

厚生労働行政推進調査事業費補助金

(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)

非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究

(23KC2013)

令和6年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小川 久美子

令和7（2025）年 5月

目 次

I. 総括研究報告書

非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究	----- 3
--------------------------------	---------

小川 久美子

II. 分担研究報告書

1. コモンマーモセットを用いた安全性評価に関する調査	----- 13
-----------------------------	----------

松下 幸平、小川 久美子

(資料) 図 1~3

2. 関連団体における供給状況及び対応の実態調査に関する研究	----- 19
--------------------------------	----------

平林 容子、小島 肇

3. 感染動物モデルとしてのフェレットに関する調査研究	----- 23
-----------------------------	----------

花木 賢一

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 29
---------------------	----------

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
総 括 研 究 報 告 書 (令和6年度)

非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究

研究代表者： 小川 久美子
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病理部 主任研究官

研究要旨

カニクイザル、アカゲザル等の非ヒト霊長類（NHP：non-human primates）は、医薬品開発における有効性、安全性等の評価において重要な役割を果たしている。特に NHP を用いた安全性試験は、抗体医薬品など近年開発が目覚ましい個別化医療の開発に必須とされている。国内に必要な NHP の多くは海外からの輸入に依存しているが、COVID-19 のパンデミック以降、ワクチン等の開発における NHP の需要が急増するとともに、これまで主要な輸出国であった中国が輸出を停止したこと等により、現在、世界的に NHP の供給不足と価格高騰が生じている。本件は一過性の事象ではなく、パンデミック後も、バイオ医薬品の世界的な開発ペースの加速化に伴い、NHP の需要は引き続き高止まりすると予測される。このまま現状の供給不足が続いた場合、我が国での医薬品の開発・承認にも支障が生じるため、喫緊の対応が必要である。本課題では、国内における NHP の使用実態や代替法等に関する調査・研究をもとに、対応の提案を目的としている。

コモンマーモセットは国内で実験動物として繁殖されている NHP であり、医薬品開発における非臨床試験に適用することができれば、これらの問題を解決する一助となることが期待される。本研究では免疫毒性試験である T 細胞依存性抗体産生試験（TDAR）へのコモンマーモセットの適用性について検討した。

コモンマーモセット（雄、22-24 ヶ月齢）に免疫原である keyhole limpet hemocyanin（KLH）を 2 及び 10 mg/kg の用量でアジュバンドである Alum と共に試験開始時から 2 週間毎に計 4 回皮下投与し、投与前及び試験期間中に経時的に採取した血液から血漿を分離して ELISA 法により抗 KLH 抗体価を測定した。その結果、2 及び 10 mg/kg 投与群ともに 2 回の投与後から明らかな抗 KLH 抗体価の上昇が認められた。また本年度の解析に用いた ELISA 法により、昨年度に実施した動物実験より得られた血漿サンプルにおける抗 KLH 抗体価を測定した。その結果、KLH 単独投与群（2 mg/kg、2 回投与、アジュバンドなし）において抗 KLH-IgG 抗体価の明らかな上昇が認められ、KLH 及び免疫抑制剤であるシクロスポリン（25 mg/kg、28 日間皮下投与）の併用投与群では抗 KLH-IgG 抗体価の上昇は確認されなかった。

以上より、コモンマーモセットに KLH を投与した結果、アジュバンドの有無に関わらず抗 KLH 抗体の産生が認められ、その産生は免疫抑制剤の投与により抑制された。本結果はコモンマーモセットの TDAR への適用の可能性を示すものと考えられた。

また、非ヒト霊長類（NHP）の需給問題と代替法の動向を把握するため、国内外の関連学術集会や国際機関から情報収集を行った。日本実験動物学会やレギュラトリーサイエンス学会等において、New Approach Methods (NAMs) に関する発表・議論を通じ、オルガノイドや微小生体模倣システム (MPS) の活用とその適格性評価の重要性が明らかとなった。また、日本動物実験代替法学会では、NHP の供給不足に関する実態や、コモンマーモセットなどへの代替の可能性についても意見交換を行った。さらに、

OECD や ICH などの国際機関における動物実験代替法の国際的な受容状況に関する情報収集を行った。なお、米国 FDA が動物実験削減に向けたロードマップを発表し、今後の実験動物を使わない評価手法への転換に関する具体的な方向性が示された。これらの動向を踏まえ、我が国においても、NHP の適正な使用とともに、代替法の研究促進と実用化を強化することが期待される。

一方、感染症法で規定された一類感染症の内、クリミア・コンゴ出血熱、エボラウイルス病、マールブルグウイルス病、ラッサ熱は治療薬やワクチンの開発が渴望されている。それら動物モデルのゴールドスタンダードは非ヒト霊長類であるが、それに代わる動物モデルについて文献調査を行った。その結果、何れも「ウイルス野生株+免疫不全マウス」と「マウス馴化ウイルス株+野生型マウス」の組み合わせが確認された。しかし、BSL4 実験室で取り扱うにはマウス個体は小さい、ウイルスの馴化が必要等の難点がある。マカク属サルとマウスの間の大きさに位置するフェレットは、エボラウイルス病の優れた動物モデルであるが、他の一類感染症の原因ウイルスでは発症しない。そのため、ゲノム編集技術によりそれらウイルスに感受性を賦与する遺伝子改変フェレットの作出は、新たな動物モデルの樹立に寄与すると考える。

キーワード：非ヒト霊長類、マーモセット、代替法、実態調査

研究分担者：松下 幸平

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究
センター病理部 室長

研究協分担者：平林 容子

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究
センター長

研究分担者：花木 賢一

国立感染症研究所 安全管理研究センター長

研究協力者：小島 肇

山口東京理科大学 工学部医薬工学科 教授

過性の事象ではなく、パンデミック後も、バイオ医薬品の世界的な開発ペースの加速化に伴い、NHP の需要は引き続き高止まりすると予測される。このまま現状の供給不足が続いた場合、我が国での医薬品の開発・承認にも支障が生じるため、喫緊の対応が必要である。

A1. コモンマーモセットを用いた安全性評価に関する調査

コモンマーモセットは小型（体重 250-500 g）で繁殖が容易（1.5 歳で性成熟に達し、1 回の産子数は 1-3 匹）という特徴を持つ NHP であり、国内でも実験動物として繁殖されている。よってコモンマーモセットを医薬品開発における非臨床試験に適用することができれば、NHP の海外からの供給不足および価格高騰の問題を解決する一助となることが期待される。既に一部の医薬品開発においてコモンマーモセットを用いた非臨床試験が行われているが、その多くは薬理試験であり、安全性試験に用いる実験動物としての適格性に関する基礎情報は限られている。

免疫毒性試験にはげっ歯類が用いられることが多いが、ヒトにおける免疫反応がげっ歯類よりも NHP に近いと考えられる場合には、NHP が

A. 研究目的

カニクイザル、アカゲザル等の非ヒト霊長類（NHP : non-human primates）は、医薬品開発における有効性、安全性等の評価において重要な役割を果たしている。特に NHP を用いた安全性試験は、抗体医薬品など近年開発が目覚ましい個別化医療の開発に必須とされている。国内で必要な NHP の多くは海外からの輸入に依存しているが、COVID-19 のパンデミック以降、ワクチン等の開発における NHP の需要が急増するとともに、これまで主要な輸出国であった中国が輸出を停止したこと等により、現在、世界的に NHP の供給不足と価格高騰が生じている。本件は一

適用されることも考えられる。また、抗体医薬等の開発においては、免疫原性の評価も必要であることから、妥当な免疫応答を示す動物で評価する必要がある。本年度は代表的な免疫毒性試験である T 細胞依存性抗体産生試験 (TDAR) へのコモンマーモセットへの適用性について検討するため、免疫原である KLH (keyhole limpet hemocyanin) 及びアジュバンドである Alum を用いた動物実験を実施し、血漿中の抗 KLH 抗体価を測定した。

A2. 関連団体における供給状況及び対応の実態調査に関する研究

本課題への対応として、国内外の関連学会での発表や国際機関からの情報を通して、関連団体における供給状況及び対応の実態を調査した。

A3. 感染動物モデルとしてのフェレットに関する調査研究

非ヒト霊長類 (NHP) は系統発生学的に最もヒトに近い動物種であり、身体構造や機能がヒトと非常に近似しているため高次脳機能の研究、神経疾患や精神疾患の研究に用いられている。また、ヒトに感染する病原体へ感受性を示し、生理代謝機能もヒトに近似することから、感染症研究、医薬品やワクチンの開発にも必須な動物である。しかし、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) パンデミックによる NHP の世界的な需要の高まりと世界最大の供給国である中国の輸出規制によりマカク属サルのが価格が暴騰した。このことは動物実験代替法の探索の強い動機となり、*in vitro* や *in silico* の技術開発促進が期待される。しかし、*in vitro* や *in silico* では生体反応を十分あるいは全く再現できないため、NHP に代わる動物種による生体モデルが求められる。

世界保健機関 (WHO) は、COVID-19 パンデミックに先立つ 2018 年 2 月に公衆衛生上の緊急事態を引き起こす可能性があり、有効な治療薬やワクチンが存在しないことから研究開発を加速

する必要がある 7 つの疾患を発表した [研究開発 (R&D) ブループリント]。7 つとは、クリミア・コンゴ出血熱、エボラウイルス病とマールブルグウイルス病、ラッサ熱、中東呼吸器症候群 (MERS) と重症急性呼吸器症候群 (SARS)、ニパウイルス感染症とヘニパウイルス感染症、リフトバレー熱、ジカウイルス感染症である。また、2024 年 3 月 27 日に改訂された「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」では、感染防御能の評価は「ヒトでの感染・疾病を反映する動物モデルが存在する場合には、ワクチンが対象とする病原性微生物による感染又は発症の防御を評価項目とすることが望ましい。」とし、多くのヒト感染症モデルのゴールドスタンダードと位置付けられる NHP 以外の動物モデルでも許容されることが示された。本研究では、WHO の公表した R&D ブループリントの内、BSL4 施設のみで取り扱うことができる一類感染症の病原体の動物モデルについて文献調査を行った。

B. 研究方法

B1. コモンマーモセットを用いた安全性評価に関する調査

本動物実験は公益財団法人実中研で実施し、標本作製および鏡検を国立医薬品食品衛生研究所病理部にて実施した。

実験 1 : 合計 6 頭の雄コモンマーモセット (22 ~ 24 ヶ月齢) を 2 群 (各群 3 匹) に配し、KLH を 2 あるいは 10 mg/kg の用量でアジュバンドの Alum と共に試験開始時から 2 週間毎に計 4 回皮下投与した。KLH 投与前及び実験開始 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 週後に大腿静脈より約 0.3mL を採血し、血漿を分離した。

実験 2 : 実験 1 の KLH 最終投与日から約 3 ヶ月間の休薬後、同動物を再び 2 群 (各群 3 匹) に配し、1 群については KLH 以外の免疫原であるヒツジ赤血球 (SRBC) に対する抗体産生能を確認するため、SRBC を単回尾静脈内投与 (10^9 cells/animal) した。他の 1 群については免疫抑制剤であるシクロスポリンを 25 mg/kg の用量で 1 日 1 回、28 日間反復皮下投与し、Clostridium

difficile 感染による腸炎が発症するかどうかを検討した。いずれの群も試験開始より 29 日後に剖検した。

試験期間中は毎日一般状態を観察し、体重測定は被験物質投与開始日及び採材日を含め週に 1 回以上とした。

剖検時には、0.04 mg/kg メデトミジン（ドミツール、日本全薬工業）、0.4 mg/kg ミダゾラム（ドルミカム注射液 10mg、アステラス製薬）、0.4 mg/kg プトルファノール混合液（ベトルファール 5 mg、Meiji Seika ファルマ）を筋肉内投与して鎮静後に 1-3% イソフルラン（ファイザー、キャリアガス O2）のマスク吸入によって麻酔を維持し、腹大動脈より採血して安楽死処置とした。

実験期間中及び剖検時に採取した血液から抗 SRBC 抗体価を測定するために血漿を分離した。また全身諸臓器の病理解析を行うため、剖検時に各臓器を採材し、肝臓、腎臓、心臓、脾臓、肺、脳、胸腺、副腎及び精巣については重量を測定後、10% 中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬した。

（倫理面への配慮）

本実験は「公益財団法人実中研 動物実験委員会」による試験計画書の審査、及び「国立医薬品食品衛生研究所動物実験の適正な実施に関する規定」を遵守して動物実験計画書を作成し、同動物実験委員会による承認を得た上で、関係法令を遵守して実施した。動物愛護の精神に則って動物飼育を行い、動物の処置は倫理規定に十分配慮して熟練者が実施し、安楽死及び実験終了時、動物はすべて鎮静・麻酔下で大動脈からの脱血により安楽死させ、動物に与える苦痛を最小限に留めた。

B2. 関連団体における供給状況及び対応の実態調査に関する研究

B2-1 学会等における情報収集

以下の国内外の学術会議等に参加し、シンポジウム等で発表・意見交換を行うとともに、関連団体における供給状況及び対応の実態に関する情報収集を行った。

- 1) 第 71 回日本実験動物学会総会シンポジウム“動物実験における 3Rs の現在地：国際的なガイドラインと科学的な進歩、その運用について”

発表内容：経済協力開発機構（OECD）が進める New Approach Methods（NAMs）を用いたリスクアセスメント

- 2) Singapore International Food Forum, Recent Initiatives of JaCVAM for Regulatory Acceptance of Safety Evaluation of NAMs including MPS.

発表内容：微小生体模倣システム（MPS）の行政利活用の為の安全性評価の考え方を含み NAMs を巡る JaCVAM の活動

- 3) 第 14 回レギュラトリーサイエンス学会シンポジウム“動物実験代替法の行政的な受け入れ”での発表

発表内容：代替法の行政的受け入れにかかる JaCVAM の役割

- 4) 日本動物実験代替法学会第 37 回大会シンポジウム“実験動物としての NHP（非ヒト霊長類）の現状と動物実験代替法開発の取り組み”でのパネリスト

発表内容：各演者の発表を踏まえ、カンクイザルの需要と供給や、NHP の置換えに関する意見交換

B2-2 国内外の情報収集

非ヒト霊長類の動物実験代替法に関する動向を OECD、医薬品規制調和国際会議（ICH）、動物実験代替法国際協力（ICATM）など国際機関からの情報収集に務めた。

（倫理面への配慮）

特になし

B3. 感染動物モデルとしてのフェレットに関する調査研究

WHO が 2018 年 2 月に発表した R&D ブループリントに挙げられた 7 つの疾患のうち、感染症法により一類感染症に指定されているのは、以下の 4 疾患である。

クリミア・コンゴ出血熱

エボラウイルス病

マールブルグウイルス病

ラッサ熱

これらについて、動物モデルの開発または動物モデルを用いた研究論文を PubMed で検索し、原著論文等を調査した。

(倫理面への配慮)

文献等調査に基づく研究であるため、該当しない。

C. 研究結果

C1. コモンマーモセットを用いた安全性評価に関する調査

実験 1 : KLH 10 mg/kg 群の 1 例 (I8199M) において 3 回目の投与以降に体重減少傾向が認められたため、同個体では KLH の投与回数を 3 回に変更した。その他の個体の体重に KLH 投与による明らかな影響は認められなかった。

コモンマーモセットの血漿中から抗 KLH-IgG 抗体価を適切に測定することのできる ELISA 法を確立して解析を行った。その結果、2 及び 10 mg/kg 群ともに 2 回の投与後から明らかな抗 KLH-IgG 抗体の力価の上昇が認められた。また本 ELISA 法を用いて昨年度に実施した動物実験より得られた血漿サンプルについて解析を行った。その結果、KLH 単独投与群 (2 mg/kg、2 回投与、アジュバンドなし) において抗 KLH-IgG 抗体価の明らかな上昇が認められ、KLH 及びシクロスポリン (25 mg/kg、28 日間皮下投与) 併用投与群では抗 KLH-IgG 抗体価の上昇は確認されなかった。

実験 2 : 体重測定では SRBC 及びシクロスポリン投与による明らかな影響は認められず、Clostridium difficile 感染による腸炎の発症も観察されなかった。現在、血漿中の抗 SRBC 抗体の測定方法を検討しており、さらに剖検時に採材した全身諸臓器についても病理解析を進めている。

C2. 関連団体における供給状況及び対応の実態

調査に関する研究

C2-1 学会等における情報収集

上記学会の発表中、NAMs の中でもオルガノイドや MPS を用いた研究が世界的にも進んでいることが示された。一方で、それらの試験系が明らかに出来るとする目的 (context of use, COU) に即した適格性評価が重要との発表も多かった。

また、日本動物実験代替法学会シンポジウムにおいてパネリストとして、発表者とともに、カニクイザルの需要と供給、マカク属の NHP に代わる動物種への置き換えなどが議論された。即ち、コロナパンデミック以降に関連団体において NHP の供給が不足したとされる問題については、輸入統計調査による輸入数で見える限り、パンデミック前後での輸入数の顕著な落ち込みもなく経緯しているものの、その輸入元の国の大幅な変化があったことや流通に課題があったこと、入手可能な動物の若齢化による適正な試験実施への影響がみられること、価格の高騰によりアカデミアにおける研究の継続性にも、製薬企業の新薬開発コストにも影響が及んでいることなどの実態が紹介された。こうした課題に対して、カニクイザルの国内供給体制の確立を含む適切な流通体制の確立が望まれること、コモンマーモセットや、フェレットなどへの置き換えの可能性、動物を使わない評価方法開発への期待などが議論された。

C2-2 国内外の情報収集

年度を跨いではいるが、2025 年 4 月 10 日に米国食品安全局 (FDA) が Roadmap to Reducing Animal Testing in Preclinical Safety Studies を発表した。

この中には、モノクローナル抗体(mAb)の安全性において、オルガノイド/MPS は、制御されたヒトのマイクロ環境で特定の標的効果およびオフターゲット効果を評価できる。例えば、もし mAb が免疫に起因するメカニズムにより肝障害を引き起こす可能性がある場合、免疫細胞を統合した肝臓チップがサイトカインの放出や肝細胞の損傷を検出できる。また、mAb が心血管リスクを持つ場合 (例えば、心組織のオフタ

ーゲットに結合する場合)、心筋組織チップやヒト幹細胞由来の心筋細胞アッセイが不整脈誘発効果をスクリーニングできるなど、これまで NHP で評価されてきた安全性評価における動物試験の削減が期待できると記載されている。

C3. 感染動物モデルとしてのフェレットに関する調査研究

クリミア・コンゴ出血熱

ブニヤウイルス科ナイロウイルス属クリミア・コンゴ出血熱ウイルス (CCHFV) を病原体とし、主にヒアロマ属のダニによって媒介される。クリミア・コンゴ出血熱 (CCHF) は、媒介ダニの地理的限界である北緯 50 度線以南のアフリカ、バルカン半島、中東、アジア諸国に蔓延している。ヒトはダニに刺咬されるか、感染した動物の屠殺中または屠殺直後に血液や組織に接触することで感染する。多くの野生または家畜哺乳類種が CCHFV に感染するが、一部の哺乳類種は高いウイルス血症と抗体レベルを示すにもかかわらず発病しない。免疫正常 (野生型) マウスも発病しないが、STAT-1^{-/-}マウス [Bente DA, et al. J Virol. 84:11089–11100, 2010] と IFNAGR^{-/-}マウス [Aligholipour FT, et al. Viruses. 11:237, 2019] が発病モデルとして使用されている。これらのモデルでは致死感染がみられ、多くの組織で高レベルのウイルス血症とウイルス播種を認める。また、ヒトの感染でみられることがある肝酵素の上昇、リンパ球減少、肝臓病変などの特徴もみられる [Garrison AR, et al. Viruses. 11:590, 2019]。2021 年にはマウスに馴化した CCHFV 変異株が作出され、野生型マウスで CCHF の重篤なヒト症例に近いモデルが樹立された [Hawman DW, et al. Elife. 10:e63906, 2021]。野生型ハムスターは CCHF を発症しないが、STAT-2^{-/-}ハムスターは致死的な CCHF 疾患のモデルとして使用できること、肝腎機能障害を示唆する血液学的、生化学的パラメータの変化を伴うこと、リバビリンなどの抗ウイルス薬の有効性を評価するためにも使用できることが示された [Ranadheera C, et al. Sci Rep. 10:12378, 2020]。ただし、免疫不全マウス並

びに免疫不全ハムスターモデルは CCHFV 感染における免疫応答の研究に制約があることに留意する必要がある。CCHFV はモルモットへ実験的に感染させても発病しないが、CCHFV 自然感染ダニを用いてモルモットに CCHFV を感染させると重篤な症状と高い死亡率を示したという報告がある [Garrison AR, et al. Viruses. 11:590, 2019]。しかし、CCHFV を人工的に感染させたダニではモルモットを発症させなかった [Shepherd AJ, et al. Am J Trop Med Hyg. 40:326–331, 1989]。

CCHF 研究に最適なモデルは、感染経路によっては最大 75% の致死率を示す可能性があるカンクイザルモデルと考えられる [Haddock E, et al. Nat Microbiol. 3:556–562, 2018]。CCHFV 感染カンクイザルでは顕著な出血がみられ、高レベルのウイルス血症、肝臓と腎臓の機能障害もみられた。しかし、その後の研究では、感染後 28 日目まで精巣にウイルス抗原と RNA が残留するなど、軽度から中等度の症状が報告されている [Smith DR, et al. PLoS Pathog. 15:e1008050, 2019]。複数の CCHFV 株の感染でも軽度の疾患を引き起こすことが示されており、カンクイザルモデルの致死率は変動するが、ヒトの CCHF の広い臨床スペクトルを反映していると考えられる [Cross RW, et al. PLoS Negl Trop Dis. 14:e0008637, 2020]。CCHF に関するフェレットモデルの報告は確認できなかった。

エボラウイルス病とマールブルグウイルス病

フィロウイルス科には 3 つの属があり、そのうち最も重要なのはオルソエボラウイルス属とオルソマールブルグウイルス属である。オルソエボラウイルス属は 6 種のウイルスが確認されている。その内、エボラウイルス感染症 (EVD) を引き起こすエボラウイルス (EBOV)、スーダンウイルス病 (SVD) を引き起こすスーダンウイルス (SUDV)、ブンディブギョウイルス病 (BVD) を引き起こすブンディブギョウイルス (BDBV) の 3 種がアウトブレイクを引き起こすことが知られており、それぞれの動物モデルが報告されている。オルソマールブルグウイルス属にはマ

ールブルグウイルス (MARV) とラヴンウイルスがあり、これらの動物モデルも報告されている [Siragam V, et al. Zool Res. 39:15–24, 2018]。フィロウイルスの多くの研究では、入手のしやすさ、低コスト、取り扱いの容易さ、解析試薬が豊富なことからマウスモデルが利用されている。しかし、マウスはフィロウイルス野生株に感染しないため、マウス馴化株の作出が必要である。マウスとマウス馴化 EBOV の組み合わせにより、肝臓と脾臓におけるウイルス複製、血液凝固障害、肝臓と腎臓の機能障害、感染時のマクロファージと単核食細胞への標的化など、エボラウイルス病患者に類似した特徴を再現できる [Bray M, et al. J Infect Dis. 178:651–661, 1998; Siragam V, et al. Zool Res. 39:15–24, 2018]。フィロウイルス感染マウスモデルの欠点は、ウイルスを腹腔内感染させる必要があり、フィロウイルスの自然感染経路ではないことである。マウス馴化ウイルス株を用いたマウスモデルは、EBOV と MARV のワクチンや治療法の非臨床研究開発に用いられており、VSV-EBOV ワクチンやエボラウイルス感染症治療用モノクローナル抗体など、重要な知見の獲得に貢献している [Jones SM, et al. J. Infect. Dis. 196(Suppl. 2):404, 2007; Qiu X, et al. PLoS Negl Trop Dis. 6:e1575, 2012; Banadyga L, et al. ACS Infect. Dis. 4:673–685, 2018; Rahim MN, et al. PLoS Pathog. 15:e1007564, 2019]。また、インターフェロン α/β 受容体 (IFNAR^{-/-})、インターフェロン $\alpha/\beta/\gamma$ 受容体 (IFN- $\alpha/\beta/\gamma$ R^{-/-})、またはシグナル伝達および転写活性化因子 1 (STAT1) を欠損した免疫不全マウスがフィロウイルス感染モデルとして用いられている [Bray M J. Gen Virol. 82:1365–1373, 2001; Falzarano D. and Bente DA. Clin MicroBiol Infect. 21S:e17–e27, 2019]。これらのマウスはフィロウイルス野生株に感受性があるため、新規分離株を用いた動物実験やその新規分離株による感染症の対策研究に有用である。マウス以外の小型動物モデルでは、シリアンハムスターの報告がある。マウス馴化 EBOV はシリアンハムスターにも感染し、感染後 5 日以内に発症して死亡した [Ebihara H, et al. J Infect Dis.

207:306–318, 2013]。また、ハムスター馴化 MARV はマールブルグウイルス病研究に適したモデルと考えられている [Marzi A, et al. Sci Rep. 6:39214, 2016]。モルモットはフィロウイルス感染モデルとしても広く用いられてきた。EBOV [Volchkov VE, et al. Virology. 277:147–155, 2000]、MARV [Cross RW, et al. J Infect Dis. 212(Suppl. 2):258, 2015]、SUDV [Wong G, et al. J Virol. 90:392–399, 2015] のモルモットモデルがある。ただし、致死的な感染症を引き起こさせるためにはモルモット馴化株が必要である。感染症の進行を研究するためにはマウスよりも個体が大きく入手しやすいことは利点であるが、詳細な免疫学的研究ではマウスに利点がある。そのため、モルモットモデルは、マウスモデルに加えて二次的な解析へ用いることに有用性がある。フェレットは EBOV、SUDV、BDBV の野生株を感染させると発症し、ヒトのエボラウイルス病の特徴を再現する。そのため、小動物モデルよりも優れた動物モデルである [Cross R.W., et al. J Infect Dis. 214:565–569, 2016; Siragam V., et al. Zool Res. 39:15–24, 2018]。ただし、免疫学的研究を行うために必要な試薬が十分に入手できない欠点がある。加えて、MARV とラヴンウイルスには感染しないことが報告されている [Cross R.W., et al. J Infect Dis. 18(suppl_5):S448–S452, 2018]。

NHP は、フィロウイルス感染症のゴールドスタンダードモデルであり、カニクイザル、アカゲザル、アフリカミドリザル、マーモセットなどが感染モデルとして使用されている [Siragam V, et al. Zool. Res. 39:15–24, 2018; Falzarano D and Bente DA. Clin MicroBiol Infect. 21S:e17–e27, 2019]。ヒトの病態を忠実に再現することからワクチンや治療薬の開発に用いられている。ウイルスの馴化を必要とせず、感染の全経過と免疫応答を研究するために必要な様々なマカク属用試薬が利用可能であることが大きな利点である。その内、カニクイザルはワクチン研究に最もよく使用され、アカゲザルは治療薬の評価に頻用されている。この使い分けは、カニクイザルの疾病の経過がアカゲザルのそれよりも若干短いことに起因

する [Geisbert TW, et al. J Infect Dis. 212 Suppl 2(Suppl 2):S91–S97, 2015]。

ラッサ熱

アレナウイルス科には、げっ歯類媒介性ウイルスの 2 つのグループ：アフリカに生息するラッサウイルス (LASV) などの旧世界アレナウイルスとアメリカ大陸に分布する新世界アレナウイルスに分類され、南米で発見される出血熱を引き起こすウイルスを含む。LASV は世界中で最も一般的な出血熱の原因ウイルスであるが、マチュポウイルス、フニンウイルス、サビアウイルス、チャパレウイルス、グアナリトウイルスなど、出血熱を引き起こす南米アレナウイルスも発見されている [Shao J, et al. Pathogens. 4:283–306, 2015]。ラッサ熱を研究するための多くのモデルが開発されて特徴づけられており、その多くはワクチンや治療薬の開発に利用されている。フィロウィルスの場合と同様、野生型マウスは LASV に感受性がない。しかし、IFNAR^{-/-}と STAT1^{-/-}マウスの感染モデルが報告されている。LASV に曝露されると、IFNAR^{-/-}マウスは高いウイルス力価を示し、逆立った毛と活動性の低下、体重減少を認めた。しかし、発熱、致死はみられなかった [Yun NE, et al. J Virol. 86:3389–3392, 2012]。野生型骨髓細胞を移植した放射線照射した IFNAR^{-/-}マウス [Oestereich L, et al. PLoS Pathog. 12:e1005656, 2016] と STAT1^{-/-}マウス [Yun NE, et al. J Virol. 87:10908–10911, 2013] は、LASV の致死感染モデルとなるが、その使用は限られている。モルモットは LASV 感染の最も汎用されている動物モデルであり、非近交系ハートレーモルモットと近交系モルモット strain 13 が病因研究と治療薬やワクチン開発のための重要なモデルとなっている [Warner BM, et al. Drug Des Dev Ther. 12:2519, 2018; Stein DR, et al. Npj Vaccines. 4:1–7, 2019; Warner BM, et al. Curr Opin Virol. 37:84–90, 2019]。LASV の複数の株が近交系モルモット strain 13 に感染するが、致死率は様々である。ハートレーモルモットでは均一な致死感染のために条件検討が行われている [Safronetz D, et al. J. Infect Dis.

207:1316–1327, 2013; Safronetz D, et al. Sci Rep. 5:14775, 2015]。アレナウイルス科ウイルスに関するフェレットモデルの報告は確認できなかった。

NHP は LASV 研究においてもゴールドスタンダードモデルであり、アカゲザルとカニクイザルの致死感染モデルが病態研究や治療薬とワクチンの評価に用いられている [Warner BM, et al. Curr Opin Virol. 37:84–90, 2019]。また、マーモセットやオマキザルなどの他の NHP も用いられている [Yun NE, et al. Viruses. 4:2031–2048, 2012; Warner BM, et al. Curr Opin Virol. 37:84–90, 2019]。NHP の LASV 感染はヒトの疾患をよく再現し、肝臓、副腎、脾臓の壊死や神経系への影響などの特徴的な症状を示す。

D. 考察

D1. コモンマーモセットを用いた安全性評価に関する調査

コモンマーモセットに KLH を投与した結果、アジュバントの有無に関わらず 2 mg/kg の KLH の投与により明らかな抗 KLH 抗体の産生が認められ、さらにその産生は免疫抑制剤であるシクロスポリンの併用投与により抑制されたことが示された。これらの結果はコモンマーモセットの TDAR への適用の可能性を示すものと考えられた。

これまでコモンマーモセットを用いた実験では、Clostridium difficile 感染による腸炎が発症し、それによる下痢や体重減少のため実験の継続が困難になることがあった。一方、今回の実験においては免疫抑制剤であるシクロスポリンを 28 日間投与した群においても Clostridium difficile 感染による腸炎は観察されず、実験を完遂することができた。Clostridium difficile 感染症が発症しなかった理由として、動物の導入時に実施した糞便移植の効果によるものと推察された。

今後は引き続き SRBC の測定を行いコモンマーモセットの TDAR への適用性をさらに検証するとともに、本実験から得られた全身諸臓器の病理解析を実施して背景データを収集する予定

である。

D2. 関連団体における供給状況及び対応の実態調査に関する研究

2024 年度、非ヒト霊長類の動物実験代替法に関する新たなニュースはなかったが、2025 年度初頭になって、FDA から大きなニュースが飛び込んできた。2025 年度は国内外の情報収集を強化していきたいと考えている。

D3. 感染動物モデルとしてのフェレットに関する調査研究

本研究では一類感染症の原因ウイルスを対象を絞って、NHP と他の動物の感染モデル調査を行った。この調査の背景には、長崎大学に BSL4 施設（高度感染症研究センター実験棟）が建設されて試運転を行っており、厚生労働大臣により特定一種病原体等所持施設として指定されることが念頭にあった。そして、2025 年 1 月 24 日に厚生労働大臣が長崎大学を特定一種病原体等所持者として、また、国立大学法人長崎大学内の高度感染症研究センター実験棟を特定一種病原体等所持施設として指定した。特定一種病原体の所持にはさらに時間を要すると思われるが、一類感染症に関する基礎から応用研究の展開が予想される。なお、長崎大学 BSL4 施設はスーツ型 BSL4 動物実験室を整備し、マカク属サル（カニクイザル）とマウス等の小型げっ歯類を飼育可能としている。

CCHFV、オルソエボラウイルス属ウイルス、オルソマルブルグ属ウイルス、LASV の研究では NHP は動物モデルとしてゴールドスタンダードであるが、その代替として免疫不全マウスが用いられ、ウイルス野生株に感受性を示す。しかし、免疫不全動物モデルでは免疫学的研究に制約がある。それを補うものとして、マウス馴化株と野生型マウスを組み合わせたモデルが開発されている。これら 2 つのマウスモデルにより、NHP の代替を担うことが期待される。しかし、BSL4 実験環境では対象動物が小さいというこ

とは作業上の制約になり、事故も起きている [Kortepeter MG, et al. Emerg Infect Dis. 14:881–887, 2008; Günther S, et al. J Infect Dis. 204 Suppl 3:S785–S790, 2011]。また、ウイルス野生株はマウスに感受性を示さないことも、新たなウイルス株の出現への対応で後れをとることになる。この点では、オルソエボラウイルス属ウイルスについてはフェレット、アレナウイルス属ウイルスについてはモルモットが NHP に代わる動物モデルとなると考えられる。しかし、CCHFV とオルソマルブルグウイルス属ウイルスではウイルス野生株が免疫正常動物に感染、発症するモデルが NHP に限られる。これらのモデル動物の選択肢を広げる手段として遺伝子改変動物の作出がある。フェレットでは CRISPR-Cas9 [Yu M, et al. Sci Rep. 9:1971, 2019] や TALEN [Johnson MB, et al. Nature. 556:370–375, 2018] によるゲノム編集により遺伝子組換えフェレットが作出された実績がある。そのため、CCHFV と MARV の野生株を感染させて発症する遺伝子組換えフェレットモデルの作出は、それらウイルス研究の進展に寄与すると思われる。その際には、免疫学的解析に必要なフェレット用試薬の充実も不可欠である。さらに、フェレット感染実験を可能にする BSL4 動物実験室の整備も必要になる。

E. 結論

E1. コモンマーモセットを用いた安全性評価に関する調査

本研究結果から、コモンマーモセットの TDAR への適用の可能性及び適切な免疫応答能が示された。

E2. 関連団体における供給状況及び対応の実態調査に関する研究

本研究を通じて、非ヒト霊長類（NHP）の需給状況やその代替手法に関する国内外の最新情報を収集・分析し、現状の課題と今後の対応の方向性を明らかにした。パンデミック以降の NHP 供給における国別構成や流通の変

化、価格高騰などが、医薬品開発やアカデミアの研究活動に与える影響は大きく、NHPの安定供給体制の構築が喫緊の課題であることが確認された。一方で、オルガノイドやMPS（生体模倣システム）を含む新規代替法（NAMs）の研究と規制受容に向けた国際的な動きも加速しており、今後の動物実験削減に資する有力な技術として注目される。特に2025年4月に発表された米国FDAのロードマップは、ヒト関連性の高い評価系への転換が現実的な選択肢となりつつあることを示唆している。これらの動向を踏まえ、我が国においても、NHPの適正な使用とともに、代替法の研究促進と実用化を強化することが求められる。今後も、国際動向の把握と関係機関との連携を通じて、科学的妥当性と倫理性を両立した安全性評価体制の確立に貢献していきたい。

E3. 感染動物モデルとしてのフェレットに関する調査研究

BSL4施設で取り扱う必要がある一類感染症の原因ウイルスの動物モデルは、NHPが最良である。それに代わる動物モデルとして「ウイルス野生株+免疫不全マウス」と「マウス馴化ウイルス+野生型マウス」がある。しかし、マウスモデルは個体が小さいことによる実験上の制約があり、目的によってより大きな動物モデルが求められる。フェレットはNHPに代わるEBOV感染動物モデルとして優れていることから、他の一類感染症の原因ウイルスの感染発病モデルとしても期待が大きい。それを実現するためには、ゲノム編集技術による遺伝子組換えフェレットの作出が必要と考える。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. 平林容子, 足利太可雄, 小島肇夫, 非臨床安全性評価に用いられる非ヒト霊長類の供給不足をめぐる動き, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 2024;55(3);195-197. https://doi.org/10.51018/pmdrs.55.3_195.

2. Y. Okubo, Y. Hirabayashi, J. Fukuda. Advances in Genomic Toxicology: In vitro Developmental Toxicity Test based on Signal Network Disruption Dynamics. Current Opinion in Toxicology 2024; Volume 39, 100489.

F.2 学会発表

1. 平林容子: 経済協力開発機構 (OECD) が進める New Approach Methods を用いたリスクアセスメント 第71回日本実験動物学会総会 (2024.5.31, 京都)
2. Hirabayashi Y.: Recent Initiatives of JaCVAM for Regulatory Acceptance of Safety Evaluation of NAMs including MPS. Singapore International Food Forum (2024. 8.1, Singapore)
3. 平林容子: 代替法の行政的受け入れにかかわる JaCVAM の役割 第14回 レギュラトリーサイエンス学会学術大会 (2024.9.13, 東京)
4. Hirabayashi Y.: Initiatives for the regulatory use of alternative methods to animal testing. Next generation nonclinical safety evaluation—Alternatives to animal testing in drug discovery and development— Nonclinical toxicology related event, (2024.11.13, 藤沢)
5. 小川 久美子: マカク属以外の非ヒト霊長類の実験動物としての応用可能性、日本動物実験代替法学会 第37回大会 (2024.11.29, 宇都宮)
6. 花本賢一: 感染症研究における非ヒト霊長類に代わるモデル動物としてのフェレット、日本動物実験代替法学会 第37回大会 (2024.11.29, 宇都宮)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

別添 4.

厚生労働科学研究費補助金

(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)

令和6年度 分担研究報告書

非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究
コモンマーモセットを用いた安全性評価に関する研究

研究分担者 松下 幸平

国立医薬品食品衛生研究所病理部 室長

研究代表者 小川 久美子

国立医薬品食品衛生研究所病理部 主任研究官

研究要旨

カニクイザル、アカゲザル等の非ヒト霊長類 (NHP : non-human primates) は、医薬品開発における有効性、安全性等の評価において重要な役割を果たしているが、現在世界的に供給不足と価格高騰が生じている。コモンマーモセットは国内で実験動物として繁殖されている NHP であり、医薬品開発における非臨床試験に適用することができれば、これらの問題を解決する一助となることが期待される。本研究では免疫毒性試験である T 細胞依存性抗体産生試験 (TDAR) へのコモンマーモセットの適用性について検討した。

コモンマーモセット (雄、22-24 ヲ月齡) に免疫原である keyhole limpet hemocyanin (KLH) を 2 及び 10 mg/kg の用量でアジュバンドである Alum と共に試験開始時から 2 週間毎に計 4 回皮下投与し、投与前及び試験期間中に経時的に採取した血液から血漿を分離して ELISA 法により抗 KLH 抗体価を測定した。その結果、2 及び 10 mg/kg 投与群ともに 2 回の投与後から明らかな抗 KLH 抗体価の上昇が認められた。また本年度の解析に用いた ELISA 法により、昨年度に実施した動物実験より得られた血漿サンプルにおける抗 KLH 抗体価を測定した。その結果、KLH 単独投与群 (2 mg/kg、2 回投与、アジュバンドなし) において抗 KLH-IgG 抗体価の明らかな上昇が認められ、KLH 及び免疫抑制剤であるシクロスポリン (25 mg/kg、28 日間皮下投与) の併用投与群では抗 KLH-IgG 抗体価の上昇は確認されなかった。

以上より、コモンマーモセットに KLH を投与した結果、アジュバンドの有無に関わらず抗 KLH 抗体の産生が認められ、その産生は免疫抑制剤の投与により抑制された。本結果はコモンマーモセットの TDAR への適用の可能性を示すものと考えられた。

A. 研究目的

カニクイザル、アカゲザル等の非ヒト霊長類 (NHP : non-human primates) は、医薬

品開発における有効性、安全性等の評価において重要な役割を果たしている。特に NHP を用いた安全性試験は、抗体医薬品な

ど近年開発が目覚ましい個別化医療の開発に必須とされている。国内に必要な NHP の多くは海外からの輸入に依存しているが、COVID-19 のパンデミック以降、ワクチン等の開発における NHP の需要が急増するとともに、これまで主要な輸出国であった中国が輸出を停止したこと等により、現在、世界的に NHP の供給不足と価格高騰が生じている。本件は一過性の事象ではなく、パンデミック後も、バイオ医薬品の世界的な開発ペースの加速化に伴い、NHP の需要は引き続き高止まりすると予測される。このまま現状の供給不足が続いた場合、我が国での医薬品の開発・承認にも支障が生じるため、喫緊の対応が必要である。

コモンマーモセットは小型（体重 250-500 g）で繁殖が容易（1.5 歳で性成熟に達し、1 回の産子数は 1-3 匹）という特徴を持つ NHP であり、国内でも実験動物として繁殖されている。よってコモンマーモセットを医薬品開発における非臨床試験に適用することができれば、NHP の海外からの供給不足及び価格高騰の問題を解決する一助となることが期待される。既に一部の医薬品開発においてコモンマーモセットを用いた非臨床試験が行われているが、その多くは薬理試験であり、安全性試験に用いる実験動物としての適格性に関する基礎情報は限られている。

免疫毒性試験にはげっ歯類が用いられることが多いが、ヒトにおける免疫応答がげっ歯類よりも NHP に近いと考えられる場合には、NHP が適用されることも考えられる。また、抗体医薬等の開発においては、免疫原性の評価も必要であることから、適切な免疫応答を示す動物で評価する必要がある。本年度は代表的な免疫毒性試験である T 細胞依存性抗体産生試験（TDAR）へのコモンマーモセットへの適用性につ

いて検討するため、免疫原である KLH（keyhole limpet hemocyanin）及びアジュバンドである Alum を用いた動物実験を実施し、血漿中の抗 KLH 抗体価を測定した。

B. 研究方法

本動物実験は公益財団法人実中研で実施し、標本作製および鏡検を国立医薬品食品衛生研究所病理部にて実施した。

実験 1：合計 6 頭の雄コモンマーモセット（22～24 ヶ月齢）を 2 群（各群 3 匹）に配し、KLH を 2 あるいは 10 mg/kg の用量でアジュバンドの Alum と共に試験開始時から 2 週間毎に計 4 回皮下投与した。KLH 投与前及び実験開始 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 週後に大腿静脈より約 0.3mL を採血し、血漿を分離した。

実験 2：実験 1 の KLH 最終投与日から約 3 ヶ月間の休薬後、同動物を再び 2 群（各群 3 匹）に配し、1 群については KLH 以外の免疫原であるヒツジ赤血球（SRBC）に対する抗体産生能を確認するため、SRBC を単回尾静脈内投与（ 10^9 cells/animal）した。他の 1 群については免疫抑制剤であるシクロスポリンを 25 mg/kg の用量で 1 日 1 回、28 日間反復皮下投与し、Clostridium difficile 感染による腸炎が発症するかどうかを検討した。いずれの群も試験開始より 29 日後に剖検した。

試験期間中は毎日一般状態を観察し、体重測定は被験物質投与開始日及び採材日を含め週に 1 回以上とした。

剖検時には、0.04 mg/kg メデトミジン（ドミツール、日本全薬工業）、0.4 mg/kg ミダゾラム（ドルミカム注射液 10mg、アステラス製薬）、0.4 mg/kg ブトルファノール混合液（ベトルファール 5 mg、Meiji Seika ファルマ）を筋肉内投与して鎮静後に 1-3% イソフルラン（ファイザー、キャリアガス

O2) のマスク吸入によって麻酔を維持し、腹大動脈より採血して安楽死処置とした。

実験期間中及び剖検時に採取した血液から抗 SRBC 抗体価を測定するために血漿を分離した。また全身諸臓器の病理解析を行うため、剖検時に各臓器を採材し、肝臓、腎臓、心臓、脾臓、肺、脳、胸腺、副腎及び精巣については重量を測定後、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬した。

(倫理面への配慮)

本実験は「公益財団法人実中研 動物実験委員会」による試験計画書の審査、及び「国立医薬品食品衛生研究所動物実験の適正な実施に関する規定」を遵守して動物実験計画書を作成し、同動物実験委員会による承認を得た上で、関係法令を遵守して実施した。動物愛護の精神に則って動物飼育を行い、動物の処置は倫理規定に十分配慮して熟練者が実施し、安楽死及び実験終了時、動物はすべて鎮静・麻酔下で大動脈からの脱血により安楽死させ、動物に与える苦痛を最小限に留めた。

C. 研究結果

実験 1: KLH 10 mg/kg 群の 1 例 (I8199M) において 3 回目の投与以降に体重減少傾向が認められたため、同個体では KLH の投与回数を 3 回に変更した (図 1)。その他の個体の体重に KLH 投与による明らかな影響は認められなかった。

コモンマーモセットの血漿中から抗 KLH-IgG 抗体価を適切に測定することのできる ELISA 法を確立して解析を行った。その結果、2 及び 10 mg/kg 群ともに 2 回の投与後から明らかな抗 KLH-IgG 抗体の力価の上昇が認められた (図 2)。また本 ELISA 法を用いて昨年度に実施した動物実験より得られた血漿サンプルについて

解析を行った。その結果、KLH 単独投与群 (2 mg/kg、2 回投与、アジュバンドなし) において抗 KLH-IgG 抗体価の明らかな上昇が認められ、KLH 及びシクロスポリン (25 mg/kg、28 日間皮下投与) 併用投与群では抗 KLH-IgG 抗体価の上昇は確認されなかった (図 3)。

実験 2: 体重測定では SRBC 及びシクロスポリン投与による明らかな影響は認められず、Clostridium difficile 感染による腸炎の発症も観察されなかった。現在、血漿中の抗 SRBC 抗体の測定方法を検討しており、さらに剖検時に採材した全身諸臓器についても病理解析を進めている。

D. 考察

コモンマーモセットに KLH を投与した結果、アジュバンドの有無に関わらず 2 mg/kg の KLH の投与により明らかな抗 KLH 抗体の産生が認められ、さらにその産生は免疫抑制剤であるシクロスポリンの併用投与により抑制されたことが示された。これらの結果はコモンマーモセットの TDAR への適用の可能性を示すものと考えられた。

これまでコモンマーモセットを用いた実験では、Clostridium difficile 感染による腸炎が発症し、それによる下痢や体重減少のため実験の継続が困難になることがあった。一方、今回の実験においては免疫抑制剤であるシクロスポリンを 28 日間投与した群においても Clostridium difficile 感染による腸炎は観察されず、実験を完遂することができた。Clostridium difficile 感染症が発症しなかった理由として、動物の導入時に実施した糞便移植の効果によるものと推察された。

今後は引き続き SRBC の測定を行いコモンマーモセットの TDAR への適用性をさ

らに検証するとともに、本実験から得られた全身諸臓器の病理解析を実施して背景データを収集する予定である。

E. 結論

本研究結果から、コモンマーモセットの TDAR への適用の可能性及び適切な免疫応答能が示された。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

該当なし

F.2 学会発表

小川 久美子: マカク属以外の非ヒト霊長類の実験動物としての応用可能性、日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.29, 宇都宮)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

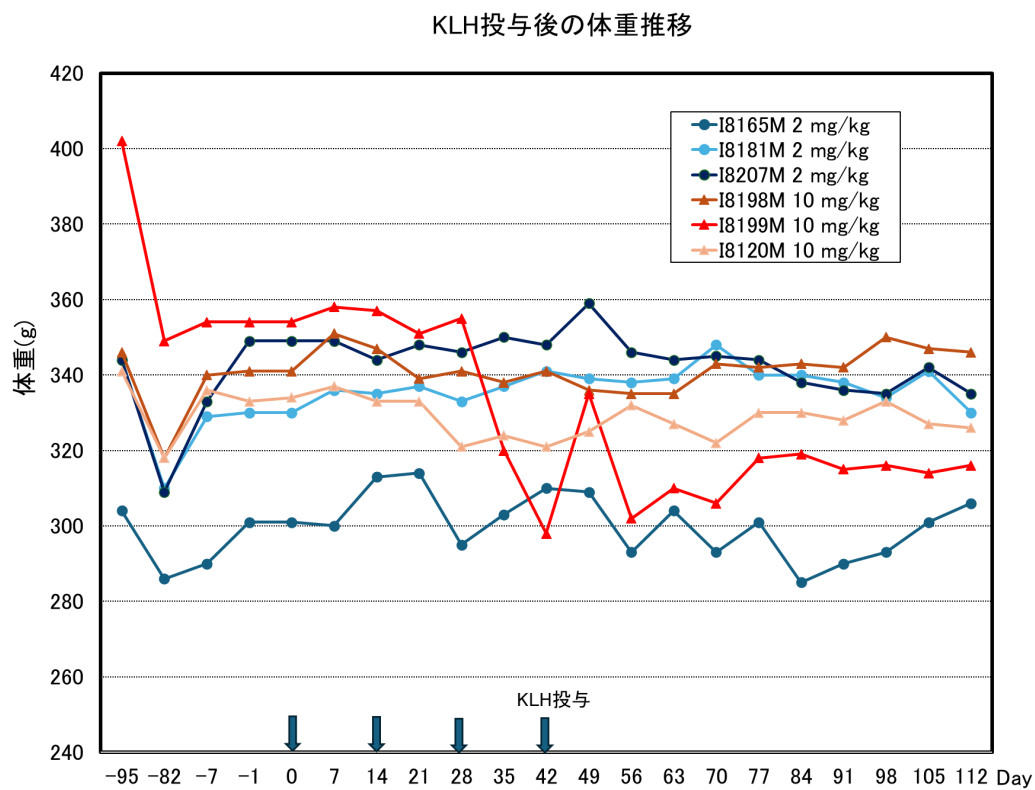


図 1. 体重の推移

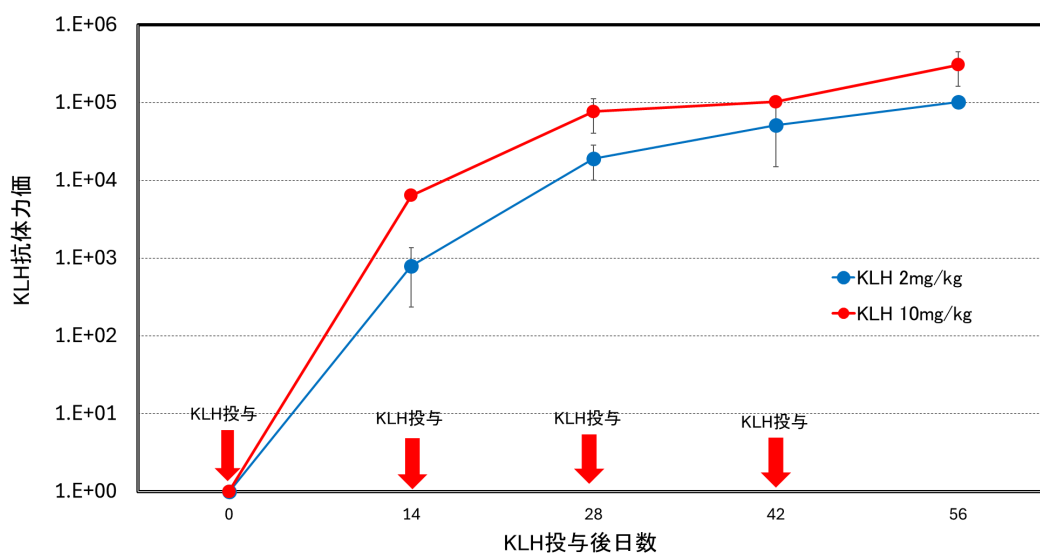


図2. 抗keyhole limpet hemocyanin (KLH) -IgG抗体価

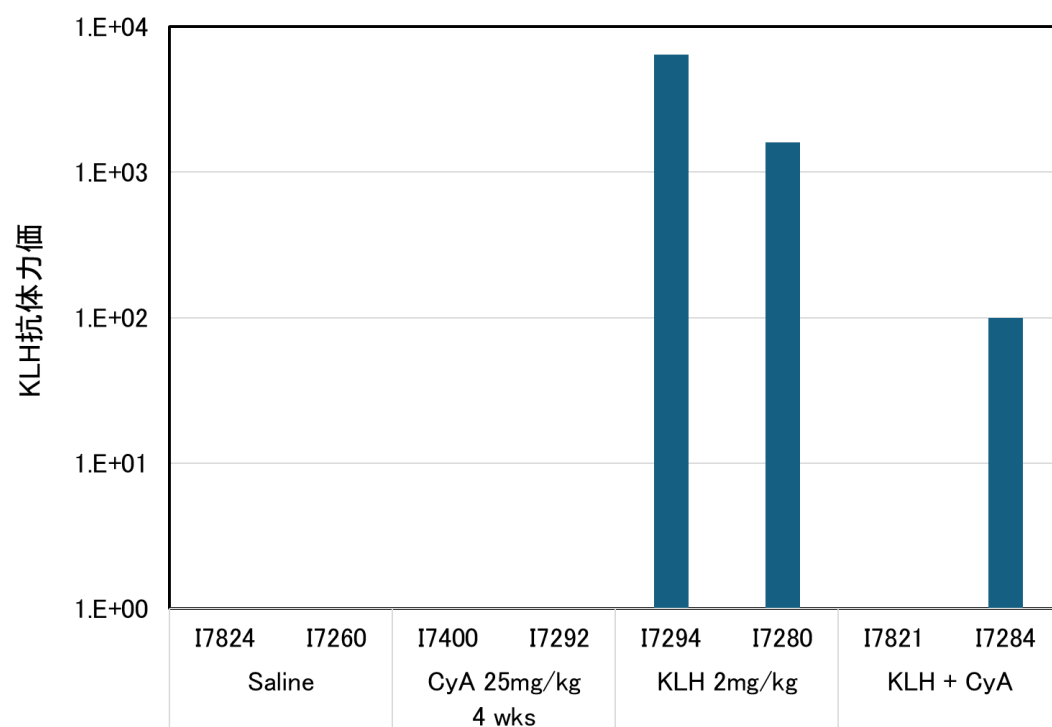


図3. keyhole limpet hemocyanin (KLH) 及びシクロスポリン (CyA) の単独及び併用投与群における抗KLH-IgG抗体価

厚生労働科学研究費補助金

(医薬品・医療機器等レギュトリーサイエンス政策研究事業)
非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究

令和6年度 分担研究報告書

関連団体における供給状況及び対応の実態調査に関する研究

研究分担者 平林容子

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長

研究協力者 小島 肇

山口東京理科大学 工学部医薬工学科 教授

研究要旨

非ヒト霊長類（NHP）の需給問題と代替法の動向を把握するため、国内外の関連学術集会や国際機関から情報収集を行った。日本実験動物学会やレギュトリーサイエンス学会等において、New Approach Methods (NAMs) に関する発表・議論を通じ、オルガノイドや微小生体模倣システム（MPS）の活用とその適格性評価の重要性が明らかとなった。また、日本動物実験代替法学会では、NHP の供給不足に関する実態や、コモンマーモセットなどへの代替の可能性についても意見交換を行った。さらに、OECD や ICH などの国際機関における動物実験代替法の国際的な受容状況に関する情報収集を行った。なお、米国 FDA が動物実験削減に向けたロードマップを発表し、今後の実験動物を使わない評価手法への転換に関する具体的な方向性が示された。これらの動向を踏まえ、我が国においても、NHP の適正な使用とともに、代替法の研究促進と実用化を強化することが期待される。

A. 研究目的

カニクイザル、アカゲザル等の非ヒト霊長類（NHP：non-human primates）は、医薬品開発における有効性、安全性等の評価において重要な役割を果たしている。特に標的特異性の高いバイオ医薬品や新規モダリティの開発には、NHP を用いた安全性試験が必須とされている。

国内で必要な NHP の多くは海外からの輸入に依存しているが、パンデミック以降、ワクチン等の開発における NHP の需要が

急増するとともに、これまで主要な輸出国であった中国が輸出を停止したこと等により、現在、世界的に NHP の供給不足と価格高騰が生じている。今後も、バイオ医薬品の世界的な開発ペースの加速化に伴い、NHP の需要は引き続き高止まりすると予測されることから、我が国での医薬品の開発・承認に支障が生じないよう喫緊の対応が必要である。

本課題への対応として、国内外の関連学術集会での発表や国際機関からの情報を

通して、関連団体における供給状況及び対応の実態を調査した。

B. 研究方法

B.1. 学会等における情報収集

以下の国内外の学術会議等に参加し、シンポジウム等で発表・意見交換を行うとともに、関連団体における供給状況及び対応の実態に関する情報収集を行った。

- 5) 第 71 回日本実験動物学会総会シンポジウム“動物実験における 3Rs の現在地：国際的なガイドラインと科学的な進歩、その運用について”
発表内容：経済協力開発機構 (OECD) が進める New Approach Methods (NAMs) を用いたリスクアセスメント
- 6) Singapore International Food Forum, Recent Initiatives of JaCVAM for Regulatory Acceptance of Safety Evaluation of NAMs including MPS.
発表内容：微小生体模倣システム (MPS) の行政利活用の為の安全性評価の考え方を含む NAMs を巡る JaCVAM の活動
- 7) 第 14 回レギュラトリーサイエンス学会シンポジウム“動物実験代替法の行政的な受け入れ”での発表
発表内容：代替法の行政的受け入れにかかる JaCVAM の役割
- 8) 日本動物実験代替法学会第 37 回大会シンポジウム“実験動物としての NHP (非ヒト霊長類) の現状と動物実験代替法開発の取り組み”でのパネリスト
発表内容：各演者の発表を踏まえ、カニクイザルの需要と供給や、NHP の置換えに関する意見交換

B.2. 国内外の情報収集

非ヒト霊長類の動物実験代替法に関す

る動向を OECD、医薬品規制調和国際会議 (ICH)、動物実験代替法国際協力 (ICATM) など国際機関からの情報収集に務めた。

(倫理面への配慮)

特になし

C. 研究結果

C.1 学会等における情報収集

上記学会の発表中、NAMs の中でもオルガノイドや MPS を用いた研究が世界的にも進んでいることが示された。一方で、それらの試験系が明らかに出来るとする目的 (context of use, COU) に即した適格性評価が重要との発表も多かった。

また、日本動物実験代替法学会シンポジウムにおいてパネリストとして、発表者とともに、カニクイザルの需要と供給、マカク属の NHP に代わる動物種への置き換えなどが議論された。即ち、コロナパンデミック以降に関連団体において NHP の供給が不足したとされる問題については、輸入統計調査による輸入数で見ると、パンデミック前後での輸入数の顕著な落ち込みもなく経緯しているものの、その輸入元の国の大幅な変化があったことや流通に課題があったこと、入手可能な動物の若齢化による適正な試験実施への影響がみられること、価格の高騰によりアカデミアにおける研究の継続性にも、製薬企業の新薬開発コストにも影響が及んでいることなどの実態が紹介された。こうした課題に対して、カニクイザルの国内供給体制の確立を含む適切な流通体制の確立が望まれること、コモンマーモセットや、フェレットなどへの置換えの可能性、動物を使わない評価方法開発への期待などが議論された。

C.2. 国内外の情報収集

年度を跨いではいるが、2025 年 4 月 10

日に米国食品安全局（FDA）が Roadmap to Reducing Animal Testing in Preclinical Safety Studies を発表した。

この中には、モノクローナル抗体(mAb)の安全性において、オルガノイド/MPSは、制御されたヒトのマイクロ環境で特定の標的効果およびオフターゲット効果を評価できる。例えば、もし mAb が免疫に起因するメカニズムにより肝障害を引き起こす可能性がある場合、免疫細胞を統合した肝臓チップがサイトカインの放出や肝細胞の損傷を検出できる。また、mAb が心血管リスクを持つ場合（例えば、心組織のオフターゲットに結合する場合）、心筋組織チップやヒト幹細胞由来の心筋細胞アッセイが不整脈誘発効果をスクリーニングできるなど、これまで NHP で評価されてきた安全性評価における動物試験の削減が期待できると記載されている。

D. 考察

2024 年度、非ヒト霊長類の動物実験代替法に関する新たなニュースはなかったが、2025 年度初頭になって、FDA から大きなニュースが飛び込んできた。2025 年度は国内外の情報収集を強化していきたいと考えている。

E. 結論

本研究を通じて、非ヒト霊長類（NHP）の需給状況やその代替手法に関する国内外の最新情報を収集・分析し、現状の課題と今後の対応の方向性を明らかにした。パンデミック以降の NHP 供給における国別構成や流通の変化、価格高騰などが、医薬品開発やアカデミアの研究活動に与える影響は大きく、NHP の安定供給体制の構築が喫緊の課題であることが確認された。一方で、オルガノイ

ドや MPS（生体模倣システム）を含む新規代替法（NAMs）の研究と規制的受容に向けた国際的な動きも加速しており、今後の動物実験削減に資する有力な技術として注目される。特に 2025 年 4 月に発表された米国 FDA のロードマップは、ヒト関連性の高い評価系への転換が現実的な選択肢となりつつあることを示唆している。これらの動向を踏まえ、我が国においても、NHP の適正な使用とともに、代替法の研究促進と実用化を強化することが求められる。今後も、国際動向の把握と関係機関との連携を通じて、科学的妥当性と倫理性を両立した安全性評価体制の確立に貢献していきたい。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. 平林容子, 足利太可雄, 小島肇夫, 非臨床安全性評価に用いられる非ヒト霊長類の供給不足をめぐる動き, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 2024;55(3);195-197. https://doi.org/10.51018/pmdrs.55.3_195.
2. Y. Okubo, Y. Hirabayashi, J. Fukuda. Advances in Genomic Toxicology: In vitro Developmental Toxicity Test based on Signal Network Disruption Dynamics. Current Opinion in Toxicology 2024; Volume 39, 100489.

F.2 学会発表

1. 平林容子：経済協力開発機構（OECD）が進める New Approach Methods を用いたリスクアセスメント 第 71 回日本実験動物学会総会（2024.5.31, 京都）
2. 平林容子：代替法の行政的受け入れにかかる JaCVAM の役割 第 14 回

レギュラトリーサイエンス学会学術
大会 (2024.9.13, 東京)

3. Hirabayashi Y. Recent Initiatives of
JaCVAM for Regulatory Acceptance of
Safety Evaluation of NAMs including
MPS. Singapore International Food
Forum (2024. 8.1, Singapore)
4. Hirabayashi Y. Initiatives for the
regulatory use of alternative methods to
animal testing. Next generation
nonclinical safety evaluation–
Alternatives to animal testing in drug
discovery and development –
Nonclinical toxicology related event,
(2024.11.13, 藤沢)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金

(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)

令和6年度 分担研究報告書

非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究
一類感染症動物モデルに関する調査研究

研究分担者 花木 賢一

国立感染症研究所 安全管理研究センター長

研究要旨

感染症法で規定された一類感染症の内、クリミア・コンゴ出血熱、エボラウイルス病、マールブルグウイルス病、ラッサ熱は治療薬やワクチンの開発が渴望されている。それら動物モデルのゴールドスタンダードは非ヒト霊長類であるが、それに代わる動物モデルについて文献調査を行った。その結果、何れも「ウイルス野生株+免疫不全マウス」と「マウス馴化ウイルス株+野生型マウス」の組み合わせが確認された。しかし、BSL4 実験室で取り扱うにはマウス個体は小さい、ウイルスの馴化が必要等の難点がある。マカク属サルとマウスの間の大きさに位置するフェレットは、エボラウイルス病の優れた動物モデルであるが、他の一類感染症の原因ウイルスでは発症しない。そのため、ゲノム編集技術によりそれらウイルスに感受性を賦与する遺伝子改変フェレットの作出は、新たな動物モデルの樹立に寄与すると考える。

A. 研究目的

非ヒト霊長類（NHP）は系統発生的に最もヒトに近い動物種であり、身体構造や機能がヒトと非常に近似しているため高次脳機能の研究、神経疾患や精神疾患の研究に用いられている。また、ヒトに感染する病原体へ感受性を示し、生理代謝機能もヒトに近似することから、感染症研究、医薬品やワクチンの開発にも必須な動物である。しかし、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）パンデミックによる NHP の世界的な需要の高まりと世界最大の供給国である中国の輸出規制によりマカク属サルの価格が暴騰した。このことは動物実験代替法の探索の強い動機となり、*in vitro* や *in silico* の技術開発促進が期待される。

しかし、*in vitro* や *in silico* では生体反応を十分あるいは全く再現できないため、NHP に代わる動物種による生体モデルが求められる。

世界保健機関（WHO）は、COVID-19 パンデミックに先立つ 2018 年 2 月に公衆衛生上の緊急事態を引き起こす可能性があり、有効な治療薬やワクチンが存在しないことから研究開発を加速する必要がある 7 つの疾患を発表した [研究開発（R&D）ブループリント]。7 つとは、クリミア・コンゴ出血熱、エボラウイルス病とマールブルグウイルス病、ラッサ熱、中東呼吸器症候群（MERS）と重症急性呼吸器症候群（SARS）、ニパウイルス感染症とヘニパウイルス感染症、リフトバレー熱、ジカウイ

ルス感染症である。また、2024 年 3 月 27 日に改訂された「感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン」では、感染防御能の評価は「ヒトでの感染・疾病を反映する動物モデルが存在する場合には、ワクチンが対象とする病原性微生物による感染又は発症の防御を評価項目とすることが望ましい。」とし、多くのヒト感染症モデルのゴールドスタンダードと位置付けられる NHP 以外の動物モデルでも許容されることが示された。本研究では、WHO の公表した R&D ブループリントの内、BSL4 施設のみで取り扱うことができる一類感染症の病原体の動物モデルについて文献調査を行った。

B. 研究方法

WHO が 2018 年 2 月に発表した R&D ブループリントに挙げられた 7 つの疾患のうち、感染症法により一類感染症に指定されているのは、以下の 4 疾患である。

クリミア・コンゴ出血熱

エボラウイルス病

マールブルグウイルス病

ラッサ熱

これらについて、動物モデルの開発または動物モデルを用いた研究論文を PubMed で検索し、原著論文等を調査した。

(倫理面への配慮)

文献等調査に基づく研究であるため、該当しない。

C. 研究結果

クリミア・コンゴ出血熱

ブニヤウイルス科ナイロウイルス属クリミア・コンゴ出血熱ウイルス (CCHFV) を病原体とし、主にヒアロマ属のダニによって媒介される。クリミア・コンゴ出血熱

(CCHF) は、媒介ダニの地理的限界である北緯 50 度線以南のアフリカ、バルカン半島、中東、アジア諸国に蔓延している。ヒトはダニに刺咬されるか、感染した動物の屠殺中または屠殺直後に血液や組織に接触することで感染する。多くの野生または家畜哺乳類種が CCHFV に感染するが、一部の哺乳類種は高いウイルス血症と抗体レベルを示すにもかかわらず発病しない。免疫正常 (野生型) マウスも発病しないが、STAT-1^{-/-}マウス [Bente DA, et al. J Virol. 84:11089–11100, 2010] と IFNAGR^{-/-}マウス [Aligholipour FT, et al. Viruses. 11:237, 2019] が発病モデルとして使用されている。これらのモデルでは致死感染がみられ、多くの組織で高レベルのウイルス血症とウイルス播種を認める。また、ヒトの感染で見られることがある肝酵素の上昇、リンパ球減少、肝臓病変などの特徴もみられる [Garrison AR, et al. Viruses. 11:590, 2019]。2021 年にはマウスに馴化した CCHFV 変異株が作出され、野生型マウスで CCHF の重篤なヒト症例に近いモデルが樹立された [Hawman DW, et al. Elife. 10:e63906, 2021]。野生型ハムスターは CCHF を発症しないが、STAT-2^{-/-}ハムスターは致死的な CCHF 疾患のモデルとして使用できること、肝腎機能障害を示唆する血液学的、生化学的パラメータの変化を伴うこと、リバビリンなどの抗ウイルス薬の有効性を評価するためにも使用できることが示された [Ranadheera C, et al. Sci Rep. 10:12378, 2020]。ただし、免疫不全マウス並びに免疫不全ハムスターモデルは CCHFV 感染における免疫応答の研究に制約があることに留意する必要がある。CCHFV はモルモットへ実験的に感染させても発病しないが、CCHFV 自然感染ダニを用いてモルモットに CCHFV

を感染させると重篤な症状と高い死亡率を示したという報告がある [Garrison AR, et al. *Viruses*. 11:590, 2019]。しかし、CCHFV を人工的に感染させたダニではモルモットを発症させなかった [Shepherd AJ, et al. *Am J Trop Med Hyg*. 40:326–331, 1989]。

CCHF 研究に最適なモデルは、感染経路によっては最大 75%の致死率を示す可能性があるカニクイザルモデルと考えられる [Haddock E, et al. *Nat Microbiol*. 3:556–562, 2018]。CCHFV 感染カニクイザルでは顕著な出血がみられ、高レベルのウイルス血症、肝臓と腎臓の機能障害もみられた。しかし、その後の研究では、感染後 28 日目まで精巣にウイルス抗原と RNA が残留するなど、軽度から中等度の症状が報告されている [Smith DR, et al. *PLoS Pathog*. 15:e1008050, 2019]。複数の CCHFV 株の感染でも軽度の疾患を引き起こすことが示されており、カニクイザルモデルの致死率は変動するが、ヒトの CCHF の広い臨床スペクトルを反映していると考えられる [Cross RW, et al. *PLoS Negl Trop Dis*. 14:e0008637, 2020]。CCHF に関するフェレットモデルの報告は確認できなかった。

エボラウイルス病とマールブルグウイルス病

フィロウイルス科には3つの属があり、そのうち最も重要なのはオルソエボラウイルス属とオルソマールブルグウイルス属である。オルソエボラウイルス属は6種のウイルスが確認されている。その内、エボラウイルス感染症 (EVD) を引き起こすエボラウイルス (EBOV)、スーダンウイルス病 (SVD) を引き起こすスーダンウイルス (SUDV)、ブンディブギョウイルス病 (BVD) を引き起こすブンディブギョウイ

ルス (BDBV) の3種がアウトブレイクを引き起こすことが知られており、それぞれの動物モデルが報告されている。オルソマールブルグウイルス属にはマールブルグウイルス (MARV) とラヴンウイルスがあり、これらの動物モデルも報告されている [Siragam V, et al. *Zool Res*. 39:15–24, 2018]。フィロウイルスの多くの研究では、入手のしやすさ、低コスト、取り扱いの容易さ、解析試薬が豊富なことからマウスモデルが利用されている。しかし、マウスはフィロウイルス野生株に感染しないため、マウス馴化株の作出が必要である。マウスとマウス馴化 EBOV の組み合わせにより、肝臓と脾臓におけるウイルス複製、血液凝固障害、肝臓と腎臓の機能障害、感染時のマクロファージと単核食細胞への標的化など、エボラウイルス病患者に類似した特徴を再現できる [Bray M, et al. *J Infect Dis*. 178:651–661, 1998; Siragam V, et al. *Zool Res*. 39:15–24, 2018]。フィロウイルス感染マウスモデルの欠点は、ウイルスを腹腔内感染させる必要があり、フィロウイルスの自然感染経路ではないことである。マウス馴化ウイルス株を用いたマウスモデルは、EBOV と MARV のワクチンや治療法の非臨床研究開発に用いられており、VSV-EBOV ワクチンやエボラウイルス感染症治療用モノクローナル抗体など、重要な知見の獲得に貢献している [Jones SM, et al. *J. Infect. Dis*. 196(Suppl. 2):404, 2007; Qiu X, et al. *PLoS Negl Trop Dis*. 6:e1575, 2012; Banadyga L, et al. *ACS Infect. Dis*. 4:673–685, 2018; Rahim MN, et al. *PLoS Pathog*. 15:e1007564, 2019]。また、インターフェロン α/β 受容体 (IFNAR^{-/-})、インターフェロン $\alpha/\beta/\gamma$ 受容体 (IFN- $\alpha/\beta/\gamma$ R^{-/-})、またはシグナル伝達および転写活性化因子 1 (STAT1)

を欠損した免疫不全マウスがフィロウイルス感染モデルとして用いられている [Bray M J. *Gen Virol.* 82:1365–1373, 2001; Falzarano D. and Bente DA. *Clin MicroBiol Infect.* 21S:e17–e27, 2019]。これらのマウスはフィロウイルス野生株に感受性があるため、新規分離株を用いた動物実験やその新規分離株による感染症の対策研究に有用である。マウス以外の小型動物モデルでは、シリアンハムスターの報告がある。マウス馴化 EBOV はシリアンハムスターにも感染し、感染後 5 日以内に発症して死亡した [Ebihara H, et al. *J Infect Dis.* 207:306–318, 2013]。また、ハムスター馴化 MARV はマールブルグウイルス病研究に適したモデルと考えられている [Marzi A, et al. *Sci Rep.* 6:39214, 2016]。モルモットはフィロウイルス感染モデルとしても広く用いられてきた。EBOV [Volchkov VE, et al. *Virology.* 277:147–155, 2000]、MARV [Cross RW, et al. *J Infect Dis.* 212(Suppl. 2):258, 2015]、SUDV [Wong G, et al. *J Virol.* 90:392–399, 2015] のモルモットモデルがある。ただし、致死的な感染症を引き起こさせるためにはモルモット馴化株が必要である。感染症の進行を研究するためにはマウスよりも個体が大きく入手しやすいことは利点であるが、詳細な免疫学的研究ではマウスに利点がある。そのため、モルモットモデルは、マウスモデルに加えて二次的な解析へ用いることに有用性がある。フェレットは EBOV、SUDV、BDBV の野生株を感染させると発症し、ヒトのエボラウイルス病の特徴を再現する。そのため、小動物モデルよりも優れた動物モデルである [Cross R.W., et al. *J Infect Dis.* 214:565–569, 2016; Siragam V., et al. *Zool Res.* 39:15–24, 2018]。ただし、免疫学的研究を行うために必要な試薬が

十分に入手できない欠点がある。加えて、MARV とラブンウイルスには感染しないことが報告されている [Cross R.W., et al. *J Infect Dis.* 18(suppl_5):S448–S452, 2018]。

NHP は、フィロウイルス感染症のゴールドスタンダードモデルであり、カニクイザル、アカゲザル、アフリカミドリザル、マーモセットなどが感染モデルとして使用されている [Siragam V, et al. *Zool. Res.* 39:15–24, 2018; Falzarano D and Bente DA. *Clin MicroBiol Infect.* 21S:e17–e27, 2019]。ヒトの病態を忠実に再現することからワクチンや治療薬の開発に用いられている。ウイルスの馴化を必要とせず、感染の全経過と免疫応答を研究するために必要な様々なマカク属用試薬が利用可能であることが大きな利点である。その内、カニクイザルはワクチン研究に最もよく使用され、アカゲザルは治療薬の評価に頻用されている。この使い分けは、カニクイザルの疾病の経過がアカゲザルのそれよりも若干短いことに起因する [Geisbert TW, et al. *J Infect Dis.* 212 Suppl 2(Suppl 2):S91–S97, 2015]。

ラッサ熱

アレナウイルス科には、げっ歯類媒介性ウイルスの 2 つのグループ：アフリカに生息するラッサウイルス (LASV) などの旧世界アレナウイルスとアメリカ大陸に分布する新世界アレナウイルスに分類され、南米で発見される出血熱を引き起こすウイルスを含む。LASV は世界中で最も一般的な出血熱の原因ウイルスであるが、マチュポウイルス、フニンウイルス、サビアウイルス、チャパレウイルス、グアナリトウイルスなど、出血熱を引き起こす南米アレナウイルスも発見されている [Shao J, et al.

Pathogens. 4:283–306, 2015]。ラッサ熱を研究するための多くのモデルが開発されて特徴づけられており、その多くはワクチンや治療薬の開発に利用されている。フィロウィルスの場合と同様、野生型マウスはLASVに感受性がない。しかし、IFNAR^{-/-}とSTAT1^{-/-}マウスの感染モデルが報告されている。LASVに曝露されると、IFNAR^{-/-}マウスは高いウイルス力価を示し、逆立った毛と活動性の低下、体重減少を認めた。しかし、発熱、致死はみられなかった[Yun NE, et al. J Virol. 86:3389–3392, 2012]。野生型骨髄細胞を移植した放射線照射したIFNAR^{-/-}マウス [Oestereich L, et al. PLoS Pathog. 12:e1005656, 2016] とSTAT1^{-/-}マウス [Yun NE, et al. J Virol. 87:10908–10911, 2013] は、LASVの致死感染モデルとなるが、その使用は限られている。モルモットはLASV感染の最も汎用されている動物モデルであり、非近交系ハートレーモルモットと近交系モルモット strain 13 が病因研究と治療薬やワクチン開発のための重要なモデルとなっている [Warner BM, et al. Drug Des Dev Ther. 12:2519, 2018; Stein DR, et al. Npj Vaccines. 4:1–7, 2019; Warner BM, et al. Curr Opin Virol. 37:84–90, 2019]。LASVの複数の株が近交系モルモット strain 13 に感染するが、致死率は様々である。ハートレーモルモットでは均一な致死感染のために条件検討が行われている [Safronetz D, et al. J. Infect Dis. 207:1316–1327, 2013; Safronetz D, et al. Sci Rep. 5:14775, 2015]。アレナウィルス科ウィルスに関するフェレットモデルの報告は確認できなかった。

NHP は LASV 研究においてもゴールドスタンダードモデルであり、アカゲザルとカニクイザルの致死感染モデルが病態研究や治療薬とワクチンの評価に用いられ

ている [Warner BM, et al. Curr Opin Virol. 37:84–90, 2019]。また、マーモセットやオマキザルなどの他の NHP も用いられている [Yun NE, et al. Viruses. 4:2031–2048, 2012; Warner BM, et al. Curr Opin Virol. 37:84–90, 2019]。NHP の LASV 感染はヒトの疾患をよく再現し、肝臓、副腎、脾臓の壊死や神経系への影響などの特徴的な症状を示す。

D. 考察

本研究では一類感染症の原因ウィルスに対象を絞って、NHP と他の動物の感染モデル調査を行った。この調査の背景には、長崎大学にBSL4施設（高度感染症研究センター実験棟）が建設されて試運転を行っており、厚生労働大臣により特定一種病原体等所持施設として指定されることが念頭にあった。そして、2025年1月24日に厚生労働大臣が長崎大学を特定一種病原体等所持者として、また、国立大学法人長崎大学内の高度感染症研究センター実験棟を特定一種病原体等所持施設として指定した。特定一種病原体の所持にはさらに時間を要すると思われるが、一類感染症に関する基礎から応用研究の展開が予想される。なお、長崎大学BSL4施設はスーツ型BSL4動物実験室を整備し、マカク属サル（カニクイザル）とマウス等の小型げっ歯類を飼育可能としている。

CCHFV、オルソエボラウィルス属ウィルス、オルソマールブルグ属ウィルス、LASVの研究ではNHPは動物モデルとしてゴールドスタンダードであるが、その代替として免疫不全マウスが用いられ、ウィルス野生株に感受性を示す。しかし、免疫不全動物モデルでは免疫学的研究に制約がある。それを補うものとして、マウス馴化株と野生型マウスを組み合わせたモデルが開発

されている。これら2つのマウスモデルにより、NHPの代替を担うことが期待される。しかし、BSL4実験環境では対象動物が小さいということは作業上の制約になり、事故も起きている[Kortepeter MG, et al. *Emerg Infect Dis.* 14:881–887, 2008; Günther S, et al. *J Infect Dis.* 204 Suppl 3:S785–S790, 2011]。また、ウイルス野生株はマウスに感受性を示さないことも、新たなウイルス株の出現への対応で後れをとることになる。この点では、オルソエボラウイルス属ウイルスについてはフェレット、アレナウイルス属ウイルスについてはモルモットがNHPに代わる動物モデルとなると考えられる。しかし、CCHFVとオルソマールブルグウイルス属ウイルスではウイルス野生株が免疫正常動物に感染、発症するモデルがNHPに限られる。これらのモデル動物の選択肢を広げる手段として遺伝子改変動物の作出がある。フェレットではCRISPR-Cas9[Yu M, et al. *Sci Rep.* 9:1971, 2019]やTALEN[Johnson MB, et al. *Nature.* 556:370–375, 2018]によるゲノム編集により遺伝子組換えフェレットが作出された実績がある。そのため、CCHFVとMARVの野生株を感染させて発症する遺伝子組換えフェレットモデルの作出は、それらウイルス研究の進展に寄与すると思われる。その際には、免疫学的解析に必要なフェレット用試薬の充実も不可欠である。さらに、フェレット感染実験を可能にするBSL4動物実験室の整備も必要になる。

E. 結論

BSL4施設で取り扱う必要がある一類感染症の原因ウイルスの動物モデルは、NHPが最良である。それに代わる動物モデルとして「ウイルス野生株+免疫不全マウス」と「マウス馴化ウイルス+野生型マウス」がある。しかし、マウスモデルは個体が小さいことによる実験上の制約があり、目的によってより大きな動物モデルが求められる。フェレットはNHPに代わるEBOV感染動物モデルとして優れていることから、他の一類感染症の原因ウイルスの感染発病モデルとしても期待が大きい。それを実現するためには、ゲノム編集技術による遺伝子組換えフェレットの作出が必要と考える。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

なし

F.2 学会発表

花本賢一：感染症研究における非ヒト霊長類に代わるモデル動物としてのフェレット、日本動物実験代替法学会 第37回大会 (2024.11.29, 宇都宮)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
該当なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
平林容子, 足利太可雄, 小島肇夫,	非臨床安全性評価に用いられる非ヒト霊長類の供給不足をめぐる動き	レギュラトリサイエンス	55(3)	195-197	2024
Y. Okubo, <u>Y. Hirabayashi</u> , J. Fukuda.	Advances in Genomic Toxicology: In vitro Developmental Toxicity Test based on Signal Network Disruption Dynamics	Current Opinion in Toxicology	39	100489	2024

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業
2. 研究課題名 非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター病理部・主任研究官
(氏名・フリガナ) 小川 久美子 ・ オガワ クミコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	国立医薬品食品衛生研究所	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業
2. 研究課題名 非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター・センター長
(氏名・フリガナ) 平林 容子 ・ ヒラバヤシ ヨウコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 医薬品・医療機器等レギュトリーサイエンス政策研究事業
2. 研究課題名 非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター病理部 ・ 室長
(氏名・フリガナ) 松下 幸平 ・ マツシタ コウヘイ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	<input checked="" type="checkbox"/>	国立医薬品食品衛生研究所	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業

2. 研究課題名 非ヒト霊長類の動物実験代替法等の薬事上の取り扱いに関する研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全管理研究センター・センター長

(氏名・フリガナ) 花木 賢一・ハナキケンイチ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。