

動物実験計画変更申請書

国立がん研究センター理事長 殿

実験担当者氏名	戸塚 ゆ加里
所属	発がん・予防研究分野(戸塚グループ)
連絡先	内線：/PHS：
申請者（実験責任者）氏名	今井 俊夫
所属	動物実験施設
連絡先	内線：/PHS：

共同実験者

所属	氏名	内線	教育訓練の受講歴	教育訓練の受講日
動物実験施設	打屋 尚章		有効期限切れ	2019/04/16
連携研究室（がん予防）	小宮 雅美		有効期限切れ	2019/04/16

【実験計画】

1. 研究課題

発がん要因の検索とリスク評価に関する研究

2. 支援を受けている研究費の名称

厚労科研費化学リスク研究事業、AMED、厚労科研費循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業

3. 申請課題に関する遺伝子組換え実験計画書の実験承認番号

遺伝子組み換え実験を含む（封じ込め施設で実験飼育する）

承認番号：A90M3-14, A340-18

4. 実験目的

ヒトのがん発生には環境要因による突然変異の誘発が深く関与している。しかしながら、DNAに突然変異を誘発する物質の本体はあまりよくわかっておらず、未だ同定されていない変異・がん原物質が環境中のみならず生体内にも数多く存在し、ヒト発がんに関与していることが予測される。本実験では、外因性および内因性の新しい変異・がん原物質を検索し、分離・同定するとともに、それらの生物活性を調べ、ヒト発がんへの関与およびそのメカニズムの解明を目的とする。また、化学物質に固有のゲノム情報を取得し、ヒト発がん要因の探索に応用する。さらに、新規変異・がん原物質の環境中の分布状況やヒト曝露量を評価するバイオマーカーの検索なども合わせて行ない、これら物質のヒト発がんにおけるリスク評価についても検討する。実験にあたっては、国立がん研究センターにおける動物実験に関する指針に則って実施し、可能な限り実験動物の苦痛軽減処置を行う。このような実験を行うことで、これまで不明であったヒト発がん要因のいくつかの本体が明らかにされる。また、ヒト発がんへの関与を解明するための生物活性や作用機構などに関する基礎的研究資料も得られるとともに、それらのヒト発がんにおけるリスク評価に関する知見も得ることが出来る。

5. 実験予定期間

開始：2020/06/22

終了：2023/03/31

6. 実験動物を必要とする理由

代替手段がない

7. 実験項目と内容

項目 1

実験項目	トランスジェニックマウスおよびラットを用いた内因性および外因性変異原物質のin vivo変異原性試験		
実験概要と動物数算定根拠	種々の内因性および外因性変異原物質（微粒子等も含む）をトランスジェニックマウス及びラットに経口、経気道、腹腔内、皮下等のルートで投与し、投与数週間～数ヶ月後の肺、肝臓、腎臓等の臓器を摘出し、突然変異の誘発について調べる。 （一群10匹で3 dose x 2 pointで解剖すると一つの化合物あたり60匹となる。被検物質を3年間で6種類と見積もって合計360匹と計算した）また、著しい体重減少（数日以内に20%以上）、摂食障害等動物に著しい苦痛が生じる場合は実験を中止し、安楽死等の適切な処置をとる。		
実験内容	1:臓器等の材料採取,13:測定・観察		
苦痛軽減・排除法	安楽死（1） 麻酔薬の投与（13） 麻酔法：薬品名 イソフルランまたはネブタールとイソフルランの併用 投与方法：吸入および腹腔内投与 短期間の保定（13）		
実験のカテゴリー	D:脊椎動物を用い、かなりの、且つ回避できないストレス又は痛みを伴う実験 [変異原物質や微粒子等を投与し、動物はかなりの回避出来ないストレスと苦痛を伴うものと推測される。]		
実験終了後（安楽死）の処置	麻酔薬+放血 麻酔法：薬品名 イソフルラン 投与方法：吸入 頸椎脱臼		
使用動物 1			
動物種	マウス	微生物グレード	SPF
系統名	C57BL/6JmsSlc-Tg(gpt delta)	検疫・微生物学的クリーニング	検疫不要
性別	♀・♂	動物飼育室及び動物実験実施場所	飼育室9
規格	4～10週齢		
動物総数	360	導入方法	購入
使用動物 2			
動物種	ラット	微生物グレード	SPF
系統名	F344/NSlc-Tg(gpt delta)	検疫・微生物学的クリーニング	検疫不要
性別	♀・♂	動物飼育室及び動物実験実施場所	飼育室10
規格	4～10週齢		
動物総数	360	導入方法	購入
使用動物 3			
動物種	ラット	微生物グレード	SPF
系統名	Slc:WistarHannover/Rcc-Tg(gpt delta)	検疫・微生物学的クリーニング	検疫不要
性別	♀・♂	動物飼育室及び動物実験実施場所	飼育室10
規格	4～10週齢		
動物総数	360	導入方法	購入
拡散防止措置／バイオセーフティ	P1A		
項目 2			
実験項目	内因性および外因性変異原物質のin vivo遺伝毒性及び発がん性試験		

実験概要と動物数算定根拠	<p>種々の内因性および外因性変異原物質（微粒子等も含む）をマウスおよびラットに経口、経気道、腹腔内、皮下等のルートで投与し、投与数時間～数ヶ月後の肺、肝臓、骨髄、腎臓等の臓器を摘出し、小核、DNA損傷等の遺伝毒性誘発について調べる。発がん性の評価においては、標的臓器が不明の場合もあることから、全臓器を摘出し、肉眼的・病理組織学的な評価を行う。腫瘍病変が観察された場合は、その一部を凍結保存し、ゲノム・エピゲノム解析などに利用する。</p> <p>（遺伝毒性試験：一群10匹で3dose x 2~3 pointで解剖すると一つの化合物あたり60~90匹となる。被検物質を3年間で5種類と見積もって合計450匹と計算した。発がん性試験：一群15~30匹で3doseとすると一つの化合物あたり45~90匹となる。被検物質を3年間で3種類と見積もって合計270匹と計算した。）複数の動物種および系統を用いる理由として、項目1で用いるgpt deltaマウスのバックグラウンドはC57BL/6Jとなっており、新規変異原物質のin vivo変異原性試験と遺伝毒性試験、発がん性試験の結果を同系統で揃えて考察する場合に必要である。ICRマウスおよびF344、Wistarラットはこのような遺伝毒性・発がん性試験を行なうのに一般的に用いられる系統であるため選択した。また、糖尿病・肥満モデル動物であるGKラットを用いて、高血糖状態や肥満状態などが遺伝毒性や発がん性に及ぼす影響についても観察する。著しい体重減少（数日以内に20%以上）、摂食障害等動物に著しい苦痛が生じる場合は実験を中止し、安楽死等の適切な処置をとる。また、腫瘍体積が体重の10%を超える場合や消瘦・自発運動低下など一般状態の悪化がみられる場合などは直ちに実験を中止し、安楽死等の適切な処置をとる。</p>		
実験内容	1:臓器等の材料採取,3:発がん,13:測定・観察		
苦痛軽減・排除法	安楽死（1, 3） 麻酔薬の投与（13） 麻酔法：薬品名 イソフルランまたはネンブタールとイソフルランの併用 投与方法：吸入 短期間の保定（13）		
実験のカテゴリー	D:脊椎動物を用い、かなりの、且つ回避できないストレス又は痛みを伴う実験 変異原物質や微粒子等を投与し、動物はかなりの回避出来ないストレスと苦痛を伴うものと推測される。担がん状態になるため、不可避の耐え難い苦痛を伴うことが予測される。		
実験終了後（安楽死）の処置	麻酔薬+放血 麻酔法：薬品名 イソフルラン 投与方法：吸入 頸椎脱臼		
使用動物 1			
動物種	マウス	微生物グレード	SPF
系統名	C57BL/6J	検疫・微生物学的クリーニング	検疫不要
性別	♀・♂	動物飼育室及び動物実験実施場所	飼育室9
規格	4~10週齢		
動物総数	720	導入方法	購入
使用動物 2			
動物種	マウス	微生物グレード	SPF
系統名	ICR	検疫・微生物学的クリーニング	検疫不要
性別	♀・♂	動物飼育室及び動物実験実施場所	飼育室9
規格	4~10週齢		
動物総数	720	導入方法	購入
使用動物 3			
動物種	ラット	微生物グレード	SPF
系統名	F344/Jcl	検疫・微生物学的クリーニング	検疫不要
性別	♀・♂	動物飼育室及び動物実験実施場所	飼育室10
規格	4~10週齢		
動物総数	720	導入方法	購入
使用動物 4			

動物種	ラット	微生物グレード	SPF
系統名	Wistar	検疫・微生物学的 クリーニング	検疫不要
性別	♀・♂	動物飼育室及び 動物実験実施場所	飼育室10
規格	4～10週齢		
動物総数	720	導入方法	購入
使用動物 5			
動物種	ラット	微生物グレード	SPF
系統名	GK/Slc	検疫・微生物学的 クリーニング	検疫不要
性別	♀・♂	動物飼育室及び 動物実験実施場所	飼育室10
規格	4～10週齢		
動物総数	720	導入方法	購入
拡散防止措置／バ イオセーフティ	該当なし		

8. 実験担当者から管理室への飼育上の特記事項

発がん剤や微粒子を扱う場合は細心の注意を払って実験を行います。その際は動物実験支援施設に連絡をすると共に危険な汚染物に関しては実験者が処理を行いません。また、微粒子試料は全て液体として取り扱うことと、気管内や腹腔内に投与したこれらの微粒子は殆ど体外に排泄されないことから、これら微粒子の拡散は殆どないものと思われま。従いまして、実験動物に対しての取り扱い注意点は特になくとも考えられます。

9. 備考

共同実験者・実験責任者

実験者の退職、卒業および新規メンバー追加、実験担当者の所属異動などによる変更が必要になったため

2. 支援を受けている研究費の名称

研究費の採択により追加が必要になったため

5. 実験予定期間

研究費の継続・新規採択などにより研究の延長が必要になったため

10. 添付書類

No.	添付書類名
1	戸塚ゆ加里_20180326機関承認(A340-18).pdf
2	戸塚ゆ加里_20180326機関承認(A90M3-18).pdf