

モルモットにおける給餌飼料の検討

青木聡子¹⁾, 根倉司²⁾

Consideration of Diets for Guinea Pigs

Satoko AOKI, Tsukasa NEGURA

1. はじめに

当施設では医療機器の皮膚感作性試験や医薬品の抗原性試験などのため年間2,000匹以上のモルモットを飼育している。本稿では、我々がモルモットの飼育環境改善の取り組みの中で行った、給餌飼料の検討について紹介する。

モルモット(学名 *Cavia porcellus*)は、家畜や実験動物、愛玩動物として古くから飼育されてきた歴史があり、おとなしく取り扱いやすい動物ではあるが、神経質でストレスを受けやすい性質をもち¹⁻³⁾、飼育環境の変化を嫌い、餌の変更や給水方法の変更などによって摂餌不良になることが知られている^{3,4)}。

当施設では主に3週齢から9週齢の若齢のモルモットを飼育しているが、偶発的に発生する一般状態の異常や突然死については消化器疾患に関連したものが多い。特に2022年度から2023年度にかけて当施設のモルモットで最も多く認められた異常所見は、下痢や軟便を示唆する肛門周囲被毛の汚れであった。下痢を呈した動物の剖検では、食欲低下や消化管うっ滞が起きていたことを示す所見に併せて盲腸炎、結腸炎がみられたが、特定の感染症を疑う所見は認められなかった。また、給餌していたA社飼料(以下、Diet A)や飲料水の品質検査、微生物学的検査(定期微生物モニタリングおよび糞便の *Clostridioides difficile* 検査)および温湿度、照明、騒音などの飼育環境にも異常はなかった。死亡または一般状態悪化による安楽死動物の発生日は入荷6日目が最も多く、8割以上が入荷5日目から14日目に発生していたことから、これらの動物はブリーダーからの導入後、

飼育環境に適応できず便に異常をきたしていると推察された。

モルモットの下痢の原因として、成書では急激な食餌内容の変更やストレスなどにより腸内環境のバランスが失調することが挙げられている⁴⁾。当施設が動物を購入しているブリーダーではB社飼料(以下、Diet B)を使用しており、動物を導入する際の飼料の変更がモルモットの腸内環境に影響している可能性が考えられた。しかしながら、我々が調べた限りでは、モルモットの輸送ストレスや飼育環境ストレスに関して実験動物においてはいくつかの報告⁵⁻⁷⁾があるものの、これらの報告ではモルモットの糞便の性状について触れているものはなかった。

そこで我々は、入荷動物における飼料の影響を確認するために、Diet AとDiet Bを用いる検討試験を行った。

2. 材料と方法

2.1 実験デザイン

実験デザインを表1に示す。使用動物の性別、週齢および飼育期間は、医療機器の皮膚感作性試験を参考にして設定した。Diet AとDiet Bは入手可能な最新の製造ロットで、かつ同年同月に製造された飼料を使用した。

2.2 飼料

使用したDiet AとDiet Bのそれぞれの製造ロットの粗繊維量、粗タンパク質量、粗脂肪量(%)を表2-1に示す。2つの飼料の粗灰分、水分量に大きな差はなく、いずれの飼料も組成分析、混入物分析および微生物学的検査結果は所定の基準を満たしていた。

2.3 動物および飼育環境

Slc: Hartley 系SPFモルモット29匹を日本エ

1) 安全性試験部 一般試験検査1G
2) 試験管理部 動物飼育管理室

表1 実験デザイン

性別	週齢 (入荷時)	観察期間	飼料	動物数		検査項目
				検疫終了日解剖	観察終了日解剖	
雌	5週齢	36日間	Diet A	3*	10	一般状態観察 体重測定 糞便性状の評価 病理学的検査
			Diet B	3	10	

* 途中(Day 6)死亡1例を含む

表2-1 Diet AおよびDiet Bの飼料組成

	Diet A	Diet B	(参考値)*
粗繊維(%)	14.5	20.2	(15.0)
粗タンパク質(%)	19.0	15.9	(18.0)
粗脂肪(%)	2.9	3.2	(1.3~4.0)

*National Research Council (1995), Nutrient Requirements of the Guinea Pigより

表2-2 飼育環境条件

温度	21.0~25.0℃
湿度	40.0~75.0%
換気	約15回/時間
明暗サイクル	12時間(7時~19時点灯, 19時~7時消灯)
照度	250~600 Lux
騒音	60 dB 以下
臭気	アンモニア濃度 20 ppm 以下
飼育架台	吊り下げ式, タイマー制御による自動水洗
飼育ケージ	金属製金網床ケージ(260W×380D×200H mm), 金属製パンチングボード
飼育密度	検疫期間: 2~3匹/ケージ 飼育期間: 2匹/ケージ
飼料	表 2-1 参照
飲料水	秦野市水道水

スエルシー(静岡, 日本)から入手した(入荷時体重範囲: 260.8~297.2 g)。入荷日(Day 1)に体重別層化無作為抽出法にてDiet A群とDiet B群の2群に分け, 表2-2に示す飼育環境下で検疫と馴化を兼ねて検疫室で7日間飼育した。群分けから除外した3例はDay 1に病理学的検査に供した。検疫7日目(Day 7)に, 体重が軽い順に動物を選抜し(Diet A群2例, Diet B群3例), 病理学的検査に供した。なお, 検疫期間中のDay 6にDiet A群の1例が死亡した(後述)。残りの動物は検疫室から飼育室へ移動させ, それぞれの群でケージ内の同居動物を組み替えて観察終了日(Day 36)まで飼育した。飼育ケージとパンチングボード, 給餌器は1週間に1回の頻度で交換し, 給餌器を交換する際は残餌を廃棄して新しい飼料を給餌した。

2.4 測定・検査

2.4.1 一般状態観察

1日に1回, 動物の一般状態を観察した。

2.4.2 体重測定

Day 1, Day 7, Day 8, Day 15, Day 22, Day 29, Day 36に各動物の体重を測定した。

2.4.3 糞便性状の評価

Day 36の剖検時に結腸下部~直腸の糞便の性状を3段階[硬便(指で押してもつぶれない)/やや軟便(形を保っているが指で押すとつぶれる)/軟便(形が不定形)]で記録した。

2.4.4 病理学的検査

Day 1(入荷日), Day 7(検疫終了日), Day 36(観察終了日)に, 対象動物をセボフルラン吸入麻酔下で放血により安楽死させて剖検を行い, 主要臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定・保存した。胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 腸間膜リンパ節, 肉眼的病変部についてはパラフィン包埋・ヘマトキシリン-エオジン(HE)染色標本を作製して, 病理組織学的に評価し, 併せて代表例の盲腸および結腸のアルシアンブルー-PAS染色標本を作製して杯細胞の染色性を確認した。また入荷日剖検動物1例および観察終了日剖検動物のDiet A群2例, Diet B群1例の盲腸について, ホルマリン固定標本から電子顕微鏡観察用標本を作製して透過型電子顕微鏡で観察した。死亡例については肉眼的観察のみ行い標本の保存は行わなかった。

3. 動物福祉

本動物実験は「動物の愛護及び管理に関する法律」, 「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」, 「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」,

表3 一般状態所見および糞便スコア

Group	Animal No.	Day															Fecal score on Day 36
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15~36	
Diet A	F01008	-	-	-	-	-	D										
	F01009*	-	-	-	-	-	-										
	F01010*	-	-	-	-	-	-										
	F01001	-	-	-	-	-	-										2
	F01002	-	-	-	-	-	-										2
	F01003	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2
	F01004	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	2
	F01005	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	2
	F01006	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1
	F01007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
	F01011	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1
	F01012	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2
	F01013	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2
Diet B	F02014*	-	-	-	-	-	-										
	F02019*	-	-	-	-	-	-										
	F02022*	-	-	-	-	-	-										
	F02015	-	-	-	-	-	-									1	
	F02016	-	-	-	-	-	-									1	
	F02017	-	-	-	-	-	-									1	
	F02018	-	-	-	-	-	-									1	
	F02020	-	-	-	-	-	-									1	
	F02021	-	-	-	-	-	-									1	
	F02023	-	-	-	-	-	-									1	
	F02024	-	-	-	-	-	-									1	
	F02025	-	-	-	-	-	-									1	
	F02026	-	-	-	-	-	-									1	

D, Dead
 -, No abnormality
 +, Soiled fur, perianal
 *: The animals necropsied on Day 7.

Fecal score:
 1, hard
 2, slightly soft
 3, soft

「一般財団法人食品薬品安全センター動物実験に関する指針(機関内規程)」を遵守して実施した(動物実験承認番号：2230020A)。

4. データの解析方法

1) 体重値

Diet A群とDiet B群の各測定日の体重値について、F検定により等分散性を確認し、Studentのt検定を行った(有意水準：5%)。

2) 糞便性状

Diet A群とDiet B群の解剖時の糞便性状をスコア化(硬便：1, やや軟便：2, 軟便：3)し、Wilcoxonの順位和検定を行った(有意水準：5%)。

5. 結果

5.1 一般状態所見

Diet A群ではDay 5まで一般状態に異常は認められなかったが、Day 6に1例死亡した。また、Day 8, Day 9に7/10例で肛門周囲被毛の汚れが認められ、うち2例はDay 11まで所見が継続した。Diet B群は観察期間を通して一般状態に異常は認められなかった(表3)。

5.2 体重推移

Day 8の体重測定において、Diet A群は5/10例(-15.8~-1.3 g), Diet B群は2/10例(-1.4~-1.0 g)でDay 7の測定値より減少したが、その後は順調に増加し、いずれの測定日も群間に統計学的な有意差はなかった(表4)。

5.3 糞便の性状

各個体の糞便スコアを表3に示した。Diet A群

表4 体重推移

		Unit : g							
Group	Animal No.	/Day							
		1	7	8	15	22	29	36	
Diet A	F01008 ^D	281.8	...						
	F01009*	261.5	307.7						
	F01010*	273.6	313.9						
	F01001	276.4	341.1	325.3 (-15.8)	403.0	455.8	502.0	545.6	
	F01002	279.9	336.7	332.5 (-4.2)	415.8	492.0	541.1	601.7	
	F01003	277.5	328.3	336.1	396.9	446.1	492.5	554.9	
	F01004	281.2	329.1	327.8 (-1.3)	407.9	471.1	525.2	554.6	
	F01005	268.3	319.0	324.5	406.4	468.5	525.1	606.1	
	F01006	286.1	331.5	337.3	390.4	446.5	480.1	527.4	
	F01007	288.8	341.8	335.1 (-6.7)	363.1	437.7	484.6	520.7	
	F01011	286.1	373.5	359.8 (-13.7)	441.3	511.3	577.5	637.9	
	F01012	287.1	344.4	352.0	411.1	468.3	527.0	569.2	
	F01013	275.7	326.4	337.4	392.6	443.6	489.6	522.8	
	n	13	12	10	10	10	10	10	
Mean	278.8	332.8	336.8	402.9	464.1	514.5	564.1		
S.D.	7.9	17.1	11.3	20.1	23.4	30.5	39.6		
		Unit : g							
Group	Animal No.	/Day							
		1	7	8	15	22	29	36	
Diet B	F02014*	266.2	317.1						
	F02019*	275.8	322.0						
	F02022*	277.6	320.2						
	F02015	286.8	329.7	335.2	376.0	415.4	456.2	488.0	
	F02016	275.0	330.9	332.2	380.2	436.7	499.1	547.8	
	F02017	279.2	326.1	336.3	384.6	411.0	451.8	487.7	
	F02018	284.1	341.1	347.4	406.3	461.9	515.7	571.9	
	F02020	268.2	329.3	342.3	380.9	414.3	483.0	521.8	
	F02021	276.7	324.7	333.7	388.6	446.5	501.5	531.0	
	F02023	288.3	351.4	350.0 (-1.4)	403.4	478.0	528.2	584.2	
	F02024	282.1	332.7	335.9	382.2	447.1	492.3	527.1	
	F02025	286.3	349.4	348.4 (-1.0)	409.4	462.2	494.8	537.8	
	F02026	281.0	338.8	342.4	402.3	464.9	528.7	581.1	
	n	13	13	10	10	10	10	10	
Mean	279.0	331.8	340.4	391.4	443.8	495.1	537.8		
S.D.	6.8	10.7	6.6	12.6	23.8	26.3	34.5		

D: The animal died on Day 6.

*: The animals necropsied on Day 7.

Figures in parentheses indicate weight loss values.

No significant difference was observed in body weight between the two groups of animals (Student's *t*-test).

は8/10例がやや軟便(スコア2), 2/10例が硬便(スコア1)であった。Diet B群はいずれの動物も硬便(スコア1)であり, 群間に統計学的な有意差があった(有意水準1%)。

5.4 病理学的検査

5.4.1 剖検所見

入荷日(Day 1)剖検例では盲腸の赤色斑(1/3例)が認められた。検疫終了日(Day 7)剖検例ではDiet A群, Diet B群のいずれの動物にも肉眼的な所見は認められなかった。観察終了日

(Day 36)剖検例ではDiet A群に肝臓の白色点(1/10例), 盲腸のガス貯留(1/10例), Diet B群に肝臓の白色点(1/10例)または白色斑(2/10例), 腎臓の白色斑(1/10例), 盲腸の赤色斑(1/10)が認められた。

5.4.2 死亡動物の剖検所見

Diet A群の死亡例では以下の所見(外表: 肛門周囲被毛の汚れ, 背部~下腿部貧毛, 胃: 粘膜赤色調, ガス貯留, 回腸: ガス貯留, 盲腸: ガス貯留, 粘膜赤色調, 内容物泥状, 結腸: 粘

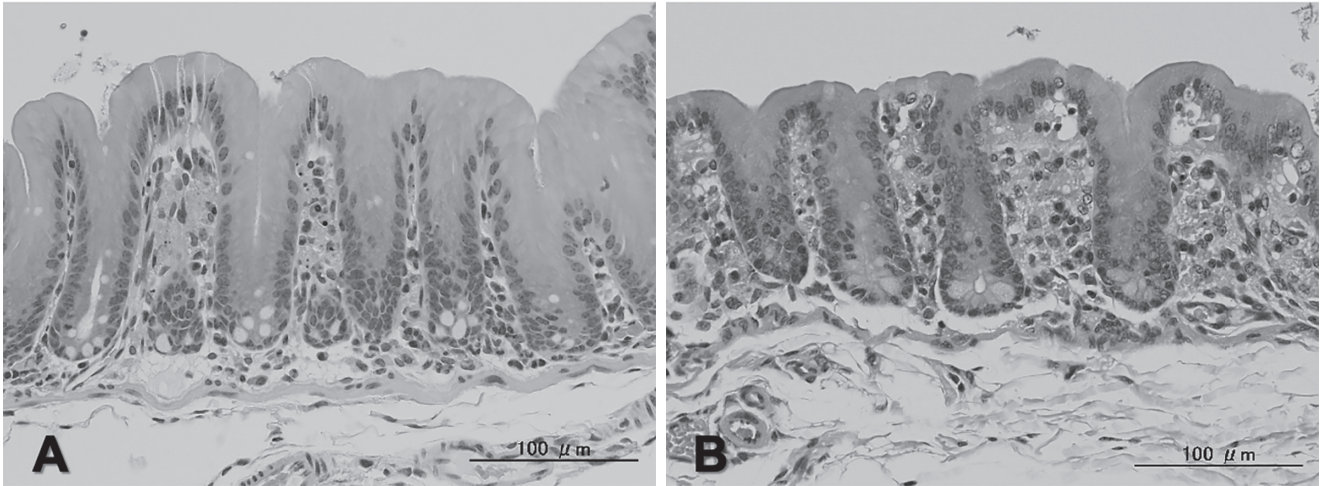


写真1 観察終了日 (Day 36) 剖検例の盲腸粘膜の組織写真。ヘマトキシリン-エオジン染色。A) Diet A群, B) Diet B群。
Diet A群ではDiet B群と比較して吸収上皮細胞の丈が高くなっている。

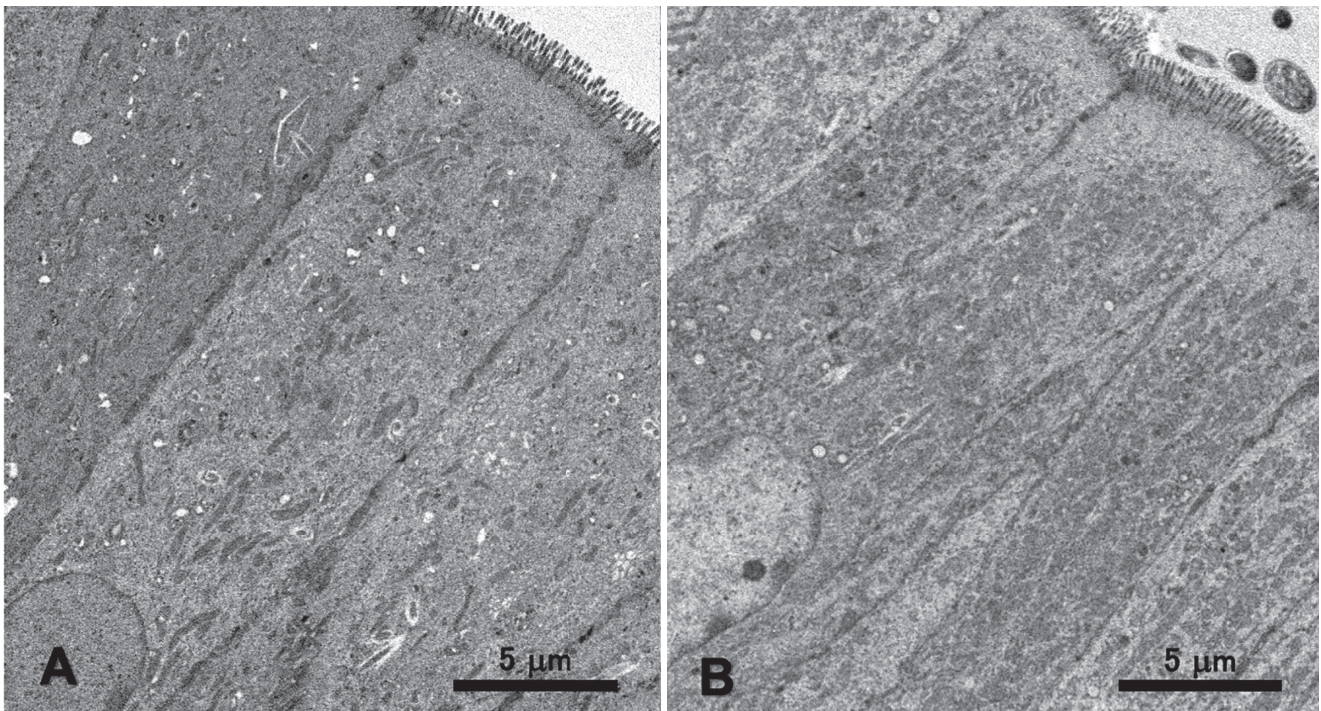


写真2 観察終了日 (Day 36) 剖検例の盲腸粘膜の透過電子顕微鏡写真。A) Diet A群, B) Diet B群。
Diet A群では吸収上皮細胞の核上部の領域が拡大し, 細胞小器官の密度が低下している。

膜赤色調, 肺: 暗赤色斑散在)が認められ, 死因は盲腸・結腸炎と推定された。

5.4.3 病理組織学的所見

Diet A群では検疫終了日 (Day 7) 剖検例, 観察終了日 (Day 36) 剖検例ともに盲腸吸収上皮細胞の丈が高くなっていた (検疫終了日剖検例: 2/2例, 観察終了日剖検例: 6/10例)が, その程度はごく軽度であった (写真1)。盲腸, 結腸組織のアルシアンブルー-PAS染色標本ではDiet

A群とDiet B群に杯細胞の分布や染色性の違いは認められなかった。盲腸組織の透過型電子顕微鏡観察では, Diet A群では吸収上皮の細胞質において核上部領域が拡大し, 細胞小器官の密度が低下していた (写真2)。その他, 盲腸および結腸の粘膜固有層から粘膜下組織にかけて, ごく軽度から軽度の出血や褐色色素沈着が剖検時期や給餌飼料に関係なく認められた。剖検時に認められた盲腸の赤色斑は, 組織学的には粘

膜固有層の出血であった。その他肉眼所見が認められた肝臓と腎臓では、組織学的には限局性の肝細胞壊死と好塩基性尿細管であったが、いずれも自然発生性の変化と考えられた。

6. 考察

Diet A群では、観察期間中に下痢や軟便を示唆する所見である肛門周囲被毛の汚れが認められたが、Diet B群では観察期間を通して異常所見は認められず、糞便の性状をスコア化して評価した結果においても、Diet A群と比べてDiet B群の便は硬かった。

また、ブリーダーで使用している飼料を給餌したDiet B群では、入荷日、検疫終了日、観察期間終了日の各時点で消化管に病理組織学的変化は認められなかったが、Diet A群では、検疫終了日、観察期間終了日に採取した盲腸において、吸収上皮細胞の丈が高くなっており、核上部の領域が拡大して細胞小器官の密度が低下していた。この変化の程度はごく軽度なものであり、病理学的意義は不明であるが、炎症反応や組織傷害は伴っていなかったことから生理的変動内の変化であると考えられ、摂取した飼料による腸内環境の変化を反映したものと推察された。

Diet A群の死亡例においては、ガス貯留を伴う盲腸・結腸炎が認められたが、死亡日が他の動物の一般状態の変化(肛門周囲被毛の汚れ)がおきる時期よりも早く、前日まで一般状態の異常は認められていないことから、この個体においては急激な腸内環境の悪化がおこり、腸管内のガス貯留による循環不全や呼吸不全、下痢により死亡したと考えられた。

その他、病理学的検査では剖検時期や給餌飼料に関係なく盲腸、結腸の粘膜固有層や粘膜下組織に軽度の出血が観察されたが、出血の原因となるものは認められず、自然発生性の偶発所見と考えられた。なお、実験動物のイヌやサルにおいては消化管の粘膜固有層や粘膜下組織の出血は、自然発生性の背景所見として知られている⁸⁾。

実験動物の飼料の栄養基準についてはNational Research Council(NRC)⁹⁾より示されている。それによると、モルモットの飼料中の栄養成分量の目安は粗繊維量は15%、粗タンパク質量は18%

であり、Diet Aの成分割合はNRC基準と同等で、Diet Aの粗繊維量は基準を満たしていた。また、草食動物の消化管内では、腸内細菌による発酵によって繊維質から短鎖脂肪酸が産生されるが、モルモットの近位結腸を用いた*in vitro*研究では、短鎖脂肪酸の種類により腸管の運動性が変わることがわかっている¹⁰⁾。モルモットは繊維質が不足すると軟便になるとの記載が成書³⁾にあるが、Diet A群の軟便については、飼料中の繊維量以外の要素、例えば用いられている原材料なども糞便の性状に関係している可能性があると考えられた。

また、Diet A、Diet Bの両群で、検疫室から飼育室へ移動し、ケージ内の同居動物を組み替えた翌日に体重が減少する動物が認められたが、興味深いことに、Diet B群(2/10例)に比べてDiet A群(5/10例)の方が体重減少した動物が多く、また減少値も高い傾向にあった。今回認められた事象については、飼育室の移動や同居動物の組み替えといった環境変化があった際に、ブリーダーと同じ飼料を与えられたDiet B群に比べて、入荷後に飼料の変更があったDiet A群の方がよりストレスの影響を受けたことを示していると考えられる。

以上のことから、入荷動物の飼育環境への馴化の観点から、ブリーダーで使用している飼料を入荷時から継続してモルモットに与えることが望ましいと考えられた。

7. おわりに

今回の検討結果を踏まえて、当施設ではモルモットの飼料をブリーダーで使用しているものに切り替えた。飼料を切り替えて約1年が経過するが、その後は軟便・下痢等の症状を示す動物は発生していない。

施設に動物を導入する際の飼育環境の変化については、一般的には適切な馴化期間を設ければ実験に影響するような問題とはならないが、試験の再現性や信頼性の確保、また動物福祉の観点からも、動物実験ではストレスの少ない飼育環境下で適切に飼育管理された動物からデータを得ることが重要である。本稿が実験動物の飼育環境における飼料の影響を考える際の一助となれば幸いである。

文献

- 1) Harkness JE, Murray KA, Wagner JE: Biology and diseases of guinea pigs. In: Fox JG, Anderson LC, Loew FM, Quimby FW eds "Laboratory Animal Medicine" 2nd ed. London, Academic Press, 2002. 203-246
- 2) 公益社団法人日本実験動物協会 編：「実験動物の技術と応用 実践編」増補改訂版, 東京：アドスリー, 2021
- 3) Donnelly TM, Cynthia JB: Guinea pig and chinchilla care and husbandry. *Vet Clin Exot Anim.* 2004;7 (2) 351-373
- 4) 三輪恭嗣, 林 典子:「モルモットの診療」エキゾチック臨床シリーズ Vol.15, 東京：学窓社, 2016
- 5) Stemkens-Sevens S, van Berkel K, de Greeuw I, Snoeijer B, Kramer K: The use of radiotelemetry to assess the time needed to acclimatize guineapigs following several hours of ground transport. *Lab Anim.* 2009; 43 (1), 78-84
- 6) Walters SL, Torres-Urbano CJ, Chichester L, Rose RE: The impact of huts on physiological stress: a refinement in post-transport housing of male guineapigs (*Cavia porcellus*). *Lab Anim.* 2012; 46 (3), 220-224
- 7) Giral M, Armengol C, Sánchez-Gómez S, Gavaldà A: Effects of changing to individually ventilated caging on guinea pigs (*Cavia porcellus*). *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2015; 54 (3), 267-272
- 8) 日本毒性病理学会 編「新毒性病理組織学」東京：西村書店, 2017
- 9) National Research Council, Committee on Animal Nutrition, and Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. "Nutrient requirements of laboratory animals" 4th ed. Washington, DC: National Academy Press, 1995.
- 10) Hurst NR, Kendig DM, Murthy KS, Grider JR. The short chain fatty acids, butyrate and propionate, have differential effects on the motility of the guinea pig colon. *Neurogastroenterol Motil.* 2014;26 (11):1586-1596