

ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用－非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立

所属 広島大学大学院理学研究科

研究者 吉里 勝利

研究要旨 ヒトにおける医薬品の胆汁排泄動態の予測は医薬品開発にとって重要である。そこで本事業はヒト肝細胞で置換された肝臓を持つキメラマウスを利用して、非拘束状態でマウス胆汁採取を可能とするモデル系の確立を試みた。

分担研究者

- (1) ㈱フェニックスバイオ 堀江透
- (2) 自治医科大学分子病態治療研究センター臓器置換研究部 小林英司
- (3) 国立成育医療センター研究所移植・外科研究部 絵野沢伸

A. 研究目的

医薬品開発には、通常、巨額の研究開発費を要するため、製薬企業は新薬開発の成功確率を高める努力を行うと共に研究開発期間の短縮に努めている。しかし、動物実験結果からヒトの薬物動態を予測することが難しく、臨床試験の段階において約半分の医薬候補品の開発が断念されている。このような事態が生じている理由は、薬物代謝に関わる酵素系において動物種差が大きいためである。この問題を回避するためには、ヒトの薬物動態・薬物代謝を予測することができるモデルが必要である。広島県地域結集型共同研究事業（研究統括：広島大学大学院理学研究科 吉里勝利）で開発されたヒト肝細胞キメラマウス（以後、キメラマウス）は、マウス肝臓の80%以上がヒト肝細胞で置換されている。また、キメラマウス肝臓におけるヒト肝細胞は、薬物代謝に関わるヒト型酵素系をドナー肝細胞と同様のレベルで発現していることが分かっている。これらのことから、キメラマウスは、医薬品開発に必須であるヒトにおける薬物の動態および安全性を予測するモデル動物になり得る可能性が高い。医薬品候補化合物を選択する過程で、キメラマウスにおける医薬品候補化合物の胆汁排泄動態や胆汁中の代謝物を同定することが出来れば、臨床第1相試験の尿・糞排泄バランスや代謝物をより正確に予測することが可能と

なる。しかしながら、マウスの胆汁排泄試験は技術的に容易ではない。さらに非拘束条件下でマウス胆汁を採取することは困難と考えられ、これまで確立された方法はない。そこで本研究では、キメラマウスを用いた上記胆汁排泄試験を行うため、非拘束状態にあるキメラマウスを用いて胆汁排泄試験が可能であるかどうかを調べ、非拘束マウスの胆汁排泄モデルを開発する。

B. 研究方法

マウスに対する胆嚢カニューレシオンの技術開発は自治医科大学・小林と㈱フェニックスバイオ・堀江との共同で行った。体重約30gのICRマウスに対し胆管または胆嚢カニューレシオンを施し、マウスに適した胆汁回収手技を検討した。胆嚢または胆管へのカニューレシオン操作は実体顕微鏡下で行った。マウスに麻酔薬を腹腔内投与し、十分麻酔が効いたところで仰向けの状態で腹部を横切開した。十二指腸に近い部分の総胆管を結紮した後、胆嚢または結紮した総胆管の肝臓よりの胆管の一部を切開してチューブを挿入し、チューブと胆嚢または胆管を一緒に縛り固定した。胆嚢へカニューレシオンを行う場合は、ポリウレタン製のチューブ（内径：0.3 mm、外径：0.6 mm）を用いた。胆管へのカニューレシオンを行う場合は、ポリウレタンチューブに更に細いチューブ（内径：0.12 mm、外径：0.3 mm）のシリコンチューブを連結し、このシリコンチューブ部分を胆管に挿入した。胆嚢または胆管に接続したカニューレの反対端は、腹部皮下を通してマウス後頭部から体外へ露出させた。露出させたポリウレタンカニューレをラット用の非拘束系装置（株杉山元医理器）に連結した。胆汁回収のため、蓋に穴を開け

た 1.5 ml チューブをマウスが存在する位置より低い位置に取り付け、カニューレを繋いで胆汁を回収した。マウスの背部皮下に 1 ml の生理食塩水を 2 日に 1 回の割合で投与し、飲料水として生理食塩水を与え、他は通常の飼育条件で飼育した。キメラマウスは ICR マウスに比べて体が小さいため、キメラマウスへの施術の可能性を確認するために同様の操作を 3 週令の体重約 12 g の Balb/c マウスに施した。次にキメラマウスのコントロールとなる SCID マウスに胆嚢カニューレーションのみを施し、その後は同様の操作により胆汁を回収した。

ヒト肝細胞キメラマウスは広島大学大学院理学研究科・吉里により、以下のように作製し、品質を管理した。uPA^{+/+}/SCID マウスは肝障害マウス (uPA トランスジェニックマウス) と免疫不全マウス (SCID マウス) とを交配させることによって作出した。移植用ヒト凍結肝細胞としては、インビトロテクノロジーズ (IVT) 社より購入した IVT-NLR (13 歳白人男性) 及び BD ジェンテスト社より購入した BD51 (4 歳の白人女性) を用いた。IVT-NLR または BD51 を無菌的に融解し、10%の牛胎児血清を含む DMEM 培地に懸濁した。uPA^{+/+}/SCID マウス 1 匹あたりに 0.75~1.0 x 10⁶ 個/15 μ l に懸濁した肝細胞を脾臓から注入し移植した。マウス肝におけるヒト肝細胞への生着と置換の程度は以下の方法で判定した。移植後 3 週目から週 1 回のペースでマウス血液を尾静脈から 2 μ l 採取した。抗ヒトアルブミン抗体を結合させたラテックスビーズを用いた比濁法のキット (LX 試薬' 栄研' Alb-II、栄研化学株式会社) を用いてマウス血中におけるヒトアルブミン濃度を測定することによって置換の程度をモニタリングした。ヒトアルブミン濃度が 2 mg/ml を越えた場合 2 日に 1 回、4

Column : Inertsil ODS-3.5 \cdot m 250 x 4.6 mm (GL Sciences)
Mobile Phase : CH₃CN/CH₃OH/0.03M phosphate buffer (pH 3.40) = 10/60/30, v/v/v
Flow Rate : 1.0 mL/min
Col. Temp : 30°C
Detection : UV-VIS Detector L-2420 (HITACHI) at 200 nm

マウス用の小型非拘束装置の作製を(株)フェニックスバイオと中外テクノス(株) (本社: 広島県広島市西区横川新町 9-12) との共同で行った。キメラマウスを飼育

mg/ml 越えた場合 1 日に 1 回、6 mg/ml を越えた場合 1 日に 2 回の割合で捕体抑制剤であるフサン (メシル酸ナファモスタット、1.67 mg/ml) の溶液 200 μ l を腹腔内投与した。キメラマウスにおけるヒト肝細胞の置換率は、マウス肝臓切片におけるヒトサイトケラチン 8/18 抗体による免疫染色によって求められるが、この方法は、キメラマウスを屠殺して肝臓をサンプリングする必要があるため常時利用できない。したがってマウス血中のヒトアルブミン濃度と上記肝臓切片上で求めた置換率の相関関係を予め決定しておいて、ヒトアルブミン濃度から置換率を求めた。IVT-NLR を移植したキメラマウスと BD51 を移植したキメラマウスについて、それぞれの相関式および相関係数を求めた。求めた相関式により、移植後 60 日目のヒト血中ヒトアルブミン濃度から置換率を求めた。以上のキメラマウス作製を(株)フェニックスバイオ (本社: 広島県東広島市鏡山 3 丁目 10-31 広島大学インキュベーションセンター7号室) に委託した。

回収したマウスの胆汁に関する分析は、国立成育医療センター研究所・絵野沢が行った。キメラマウス、SCID マウス、及びヒトから採取した胆汁の組成を分析し、それぞれ比較した。各胆汁を試料として、抗ヒトアルブミン抗体を用いたイムノブロット解析を行った。次に胆汁中の胆汁酸であるグリココール酸とタウロコール酸について高速液体クロマトグラフィーによる分析を行った。各胆汁 20 μ l にエタノール 380 μ l を加え、100°C で 30 分加熱後、室温で 24 時間放置した。0.45 μ m フィルターで各試料の残留物を除去し、高速液体クロマトグラフィーによる試料とした。HPLC の分析条件を以下に示す。

するケージの大きさを基準にして作製を行った。作製した装置に胆嚢カニューレーションを施したマウスを接続し胆汁を回収した。

(倫理面への配慮)

キメラマウスに移植するヒト肝細胞は、海外において適切な手続きを経て加工され、販売されているものを購入して使用した。ヒト肝細胞を持つキメラマウス作製に関しては、動物実験の倫理指針に従って実施し、(株)フェニックスバイオの社内倫理委員会において研究計画の承認を得た上で行った。マウス非拘束型胆汁排泄モデルのための手術はエーテル麻酔および全身麻酔下で行い、胆汁採取はマウスにとってストレスの少ない非拘束の状態で行い、実験終了時には苦痛を最小限にとどめて死亡させサンプル採取した。拘束状態で胆汁を回収する場合は、24時間以内に実験を終了させ、実験終了時には苦痛を最小限にとどめて死亡させた。ヒト胆汁の入手・解析は国立成育医療センター研究所内の倫理委員会において研究計画の承認を得た上で行った。

C. 研究結果

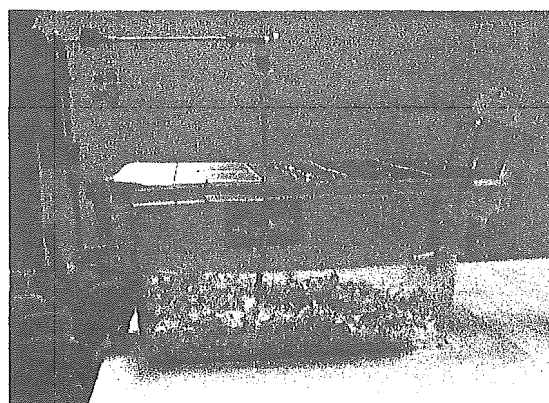


図1 マウス胆嚢にカニューレを繋いだ様子。 図2 ラット用非拘束装置によるマウスからの胆汁回収の様子

ICR マウスを用いて新たにマウス胆嚢カニューレーション技術を確立した(図1)。胆嚢カニューレーションを施したマウスをラット用非拘束系装置(杉山元医理)に接続することで、胆汁を回収することが出来た(図2)。ICR マウスは動物試験用マウスの系統の中でも比較的大きく、体の小さいキメラマウスにはこの手技が適応出来ない可能性も考えられた。そこで体重がキメラマウスとほぼ同じ体重約12g前後である3週令のBalb/cマウスに対してICRマウスと同様の操作を施した。その結果、体重12g程度のマウスへの胆嚢カニューレーション操作とラット用非拘束装置を用いての継続的な胆汁回収が可能であった。しかし、ラット用装置ではマウスと装置を繋ぐコイル部分が重く弾性が少ないためか、マウスの動きがある程度制限を受けていると考えられた。さらに、以上の操作をキメラマウスに対するコントロールマウスであるSCIDマウス(体重約20g)に行ったところ、2週間以上継続して胆汁を回収することが出来た。(図3)。

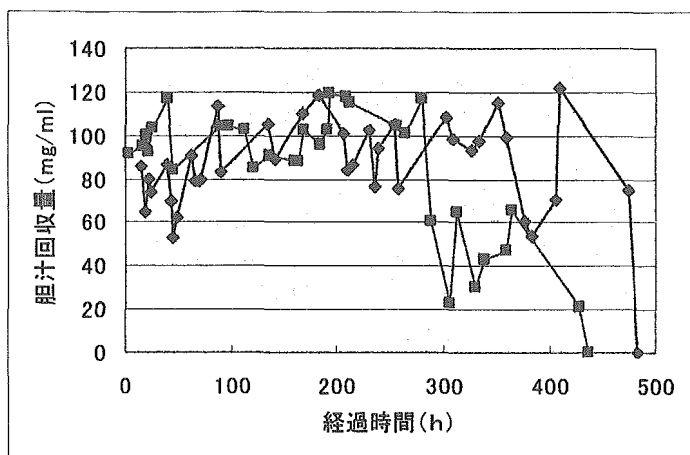


図3:ラット用装置を用いたSCIDマウスからの非拘束的胆汁回収
2匹のマウスでの測定値を赤と青の線で示した。

キメラマウスは体重が小さくストレスに弱いとされ、新たに開発されたマウス胆嚢カニューレーションの手法がキメラマウスに適応出来ない可能性が考えられた。そこで、実際にキメラマウスのこの手法を適応するため、キメラマウスを作出した。キメラマウス作製に用いた接着性の凍結ヒト肝細胞ロットである IVT-NLR は細胞生存率が約 80%で、1 バイアル当たり約 10 匹のマウスに移植が可能であった。非接着性の凍結ヒト肝細胞ロットである BD51 は細胞生存率が約 65~70%で、1 バイアル当たり約 13 匹のマウスに移植が可能であった。IVT-NLR または BD51 を移植したキメラマウスの解剖時のマウス血中ヒトアルブミン濃度と、マウス肝臓切片におけるヒトサイトケラチン 8/18 抗体による免疫染色により求めた置換率の相関を調べた。IVT-NLR 移植したキメラマウスにおける相関式は $y=544097e^{0.0328x}$ で相関係数 $r^2=0.5456$ であった。BD51 を移植したキメラマウスにおける相関式は $y=444987e^{0.0337x}$ で相関係数は $r^2=0.8285$ であり、IVT-NLR を移植したキメラマウスよりも高い相関が認められた。

IVT-NLR 及び BD51 のキメラマウスにおけるヒト血中ヒトアルブミン濃度の経時変化をそれぞれ図 4 及び図 5 に示した。IVT-NLR を uPA^{+/+}SCID マウスに移植して 60 日目以降にマウス血中ヒトアルブミン濃度が 6.0 mg/ml 以上に達したマウスを高置換率キメラマウス(置換率 70%以上)、0.01 mg/ml 未満のマウスを低置換率

キメラマウス(置換率 1%未満)とした。IVT-NLR 移植群では、高置換率キメラマウスの出現頻度が 40%、低置換率キメラマウスの出現頻度が 10%未満であった。BD51 を uPA^{+/+}SCID マウスに移植して、60 日目以降にマウス血中ヒトアルブミン濃度が 5.0 mg/ml 以上に達したマウスを高置換率キメラマウス(置換率 70%以上)、0.01 mg/ml 未満のマウスを低置換率キメラマウス(置換率 1%未満)であった。BD51 移植群では、高置換キメラマウスの出現頻度が 50%、低置換キメラマウスの出現頻度が 10%未満であった。

移植後 60 日目付近のキメラマウスの体重は IVT-NLR 移植群および BD51 移植群ともに約 12 g であり、キメラマウスの対照動物となる SCID マウス(同じ週齢で約 20 g) に比べて小型であった。他のドナー由来の凍結ヒト肝細胞を移植して作製したキメラマウスもほぼ同じ体重であることから、IVT-NLR 移植群および BD51 移植群はキメラマウスとして一般的な大きさであり、今後の試験には問題ないと判断した。以上のような生産状況下で、IVT-NLR を移植した高置換率キメラマウス 6 匹と、低置換率キメラマウス 10 匹、BD51 を移植した高置換率キメラマウス 5 匹と、低置換率キメラマウス 2 匹を本事業に用いた。

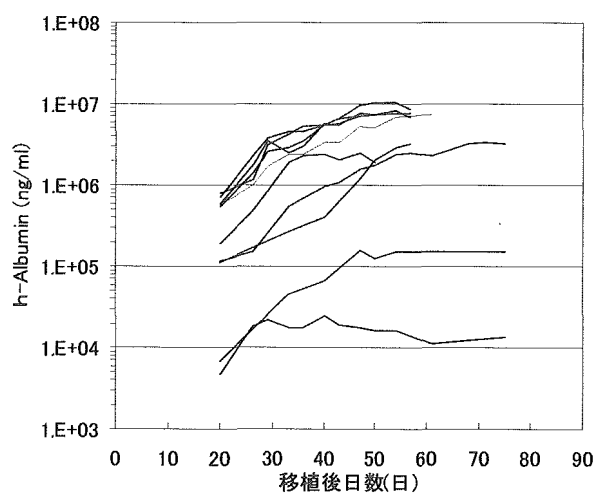


図4 IVT-NLR 移植マウス 10 匹におけるヒトアルブミン濃度の変化

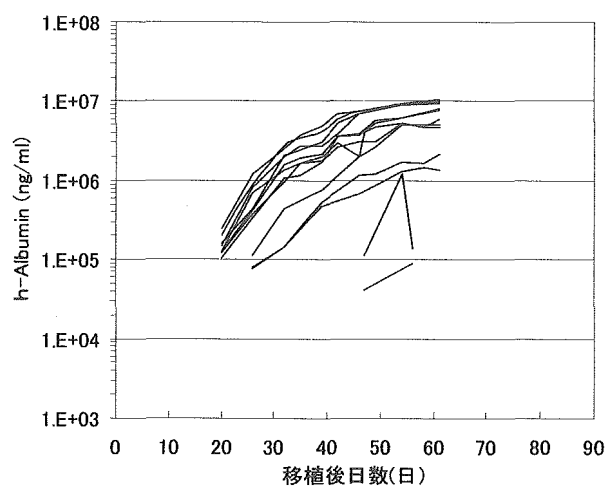


図5 BD51 移植マウス 13 匹におけるヒトアルブミン濃度の変化

作出されたキメラマウスに対して、実際にカニューレーションの操作を施した。高置換率キメラマウスは通常のマウスと比較して体重当たりの肝重量が大きく、実際のカニューレーション操作において手術が難しかったため、通常のマウスに胆嚢カニューレーションを施す場合と比較して長時間（約1時間30分）の施術時間を要した。また、キメラマウスがストレスに弱いためか、

施術後2時間程度で死亡する個体もあった。しかし、拘束状態ではあるが、幾つかの個体で高置換率および低置換率キメラマウスから胆汁を回収することが出来た（表1）。単位時間当たりの胆汁排泄量がほぼ体重に比例していることから、肝臓から排泄された胆汁はカニューレの太さ等により胆汁流量が制限されることなく回収されていると推測された。

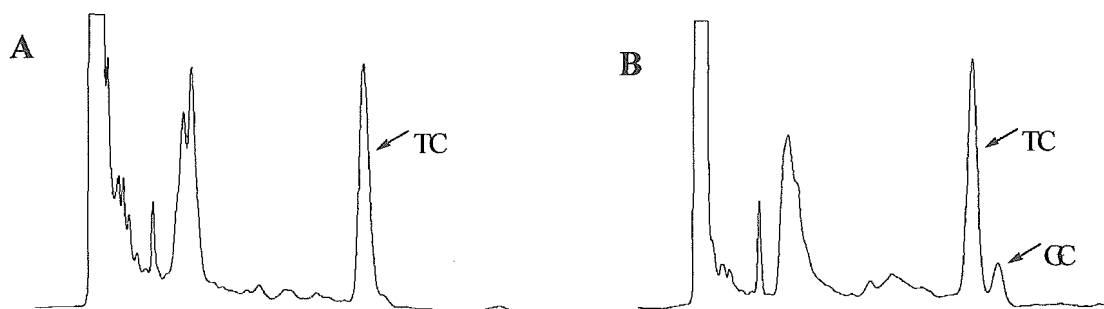
表1. マウスからの胆汁回収の結果

マウス	体重(g)	移植細胞	h-Alb ¹⁾ 濃度 (mg/ml)	回収量(mg)	回収時間(h)	排泄量(mg/h)
コントロール	22.61	— ²⁾	— ³⁾	1548.0	16	96.75
(SCID マウス)	20.20	—	—	580.0	16	36.25
	11.82	—	—	602.6	16	37.66
高置換 ³⁾	17.76	IVT-NLR	7.504	820.0	15	54.60
	13.29	IVT-NLR	6.276	552.9	16	34.55
	11.07	IVT-NLR	8.140	409.1	16	20.20
	10.07	IVT-NLR	8.224	589.7	16	36.85
低置換 ⁴⁾	15.39	IVT-NLR	検出限界以下	732.6	16	45.70
	12.28	BD51	検出限界以下	562.9	14	40.20
	11.03	IVT-NLR	検出限界以下	597.7	16	37.32
	10.21	BD51	検出限界以下	438.5	16	27.40

1) h-Alb : 血中ヒトアルブミン濃度。

2) SCID マウスへの移植は行わなかった。

3) SCID マウスの血中ヒトアルブミン濃度測定は行わなかった。



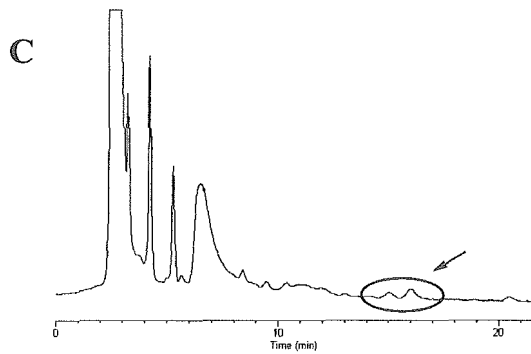


図6 HPLCによる胆汁解析のチャートパターン

A : SCID マウス胆汁

B : IVT-NLR を移植した高置換キメラマウス胆汁

C : ヒト胆汁

TC : タウロコール酸、GC : グルココール酸

回収したキメラマウス胆汁の性質を調べる目的で、キメラマウス、マウス、及びヒトから採取した胆汁について解析を行った。まず、それぞれの胆汁に関して、抗ヒトアルブミン抗体を用いたイムノブロット解析を行った。その結果、高置換率キメラマウスの胆汁中にはヒト胆汁と同程度のヒトアルブミンが存在することが明らかとなった。低置換率キメラマウスでは胆汁に含まれるアルブミンは高置換率キメラマウスに比べ明らかに少なく、殆ど見られないものもあった。次に ICR マウス、高置換率キメラマウス、低置換率キメラマウス及びヒト胆汁中の胆汁酸、特にタウロコール酸とグリココール酸について高速液体クロマトグラフィーによる解析を行った。その結果、マウス胆汁では、タウロコール酸のみ検出され、グリココール酸は見られなかった (図 6A)。一方、ヒト胆汁では、タウロコール酸及びグリココール酸のピークが小さいながら確認され、その比率は 1:2 であった (図 6C、枠と矢印で示した。)。生化学データブック (東京化学同人、第 1 版第 5 刷) によると、ヒト胆汁酸は全胆汁酸中タウロコール酸は 10%、グリココール酸は 31% となっており、今回の結果と若干異なるが、マウスでは全く検出されないグリココール酸がタウロコール酸よりも多く存在するという点で、今回のデータは妥当なものと考えられた。このことは、キメラマウス胆汁の解析でも裏付けられ

D. 考察

ICR マウスを用いて新たにマウス胆嚢カニューレシオン技術を開発した。ICR マウスよりも体が小さくストレスに弱いキメラマウスにもこのマウス胆嚢カニューレシオン技術を施すことが可能であった。このことは

た。すなわち高置換率キメラマウス胆汁ではタウロコール酸とグリココール酸の両ピークが 4:1 の比率で確認された (図 6B)。マウス胆汁ではグリココール酸は検出されないことから、高置換率キメラマウスの胆汁組成は置換されたヒト肝細胞が産生したものと考えられた。低置換率キメラマウスにおいてはタウロコール酸のみピークが見られ、通常のマウス胆汁と同じ結果となった (データ不示さず)。以上、胆汁中のタンパクおよび胆汁酸の組成から高置換率キメラマウスの胆汁はヒト型に近いことが示唆された。

ラット用の非拘束系装置は装置からマウスが外れたり、小さいマウスではある程度動きに制限が加わっておりマウスにストレスを与えるものと考えられた。したがって、ラット用の装置を用いてキメラマウスから非拘束的に胆汁を回収するには難しいと考えられた。そこで独自でマウス用非拘束系装置の開発を行った。キメラマウスを飼育しているケージのサイズを元に試作装置を作製した。ラット用の装置と異なり、マウスまたはラットを吊り上げるためのアームが無いシンプルな形にした。この装置に胆嚢カニューレシオンを施したキメラマウスのコントロールマウスである SCID マウスと連結し、実際に胆汁を 2 日間程度回収することに成功した。

キメラマウスの胆汁を継続的に回収する基本的な技術が確立出来たことを示している。また、キメラマウスから回収した胆汁の組成をマウス胆汁およびヒト胆汁と比較検討した結果、高置換率キメラマウスから採取した胆汁にヒトアルブミンが高濃度に存在すること、

ヒト胆汁には存在し、マウス胆汁には存在しないグリココール酸が検出された。このことから、置換されたヒト肝細胞が胆汁分泌機能を営み、また肝組織内において肝実質細胞の極性を有しており、基底側へ胆汁分泌を行っていることが示唆された。このことは、本キメラマウス系が、薬物動態においてヒトの胆汁排泄モデルになり得ることを示すと考えられる。

これまでの動物実験では胆汁の採取は麻酔下に開腹して行うことが多く、このような非生理的状況が薬物の排泄における血中・胆汁中分配に影響を与える可能性がある。本モデルではその点が改良され、得られる胆汁量も拘束状態での胆汁回収に比べて多く、薬物動態試験法として非常に優れたものと考えられる。

独自に作製した非拘束系胆汁回収装置によりキメラマウスのコントロールマウスであるSCIDマウスから継続的に胆汁を回収しており、キメラマウスから非拘束的に胆汁を回収するための基本的なシステムを構築できたと考えている。今後は、実際にストレスに弱いとされるキメラマウスでどの程度の期間持続的に胆汁回収が可能か検討し、この系を完成させる。また、非拘束系胆汁回収装置に取り付けた高置換率キメラマウスに、ヒトとマウスの薬物代謝プロファイルと尿糞振り分けプロファイルがすでに明らかになっているモデル化合物を投与し、回収した胆汁の解析を行い、本事業で開発したシステムを用いてモデル化合物におけるヒト型プロファイルが再現されるかどうか確認する予定である。

E. 結論

本年度の主な研究成果として以下の5点が挙げられる。1: ICRマウスを用いてマウス胆嚢へのカニューレーション手技を確立した。さらにカニューレーションを施したICRマウスにラット用の非拘束装置を装着し胆汁を回収した。胆嚢カニューレーションを施したキメラマウスのコントロールマウスとなるSCIDマウスからラット用装置を用いて2週間以上継続的に非拘束的に胆汁を回収した。2: ヒト凍結肝細胞としてIVT-NLRおよびBD51を用いることにより、本事業で試験に用いるキメラマウスを作製することが出

来た。3: 体重が少なくストレスに弱いヒト肝細胞キメラマウスへの胆嚢カニューレーションを施行し拘束状態での胆汁回収を行った。これらの結果から、ICRマウスやSCIDマウスだけではなく、キメラマウスからの胆汁回収も可能であることが実証された。4: ICRマウス、SCIDマウス及びキメラマウスから回収した胆汁、およびヒトの胆汁を解析した結果、高置換キメラマウス胆汁中にはヒトアルブミンおよびグリココール酸が検出され、キメラマウスの胆汁組成はヒト型に近いことが示唆された。以上で今後必要となる基礎データを得ることが出来た。また、5: ラット用非拘束装置はキメラマウスに対しては大き過ぎで、キメラマウスの動きを制限すると考えられたため、現在、マウス用に小型の非拘束系装置の開発を行っている。試作段階ではあるが、SCIDマウスからの継続的胆汁回収は可能であった。よって、この装置でキメラマウスの継続的胆汁回収も可能であると予想している。

来年度は、キメラマウスの非拘束状態での採取を実施する。また、モデル化合物をICRマウスおよびキメラマウスへ投与し、非拘束的に胆汁を回収し、胆汁中の未代謝物および代謝物の解析を実施する予定。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) 論文発表

- 1) Chise Tateno, Yasumi Yoshizane, Naomi Saito, Miho Kataoka, Rie Utoh, Chihiro Yamasaki, Asato Tachibana, Yoshinori Soeno, Kinji Asahina, Hiroshi Hino, Toshimasa Asahara, Tsuyoshi Yokoi, Toshinori Furukawa, Katsutoshi Yoshizato: Near-completely humanized liver in mice shows human-type metabolic responses to drugs. *Am J Pathol*, 165:901-912, 2004
- 2) Miki Katoh, Tomohiko Matsui, Miki Nakajima, Chise Tateno, Miho Kataoka, Yoshinori Soeno, Toru Horie, Kazuhide Iwasaki, Katsutoshi

Yoshizato, and Ysuyoshi Yokoi: Expression of Human CYPs in Chimeric Mice with Humanized Liver. Drug Metab Dispos 32:1402-1410, 2004

- 3) Masuhiro NISHIMURA, Tsuyoshi YOKOI, Chise TATENO, Miho KATAOKA, Eiji Takahashi, Toru HORIE, Katsutoshi YOSHIZATO, and Shinsaku NAITO: Induction of Human CYP1A2 and CYP3A4 in Primary Culture of Hepatocytes from Chimeric Mice with Humanized Liver. Drug Metabolism and Pharmacokinetics (in press)
- 4) Chise Tatenno, Toru Horie, Katsutoshi Yoshizato: Chimeric mice with human hepatocytes—a new tool for preclinical evaluation of new medicines— The Cell, 36:328-332, 2004
- 5) 立野知世、吉里勝利：ヒト肝細胞キメラマウス 月刊薬事、46：1877-1880、2004
- 6) 立野知世、吉里勝利：ヒトの肝細胞を持つキメラマウス LABI021、No. 19、6-10、2005
- 7) 立野知世、吉里勝利：ヒト肝細胞を導入したスキッドマウス 摘出ヒト組織／細胞を用いた非臨床研究、(株)エル・アイ・シー (印刷中)

2. 学会発表

- 1) 吉里勝利：マウスを媒体として増殖させたヒト肝細胞の医学・医療分野における応用、連携大学院セミナー、2004. 7. 30、長崎医療センター
- 2) 吉里勝利：肝再生医療の展望、第2回COE「細胞社会学の拠点形成」セミナー、2004. 9. 22、岡山大学
- 3) 添野吉徳、安達弥永、海老根博樹、大曾根義泰、井上多恵、袴田陽二、二ノ宮真一、小林英司、吉里勝利、堀江透：ヒト薬物代謝予測へのヒト肝細胞キメラマウスの利用(II)—キメラマウスのフリームービングシステムを用いた胆汁排泄—、第19回薬物動態学会年会ポスター発表 (18PE-38)、2004. 11. 17～11. 19、

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願
実験用小動物飼育容器 (予定)
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし