

SPF フェレットの生産と微生物管理

安倍 宏明¹

Bambi Jasmin²

¹ マーシャル・バイオリソース・ジャパン株式会社

² Marshall BioResources

要 約

実験動物としてのフェレットは100年以上の歴史をもつ。ヒトやトリ・ブタのインフルエンザウイルスに感受性があるため、1920年ころからインフルエンザのウイルス研究に、それ以後は種々のウイルス感染症、最近ではSARSやCovid-19のコロナウイルス研究にも使われている。フェレットの呼吸器や消化器はヒトのそれらと類似性があると言われ、また中動物としてのイヌの代替として、フェレットは嚢胞性線維症・心臓血管系・神経発生・嘔吐・下痢などの研究にも使われる。実験用フェレットは、ジステンパーウイルスなど自然感染する病原体のほか、上記研究に用いられるヒト等の病原体にも感染していないことが求められる。本稿では、実験用フェレットの概要と、SPF フェレットの生産ならびに微生物管理について述べる。

1. 始めに

日本においてフェレットは、実験動物としてなじみが低く、ペットとしては人気があるものの、まだフェレットそのものを見たことがない方も多いかもしれない。フェレットは食肉目イタチ科に属し、ミンク、スカンク、カワウソなどと近縁の動物である。米国原産の実験用フェレットは学名 *Mustela putorius furo* であり、由来はヨーロッパケナガイタチ (*Mustela putorius*) またはステップケナガイタチ (*Mustela eversmanni*) と言われている [1, 2, 3]。

当社はフェレット (図1) を米国ニューヨーク州北西部にて1939年より繁殖を開始し、SPF フェレットは2014年より英国、2015年より米国にて生産している。

フェレットは、1900年代には既に実験に使用されていたらしい [4]。フェレットは多くのウイルス感染症研究に用いられ、またヒトの呼吸器や消化器と



図1 マーシャルフェレット

の類似性があることや、あるいは中動物としてのイヌの代替として、嚢胞性線維症・心臓血管系・神経発生・嘔吐・下痢などの基礎研究のモデル動物として使用されてきた [2, 3, 5, 6]。フェレットは季節性のヒトやトリ、ブタのインフルエンザウイルスに感染して咳症状、微熱などの症状を呈することが知られ、インフルエンザ研究については1920年代から論文が発表されている [4]。またジステンパーウイルス感受性が高いことからジステンパーの研究 [3, 7, 8]、SARSやMERSウイルスを含め種々のウイルス感染症研究 [3, 7] に使われてきたほか、2021年現在、パンデミックとして広がるCovid-19病原体SARS-CoV-2に対して感受性が認められ、論文発表も続いている [9, 10]。

2. フェレットの生態・生理 [1, 2, 3]

フェレットは社交性が高く、好奇心が旺盛な動物である。このため、様々な知育エンリッチメントを好む。また、ハンティングで利用されてきた習性の通り、穴やトンネルを好み、そしてよく寝る動物であるため、ハンモックなどのエンリッチメントもよく使用される。

妊娠期間は 41 ± 1 日であり、誕生時8-10g、離乳は6週令となる。歯は生後14日齢に生え始め、4-5週令までには固形食を食べ始める。耳や目は30日令以降に開き始める。雌雄で大きさの異なる性的2形成の動物種となる (図2)。



図2 2歳令のフェレット。
オス(右)の方がメス(左)より大きい。

心拍数 200–300 回/分, 呼吸数 30–40 回/分であり, 平均寿命は 5–8 歳, 体温は 37.7–39℃となる。寿命は 5–7 歳である。

性成熟は 5–7 カ月令であり, 雌は成熟後, 交配しなければ, 高エストロゲン症となり, 重度の骨髄抑制を起こすため, 実験動物においても避妊手術を行うことがある。

3. フェレットの実験手技情報, ゲノム情報と遺伝子改変

実験用フェレットを用いる実験手技についてはすぐれた総説が存在している [2, 3, 5]。実験用フェレットの全ゲノム配列は 2014 年に決定された [11, 12]。それに先立つ 2008 年にはアデノ随伴ウイルスを利用した嚢胞性線維症関連 CFTR 遺伝子ノックアウトフェレットの報告 [13] もあり, 実験用フェレットを対象とした基本的な実験手技や遺伝子情報は揃っている。

4. 施設管理

当社の米国施設は AAALC 認証を受け, 英国施設は国内法に準拠し, ISO 9001:2008 を取得している。飼育室は 18–21℃にて管理を行い, 明暗を 10 時間, 14 時間にて行い, 繁殖エリアでは 16 時間, 10 時間に設定している。

従業員はバリアルームにはウェットシャワーを通じて入り, 室内では個人防護具 (PPE) および個別空気清浄呼吸器 (Stryker Flyte), PAPR ヘルメット,

N95 マスクを着用する。従業員の施設間移動には制限を設け, SPF フェレットの従事者には毎年, インフルエンザワクチンの接種を行っている。

飼育エリアには HEPA フィルターおよび UV 照射した空気を 10 回/時間強制換気させており, 部屋ごとにエアロックを設け, 電子または磁気での入退室管理している。施設外からの搬入品は塩素系消毒剤または過酸化水素ガスを用いて消毒する。

動物飼育は 3 層に連なるケージにて群飼育を行っている。ケージ内には床敷を入れた寝床を設けており, 穴掘り, 潜り込み, 寝る行為を促している。また, ハンモックや玩具などの環境エンリッチメントは適宜提供している。

5. 微生物管理

フェレットに感染するウイルス [3, 7, 8] には, パルボウイルス科のアリエンシアン病ウイルス (ADV) [14], パラミクソウイルス科のイヌジステンパーウイルス (CDV) (イヌモルビリウイルス), コロナウイルス科のフェレットコロナウイルス (腸管型), ラブドウイルス科の狂犬病ウイルス, レオウイルス科のロタウイルス A, そしてオルソミクソウイルス科のヒト・トリ・プタインフルエンザウイルスなどがある。

当社の SPF フェレットでは, ウイルスとしてインフルエンザウイルス, 寄生虫・原虫としてジアルジア, コクシジウム, 耳ダニを SPF 項目としており, 臨床症状を観察して健康の維持管理を行っている。

インフルエンザウイルス検査においては, 現在 4 株 (B/Phuket/3073/2013, B/Washington/02/2019, A/Tasmania/503/2020V1, A/Vitorial/1/2020 V7) の季節性インフルエンザ株を定期検査し, 陰性を維持している。SPF 対象外の病原体では, ADV, フェレットコロナウイルス (腸管型), ロタウイルス A を検査しているが, フェレットコロナウイルス (腸管型) は現在, 全例で陽性が確認できているため定期検査から除外している (注: フェレットコロナウイルス (腸管型) はアルファコロナウイルス属のウイルスで, SARS や Covid-19 の原因となるコロナウイルス (ベータコロナウイルス属) とは異なる)。なお, CDV と狂犬病ウイルスに対してはワクチンを接種している。

細菌では気管支敗血症菌 (*Bordetella bronchiseptica*) およびキャンピロバクター属, ヘリコバクター属, ローソニア (*Lawsonia intracellularis*), パストレラ・マルトシーダ (*Pasteurella multocida*), サルモネラ属菌, 黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*), エルシニア属菌の検査を実施しており, 黄色ブドウ球菌は陽性例が認められる。

寄生虫はコクシジウムおよび犬糸状虫, 耳ダニを, 原虫では小形クリプトスポリジウムを検査している。

以上の検査は当社米国および英国施設、ブルークロス動物病院、ミシガン州立大学、コーネル大学、米国チャールス・リバー社にて実施し、4回/年の最新レポートを公開している [15]。

表1に当社で行っている各検査項目の概要、図3に2021年第3四半期の検査レポートの概略を示す。

6. 出荷・配送

当社では、希望があれば研究用途に応じて去勢、避妊手術（卵巣および子宮摘出）、臭腺摘出を当社内で実施している。SPFグレードを求める場合にはフィルター付輸送箱（図4）を用いるものの、夏場は温度ストレスにより動物へのダメージが懸念されることからフィルターのない輸送箱（図5）を用いる。配送は国際運送協会（IATA：International Air Transportation

表1 マーシャル・バイオリソースで行っているフェレットの微生物モニタリング概要

Agents	Test Methods	Specimen	Laboratories
Viral infections			
Aleutians mink disease virus (ADV)	PCR	Blood	Blue Cross Animal Hospital
Canine distemper virus (CDV)	<vaccinated>**		
Ferret coronavirus (enteric)	PCR		Not applicable***
Rabies virus	<vaccinated>**		
Rotavirus A	PCR	Fecal	Michigan state University
Human influenza*			
B/Phuket/3073/2013	HAI	Blood	Marshall UK Laboratories
B/Washington/02/2019	HAI	Blood	Marshall UK Laboratories
A/Tasmania/503/2020 V1	HAI	Blood	Marshall UK Laboratories
A/Victoria/1/2020 V7	HAI	Blood	Marshall UK Laboratories
Bacterial infections			
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Culture	Pharyngeal/nasal swab	Cornell University
<i>Campylobacter</i> species	Culture	Rectal swab	Cornell University
<i>Helicobacter</i> species	PCR	Fecal	Charles River Research Animal Diagnostic Services
<i>Lawsonia intracellularis</i>	PCR	Blood	Charles River Research Animal Diagnostic Services
<i>Pasteurella multocida</i>	Culture	Pharyngeal swab	Cornell University
<i>Salmonella</i> species	Culture	Rectal swab	Cornell University
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	Rectal swab	Cornell University
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Culture	Rectal swab	Cornell University
Parasitological infections			
Coccidia	Sodium nitrate	Fecal	In house
<i>Dirofilaria immitis</i>	Snap 4Dx	Blood	In house
<i>Otodectes cynotis</i>	Microscopy		In house
Protozoan parasites			
<i>Cryptosporidium parvum</i>	PCR	Fecal	Cornell University
<i>Giardia</i>	Zinc sulfate	Fecal	In house

* インフルエンザ株については、過去に A/Switzerland/9715293/2013(H3N2) などについて検査し、陰性であった。詳細は、当社の Health Monitoring Report に記載している。Influenza-Free Ferret Health Monitoring (marshallbio.com)。

** ワクチンプログラムや使用ワクチンの概要は、当社の Health Monitoring Report に記載している。

*** フェレットコロナウイルス（腸管型）は、現在のところ全例で陽性のため、検査を停止している。



Health Monitoring Report

Name and address of the breeder: Marshall BioResources, North Rose NY

Date of issue: October 2021

Unit: R1

Collection date: Quarter 3, 2021

Species: *Mustela putorius furo*

Breed: Ferret

Populated: November 2015

	CUMULATIVE RESULTS	CURRENT TEST RESULTS	LABF	METHOD
<u>VIRAL INFECTIONS</u>				
Aleutians	0/156	0/10	Blue Cross	PCR (Blood)
Canine Distemper Virus	Vaccinated†	Vaccinated†		
Ferret Coronavirus (Enteric)	36/36	NE	NA	PCR
Rabies Virus	Vaccinated†	Vaccinated†		
Rotavirus A	0/156	0/10	MSU	PCR (Fecal)
<u>Human Influenza (Current Circulating Strains) *</u>				
B/Phuket/3073/2013	0/1196	0/15	MUK	HAI (Blood)
B/Washington/02/2019	0/150	0/15	MUK	HAI (Blood)
A/Tasmania/503/2020 V1	0/60	0/15	MUK	HAI (Blood)
A/Victoria/1/2020 V7	0/60	0/15	MUK	HAI (Blood)
<u>BACTERIAL INFECTIONS</u>				
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0/235	0/10	Cornell	Culture (Pharyngeal/Nasal Swab)
<i>Campylobacter</i> species	0/281	0/10	Cornell	Culture (Rectal Swab)
<i>Helicobacter</i> species	0/281	0/10	CRL	PCR (Fecal)
<i>Lawsonia intracellularis</i>	0/281	0/10	CRL	PCR (Blood)
<i>Pasteurella multocida</i>	0/245	0/10	Cornell	Culture (Pharyngeal Swab)
<i>Salmonella</i> species	0/281	0/10	Cornell	Culture (Rectal Swab)
<i>Staphylococcus aureus</i>	28/245	0/10	Cornell	Culture (Rectal Swab)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0/245	0/10	Cornell	Culture (Rectal Swab)
<u>PARASITOLOGICAL INFECTIONS</u>				
Coccidia	0/1641	0/10	In House	Sodium Nitrate (Fecal)
<i>Dirofilaria immitis</i>	0/120	0/10	In House	Snap 4Dx (Blood)
<i>Otodectes cynotis</i>	0/895	0/10	In House	Microscopy
Protozoan Parasites:				
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/120	0/10	Cornell	PCR (Fecal)
<i>Giardia</i>	0/230	0/10	In House	Zinc Sulfate (Fecal)

図3 微生物検査成績書抜粋(2021年第3四半期版)



図4 フィルター付輸送箱

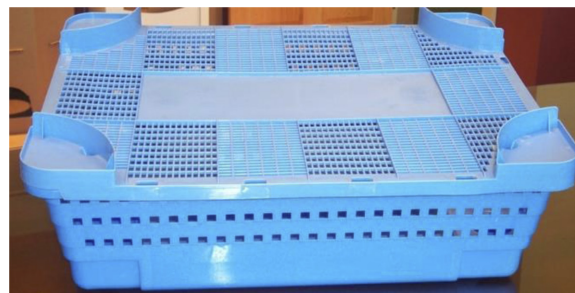


図5 フィルターなし輸送箱

Association) に準拠し、また陸送は空調車を使用してストレスの軽減を図り、納品まで可能な限り速やかに行っている。

7. まとめ

ここまで実験用フェレットの簡単な紹介と、微生物管理について述べた。以上の情報が感染症領域をはじめフェレットを用いる生物・医学研究領域における研究の進展に役に立つようであれば幸いである。

参考文献

1. Ball, R. S. 2002. Husbandry and management of domestic ferret. *Lab. Anim. (NY)*. 31(5): 37–42. doi: 10.1038/5000157.
2. Ball, R. S. 2006. Issues to Consider for Preparing Ferrets as Research Subjects in the Laboratory. *ILAR J.* 47(4):348–57. doi: 10.1093/ilar.47.4.348.
3. Mayer, J., Marini, R. P. and Fox, J. G. 2015. Biology and Diseases of Ferrets. p. 577–622. In *American College of Laboratory Animal Medicine (ed.), Laboratory Animal Medicine (Third Edition)*. Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-409527-4.00014-6.
4. Pyle, N. J. 1940. Use of Ferrets in Laboratory Work and Research Investigations. *Am. J. Public Health Nations Health.* 30(7): 787–96. doi: 10.2105/ajph.30.7.787.
5. Bixler, H. and Ellis, C. 2004. Ferret care and husbandry. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 7(2): 227–55. doi: 10.1016/j.cvex.2004.02.002.
6. Hasegawa, M., Sasaki, T., Sadakane, K., Tabuchi, M., Takeda, Y., Kimura, M. and Fujii, Y. 2002. Studies for the Emetic Mechanisms of Ipecac Syrup (TJN-119) and Its Active Components in Ferrets: Involvement of 5-Hydroxytryptamine Receptors. *Jpn. J. Pharmacol.* 89: 113–119. doi: 10.1254/jjp.89.113.
7. Enkirch, T. and von Messling, V. 2015. Ferret models of viral pathogenesis. *Virology.* 479–480: 259–70. doi: 10.1016/j.virol.2015.03.017.
8. Langlois, I. 2005. Viral diseases of ferrets. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.* 8(1): 139–60. doi: 10.1016/j.cvex.2004.09.008.
9. Shinmyo, Y., Terashita, Y., Duong, T. A. D., Horiike, T., Kawasumi, M., Hosomichi, K., Tajima, A. and Kawasak, H. 2020. Folding of the cerebral cortex requires Cdk5 in upper-layer neurons in gyrencephalic mammals. *Cell Reports.* 20(9): 2131–2143. doi: 10.1016/j.celrep.2017.08.024.
10. Lakdawala, S. S. and Menachery, V. D. 2020. The Search for a COVID-19 Animal Model. *Science.* 368(6494): 942–943. doi: 10.1126/science.abc6141.
11. Peng, Z., Alföldi, J., Gori, K., Einfeld, A. J., Tyler, S. R., Tisoncik-Go, J., Brawand, D., Law, G. L., Skunca, N., Hatta, M., Gasper, D. J., Kelly, S. M., Chang, J., Thomas, M. J., Johnson, J., Berlin, A. M., Lara, M., Russell, P., Swofford, R., Turner-Maier, J., Young, S., Hourlier, T., Aken, B., Searle, S., Sun, X., Yi, Y., Suresh, M., Tumpey, T. M., Siepel, A., Wisely, S. M., Dessimoz, C., Kawaoka, Y., Birren, B. W., Lindblad-Toh, K., Di Palma, F., Engelhardt, J. F., Palermo, R. E. and Katze, M. G. 2014. The draft genome sequence of the ferret (*Mustela putorius furo*) facilitates study of human respiratory disease. *Nat. Biotechnol.* 32(12): 1250–5. doi: 10.1038/nbt.3079.
12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/3295> (cited, 2021, 09/Dec)
13. Sun, X., Yan, Z., Yi, Y., Li, Z., Lei, D., Rogers, C. S., Chen, J., Zhang, Y., Welsh, M. J., Leno, G. H. and Engelhardt, J. F. 2008. Adeno-associated virus-targeted disruption of the CFTR gene in cloned ferrets. *J Clin. Invest.* 118: 1578–1583. doi:10.1172/JCI34599.
14. 角田睦子, 塚根美穂, 福万朋子, 竹内良成, 伊藤雄悟, 角田利一, 平野 健. 2006. 高蛋白血症を示しアリューシャン病が疑われたフェレットの12症例. *広島獣医学雑誌* 21号 42–49. http://hiro-vet.or.jp/_src/98378/p042-049.pdf
15. Influenza-Free Ferret Health Monitoring. <https://www.marshallbio.com/influenza-free-ferret-health-monitoring> (cited, 2021, 09/Dec)