

非臨床 News

第2号

はじめに 創薬支援事業本部副本部長 井上裕章 2

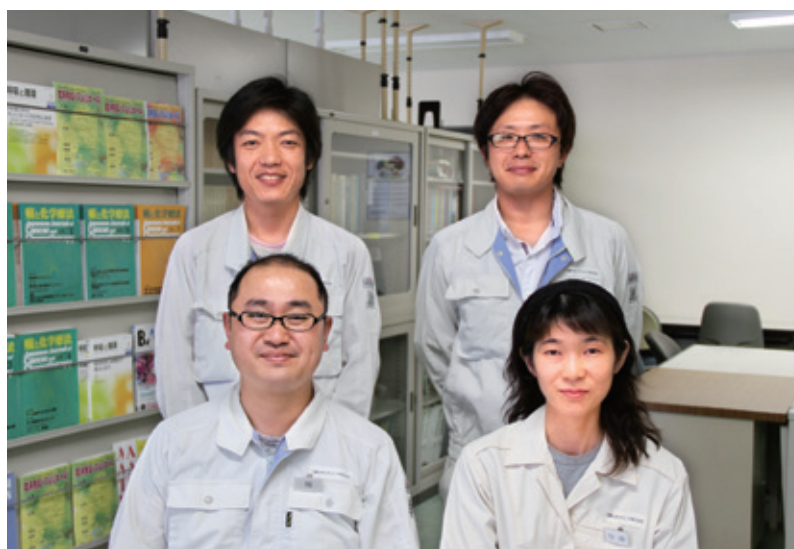
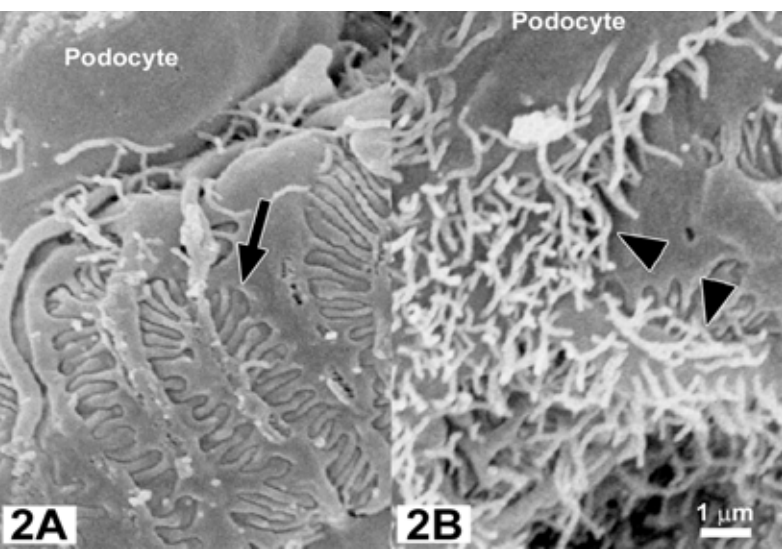
最新研究紹介

- ◆ミニプタを用いた安全性試験（一般毒性試験）の受託開始 3
- ◆TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験 4
- ◆走査型電子顕微鏡を用いた病理形態学的検査 5
- ◆抗インフルエンザ薬の評価法 6

2012年 学会発表実績/投稿実績 7

トピックス

1. 角膜検査機器の導入 7
2. 大動物用超音波（エコー）のプロープ 8
3. 安全性薬理試験における心外膜心電図評価の導入 8
4. 第29回日本毒性病理学会 優秀症例報告賞受賞 8



はじめに



創業支援事業本部副本部長

井上 裕章

医薬品産業は数多くの優れた医薬品を創製し、不治の病とされた疾患から多くの人々を救ってきました。近年のライフサイエンスと創薬技術の目覚ましい進歩により、低分子医薬品に抗体医薬、核酸医薬、ワクチン、細胞治療等を加えた創薬の選択肢が広がり、個別化医療、予防医療、先制医療等の新しい医療概念の普及とともに、新しいコンセプトを満たす新薬への期待が高まっています。一方、製薬企業は主力製品の特許切れ、医療費抑制政策等の厳しい経営環境に置かれており、新薬の創製は、研究開発に莫大な費用と時間を要すること、承認・保険償還において有効性、安全性に加えて経済性、有用性が求められることから容易ではありません。近年、製薬企業はアカデミア、バイオベンチャー、同業他社と創薬ネットワークを形成し、各々の得意分野と資金を共有することで研究開発の生産性を高めています。このような創薬の共生モデルにおいて、製薬企業はアウトソーシングを活発化させており、信頼できる CRO を求めています。

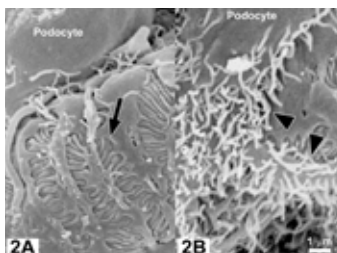
当社は、長年培ってきた経験・技術・知識を結集して、医薬品や一般化学品の承認申請用の定型試験や治験のバイオアナリシス等の創薬支援サービスをご提供しています。非臨床分野では、吸入・経皮投与、病理検査、生体試料の薬物分析、ホルモン測定等の技術に高い評価をいただいています。当社の強みである診断検査・臨床検査事業、治験事業との社内ネットワーク並びに三菱ケミカルホールディングスグループとの有機的な連携を最大限活用し、創薬の成功率向上や適応症拡大等の育薬に役立つ新規試験の研究開発や既存試験の改良に取り組んでいます。この小冊子ではミニプタを用いた安全性試験等を取りあげました。日本では新顔のミニプタですが、医療機器の評価に最適とされており (ISO10993)、欧米では動物愛護の観点からイヌやサルに代わる大動物種として一般毒性試験や安全性薬理試験に頻用されています。皮膚の特徴がヒトに近いことから、米国 FDA は外用医薬品の評価にミニプタ試験を受け入れています。経皮吸収製剤やデバイスの研究開発にも役立ちます。その他の取り組みとして、疾患バイオマーカーの探索、がん組織バンクを用いた抗腫瘍試験、既存薬や開発品の適用拡大やドラッグレポジショニングに資する薬効評価バッテリー、疼痛試験や薬物トランスポーター試験の評価項目拡大、iPS細胞の創薬利用、国際共同治験の臨床検査、医薬品の環境リスク評価等がございます。

以上のように、私どもは常に最新の技術情報・規制動向を調査し、お客様のニーズに合致した試験とサービスをご提供して参りますので、お気軽にご要望やご意見をお聞かせください。最後になりますが、これまでのご愛顧に感謝申し上げますとともに、引き続きご指導・ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

表紙写真紹介



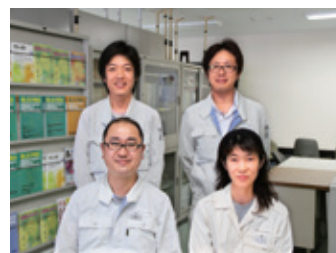
第 29 回日本毒性病理学会
優秀症例報告賞受賞
小林研究員



マーモセットの腎臓糸球体
毛細血管を被う Podocyte (足細胞)
の様子



営業統括部門 (関東エリア)
創業及び化学品営業スタッフ



熊本研究所 薬理研究部
前列左から榎 TL、加藤研究員、
後列左から守住 GL、藤村研究員

安全性

ミニブタを用いた安全性試験（一般毒性試験）の受託開始



鹿島研究所 安全性研究部
石井チームリーダー（最後列左から3番目）を中心とした大動物チームの研究員

ブタは、経皮剤の安全性評価においてその有用性が高く評価されていることは周知のこととします^{*1}。鹿島研究所では、ミニブタ（Göttingen minipigs）を用いた安全性試験の受託を目指し、2012年4月より2室12ケージ（12～24匹飼育）の規模で技術検討を開始しました。

2013年4月には小規模試験（単回投与試験、TK/PK試験、皮膚刺激性試験等）の受託体制を整えました。更に、2013年10月には収容能力を6室100ケージ程度（100～200匹飼育）に増強し、GLPに準拠した反復投与の一般毒性試験の受託を開始します。特に、長年に亘り培ってきました「経皮剤の投与と評価技術」には、多くのお客様より高い評価をいただいていると自負しています。ミニブタを用いた試験にもそのノウハウを十分に盛り込み、皆様のご要望、ご期待にお応えします。

2013年6月現在、別表に示したSOPと検査項目を整備（一部整備中）しました。更に、2014年3月までには安全性薬理試験（心血管系）関係の技術検討を終了し、受託を開始する予定です。また、動物実験担当として約20名（うち獣医師1名、実験動物一級技術者5名、薬剤師2名）が、病理学的検査担当として10名（全員が獣医師、うち毒性病理専門家7名）が、各操作の社内認定取得に努めています。

2013年6月に開催されました「第40回 日本毒性学会学術年会（千葉 幕張メッセ）」では、以下の演題で検討結果を報告しました。今後も、基礎・応用研究を継続し、背景データの蓄積に努めます。ご指導、ご鞭撻、ご愛顧を賜りたく、よろしくお願い申し上げます。

- [1] 小倉ら。Göttingen系ミニブタにおける心電図計測部位の基礎検討：安全性試験における薬剤の影響評価に適した誘導法を確立するために、A-B誘導と標準肢第Ⅱ誘導（いずれも保定法）について波形の特徴を比較しました。また、保定法（標準肢第Ⅱ誘導）とホルター法（M-X誘導）で心電図を記録し、いずれの方法でもsotalol投与後のQT延長が確実に捉えられることを確認しました。
- [2] 遠藤ら。Göttingen系ミニブタを用いた経皮投与における投与方法及び皮膚状態の違いによる薬物吸収性の比較：（1）開放投与、（2）閉塞投与及び（3）閉塞密閉投与による薬物吸収性（血中薬物濃度）の違いを比較検討した結果、薬剤あるいは基材によって投与方法を使い分ける必要性を明らかにしました。また、軽度及び重度の皮膚損傷モデルを作製し、薬剤の吸収性に大きな違いのあることを確認しました。
- [3] 吉田ら。Göttingen系ミニブタの日周期性及び性周期における血中ホルモン濃度の変化：市販のホルモン濃度測定試薬（RIA法及びELISA法）の定量性能を検証（定量法バリデーション）し、雄性ではTSH、T4、T3、cortisol、aldosterone、testosterone、insulin及びPTHの日周期性について、雌性ではestradiol、progesterone、LH、FSH及びprolactinの性周期について検討しました。

*1: Abigail Jacobs. Use of nontraditional animals for evaluation of pharmaceutical products. Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. (2006) 2(3):345-349

<関連 SOP (件数) >	内容
試験管理関係 (2)	標準操作手順書の管理、環境エンリッチメント
施設利用関係 (4)	区域区分、差圧・気流、処置室（手術室）の利用、動線
施設管理関係 (2)	空調設備管理方法、空調用フィルタ交換法
飼育管理関係 (19)	温度・湿度、換気、照明、飼育室の清掃・消毒法、給水法、給餌法、麻酔・鎮静法等
動物実験手技関係 (17)	動物取扱い手技、一般状態観察法、各種投与方法、採血法、採尿法等
臨床検査関係 (14)	血液・血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、心電図測定等
病理検査法関係 (6)	解剖手順、器官重量測定、割入れ、切出し、標本作製等
毒性試験関係 (2)	単回投与毒性試験、反復投与毒性試験
安全性薬理試験関係 (9)	呼吸、循環、体温、活動量に及ぼす影響に関する試験（麻酔&無麻酔）等
<関連検査>	使用機器又は検査方法
血液学的検査	自動血球分析装置 (XT-2000iV: シスメックス) 自動血液凝固測定装置 (CA-510: シスメックス) 自動血液細胞分析装置 (HEG-50・50VF: オムロン)
血液生化学的検査	自動生化学分析装置 (TBA-200FR: 東芝) 全自動電気泳動分析装置 (Epalzyer2: ヘレナ研究所)
骨髄検査	自動血球分析装置 (XT-2000iV: シスメックス)
尿検査	尿自動分析装置 (クリニテック 500: SIEMENS) 自動電解質分析装置 (PVA-αIII: エイアンドティー) 自動生化学分析装置 (TBA-200FR: 東芝) 尿比重屈折計 (クリコン-JE・PS・SE: アタコ) 微量浸透圧計 (OM-815: VOGEL)
体温測定	直腸温測定
血圧測定	動物用血圧計 (BP100D: フクダ エム・イー工業)
心電図検査	動物用心電図解析装置 α 6000AX-D: フクダ エム・イー工業) ホルター心電計 (JET システム: DSI)
眼科学的検査	ポータブルスリットランプ (SL-14・15: 興和) 双眼倒像検眼鏡 (オメガ一式: ハイネ) 実験動物用眼底カメラ (GENESIS 等: 興和) 眼圧計 (TONO-PEN: Medtronic、TONO-VET: ICARE) 網膜電位測定システム (MEB-9100 シリーズ等: 日本光電工業等) 角膜厚測定計 (SP-100: TOMEY) 角膜内皮測定計 (EM-3000: TOMEY)
病理学的検査	各種特殊染色 / 画像解析 透過型電子顕微鏡 (H-7600: 日立) 走査型電子顕微鏡 (JSM-5200: 日本電子)
ホルモン測定 (熊本研究所)	マイクロプレートリーダー (SPECTRA FLUOR 及び GENios: TECAN) ガンマカウンター (COBRA Quantum 5005 Gamma Counting System: PerkinElmer, Inc.)
リンパ球サブセット測定	フローサイトメーター (Cytomics FC500 MPL: Beckman)
心血管系テレメトリー試験	循環、体温、活動量データ取得及び分析システム (Dataquest A.R.T.: DSI) 血圧、心電図、体温、活動量データ取得及び解析システム (OPEN ART Ponemah: DSI)

(原稿執筆 / 大保 真由美 E-mail: Obo.Mayumi@ms.medience.co.jp、石井 宏幸 E-mail: Ishii.Hiroyuki@mc.medience.co.jp)



熊本研究所 安全性研究部
ホルモン測定に携わる生化学チームの研究員

安全性

TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験



鹿島研究所 安全性研究部
中川グループリーダー（前列左）を中心とした *In vitro* チームの研究者

2011年11月に、日米欧共通のICH遺伝毒性試験ガイドラインS2 (R1) が改訂されました。これに伴って、2012年9月には厚生労働省の医薬品遺伝毒性試験ガイダンスが改訂されました。旧ガイドラインでは、*in vitro*細胞試験として、染色体異常試験又はマウスリンフォーマ試験のいずれかを選択するようになっていましたが、改訂によって *in vitro*小核試験が選択肢に加わりました。

染色体異常試験ではチャイニーズハムスター由来のCHL細胞が広く用いられてきました。染色体数が25本と少なく、また感受性（発がん性物質を陽性と検出する感度）が高いというメリットもある一方で、特異性（非発がん性物質を陰性と検出する感度）が低く、偽陽性（非発がん性物質を陽性と検出する）頻度が高いことが問題とされてきました。この特異性の低さは、CHLがp53遺伝子変異細胞であることが要因の1つと考えられています。マウスリンフォーマ試験についても、p53変異細胞を用いるため、同様に特異性の低さが問題とされてきました。

*In vitro*小核試験は、実験者の作業量が染色体数に比例して増加する染色体異常試験とは異なり、染色体数の多いヒト由来細胞でも実施しやすい試験系です。遺伝毒性試験に使用するヒト由来細胞としては、ヒトから採取した末梢血リンパ球が一般的ですが、試験毎の採血の手間や感度の個体差など、様々な課題があります。

そこで、ヒト脾臓由来の培養細胞株であるTK6が注目されています。TK6は、浮遊細胞で倍加時間が12時間程度と短く、取り扱いが容易であることに加えて、p53遺伝子に変異していないという特徴を有します。当社において、いくつかの化合物を用いて、CHLとTK6の *in vitro*小核試験を実施したところ、感受性に顕著な差は認められませんでした（図1）。また、特異性についても、染色体異常試験で陰性結果を示すような典型的な非発がん性物質については、細胞間で顕著な差は認められませんでした（図2）。一方、2,6-diaminotolueneのように、非発がん性でありながらCHLの染色体異常試験やCHLの *in vitro*小核試験で陽性となる物質のいくつかについて、TK6の *in vitro*小核試験では陰性を示すことが確認され（図3）、特異性の高さが示唆されました。これらの結果から、TK6の *in vitro*小核試験は、被験物質のがん原性予測において、非常に有用な試験であると考えられます。

当社ではTK6の *in vitro*小核試験について、GLP下での受託体制を整

備しており、受託実績もあります。実施をご検討の際は、ぜひお気軽にご相談ください。

（原稿執筆／中川 宗洋E-mail：Nakagawa.Munehiro@md.medience.co.jp）

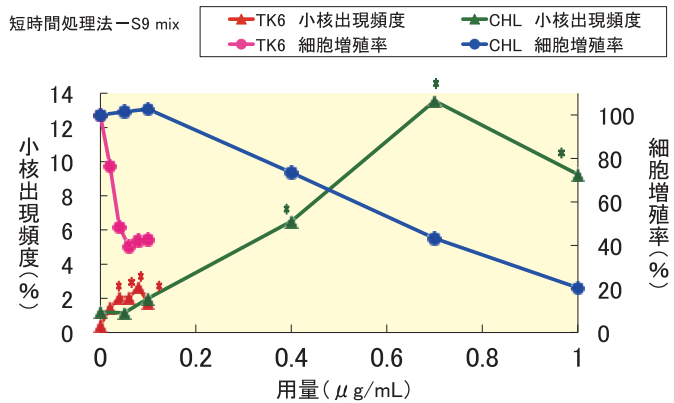


図1 4-nitro-quinoline-1-oxide（発がん性があり、染色体異常試験（CHL）で陽性）の *in vitro* 小核試験
* : p<0.05 (Fisher検定)

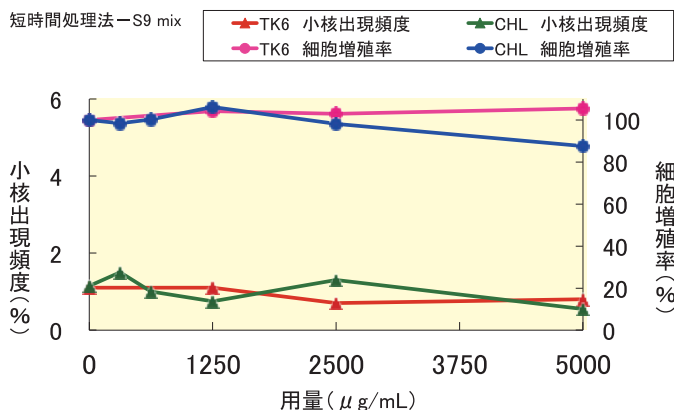


図2 Caprolactam（発がん性が無く、染色体異常試験（CHO）で陰性）の *in vitro* 小核試験

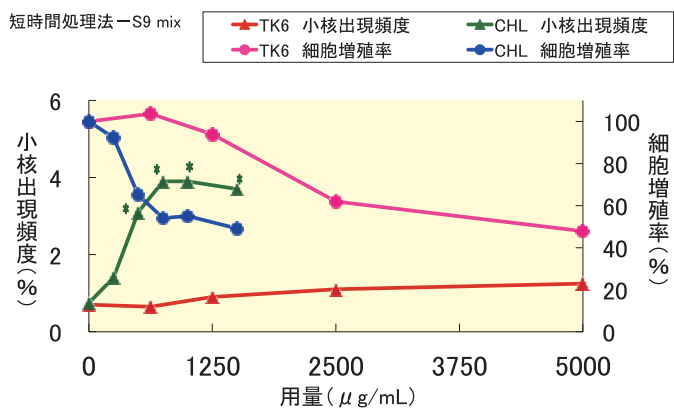


図3 2,6-Diaminotoluene（発がん性が無く、染色体異常試験（CHL）で陽性）の *in vitro*小核試験
* : p<0.05 (Fisher検定)

走査型電子顕微鏡を用いた病理形態学的検査



鹿島研究所 病理研究部

前列左から涌生グループリーダー、山田、隈部研究員、後列左から爰島、黒滝、小林研究員、土居チームリーダー、友成研究員

走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope、以下SEM) は、電子線を試料に照射し、反射電子や二次電子を検出することで試料表面の状態を高倍率で観察する装置です。透過型電子顕微鏡のように細胞内部を観察することはできませんが、SEMでは試料表面の立体的な画像を得ることが可能です。SEMで良く観察される生物試料としては、気管等の呼吸器系粘膜、膀胱粘膜等の表面が挙げられますが、今回は、標本作製方法も含めて眼球の角膜内皮と腎臓糸球体のSEM検査について紹介します。

【観察標本の作製方法】

SEM観察用の生物試料は、グルタルアルデヒドで前固定します。試料によっては、ホルマリンやブアン液で前固定することもあります。この後、リン酸緩衝液で洗浄し、オスミウムで後固定します。後固定が終わった試料は、アルコール系列で脱水し、酢酸イソアミルに置換します。私たちが扱う生物試料は水分を含んでいますが、SEM標本は真空内での観察になりますので、酢酸イソアミルに置換した試料は、臨界点乾燥装置を用いて完全に乾燥させます。この後、試料の金コーティングを行います。これは、試料表面に伝導性を与えチャージアップ (像の乱れ) を防止する、二次電子発生率を上げ像情報を増やす、試料ダメージを防ぐ、という目的があります。この金コーティングした試料が、SEM観察標本となります。

【カニクイザルの眼球角膜内皮表面】

Fig. 1A、1Bは、グルタルアルデヒド固定したカニクイザルの角膜内皮表面のSEM像です。Fig. 1Aは正常個体のSEM像で、ハチの巣状に敷き詰められた角膜内皮細胞が観察されます。Fig. 1Bは角膜内皮傷害を実験的に起こした個体のSEM像で、角膜内皮の細胞膜表面が破壊され、ハチの巣状配列も乱れていることが分かります。

【マーモセットの腎臓糸球体】

Fig. 2A、2Bは、ホルマリン固定したマーモセットの腎臓糸球体のSEM像です。この個体は、病理組織学的検査で進行性糸球体腎症が確認されました。糸球体表面には、Podocyte (足細胞) が毛細血管に突起を伸ばしている様子が確認できます。Fig. 2Aの矢印は比較的正常な構造を保っている部分、Fig. 2Bの矢頭はPodocyteに微絨毛が認められる部分です。Podocyteの微絨毛形成は糸球体からの蛋白漏出を示唆する所見です。

【最後に】

以上のように、広範な領域の表面状態を比較観察できることもSEMの利点の一つです。現在使用しているSEMはGLP試験に対応しており、ネガフィルムとして記録が残せません。病理学的検査の有用な手段の一つとして、これからも種々の器官・組織で検討を重ね、お客様のニーズに応えられる体制を整えていきたいと考えています。

(原稿執筆/山田 直明E-mail: yamada.naoaki@mn.medience.co.jp)



走査型電子顕微鏡 (SEM) の前で山田直明研究員

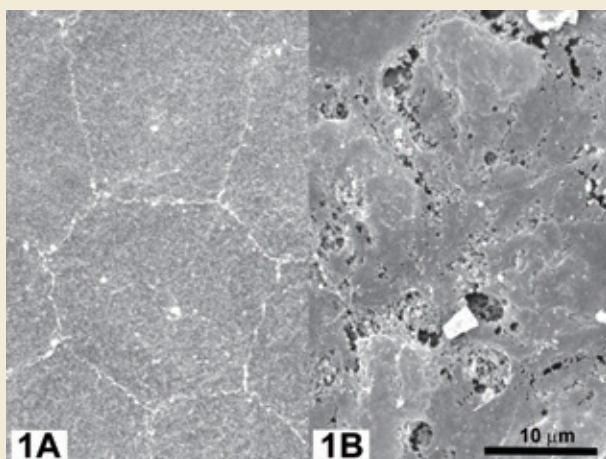


Fig. 1 カニクイザルの角膜内皮

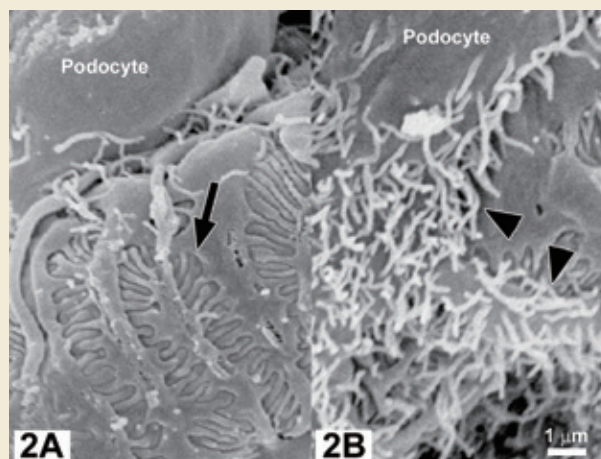


Fig. 2 マーモセットの腎臓糸球体

薬理

抗インフルエンザ薬の評価法



熊本研究所 薬理研究部
ミーティング中の左から藤村研究員、守住グループリーダー、榎チームリーダー、加藤研究員

【目的】

インフルエンザは季節的に流行を繰り返す感染症で、2009年の新型インフルエンザの世界的な流行は記憶に新しいかと思えます。また、現在中国で発生している鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルスはヒトからヒトへの感染が危惧されています。このように、インフルエンザウイルスに対する脅威は身近であり、ワクチンや抗インフルエンザ薬の開発は重要です。そこで今回、A型インフルエンザウイルスのマウス感染モデルを用いて、抗インフルエンザウイルス薬の評価系を確立しました。

【材料】

- ウイルス：A/PR8/34 (H1N1) (略称：PR8)
- 細胞：Madin-Darby canine kidney (MDCK)
- 動物：マウスBALB/cCrSlc、♀、6週齢(ウイルス接種時)
- 抗インフルエンザウイルス薬：オセルタミビルリン酸塩

【方法】

まず、PR8及びMDCK細胞を用いて、ブランク法によりウイルス液中の感染価を確認しました。MDCK細胞の培地中にウイルス液を添加し、1時間後に培地を除去しました。洗浄後にアガロース含有培地を添加し、2日間培養しました。アガロース含有培地を除去し、ギムザ染色を行った後、ブランク数をカウントし、これをもとにウイルス液中の感染価を求めました。

次に、マウスに段階希釈したPR8を麻酔下で経鼻接種し、PR8の50%マウス致死量 (mouse lethal dose 50 [MLD50]) を求めました。

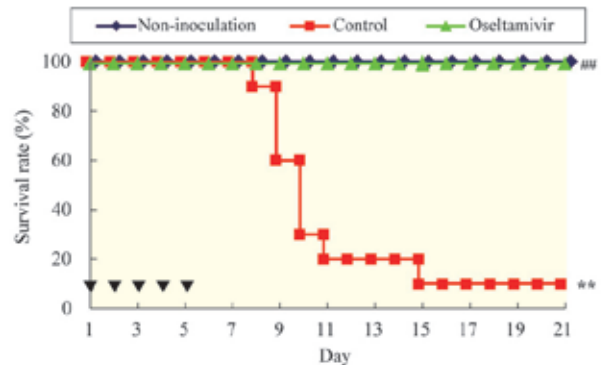
上記で得られた結果をもとに、オセルタミビルリン酸塩の効果を確立しました。1群10例とし、非接種群 (ウイルス非接種、媒体投与)、対照群 (ウイルス接種、媒体投与)、オセルタミビル群 (ウイルス接種、オセルタミビルリン酸塩投与) を設定しました。麻酔下で1000 plaque forming unit (PFU) 又は2275 PFU (4MLD50) のPR8を経鼻接種し、その2時間後に媒体 (生理食塩液) 又はオセルタミビルリン酸塩を50 mg/kgで経口投与し、引き続き翌日から4日間×1日2回投与しました。ウイルス接種日をDay 1として、Day 21までマウスの生死を確認し、生存率を求めました。

【結果】

実験の結果、生存率は右の図に示すとおりであり、以下の結果を得ました。

- ・ウイルス液中のPR8の感染価： 8.5×10^4 PFU/mL
- ・MLD50：568.7 PFU/匹

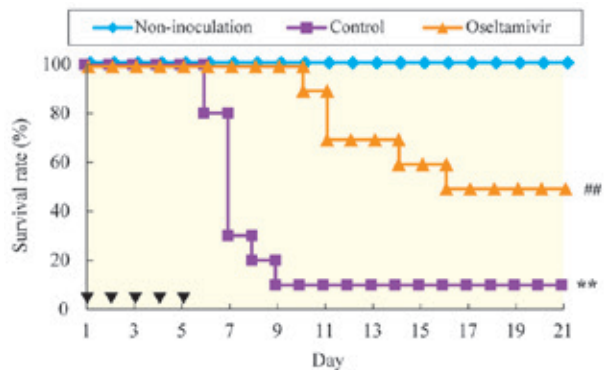
1000PFUのPR8を接種した場合の生存率



▼: The drug was administered once (Day 1) or twice (Day 2-5) a day for 5 days.
** p<0.01 vs Non-inoculation group (Kaplan-Meier method log-rank test)
p<0.01 vs Control group (Kaplan-Meier method log-rank test)

Group	No. of surviving animals	Median survival time (day)
Non-inoculation	10	21
Control	1	9
Oseltamivir (50 mg/kg)	10	21

2275PFUのPR8を接種した場合の生存率



▼: The drug was administered once (Day 1) or twice (Day 2-5) a day for 5 days.
** p<0.01 vs Non-inoculation group (Kaplan-Meier method log-rank test)
p<0.01 vs Control group (Kaplan-Meier method log-rank test)

Group	No. of surviving animals	Median survival time (day)
Non-inoculation	10	21
Control	1	6
Oseltamivir (50 mg/kg)	5	18

【まとめ】

ブランク法により、インフルエンザウイルスの感染価の測定法を確立しました。PR8のマウス感染モデルを用いて、臨床で抗インフルエンザウイルス薬として一般的に使用されているオセルタミビルリン酸塩を投与すると、生存日数を有意に延長しました。また、ウイルス接種量を多くすると、生存日数は短くなることが確認されました。これらのことから、今回立ち上げたモデルを用いて、生存率を指標とした抗インフルエンザウイルス薬の評価が可能となりました。

今後は肺などの組織中のウイルス感染価測定系を立ち上げる予定です。また、その他の感染症モデルとして、当社創薬支援事業本部治験センター CLS検査部微生物検査グループの協力のもとに、肺炎球菌及び緑膿菌を用いた肺炎モデル及び全身感作モデルの立ち上げを実施中です。今後、更に種々の感染モデルについても対応していき、お客様のニーズに応じていきたいと考えています。

(原稿執筆/榎 成憲 E-mail: Enoki.Shigenori@mx.medience.co.jp)

2012年学会発表実績

- 【第28回 日本毒性病理学会総会および学術集会】**
- コモンマーマシット (*Callithrix jacchus*) における進行性糸球体腎症の免疫組織学的検討 - 初期病変を中心に - / 山田直明、他
 - *学会長賞(2012年)の最優秀賞を受賞しました。
 - ニコチンアミドの代謝拮抗薬 G-Aminocotinamide (6-AN) 投与マウスの聴覚神経毒性 / 佐々木啓、他
 - Wistar Hannover系ラット卵巣の組織学的特徴 (SD系ラットとの比較) / 橋本知水、他
 - ビーグル犬の経皮投与と操作による背部皮膚の組織学的変化 / 隈部志野、他
 - マウス鼻中隔にみられる好酸性物質に関する検討 / 土居卓也
 - ウサギの前立腺における自然発生の扁平上皮化生 / 小林祥、他
- 【第3回 日本安全性薬理研究会学術集会】**
- カニクイザルを用いた評価系 / 山中洋泉、他
- 【第2回 マーシャルフォーラム】**
- 中国産マーシャルビーグルの特徴 - 安全性試験の見地から - / 和田聰、他
- 【第85回 日本薬理学会】**
- Examination of curative effects of herbal medicines on frequent urination in the over active bladder (OAB) model in aging rats - Measurements by Uroflowmetry in conscious and unrestricted rats - (加齢起因する頻尿モデルラットを用いた生薬による頻尿改善効果の検討) / 水町涼治
 - Development of a new model for abdominal aortic aneurysm (AAA) in mice. (マウス腹部大動脈瘤モデルにおけるトラニラスタの mast 細胞数と動脈瘤径に及ぼす影響) / 森田枝美
 - Preventive effects of solmack on alcohol hangover-like model in mice. (マウスを用いたアルコール二日酔い様モデルに対するソルマックの二日酔い防止効果の検討) / 林田尚之
 - Investigation of the measurement method of GLP-1 in rats. (ラットGLP-1測定法の検討) / 緒里真一
 - Evaluation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist-induced schizophrenia-like model in rats. (NMDA 受容体拮抗薬誘発統合失調症様モデルにおける評価法の検討) / 田代貴士
- 【実験動物技術者協会 関東支部 サル部会】**
- 第三世代のサル / 佐久間善仁
- 【実験病理組織技術研究会 第19回 総会・学術集会】**
- ラットの脾臓におけるグリメリウス染色方法の検討 / 池田裕樹、他
- 【第52回 日本先天異常学会学術集会】**
- ウサギ発生毒性試験の背景データ 1. 1994-2000年の日本白色種の背景データ
 - ウサギ発生毒性試験の背景データ 2. 2001-2010年の日本白色種の背景データ
 - ウサギ発生毒性試験の背景データ 3. 1994-2000年のニュージャーランド白色種の背景データ
 - ウサギ発生毒性試験の背景データ 4. 2001-2010年のニュージャーランド白色種の背景データ
 - 山内俊明 (武田薬品工業株式会社)、和泉宏幸、他
- 【第39回 日本毒性学会学術年会】**
- サルにおけるSodium Iodateによる網膜毒性の検出 / 田中守 (株式会社イナリサーチ)、大竹誠司、他
 - サルテレメトリー試験における心筋収縮能の検討 (第二報) / 山中洋泉、他
 - 中国産マーシャルビーグルの生理学的特徴 - TOYOおよびHRAビーグルとの比較 - / 和田聰、他
 - カニクイザルを用いた反復投与による肝小核試験法に関する検討 / 石井宏幸、他
 - ラットにおけるSodium Iodateによる網膜毒性の検出 / 樋口剛史、他
 - マイクロミニブタにおける血中ホルモン濃度の日内変動 / 吉田美雪、他
- 【第32回 比較眼科学学会学術大会】**
- カニクイザルを用いた角膜厚測定法の検討 - 超音波式と光反射式との比較 - / 和田聰、他

- 【第138回 質量分析関西談話会】**
- 医薬品開発におけるDBS利用の課題と取り組み / 中井恵子
- 【第3回 JBFシンポジウム (バイオアナリシスフォーラム)】**
- GBC進捗報告、GBC Harmonization Teamポスターセッション A10: New frontiers / 中井恵子
- 【第39回 比較心電図研究会】**
- カニクイザルの心電図の特徴 / 安東賢太郎
- 【安全性評価研究会】**
- GLPのエッセンシャルと、施設訪問生データチェック時のポイント / 平塚秀明
 - Watersユーザーミーティング at IMSC 2012
 - バイオアナリシスフォーラムの取組みと世界的な動きについて / 中井恵子
- 【CORESTA Congress 2012】**
- The *in vitro* micronucleus assay for cigarette smoke condensate samples: Photomicrographs for micronucleus scoring and analysis of historical data obtained from Kentucky reference cigarette 3R4F / 澤栗淳 (日本たばこ産業株式会社)、堀一成、他
- 【第29回 日本心電学会】**
- ビーグル犬およびカニクイザルのQT間隔評価における補正式は不要か? / 安東賢太郎
- 【18th North American Regional ISSX meeting】**
- PREDICTION OF HEPATIC CONJUGATION AND DISPOSITION *IN VIVO* USING HEPATOCYTE CULTURE EMBEDDED IN 3D COLLAGEN GEL MICROCAVITY / 松井等、他
- 【2012年度 IGSラット研究会総会】**
- Cri:WI (Han) 癌原性試験のための病理組織背景データ - Cri:CD (SD) との比較 - [104-week Carcinogenicity] / 友成由紀
- 【第1回 Provantisユーザー会】、【BARQA 2012 Annual conference】**
- The GLP facility restoration from the 2011 Great East Japan Earthquake damage / 高橋要
- 【日本薬物動態学会 第27回年会】**
- PREDICTION OF HEPATIC CONJUGATION AND DISPOSITION *IN VIVO* USING HEPATOCYTE CULTURE EMBEDDED IN 3D COLLAGEN GEL MICROCAVITY / 松井等、他
 - 薬物トランスポーター安定発現細胞を用いたトランスポーター評価系の構築とバリデーション / 中埜貴文、他
 - 門脈カニューレーションを用いた消化管及び肝臓におけるアペラビリティ (Fa*Fg及びFh) の分離評価 / 坂井紀文、他
- 【第41回 日本環境変異原学会】**
- 反復投与による肝臓小核試験法の有用性の検討 - MMS共同研究の報告 - / 濱田修一、他
 - 遺伝毒性発がん物質・異数性誘発物質を用いた反復投与肝臓小核試験の有用性の検討 - MMS共同研究個別報告 - / 高島理恵、他
- 【LC-DAYS 2012 (2012年液体クロマトグラフィー研修会)】**
- 送液系のトラブルシューティング - 逆相用移動相を調整するたびに保持時間が微妙に変わる - / 小山隆
- 【第34回 胆汁酸研究会】**
- 血漿中胆汁酸24成分の一斉分析法の確立とその利用 / 中井恵子
- 【日本動物実験代替法学会 第25回大会】**
- ガス透過性膜と3次元マイクロパターンを利用した肝細胞培養系の胆管代謝物と薬物代謝関連遺伝子の解析 / 松井等、他
 - シンポジウム「細胞アッセイ技術の現状と将来」
 - ガス透過性膜と3次元マイクロパターンを利用した肝細胞培養系の薬物動態試験への応用可能性 / 松井等、他

- Metabolite profiling and identification in human urine after single oral administration of DEHP / 倉田祥正、他
- 【The Journal of Toxicological Sciences 37 (4) : 691-698, 2012.】**
- Species differences in toxicokinetic parameters of glycidol after a single dose of glycidol or glycidol linoleate in rats and monkeys / 若林賢一 (花王株式会社)、倉田祥正、他
- 【Mutation Research 747 : 234-239, 2012.】**
- Development of a repeated-dose liver micronucleus assay using adult rats: An investigation of diethylnitrosamine and 2,4-diaminotoluene / 成見香瑞範 (株式会社ヤクルト本社)、高島理恵、他
- 【Animal Eye Research 30 : 17-22, 2011.】**
- Influence of the Age of the Month on Electroretinogram in Beagle Dogs / 和田聰、他
- 【Congenital Anomalies 52 : 155-161, 2012.】**
- Historical control data on prenatal developmental toxicity studies in rabbits / 江馬真 (産業技術総合研究所)、和泉宏幸、他
- 【実験病理組織技術研究会会誌 21 (1) : 93-98, 2012.】**
- Papanicolaou染色を応用した膠原線維の簡易染色法 / 渡辺秀幸、他
- 【Veterinary Pathology 49 (4) : 621-628, 2012.】**
- Hereditary Cerebellar Degenerative Disease (Cerebellar Cortical Abiotrophy) in Rabbits / 佐藤順子、他
- 【Journal of Toxicologic Pathology 25 : 63-101, 2012.】**
- Histopathology of Incidental Findings in Cynomolgus Monkeys (*Macaca Fascicularis*) Used in Toxicity Studies / 佐藤順子、他
- 【Journal of Toxicologic Pathology 25 : 103-134, 2012.】**
- Histopathology of Incidental Findings in Beagles Used in Toxicity Studies / 佐藤順子、他
- 【Journal of Toxicologic Pathology 25 : 287-291, 2012.】**
- Age-related Histological Findings in the Pineal Gland of Cri:CD (SD) Rats / 友成由紀、他
- 【Journal of Applied Toxicology 32 (10) : 790-795, 2012.】**
- Dark cell change of the cerebellar Purkinje cells induced by terbutaline under transient disruption of the blood-brain barrier in adult rats: morphological evaluation / 山田直明、他
- 【The Journal of Veterinary Medical Science 74 : 837-843, 2012.】**
- Hexachlorophene and Cuprizon Induce the Spongy Change of the Developing Rat Brain by Different Mechanisms: The Role of 2', 3'-Cyclic Nucleotide 3'-Phosphodiesterase (CNase) / 菅野剛、他
- 【Journal of Traditional Medicines 29 : 186-194, 2012.】**
- Effects of Henseki on high carbohydrate and high fat diet-induced obesity in mice / 森田枝美、他
- 【日本薬理学雑誌 140 (6) : 306-306, 2012.】**
- 嘔吐しないげっ歯類での嘔吐活性評価 / 安東賢太郎
- 【Cancer Science 103 : 221-227, 2012.】**
- Integrated analysis of whole genome exon array and array-comparative genomic hybridization in gastric and colorectal cancer cells / 古田一行、他
- 【InTech-Polymerization chapter 14 : 321-330, 2012.】**
- PolyADP-Ribosylation in Postfertilization and Genome Reprogramming: Implications for Carcinogenesis / 長田智治、他
- 【月刊「細胞」44 (9) : 406-408, 2012.】**
- 多能性獲得の指標となる遺伝子の同定に向けた取り組み / 長田智治、他
- 【Lab Chip 12 : 1857-1864, 2012.】**
- Enhanced bile canaliculi formation enabling direct recovery of biliary metabolites of hepatocytes in 3D collagen gel microcavities. / 松井等、他
- 【ぶんせき (日本分析化学会誌) 7 : 399-400, 2012.】**
- 生体試料中薬物濃度分析とバリデーションガイドライン / 中井恵子

2012年投稿実績

- 【The Journal of Toxicological Sciences, 37 (1) : 33-49, 2012.】**
- Metabolism of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) : comparative study in juvenile and fetal marmosets and rats / 倉田祥正、他
- 【The Journal of Toxicological Sciences, 37 (2) : 401-414, 2012.】**

Topics

角膜検査機器の導入

角膜内皮測定計 (スペキュラマイクロスコープ) 及び角膜厚測定計 (パキメータ) を導入しました。従来の眼科検査の評価項目に加え角膜内皮細胞並びに角膜厚を評価することが可能となりました。

角膜の透明性は、角膜内皮細胞が角膜中の余分な水分を排出することで維持されています。投薬の影響で角膜内皮細胞が障害を受け水分排出能が低下すると、角膜に浮腫性の変化が生じます。今回導入した角膜内皮測定計ではこのような角膜の変化を細胞密度の減少及び細胞面積の増加として、また角膜厚測定計では角膜厚の増加として



経時的かつ定量的に捉えることができます。

角膜内皮細胞には再生能が無く、現状では角膜内皮の障害に対する有効な治療法は角膜内皮細胞の移植のみです。したがって、非臨床試験において、薬剤の角膜への影響を詳細に評価することは極めて重要です。今回導入した2機種は臨床現場で使用されている信頼性の高い機器であり、角膜における毒性変化を高感度に検出することが可能です。点眼及び硝子体内に投与する薬剤、あるいは眼房水への移行率が高い薬剤の眼毒性評価において、これらの機器を用いた検査の有用性は高いと考えられます。(原稿執筆 / 和田 聡 E-mail : Wada.Sou@mw.medience.co.jp)

正常カニクイザルの角膜内皮細胞



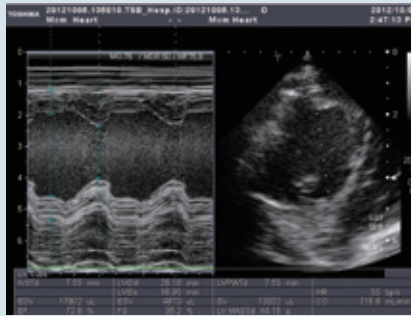
NUM: 細胞数, CD: 細胞密度, AVG: 平均細胞面積, SD: 面積の標準偏差, CV: 面積の変動係数, Max: 最大面積, Min: 最小面積, CCT: 角膜厚

大動物用超音波（エコー）のプローブ

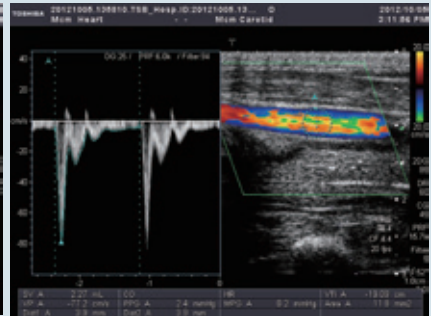
当社は、超音波診断装置（エコー）を用いて、小動物（ラット・マウス・ハムスター・ウサギ）の心機能測定やがんの検査を実施しています。小動物の場合には、リニアプローブを用いて検査することが可能ですが、新たにセクタプローブを導入することにより、イヌやブタ等の大動物の検査が可能となりました。

現在は、マイクロミニピッグを用いた心筋梗塞モデルの心機能を定期的に測定しています。

[写真1]セクタプローブを用いたマイクロミニピッグの心機能検査の画像です。右は心臓の横断面、左はMモードによる心臓の動きを捉えて心機能を測定しています。[写真2]リニアプローブ



[写真1]



[写真2]

ブを用いたマイクロミニピッグの頸動脈検査の画像です。右は頸動脈の縦断面、左はパルスドプラーによる血流を測定しています。これら2つのプローブを用いることにより、生活習慣病をターゲットにした評価法の幅が広がりました。

(原稿執筆/水町 涼治E-mail: Mizumachi.Ryouji@ma.medience.co.jp)

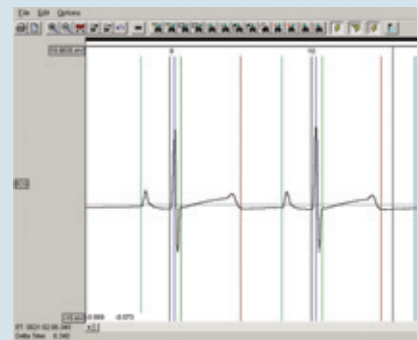
安全性薬理試験における心外膜心電図評価の導入

安全性薬理試験においてイヌ及びサル的心電図評価は、テレメトリー装置を用いた体表面心電図の測定により実施してきました。体表面心電図では動物の活動による影響が大きいため、動物が安静状態にある時の5～15波形を選択して評価します。一方、心外膜心電図は心電図電極を直接心筋に留置することで、動物の活動による影響をほとんど受けることなく、常に安定した心電図を得ることが可能であり、記録したほとんどすべての波形を評価に使用できます。当社では心外膜心電図の記録と高性能の解析装置を組み合わせることにより、体表面心電図では不可能だった多数の心電図波形の自動解析が可能になりました。1解析時点あたり500～4000波形

を解析することが可能となり、従来よりも評価の客観性が向上しています。

2012年より安全性薬理試験に心外膜心電図測定を取り入れ、イヌ及びサルを用いてこれまで14試験の実績を積んできました。今後お客様のご要望にお応えできるよう、新しい技術の向上に努めてまいります。

(原稿執筆/秋山 賢之介E-mail:Akiyama.Kennosuke@mk.medience.co.jp)



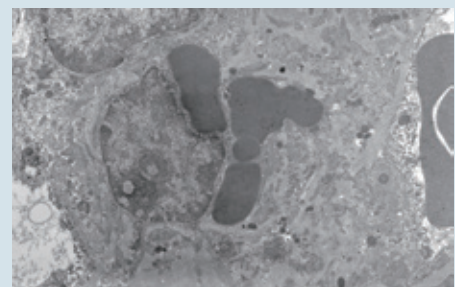
第29回日本毒性病理学会 優秀症例報告賞受賞

2013年2月に行われた毒性病理学会でポスター発表を行い、優秀症例報告賞をいただきました。表題は「老齢B6C3F1マウスの腎糸球体におけるメサンギウム赤血球貪食に関する検討」です。本発表は老齢マウス腎糸球体のメサンギウム細胞内に赤血球が入るという奇妙な現象を、詳しく調べた初めての報告となりました。この組織像は毒性病理学者の誰もが知っている変化ですが、詳細は報告されていませんでした。今回、多くのマウス腎組織を丁寧に観察し、変化の成り立ちや発現機序などを考察したことが評価されたと考えていま

す。当病理研究部では、日頃から多数の鏡検者間で活発なディスカッションを交わし、経験と勉強を積み重ねながら検査結果の品質向上に努めています。その努力のあかしとして本賞をいただけたことを大変嬉しく思っています。

今後も信頼性の高い病理検査を提供してだけでなく、お客様の疑問・問題解決につながるような業務、研究活動を行ってきたいと考えています。

(原稿執筆/小林 亮介E-mail: kobayashi.ryousuke@mu.medience.co.jp)



透過型電子顕微鏡写真：糸球体メサンギウム細胞にトラップされた赤血球



三菱化学メディエンス株式会社 創薬支援事業本部

◆試験研究センター 鹿島研究所

〒314-0255 茨城県神栖市砂山14番地1

☎ 0479-46-2871 FAX 0479-46-2874

◆試験研究センター 熊本研究所

〒869-0425 熊本県宇土市栗崎町1285番地

☎ 0964-23-5111 FAX 0964-23-5122

【関東エリア】創薬第1営業部 第1グループ

〒108-8559 東京都港区芝浦四丁目2番8号

☎ 03-6722-4210 FAX 03-6722-4211

【関西エリア】創薬第1営業部 第2グループ

〒541-0044 大阪市中央区伏見町四丁目1番1号

☎ 06-6204-8411 FAX 06-6204-8716