

《お客様向け資料》

## 試験報告書

---

「マウス感染系を用いた in vivo 抗ウイルス活性評価」

20XX年 XX月 XX日



# 試験報告書(例)

題目: マウス感染系を用いたin vivo抗ウイルス活性評価

試験番号: \*\* - \*\*

試験内容: 培養細胞系で活性の確認された評価物(a)、(b)について、インフルエンザウイルスのマウス感染モデル系にてin vivoでの抗ウイルス活性を評価した。

試験材料: A型インフルエンザウイルス: A/PR/8/34 (H1N1)  
マウス: Balb/c, 6週齢, 雌

試験方法: 各評価物とインフルエンザウイルスを混合し4°Cで1時間静置した後、マウスに経鼻接種し、以降の体重変化を測定した。以下に試験方法の詳細を示す。

## ①マウス感染条件

投与経路 i.n. (経鼻接種)  
ウイルス株種 A/PR/8/34 (H1N1)  
接種ウイルスカ価 250 pfu/mouse  
接種量 25  $\mu$ L/mouse

## ②ウイルス溶液の調製方法

A/PR8/34(H1N1)をPBS(-)で希釈し、500 pfu/25  $\mu$ L (=20,000 pfu/mL)に調製した。  
※希釈後の溶液を「2×ウイルス液」とする。

## ③評価物溶液の調製方法

評価物(a)及び評価物(b)をPBS(-)で2 mg/mL及び20 mg/mLに調製した。  
※希釈後の溶液を「2×評価物溶液」とする。

## ④投与方法 (その他の投与経路: 経口、腹腔、静脈内など)

2×ウイルス液	50 $\mu$ L
2×評価物溶液	50 $\mu$ L
total	100 $\mu$ L

↓

4°C、1 hr

↓

マウスへ接種(i.n., 25  $\mu$ L/匹、単回投与)

↓

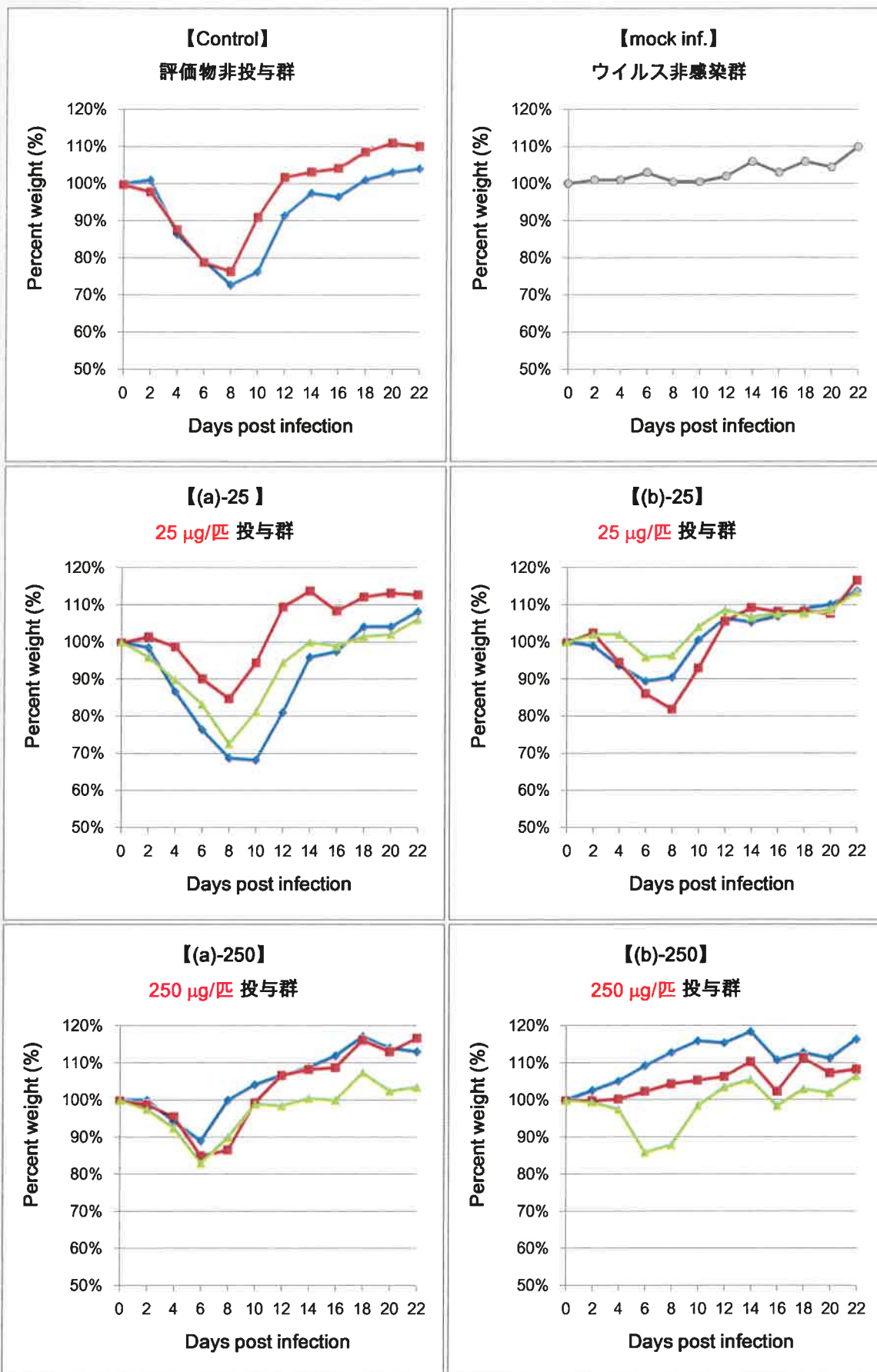
体重測定 (2日間隔で体重測定)

## ⑤各群の評価物及びウイルス接種量のまとめ

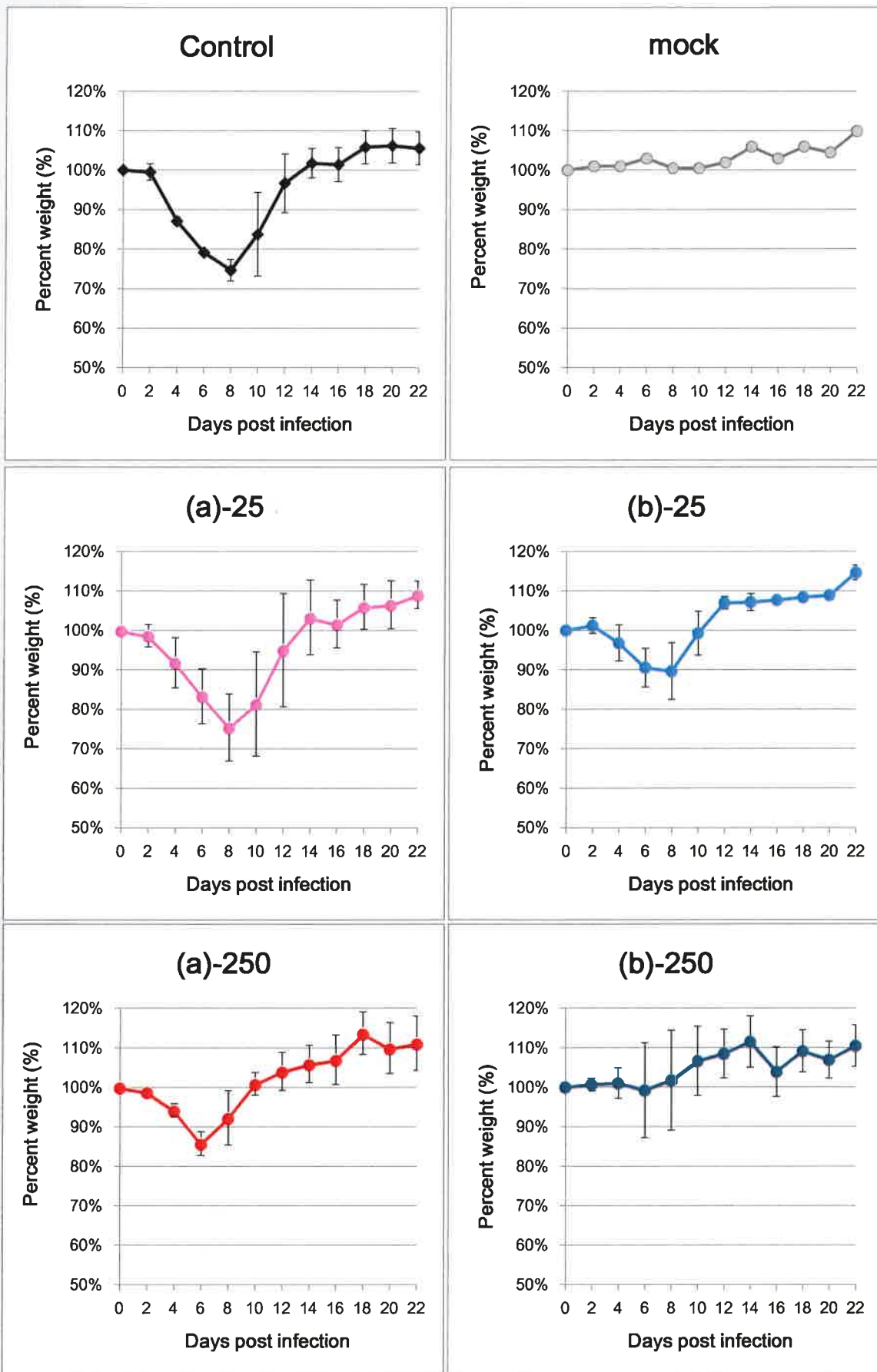
試験群名	対象評価物ID	評価物接種量 ( $\mu$ g/匹)	接種ウイルス量 (pfu/匹)	接種液量 ( $\mu$ L/匹)	N数 (匹)
Control	非投与	0	250	25	2
(a)-25	(a)	25	250	25	3
(a)-250	(a)	250	250	25	3
(b)-25	(b)	25	250	25	3
(b)-250	(b)	250	250	25	3
mock	非投与	0	非感染	0	1

使用マウス総数: 15

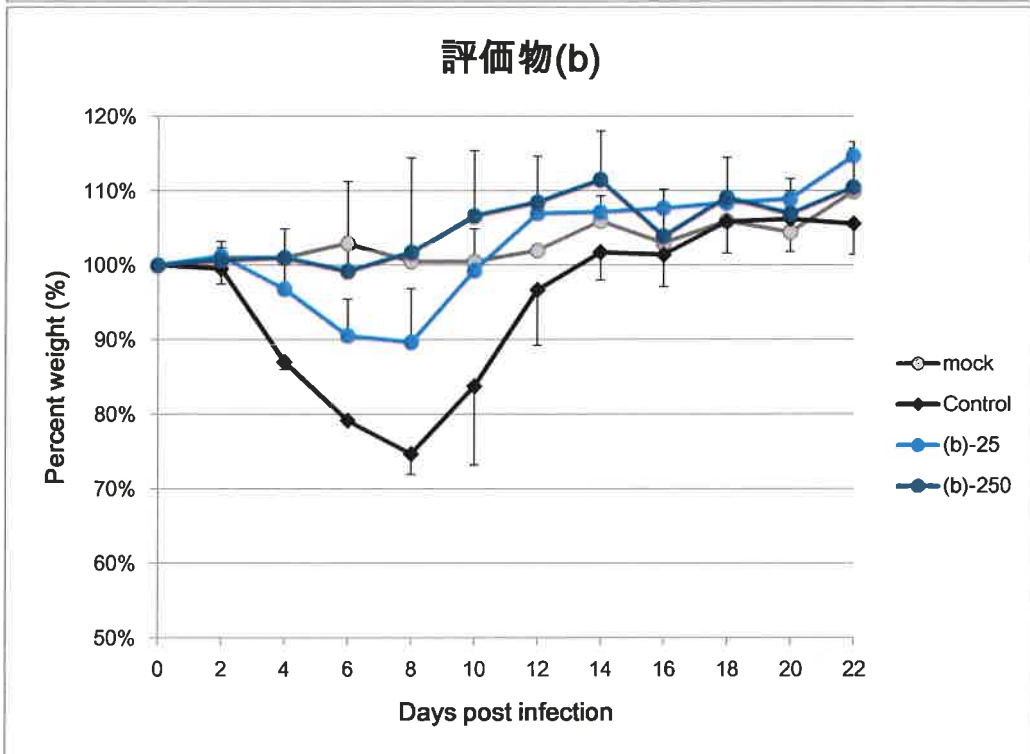
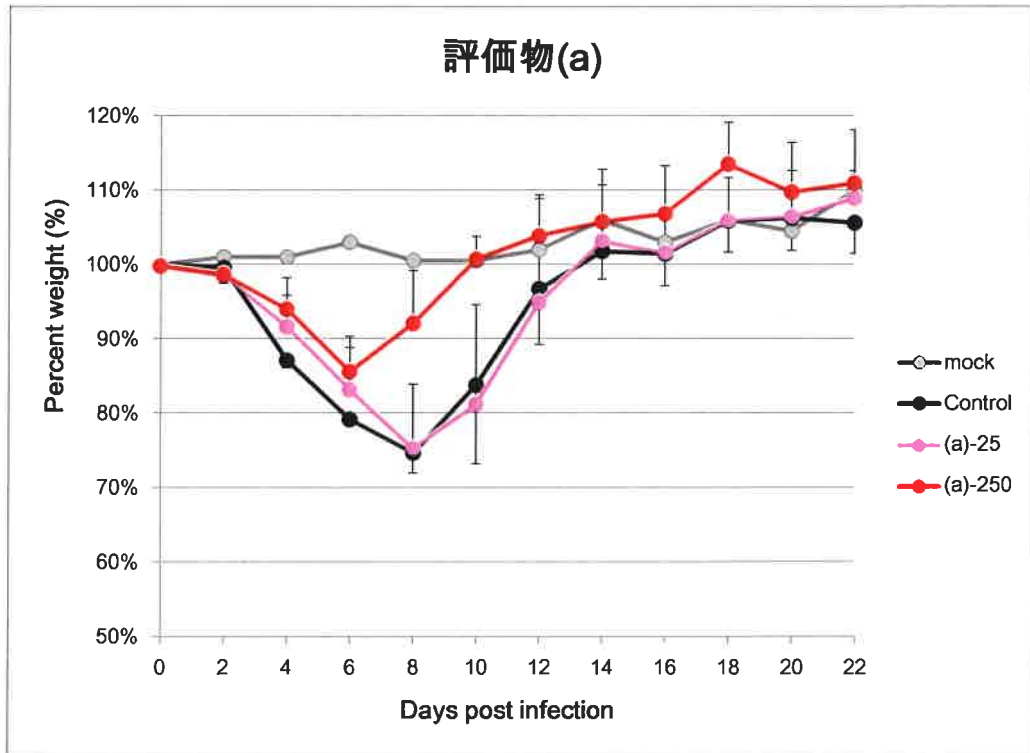
試験結果: (1) 各試験群におけるマウス個体別体重変化記録をグラフ化した。



試験結果: (2) マウス体重変化の平均値を試験群別にグラフ化した。



試験結果： (3)マウス体重変化の平均値を評価物ごとにグラフ化した



※mock群とControl群については、評価物(a)と評価物(b)の両グラフで同じデータを使用した。

結論：

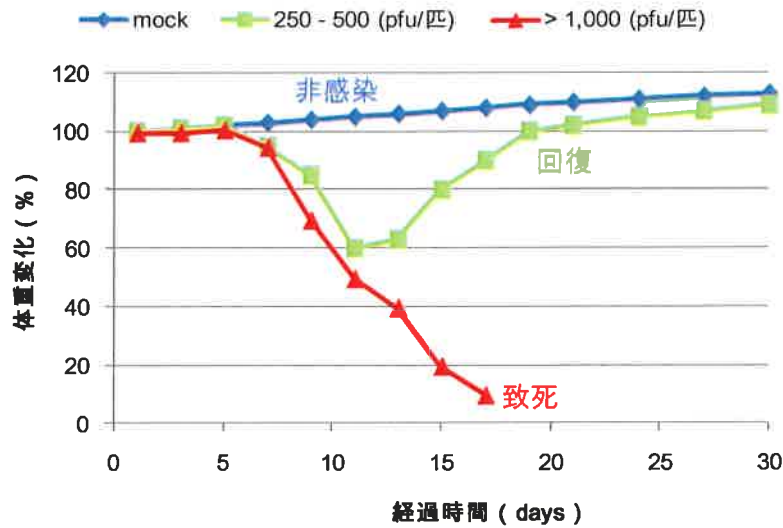
評価物(a)及び評価物(b)のいずれも評価物投与量依存的にウイルス感染に伴うマウス体重減少を抑制することが示された。また、その抑制効果は評価物(b)で特に顕著であった。

※次ページより「参考資料」としてその他の解析・評価方法と試験系の概要を示した。

# 参考資料

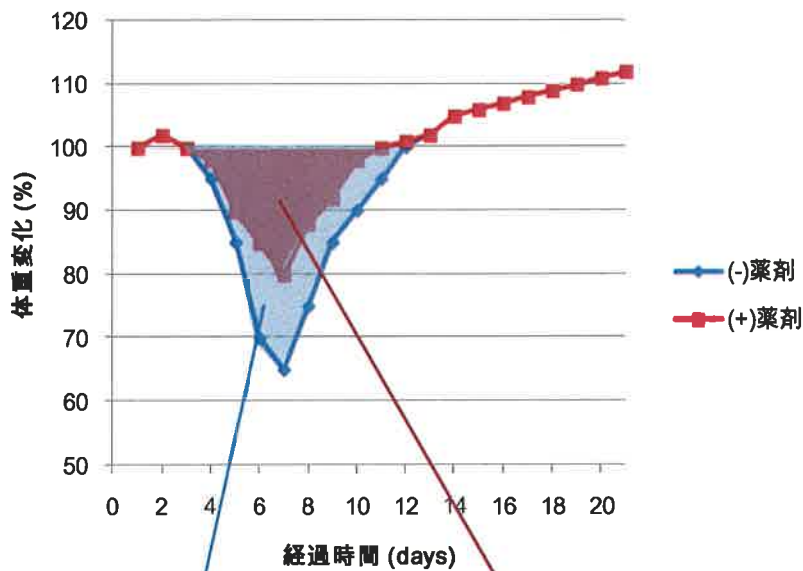
## 【マウス体重減少の評価方法について】

マウス体重変化グラフ（例）：



(1) インフルエンザウイルス接種後のマウス体重は接種したウイルス力価によって左グラフ中の3種（青、緑、赤）のうち、いずれかの挙動を示す。

今回は250 pfu/匹で接種したので、左グラフの緑色の折れ線と同様に一定期間後に体重が回復する系で評価物の抗ウイルス活性を評価した。



(2) 本評価系において薬剤の抗ウイルス活性は、ウイルス感染によるマウス体重減少効果がどの程度抑制されたかで評価するため、左グラフのように、マウス体重変化において元の体重値（100%）を下回った領域（青色影、赤色影）の面積を算出し、数値化して比較を行った。



## 【解析結果①】

※「試験報告書(例)」中で取得したデータにもとづき前述の減少面積による解析を行った。

◇ 100%を下回った領域の面積値

試験群名	1	2	3	Average	SD
mock	0			0.00	0.000
Control	5.293	3.536		4.41	1.242
(a)-25	1.532	4.375	6.598	4.17	2.539
(a)-250	0.921	1.839	2.139	1.63	0.635
(b)-25	0.331	2.204	1.414	1.32	0.940
(b)-250	1.588	0	0	0.53	0.917

※画像解析ソフト「Image J」を使用して数値化した。

◇ Control群を100%とした際の相対値(%)

試験群名	%1	%2	%3	Average	SD
mock	0.0			0.0	0.0
Control	119.9	80.1		100.0	28.1
(a)-25	34.7	99.1	149.5	94.4	57.5
(a)-250	20.9	41.7	48.5	37.0	14.4
(b)-25	7.5	49.9	32.0	29.8	21.3
(b)-250	36.0	0.0	0.0	12.0	20.8

Fig.1 評価物のインフルエンザウイルスマウス感染における体重減少率

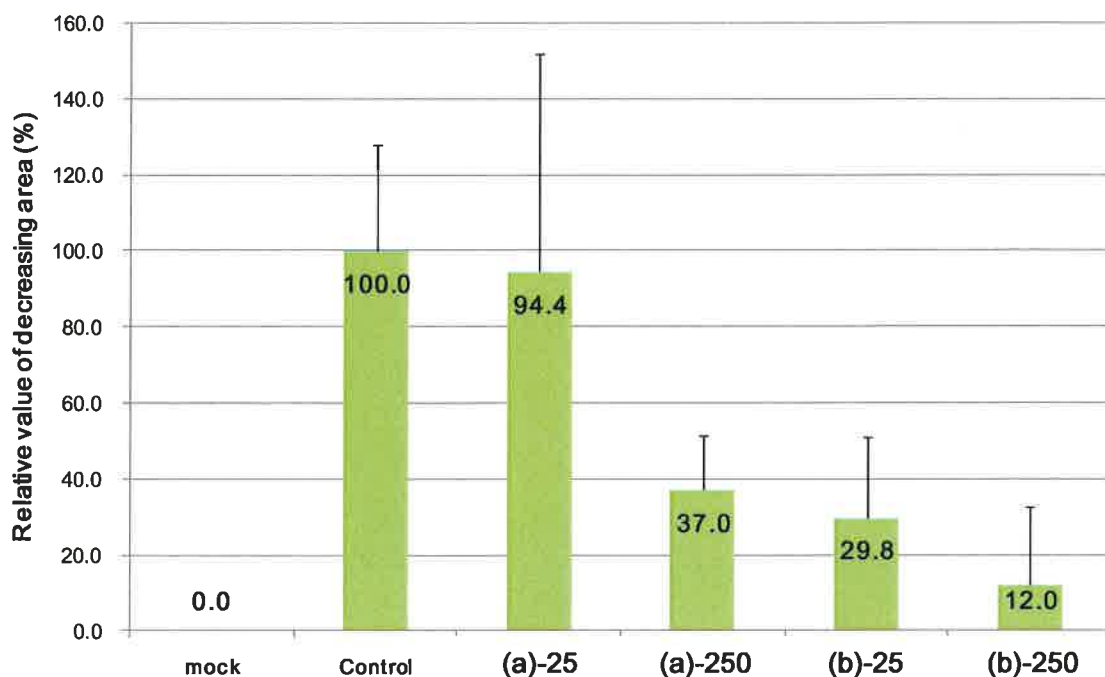


Fig.1 マウス体重減少について減少域の面積を数値化し、Control群を100%とした際の相対値としてグラフ化した。グラフの各バー中の数値は各群の平均値を示している。エラーバーはマウス個体間の標準偏差を示している。

## 【解析結果②】

※「解析結果①」の数値より「ウイルス感染阻害率」として再計算した。

ウイルス感染阻害率 (%)	
Control	0.0
(a)-25	5.6
(a)-250	63.0
(b)-25	70.2
(b)-250	88.0

《算出方法》

(ウイルス感染阻害率) = 100% - (各群相対面積の平均値)

Fig.2 評価物のインフルエンザウイルスマウス感染阻止率

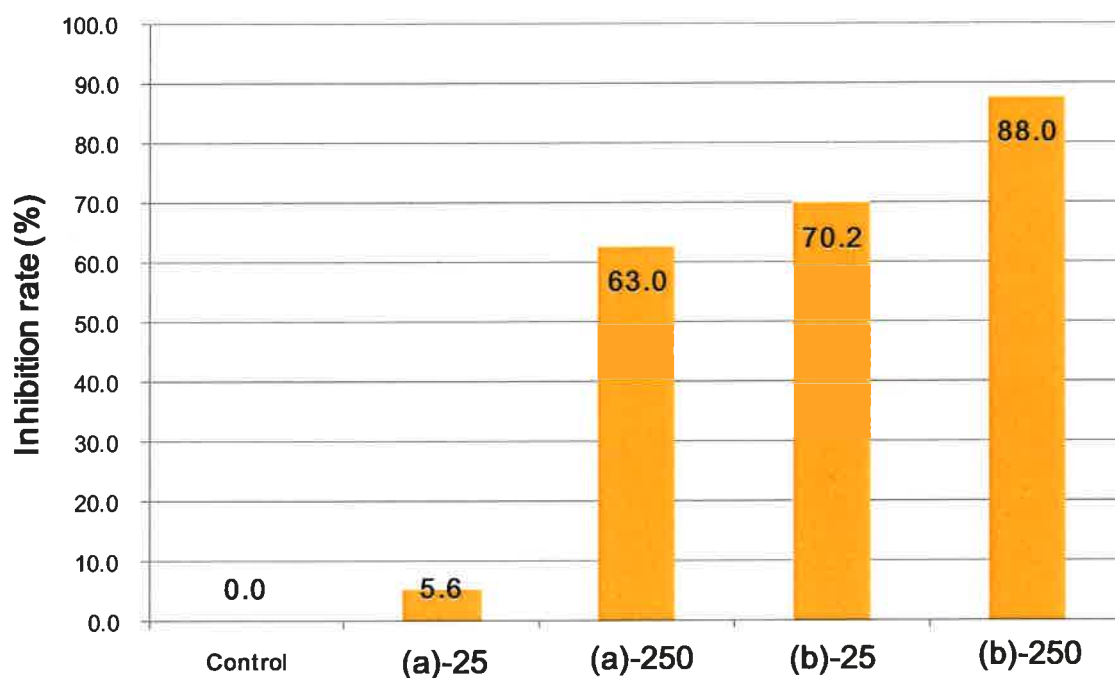


Fig.2 各評価物のマウス体重減少抑制効果をウイルス感染阻害率(%)として算出しグラフ化した。

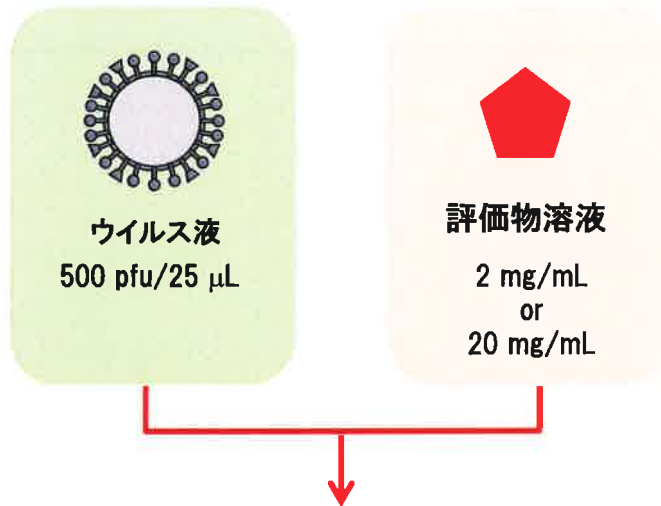


## 【in vivo 抗ウイルス活性評価試験】-例

《使用したウイルス及び評価物ID》

ウイルス種: Influenza A virus (A/PR/8/34, H1N1)

評価物ID: (a)、(b)



上記の2液を等量で混合し、**4°C**で**1時間**プレインキュベーション

《プレインキュベーション後の終濃度》 ウイルス終濃度= 250 pfu/25  $\mu$ L  
評価物終濃度= 25  $\mu$ g/25  $\mu$ L or 250  $\mu$ g/25  $\mu$ L

マウスへ**経鼻接種** (25  $\mu$ L/匹)

《マウス一匹あたりの接種量》 ウイルス= 250 pfu/匹  
評価物= 25  $\mu$ g/匹 or 250  $\mu$ g/匹