

様式1

受付管理番号 F-A-20-021

2020年度 横浜市立大学 動物実験計画書

横浜市立大学 学長 殿

横浜市立大学における動物実験の実施に関する規程 第11条に基づき、下記のとおり申請します。

1) ☐ 新規 / ☒ 更新 → (☐ 一部変更有) / ☐ 変更 (旧承認番号 FA17-25)
 ※ 実施期間中に計画の変更を希望する場合は、変更をチェック。
 実施期間を越えて計画の実施を希望する場合は、更新にチェック。(計画に一部変更があれば、一部変更有をチェック)

2) 研究課題	移植肝細胞を持つキメラ動物の作成			
3) 実験責任者	氏名(フリガナ)・職	キャンパス・部局・所属	連絡先・教育訓練受講状況	
	(ムラタ ソウイチロウ)	福浦キャンパス	Tel	2315
	村田 聡一郎	医学研究科	e-mail	soichiro@yokohama-cu.ac.jp
	准教授	臓器再生医学	教育訓練	※責任者は教育訓練受講者であること

4) 実験実施期間	承認後 ~ 2023 年 3 月末日 ※ 実施期間は、最長でも 3 年以内					
5) 飼養保管施設及び実験室	飼養保管施設 (部屋番号)	動物センターF102・F306・P108・M5	実験室	動物センターF208・P212・P213・P214、研究室 P307・P312		
6) 使用動物	動物種	系統	実験使用 予定匹数*	繁殖の 有無	入手先 (導入機関名)	総使用 匹数
	マウス	NOD/SCID	3000	無	日本クレア等	3000
	マウス	C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)	300	無	日本 SLC 株式会社	300
	マウス	TK-NOG	750	無	実験動物中央研究所	750
	マウス	NOG/NSG	900	無	インビボサイエンス(実験動物中央研究所)、チャールズリバー	900
	マウス	Spf-NOG	600	有	熊本大学 CARD/ 実験動物中央研究所	1200
	マウス	OTC-spfJ-NOG	600	有	実験動物中央研究所	1200
	マウス	C57BL/6J	900	無	日本 SLC 株式会社等	900
	マウス	PXB-Mouse (uPA-SCID)	30	無	フェニックスバイオ	30
	マウス	NOG-HLA-A2Tg	50	無	実験動物中央研究所	50
	ラット	F344/NSlc	600	無	日本 SLC 株式会社	600
	ラット	F344/DuCrIcrlj	1500	無	オリエンタル酵母	1500
	ラット	SD-Tg (EGFP)	150	無	日本 SLC 株式会社	150
	ラット	F344-II2rg ^{em7kyo}	900	有	京都大学	1800

7) 特殊実験区分 (該当項目を全て■)	☒ 1. 感染実験 安全区分: ☒ BSL1 ☐ BSL2 ☐ BSL3 ☒ 2. 遺伝子組み換え動物使用実験 区分: ☒ P1A ☐ P2A ☐ P3A ☐ 3. 放射線同位元素・放射線使用実験 ☒ 4. 化学発癌・重金属使用実験・毒物使用実験					
8) 動物実験の種類 (選択項目を■)	☒ 1. 試験・研究 ☐ 2. 教育・訓練 ☐ 3. その他	動物実験を 必要とする理由 (選択項目を■)	☒ 1. 検討したが、動物実験に代わる手段がない。 ☐ 2. 検討した代替手段の精度が不十分だった。 ☐ 3. その他()			

9) 想定される苦痛の 카테고리 (選択項目を■)	☐ B. 脊椎動物を用い、動物に対してほとんど、あるいはまったく不快感を与えないと思われる実験。 ☐ C. 脊椎動物を用い、動物に対して軽度のストレスまたは痛み(短時間持続する)を伴うと思われる実験。 ☒ D. 脊椎動物を用い、回避できない重度のストレスまたは痛み(長時間持続する)を伴うと思われる実験。 ☒ E. 無麻酔下の脊椎動物に、耐える限界に近い、またはそれ以上の痛みを伴うと思われる実験。																																																
10) 動物の苦痛軽減、排除の方法 (該当項目を全て■)	☐ 1. 短時間の保定・拘束および注射など、軽微な苦痛の範囲であり、特に処置を講ずる必要はない。 ☐ 2. 科学上の目的を損なわない苦痛軽減措置は存在せず、処置できない。 ☒ 3. 麻酔薬・鎮痛剤等を使用する。※具体的な「薬剤名・投与量・投与経路」を下欄に記入 下記いずれかで実施する。 <table border="1" data-bbox="383 392 1524 660"> <tr> <td>a</td> <td>薬品名</td> <td>イソフルラン</td> <td>投与量</td> <td>5.0%</td> <td>投与経路</td> <td>吸入</td> </tr> <tr> <td>b</td> <td>薬品名(1/3)</td> <td>塩酸メドミジン</td> <td>投与量</td> <td>0.3mg/kg</td> <td>投与経路</td> <td>腹腔内注射</td> </tr> <tr> <td>b</td> <td>薬品名(2/3)</td> <td>ミダゾラム</td> <td>投与量</td> <td>4mg/kg</td> <td>投与経路</td> <td>腹腔内注射</td> </tr> <tr> <td>b</td> <td>薬品名(3/3)</td> <td>ブトルファノール</td> <td>投与量</td> <td>5mg/kg</td> <td>投与経路</td> <td>腹腔内注射</td> </tr> <tr> <td>c</td> <td>薬品名(1/2)</td> <td>ケタミン</td> <td>投与量</td> <td>100 mg/kg</td> <td>投与経路</td> <td>腹腔内注射</td> </tr> <tr> <td>c</td> <td>薬品名(2/2)</td> <td>キシラジン</td> <td>投与量</td> <td>5 mg/kg</td> <td>投与経路</td> <td>腹腔内注射</td> </tr> </table> ☒ 4. 動物が耐えがたい痛みを伴う場合、適切な時期に安楽死など人道的エンドポイントを考慮する。 ☒ 5. その他(具体的に記入; 肝線維化モデル、急性肝障害モデル、OTC 欠損モデルに対するモデル確立判定のため、および移植の治療効果判定のため、生存率解析が必要となる。その際に無処置での生存期間を観察する場合がある。)							a	薬品名	イソフルラン	投与量	5.0%	投与経路	吸入	b	薬品名(1/3)	塩酸メドミジン	投与量	0.3mg/kg	投与経路	腹腔内注射	b	薬品名(2/3)	ミダゾラム	投与量	4mg/kg	投与経路	腹腔内注射	b	薬品名(3/3)	ブトルファノール	投与量	5mg/kg	投与経路	腹腔内注射	c	薬品名(1/2)	ケタミン	投与量	100 mg/kg	投与経路	腹腔内注射	c	薬品名(2/2)	キシラジン	投与量	5 mg/kg	投与経路	腹腔内注射
a	薬品名	イソフルラン	投与量	5.0%	投与経路	吸入																																											
b	薬品名(1/3)	塩酸メドミジン	投与量	0.3mg/kg	投与経路	腹腔内注射																																											
b	薬品名(2/3)	ミダゾラム	投与量	4mg/kg	投与経路	腹腔内注射																																											
b	薬品名(3/3)	ブトルファノール	投与量	5mg/kg	投与経路	腹腔内注射																																											
c	薬品名(1/2)	ケタミン	投与量	100 mg/kg	投与経路	腹腔内注射																																											
c	薬品名(2/2)	キシラジン	投与量	5 mg/kg	投与経路	腹腔内注射																																											
11) 安楽死の方法 (該当項目を全て■)	☒ 1. 麻酔薬等の使用 ※具体的な「薬剤名・投与量・投与経路」を下欄に記入 <table border="1" data-bbox="383 851 1524 907"> <tr> <td>薬品名</td> <td>ケタラル+キシラジン</td> <td>投与量</td> <td>400 mg/kg+20 mg/kg</td> <td>投与経路</td> <td>ip</td> </tr> </table> ☒ 2. 炭酸ガス ☐ 3. 中枢破壊(具体的に記入: _____ 法、理由 _____) ☐ 4. 安楽死させない(その理由: _____)							薬品名	ケタラル+キシラジン	投与量	400 mg/kg+20 mg/kg	投与経路	ip																																				
薬品名	ケタラル+キシラジン	投与量	400 mg/kg+20 mg/kg	投与経路	ip																																												
12) 動物の死体の処理(選択項目を■)	☐ 1. 大学内で焼却 ☒ 2. 動物実験施設に委託 ☐ 3. その他(具体的に記入: _____)																																																
13) その他必要または参考事項	(過去の動物実験計画書承認実績、学内の関連委員会への申請状況、動物実験に際して動物実験施設に持ち込む機器、飼養保管施設・実験室の承認状況などを記入する) ・平成 30 年 遺伝子組換え実験承認: F-D-18-49(高効率な細胞移植モデル動物を用いた組織構築過程の解析)、F-D-18-46(レトロウイルスベクターを用いた代謝系組織/臓器の形成過程の解析)、F-D-18-47(レンチウイルスベクターを用いた代謝系組織/臓器の形成過程の解析)、平成 29 年 第 F-D-17-41 号 (ウイルスベクター遺伝子導入法を用いた B 型肝炎ウイルス宿主因子の機能解析) ・2017-19 年度 動物実験計画書承認 FA17-25。 ・麻薬研究者免許: 村田聡一郎(第 9220001 号)																																																
14) 遺伝子組換え実験安全委員会への申請・承認状況	<table border="1" data-bbox="383 1467 1524 1512"> <tr> <td> ☒ 審査中 ☐ 承認済(右欄に番号記入) ☐ 組換え体を用いない </td> <td>承認番号 (遺伝子組換え実験申請書)</td> <td>F-D-18-49</td> </tr> </table> ※現在、審査中の場合 1. 遺伝子組換え実験安全委員会に、提出・審査されている申請書(未承認)のコピーを本計画書に添付し提出。 2. 後日、遺伝子組換え実験安全委員会で申請書が承認されたら、承認された申請書のコピー(承認番号・公印有)を提出すること。 ※既に、承認済の場合 ・承認番号を右上欄に記入し、承認された申請書のコピー(承認番号・公印有)を本計画書に添付すること ※現在、審査中の場合 1. 遺伝子組換え実験安全委員会に、提出・審査されている申請書(未承認)のコピーを本計画書に添付し提出。 2. 後日、遺伝子組換え実験安全委員会で申請書が承認されたら、承認された申請書のコピー(承認番号・公印有)を提出すること。 ※既に、承認済の場合 ・承認番号を右上欄に記入し、承認された申請書のコピー(承認番号・公印有)を本計画書に添付すること							☒ 審査中 ☐ 承認済(右欄に番号記入) ☐ 組換え体を用いない	承認番号 (遺伝子組換え実験申請書)	F-D-18-49																																							
☒ 審査中 ☐ 承認済(右欄に番号記入) ☐ 組換え体を用いない	承認番号 (遺伝子組換え実験申請書)	F-D-18-49																																															

15) 実験目的:(学術的目的をできるだけ簡潔に記入する。)

マウス・ラット肝臓に別の個体の肝細胞、胎仔由来細胞、iPS 細胞由来肝芽等を移植し、キメラ動物を作製する。移植による各種肝障害モデルの治療効果を検討する。

16) 実験の概要(研究計画と方法について、その概要を記入する。)

※「7」特殊実験区分」に該当する場合、具体的に使用する 微生物、薬品名と使用量、投与方法 等を記入すること。

本研究では様々な病態モデルに各種肝臓細胞移植した際の効果を検証する。

- ① 異種移植も含め検証するため免疫不全を背景に持つ動物 (NOG、NOD/SCID マウス、F344-Il2rgem7kyo ラット) 等を導入しコロニーを拡大する。
- ② 他施設において免疫不全を背景に持ち、肝臓の代謝異常を誘導できる動物 (OTC-spfJ-NOG, Spf-NOG マウス等) を遺伝子編集等により作出し、本学動物センターに導入しコロニーを拡大する。また、同マウスに対して窒素負荷を行い、経時的に血液・尿を採取して代謝物を評価することにより、ヒト尿素サイクル異常の再現を試みる。
- ③ 移植の効果を検証する際に有用と考えられる病態モデル (TK-NOG マウス、OTC-spf (Sparse fur)マウス、OTC-spf-NOG) 等を導入する。必要に応じてコロニーを拡大する。
- ④ 免疫不全を背景に持つ病態モデルを作出するため①と②を交配することもおこなう。
- ⑤ また、移植ドナー細胞とレシピエント細胞を区別するため遺伝組換え動物 (C57BL6-Tg(CAG-EGFP)マウス、SD-Tg(EGFP)ラット) から細胞を分離し移植する。あるいは①、②、③の動物に iPS 細胞から分化誘導した肝幹/前駆細胞由来組織 (ヒト iPSC 肝芽) 等を移植し効果を検証する。動物の飼育スペースが確保出来ない場合等は、必要に応じて、動物飼育会社の飼育施設に動物を搬出して移植・治療効果の評価等を行う。
- ⑥ 野生型である F344/NSlc ラット及び F344/DuCrI CrIj ラットを用いて、同所性移植技術の開発を行う。
- ⑦ 移植組織のライブイメージング解析、組織解析、生化学解析、遺伝子発現解析等より、再構成された組織の表現型を検討する。
- ⑧ NOG マウスに対してヒト末梢血単核細胞を移植した個体を作製し、その個体に対してヒト iPSC 肝芽を移植し、免疫拒絶の検討をおこなう。またマウスにヒト HLA を発現させた NOG-HLA-A2Tg マウスを導入し、ヒト末梢血単核細胞による MHC 拘束性の拒絶反応を再現する。

移植のドナー、レシピエントには以下の動物を使用する。

- F344 ラット;野生型であり、DPPIV/CD26 陽性である F344/NSlc ラットを移植ドナーとして、DPPIV/CD26 陰性である F344/DuCrI CrIj・F344-Il2rgem7kyo ラットを移植レシピエントとして用いる。
- F344-Il2rgem7kyo ラット:interleukin シグナル伝達に不可欠である Il2rg の遺伝子をそれぞれ欠損しているため、T 細胞や B 細胞が成熟するために必須である VDJ 組換えができずに分化が阻害され、成熟した T 細胞や B 細胞が存在せず、重度免疫不全を引き起こす。移植レシピエントとして使用する。
- NOG マウス:複合型免疫不全マウス。異種動物由来細胞の生着率が高い。OTC-spf マウスとの交配により、NOG-OTC^{spf} マウス作出を行い、移植レシピエントとして使用。このマウスに、ヒト iPSC 肝芽等の移植を行い、治療効果を評価する。また、正常な NOG マウスにヒト末梢血単核細胞を移植した個体に対して、ヒト iPSC 肝芽等を移植し免疫拒絶を検討する。さらにマウスにヒト HLA を発現させた NOG-HLA-A2Tg マウスを導入し、ヒト末梢血単核細胞による MHC 拘束性の拒絶反応を再現する。
- OTC-spf (Sparse fur)マウス:ミュータントマウス。尿素回路異常症を呈する。このマウスと NOG マウス等を交配し、尿素回路異常を持つ複合型免疫不全マウス(OTC-spf-NOG)を作製する。このマウスに、ヒト iPSC 肝芽等の移植を行い、治療効果を評価する。
- OTC-spfJ-NOG マウス:CRISPR-Cas9 システムを用いた遺伝子編集により尿素サイクルの代謝酵素 (OTC) に変異を持つミュータントマウス。尿素回路異常を持つ複合型免疫不全マウスであり、移植レシピエントとして使用する。このマウスに、ヒト iPSC 肝芽等の移植を行い、治療効果を評価する。

- TK-NOG マウス：自殺遺伝子として代表的な単純ヘルペスウイルス I 型チミジンキナーゼ (HSVtk) 遺伝子を肝臓で特異的に発現し、抗ウイルス薬であるガンシクロビル (GCV) 投与により、HSVtk 発現細胞のみを選択的特異的に傷害することが可能である。移植レシピエントとして使用。

17) 実験方法(① 動物に加える全ての処置、②使用動物数の根拠 に関して具体的に記載するとともに、「想定される苦痛のカテゴリー」や「動物の苦痛軽減・排除方法」等と整合性を持たせる。)

動物に対する処置:

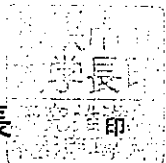
1. 麻酔下で C57BL6-Tg(CAG-EGFP)マウス、F344/NSlc ラット、SD-Tg(EGFP)ラットの胎仔肝臓組織等を摘出し、コラゲナーゼ、ディスパーゼ等を用いて移植用細胞を分離・回収する。あるいは、当該モデルマウスに対して、レンチ・レトロウイルスベクターを用いた遺伝子導入により標識 (EGFP、Kusabira Orange 等) された、もしくは標識されていないヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC)、ヒト間葉系幹細胞 (hMSC)、ヒト肝幹/前駆細胞 (またはヒト iPS 細胞より分化誘導した細胞)、ヒト肝細胞、これらの細胞を共培養して得られるヒト iPSC 肝芽、Hela、HepG2、Huh7 等の癌細胞等を移植用細胞として用意する。ウイルスで遺伝子導入した移植細胞については、PCR 検査でレトロウイルス残存が検出限界以下のものを使用する。また市販のヒト末梢血単核細胞を適切な濃度に調整し用意する。
2. TK-NOG、NOG マウス、NOD/SCID マウス、OTC-spfJ-NOG、OTC-spf-NOG マウスや F344/DuCrI CrIj、F344-Il2rgem7kyo ラット等に移植作業を行う。あるいは、レシピエント動物に次の方法で肝障害や代謝異常を誘導した後、移植作業を行う。
3. TK-NOG マウスへのガンシクロビル投与(生理食塩水にて 50mg/kg に希釈し、腹腔内投与)によりレシピエントマウスの肝細胞を破壊する。また、野生型あるいは重度免疫不全ラットに retrorsine 投与と部分肝切除 (イソフルラン吸入全身麻酔下で正中線上に皮膚と腹膜を切開。肝臓の左葉と右葉を結紮・切除。腹膜、皮膚を順次縫合する)、または虚血再灌流障害 (門脈をクリップで 15 分程度虚血し、その後再灌流する)。TK-NOG マウスへのガンシクロビル投与 2~3 日後より亜急性型の肝不全症状が出現する。虚血再灌流障害は、再灌流後 6 時間をピークに一過性の肝障害が見られるが急速に改善する。移植による治療効果判定のため、生存期間を確認する実験を行うが、対照群 (非移植群)と比較して 20%以上の体重減少、7 日間で 25%以上の体重減少が認められた場合、実験後の動物に対して、CO₂の致死量を投与し安楽死させる。
4. 肝線維化モデルとして以下の薬剤を用いてモデルを作製する：四塩化炭素 1ml/kg 週 2 回 8 週間(腹腔内投与)、ジメチルニトロサミン(DMN)10mg/kg 週 3 回 3 週間 (腹腔内投与)、チオアセトアミド(TAA) 200mg/kg 週 3 回 12 週間 (腹腔内投与)、および DMN/TAA の併用 12 週間投与 (腹腔内投与)。肝臓の線維化による肝障害は四塩化炭素、TAA では 4 週頃より出現する。DMN では 3 週目頃より出現する。移植による治療効果判定のため、生存期間を確認する実験を行うが、対照群 (非移植群)と比較して 20%以上の体重減少、7 日間で 25%以上の体重減少、著しい出血傾向、著明な黄疸等が認められた場合、実験後の動物に対して、CO₂の致死量を投与し安楽死させる。
5. 急性肝炎モデルとして以下の薬剤を用いる：LPS12.5mg/kg および D-ガラクトサミン 300mg/kg の単回投与 (腹腔内投与)。急性肝炎と肝線維化を併用する場合もある(TAA 4W 投与+LPS/D-ガラクトサミン単回投与：腹腔内投与)。急性肝炎モデルでは LPS+D-ガラクトサミン投与 3 時間後より肝不全が進行し、72 時間をピークに徐々に回復傾向が見られる。移植による治療効果判定のため、生存期間を確認する実験を行う。対照群として非移植群を設定する。
6. 非アルコール性脂肪性肝炎モデルとしてメチオニン・コリン欠乏食、高シヨ糖脂肪食、CDAA 食投与等を 4~30 週間給餌する。またフェニックスバイオ社にてヒト肝細胞を uPA/SCID マウスに移植した PXB マウスに Gubra AMLN NASH(GAN)食を 30 週間投与したマウスを用いる。高脂肪食等の摂取開始 4 週頃より脂肪肝および肝臓の線維化が認められるが、明らかな体重減少や死亡には至らず 30 週間の観察が可能である。移植による治療効果判定のため、生存期間を確認する実験を行うが、対照群 (非移植群)と比較して 20%以上の体重減少、7 日間で 25%以上の体重減少、著しい出血傾向、著明な黄疸等が認められた場合、実験後の動物に対して、CO₂の致死量を投与し安楽死させる。
7. Spf-NOG、OTC-spfJ-NOG マウスには窒素の含有量の高い食餌を投与 (窒素負荷)することにより、尿素回路の代謝異常を惹起する。窒素負荷により軽度の高アンモニア血症が見られるが、明らかな症状は出現しな

い。移植による治療効果判定のため、生存期間を確認する実験を行うが、対照群（非移植群）と比較して 20% 以上の体重減少、7 日間で 25% 以上の体重減少、著しい出血傾向、著明な黄疸等が認められた場合、実験後の動物に対して、CO₂の致死量を投与し安楽死させる。

8. 正常な NOG マウスにヒト末梢血単核細胞を 1x10⁶ 個尾静脈投与（麻酔下にマウス用保定器で保定） することで、ヒト免疫を持たせた NOG マウスを作製する。さらにマウスにヒト HLA を発現させた NOG-HLA-A2Tg マウスを導入し、ヒト末梢血単核細胞による MHC 拘束性の拒絶反応を再現する。処置による明らかな症状は出現しない。移植実施後、対照群（非移植群）と比較して 20% 以上の体重減少、7 日間で 25% 以上の体重減少が認められた場合、実験後の動物に対して、CO₂の致死量を投与し安楽死させる。
9. 上記の前処置後、週 1 回、各種モデル動物に移植する。各マウス・ラットの必要匹数は以下に示す。
10. ドナー動物の必要匹数を C57BL6-Tg(CAG-EGFP)マウス 300 匹(週 2 匹 x 50 週 x 3 年)、SD-Tg(EGFP)ラット 150 匹(週 1 匹 x 50 週 x 3 年)、F344/NSlc ラット 600 匹(週 4 匹 x 50 週 x 3 年)と算出した。
11. レシピエント動物の必要匹数を NOD/SCID マウス 3000 匹 (週 20 匹 x 50 週 x 3 年)、TK-NOG 750 匹 (週 5 匹 x 50 週 x 3 年)、NOG/NSG マウス 900 匹(週 6 匹 x 50 週 x 3 年)、F344/DuCrIjCrIj 1500 匹(週 10 匹 x 50 週 x 3 年)、F344-IL2rgem^{7kyo} 900 匹(週 6 匹 x 50 週 x 3 年)と算出した。また、移植手技の開発等のため C57BL/6J を 900 匹 (週 6 匹 x 50 週 x 3 年) と算出した。PXB-Mouse (uPA-SCID)は 3 年間で 30 匹、NOG-HLA-A2Tg マウスは 50 匹程度の使用を見込んでいる。
12. OTC-spfNOG マウス、OTC-spfJ-NOG マウス、マウスに関しては、出生後比較的早期に死亡してしまう重症肝不全動物であり、移植に必要なレシピエント数確保のため必要匹数を OTC-spfNOG600 匹、OTC-spfJ-NOG600 匹 (1 回の交配で 10 匹出生し、1~2 匹程度目的のマウスを得る。年間のべ 20 回交配、3 年間で 60 回程度交配すると合計 600 匹程度、総使用量はそれぞれ 1200 匹程度と試算した)。マウスの特性上、出産数が少ない場合は、動物を動物繁殖会社へ送付し、人工授精等によりマウス胎仔を得る。
13. 動物への移植方法は次の方法で行う。イソフルラン吸入麻酔等の下で、採取したドナー肝幹細胞（ヒト肝細胞も含む）マウス、ラット胎仔細胞、iPS 細胞由来肝芽等を TK-NOG マウス、SpfNOG/SpfSCID/OTC-spfJ-NOG マウス、NOD/SCID マウス、NOG マウス、F344/DuCrIjCrIj ラット、F344-IL2rgem^{7kyo} ラット等に移植する。ラットへの移植方法は部分肝切除後、虚血再灌流障害等の障害後に門脈内または肝臓表面に注入する。マウス・ラットへの移植方法は門脈内または肝表面、腎被膜、皮下及び頭部に注入する。移植効率を改善するため、マクロファージ等の除去が可能な CSF1 阻害剤混合飼料等の給餌、クロドロネートリポソーム投与等を行う場合がある。
14. 移植細胞の in vivo での機能は、ライブイメージング解析（セクショニング蛍光マイクロズーム顕微鏡による解析、共焦点型イメージング解析装置による解析、多光子顕微鏡を用いたイメージング解析装置による解析）、組織解析、生化学解析（採取した尿中の代謝物量の評価・血清からのドナー由来ヒトアルブミン量の検出等）、遺伝子発現解析等により行う。

動物の用途 (実験方法)	動物種	系統	実験使用 予定匹数*
2, 4, 5, 6	マウス	NOD/SCID	3000
2, 4, 5, 6	マウス	C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)	300
3	マウス	TK-NOG	750
2, 6, 8	マウス	NOG/NSG	900
7	マウス	Spf-NOG	600
7	マウス	OTC-spfJ-NOG	600
2, 4, 5, 6	マウス	C57BL/6J	900
6	マウス	PXB-Mouse (uPA-SCID)	30
8	マウス	NOG-HLA-A2Tg	50
2, 3, 4, 5, 6	ラット	F344/NSlc	600
2, 3, 4, 5, 6	ラット	F344/DuCrCrj	1500
2	ラット	SD-Tg (EGFP)	150
2, 3, 4, 5, 6	ラット	F344-II2rg ^{em7kyo}	900

委員会記入欄	審査終了: 平成29年3月30日 令和2年3月30日	
	修正意見等:	
	審査結果	☒ 本実験計画は、横浜市立大学における動物実験の実施に関する規定等に適合する。 (条件等 ☒ 遺伝子組換え実験安全委員会の承認後、実験を開始すること。条件付承認) ☐ 本実験計画は、横浜市立大学における動物実験の実施に関する規定等に適合しない。

承認欄	承認: 平成29年3月31日 令和2年3月31日 本実験を承認します。 承認番号: F-A-20-021	横浜市立大学 学長 
-----	---	--