回復にとっても有効である。

ここには代表的な実験動物であるマウス、ラット、モルモット、ハムスター、霊長類に用いられる一般的なで簡便な麻酔法および鎮痛薬について紹介する。

ここに紹介した資料は、「バイオメディカルリサーチマニュアル動物実験法Vol. 2麻酔と実験終了後の処置」(倉林讓編, 養賢堂)および東北大学実験動物センターの資料を参考にしてまとめた。そのほか、「ラボラトリーアニマルの麻酔」(Paul A. Flecknell著, 倉林讓監修, 学窓社)、「獣医麻酔の基礎と実際」(獣医麻酔外科学会編, 学窓社)等が参考になる。

## 別添 2

### 1. マウス・ラットの全身麻酔法

#### (1) 注射麻酔

##### \* 塩酸メドミジン+ミダゾラム+酒石酸ブトルファノール混合麻酔

塩酸ケタミンが麻薬指定を受けたことにより、塩酸ケタミンを用いない注射麻酔として、推奨する。ただしミダゾラムは向精神薬であるので厳重な管理が必要である。

マウス用 塩酸メドミジン0.3~0.75mg/kg+ミダゾラム4mg/kg+酒石酸ブトルファノール5mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、腹腔内注射する。

ラット用 塩酸メドミジン0.15mg/kg+ミダゾラム2mg/kg+酒石酸ブトルファノール2.5mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、腹腔内注射する。

注意>ミダゾラムは、向精神薬に分類されるので、都道府県による向精神薬試験研究施設の登録および施錠のできる保管庫での保管と収支の記録が法的に求められている。

##### ● 塩酸ケタミン+塩酸キシラジン混合麻酔

注意>塩酸ケタミンが麻薬指定されているため、研究者は、都道府県知事より麻薬研究者免許証を取得する必要がある。麻薬研究者による厳密な管理が必要であり、施錠のできる保管庫での保管と収支の記録が法的に求められている。研究の責任者が、麻薬研究者の免許を取得すれば、他の研究員は麻薬研究者の指導の下、ケタミンを使用することができる。

15~30分の深い鎮静ないしは浅い麻酔状態が得られるため、小処置に利用されているが、老齢動物にも使用できる。塩酸ケタミン単独では麻酔状態には至らず、塩酸キシラジンと併用することにより、処置はやりやすくなる。しかし、内臓の痛覚路への侵襲を伴う手術等には用いてはならない。

マウス用 塩酸ケタミン+塩酸キシラジン=80~100mg/kg+10mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、腹腔内投与をする。

ラット用 塩酸ケタミン+塩酸キシラジン=90mg/kg+10mg/kgになるように生理食塩水で希釈し、腹腔内投与をする。

##### ● ペントバルビタール

注意>ペントバルビタールは、向精神薬に分類されるので、都道府県による向精神薬試験研究施設の登録および施錠のできる保管庫での保管と収支の記録が法的に求められている。現在、医薬品としての製剤は製造中止になり、販売されていない。在庫のソムノペンチルは使用期限内の使用が望ましい。

睡眠作用が強力で、心臓血管系及び呼吸器系の抑制作用が強く、つまり麻酔期が得られる用量は呼吸停止量に近く、他の安全な手法を推奨する。さらに鎮痛作用や筋弛緩作用はないので単独使用は推奨できない。吸入麻酔薬(イソフルラン、セボフルラン等)と併用することが望ましい。睡眠状態を得る薬剤として20~40mg/kgの腹腔内投後、吸入麻酔薬を投与する事により比較的

## 別添 2

安全に維持麻酔を行なう事ができる。単独の使用では投与量30～50mg/kgで30～60分の手術適期が得られる。

マウスの麻酔には、ソムノペンチル(濃度 64.8mg/mL:共立製薬)を生理食塩水で10倍に希釈(投与量を正確にするため)し、体重10g当たり0.05～0.08mlを腹腔内投与する。これにより30～50mg/kg投与したことになる。

ラットの麻酔にはソムノペンチル10倍希釈液を体重100g当たり0.5～0.6ml腹腔内投与する。これにより30～40mg/kg投与したことになる。

### \* チオペンタール

投与量30～40mg/kgで5～10分の短時間麻酔が得られる。静脈内投与である。血管外に漏出すると刺激が強いため注意が必要である。場合により、直腸内注・筋注・腹腔注も可能。用量は添付書類参照のこと。チオペンタールはアルカリ性(pH10～11)であるため、筋注部位の壊死並びに局所障害を起こす可能性がある。そのため、筋注に用いる場合は、本剤による恩恵が、その**危険性よりも重要視される場合にのみ適用されるべき**(である2.5%以上の濃度は組織の壊死を起こす危険があるため、2%を推奨)。

### \*ウレタン:カルバミール酸エチル

心血管系と呼吸抑制が少ないことから、麻酔に用いられるが高濃度のアドレナリンとノルアドレナリンが出ていること、化学薬品であることを知っておくべきである。

投与量1mg/kg 腹腔内投与で6-10時間持続する麻酔を得ることができる。長時間の麻酔が得られる。

注意> ウレタンは催奇形性、発がん性があるため実験者への危険性を考慮して他の薬剤の使用を考えるべきである。他の薬剤では実験目的を達成することができない場合のみ用いる。乾燥粉末から薬剤を溶かすときはドラフトを用いるなどの発がん物質としての取り扱いが必要である。外科手術後に覚醒させる実験にウレタンを使用することは推奨できない。

## (2) 吸入麻酔

### \*イソフルラン、セボフルラン等

吸入麻酔は注射麻酔法に比べ短時間、長時間にかかわらず麻酔深度についての調節が容易で、短時間で覚醒する安全な全身麻酔である。近年は小動物専用の吸入麻酔器が販売されており、簡便に使用できる。キャリアーガスに空気をを用い、気化器により適正な濃度の吸入麻酔薬を供給する。当初4～5%の濃度で導入し、約2～3%で維持する。直接吸入させるためには、吸入麻酔器に連結したノーズコーンを用いるとよい。

短時間の麻酔では、麻酔瓶を使うこともできる。麻酔瓶に脱脂綿を置き吸入麻酔薬をしみこませる。その上に金網の台などを置き、動物を乗せ、蓋をして吸入させる。又、小型ビーカーやプラスチックの50ml遠心チューブに脱脂綿を詰め、吸入麻酔薬をしみこませ、動物の鼻に当て吸入させる方法等が一般的である。いずれの場合も、麻酔瓶やビーカーの容積と吸入麻酔薬の用量を適切に調節する。

注意>ここに記載していないハロタンには肝毒性及び妊婦に対する影響があるため、実験者は注意する。なお、クロロホルムは、人に対して発癌性が認められ、麻酔薬としては推奨できない。

## 別添 2

### (3) 麻酔の判定及び管理

まず立ち直り反射の消失を確かめ、次に有鉤ピンセット等で足指や尾への刺激に対する反応の消失を確かめる。一方、呼吸数が極端に減り(正常はマウス180回/分、ラット90回/分)、大きな息をするのは過剰麻酔の危険な状態である。このような時は、吸入麻酔であれば麻酔薬を遠ざけ、胸部を圧迫したり、ゴムやシリコンのスポイト(乳首)等で人工呼吸したりすることにより回復することがあるが、注射麻酔のときは回復しない。

なお麻酔中には体温低下をきたすので、保温マット等で保温することが勧められる。

## 2. 霊長類の全身麻酔法

霊長類の麻酔には獣医学の十分な知識と技術が必要であり、安易に麻酔を行うべきではない。専門家の指導を仰ぎ、又、獣医学領域で成書があるので、それらを参考にすべきである。

霊長類では麻酔により嘔吐が見られることがあるので、全身麻酔の前に絶食を行う。通常は12時間以上の絶食及び2～3時間の絶水を行う。霊長類は保定が困難であるためケージの筐体板を利用し保定を行う。この状態で大腿部または上腕部の筋肉に筋肉内注射または静脈内注射が行える。

### (1) 注射麻酔

#### \* 塩酸ケタミン+塩酸キシラジン

塩酸ケタミン10mg/kg+塩酸キシラジン0.5mg/kgの筋肉内注射により30分程度の外科麻酔が得られる。

#### \* 塩酸メドミジン+ミダゾラム

0.06mg/kgの塩酸メドミジンと0.3mg/kgのミダゾラムとの混合液を筋肉内投与する。重度の鎮静が得られ、採血などの簡単な処置が行える。塩酸アチパメゾール0.24mg/kgの筋肉内投与により速やかに鎮静状態から覚醒する。

#### \* 塩酸ケタミン+塩酸メドミジン

塩酸ケタミン4mg/kg+塩酸メドミジン0.05mg/kgの筋肉内注射により30分～1時間程度の外科麻酔が得られる。塩酸アチパメゾールの筋肉内投与により速やかに鎮静状態から覚醒する。

#### \* 塩酸ケタミン+塩酸メドミジン+ミダゾラム

塩酸ケタミン4mg/kg+塩酸メドミジン0.05mg/kg+ミダゾラム0.3mg/kgの筋肉内注射により1時間程度の鎮静麻酔が得られる。塩酸アチパメゾールの筋肉内投与により速やかに鎮静状態から覚醒する。

#### \* ペントバルビタール

25～30mg/kgのペントバルビタールを静脈内投与することにより外科麻酔が30～60分得られる。

#### \* チオペンタール

ペントバルビタールと同様の使い方が可能である。血管外に漏出すると刺激が強いため注意が必要である。場合により、直腸内注・筋注・腹腔注も可能。用量は添付書類参照のこと。チオペンタールはアルカリ性(pH10～11)であるため、筋注部位の壊死並びに局所障害を起こす可能性がある。そのため、筋注に用いる場合は、本剤による恩恵が、その危険性よりも重要視される場合

## 別添 2

にのみ適用されるべきである(2.5%以上の濃度は組織の壊死を起こす危険があるため、2%を推奨)。

### (2) 吸入麻酔

吸入麻酔は注射麻酔法に比べ短時間、長時間にかかわらず麻酔深度についての調節が容易で、短時間で覚醒する安全な全身麻酔である。しかし、麻酔チャンバー等で簡便に行える実験小動物と異なり、イヌ、ブタ、ネコ、霊長類の吸入麻酔には専用の吸入麻酔器が必要である。又、専門知識及び技術が必要である。従って、ここでは方法の紹介程度にとどめた。吸入麻酔の実施を希望する人は、吸入麻酔器等の整備と技術の習得のために専門家の指導を仰ぐ必要がある。

(3) 吸入麻酔薬: 吸入麻酔薬にはガス麻酔薬と揮発性麻酔薬がある。

#### \* ガス麻酔薬

ガス麻酔薬では笑気(亜酸化窒素 $N_2O$ )だけが使用されている。わずかに臭気のある非爆発性ガスである。麻酔作用は極めて弱いため笑気と酸素との混合ガスにハロタン、イソフルラン等の揮発性麻酔薬との併用により使用する。

#### \* 揮発性麻酔薬

**ハロタン**: 強力な麻酔薬であり、引火性・爆発性はなく、気道の刺激も少ない。何よりも調節性が優れているため、大部分の動物種で安全に麻酔を実施できる。導入、覚醒は早い。しかし、ハロタンの20%は肝臓で代謝されるため、短期間に反復投与すると肝臓障害を起こすことがある。肝臓障害を持つ動物には使用しない方がよい。又、比較的強い循環器系の抑制作用を有し、不整脈や期外収縮等も認められる。ハロタンの使用時には気化濃度を正確に保てる気化器が必要であるが、正確な気化器が市販されているので安全な麻酔が可能であり、利用頻度が高い。

**イソフルラン**: 理想的な麻酔薬に近く、人の臨床では汎用されている。イソフルランはハロタンに比べ麻酔の導入、覚醒が早く、麻酔深度の調節や安定性が良い。麻酔作用も強力である。肝臓、腎臓に対する毒性もなく、心筋収縮に対する抑制も少なく、不整脈の発生もない。軽度の呼吸抑制作用や気道刺激性があるが、あまり問題にはならない。気化器は専用のものがあるが、ハロタン気化器を転用できる。

**セボフルラン**: イソフルランよりも少し劣るが強力な麻酔作用を持つ。導入は速やかで蓄積性もないため、覚醒も早い。麻酔深度の調節性にも優れている。認可されたのが1990年と新しく、今後極めて有望な麻酔薬である。気化器は専用のものが必要である。

(4) 麻酔導入手技の実際 ―ハロタン麻酔を例として―

#### \* 必要器材:

閉鎖循環式吸入麻酔器、ハロタン気化器、酸素ガス、酸素ガス減圧弁、フローメーター(流量計)、呼吸バック、Yピースと蛇管、気管チューブ、咽頭鏡等

#### \* 実施の手順:

1. 動物の準備(絶食、絶水等)
2. 麻酔前投薬(硫酸アトロピン、塩酸キシラジン、ジアゼパム等の投与)
3. 麻酔の導入(チオペンタール等の投与)
4. 気管チューブ挿管

## 別添 2

5. 維持麻酔(ハロタンの導入)
6. 麻酔の覚醒(酸素のみの吸入)
7. 回復処置

### (5) 麻酔の判定

「2. モルモットの全身麻酔法(3)麻酔の判定」参照。

## 3. 両生類・魚類の麻酔

MS-222(メタアミノ安息香酸エチル・メタンスルホン酸塩、トリカインメタンスルホナート)が、両生類、魚類の麻酔薬として広く利用されている。しかし、動物の種や発生段階によって感受性が異なることから、使用濃度は使用対象によって検討されるべきである。一般に、両生類の場合、カエル:0.1~0.3%、オタマジャクシ:0.02~0.05%とされている。魚類の場合、短時間で即効性を求める場合:0.0075~0.0125%、長時間維持する場合:0.005~0.0075%とされている。5分以内の短時間処理であるならば、0.4%以下の濃度で使用可能であるが、時間とともに蘇生しにくくなるため注意が必要である。同一の種であっても、成魚に比べ稚魚の感受性が高い場合が多い。また、蒸留水や人工海水など、溶媒の条件によって麻酔液のpHが異なることや、緩衝液中に溶解することにより麻酔に要する時間が短縮されるという報告もなされている。更に、同一の溶媒であっても、溶媒の温度が長時間麻酔からの覚醒に影響を与えることが報告されており、長時間麻酔を維持する際は注意が必要である。

両生類に対して使用する場合は、麻酔液(0.05%又は0.1%水溶液)をタッパーに入れ、空気が入らないように密封した状態で、両生類に麻酔をかける(空気の層があると麻酔にかかるまで時間を要する)。1時間くらいで麻酔が効く。その後、水(汲み置きの水等、少なくともカルキ除去を施したもの)に個体を入れておくと、麻酔からスムーズに覚醒させることができる。魚類に対して使用する場合は、麻酔液中に個体を浸して麻酔をかけ、水(カルキ除去済みのもの)に交換することにより覚醒させる。0.01%程度の濃度で強制灌流、鰓灌流を行うことにより、1時間以上の長時間麻酔状態を安定に維持することができるとされる。いずれにしても、麻酔状態は外観で判断し、心拍や鰓運動に注意する。

MS-222の代替品として*p*-アミノ安息香酸エチル(Benzocaine)が使用できる。*p*-アミノ安息香酸エチルは水に難溶で、25°Cで蒸留水に対する飽和濃度0.4%である。両生類の麻酔の場合、飽和溶液をそのまま、あるいは2~4倍希釈して使用する。麻酔薬を入れた容器を完全密閉し、中に空気の層を作らないことが肝心である。魚類に対しても、飽和溶液の4~16倍希釈で使用できる。

## 4. 動物の痛みの臨床的判定

ヒトにとって痛いと感じられる刺激は動物にとっても同様に痛いと感じられる可能性があり、それぞれ独特の方法で痛みを表現する。従って、動物が痛みを感じているか否かは、術後の動物の動作を注意深く観察したり(表1)、実施する手術の種類を知ることによりある程度判定することができる。

急性痛の生理学的徴候には、頻脈、頻呼吸、血圧の上昇、心拍数の増加、可視粘膜蒼白、流涎、

## 別添 2

高血糖、沈鬱、食欲減少、活動性の低下が含まれ、呼吸数もしばしば増加する。疼痛に対する反応は種や個体によって異なるが、行動パターンと徴候の変化が見られることが多い。表情の変化（目を細める、耳を下げるなど）、発声パターンの変化（うなる、鳴くなど）、行動の変化（臆病になる、攻撃的になる、痛みを感じている部位に触るとかみつくななどの防御的動作をしたり、その部位をなめたり、痛みを最も少なくできるように盛んに位置を変える、狂乱したように暴れるなど）、姿勢の変化（うずくまる、弓状になるなど）などがある。また、疼痛によって食欲が減退するので食餌の摂取量が減少し、グルーミング行動が減るので外見がみすぼらしくなる。

表1 疼痛行動

表情	目を細める、耳を下げる
発声パターンの変化	吠える、うなる、鳴く
防御行動	逃げようとする、噛みつこうとする、患部をなめる
休みなく動く	落ち着きなく歩き回る、横になったり起きあがったりを繰り返す
異常な姿勢	伏臥の回避（祈りの姿勢）、腹部を弓なりに持ち上げて保護している、銅像のように立ったまま動かない、頭を下げている、腹部に頭を巻き付けたまま横になっている
横たわる	動くのをいやがる、起き上がれない
その他	震えている、人への反応が乏しい、立毛、毛繕いをしない、流涎
生理学的徴候	頻呼吸、浅速呼吸、頻脈

## 5. 実験動物の術後管理と疼痛緩和

実験動物に外科的処置を行った後には鎮痛が必要である

痛みの伝達経路を遮断する薬物には、オピオイド、 $\alpha_2$ -作動薬、非ステロイド系抗炎症薬（NSAIDs: Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs）、局所麻酔薬、NMDA拮抗薬（ケタミン）などがある。購入や使用に免許が必要となる麻薬を使用しない場合、疼痛管理に利用できる薬物は、非麻薬性オピオイド（ブトルファノール、ブプレノルフィンなど）、 $\alpha_2$ -作動薬（メドミジン、キシラジンなど）、NSAIDs（アスピリン、インドメタシン、カルプロフェン、メロキシカム、ケトプロフェンなど）、局所麻酔薬（リドカイン、ブピバカイン、マーカインなど）である。

一般的にオピオイドは術後疼痛のコントロールに使われる。ブプレノルフィンはその中で長時間（6～12時間）効果が続き、安全に使い、鎮痛効果が高い。NSAIDsは一般的に鎮痛作用が弱い、メロキシカムやカルプロフェンやその他の最近市販されている薬剤の多くはオピオイドに匹敵する効果を持つ。多くの例から術後24時間はオピオイドで、その後24時間以上をNSAIDsで行うのが効果的である。

鎮痛剤は特定の実験プロトコルを邪魔する副作用がある。臨床的にはあまり重要ではないがオピオイドは呼吸抑制、低血圧、便秘の原因となりうる。また NSAIDs はプロスタグランジンの産生を抑え、創傷治癒過程において血液凝固を阻害し、腎機能に影響を及ぼす可能性がある。しかし、市販されている様々な鎮痛薬の薬理を慎重に評価することにより、実験プロトコルに影響の少ない鎮痛剤投与計画を実施することが可能になる。鎮痛薬が禁忌の場合、手術の傷に比較的長期間効果が持続する局所麻酔薬のブピバカインを浸潤させ、4～6時間の鎮痛を行う。

## 別添 2

実験処置後1日に数回は動物の様子を見に行かなければならない。手術の傷に注意をし、動物が噛んだり、なめたり、引っ掻いたりして体を傷つけたり、埋め込まれた器具(カテーテルやトランスデューサーなど)を壊さないようにしなければならない。肉食動物や霊長類では傷をなめるのを防ぐために時々首に付けるカラーが必要である。慢性実験では皮下にカテーテルや他の機器を完全に埋め込んだほうがよい。

また、術後の感染防止のために衛生的な外科処置を行うことと術中や術後に適切な抗生物質を投与することが重要である。

表2 鎮痛薬の用法

区分	薬品名	商品名	用量、投与経路	持続時間*	適応
NSAIDs	カルプロフェン	リママイル	4.4mg/kg: PO, IM, SC	12~24時間	軽度~中程度
	ロキシカム	メタカム	0.2mg/kg: PO, IM, SC	24時間	軽度~中程度
	トプロフェン	メジェイド	0.5~1.0/kg: PO,	12~24時間	軽度~中程度
	クロフェナクナトリウム	ボルタレン	50mg/1回: 直腸(座薬)	12~24時間	軽度~中程度
非麻薬性 オピオイド	ブプレノルフィン	レペタン	0.005~0.02mg/kg: IM, SC, IV, 直腸(座薬)	6~8時間	軽度~中程度
$\alpha_2$ 作動薬	酒石酸ブトルファンオール	ヘルトファール	0.1~0.3mg/kg: IM, IV, SC	1~3時間	軽度~中程度
	メドミジン	ドミトール	0.02~0.08mg/kg: IM	1~2時間	軽度

\* 持続時間は投薬量と投与経路によって変動する。静脈内(IV)、筋肉内(IM)では、一般的に作用発現が早く、経口投与(PO)より持続時間が短い。

## 6. バランス麻酔の概念と疼痛管理

吸入麻酔単独の全身麻酔は痛みを感じていないと考えている人は多いと思われるが、麻酔薬には鎮痛作用がほとんどないものも多く、その場合は脊髄や脳幹部では痛みを感じているのである。侵害刺激による循環動態反応や反射性の運動が吸入麻酔薬により抑制され、表面上、疼痛が認識されていないように見えるが、脊髄には常に刺激が与えられており、繰り返しの侵害刺激によりニューロンは敏感になっている。このような状態では、痛み刺激が強く認識されるため麻酔覚醒後の痛みは強くなる。

そこで、麻酔薬と鎮痛薬を併用することによって手術中のストレスを最小限にとどめるような工夫をされたバランス麻酔が考案された。つまり吸入麻酔薬には意識の消失を求め、鎮痛は別の鎮痛に求めることにより各々の薬剤の利点を最大限に引き出し、欠点を最小にしたコンビネーション麻酔がいわゆるバランス麻酔である。バランス麻酔における鎮痛薬投与の目的は、単なる痛み止めというわけではなく、安定した麻酔維持に必要な吸入麻酔薬の必要量を減少させること、低濃度で維持することにより循環抑制に代表される副作用を減少させること、術後の覚醒を促進すること、また、スムーズに術後鎮痛に移行させることにより術後管理の質を向上させることにも貢献する。

## 7. 先制鎮痛法とマルチモーダル鎮痛法

## 別添 2

先制鎮痛 (preemptive analgesia) とは、手術という侵害刺激にさらされる前に痛みの伝達経路を遮断する鎮痛薬を投与することをいう。いわゆる術前の痛みの管理法の一つである。Woolfは、局所麻酔薬を用いて知覚神経を麻痺させておくことと侵害刺激を繰り返し与えても痛覚過敏が起こらないことを示した。これがその後の先制鎮痛という概念の基になり、動物実験によりその根拠が示されている。このことは、手術が始まる前から十分な鎮痛処置を行うことの重要性を示唆している。先制鎮痛法は、術後の痛みを予防あるいは軽減し、動物の回復を改善する効果がある。先制鎮痛はもっと積極的に実験動物に利用されるべきだと考える。

一方、マルチモーダル鎮痛 (multimodal analgesia) とは、適切な鎮痛効果を得るため、作用の異なる鎮痛薬を複数併用することである。術後痛の発症には複数の機序が関与していることから、それに対する鎮痛方法も複数の治療法を組み合わせることにより、相乗効果が得られ、かつ副作用を最小限にして鎮痛を得ることができる。術中だけでなく術後の侵害刺激を抑えることも考慮し、持続時間の長い鎮痛薬を選択すると良い。また、術中に急性神経刺激による侵害刺激を抑えても、術後も炎症による侵害刺激が持続するため、末梢神経や中枢神経の過敏性がすぐに生じてしまう。従って、炎症がおさまる時期まで侵害刺激を抑制することが重要になる。

## 別添 2

### 8. 麻酔薬、鎮痛薬等の商品名

ここで取り上げた麻酔薬、鎮痛薬等の一部の商品名を掲載した。なお、現在ではこの他に多数のジェネリック薬品が市販されており、それぞれ商品名が異なる。

薬品名	商品名	薬品含有濃度
ペントバルビタール*	ソムノペンチル	64.8mg/ml
チオペンタール	ラボナール	300mg/ml,500mg/ml,5g/ml
塩酸ケタミン*	ケタラール静注用	10mg/ml
	動物用ケタラール50	50mg/ml
塩酸キシラジン	セラクター	23.3mg/ml
ジアゼパム*	セルシン	5mg/ml,10mg/ml
	ホリゾン	10mg/ml
プロポフォール	ディプリバン	10mg/ml
塩酸メドミジン	ドミトール	1mg/ml
塩酸アチパメゾール	アンチセダン	5mg/ml
ミダゾラム*	ドルミカム	5mg/ml
塩酸クロルプロマジン	コントミン	10mg/2ml,25mg/5ml,50mg/5ml
硫酸アトロピン	硫酸アトロピン	0.05mg/ml
酒石酸ブトルファノール	ベトルファール	5mg/ml
ブプレノルフィン*	レペタン注	0.2mg/ml
カルプロフェン	リマダイル注射液	50mg/ml
メロキシカム	メタカム0.5%注射液	5mg/ml
ハロタン	フローセン	99.99%
イソフルラン	フォーレン	100%
	イソフル	100%
セボフルラン	セボフレン	100%

\*印の薬品は麻薬及び向精神薬取締法に定められた麻酔薬を示す。

## 9. 動物実験における不適切な麻酔法の例

### 1. ジエチル エーテル吸入麻酔

エーテルは吸入麻酔法が発見された時に用いられた歴史的に麻酔学上極めて重要な薬剤である。多くの吸入麻酔薬の作用機序等は本剤を中心に研究されてきた。

しかし、エーテルは引火性があること気道刺激、それにとまなう気道分泌物過剰および喉頭痙攣などの副作用があることが報告された。欧米の最近の専門教科書では本剤による吸入麻酔は不適切であるとしている(Fish et al 2008, Flecknell 2010)。これらの短所を克服すべく、ハロセン、セボフルレン、イソフルレンなどが新たに開発され、臨床的には十分普及している。またその薬理作用なども十分研究がすすんでいる。(なお、現在ハロセンは副作用が明らかになり使用は推奨されない)

エーテルは、臨床的に使用されなくなったためもあり、麻酔薬としては既に市販されていない。

現在動物実験に使用されているいわゆる”エーテル”は、試薬、工業用薬品として販売されているジエチルエーテルであるが、これについては労働安全衛生法、消防法などにより使用が規制されている。

麻酔に医薬品以外を用いることは倫理的に許されない。また麻酔が苦痛の軽減のためであれば、健康被害が知られている化学物質を麻酔の目的に使用することは適切ではない。

### 2. ペントバルビタールナトリウム単独投与

本剤はこれまで広く麻酔薬、催眠薬として使用されてきた。とくに実験動物では注射麻酔薬として多くの教科書に記載されたことから、十分な薬理作用を理解せずに記載された用量を投与してきたものと思われる。実際1980年代までの麻酔学、獣医麻酔学の教科書には本剤による全身麻酔についての記載があり、実験動物学の教科書にも多く記載されている。しかし、本剤には鎮痛作用はほとんどなく、その強力な催眠作用により、意識喪失の状態にすることによる外科麻酔が得られるとされてきた。しかし、呼吸中枢の抑制が著しく強く、意識喪失の状態が得られる用量は呼吸停止量に近いため、死亡事故が生じることが知られてきた。とくに近年出版された「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, 2017)では本剤の単独投与による全身麻酔は不適切であると明言されている。

また、他の注射麻酔法も多く開発され、その鎮痛作用、副作用、広い安全域などから本剤より適切な麻酔法が普及している。したがって、できるだけ苦痛の少ない方法の原則にしたがって、他の「より適切な注射麻酔法」を用いるべきであり、本剤の単独投与による外科麻酔は不適切な方法とされるようになった。

なお本剤は動物の安楽死薬として広く使用されており、その薬理作用等からも安楽死薬としては最も基準に適合し、極めて有用である(AVMA, 2020)。

### 3. 医薬品以外(安全性試験がなされていない)の薬剤による麻酔

医薬品の開発には動物実験は欠かせない。とりわけ安全性試験には多数の実験動物が使用されてきたことは実験動物のユーザーであるバイオメディカルサイエンティストの共通の認識である。またこの事実は動物実験が必要不可欠であることの重要な根拠となっている。実験

動物の苦痛をできるだけ軽減しようとする際にはこの基本に沿って、より安全を証明された医薬品を用いて、実験動物を用いる研究に毒性や望ましくない副作用が生じないようにする。とくに欧米ではこの考え方が定着し、法律、行政指導、および各種指針に明記されるようになってきた(NRC 2010)。研究目的で使用する試薬と苦痛軽減などに使用する医薬品を混同してはならない。研究目標を達成するために、医薬品が入手できず非医薬品グレードの化学物質または物質の使用が必要になった場合、投与物質について動物実験計画書に明記し、動物実験委員会の審査を経てその指示に従う必要がある。

- 1) ジエチルエーテル 液体試薬、第 2 種有機溶剤
- 2) ペントバルビタールNa (Sigma他) 粉末試薬を溶液に調整して使用。向精神薬
- 3) ウレタン(カルバミ酸エチル)は、粉末試薬を溶液に調整して使用。発がん物質  
長時間の麻酔効果が得られ、心血管系と呼吸抑制が少ないことから麻酔に使用されている。  
ウレタンは、化学薬品であることに加え、催奇形性、発がん性があるため実験者と動物への危険性を考慮して他の薬剤の使用を考えるべきである。他の薬剤では実験目的を達成することができない場合のみ用いる。乾燥粉末から薬剤を溶かすときはドラフトを用いるなどの発がん物質としての取り扱いが必要である。外科手術後に覚醒させる実験にウレタンを使用することは推奨できない。

#### 4. 推奨されない麻酔方法に関する方針と対応

動物実験において、生存手術や不動化などの麻酔目的(安楽死を除く)で用いられることが推奨されない麻酔薬の使用は原則として認めない。

上記方針に対しては以下のように対応する。

- 1) ペントバルビタール<sup>(a)</sup>(単剤で使用する場合)、及びウレタンはチオペンタール、チアミラール、セコバルビタール<sup>(b)</sup>など他の麻酔薬へ変更する<sup>(c)</sup>。
- 2) 代替麻酔薬へ変更できない場合は、その科学的根拠(取得されるデータの一貫性等)や理由を動物実験計画書に明記し、動物実験委員会の承認を得て、その指示に従って使用する。
- 3) ペントバルビタール、もしくはウレタンを使用しなくなった場合、動物実験計画書から削除し、産総研の「環境安全ガイドライン」<sup>(d)</sup>に従い適切に廃棄すること。

<sup>(a)</sup>医薬品品質のペントバルビタール(共立製薬 ソムノペンチル)は 2019 年 1 月に販売が中止され、使用期間は 3 年(最長 2022 年 1 月まで)である。

<sup>(b)</sup>チオペンタールとチアミラールは劇薬に指定されており、セコバルビタールは麻薬及び向精神薬取締法に定められた麻酔薬である。これら薬剤の取扱いと廃棄については、「環境安全ガイドライン第 2 章と第 5 章」を参照。

<sup>(c)</sup>代替麻酔薬への変更は、動物実験取扱要領第 18 条第 4 項で規定している「委員会が認める軽微な事項」に該当する。具体的には、別添 1-5「軽微な事項 7. 投与薬品の追加ある

## 別添 2

いは削除のうち、実験方法に大きな変化がなく、動物の苦痛を増大させないもの」として扱われる。

<sup>(d)</sup>ウレタンに関しては「環境安全ガイドライン第 2 章」、向精神薬であるペントバルビタールについては「環境安全ガイドライン第 5 章」を参照。

### 参考文献

Flecknell, P. Laboratory Animal Anesthesia 3<sup>rd</sup> Ed. Academic Press 2010

Fish, R. E. et al Ed. Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals 2<sup>nd</sup> Ed. Academic Press 2008

AVMA Guidelines for the euthanasia of animals: 2020 Edition

<https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>

(米国獣医学会 動物の安楽死指針(安楽死ガイドライン):2020年版 監訳 日本実験動物医学専門医協会 (JCLAM) は株式会社アドスリー 2022)

黒澤努 10.2 麻酔と安楽死 in 現代実験動物学 笠井憲雪 et al Ed. 朝倉書店 pp184-196

2009

環境省「動物実験の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解説」

[https://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2\\_data/pamph/h2911.html](https://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2_data/pamph/h2911.html) pp126~148

## 動物実験処置の苦痛分類に関する解説

国立大学法人動物実験施設協議会

平成16年6月4日

はじめに

生命科学研究に動物実験は不可欠であるが同時に動物福祉の面からも適正な動物実験が実施されなければならない。今日、適正な動物実験の実施のため3Rの原則が確立されている。3Rの原則は、Russell&Burchによって1959年に提唱されたもので、動物実験の実施に際してReplacement(動物実験の他手段への置換)、Reduction(使用動物数の削減)、およびRefinement(麻酔、鎮痛剤の使用や実験技術・精度の向上による動物が受ける苦痛の軽減)のそれぞれRで始まる語に代表されることがらに十分配慮して動物実験を実施しようとするものである。すなわち、3Rの原則に則って動物実験を実施することが適正な動物実験実施につながるのである。

この中で、Refinementを検討するためには動物実験処置によって動物が受ける苦痛についての判断基準の検討が必要である。このため、1979年、動物実験処置に関する苦痛分類、Swedish Classification of Research Experimentsがスウェーデンで作成された。その後、北米の科学者の集まりであるScientists Center for Animal Welfare(SCAW)がスウェーデンの分類表をもとにCategories of Biomedical Experiments Based on Increasing Ethical Concerns for Non-human Speciesを作成した。このSCAWの苦痛分類は、「動物実験委員会の果たすべき役割に関する提言」(Laboratory Animal Science, Special Issue:11-13,1987)にも掲載されたことから、広く知られている。また、米国ではInstitute for Laboratory Animal Research(ILAR)がGuide to Types of Experiments That Are Considered Painful or StressfulをRecognition and Alleviation of Pain and Distress in Laboratory Animals(1992)のなかで紹介している。さらに米国農務省(USDA)も独自に分類を作成している。しかし、SCAW,ILARおよびUSDAの分類の間には互いにくつつかの相違点がある。すなわち、SCAWの分類には対象動物としてげっ歯類、鳥類が含まれるが、USDAの分類ではそれらが含まれていない。また、SCAWの分類ではカテゴリーEの処置は禁止されているが、USDAの分類ではカテゴリーEの処置も実施可能である。このため、米国の多くの研究機関はSCAWの分類とILARの分類さらにUSDAの分類をもとに独自の苦痛分類表を作成し、自主的に遵守している。さらに、SCAWおよびILARの分類はともに法的拘束力を持たないが、USDAの分類では、動物実験に使われた動物数の毎年の報告が義務とされている。米国以外では、カナダのカナダ動物管理協会(CCAC)、またニュージーランドでは農務省(MAF)がSCAWの苦痛分類を修正した苦痛のカテゴリーを作成し、実験者が実験計画を作成する場合、実験処置がどの分類に属し、実施に際してはどのような対処をすべきかを判断する場合の参考資料としている。しかし、それらの分類を比較すると、同じ処置であっても分類の区分に違いが見られる。苦痛の分類方法に関して世界的に統一したものを作るという動きもみられたが、国による規制状況の違いや、国民性の違いにより、現状では困難であると結論されている。

わが国では統一された苦痛分類はないが、SCAWの苦痛分類に準拠しつつ各研究機関がそれぞれの状況に合わせた苦痛分類表を作成し、活用している例が多い。これは、久原(1990年)によってSCAWの和訳が紹介され<sup>1)</sup>、また、それに基本的に準拠した分類の提案の報告(2002年<sup>2)</sup>)や2000年12月に国立大2学医学部長会議第8小委員会からSCAWの苦痛分類が一例として紹介されたことが関係していると思われる。一般に、

動物実験における苦痛の評価は、動物が被る苦痛と研究成果とのバランスの観点から実験者自身が行い、さらにその妥当性を動物実験委員会が判断すべきでものである。しかし、さまざまな種の動物への多様な実験処置に対する苦痛の程度を一律に分類・評価することは極めて困難である。

ここでは一資料としてSCAWの苦痛分類の解説を行い、一部既報の和訳についても変更を加えた。この資料の目的は、実験者自身が実験処置によって動物が受ける苦痛の程度を自己評価し、動物の受ける苦痛について理解を深めること、及び動物実験委員会が実験計画の審査の上で苦痛の程度を評価する際の参考とすることである。近年、動物実験の方法や周辺科学領域の発展から、苦痛分類の判断に苦慮する処置例も少なくない。このため、特に、カテゴリCとDの実験処置については判断のための概念的説明にとどめたものもある。言うまでもなく、苦痛分類についての判断は科学や社会の発展に伴い見直され、その時代ごとに適正なものにされなければならない。本資料が適正な動物実験実施の一助になれば幸いである。

- 1):動物委員会および動物実験計画(プロトコール)審査システム 久原孝俊 アニテックス第2巻5号 16-31(1990)。
- 2):苦痛による生命科学実験分類 黒澤努, 大谷若菜。Altern. Animal. Test. Experiment. 8(3-4),113-121 (2002)。

倫理基準による医学生物学実験処置に関する分類

**SCAW のカテゴリー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。

Experiments involving either no living materials or use of plants, bacteria, protozoa, or invertebrate animal species.

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(解説1)。発育鶏卵を用いた研究(解説2)。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。

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.

(解説1) 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。

動物実験を規制するわが国の法律では, 規制対象動物を爬虫類以上としている。そのためこれらの研究に関する実験計画書は動物実験委員会の審査対象外である。しかし, 動物福祉の観点からは動物実験に代わる代替法を考慮する必要があり, もし動物を用いずに実験目的を達成できる場合には, これらの方法を考慮すべきである。また, 他の研究者が実験に用いた安楽死後の動物の器官や組織を共有することは, 動物の使用数を減らすことにつながるので望ましい。

(解説2) 発育鶏卵を用いた研究。

発育鶏卵を使用する場合には, もし孵化が実験に必要なでないならば, 卵は孵化の前に破壊されなければならない。孵化させる場合には苦痛のカテゴリーはB 以上となる。

なお, 胎児の実験についてはSCAW の分類に記されていないが, 胎児の苦痛やストレスについては判断の分かれるところである。イギリスのAnimals (Scientific Procedures) Act 1986 では妊娠期間の半分を越えた場合, 動物個体として同等に扱っている。

**SCAW のカテゴリー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。

Experiments on vertebrate animal species that are expected to produce little or no discomfort.

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(解説3)。深麻酔下で処置し、覚醒させずに安楽死させる実験(解説4)。短時間(2~3時間)の絶食絶水(解説5)。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(解説6)。

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.

(解説3)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。動物の体を検査すること。

動物診療所において通常行われる診断・治療処置と同等の処置。例えば、健康診断のための最小限度の拘束。薬物の投与などの注射、採血。脳波、心電図、筋電図の測定などがある。

(解説4)深麻酔下で処置し、覚醒させずに安楽死させる実験。

外科的手術を伴う非存命実験などが該当し、処置中、処置後に意識が回復しない実験。使用する麻酔薬は、動物種に合った適切なもので、現在の医療あるいは獣医療で一般的に使われてるものとする。なお、多くの麻酔薬は要指示薬として、劇薬、毒薬及び向精神薬の指示を受けている物もあり、適切な管理が薬事法により求められていることにも留意する。以下に一般に使われる麻酔薬を示す。この他にも関連書を参考にして、新しい技術や試薬についての知識を得ることにつとめることが必要である。

動物実験に使用される代表的な麻酔薬(例)

麻 酔 薬	投与量(mg/kg)*	備考	
注 射 麻 酔 薬	バルビツール酸系 ペントバルビタールNa  チオペンタールNa  解離性麻酔薬 塩酸ケタミン	マウス、ラット 30~40(i.p.,i.v.) ウサギ、イヌ、ネコ 5~10(i.v.)  マウス、ラット 50~60(i.p.,i.v.) イヌ、ネコ 25(i.v.)  マウス、ラット、ウサギ 80~90(i.m.) イヌ、ネコ 10~30(i.m.)	迷走神経興奮作用があるので、 抗コリン剤との併用必要。    鎮静作用は強いが麻酔・ 筋弛緩作用は弱い。 ※使用に際し、麻薬研究者の免 許が必要。
吸 入 麻 酔 薬	エーテル  笑気  ハロセン	マウス、ラット 5~10% イヌ、ネコ 3~5%  笑気50~70%+酸素50~30%  導入時 2~4% 維持 0.5~1.5%	引火性のため換気に注意。粘膜 刺激作用強い。 ※使用は推奨しない。 鎮痛作用は強いが、麻酔・筋弛 緩作用が弱いので他剤との併用 が必要。  筋弛緩作用、鎮痛作用が弱い。 心筋のカテコールアミンに対する 感受性の増大作用。肝毒性作用 がある。 ※使用は推奨しない。
麻 酔 前 投 薬	向精神薬 ベンゾジアゼピン系 ジアゼパム  フェノチアジン系 クロルプロマジン キシラジン  抗コリン剤 アトロピン	マウス、ラット、 ネコ1~2(i.m.) イヌ2~5(i.m.)  マウス、ラット、イヌ、ネコ1~ 3(i.m.) イヌ、ネコ 1~3(i.m.) マウス、ラット 0.3~0.5(i.m.,i.p.) イヌ、ネコ 0.03~0.05(i.m.)	鎮痛、筋弛緩作用が強い。   鎮静作用強い。 鎮静、鎮痛、筋弛緩作用あり。嘔 吐を惹起することがあるので抗コ リン剤との併用必要  麻酔薬投与時、気管カニューレ 挿入時の迷走神経興奮遮断

註) \* 投与量は、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコを中心に記載した。

i.p.: 腹腔内投与, i.v.: 静脈内投与, i.m.: 筋肉内投与。

「日本実験動物学会動物実験に関する指針:解説」, ソフトサイエンス社, 1991 より。

(解説5) 短時間(2~3時間)の絶食絶水。

SCAW の分類では2~3時間(a few hours)となっているが、動物種によって代謝時間が異なることから、許容される絶食・絶水時間の長さを一律に定めることはできない。麻酔の前処置あるいは血清生化学検査のための採血等のために10 数時間程度までの絶食(水は自由摂取)を行うことは認められる。また、マウス、ラット、ウサギのように麻酔による嘔吐をほとんど無視できる動物では、麻酔の前処置としての絶食は必要がない。なお、長時間の絶水は、絶食以上に動物の生理状態や代謝に影響することから特に注意を要する。

(解説6) 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。

深麻酔下での放血やKCl等の投与は、安楽死法として認められる。齧歯類の頸椎脱臼は、熟練者が行う場合は無麻酔でも認められる。

安楽死の方法は動物種によって異なるが、米国獣医師会(AVMA)の2000 Report of the AVMA Panel on Euthanasiaが多くの国において参照されている。それによると安楽死法の評価基準として以下のような項目が示されている。

- 1) 痛みや不安を伴わずに意識の消失と死を誘発できること
- 2) 意識消失までに要する時間が短いこと
- 3) 致死までに要する時間が短いこと
- 4) 確実であり、不可逆的であること
- 5) 実施者にとって安全であること
- 6) 心理的ストレスが少ないこと
- 7) 目的や必要性に適していること
- 8) 実施者ならびに周囲の人に情緒的な影響が少ないこと
- 9) 動物種、年齢、健康状態に対して適切であること
- 10) 組織を病理学的に評価、検査するに当たり適切であること
- 11) 薬物の入手のしやすさと薬物による弊害を考慮すること
- 12) 安楽死装置が適切に作動するように常に維持されていること

なお、安楽死の方法としては、以下のような方法がある。詳細については関連書を参照のこと。

動物種	バルビツール酸系 静脈内注射	炭酸ガス 吸入	頸椎 脱臼	断首	煮沸
マウス	+1)	+	+	+	
ラット	+1)	+	+	+	
モルモット	+2)	+			
小型げっ歯類	+1)	+	+	+	
ウサギ	+2)	+			

イヌ	+	+			
ネコ	+	+			
サル類	+	+			
トリ類	+2)	+			
その他の家畜	+	+			
下等脊椎動物				+	+
無脊椎動物					+

注1): 腹腔内でもよい。2): 心臓内でもよい。

「実験動物の飼養及び保管等に関する基準の解説」, ぎょうせい, 1980 より一部抜粋。

**SCAW のカテゴリ-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。

Experiments that involve some minor stress or pain (short-duration pain) to vertebrate animal species.

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(解説7)。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(解説8)。フロイドのアジュバントを用いた免疫(解説9)。苦痛を伴うが、それから逃れられる刺激(解説10)。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(解説11)。カテゴリ-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。

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.

(解説7) 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。

これらの処置を行うに当たっては、術後の感染防止に配慮する。処置後に動物の意識を回復させない実験はカテゴリ-Bに含まれる。

麻酔から覚醒後もカテーテルを留置させる場合には、解説11 を参照。

(解説8) 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。

ストレスが生体に及ぼす影響を調べるための実験。例として、拘束ストレス負荷後の血中ホルモン濃度の変化の測定。モンキーチェアやボールマンケージを用いる実験はこれに該当し、拘束器具への馴化、拘束期間中の監視あるいは頻繁な観察、実験の中断や終了時期の判断に特に配慮すべきである。情動的反応が高い霊

長類などにおいては特に注意を要する。

(解説9)フロイドのアジュバントを用いた免疫。

SCAW の分類ではフロイドのアジュバントを使用する実験はカテゴリーC としているが、コンプリートアジュバント(FCA)は動物が被る苦痛が大きいことから最近ではCCAC の分類も含めカテゴリーDとしているところが多い。FCA のフットパッドへの接種は苦痛が大きいことから避けるべきである。インコンプリートアジュバントを使用する実験はカテゴリーC である。FCA 以外のより苦痛の低いアジュバントの選択も考慮する。

(解説10)苦痛を伴うが、それから逃れられる刺激。

これらに該当する実験には麻酔薬や鎮痛薬の効果を調べるためのテイルフリック試験、ホットプレート試験、電気ショックを用いたプリンチジャンプ試験、つまみ試験などが含まれる。このような試験において動物に与える苦痛は効果を判定出来る最小限の苦痛でかつ、必要最小の時間で行うように制限する。例えば、ホットプレート試験では温度を50 度以上にする必要はあるが、動物の足組織の損傷を避けるために上限は70 度以下とする等が一つの目安と考えられる。この種の実験のポイントは、苦痛を起こす刺激からの回避が可能なことである。実験装置の不具合等により刺激からの回避が不可能になると、実験の目的以外の苦痛を強いるので特に注意が必要である。

(解説11)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。

例として、処置後の苦痛の程度が軽微な開腹手術、開胸手術、開頭手術、整形外科的手術が該当する。術後管理に配慮すべきであり、特にイヌ、ネコ、霊長類等においては、通常の臨床獣医学的な術後管理を目指すべきである。

体内に電極等の器具を埋め込む場合にも、麻酔下で無菌的に行われなければならない。術後の苦痛あるいは感染症を予防するために鎮痛剤や抗生物質の投与が考慮されるべきである。

麻酔薬、鎮痛剤および鎮静剤の選択と投与量は、動物種によって異なるため、その動物種に適したもの、さらに実験の目的に適したものを使用する。同じ処置であっても、動物種、処置部位・程度、術者の経験、術後管理等により動物が被る苦痛は異なり、処置後の不快感の判断についても非常に難しい。そのため行おうとする処置がカテゴリーCに属するかDに属するかは判断の分かれるところであり、各機関の委員会で動物が被る苦痛と研究成果のバランスにもとづいて判断することとなる。

**SCAW のカテゴリーD:** 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。

Experiments that involve significant but unavoidable stress or pain to vertebrate animal species.

行動面に故意にストレスを加え、その影響を調べること(解説12)。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(解説13)。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(解説14)。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(解説15)。本来の母親の代わりに不適切な代理母を与えること(解説16)。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(解説17)。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(解説18)。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。

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.e. 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.

(解説12) 行動面に故意にストレスを加え、その影響を調べること。

行動ストレスとして、強制走行、強制水泳、あるいは運動制限(半重力下の懸垂実験)などが相当し、ストレスの効果として筋肉の解剖学的あるいは生理学的変化をみる実験などが該当する。睡眠行動や食餌行動を変化させ、その効果をみる実験においても、重度のストレスや痛みを伴う実験であれば該当する。動物が被るストレスは実験目的を達成するために必要最小限のものとする。

(解説13) 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、生理学的欠失あるいは障害を起こすこと。

処置後の苦痛の程度が顕著な開腹手術、開胸手術、開頭手術、整形外科的手術が該当する。解説11にも記したが、カテゴリーCの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との区別がつきにくい。また、同じ個体に対してこのような処置を複数箇所に加えることは慎むべきである。しかし、実験者によってその正当性が説明され、かつ、動物実験委員会がそれを承認すれば、その実施を認めてもよい。

(解説14) 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。

例として、痛みの研究に関する実験があげられる。これに関しては解説10 及び12 を参照されたい。また、腫瘍細胞の移植、毒性試験のための化学物質の投与、感染実験、遺伝子改変動物を含む重篤な疾患モデル動物の作出もこの中に含まれる。それらに関しては解説18 も参照されたい。さらに、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もその環境から逃れられないという点でこの中に含まれ

る。ただし、それにより重度な痛みやストレスが生じなければDに相当しない。

(解説15) 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。

例えば、モンキーチェアやボールマンケージを用いる実験はこれに該当する。長期にわたる拘束は避けるべきであるが、動物を長期間にわたり拘束しなければならない場合には、摂餌水、排泄など動物にとって生物学的に必要な行動を可能とさせ、動物種によっては適度な運動を与えるべきである。

拘束器具への馴化、拘束期間中の監視あるいは頻繁な観察、実験の中断や終了の時期の判断に特に配慮し、拘束による障害が見られる場合には、動物を拘束器具から解放するか、あるいは拘束方法を改善しなければならない。

(解説16) 本来の母親の代わりに不適切な代理母を与えること。

マウス、ラット、ウサギ等ではそれらのSPF 化にあたり、代理母を与えることは一般に行われており、カテゴリ-Dには当たらない。しかし、この処置は、緊密かつ長期間の親子関係を構築する霊長類において、特に配慮が必要である。

(解説17) 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。

動物の中枢神経系を傷害するような研究において、自分自身あるいは同種同居個体を損傷させるような攻撃的行動を取ることが考えられる。そのような実験では、処置後の動物を十分に観察し、飼育方法についても特別な注意を払う必要がある。

(解説18) 麻酔薬を使用しないで痛みを与えること。例えば、毒性試験等において、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。

放置すれば死に至るような発癌実験あるいは腫瘍の移植実験、感染実験、重篤な病気の疾患モデル動物や遺伝子改変動物を用いた実験などもカテゴリ-Dに含まれる。このような実験においては、できるだけ早い時期をエンドポイントにして、動物が被る苦痛やストレスを最小限に抑えるべきである。頻繁な観察により苦痛の徴候を判断し、実験目的の範囲で苦痛軽減の処置や安楽死を施す。例えば、腫瘍が体重の10%を超えた場合、2-3日の間に20%以上の体重減少あるいは7日で25%以上の体重減少の場合、安楽死を考慮すべきである。それができない場合には、実験の正当性を実験計画書に詳述する必要がある。

実験処置により受ける動物の苦痛について、生理学的反応等から動物はヒトに比べて感受性が低いとする考え方がある。一方、動物が感じる苦痛の程度はヒトが感じる苦痛の程度と同程度であるとみなして判断しようとする考え方もある。このため、カテゴリ-C またはD の判断については、実験処置の必要性や代替手段の有無、苦痛軽減のための配慮、研究の社会的意義などについて、研究者は十分な説明を行い、委員会はその

妥当性を判断しなければならない。

**SCAW のカテゴリーE:** 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。

Procedures that involve inflicting severe pain near, at, or above the pain tolerance threshold of unanesthetized, conscious animals.

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(解説19)。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(解説20)。精神病のような行動をおこさせること(解説21)。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(解説22)。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(解説23)。

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(解説24)。

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.

(解説19) 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。

筋弛緩薬は、適切な全身麻酔などの適切な処置が施されていないならば使用してはならない。筋弛緩薬だけを用いて動物を不動化することは認められない。これらの薬剤が麻酔薬と併用して使用される場合には、麻酔の深度が適切に保たれるように注意しなければならない。

(解説20) 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。

SCAW の分類では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は禁じられている。しかし、処置中、必要なら処置後に麻酔や鎮痛薬を投与して行うことは許される。ただしその際にも、十分な正当性があり、委員会の承認が必要となる。

(解説21) 精神病のような行動をおこさせること。

イヌ, ネコ, 霊長類などの高度の情動反応を示す動物に対して極度のストレスを加えることにより, 精神病のような行動をおこさせる実験は止めるべきである。精神病モデルはラット等を用いることが多いが, イヌ, ネコ, 霊長類などを使用しなければならない場合は, 実験者によってその正当性が提示され, 動物実験委員会が, 動物が被る苦痛と研究成果のバランスをもとにその正当性を確認すべきである。

(解説22) 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。

小動物の安楽死のために専用の電子レンジが開発されているが, 我が国では一般的でない。

硝酸ストリキニーネあるいは空気栓塞により動物を殺すことは, 実験動物の飼養及び保管等に関する基準の解説(ぎょうせい, 1980)にも記されているように禁止されている。

(解説23) 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。

動物を叩いたり, 押しつぶしたりして殺すこともこの中に含まれる。動物を殺す場合にはわが国で認められている安楽死法を用いる。安楽死法に関しては解説6を参照のこと。

(解説24) 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。

SCAW の分類では, 「カテゴリーE の実験は米国の方針で禁止されている」となっているが, SCAWの分類が掲載されている論文(Consensus Recommendation on Effective Institutional Animal Care and Use Committees: 資料1参照)では, カテゴリーE の処置については各研究機関で独自の方針を持つことが望ましいとされ, カテゴリーE の実験であっても研究機関の動物実験委員会が正当性を認めれば実施することも可能であると理解される。実際に, USDA の年次報告にもカテゴリーEの実験が行なわれていることが示されている。

資料1 参考文献

Consensus Recommendations on Effective Institutional Animal Care and Use Committees  
(Laboratory Animal Science, Special Issue pp.11-13.Jan.1987)

資料2 関連資料

I. わが国の法律・基準・指針

## 別添 3

### 1. 動物の愛護及び管理に関する法律

[http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law\\_series/law.html](http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/law.html)

### 2. 動物の愛護及び管理に関する法律施行令

[http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law\\_series/shikorei.html](http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/shikorei.html)

### 3. 動物の愛護及び管理に関する法律施行規則

[http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law\\_series/kisoku.html](http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/kisoku.html)

### 4. 実験動物の飼養及び保管等に関する基準

[http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law\\_series/experiment.html](http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/experiment.html)

### 5. 動物の処分方法に関する指針

[http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law\\_series/shobun.html](http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/shobun.html)

### 6. 大学等における動物実験について(昭和62 年5 月25 日 文部省国際学術局長通知 文学情第141 号)

[http://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/law\\_guide/law\\_03.html](http://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/law_guide/law_03.html)

## II. 苦痛分類

### 1. Categories of Invasiveness in Animal Experiments(APPENDIX XV-B), (CCAC Guide to the Care And Use of Experimental Animals,1993)

[http://www.ccac.ca/english/gui\\_pol/guides/english/v1\\_93/appen/APPXV.HTM](http://www.ccac.ca/english/gui_pol/guides/english/v1_93/appen/APPXV.HTM)

### 2. Categories of Biomedical Experiments Based on Increasing Ethical Concerns for Non-human Species, (Code of Recommendations and Minimum Standards for the Care and Use of Animals For Scientific Purposes, New Zealand)

<http://www.maf.govt.nz/biosecurity/animal-welfare/codes/scientific-purposes/index.htm>

### 3. Consensus Recommendation on Effective Institutional Animal Care and Use Committees Species (Laboratory Animal Science. Special Issue:11-13,1987)

### 4. NYAS(NewYork Academy of Sciences).1988.Interdisciplinary Principles and Guidelines for the Use of Animals in Research,Testing and Education. New York:New York Academy of sciences.

### 5. Swedish Classification of Research Experiments

<http://www.maf.govt.nz/biosecurity/animal-welfare/codes/scientific-purposes/index.htm>

#E143E13

### 6. イギリス, オランダ, ドイツ, スイス, フィンランド, オーストラリアの分類(秋田大学医学部附属動物実験施設ホームページ)

<http://www.med.akita-u.ac.jp/~oubutu/kokudou/rinri/others.html>

### 7. 苦痛による生命科学実験分類 黒澤努, 大谷若菜. Altern.Animal.Test.Experiment.8(3-4),113-121 (2002)。

## III. 苦痛・疼痛・ストレス

### 1. Definition of Pain and Distress and Reporting Requirements for Laboratory Animals:

Proceedings of the Workshop Held June 22, 2000, Committee on Regulatory Issues in Animal Care and Use, National Research Council

## 別添 3

<http://www.nap.edu/books/0309072913/html/>

### 2. IACUC and Pain-Related Internet Resources

<http://netvet.wustl.edu/pain.htm>

### 3. Recognition and Alleviation of Pain and Distress in Laboratory Animals (1992)

<http://www.nap.edu/books/0309042755/html/>

### 4. Selected Presentations from SCAW's "Pain, Distress and Stress in Research Animals: Current Standards and IACUC Responsibility" conference held in Baltimore, MD in May of 2000

<http://www.scaw.com/newpage1.htm>

## IV. 麻酔・鎮痛

### 1. A Reference Source for Analgesia and Analgesics in Animals (AWIC)

<http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/awic200002.htm>

### 2. American College of Veterinary Anesthesiologists Position Paper on the Treatment of Pain in Animals

<http://www.acva.org/professional/Position/pain.htm>

### 3. Anesthesia and analgesia in laboratory animals. Kohn DF et al., Academic Press, 1997

### 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, 1998。

### 5. 日本実験動物学会 動物実験に関する指針:解説, 日本実験動物学会編, ソフトサイエンス社, 1991。

## V. エンドポイント

### 1. Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research(Laboratory Animal)

<http://www.lal.org.uk/endpoints2.html>

### 2. Humane Endpoints for Animals Used in Biomedical Research and Testing, (ILAR Journal Vol41(2)--2000)

[http://dels.nas.edu/ilar/jour\\_online/41\\_2/CancerResearch.asp](http://dels.nas.edu/ilar/jour_online/41_2/CancerResearch.asp)

### 3. UKCCCR Guidelines For The Welfare Of Animals In Experimental Neoplasia

[http://www.ncrn.org.uk/csg/animal\\_guides\\_text.pdf](http://www.ncrn.org.uk/csg/animal_guides_text.pdf)

### 4. 腫瘍実験における動物の福祉に関する英国癌研究調整委員会(UKCCCR)指針

<http://www.med.akita-u.ac.jp/~doubutu/IACUC/tumor.html>

## VI. 抗体作成

### 1. Institutional Policies and Guidelines on Adjuvants and Antibody Production, (ILAR Journal Vol37(3)--1995)

[http://dels.nas.edu/ilar/jour\\_online/37\\_3/37\\_3.asp?id=jour\\_online](http://dels.nas.edu/ilar/jour_online/37_3/37_3.asp?id=jour_online)

### 2. CCAC guidelines on antibody production

<http://www.ccac.ca/english/gdlines/antibody/antibody.pdf>

## VII. 拘束・絶食・絶水

### 1. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Institute of Laboratory Animal Research,

### 別添 3

National Research Council.1996.NationalAcademy Press.

<http://www.nap.edu/readingroom/books/labrats/index.html>

2. 実験動物の管理と使用に関する指針。鍵山直子, 野村達次監訳。1997。ソフトサイエンス社
3. 医薬品非臨床試験ガイドライン解説2002, 医薬品非臨床試験研究会監修, 薬事日報社発行 2002 年

### VIII.行動実験

1. Behaviora1 Assessment of Pain:Nonverba1 Measures in Animals and Humans(ILAR News.33(1/2), 3-13, 1991)  
[http://dels.nas.edu/ilar/jour\\_online/33\\_1\\_2/V33\\_1\\_2Behavioral.asp](http://dels.nas.edu/ilar/jour_online/33_1_2/V33_1_2Behavioral.asp)
2. PAIN AND STRESS IN BEHAVIORAL RESEARCH, Scientists Center for Animal Welfare,  
<http://www.scaw.com/newpage2.htm>

### IX.安楽死

1. 米国獣医師会(AVMA)の2000 Report of the AVMA Panel on Euthanasia  
<http://www.avma.org/resources/euthanasia.pdf>
2. 実験動物の飼養及び保管等に関する基準の解説, 実験動物飼育保管研究会編, ぎょうせい, 1980。

(参考資料) 実験動物の安楽死処分のガイドライン

(はじめに)

産総研の動物実験で用いる安楽死法については、当該動物実験計画書に記載し承認された方法を適用する。本資料は、産総研の研究者が主体的にかかわる動物実験で適用されている安楽死法を中心に記載したが、ここに記載されていない方法が、すべて容認されない安楽死法ではないことに留意いただきたい。

安楽死は動物の生を極力苦痛無く終わらせることであるが、その方法は様々であり、動物種ごとに容認される方法を取る必要がある。最近まとめられた動物の安楽死に関するものとして、2020年に米国獣医学会 (American Veterinary Medical association; AVMA) が倫理委員会 (Panel of Ethics; POE) を招集してまとめたガイドライン (AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition) があり、その中から産総研で実験に供されている動物種 (哺乳類, 鳥類, 魚類等) に関連した箇所を抜粋した。尚, AVMAの日本語版“米国獣医学会 動物の安楽死指針 (安楽死ガイドライン) : 2020年版”はアドスリーから出版されているので併せて参考資料としていただきたい。

(目的)

本資料は、実験動物の不必要な痛みや苦痛を軽減する方法など動物の世話の仕方についての指針である。安楽死の基準を設定し、容認される安楽死の方法と薬剤を指定し、安楽死に関して適切な判断と実践を補助することを目的とする。今後の新しい研究、および実践により経験値が蓄積されるにつれて、容認される安楽死法が変わる可能性があるため、継続してアップデートされるものである。

前述したように、産総研で適用されている安楽死法を中心に記載したが、本資料に記載されていない方法が、すべて容認されない安楽死法ではないことに留意いただきたい。すなわち、実際に用いる安楽死法は、動物実験計画書に適切に記載し、動物実験委員会で個別に審査、承認されることが必要である。

また、以下の付表も添付しているのでこれらはクイックリファレンスガイドとして参考にされたい。ただし、安楽死を行う主体者が、本資料の本文の代わりに付表だけを参考にするのは避けていただきたい。ぜひ本資料の原著 (AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition) , あるいは日本語版の該当部分も併せて参照していただきたい。

付表1 動物種別安楽死の方法

付表2 容認される、または条件付きで容認される安楽死処置の方法とその条件

付表3 容認されない安楽死の方法

なお、「容認される」、「条件付きで容認される」、「容認されない」とした基準は以下の通りである：容認される方法とは、単独で安楽死に用いても一貫して人道的な死に至らしめる方法である；条件付きで容認される方法とは、一貫して人道的な死に至らしめるには特定の条件が満たされる必要

## 別添 4

がある方法で、作業者のミスや安全上の問題点がある可能性が大きいもの、科学的な裏付けが文献化されていないもの、あるいは確実に死に至らしめるために二次的な方法が必要になるものである。条件付きで容認される方法は、方法の適用のためのすべての基準を満たしている場合、容認される方法と同等である；容認されない方法とは、いかなる条件下でも非人道的であるとみなされる方法、あるいは実施者に大きな危険が及ぶとAVMAのPOEが判断した方法である。本資料では、単独では安楽死に用いるべきでないが、他の方法との併用により人道的な死に至らしめる方法についても解説している。

ガイドラインの記載内容は以下となっている。

1. 安楽死とは？
2. 安楽死の評価方法
3. 実験動物における安楽死
  - 3.1. 一般的な考察
  - 3.2. げっ歯類
    - 3.2.1. 容認される安楽死法
    - 3.2.2. 条件付きで容認される安楽死法
      - 3.2.2.1. 吸入性薬剤
      - 3.2.2.2. 非吸入性薬剤
      - 3.2.2.3. 物理的方法
    - 3.2.3. 容認されない安楽死
      - 3.2.3.1. 吸入性薬剤
      - 3.2.3.2. 非吸入性薬剤
  - 3.3. げっ歯類（胎児および新生子）
    - 3.3.1. 容認される安楽死法
    - 3.3.2. 条件付きで容認される安楽死法
      - 3.3.2.1. 吸入性薬剤
      - 3.3.2.2. 物理的方法
  - 3.4. 霊長類（ヒトを除く）
    - 3.4.1. 容認される安楽死法
    - 3.4.2. 条件付きで容認される安楽死法
  - 3.5. 両生類、魚類および爬虫類
    - 3.5.1. 容認される安楽死法
      - 3.5.1.1. 非吸入性薬剤
      - 3.5.1.2. 外用剤或いは局所適用剤
      - 3.5.1.3. 物理的方法
  - 3.6. 家禽、小型鳥類
    - 3.6.1. 容認される安楽死法

## 別添 4

3.6.1.1. 吸入性薬剤

3.6.1.2. 非吸入性薬剤

3.6.2. 条件付きで容認される安楽死法

3.6.2.1. 吸入性薬剤

3.6.2.2. 物理的方法

3.6.3. 胚および新生雛

4. 安楽死の作用機序

5. 注意事項

5.1. 吸入性薬剤

5.2. 非吸入性薬剤

5.3. 物理的方法

6. 付表

### 1. 安楽死とは？

安楽死 (euthanasia) の語源はギリシャ語のよい (eu) と死 (thanatos) に由来する「よい死」eu thanatosである。

安楽死とは、疼痛や苦痛が最小限の死である。本資料における安楽死とは動物を人道的な死に至らしめる行為である。動物の生を終わらせる時、最大限の敬意をもってその行為が行われ、死を可能な限り無痛で苦痛のないものにすることは、研究者としての責任である。安楽死に用いる方法は、意識の急速な消失、続いて心肺機能の停止および最終的な脳機能の停止をもたらす。さらに、動物の取り扱いと安楽死の技術は動物が意識を消失するまでに感じる苦痛や不安を最小限に抑えるものでなくてはならない。POEは、本ガイドラインの策定にあたり、疼痛および苦痛を完全になくすことは必ずしもできないと認識している。従って、本資料では安楽死が実施される各々の状況という現実と動物の疼痛および苦痛を最小限にするという理想とのバランスをとるよう試みられている。

### 2. 安楽死の評価方法

POEは、安楽死の方法を評価するために、以下の基準を考慮した：(1) 最小限の痛みと苦痛で、意識消失および死に至らしめること；(2) 意識消失に要する時間；(3) 信頼性；(4) 人に対する安全性；(5) 不可逆性；(6) 意図された動物の使用および目的との適合性；(7) 観察者、或いは作業者の感情への影響；(8) 安楽死後の評価、実験、或いは組織利用との適合性；(9) 薬剤の利便性および人による乱用の可能性；(10) 種、年齢および健康状態との適合性；(11) 用いる器材が適切に作動するよう維持できること；(12) 法的要件。

### 3. 実験動物における安楽死

「条件付きで容認される方法」は、そのすべての条件を満たす場合には、「容認される方法」と同等とみなす。

### 3.1. 一般的な考察

実験動物を安楽死させる方法を選択する場合に考慮すべき重要な事項は、利用される実験動物の研究目的である。安楽死法の選択によっては、代謝および組織への本来在るはずのない影響が生じ、研究結果に影響を与える。たとえば、イソフルランは血糖値を上昇させる可能性があり、バルビツール酸塩の腹腔内注射は腸組織に影響を及ぼす可能性があり、CO<sub>2</sub>の吸入による安楽死は血清カリウム濃度を上昇させる可能性がある。安楽死から組織採取までの経過時間も、安楽死法の選択に影響する重要な要因となる。研究上の理由から、安楽死は補助的な方法（開胸、放血、固定液による灌流、塩化カリウムの注射）が必要となるかもしれない。動物が十分に麻酔されている場合には、そのような補助的方法の適用は容認される。また、感染症の研究で使用される動物は、動物と人間の健康と安全のために特別な取り扱いが必要になる場合がある。

### 3.2. げっ歯類

現在のバイオメディカル研究で用いられているほとんどの実験動物は、多数維持されている小型のげっ歯類である。これらの動物の静脈へのアプローチは一般的に難しいため、通常、薬剤の投与経路は腹腔内になる。安楽死処置を行う場合は、当該動物が意識消失に至る過程で鳴き声をあげることや、フェロモンを放出することがあるため、他の実験動物が聞いたり嗅いだりしないように、飼育室以外で実施することが望ましい。安楽死処置を行う場所への移動や、待機中など、動物福祉に配慮した飼養保管条件（飼育環境や密度）を維持する。安楽死処置は、当該動物種に対する手技を習得した者が行い、死の徴候（心肺停止、反射の消失、死後硬直等）を望診や触診により確実に確認しなければならない。

#### 3.2.1. 容認される安楽死法

**バルビツール酸塩およびバルビツール酸誘導体**：注射による投与が可能なこれらバルビツール系薬剤は、一般的にげっ歯類の意識を迅速かつスムーズに消失させる。安楽死の用量は、麻酔量のおおよそ3倍である。ペントバルビタールは、実験用げっ歯類に最も一般的に使用されるバルビツール酸塩である。バルビツール酸塩の腹腔内投与により痛みが引き起こされたとの報告があるが、その痛みの程度を制御する容認される方法はまだ分かっていない。局所麻酔薬と抗けいれん薬の併用が苦痛軽減になる可能性はあるが、これら併用薬の腹腔内投与も同様に痛みを引き起こす可能性がある。

**解離性薬剤の組み合わせ**：覚醒下のげっ歯類に用いる場合、ケタミンや同様の解離性薬剤を、 $\alpha_2$ -アドレナリン受容体アゴニスト（キシラジンなど）またはベンゾジアゼピン（ジアゼパムなど）と

組み合わせて使用する必要がある。

### 3.2.2. 条件付きで容認される安楽死法

#### 3.2.2.1. 吸入性薬剤

**吸入麻酔薬**：ハロタン、イソフルラン、セボフルラン、あるいはデスフルランの使用は、亜酸化窒素（笑気）の有無にかかわらず、実験用げっ歯類に対して条件付きで容認される。これらの薬剤は、身体的拘束が困難、あるいは現実的でない場合に有用である。本薬剤を単独で用いる場合、気化器を通して得られる蒸気を過剰摂取させることで動物を死に至らしめるには、長時間曝露を要する可能性がある。オープンドロップ麻酔（開放式）で行う場合は急速に死に至らしめることが可能であるが、麻酔薬とげっ歯類が直接接触しないように注意する必要がある。

**二酸化炭素**：前項のハロゲン化吸入麻酔薬の前投与の有無にかかわらず、CO<sub>2</sub>は小型げっ歯類に対して条件付きで容認される。チャンバーへのガス流入を正確に調整できるため、ボンベから供給されるCO<sub>2</sub>ガスの使用が推奨される。1分間あたりチャンバーまたはケージ容積の30%から70%が置換される流量が最適なCO<sub>2</sub>流入量である。これより低い流量では呼吸困難による苦痛が生じる可能性があり、これより高い流量では粘膜の痛みが生じる可能性がある。CO<sub>2</sub>にO<sub>2</sub>を加えると、死に至るまでの時間が延長し、意識消失の判定が難しくなるため、安楽死法としてO<sub>2</sub>とCO<sub>2</sub>を組み合わせることに利点はない。

**亜酸化窒素（笑気）**：亜酸化窒素は、意識を失うまでに要する時間が長く、効果が弱い麻酔薬であるため、単独で使用してはならない。意識消失までの時間を短縮するため亜酸化窒素と他の吸入麻酔薬とを併用することは許容される。

#### 3.2.2.2. 非吸入性薬剤

**エタノール**：物理的方法が望ましくないか、他の安楽死剤が利用できない場合、70%～100%エタノールの腹腔内投与は、成体マウスの安楽死方法として容認されている。0.5mLの70%～100%エタノールを注射されたマウスは徐々に筋制御喪失、立ち直り反射消失、心肺停止し、その後2～4分で死に至る。ただし、35日齢未満のマウスでは死に至るまでの時間が延びるため、エタノールによる安楽死法には疑念が残る。一方、大量投与が必要なラットなどの大型種に対して、エタノールによる安楽死は容認されない。

#### 3.2.2.3. 物理的方法

**頸椎脱臼**：頸椎脱臼は通常設備の実験室で行われる安楽死方法である。頸椎脱臼は、特別な装置

も動物の輸送も必要とせず、化学薬品で汚染されていない組織を得ることができる。頸椎脱臼後の皮質機能は、視覚誘発反応および脳波(EEG)の振幅記録の有意な減少によって測定されるように、5～10秒以内で急速に喪失する。頸椎脱臼は、マウスおよび200g未満のラットで容認される。頸椎脱臼を行う者は、麻酔下や死亡した動物で訓練し、熟練度（頸椎や脊髄を押しつぶすことなく、適正な頸椎脱臼処置を実施できる技術）を示す必要がある。実験に支障がなければ麻酔下での実施が望ましい。

**断頭**：断頭は通常設備の実験室で行われる安楽死方法である。断頭により化学薬品による汚染がない組織を得ることができる。また、解剖学的損傷のない脳組織を採取することも可能である。断頭後の皮質機能は、視覚誘発反応とEEG変化の振幅記録の大幅な減少によって測定されるように、5～30秒以内で急速に喪失する。最近の研究では、断頭後の持続する脳の電氣的活動は疼痛を知覚する能力を示すものではなく、実際には意識の消失は速やかであることが示された。げっ歯類に特化したギロチンが利用可能であるが、刃は鋭く、清潔且つ良好な状態に保つ必要がある。断頭を行う者は、麻酔下や死亡した動物で訓練し、熟練する必要がある。実験に支障がなければ麻酔下での実施が望ましい。

### 3.2.3. 容認されない安楽死法

#### 3.2.3.1. 吸入性薬剤

**窒素とアルゴン**：意識消失や死に至らしめるには共存酸素濃度を2%未満にする必要があるため、N<sub>2</sub>またはArによる安楽死は麻酔下の哺乳動物に対してのみ容認される。しかし、換気を厳密に管理し、高純度のガスを急速に注入するため、減圧レギュレーターや流量計等が適正に装備するなど、条件を達成することは困難である。また、ラットはArに対して嫌悪反応を示す。N<sub>2</sub>とArは動物を死に至らしめることができるが、他の安楽死法を選択すべきである。

#### 3.2.3.2. 非吸入性薬剤

**塩化カリウム**：塩化カリウムの静脈内または心臓内への投与は、単独の安楽死方法として容認されない。

**神経筋遮断薬麻痺薬**：麻酔薬は、単独で使用される安楽死薬としては容認されない。

**同じ注射器によるバルビツール酸塩と神経筋遮断薬の同時投与**：動物が麻酔にかかる前に神経筋遮断薬が効く可能性があるため、同じ注射器でバルビツール酸塩と神経筋遮断薬を同時に投与す

## 別添 4

ることは容認されない。

**オピオイド**：オピオイドには即効性がなく、高用量を必要とし、真の麻酔薬ではないため、実験動物の安楽死での使用は容認されない。

**ウレタン**：ウレタンは、特定の条件下で実験用げっ歯類の麻酔薬として使用されるが、催奇形性・発がん性物質である。作用の開始には時間を要するが、麻酔の持続時間は長い。安楽死目的でのウレタンの単独使用の報告はないため、承認された補助的方法を適用する前の麻酔薬としてのみ容認される。

**$\alpha$ -chloralose**： $\alpha$ -chloralose単独使用は安楽死方法として容認されない。 $\alpha$ -chloraloseは鎮痛作用が乏しい催眠剤であり、承認された二次的な方法を適用する前の麻酔薬としてのみ容認される。

### 3.3. げっ歯類（胎児および新生子）

哺乳類の胎児は、低酸素分圧や意識を抑制する子宮内のホルモンの影響といった因子が組み合わさって、意識の無い状態である。そのため母体を安楽死させた後、胎児を安楽死させるために母体から摘出する必要はない。ラットとマウスの子は、人間と比較して神経が未成熟な状態で生まれ、求心性の痛みの経路は生後5～7日後まで十分に発達せず、それ以降に大脳皮質は発達する。マウスなどの晩成性の若いげっ歯類は、モルモットなどの早熟性の若いげっ歯類と区別する必要がある。

具体的には、マウスやラットなどの胎児と7日齢未満の新生子は、身体は刺激に反応しても脳は疼痛・不快を知覚する状態にないことが示されている。一方、妊娠34日齢以降のモルモットなどの胎児・新生子および生後7日齢以降のマウスやラットなどの新生子は、成獣として扱うべきである。

#### 3.3.1. 容認される安楽死法

**ペントバルビタールなどの腹腔内・胸腔内への過量投与**：これらの薬剤は、胎児または新生子に対して使用することができる。成体げっ歯類に対するこれら薬剤の使用に関する議論を参照のこと。

#### 3.3.2. 条件付きで容認される安楽死法

##### 3.3.2.1. 吸入性薬剤

**吸入麻酔薬**：イソフルラン、セボフルランなどの吸入麻酔薬、あるいはCO<sub>2</sub>、不燃性の揮発性麻酔薬は子宮内胎児に効果的であるが、次に示す理由から、マウスやラットなどの胎児および7日齢未満新生子に対しては単独使用ではなく補助的な方法（例えば、頸椎脱臼、断頭）を実施する。

※CO<sub>2</sub>に曝されて死に至るまでに新生子マウスは最大で50分を、新生子ラットは35分を要する。適切な曝露時間を設定するべきであり、そうでなければ新生子が痛みを伴う刺激に反応しなくなったのちに補助的な方法（つまり頸椎脱臼、断頭など）を実施すべきである。イソフルラン、セボフルランなどの吸入麻酔薬を使用する場合も、新生子が痛みを伴う刺激に反応しなくなった後、回復を避けるため、補助的な方法（例えば、頸椎脱臼、断頭）を実施する必要がある。

### 3.3.2.2. 物理的方法

**液体窒素への浸漬**：マウスとラットの胎児、および生後5日齢未満の新生子は、液体窒素での急速冷凍によって速やかに死に至る。

**断頭**：はさみまたは鋭利な刃を使用した断頭は、晩成性新生子に対して条件付きで容認される。晩成性または早熟性を問わず、一部のげっ歯類新生子は、はさみのサイズに対して組織量が多いためはさみでの断頭は難しい場合がある。このため、適切な断頭器具を選択する必要がある。

**頸椎脱臼**：頸部の脊髄をつまんで破壊することによる頸椎脱臼は、マウスおよびラットの胎児および新生子に対して容認される。

## 3.4. 霊長類（ヒトを除く）

研究の目的は、実験動物の安楽死方法の選択に影響することが多い。一般的に、バルビツール酸塩の静脈内投与を伴う鎮静化が好ましい方法である。

研究機関におけるヒト以外の霊長類には、一般的な安楽死の原則が適用される。繰り返しになるが、実施中の研究は安楽死方法の選択に影響を与える可能性がある。鎮静化のための薬剤投与経路として静脈へのアクセスを確立するか、筋肉内投与によって鎮静化を行う。これらの動物の安楽死では注射用バルビツール酸塩が優先的に使用される。

### 3.4.1. 容認される安楽死法

**バルビツール酸塩およびバルビツール酸誘導体**：注射による投与が可能なこれらバルビツール系薬剤は、一般的に意識を迅速かつスムーズに消失させる。ペントバルビタールは、最も一般的に使用されるバルビツール酸塩である。ペントバルビタールナトリウム（体重1kg当たり60~100 mg）の静脈内、腹腔内投与を行う。効果が現われるまでに要する時間にはばらつきがあるが、必要に応じて投与量を増やす。通常30分後までには死に至る。ペントバルビタール以外のバルビツール系薬剤は、投与の際に疼痛を生ずる。

### 3.4.2. 条件付きで容認される安楽死法

安楽死させる動物が深麻酔下にある場合、両側開胸、放血、灌流、および塩化カリウムの静脈内または心臓内注射などの補助的な方法が容認される。

## 3.5. 両生類、魚類および爬虫類

安楽死させる場合には、代謝、呼吸および中枢神経系の酸素欠乏に対する耐性の違いを考慮しなければならない。死亡の確認がしばしば困難な場合がある両生類、魚類および爬虫類特有の安楽死について続いて紹介する。

### 3.5.1. 容認される安楽死法

#### 3.5.1.1. 非吸入性薬剤

**バルビツール酸塩およびバルビツール酸誘導体**：注射による投与が可能なこれらバルビツール

系薬剤は、一般的に意識を迅速かつスムーズに消失させる。ペントバルビタールは、最も一般的に使用されるバルビツール酸塩である。ペントバルビタールナトリウム（体重1kg当たり60~100 mg）は、解剖学的特徴にもよるが、静脈内、腹腔内、或いは胸腔内投与が可能である。カエルおよびカメには皮下リンパ腔へ投与されることがある。効果が現われるまでに要する時間にはばらつきがあるが、30分後までには死に至る。ペントバルビタール以外のバルビツール系薬剤は、投与の際に疼痛を生ずる。

#### 3.5.1.2. 外用剤或いは局所適用剤

**トリカインメタンсульフォネート (Tricaine methane sulfonate : MS 222, TMS)**：特に小型魚

類及びカエル幼生への適用例を記載する。MS 222はトリカインメタンсульフォネート (TMS) として市販されている。MS 222水溶液は酸性で、濃度が500 mg/L以上の水溶液を重炭酸ソーダで飽和させると、pHが7.0~7.5の溶液となる。鰓蓋停止後10分間のMS 222緩衝液（MS 222濃度250~500 mg/L）への浸漬が多くの魚類に用いられている。しかし、ゼブラフィッシュ成魚が10分間の浸漬後に回復した例が認められたため、非可逆的に死に至らしめる浸漬時間が確立するまで、30分間の浸漬継続時間が予防措置として推奨されている。また、魚の意識が喪失されるまで浸漬した後、補助的な方法（断頭、ピッシング、冷凍）で安楽死させることが推奨される。大型の魚類を浸漬する方法は現実的ではなく、経費の問題もあるため、MS 222高濃度緩衝液を鰓に直接シリンジ等で散布して安楽死させる。

**塩酸ベンゾカイン**：塩酸ベンゾカインはMS 222類似の化合物である。魚類や両生類の麻酔や安楽死では、250 mg/L以上の緩衝液が浴液や循環システム液として使用される。魚類を安楽死させるためには鰓停止後30分間は溶液中に留めておかなければならない。また、塩酸ベンゾカイン

ンは両生類動物の安楽死に直接使用できる。例えば、塩酸ベンゾカイン20%ゲルが腹部(2.0 cm × 1.0 mm)に塗布されたアフリカツメガエルは、湿った環境下で7分以内に正向反射と引き込み反射が消失し、5時間以内に死に至る。

**フェノキシエタノール**：0.3~0.4 mg/L、あるいはより高濃度の溶液への浸漬が、魚類の安楽死に用いられている。鰓蓋停止後も少なくとも10分間は溶液中に留めておかなければならない。

### 3.5.1.3. 物理的方法

**断頭**：両生類、魚類、爬虫類の断頭は安楽死に用いられる。この方法を用いると、化学物質に汚染されていない組織や体液を採取できる。また、解剖学的に損傷のない脳組織を得ることが可能である。この方法に関する責任者は、作業者が十分に訓練されていることを確認しなければならない。

**脊髄破壊**：脊髄破壊は、一般的に、意識を消失させる方法と併用して確実に死に至らしめる方法として用いられる。カエルなど解剖学的に中枢神経系を容易に破壊できる動物種では、安楽死方法として単独で用いられるが、麻酔薬の過剰量投与の方が望ましい。

## 3.6. 家禽、小型鳥類

### 3.6.1. 容認される安楽死法

#### 3.6.1.1. 吸入性薬剤

**二酸化炭素**：1日齢のニワトリを用いた研究では、CO<sub>2</sub>が有効な安楽死の方法であることが示された。CO<sub>2</sub>の吸入は鳥類に全く苦痛を与えず、神経の活動を抑制し、死に至らしめる。例えば、ニワトリでは、49%のCO<sub>2</sub>に曝された後76秒でEEGの平坦化が観察されている。また、高いCO<sub>2</sub>濃度に慣れている新生雛を安楽死させるには、75%以上の濃度で5分間以上維持する。チャンバーへのガス流入を正確に調整可能な圧縮CO<sub>2</sub>ガスの使用が推奨される。

#### 3.6.1.2. 非吸入性薬剤

**バルビツール酸塩およびバルビツール酸誘導体**：バルビツール系薬剤は注射による投与が可能で、一般的に意識を迅速かつスムーズに消失させる。ペントバルビツールは、最も一般的に使用されるバルビツール酸塩である。ペントバルビツールナトリウム（体重1kg当たり60~100 mg）は、解剖学的特徴にもよるが、静脈内、腹腔内、及び胸腔内投与が可能である。ペントバ

## 別添 4

ルビタール以外のバルビタール系薬剤は、投与の際に疼痛を生ずる。

### 3.6.2. 条件付きで容認される安楽死法

#### 3.6.2.1. 吸入性薬剤

**吸入麻酔薬**：イソフルラン、セボフルランなどの吸入麻酔薬、あるいはCO<sub>2</sub>、不燃性の揮発性麻酔薬は単独使用ではなく補助的な方法（例えば、頸椎脱臼、断頭、塩化カリウム静脈内/心腔内注射）を実施する。適切な曝露時間をとるか、あるいは痛みを伴う刺激に反応しなくなったのちに補助的な方法（つまり頸椎脱臼、断頭など）を実施すべきである。

#### 3.6.2.2. 物理的方法

**頸椎脱臼**：頸椎脱臼は長年使用されている方法であり、熟練した作業者が実施すれば人道的である。しかし、これを確証する科学的な研究は全くない。この方法は家禽などの小型鳥類に用いられる。家禽の安楽死では伸展による頸椎脱臼が用いられるが、意識の消失は瞬時ではない。頸椎脱臼後、脳の電氣的活動が13秒間持続すること、および断頭のように放血による意識消失は期待できないことが示されている。脊髓の脱臼箇所が頭蓋骨に近いほど、安楽死の成功率は高くなり、反射作用の消失は速くなるので、脊髓脱臼は急速に意識を消失させる手技となる。組織が化学物質で汚染されず時間を要しない。十分な技術を有する者が実施すれば人道的な方法であるため、訓練では、頸椎脱臼前の鎮静、或いは麻酔が必要である。研究で用いる際には、研究による科学的な根拠が示されること、および動物実験計画が動物実験審査委員会により承認されることが必要である。責任者は、頸椎脱臼を実施する作業者が十分に訓練されており、常に人道的かつ効果的に実施されていることを確認する。

**断頭**：安楽死にこの方法を用いると、化学物質に汚染されていない組織や体液を採取できる。

また、解剖学的に損傷のない脳組織を得ることが可能である。この方法に関する責任者は、作業者が十分に訓練されていることを確認する。

#### 3.6.3. 胚および新生雛

孵化するまでの期間の80%以上を経過した鳥類の胚や新生雛の安楽死には、麻酔薬の過量投与、断頭、CO<sub>2</sub>への長時間暴露（20分間以上）を用いるべきである。また、孵化するまでの期間の80%未満の胚については4°C未満で4時間の冷却、冷凍で処置する。殻から取り出した胚であれば断頭でも良い。

## 4. 安楽死の作用機序

## 別添 4

安楽死用の薬剤は次の3つの基本的な機序で動物を死に至らしめる。

- ① 生命機能に不可欠なニューロンの直接的な抑制
- ② 低酸素症
- ③ 脳活動の物理的破壊

### ① 生命機能に不可欠なニューロンの直接的な抑制

意識の消失は、脳の情報を統合する機能が抑制あるいは破壊されたときに生じる。理想的な安楽死処置により、意識の急速な消失、それに続く心肺停止、およびその後の脳機能の喪失がもたらされる。意識の消失は、筋活動の消失に先行する必要がある。大脳皮質の神経系の抑制は、使用する特定の薬剤の投与速度または手法によって、麻酔の初期段階でみられるような筋活動抑制解除が観察され、動物が鳴き声を発したり、筋収縮が生じたりする場合がある。施術者にとっては苦痛かもしれないが、これらの反応は動物が意図して発しているものではない。

### ② 低酸素症

低酸素症は、体内の様々な部位で生じ、低酸素症による意識消失過程もさまざまである。疼痛および苦痛を伴わない死のためには、意識消失が運動機能消失（筋肉の動き）に先行する必要がある。運動機能の消失が意識の消失および苦痛の欠如を示すわけではない。従って、意識の消失を伴わずに筋肉の麻痺を生ずる薬剤（脱分極性および非脱分極性筋弛緩薬、サクシニルコリン、ストリキニーネ、クラーレ、ニコチン、カリウム、またはマグネシウム塩）を単独で安楽死に用いてはならない。低酸素症を惹起する方法のうちには、意識の消失後も運動機能を維持する場合があるが、これは反射であって、動物は知覚していない。

ただし、低酸素血症に抵抗性のある動物に対して実施することは不適切である。

### ③ 脳活動の物理的破壊

脳が物理的に破壊されると、意識は速やかに消失する。心臓および呼吸活動を制御している中脳の破壊、あるいは動物を死に至らしめるため付随的に用いられる方法（放血など）により、動物は死に至る。意識の消失後に筋活動の亢進がみられ、これが施術者を当惑させる場合があるが、動物は疼痛あるいは苦痛を感じてはいない。

## 5. 注意事項

### 5.1. 吸入性薬剤

#### 吸入麻酔薬

吸入麻酔薬は多くの動物種の安楽死に用いられている。吸入麻酔薬を用いる場合、密閉容器の中に動物と適量の麻酔薬を染み込ませた綿花やガーゼを入れるか、気化器から麻酔薬を供給する。後者の方が一般的にキャリアガスとしてO<sub>2</sub>を使用するため、動物が死に至るまでに時間がかかる。呼吸

## 別添 4

が停止し動物が死に至るまで気体を吸入させる。殆どの吸入麻酔薬は液体では刺激性であるため、動物には気体のみを曝露させるべきである。また、低酸素症を予防するため、導入時には空気や酸素を供給する必要がある。小さなげっ歯類を大きな容器に入れる場合にはチャンバー内に残存する酸素濃度で充分である。大きな動物を小さな容器に入れる場合には空気か酸素の供給が必要である。

注：産総研においては、エーテルは眼や鼻腔への刺激性があり、引火性や爆発性という深刻な危険性を有すること、ハロタンは肝障害を惹起するなど取扱者の安全面から、委員会承認が得られない場合には、使用は容認されない。

作業者が職務上吸入麻酔薬に曝露されると健康を害する場合がある。妊娠初期段階での吸入麻酔薬への曝露は、微量であっても突発性流産や先天奇形の原因になることがある。吸入麻酔薬へのヒトの曝露に関して、エンフルラン、イソフルランの濃度は2ppm以下、亜酸化窒素（笑気）は25ppm以下でなければならない。これらの濃度が安全であるという実験結果は無いが、病院でも達成可能な濃度ということで便宜的に設定されたものである。麻酔薬の蒸気から作業者を保護する措置をとらなければならない。

利点－（１）小動物（7kg以下）或いは静脈へ針を刺入するのが難しい動物に有用である（２）エンフルラン、イソフルラン、セボフルレンは通常の状態では不燃性・非爆発性である。

欠点－（１）気化した麻酔薬は刺激性があり興奮させるため、導入時に苦悶あるいは不安を感じる場合がある。げっ歯類では学習性の拒否行動も見られ、無呼吸や興奮などにより意識消失が遅れることもある。（２）ガスは施術者や他の動物に危害を及ぼす。また人間が乱用する可能性がある。

小動物（7kg以下）の安楽死にはイソフルラン、セボフルレンの単独使用が容認され、選択の優先度は亜酸化窒素の使用・不使用にかかわらずこの順となる。費用面と投与の難しさから、吸入麻酔薬は大動物に対して使用されない。

### 二酸化炭素

CO<sub>2</sub>はマウス、ラット、モルモット、ニワトリ、ウサギなどの実験用小動物をまとめて安楽死させる場合、およびブタの人道的屠殺前の意識消失に用いられる。

利点－（１）CO<sub>2</sub>は速やかに鎮静、鎮痛および麻酔効果を発現する。（２）CO<sub>2</sub>は取り扱いが容易であり、高圧ガスボンベで購入できる。（３）CO<sub>2</sub>は経済的で、不燃性、非爆発性であり、適切な器材を用いる場合、使用者への危険性は低い。（４）CO<sub>2</sub>による安楽死は、ネズミのコリン作動性マーカーやコルチコステロン濃度に影響を及ぼさない。

## 別添 4

欠点－（１）CO<sub>2</sub>に対する反応の種差，系統差，および個体差がCO<sub>2</sub>の取扱いを複雑にしている。

（２）CO<sub>2</sub>は空気より重いため，チャンバーが十分な量のCO<sub>2</sub>で満たされなければ，動物がよじ登ったり，頭部を高濃度帯よりもたげたりして，曝露されない場合がある。（３）未熟な個体，および水生や穴居性ほ乳類などの動物種は，異常なほどのCO<sub>2</sub>耐性を有する。（４）爬虫類と両生類は呼吸速度が遅く，CO<sub>2</sub>の使用は不適切である。（５）CO<sub>2</sub>の曝露による安楽死は他の方法よりも時間を要する。（６）80%未満の濃度で意識を喪失させると，肺および上部気道に障害を生ずる場合がある。（７）CO<sub>2</sub>に曝されたある種の動物には，アシドーシスによる痛みや呼吸困難が生じる。

推奨－CO<sub>2</sub>への曝露は嫌悪感や苦痛を最少にできる動物種に対して，条件付きで容認される安楽死法である（付表1，2）。チャンバーへのCO<sub>2</sub>流量を正確に調整できる点から，ボンベに詰められた圧縮CO<sub>2</sub>は推奨されるものである。ドライアイス，消火器あるいは化学反応（中和剤など）などをCO<sub>2</sub>の供給源としてはならない。異種動物は厳密に種別に隔離し，チャンバーの容量に注意する。チャンバー内の動物には，少なくとも1分間にチャンバー容量の30%以上が置換される流量が必要である。臨床的に死亡が確認された後，最低1分間はガスを流し続ける必要がある。動物をチャンバーより取り出す前に死亡していることを確認することが重要である。その動物が死亡していなければ，昏睡状態のまま，他の安楽死の方法を用いる。CO<sub>2</sub>にO<sub>2</sub>を混合すると苦痛が軽減できるかについては不明である。しかし，死に至る時間は延長し，意識の有無の判定が困難となる。したがって，CO<sub>2</sub>にO<sub>2</sub>を混合しても安楽死には利点はない。

### 5.2. 非吸入性薬剤

注射による投与が可能な薬剤による安楽死安は，作用の発現が迅速で，信頼性の高い方法である。動物に恐怖や苦痛を与えなければ，最も望ましい方法である。静脈内投与に際して保定が必要な場合には，動物に苦痛を与え，施術者に危険が及ぶ可能性があるため，鎮静，麻酔，あるいは他の投与経路・投与方法を用いるべきである。狂暴な，怯えている，野生の，あるいは獰猛な動物には，安楽死用薬剤を静脈内投与する前に鎮静させるか，非麻痺性の不動化薬を投与する必要がある。

静脈内投与が難しい，または不可能な場合，非刺激性の安楽死用薬剤の腹腔内投与は容認される。この場合，薬剤に神経筋遮断薬が含まれていないことを確認する。心腔内投与は深い鎮静，麻酔，あるいは昏睡状態の動物に対してのみ容認される。

腹腔内に安楽死用薬剤を投与する場合，動物の状態は麻酔の第1および第2ステージをゆっくりと経過する場合がある。従って，興奮と外傷を軽減するため，静かな場所で狭いケージに収納する必要がある。

#### バルビツール酸誘導体

バルビツール酸誘導体は，大脳皮質の抑制に始まり順次下方の中樞神経系を抑制し，麻酔の進行

## 別添 4

に伴って意識の消失へ至る。過剰量では深麻酔状態から呼吸中枢抑制による無呼吸へと進行し、心停止に至る。

麻酔に用いられる全てのバルビツール酸誘導体は、静脈内投与による安楽死に用いることができる。作用の発現が速やかであるため、バルビツール酸塩による意識消失は速やかであり、注射針を血管に刺入する際の最小限あるいは一過性の疼痛を与えるだけである。理想的なバルビツール酸誘導体には、強力で、非刺激性で、長時間作用し、溶液中での安定性に優れ、安価であることが求められる。ペントバルビタールナトリウムはこれらの条件を満たしており、最も広く用いられている。しかし、現在わが国では医薬品品質のペントバルビタールが市販されていない。代替品として、チオペンタール、チアミラール、セコバルビタールが使用されている。

利点— (1) バルビツール酸誘導体の最大の利点は即効性にある。これは用量、濃度、投与経路、投与スピードに依存する。(2) バルビタールは導入がスムーズで、動物に与える不快感は最少である。(3) バルビタールは他の安楽死用薬剤より安価である。

欠点— (1) 最良の結果を得るためには静脈内投与が必須で、熟練した作業が必要である。

(2) 個々の動物を保定する必要がある。(3) 意識を失った状態で動物が鳴き声を発することがあり、感覚的に好ましくない。

注1：バルビタール製剤のうちペントバルビタール、セコバルビタールは、わが国においては麻薬および向精神薬取締り法により、向精神薬研究施設の届出と保管庫の届出および使用記録の記載が義務付けられている。

注2：生存手術や不動化などの麻酔方法については、別添2「動物福祉と実験動物の麻酔」で解説している。

推奨—小動物の安楽死にバルビツール酸誘導体を用いることの利点は、その欠点を十分に補うものである。バルビツール酸誘導体の静脈内投与は、イヌ、ネコ、その他の小動物およびウマの安楽死に好ましい方法である。腹腔内投与や体腔内投与は、静脈内投与が与える苦痛や危険が生じる場合に限られる。心内投与は動物が深い鎮静、意識消失、あるいは麻酔状態にある場合に限定される。

### 麻酔下の塩化カリウム

覚醒下の動物に対しての使用は不適切であるが、過飽和塩化カリウム溶液の静脈内や心腔内への急速投与により麻酔下の動物を心停止させ死に至らしめることは容認される。カリウムイオンは心毒性を有し、1~2 mM/体重kgとなるように静脈内・心臓内に急速に投与された動物は心停止に至る。

利点—入手、運搬、屋外での調製が容易である。

欠点—注射時やその直後に筋組織の攣縮および拘縮が認められる。

推奨—この方法を実施する作業者は訓練され、麻酔技術についての知識を有しており、静脈内に塩化カリウムを投与する適切な麻酔深度を評価できなければならない。塩化カリウムの静脈内投与には、意識が無く、筋反射が見られず、痛覚刺激への反応が消失している外科的麻酔状態にあることが必要である。飽和塩化カリウム溶液を心臓内または静脈内へ急速に投与すると、動物は心停止する。麻酔導入後に組織中に残留している麻酔濃度の具体的な値は知られていない。

#### 安楽死に適さない注射剤

付表3にあげた注射剤（ストリキニーネ、カフェイン、インシュリン、洗剤、溶剤、消毒剤と他の毒性や塩）は、安楽死に用いてはならない。

### 5.3. 物理的方法

適切な装置を用いて熟練者が実施する場合には、物理的な方法は、動物に与える恐怖および不安が少なく、また、速やかで、ほとんど痛みを伴わないため、他の方法に比べて人道的かつ現実的な方法である。放血、脊髄破壊は、単独では安楽死の方法として認められないが、他の薬剤や方法と併用することは可能である。

物理的な方法による安楽死は見た目には不快であるが、見た目の不快さと人道的であることは必ずしも一致しない。物理的な方法は、一定の条件下では疼痛や不快感から速やかに解放する最適な方法となり得る。物理的な方法を実施する作業者は十分な訓練を受け、実施する方法について熟練した技量を持ちあわせていることが客観的な基準で確認されていなければならない。

## 別添 4

付表 1

動物種別安楽死の手段（容認されない手段については付表 3 参照）

動物種	動物種別に容認される手段(注 i) (詳細は付表 2 と本文を参照のこと)
両生類	バルビツール酸誘導体，注射麻酔薬および吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる/吸入麻酔薬は動物種による），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射，MS 222，塩酸ベンゾカイン，二段式脊椎破壊，断頭，貫通ボルト
鳥類	バルビツール酸誘導体，吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる），CO <sub>2</sub> （高純度 CO <sub>2</sub> を用いるため減圧レギュレーターや流量計等の適正な装備が必須），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射，頸椎脱臼，断頭，貫通ボルト
魚類	バルビツール酸誘導体，MS 222，ベンゾカイン，抱水クロラル，フェノキシエタノール，全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射，断頭
霊長類（ヒトを除く）	バルビツール酸誘導体，注射麻酔薬および吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射
ウサギ	バルビツール酸誘導体，注射麻酔薬および吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる），CO <sub>2</sub> （高純度 CO <sub>2</sub> を用いるため減圧レギュレーターや流量計等の適正な装備が必須），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射，頸椎脱臼，断頭，貫通ボルト
爬虫類	バルビツール酸誘導体，注射麻酔薬および吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる/吸入麻酔薬は動物種による）CO <sub>2</sub> （高純度 CO <sub>2</sub> を用いるため減圧レギュレーターや流量計等の適正な装備が必須/動物種による），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射，断頭，貫通ボルト
げっ歯類と その他小動物	バルビツール酸誘導体，注射麻酔薬および吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる），CO <sub>2</sub> （高純度 CO <sub>2</sub> を用いるため減圧レギュレーターや流量計等の適正な装備が必須），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射，頸椎脱臼，断頭
ネコ	バルビツール酸誘導体，注射麻酔薬および吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる），CO <sub>2</sub> （高純度 CO <sub>2</sub> を用いるため減圧レギュレーターや流量計等の適正な装備が必須），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射
イヌ	バルビツール酸誘導体，注射麻酔薬および吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる），CO <sub>2</sub> （高純度 CO <sub>2</sub> を用いるため減圧レギュレーターや流量計等の適正な装備が必須），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射
ブタ	バルビツール酸誘導体，注射麻酔薬および吸入麻酔薬（過剰量投与後，その他の方法で確実に安楽死させる），CO <sub>2</sub> （高純度 CO <sub>2</sub> を用いるため減圧レギュレーターや流量計等の適正な装備が必須），全身麻酔下の塩化カリウム静脈内/心腔内注射

注 i：安楽死の手段として単独で実施しても人道的なものを「容認される手段」としている。条件付きで容認されるものは、その条件を記載した。

注 i i：二重線より下のネコ，イヌ，およびブタの安楽死は産総研では実施されていないが，参考のために掲載した。

## 別添 4

付表 2

容認される、又は条件付きで容認される主な安楽死処置の方法とその条件

方法	適する動物種	条件
バルビツール酸誘導体	水生無脊椎動物以外のほとんどの動物種	動物が小さいために、静脈内投与が困難で危険な場合は、腹腔内や体腔内投与でもよい。また、意識消失、あるいは麻酔下等では静脈以外の経路による投与が容認される。
注射麻酔薬	水生無脊椎動物以外のほとんどの動物種	混合麻酔薬の過剰量投与後、その他の方法で確実に安楽死させる。
二酸化炭素 (CO <sub>2</sub> ; 高圧ボンベのみ)	伴侶動物を除くほとんどの鳥類、哺乳類	苦痛や忌避反応を減弱できる種では適用可能である。市販の高圧容器から供給される混入・夾雑物のない高純度CO <sub>2</sub> を用いた段階的注入法を採用すること。減圧レギュレーターや流量計等の適正な装備が必須である。
頸椎脱臼	家禽、小型鳥類、マウス、幼若ラット (<200g)、ウサギ	頸椎や脊髄を押しつぶすことなく、適正な頸椎脱臼処置が実施されなければならない。熟練した技術が必要なため、それ以外では麻酔下での実施が望ましい。
断頭	実験用げっ歯類、小型ウサギ、家禽、鳥類、硬骨・軟骨魚類、両生類、爬虫類	動物種や利用法に相応しい市販のギロチン装置を使用すべきである。代替として鋭利なナイフを用いる場合は適正で熟練した技術が必要なため、それ以外では麻酔下での実施が望ましい。
吸入麻酔薬	家畜や硬骨・軟骨魚類、多くの両生類や爬虫類	密閉容器（麻酔ボックス）やマスクを用いて対応できる。吸入麻酔薬の過剰量投与後、その他の方法で確実に安楽死させる。実施者への暴露を回避する措置が必要である。
塩化カリウム	ほとんどの動物種	意識消失、あるいは麻酔下でのみ静脈内注射と心腔内注射が認められている。意識のある脊椎動物では容認されない。
貫通ボルト	ウマ、反芻類、ブタや非家畜	安楽死専用の貫通ボルトでない場合は、直ちに放血し脊椎穿刺する。大型動物に使用場合は、延長ボルトを使用しなければならない。見た目には不快な印象を与えるが、安全である。
塩酸ベンゾカイン	小型の硬骨・軟骨魚類、両生類	魚類は、鰓呼吸の停止後10分間は溶液中に放置しなければならない。
中性トリカインメタンサルフォネート (TMS; MS 222, トリカイン)	硬骨・軟骨魚類、爬虫類、両生類、水生変温動物	溶液は重炭酸ナトリウムで中和したものをを用いる。大型の魚類やアフリカツメガエル等では別の方法で死亡を確認することが推奨される。
2-フェノキシエタノール	硬骨・軟骨魚類	安楽死のために必要な用量や暴露期間に種差がある。硬骨・軟骨魚類の場合、鰓呼吸の停止後少なくとも10分間は浸漬する必要がある。
液体窒素への浸漬	マウスとラットの胎児、および生後5日齢未満の新生子	急速冷凍によって速やかに死に至る。

実験動物の飼養および保管並びに苦痛の軽減に関する基準の解説からの引用（二重線より上位）。

## 別添 4

付表 3

容認されない安楽死法的手段（詳細は本文参照）

方法	コメント
窒息	呼吸を物理的に防ぐこと（鼻口閉塞、絞扼、脱水）は容認されない。
焼却	化学薬品や高温で動物を焼却することは、安楽死的手段として容認されない。
抱水クロラール	イヌ、ネコ、その他の小動物には容認されない。
クロロホルム	肝毒性と発癌性があるため、作業者に対する危険性が非常に高い。
シアン化合物	作業者に非常に危険であり、客観的に容認されない。
減圧	減圧は欠点が非常に大きいため、安楽死として認められない。 (1) 容器内で高速に減圧すると、体腔内の気体の膨張による疼痛および苦痛が生じる。 (2) 幼弱動物や新生動物では酸素欠乏状態に抵抗を持ち、呼吸停止までに長時間の減圧を要する。 (3) 誤って常圧に戻した場合、動物はダメージを受けながらも蘇生する。 (4) 動物の意識が消失している状態で用いても、膨張、出血、嘔吐、痙攣、失禁および脱糞が認められ、感覚的に不快である。
溺死	溺死させるのは安楽死ではなく、人道的でない。
ホルマリン	安楽死的手段として動物を直接ホルマリンに浸漬するのは、海綿動物を除いて人道的でない。
家庭用薬剤と溶剤	アセトン、四基化合物（四塩化炭素など）、緩下剤、農薬、ジメチルケトン、第4級アンモニウム塩、制酸剤、その他市販薬、家庭用薬剤あるいは溶剤などの使用は安楽死には容認されない。
低体温	安楽死的手段として容認されない。
インシュリン	インシュリンは低血糖を引き起こし、かなりの苦痛（行動変化、過敏性、方向感覚喪失）を引き起こすが、死に至る場合と至らない場合がある。
ストリキニーネ	ストリキニーネは激しい強直と痛みを伴う筋収縮が起こる。

## 参考文献

AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition

<https://www.avma.org/sites/default/file/2020-2/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf>

（米国獣医学会 動物の安楽死指針（安楽死ガイドライン）：2020年版 監訳 日本実験動物医学専門医協会（JCLAM）は株式会社アドスリー 2022）