

実験動物 ニュース

The Japanese Association for Laboratory Animal Science



目 次

実験動物感染症の現状

Murine Astrovirus 2 (MuAstV-2)	163
--------------------------------------	-----

総説

動物実験の PREPARE (準備) から ARRIVE (報告) まで :

PREPARE ガイドラインと ARRIVE ガイドライン 2.0	165
患者由来腫瘍移植マウスモデルの開発と創薬への活用	171

維持会員便り

EP トレーディングと EPS グループのこと	181
-------------------------------	-----

会員便り

任期短し? 楽せよ研究者!	184
歯が生えてくるのは痛いのか? 日本にはない Teething pain の概念	188

他学会情報	190
-------------	-----

日本実験動物学会からのお知らせ

理事候補者選挙について	191
令和 3 年度維持会員懇談会の開催について	192
第 69 回日本実験動物学会総会のご案内 (その 1)	193
第 9 回実験動物科学シンポジウムの企画について	194

Experimental Animals 70(4) 収載論文和文要約集	195
--	-----

維持会員名簿	i
--------------	---

編集後記	iii
------------	-----

実験動物感染症の現状

Murine Astrovirus 2 (MuAstV-2)

丸山 滋

日本チャールス・リバー株式会社

要 約

アストロウイルス (Astrovirus, AstV) は多くの哺乳類から分離されているウイルスの一つで、マウス、ラット、ウサギなどの実験動物からも報告がある。実験マウスの感染症としてはマウスアストロウイルス (Murine Astrovirus, MuAstV) が知られているが、2020 年に新たなマウスアストロウイルス 2 (Murine Astrovirus 2, MuAstV-2) に関する報告があった。実験動物感染症の情報として、MuAstV-2 について紹介する。

AstV は 1970 年代に胃腸炎の乳児から最初に発見されたプラス鎖一本鎖 RNA ウイルスで [1]、鳥類に感染するアブアストロウイルス属 (Avastrovirus) と哺乳類に感染するマムアストロウイルス属 (Mamastrovirus) の 2 属がある [2]。それぞれ 3 種および 19 種が知られていたが、近年多くの追加種が提案されている [3]。MuAstV は野生マウスからの報告を最初に、1975 年には実験マウスからも分離され [4]、2010 年代に入ると実験動物に関する論文発表が相次いだことから実験動物の感染症として知られるようになったことは既報の通りである [5]。2020 年 8 月、実験施設からの MuAstV-2 検出が論文発表された [6]。これは実験動物における MuAstV-2

の最初の報告であった。以下、MuAstV-2 の特徴を当該論文から抜粋する。なお、表 1 にマウス、ラット、ヒトのマムアストロウイルスについてまとめた [2,6-10]。

実験マウスの MuAstV-2 は、定期的微生物評価のために廃棄床敷混入を行っているおとりマウス、およびマウスのリンパ節由来細胞株から最初に検出された。おとりマウス糞便より分離の 2 株、細胞株より分離の 1 株がメタゲノム解析、ウイルスゲノム全配列決定、ML 法による系統樹解析により MuAstV-2 と同定された。いずれも過去に報告されているニューヨーク市の野鼠から分離された MuAstV-2 と 89.2 ~ 89.9% のヌクレオチド同一性を示し [9]、実験マウスの感染症として知られている従来の MuAstV との

表 1 マウス、ラットおよびヒトのアストロウイルス (抜粋暫定版)

宿主	種名 *1	通称	略称	属名
マウス	– (未分類)	マウスアストロウイルス / マウスアストロウイルス 1	MuAstV / MuAstV-1	Mamastrovirus
	– (未分類)	マウスアストロウイルス 2	MuAstV-2	Mamastrovirus
ラット *2	– (未分類)	ラットアストロウイルス	RAstV	Mamastrovirus
ヒト	Mamastrovirus 1	ヒトアストロウイルス (古典的ヒトアストロウイルス)	HAstV 1 型 ~ 8 型	Mamastrovirus
	Mamastrovirus 6	ヒトアストロウイルス	HAstV MLB1 ~ MLB3	Mamastrovirus
	Mamastrovirus 8	ヒトアストロウイルス	HAstV VA2 (VA4, VA5, HMO-A)	Mamastrovirus
	Mamastrovirus 9	ヒトアストロウイルス	HAstV VA1, VA3 (HMO-B, HMO-C)	Mamastrovirus

*1International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) の Virus Taxonomy: 2020 Release に記載の種名。

*2Rattus norvegicus から分離したアストロウイルスを記載。

同一性は50%未満であった。また、同様に過去報告の香港・中国のクマネズミ属 (*Rattus* sp.) 由来ラットアストロウイルス (Rat Astrovirus, RAstV) の塩基配列との類似性もみられた [10]。

免疫正常マウスへのウイルス経口投与による感染実験で、免疫正常マウスに経口感染が成立すること、接種3日後には糞便に排出され、少なくとも21日後まで排出が継続することが確認された。陽性マウスの臨床症状は、自然感染マウス、実験感染マウスのいずれにおいても、無気力、円背位などを含め全く認められなかった。

重度免疫不全マウスに関しては、NCG (NOD-*Prkdc^{em26Cd52}Il2rg^{em26Cd22}/NjuCrI*) へのウイルス経口投与による感染実験で、糞便中へのMuAstV-2排出が認められず、感染は成立しなかった。また、MuAstV-2陽性マウスと同居させたNSG (NOD.Cg-*Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ*) において、肉眼的な臨床症状を認めなかった。重度免疫不全動物は通常、ウイルス感染症を持続的に保有し高レベルのウイルスを放出し、臨床症状を呈するのが一般的であるが、MuAstV-2に関しNCG、NSGのいずれも一般的な経緯をとらないという想定外の結果であった。このことから、MuAstV-2の侵入あるいは複製において、両系統で欠失しているサイトカインのシグナル伝達経路の少なくとも1つが必要である可能性がある。

ラットにおけるマウスと同様の感染実験では、感染が成立しなかった。

陽性コロニーからのMuAstV-2排除は、汚染が確認された動物室の動物数を必要最小限まで減らし、その中から糞便利用のqRT-PCRにより陰性動物を確定してMuAstV-2フリーの動物室に移し、最終的に汚染動物室から動物が全てなくなった後に二酸化塩素系消毒薬にて除染を行うことにより成功した。

マウス室のMuAstV-2汚染の原因は、実験を行っていた研究施設への野鼠侵入、およびそこからマウス室への汚染源持ち込みが最も有力と考えられた。仮定を裏付けるように、施設敷地内で捕獲された野鼠からもMuAstV-2が検出された。マウス細胞株のMuAstV-2汚染の原因は、共培養していた別細胞に起因する可能性とともに、細胞株供給元でのウイルス混入の可能性もあったことから、供給元にMuAstV-2検出の報告を行った。

上記の報告内容から、MuAstV-2はラットに感染しない、マウス特有のウイルスであると考えられる。

免疫不全マウスへの感染性については今後の報告を待つ必要があるが、少なくともNSG、NCG両系統には感染が成立しないという特性を有する。陽性動物に臨床症状が認められず、実験への影響に関する情報もないことから、マウス施設の監視対象とする必要性は現時点ではないと思われる。今後の実験動物におけるMuAstV-2に関する続報が望まれる。

参考文献

1. Madeley CR, Cosgrove BP. 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet*. 1975; 2(7932): 451–452.
2. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV): Virus Taxonomy 2020 Release. [cited 2020 Sept 30]. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
3. De Benedictis P, Schultz-Cherry S, Burnham A, Catoli G. Astrovirus infections in humans and animals – molecular biology, genetic diversity, and interspecies transmissions. *Infect Genet Evol*. 2011; 11(7): 1529–1544.
4. Kjeldsberg E, Hem A. Detection of astroviruses in gut contents of nude and normal mice. *Arch Virol*. 1985; 84(1): 135–140.
5. 丸山 滋. 実験動物感染症の現状 アストロウイルス. *実験動物ニュース* 2014; 63(4): 68–70.
6. Arbona RJR, Kelly S, Wang C, Dhawan RK, Henderson KS, Shek WR, et al. Serendipitous discovery of a novel murine astrovirus contaminating a murine helper T-cell line and incapable of infecting highly immunodeficient mice. *Comp Med*. 2020; 70(4): 359–369.
7. Bosch A, Pintó RM, Guix S. Human astroviruses. *Clin Microbiol Rev*. 2014; 27(4): 1048–1074.
8. Vu DL, Cordey S, Brito F, Kaiser L. Novel human astroviruses: Novel human diseases? *J Clin Virol*. 2016; 82: 56–63.
9. Williams SH, Che X, Garcia JA, Klena JD, Lee B, Muller D, et al. Viral diversity of house mice in New York City. *mBio*. 2018; 9(2): 1–17.
10. To KKW, Chan WM, Li KSM, Lam CSF, Chen Z, Tse H, et al. High prevalence of four novel astrovirus genotype species identified from rodents in China. *J Gen Virol*. 2017; 98(5): 1004–1015.

総説

動物実験のPREPARE（準備）からARRIVE（報告）まで： PREPAREガイドラインとARRIVEガイドライン2.0

國田 智
自治医科大学

はじめに

動物を使用する研究や試験の質を担保することは、科学と倫理の両面で重要である。しかし近年では、動物実験の再現性や信頼性に対する懸念が、動物実験に反対の立場の人々のみならず、研究者からも示されている。このような背景から、動物実験の再現性の向上を目的とするガイドラインが作成されるようになった[1-5]。これらのガイドラインの多くは、動物実験を含む研究論文における報告内容の改善を図ることで、再現性を確保しようとするものであり、その代表的なものが英国のthe National Center for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) が作成したARRIVE (Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments) ガイドラインである[1, 2]。実験方法やその結果についての透明性ある報告が、研究成果の再現性を支える必須要素であるという理由から、ARRIVEガイドラインは論文中に報告すべき内容に注目し、論文の構成に沿った形式で整理されている。一方、ノルウェイの国立3RセンターであるNorecopaが作成したPREPARE (Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence) ガイドラインは、動物実験を計画あるいは準備する段階で考慮すべき内容に焦点を当てたガイドラインである[5]。実験開始後やデータをまとめる段階で問題が生じないように、動物実験の計画立案の早い段階から確認しておくべき項目が整理されている。本稿では、動物実験の質の向上を促進し、3Rs原則を反映した論文作成や査読を支援するためのお役立ちツールとして、PREPAREガイドラインならびに2020年に改訂されたARRIVEガイドライン2.0について紹介する。

動物実験の再現性についての問題提起

英国と米国の研究施設において実施され、1999年から2005年の間に発表されたマウス・ラット・非ヒト霊長類を使用した動物実験の論文271編を対象に、体系的なデータベース検索が行われた[6]。その調査報告によると、レポートの質に関わる重要項目である研究の仮説や目的を明記している論文は95%であり、さらに使用した動物の数、動物種、系統、性別、年齢または体重を記述しているという条件を加えると、これらすべてを満たしている論文は59%にすぎないことが判明した。また、実験計画の質の指標として、動物の選択や結果の評価の過程で無作為化や盲検などのバイアスを減らすための手法を用いている論文数を調べた結果、無作為化について言及している割合は全体の12%、定性的スコアリングを使用した論文のうち盲検の適用について言及しているのは14%だけであった。統計的手法を用いている論文の中で70%の論文だけが、採用した統計解析法について説明し、標準偏差、標準誤差や信頼区間などを数値データと共に示していた。これらの調査結果より、動物を用いた研究での実験方法と実験結果のレポートにおける改善すべき問題点として、論文中で記述の欠落している事項が特定され、これに基づく動物実験の再現性確保に向けた取り組みとして、科学論文で正確に報告されるべき情報の基準が提唱されるに至った。

ARRIVE ガイドライン

本ガイドラインは、その名前のとおり、動物実験の終着点である論文への報告内容・方法の改善を目指して作成された。その目的は、1) 動物を使用した研究の報告を改善すること、2) 論文に記載すべき必須

情報を指導すること、3) 公表された情報を最大限活用することで将来の不必要な動物使用をできるだけなくすことである。動物を用いる研究に特化した報告基準はこれまでほとんど策定されていなかったため、前述の調査結果に基づいてNC3Rsが本ガイドラインの作成に取り組み、2010年に公表した。初版のARRIVEガイドラインは、正確かつ包括的な報告に必要な20項目について、論文の構成に沿って整理したチェックリストから成る。これらの項目は、動物を使用する研究を論文報告する際に包含すべき最小限の情報を選定したもので、論文の著者はもちろんのこと、査読者や編集者に対して質の高い論文作成を促すために提供され、科学論文の完全さと透明性を保証するものである。出版から10年間で、本ガイドラインは世界中の1,000を超えるライフサイエンス分野の科学雑誌によって支持され、著者や査読者に対する各誌のガイダンスで本ガイドラインの使用が提唱されている。しかし、このような支持状況にもかかわらず、最近の調査では、ほとんどの論文でARRIVEガイドラインに示されている重要な情報に未だ欠如が認められ、論文の質の改善効果が不十分であると報告されている[7]。

ARRIVEガイドラインの実効性が限定的であることの要因としては、編集者がガイドラインの運用に積極的に関与している度合いの低さが1つ目に考えられる。編集者がチェックリストの提出を著者に要求する1回だけの介入では効果がなく、項目を限定した短いチェックリストを用いて複数回の編集者による介入を行うことがより効果的であることが検証されている。2番目の要因は、研究者ならびに研究過程に関わる組織とそのメンバーが、不完全な研究報告によって被る不都合な結果を十分に理解していないという点にある。このような分析を踏まえ、ARRIVEガイドラインの改訂が進められ、2020年にARRIVEガイドライン2.0の発表に至った[2]。

ARRIVE ガイドライン 2.0

ARRIVEガイドライン2.0は、21項目で構成されるチェックリストであるが、初版との大きな違いはチェック項目を優先順位づけし、2つのセットのチェックリストに分けたことである。必須要件の10項目だけをEssential 10として区別し、確実に論文に記載するよう求めている。その他の11項目は、補完的項目として位置づけられ、Recommended Setの名

称が付けられている。研究者や編集者の取り組みをEssential 10に集中させることで、投稿論文の質を効率的に評価し、論文報告の改善に確実に結びつけることが、この変更の目的である。さらに、推奨要件の11項目も満たすことで、最良実践例が達成できる仕組みになっている。ARRIVEガイドライン2.0では、項目の再編や追加も行われ、さらにE & E(Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0) ドキュメントと呼ばれる解説書もあわせて作成された[8]。

Essential 10には、実験デザイン、サンプルサイズ、主観的バイアスを減らすための対策(データ除外基準・無作為化・盲検)、測定項目、統計学的手法、使用実験動物、実験手順、実験結果、といった項目が含まれている。具体的には、実験群とコントロール群の構成、各実験群に割り振った実験単位(無作為化の単位)の種類(個体・同腹子・ケージメイト)と数、動物やデータを実験・解析から除外した場合には除外対象とその理由、無作為化の方法やバイアスを最小限にするための実験手順の工夫、盲検を行った実験過程や実験群への割り振り担当者、評価に用いたすべての測定項目、各解析に使用した統計学的手法、使用動物の詳細情報(動物種、系統、性別、年齢、体重、供給元、健康・免疫状態、遺伝子型など)、実験群とコントロール群に対する具体的な実験処置方法、複数回の実験ごとの実験成績(各実験群の数値データと統計解析結果)が、論文中に報告すべき必須事項としてあげられている。

一方、Recommended Setには、要約、研究背景、目的、倫理的申告、飼養方法、動物のケアと観察、結果の解釈、一般化・外挿、プロトコル登録、データ公開、利害関係の開示、といった項目が含まれる。要約(Abstract)への記載が推奨される事項としては、研究目的、使用動物種・系統・性別、主要な実験方法と結果、結論があげられている。研究背景としては、当該研究の論理的根拠や実施に至った経緯に加え、使用動物種やモデルの科学的妥当性についての説明が推奨されている。また、究明したい学術的疑問や立証したい仮説を研究目的の中で説明することが推奨される。当該動物実験計画の承認番号や審査委員会名等の倫理的申告も推奨記載事項である。その他には、飼育機材や環境エンリッチメントを含めた飼養条件、苦痛・不安の軽減処置や人道的エンドポイント、実験結果の解釈、潜在的なバイアスや使用動物モデルの限界、ヒトを含む他動物種への外挿の可否や方法を記述することが推奨される。詳細については、表1、表2お

よび原文を参照されたい。

このバージョンアップされたARRIVEガイドライン2.0の活用が期待されているのは、まず論文を作成する研究者である。研究者は、最も重要なEssential 10に焦点を絞って活用することで、作成論文の質の改善を達成できる。研究者はまた、動物実験の計画立案や実施過程において、実験操作・記録・解析を厳格に実施し、これによって良質な論文報告に向けた準備を確実に進めることができる。一方、雑誌編集者や査読者にとっては、投稿論文に記載されている報告内容が最小要件を満たしているか否かを容易に判断できるという利点がある。さらに、動物実験委員会の委員にとっては、計画書の審査の際に、実験条件が綿

密に計画されているか否かを確認するために役立つ。

PREPARE ガイドライン

本稿で紹介する2つ目のガイドラインはPREPAREガイドラインである。ARRIVEが動物実験の最終段階である論文報告のあり方の改善を目指して作成されたのに対し、PREPAREは動物実験の準備段階で検討すべき要件を明確に示し、動物実験計画の立案・作成を支援するための包括的な指針としての位置づけで作成された。ARRIVEとPREPAREはどちらも、動物実験の質的向上を図ることを目的としており、両者は補完関係にあると考えられ、新たなコンプラ

表 1 ARRIVE Essential 10

項目	記載すべき内容
1 実験デザイン	以下の情報を含む具体的な実験概要 a) 群構成 Groups (比較評価する実験群, コントロール群) b) 実験単位 Experimental units の種類 (個体, 同腹子, ケージメイト)
2 サンプルサイズ	a) 各実験群に割り振る実験単位数, 実験単位総数, 総動物数 b) サンプルサイズを決定した根拠
3 除外基準	a) 動物やデータを実験や解析から除外する場合の基準 b) 実際に除外した動物・実験単位やデータがどれか? 除外の理由は何か? c) 各実験群で解析した n 数
4 無作為化	a) 実験単位を実験群やコントロール群に振り分ける方法 (無作為に振り分けたか?) b) バイアスを最小限にする工夫 (処置・測定 of 順番や飼育位置の決定方法)
5 盲検	実験群への実験単位の割り振りを行ったのは誰か? 実験・解析のどの段階で盲検を行ったか?
6 測定項目	a) 評価を行ったすべての測定項目と判定方法を明示 (細胞死, 分子マーカー, 行動変化など) b) 仮説検証実験においては, 初期検討での測定項目 (サンプルサイズ決定のために行った先行試験方法など) も明示
7 統計学的方法	a) 各解析に利用した統計学的方法 (ソフトウェアを含む) を明示 b) データが統計学的手法の前提を満たしているか否かを評価するために用いた方法
8 実験動物	a) 使用動物の詳細情報 (動物種, 系統, 性別, 齢, 体重など) b) 使用動物の関連情報 (供給元, 健康および免疫状態, 遺伝子改変および遺伝子型, 実験使用歴など)
9 実験処置	各実験群とコントロール群に対する具体的な実験処置方法 (他者が追試できる程度の詳細な記載) a) 何の処理を, どのような方法で, どんな機材を使って行ったか b) 各処置をどのタイミングで, 何回行ったか c) 実験場所 (順化期間を含む情報) d) その処置を選択した理由
10 実験成績	実験を複数回実施した場合, その都度の成績を記載 a) 各実験群の数値成績と統計解析結果を共に記載 (例えば, 平均値, 標準偏差, 中央値, 分布範囲) b) 該当する場合には, 効果量, 信頼区間を記載

イアンス対応を求めるガイドラインではない。

PREPAREガイドラインは、(1)動物実験の設計、(2)動物実験実施者と飼育施設間での協議、(3)動物実験の品質管理の3つの大項目に区分される。ガイドラインの中心的役割を果たすチェックリストは全15項目で構成され(表3)、実験開始前や実験中に配慮すべき事項を思い出させるために役立つ。このPREPAREチェックリストは、日本語を含む20以上の言語に翻訳され、Norecopaのウェブサイト(<https://norecopa.no/prepare>)で公開されている。さらに同ウェブサイトでは、チェックリストに含まれる15項目ごとに、詳細な解説や参照すべきガイドライン・文献情報等を提供している。PREPAREガイドラインには、ARRIVEなどの論文報告のガイドラインと共通の要素が、当然ながら多数含まれている。しかし、これまでのガイドラインでは網羅されていなかった、研究の科学的信頼性、あるいは健康と安全、動物福祉など

に多大な影響を及ぼすような要因・課題に関する事項が新たに加えられている。PREPAREガイドラインに特徴的な内容として、harm-benefit評価、実験スケジュール、作業・費用分担、施設要件、従事者の教育訓練、労働安全衛生上の対応、検疫・順化・微生物モニタリング、実験終了後の動物の取扱い(安楽死・解放・再利用・譲渡)がある。いずれも論文に記載する必要はないが、動物実験の開始前に決定しておく必要がある重要な項目である。したがって、チェックリストのすべてのチェックボックスがYesの回答で埋まる必要はないが、チェックリストを使って再確認するステップが重要と考えられる。

PREPAREチェックリストにおいて実験開始前の点検・検討が推奨されている具体的な事項は、チェックリスト原文(<https://norecopa.no/prepare/prepare-checklist>)で確認いただきたい。内容の一例として第3の項目の倫理的配慮に関する詳細を紹介すると、

表2 ARRIVE Recommended Set

項目	記載すべき内容
11 要約	研究目的、使用動物種・系統・性別、主要な実験方法、主要な実験結果、結論に関する正確な概要
12 背景	a) 当該研究の理論的根拠や関連研究動向、研究方法を理解できるだけの科学的背景 b) 使用する動物種や動物モデルでどの様にして科学的な目的を達成することができるとかの、また必要に応じてヒトとの関連についての説明
13 目的	研究上の問い、研究目的、検証しようとする仮説について明確に記載
14 倫理的陳述	当該研究における動物使用の許可に関わる倫理的審査を行った委員会名、ならびに関連のライセンス、許可番号など
15 住居および飼養	実験動物の住居と飼育管理の条件に関する詳細情報(環境エンリッチメントの使用状況を含む)
16 動物のケアとモニタリング	a) 苦痛軽減のために行われた処置 b) 有害事象の報告(想定の有無に関わらず) c) 人道的エンドポイントの設定、モニターされた兆候と観察頻度
17 解釈と科学的含意	a) 研究目的、仮説、現在の理論、文献情報を踏まえた結果の解釈 b) 研究上の限界(潜在的なバイアス、動物モデルの限界、結果に関連する不正確さなど)
18 一般化の可能性／外挿	ヒトとの関連性を含めて、当該研究の知見を他の動物種や他の実験条件に外挿することができるか否か、外挿する場合の方法についての見解
19 プロトコル登録	研究プロトコルを研究開始前に作成したか否かについての言明、及び当該プロトコル登録の有無と登録先についての報告
20 データ公開	当該研究データの公開の有無及び公開場所
21 利害関係の開示	a) 潜在的な利益相反(財務上と非財務上の問題)についての申告 b) 研究資金源の列挙とすべての資金提供者の役割

チェック項目として以下の事項がある。①一般向けの実験概要を準備する、②倫理委員会との協議の中で同タイプの研究についての審議記録が作成されたことがあるかを確認する、③3Rおよび3Sに取り組む、④研究計画のpre-registrationやネガティブデータの論文発表について検討する、⑤harm-benefit評価により想定されるすべての苦痛や痛みが妥当であることを示す、⑥教育や研修を目的とした動物実験の場合には学習目標について議論する、⑦動物が受ける苦痛度を分類評価する、⑧客観的かつ容易に測定可能で明確な人道的エンドポイントを設定する、⑨動物の死亡をエンドポイントとする場合はその妥当性について議論する。我が国の研究機関の動物実験委員会において一般的に審議されている内容から、あまり馴染みのないものまで含まれているが、計画書の作成や審査の上で参考にするべき内容が多いのではないだろうか。③で登場する3Sとは、Good Science（科学的に優れた再現性のある実験デザインか?）、Good Sense（動物モデルや実験方法に合理性があるか?）、Good Sensibilities（動物を気遣う感性をもった判断・対応が計画に反映されているか?）と解釈される。また、本ガイドラインの特色として、研究者と飼育施設・飼育スタッフとの連携の重要性が強調されている。例えば、第6の項目の動物飼育施設の評

価では、①施設の実地調査を行って建物・機材が実験の要件を満たしているか確認すること、②非常事態の際の人員計画について打ち合わせを行うこと、が盛り込まれており、昨今のパンデミック対策にも繋がる内容である。

おわりに

本稿で紹介したPREPARE（planning）ガイドラインとARRIVE 2.0（reporting）ガイドラインで要求・推奨されている内容を、動物実験計画の作成・審査、動物実験の準備、動物実験の実施過程、論文の作成・査読の各段階で活用することで、動物実験とその論文報告の質・再現性は確実に向上すると考えられる。研究者にとっては動物から収集されるデータの品質向上という恩恵があり、動物に対してはwell-beingの向上をもたらすことに加え、将来に動物実験に供される動物数の削減にも繋げることができる。実験に供される動物の命を無駄にしないため、また動物実験に要した研究者や飼育担当者の労力や経費を無駄にしないためにも、これらのガイドラインを各研究機関内の動物実験関係者に周知し、有効活用されることを期待する。

表3 PREPARE Guidelines Checklist

-
- | |
|---------------------------------------|
| (A) 動物実験の設計 |
| 1. 文献サーチ |
| 2. 法令対応 |
| 3. 倫理的妥当性, harm-benefit評価, 人道的エンドポイント |
| 4. 実験デザイン, 統計解析 |
| (B) 動物実験実施者と飼育施設間での協議 |
| 5. 目的, スケジュール, 作業分担や費用負担 |
| 6. 実験に必要な施設要件の確認 |
| 7. 教育訓練 |
| 8. 健康上のリスク, 廃棄物と不活化 |
| (C) 動物実験の品質管理 |
| 9. 試験材料, 調製方法 |
| 10. 実験動物 |
| 11. 検疫, 順化, 健康モニタリング |
| 12. 飼育環境, 飼育管理方法 |
| 13. 実験操作 |
| 14. 実験後の処置（安楽死, 解放, 再利用, 譲渡） |
| 15. 解剖 |
-

参考文献

1. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG (2010) Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *PLoS Biol* 8(6): e1000412.
2. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. (2020) The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol* 18(7): e3000410.
3. National Research Council (NRC). *Guidance for the description of animal research in scientific publications*. Washington, DC: National Academies Press, 2011.
4. Hooijmans CR, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M. A Gold Standard Publication Checklist to Improve the Quality of Animal Studies, to Fully Integrate the Three Rs, and to Make Systematic Reviews More Feasible. *Alternatives to Laboratory Animals*. 2010; 38(2): 167–182.
5. Smith AJ, Clutton RE, Lilley E, Hansen KEA, Brattelid T. PREPARE: guidelines for planning animal research and testing. *Laboratory Animals*. 2018; 52(2): 135–141.
6. Kilkenny C, Parsons N, Kadyszewski E, Festing MFW, Cuthill IC, Fry D, et al. (2009) Survey of the Quality of Experimental Design, Statistical Analysis and Reporting of Research Using Animals. *PLoS ONE* 4(11): e7824.
7. Leung V, Rousseau-Blass F, Beauchamp G, Pang DSJ (2018) ARRIVE has not ARRIVED: Support for the ARRIVE (Animal Research: Reporting of *in vivo* Experiments) guidelines does not improve the reporting quality of papers in animal welfare, analgesia or anesthesia. *PLoS ONE* 13(5): e0197882.
8. Percie du Sert N, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, Browne WJ, et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. *PLoS Biol*. 2020; 18(7): e3000411.

総説

患者由来腫瘍移植マウスモデルの開発と創薬への活用

岡田誠治

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 造血・腫瘍制御学分野

はじめに

患者由来腫瘍移植 (Patient-derived xenograft: PDX) モデルは、患者由来の腫瘍細胞を直接免疫不全マウスに移植するモデル系である [1, 2]。PDX モデルは、患者由来の腫瘍の特徴を保持しているため、腫瘍の病態解析や薬剤開発、個別化医療への活用が強く期待されている。特に薬剤の治療効果の予測率が高いため、抗腫瘍薬の薬剤開発における前臨床試験では、最も重要な動物モデルとなっている。本稿では、PDX モデルの作成法と問題点、今後の展望について概説する。

PDX の必要性

新薬開発には多くの時間と多額の費用を要するが、前臨床試験で有効とされた薬剤の多くが臨床試験で脱落し、臨床試験を行った薬剤の10%程度しか薬剤として承認されていない。このギャップは薬剤開発における“死の谷 (Valley of death)”と呼ばれている (図1) [3]。特に抗腫瘍薬開発では顕著であり、前臨床試験で有効とされた抗腫瘍薬候補の95%が臨床試験の段階で脱落する (図2) [4, 5]。その原因のひとつとして、抗腫瘍薬の評価に用いられているマウス腫瘍モデルやヒト腫瘍細胞株移植モデルは必ずしもヒト腫瘍の臨床病態を反映しうるものではなく、前臨床試験結果が臨床応用に直結するものではなかったことが指摘されている [6]。そのため、2016年に米国がん研究所 (National Cancer Institute: NCI) は、抗腫瘍薬の評価にはこれまで用いられてきた細胞株 (NCI-60) からPDXにシフトすると発表した [7]。PDXは、ヒト腫瘍の病態、遺伝子発現、薬剤感受性などにおいて患者由来の特徴を保持しており、現在ヒト腫瘍の臨床状態に最も近いモデルとして注目を浴

びている [8]。PDXを用いた前臨床試験の治療効果予測率は、実に80%を超えるとの報告もある [9]。以前は、PDXの樹立効率は満足のいくものでなかったが、近年様々な高度免疫不全マウスの樹立や移植法の進歩により、PDXの樹立率は高くなり、薬剤開発や個別化がん医療 (Precision cancer medicine) への活用が強く期待されている [10]。

PDX に使用される免疫不全マウス (表1)

PDX作成には、ヒト腫瘍が生着し異種移植による拒絶反応が生じない免疫不全マウスが必要である。そのため、長期にわたりNudeマウスが使用されてきたが、その移植効率は満足の得られるレベルではなく、近年、より高度な免疫不全マウスが作成・使用されている。一方、Nudeマウスは、無毛のため皮下移植した腫瘍の評価がしやすいという長所があり、ヒト腫瘍モデルのレシピエントとして、今でも多くの施設で用いられている [11]。最近、無毛というNudeマウスの特徴を生かしたさらに高度の免疫不全マウスも樹立されている [12–14]。その後、SCIDマウスやNOD/Scidマウス等の突然変異マウスが使われ始めたが [15, 16]、これらのマウスではLeaky現象によるT細胞の出現やマウス由来腫瘍の発症頻度が高いなどの欠点があった [17]。近年開発されたNOG (NOD/Scid/IL2R γ null), NSG (NOD/Scid/IL2R γ null), NOJ (NOD/Scid/Jak3null) マウスは、NOD/Scidマウスをベースにcommon γ 鎖或いはその下流のJak3遺伝子欠損マウスと交配しており、Leaky現象や腫瘍発症頻度は大幅に減少している [18–20]。また、NOG/NSG/NOJマウスでは、リンパ球とNK細胞欠損に加えて、補体欠損とマクロファージ・樹状細胞の機能異常があり、現在、最も免疫不全度の高いマウスとして多くの施設でPDX作成のレシピエントとして使われてい

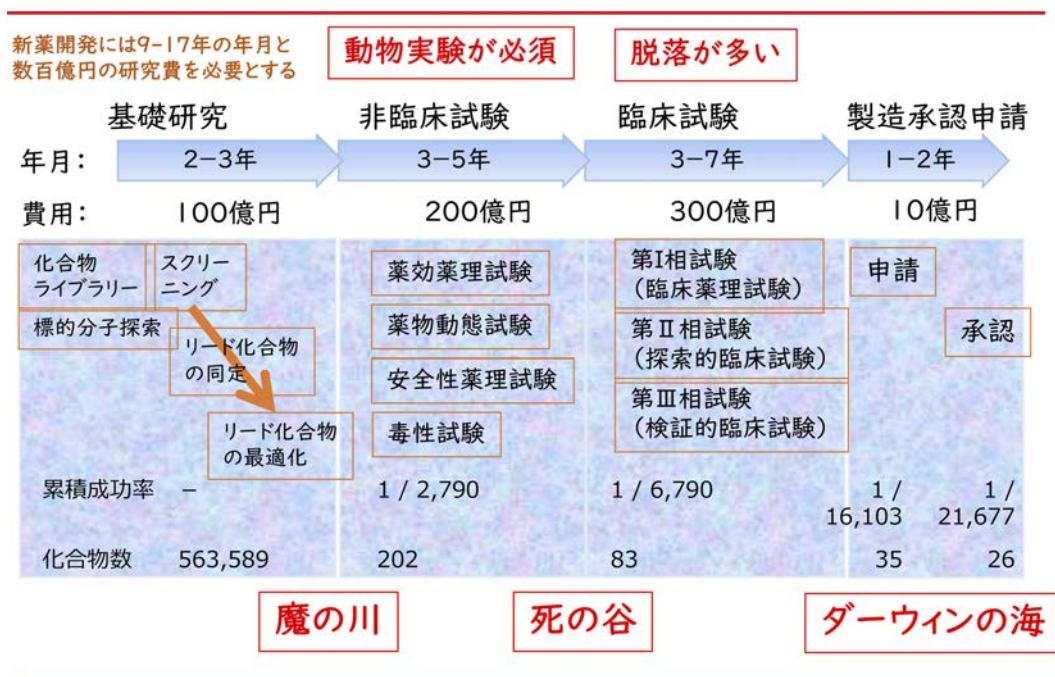


図1 医薬品開発のプロセス

医薬品開発には、9-17年に及ぶ年月と数百億円の研究費を必要とする。最初の関門は「魔の川」と呼ばれ、基礎研究成果が基礎研究から創薬を目指した非臨床試験に進めるかどうかの関門であり、多くの薬剤候補がここで脱落する。非臨床試験は、動物実験により生体における薬剤の効果・体内動態・安全性・毒性等を検証する。多くの時間と費用・動物がこの段階で費やされるが、非臨床試験を突破しても臨床試験で多くの薬剤候補が脱落する事から、「死の谷」と呼ばれている。臨床試験を突破して申請に至っても承認申請が得られない場合もあり、また、上市された新薬も市販後調査や他の薬剤との競合などで淘汰される可能性があることから、進化における自然選択(自然淘汰)説を提唱したダーウィンにちなんで「ダーウィンの海(淘汰の海)」と呼ばれている。これらの大きな3つの障壁を乗り越えた薬剤が新薬として生き残ることになる。

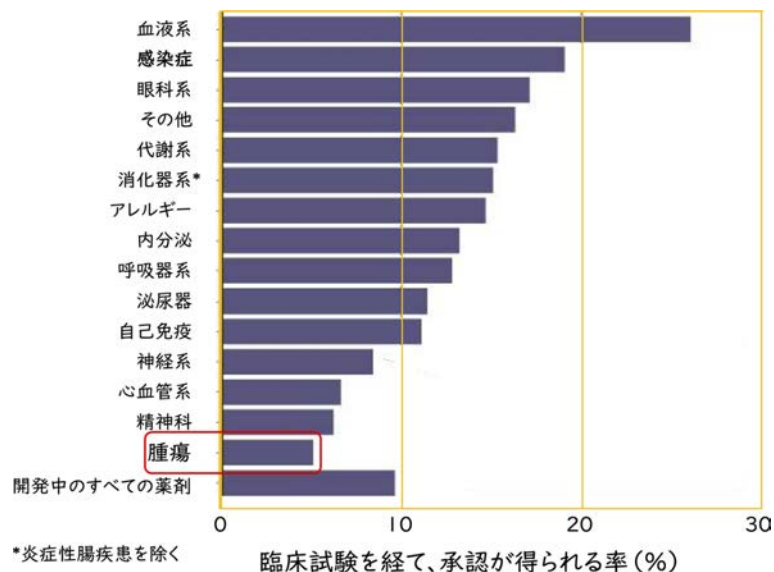


図2 医薬品開発における前臨床試験通過後の脱落

る[10]。しかし、これらのマウスは、高価で飼育繁殖困難、ストレスや放射線・化学療法剤への感受性が高い等の欠点もある。そこで、私達は、BALB/c Rag-2/Jak3二重欠損マウス(BRJマウス)を樹立し、PDX作成に利用している[21, 22]。BRJマウスは固形腫瘍のPDX作成効率が高く、マウスを移植後半年以上の長期に渡り維持可能であり、PDX作成中の悪性リンパ発症頻度がNOG/NSGマウスに比して極めて少ない等の長所を有している。また、BRJマウスの放射線や化学療法剤感受性は、ヒトに近いので、PDXを用いた抗腫瘍薬の評価にも適している[2, 10]。

PDX の作成法

PDXの標準的な作成手順を図3に示す。

1) 腫瘍サンプル取得

手術や生検などで得られた腫瘍サンプルは、移植までの時間が短いほうが移植効率が良いことが報告されている。一方、腫瘍サンプル採取後、輸送や長期保存の必要がある場合には、専用の培養液で保存する事で数日間は良い状態で保つことが可能であり、腫瘍の種類によっては凍結保存サンプルから高効率でPDXを作成する事も可能である[22]。

2) 免疫不全マウスへの移植

腫瘍サンプルは3-5 mm角程度に細切し、免疫不全マウスに移植する。皮下移植する場合には予め体毛を剃毛しておくで移植しやすく、感染を起こしにく

い。麻酔はイソフルランによる吸入麻酔がマウスへのダメージが少ない。皮下移植では、①皮膚を切開する方法、②移植針を用いる方法があるが、皮膚切開する場合は麻酔と術後の疼痛処置が必要となる。移植針を使用する場合には、従来の移植針(夏目製作所 KN-391等)はやや操作が面倒で切れが悪いことから、筆者らは一人で比較的簡単に腫瘍片移植が可能な生体組織移植針キット(Ez-Plant)を開発した(図4)(<https://www.kyushu-organ.co.jp/ez-plant.html>)。Ez-Plantは、麻酔や切開縫合の必要がなく、マウスへのストレスが少ないこと、初心者でも扱いやすいなどのメリットがある。皮下移植では樹立効率が悪い場合には、同所移植や腎被膜下移植が試みられている(表2)。例えば、乳がんは皮下移植では移植効率が極めて悪いので、雌マウスの乳房皮下組織に移植し、ホルモン依存性乳がんの場合はヒト性ホルモンを補充する。腎被膜下移植は、手技が比較的複雑であり、腫瘍増大の評価がしにくい等の欠点はあるが、血流に富むため移植効率がよく、しばしば移植部位に選定されており、皮下移植では生着しにくい腫瘍では試みる価値がある。

3) マウス体内での腫瘍増殖と PDX の樹立

通常移植後1-3か月で皮下腫瘍を形成する。腫瘍によっては6か月以上かかる場合もあるので、マウスの健康状態を観察しながら気長に待つことも必要である。腫瘍が径1 cm以上2 cm未満に成長したら腫瘍を取り出して細切し、次のマウスに移植す

表1 PDX に使用される主なマウス

マウス系統	特徴	長所	欠点
Nude	無毛、胸腺と成熟T細胞の欠損	無毛の為、腫瘍の増大が観察しやすい 消化器系腫瘍は生着しやすい	移植効率が低い 造血器腫瘍は生着しない
NOD/Scid	B・T細胞欠損、補体欠損、NK細胞・マクロファージ・樹状細胞の機能不全	入手しやすい	短命でリンパ腫ができやすい 放射線・化学療法薬感受性が高い
NOG, NSG, NOJ	B・T・NK細胞欠損、補体欠損、マクロファージ・樹状細胞機能不全	最も高度の免疫不全を示す 腫瘍生着率が高い	放射線・化学療法薬感受性が高い ストレスに弱い、高価
BRJ	B・T・NK細胞欠損、樹状細胞機能不全	飼育・繁殖がしやすい	造血器腫瘍は生着しにくい

a) NOG, NSG: NOD/Scid/ common γ 鎖欠損マウス, b) NOJ: NOD/Scid/Jak3欠損マウス, c) NOD: Non-obese diabetes, d) Rag-2/ γ c KO: Rag-2/common γ 鎖二重欠損マウス, e) Rag-2/Jak3 KO: Rag-2/Jak3二重欠損マウス, f) NOD/Scid: Non-obese diabetic/severe combined immunodeficiency. *リーク(leaky): SCIDマウスでは、成熟したリンパ球は認められないが、一部の個体で少数のリンパ球が出現することがあり、リーク(leaky)と呼ばれている。Rag-1/Rag-2遺伝子欠損マウスのような遺伝子改変マウスではこのような現象は認められない。

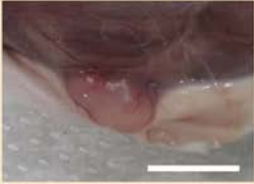
		コメント
①腫瘍サンプル取得 	手術・生検サンプルを入手	• 予め入手の流れを作っておき、サンプル切除後、なるべく早く入手する。 • なるべく無菌的に取り扱う。 • 培養液での保存もある程度可能である。 • 凍結保存検体からもPDX作成は可能である。
②サンプル調整 	サンプルを洗浄し、3-5mm角に細切り、培養液中に保存する。	• サンプルが到着次第、なるべく早くサンプル調整・移植を行う。 • 4℃で保存する。
③マウスへの移植 	マウスを麻酔し、皮膚切開後移植するか移植針を用いて皮下移植する。同所移植・腎被膜下移植が必要な場合がある。	• マウスは予め剃毛しておく。 • 麻酔はイソフルランによる吸入麻酔がマウスへの侵襲が少ないので推奨される。 • 生体組織移植針キット(Ez-Plant)を用いるとマウスへの侵襲が少なく、比較的簡便に移植できる。 • 腫瘍形成まで長期間かかることもあるので若いマウスを用いる。
③腫瘍形成 	移植後1-3か月で皮下腫瘍が形成される。	• 時に6か月程度かかる場合もあるので、マウスの健康状態を観察しながら気長に待つことが重要である。
④腫瘍切除と再移植 	腫瘍を無菌的に切除し、3-5mm角に細切する。そのまま次の免疫不全マウスに再移植する。	• P1→P2で腫瘍ができなくなることがあるので、最初の継代は、5匹程度のマウスに移植することが望ましい。 • 一部を組織染色・凍結保存する。
⑤PDXの樹立と保存	再移植を3世代以上繰り返すことでPDXが樹立される。	• 腫瘍を3-5mm角に細切り、凍結保存 • 組織染色で腫瘍の特徴を確認 • STR解析などのために一部をそのまま凍結保存

図3 PDX 作成の流れ

る。3世代程度継代すると安定して増殖するようになるので、保存液を用いて液体窒素中で凍結保存する。様々な凍結保存液が市販されているが、私達は10%DMSO/40%FCS/50%DMEM/F12を用いている。検体の一部はそのまま凍結保存し、Omics解析やSTR解析に供する。

PDX 作成上の問題点

様々な施設でPDXを作成するようになると共に、PDX作成上の様々な問題点が浮上してきた(図5)。

①②PDX樹立効率：移植したヒト腫瘍が増殖する確率は、腫瘍マウスの系統にもよるが10–90%程度とされている。効率良いPDX樹立を目指すには、腫瘍により、移植部位やマウスの系統を選ぶ必要がある。最初の移植が成立しても次の世代で腫瘍が生着しない場合があるので、P3までは継続して複数のマウスに移植する事が必要である。

③Epstein-Barr virus (EBV) によるリンパ増殖性疾患：腫瘍移植後、腫瘍内に混在するEBV感染ヒトB細胞が活性化し、悪性リンパ腫が発症することがある[23, 24]。特に大腸がんや胃がんなどの消化器悪性腫瘍やリンパ節転移のサンプルを移植した場合に多く認められ[25]、大腸癌では10%以上に認められるとの報告もある[26]。腫瘍とリンパ腫が同時に増大する場合もあるので、PCRや免疫組織染色などで随時確認する必要がある[27]。リンパ腫の発症は、抗ヒトCD20抗体投与でリンパ腫が抑制されるとの報告がある[28]。また、リンパ腫の発症は、NOG/NSGマウスを用いたときに比較的高頻度に起こるが、BRJマウスでは起きにくい事が知られているので、腫瘍に合わせてレシピエントを変えるのも有効である。

④移植片拒絶反応：腫瘍移植後、マウスの脱毛、体重減少、下痢等の移植片拒絶反応による症状が認められることがあるので、そのような場合は人道的エンドポイントに配慮し、安楽死させる必要がある[26, 29]。移植した腫瘍に混在するT細胞の増殖によ

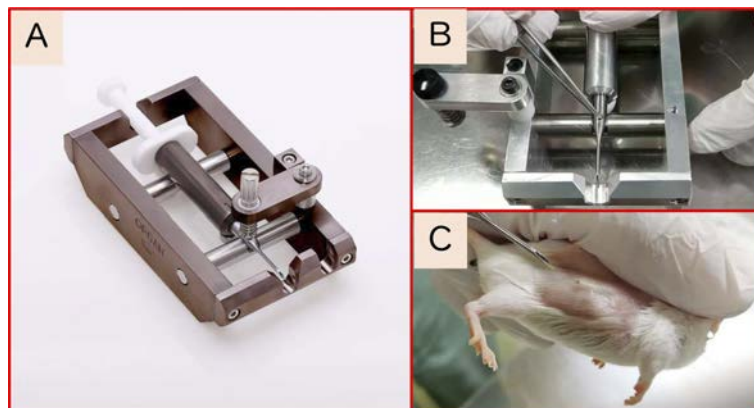


図4 生体組織移植針キット (Ez-Plant)

生体組織移植針キット (Ez-Plant) は、固形腫瘍移植に特化して作製された移植針キットである。麻酔や皮膚切開の必要がなく、初心者でも安定してPDXの作成が可能である。熊本大学と(株)キュオール(熊本大学認定ベンチャー)及び熊本県内の企業である(株)九州オルガン針との共同研究の成果であり、特許・意匠が申請されている(<https://www.kyushu-organ.co.jp/ez-plant.html>)。

表2 PDXの移植部位

移植場所	長所	欠点
皮下移植	手技が簡単	腫瘍により生着率は低め
腎皮膜下	生着率が良い	手技が複雑 体内にあるため、腫瘍増殖が確認しにくい
同所移植	生着率が良い	移植臓器によっては手技が複雑 腫瘍増殖が見にくい場合がある

るものとされ、抗CD3抗体（OKT3等）や免疫抑制剤投与で予防が可能である。

⑤マウスリンパ腫発症：PDXを継代するにつれてマウスリンパ腫が発症し、PDXとマウスリンパ腫が共存するもしくはPDXが完全にマウスリンパ腫に

置き換わる症例が報告されている[30]。その割合はPDX樹立例の実に5%を超えているとの報告もあり、注意が必要である。PDX作成に使用されるNudeマウス、SCIDマウス、NOD/Scidマウスは、元々リンパ腫が発症しやすく[31-33]、異種移植によりリンパ腫発



図5 ヒト腫瘍移植後の転帰

症が加速している可能性がある。また、リンパ腫以外のマウス腫瘍が発症することもあるので、注意が必要であり、継代ごとに免疫染色などで、できた腫瘍がヒト由来の腫瘍であることを確認する必要がある。

⑥マウスウイルス感染：最近、PDXサンプルの多くにマウスのウイルスが感染しており、これらのウイルスがPDXにおける遺伝子発現に影響を及ぼしていることが示された[34]。PDXにおいては、腫瘍微小環境がマウス由来に置き換わるが、その際にマウスのストロマ細胞にマウスウイルスが感染することが示唆されている。感染しているウイルスの47%がマウス白血ウイルス (Murine Leukemia Virus: MLV) であり、その他の感染ウイルスも大多数がMLV類縁ウイルスであるとの報告がある。感染しているウイルス量が多いとPDXにおけるヒト遺伝子の発現に影響を与えることが示されている。例えば、マウス由来ウイルス量が多いとヒトCD80の発現が抑制されることから、免疫療法等の評価には不向きになる。そのため、今後は品質管理の一環としてPDXにおけるマウス由来ウイルス感染の確認が必要と思われる。

PDXの標準化 (Standardization) と品質管理 (Quality management)

PDXが様々な研究室で作成されるようになり、上述したように、PDX作成中に他の腫瘍が増殖する可能性があることから (図4)、PDXの活用には、PDXの共通の基本情報の開示と質的保証が必要である (表3) [35]。特に基本的な患者情報、病理診断、STR解析による患者由来の証明、PDXが確かに患者由来の腫瘍でありマウス腫瘍やEBV感染によるリンパ腫ではないことの証明 (免疫組織染色など) 等は必須である。最近PDX FinderというPDXの検索サイトが開設されており、必要な情報は開示されているので参照されたい (<https://www.pdxfinder.org/>) [36]。また、これらの情報と共に、腫瘍のOmics解析情報 (全ゲノム解析, 全エクソン解析, SNP array, RNAseq, メチル化解析等) があると薬剤開発やバイオマーカーの同定に有用である [37]。

表3 PDXに必要な基本情報

単位	基本情報 (必須)	望ましい情報	例
臨床データ	患者ID, 年齢, 性別, 民族, 臨床診断	前治療の有無, 感染症情報 (HIV, HBV, HCV, EBV, HTLV-1 等),	ID: 223, 54歳男性, 日本人, 胆管細胞癌, 肝吸虫感染あり, HBV陰性, HCV陰性
腫瘍	原発, 転移, 病理診断, ステージ, TNM分類, 特異的マーカー, 前治療の有無,	サンプルの種類 (手術, バイオプシー, 腹水など)	肝内胆管癌, 高分化型腺がん, IIIA期, T3N0M0, CK19陽性, 初発で前治療なし, 手術による原発腫瘍サンプル
PDX作成法	PDX ID, マウスの種類, サンプルのタイプ, 移植部位,	移植効率, 移植期間	PDX-233, BRJ マウス 両側皮下に移植, マウス5匹に移植し, 6週間後に3匹で腫瘍形成,
PDXの質的保証	組織標本と免疫染色, マウス腫瘍とEBV感染の否定, 継代数, STR解析	マウスの健康状態	P3のPDXにてH&E染色と抗ヒトCK19免疫染色でPDXが患者腫瘍の特徴を保持していることを確認, EBER陰性 マウスのHealth report (感染症)
PDXモデルを用いた実験情報		Omics解析情報, 治療薬剤と治療プロトコル, 移植後転移の有無, 腫瘍倍加時間,	全ゲノム解析, メチル化解析, RNAseqなど, 薬剤感受性情報, マウス実験プロトコル
関連情報		入手可能かどうか, 供給制限の有無, 関連論文やURL,	共同研究でP3を提供可能, 連絡先・・・

文献34より改変。

PDX モデルの今後の課題

米国国立がん研究所 (US National Cancer Institute: NCI) が薬剤開発における PDX の重要性に言及して以来 [38], 世界中で多くの研究室が PDX 開発に取り組んでいる。ヨーロッパでは 16 の研究機関が共同で "EuroPDX" というコンソーシアムを立ち上げ、既に 30 種類以上の固形腫瘍の 1,500 例以上のサンプルを保有している [8]。米国 Jackson 研究所も 450 例以上のサンプルを保有し [37], 提供を開始している。製薬企業も独自に PDX ライブラリーを作成・保有しており、ノバルティス社は 1000 種類以上の PDX を使ったスクリーニング結果を報告している [39]。これらのライブラリーは、ほとんどが欧米の症例であり、腫瘍の特性には人種差や地域差があるため、本邦においてもこのような大規模な PDX ライブラリーの樹立が必要である。これまでも個々の研究施設レベルで小規模な PDX 樹立の報告があったが、最近、国立がん研究所から比較的大規模な PDX ライブラリー樹立が報告された [26]。今後、各研究機関が協力して、日本人悪性腫瘍の PDX ライブラリーを樹立され、本邦由来の薬剤開発に貢献することが期待される。

PDX は、その樹立に時間がかかり、またすべての患者サンプルで樹立できるわけではない。そのため、現時点では腫瘍を提供した患者の個別医療に直接還元することは困難である。そこで、PDX 樹立に伴い、Omics 解析や薬剤感受性試験を行い、腫瘍の特性と臨床情報を同時に解析してデータベース化することで腫瘍の特性に応じた個別化医療への活用が期待される。特に患者数の少ない稀少がんにおいては、このような試みは重要である。

近年、悪性腫瘍に対する細胞療法や免疫療法の有用性が示されているが、PDX は、免疫不全マウスにヒト腫瘍を移植するため、そのままでは細胞療法や免疫療法の評価は不可能である。そこで、ヒトの免疫系を構築したヒト化マウスに PDX を移植するヒト化 PDX モデルが (Humanized patient derived xenograft: Hu-PDX) 作成が試みられ、一定の成果を上げている [40-43]。現在の Hu-PDX モデルは、ヒトの腫瘍免疫を完全に再現出来ているわけではなく、応用範囲は制限があるが、今後よりヒトの病態に近い PDX 樹立されることが期待される (図6)。

8. 終わりに

抗腫瘍薬開発においては、従来の前臨床試験によるスクリーニングでは臨床試験における脱落が 95% とかなりの高率であり、多額の薬剤開発費と多くの動物の命が無駄になってきた。PDX は、現時点で最もヒトの病態に近いモデルであり、PDX による実験動物の効率的な運用による抗腫瘍薬開発への貢献が期待されている。今後、よりヒトの病態に近い PDX の開発、PDX ライブラリーの充実により、個別化がん医療 (Precision cancer medicine) への更なる活用が期待される。

謝辞

本総説で紹介した研究の一部は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構、国立研究開発法人科学技術振興機構、日本学術振興会などの補助を受けて行われました。免疫不全マウスの飼育・維持に貢献い

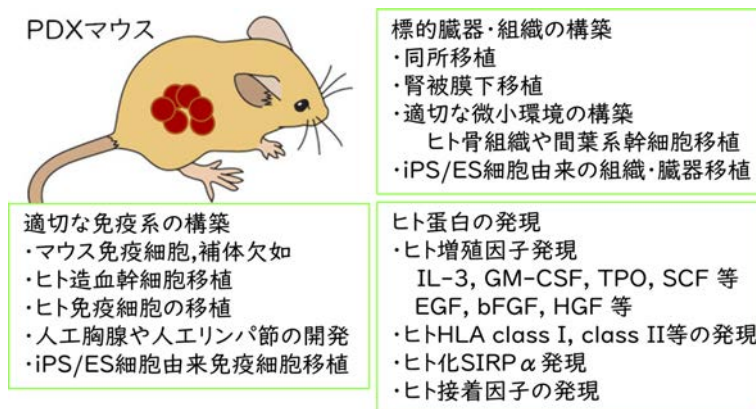


図6 よりヒト腫瘍に近い「PDX マウス」作成のために

ただいている、熊本大学生命資源研究・支援センター動物資源開発施設 (Center for Animal Resources and Development: CARD) のスタッフの皆様に深謝します。

参考文献

- 岡田誠治 (2017) 患者腫瘍移植マウスモデル (Patient-derived Tumor Xenograft: PDX) とその活用—個別化がん治療 (Precision Cancer Medicine) に向けて—。 *Cytometry Research*. 27: 51–6.
- Okada S, Vaeteewoottacharn K, Kariya R (2018) Establishment of a Patient-Derived Tumor Xenograft Model and Application for Precision Cancer Medicine. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 66: 225–30. doi: 10.1248/cpb.c17-00789
- Gamo NJ, Birknow MR, Sullivan D, Kondo MA, Horiuchi Y, Sakurai T, Slusher BS, Sawa A (2017) Valley of death: A proposal to build a "translational bridge" for the next generation. *Neurosci Res*. 115: 1–4. doi: 10.1016/j.neures.2016.11.003
- DiMasi JA, Reichert JM, Feldman L, Malins A (2013) Clinical approval success rates for investigational cancer drugs. *Clin Pharmacol Ther*. 94: 329–35. doi: 10.1038/clpt.2013.117
- Alteri E, Guizzaro L (2018) Be open about drug failures to speed up research. *Nature*. 563: 317–9. doi: 10.1038/d41586-018-07352-7
- Nardone RM, MacLeod RA, Capes-Davis A (2016) Cancer: Authenticate new xenograft models. *Nature*. 532: 313. doi: 10.1038/532313a
- Ledford H (2016) US cancer institute to overhaul tumour cell lines. *Nature*. 530: 391. doi: 10.1038/nature.2016.19364
- Byrne AT, Alferez DG, Amant F et al. (2017) Interrogating open issues in cancer precision medicine with patient-derived xenografts. *Nat Rev Cancer*. 17: 254–68. doi: 10.1038/nrc.2016.140
- Izumchenko E, Paz K, Ciznadija D et al. (2017) Patient-derived xenografts effectively capture responses to oncology therapy in a heterogeneous cohort of patients with solid tumors. *Ann Oncol*. 28: 2595–605. doi: 10.1093/annonc/mdx416
- Okada S, Vaeteewoottacharn K, Kariya R (2019) Application of Highly Immunocompromised Mice for the Establishment of Patient-Derived Xenograft (PDX) Models. *Cells*. 8. doi: 10.3390/cells8080889
- Flanagan SP (1966) 'Nude', a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genetical research*. 8: 295–309.
- Kariya R, Matsuda K, Gotoh K, Vaeteewoottacharn K, Hattori S, Okada S (2014) Establishment of nude mice with complete loss of lymphocytes and NK cells and application for in vivo bio-imaging. *In Vivo*. 28: 779–84.
- Panaampon J, Sasamoto K, Kariya R, Okada S (2021) Establishment of Nude Mice Lacking NK Cells and Their Application for Human Tumor Xenografts. *Asian Pac J Cancer Prev*. 22: 1069–74. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.4.1069
- Gotoh K, Kariya R, Matsuda K, Hattori S, Vaeteewoottacharn K, Okada S (2014) A novel EGFP-expressing nude mice with complete loss of lymphocytes and NK cells to study tumor-host interactions. *Biosci Trends*. 8: 202–5. doi: 10.5582/bst.2014.01049
- Bosma MJ, Carroll AM (1991) The SCID mouse mutant: definition, characterization, and potential uses. *Ann Rev Immunol*. 9: 323–50. doi: 10.1146/annurev.iy.09.040191.001543
- Shultz LD, Schweitzer PA, Christianson SW et al. (1995) Multiple defects in innate and adaptive immunologic function in NOD/LtSz-scid mice. *J Immunol*. 154: 180–91.
- Bosma GC, Fried M, Custer RP, Carroll A, Gibson DM, Bosma MJ (1988) Evidence of functional lymphocytes in some (leaky) scid mice. *J Exp Med*. 167: 1016–33. doi: 10.1084/jem.167.3.1016
- Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K et al. (2002) NOD/SCID/gamma (c) (null) mouse: an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells. *Blood*. 100: 3175–82. doi: 10.1182/blood-2001-12-0207
- Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM et al. (2005) Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. *J Immunol*. 174: 6477–89. doi: 10.1007/s12185-008-0215-z
- Okada S, Harada H, Ito T, Saito T, Suzu S (2008) Early development of human hematopoietic and acquired immune systems in new born NOD/Scid/Jak3null mice intrahepatic engrafted with cord blood-derived CD34 + cells. *Int J Hematol*. 88: 476–82. doi: 10.1007/s12185-008-0215-z
- Ono A, Hattori S, Kariya R, Iwanaga S, Taura M, Harada H, Suzu S, Okada S (2011) Comparative study of human hematopoietic cell engraftment into BALB/c and C57BL/6 strain of rag-2/jak3 double-deficient mice. *J Biomed Biotechnol*. 2011: 539748. doi: 10.1155/2011/539748
- Vaeteewoottacharn K, Pairojkul C, Kariya R et al. (2019) Establishment of Highly Transplantable Cholangiocarcinoma Cell Lines from a Patient-Derived Xenograft Mouse Model. *Cells*. 8. doi: 10.3390/cel-

- Is8050496
23. Taurozzi AJ, Beekharry R, Wantoch M et al. (2017) Spontaneous development of Epstein-Barr Virus associated human lymphomas in a prostate cancer xenograft program. *PLoS One*. 12: e0188228. doi: 10.1371/journal.pone.0188228
24. Bondarenko G, Ugolkov A, Rohan S et al. (2015) Patient-Derived Tumor Xenografts Are Susceptible to Formation of Human Lymphocytic Tumors. *Neoplasia*. 17: 735–41. doi: 10.1016/j.neo.2015.09.004
25. Dieter SM, Giessler KM, Kriegsmann M et al. (2017) Patient-derived xenografts of gastrointestinal cancers are susceptible to rapid and delayed B-lymphoproliferation. *Int J Cancer*. 140: 1356–63. doi: 10.1002/ijc.30561
26. Yagishita S, Kato K, Takahashi M et al. (2021) Characterization of the large-scale Japanese patient-derived xenograft (J-PDX) library. *Cancer Sci*. 112: 2454–66. doi: 10.1111/cas.14899
27. Mukohyama J, Iwakiri D, Zen Y, Mukohara T, Minami H, Kakeji Y, Shimono Y (2016) Evaluation of the risk of lymphomagenesis in xenografts by the PCR-based detection of EBV BamHI W region in patient cancer specimens. *Oncotarget*. 7: 50150–60. doi: 10.18632/oncotarget.10322
28. Corso S, Cargnelutti M, Durando S et al. (2018) Rituximab Treatment Prevents Lymphoma Onset in Gastric Cancer Patient-Derived Xenografts. *Neoplasia*. 20: 443–55. doi: 10.1016/j.neo.2018.02.003
29. Tillman H, Vogel P, Rogers T, Akers W, Reh JE (2020) Spectrum of Posttransplant Lymphoproliferations in NSG Mice and Their Association With EBV Infection After Engraftment of Pediatric Solid Tumors. *Vet Pathol*. 57: 445–56. doi: 10.1177/0300985820913265
30. Chateau-Joubert S, Hopfe M, Richon S, Decaudin D, Roman-Roman S, Reyes-Gomez E, Bieche I, Nemati F, Dangles-Marie V (2021) Spontaneous mouse lymphoma in patient-derived tumor xenografts: The importance of systematic analysis of xenografted human tumor tissues in preclinical efficacy trials. *Transl Oncol*. 14: 101133. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101133
31. Campbell MR, Nation PN, Andrew SE (2005) A lack of DNA mismatch repair on an athymic murine background predisposes to hematologic malignancy. *Cancer Res*. 65: 2626–35. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3158
32. Custer RP, Bosma GC, Bosma MJ (1985) Severe combined immunodeficiency (SCID) in the mouse. Pathology, reconstitution, neoplasms. *Am J Pathol*. 120: 464–77.
33. Chiu PP, Ivakine E, Mortin-Toth S, Danska JS (2002) Susceptibility to lymphoid neoplasia in immunodeficient strains of nonobese diabetic mice. *Cancer Res*. 62: 5828–34.
34. Yuan Z, Fan X, Zhu JJ, Fu TM, Wu J, Xu H, Zhang N, An Z, Zheng WJ (2021) Presence of complete murine viral genome sequences in patient-derived xenografts. *Nat Commun*. 12: 2031. doi: 10.1038/s41467-021-22200-5
35. Meehan TF, Conte N, Goldstein T et al. (2017) PDX-MI: Minimal Information for Patient-Derived Tumor Xenograft Models. *Cancer Res*. 77: e62-e6. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0582
36. Conte N, Mason JC, Halmagyi C et al. (2019) PDX Finder: A portal for patient-derived tumor xenograft model discovery. *Nucleic Acids Res*. 47: D1073–D9. doi: 10.1093/nar/gky984
37. Woo XY, Srivastava A, Graber JH et al. (2019) Genomic data analysis workflows for tumors from patient-derived xenografts (PDXs) : challenges and guidelines. *BMC Med Genomics*. 12: 92. doi: 10.1186/s12920-019-0551-2
38. Ledford H (2016) US cancer institute overhauls cell lines. Veteran cells to be replaced by human tumours grown in mice. *Nature*. 530: 391.
39. Gao H, Korn JM, Ferretti S et al. (2015) High-throughput screening using patient-derived tumor xenografts to predict clinical trial drug response. *Nat Med*. 21: 1318–25. doi: 10.1038/nm.3954
40. Morton JJ, Bird G, Keysar SB et al. (2016) XactMice: humanizing mouse bone marrow enables microenvironment reconstitution in a patient-derived xenograft model of head and neck cancer. *Oncogene*. 35: 290–300. doi: 10.1038/onc.2015.94
41. Capasso A, Lang J, Pitts TM et al. (2019) Characterization of immune responses to anti-PD-1 mono and combination immunotherapy in hematopoietic humanized mice implanted with tumor xenografts. *J Immunother Cancer*. 7: 37. doi: 10.1186/s40425-019-0518-z
42. Rosato RR, Davila-Gonzalez D, Choi DS, Qian W, Chen W, Kozielski AJ, Wong H, Dave B, Chang JC (2018) Evaluation of anti-PD-1-based therapy against triple-negative breast cancer patient-derived xenograft tumors engrafted in humanized mouse models. *Breast Cancer Res*. 20: 108. doi: 10.1186/s13058-018-1037-4
43. Meraz IM, Majidi M, Meng F et al. (2019) An Improved Patient-Derived Xenograft Humanized Mouse Model for Evaluation of Lung Cancer Immune Responses. *Cancer Immunol Res*. 7: 1267–79. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0874

維持会員便り

EP トレーディングとEPS グループのこと

EP トレーディング株式会社 西口 聡

はじめに

我々 EP トレーディングは、2 年半ほど前に新設された会社です。過去を遡れば、事業としては 1960 年代末に、加商（現豊田通商）が始めた医薬研究開発用資材の輸入卸売が原点となります。ご存知の方もいらっしゃるかと思いますが、海外で生産された実験用のビーグル犬、カンクイザルや実験動物飼育ケア製品を輸入販売しつつ、会社名としては、豊田通商（～2001）、エルエスジー（～2014）、EPS 益新（～2018）と変遷してきました。現在の EPS グループに入ったのは、エルエスジーが設立された 2002 年で、間もなく 20 年が経とうとしています。今回は、EP トレーディングと EPS グループのことについて、グループ内表彰イベントを切り口に紹介したいと思います。

EPS グループとは

ご存知ない方も多いと思いますので、EPS グループについて簡単に紹介します。EPS グループは、祖業である新規医薬品の臨床試験（治験）の受託サービス事業を中心とした、ヘルスケア分野の総合アウトソーシング企業です。1991 年の業務開始以来、国内外の医療・ヘルスケア関連分野に対して、提供するサービスの幅を徐々に広げてきました。現在、国内に 14 社を擁し、約 7 千名の社員が働いています。

EPS のマネジメント基本指針：「EPSWAY」とは

私たちは、経営理念や行動指針、マネジメントなどについての「EPS グループの軸となる考え方」を「EPSWAY」（イーピーエスウェイ）と呼んでいます。

EPS グループは、2015 年にホールディングス化を図りました。狙いは、グループ全体の経営戦略や事業計画の立案を通して各事業の相乗効果を計ることと、事業セグメントとの権限を明確化することで、各社の自立・自律を促すことにありました。また、同じ頃、EPS グループは事業拡大を目指すため積極的に M&A を行い会社数と社員数が飛躍的に増加させまし

た。ホールディングス化の効果を高め、さらに PMI（合併後の統合）を成功させるためにグループとしての一体感と求心力を醸成することが喫緊の課題となりました。つまり、EPS グループの「EPS グループの軸となる考え方」を暗黙知から明文化し、全ての社員と共有する必要に迫られたのです。2016 年、商品・営業・供給などの事業系、人事・財務・広報・総務などの管理系などテーマ別にワーキンググループが作られ、グループ横断的に選抜されたメンバーが分かれて検討を始めました。「EPSWAY」の検討内容は中間経営層向けの研修素材として活用しつつ、幾度かのブラッシュアップを経て、2018 年 5 月末、グループ内にリリースされました。

「EPSWAY 実践表彰」とは

EPSWAY 実践表彰は、EPSWAY の更なる理解と浸透を目指したグループ各社総参加の重要イベントです。EPSWAY には行動指針として「三つの志向」（顧客志向、ビジネス志向、人間志向）が定義され、受託プロジェクトや社内プロジェクトにかかわらず適用が求められています。そのため「三つの志向」は社員が最も尊重し、親しんでいる EPSWAY と言えるでしょう。サービス受託企業である EPS グループにとっては、お客様から依頼されたプロジェクトに対し、私たちのサービスを高品質、かつ、いかに効率よく提供できるか、つまりプロジェクトマネジメントが最も重要な課題になります。EPSWAY 実践表彰とは、そのプロジェクトマネジメントに、どのように「三つの志向」を応用、具現化したのかを競うコンテストです。毎年、グループ各社ではいくつかのプロジェクトについて、「三つの志向」に照らし合わせた取組みの詳細をストーリーにまとめ、5 月末のグループ創立記念日のプログラム：「EPSWAY 実践表彰」において発表します。また、優秀な取り組みは表彰され、その内容はグループ全体のサービス品質の向上に繋がるよう、各社で共有されています。

EPトレーディングの応募と受賞実績

EPトレーディングが「EPSWAY 実践表彰」に初めて応募したのは、2017年でした。タイトルは「中期目標を達成するための新規商材開発」で、当時取り掛かっていた米国Animal Care Systems社（OptiシリーズIVCラック）の日本国内への導入を題材としました。当時EPSグループは、創立30周年（2021年）に向けて中長期計画「Vision 30」を掲げており、EPトレーディングとしてACSという新規商材育成プロジェクトを通じて貢献しようとする内容をまとめたものでした。結果は、「奨励賞（もっとがんばりま賞）」でしたが、まずは応募を果たしたという実績は出来ました。

次に応募したのは2019年。タイトルは「ニーズの高い病態モデル動物作製用飼料の開発」。それまで数年間に亘って取り組んでいた、米国Research Diets社のNASH病態マウスモデル作製用飼料の開発・普及プロジェクトについてまとめたものです。当時、なかなか良い食餌誘導性NASHマウスモデルが無く困っておられた研究者の皆様に、適した飼料を提供することは大きな意義があり、かつ、その飼料が日本発祥の配合によるものと成り得ることは、EPSWAY行動指針の「顧客志向」と「ビジネス志向」にぴったりマッチした内容でした。更に、担当者が新分野に関する知識レベルを向上させることで、高い士気を維持したプロジェクトとして紹介しました。結果は、前回と同

じく「奨励賞」でしたが、EPSWAYに文章化されたプロジェクトマネジメントの要諦を、EPトレーディングも着実に押さえ始めていたという実感を得ていました。

また、「二つの「顧客」のニーズを粘り強くつなげた10年越しの市場開拓」というタイトルで、実験動物のコンディションを整える水分・栄養補給ジェルの普及について米国スタートアップ企業ClearH2O社の日本進出協働プロジェクトについてまとめたのも同じ年でした。

そして、2020年の応募タイトル：「大口の物品供給を完遂するというチャレンジ」によって、初めて特別賞を頂くこととなりました。プロジェクトの概要は、大学動物実験施設の改修案件を題材とさせて頂き、如何にして大量のACS社実験動物飼育装置を、速やか且つ柔軟に供給して行ったのかという流れをまとめたものです。タイトルに入れたチャレンジとは、大別して「調達マネジメント」、「物流マネジメント」、「コミュニケーションマネジメント」、「キャッシュマネジメント」の4つ。それぞれ、具体的なチャレンジ例を元に、ある時は対応的、ある時は能動的な施策を講じながらPDCAを回し、ACS社、代理店様、業務委託先様のチームワークで一つ一つ克服していったというストーリーを記しました。また、本プロジェクトで特に重要視した「顧客志向」においては、第一の顧客である大学ユーザー様の期待、①最小



スペースに多数の実験動物を良い環境で飼育したい、②導入、運用コストを抑えたい、③動物室内の匂いを抑えて作業環境を改善したい、に応えること。また第二の顧客であるACS社に対しては、日本市場への参入を日本代理店として成功に導くことを目指しました。

EPトレーディングが営むモノを販売する事業は、業務を受託してサービスを提供することで対価を得るEPSグループにとっては、若干馴染みの薄いものだったと思います。そのような中で高い評価を授かったことは、とても意義のあることだったと思います。

2021年の表彰は既に5月末に終わりました。当社からは、「中国最大ECイベント「ダブル11」で過去最高の販売を達成する、日本サポーター供給プロジェクト」を応募し、奨励賞を授かりました。EPトレーディングは、10年前から中国への実験動物飼育ケア

資材の輸出卸売を開始していますが、5年ほど前からヘルスケア商品の卸売へと広げつつあります。今回はそれについて発表をしたものです。因みに、今年、中国での飼育ケア資材の販売会社として、中国上海に子会社を設立しました。

最後に

EPSグループには、「価値あるソリューションの創出を通じて、健康産業の発展に貢献します」という経営基本理念があります。EPトレーディングは、そのグループ会社の一社として、或いは加商時代からの一貫した思いとして、引き続きそれを目指していきたいと思っています。

海外とのやり取りでの困りごと。お客様から「まずはEPトレーディングに相談してみよう」と思っただけのパートナーで在れたら良いと思います。

会員便り

任期短し？ 楽しめよ研究者！

群馬大学生体調節研究所 ゲノム科学リソース分野
学振特別研究員 (PD)
小林良祐

学生時代に、「研究」という活動は貴族の「遊び」にルーツがあるという話を聞き、中世欧州の貴族のように優雅で自由な研究者という存在を空想し、憧れ、ドカンと生命科学研究の世界に飛び込んでから10年の月日が経ちました。現実には華やかな貴族とは程遠く、実に地道であり、それでいて時間や期限(任期だったり研究費助成期間だったり)には常に追われ、今日という1日1日をただ必死に生きているというのが実情です。期待した結果が得られず将来さえも不安になる時は、ついついがむしゃらに頑張り通し、結局は疲弊してしまう自分に気づきます。いわゆる時短術やライフハックで、研究の世界を「楽」に生きていくことはできないだろうか？

「命短し、恋せよ乙女」ならぬ、「任期短し？ 楽しめよ研究者！」。

動物実験は何かと時間がかかり、また一筋縄ではいきません。しかし貴族のように優雅？に生きていきたいという野望も未だ捨てきれない私は、これまで動物実験にかかる時間や労力を少しでも削減できるような技術の開発を行ってきました。今回は、こうした技術や我々の取り組みを紹介することを通じて私のことを皆様に知っていただければと考えています。

前置きが長くなってしまいました。群馬大学生体調節研究所・ゲノム科学リソース分野(畑田出穂 教授)で学振特別研究員(PD)として日々研究に従事しております、小林良祐と申します。今回は山口大学・今井啓之先生よりリレーエッセイのご指名を賜り、実験動物ニュースに拙筆を掲載いただく機会をいただきました。名古屋大学生命農学研究科・動物形態情報学(現・動物形態学、本道栄一 教授)にて博士課程を修了した後、金沢医科大学・助教を経て、2018年2月より現所属にて研究を行っています。私は、エビジェネティクスの観点から種々の疾患や生命現象を見つめ直し、それらを既存の視点とは異なる位置から解釈することで生命科学研究の発展に貢献する

ことを目指し研究を行っています。例えば、我々の武器でもあるゲノム編集を駆使して疾患モデルマウスを作製し、エピゲノム異常が子宮内膜がんの発症・進展に関わる可能性を探っています。

ゲノム編集マウスを楽に選抜せよ！

我々の研究室は、2017年9月よりAMEDが主催するBINDS(創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム)に採択され、全国の研究者を対象にfloxマウスを中心としたゲノム編集マウス作製支援を行うプロジェクトが進行中です。2021年8月までに、70系統以上のゲノム編集マウスを作製・供給していますが、その半数を占めるのがfloxマウスです。ご存知の通り、CRISPR-Cas9ゲノム編集の登場によってマウスの遺伝子改変は驚くべきほどに迅速化・簡便化しました。当研究室で開発した2ステップゲノム編集法[1, 2]は、これまで樹立に年単位の期間を要していたfloxマウスを数か月以内に作製可能にした独自技術であり、これによりゲノム編集マウス作製はさらに加速しています(図1上段)。

プロジェクトを通じてfloxマウス作製を行う中で、一つ、重要な問題が明らかになりました。マウス作製自体はゲノム編集技術の向上により迅速化した一方で、生まれてくるマウスから機能的なflox配列を持った個体だけを「選抜」する作業に依然として時間がかかってしまっていたのです。floxマウスでは、2つの正しいloxP配列がノックアウトしたい領域を挟んで挿入される必要があります。しかしゲノム編集後に生まれてくるマウスの中には、loxPが片側だけの個体、異なるアレル上にloxPがそれぞれ挿入された個体、loxP配列が異常な個体など、様々なパリエーションの“目的外個体”が出現します(図1下段)。機能的なflox配列を持った個体であることを証明するためには、flox領域全体をクローニングし、2つのloxPが同じアレル上に存在すること、そしてloxP配列に異常がないことを同時に証明する必要がありました。

特にflox領域が10 kbp前後になる場合、クローニングは非常に困難であり、相当な時間を費やしていました。そこで開発したのが、第66回実験動物学会でも発表させていただいた*In vitro* Cre recombination法です[3]。詳細は割愛させていただきますが、チューブ内でCreリコンビナーゼによる組換え反応を行い、その産物をPCRで検出することにより、巨大なflox領域を持つ系統でも2日以内にflox個体を選抜することができるようになりました(図2)。すなわち我々のfloxマウス供給は、2ステップ法で作製し、*In vitro* Cre recombination法で選抜することにより、飛躍的な効率化を達成しました。

疾患モデル動物を楽に作製せよ！

上記手法で作製したfloxマウスは、組織特異的な遺伝子欠損を可能にする「条件付きノックアウトマウス」を樹立するために必要です。条件付きノックアウトマウスを樹立するためには、floxマウスとCreドライバマウスとの間で交配を繰り返し、Cre/+, flox/flox (ホモ) の遺伝子型を持ったマウスを得なく

てはなりません。つまり実験で使用可能なレベルになるにはfloxマウスを手にしてから最低でも2世代の交配を要し、短い期間で結果が求められる大学院生やポスドクにはこれがネックとなります。私自身、子宮内膜がん研究のため条件付きノックアウトマウス作製を行いました。期待する遺伝子型を持ったマウスが生まれるまでの交配期間を悶々とした思いで過ごしました。どうかしてこの期間を短縮できないかという思いで、野生型受精卵からダイレクトに条件付きノックアウトマウス (Cre, flox/flox) が作製できるような新規ゲノム編集技術の開発にも取り組んでいます。上述の2ステップ法を改良することで、同一受精卵に対してCre配列とflox配列の同時挿入に成功しています。また、生体組織内でゲノム編集を実行することで、野生型マウスを疾患モデル化する試みにも挑戦しています。

膨大なデータを楽に収集せよ！

私が本格的にがん研究を開始したのは学位取得後でした。がん研究を始めて驚いたことは、がん研究

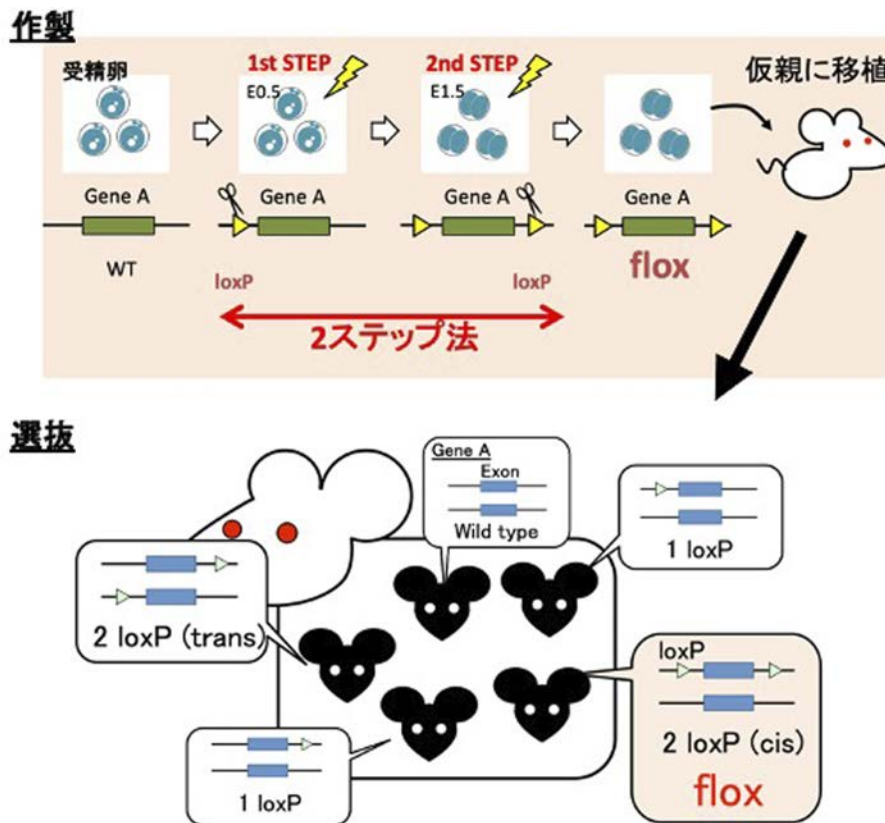


図1 2ステップ法によるfloxマウス作製と選抜の必要性

に関連した公共データベースが驚くほど充実していることでした。世界中の研究者の貢献により、何千種もの細胞株や、何万症例もの臨床検体に関する分子生物学的データ（遺伝子変異プロファイルやRNA-seqデータ etc.）が蓄積されています。これを活用すれば、事実上、自分では実験をすることなく仮説検証をすることさえできます。実際に我々は、がん遺伝子変異データベースから、ヒト子宮内膜がんではヒストンメチル化酵素ファミリー遺伝子群に高頻度で変異が認められることを見出し、その意義を解明する研究プロジェクトを進めています。データだけではなく、それらを高深度で解析するためのアルゴリズムも日々アップデートされています。コマンドベースでの解析が主になるので、苦手を感じる人は多いとは思いますが、先人の努力の結晶を有効活用しない手はないのではないのでしょうか？ バイオインフォマティクス（生物情報解析）研究のことを「ドライ」、動物や細胞を使いピペットを持って実験を行う研究の

ことを「ウェット」と呼びますが、その中間を自虐的に“ナマ乾き”とも呼ぶようです。ある程度の仮説はオープンデータから検証し、ここぞの場面でピペットを握る。「ウェット」出身の私にとっては、バイオインフォマティクスの波を乗り越えて「プロのナマ乾き」になることが研究者としての未来を切り開く鍵になると信じています。

最後に

幸運にも、これまで多くの研究プロジェクトに携わることができ、その中で研究は一人の力で進めることはできないことを学びました。研究が上手くいかずに壁にぶち当たっている時は、何かと一人の力で乗り切ろうとして躍起になっているような気がします。そんな時こそ一旦冷静になって振り返り、巨人の肩（先人の知恵、過去の文献、データベース等）や仲間の力を進んで借りるべきだと思いますし、それができていることが自分の強みの一つだとも思います。

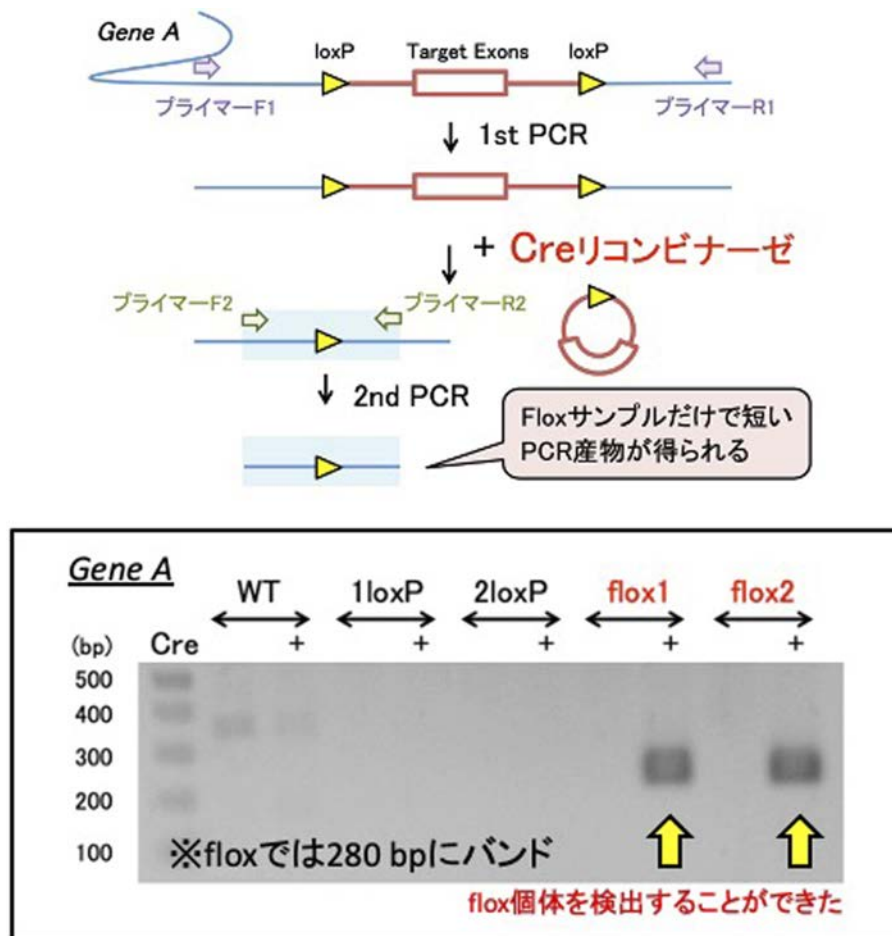


図2 *In vitro* Cre recombination法による flox 個体の検出

逆に、我々が行ってきたマウス作製支援サービスでは、多くの研究者の方々の力になることができたと思自負しています。

これまで、頼れる仲間を探す機会として学会が活躍してきたかと思いますが、近年のコロナ禍でその機会が失われていることが残念でなりません。オンライン開催が主体となるニューノーマルな環境の中であっても、今後の実験動物学会総会が研究者同士を繋ぐ場として機能し続けることを切に願います。

結局、研究者同士がポジションや研究室、国籍、さらには時代をも超えて協力し合うことこそが、研究の世界を「楽」にそして「楽しく」生きていくためのコツなのかな、と思うこの頃です。

参考文献

1. Horii T., Morita S., Kimura M., Terawaki N., Shibutani M., and Hatada I. Efficient generation of conditional knockout mice via sequential introduction of lox sites. *Scientific Reports* 7(1): 7891. 2017.
2. Horii T., Kobayashi R., Kimura M., Morita S., and Hatada I. Calcium-free and cytochalasin B Treatment Inhibits Blastomere Fusion in 2-cell stage embryos for the generation of floxed mice via sequential electroporation. *Cells* 9(5): 762–766. 2020.
3. 小林良祐, 堀居拓郎, 川田結花, 末友恵理子, 木村美香, 森田純代, 畑田出穂. ゲノム編集を用いて作出した flox マウスの迅速なスクリーニング法. 第 66 回日本実験動物学会総会. 2019 年 5 月.

会員便り

歯が生えてくるのは痛いのか？日本にはないTeething painの概念

京都大学霊長類研究所 助教
宮部貴子

こんにちは。京都大学霊長類研究所（霊長研）の宮部貴子と申します。岐阜大学の平田先生より、リレーエッセイのバトンをいただきました。私は、霊長研で飼育しているサル類の飼育健康管理を担う部署の教員という立場で、臨床現場の第一線から一歩下がったあたりの位置で仕事をしています。日々の臨床業務は兼子明久獣医技術専門職員が率いるチームが担当し、私はそこから派生する研究の側面に取り組んでいます。主な研究テーマは、麻酔、疼痛管理、自然発症疾患、動物福祉です。今回は、「痛み」に関連して、ヨーロッパで出会った概念「teething pain」についてご紹介してみたいと思います。

現在は、コロナ禍の影響で、海外どころか新幹線で1時間半の距離にも、もう1年半以上行くことができません。一方で、オンラインの会議やセミナーにはだいぶ慣れ、情報収集や話し合いには差し支えないような気にもなります。以前よりも気楽に、遠隔地の人とオンライン会議ができ、出張のためのさまざまな調整や旅費も不要で、このままで良いのではという気にさえなってしまうかもしれません。とはいえ、何よりその土地に行って対面で人と会えるのは楽しいことですし、その時・その場・その状況にいないと得られ

れない情報というのは、確実に存在します。

それを実感したのが、約10年前にイギリスに6か月（写真1）、その後、オランダに9か月（写真2）滞在していた時でした。私の専門分野であるはずの「痛み」に関する概念で、概念丸ごと日本にはない、ということに衝撃を受けました。それが「teething pain」です。「teething pain」というのは、「ヒトの生後6か月ぐらいのからの、初めて歯肉を突き破って歯が生えてくる時の痛み」ということです。日本では、それが痛いというように何とも曖昧な言葉で表現されています（この原稿を書くために久しぶりにネット検索してみましたら、いくつかは「痛い」という表現や、「歯ぐずり」という表現を使っているサイトがありました）。それを、はっきりと「pain」とし、そのために生後2か月から服用できるアセトアミノフェンのシロップが



写真1 イギリス Lincoln大聖堂



写真2 オランダの風車(Winsum)

ドラッグストアで市販されている他、当時は、歯茎に塗るための局所麻酔薬入りのジェルも市販されていました。局所麻酔薬入りのジェルは、その後数年でメトヘモグロビン血症のリスクがあるということになり、約4年後に再訪した時には全く見なくなりましたが、キシリトールなど少しスッとする成分が入ったジェルはまだ市販されているようです。歯茎を冷やすと痛みが緩和されるとのことで、「歯固め」も、中に水が入っており、冷蔵庫で冷やして使用することでした(写真3)。その他にも、「teething pain」を和らげるといわれる琥珀のネックレス(首絞めのリスクがあるため注意喚起が出ています)などもあり、根拠がほとんどわからないようなものから、医学的なものまで様々な対応策がありました。

「teething pain」について、現地の獣医師やヒト麻酔専門医の先生方にも聞いてみましたが、「歯が生えるのは、そりゃ痛いよ」というような反応で、当然のこととして受け入れられているようでした。多くの皆様は、乳歯が永久歯に生え変わる時の記憶しかなく、その時は、歯が生えてくること自体は、特に痛くなかったかと思います。それは、すでに生えていた歯によって歯肉が開いていたからであって、乳児期の何もないまっさらな歯肉を破って歯が生えることが痛いのだ、ということのようでした。

ちょうど歯が生えてくる時期の乳児は、夜泣きを

したり、熱が出たり、涎が多く出たり、頬が赤くなったり、とさまざまなことがあると思いますが、それらを全て「teething」のせいだ、とする風潮があり、「熱が出る場合は感染症の可能性があるので、何でもteethingだと決めつけずに小児科に行くように」との注意喚起が出ているほどでした。その頃の時期の子が、外出先で不機嫌だったり、泣き喚いたりしても、「ああ、teethingだから仕方ないね」と許されてしまうようなところもありました。もちろん、「痛み」の例に漏れず、個人差が大きく、ほとんど「teething pain」がなく機嫌の良い子もいれば、「teething pain」がひどくて親も子も疲弊してしまうこともあるようです。日本でいう「夜泣きがひどい」という例の中にも、もしかして「teething pain」があるのかもしれない。

調べてみると、「teething pain」は人間だけではなく、子犬でも認識されているようですが、犬や猫の場合は「pain」ではなく「discomfort」と表現されていることもあるようです。PubMedでは「teething pain」に関する論文は多くはありませんが、「teething」にまつわる都市伝説(myth)に関する論文や、乳幼児に琥珀のネックレスをつけることの危険性に関するものなど、比較的最近の論文もいくつかありました。欧米以外にも、サウジアラビアやシンガポールの著者の論文もあり、「teething pain」の概念は広範囲で常識なのかもしれません。

痛みとは個人的なものであり、当事者や当事者の身近な人以外には想像もつかないこともあります。「teething pain」を知って、改めて、考えもしなかった痛み苦しんでいる人(子ども、動物)も、他にもいるのかもしれないと考えさせられました。一昔前は、動物の痛みも子どもの痛みも軽く扱われていましたが、今は、適切な痛みのケアによるメリットが認識され、重視されるようになっていきます。それでも、例えばオランダでは、子どもの採血の際の痛みなどにも配慮が行き届き、1時間前から表面麻酔のクリームを塗布するなど丁寧にされていましたが、日本ではおさえつけて無理やり採血ということがまだ多いようです。実験動物に対しても、正の強化トレーニングが良いと分かっているながら、人手の少なさや時間のなさで、行き届かないことが多いです。実験動物の痛みの認識および疼痛管理については、まだ分からないことが多く、気が遠くなりますが、少しずつ分かること・できることを増やしていきたいと考えています。



写真3 冷蔵庫で冷やして使う歯固め

他学会情報

公益社団法人日本実験動物協会の動き

I. 実験動物技術者資格認定試験

1. 2級 実技試験 10月30日（土）
2. 1級 実技試験 10月31日（日）

詳細については、日動協ホームページ <http://www.nichidokyo.or.jp/> でご確認ください。

II. 各種実技研修会について

1. 微生物モニタリング技術研修会

開催予定日：2021年10月15日（金）～16日（土）

開催場所：公益財団法人実験動物中央研究所

内容等：最新の微生物モニタリング技術を2日間で実践的に学べます。

研修内容は、微生物モニタリング検査の初心者の方だけでなく、すでにその業務に携わっている方のスキルアップあるいは情報収集にも役立つ内容となっています。

2. その他の研修会

例年行っているウサギ実技研修会及びブタ実技研修会は、新型コロナウイルス感染症の感染拡大防止のため、今年度の開催を見送らせていただきます。受講を予定していた皆様にはご迷惑をお掛けしますが、何卒ご理解いただきますようお願い申し上げます。

日本実験動物学会からのお知らせ

理事候補者選挙について

公益社団法人日本実験動物学会選挙管理委員会

委員長：真下知士

委員：林元展人

定款および理事候補者選出細則に則り、令和4～5年度在任理事候補者の選挙を下記の要領で実施します。

1. 日本実験動物学会名誉会員および正会員（令和3年4月1日現在）のうち、理事候補者選出細則第4章第9条に従い、名誉会員、小倉淳郎会員、庫本高志会員、杉山文博会員、林元展人会員および真下知士会員は立候補できません。それ以外の正会員の方々が被選挙人としての有資格者です。日本実験動物学会会員名簿は10月初旬に全会員へ発送します。
2. 選挙は立候補者制をとります。下記の「令和4～5年度理事候補者推薦書」用紙に立候補者名と正会員3名以上の推薦者名を記入して推薦してください。推薦にあたり、立候補者の承諾を得てください。複数の立候補者を推薦するときは用紙をコピーしてそれぞれ個別に推薦してください。
3. 推薦書は選挙管理委員会事務局まで郵送してください。推薦受付期間は11月8日（月）～11月30日（火）（当日消印有効）です。
4. 選挙公報、立候補者名簿、投票用紙等は12月24日（金）までに会員宛に発送致します。
5. 投票は立候補者の5名連記による無記名投票を郵送で行い、上位15名を当選者とし（第15位の得票が同数の場合は抽選）。
6. 投票の受付期間は12月24日（金）～2月4日（金）（当日消印有効）です。
7. 選挙管理委員会事務局は学会事務所（〒113-0033 東京都文京区本郷6-26-12 東京RSビル）内におきます。

.....切 り と り 線.....

令和4～5年度理事候補者推薦書

令和3年11月 日

下記会員を理事候補者として推薦致します。

立候補者氏 名：

年 齢：

所 属：

現職名：

推薦者（3名以上）

氏名

㊞

氏名

㊞

氏名

㊞

令和3年度 維持会員懇談会の開催について

財務特別委員会
委員長 高木博隆

日頃、(公社)日本実験動物学会への維持会員の皆様からのご理解とご支援、誠にありがとうございます。昨年はコロナ禍との事もあり例年通りの講演会および懇親会は中止致しました。その代替えとして維持会員 EXPO を開催致し、維持会員の会社においてアピールをして頂く場を設け、非常に盛況でございました。今年度はコロナの影響が続いている中でもございますが WEB 会議システムを用いた講演会を開催致します。コロナウイルス感染の拡大は多方面にわたり影響が出ています。

このような状況下であればこそ、実験動物学の発展・啓蒙はアカデミアのみならず社会と産業への貢献などの為に重要でございます。本年の維持会員懇談会は「動物福祉と動物本来の生態観察」並びに「再生医療の現状と実際」とのテーマにて開催を致します。維持会員の皆様に限らず、実験動物や動物実験にかかわる多くの皆様をお迎えして、当学会活動に親しんでいただく機会になれば幸いです。

プログラム・参加申し込み等については、後日本学会のホームページ (<https://www.jalas.jp/>) に掲載いたしますので、そちらでご確認ください。多くの方のご参加をお待ちしております。

令和3年度(公社)日本実験動物学会 維持会員懇談会

日 時：令和3年11月19日(金) 13:00～(講演会)

場 所：WEB 開催

内 容：理事長挨拶

「動物実験の機関管理体制の推進」

公益社団法人日本実験動物学会 三好 一郎 理事長

講演の部(1)「動物福祉と動物本来の生態観察」

「動物福祉に配慮した自然老化動物の育成」

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター 研究所 実験動物施設
野田 義博 先生

「デジタル手法を用いた臨床外挿性の高い動物実験法の確立」

公益財団法人実験動物中央研究所 山本 大地 先生

講演の部(2)「再生医療の現状と実際」

「再生医療実用化20年の歩みと将来展望」

一般社団法人再生医療イノベーションフォーラム 畠 賢一郎 先生

「細胞から希望をつくる！ーサイフューズの頂戦ー」

株式会社サイフューズ 三條 真弘 先生

「バイオ創薬の開発・製造会社になれるか？」

株式会社ツーセル 辻 紘一郎 先生

参加費：無料

主 催：(公社)日本実験動物学会

後 援(予定)：日本製薬工業協会、(一社)日本安全性試験受託研究機関協議会、
NPO 法人動物実験関係者連絡協議会、日本実験動物協同組合、
日本実験動物器材協議会、(公社)日本実験動物協会

第69回日本実験動物学会総会のご案内（その1）

The 69th Annual Meeting of the Japanese Association for Laboratory Animal Science

テーマ：「動物実験を支え、育み、生命に尽くす」

大会長：三好一郎（東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設）

会期：2022年5月18日（水）～20日（金）（予定）

会場：仙台国際センター（〒980-0856 仙台市青葉区青葉山無番地）

Tel. 022-265-2211（代表） Fax. 022-265-2485

プログラム案

特別講演（企画中）

学会本部企画シンポジウム

学術集会委員会（企画中）

実験動物感染症対策委員会（企画中）

動物福祉・倫理委員会（企画中）

LAS セミナー（教育研修委員会，企画中）

第69回総会企画シンポジウム（企画中）

実験動物医学会協賛企画シンポジウム（「間葉系幹細胞を用いた再生医療の現状と展望（仮題）」）

一般講演

ポスター発表

なお、「若手発表賞（仮称）」に応募された方には口演発表をしていただきます

ランチョンセミナー

ホスピタリティールーム

器材展示

情報交換会

大会事務局

〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1

東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設内

E-MAIL: jalas69@assoc.med.tohoku.ac.jp

運営事務局

〒980-0804 仙台市青葉区大町一丁目 4-1 明治安田生命仙台ビル 4 階

（株）JTB 仙台支店内

TEL：022-263-6716

FAX：022-263-7481

E-MAIL：jalas69@jtb.com

<http://jalas69.jtb.com>（準備中）

第9回実験動物科学シンポジウムの企画について

昨年度は延期した第9回実験動物科学シンポジウムですが、今年度も新型コロナウイルス感染拡大のために、オンラインで開催することは困難と判断しました。日本と海外がリアルタイムで繋がるオンラインの利点を生かして、海外で活躍している日本人研究者に講演をしてもらうことにしました。「アメリカでの生命科学研究の現状（仮）」と題して、4名の新進気鋭の先生に講演をお願いしています。時差の関係から日本時間の午前の開催となりますが、日程（12月～1月の予定）が決まりましたら学会HP等でお知らせいたします。

講演者と講演タイトル（順不同）

谷口 怜（Satoshi Taniguchi）先生

所 属：Department of Pathology, University of Texas Medical Branch Galveston

タイトル：「高度封じ込め施設における動物実験の紹介と日米における比較」

“Introduction of animal experiments in high containment laboratories”

平野 雅之（Masayuki Hirano）先生

所 属：Pathology and Laboratory Medicine, Emory University School of Medicine

タイトル：「ヤツメウナギの特性とその抗体応用」

“Lamprey as a model animal in evolutionary and immunological research”

宝来 玲子（Reiko Horai）先生

所 属：Laboratory of Immunology, National Eye Institute, NIH

タイトル： “Microbiota and Ocular Autoimmunity”

相田 知海（Tomomi Aida）先生

所 属：McGovern Institute for Brain Research, Massachusetts Institute of Technology

Stanley Center for Psychiatric Research, Broad Institute of MIT and Harvard

タイトル：「遺伝子改変霊長類モデルとその未来」

“Genetic non-human primate models and beyond”

2021年10月
学術集会委員会委員長
浅野 雅秀

Experimental Animals

— 和 文 要 約 —

Vol. 70, No. 4 October 2021

総説

奨励賞

イヌ筋ジストロフィーモデルにおける新規アウトカム・メジャー開発を
目指した研究.....419-430

倉岡睦季^{1,2)}・青木吉嗣²⁾・武田伸一³⁾

¹⁾ 日本獣医生命科学大学応用生命科学部動物科学科実験動物学教室,

²⁾ 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター神経研究所遺伝子疾患治療研究部,

³⁾ 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター神経研究所

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) は、筋線維の変性・再生および炎症反応を特徴とする遺伝性の筋疾患であり、臨床的に進行性の筋力低下を呈する。我々は、DMD病態をよく反映したイヌモデルCXMD_Jにおいて、新規治療法の開発を進めると共に治療効果を判定するアウトカム・メジャーの研究を行ってきた。血清バイオマーカーの研究では、炎症性サイトカインであるオステオポンチン (OPN) に着目し、CXMD_J患犬の病態進行に基づいた血清OPN値を測定した。患犬の血清OPN値は、病態早期において健常犬よりも有意に上昇し、これらは筋組織における再生筋線維での発現と関連することがわかった。血清OPNは筋再生を反映する新規マーカーとなる可能性がある。次に運動機能評価では、ワイヤレス・センサを用いて患犬の走行における3方向軸の加速度・角速度を計測し、運動の定量化を行った。患犬のパラメータは健常犬よりも低く、病態進行にともなって減少した。また動揺性歩様を示唆するパラメータが検出された。加速度計測による運動機能評価は、わずかな変化も鋭敏に検出する多面的な評価指標を提供すると考えられる。

Caffeine: cardiorespiratory effects and tissue protection in animal models..... 431–439

Dina VILLANUEVA-GARCÍA¹⁾, Daniel MOTA-ROJAS²⁾, Agatha MIRANDA-CORTÉS³⁾,
Daniel IBARRA-RÍOS¹⁾, Alejandro CASAS-ALVARADO²⁾, Patricia MORA-MEDINA⁴⁾,
Julio MARTÍNEZ-BURNES⁵⁾, Adriana OLMOS-HERNÁNDEZ⁶⁾ and
Ismael HERNÁNDEZ-AVALOS³⁾

¹⁾Division of Neonatology, National Institute of Health, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Doctor Márquez 162, 06720, Mexico City, Mexico

²⁾Neurophysiology, Behavior, and Animal Welfare Assessment, Department of Animal Production and Agriculture (DPAA), Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) Xochimilco Campus, Calzada del Hueso 1100. Col. Villa Quietud. Coyoacán, 04960, Mexico City, Mexico

³⁾Clinical Pharmacology and Veterinary Anaesthesia, Department of Biological Science, FESC, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km. 2.5 San Sebastian Xhala, 54714, Cuautitlán Izcalli, State of Mexico, Mexico

⁴⁾Livestock Science Department, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km. 2.5 San Sabastian Xhala, 54714, Cuautitlán Izcalli, State of Mexico, Mexico

⁵⁾Graduate and Research Department, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Km 5 Carretera Victoria-Mante, 87000, Cd. Victoria, Tamaulipas, Mexico

⁶⁾Division of Biotechnology, Department Bioterio and Experimental Surgery. Instituto Nacional de Rehabilitación-Luis Guillermo Ibarra Ibarra (INR-LGII), Calzada México Xochimilco, 289, 14389, Mexico City, Mexico

The aim of this review is to analyze the cardiorespiratory and tissue-protective effects of caffeine in animal models. Peer-reviewed literature published between 1975 and 2021 was retrieved from CAB Abstracts, PubMed, ISI Web of Knowledge, and Scopus. Extracted data were analyzed to address the mechanism of action of caffeine on cardiorespiratory parameters (heart rate and rhythm), vasopressor effects, and some indices of respiratory function; we close this review by discussing the current debate on the research carried out on the effects of caffeine on tissue protection. Adenosine acts through specific receptors and is a negative inotropic and chronotropic agent. Blockage of its cardiac receptors can cause tachycardia (with arrhythmogenic potential) due to the intense activity of β_1 receptors. In terms of tissue protection, caffeine inhibits hyperoxia-induced pulmonary inflammation by decreasing proinflammatory cytokine expression in animal models. The protection that caffeine provides to tissues is not limited to the CNS, as studies have demonstrated that it generates attenuation of inflammatory effects in pulmonary tissue. It inhibits the effects of some pro-inflammatory cytokines and prevents functional and structural changes.

原著

Overexpression of miR-224-5p alleviates allergic rhinitis in mice via the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway 440–449

Jianhua WU¹⁾, Lizhen WU²⁾, Li ZHANG¹⁾, Huanhuan XU¹⁾, Min WANG¹⁾,
Lin WANG¹⁾, Jie CHEN¹⁾ and Kaiyue SUN³⁾

¹⁾Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Binzhou People's Hospital, No. 515, Huanghe 7th Road, Bincheng District, Binzhou, 256610, Shandong, China

²⁾Department of Otolaryngology, Beijing Shijingshan Hospital, No. 24, Shijingshan Road, Beijing, 100043, China

³⁾Shandong Institute of Otolaryngology, Shandong Provincial ENT Hospital Affiliated to Shandong University, No. 4 Duanxing West Road, Jinan, 250022, Shandong, China

Inflammatory allergic reaction is the main cause of allergic rhinitis (AR). Previous studies indicated that miR-224-5p was downregulated in the nasal mucosa of patients with AR, while the function of miR-224-5p in AR remains unclear. To explore this issue, AR mouse model was established using ovalbumin (OVA). For treatment group, lentivirus (LV)-miR-224-5p or its control was intranasally administrated to AR mice. miR-224-5p expression was detected by reverse transcription-quantitative PCR, followed by assessing the immunoglobulin E (IgE) level. Pathological alterations in nasal mucosa were detected using Hematoxylin-Eosin staining and Sirius red staining, followed by assessing the levels of inflammatory cells and factors. The NLRP3 inflammasome and TLR4/MyD88/NF- κ B pathway were measured by Western blot, and then the relationship between miR-224-5p and toll-like receptor 4 (TLR4) was verified. The results showed that miR-224-5p was significantly decreased in nasal mucosa of AR mice. AR mice exhibited increased sneezing and nasal rubbing events, IgE level in serum, and pathological alterations in nasal mucosa, while overexpression of miR-224-5p markedly attenuated these changes. The levels of inflammatory cells in nasal lavage fluid and pro-inflammatory factors in serum and nasal mucosa were significantly increased in AR mice, which were reduced by miR-224-5p overexpression. Of note, LV-miR-224-5p treatment remarkably suppressed the activations of NLRP3 inflammasome and the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway in AR mice. Furthermore, miR-224-5p could bind to 3'-untranslated region (3'-UTR) of TLR4 and negatively regulate TLR4 level. Overall, we conclude that miR-224-5p may relieve AR by negatively regulating TLR4/MyD88/NF- κ B pathway, indicating that miR-224-5p may be a promising target for AR treatment.

AAV9 transduction mediated by systemic delivery of vector via retro-orbital injection in newborn, neonatal and juvenile mice 450–458

Shilpa PRABHAKAR^{1,2)}, Sevda LULE^{1,2)}, Cintia Carla DA HORA^{1,2)},
Xandra O. BREAKFIELD^{1,2)} and Pike See CHEAH^{1–3)}

¹⁾Department of Neurology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, 149 13th Street, Charlestown, 02129, Boston, MA, USA

²⁾Center for Molecular Imaging Research, Department of Radiology, Massachusetts General Hospital, 149 13th Street, Charlestown, 02129, Boston, MA, USA

³⁾Department of Human Anatomy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Putra Malaysia, Serdang, Selangor, 43400, Malaysia

Adeno-associated virus (AAV)-based gene therapy is gaining popularity owing to its excellent safety profile and effective therapeutic outcomes in a number of diseases. Intravenous (IV) injection of AAV into the tail vein, facial vein and retro-orbital (RO) venous sinus have all been useful strategies to infuse the viral vector systemically. However, tail vein injection is technically challenging

in juvenile mice, and injection at young ages ($\leq$ postnatal day-(P)21) is essentially impossible. The temporal or facial vein is localized anterior to the ear bud and is markedly visible in the first couple of days postnatally. However, this method is age-dependent and requires a dissecting microscope. Retro-orbital injection (ROI), on the other hand, is suitable for all murine ages, including newborn and older mice, and is relatively less stressful to animals compared to tail vein injection. Although many reports have shown ROI as an effective route of AAV delivery, herein we aim to highlight and summarize the methods and benefits of ROI. To capture the full spectrum of transduction efficiency mediated by ROI, we transduced the editing-dependent reporter mice (Ai9 Cre reporter mice) with the AAV9 vector, which targets a wide range of peripheral tissues with exceptional brain tropism. We also provide a comprehensive description of the ROI technique to facilitate viral vector administration without complications.

An L314Q mutation in *Map3k1* gene results in failure of eyelid fusion
in the N-ethyl-N-nitrosourea-induced mutant line.....459–468

Bing CHEN¹⁻³⁾, Hong-Ling WANG²⁾, Rui CHEN^{2)*}, Li CHEN²⁾, Shun YANG²⁾,
Yi WANG²⁾ and Zheng-Feng XUE¹⁻³⁾

¹⁾Institute of Comparative Medicine, Yangzhou University, 12 Wenhui East Road, Yangzhou, Jiangsu Province 225009, P.R.China

²⁾College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, 12 Wenhui East Road, Yangzhou, Jiangsu Province 225009, P.R.China

³⁾Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou University, 12 Wenhui East Road, Yangzhou, Jiangsu Province 225009, P.R.China

In this study, we describe an N-ethyl-N-nitrosourea-induced mouse model with a corneal opacity phenotype that was associated with “eye open at birth” (EOB). Histological and immunohistochemistry staining analysis showed abnormal differentiation of the corneal epithelial cells in the mutant mice. The EOB phenotype was dominantly inherited on a C57BL/6 (B6) background. This allele carries a T941A substitution in exon 4 that leads to an L314Q amino acid change in the open reading frame of MAP3K1 (MEEK1). We named this novel *Map3k1* allele *Map3k1*^{L314Q}. Phalloidin staining of F-actin was reduced in the mutant epithelial leading edge cells, which is indicative of abnormality in epithelial cell migration. Interestingly enough, not only p-c-Jun and p-JNK but also c-Jun levels were decreased in the mutant epithelial leading edge cells. This study identifies a novel mouse *Map3k1* allele causing EOB phenotype and the EOB phenotype in *Map3k1*^{L314Q} mouse may be associated with the reduced level of p-JNK and c-Jun.

Baihui (DU20)-penetrating-Qubin (GB7) acupuncture regulates microglia polarization through miR-34a-5p/*Klf4* signaling in intracerebral hemorrhage rats..... 469–478

Dan LI¹⁾, Yonghou ZHAO²⁾, Peng BAI¹⁾, Yan LI³⁾, Siqi WAN⁴⁾, Xi ZHU⁵⁾ and Mengyu LIU¹⁾

¹⁾Department of Acupuncture, Beijing University of Chinese Medicine Third Affiliated Hospital, No. 51 Xiaoguan Street, Anwai, Chaoyang District, Beijing 100029, P.R. China

²⁾Department of Psychiatry, Heilongjiang Mental Hospital, No. 153 Hengdao Street, Xiangfang District, Harbin 150036, P.R. China

³⁾Department of Otolaryngology, First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, No. 26 Heping Road, Xiangfang District, Harbin 150040, P.R. China

⁴⁾School of Traditional Chinese Internal Medicine, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, No. 5 Haiyuncang, Dongcheng District, Beijing 100700, P.R. China

⁵⁾School of Acupuncture and Massage, Beijing University of Chinese Medicine, No. 11 North Three-ring East Road, Chaoyang District, Beijing 100029, P.R. China

Intracerebral hemorrhage (ICH) is the most devastating subtype of stroke with high morbidity and mortality. The previous study has confirmed the therapeutic effect of Baihui (DU20)-penetrating-Qubin (GB7) acupuncture on ICH, while the related mechanism is left to be revealed. The aim of this study was to investigate the relevant mechanisms. ICH rat models were established utilizing the autologous blood injection method and the beneficial effect was found after DU20-penetrating-GB7 acupuncture along with decreased miR-34a-5p levels in the perihemorrhagic penumbra. Inversely, upregulating miR-34a-5p expression inhibited microglia M2 polarization while accelerated M1 polarization through targeting Krüppel-like factor 4 (*Klf4*), and thereby diminished the protective effect of DU20-penetrating-GB7 acupuncture on ICH. The results suggested the therapeutic effect of DU20-penetrating-GB7 acupuncture on ICH might be attributed to its modulation on microglia polarization through miR-34a-5p/*Klf4* signaling.

A complete heart regeneration model with inflammation as a key component..... 479–487

Chang LIU^{1,2)}, Liangshan WANG¹⁾, Xianpei WANG³⁾ and Xiaotong HOU¹⁾

¹⁾Center for Cardiac Intensive Care, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, No. 2 Anzhen Rd, Chaoyang District, Beijing, 100029, P.R. China

²⁾Department of Cardiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Avenue, Wuhan, 430000, P.R. China

³⁾Department of Cardiology, People's Hospital of Zhengzhou University (Henan provincial people's hospital), Fuwai Central China Cardiovascular Hospital, No. 1 Fuwai Road, Zhengzhou, 451464, P.R. China

The neonatal mice myocardial infarction (MI) has been established as one of the heart regeneration models. However, the role of inflammation in this model is still unclear. We sought to systematically evaluate this model and explore the role of inflammation in it. Postnatal day 1 (P1) or day 7 (P7) mice were conducted left anterior descending coronary artery (LAD) ligation. Cardiac damage, repair, and regeneration were examined by histology and echocardiography. Inflammation was detected by heart section hematoxylin and eosin (HE) staining and tissue qPCR. Dexamethasone (Dex) was used to inhibit inflammation and its effects on heart regeneration were evaluated. Two days after P1 mice MI, cardiomyocytes in ischemia area died and heart function decreased. Then surrounding cardiomyocytes proliferated to repair the injury. At day 28 after MI, hearts were almost fully regenerated with a little fibrosis existed. In contrary, P7 mice MI resulted in thinning and fibrosis of the ventricular wall. Inflammation was induced by LAD ligation after P1 mice MI and dynamic changed during the process. Inhibition of inflammation by Dex impaired heart regeneration. These demonstrated that cardiomyocytes death and heart regeneration occurred in this model and inflammation might play a crucial role in it. Modulating inflammation may provide a promising therapeutic strategy to support heart regeneration.

PI3K regulates the activation of NLRP3 inflammasome in atherosclerosis
through part-dependent AKT signaling pathway..... 488–497

Zhenzhu LIU¹⁾, Jing LI¹⁾, Shu LIN²⁾, Yuhang WU¹⁾, Dan HE^{3,4)} and Peng QU¹⁾

¹⁾Department of cardiology, 2th Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Zhongshan Road No. 467, Dalian 116000, P.R. China

²⁾Department of cardiology, The University of Hong Kong-Shenzhen Hospital, Haiyuan 1st Road, Futian District, Shenzhen 518053, P.R. China

³⁾Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Peking University, No.49 Huanyuan Road, Beijing 100191, P.R. China

⁴⁾Key Laboratory of Molecular Cardiovascular Science, Ministry of Education, No.49 Huanyuan Road, Beijing 100191, P.R. China

PI3K is a downstream target of multiple cell-surface receptors, which acts as a crucial modulator of both cell polarization and survival. PI3K/AKT signaling pathway is commonly involved in cancer, atherosclerosis, and other diseases. However, its role in cardiovascular diseases, especially in atherosclerosis, remains to be further investigated. To determine the effect of PI3K/AKT signaling pathway on cellular inflammatory response and oxidative stress, PI3K inhibitor (GDC0941) and AKT inhibitor (MK2206) were used. First, THP-1 cells were incubated with ox-LDL (100 µg/ml) to establish an *in vitro* atherosclerosis model. The inflammatory factors and foam cell formation were then evaluated to ascertain and compare the effects of PI3K and AKT inhibition. ApoE^{-/-} mice fed a high-fat diet were used to assess the roles of PI3K and AKT in aortic plaque formation. Our results showed that the inhibition of PI3K or AKT could suppress the activation of NLRP3, decreased the expression levels of p-p65/p65 and reduced the production of mitochondrial reaction oxygen species (mitoROS) in THP-1 cells. Inhibition of PI3K or AKT could also reduced atherosclerosis lesion and plaque area, and decreased the levels of NLRP3 and IL-1β in ApoE^{-/-} mice. The effect of PI3K inhibition was more significant than AKT. Therefore, PI3K inhibition can retard the progress of atherosclerosis. Besides, there may be other AKT-independent pathways that regulate the formation of atherosclerosis.

A diastolic dysfunction model in non-human primates with transverse
aortic constriction..... 498–507

Nicole Tee Gui ZHEN¹⁾, Sze-Jie LOO¹⁾, Li-Ping SU¹⁾, Zhong-Hao TAO²⁾,
Fu GUI³⁾, Jun-Hua LUO⁴⁾ and Lei YE¹⁾

¹⁾National Heart Research Institute Singapore, National Heart Centre Singapore, 5 Hospital Drive, 169609, Singapore

²⁾Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, 68 Changle Road, 21006, Nanjing, Jiangsu, P.R. China

³⁾Department of Ophthalmology, The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, No. 1 Minde Road, Donghu District, 330003, Nanchang, Jiangxi, P.R. China

⁴⁾Jiangxi Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 90 Bayi Avenue, Xihu District, 330003, Nanchang, Jiangxi, P.R. China

Transverse aortic constriction (TAC) has been widely used to study cardiac hypertrophy, fibrosis, diastolic dysfunction, and heart failure in rodents. Few studies have been reported in preclinical animal models. The similar physiology and anatomy between non-human primates (NHPs) and humans make NHPs valuable models for disease modeling and testing of drugs and devices. In the current study, we aimed to establish a TAC model in NHPs and characterize the structural and functional profiles of the heart after TAC. A non-absorbable suture was placed around the aorta between the brachiocephalic artery and left common carotid artery to create TAC. NHPs were divided into 2 groups according to pressure gradient (PG): the Mild Group (PG=31.01 ± 12.40 mmHg, n=3) and the Moderate Group (PG=53.00 ± 9.37 mmHg, n=4). At 4 weeks after TAC, animals in both TAC groups developed cardiac hypertrophy: enlarged myocytes and increased wall thickness of the left ventricular (LV) anterior wall. Although both TAC groups had normal systolic function that was

similar to a Sham Group, the Moderate Group showed diastolic dysfunction that was associated with more severe cardiac fibrosis, as evidenced by a reduced A wave velocity, large E wave velocity/A wave velocity ratio, and short isovolumic relaxation time corrected by heart rate. Furthermore, no LV arrhythmia was observed in either animal group after TAC. A diastolic dysfunction model with cardiac hypertrophy and fibrosis was successfully developed in NHPs.

Wistar系ラットのブリーダー間における運動遂行能力と生理応答の差異.....508-513

高橋佳那子^{1,2)}・島 孟留^{1,3)}・征矢茉莉子^{1,4)}・レアンドロ・オハロマリ・カンスケ¹⁾・岡本正洋^{1,2)}・征矢英昭^{1,2)}

¹⁾筑波大学体育系運動生化学・神経科学研究室, ²⁾筑波大学体育系ヒューマン・ハイ・パフォーマンス先端研究センター, ³⁾群馬大学共同教育学部保健体育講座, ⁴⁾九州大学大学院医学研究院神経解剖学分野

ヒトへの外挿を目的とした動物実験において、実験の再現性や動物とヒトとの普遍性が担保されることは重要である。しかしながら、同一の一般系統名を持ち、異なるブリーダー由来、すなわち異なるストックの動物間において、遺伝的変異や安静時の血液学的変数等の違いが生じているため、運動遂行能力や運動時の生体反応も異なる可能性がある。本研究では、既に確立した、ヒトと同様に運動強度依存的な生理応答を示す動物トレッドミル走モデルを評価基準として、ブリーダーの違いが運動遂行能力や代謝・内分泌応答に及ぼす影響を検証した。4つのブリーダーから入手したWistarラットをトレッドミル走運動に順化させ、外頸静脈にカテーテルを留置した。続いて漸増負荷のトレッドミル走行試験を課し、運動遂行能力、及び血液サンプルから代謝・内分泌応答を各運動強度で評価した。その結果、運動遂行能力を反映する全ての評価項目において有意な差が示された。さらに、運動時の血中乳酸値・血糖値及び血漿副腎皮質刺激ホルモン濃度は、全ての運動強度においてブリーダー間で異なる応答を示し、一つのストックがヒトの反応と一致する生理応答を示した。これらの結果から、一般名「Wistar系ラット」はストックによって同一絶対強度の運動に対する遂行レベルや生理応答が異なることが明らかとなった。実験動物のストックの選択は、運動効果の検証結果の妥当性に影響を与える可能性がある。

アミロイド β_{1-42} 誘発 Zn^{2+} 毒性による海馬歯状回神経細胞死に対する

人參養栄湯の予防効果.....514-521

玉野春南・所 春奈・村上大地・古畑 龍・中島聡子・佐伯奈々・片平美沙・塩谷あおい・田中友紀乃・江川真子・武田厚司

静岡県立大学薬学部統合生理学分野

アルツハイマー病の原因物質と考えられているアミロイド β_{1-42} ($A\beta_{1-42}$) は、海馬において細胞外 Zn^{2+} と結合して神経細胞内に取り込まれ、神経細胞内では Zn^{2+} を遊離して毒性を示す。本研究では、この Zn^{2+} 毒性による海馬神経細胞死に対する漢方薬の人參養栄湯の摂取効果を検討した。ヒト $A\beta_{1-42}$ (25 μ M, 20 μ l) 側脳室内投与すると、海馬歯状回顆粒細胞層において神経細胞死が惹起されたが、人參養栄湯3%を含有した飼料を4週間摂取させると、コントロールレベルまで神経細胞死が抑制された。一方、歯状回顆粒細胞層における $A\beta$ の取込みは、人參養栄湯を摂取しても変化しなかったが、 $A\beta_{1-42}$ による顆粒細胞内 Zn^{2+} レベルの増加は人參養栄湯摂取によりコントロールレベルまで抑制された。さらに、人參養栄湯を2週間予め摂取させると、 $A\beta_{1-42}$ 誘発神経細胞死は改善された。人參養栄湯の摂取により亜鉛結合タンパク質であるメタロチオネインが誘導合成され、その予防効果につながると仮定し、この考えを検証した。その結果、歯状回顆粒細胞層でメタロチオネインレベルは増加し、 $A\beta_{1-42}$ 誘発細胞内 Zn^{2+} レベルの増加は抑制され、歯状回顆粒細胞死は阻止された。以上より、人參養栄湯はアルツハイマー病の予防に有効であることが示唆された。

Downregulation of interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3 relieves the inflammatory response and myocardial fibrosis of mice with myocardial infarction and improves their cardiac function 522–531

Jianhua SUN^{1,2)}, Qi ZHANG¹⁾, Xiaokun LIU¹⁾ and Xiaoming SHANG¹⁾

¹⁾Department of Internal Medicine, Hebei Medical University, No. 361, Zhongshan East Road, Chang'an District, Shijiazhuang, Hebei Province 050017, P.R. China

²⁾Department of Cardiology, Tangshan Gongren Hospital Affiliated to Hebei Medical University, No. 27, Wenhua Road, Lubei District, Tangshan, Hebei Province 063000, P.R. China

Myocardial infarction (MI) is a common cardiovascular disease with high morbidity and mortality. In this study, we explored the role of interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3 (IFIT3) in MI. MI was induced by ligation of the left anterior descending coronary artery. Lentivirus-mediated RNA interference of IFIT3 expression was performed by tail vein injection 72 h before MI modeling. Cardiac injury indexes and inflammatory response were examined 3 days after MI. Cardiac function indexes, infarct size, and cardiac fibrosis were assessed 4 weeks after MI. IFIT3 expression was upregulated in myocardial tissues at both 3 days and 4 weeks after MI. Knockdown of IFIT3 significantly relieved the myocardial injury, as evidenced by the decrease in serum levels of cTnI and CK-MB. In addition, IFIT3 knockdown significantly reduced the number of CD68⁺ macrophages and the levels of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α , indicating that the inflammatory response was relieved. Moreover, IFIT3 silencing also significantly improved cardiac function and reduced infarct size, myocardial fibrosis, and collagen content in mice with MI. Mechanically, the present study showed that the activation of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway was observed in myocardial tissues of MI mice, which was blocked by IFIT3 knockdown, as indicated by the decreased phosphorylation of JNK, p-38, and ERK. Collectively, our results revealed the role of IFIT3 in the inflammatory response and myocardial fibrosis after MI, indicating that IFIT3 might be a potential target for MI treatment.

The status and issues of the Institutional Animal Care and Use Committee of Seoul National University: from its establishment to the present day 531–540

Na AHN¹⁾, Sangho ROH²⁾ and Jaehak PARK¹⁾

¹⁾Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, 1 Gwanak-ro, Gwanak-gu, Seoul 08826, Korea

²⁾School of Dentistry and Dental Research Institute, Seoul National University, 1 Gwanak-ro, Gwanak-gu, Seoul 08826, Korea

The Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) of Seoul National University (SNU) plays a key role in monitoring and managing the humane use of animals in scientific research. Here, as one of the pioneers of the IACUC in Korea, we reported SNU-IACUC operations and activities including committee establishment and legal formulation, protocol review, and post-approval monitoring of protocols, which the IACUC has undertaken in the last decade. In addition, legal regulations and improvements were also discussed, and encompassed the limited number of committee members and the single IACUC policy in Korea. As of December, 2020, amendments are on the table at the National Assembly. We also emphasized the independent nature of the IACUC in protecting activities, including approval and monitoring animal experiments, and its public role in narrowing the knowledge gap between society and scientists. Thus, the aim of this report is to help society and scientists understand the operations of the SNU-IACUC and its role in animal welfare.

Dipeptidyl peptidase-4 inhibition prevents lung injury in mice under chronic stress via the modulation of oxidative stress and inflammation..... 541–552

Shengming ZHANG¹⁾, Ping LI²⁾, Minglong XIN¹⁾, Xianglan JIN¹⁾, Longguo ZHAO¹⁾, Yongshan NAN¹⁾ and Xian Wu CHENG¹⁾

¹⁾Department of Anesthesiology and Cardiology, Yanbian University Hospital, 1327 Juzi Street, Yanji, Jilin 133000, P.R. China

²⁾State Key Laboratory of Cardiovascular Disease, Fu Wai Hospital, National Center for Cardiovascular Disease, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union, Medical College, 167 Beilishi Road, Xicheng District, Beijing 100037, P.R. China

Exposure to chronic psychosocial stress is a risk factor for various pulmonary diseases. In view of the essential role of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) in animal and human lung pathobiology, we investigated the role of DPP4 in stress-related lung injury in mice. Eight-week-old male mice were randomly divided into a non-stress group and a 2-week immobilization stress group. Non-stress control mice were left undisturbed. The mice subjected to immobilized stress were randomly assigned to the vehicle or the DPP4 inhibitor anagliptin for 2 weeks. Chronic stress reduced subcutaneous and inguinal adipose volumes and increased blood DPP4 levels. The stressed mice showed increased levels in the lungs of genes and/or proteins related to oxidative stress (p67^{phox}, p47^{phox}, p22^{phox} and gp91^{phox}), inflammation (monocyte chemoattractant protein-1, vascular cell adhesion molecule-1, and intracellular adhesion molecule-1), apoptosis (caspase-3, -8, -9), senescence (p16^{INK4A}, p21, and p53) and proteolysis (matrix metalloproteinase-2 to -9, cathepsin S/K, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and -2), and reduced levels of eNOS, Sirt1, and Bcl-2 proteins; and these effects were reversed by genetic and pharmacological inhibitions of DPP4. We then exposed human umbilical vein endothelial cells *in vitro* to hydrogen peroxide; anagliptin treatment was also observed to mitigate oxidative and inflammatory molecules in this setting. Anagliptin can improve lung injury in stressed mice, possibly by mitigating vascular inflammation, oxidative stress production, and proteolysis. DPP4 may become a new therapeutic target for chronic psychological stress-related lung disease in humans and animals.

AP39 ameliorates high fat diet-induced liver injury in young rats via alleviation of oxidative stress and mitochondrial impairment..... 553–562

Yue YU¹⁾, Shu-Ming YE²⁾, De-Yun LIU¹⁾ and Li-Qi YANG¹⁾

¹⁾Department of Pediatrics, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 678 Furong Road, Hefei, Anhui 230601, P.R. China

²⁾Department of Orthopedics Surgery, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 678 Furong Road, Hefei, Anhui 230601, P.R. China

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a complication of childhood obesity and an oxidative stress-related multisystem disease. A mitochondria-targeting hydrogen sulfide (H₂S) donor AP39 has antioxidant property, while the mechanism underlying the function of AP39 on pediatric NAFLD remains undefined. Here, 3-week-old SD rats were received a high-fat diet (HFD) feeding and injected with AP39 (0.05 or 0.1 mg/kg/day) via the tail vein for up to 7 weeks. AP39 reduced weight gain of HFD rats and improved HFD-caused liver injury, as evidenced by reduced liver index, improved liver pathological damage, decreased NAFLD activity score, as well as low alanine transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST) activities. AP39 also reduced serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) concentrations but increased high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C). Moreover, AP39 prevented reactive oxygen species (ROS) generation, reduced MDA content and increased glutathione (GSH) level and superoxide dismutase (SOD) activity. Furthermore, AP39 increased H₂S level, protected mitochondrial DNA (mtDNA), reduced mitochondrial swelling, and restored mitochondrial membrane potential (MMP) alteration. Notably, AP39 diminished HIF-1 α mRNA and protein level, possibly indicating the alleviation in mitochondrial damage. In short, AP39 protects against HFD-induced liver injury in young rats probably through attenuating lipid accumulation, oxidative stress and mitochondrial dysfunction.

Minocycline attenuates neuronal apoptosis and improves motor function after traumatic brain injury in rats 563–569

Jihong HE¹⁾, Jian MAO²⁾, Lei HOU¹⁾, Shimin JIN¹⁾, Xiaodong WANG¹⁾, Zhaoqi DING¹⁾, Zhene JIN¹⁾, Hua GUO³⁾ and Rongxiao DAI¹⁾

¹⁾Jiading District Central Hospital Affiliated Shanghai University of Medicine & Health Sciences, No. 1 Chengbei Road, Jiading District, Shanghai 200127, P.R. China

²⁾Ningbo Hangzhou Bay Hospital, 1155 Binhai 2nd Road, Cixi, Ningbo 315336, P.R. China

³⁾The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, No. 1 Minde Road, Donghu District, Nanchang 330006, P.R. China

Minocycline is a type of tetracycline antibiotic with broad-spectrum antibacterial activity that has been demonstrated to protect the brain against a series of central nervous system diseases. However, the precise mechanisms of these neuroprotective actions remain unknown. In the present study, we found that minocycline treatment significantly reduced HT22 cell apoptosis in a mechanical cell injury model. In addition, terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling (TUNEL) staining confirmed the neuroprotective effects of minocycline *in vivo* through the inhibition of apoptosis in a rat model of controlled cortical impact (CCI) brain injury. The western blotting analysis revealed that minocycline treatment significantly downregulated the pro-apoptotic proteins BAX and cleaved caspase-3 and upregulated the anti-apoptotic protein BCL-2. Furthermore, the beam-walking test showed that the administration of minocycline ameliorated traumatic brain injury (TBI)-induced deficits in motor function. Taken together, these findings suggested that minocycline attenuated neuronal apoptosis and improved motor function following TBI.

維持会員（五十音順）（93社）

（令和3年9月28日現在）

会 員 名	〒	住 所
（株）IHI物流産業システム	135-0061	東京都江東区豊洲3-1-1
（株）アイテクノ	391-0004	長野県茅野市城山10-10
旭化成ファーマ（株）	410-2321	静岡県伊豆の国市三福632-1
味の素（株）	210-8681	神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1
あすか製薬（株）	213-8522	神奈川県川崎市高津区下作延5-36-1
アステラス製薬（株）	305-8585	茨城県つくば市御幸が丘21
（株）アドスリー	164-0003	東京都中野区東中野4-27-37
（株）アニマルケア	160-0022	東京都新宿区新宿5-18-14 新宿北西ビル7F
（株）アニメック	183-0031	東京都府中市西府町3-17-4
EPトレーディング（株）	162-0825	東京都新宿区神楽坂4-8
（株）イナリサーチ	399-4501	長野県伊那市西箕輪2148-188
インビボサイエンス（株）	210-0821	神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-12
エーザイ（株）	300-2635	茨城県つくば市東光台5-1-3
（株）LSIM安全科学研究所	101-0047	東京都千代田区内神田1-13-4
（株）大塚製薬工場	772-8601	徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原115
小野薬品工業（株）	618-8585	大阪府三島郡島本町桜井3-1-1
小原医科産業（株）	165-0022	東京都中野区江古田4-28-16
オリエンタル酵母工業（株）	174-8505	東京都板橋区小豆沢3-6-10
花王（株）	321-3497	栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606
科研製薬（株）	426-8646	静岡県藤枝市源助301
鹿島建設（株）	107-8348	東京都港区赤坂6-5-11
北山ラベス（株）	396-0025	長野県伊那市荒井3052-1
キッセイ薬品工業（株）	399-8304	長野県安曇野市穂高柏原4365-1
九動（株）	841-0075	佐賀県鳥栖市立石町惣楽883-1
共立製薬（株）	300-1252	茨城県つくば市高見原2-9-22
協和キリン（株）富士リサーチパーク	411-0943	静岡県駿東郡長泉町下土狩1188
（有）葛生運送	287-0224	千葉県成田市新田280-1
クミアイ化学工業（株）	439-0031	静岡県菊川市加茂3360
（株）クレハ	974-8686	福島県いわき市錦町落合16
（株）ケー・エー・シー	604-8423	京都府京都市中京区西ノ京西月光町40
KMバイオロジクス（株）	869-1298	熊本県菊池市旭志川辺1314-1
興和（株）	189-0022	東京都東村山市野口町2-17-43
サイヤジェン（株）	170-0002	東京都豊島区巢鴨1-20-10 宝生第一ビル4階
三協ラボサービス（株）	132-0023	東京都江戸川区西一之江2-13-16
参天製薬（株）	630-0101	奈良県生駒市高山町8916-16
（株）三和化学研究所	511-0406	三重県いなべ市北勢町塩崎363
（株）ジェー・エー・シー	153-0043	東京都目黒区東山1-2-7 第44興和ビル3階
シオノゲテクノアドバンスリサーチ（株）	520-3423	滋賀県甲賀市甲賀町五反田1405
（公財）実験動物中央研究所	210-0821	神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-12
清水建設（株）	104-0031	東京都中央区京橋2-16-1 8階
昭和セラミックス（株）	486-0934	愛知県春日井市長塚町1-1-9
（有）新東洋製作所	334-0073	埼玉県川口市赤井2-13-22

会 員 名	〒	住 所
(株) 新日本科学安全性研究所	891-1394	鹿児島県鹿児島市宮之浦町 2438 番地
(株) シーエーシー	103-0015	東京都中央区日本橋箱崎町 24 番 1 号
住友化学 (株)	554-8558	大阪府大阪市此花区春日出中 3-1-98
(株) 精研	542-0081	大阪府大阪市中央区南船場 2-1-3
清和産業 (株)	132-0033	東京都江戸川区東小松川 4-57-7
ゼリア新薬工業 (株)	360-0111	埼玉県熊谷市押切字沼上 2512-1
全国農業協同組合連合会飼料畜産中央研究所	300-4204	茨城県つくば市作谷 1708-2
ゾエティス・ジャパン (株)	151-0053	東京都渋谷区代々木 3-22-7 新宿文化クイントビル 14 階
第一三共 (株)	134-8630	東京都江戸川区北葛西 1-16-13
大正製薬 (株)	331-9530	埼玉県さいたま市北区吉野町 1-403
ダイダシ (株)	102-8175	東京都千代田区富士見 2-15-10
武田薬品工業 (株)	251-0012	神奈川県藤沢市村岡東二丁目 26 番地 1
田辺三菱製薬 (株)	227-0033	神奈川県横浜市青葉区鴨志田町 1000 番地
(株) 中外医学研究所	247-8530	神奈川県鎌倉市梶原 200
中外製薬 (株)	412-8513	静岡県御殿場市駒門 1-135
千代田テクノエース (株)	221-0022	神奈川県横浜市神奈川区守屋町 3-13
(株) ツムラ	300-1192	茨城県稲敷郡阿見町吉原 3586
帝人ファーマ (株)	191-8512	東京都日野市旭が丘 4-3-2
(一財) 動物繁殖研究所	300-0134	茨城県茨城県かすみがうら市深谷 1103
東洋熱工業 (株)	104-0031	東京都中央区京橋 2-5-12 東熱ビル
トーアエイヨー (株)	960-0280	福島県福島市飯坂町湯野字田中 1
トキワ科学器械 (株)	110-0005	東京都台東区上野 5-11-1
(株) 夏目製作所	113-8551	東京都文京区湯島 2-18-6
(合) 日本医学広告社	102-0071	東京都千代田区富士見 2-12-8
日本エスエルシー (株)	431-1103	静岡県浜松市湖東町 3371-8
日本化薬 (株)	115-8588	東京都北区志茂 3-31-12
日本クレア (株)	153-8533	東京都目黒区東山 1-2-7
日本実験動物器材協議会	153-8533	東京都目黒区東山 1-2-7 日本クレア (株) 内
(公社) 日本実験動物協会	101-0051	東京都千代田区神田神保町 3-2-5 九段ロイヤルビル 502 号室
日本実験動物協同組合	101-0032	東京都千代田区岩本町 2-8-10 神田永谷マンション 602
日本新薬 (株)	601-8550	京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町 14
(一財) 日本生物科学研究所	198-0024	東京都青梅市新町 9-2221-1
日本たばこ産業 (株)	569-1125	大阪府高槻市紫町 1-1
日本たばこ産業 (株) たばこ中央研究所	227-8512	神奈川県横浜市青葉区梅が丘 6-2
日本チャールスリバー (株)	222-0033	神奈川県横浜市港北区新横浜 3-17-6
日本農産工業 (株)	220-8146	神奈川県横浜市西区みなとみらい 2-2-1 ランドマークタワー 46F
日本農薬 (株) 総合研究所	586-0094	大阪府河内長野市小山田町 345 番地
(株) ハクバテック・ライフサイエンス・ソリューションズ	180-0002	武蔵野市吉祥寺東町 2-38-2
バニーグループ 日本事務所	370-0074	群馬県高崎市下小鳥町 290-1
ハムリー (株)	306-0101	茨城県古河市尾崎 2638-2
(一財) 阪大微生物病研究会	565-0871	大阪府吹田市山田丘 3-1 大阪大学内
フィード・ワン (株)	221-0835	神奈川県横浜市神奈川区鶴屋町 2-23-2
(株) ボゾリサーチセンター	412-0039	静岡県御殿場市竈 1284
三浦工業 (株)	108-0074	東京都港区高輪 2-15-35 三浦高輪ビル 2F
Meiji Seika ファルマ (株) 横浜研究所	222-8567	神奈川県横浜市港北区師岡町 760

会 員 名	〒	住 所
持田製薬(株)	412-8524	静岡県御殿場市神場字上ノ原722
(株)ヤクルト本社	186-8650	東京都国立市泉5-11
八洲環境エンジニアリング(株)	116-0014	東京都荒川区東日暮里3-11-17
ライオン(株)	256-0811	神奈川県小田原市田島100
レッテンマイヤー・ジャパン(株)	101-0052	東京都千代田区神田小川町3-26-8 野村不動産小川町ビル3F
(株)レナテック	259-1114	神奈川県伊勢原市高森4-19-15

(公社)日本実験動物学会 会員の入会・退会・変更の申込みについて

会員の入会・退会・変更の申込みは下記の方法で受け付けております。

<https://www.jalas.jp/>

(公社)日本実験動物学会ホームページより受け付け

[ご不明な点はこちらまで]

株式会社 アイベック
〒170-0002 東京都豊島区巣鴨1-24-12 アーバンポイント巣鴨4F
TEL 03-6822-9767 FAX 03-5978-4068
Email jalas@ipec-pub.co.jp

● 編集後記 ●

本格的な秋の到来とともに、コロナ感染者数の状況が少し落ち着いてきた気配が感じられます。経済活動の活発化も期待が出来るような予感がいたします。しかし、医療関係者の皆様におかれましては、引き続き大変なご苦労が続くものと思われ、頭が下がる思いです。これからの学会企画のご連絡です。本年度の維持会員懇談会は、Web開催されます。昨年は中止となりましたが、本年はWebで参加できますので、国内いや国外どこからも気軽に参加可能ですので、多くの方のご聴講をお待ちいたしております。また、実験動物科学シンポジウムも12月から1月にかけて同様にWeb開催が予定されておりますので、多くの方のご参加をお願い申し上げます。詳細は本号に掲載されておりますので、ご確認ください。さて、本ニュースでは、前号に引き続き、動物福祉・倫理委員会の特集記事として、「動物実験のPREPARE（準備）からARRIVE（報告）まで：PREPAREガイドラインとARRIVEガイドライン2.0」（自治医科大学・國田先生）、総説で「患者由来腫瘍移植マウスモデルの開発と創薬への活用」（熊本大学・岡田先生）、感染症シリーズでは、「Murine Astrovirus 2 (MuAstV-2)」（日本チャールス・リバー・丸山先生）、「維持会員便り」では、「EPトレーディングとEPSグループのこと」（西田先生）に原稿をお願いし、「会員便り」には2名の先生（京都大学・宮部先生、群馬大学・小林先生）に寄稿いただきました。今回は、「研究室・施設便り」の原稿が諸事情により掲載できませんでした。1号空いてしまい残念ですが、次号に期待してください。

【広報・情報公開検討委員会】

広告掲載一覧

九州オルガン針株式会社	生体組織移植機器
株式会社 シーエーシー	実験動物管理システム
九動株式会社	ラット生殖工学関連試薬
株式会社 IHI 物流産業システム	ユニット型飼育管理システム
株式会社 東京メニックス	実験動物用手術台他
東レ・プレシジョン株式会社	気管内投与噴霧器
日本クレア株式会社	実験動物等企業広告
北山ラベス株式会社	実験動物等企業広告
日本エスエルシー株式会社	飼料
日本エスエルシー株式会社	実験動物
わかもと製薬株式会社	感染症診断キット
株式会社 ケー・エー・シー	実験動物総合受託事業
清和産業株式会社	ウォッシングシステムズ
株式会社 夏目製作所	マーモセットケージ
株式会社 アニメック	げっ歯類のエンリッチメント
ダイダン株式会社	実験動物飼育ラック
ハムリー株式会社	実験動物総合受託事業
株式会社 ファスマック	実験動物総合受託事業

Ez-Plant™

- 切開や麻酔を必要としない注射器による組織移植 -

特許出願中
意匠登録済



・侵襲度の軽減

実験動物への福祉向上！マウスへのストレス軽減！

・移植時間の大幅短縮

オペレーションの簡略化！麻酔、切開不要！

・移植コストの削減

従来施術からのランニングコストの大幅な削減！



従来の生態組織の移植には、主にメスやハサミ等によって切開する方法がとられ、極めて侵襲性が高く、大変困難な施術となるのが通例でした。そこで「侵襲性、操作性、時間、コスト」等の問題を一気に解決すべく「熊本大学の岡田誠治教授」と熊本大学認定ベンチャー企業「(株)キューオール」の刈谷代表取締役の発案により、針づくり企業の「九州オルガン針(株)」との共同研究の成果として、Ez-Plant(イージープラント)は誕生しました。

Ez-Plant
紹介ページ



製品についてのお問合せ
株式会社キューオール
〒860-0862
熊本県熊本市中央区黒髪2-39-1
熊本大学くまもと地方産業創生センターベンチャー支援室
Tel:096-373-6522
E-mail:ryushokariya@gmail.com

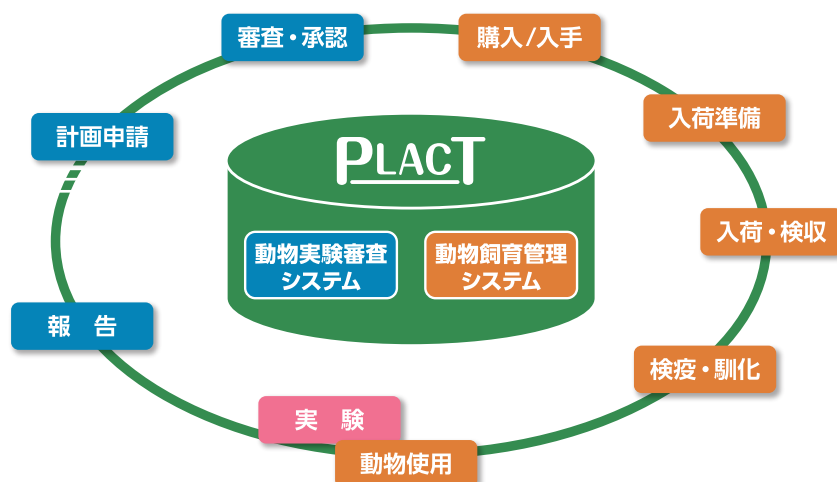
製造元
九州オルガン針株式会社
〒869-0301
熊本県玉名郡玉東町稲佐288
Tel:0968-85-3131(代)
E-mail:info@kyushu-organ.co.jp



KYUSHU ORGAN NEEDLE CO., LTD.
九州オルガン針株式会社

動物管理システム PLACT

動物実験・遺伝子組換え実験の計画申請から飼育管理まで
動物実験業務の一連の流れをサポート



実験審査

審査の支援機能、各種確認作業の自動化により、審査業務の作業負荷を軽減

- ✓ 委員会向け：付箋機能、変更点表示
- ✓ 事務局向け：教育受講・申請必須項目などのチェック自動化、停滞した審議のリマインド、審査状況の把握
- ✓ 申請者向け：過去申請のコピー、関連実験紐づけ



飼育管理

獣医担当・飼育担当の連携強化、飼育室・飼育動物の情報を一元管理、飼育管理業務をトータルサポート

- ✓ 獣医学的ケア支援：異常所見の共有迅速化、処置記録の管理
- ✓ 飼育管理業務支援：匹数管理、飼育室予約
- ✓ 個体情報の管理：体重、飼育履歴などを個体毎に管理
- ✓ 転記作業の削減：タブレットで飼育室内から観察記録登録

動物管理システム「PLACT」に関するお問い合わせは、下記までご連絡ください



株式会社 シーイーシー

PLACT担当

〒103-0015 東京都中央区日本橋箱崎町24-1

E-mail

pharma@cac.co.jp

URL

https://service.cac.co.jp/pharma/drug_discovery/plact





遺伝子組換えマウス・ラットの 系統保存や維持管理コストにお困りですか？



マウス/ラット生殖工学技術はこれらの課題を解決します！
CARD生殖工学関連試薬をご活用ください。

CARD FERTIUP® ラット精子凍結保存液

従来のラット精子凍結保存法では、凍結し融解した精子の運動性が保持されていませんでした。本商品を用いたラット精子凍結保存法は、凍結融解精子においても良好な運動性を示し、体外受精・胚移植により多くの産子を作出することが可能になります。

【特徴】

- 実用的なラット精子凍結保存液です。
- 凍結後融解したラット精子は、良好な運動性を保ち、体外受精に用いることが出来ます。

保管温度：冷凍(-20℃以下)
規格：1.5 mL(1精巢上体尾部分量)



九動株式会社のHPでCARD生殖工学試薬の
Q&Aを公開しています。ぜひご覧ください！

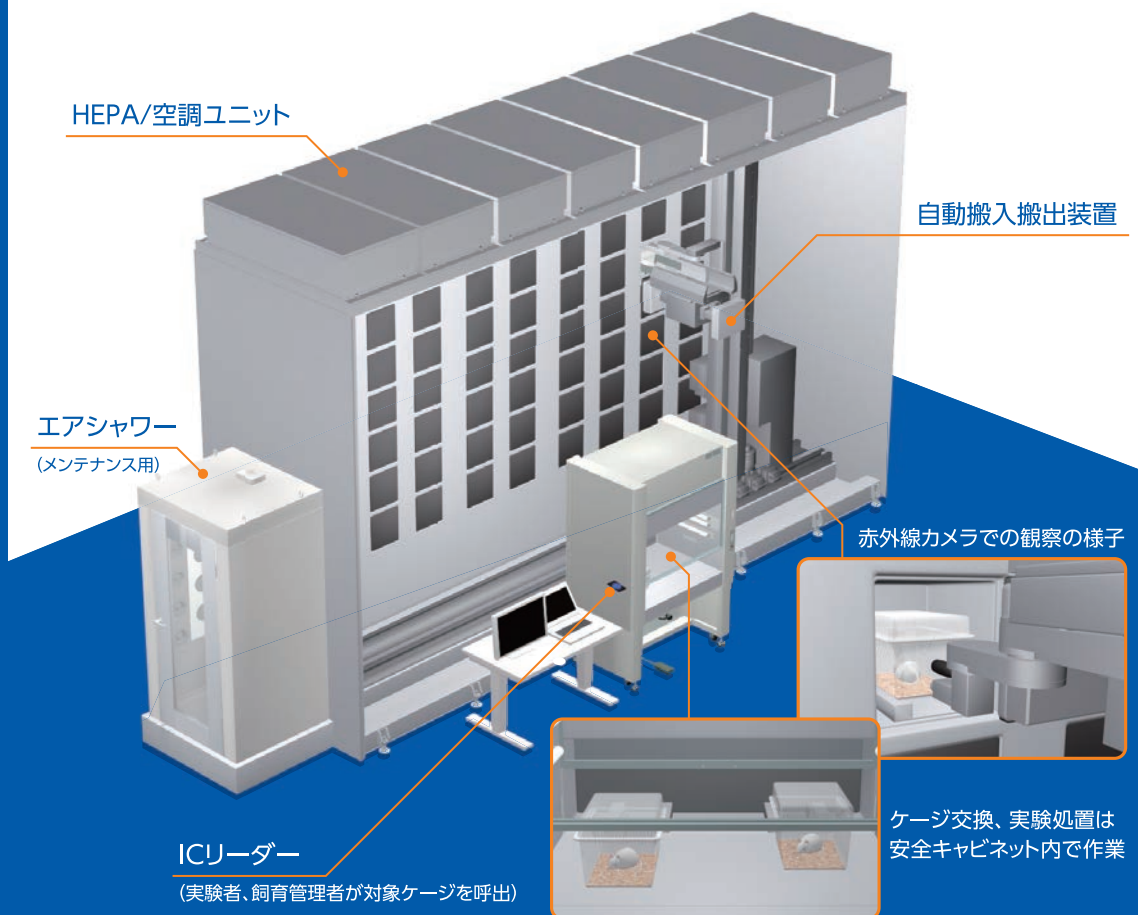


九動株式会社

〒841-0075 佐賀県鳥栖市立石町惣楽883-1
TEL: 0942(82)6519 FAX: 0942(85)3175
E-mail: web_req@kyudo.co.jp URL: <https://www.kyudo.co.jp/>

IHI

飼育管理の常識を変える IHIのユニット型飼育管理システム



飼育エリア内の無人化により、**ヒト媒介による感染リスクを軽減**します。
スペースと電源さえあれば、**既存建屋にも設置が可能です。**
除染や、メンテナンスの際は、**該当ユニットのみ停止、建屋や他ユニットへの影響はありません。**

お気軽にお問い合わせください

株式会社IHI 物流産業システム 営業本部 担当者：黒松・工藤

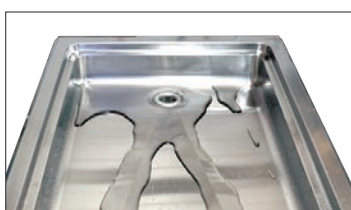
〒135-0061 東京都江東区豊洲3丁目1番1号 豊洲IHIビル TEL (03) 6204-7231 FAX (03) 6204-8689 URL : <https://ihi-logistics.com/>



ウォーターテーブル ドルフィン

給排水を内蔵した処置台

トップ部分がシンク状になっており、水を使用する処置に最適。ロングストローク電動昇降より、座位でもストレスなく処置が可能です。また、手術台、シンクのオプションが共通して使用できるので、アレンジの幅が広がります。



Vレールドレイン

水切れを良くするために、Vレールドレイン加工をしています。さらにシンク部分は薄型設計で足元空間を確保



多機能シャワーヘッド

シャワーヘッドには、手元に止水機能があるため操作性がよく、ストレートとシャワーの切替が付いています。



ロングストローク電動昇降

400mmのロングストロークにより、様々な術者の身長に対応します。昇降は音も静かでスムーズです。



手術台スカラ Vタイプ

新チルトシステムを標準装備。新Vタイプ天板はガスプリングの力で簡単にV型にすることができます。電動昇降台は作動音も静かで、昇降ストロークが400mmもあるため、術者の身長やポジションに対応することができます。



Vタイプ天板

天板には汚水トレイを装備していますので、下部に流れにくくなっています。



クランプ式ロープホルダー

天板にレールレスで取付けできます。汚れやゴミが溜まらないため、清潔に保つことができます。



ロングストローク電動昇降

400mmのロングストロークにより、様々な術者の身長に対応します。昇降は音も静かでスムーズです。

製品動画

ウォーターテーブル・ドルフィン



製品動画

手術台スカラ



株式会社 東京メニックス

〒359-1141
埼玉県所沢市小手指町 2-1442-8
TEL.04-2923-8841
Email. info@t-menix.com



ホームページ

ファインパーティクルスプレーヤー

Fine particle sprayer

- 超微粒子(数十 μm オーダー)の噴霧を実現
- 経肺投与・薬剤の均一噴霧・微小領域への薄膜塗布などの用途に最適



■ マウス肺における色素分布状態

※エバンスブルー + 生理食塩水 2mg/mL (50 μL 噴霧)

	表	裏	裏_切断-1	裏_切断-2
分布状態				

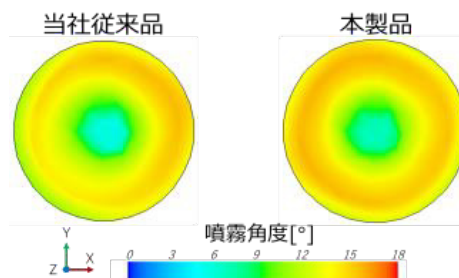
■ 噴霧性能

最小噴霧量 (μL)	25
最大噴霧量 (μL)	250
平均噴霧角度 ($^{\circ}$)	20~71 (相談可)

* 1 : レーザー回折式粒度分布試験

* 2 : 20 $^{\circ}\text{C}$ 大気環境下

■ 流出口の噴霧角分布 (当社シミュレーション結果)



■ お問い合わせ先 Reference

TORAY Innovation by Chemistry
東レ・プレジジョン株式会社



URL <https://www.tpc.toray>

(関西営業部) 滋賀県大津市大江 1 丁目 1 番 4 0 号
TEL: 077-545-8804 FAX: 077-545-8824
(関東営業部) 神奈川県横浜市港北区新横浜 2-7-17
TEL: 045-270-3201 FAX: 045-270-7522



私たちは日本クレアは、生命のあらゆる可能性を追求し、発展させる基盤として、動物愛護のグローバルな視点に立った世界最高品質の実験動物を提供して参ります。

新しい発見を変わらない品質で

マウス・ラット・マーモセット

●クローズドコロニー

- マウス** Jcl:ICR
ラット Jcl:SD, Jcl:Wistar
BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)

●近交系

- マウス** C3H/HeNjcl, C3H/HeJcl*
C57BL/6Njcl, C57BL/6Jcl*
BALB/cAjcl, BALB/cByJcl*
FVB/Njcl, DBA/2Jcl*, 129^{ter}/SvJcl
ラット F344/Jcl

●ハイブリッド系

- マウス** B6C3F1/Jcl, B6D2F1/Jcl,
MCH(ICR)/Jcl (Multi Cross Hybrid)

●疾患モデル

免疫不全モデル

- マウス** BALB/cAjcl-nu
C.B-17/1cr-scld Jcl
NOD/Shijic-scld Jcl
ALY[®]/NscJcl-aly
ラット F344/Njcl-rnu

1型糖尿病モデル

- マウス** NOD/Shijcl

2型糖尿病モデル

- マウス** KK/Tajcl, KK-A^y/Tajcl
BKS.Cg-m+/+Lepr^{db}/Jcl*
ラット GK/Jcl, SDT/Jcl, SDT fatty/Jcl

アスコルビン酸合成能欠如モデル

- ラット** ODS/Shijcl-od

●疾患モデル

網膜変性疾患モデル

- ラット** RCS/Jcl-rdy
関節リウマチモデル

マウス SKG/Jcl

外用保湿剤・外用殺菌消毒薬効果検証モデル

- マウス** NOA/Jcl

●遺伝子改変動物

短期発ガン性試験モデル

- マウス** CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic

乳腺がん高感受性モデル

- ラット** Hras128/Jcl

膵がん短期発がんモデル

- ラット** Kras301/Jcl

生体恒常性維持機構解析モデル

- マウス** α-Klotho KO/Jcl

マウス klotho/Jcl

アレルギーモデル

- マウス** OVA-IgE/Jcl (卵アレルギー)
TNP-IgE/Jcl (化学物質アレルギー)

●Germ free

- マウス** MCH(ICR)/Jcl[Gf], C57BL/6Njcl[Gf]
BALB/cAjcl[Gf]

●コモンマーモセット

- Jcl:C.Marmoset(Jic) (国内生産)

その他の取り扱い動物

●(公財)実験動物中央研究所維持系統

●フェレット(輸入販売)

生産地：中華人民共和国／輸入販売代理店
(株)野村事務所)を通じて国内販売

実験動物用飼料

一般動物用飼料／家畜・家禽試験用飼料／放射線
滅菌飼料／特殊配合飼料／成分分析

器具・器材

飼育ケージ／飼育機・ラック／自動飼育システム／
クリーンエアシステム／バイオハザード対策システム
／空調設備・排水処理システム／管理・実験機器／
施設計画コンサルティング

受託業務

微生物学的クリーニング／遺伝子改変マウスの作製
／モノクローナル抗体作製／受精卵採取・凍結処理
／凍結受精卵の供給／系統維持及び生産／各種
処置動物作出／マイクロバイオーム研究のサポート
(無菌動物・ノトバイオームマウス作製および
受託試験)／各種受託試験 他

関連業務

動物輸出入／微生物モニタリング／遺伝モニタリング
／各種データ／情報サービス

業務提携

Physiogenex社(仏)：代謝性疾患領域に特化した薬効
薬理試験受託サービス
(株)ジーピーシー研究所：イメージングマウスの
作製サービス

* This substrain is at least (a number-20 by definition) generations
removed from the originating JAX[®] Mice strain and has NOT been
re-infused with pedigreed stock from The Jackson Laboratory.



日本クレア株式会社

www.CLEA-Japan.com

東京 A D 部 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7 TEL.03-5704-7050(代)
大阪 A D 部 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町6-5 TEL.06-4861-7101(代)
【動物・飼料のご注文先: AD受注センター TEL.03-5704-7123】
東京器材部 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7 TEL.03-5704-7600(代)
大阪器材部 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町6-5 TEL.06-4861-7105(代)
札幌出張所 〒063-0849 札幌市西区八軒九条西10-4-28 TEL.011-631-2725(代)
仙台出張所 〒983-0014 宮城県仙台市宮城野区高砂1丁目30-24 TEL.022-352-4417(代)

私たちは、生命科学発展のサポートを通じて
人々の幸せと社会に貢献してまいります

科学性と動物福祉の両立を目指した
品質管理と実験管理
日本実験動物協会福祉認証取得施設

実験動物生産・供給

- SPFウサギ(SPF項目 8項目)
Kbl:JW(日本白色種)
Kbl:NZW(ニュージーランドホワイト種)
Kbl:Dutch(タッチ種)
- Healthyウサギ(SPF項目 6項目)
Kbs:JW(日本白色種)
Kbs:NZW(ニュージーランドホワイト種)
- 実験用イヌ TOYO Beagle
- 実験用ネコ Narc:Catus

バイオ関連支援サービス

- 広範囲な動物実験関連業務を代行します
 - 非GLP試験 ○実験動物長短期飼育
 - 変異型ロドリプシンTgウサギ(有色・白色)
 - 各種Tgウサギ作製 ○担癌マウス作製
- ポリクローナル抗体作製 ●抗体精製
- モノクローナル抗体作製
- 細胞培養・凍結保存
- GMP対応試験
 - 発熱性物質試験 ○細胞毒性試験
 - 急性毒性試験 ○抗原性試験 ○溶血性試験
- 微生物検査代行(動物・検査セット)



北山ラベス株式会社

Laboratory Animals Breeding & Equipment Supply

〒396-0025 長野県伊那市荒井3052番地 1

TEL.0265-78-8115 FAX.0265-78-8885



実験動物用飼料



PMI Nutrition International
http://www.labdiet.com

LabDiet™

実験動物用飼料

取扱品目

- マウス用 ●ラット用 ●モルモット用 ●ウサギ用 ●イヌ用
- マウス・ラット・ハムスター用 (Rodent) ●旧・新世界ザル用
- ネコ用 ●ブタ・ミニブタ用 ●フェレット用 ●ヒヨコ・ニワトリ用

その他、各種特別調製飼料のご注文も承ります。

Test Diet®

食餌誘導性病態モデル飼料

- 肥満用カロリー60%脂肪由来高脂肪食固形飼料など
- 代謝症候群(メタボリックシンドローム)用飼料
- 糖尿病とインシュリン抵抗性高糖飼料
- げっ歯類での嘔吐試験用カオリンペレット
- 行動/心理学用リワードタブレット
- 薬物作用駆虫用フェンベンダゾール添加飼料
- アテローム性動脈硬化症用コレステロール添加飼料



日本総代理店

お問い合わせ、資料請求、ご注文は...

日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371-8
TEL (053) 486-3178代 FAX (053) 486-3156
http://www.jslc.co.jp/

営業専用
TEL

関東エリア (053) 486-3155代
関西エリア (053) 486-3157代
九州エリア (0942) 41-1656代

SLCの実験動物



マウス

●アウトブリード

Slc: ddY

☆ IVCS

Slc: ICR

●インブリード

DBA/1JmsSlc(コラーゲン薬物誘導関節炎)

BALB/cCrSlc

C57BL/6JmsSlc C57BL/6JmsSlc

C3H/HeSlc

C3H/HeJSlc

DBA/2CrSlc

NZW/NSlC

A/JmsSlc

AKR/NSlC

NC/NgaSlc(薬物・アレルギー誘導アトピー性皮膚炎)

CBA/NSlC

129X1/SvJmsSlc

●B10コンジュニク

C57BL/10SnSlc

B10.A/SgSnSlc B10.BR/SgSnSlc

B10.D2/nSgSnSlc B10.S/SgSlc

●ハイブリッド

B6D2F1/Slc(Slc:CBF1)

CB6F1/Slc(Slc:CBF1)

OD2F1/Slc(Slc:ODF1)

B6C3F1/Slc(Slc:B6C3F1)

※上記以外の系統については御相談ください。

●ヌードマウス(ミュータント系)

BALB/cSlc-*nu*(*Foxn1*^{nu})

KSN/Slc(*Foxn1*^{nu})

●疾患モデル

BXSB/MpJmsSlc-*Yaa*(自己免疫疾患)

C3H/HeJmsSlc-*lpr*(自己免疫疾患-*Fas*^{lpr})

C57BL/6JmsSlc-*gld*(自己免疫疾患-*Fas*^{gld})

C57BL/6JmsSlc-*lpr*(自己免疫疾患-*Fas*^{lpr})

MRL/MpJmsSlc-*lpr*(自己免疫疾患-*Fas*^{lpr})

NZB/NSlC(自己免疫疾患)

NZBWF1/Slc(自己免疫疾患)

WBB6F1/KiJmsSlc-*gld*(自己免疫疾患-*Fas*^{gld})

WBB6F1/KiJmsSlc-*gld*(自己免疫疾患-*Fas*^{gld})

NC/Nga(皮膚炎)

☆ Hos: HR-1(ヘアレスマウス)

☆ Hos: HR-2(メラニン保有ヘアレスマウス)

☆ SAMR1/TaSlc(非腫瘍リンパ腫-SAM系対照動物)

☆ SAMP1/SkuSlc(老化アミロイド症)

☆ SAMP6/TaSlc(老年性骨粗鬆症)

☆ SAMP8/TaSlc(学習・記憶障害)

★ SAMP10/TaSlc(脳萎縮を伴う学習・記憶障害)

AKITA/Slc(糖尿病)

☆ TSD(2型糖尿病)

C57BL/6JmsSlc-*ob/ob*(肥満・2型糖尿病-*Lepr*^{ob})

C57LKS/Jar-*Lepr*^{ob}+*Lepr*^{ob}(肥満・2型糖尿病-*Lepr*^{ob})

☆ NSY/Hos(2型糖尿病)

C57BL/6JmsSlc-A1/+(肥満)

HIGA/NscSlc(1型糖尿病)

C.KOR/StmSlc-Apoe^{ko}(アポE欠損高脂血症-Apoe^{ko})

C.KOR/StmSlc-Tra3p2^{ko}(アトピー性皮膚炎マウス-Tra3p2^{ko})

ラット

●アウトブリード

Slc: SD

Slc: Wistar

Slc: Wistar/ST

Hos: Donny

☆ lar: Wistar/Wistar-Imamichi

☆ lar: Long-Evans

☆ lar: Copenhagen(前立腺癌遺伝子)

●インブリード

F344/NSlC

WKAH/HmSlc

BN/SnSlc

DA/Slc(薬物誘導性関節炎)

LEW/SnSlc(薬物誘導性関節炎)

●疾患モデル

★ SHR/1zm(高血圧)

★ SHRSP/1zm(脳卒中)

★ WKY/1zm(SHR/1zmのコントロール)

★ SHRSP5/Dmcr(NASHモデル【HFC飼料給餌】)

★ SHR/NDmcr-*cp/cp*(肥満・糖尿病・高血圧-*Lepr*^{cp})

★ SHRSP/Exo(AD/HD)

★ SHRSP/DMcr-*fa/fa*(肥満・高血圧・脳血管障害-*Lepr*^{fa})

DIS/EisSlc(食塩感受性高血圧症)

DIR/EisSlc(食塩感受性)

Slc: Zucker-*fa/fa*(肥満-*Lepr*^{fa})

☆ Hos: ZFDI-*Lepr*^{fa}(糖尿病・肥満)

HWY/Slc(ヘアレスラット)

☆ Hos: OLETF(2型糖尿病)

☆ Hos: LETO(OLETFのコントロール)

モルモット

●アウトブリード

Slc: Hartley

ウサギ

●アウトブリード

Slc: JW/CSK

Slc: NZW

ハムスター

●アウトブリード

Slc: Syrian

●疾患モデル

J2Nk(心筋症モデル)

J2Nn(J2Nkのコントロール)

スナネズミ

●インブリード

MON/Jms/GbsSlc

無菌動物(ラット)

●ラット

●インブリード

F344/NSlC(GF)

エンヴィーゴ(旧ハーランOEM生物動物)

●アウトブリードラット

RccHan®: WIST

●インブリードマウス

CBA/CaOlaHsd

●免疫不全モデルマウス

C.B-17/1crlHsd-PkDc^{scid}

遺伝子改変動物

●マウス

C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)(グリーンマウス)

C57BL/6JmsSlc-Tg(gpr delta)

●ヌードマウス

C57BL/6-BALB/c-nu/nu-EGFP(EGFP全身発現ヌードマウス)

●ラット

SD-Tg(CAG-EGFP)(グリーンラット)

F344/NSlC-Tg(gpr delta)

Slc:WistarHanover/Rcc-Tg(gpr delta)

その他(conventional動物)

●ビーグル犬

☆ 国内繁殖生産(一財)動物繁殖研究所)

●カニクイザル

☆ カニクイザル(輸入)

●ミニブタ

☆ 国内繁殖生産

(一財)日生研-NPO法人医用ミニブタ研究所)

●マイクロミニブグ

☆ 国内繁殖生産(富士マイクラ(株))

●フェレット

☆ 自家繁殖生産(中伊豆支所)

☆ 印は受託生産動物、☆印は仕入販売動物です。

受注生産動物

マウス

●疾患モデル

C3H/HeJmsSlc-*gld*(自己免疫疾患動物-*Fas*^{gld})

C57BL/6 JmsSlc-*tg/tg*(NK細胞活性低下)

CTS/Shi(免疫不全・白内障)

(NZW×BXSB) F1/Slc(糖尿病)

ラット

●インブリード

ACI/NSlC

●疾患モデル

Dahl/S-2-*Lepr*^{ob}/Slc

GK/Slc(2型糖尿病)

EHBR/EisSlc(高ビリルビン尿症)

PVG/SeaSlc

KDP(1型糖尿病-*Cblb*)

WBN/KobSlc(高血糖好発)

WBN/KobSlc-*fa/fa*(高血糖好発-*Fas*^{lpr})

NAR/Slc(糖尿病・腎臓病)

NER(自発性糖尿病・増大性性腺発育不全)

DA/Slc-*tg/tg*(NK細胞機能低下)

SDR(矮小体型症ラット)

OM/NSlC(栄養関係・腎臓病)

FH/HanSlc(脳内セロトニン系の機能不全)

F344/NSlC-Apoe^{ko}(大腸癌易発)

Guay/Slc-*gld*(高ビリルビン血症)

Slc: WsHC-Wy/Wy(肥満・糖尿病・高血圧-*Kit*^{W^o})

モルモット

●アウトブリード

Hos: Weiser-Maples(メラニン保有)

●インブリード

Strain 2/Slc

Strain 13/Slc

ウサギ

●アウトブリード

Slc: JW/NI8S(ヘアレス)



日本エス エル シー株式会社
〒431-1103 静岡県浜松市西区湖東町3371-8
TEL (053) 486-3178代 FAX (053) 486-3156
http://www.jslc.co.jp/

営業専用
TEL

関東エリア (053) 486-3155代
関西エリア (053) 486-3157代
九州エリア (0942) 41-1656代

確かな実験データは 確実なチェックから・・・

スピーディ

スムーズ

高感度



- 抗体検出感度に優れ、特異性、再現性が高く、どのような場所でも簡便に検査ができ、in-house モニタリングに最適です。
- 酵素標識物として、プロテインAを使用していますので、同一試薬で、マウス・モルモット・ウサギ・ハムスターの抗体検査ができます。

ELISAによる実験動物の感染症診断キット

モニライザ® MONILISA®

- モニライザ® IVA**(96ウェル)
HVJ, MHV/SDAV, *M. pulmonis*, Tyzzer菌抗体検査用
- モニライザ® HVJ**(96ウェル)
HVJ抗体検査用
- モニライザ® MHV**(96ウェル)
MHV/SDAV抗体検査用
- モニライザ® Myco**(96ウェル)
M. pulmonis 抗体検査用
- モニライザ® Tyzzer**(96ウェル)
Tyzzer菌抗体検査用
- モニライザ® HANTA**(48ウェル)
Hantavirus抗体検査用

頒布元 公益財団法人 実験動物中央研究所
ICLAS モニタリングセンター

〒210-0821 神奈川県川崎市川崎区殿町3丁目25番12号
TEL.044-201-8525 FAX.044-201-8526

製造販売元  わかもと製薬株式会社

〒103-8330 東京都中央区日本橋本町二丁目2番2号
TEL.03-3279-0381 FAX.03-3279-1271

2019.3

バイオサイエンス
トータルサポート企業として
生命科学の発展に
大きく貢献する
株式会社ケー・エー・シー



動物実験総合支援事業・
受託試験事業・研究用
試薬提供事業の
3つの柱で製薬会社や
大学等研究機関の
ニーズにお応えしています。

株式会社 **ケー・エー・シー** 京都市中京区西ノ京西月光町40番地

URL : <https://www.kacnet.co.jp/>

Seiwa の Washing Systems

<http://www.seiwa-sangyo.co.jp>



マウスからウサギまで。ケージの
最大サイズに合わせて4種類

ロータリーワッシャー

RTS-150型 RTS-2200型
RTS-180型 RTS-2400型

精密回転ノズルで完璧洗浄

ボトルワッシャー



ケージの大型化に対応。ご要望に
応じた豊富な種類、オプション

ケージワッシャー

ロボット導入により洗浄作業を省力化!

ケージ自動洗浄システム

汚れのはげしい容器の洗浄に

ブラシクリーナー

SB-4RF型

その他の製品 / ラックワッシャー・バブリング水槽・床敷定量供給装置



洗浄システム並びに周辺機器メーカー

清和産業株式会社

本社・江戸川工場

〒132-0033 東京都江戸川区東小松川 4-57-7

電話：03-3654-4151 (代表) FAX：03-3654-4155

より良い
研究環境の
ために

これからのマーマセットケージの世界基準

飼育と実験の両用をめざした
マーマセットケージの
グローバルスタンダードです。



KN-659-M/S
シングルケージ



優しい飼育環境は、
優れた実験環境
でもある。



株式会社 夏目製作所

<http://www.nazme.co.jp>

東京本社

〒113-8551 東京都文京区湯島 2-18-6

TEL：03-3813-3251

FAX：03-3815-2002

大阪支社

〒561-0811 大阪府豊中市若竹町 1-9-1

TEL：06-6398-7177

FAX：06-6398-7178



CERTIFIED

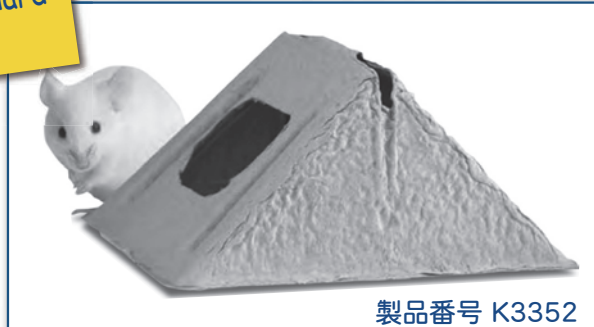
Bio-Huts™

初めてのマウス用検定済みペーパーハット



The Industry Standard
Just Got Better!

- オートクレーブにかけられます。
- アクリルアミドを含みません。
- 汚染物質検査済。
- GLP適合原料
- 2方が開いているので観察がしやすい。
- 簡単に割れてHalf Hutが2個になる。



製品番号 K3352

お問い合わせとご用命は.....

●製造元：.....

Bio Serv
Delivering Solutions...
◆ Nutritional ◆ Enrichment ◆ Medicated ◆ Special Needs
www.bio-serv.com

●輸入元：.....

Animec 株式会社 アニメック
〒183-0031 東京都府中市西府町3-17-4 Tel: 042-333-7531 Fax: 042-333-0602
アニメックの製品 検索 URL: <http://animec-tokyo.sakura.ne.jp>
E-mail: animec@theia.ocn.ne.jp

「ダイダン」の一方向気流ラックがさらに進化!

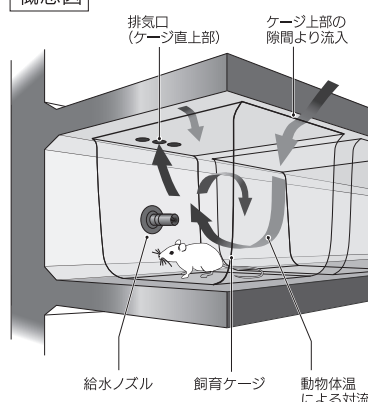
特許 第4961404号、第5749901号

実験動物飼育ラック アイラックシステム

Novel One Way Air Flow Rearing Equipment <iRack System>

「アイラックシステム」とは、オープンラックの「易操作性」と、IVCのような「安全性」を同時に兼ね備えた実験動物飼育ラックです。

概念図



オープンラック

IVC Individual Ventilation Cage

アイラックシステム

操作しやすい! 安全! 省エネ!
よごれにくい! 感染リスクが少ない!

●環境面の向上

安定した一方向気流により、アレルギー・感染リスク・臭気の低減、実験精度の向上、動物福祉の向上が可能。

●操作性の向上

ラック前面に扉などがなく、ケージの操作性や清掃性が向上。

●ランニングコスト削減

さらに小排気風量(当社比30~60%)で、外気負荷・搬送動力エネルギーを削減。

構造と特長

ケージ個別換気方式の採用

高度な一方向気流の形成

遮蔽物がなくケージの出し入れが容易に

良好な気流による均一な温度分布

床敷交換の削減が可能に

メンテナンスも容易に



再生医療のための環境づくりに信頼と実績を

セラボヘルスケアサービス株式会社

<https://www.cellabhs.co.jp/>

セラボヘルスケアサービスは **ダイダン株式会社** のグループ会社です。

脳波測定・解析が必要なら

＜ テレメトリーによる無拘束条件下での測定が可能です ※1 ＞

脳波 筋電図 眼電図

運動量 体温

などを用いて薬効を評価！

*1: テレメトリーで記録可能な動物種はカニクイザルおよびコモンマウスセットです。マウスおよびラットは有線での記録となります。詳細はお問い合わせください。動物種、測定系の組み合わせで、記録できる項目が変わります。



ハムリー株式会社
睡眠科学研究所
<http://www.hamri.co.jp>

お問い合わせ

本社営業所	TEL 0280-76-4477	E-Mail	hb@hamri.co.jp
東京営業所	TEL 048-650-4477	E-Mail	tb@hamri.co.jp
大阪営業所	TEL 06-6306-4477	E-Mail	ob@hamri.co.jp
国際事業部	TEL 0280-75-2416	E-Mail	ib@hamri.co.jp
受託事業部	TEL 048-650-4477	E-Mail	cb@hamri.co.jp

RAISING法による ランダムインテグレーション 解析サービス

国立感染症研究所とファスマックの共同研究により開発した
 “RAISING法 (Rapid Amplification of Integration Site without
 Interference by Genomic DNA contamination)” により、外来
 DNAの挿入位置を決定いたします。



Rapid Amplification of Integration Site
 without Interference by Genomic DNA contamination

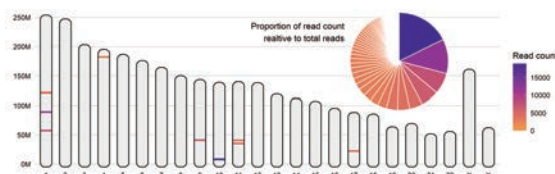
**実験動物ニュース読者限定
 10%お値引きキャンペーンコード**

RAISING-LAS

ご依頼の際に本キャンペーンコードを併せて
 お知らせください。

解析目的に応じて、サンガーシーケンスプラン、NGS プランをご用意しております。

NGS プランでは、挿入位置の特定、遺伝子アノテーションが可能です。リード情報と併せてランキングテーブル化します。



Rank	Chromosome	Position	Read count	Effect type	Gene name
1	10	8,110	16,972 (17.6%)	intergenic_region	Grp94
2	1	89,000	12,379 (11.5%)	intergenic_region	Rplp0
3	1	57,100	7,569 (7.1%)	intron_variant	Il1
4	9	40,700	6,457 (6.0%)	intron_variant	Alu
5	11	35,200	4,667 (4.3%)	frameshift_variant	Ac
6	17	22,300	4,296 (4.0%)	intron_variant	Ac
7	1	121,500	4,017 (3.7%)	intron_variant	Alu
8	11	40,400	3,235 (3.0%)	intragenic_variant	IC
9	1	120,300	2,934 (2.7%)	intron_variant	Ac
10	4	182,000	2,873 (2.7%)	intron_variant	Tl

株式会社ファスマック

神奈川県厚木市岡田3088ケーオービルA棟 Mail: dnacraft@fasmac.co.jp URL: <http://fasmac.co.jp/>



詳細はこちら