

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

令和5年度 分担研究報告書

感染動物モデルとしてのフェレットに関する調査研究

研究分担者 国立感染症研究所 安全実験管理部長 花木 賢一

**研究要旨**

フェレットの国内外の使用状況とヒト感染症動物モデルとしての実績調査を行った。フェレットは日米欧において非ヒト霊長類 (NHP) よりも使用数が少なく、日本では実験動物希少種であった。ヒト感染症動物モデルとしては、エボラウイルス属ウイルスに対して、マカク属サルと同様に馴化させることなくヒトの病態に近い反応を示すことが文献より確認された。また、ヘニバウイルス属ウイルス、重症熱性血小板減少症候群ウイルス、結核菌に対しても良好な動物モデルとなることも確認された。従って、フェレットのヒト感染症動物モデルとしての知見が蓄積され、利用可能な試薬と解析技術等が整備されることで NHP に代わる新たなヒト感染症動物モデルになることが期待された。

**A. 研究目的**

非ヒト霊長類 (NHP) の動物実験代替法として、*in vitro*, *in silico* による技術開発が行われている。しかし、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染症 (COVID-19) のパンデミックでは、基礎研究から治療薬・ワクチンの開発において NHP は不可欠であるとして世界的に需要が高まり、一方で NHP の世界最大の供給国であった中国の輸出規制により、想像を超えた NHP の価格高騰を招いた。このことは現在利用可能な *in vitro*, *in silico* による代替法には限界があることを示しており、NHP の代替には新たな動物個体によるモデルが必要と考えた。実験動物学の黎明期には様々な動物の

実験動物化、多様化が試みられた。日本で開発されたトガリネズミ科ジャコウネズミ属のスクスは、マウスやラットではみられない嘔吐反応を示すことから抗がん剤をはじめとする種々の薬物の動揺刺激研究に用いられた。しかし、需要が限定的であり、大手実験動物繁殖事業者が取扱を中止したことから、限られた研究者間の授受により維持されている。また、遺伝子改変技術の普及により様々なマウスモデルが作出されるようになって、実験動物希少種であったマストミスの系統が途絶える等、実験動物の種の多様性が失われた。

デンマークでは毛皮を採取するための家畜としてミンクが飼育されているが、

2020年11月にSARS-CoV-2の変異種がミンク農場で確認されてヒトへ感染していたことを受け、国内の全ミンク約1,700万頭の殺処分が実施された。そして、ミンクの近縁種の実験動物であるフェレットもSARS-CoV-2への感受性を示し、COVID-19の研究に利用されている [Zhao et al. *Zool Res.* 44:323-330, 2023]。フェレットはイタチ属イタチ科の動物で、実験動物としての歴史は長く、1926年にイヌの感染症であるモルビリウイルス属ジステンパーウイルスの研究に初めて用いられた [Dunkin & Laidlaw. *J Comp Pathol Ther.* 39:213-221, 1926]。1933年にはフェレットはインフルエンザウイルスに感染し、感染個体から未感染個体へウイルスが伝播することが実証され [Smith et al. *Lancet.* 222:66-68, 1933]、その後、インフルエンザの研究に汎用されるようになった。フェレットを用いた最も著名な研究としてトリインフルエンザウイルス (A(H5N1)) の機能獲得変異研究がある [Imai et al. *Nature.* 486:420-8, 2012; Herfst et al. *Science.* 336:1534-41, 2012]。しかし、大学等の動物実験に関する情報公開によると、代表的な国立大学法人である北海道大学、東北大学、東京大学、名古屋大学、京都大学、大阪大学、九州大学ではフェレットは飼養されていなかった (令和3年度または令和4年度実績)。ただし、理化学研究所と金沢大学では令和3年度の実験実績としてフェレットをそれぞれ31頭、36頭を報告しており、脳科学の分野で利用されている。このように、日本においては実験動物としてのフェレットの飼養実績は乏しいものの、新たなヒト感染症動物モデルとしてNHPに代わる可能性が期待さ

れる。そこで、本研究では国内外での実験動物としてのフェレットの飼養・使用実績を調査し、フェレットの実験動物としての利用状況を把握する。そして、フェレットがヒト感染症動物モデルとしてインフルエンザ以外でも実績があるかについて、英文総説と原著論文を検索して整理した。

## B. 研究方法

国内のフェレットの飼養・使用実績は、日本実験動物協会が公表する国内販売実績を参照した。海外については、米国は農務省 (USDA) が公表する *Research Facility Annual Reports* とフェレットの福祉活動を行う *Ferret Association of Connecticut (FACT)* の提供情報、欧州連合 (EU) は欧州委員会 (EC) が公表する *Summary Report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the Member States of the European Union and Norway in 2020*、英国は政府が公表する *Annual Statistics of Scientific Procedures on Living Animals Great Britain 2022* を参照した。

フェレットによるヒト感染症に関する研究論文は *Ferret models of viral pathogenesis* (総説) [Enkirch & von Messling. *Virology* 479:480:259-70, 2015] を参考にして引用元の論文を確認した。また、本総説の出版後に発表された重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス [Park SJ, et al. *Nat Microbiol.* 4:438-446, 2019]、インフルエンザウイルス [Belser JA, et al. *Am J Pathol.* 190:11-24, 2020]、フィロウイルス [Schiffman Z, et al. *ILAR J.* 61:62-71, 2022]、エンテロウイルス D 68 [Vermillion MS, et al. *J Virol.* 96:e0083322, 2022]、結核菌 [Gupta et al.

Front Cell Infect Microbiol. 12:873416, 2022]、SARS-CoV-2[Zhao et al. Zool Res. 44:323-330, 2023]等の原著論文を確認し、ヒト感染症動物モデルとしての利用可能性を評価した。

(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

実験用フェレットを国内の動物実験施設で自家繁殖しているという情報がないため、実験動物取扱事業者の販売数は国内の飼養・使用実績を反映すると考えた。実験動物の販売実績は日本実験動物協会が3年に1度、国内の事業者へアンケート調査を行って取りまとめて報告している。直近3回の調査結果(抜粋)を表1に示す。

表1 集計年度毎の実験動物の国内販売数

	2016年度	2019年度	2022年度
マウス	3.2百万匹	3.0百万匹	2.6百万匹
ハムスター	8,465匹	5,887匹	20,022匹
NHP	3,261頭	2,320頭	1,843頭
フェレット*	607頭	175頭	149頭

\*フェレットはスンクスとの合算

フェレットは販売数がNHPに比べて一桁少なく、NHP同様に調査する度に減少している。一方、ハムスターは2022年度に激増しているが、これはCOVID-19研究の動物モデルとしての需要増が主因と考えられた。感染研では実験動物の使用頭数を当該年度の殺処分数と年度末飼養保管数との合算で算出しているが、フェレットは2016

年度：143頭、2019年度：87頭、2022年度：150頭、2015～2022年度の8年間の平均は99頭/年であった。従って、国内で販売された実験用フェレットの多くが感染研で使用されていると推定された。米国ではUSDAに登録されている各研究施設と連邦研究施設に対して、動物福祉法(AWA)に基づいて試験、研究、教育、手術等のための動物の使用を記録した年次報告書を提出することを義務付けており、それを集計して公表している。登録様式には「イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、ウサギ、NHP、ヒツジ、ブタ、その他農場動物、その他動物」の10区分で登録することになっており、フェレットは「その他動物」として登録される。なお、AWAは実験用マウスとラットを対象外としているため、使用数集計の対象となっていない。最新データは2019年分で、動物実験に使用されたNHPは68,257頭であったが、フェレットの使用数は確認することができなかった。そこで、他に情報を求めた結果、FACTのウェブサイト「研究室に毎年約6,500頭が飼育されている」とあった。ECはEU27カ国とノルウェーの動物使用状況を集計しており、最新データは英国離脱後の2020年分である。その集計では‘Number of procedures’を使用しており、同一個体に複数回の処置を行った場合にはその処置回数で集計されている。対象国の初回処置のみの集計でフェレット：1,250回、NHP：4,784回(カニクイザル：4,220回、アカゲザル：227回、バブーン：53回、ベルベット：34回、マーモセット・タマリン：196回、原猿類：54回)であった。英国ではEC同様の集計を行っており、最新データは2022年分であ

る。初回処置のみの集計でフェレット：285回、NHP：1,820回（カニクイザル：1,701回、アカゲザル：56回、マーモセット・タマリン：63回）であった。実験動物としてのフェレットの飼養・使用は日本が極端に少ないというわけではなく、調査した米国、EU加盟国とノルウェー、英国でも同様の傾向であった。

実験動物を用いたヒト感染症モデルを考える場合、以下の4つに分類することができる。

1. ヒトの症状に近い反応を示す
2. ヒトの症状の一部を再現する
3. 感染するが発症しない
4. 感染しない

そこで、ヒト感染症の起因微生物 23 種に対するフェレットの反応について、文献情報を基にこの分類に当てはめると以下の通りであった。

1. には、エボラウイルス属ウイルス（ザイール、レストン、スーダン）、ヘニパウイルス属ウイルス（ニパウイルス、ヘンドラウイルス）、狂犬病ウイルス、A型インフルエンザウイルス、B型インフルエンザウイルス、SFTSウイルス、結核菌が含まれた。
2. には、ヒトパラインフルエンザウイルス 2、レスピロウイルス属ウイルス（ヒトパラインフルエンザウイルス 1 及び 3）、ベータコロナウイルス属ウイルス（SARS-CoV, SARS-CoV-2）が含まれた。
3. には、ムンプスウイルス、RSウイルス、ヒトメタニューモウイルスが含まれた。
4. には、マールブルグウイルス属ウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、ベータコロナウイルス属 MERS-CoV が含まれた。

#### D. 考察

フェレットは 90 年を超えるインフルエンザ動物モデルとしての実績がある。しかし、日米欧の主要国の実験動物としてのフェレットの使用状況は、使用数が少ない NHP よりもさらに少なく、近年の日本では NHP の 10 分の 1 未満であった。そのため、フェレットの感染症研究における利用では、インフルエンザに限定されていると考えられた。しかし、報告数は限られるもののインフルエンザ以外の感染症研究におけるフェレットの有用性が検討されており、ヒトの症状に近い反応を示す病原体としてエボラウイルス属ウイルスが確認された。このことについて、Schiffman Z, et al.

(ILAR J. 61:62-71, 2022) Fig.1 を改変してその特長を整理したものが表 2 である。フィロウイルス科（エボラウイルス、マールブルグウイルス）の研究において、マカク属サルはヒトに近縁で、感染して類似の病態を示すことから第一選択肢とされている。しかし、基礎研究ではウイルスをモルモット、ハムスターまたはマウスに馴化させることによりヒトの病態に近い動物モデルとして利用されている。ただし、馴化が必要という点で新たな野生株の性状解析へ直ちに利用できない欠点がある。フェレットはエボラウイルス属ウイルスを馴化させることなく感染し、ヒトに近い病態を示す。また、ヒトへの病原性が確認されていないレストンエボラウイルスに対してマカク属サル同様の感受性を示す。一方、マールブルグウイルス属ウイルスには感受性を示さないことが報告されている [Cross et al. J Infect Dis. 218(suppl\_5):S448-S452, 2018]。従って、エボラウイルス属ウ

ウイルス研究では、フェレットはマカク属サルに代わる有望な動物モデルと考えられる。

表2 フィロウイルス感染症動物モデルの比較



対象	ヒト	マカク属サル	フェレット	モルモット	ゴールデンハムスター	マウス
ウイルス馴化の必要性	不要	不要	不要	必要	必要	必要
感染動物種別 (馴化株)	EBOV, SUDV, BDBV, TAFV, MARV, RAVV	EBOV, SUDV, BDBV, TAFV, RESTV, MARV, RAVV	EBOV, SUDV, BDBV, RESTV, MARV	GPA-EBOV, GPA-SUDV, GPA-MARV, GPA-RAVV	MA-EBOV, HA-MARV	MA-EBOV, MA-MARV, MA-RAVV
致死性	~45%	~100%	100%	100%	100%	~100%
ウイルス血症	高度	高度	高度	高度	高度	高度
血液凝固障害	あり	あり	あり	あり	あり	なし/限定的
入手性・費用	—	難・極めて高価	普通・高価	容易・安価	容易・安価	容易・安価
取り扱いやすさ	—	難	普通	容易	容易	容易
解析手段と試薬	—	多い	少ない	少ない	少ない	多い
動物実験設備	—	高い	普通	低い	低い	低い

EBOV: ゼーラウイルス属ウイルス, SUDV: シンデビスウイルス属ウイルス, BDBV: フランジヤウイルス属ウイルス, TAFV: マカク属サルに感染するウイルス, MARV: マカク属サルに感染するウイルス, RAVV: マカク属サルに感染するウイルス, RESTV: レステウイルス属ウイルス, GPA: マカク属サルに感染するウイルス, MA: マカク属サルに感染するウイルス, HA: ヒトに感染するウイルス, MARV: マカク属サルに感染するウイルス, MA-RAVV: マカク属サルに感染するウイルス

フェレットをエボラウイルス属ウイルス研究に用いる利点は、NHP (カニクイザル: 500万円前後) に比べて非常に安価 (4万円前後) で入手が容易であること、小柄でヒトに馴れることである。一方、欠点としては利用可能な試薬と解析技術等が NHP に比べて限られることが挙げられる。なお、「ヒトの症状の一部を再現する」、「感染するが発症しない」に分類された病原体についてもフェレットへ馴化させることでヒトの病態に近い動物モデルを作出できることが考えられる。また、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集がフェレットについても報告されており [Kou et al. Cell Res. 25:1372-5, 2015]、本来フェレットには感染しない MERS-CoV をはじめとする病原体による感染動物モデルを作出できることが期待される。

令和4年にワクチンや治療薬の研究開発を加速させるために「重点感染症 (暫定)」が新たに指定された。これにより重点感染症に対するワクチンや治療薬の開発が積極的に行われと思われる。本研究で評価し

た病原体の内、重点感染症のグループ B (定期的または突発的に国内外で一定レベル以上の流行を起こす既知の感染症、グループ A と近縁な病原体による感染症) に分類され、且つフェレットに感染する病原体として、エボラウイルス属ウイルス、ヘニパウイルス属ウイルス、SFTS ウイルス、SARS-CoV、RS ウイルス、エンテロウイルス D68 がある。これらについてフェレットモデルの知見を増やし、ヒトの症状の再現が乏しいものはウイルスの馴化株を作出し、ゲノム編集技術によりフェレットに感受性を賦与し、利用可能な試薬と解析方法等を整えることで、NHP に代わる動物モデルとして需要を満たすことが期待される。

## E. 結論

フェレットは日米欧において主要な実験動物ではない。しかし、フェレットはインフルエンザ以外にエボラウイルス属ウイルス感染症、ヘニパウイルス属ウイルス感染症、SFTS ウイルス感染症、結核の動物モデルとして有望であることが確認された。そのため、フェレットの動物モデルとしての特性に関する知見の蓄積、利用可能な試薬と解析技術等を整えることで NHP の代替動物として普及することが期待された。

## F. 研究発表

### F.1. 論文発表

なし。

### F.2. 学会発表

なし。

## 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。