

動物実験を実施するために



国立循環器病研究センター
研究推進支援部 動物実験管理室

塩谷 恭子

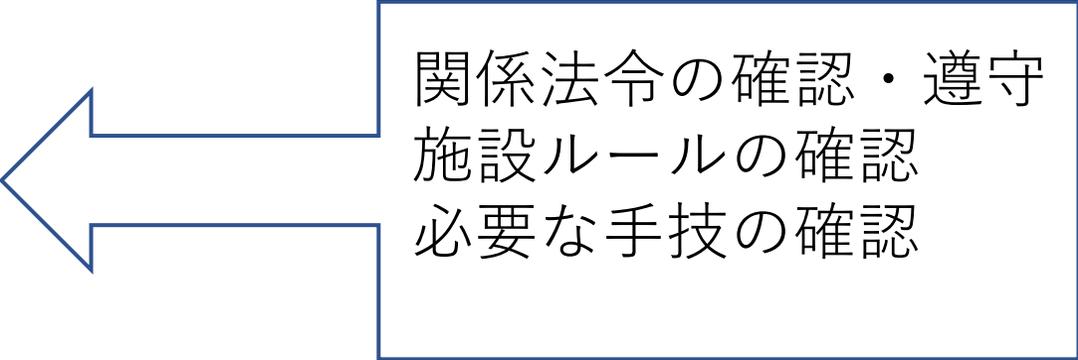
動物実験計画書の立案 承認・経費・実施・結果

大まかな流れ

- 教育訓練受講
- 研究の方向性の検討
- 実施のための費用
- 動物実験計画書の策定
- 動物実験実施
- 取得データの解析
- 動物実験結果報告書の策定
- 論文作成

大まかな流れ

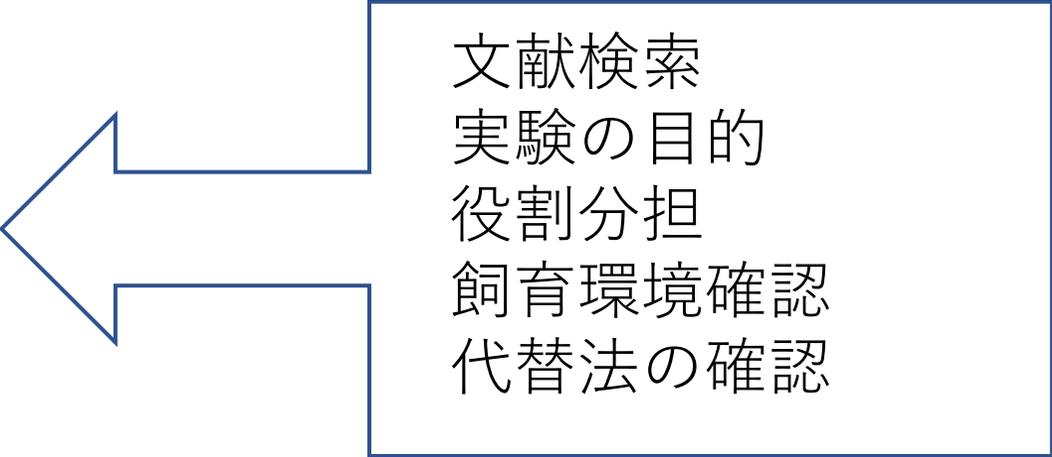
- 教育訓練受講
- 研究の方向性の検討
- 実施のための費用
- 動物実験計画書の策定
- 動物実験実施
- 取得データの解析
- 動物実験結果報告書の策定
- 論文作成



関係法令の確認・遵守
施設ルールの確認
必要な手技の確認

大まかな流れ

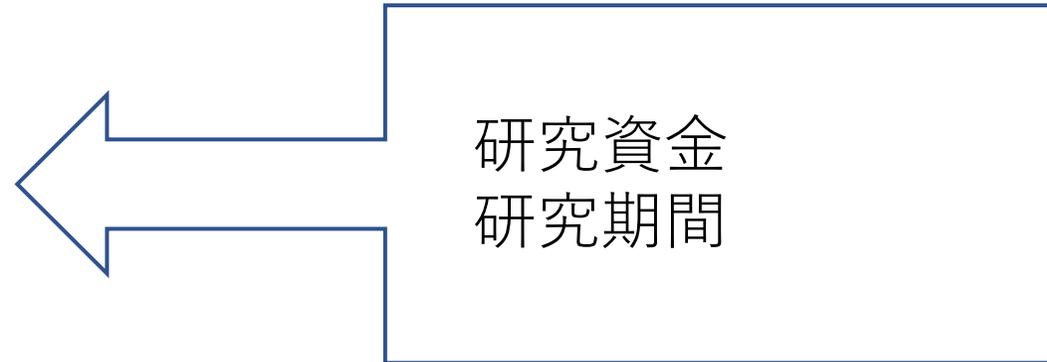
- 教育訓練受講
- **研究の方向性の検討**
- 実施のための費用
- 動物実験計画書の策定
- 動物実験実施
- 取得データの解析
- 動物実験結果報告書の策定
- 論文作成



文献検索
実験の目的
役割分担
飼育環境確認
代替法の確認

大まかな流れ

- 教育訓練受講
- 研究の方向性の検討
- 実施のための費用
- 動物実験計画書の策定
- 動物実験実施
- 取得データの解析
- 動物実験結果報告書の策定
- 論文作成



大まかな流れ

- 教育訓練受講
- 研究の方向性の検討
- 実施のための費用
- **動物実験計画書の策定**
- 動物実験実施
- 取得データの解析
- 動物実験結果報告書の策定
- 論文作成

倫理的配慮

実験手順

苦痛度と成果のバランスの検討

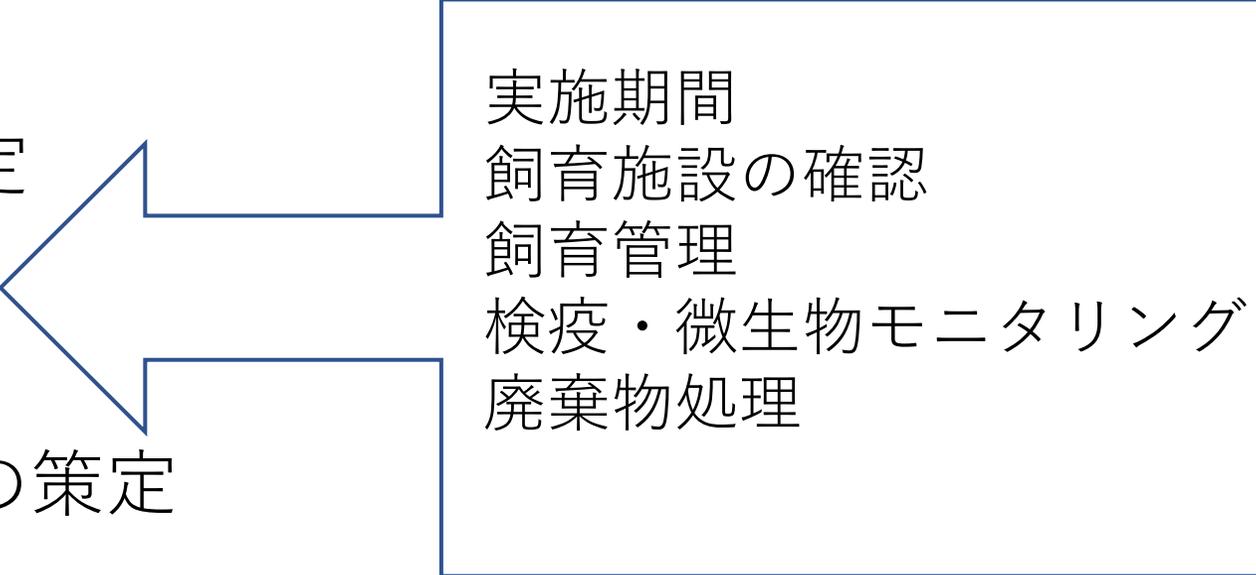
人道的エンドポイントの検討

安楽死方法の検討

使用動物数の検討

大まかな流れ

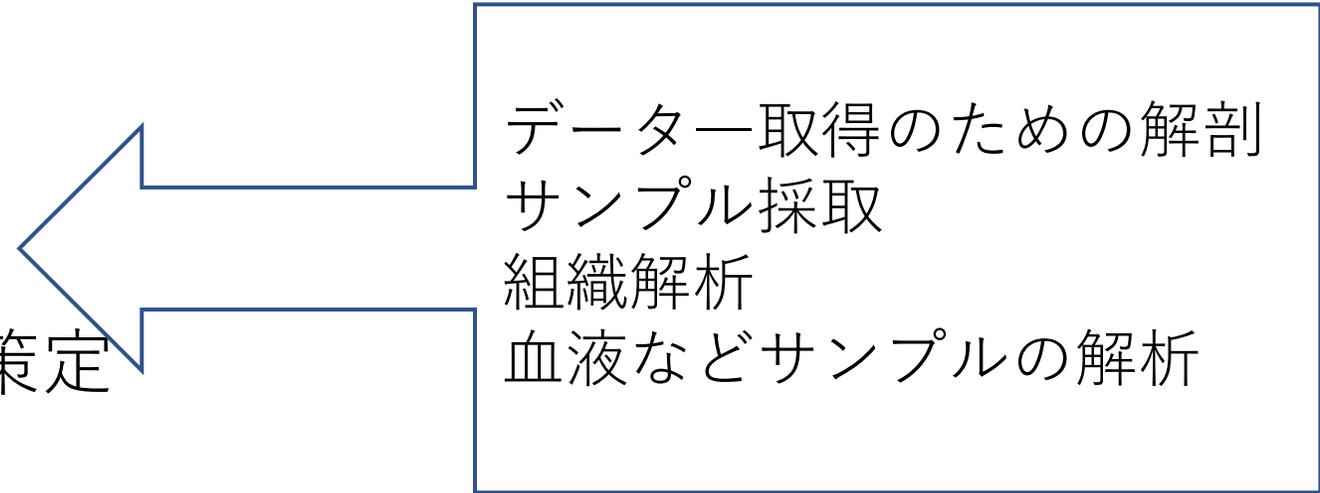
- 教育訓練受講
- 研究の方向性の検討
- 実施のための費用
- 動物実験計画書の策定
- **動物実験実施**
- 取得データの解析
- 動物実験結果報告書の策定
- 論文作成



実施期間
飼育施設の確認
飼育管理
検疫・微生物モニタリング
廃棄物処理

大まかな流れ

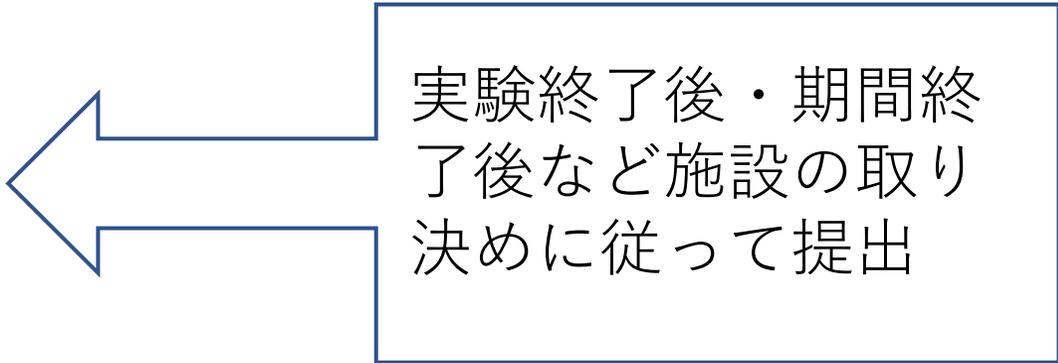
- 教育訓練受講
- 研究の方向性の検討
- 実施のための費用
- 動物実験計画書の策定
- 動物実験実施
- 取得データの解析
- 動物実験結果報告書の策定
- 論文作成



データ取得のための解剖
サンプル採取
組織解析
血液などサンプルの解析

大まかな流れ

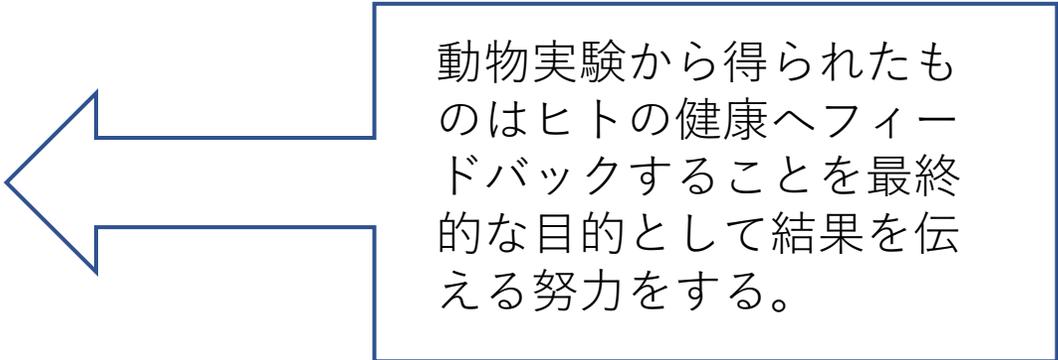
- 教育訓練受講
- 研究の方向性の検討
- 実施のための費用
- 動物実験計画書の策定
- 動物実験実施
- 取得データの解析
- **動物実験結果報告書の策定**
- 論文作成



実験終了後・期間終了後など施設の取り決めに従って提出

大まかな流れ

- 教育訓練受講
- 研究の方向性の検討
- 実施のための費用
- 動物実験計画書の策定
- 動物実験実施
- 取得データの解析
- 動物実験結果報告書の策定
- 論文作成



動物実験から得られたものはヒトの健康へフィードバックすることを最終的な目的として結果を伝える努力をする。

PREPARE



The PREPARE Guidelines Checklist

Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence

Adrian J. Smith^a, R. Eddie Clutton^b, Elliot Lilley^c, Kristine E. Aa. Hansen^d & Trond Brattelid^e

^aNorecopa, c/o Norwegian Veterinary Institute, P.O. Box 750 Sentrum, 0106 Oslo, Norway; ^bRoyal (Dick) School of Veterinary Studies, Easter Bush, Midlothian, EH25 9RG, U.K.; ^cResearch Animals Department, Science Group, RSPCA, Wilberforce Way, Southwater, Horsham, West Sussex, RH13 9RS, U.K.;

^dSection of Experimental Biomedicine, Department of Production Animal Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Norwegian University of Life Sciences, P.O. Box 8146 Dep., 0033 Oslo, Norway; ^eDivision for Research Management and External Funding, Western Norway University of Applied Sciences, 5020 Bergen, Norway.

Translated by Shinya Ayabe^a & Satoshi Kunita^b

^aExperimental Animal Division, RIKEN BioResource Research Center, Tsukuba, Ibaraki 305-0074, Japan

^bCenter for Experimental Medicine, Jichi Medical University, Shimotsuke, Tochigi 329-0498, Japan

PREPAREガイドラインは実験計画のためのガイドラインであり、ARRIVEガイドライン²に代表される報告のためのガイドラインを補完するものです。

PREPAREガイドラインは大きく3つに分けられており、それぞれが動物実験計画の質を決定づけるものです：

1. 動物実験の設計
2. 動物実験実施者と飼育施設間での協議
3. 動物実験の品質管理

項目によっては、下記に示した順とは異なる順序で取り組んだほうがよい場合があります。また一部の項目は、この3つの要素の複数がまたがるものです。PREPAREガイドラインのチェックリストは、野外試験といった特殊な実験計画にも対応しています。また、各機関の動物飼育施設で実験を行う場合は施設のクオリティが実験を左右することから、PREPAREガイドラインには飼育施設管理に関する助言内容も含まれています。PREPAREガイドラインの完全版はNorecopaのウェブサイトをご覧ください。リンクをたどることで世界中の情報にアクセスすることができます：<https://norecopa.no/PREPARE>

PREPAREガイドラインは、特定の動物種や実験環境に特化した新たなガイドラインや、実験動物科学分野の進展がもたらす最適な手法の導入に対応して、常に最新のガイドラインに更新されます。

参考資料

Norecopa.no HPより

[PREPARE checklist \(norecopa.no\)](https://norecopa.no/PREPARE)

参考資料

項目	推奨される内容
(A) 動物実験の設計	
1. 文献検索	<input type="checkbox"/> 明確な仮説を立て、得られる主要な結果および副次的な結果について推定する <input type="checkbox"/> システマティック・レビュー(系統的な文献検索・分析法)を用いることを検討する <input type="checkbox"/> 利用するデータベースと相談するインフォメーションを決め、検索用語のリストを作る <input type="checkbox"/> 使用動物に関して、動物種が妥当であるか、その生物学的特性、最小限の苦痛度を伴う実験で科学的疑問を明らかにすることができるか、動物福祉の観点から留意すべきこと、を評価する <input type="checkbox"/> 実験計画の再現性と臨床的妥当性を評価する
2. 関係法令の遵守	<input type="checkbox"/> 研究を実施する上で遵守すべき動物実験分野や動物輸送、労働安全衛生といった関連する分野の法令、基準、指針などを列挙し、対処方法を検討する。 <input type="checkbox"/> 関係するガイダンス(手引き等)を探し、その内容を確認する(プロジェクト評価に関するEUガイダンスなど)
3. 倫理的配慮、苦痛度と成果のバランス、および人道的エンドポイント	<input type="checkbox"/> 一般向けのサマリー(実験概要)を用意する <input type="checkbox"/> 倫理委員会との協議の中で、このタイプの研究についての審議記録が作成されたことがあるかを確認する <input type="checkbox"/> 3R原則(代替法の利用、使用動物数の削減、実験動物の苦痛軽減)および3S(優れた科学(Good Science)、優れた良識(Good Sense)、優れた判断を下す感性(Good Sensibilities))に取り組む <input type="checkbox"/> 研究計画の事前登録(Pre-registration)やネガティブデータの論文発表について検討する <input type="checkbox"/> 研究を通して実験動物が感じる苦痛や痛みと得られる成果のバランスを検討し、想定しうるすべての苦痛や痛みが妥当なものであることを示す <input type="checkbox"/> 教育や研修を目的とした動物実験である場合は、学習・研修目的について議論する <input type="checkbox"/> 実験計画において動物が受ける苦痛度を分類評価する <input type="checkbox"/> 客観的かつ容易に測定可能で明確な人道的エンドポイントを設定する <input type="checkbox"/> 動物の死亡をエンドポイントとする場合は、その妥当性について議論する
4. 実験計画と統計解析	<input type="checkbox"/> パイロット実験の実施、検定力の分析、有意水準の設定について検討する <input type="checkbox"/> 実験単位を規定し、使用動物数を設定する <input type="checkbox"/> 無作為化の方法を選択する、観察者バイアスを防止する、データの選択基準や除外基準を設定する

Norecopa.no HPより

参考資料

項目	推奨される内容
(B) 動物実験実施者と飼育施設間での協議	
5. 実験目的、 実験期間、 研究資金、 役割分担	<input type="checkbox"/> 実験を計画する早期の段階で、関係するすべてのスタッフとの打ち合わせを行う <input type="checkbox"/> おおまかな実験期間を提示して、実験準備、動物の飼育、実験手順と廃棄物処理・汚染除去に関する支援の必要性について情報を共有する <input type="checkbox"/> 予想される費用、およびかかる可能性のある費用について提示し、協議する <input type="checkbox"/> 実験計画のすべての段階について、役割と費用の分担に関する詳細な計画を立てる
6. 動物飼育施設の評価	<input type="checkbox"/> 飼育施設の実地調査を行い、建物や機材が必要十分なものであるかどうか評価する <input type="checkbox"/> 想定外の事態や非常事態の際の人員計画について打ち合わせを行う
7. 教育訓練	<input type="checkbox"/> スタッフの技術や能力を調査し、実験に先立って追加で教育訓練や研修が必要であるか評価を行う
8. 健康リスク評価、 廃棄物処理、 汚染除去	<input type="checkbox"/> 実験を通して直接的または間接的に影響を受ける全ての関係者と動物について、飼育施設と協力してリスクアセスメントを実施する <input type="checkbox"/> 実験計画のすべての段階についてマニュアルやプロトコルが適切なものであるか評価し、必要に応じて新たに作成する <input type="checkbox"/> 実験を通して排出される廃棄物や汚物の保管・汚染除去・廃棄方法について打ち合わせを行う

Norecopa.no HPより

参考資料

(C) 動物実験の品質管理	
9. 被検物質と実験手順	<input type="checkbox"/> 被検物質についてできる限り多くの情報を提供する <input type="checkbox"/> 実験手順の実施可能性と妥当性、およびそれを実施するのに必要な実験スキルについて検討する
10. 実験動物	<input type="checkbox"/> 動物実験の実施ならびに論文作成に必要な使用動物の特性を明確にする <input type="checkbox"/> できる限り余剰動物が出ないようにする
11. 検疫と微生物モニタリング	<input type="checkbox"/> 使用動物に関して、推定される健康状態、輸送の際に考慮すべきこと、施設導入時の検疫および隔離、微生物モニタリングやその結果が人員計画に影響を及ぼすかどうかについて打ち合わせを行う
12. 飼育環境と飼育管理	<input type="checkbox"/> 動物飼育の専門スタッフと協力して、使用動物に特有の習性や必要な配慮などに注意を払う <input type="checkbox"/> 使用動物の順化、最適な飼育条件と飼育方法、環境要因や、それらが実験上の制約を受けるかどうか(絶食や単飼育など)について話し合う。
13. 実験手順	<input type="checkbox"/> 使用動物の捕獲方法、保定や個体識別方法、実験終了後の措置(本来の生息地に戻す、あるいは新たな飼い主に譲渡する)について洗練された手順を確立する <input type="checkbox"/> 被検物質の投与、サンプリング、鎮静・麻酔、外科手術などの実験手法について洗練された手技を習得する
14. 安楽死処置、苦痛からの解放、実験動物の再利用または譲渡	<input type="checkbox"/> 実験に先立つ早い時期に、法令、基準、指針などの関係法令について助言を求める <input type="checkbox"/> 実験計画および緊急時の安楽死処分方法を設定する <input type="checkbox"/> 安楽死処分を行う可能性のあるスタッフの習熟度を評価する
15. 解剖	<input type="checkbox"/> 実施場所や動物・組織サンプルの識別方法を含めた解剖の各手順について詳細な計画を立てる

参考文献

1. Smith AJ, Clutton RE, Lilley E, Hansen KEA & Brattelid T. PREPARE: Guidelines for Planning Animal Research and Testing. Laboratory Animals, 2017; DOI: 10.1177/0023677217724823.
2. Kilkeny C, Browne WJ, Cuthill IC et al. Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. PloS Biology, 2010; DOI: 10.1371/journal.pbio.1000412.

Norecopa.no HPより



National Centre
for the Replacement
Refinement & Reduction
of Animals in Research

日本語版

参考資料

The ARRIVE Guidelines

Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments

ARRIVE (動物実験: *In Vivo* 実験の報告) ガイドラインは、動物を使用した研究の計画、解析、および報告を改善するために、英国3Rsセンター (NC3Rs) の活動の一環として作成された。その目的とするところは、公表された情報を最大限生かし、かつ不必要な研究を最小限にすることである。本ガイドラインは、2010年6月、オンライン雑誌 *PLOS Biology* にて公表され、現在、多数の学術雑誌、主要な資金提供機関、および多数の学会によって支持されている。

Carol Kilkenny¹, William J Browne², Innes C Cuthill³, Michael Emerson⁴ and Douglas G Altman⁵

¹The National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research, London, UK, ²School of Veterinary Science, University of Bristol, Bristol, UK, ³School of Biological Sciences, University of Bristol, Bristol, UK, ⁴National Heart and Lung Institute, Imperial College London, UK, ⁵Centre for Statistics in Medicine, University of Oxford, Oxford, UK

本ガイドラインは、次の事項を目的とする。

- 動物を使用した研究の報告を改善すること。
- 原稿に含めるべき必須情報に関して著者を指導すること、ただし絶対的規範とはしない。
- 柔軟性をもって、広範囲な研究領域および実験プロトコルの報告に対応すること。
- 再現性のある、透明性のある、正確な、包括的な、簡潔な、論理的に整った、そしてよくまとまった原稿作成を推進すること。
- より広い科学コミュニティへの研究成果の伝達を強化すること。

本ガイドラインは、次の事項は目的としていない。

- 画一性を促進すること、創造性を抑圧すること、または著者が本チェックリストのすべての項目を厳格に守るよう奨励すること。本チェックリストの項目の中には、必ずしもすべての研究に当てはまらないものもある。また、本チェックリストの項目の中には、表や図の説明またはフローチャートとして示すことができるものもある (例: 実験に用いた動物の数、ならびに評価や解析に用いた動物の数)。
- 研究の計画および研究の実施のための指針とすること。しかし、本チェックリストの項目の中には、たとえば、無作為な群分け、盲検化および比較対照群の利用などのように、実験を立案する際に有用であると考えられるものもある。なぜなら、そのような項目を利用することによって、先入観のリスクを軽減し、研究の信頼性を増大させることができるからである。

本ガイドラインの対象者は?

- 初心者から経験豊富な著者
- 学術雑誌の編集者
- 査読者
- 資金提供機関

本ガイドラインはどのような研究分野に適用されるか?

- 本ガイドラインは、2群以上の実験群を比較する比較対照研究に最適である。そのような研究においては、1群またはそれ以上の群が対照群として設定されると考えられる。また本ガイドラインは、異なる用量の薬剤の作用を比較する研究、または、同一の動物を対照動物として使用する場合 (個体内比較動物実験) にも適用される。
- 大部分の推奨事項は、対照群を含まない研究にも適用される。
- 本ガイドラインは、実験動物を使用する生物科学研究のいかなる領域にも適している。

本ガイドラインはどのように活用すべきか?

本ガイドラインは、公表を意図した原稿を作成または査読する人たちのためにチェックリストを提供する。

参考文献

- Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG (2010) Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *PLoS Biol* 8(6): e1000412. doi:10.1371/journal.pbio.1000412
- Schulz KF, Altman DG, Moher D, the CONSORT Group (2010) CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ* 340:c332.

資金提供

本報告ガイドラインプロジェクトは、研究における動物を用いない代替法への置換、動物に対する苦痛の軽減、および動物数の削減のための英国国家センター (NC3Rs) の資金提供を受けた。

謝辞

NC3Rsは、本ガイドラインを作成するために専門知識および助言を提供したすべての貢献者に感謝する。われわれは、とくにNC3Rsの報告に関するガイドライン作業部会の貢献に対して感謝する。また、NC3Rs助成金保有者、医学研究評議会、バイオテクノロジーおよび生物科学研究評議会 (BBSRC)、ウェルカム・トラスト、パーキンソン病協会、英国心臓病支援基金および同基金助成金保有者ならびに本ガイドラインへの意見を寄せた同基金助成金委員会委員の方々にも感謝したい。

われわれは、本ガイドラインの日本語への翻訳に協力してくれた久原孝俊博士 (順天堂大学医学部) および久和茂博士 (東京大学大学院農学生命科学研究科) に感謝する。

さらに詳しい情報

www.nc3rs.org.uk/ARRIVE
enquiries@nc3rs.org.uk
@NC3Rs

NC3Rs HPより

NC3Rs

参考資料

項目	推奨
標題	1 論文の内容をできるかぎり正確かつ簡潔に記載すること。
要旨	2 背景、研究の目的(使用した動物種および系統の詳細を含む)、主たる方法、主要な知見、ならびに研究の結論を正確に要約すること。
緒言	
背景	3 a. 研究の動機および状況が理解できるように、十分な科学的背景(先行研究に関連する参考文献を含む)を含めること、かつ実験の方法および実験の論理的根拠を説明すること。 b. 使用する動物種および動物モデルがなぜ、どのようにして科学的目的を達成することができるのか、また必要に応じて、当該研究とヒトとの関連について説明すること。
目的	4 当該研究の主目的および副次的目的、ならびに検証しようとする仮説について明確に記載すること。
方法	
論理的陳述	5 当該研究にかかわる、論理的審査に関する許可の種類、関連する免許(例:動物(科学実験)法1986)、および動物のケアと使用に関する国または機関のガイドラインを明示すること。
研究計画	6 それぞれの実験について、次の項目を含む研究計画の詳細を簡潔に記載すること。 a. 実験群および対照群の数 b. 動物に処置を割り振る際(例:無作為な群分け)および結果を評価する際(例:盲検を実施した場合は、誰がいつ盲検を実施したか)に頼られた、主観的な先入観による影響を最小限にするための措置 c. 実験単位(例:1匹の動物、1群の動物、または1ケージ内のすべての動物) どのようにして複雑な研究計画を実施したかを示すためには、時系列表またはフローチャートが有用であろう。
実験処置	7 実験および実験群(対照を含む)に関して、実施したすべての処置について正確かつ詳細に記載すること。 たとえば、 a. どのように(例:薬剤の処方と用量、投与の部位と経路、使用した麻酔薬および鎮痛薬(薬物の効果を確認する方法を含む)、外科処置、安楽死法)を使用した特別な機器の詳細情報(供給業者を含む)を記載すること。 b. いつ(例:時刻) c. どこで(例:ホームケージ、実験室、水通路) d. なぜ(例:使用した麻酔薬、投与経路、薬剤の用量などを選択した根拠)
実験動物	8 a. 使用した動物の詳細情報(種、系統、性別、発育段階(例:齢の平均値または中央値および齢の幅)、および体重(例:体重の平均値または中央値および体重の幅)を含む)を記載すること。 b. 関連情報を記載すること、たとえば、動物の供給元、国際的系統名、遺伝子改変の状態(例:ノックアウトまたはトランスジェニック)、遺伝子型、健康および免疫状態、投薬を受けていないことまたは実験に使われていないこと、以前に行われた処置等。

住居および飼養	9 次の項目に関する詳細情報を記載すること。 a. 住居(施設)のタイプ:例:特定病原体フリー(SPF);ケージまたは住居のタイプ;床敷の材料;同一ケージ内の動物数;魚類用水槽の形状および材質等 b. 飼養条件(例:繁殖プログラム、明確なサイクル、温度、魚類のための水質等、飼料のタイプ、給餌・給水方法、環境エンリッチメント) c. 実験前、実験中、または実験後に実施された、福祉に関連する評価および介入
サンプルサイズ	10 a. 実験において使用した動物の総数、および実験群における動物の数を明確に記載すること。 b. サンプルサイズを算出するための詳細情報を含め、どのようにして動物数を決定したか説明すること。 c. 該当する場合は、実験を何回に分けて実施したか明示すること。
実験群への動物の振り分け	11 a. どのようにして動物を実験群に振り分けたか詳細に記載すること(該当する場合は、無作為な群分けまたは群のマッチングを含む)。 b. 異なる実験群の動物の処置や評価を実施した順序を記載すること。
実験の帰結	12 評価した主たる実験の帰結および副次的な実験の帰結(例:細胞死、分子マーカー、行動の変化)を明確に示すこと。
統計学的方法	13 a. 解析に利用した統計学的方法を詳細に記載すること。 b. 統計処理したデータセットに関して、解析単位を明確に記載すること(例:1匹の動物、1群の動物、1個の神経細胞)。 c. データが統計学的手法の前提を満たしているか否かを評価するために利用した方法を記載すること。
結果	
基本データ	14 実験群に関して、処置または実験の前、関連する動物の特性および健康状態を報告すること(例:体重、微生物学的状態、ならびに投薬を受けていないことまたは実験に使われていないこと)。(これらの情報は、多くの場合、表にすることができる。)
解析した数	15 a. 解析に使用した各群における動物の数を報告すること、絶対数を報告すること。(例:10/20;50%は不可 ² 。) b. 解析に含まれていない動物またはデータが存在する場合には、その理由を説明すること。
結果および評価	16 実施した解析の結果を精度とともに報告すること(例:標準誤差または信頼区間)。
有害な事象	17 a. 重要な有害事象について詳細に記載すること。 b. 有害事象を減少させるためになされた実験プロトコルの修正について記載すること。
考察	
解釈/科学的含意	18 a. 研究の目的および仮説、最新の理論ならびに関連する研究成果(文獻)を考慮に入れながら結果を解釈すること。 b. 研究の限界(可能性のある先入観の原因、動物モデルの限界、および結果に関連する不正確さ ² を含む)について意見を記述すること。 c. 研究における動物を用いない代替法への置換、動物に対する苦痛の軽減、もしくは動物数の削減(3Rs)に関して、当該実験方法または実験結果の意味するところについて記載すること。
一般化の可能性/外挿	19 ヒトとの関連性を含めて、当該研究の知見を他の動物種または他の器官・器官系に外挿することができるか否か、およびどのようにして外挿することができるかについて意見を記述すること。
資金調達	20 当該研究におけるすべての資金源(助成金番号を含む)を列挙し、すべての資金提供者の役割を記載すること。



The ARRIVE Guidelines: Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments. Originally published in *PLOS Biology*, June 2010¹