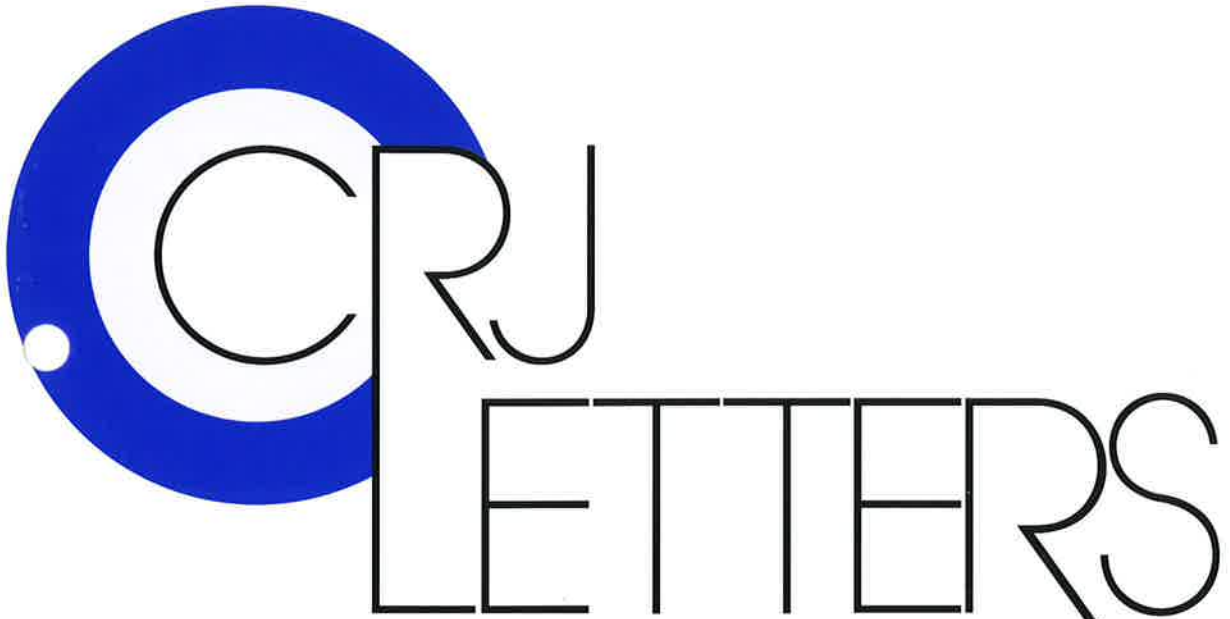


Vol.14 No.1  
December 2001



# CRJ LETTERS

— 卷頭論文 —

マウス脳虚血モデルを用いた最近の話題と将来の展望



CHARLES RIVER  
JAPAN, INC.

# マウス脳虚血モデルを用いた最近の話題と将来の展望

大阪大学大学院医学系研究科病態情報内科学 北川 一夫

**要旨:** 脳虚血病態への特定分子の関与を検討するため各種の遺伝子過剰発現マウスや遺伝子欠損マウスを用いた研究が盛んになっている。著者は、本書の9巻1号でマウス両側総頸動脈閉塞による脳虚血発症頻度の系統差に関する研究結果を報告したが、その後マウス両側総頸動脈閉塞による一過性前脳虚血モデルの確立、マウスで頸動脈からナイロン糸を挿入する中大脳動脈閉塞モデルの改良法を確立したのち、神経細胞の選択的脆弱性へのアポトーシス抑制遺伝子 BCL-2 の関与、中大脳動脈閉塞後の脳梗塞発症への微小循環障害の関与を遺伝子変異マウスを用いて明らかにしてきた。また、Expressed Sequence Tag (EST) 情報の充実しているマウスは虚血関連遺伝子のクローニングには適していると考えられ、著者らもデイファレンシャル・ディスプレイ法を用いて脳虚血により誘導される遺伝子として hsp40 をクローニングした。さらに脳虚血後にみられる組織修復、近年注目されている神経細胞新生に関与する分子の検索にも遺伝子変異マウスは活用されつつある。本稿では、著者らの研究成果を中心にここ数年のマウス脳虚血モデルを用いた研究の流れと今後の展望、そしてマウス脳虚血モデルの限界についてもまとめてみたい。

## はじめに

著者は、本書の9巻1号(1996年)でマウス7系統の中ではC57BL/6NCrjマウス(日本チャールス・リバー株式会社より入手)が最も両側総頸動脈閉塞による脳虚血発症頻度が高いことを報告した(文献1)。当時は、まだ遺伝子変異マウスに脳虚血を作成して検討した報告は少なかったが、ここ5年間にマウス脳虚血モデルを用いた研究は

飛躍的に増加している。遺伝子変異の作成が頻繁に行われるマウスであるから、すぐに脳虚血を作成すれば個々の遺伝子の病態への関与を明らかにすることができる、と考えられがちだが実際は脳虚血重度、範囲の再現性、さらに生存率の問題などがありこれらの点に細心の注意を払って実験を行う必要がある。筆者らは、1996年以後マウス脳虚血モデルをさらに改良し、再現性の良好なマウス一過性前脳虚血モデル、中大脳動脈閉塞モデルを確立し(文献2)、遺伝子変異マウスを用いた病態解析、脳虚血関連遺伝子のクローニング、脳損傷修復にかかわる因子の解析を行ってきたので、その概略について報告するとともに、マウス脳虚血モデルを用いた研究の限界についても触れてみたい。

## 著者プロフィール



北川 一夫 先生

大阪大学大学院医学系研究科講師(病態情報内科学)  
医学博士。1958年12月25日生

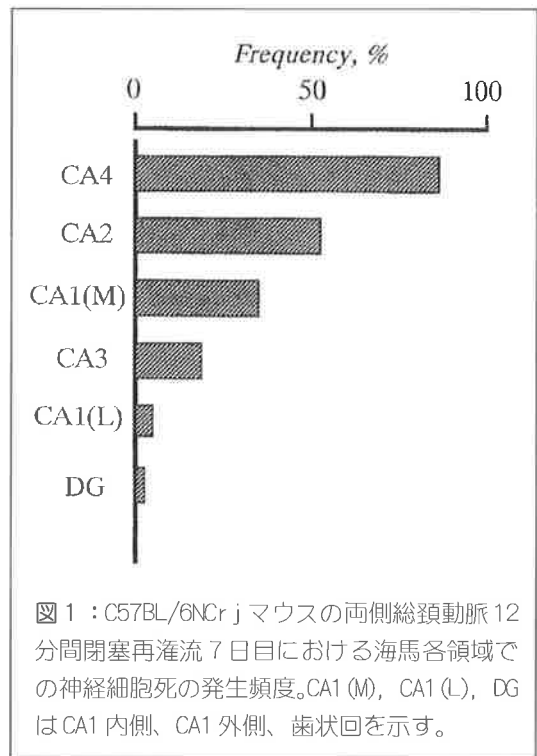
1983年大阪大学医学部卒業。第一内科学教室に入局。臨床研修を経て1986年より実験的脳虚血の研究に従事。1990年脳での虚血耐性現象を世界に先駆けて報告。1990年より1993年までアメリカ・コロンビア大学、マウントサイナイ医科大学にてミエリンの基礎研究に従事。1993年帰国後、第一内科学教室にて脳血管障害の研究、診療を再開。1997年大阪大学助手(第一内科学)。2000年大学院重点化にともない大阪大学大学院助手(病態情報内科学)。2001年大阪大学大学院医学系研究科講師。

趣味は旅行、スポーツ鑑賞、読書

## 1. 再現性の良好なマウス一過性前脳虚血モデル、中大脳動脈閉塞モデルの確立

著者らは、まず最初にマウス7系統の中で、C57BL/6NCrjマウスが最も両側総頸動脈閉塞により、脳虚血症状を発現する事、脳皮質血流の低下率が大きいこと、海馬、線条体での神経細胞死が高頻度に見られることを報告した(文献1)。さらに両側総頸動脈閉塞による脳虚血の重度を均一化するため、大脳皮質にレーザドプラ血流計用のプローブを装着し脳皮質血流をモニターしながら両側総頸動脈を閉塞する手法を開発した(文献2)。その結果、C57BL/6NCrjマウスでは、両側総頸動脈閉塞1分後に残存血流量が12%未満になる例が8、9割を占め、そのような動物だけを選別すると、閉塞5分後には前脳のATPは殆ど枯渇し、15分間虚血、再灌流を行うと7日目に海馬、線条体に高率に神経細胞死が観察されることを認めた。これらの結果から、遺伝子変異マウスをC57BL/6NCrjマウスと十分交配を繰り返せば、両側総頸動脈閉塞という比較的簡便な手技で、前脳虚血を作成することができ、著者らは以後の神経細胞の選択的脆弱性を遺伝子変異マウスで検索する際には、この手法を用いている。しかし本モデルは、砂ネズミの両側総頸動脈閉塞モデル、ラットの4血管閉塞モデル、両側総頸動脈閉塞に低血圧を併用したモデルに比べると、海馬での神経細胞死の発症の再現性はきわめて悪い。著者らは、レーザドプラ血流計測で確実に前脳虚血を作成しえた動物50匹を対象に、12分間虚血後再灌流して1週間後に海馬を組織学的に検索した。そ

の結果、50匹の両側の海馬100個のうち、海馬CA4は85%、CA2は51%、内側CA1は35%に神経細胞死が観察され、外側CA1は4%にしか病変が観察されなかった(文献3)(図1)。この結果は砂ネズミやラットの一過性前脳虚血モデルに比べると非常に再現性が悪く、これが虚血モデルの問題なのか、あるいはマウス脳では砂ネズミやラット脳と比べ部分的な神経細胞の脆弱性が異なるのかは定かでない。しかし、完全虚血状態では、カルパインの活性化による細胞骨格蛋白質フォドリンの分解は、明らかに砂ネズミ脳で促進されており、神経細胞自身の虚血に対する脆弱性に種差が存在することを示唆している(文献4)。



また頸動脈からナイロン糸を挿入して中大脳動脈を閉塞するモデルは、開頭を必要

としないこと、血流再開通が容易であることから近年、遺伝子変異マウスを用いた研究で頻りに用いられている。しかし本モデルでは、中大脳動脈だけを閉塞するのが本来の目的であるが、しばしば後大脳動脈の支配領域である海馬、視床にも虚血病変が発生し(図2)、研究者によっては本モデルによる海馬の病変の有無が遺伝子欠損または遺伝子過剰発現の効果であると記載していることもあった。げっ歯類ではヒトとは異なり、後大脳動脈は頸動脈から分岐しているが、マウスではラットほどウィリス輪での頸動脈系と椎骨脳底動脈系との間の吻合(ヒトではP1の部分に相当)が発達しておらず、その発達の悪い動物でナイロン糸を頸動脈から挿入して中大脳動脈起始部まで挿入すると後大脳動脈まで閉塞して海馬、視床といった部分に虚血を引き起こす。したがって、頸動脈と脳底動脈の吻合の良いマウスと不十分なマウスを混合して、ナイロン糸を用いた中大脳動脈閉塞モデルを用いて梗塞サイズを比較することは大変危険である。著者らは、部分的ではあるが、この問題を解決する手法を確立している(文献2)。すなわち、ナイロン糸による中大脳動脈閉塞モデルを行う前にあらかじめ、短時間(1分間)両側総頸動脈を閉塞し、その際の皮質血流の低下程度から、頸動脈系と椎骨脳底動脈系との吻合が不十分な動物のみを選別しうることを報告している。本予測法により、ナイロン糸を挿入することにより、中大脳動脈とともに後大脳動脈領域にも再現性よく虚血を作成することが可能となった。しかし、本モデルの

本来の目的である中大脳動脈だけに虚血を作成し後大脳動脈には影響のないマウスのみをあらかじめ選別することは困難であり、実験終了後に海馬に神経細胞死が発生した例は除く、墨汁を心臓から注入して頸動脈系と脳底動脈の吻合程度を評価し、吻合の不十分な例は除くといった事が必要となる。

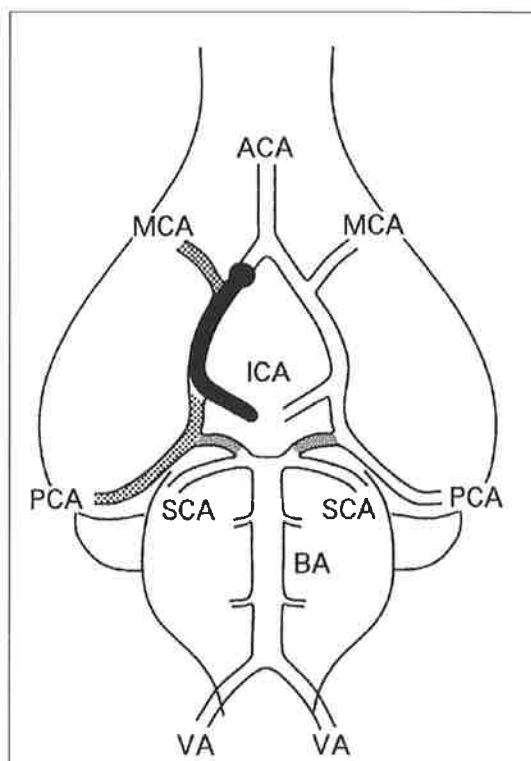


図2：ナイロン糸によるウィリス輪での中大脳動脈閉塞のシエマ。ACA:前大脳動脈、MCA:中大脳動脈、ICA:内頸動脈、PCA:後大脳動脈、SCA:上小脳動脈、BA:脳底動脈、VA:椎骨動脈。ナイロン糸を内頸動脈から中大脳動脈起始部を越えて進めた場合、後大脳動脈は脳底動脈からの側副血行路により血流が供給される。しかし、頸動脈系と脳底動脈系の吻合が不良な場合は、ナイロン糸により中大脳動脈を閉塞する際に、後大脳動脈領域も虚血に曝される。

## 2. マウス両側総頸動脈閉塞モデルを応用した検討

本モデルを用いて著者らがこれまでに検討してきた研究結果について述べる。虚血性神経細胞死にアポトーシスが関与することを示唆する多くの知見があること、およびアポトーシス抑制遺伝子として BCL-2 が良く知られていたことから、まず一過性前脳虚血後の海馬領域での神経細胞死を BCL-2 を過剰発現させた動物で抑制できるか否かを、BCL-2 トランスジェニックマウスを用いて検討した (文献 5)。神経細胞に BCL-2 を過剰発現させたマウスを C57BL/6NCrj マウスと再交配した後、産まれた野生型マウス、トランスジェニックマウスの 12 分間の両側総頸動脈閉塞再灌流を行い、7 日後に海馬 CA1-CA3 領域の神経細胞死の程度を組織学的に半定量的に評価した。BCL-2 過剰発現マウスでは野生型マウスに比べ、有意な神経細胞死の軽減効果が認められた。しかし、その程度は 2-3 度体温を下げる効果よりは弱く、神経細胞の選択的脆弱性を BCL-2 が全面的に抑制できるとはいえないものであった。つぎに、脳虚血時の微小循環障害への関与が示されている細胞接着因子 ICAM-1 の神経細胞の選択的脆弱性への関与を ICAM-1 欠損マウスを用いて検討した (文献 6)。上記と同様に、ICAM-1 欠損マウスを C57BL/6NCrj マウスと再交配した後、産まれた野生型マウス、ノックアウトマウスに 5、10、15 分間の両側総頸動脈閉塞再灌流を行い、7 日後に海馬 CA1-CA3、線条体の神経細胞死の程度を半定量的に評価した。海馬、線条体の神経細胞死の

程度は、野生型マウス、ノックアウトマウス間に有意な差はなく、神経細胞の選択的脆弱性への ICAM-1 を介した微小循環障害の関与は否定的であった。つぎに近年、虚血脳保護効果が示されている APOE の保護作用のメカニズムを探るため、野生型マウスと APOE 欠損マウスのおのおのを、普通食とビタミン E 負荷食にて 2 ヶ月間飼育後に、12 分間の両側総頸動脈閉塞再灌流を行い、7 日後に海馬を組織学的に評価した (文献 7)。普通食飼育では、野生型マウスに比べ APOE 欠損マウスは有意に強い組織障害を示したが、ビタミン E 負荷は APOE 欠損マウスにおいてのみ神経細胞保護効果を示した。この結果は、APOE の虚血脳保護効果は、ラジカルスカベンジャー作用を介したものであることを示唆している。また、神経細胞は虚血ストレスにより各種の遺伝子発現が誘導され、その一部はアポトーシスに、他のものは虚血耐性への関与が示唆されている。転写因子 CREB (cyclic AMP-responsive element binding protein) は脳神経細胞に豊富に存在し、リン酸化を介して CRE プロモーターに結合し遺伝子発現を引き起こすが、虚血脳で実際に CRE を介した遺伝子発現が起こっているかどうかは定かではなかった。著者らは CRE-LacZ 遺伝子を導入されたトランスジェニックマウスに両側総頸動脈閉塞再灌流を行い、虚血ストレス後、神経細胞で CREB のリン酸化とともに CRE を介した遺伝子発現が起こっていることを明らかにした (文献 8)。

以上は、遺伝子変異マウスを用いた検討であるが、マウス遺伝子解析は他のラッ

ト、砂ネズミに比べ進んでおり、EST情報も充実しているため、虚血により誘導される遺伝子の検索には有利と考えられる。著者らは、C57BL/6NCrjマウスの15分間の両側総頸動脈閉塞再灌流モデルを用いて、デイファレンシャル・ディスプレイ法を用いて虚血により誘導される遺伝子のクローニングを試みたところ、ストレス蛋白質の一つhsp40が検出されたため、その脳虚血における動態を検討したところ、虚血耐性を獲得した海馬CA1神経細胞ではHSC70蛋白と協調して誘導されることが明らかになった(文献9)。今日では、マウスcDNAのDNAチップも市販されており、遺伝子検索にはマウス脳虚血モデルがますます有用になると考えられる。

砂ネズミやラットの一過性前脳虚血モデルでは、多くの薬剤の神経細胞保護効果が検討されてきているが、マウスの両側総頸動脈閉塞再灌流モデルは、薬剤評価にはほとんど用いられていない。その理由として、体温、脳温、血液ガス、血圧といった生理学的パラメーターをモニター、維持するのが、マウスでは難しいことと、発症する神経細胞死の再現性がラット、砂ネズミに比べ悪いことが主因と考えられる。

### 3. マウス局所脳虚血モデルを用いた検討

局所脳虚血モデルすなわち中大脳動脈閉塞モデルの作成法は大きく二つある。ひとつはすでに前項で述べたナイロン糸を頸動脈から挿入し、中大脳動脈起始部を閉塞する方法であり、その長所と問題点はすでに述べた。とくに再開通が容易なのが利点で

あり、これまでに神経型一酸化窒素合成酵素のノックアウトマウス(文献10)、Cu, Zn-SODトランスジェニックマウス(文献11)など多くの遺伝子変異マウスでの検討がなされてきている。もう一つは、ラットのTamuraらの方法に準じて、左側頭骨底部に小骨窓を開け、中大脳動脈を直視下に電気凝固にて閉塞する方法である。本法は開頭を必要とする短所があるが、確実に中大脳動脈を閉塞でき梗塞サイズの再現性が良好なため、著者らは中大脳動脈永久閉塞モデルでの検討では本法を好んで用いている。著者らは、局所脳虚血後の梗塞進展へのICAM-1を介した微小循環障害の関与を調べるため、ICAM-1欠損マウスと野生型マウスに永久中大脳動脈閉塞を作成し、血管閉塞後の虚血周辺領域での微小循環障害の発生がICAM-1欠損マウスで抑制されており、結果的に梗塞サイズも縮小することを報告している(文献12)(図3)。

また局所脳虚血モデルは、梗塞、神経細胞死の再現性が良好なため、虚血性脳損傷後に二次的に発生する脳修復過程への特定因子の関与を遺伝子変異マウスを用いて進める上で有用であると考えられる。これまでにヒト脳外傷患者ではAPOE4アイソフォームを有すると機能回復が不良であることが報告されているが、APOE蛋白質の脳損傷修復への関与を示した報告はなかった。著者らは、一旦発生した脳梗塞病変の吸収、修復過程へのAPOE遺伝子の関与をAPOE欠損マウスを用いて検討した(文献13)。野生型マウス、APOE欠損マウスでは中大脳動脈永久閉塞による脳梗塞サイズに

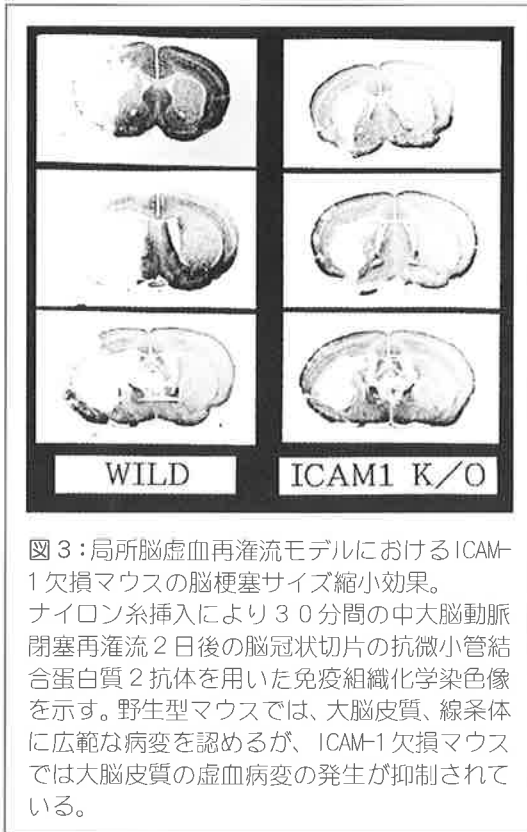


図3：局所脳虚血再灌流モデルにおけるICAM-1欠損マウスの脳梗塞サイズ縮小効果。ナイロン糸挿入により30分間の中大脳動脈閉塞再灌流2日後の脳冠状切片の抗微小管結合蛋白質2抗体を用いた免疫組織化学染色像を示す。野生型マウスでは、大脳皮質、線条体に広範な病変を認めるが、ICAM-1欠損マウスでは大脳皮質の虚血病変の発生が抑制されている。

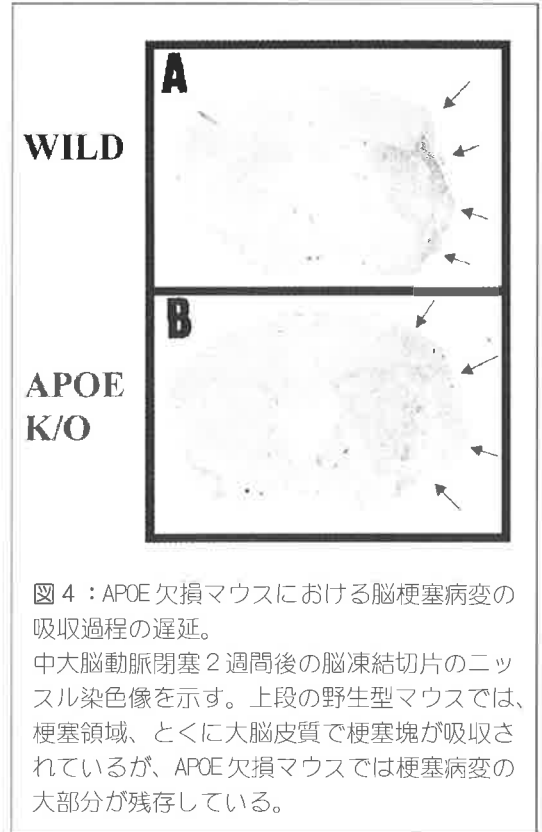


図4：APOE欠損マウスにおける脳梗塞病変の吸収過程の遅延。中大脳動脈閉塞2週間後の脳凍結切片のニッスル染色像を示す。上段の野生型マウスでは、梗塞領域、とくに大脳皮質で梗塞塊が吸収されているが、APOE欠損マウスでは梗塞病変の大部分が残存している。

差がなかったが、野生型マウスでは虚血7日目に梗塞病変に集積するマクロファージにAPOE蛋白質の発現がみられ、2週間後の梗塞病変の吸収は野生型マウスに比べAPOE欠損マウスで有意に遷延していた。梗塞病巣の吸収、修復に、梗塞に集積したマクロファージの産生するAPOE蛋白質の関与を示す結果であった(図4)。

虚血後の組織修復という観点からは、再生医学的に注目されている神経細胞新生の検討に今後遺伝子変異マウスがますます用いられるものと思われる。著者らはCrj:Wistarラット一過性前脳虚血モデル及び局所脳虚血モデルを用いて、虚血後に海馬歯状回で神経幹細胞または神経前駆細胞の分

裂、増殖が促進し、神経細胞新生が見られることを報告している(文献14,15)が、Yoshimuraらは、局所脳虚血後の海馬での神経細胞新生に、内因性のbFGFが関与していることをbFGFノックアウトマウスを用いて報告している(文献16)。

#### 最後に

最近5年間のマウス脳虚血モデルの改良点、問題点、話題について、主として著者らの研究成果を中心に述べた。多くの遺伝子変異マウスがJackson研究所から供給されており、ますますマウス脳虚血モデルを用いた研究がすすめられるものと考えられる。

<文献>

- 1: Yang G, Kitagawa K, Matsushita K, Mabuchi T, Yagita Y, Yanagihara T, Matsumoto M (1997) C57BL/6 strain is most susceptible to cerebral ischemia following bilateral common carotid occlusion among seven mouse strains: selective neuronal death in the murine transient forebrain ischemia. *Brain Res* 752:209–218.
- 2: Kitagawa K, Matsumoto M, Yang G, Mabuchi T, Yagita Y, Hori M, Yanagihara T (1998) Cerebral ischemia after bilateral carotid occlusion and intraluminal suture occlusion in mice: Evaluation of the patency of the posterior communicating artery. *J Cereb Blood Flow Metab* 18:570–579.
- 3: Yang G, Kitagawa K, Ohtsuki T, Kuwabara K, Mabuchi T, Yagita Y, Takazawa K, Tanaka S, Yanagihara T, Hori M, Matsumoto M (2000) Regional difference of neuronal vulnerability in the murine hippocampus after transient forebrain ischemia. *Brain Res* 870:195–198.
- 4: Kitagawa K, Matsumoto M, Saido TC, Ohtsuki T, Kuwabara K, Yagita Y, Mabuchi T, Yanagihara T, Hori M (1999) Species differences in fodrin proteolysis in the ischemic brain. *J Neurosci Res* 55:643–649.
- 5: Kitagawa K, Matsumoto M, Tsujimoto Y, Ohtsuki T, Kuwabara K, Matsushita K, Yang G, Tanabe H, Martinou JC, Hori M, Yanagihara T (1998) Amelioration of hippocampal neuronal damage after global ischemia by neuronal overexpression of BCL-2 in transgenic mice. *Stroke* 29:2616–2621.
- 6: Kitagawa K, Matsumoto M, Ohtsuki T, Kuwabara K, Mabuchi T, Yagita Y, Hori M, Yanagihara T (1999) Deficiency of intercellular adhesion molecule 1 fails to mitigate selective neuronal death after transient global ischemia. *Brain Res* 847:166–174.
- 7: Kitagawa K, Matsumoto M, Kuwabara K, Takasawa K, Tanaka S, Sasaki T, Matsushita K, Ohtsuki T, Yanagihara T, Hori M. The protective effect of apolipoprotein E against ischemic neuronal damage is mediated through antioxidant action. in submission.
- 8: Mabuchi T, Kitagawa K, Kuwabara K, Takasawa K, Ohtsuki T, Xia Z, Storm D, Yanagihara T, Hori M, Matsumoto M. (2001) Phosphorylation of CREB in hippocampal neurons as a protective response after exposure to glutamate in vitro and ischemia in vivo. *J Neurosci*, in press.
- 9: Tanaka S, Kitagawa K, Ohtsuki T, Yagita Y, Takasawa K, Hori M, Matsumoto M (2001) Synergistic induction of HSP40 and HSC70 in the mouse hippocampal neurons after cerebral ischemia and ischemic tolerance in gerbil hippocampus. *J Neurosci Res*, in press.



10: Huang Z, Huang PL, Panahian N, Dalkara T, Fishman MC, Moskowitz MA (1984) Effects of cerebral ischemia in mice deficient in neuronal nitric oxide synthase. *Science* 265: 1883–1885.

11: Yang G, Chan PH, Chen J, Carlson E, Chen SF, Weinstein P, Epstein CJ, Kamii H (1994) Human copper-zinc superoxide dismutase transgenic mice are highly resistant to reperfusion injury after focal cerebral ischemia. *Stroke* 25:165–170.

12: Kitagawa K, Matsumoto M, Mabuchi T, Yagita Y, Ohtsuki T, Hori M, Yanagihara T (1998) Deficiency of intercellular adhesion molecule 1 attenuates microcirculatory disturbance and infarction size in focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 18: 1336–1345.

13: Kitagawa K, Matsumoto M, Kuwabara K, Ohtsuki T, Hori M (2001) Delayed but marked expression of apolipoprotein E is involved in tissue clearance after cerebral infarction. *J Cereb Blood Flow Metab*, 21:1199–1207.

14: Yagita Y, Kitagawa K, Ohtsuki T, Takasawa K, Miyata T, Okano H, Hori M, Matsumoto M (2001) Neurogenesis by progenitor cells in the ischemic adult rat hippocampus. *Stroke* 32: 1890–1896.

15: Takasawa K, Kitagawa K, Yagita Y, Sasaki T, Tanaka S, Matsushita K, Ohtsuki T, Miyata T, Okano H, Hori M, Matsumoto M (2001)

Increased Proliferation of Neural Progenitor Cells but reduced survival of newborn cells in the contralateral hippocampus after focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb Blood Flow Metab*, in press.

16: Yoshimura S, Takagi Y, Harada J, Teramoto T, Thomas SS, Waeber C, Bakowska J, Breakefield XO, Moskowitz MA. (2001) FGF-2 regulation of neurogenesis in adult hippocampus after brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:5874–5879.

# 輸入動物も信頼と実績の CHARLES RIVER で

## ●The Jackson Laboratory (ジャクソン研究所;米国メイン州バーハーバー)より

※米国チャールス・リバー社は、2001年8月よりジャクソン研究所と国際提携関係に入りました。弊社が日本での総代理店として“JAX®MICE”をお届けいたします。

開発営業部または各営業所、弊社代理店までお問い合わせ下さい。

※お問い合わせの際は、ご希望の条件（系統名またはStock No.、週齢、性別、性別、匹数、納期、遺伝子型など）を、お分かりの範囲で結構ですのお知らせ下さい。

※ジャクソン研究所ホームページ（[www.jax.org/jaxmice](http://www.jax.org/jaxmice)）より、系統名・遺伝子名からご希望のマウスについての情報を検索することができます。



JAX® Mice coisogenic strains of C57BL/6J  
© Copyright 2001 The Jackson Laboratory  
All right reserved

## ●欧米ブリーダー各社より

ラット : Munich Wistar,

イヌ : Marshall Beagle, Butler Mongrel

フェレット : Marshall Ferret

ハムスター : BIO 14.6, BIO TO-2, BIO FIB, Armenian, Chinese

日本チャールス・リバー(株)では欧米のブリーダー、研究所等からの実験動物の輸入販売を行なっています。  
お問い合わせいただければ、価格、納期などをお知らせ致します。

**新発売 毒性予測コンピュータソフト**

**新規化合物、既存化合物、およびその代謝物  
の毒性推定・評価に画期的 Prediction 機能**

毒性予測コンピュータソフト (Multicase, Inc./USA製)

**MULTICASE(M-CASE)™**

マルタイケース™

日本チャールス・リバー株式会社

他の製品と比べた優秀性は、MULTICASEがFDAの評価を受けた結果、FDAと研究契約 (CRADA) を締結し原則非公開のFDAのデータベースを使用できることに現れています。また、その評価の結果はReportとして発行されています。ただいまFDAのMULTICASE™評価レポートを進呈しています。

—— 新しく改良され、最高に能力を引き出されたシステム、FDA ——

OTR/MCASE (MULTICASE) (AF5-8) はcarcinogensとnoncarcinogensに対し優秀な予測値 (それぞれ97%と98%) を示し、予測を誤ったのは1例 (2%) のみであった。—— MULTICASEでのこの画期的な改良は以下のような多くの点での改良によるものである。具体的には；

- (A) コントロールデータベースのサイズの強化
- (B) MULTICASEのシステム中の評価基準の最適化

(FDA Reportより抜粋)

注) 実際に使用できるデータベースはCarcinogenの他にも多数そろっています。

**《 出張デモンストレーション実施中 !! 》**  
**お気軽に下記第2営業部までお申し込み下さい。**

日本チャールス・リバー (株) 第2営業部 TEL.045-474-9336 FAX.045-474-9341  
e-mail: crj-sd@yokohama.ne.jp

**お問い合わせは**

東京営業所 TEL:045-474-9340 FAX:045-474-9341  
大阪営業所 TEL:06-6543-3901 FAX:06-6543-3908  
筑波営業所 TEL:0298-54-9925 FAX:0298-54-9935  
受注センター TEL:045-474-9350 FAX:045-474-9351

CRJ LETTERS Vol.14 No.1 この小冊子に関するご意見、ご要望を下記までお寄せください。

発行日:平成13年12月

発行所:日本チャールス・リバー株式会社

〒222-0033 横浜市港北区新横浜2-3-8 東伸24新横浜ビルB-4階

電話045(474)9340

企画・編集:日本チャールス・リバー株式会社 制作:株式会社 オービックO.A



# 日本チャールス・リバー株式会社

動物についてのお問合せ、ご注文先

国内飼育動物 ☎045(474)9350 ファックス045(474)9351

輸入動物 ☎045(474)9340 ファックス045(474)9341