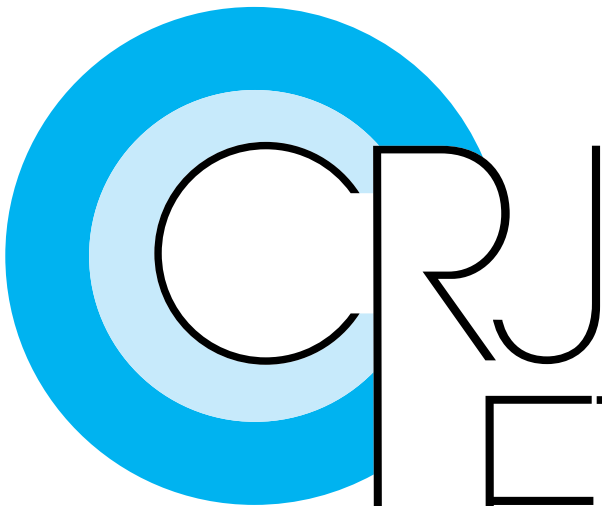


Vol.17 No.1

March 2008



LETTERS

—— 卷頭論文 ——

パーキンソン病の動物モデル

日本チャールス・リバー株式会社

パーキンソン病の動物モデル

順天堂大学 脳神経内科、老人性疾患病態・治療研究センター 望月 秀樹、早川 英規、安田 徹

要 旨

パーキンソン病は安静時振戦、筋固縮、無動、姿勢反射障害という四大症候を呈する錐体外路系の進行性変性疾患で、その正確な発症機構は未だ明らかにはなっていない。そのために、現在まで根治治療はなく、多くの施設で治療研究が進められている。現在パーキンソン病に近似した動物モデルを用いて治療研究が推進されておりその一部を紹介する。

はじめに

パーキンソン病は、10万人に100-130人の割合で生じる変性疾患であり、その発症頻度はアルツハイマー病について多く、高齢化社会を迎えその頻度はますます高くなることが予想される。多くは55歳から70歳で発症する。振戦、筋固縮、無動、姿勢反射障害が主要徴候である。進行性に黒質ドパミン神経細胞が変性する疾患で、その結果神経終末のある線条体におけるドパミンが減少することにより障害が生じてくる。しかし、その受容体は、かなり末期まで保持されているため、ドパミンの前駆物質であるL-Dopaを補充することにより症状が改善する。なぜ孤発性のパーキンソン病で黒質ドパミン神経細胞が障害されるかについては原因が不明である。今のところパーキンソン病の進行を抑制するような治療薬はなく多くの施設が競ってその開発を進めている。そのためには、パーキンソン病の動物モデルが必要不可欠である。パーキンソン病動物モデルに関しては、神経毒を投与する事により作成する方法(図1)と、パーキンソン病関連遺伝子を改変して作成する方法(図2)と大きく分けて二種類ある。現在使われているパーキンソン病モデル動物についてMPTP投与モデルを中心に概説する。

1.MPTP モデル

1983年Langstonらは、合成麻薬生成の際の副産

図1 パーキンソン病モデル(毒物投与モデル)

神経毒名	MPTP	6-OHDA	Rotenone	LPS
作用機序	ミトコンドリアコンプレックスI阻害	ドパミン神経細胞に対する神経毒	ミトコンドリアコンプレックスI阻害	ミクログリアの活性化
体内への侵入の可能性	通常なし	通常なし	残留農薬として摂取	グラム陰性菌による感染で侵入

物である1-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン(MPTP)がヒトでパーキンソン病症状を引き起こす神経毒であることを見いだした¹⁾。MPTPの投与により、神経症状に加え病理所見でも黒質の神経細胞が選択的に脱落していることが示された。それ以降、C57BL/6マウスや猿などでMPTP投与によるパーキンソンモデルが作成されるようになった。MPTPは、脳内のアストロサイトに取り込まれ、モノアミン酸化酵素MAO-Bにより酸化されてMPP⁺となる。MPP⁺はドパミントランスポーターを介してドパミン神経細胞に選択的に取り込まれミトコンドリアの電子伝達系の複合体Iを阻害し、ATP合成を障害することにより²⁾神経細胞死を引き起こすことが知られている。一方で我々は、MPTPによる神経細胞死が、ミトコンドリア呼吸障害により遊離されたチトクロームcがカスパーゼ9やApaf-1などとアポトゾームを形成し、さらにカスパーゼ3を活性化してアポトーシスという細胞死の形態をとる可能性を示した³⁾。また我々は、MPTP投与の方法により、細胞死のカスケードが異なることを、ミクログリアの病理学的な変化や炎症性サイトカインなどの活性化を調べることで証明した。これについては、投与方法のところで具体的に説明する。MPTPは、先に述べたように合成麻薬生成の際の副産物で、取り扱いが問題になるため、具体的な投与方法と使用上の注意点についても記載する⁵⁾。

1-1.MPTPの扱い方

MPTP取り扱い時は使い捨てのマスク、前着、手袋(2重)を着用し、肌の露出を避ける。

1-2.試薬の調製

試薬の調製はドラフト内でキムタオルやラボシートを敷き、その上で行う。

分注したMPTPチューブの外部は1%次亜塩素

図2 パーキンソン病モデル(遺伝子改変モデル)

遺伝子	α -synuclein Tg	AAV- α -synuclein	Parkin KO	DJ-1 KO
黒質における細胞死	No or Yes	Yes	No (+MPTP/No)	No (+MPTP/Yes)
パーキンソン病のタイプ	Park1 Park4 S-PD	Park1 Park4 S-PD	Park2	Park7

酸で拭く。また、MPTP 分注時に使用したピペットやシリンジも 1 % 次亜塩素酸を通してから廃棄する。MPTP の空瓶は、残った MPTP の液量と同程度の 1 % 次亜塩素酸を注入してから廃棄する。MPTP を調製終了後、ドラフト内は 1 % 次亜塩素酸で拭く。調製の際に出たゴミ（使い捨てのマスク、前着、手袋（2 重））はバイオハザードバックに入れ、医療廃棄物として処理する。

（MPTP はオートクレーブをかけると揮発する可能性があるため危険である。）

1-3.MPTP の投与時の注意点

MPTP は揮発性の神経毒であり、投与後尿および便に排泄されると考えられているため動物は陰圧アイソレーター内で飼育する。ケージは使い捨てが望ましい。投与する際、出来れば陰圧の安全キャビネット内にキムタオルやラボシートを敷き、その上で行う。投与に使用したシリンジは 1 % 次亜塩素酸を通す。MPTP 投与終了後、キャビネット・実験台は 1 % 次亜塩素酸で拭く。飼育後のチップは 1 % 次亜塩素酸で処理した後にバイオハザードバックに入れ焼却処分する。ケージ、給水瓶も 10 分間 1 % 次亜塩素酸に浸透後、洗剤で洗うことが望ましい。

1-5.動物の処理

灌流固定をする際、灌流固定液は流しに直接流したりせずに、キムタオルで吸収し、焼却処分する。

動物を解剖する際に使った器具は 10 分間 1 % 次亜塩素酸に浸透後、洗剤で洗う。使用した実験台は 1 % 次亜塩素酸で拭く。動物の死骸は焼却処分する。万が一 MPTP に被爆した場合、MPP⁺への変換を妨害するため、ただちに MAO-B 抑制剤を服用する。

MPTP 毒性を確認するために至適とされているのは雄の C57BL/6J マウスである。8-10 週の 25-30g 程度を用いる。雌マウスでは、エストロゲンが MPTP 毒性を抑制するという報告がありその障害に対してより効果が低いと考えられている。

1-6.MPTP の投与法

MPTP は、その投与法により細胞の障害機序が異なり病理学的変化も様々である^{3) 4) 6) 8)}。施設によって投与法の名称も異なり、同じ C57BL/6J マウスを用いても致死率の高い場合があるが、その理由は不明である。ここでは我々のデータを中心に記載する。

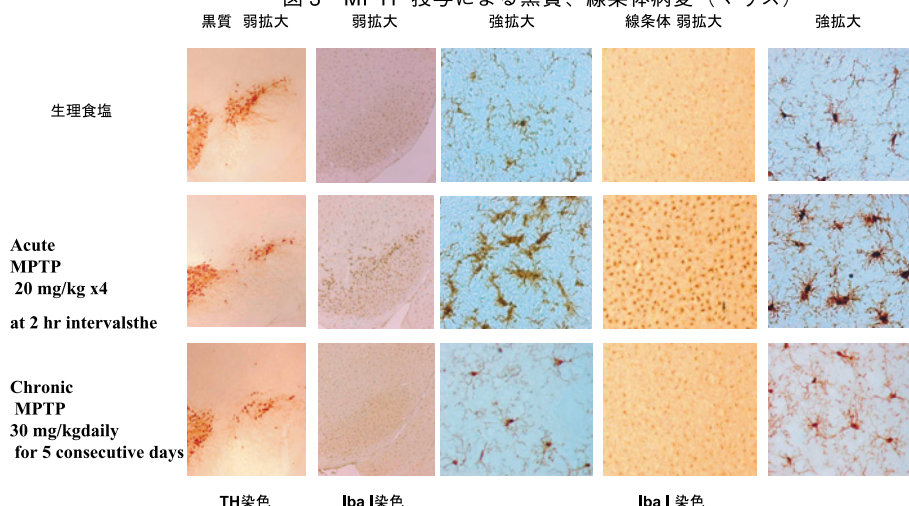
1-6-1.急性投与

20mg/kg body weight の用量で 2 時間おきに 4 回腹腔内投与する。病理学的検討は、最終投与 7 日後に灌流固定して行う。先に述べたように病理学的には、黒質の神経細胞死に加えミクログリアの活性化を黒質及び線条体で認める（図 3）。

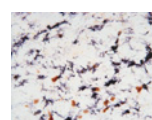
1-6-2.慢性（亜急性）投与

30mg/kg body weight の用量で 1 日 1 回、5 日間

図 3 MPTP 投与による黒質、線条体病変（マウス）



Furuya et al. J. Neurosci., 2004



※) 財団法人 東京都医学研究機構
東京都精神医学総合研究所
秋山 治彦先生 ご供与

パーキンソン病黒質病変（ヒト）

連続で腹腔内投与する。最終投与 21 日後に灌流固定し、病理学的に評価する。MPTP 慢性（亜急性）投与では投与直後での黒質の変性にばらつきが多く、TH 染色による黒質の神経細胞を評価する場合、投与 21 日後に評価することが推奨されている⁷⁾。

1-6-3. ミニポンプによる長期投与

Alzet 社の infusion pump (Capacity 200 μ l) をマウス皮下に固定し、腹腔内から長期持続的に MPTP を投与する慢性モデルである（図 4）。注入速度は、0.25 μ l/hr で 4 週間 MPTP を投与する。総投与量を 1 日当たり 50 もしくは 100mg/kg body weight とし、投与 28 日後に灌流固定し病理学的評価などを行う。Fornai ら⁸⁾ は、30mg/kg body weight で投与したモデルを報告しており、我々も同様の量で検討したが黒質の障害の程度にばらつきがあり、50mg もしくは 100mg/kg body weight で使用している。

1-7. 免疫組織化学を用いた黒質ドパミン神経細胞の評価

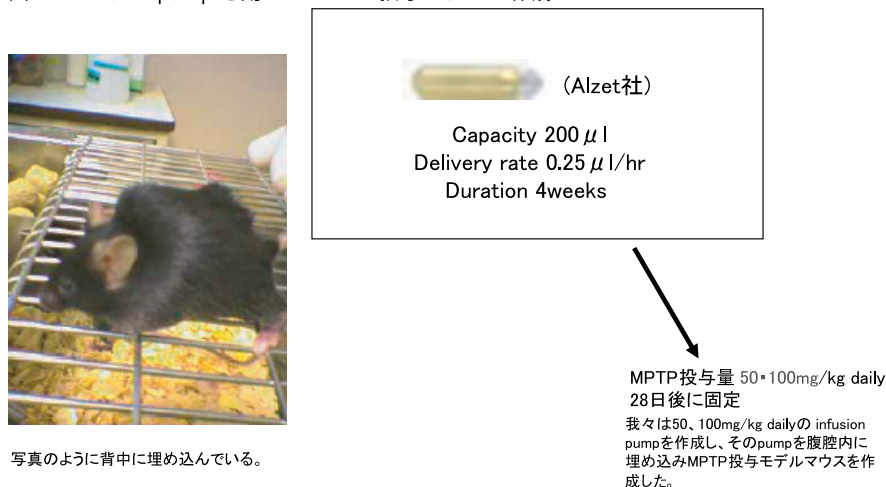
マウス黒質でのドパミン神経細胞の評価は、抗 TH 抗体染色により細胞数をカウントして行う。ステレオロジーで行うには、固定後切片を 20 μ m で薄切した後に、多数の切片での黒質における総 TH 陽性細胞数をカウントするなど、非常に煩雑である⁹⁾。我々は、撮影した写真をコンピューターで自動に評価するソフトを開発し現在使用している¹⁰⁾。今後は、どのラボでも統一した手法で使用できるよう、より簡単な手法を開発中である。

1-8. 行動解析

MPTP を腹腔内投与した場合、黒質のドパミン神

経細胞が障害を受けても行動異常が出現することが少なく、個体差によりデータがばらつくために評価が困難なことが多い。脳の片側に MPP⁺ を直接投与した片側モデルでは、アポモルフィン投与後の回転運動で評価を行うことが可能である。また腹腔内 MPTP 投与モデルでは、脳の片側に直接治療薬を投与した場合、左右差が出現するために、やはりアポモルフィン投与後の回転運動で評価することができる¹¹⁾。最近パーキンソン病モデル動物の行動解析に関する良い総説が出たので参照されたい¹²⁾。

図 4 Infusion pump を用いた MPTP 投与モデルの作成



2.6-OHDA (6-hydroxydopamine) モデル

6-OHDA はドーパミン作動性ニューロンおよびノルアドレナリン作動性ニューロンを選択的に変性させる神経毒である。6-OHDA は、ドーパミンおよびノルアドレナリンの再取り込み輸送体によってニューロンに取り込まれる。ドーパミン作動性ニューロン特異的に作用させるためには選択的ノルアドレナリン再取り込み阻害剤（デシプラミンなど）と併用されることがある。

2-1.6-OHDA モデル作成法と黒質の評価

6-OHDA は、ラットの medial forebrain bundle (MFB) に直接投与することにより、片側のパーキンソン病モデルを作成することが可能である。Crl:CD (SD) (SD 系雄性ラット) に 5mg/μl の濃度で 2μl を定位脳手術にて直接投与する (図 5)。投与 14 日後に 4 % パラフォルムアルデヒドで固定する。黒質及び線条体の切片を抗 TH 抗体を用いて免疫組織化学的に評価する (図 6)。黒質、線条体で TH 陽性細胞が減少しているため、左右差が顕著である。また、線条体の評価はドーパミントランスポーターが減少することでも

評価可能である。我々は、日本メジフィジックス社と共同研究で、6-OHDA 処置したラット脳を摘出し、線条体を含む冠状断凍結切片を作製しドーパミントランスポーターとの親和性を利用した ^{125}I -FP-CIT *in vitro* オートラジオグラフィによる解析を行った。 ^{125}I -FP-CIT 濃度は、約 40.7MBq/L (FP-CIT として 500pM) で、インキュベーション条件は室温で 3 時間とし、解析機器には BAS-2500 を用いた。やはり投与側での顕著な低下を認めた (図 6)。

図 5 6-OHDA を用いた片側パーキンソン病モデルラット

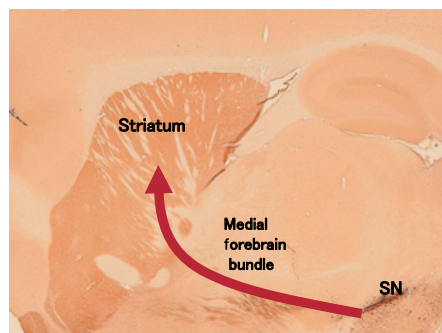
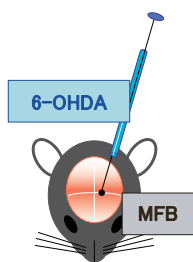
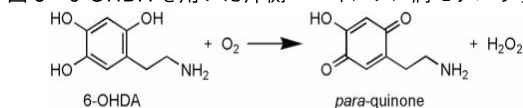
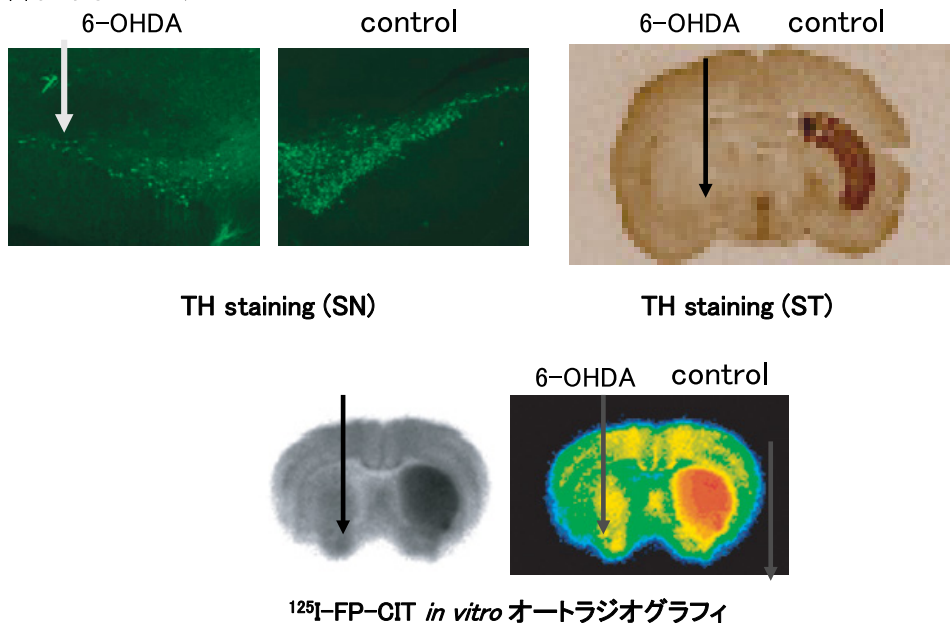


図 6 6-OHDA モデル



3. リポポリサッカライド (lipopolysaccharide : LPS) モデル

エンドトキシン LPS はグラム陰性菌の細胞壁構成成分である。LPS を黒質に選択的に投与することで片側パーキンソンモデルの作成が可能である。LPS はミクログリアの活性化を介して選択的にドパミン神経細胞を障害する¹³⁾と考えられてきた。我々はさらに詳細に解析し、定位脳手術で C57BL/6J マウスの黒質へ 1 μ g の LPS を投与することにより、腹側中脳において caspase-11 発現誘導、ミクログリアの活性化、IL-1 β 遊離を誘発し、黒質の TH 陽性細胞減少、線条体ドパミン量低下をきたすことを報告した¹⁴⁾。

4. α -synuclein 過剰発現モデル

神経変性疾患では、特有のタンパク質が神経細胞内・外に蓄積、不溶化することが多数見出されており、これらは、神経細胞死と深く関わっていると考えられている。家族性パーキンソン病において α -synuclein 遺伝子にミスセンス変異が見いだされ¹⁵⁾、孤発型パーキンソン病においてもレビー小体に α -synuclein が認められたことにより¹⁶⁾、 α -synuclein の凝集、蓄積がドパミン神経細胞死と深く関わると考えられている。また α -synuclein のチロシンのニトロ化、O-結合型 glycosylation、リン酸化などの翻訳後修飾がパーキンソン病剖検脳で確認され、このような翻訳後修飾が細胞体や神経突起で不溶繊維を形成する引き金になっている可能性が示唆されている。 α -synuclein は、低い発現量では細胞保護的に作用することが一部の *in vitro* の系で示されているが、高発現により細胞毒性を獲得することもあり二面性の作用を有するようである。ミスセンス変異を有する α -synuclein の transgenic mice¹⁷⁾ や AAVvector による黒質ドパミン神経細胞への α -synuclein 過剰発現モデル^{18) 19)} において、黒質神経細胞死およびレビー小体様の凝集体が *in vivo* で確認されている。ウイルスベクターによる α -synuclein 過剰発現系ではラット、マーモセット²⁰⁾ で正常型、変異型両者とも同様の障害が確認されており、片側性の孤発型パーキンソン病の良いモデルと考えられる。

4-1. α -synuclein 過剰発現モデル作成法

α -synuclein をコードする AAV type2 vector を作製し (力価: $\sim 10^{13}$ vg/ml)、定位脳手術装置を用いてラット黒質に 2–3 μ l 投与する。ラットは通常 8–10 週の (雄 Wistar rat) Crlj : WI を用いる。投

与に際しては 1 μ l につき 1 分間以上かけ、投与後約 10 分間は静置してからゆっくり抜く。投与 13 週後で固定する。この系も片側モデルであるため、6-OHDA と同様にアボモルフィン投与による回転運動により症状評価が可能である。

我々は発現量が高い type1-AAV を用いて、線条体へウイルスベクターを投与し、線条体から逆行性に黒質障害が生じるかどうかを検討した。ラットにおいてはほぼすべての細胞に遺伝子導入することが可能であったが猿においては遺伝子導入効率が低く、黒質障害も軽度であった²¹⁾。猿のモデルを作製する場合は、ナビゲーターシステムなどを使用し黒質に直接投与することが望ましいと考えられる。

図7 LPS 直接投与の黒質 TH 陽性細胞に及ぼす影響

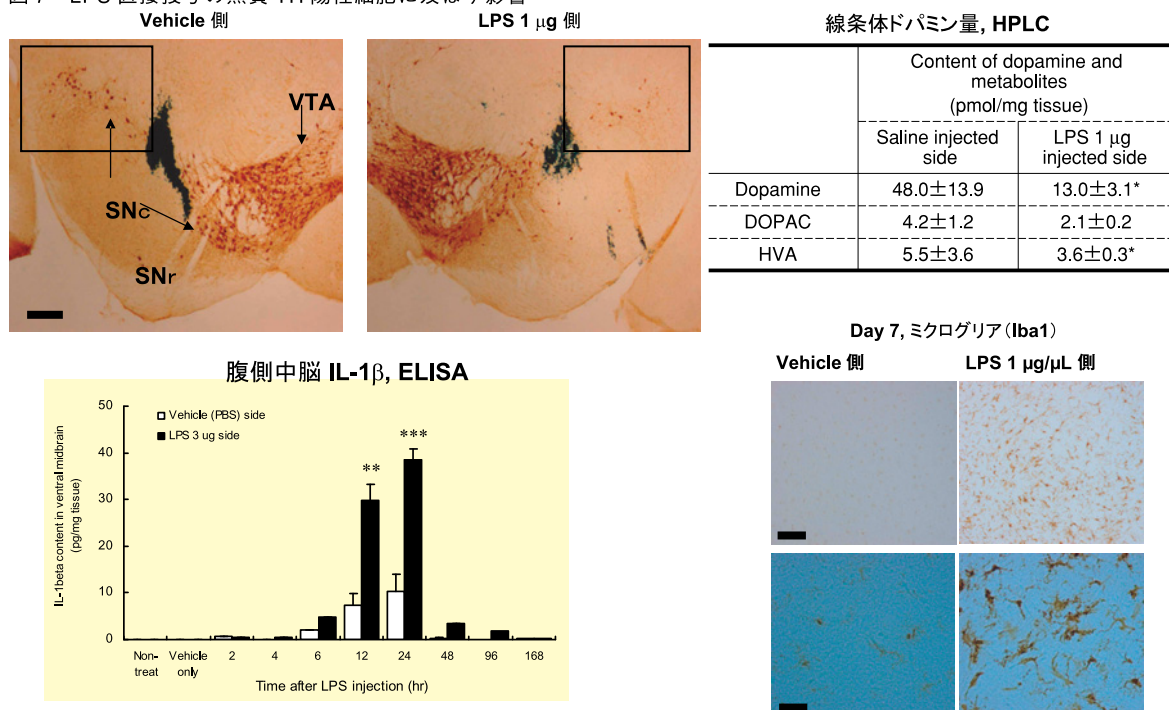
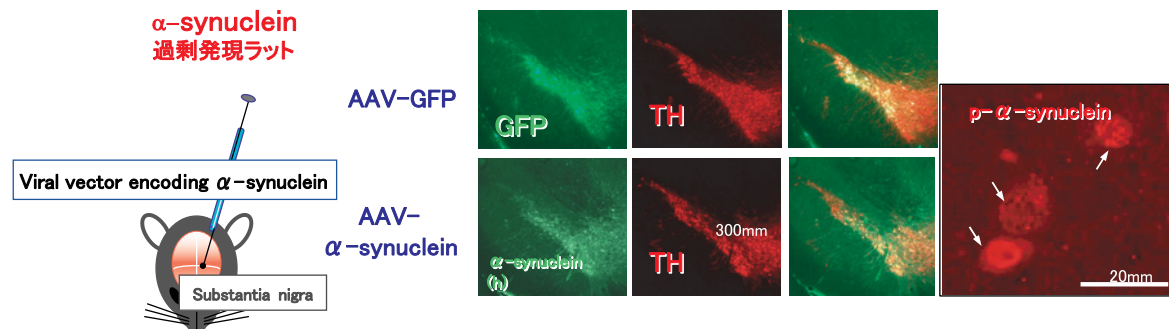
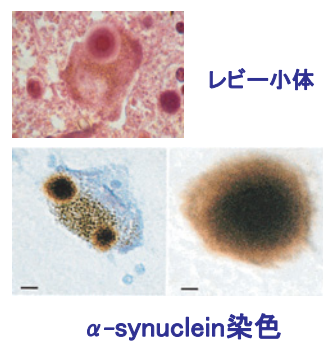


図8 孤発型パーキンソン病と α -synuclein

- 孤発型パーキンソン病では α -synuclein凝集体が沈着
- α -synuclein過剰発現は黒質障害を起こす





著者プロフィール

もちつき ひでき
望 月 秀 樹

1985 年 6 月 順天堂大学脳神経内科 専攻生
1998 年 7 月 米国, NIH, NINDS 留学 (visiting associate)
1999 年 10 月 順天堂大学脳神経内科 臨床講師
2005 年 10 月 順天堂大学脳神経内科助教授、
順天堂老人性疾患病態・治療研究センター助教授併任
2007 年 4 月 順天堂老人性疾患病態・治療研究センター准教授
順天堂大学脳神経内科准教授

現在に至る

学会、研究会、役職

日本神経学会 評議員、日本遺伝子治療学会 評議員、
日本再生医療学会、日本人類遺伝学会
日本神経培養研究会 世話人、成体脳のニューロン新生懇談会 幹事、
順天堂大学同窓会 理事

研究テーマ

パーキンソン病の解析と治療

文 献

1. Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irwin I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. Science. 1983 Feb 25 ; 219 (4587) : 979-80.
2. Mizuno Y, Suzuki K, Sone N. Inhibition of ATP synthesis by 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP⁺) in mouse brain in vitro and in vivo. Adv Neurol. 1990 ; 53 : 197-200.
3. Mochizuki H, Hayakawa H, Migita M, Shibata M, Tanaka R, Suzuki A, Shimo-Nakanishi Y, Urabe T, Yamada M, Tamayose K, Shimada T, Miura M, Mizuno Y. An AAV-derived Apaf-1 dominant negative inhibitor prevents MPTP toxicity as antiapoptotic gene therapy for Parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Sep 11 ; 98 (19) : 10918-23.
4. Furuya T, Hayakawa H, Yamada M, Yoshimi K, Hisahara S, Miura M, Mizuno Y, Mochizuki H. Caspase-11 mediates inflammatory dopaminergic cell death in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. J Neurosci. 2004 Feb 25 ; 24 (8) : 1865-72.
5. Przedborski S, Jackson-Lewis V, Naini A, Jakowec M, Petzinger G, Miller R, Akram M The parkinsonian toxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) : a technical review of its utility and safety. 2001 J Neurochem 76 : 1265-1274.
6. Anderson DW, Bradbury KA, Schneider JS. Neuroprotection in Parkinson models varies with toxin administration protocol. Eur J Neurosci. 2006 Dec ; 24 (11) : 3174-82.
7. Turmel H, Hartmann A, Parain K, Douhou A, Srinivasan A, Agid Y, Hirsch EC. Caspase-3 activation in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-treated mice. Mov Disord. 2001 Mar ; 16 (2) : 185-9.
8. Fornai F, Schluter OM, Lenzi P, Gesi M, Ruffoli R, Ferrucci M, Lazzeri G, Busceti CL, Pontarelli F, Battaglia G, Pellegrini A, Nicoletti F, Ruggieri S, Paparelli A, Sudhof TC. Parkinson-like syndrome induced by continuous MPTP infusion: convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and alpha-synuclein. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Mar 1 ; 102 (9) : 3413-8.
9. Mandir AS, Przedborski S, Jackson-Lewis V,

- Wang ZQ, Simbulan-Rosental CM, Smulson ME, Hoffman BE, Guastella DB, Dawson VL. Poly (ADP-ribose) polymerase activation mediates 1-methyl-4-phenyl- 1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced parkinsonism. 1999 Proc Natl Acad Sci USA 96 : 5774-5779.
- 10.Wada M, Yoshimi K, Higo N, Ren YR, Mochizuki H, Mizuno Y, Kitazawa S. Statistical parametric mapping of immunopositive cell density. *Neurosci Res.* 2006 Sep ; 56 (1) : 96-102.
- 11.Yamada M, Mizuno Y, Mochizuki H. Parkin gene therapy for alpha-synucleinopathy : a rat model of Parkinson's disease. *Hum Gene Ther.* 2005 Feb ; 16 (2) : 262-70. Erratum in: *Hum Gene Ther.* 2005 Mar ; 16 (3) : 400.
- 12.Meredith GE, Kang UJ. Behavioral models of Parkinson's disease in rodents : a new look at an old problem. *Mov Disord.* 2006 Oct ; 21 (10) : 1595-606.
- 13.Herrera AJ, Castano A, Venero JL, Cano J, Machado A. The single intranigral injection of LPS as a new model for studying the selective effects of inflammatory reactions on dopaminergic system. *Neurobiol Dis.* 2000 Aug ; 7 (4) : 429-47.
- 14.Arai H, Furuya T, Yasuda T, Miura M, Mizuno Y, Mochizuki H. Neurotoxic effects of lipopolysaccharide on nigral dopaminergic neurons are mediated by microglial activation, interleukin-1beta, and expression of caspase-11 in mice. *J Biol Chem.* 2004 Dec 3 ; 279 (49) : 51647-53
- 15.Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science.* 1997 Jun 27 ; 276 (5321) : 2045-7.
- 16.Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature.* 1997 Aug 28 ; 388 (6645) : 839-40.
- 17.Masliah E, Rockenstein E, Veinbergs I, Mallory M, Hashimoto M, Takeda A, Sagara Y, Sisk A, Mucke L. Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice : implications for neurodegenerative disorders. *Science.* 2000 Feb 18 ; 287 (5456) : 1265-9.
- 18.Kirik D, Rosenblad C, Burger C, Lundberg C, Johansen TE, Muzyczka N, Mandel RJ, Bjorklund A. Parkinson-like neurodegeneration induced by targeted overexpression of alpha-synuclein in the nigrostriatal system. *J Neurosci.* 2002 Apr 1 ; 22 (7) : 2780-91.
- 19.Yamada M, Iwatsubo T, Mizuno Y, Mochizuki H. Overexpression of alpha-synuclein in rat substantia nigra results in loss of dopaminergic neurons, phosphorylation of alpha-synuclein and activation of caspase-9 : resemblance to pathogenetic changes in Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2004 Oct ; 91 (2) : 451-61.
- 20.Kirik D, Annett LE, Burger C, Muzyczka N, Mandel RJ, Bjorklund A. Nigrostriatal alpha-synucleinopathy induced by viral vector-mediated overexpression of human alpha-synuclein : a new primate model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Mar 4 ; 100 (5) : 2884-9.
- 21.Yasuda T, Miyachi S, Kitagawa R, Wada K, Nihira T, Ren YR, Hirai Y, Ageyama N, Terao K, Shimada T, Takada M, Mizuno Y, Mochizuki H. Neuronal specificity of alpha-synuclein toxicity and effect of Parkin co-expression in primates. *Neuroscience.* 2007 Jan 19 ; 144 (2) : 743-53



60

SIXTY YEARS

OF INNOVATION

1947-2007

<http://www.crj.co.jp>

日本チャールス・リバーのホームページが新しくなりました！

さらに使いやすく、見やすくなった新ホームページで、最新情報を是非、ご覧ください。
 日本チャールス・リバーがお届けする、各種試験サービスがご覧いただけます。
 実験動物の検査報告書もダウンロードできます。

日本チャールス・リバー株式会社
 チャールス・リバー・ラボラトリーズ・サービス株式会社

本 社 〒222-0033 横浜市港北区新横浜3-17-6 イノテックビル11F TEL. 045(474)9340 FAX. 045(474)9341
 受注センター 東日本営業部 大阪営業所 厚木飼育センター 日野飼育センター 筑波飼育センター
 横浜SASセンター 大阪SASセンター 技術センター 試験サービスセンター

<http://www.crj.co.jp>

お問い合わせは

東日本営業部 TEL 045(474)9340 FAX 045(474)9341
 大阪営業所 TEL 06(6543)3901 FAX 06(6543)3908

CRJ LETTERS 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20年3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3-17-6イノテックビル11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

・ 弊社の英文社名は Charles River Laboratories Japan, Inc. です

お問合せ、ご注文は下記にて承ります。

国内飼育動物	受注センター	☎045(474)9350	FAX 045(474)9351
輸入動物	開発営業 Gr	☎045(474)9340	FAX 045(474)9341
受託サービス他	リサーチモデルサービス部	☎045(474)9340	FAX 045(474)9341

<http://www.crj.co.jp>