

# アトピー性皮膚炎モデル試験

マウスにダニ抗原(ビオスタAD)の反復投与を行い, アトピー性皮膚炎を誘発した後, 被験物質を 14 日間投与する.

投与期間中に体重測定,皮膚病変の観察,血中抗原特異的 IgE 量測 定及び写真撮影を行い,剖検時に組織重量測定を行う.

測定結果より、アトピー性皮膚炎に対する被験物質の薬効を評価する.



#### ビオスタ AD 塗布

Day 1 Day 4 Day 8 Day 11 Day 15 Day 18

Day 28





被験物質 14 日間投与

#### 測定項目

・皮膚病変スコア

(耳介部, 頭部, 頸背部の各部位について, 症状の程度を軽度 1 点,中度 2点, 重度 3 点でスコア化し, 合計のスコアで評価)

・血中抗原特異的 IgE など

#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1

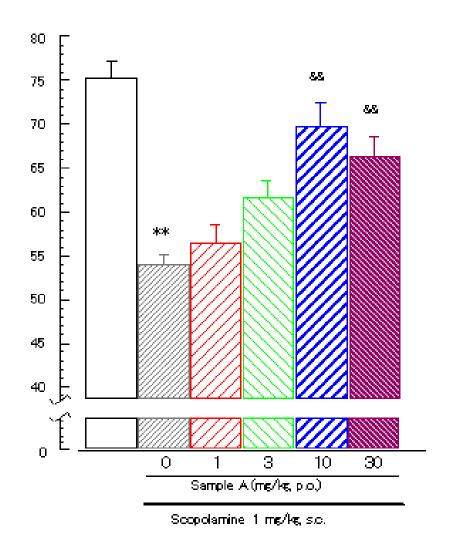


# 記憶・学習能改善作用 (自発的交替行動法)

自発的交替行動は、齧歯類を Y 字迷路に入れて進路探索をさせたときに、直前に入ったアームとは異なったアームに入ろうとする習性に基づいた行動であり、空間的作業記憶の指標の一つと考えられている。スコポラミン投与などの記憶障害により percentalternation は減少するが、被験物質が記憶促進作用を有する場合には percent alternation の減少は抑制される.



自発的交替行動試験



##P(0.01; vs Vehicle+Saline &&P(0.01; vs Vehicle+Scapolamine

#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1

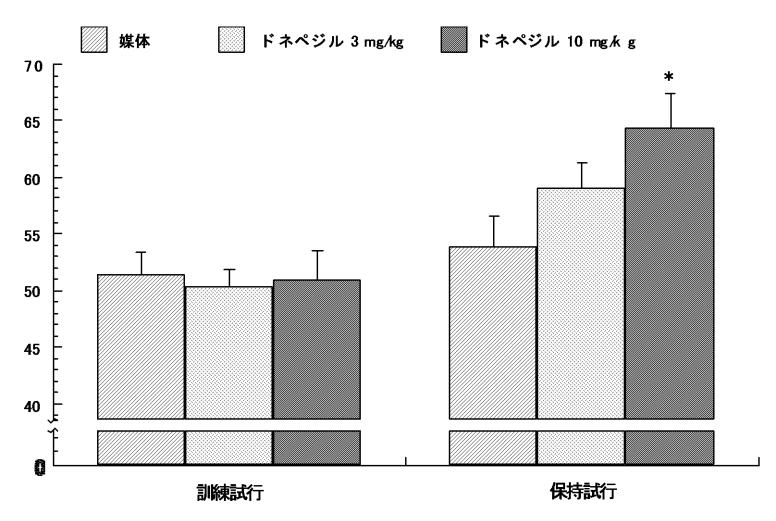


# 記憶 - 学習能改善作用

### (新規物体認識試験)

マウスに被験物質を経口投与した 60 分後に訓練試行としてマウスを実験装置に入れ, 2 個の物体に対して自由に探索を行わせる. その 48 時間後に 2 個の物体のうち 1 個を新奇な物体に代えて保持試行を行う.

訓練試行及び保持試行についてそれぞれ 2 個の物体に対して探索を行った時間の比率を求め、マウスの物体認識に対する記憶の保持に及ぼす被験物質の作用について検討する.



訓練試行の48時間後に保持試行を実施した時のマウスの新規物体認識に対するドネペジルの作用 \*P<0.05; vs 保持試行の媒体群

#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1



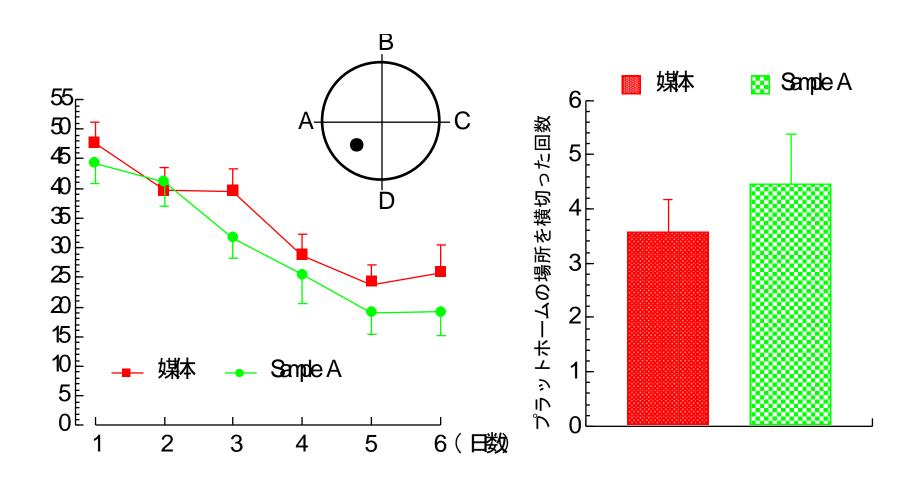
# 記憶・学習能改善作用(水迷路試験)

#### 学習試験

マウスがプール周囲の景色を手がかりに水面下のプラットホームの位置を覚える(空間記憶)ことにより escape latency が短くなるため、被験物質に記憶・学習促進作用がある場合は、escape latency が媒体群に比べて短くなる.

#### 探索試験

マウスがプラットホームの位置を記憶していれば、プラットホームが存在していた場所の周辺を泳ぐ傾向が高まるため、被験物質に記憶・学習促進作用がある場合は、プラットホームがあった場所を横切った回数が媒体群に比べて多くなる.



#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1



# 花粉症サルモデルでの薬効評価

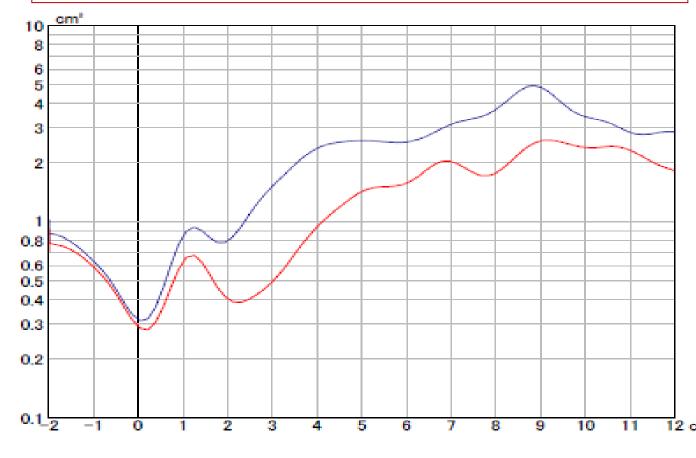
#### 鼻腔鏡による鼻腔反応観察







#### 音響鼻腔による定量的薬効評価\*



### 血中抗原特異的 IgE測定 (増感ELISA法)



- ①独自の手法・条件でのサル花粉症・アレルギーモデルの作出。
- ② 音響鼻腔測定によるサル花粉症の臨床評価系は国内外でも類がなく、定量的な薬効評価が可能となる。

\*Mitsunaga F, et al.Practical use of Acoustic Rhinometry for Quantitative Assessment of Nasal Obstruction in an Allergic Model Using Macaque Monkey, J. Biosci. Med. 5(11): 25-32 (2017).

#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1

# 育毛促進作用試験

C3H 系マウスの後背部被毛を剃毛し、被験物質を 21 日間連続塗布し、スコア判定及び写真撮影をすることにより、被験物質の育毛促進作用を検討する.

投与開始日(投与1日目), 投与 7, 14 日目の塗布前ならびに最終観察日(投与22日目)にスコアによる評価及び判定を行う.

投与 22 日目







被験物質

#### 測定項目

- 投与局所の観察(評価及び判定)
- ・ 皮膚色スコア
- 毛の伸長く再生毛の面積について>など

#### 株式会社アイテックラボ

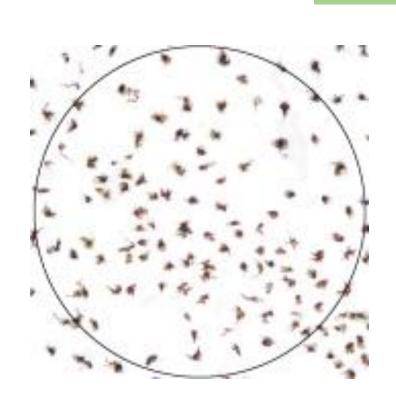
503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1



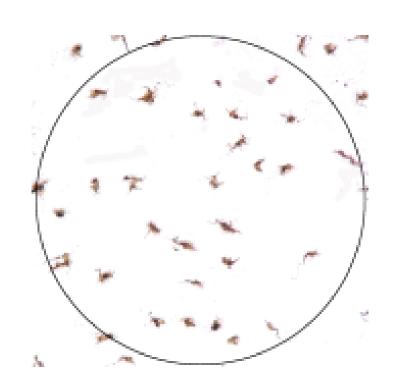
# 紫外線照射試験

DBA/2 マウスに被験物質を 9 日間経口投与する. 毎日の投与終了 1 時間後に紫外線を照射し、投与終了日の翌日にマウスを剖検し、採血、肝臓採取及び左右耳介皮膚採取を行う. 右耳介皮膚はDOPA染色病理組織標本を作製後に、DOPA 陽性メラノサイトの数及び面積を計測する.

#### メラノサイト数



Control



被験物質

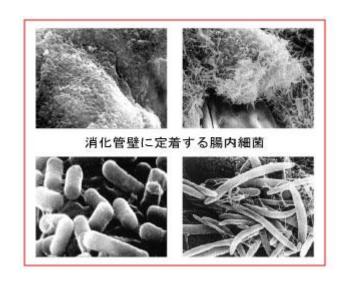
#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1



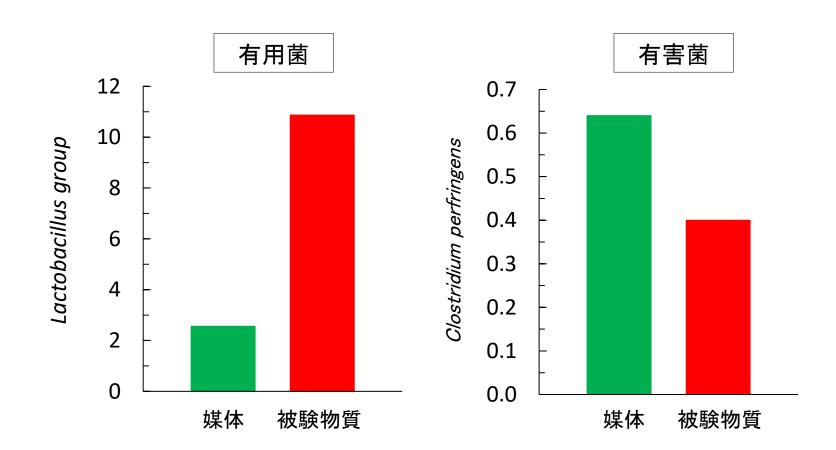
## 腸内環境評価試験(1)

健常動物に被験物質を28日間連続経口投与 投与前後の<u>糞便中腸内細菌叢</u>について測定・分析. マウスにおける被験物質の腸内環境への影響について評価する.



#### プレバイオティクス効果:

有用菌の菌数自体を増加させ、腸内環境を酸性にしてこれらの有用菌が増加しやすい環境を作り出すとともに有害菌が増化しにくい環境を整え、腸内環境改善の有用性を示す.



被験物質:乳酸菌,ビフィズス菌など測定項目:腸内細菌叢(変化率)

- 有用菌(Bifidobacterium, Clostridium butyricum, Faecalibacterium prausnitzii, Lactobacillus group)
- 有害菌(Clostridium clostridioforme, Clostridium perfringens, Desulfovibrio genus)
- 優勢菌 日和見菌 (Atopobium cluster, Bacteroides spp., Clostridium coccoides group)

#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1



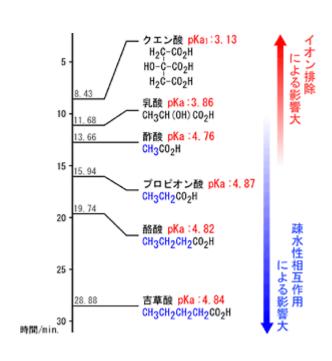
## 腸内環境評価試験(2)

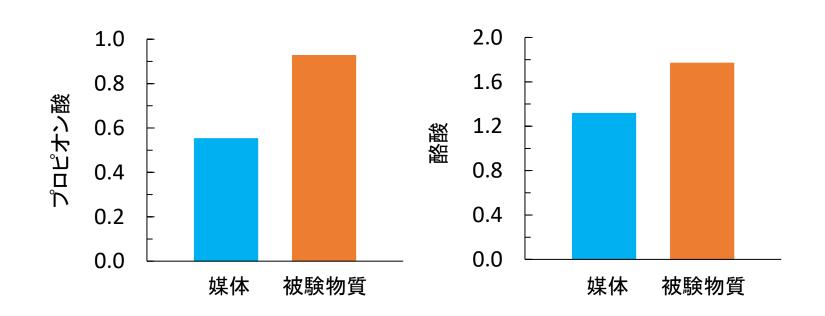
健常動物に被験物質を28日間連続経口投与. 投与前後の<u>短鎖脂肪酸</u>について測定・分析. マウスにおける被験物質の腸内環境への影響について評価する.

#### 短鎖脂肪酸測定:

腸内細菌などによって生産される有機酸(短鎖脂肪酸を含む)は、腸内環境を把握する上で重要なパラメータです。

一方で、腸管内で生産された短鎖脂肪酸は粘膜上皮を介して速やかに吸収され、エネルギー源となることが知られており、腸管内で生産された短鎖脂肪酸の実に95%以上が生体に吸収されることが判っています.腸管内で生産された短鎖脂肪酸の生産量とその吸収速度は正の相関を示すとの報告があることから、腸管内の短鎖脂肪酸濃度もある程度類推できると考えられてきました.ところが近年、腸管外で生産された短鎖脂肪酸がダイレクトに末梢血中に移行することで、生体に様々な影響が起こる可能性が示唆されております.





被験物質:乳酸菌,ビフィズス菌など

測定項目(変化率)

- 短鎖脂肪酸(コハク酸, 乳酸, ギ酸, 酢酸, プロピオン酸, 酪酸及び吉草酸)

#### 株式会社アイテックラボ

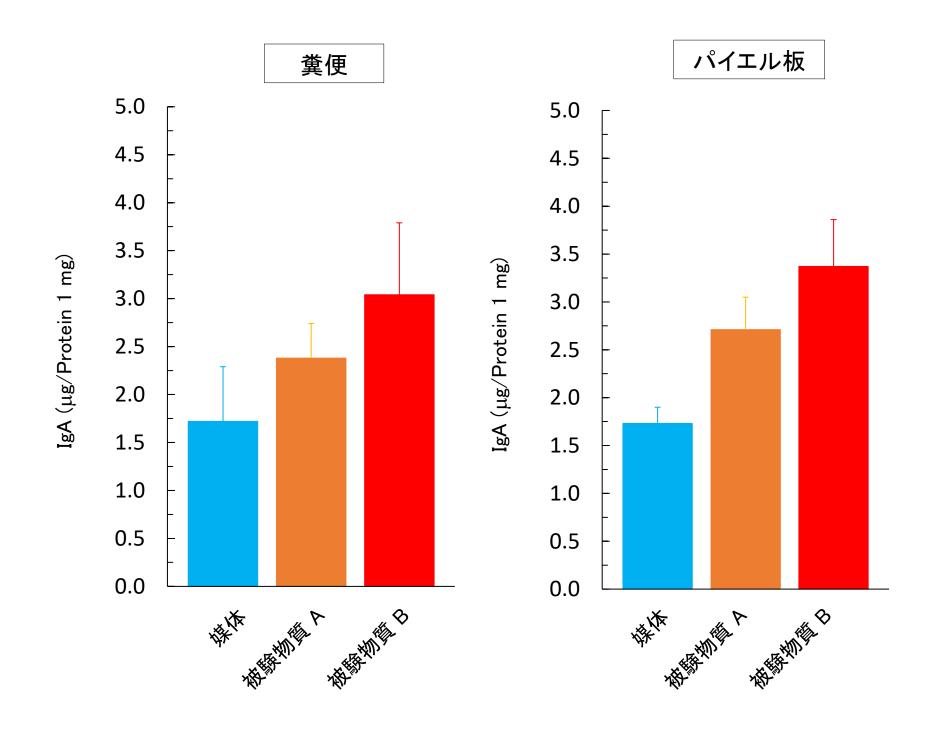
503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1



# 免疫応答試験: IgA產生・分泌

健常動物に被験物質を28日間連続経口投与.

糞便分泌型IgA (s-IgA)及びパイエル板組織型IgAについて測定・分析.マウスにおける被験物質の免疫系(IgA産生・分泌)への影響について評価する.



被験物質:乳酸菌、ビフィズス菌など測定項目

- 糞便分泌型IgA (s-IgA)
- パイエル板組織型IgA

#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1

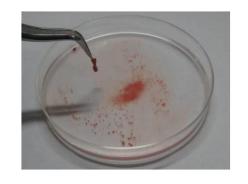


# 免疫応答試験:NK活性

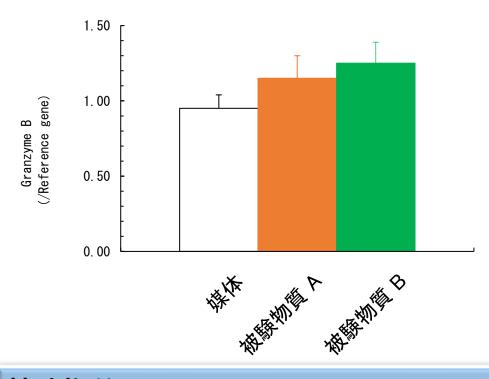
健常動物に被験物質を28日間連続経口投与. 脾臓細胞を用いたNK活性について測定・分析. マウスにおける被験物質のNK活性への影響について評価する.

#### NK活性測定:

定量的RT-PCR(RT-qPCR)を用いて、グランザイム B(GzmB) の遺伝子発現を測定するための新しい ナチュラルキラー(NK)細胞活性のアッセイ法.



A Sensitive and Simple Method to Assess NK Cell Activity by RT-qPCR for Granzyme B using Spleen and Blood. *Journal of Biosciences and Medicines*, Vol. 9, No. 3.



#### 被験物質

• 乳酸菌, ビフィズス菌など

#### 測定項目

• グランザイムB(GzmB)

#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1

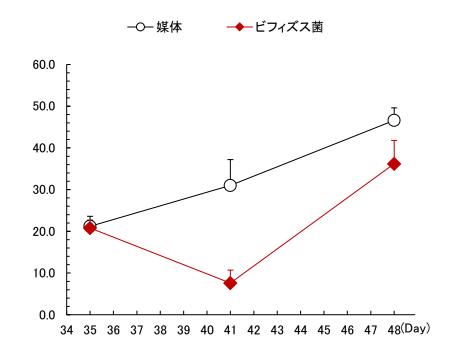


# OVAマウスアレルギーモデル

マウスで作出したOVA感作アレルギーモデルを用いて、 被験物質を7週間反復経口投与し、OVAによる感作を行う. 投与期間中にくしゃみ回数及び血中OVA特異的IgE量を測定する. 得られた結果より、被験物質の有効性について評価する.

#### くしゃみ回数測定テスト

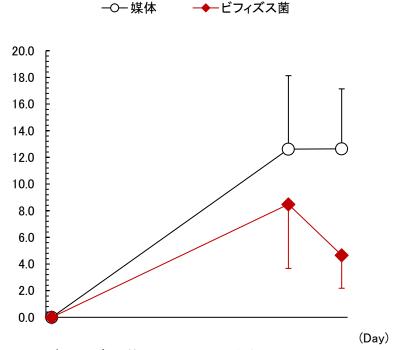




ビフィズス菌を 7週間反復経口投与した OVA 感作アレルギーモデル マウスにおけるくしゃみ回数 データは平均値±標準誤差で表示

#### 測定項目

- くしゃみ回数
- 血中OVA特異的IgE量



ビフィズス菌を 7週間反復経口投与した OVA 感作アレルギーモデル マウスにおける 血中OVA特異的IgE量

#### 株式会社アイテックラボ

503-0628 岐阜県海津市海津町福江 52-1