

# Global Alliance for Laboratory Animal Standardization(GALAS)について - Wistar Hannover GALASラット -



**G**lobal  
**A**lliance for  
**L**aboratory  
**A**nimal  
**S**tandardization

## はじめに

一般に医薬品開発における安全性試験やがん原性試験にはアウトブリード(クローズドコロニー)のげっ歯類が主に使用されます。現在一般的に利用されているストックでは遺伝的浮動(genetic drift)が発生するため、時間や世代の経過に伴う体重の増加や生存率の低下等の現象が見られがちです。また、世界的に入手可能でかつ均一条件下で生産された単一のストックモデルが少ないため、各国の規制当局間でのデータ比較の妨げとなっています。そのため、一貫性のあるバイオアッセイデータに基づいた危険性の分析を行うことが困難で、結果的に新医薬品の承認に時間を要することになります。

一方、医薬品の承認審査資料のハーモナイゼーションを図っているICH(International Conference on Harmonisation)

では、データの国際的な相互受入れを実現することにより承認審査の迅速化と研究開発を促進することを提唱しています。これらの現状に対応するため1998年10月、日本クレア株式会社とRCC Ltd.(スイス)、M&B A/S(デンマーク)、Taconic Farms, Inc.(アメリカ)の4社は、財団法人 実験動物中央研究所(以後、実中研)の協力を得て、"Global Alliance for Laboratory Animal Standardization:GALAS™(実験動物標準化のための世界協定)"を締結しました。GALASの目標は毒性・薬理学分野の安全性試験に使用できるアウトブリードストックの国際標準化を進め、同一基準の生産・供給体制に基づいた高品質の実験動物を世界的に安定供給することにあります。

# Wistar Hannover GALASラット

Wistar Hannover GALASラットはGALASが提唱する最初の国際標準化アウトブリードストックです。

Wistar Hannoverラットは主に欧州において従来から安全性試験等に用いられており、特に2年間のがん原性試験等の長期試験や生殖試験に好適です。無制限給餌でも比較的体重の増加が少なく、2年間の生存率は雌雄共に75%を超えています。また、受託研究機関であるRCC Ltd.ではWistar Hannoverラットに関するコントロールデータをほぼ20年間に渡り蓄積しており(表-1.)、同機関で生産されたWistar Hannoverラットを用いた2年間試験により、ストック特性の安定性が確認されています。

表-1.Wistar Hannover GALASラット2年間試験および繁殖試験データ (RCC Ltd. '81-'98)

- Body weight,survival rates,food consumption
- Clinical Biochemistry,hematology,urinalysis
- Malformation rates in reproduction studies
- Spontaneous abnormal findings
- Non-neoplastic findings( Pre-103 Weeks of Study )
- Non-neoplastic findings( Post-103 Weeks of Study )
- Neoplastic findings( Pre-103 Weeks of Study )
- Neoplastic findings( Post-103 Weeks of Study )
- Reproduction study data

## 由来

Wistar Hannover GALASラットはZentral- institut fur Versuchstierzucht (Hannover,ドイツ)のHan:WISTに由来します。'89年ZfVから156ペアがスイスのInstitute for Biomedical Research (IBM)へ導入されました(IBMはその後、BRL Ltd.、RCC Ltd.へと組織変更(改名)され現在へ)。'98年末以降、RCC Ltd.からペディグリード付の50ペア以上のBriHan:WISTラットが各GALASメンバーに分与され、Wistar Hannover GALASラットの種動物とされました。



## 日本クレアにおける背景データの収集(富士生育場)

現在、自社コロニーの生産動物における各種背景データ[体重(図-1.)・血清(漿)生化学値(表-1.)・血液性状(表-2.)・臓器重量・生殖データ(表-3.)・病理組織学所見・繁殖・自然発生奇形等]の採取を進めており、一部のデータにつきましては既に「BriHan:WIST@Jcl (GALAS)ラットデータ集。」として発行されております。その他のデータについても随時、公開する予定です。

図-1.BriHan:WIST@Jcl (GALAS)ラット体重曲線(52週齢)

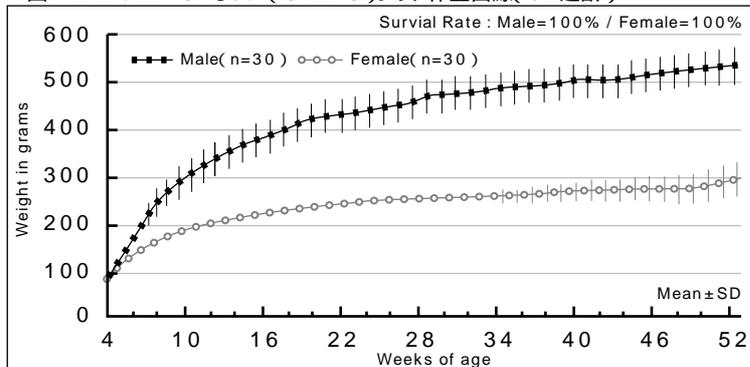


表-2.BrIHan:WIST@JcI( GALAS )ラット血清( 漿 )生化学値

採血:24時間絶食( 飲水自由摂取 )後、腹大動脈より採血。

Items	Unit	5 weeks( n=10 )		10 weeks( n=10 )	
		Male	Female	Male	Female
GPT	( U/l )	39.0 ± 6.4	32.0 ± 7.0	40.2 ± 5.3	32.3 ± 8.9
GOT*1	( U/l )	89.4 ± 15.3	86.3 ± 12.6	75.9 ± 14.4	83.7 ± 40.6
ALP	( U/l )	279.8 ± 48.9	222.7 ± 24.4	154.8 ± 31.1	84.8 ± 14.7
LDH*1	( U/l )	118.7 ± 29.4	112.7 ± 23.7	94.8 ± 23.5	100.5 ± 18.7
LAP	( U/l )	76.9 ± 3.2	76.0 ± 5.9	75.9 ± 5.9	68.3 ± 6.1
ChE	( IU/l )	53.0 ± 9.6	74.4 ± 20.1	38.0 ± 42.4*2	159.6 ± 71.4
CPK*1	( U/l )	327.5 ± 66.8	268.3 ± 57.8	153.1 ± 26.2	114.3 ± 26.9
Glucose*1	( mg/dl )	114.1 ± 20.0	95.7 ± 9.1	157.6 ± 28.3	124.1 ± 19.0
TC	( mg/dl )	55.0 ± 5.4	53.0 ± 4.5	42.2 ± 5.4	33.5 ± 8.4
PL	( mg/dl )	171.2 ± 13.4	179.1 ± 19.3	151.5 ± 12.6	165.8 ± 34.1
TG	( mg/dl )	125.1 ± 23.0	113.1 ± 30.2	103.0 ± 25.8	55.1 ± 13.7
NEFA	( mEq/l )	1.2 ± 0.3	1.1 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
Ca	( mg/dl )	10.30 ± 0.45	10.51 ± 0.35	11.12 ± 0.82	11.00 ± 0.43
Na	( mmol/l )	132.7 ± 2.4	133.8 ± 2.3	138.4 ± 2.1	137.0 ± 3.4
K	( mmol/l )	4.54 ± 0.27	4.46 ± 0.18	4.34 ± 0.28	3.94 ± 0.29
Cl	( mmol/l )	103.1 ± 1.9	104.7 ± 1.8	104.9 ± 1.2	107.4 ± 2.2
IP	( mg/dl )	9.92 ± 0.78	9.91 ± 0.95	8.36 ± 0.49	7.86 ± 1.04
Bilirubin	( mg/dl )	0.12 ± 0.03	0.08 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.02
BUN	( mg/dl )	25.54 ± 3.89	24.56 ± 3.94	26.45 ± 1.93	25.35 ± 2.88
Creatinine	( mg/dl )	0.5 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.1
TP	( g/dl )	5.85 ± 0.22	5.87 ± 0.22	7.13 ± 0.55	7.35 ± 0.61
A/G		1.55 ± 0.08	1.59 ± 0.14	1.20 ± 0.07	1.22 ± 0.08
Albumin	( % )	60.84 ± 1.25	60.72 ± 2.63	54.52 ± 1.34	54.80 ± 1.72
1-G	( % )	16.56 ± 0.72	15.62 ± 0.93	20.39 ± 1.45	19.88 ± 1.20
2-G	( % )	6.32 ± 1.04	5.92 ± 1.19	7.56 ± 0.67	6.43 ± 0.68
-G	( % )	13.75 ± 1.18	14.17 ± 1.56	14.54 ± 0.56	15.05 ± 1.22
-G	( % )	2.5 ± 0.8	3.6 ± 2.1	3.0 ± 0.4	3.8 ± 0.9
Albumin	( mg/dl )	3530.8 ± 121.7	3525.9 ± 227.5	3888.0 ± 311.9	4031.2 ± 393.0
1-G	( mg/dl )	961.3 ± 53.9	907.5 ± 76.8	1450.2 ± 98.7	1463.3 ± 165.2
2-G	( mg/dl )	367.1 ± 63.8	344.1 ± 73.4	541.8 ± 85.0	472.3 ± 59.9
-G	( mg/dl )	798.7 ± 81.4	822.0 ± 90.2	1038.0 ± 100.8	1106.1 ± 125.4
-G	( mg/dl )	147.1 ± 48.5	205.4 ± 112.1	214.0 ± 39.9	278.1 ± 44.3
		18 weeks( n=10 )		31 weeks( n=10 )	
Items	Unit	Male	Female	Male	Female
GPT	( U/l )	38.7 ± 5.6	31.4 ± 5.8	44.5 ± 6.7	43.0 ± 19.8
GOT*1	( U/l )	74.8 ± 10.0	77.6 ± 17.9	65.7 ± 9.4	69.9 ± 27.0
ALP	( U/l )	108.7 ± 25.7	38.3 ± 7.7	94.4 ± 18.8	28.7 ± 7.9
LDH*1	( U/l )	113.2 ± 18.9	146.8 ± 80.9	124.2 ± 42.3	163.1 ± 171.6
LAP	( U/l )	76.5 ± 7.5	60.6 ± 5.7	65.0 ± 5.7	56.2 ± 5.8
ChE	( IU/l )	18.4 ± 5.3	408.3 ± 94.3	36.3 ± 21.3	590.0 ± 147.5
CPK*1	( U/l )	105.0 ± 17.1	155.6 ± 177.5	124.1 ± 36.9	101.2 ± 68.2
Glucose*1	( mg/dl )	182.4 ± 18.9	128.3 ± 13.7	139.0 ± 16.7	115.3 ± 11.3
TC	( mg/dl )	51.4 ± 12.9	40.1 ± 9.2	57.7 ± 6.0	52.7 ± 11.2
PL	( mg/dl )	190.5 ± 40.4	180.3 ± 31.9	185.6 ± 18.5	205.9 ± 38.3
TG	( mg/dl )	125.9 ± 50.1	60.5 ± 19.0	124.9 ± 40.3	55.4 ± 12.4
NEFA	( mEq/l )	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.1
Ca	( mg/dl )	11.11 ± 0.31	10.38 ± 0.33	11.46 ± 0.60	11.21 ± 0.64
Na	( mmol/l )	141.8 ± 2.5	140.1 ± 3.0	142.1 ± 6.8	141.7 ± 4.0
K	( mmol/l )	4.35 ± 0.33	4.07 ± 0.26	4.38 ± 0.28	3.80 ± 0.29
Cl	( mmol/l )	104.4 ± 1.2	106.0 ± 2.1	102.2 ± 3.8	103.2 ± 3.2
IP	( mg/dl )	6.39 ± 0.92	6.37 ± 0.63	5.74 ± 0.94	5.65 ± 1.27
Bilirubin	( mg/dl )	0.11 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.06 ± 0.02	0.08 ± 0.03
BUN	( mg/dl )	22.95 ± 3.23	21.66 ± 1.89	22.62 ± 2.63	24.30 ± 2.36
Creatinine	( mg/dl )	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.0	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
TP	( g/dl )	7.88 ± 0.53	7.48 ± 0.38	7.57 ± 0.46	7.35 ± 0.77
A/G		1.05 ± 0.05	1.18 ± 0.06	0.95 ± 0.05	1.18 ± 0.09
Albumin	( % )	51.15 ± 1.28	54.14 ± 1.29	48.81 ± 1.36	54.09 ± 1.87
1-G	( % )	19.33 ± 0.98	18.73 ± 1.12	21.40 ± 1.54	18.66 ± 1.43
2-G	( % )	7.30 ± 1.33	5.82 ± 0.55	6.64 ± 1.39	5.04 ± 1.29
-G	( % )	17.10 ± 0.39	14.69 ± 0.97	18.79 ± 0.71	15.52 ± 1.43
-G	( % )	5.1 ± 0.5	6.6 ± 0.8	4.4 ± 0.8	6.7 ± 1.0
Albumin	( mg/dl )	4027.2 ± 256.3	4049.7 ± 247.9	3692.7 ± 234.3	3977.7 ± 440.7
1-G	( mg/dl )	1525.8 ± 170.1	1402.3 ± 131.5	1617.7 ± 133.3	1375.9 ± 203.3
2-G	( mg/dl )	572.3 ± 98.1	434.8 ± 40.5	505.4 ± 126.6	374.6 ± 106.3
-G	( mg/dl )	1347.7 ± 107.2	1096.8 ± 64.0	1421.5 ± 93.8	1137.5 ± 136.9
-G	( mg/dl )	404.0 ± 56.8	494.4 ± 58.3	336.0 ± 65.8	488.3 ± 66.1

\*1 ヘパリン加血漿で測定

\*2 n=2( 8/10検体は測定エラー )

		5 weeks( n=10 )		10 weeks( n=10 )	
Items	Unit	Male	Female	Male	Female
RBC	( 10 <sup>4</sup> /μl )	629 ± 26	626 ± 24	903 ± 27	819 ± 24
Hgb	( g/dl )	13.2 ± 0.6	13.2 ± 0.4	16.9 ± 0.5	15.9 ± 0.4
Hct	( % )	42.6 ± 3.5	40.6 ± 1.4	52.7 ± 1.7	48.3 ± 2.4
MCV	( fl )	67.6 ± 3.4	64.9 ± 2.3	58.5 ± 0.8	59.0 ± 1.8
MCH	( pg )	21.0 ± 0.6	21.1 ± 0.7	18.7 ± 0.4	19.4 ± 0.5
MCHC	( g/dl )	31.1 ± 1.3	32.6 ± 0.3	32.0 ± 0.7	33.0 ± 1.3
WBC	( 10 <sup>2</sup> /μl )	63 ± 14	56 ± 11	75 ± 21	66 ± 9
Plat.	( 10 <sup>4</sup> /μl )	121.4 ± 15.1	109.7 ± 17.4	99.2 ± 10.9	101.0 ± 11.3
RDW	( fl )	35.2 ± 1.6	32.4 ± 2.2	27.1 ± 0.9	25.7 ± 0.8
PDW	( fl )	7.6 ± 0.3	7.7 ± 0.3	8.5 ± 0.4	8.6 ± 0.6
MPV	( fl )	7.5 ± 0.2	7.5 ± 0.2	8.0 ± 0.3	8.1 ± 0.3
		18 weeks( n=10 )		31 weeks( n=10 )	
Items	Unit	Male	Female	Male	Female
RBC	( 10 <sup>4</sup> /μl )	983 ± 45	874 ± 25	1016 ± 51	910 ± 46
Hgb	( g/dl )	16.9 ± 0.6	16.3 ± 0.4	17.2 ± 0.3	16.6 ± 0.5
Hct	( % )	53.1 ± 2.3	49.7 ± 1.4	54.5 ± 2.0	51.9 ± 2.2
MCV	( fl )	54.1 ± 1.5	56.9 ± 1.1	53.7 ± 1.5	57.1 ± 1.9
MCH	( pg )	17.2 ± 0.5	18.6 ± 0.4	16.9 ± 0.8	18.3 ± 0.9
MCHC	( g/dl )	31.9 ± 0.7	32.7 ± 0.5	31.5 ± 1.2	32.0 ± 0.9
WBC	( 10 <sup>2</sup> /μl )	80 ± 19	70 ± 16	77 ± 26	49 ± 4
Plat.	( 10 <sup>4</sup> /μl )	97.5 ± 8.8	102.5 ± 13.9	94.1 ± 8.0	100.1 ± 11.0
RDW	( fl )	25.6 ± 0.6	24.6 ± 0.6	25.8 ± 0.5	25.4 ± 0.6
PDW	( fl )	8.3 ± 0.2	8.3 ± 0.6	7.9 ± 0.5	7.7 ± 0.3
MPV	( fl )	7.9 ± 0.1	8.0 ± 0.4	7.7 ± 0.3	7.6 ± 0.2

表-4.BrIHan:WIST@Jc( GALAS )ラット生殖データ 交配週齢:10 ~ 11 weeks / 屠殺:妊娠20日

N0. of pregnant females		20	
Items		Mean	SD
B.W. of pregnant females (g)		297.8	± 26.5
No. of corpus luteum of pregnancy	Total	13.4	± 1.6
	L	6.3	± 1.8
	R	7.1	± 1.6
No. of implantation	Total	12.1	± 1.7
	L	5.8	± 1.6
	R	6.3	± 1.6
No. of live fetuses	Total	11.5	± 1.8
	L	5.5	± 1.7
	R	6.1	± 1.6
No. of dead fetuses	Total	0.6	± 0.7
	L	0.3	± 0.6
	R	0.3	± 0.6
Sex of fetuses	Male	6.0	± 1.8
	Female	5.6	± 1.7
BW of fetuses (g)		3.7	± 0.5
Weight of placenta (g)		0.4	± 0.0

# Wistar Hannover GALASラット

## 生産のためのGALASスタンダード

### 遺伝的モニタリング

GALASは実中研と協議の上で、各Wistar Hannover GALASコロニーの遺伝的な検定およびモニタリングに関する包括的なプログラムを作成しました。まずRCCコロニーの動物について、9個の染色体上の17遺伝子座における多型性の頻度(polymorphism frequency)を検査することによりWistar Hannover GALASラットの遺伝的プロフィールを決定しました。この遺伝的プロフィールと適合していることを検定するために分与後の各GALASコロニーからサンプルを採取し、そのプロフィールが維持されていることを確認しました。また、各GALASコロニーから毎年サンプルを採取して、遺伝的プロフィールの特性が各集団内で保持されていることを検証するための定期的なモニタリングを行います。

### 環境パラメーター

各GALASコロニーは、最良のバリア環境下で維持されており、ケージング、室温、換気、床敷素材、ケージ交換、飼料などの各種パラメーターを記録して動物使用者らが利用できるようにします。コロニー間における地域法や地域毎の習慣・手段の相違のため、環境パラメーターの総合的なハーモナイゼーションは困難ですが、各メンバーにおいて相違を最小限とすべく改善していきます。これら各メンバーの環境パラメーターに関する情報は文書化し、動物使用者に対して開示していく方針で

### 生理的モニタリング

各GALASコロニーの遺伝的、環境的、微生物学的標準化により、一貫性のある実験動物の特性と反応性が得られると考えられ、それを検証するために基礎的な生理パラメーター(例;成長率、リッターサイズ等)は標準化された手順によって監視します。これらのデータはこの動物モデルの安定性を検証するためにコロニー間、および経時的な比較を行います。

### Genetic driftの予防

Genetic driftの発生を予防するためにRCC GALASコロニーの胚を毎年凍結保存し、定期的にサンプルを蘇生させてコロニーに導入します。各コロニーで100以上のブリーディングペアを維持するローテーション交配方法により、近交化を最小に抑え、コロニー内における遺伝的プールを大きく維持することができます。また、定期的にオリジナルのソースコロニーまたは凍結胚より得た新しい動物を用いて、各GALASコロニーを"再スタート"することを可能としています。

### 微生物モニタリング

各GALASコロニーでは、少なくとも四半期毎に試験動物の反応に影響を及ぼす可能性のある特定の病原体、および日和見感染微生物についてモニタリングを行います。毎年、各コロニーのサンプルを独立した検査機関(ICLASモニタリングセンター)に提出して総合的な評価を行います。これらの結果は使用者に公表されるため、試験動物の微生物学的状態を正確に記録することができます。

### 供給体制と表記名称について

GALASでは、同じ遺伝的プロフィールを持つ動物を世界的に供給するために、各メンバーが分担して生産・供給を行うと共に、緊急の場合の相互供給も可能としています。また、動物の生産コロニーを明示するために系統名は"@施設コード(GALAS)"を付けて表記されます。

# おわりに

この度締結されたGALASの協定は、安全性試験に使用できるアウトブリードの国際的な標準化システムを作出するための第一歩になるとともに、医薬品開発におけるより一層のハーモナイゼーションを促進するものと期待しております。

(T. Suetake)

## GALASコロニーの担当地域

担当地域	生産コロニー	系統名
アジア・オーストラリア地域	日本クレア株式会社 www.clea-japan.co.jp	BrlHan:WIST@Jcl( GALAS )
南部ヨーロッパ地域	RCC Ltd. www.rcc.ch	BrlHan:WIST@Brl( GALAS )
北部ヨーロッパ地域	M&B A/S www.m-b.dk	BrlHan:WIST@Mol( GALAS )
南北アメリカ地域	Taconic Farms, Inc. www.taconic.com	BrlHan:WIST@Tac( GALAS )

