

PRECLINICAL TRIAL SERVICES

ADVANCING DRUG DISCOVERY TOGETHER



日精バイリス株式会社 滋賀研究所
〒528-0052滋賀県甲賀市水口町宇川555
TEL:0748-63-5251 FAX:0748-63-0735
e-mail:info@bilis.co.jp



ホームページ



お問合せフォーム

バイリス年報 Vol.20

日精バイリス株式会社 滋賀研究所
NISSEI BILIS CO., LTD., Shiga Laboratory

受託可能な試験・業務

薬効薬理試験

- ・中枢神経系
- ・心血管系
- ・呼吸器系
- ・末梢神経及び骨格筋
- ・消化器系
- ・泌尿器系
- ・肝臓疾患
- ・糖尿病
- ・生活習慣病
- ・炎症・アレルギー
- ・生殖器系
- ・抗嘔吐/催吐作用
- ・虚血再灌流障害
- ・その他

医療機器

- ・有効性、性能評価
- ・生物学的安全性試験

安全性試験/安全性薬理試験

- ・一般毒性試験
- ・遺伝毒性試験
- ・局所刺激性試験
- ・免疫毒性試験
- ・コアバッテリー試験
- ・ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた心毒性評価試験
- ・フォローアップ試験
- ・補足的安全性薬理試験

再生医療等製品

- ・有効性評価試験
- ・安全性試験

その他

- ・分析業務
- ・血液検査
- ・尿検査
- ・病理標本作製/組織学的検査

使用可能動物

マウス、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、フェレット、ブタ、イヌ、サル、遺伝子改変動物（マウス、ラット等）

私たちの存在意義

住み良い社会を創造するために、人の健康と環境保護に貢献します。

医薬品、化学物質、医療機器などの安全性及び有効性試験を通して、みんなが安心して暮らせる社会をつくれます。

私たちの経営姿勢

人を育て、新しい技術に積極的に取り組みます。
お客様が満足するパートナーシップを築きます。
地域社会に信頼される明るい会社を目指します。

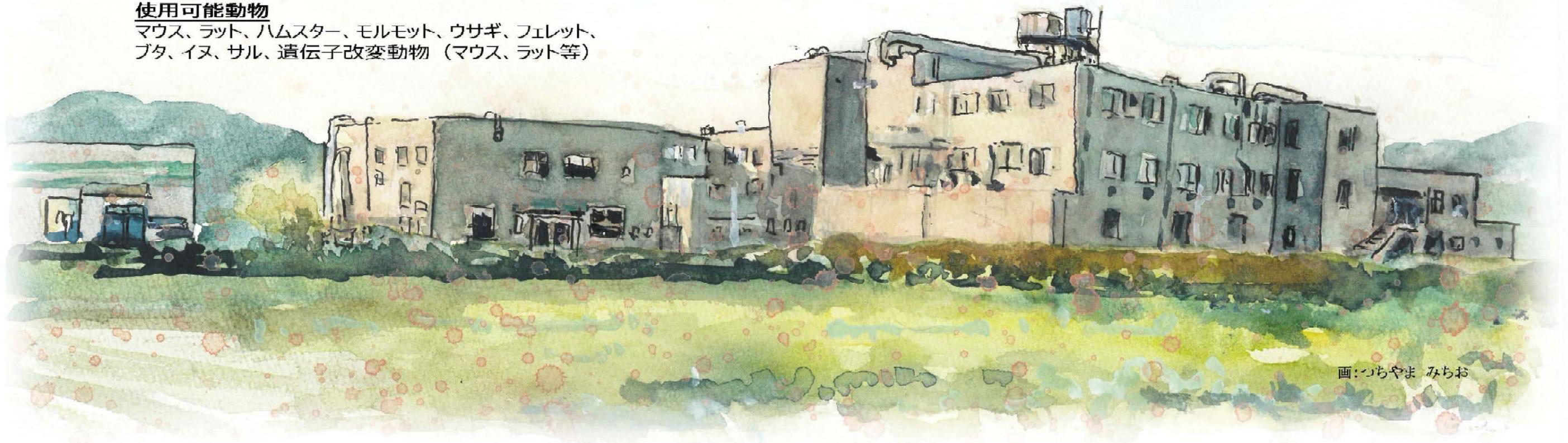
私たちの基本姿勢

技術の向上と蓄積に努め、正確・迅速で信頼性の高いデータを通して、お客様が満足するサービスを提供します。
常に前向きな発想を持ち、明るく希望のある職場を築きます。
実験動物の生命を大切に、3Rsを推進します。

Replacement（代替）

3Rs Reduction（削減）

Refinement（苦痛の軽減）



画：つちやま みちお

第 20 巻発刊に寄せて

日精バイリス株式会社

代表取締役社長 西本 善紀

ご高覧の皆さまには平素より格別のお引き立てを賜り、厚く御礼申し上げます。当バイリス年報の第 20 巻の節目にあたり、ご挨拶させていただきます。当社は株式会社環境保健生物研究センターとして設立し、昨年 2025 年 11 月に 50 周年を迎えました。そしてこの度、節目の第 20 巻となる当バイリス年報をお届けいたします。積み重なった年数も巻数も日々の業務の積み重ねですが、我々を信頼して試験を委託していただくお客様をはじめ、当社を取り巻くすべての方々の支えのうでで営まれており、社員一同そのことに感謝の気持ちを忘れることなく、常に変化に対応し、前進することで皆様の期待に応えるべく、努力を続けています。

第 1 巻は 20 年前の 2006 年に編集作業を行い、翌 2007 年の初頭に発行しました。前年に環境バイリス研究所から社名変更しており、内容からは新生バイリスとしてさらなる躍進を遂げようという意気込みが感じられます。初巻であるため、それまでに蓄積された学会発表や研究報告が盛りだくさんで、読み応えのある内容であるとともに、時代の変化を感じる編集となっています。目につくのは社員の写った写真の数々。20 年ですから当時の若手も今では幹部、中堅クラス。当時を知らない私は、その一枚一枚に時のたつのも忘れるぐらい引き込まれましたが、デジタル社会もまだまだ発展初期で、紙媒体中心の時代であったことを思い出させる構成です。

さて現在は、リスクの顕在化も含めてデジタル社会も高度化しました。バイリス年報も当巻より冊子と WEB 掲載のデュアル発行となります。主要日刊紙も電子版会員数が全購読者の半数程度に達し、時代が着実に進んでいる中で、より皆様の手が届きやすく目に入りやすくなることを期待しています。肝心の研究報告や技術紹介についても、昨今の業界動向や当社の技術の進展を踏まえたものとなっておりますので、読者の方々の一助となりますことを切に願っております。ご質問や疑問点などございましたら、遠慮なくご連絡いただければ幸甚です。

医薬品、医療機器の研究・開発の世界は、たゆまなく、そして猛スピードで動いていきます。社員一同、日々のニュースに大きな刺激を受けつつ、受託試験の誠実かつ確実な実行と新しい試験系の開発や構築に取り組み、業界の片隅ではありますが、その一員としての誇りを胸に歩みを続ける所存です。

引き続きのご支援、ご鞭撻のほどお願い申し上げます。

動物福祉への取り組み

日精バイリス株式会社 滋賀研究所では、動物実験の 3Rs の原則（Replacement：代替法の採用、Reduction：使用動物数の削減、Refinement：苦痛の軽減）を基盤とし、動物福祉に関連する法令等を遵守して動物実験規程及び動物実験委員会規程を制定し、動物実験委員会を中心に動物福祉の向上に取り組んでいます。

動物実験委員会では、動物福祉に関する教育を全社員に実施するほか、当施設で実施される全ての動物実験計画の妥当性及び合理性を審査しています。また、動物飼育管理及び動物実験について年 1 回の自己点検・評価を実施し、適正に運営されていることを確認するとともに、改善点について検討し、必要に応じて速やかに改善措置を講じています。

これらの取り組みは、一般財団法人 日本医薬情報センターから「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」に適合した施設であると認定されています（2025 年 6 月更新、認定番号：25-059）。

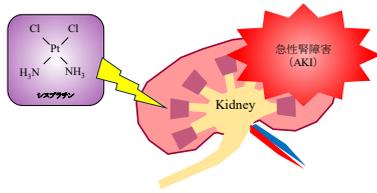
また 2025 年 10 月に AAALAC International（国際実験動物ケア評価認証協会）の site visit を受け、2026 年度上半期中の AAALAC 認証取得に向けて対応を進めています。

シスプラチン誘発急性腎障害に対する キマーゼの病態生理学的役割

1, 大阪医科薬科大学 大学院医学研究科 創薬医学教室
2, 日精バイリス 滋賀研究所
吉本 将成^{1,2)}、金徳男¹⁾、左近上 博司²⁾、高井 真司¹⁾

背景と目的

シスプラチンは固形腫瘍の化学療法で頻りに利用される抗がん剤であるが、その作用はがん細胞特異的ではなく、腎臓、肝臓、心臓などの正常組織にも損傷を与え、がん治療継続を妨害する原因にもなっている。
シスプラチンの主な排泄経路は腎臓であるため、腎臓に蓄積しやすい、特に近位尿管がその悪影響を受けやすい。
本邦の「がん薬物療法時の腎障害診療ガイドライン 2022」においてもシスプラチンによる治療と並行して補液や利尿薬投与、マグネシウムの補充などによる対処が推奨されているが、一定数の患者は依然として急性腎障害(AKI)を発症してしまい、治療を継続することができない状況にある。更にシスプラチン治療患者の約20%がAKIという重篤な副作用に見舞われるともいわれており、その対策法の開発が急がれる。
肥満細胞内に存在するセリンプロテアーゼであるキマーゼは、好中球の遊走等の炎症反応制御やアンジオテンシンIIの産生に関与する等、炎症の調節因子として働きうる側面を有しており、様々な炎症性因子が関与するシスプラチン腎障害においても病態機序に寄与していることが考えられる。
本研究では、シスプラチン投与によりマウスAKIモデルを作製し、腎臓組織におけるキマーゼの発現の特徴およびキマーゼ特異的な阻害薬(TY-51469)の効果を検証した。



実験方法

使用動物:6週齢雄性マウス、BALB/c (日本エスエルシー株)
急性腎障害モデル作製:シスプラチンを単回腹腔内投与(投与用量:20 mg/kg)
投薬等:キマーゼ特異的阻害薬であるTY-51469(投与用量:30 mg/kg)又は媒体(生理食塩水)をシスプラチン投与の1時間前に皮下投与し、その後採材日まで毎日投与した。実験開始後の1日、3日及び6日の時点でインフルラン麻酔下で安楽死させ、採血あるいは腎臓採材を実施し、生化学的解析、組織学的解析、遺伝子発現解析に供した。

群構成

試験群	AKIモデル作製	投薬	採材	例数
Normal	-	-	Day 6	6
			Day 1	6
			Day 3	6
Placebo	シスプラチン投与 (i.p. 20 mg/kg)	生理食塩水	Day 6	20
			Day 1	6
			Day 3	6
TY-51469 (Chymase inhibitor)	シスプラチン投与 (i.p. 20 mg/kg)	TY-51469 (s.c. 30 mg/kg)	Day 6	20
			Day 1	6
			Day 3	6

上記3群を各設定し、それぞれ異なる採材時点で解剖し、解析した。生存率の解析を実施するために、例数を20とした群を、別途設定した。

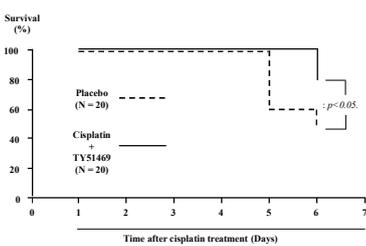
実験スケジュール



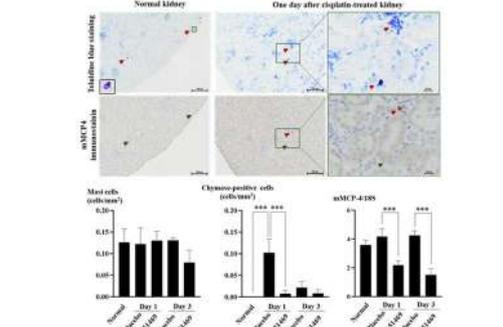
実験結果

キマーゼ阻害薬はシスプラチンにより低下した生存率の改善をもたらした

エンドポイントのDay6の時点で個体の生存率は、TY-51469はPlacebo群と比較して有意に改善した(log-rank test)

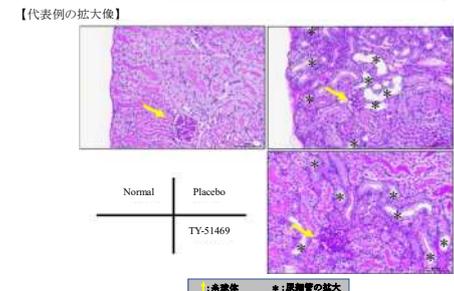
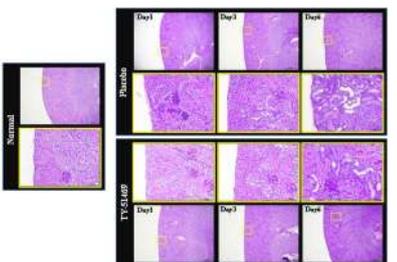


キマーゼ阻害薬は腎臓組織内のキマーゼ陽性細胞数の増加を抑制した

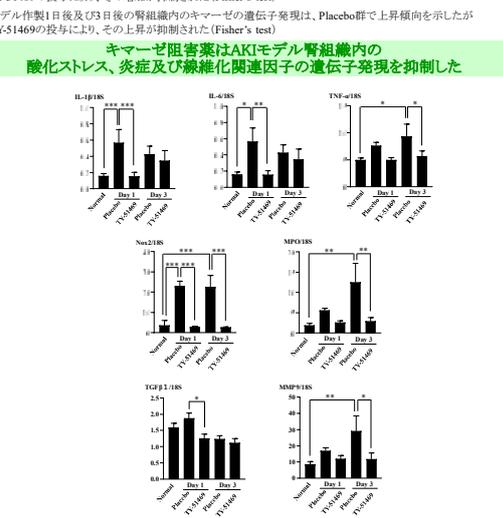


キマーゼ阻害薬はシスプラチンによる尿管病変の改善傾向があった

Normalの腎臓と比較してシスプラチン投与を実施したPlaceboとTY-51469の腎臓組織には組織壊死が原因とみられる、尿管の拡大が経時的に観察された。Placeboと比較して、TY-51469ではその程度は緩和される傾向があった。(腎臓組織、PAS染色画像)



キマーゼ阻害薬はAKIモデル腎臓組織内の酸化ストレス、炎症及び線維化関連因子の遺伝子発現を抑制した

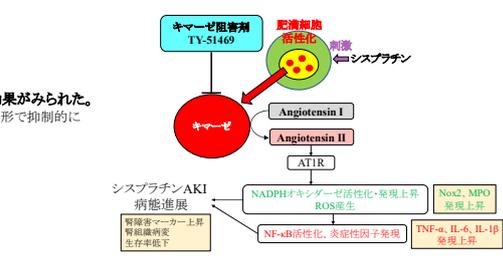


シスプラチン投与により、Day1又はDay3、あるいはその両方において炎症、酸化ストレス、線維化に関連する遺伝子の発現上昇またはその傾向がみられたが、TY-51469の投与はそれらの発現上昇を抑制した。

まとめ

- シスプラチン投与により、下記①~④の事象がみられた。
①血中クレアチニン及びBUN濃度上昇
②個体の生存率低下
③経時的な尿管病変の発生
④マウス腎臓組織内のキマーゼ陽性細胞数は投与後1日目時点で増加
キマーゼ特異的な阻害薬であるTY-51469の投与により、上記①~④の抑制、改善効果がみられた。
このことから、キマーゼ阻害薬がシスプラチン誘発性の急性腎障害に対し、腎臓の組織保護という形で抑制的に働きそうであるということがわかってきた。
その機序についてアプローチすべく調査した腎臓組織内の遺伝子発現解析の結果から、シスプラチン投与により上昇する炎症、酸化ストレス、線維化関連因子の遺伝子発現の上昇を、TY-51469は抑制した。

以上より、キマーゼ阻害薬TY-51469は、例えば右の模式図のようなバスキュイを介して、炎症、酸化ストレスの発現を抑制し、病態悪化を阻止した可能性があり、キマーゼが、シスプラチンによる急性腎障害に対する治療ターゲットになりうるということが示唆された。



Quantitative Evaluation of Anesthesia Depth and Myocardial Infarction Impact on Mitral Annular Velocity in Rats Using Tissue Doppler Imaging.

組織ドプラを用いたラットの麻酔深度と心筋梗塞が僧帽弁輪速度に与える影響の定量的評価

○Takuya Akashi, Mina Matsumoto, Yoshizo Fukuda, Ayahito Kimura ○赤司 卓也, 松本 美奈, 福田 好造, 木村 恵人
NISSEI BILIS Co., Ltd., Shiga Laboratory 日精バイリス株式会社 滋賀研究所

Introduction

Left ventricular function in rat heart failure models has been assessed by echocardiography using left ventricular ejection fraction in Motion mode (M-mode), left ventricular inflow velocity in pulsed Doppler mode (D-mode), and maximum mitral annular translation velocity in tissue Doppler imaging mode (TDI-mode). It has been widely reported about usage of isoflurane (ISO) and mixed ketamine/xylazine anesthesia for the assessment of left ventricular function. We evaluated whether medetomidine-midazolam-butorphanol (MMB) anesthesia could serve as an alternative to ISO anesthesia (Experiment 1). In addition, we examined temporal changes in left ventricular function under MMB anesthesia in rat myocardial infarction model (Experiment 2).

Materials & Methods

This study was conducted as approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of NISSEI BILIS Co., Ltd., Shiga Laboratory.

Anesthesia

MMB Anesthesia (subcutaneous injection)

Drug	Dose (mg/kg)	
	Low (L MMB)	High (H MMB)
Medetomidine (Kyoritsu Seiyaku Corp.)	0.075	0.15
Midazolam (Sandoz K.K.)	1.0	2.0
Butorphanol (Meiji Seika Pharma Co., Ltd)	1.25	2.5

ISO Anesthesia (inhalation)

2.0~3.0%, 2.5 L/min

Echocardiography

Device: Vivid S6, GE Healthcare

Parameters

- M-mode: diastolic left ventricular internal dimension (LVIDd), systolic left ventricular internal dimension (LVIDs), left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (%FS), and heart rate (HR)
- D-mode: early diastolic filling velocity (E), atrial systolic velocity (A), and early diastolic filling velocity to atrial contraction velocity ratio (E/A)
- TDI-mode: septal early diastolic mitral annular tissue velocity (e'), septal atrial systolic mitral annular tissue velocity (a'), and peak systolic myocardial velocity (s')

Analysis

Individual data were calculated on the average of values from three consecutive cardiac cycles. E/e' was calculated from the E and e' waves.

Experiment 1

Animals

Male Wistar rats (Japan SLC, Inc.), 12 or 7 weeks old

Groups	n	Anesthesia	Echocardiography	
			Age	Imaging mode
ISO	6	Isoflurane (one day after L MMB evaluation)	7 weeks old	M-mode
L MMB				
H MMB	2	H MMB	12 weeks old	

Animals

Male Wistar rats (Japan SLC, Inc.), 7 weeks old

Group design

Five animals underwent complete coronary artery ligation (MI) under H MMB anesthesia, and three animals with no apparent left ventricular wall motion were allocated to the MI group.

Groups	n	Anesthesia	Echocardiography	
			Time point	Imaging mode
Normal (intact animal)	6	L MMB	MI Day28	M-mode
MI			MI Day7 MI Day14 MI Day28	D-mode TDI-mode

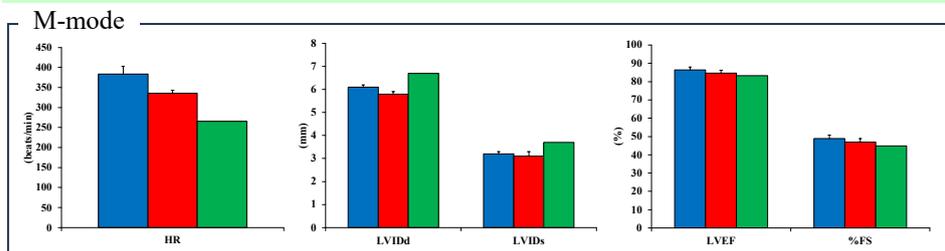
Left heart cardiac catheterization

- Time point: MI Day 28
- Number of animals: MMB; n=2, MI; n=3
- Methods

A Miller catheter (SPR-215, Millar Instruments) was inserted into the left ventricular through the right carotid artery to measure LVEDP and recorded on a Labchart 8 (AD Instruments) via a polygraph system (RMT-1000, Nihon Kohden Corp.).

Results & Discussions

Experiment 1



Experiment 1: Comparison of MMB and ISO anesthesia

Standard group	Comparative group	HR	LVIDd	LVIDs	LVEF	%FS
ISO	L MMB	↓	→	→	→	→
	H MMB	↓ ↓	↑	↑	→	→

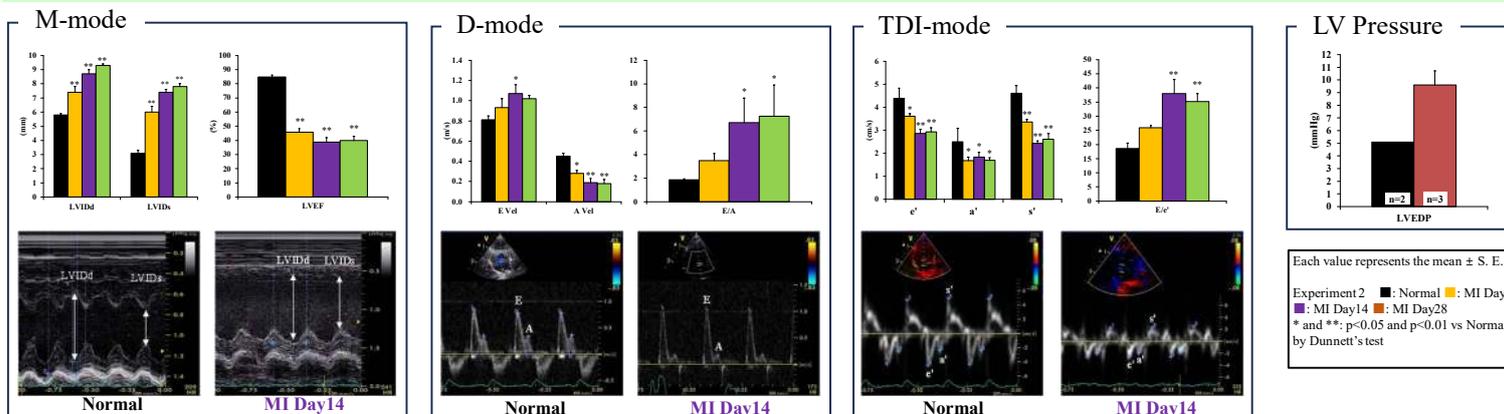
→: no change, ↑: increased, ↓: decreased

L MMB anesthesia was available as an anesthetic for left ventricular function evaluation.

Each value represents the mean ± S. E.

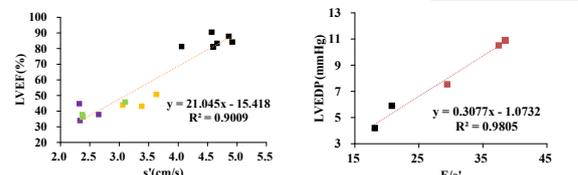
Experiment 1 ■ ISO ■ L MMB ■ H MMB
No significant difference between ISO and L MMB groups.

Experiment 2



Each value represents the mean ± S. E.

Experiment 2 ■ Normal ■ MI Day7
■ MI Day14 ■ MI Day28
* and **: p<0.05 and p<0.01 vs Normal by Dunnett's test



Strong positive correlations were observed between LVEF and s' , as well as between LVEDP and E/e' .

Experiment 2: Sequential changes in left ventricular function in a rat MI model

Standard group	Comparative group	Measurement parameters										
		M-mode			D-mode		TDI-mode			LV Pressure		
		EF	LVIDd	LVIDs	E Vel	A Vel	E/A	e'	a'	s'	E/e'	LVEDP
Normal	MI		↓	↓	↓	↓	↑	↓	↓	↓	↑	↑
			Day 7-28	Day 14	Day 7-28	Day 14-28	Day 7-28	Day 14-28	Day 7-28	Day 14-28	Day 28	

→: no change, ↑: increased, ↓: decreased

Conclusion

Based on these results, MMB anesthesia proved to be viable for left ventricular function assessment, enabling measurements of left ventricular ejection fraction, left ventricular inflow velocity waveform, and maximum mitral annular translation velocity. Furthermore, it was possible to observe the temporal progression of cardiac dysfunction in the myocardial infarction model.

COI : disclosure information :We have no financial relationship to disclose for our presentation contents.

技術紹介： 超音波画像診断装置を用いた心機能検査

超音波画像診断装置（エコー装置）を用いた心エコー検査により、心機能を経時的、非侵襲的に評価することが可能です。弊社では、循環器分野だけでなく、様々な分野の経験豊かな知見を融合し、お客様の研究目的に寄り添った革新的な解決策をご提供いたします。

超音波画像診断装置：Vivid T9 Ultra Edition (GE healthcare)

評価項目：

モーションモード（Mモード）

心室壁の動きの詳細追跡により、壁運動異常や収縮機能の評価が可能

パルスドプラモード（Dモード）

血流速度の測定により、拡張機能の評価や障害の早期兆候を検出

組織ドプラモード（TDIモード）

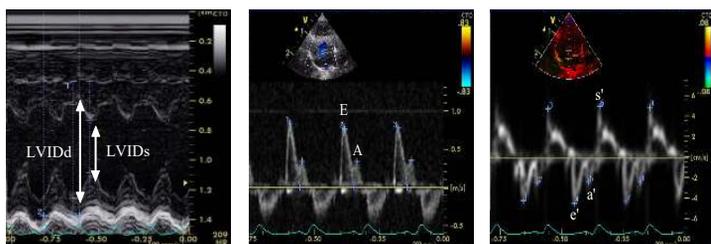
心室移動速度を解析し、心機能や拡張障害の細部まで評価



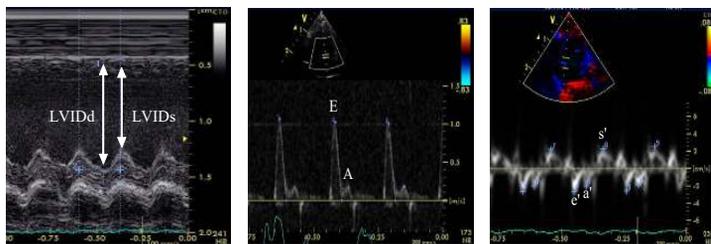
Vivid T9 Ultra Edition
(GE healthcare)

Mモード Dモード TDIモード

モデル
作製前

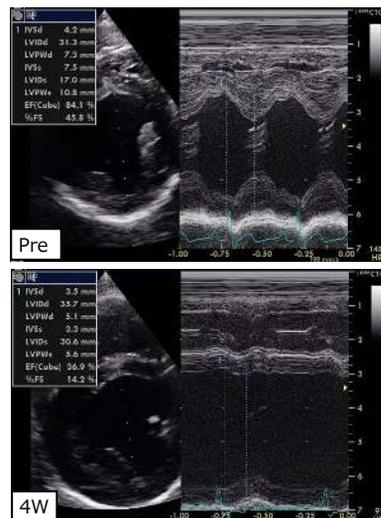


モデル
作製
14日後



ラット心筋梗塞（完全虚血）モデル

心エコー検査により、心筋梗塞モデルにおける心機能障害の経時的変化を観察することができた。



イヌ高頻度ペースング誘発心不全モデル

ビーグル犬にペースメーカーを埋め込み、ペースメーカー作動4週間後に覚醒下で心エコー検査（Mモード）を実施。LVIDsの上昇及びEFの低下により、心不全モデルの作製を確認した。

収縮能指標

Mモード

左室内径短縮率（FS）
左室駆出率（EF）

TDIモード

収縮期波（s'波）

拡張能指標

Dモード

拡張早期波（E波）
E波減速時間（DcT）
心房収縮期波（A波）
E/A比

TDIモード

拡張早期波（e'波）
心房収縮期波（a'波）
E/e'比

総合指標

M/Dモード

Tei index
(心筋パフォーマンス指数)

Mモード

一回拍出量（SV）
心拍出量（CO）

Dモード

左室駆出時間（ET）

形態学的指標

Mモード

左室内径（LVAWd）
左室前壁厚（LVAWd）
左室後壁厚（LVPWd）

測定モード説明

Mモード

：心臓の構造と収縮能を評価

Dモード

：血流速度を測定（拡張能評価）

TDIモード

：心筋組織の動きを測定

M/Dモード

：複数モードの組み合わせ

モデルの特性に基づき、最適な評価項目をご提案いたします。お気軽にお問い合わせください。





各種神経障害性疼痛モデルの背景データ：機械的刺激による疼痛反応評価

Background data on various neuropathic pain models: Evaluation of pain responses to mechanical stimulation

○Hiroyuki Abe, Shotaro Hori, Tatsuya Hattori, Akihito Ito, Ayahito Kimura, Hiroshi Sakonjo
NISSEI BILIS Co., Ltd., Shiga Laboratory

Introduction

In recent years, we have been receiving an increasing number of requests for pain evaluation tests, and we will introduce background data on various neuropathic pain models, including the streptozocin (STZ)-induced diabetic peripheral neuropathic pain (DPN) model, the anticancer drug-induced peripheral neuropathy (CIPN) model, and the spared nerve injury (SNI) model.

Methods

This study was conducted as approved by the International Animal Care and Use Committee of NISSEI BILIS Co., Ltd., Shiga Laboratory.

Materials and Methods

Animals

- ✓*DPN model*; Male SD rats, 7 weeks old (The Jackson Laboratory Japan, Inc.)
- ✓*CIPN model*; Male BALB/c mice, 7 weeks old (Japan SLC, Inc.)
- ✓*SNI model*; Male SD rats, 9 weeks old (Japan SLC, Inc.)

Model preparation

- ✓*DPN model*; STZ (Sigma) was dissolved in a citrate buffer solution at a concentration of 60 mg/mL and administered intravenously at dose of 60 mg/kg. Onset of diabetes was confirmed one week after STZ injection by measuring blood glucose levels in samples taken from the tail vein using a blood glucose meter (ARKRAY, Inc.). Only rats with a glucose level greater than 400 mg/dL were considered as diabetic.
- ✓*CIPN model*; Oxaliplatin (OHP, Nippon Kayaku Co., Ltd.) was dissolved in a 5% glucose solution at a concentration of 2 mg/mL and administered intraperitoneally at dose of 20 mg/kg.
- ✓*SNI model*; The common peroneal nerve and tibial nerve of rats were tightly ligated and the distal side was cut (see Figure 1). (Decosterd I, et al. 2000)

Drug administration

- ✓*DPN model and CIPN model*; Duloxetine (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.) was dissolved in a water for injection at a concentration of 6 mg/mL and orally administered at dose of 30 mg/kg.
- ✓*SNI model*; Pregabalin (LYRICA OD Tablets, Viatrix Inc.) was suspended in a water for injection at a concentration of 4 mg/mL and orally administered at dose of 20 mg/kg.

Behavioural test

Pain response was assessed by using the “up and-down” method, as previously described by Dixon (1965) and Chaplan et al (1994). The animals were placed individually in a cage with a wire mesh bottom (see Figure 2). After acclimation period of at least 15 min (30 min for mice), calibrated von Frey filaments (North Coast Medical, USA; ranging from 0.4 to 15 grams for rats, from 0.04 to 2.0 grams for mice) were applied to the mid-plantar surface of the hindpaw for 3 to 4 seconds. A positive response was recorded if the animals showed withdrawal and guarding, “scratching” or “licking” of the stimulated paw. Data were calculated as the 50% withdrawal threshold in grams.

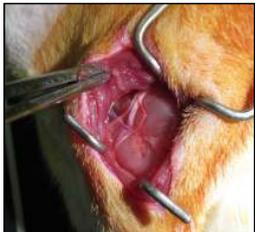
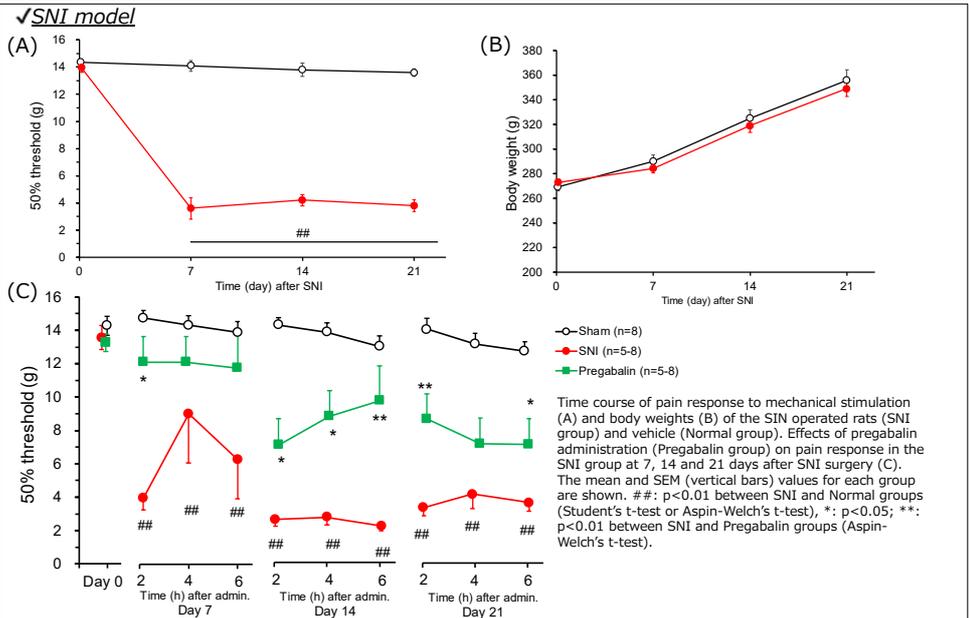
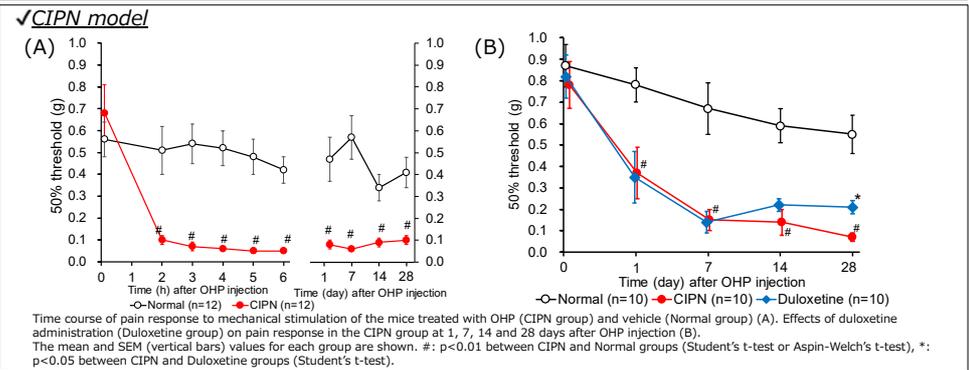
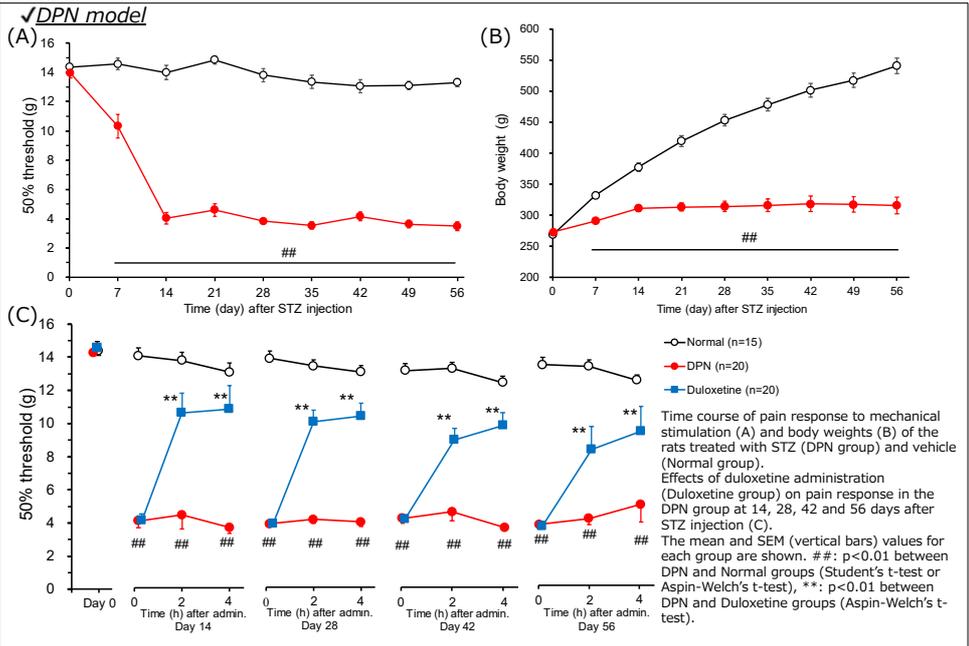


Figure 1. Branches of the sciatic nerve



Figure 2. von Frey test

Results



Conclusion

- ✓*DPN model*: The paw withdrawal threshold to mechanical stimulation was decreased after first week of STZ injection and lasted for 56 days after injection. Duloxetine 30 mg/kg increased this lowered threshold, suggesting its usefulness as a positive control drug.
- ✓*CIPN model*: The paw withdrawal threshold to mechanical stimulation was decreased after 2 hours of OHP injection and lasted for 28 days after injection. No clear antiallodynic effect was observed with duloxetine at 30 mg/kg.
- ✓*SNI model*: The paw withdrawal threshold to mechanical stimulation was decreased after 7 days of surgery and lasted for 21 days. Pregabalin 20 mg/kg increased this lowered threshold, suggesting its usefulness as a positive control drug.



Please visit our commercial exhibition site (No. 11) to get more information (including handout), or scan the QR code on the right to contact us.



エンドセリン受容体拮抗薬の末梢性浮腫評価を目的としたラット利尿モデルの検討 Evaluation of Peripheral Edema by Endothelin Receptor Antagonists Using a Rat Diuresis Model

○Toshinori Moritani, Masanari Yoshimoto, Serina Ito, Tomoko Nagao, Takuya Akashi, Shotaro Hori, Ayahito Kimura
NISSEI BILIS Co., Ltd., Shiga Laboratory

Introduction

Endothelin receptor antagonists are essential therapeutic options for pulmonary arterial hypertension (PAH); however, peripheral edema as an adverse effect remains a significant clinical challenge. In the present study, a rat diuresis model was employed to establish an experimental system for evaluating edema formation associated with endothelin receptor antagonists. By continuously monitoring urine output in a time-course manner in rats, antidiuretic effect of bosentan - a non-selective ETA/ETB receptor antagonist - and ambrisentan - a selective ETA receptor antagonist - were assessed.

Materials and Methods

This study was conducted as approved by the International Animal Care and Use Committee of NISSEI BILIS Co., Ltd., Shiga Laboratory.

Animals, Reagents and Drugs

- **Animals**
Male SD rats, 12 to 14 weeks old (Japan SLC, Inc.)
- **Reagents**
• Thiobutobarbital sodium (Inactin, Sigma)
• Bovine serum albumin (BSA, Sigma)
• γ -globulins from bovine blood (γ -globulin, Sigma)
• 0.5% methylcellulose (MC) solution (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation)
- **Drugs**
• Ambrisentan (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.)
• Bosentan (Bosentan hydrate, Bosentan Tablets 62.5mg MOCHIDA, Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.)

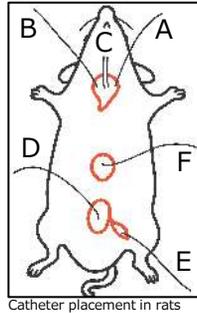
Ambrisentan and bosentan were suspended in 0.5% MC solution.

Study procedures

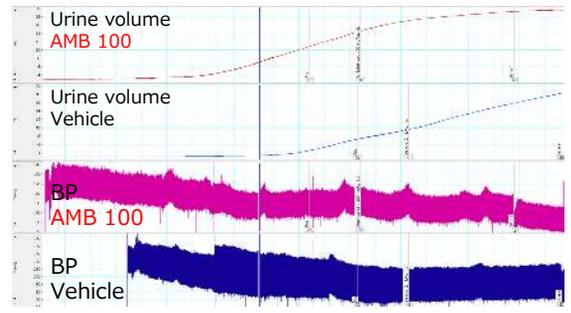
- **Anesthesia**: Rats were fasted overnight and anesthetized via intraperitoneal injection of thiobutobarbital sodium (100 mg/kg).
- **Catheter Placement for Continuous Infusion of Artificial Plasma and Diuretic Solution (A, B)**: Catheters were inserted into both jugular veins for continuous infusion of artificial plasma (25 mg/mL γ -globulin and BSA) and diuretic solution (10 mg/mL BSA) at designated flow rates using syringe pumps (HARVARD Apparatus).
- **Tracheal Intubation (C)**: The trachea was surgically exposed, and a tracheal tube was inserted and secured.
- **Bladder Catheterization and Urine Collection (D)**: A lower abdominal incision was made to expose the bladder, through which a urinary catheter was inserted and fixed. Urine output was continuously recorded using LabChart Pro (AD Instruments).
- **Blood Pressure Monitoring (E)**: A femoral artery catheter was inserted to monitor arterial blood pressure (BP) and heart rate. These data were not included in the evaluation.
- **Duodenal Catheter Placement and Drug Administration (F)**: A catheter was placed in the duodenum for drug administration. Once urine output reached at the baseline (0.10 mL/min), urine volume was measured for 30 minutes to obtain the pre-administration (Pre) value. Drugs were then administered intra-duodenally (2 mL/kg), followed by continuous measurement for 90 minutes.

Group design

Groups	Drugs (intra-duodenal administration, 2 mL/kg)	No. of animals
Vehicle	0.5% MC solution	6
AMB 35	Ambrisentan, 17.5 mg/mL	5
AMB 100	Ambrisentan, 50 mg/mL	5
BOS 10	Bosentan, 5 mg/mL	6
BOS 30	Bosentan, 15 mg/mL	6
BOS 100	Bosentan, 50 mg/mL	6



Catheter placement in rats

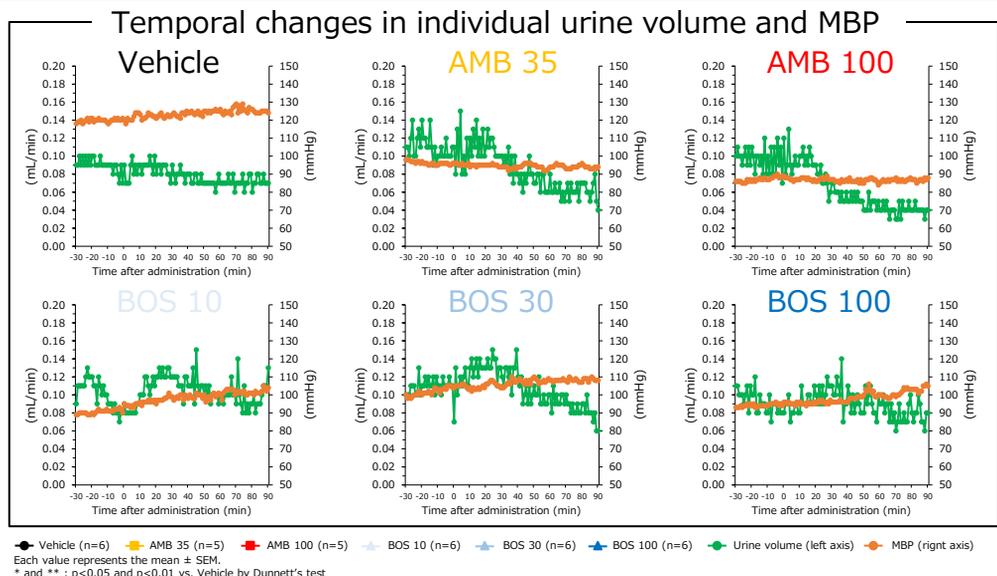
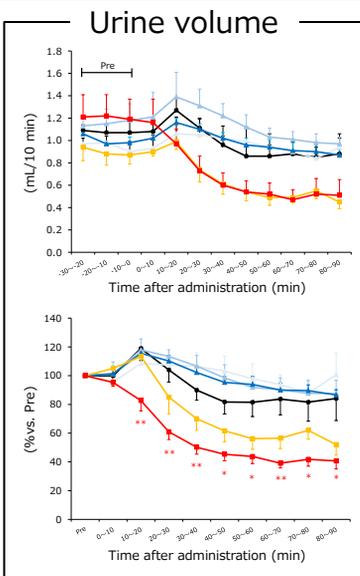


Measured Parameter

Urine volume

Urine volume was calculated every 10 minutes during the 30 minutes before and 90 minutes after duodenal administration of the drugs. The average volume during the pre-administration 30 minutes was set as 100%.

Results



● Vehicle (n=6) ● AMB 35 (n=5) ● AMB 100 (n=5) ● BOS 10 (n=6) ● BOS 30 (n=6) ● BOS 100 (n=6) ● Urine volume (left axis) ● MBP (right axis)
Each value represents the mean \pm SEM.
* and **: $p < 0.05$ and $p < 0.01$ vs. Vehicle by Dunnett's test

Conclusion

Ambrisentan administration at 35 and 100 mg/kg demonstrated dose-dependent antidiuretic effects, with the 100 mg/kg group showing significantly decreased urine output compared to the vehicle group. In contrast, bosentan at doses ranging from 10 to 100 mg/kg did not induce notable changes in urine volume. These findings align with clinical observations and likely reflect the mechanism by which ambrisentan induces edema more frequently than bosentan. This model proves valuable for evaluating peripheral edema caused by endothelin receptor antagonists. It may also serve as a predictive tool for the assessment of adverse effects associated with therapeutics for diseases involving endothelin, such as pulmonary arterial hypertension (PAH).

Please scan the QR code on the right to contact us!



☑ The author has no conflict of interest to disclose with respect to this presentation.

日精バイリス株式会社 2025年度 社内研究報告：ラット無線式脳波測定の実践的取り組み－有線式脳波測定との比較－

岡嶋 匠、伊藤 昭人、鵜飼 清治

背景及び目的

従来の睡眠解析研究用プログラム「SleepSign」を用いた有線式脳波測定による睡眠段階解析は、操作性に優れる一方で自動解析結果の妥当性を目視で確認する必要があり、多くの時間を要するという課題がある。加えて、弊社のシステム構成においては、SleepSignを用いた同時測定が最大2例に限られており、多数の動物を用いる場合は測定自体にも時間を要する。そこで本研究では、弊社のシステム構成において最大8例まで同時測定できる侵襲的な無線式頭部装着型テレメトリーシステム「rodentPACK」を用い、手動解析と自動解析の精度を比較検討した。さらに、非侵襲的な呼吸リズムベースの睡眠・覚醒評価システム「PiezoSleep」も併用し、これら複数の手法の解析精度及び操作性をSleepSignと併せて評価した。

材料及び方法

全ての実験操作は日精バイリス株式会社 滋賀研究所の動物実験規程に従って実施した。

動物、薬物及び測定機器

- 動物
ラット、Wistar系、雄、10～11週齢、2匹（日本エスエルシー）
- 薬物
・ケタミン（ケタラル筋注用500mg、第一三共株式会社）
・キシラジン（セラクタル2%注射液、エランコジャパン株式会社）
・スロキシカント（バルソムラ、MSD株式会社）
・0.5%MC溶液（富士フィルム和光純薬株式会社）に懸濁させて投与
- 測定機器
・rodentPACK（無線式の侵襲的頭部装着型テレメトリーシステム、emka TECHNOLOGIES）
・PiezoSleep（非侵襲的な睡眠・覚醒計測システム、Signal Solutions LLC）

実験手順

- rodentPACK用頭部電極の埋植手術
ラットをケタミン＋キシラジン麻酔下で脳定位固定装置に固定し、毛刈り後に頭皮切開で頭蓋を露出した。左及び右皮質前頭葉（FC1及びFC2）、海馬（HIP）、背部皮下の筋電図部位（EMG）及びラムダ付近にrodentPACK用電極を埋植し、歯科用樹脂で固定した。
- rodentPACK及びPiezoSleepの同時測定
埋植手術の2週間後に、ラットをPiezoSleep用測定ケージに収容後、不眠症治療薬であるスロキシカントを30 mg/kgの用量で強制経口投与した。rodentPACKとPiezoSleepを併用し、無線・無麻酔・無拘束下で12時間（朝明1時間→暗期11時間）測定した。
- 測定内容
・rodentPACK：テレメトリーシステムeasyTEL+（emka TECHNOLOGIES）と併用し、EEG、EMG、SMA、動画を記録
・PiezoSleep：高感度圧電センサーでラットの鼻部動作を検出し、呼吸リズムを記録



rodentPACK



rodentPACK装着イメージ



PiezoSleep用測定ケージ

データ解析

- 睡眠段階解析
12時間分の収録データを、1エポック20秒単位で機器に応じて以下のように解析した。
・rodentPACK：脳波（EEG：FC1、FC2、HIP）、加速度（SMA）のデータを用いて、覚醒（Awake）、静かな目覚め（Rest）、徐波睡眠（NREM）、レム睡眠（REM）の4種類の肉眼解析と自動解析を自社で実施
・PiezoSleep：鼻部の動作と呼吸データを利用し、覚醒（Awake）と睡眠（Sleep）の2種類の自動解析を販売元のプライムテック株式会社が実施
- 解析結果の比較
12時間分の解析結果（rodentPACK肉眼解析、rodentPACK自動解析及びPiezoSleep自動解析）について、個体ごとに比較を行い、それぞれの一致率を算出した。なお、PiezoSleepは睡眠段階がAwakeとSleepの2分類のため、rodentPACKの睡眠段階のうちRest、NREM及びREMを「Sleep」に変換して算出した。

結果

rodentPACK 肉眼解析に対する自動解析の精度の比較

睡眠段階	動物番号	肉眼解析		自動解析			
		判定数 (エポック)	一致数 (エポック)	一致率 ¹⁾ (%)	誤判定率 ²⁾ (%)		
				Awake	Rest	NREM	REM
Awake	1	1162	1087	93.5	0.1	6.2	0.2
	2	1341	1144	85.3	0.7	11.0	3.1
	平均値			89.4	0.4	8.6	1.7
Rest	1	141	1	0.7	29.8	60.3	9.2
	2	132	5	3.8	40.9	40.9	14.4
	平均値			2.3	35.4	50.6	11.8
NREM	1	737	562	76.3	6.9	5.0	11.8
	2	650	426	65.5	15.5	1.5	17.4
	平均値			70.9	11.2	3.3	14.6
REM	1	120	39	32.5	10.0	14.2	43.3
	2	37	12	32.4	5.4	5.4	56.8
	平均値			32.5	7.7	9.8	50.1

測定時間：12時間（朝明1時間→暗期11時間）/2,160エポック（20秒間/1エポック）

1) 一致率：肉眼解析の睡眠段階に対して、自動解析においても一致する判定をした割合（青：低～赤：高）

2) 誤判定率：肉眼解析の睡眠段階に対して、自動解析において異なる判定をした割合（白：低～青：高）

NREMとの誤判定は、脳波波形の δ 、 θ 、 α 及び β 波に関する閾値設定の最適化により改善できる可能性あり

無線式脳波測定 各解析方法間での総時間ベースの比較

睡眠段階	比較内容	動物番号	一致率 (%)
・Awake ・Rest ・NREM ・REM	rodentPACK 肉眼解析 vs rodentPACK 自動解析	1	78.2
		2	73.5
		平均値	75.8
・Awake ・Sleep ¹⁾	rodentPACK 肉眼解析 vs PiezoSleep 自動解析	1	91.7
		2	83.6
		平均値	87.7
・Awake ・Sleep ¹⁾	rodentPACK 自動解析 vs PiezoSleep 自動解析	1	86.6
		2	85.9
		平均値	86.3
		1	88.5
		2	78.3
		平均値	83.4

測定時間：12時間（朝明1時間→暗期11時間）/2,160エポック（20秒間/1エポック）

1) Sleep：rodentPACKの睡眠段階（Rest、NREM及びREM）を交換



Rest、NREM及びREMをSleepに変換すれば精度上昇

睡眠段階を2分類して解析した場合、各解析方法間で80%以上の高い一致率が得られた

まとめ

SleepSign vs. rodentPACK vs. PiezoSleep 比較表

項目	SleepSign	rodentPACK	PiezoSleep
測定方式	有線式・侵襲的（EEG、EMG、動画）	無線式・侵襲的（EEG、EMG、SMA、動画）	非侵襲的（呼吸リズム検出）
睡眠分類	5分類（Awake、Rest、SWLS、SWDS、REM）	4分類（Awake、Rest、NREM、REM）	2分類（Awake、Sleep）
分類精度	Awake：○ ○：高 △：中 ×：低 Rest：× SWLS（slow wave light sleep）：△ SWDS（slow wave deep sleep）：△ REM：×	Awake：○ Rest：× NREM：△ REM：× (Rest、NREM及びREMをSleepに変換すれば精度○)	○（2分類のため）
測定例数	最大2例同時	最大8例同時（皮質前頭葉及び加速度の2チャンネル/例の場合）	測定数は専用ケージ数に依存
解析時間	長時間、肉眼確認が必要	長時間、現状では肉眼確認が必要（SleepSignと大差なし） 自動解析の睡眠分類設定の最適化により改善できる可能性あり	短時間、自動解析（肉眼解析不可）
データインテグリティ	×（監査証跡機能なし）	○（監査証跡機能あり）	×（監査証跡機能なし）
動物負担	△（埋植時の侵襲）	△（埋植時の侵襲）	○（完全非侵襲）
適した用途	詳細解析、薬理試験	詳細解析、薬理試験、GLP準拠試験	スクリーニング、行動観察、長期モニタリング

お問い合わせ：

日精バイリス株式会社

滋賀研究所 〒528-0052 滋賀県甲賀市水口町宇川 555 TEL：0748-63-5251 FAX：0748-63-0735

東京事務所 〒101-0051 東京都千代田区神田神保町3-17-15 ヨシダFGビル2階 TEL：03-6272-3372

info@bilis.co.jp



HP



日精バイリス株式会社 2025年度 社内研究報告： セマグルチド誘発嘔吐試験の背景データ取得

堀 翔太郎、岡嶋 匠

背景及び目的

GLP-1受容体作動薬であるセマグルチドは、2型糖尿病治療薬として用いられているが、主な副作用として胃内容物の消化遅延作用による嘔吐症状が報告されている。過去にフェレットを用いた試験において、臨床適用用量の約10倍に相当する0.04 mg/kgを投与した際には嘔吐症状は認められなかった。そこで本検討では、さらに10倍高用量の0.4 mg/kgを設定し、フェレットの嘔吐症状の発現を確認することを目的とした。一方、カニクイザルにおいては、臨床適用用量の約30倍に相当する0.12 mg/kg投与時に嘔吐症状がみられたとの情報を得たため、その確認を目的として同用量を投与することとした。

材料及び方法

全ての実験操作は日精バイリス株式会社 滋賀研究所の動物実験規程に従って実施した。

動物、薬物、実験環境等

- 動物
フェレット、雄、9箇月齢、3匹
カニクイザル、雄、96~102箇月齢、3匹
- 薬物
・フェレット：セマグルチド0.4 mg/kg
・カニクイザル：セマグルチド0.12 mg/kg
- 実験環境
・フェレット：観察用ケージ (500 mm W × 300 mm D × 300 mm H、給餌・給水下)
・カニクイザル：ホームケージ (550 mm W × 730 mm D × 780 mm H、給餌・給水下)
- 使用機器
・ビデオカメラ (YESKAMO防犯カメラ、モニター：P912-JP3004-2T、カメラ：P09-5.0)

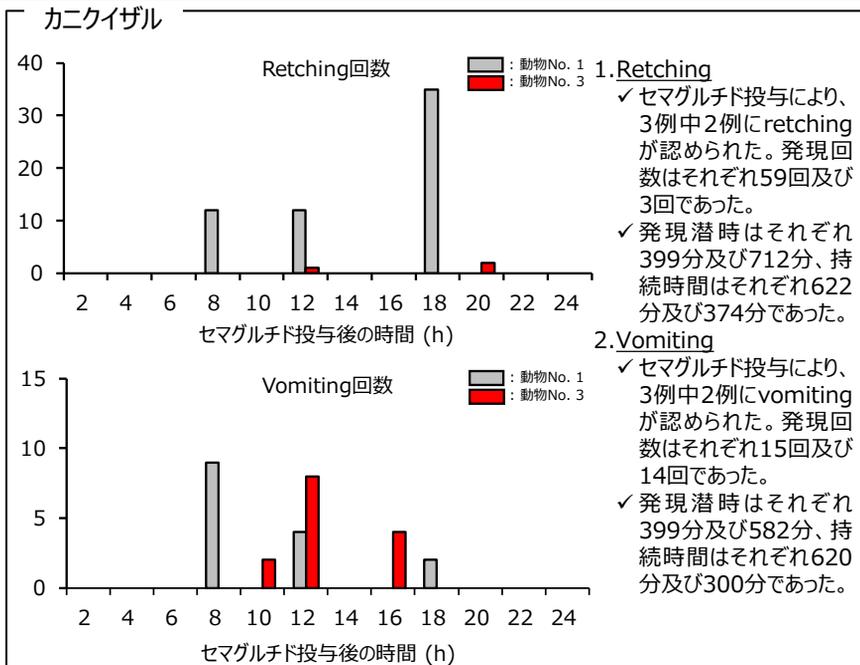
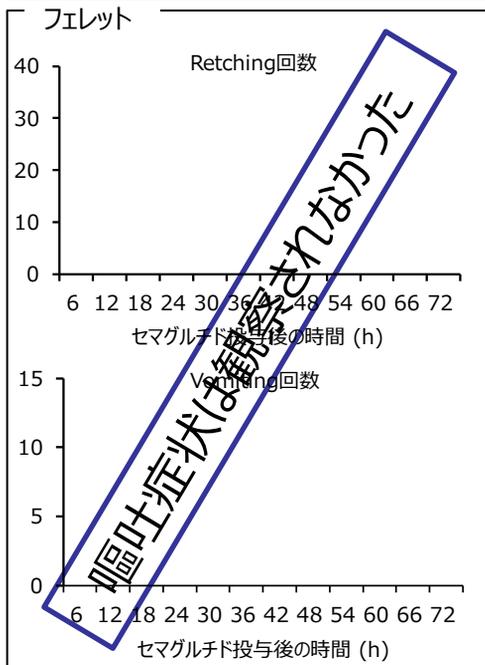
実験手順

- フェレット： 体重測定後、観察用ケージに30分以上馴化させた。セマグルチドを単回皮下投与し、投与72時間後までビデオカメラを用いて録画し、後日再生して観察した。
- カニクイザル： 体重測定後、セマグルチドを単回皮下投与し、投与24時間後までビデオカメラを用いて録画し、後日再生して観察した。

嘔吐症状の観察

嘔吐の動作や反射は見られるものの、嘔吐物は見られない嘔吐行為をretching (空嘔吐)、嘔吐物を吐出する行為をvomitingに分類し、それぞれの発現回数及び発現時刻を記録した。

結果



まとめ

- フェレット
過去の試験において、臨床適用用量の約10倍量である0.04 mg/kgを皮下投与したが嘔吐症状が認められなかったため、さらに10倍の0.4 mg/kgを設定したがそれでも嘔吐症状は認められなかった。ただし、セマグルチドの他の副作用である下痢が投与翌日から3日後まで観察された。
- カニクイザル
臨床適用用量の約30倍量である0.12 mg/kgを皮下投与したところ、発現回数、発現潜時及び持続時間に個体差はあったものの、3例中2例で嘔吐症状が認められた。

以上の結果より、セマグルチド誘発嘔吐に関する試験系としてカニクイザルの有用性が示された。フェレットについては、今回の条件では嘔吐は認められなかったが、他の動物と比較して胴が長く、嘔吐症状発現時の腹部の動きが明瞭であるため、観察が容易であるという利点がある。今後は、セマグルチドを含め、他の薬剤についても検討を継続する予定である。



お問い合わせ：

日精バイリス株式会社

滋賀研究所 〒528-0052 滋賀県甲賀市水口町宇川 555 TEL：0748-63-5251 FAX：0748-63-0735

東京事務所 〒101-0051 東京都千代田区神田神保町3-17-15 ヨシダFGビル2階 TEL：03-6272-3372

info@bilis.co.jp



HP

日精バイリス株式会社 2025年度 社内研究報告：ICR系統マウスを用いた6-Hzてんかん（痙攣）発作モデルの再現

服部 達哉、鶴飼 清治

背景及び目的

てんかんは再発性発作を特徴とする慢性神経疾患であり、非臨床研究では発作感受性や抗てんかん薬の有効性評価に多様な動物モデルが用いられている。中でも6-Hz痙攣発作モデルは、低周波刺激により限局的発作を誘発し、薬剤耐性を含む各種発作型の評価に有用なモデルとして広く活用されている。一方で、マウス系統や刺激条件により発作表現型が変動し、再現性に影響することが報告されている。本研究では、国内で安定供給され扱いやすいICR系統マウスを用いて6-Hz痙攣発作モデルを作製し、刺激条件の最適化と発作応答特性の解析を行う。6-Hz痙攣発作モデルは、抗てんかん薬の多様な作用機序に対して高い感受性を示すことから、信頼性の高い薬効評価系として有用であり、非臨床てんかん研究の基盤構築を目的とする。

材料及び方法

全体的実験操作は日精バイリス株式会社 滋賀研究所の動物実験規程に従って実施した。

動物、薬物及び測定機器

- 動物
マウス、ICR系、雄、5週齢、64匹（日本エスエルシー株）
- 薬物
・バルプロ酸ナトリウム（バルプロ酸ナトリウムシロップ5%：50 mg/mL、日医工株、以下VPA）
・オキシプロコリン塩酸塩点眼液（ヘノキシール点眼液0.4%、参天製薬株）

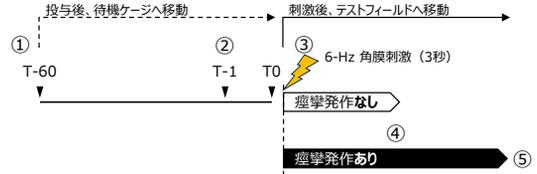
群構成

群	薬物 (6 mL/kg, p.o.)	投与用量 (mg/kg)	6-Hz角膜刺激 電流条件 (mA)	n
WFI	- (注射用水)	-	44	8
			32	8
Low	VPA	100	44	8
			32	7
Mid	VPA	200	44	8
			32	8
High	VPA	300	44	8
			32	8

データ解析

- 痙攣発作発生率の検討
各群における痙攣発作発生率がチャンスレベルを超えているか否かを検討するため、「発作あり」及び「発作なし」の発生数に基づいてchi-square testを実施
- 発作率の群間比較
chi-square testにより全体差の有無を評価後、WFI群と各VPA群の比較はFisher's exact testを実施（多重比較の補正にはHolm法を使用）
統計学的有意差は $P < 0.05$ と判定
解析にはSAS 9.4 TS1M8及びその運動システム（EXSUS Ver. 10.1、イーピーエス株）を使用

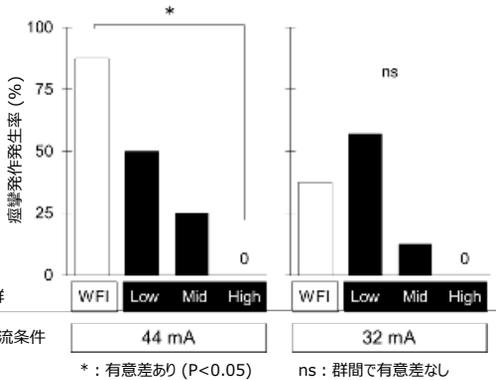
実験スケジュール



評価項目及びデータ解析

- 痙攣様行動の評価項目
痙攣様行動ありと判定された個体について、以下の行動項目を記録した。
 - 挙尾反応 (異常姿勢)
 - 顔面クロス (ヒゲや顔面のtwitch、顎運動)
 - 前肢クロス
 - 後肢クロス
 - 全身性間代性痙攣
- 補助的な情報
- 不動 (freezing様反応)
- 正向反射の消失
- 前肢内転
- 一過性のよめき
行動観察終了後には発作後状態における神経機能の評価として、異常姿勢（眼輪下垂を伴うカタレプシー様行動）の有無を確認した

結果



6-Hz角膜刺激によって誘発される痙攣発作率は、電流強度およびVPA投与群によって明確に変動した。角膜刺激は三叉神経終末を介して脳幹に伝達され、脳幹より上行性経路を介して大脳辺縁系や皮質に伝播することが報告されており、この経路の異常な興奮が発作活動の誘発に寄与したと考えられる。

44 mAの高電流条件では、WFI群において87.5% (7/8例) に発作が認められたのに対し、VPAは明確な用量依存的な発作抑制効果を示し、High群では発作は完全に抑制された ($P < 0.05$, Holm-corrected)。また、Mid群の発作率は25% (2/8例) に低下し、Low群の発作率は50% (4/8例) であった。

以上より、本実験の対照群発作率は、先行研究の44 mA条件における対照群発作率 (100%) と比較して、やや低い値であるが、薬効評価には十分な感度であると示唆された。

一方、32 mAの低電流条件では、全体的に発作率が低下し、WFI群の発作率は37.5% (3/8例)、Mid群の発作率は12.5% (1/8例)、Low群の発作率は57.1% (4/7例) であった。32 mAの電流条件での発作誘発率は低く、WFI群の発作率がLow群や44 mA条件のLow群よりも低いことから、薬効検出感度が不十分であり、32 mAは薬効評価には不十分な電流量と考えられた。

また複雑部分発作の症状だけでなく、強直間代発作の症状を確認できたことから（データ非開示）、単一の実験系で複数の発作型を横断的に評価できる可能性が示唆された。

まとめ

本実験では、ICR系統マウスにおいて6-Hz角膜刺激による痙攣発作モデルを構築し、VPAの用量依存的な抗てんかん効果を明瞭に検出できることを示した。特に44 mA条件では、発作発生率及び行動異常の抑制においてVPAの効果が顕著に現れ、本モデルが薬効評価系として有効であることが示された。

一方、32 mA条件では発作誘発率が低く、薬効検出感度の面で限界がある可能性も示唆された。さらに、観察された行動異常には複雑部分発作に類似する症状に加え、強直間代発作に対応する所見も含まれていた。このことは、本モデルが単一の実験系で複数の発作型を横断的に評価できる汎用性の高いツールとなる可能性を示している。今後は、定量的行動評価法の導入を通じて、より精緻な薬効判定を行う実験の展開が期待される。

以上より、ICR系統マウスを用いた6-Hz痙攣発作モデルが、信頼性の高い薬効評価系であること、さらに複数の発作型に対応可能な新たな実験プラットフォームとして有望であることを示した。

お問い合わせ：

日精バイリス株式会社

滋賀研究所 〒528-0052 滋賀県甲賀市水口町宇川 555 TEL：0748-63-5251 FAX：0748-63-0735

東京事務所 〒101-0051 東京都千代田区神田神保町3-17-15 ヨシダFGビル2階 TEL：03-6272-3372

info@bilis.co.jp



HP

日精バイリス株式会社 2025年度 社内研究報告：マウスオボアルブミン（OVA）誘発喘息モデルの構築

美濃部 典子、堀 克彦、山菅 和可奈、伊藤 芹奈

背景及び目的

臨床におけるアレルギー性喘息は、好酸球性炎症、IgE上昇、気道過敏性及び粘液産生を特徴とし、デキサメタゾンを含むステロイド治療が有効とされている。マウスのオボアルブミン（OVA）誘発喘息モデルは、IL-4、IL-5やIL-13などのTh2サイトカイン産生、好酸球浸潤、IgE増加、気道過敏性亢進などを再現し、臨床病態との対応性が高いとされている。本試験では、マウスOVA誘発喘息モデルの作製を検討し、併せてデキサメタゾンの好酸球浸潤やサイトカインの抑制による気道過敏性の改善作用を検討した。

材料及び方法

全ての実験操作は日精バイリス株式会社 滋賀研究所の動物実験規程に従って実施した。

動物、試薬及び薬物

- 動物
マウス、BALB/c系、雌、8週齢、12匹（日本エスエルシー株）
- 惹起物質
・オボアルブミン（OVA, Sigma-Aldrich）
・水酸化アルミニウムゲル（Alum, 株エル・エス・エル）
- 薬物
・デキサメタゾン（DEX, Sigma-Aldrich）

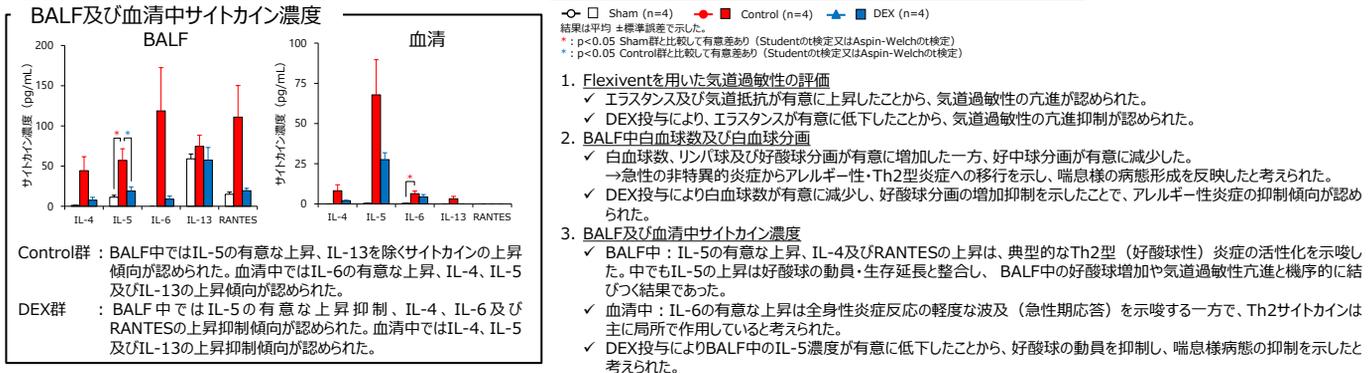
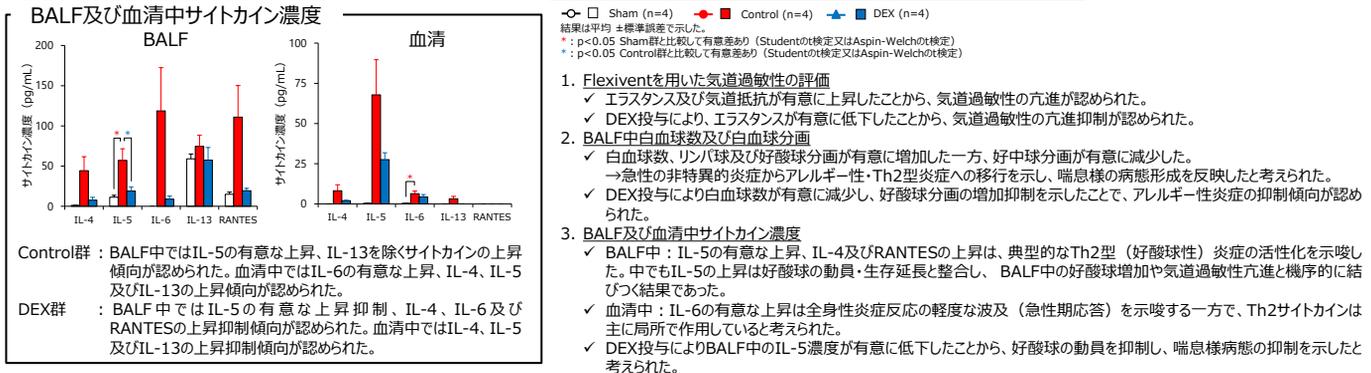
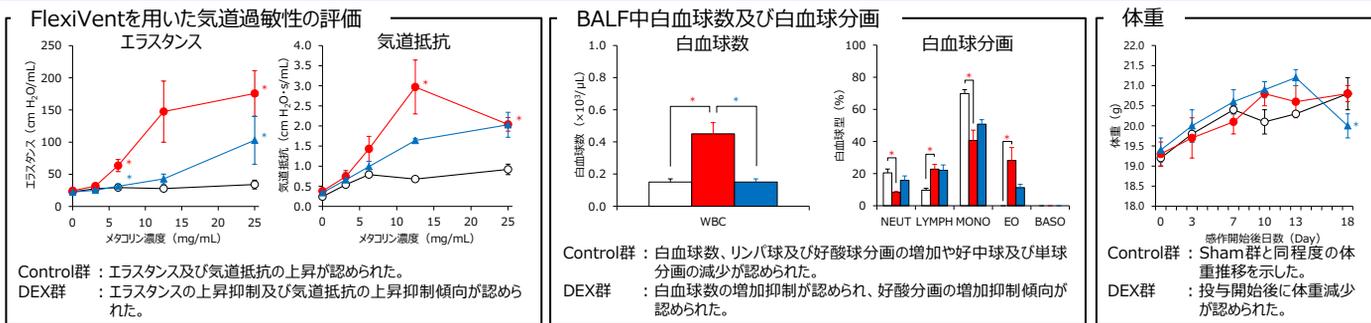
群構成、惹起及び投与

群	感作 (i.p.) Day 0 (初回感作日) 及び7	曝露 (吸入) Day 14~17	薬物 (i.p.) Day 13及び14~17の曝露1時間前	n
Sham	生理食塩液	生理食塩液	- (投与なし)	4
Control	OVA 100 µg/Alum 2 mg	5%OVA溶液	生理食塩液	4
DEX	OVA 100 µg/Alum 2 mg	5%OVA溶液	DEX, 3 mg/kg	4

評価

- FlexiVentを用いた気管支収縮刺激に対する気道過敏性の評価
マウスをメドトミン塩酸塩/ミタゾラム/酒石酸トルトラノールの三種混合麻酔薬の皮下投与により麻酔し、ベクロニウム投与により自発呼吸を抑制した後、0（生理食塩液）～25 mg/mLのメタリンのエアゾールを投与したときのエラストス（末梢気道や肺組織の弾性・末梢閉塞を反映）及び気道抵抗（中央気道の収縮/分泌を反映）を呼吸機能測定装置（FlexiVent, emka TECHNOLOGIES）を用いて測定
- 気管支肺胞洗浄液（BALF）の採取及び白血球数計数
多項目全自動白血球分析装置（XN-1000V, シスメックス株）を用いてBALF中の白血球（WBC）数及び白血球分画を測定
白血球分画：好中球（NEUT）、リンパ球（LYMPH）、単球（MONO）、好酸球（EO）、好塩基球（BASO）の割合
- BALF及び血清中サイトカイン濃度の測定
タンパク質多項目同時測定システムLuminex200 xPONENT SYSTEM（Luminex Corporation）を用いてBALF及び血清中のサイトカイン（IL-4、IL-5、IL-6、IL-13及びRANTES；CCL5）濃度を測定

結果



まとめ

- マウスOVA誘発喘息モデルの作製
マウスにOVAを感作及び曝露することで、臨床のアレルギー性喘息で認められるIL-4やIL-5などのTh2サイトカイン産生に伴う好酸球浸潤や気道過敏性亢進などを再現でき、良好なマウスOVA誘発喘息モデルを作製することができた。
またBALF中の白血球数増加と好酸球・リンパ球の増加、好中球減少は、急性非特異的炎症からアレルギー性・Th2型炎症への移行を示すものと考えられた。
- デキサメタゾンのマウスOVA誘発喘息モデルに対する作用
マウスにデキサメタゾン投与することで、有意な気道過敏性の亢進や白血球数の増加の抑制、BALF中IL-5濃度の上昇抑制が認められ、また有意でないものの好酸球浸潤抑制、各種サイトカイン濃度の上昇抑制作用を示したことから、喘息モデルに対する薬効を確認した。

以上より、マウスOVA誘発喘息モデルを作製し、喘息モデルに対するデキサメタゾンの有効性を確認することができた。
今後、例数を追加して再現性の確認や、今回確認しなかったIgEの増加、病理標本を用いた肺の炎症や粘液産生の評価についても実施する予定である。

お問い合わせ：

日精バイリス株式会社

滋賀研究所 〒528-0052 滋賀県甲賀市水口町宇川 555 TEL：0748-63-5251 FAX：0748-63-0735

東京事務所 〒101-0051 東京都千代田区神田神保町3-17-15 ヨシダFGビル2階 TEL：03-6272-3372

info@bilis.co.jp



HP



日精バイリス株式会社 2025年度 社内研究報告： ラット左冠動脈再灌流不整脈モデル－麻酔薬の検討－

松本 美奈、福田 好造

背景及び目的

ラット左冠動脈再灌流不整脈モデルの評価においては、麻酔薬はペントバルビタールNaを使用していたが、同麻酔薬が使用禁止となったため、代替麻酔薬を検討する必要があった。そこで本試験では、注射麻酔の三種混合麻酔薬（メドミジン塩酸塩・ミダゾラム・ブトルファンール酒石酸塩の混合麻酔）及び吸入麻酔薬のイソフルランを代替麻酔薬候補として、ラット左冠動脈再灌流不整脈モデルを作製し、左冠動脈再灌流後に発生する心室頻拍及び心室細動の持続時間及び出現頻度を検討した。さらに得られた結果とペントバルビタールNa麻酔時の結果（背景データ）を比較した。

またクラスⅢの抗不整脈薬であるアミオダロンを左冠動脈の閉塞前に静脈内持続投与し、抗不整脈作用を背景データと比較検討した。

材料及び方法

全ての実験操作は日精バイリス株式会社 滋賀研究所の動物実験規程に従って実施した。

動物及び薬物

●動物

ラット、Wistar系、雄、10週齢、20匹（日本エスエルシー株）

●薬物

・三種混合麻酔薬

- メドミジン塩酸塩（ドルベネ注、共立製薬株） 0.06 mg/mL
 - ミダゾラム（ミダゾラム注射液10 mg「NIG」、日医工株） 0.8 mg/mL
 - ブトルファンール酒石酸塩（ペトルファンール、Meiji Seikaファルマ株） 1 mg/mL
 - ・イソフルラン（リケンイソフルラン、リケンベツツファーマ株）
 - ・アミオダロン（アミオダロン塩酸塩静注150 mg「TE」、トーアエイヨー株）
- ブドウ糖注射液（テルモ糖注5%、テルモ株）に溶解させて1 mg/mL液を調製

群構成

群	麻酔薬	静脈内持続投与	n
三種混合麻酔	三種混合麻酔薬	-	4
イソフルラン	イソフルラン	-	10
イソフルラン+アミオダロン	イソフルラン	アミオダロン、10 mg/kg	3

実験手順

1. 麻酔及び人工呼吸

ラットに三種混合麻酔薬を2.5 mL/kgの容量で背部皮下に投与又はイソフルランを吸入させて麻酔し、術部を毛刈り・消毒して背位に固定した。気管チューブを挿管し、人工呼吸を開始した。

2. アミオダロンの投与（イソフルラン+アミオダロン群）

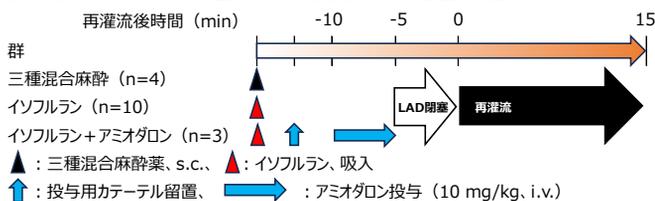
大腿部の皮膚を切開し、大腿静脈に投与用カテーテルを留置した後、アミオダロンを5分間かけて10 mg/kgの用量になるよう静脈内持続投与した。

3. 左冠動脈前下行枝（LAD）の閉塞

左胸部側壁を開胸して心臓を露出させ、5-0の針付縫合糸を用いてLADを閉塞した。この時、LabChart Pro（AD Instruments）を介して心電図（第Ⅱ誘導）を測定し、ST電位の上昇及び心筋の白色化を肉眼的に観察し、閉塞の有無を確認した。なお20例中3例でLADの閉塞不良が認められたため、実験より除外して安楽死させた。

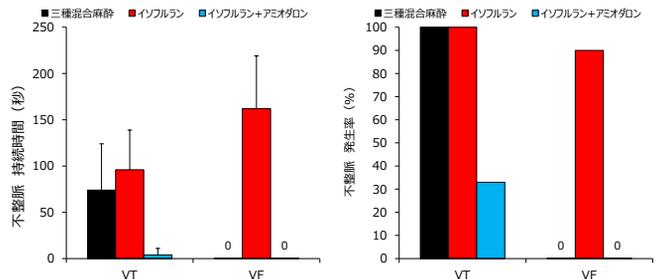
4. 再灌流不整脈の評価

心冠動脈再灌流後15分間での心室頻拍（VT）及び心室細動（VF）の発生の有無を確認し、群ごとのVT及びVFの発生率（%）を算出した。また持続の合計時間を算出した。結果は各群の平均±標準偏差（S.D.）で表した。統計処理は実施しなかった。



結果

再灌流不整脈の評価： 三種混合麻酔薬とイソフルランの比較



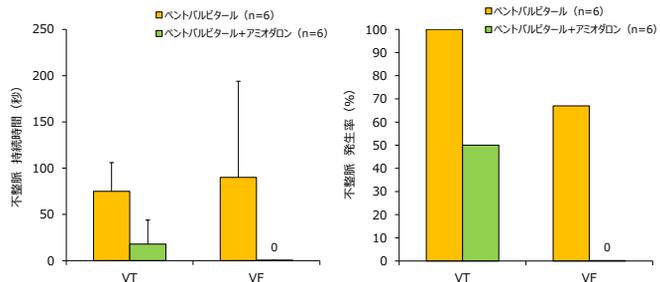
三種混合麻酔では全4例でVTの発生が認められたが、VFに移行することはなかった（VF発生率：0%）。

イソフルラン麻酔では全10例でVTの発生が認められ、持続時間は三種混合麻酔と同程度であったが、10例中9例でVTからVFに移行した（VF発生率：90%）。

またイソフルラン麻酔下、アミオダロン投与により3例中1例でVTの発生が認められたが、VFに移行することはなかった（VF発生率：0%）。

背景データ：

ペントバルビタールNa麻酔下での不整脈の評価



ペントバルビタールNaを用いた背景データでは、全6例でVTの発生が認められ、4例がVFに移行した（VF発生率：67%）。

ペントバルビタールNa麻酔下、アミオダロン投与により6例中3例でVTの発生が認められたが、VFに移行することはなかった（VF発生率：0%）。

まとめ

ラット左冠動脈再灌流不整脈モデルにおける麻酔薬を検討した結果、三種混合麻酔下ではVF発生率が0%であったのに対して、イソフルラン麻酔下ではVF発生率が90%とペントバルビタールNaと同等以上のVF発生率を示した。このことから、イソフルランが本モデルの評価時の麻酔薬として適していると考えられた。

この結果については、ペントバルビタールNaやイソフルランは交感神経緊張や心筋電氣的異常を助長し、再灌流時にVFを起こしやすいのに対し、三種混合麻酔は交感神経抑制作用（特に α_2 アゴニスト作用）によってVF発生頻度を低下させたためと考えられた。

またペントバルビタールNa麻酔下と同様にイソフルラン麻酔下においてもアミオダロン投与により不整脈を抑制することが明らかとなった。

お問い合わせ：

日精バイリス株式会社

滋賀研究所 〒528-0052 滋賀県甲賀市水口町宇川 555 TEL：0748-63-5251 FAX：0748-63-0735

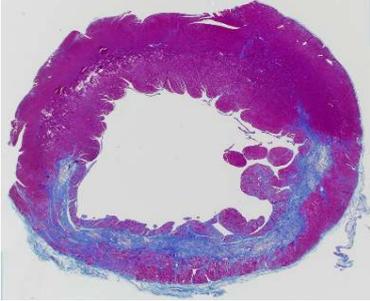
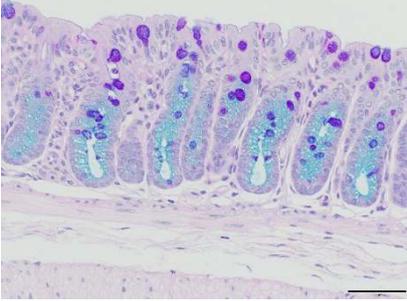
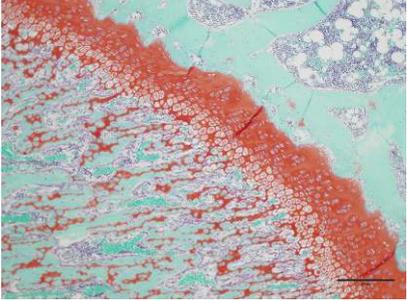
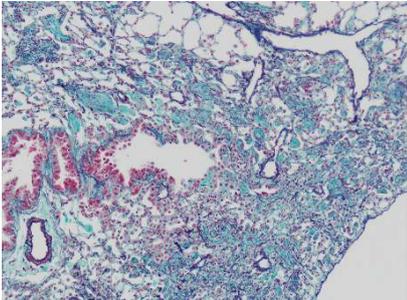
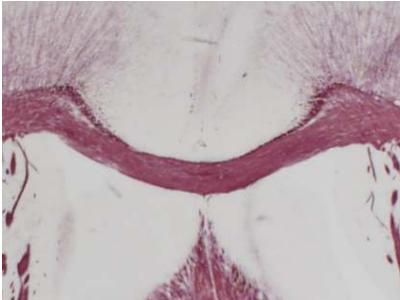
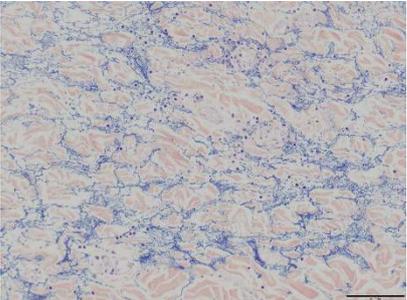
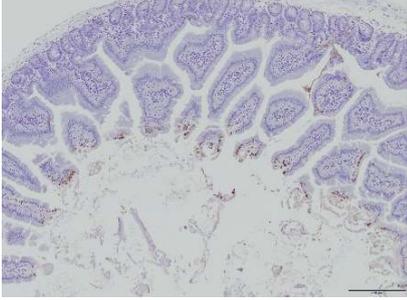
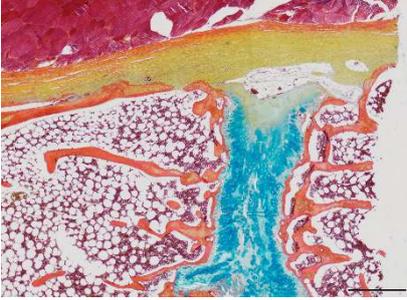
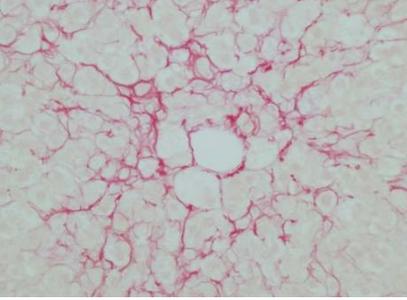
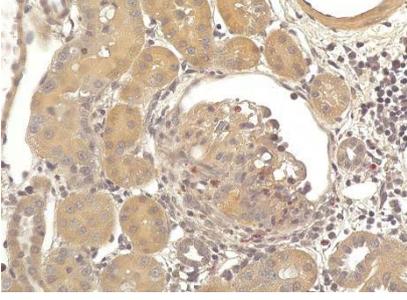
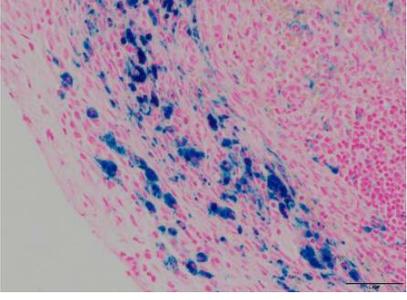
東京事務所 〒101-0051 東京都千代田区神田神保町3-17-15 ヨシダFGビル2階 TEL：03-6272-3372

info@bilis.co.jp



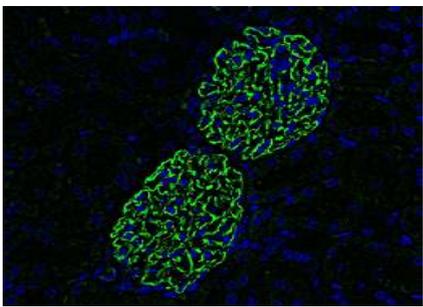
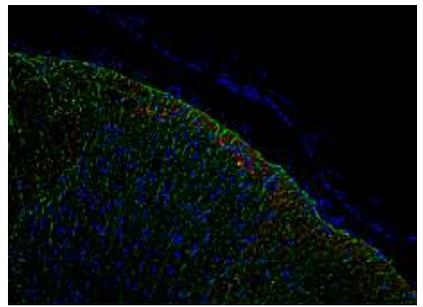
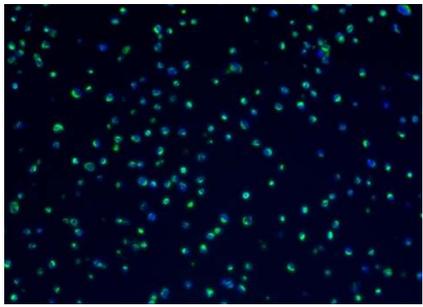
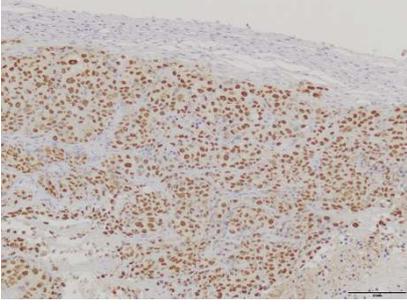
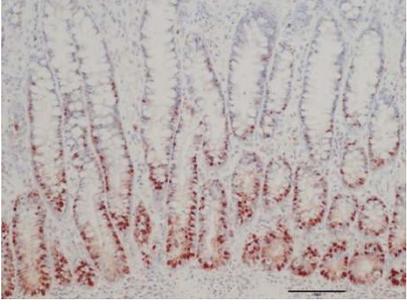
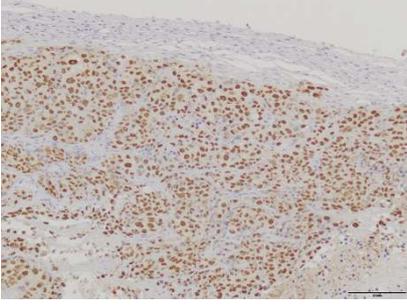
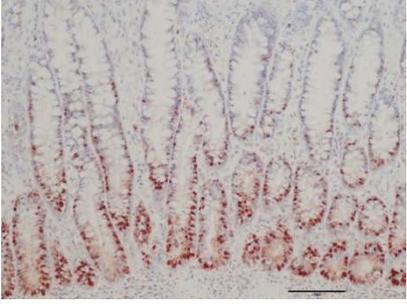
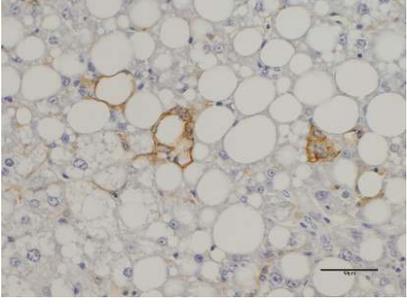
HP

【 特殊染色 病理組織標本一覧 】

		
<p>Masson Trichrome 染色 ラット心臓</p>	<p>アルシアン青-PAS 染色 マウス大腸</p>	<p>Safranin O 染色 ラット大腿骨</p>
		
<p>Elastica Masson 染色 マウス肺</p>	<p>Black Gold II 染色 マウス脳</p>	<p>PTAH 染色 ブタ皮下組織</p>
		
<p>TUNEL 染色 ラット小腸</p>	<p>モバットペンタクローム染色 ウサギ大腿骨</p>	<p>Sirius Red 染色 マウス肝臓</p>
		
<p>EVG 染色 マウス血管</p>	<p>ナフトール AS-D 染色 ラット腎臓</p>	<p>ベルリン青染色 ラット脾臓</p>

上記以外の特殊染色にも対応しております。

【免疫組織化学染色 病理組織標本一覧】

		
<p>Podocyte ラット腎臓 糸球体</p>	<p>カプサイシン受容体 ラット脊髄背角</p>	<p>ヒトミトコンドリア ヒト大腸癌由来細胞</p>
		
<p>CD3 フェレット脾臓</p>	<p>CD68 ラット肝臓</p>	<p>CD31 マウス骨格筋</p>
		
<p>Dystrophin ブタ骨格筋</p>	<p>Ku80 ヒト結腸癌細胞移植マウス皮膚</p>	<p>PCNA イヌ小腸粘膜上皮</p>
		
<p>MUC2 + Ki67 マウス大腸</p>	<p>CK18 イヌ肝臓</p>	<p>F4/80 マウス肝臓</p>

上記以外の免疫組織化学染色にも対応しております。