薬理学における動物実験代替法研究の重要性

大野 泰雄

要約：薬理学研究における薬物の作用標的の解析や医薬品候補物質の研究等に *in vitro* 試験法が広く利用されている。しかし、様々な理由で、*in vitro* で得られた結果が必ずしも *in vivo* で再現できないことが多く、*in vivo* 動物実験を欠かすことができない。平成 23 年 3 月に予定していた薬理学会年会においても、多数の動物実験結果が発表される予定であった。一方、動物実験については、市民による反対運動もあり、3Rs の原則に則り適正に実施することが法的に求められている。また、世界的に代替法の開発・評価を専門的に行う国立の機関も多く構築されている。薬理学が今後も社会のサポートを得、継続して発展していくためには、関連法規制を遵守し、動物実験を行う機関、施設、機材および人材を整備し、代替法について研究者教育を行うとともに、それらの適切性について第三者により評価を受けることが重要である。これは一研究者により対応できることではなく、研究機関が組織として対応して初めて達成することが可能である。

はじめに

近代における生物科学発展の多くは動物実験により支えられてきた。しかし、動物の福祉や権利の立場から動物実験への批判も多く、動物実験代替法が検討されてきた。

Russell と Burch (1959) (1) の定義によれば、動物実験代替法（代替法）とは科学研究や教育、毒性試験、生産等の目的のために動物を用いる方法を動物を用いない方法に置き換えること（Replacement）であり、動物使用数の削減（Reduction）や動物使用に伴う苦痛の削減（Refinement）を含むものである。この考えは日本も含め、国際的に広く受け入れられている。

代替法開発はもともと動物愛護の精神に根ざすもの

であるが、無駄な動物実験の廃止や多数の新規化学物質の経済的な安全性評価、極めて毒性の強い可能性のある化学物質の毒性を動物実験で調べることに伴う危険の回避、また、ヒトへの外挿のために必要な毒性発現機序に関する情報の確保のためにも有効である。新しい代替法の開発は独創性のある研究への道を開くのみならず、遺伝子突然変異を検出する Ames' 試験のように、発がん機構解明だけでなく、発がん物質スクリーニングのために行政的に広く使われ、発がん物質の管理に大きな貢献をしたものもある。

一方、新しい試験法、特に従来の動物実験に替わるものとして新規に開発された試験法を受け入れるためには、適切なバリデーションを行い使用目的に合致していることを確認する必要がある。特に、既存の毒性試験法を新しい試験法（代替法）に置き換えることにより、医薬品や農薬等、化学物質の安全性評価のレベルが低下することは許されない。従って、新規安全性試験法を公的な試験法として受け入れるためには、複数の機関により、GLP に準じて実施されたバリデーションにより、その利点と限界が明確にされ、既存の方法と比べ同等以上の有用性があることが、第三者により確認されなくてはならない。具体的なバリデーションの方法や行政的受入の基準については、小野 (1994) (2)、大野 (2004) (3)、OECD (2005) (4) などを参照されたい。

1. 動物実験代替法に関わる機関

代替法の研究は欧米では早くから行われており、イギリスでは医学分野における実験動物を他のものに置き換えるための基金 (FRAME) が 1969 年に、米国では 1981 年にジョンスホプキンス大学に代替法センターが開設された。日本では 1982 年に現在の動物実験

キーワード：動物実験代替法、薬理学

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

E-mail: ohno@nihs.go.jp 原稿受領日：2011 年 6 月 1 日、依頼原稿

Title: Alternatives to animal experiments in pharmacology. Author: Yasuo Ohno

代替法学会の前身となる研究会が設立された。これらの研究を通じて多くの方法が開発されてきた。一方、EU 議会は動物愛護運動と動物実験に対する反対運動の高まりに対応して、代替法開発の拠点とし、代替法についてのデータベースを設置・維持するため、また、行政、産業、生物・医学分野の科学者、消費者、および動物愛護運動グループの対話を促進することを目的に 1991 年に代替法バリデーションセンター (European Center for the Validation of Alternative Methods: ECVAM) を設立した (1994 年開所)。国レベルでも代替法研究のための機関として、ドイツは The Centre for Documentation and Evaluation of Alternatives to Animal Experiments (ZEBET) を 1989 年に、オランダは Netherlands Centre Alternatives to Animal Use (NCA、最近 National Knowledge Centre on Alternatives (NKCA) に名称変更) を、イギリスは The National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) を 2004 年に設立した。米国は、毒性試験法の開発、バリデーション、受入れ、および国内および国際レベルでのハーモナイゼーションに関する問題を連邦政府内で調整するために NICEATM (NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods) の下に NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences) を含む 14 の行政機関および研究機関により ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) を 1993 年に設置した。このように、欧米の行政機関においては、新たに開発された動物実験代替法を科学的に評価し、可能なものについては取り入れていこうと、努力している。

わが国においても、動物福祉への関心の高まりに応じて、平成 17 年 6 月に交付された動物の愛護及び管理に関する法律の一部を改正する法律 (改正動愛法、平成 17 年法律第 68 号) により、動物実験等に関する 3R の原則を尊重することが義務付けられるとともに、翌年、動物実験に関する基本指針が文部科学省(5)、厚生労働省(6)、環境省(7)、および農林水産省(8) から通知された。また、日本学術会議より動物実験に関する詳細指針が通知された。2008 年には、主に動物実験代替法の評価を行う施設として、国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部内に新規試験法評価室 (通称 JaCVAM) が設立され、活動を始めた。その後、2010 年には、その活動が認められ、ECVAM、ICCVAM およびカナダ厚生省 (Health Canada) とともに代替法に関する協力を目的に International Cooperation on Alternative Test Methods

(ICATM) 協定が結ばれ、代替法の評価が進んでいる。2011 年にはこれに韓国 FDA に属する Korean Center for the Validation of Alternative Methods (KoCVAM) も加わった。

2. 薬理学分野での動物実験代替法への対応について

薬理学の研究においては、医薬品や化学物質等の生体に及ぼす影響を検討するため、摘出臓器や組織、細胞、細胞下分画などを用いたインビトロ試験系が多用されてきたが、得られた結果が真に意義のあるものであることを証明するためには、インビボ実験が欠かせない。実際、表 1 に示したように、平成 23 年度に予定した第 84 回薬理学会における口頭発表の内、マウスやラット、ウサギ、およびモルモットなど哺乳動物を用いる研究は、139 件で全体の約 52% を占めていた (なお、第 77 回年会ではポスター発表のうち約 70% が動物を用いた研究であった)。このように、依然として、薬理学の研究において動物実験は欠かせないものである。

一方、動物実験に対する一般市民の反応は、その意義と説明の仕方により異なってくる。たとえば、イギリスで行われた調査では、白血病のような重篤な疾病の治療につながる研究では、80% 以上の人がマウスによる実験を許容していたが、化粧品のための研究では、40% 弱の人しか動物実験を許容しなかった。また、単に「科学者は動物実験を許容されるべきである」との質問では、64% の人が中程度以上の反対を示したが、「痛みを和らげる薬物の開発や生命を脅かす疾患の治療法を開発するための研究をしている科学者がいる」ことを説明すると、その反対が 41% に減少した (New Scientist. 1999 May 22, p. 26-31)。

すなわち、動物実験を行う薬理学者は自己の研究目的に動物実験がやむを得ざるものであること、また、行う動物実験は動物実験倫理委員会により承認されたものであることを示す必要がある。また、動物実験を行っている施設は、指針に則り、当該施設が適切な施設で適切な動物実験を行っていることが第三者評価により認証されることが望ましい。

このようにして、動物実験に関する社会的要請に応えることが、継続的に薬理学研究を進める上で必須である。このことを広く会員に示し、適正な動物実験を進めるため、薬理学会では、改正動愛法の趣旨を尊重し、動物実験に関する日本薬理学会指針を改正し、「日本薬理学会は本指針に従った動物実験が行われることを期待するとともに、これに反する研究の成果は本会

表1 薬理学会での動物実験の調査（口頭発表のみ）

		初日	2～3日	計	合計	%
動物を 使用した実験	in vivo 実験*					
	マウス	39	51	90		
	GM マウス [#]	7	16	23		
	ラット	5	17	22		
	ウサギ	1	1	2		
	モルモット	1	1	2		
					139	51.87
	カエル	1	2	3		
	ゼブラフィッシュ	1	2	3		
					6	2.24
	不明 ^{##}	6	8	14	14	5.22
	摘出組織・細胞実験**					
	マウス	7	5	12		
	ラット	2	12	14		
					26	9.70
	ヒト	1	8	9	9	3.36
	カエル	1	0	1		
	ゼブラフィッシュ	1	0	1		
					2	0.75
動物未使用***		10	38	48	48	17.91
不明		7	17	24	24	8.96
合計		90	178	268		

*：in vivo で動物に何らかの処置をしているもの。 **：無処置の動物から摘出した組織や細胞等を利用しているもの。
***：細胞株、微生物、線虫および屠殺場に由来する試料を用いているもの。 [#]：GM と wild の両方を用いたものは重複して計算。 ^{##}：動物を使用しているが、動物種が不明のもの。

の刊行する学術雑誌から排除する所存である」と宣言した（平成 19 年）(9)。薬理学研究者はこの指針に従い、研究を進めるよう留意すべきである。しかし、表 2 に示したように、改正動愛法が施行されて 1 年半が経過した平成 19 年 2～3 月の時点でも、代替法に関する教育は必ずしも十分では無かった。現在は、改善されていることを望むものである。

医薬品開発のための国際的な指針「医薬品の臨床試験及び販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（ICH M3（R2）」(10)においても、3R の原則への配慮が多々なされており、本指針が「3R（使用動物数の削減／苦痛の軽減／代替法の利用）の原則に従って動物の使用を抑え、医薬品開発のための資源の有効利用に資する」よう期待している。「安全性評価のための新しいインビトロ代替法の利用について考慮すべきである。」とも述べている。これは今後開発されることが予想される iPS 細胞由来標本を用いた試験を配慮して記載されたものであるが、ICH で受け入れるためには、それらのバリデーションが完了し、全ての ICH 規制当局によって認められる必要があるとされた。

表2 動物実験倫理に関する薬学系大学の教育内容

教育内容*	教えている大学の割合
動愛法	80.80%
実験動物の生理、生態、習性	65.40%
実験動物の飼育、管理方法	84.60%
動物実験における 3R の原則	69.20%
動物の苦痛の評価	69.20%
苦痛の軽減方法	73.10%
安楽死の方法	80.80%
動物実験代替法	57.70%
その他	42.30%

*：文部科学省等の指針から教えることが望ましいと思われるもの。平成 19 年 2～3 月にアンケート調査した結果の集計（回答数 29，回答施設数 24）。

効力を裏づけるためのインビボおよび／またはインビトロにおける薬力学的試験は、目的とする治療標的に対する被験物質の作用機序や効果を調べることを意図している。このような試験は、通常、医薬品開発の探索段階で実施され、通常は GLP に従っては、行われない。しかし、ICH M3（R2）指針では、これらの試験結果を非臨床試験および臨床試験の用量設定に役立てることを勧めている。逆に、有効に利用できるよう

にGLPに準じて明確な試験計画をたて、データの記録や保管に心がけるべきである。また、インビボで評価する場合には、使用動物を削減するため、可能な範囲内で、一般毒性試験や他の試験に組み込んで実施することを考慮すべきとした。乱用性試験についても、ヒト以外の霊長類を使用するケースは、霊長類がヒトでの乱用性を予測し得ると考える明確な根拠があり、しかも、げっ歯類のモデルは不適切である場合に限るべきであるとした。なお、実験の際の動物の苦痛の評価については、国立大学法人動物実験施設協議会の作成した「動物実験処置の苦痛分類に関する解説」が参考となる。

おわりに

動物実験を行う者はそれが本当に必要な実験であるか、動物を用いない他の試験法に置き換えることができるか、動物に不必要な苦痛を与えていないかを、施設毎の動物実験委員会で審議することが求められている。薬理学を含む生物科学を教える立場にある者は、動物実験代替法について適正な教育を行う必要がある。また、レギュラトリーサイエンスに携わる者には、ガイドライン等で定められた毒性試験法のように、行政的に要求される試験の妥当性について過去の経験、新しい技術・知見、現時点での社会情勢などにに基づき常に見直さなくてはならない。EUで一時大きな問題となった動物の権利を標榜する団体による研究機関の攻撃も、最近は鎮静化している模様であるが、これらは行政機関や大学や企業などの研究機関、および動物実験実施者等による動物福祉への配慮や違法行為に対する毅然たる態度による成果であると考えている。

文 献

- 1) Russell WMS, et al. The principles of human experimental technique. Methuen; 1959.
- 2) 小野宏, 大野忠夫編著. 動物実験代替法マニュアル. 共立出版; 1994. p. 123-133.
- 3) 大野泰雄. 国立衛研報. 2004;122:1-10.
- 4) OECD: Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment, OECD series on testing and assessment 2005; No 34 (18 August 2005).
- 5) 文部科学省. 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. 文部科学省告示 第71号, 2006.6.1.
- 6) 厚生労働省. 厚生労働省の所管する動物実験等の実施に関する基本指針. 厚生労働省通知 科発 0601002 号, 2006.6.1.
- 7) 環境省. 実験動物の飼育及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準. 環境省告示第88号, 2006.6.1.
- 8) 農林水産省. 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. 2006.6.1.
- 8) 日本学術会議. 動物実験の適正な実施に向けたガイドライン. 2006.6.1.
- 9) 大野泰雄. 日薬理誌. 2007;129:5-9.
- 10) 厚生労働省. 医薬品の臨床試験及び販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス ICH Consensus Guideline. 薬食審査発 0219 第4号, 2010.2.19.

著者プロフィール

大野 泰雄 (おおの やすお)

国立医薬品食品衛生研究所所長.

◇ 1976年東京大学薬学系大学院博士課程修了. 同年現在の研究所に採用され, '11年より現職. 肝・腎における代謝と毒性研究に従事. カロリンスカ研究所に留学後 in vitro 毒性および動物実験代替法研究に関与. 日本動物実験代替法学会会長および第6回国際動物実験代替法学会会長を歴任.