

LABIO 21

Japanese Society for Laboratory Animal Resources



公益社団法人

日本実験動物協会

Tel. 03-5215-2231 Fax. 03-5215-2232
<http://www.nichidokyo.or.jp/> E-mail: jsla@nichidokyo.or.jp

【連載企画】

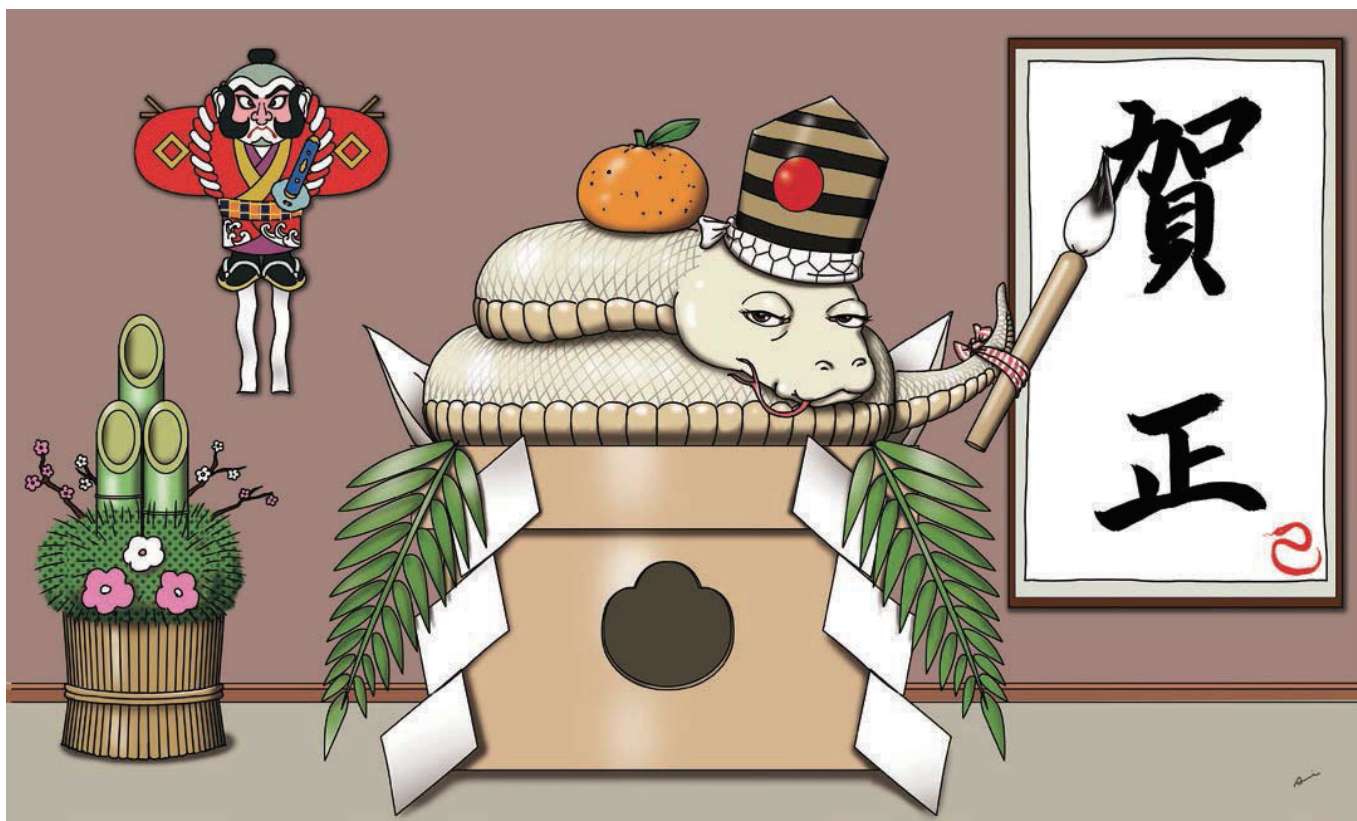
マウス・ラット生殖技術の新時代

～課題を解決し、職人技から誰でもできる技術へ～(Ⅲ)

【連載特集】

動物施設震災危機管理 update(Ⅱ)

3Rsの進展に寄与する動物実験技術におけるDX(Ⅰ)



マウス尾静脈自動注射システム ～AUTiv™(オーティヴ)～

株式会社夏目製作所

プランニングチーム 小川 哲平、永井 類、菅生 実果

製造企画グループ 岩本 司、袴田 康佑

■マウス尾静脈自動注射システム AUTiv™とは

AUTiv™は、世界初の無麻酔下でのマウスの尾静脈への自動薬液投与を可能にする装置である。マウスの尾静脈への薬液投与は、動物実験において一般的な技術であるが、尾静脈と同程度の太さの注射針を正確に穿刺する必要があり、高度な技術が必要となる。これまでに、マウスやラットにおける自動穿刺の試みはあったものの、マウスの動きや尾静脈の細さなどの要因から、無麻酔下での自動穿刺は技術的に困難であった。AUTiv™を用いることで、尾静脈と注射針の位置を正確に認識・制御しながら、薬液の自動投与が可能となる。

AUTiv™は株式会社Preferred Networksが開発し、住商ファーマインターナショナル株式会社が販売を行い、株式会社夏目製作所が製造を担当する。AUTiv™は、動物実験精度の向上と、動物実験における動物の負担軽減を目的として開発が進められた。



図1 AUTiv™全体像

■AUTiv™の開発背景

日本国内では、年間250万匹程度のマウスが動物実験用として販売され（日本実験動物協会2022年調査結果）、施設内で交配されるマウスを含めると同数以上が実験・試験に供されている。その中でもマウスの尾静脈内への薬液投与は最も行われる手技の一つである一方、技術の獲得が非常に難しく、対応できる者が限られている。

第71回日本実験動物学会総会（2024年・京都）ランチョンセミナーにて実施したアンケート（実施：夏目製作所）では、回答者76名中65名が尾静脈投与を行った経験があり（図2）、初め

での投与においてICRで67%、C57BL/6で77%の実施者がその手技を比較的難しいと感じると回答した。（図3）

マウスの尾静脈径は注射針と同程度の太さ（0.3mm程度）であることから、実験者には正確な穿刺技術が求められ、技術習得には多くの訓練が必要である。スキルのばらつきにより実験誤差が増大する可能性があるため、それを考慮して同一実験者が担当するなど柔軟でない働き方につながることもある。また、スキルを持った研究者が行わざるを得ないので、一般的に時間単価が高くなり、本来行うべきクリエイティブな作業に割く時間を奪っている。さらに、人の手による穿刺は針刺事故のリスクもあり、実験者には失敗できないという精神的負担がかかる。

倫理面では、動物実験の3Rsの原則の基、どうしても動物を用いる必要がある（Replaceできない）場合には、匹数を減らし（Reduction）、なるべく苦痛を減らす（Refinement）ことが求められる。しかし、上述の通り、

【質問事項】 動物実験実施者76名（過去実施したことがある含む）に対して、
研究及び試験で実施したことのある投与方法はなにか？

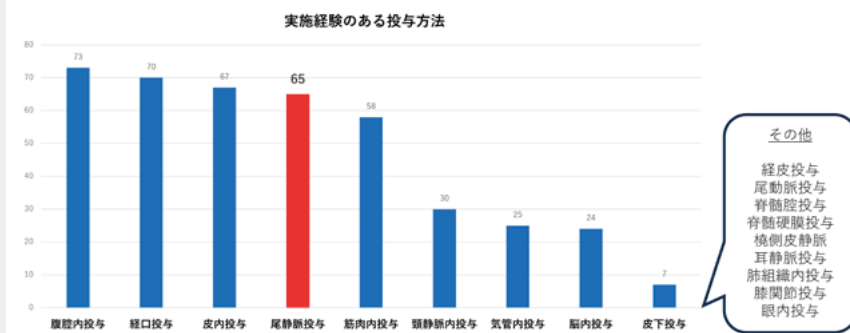


図2 アンケート結果①（実施：夏目製作所）

【質問事項】 動物実験実施者76名（過去実施したことがある含む）に対して、
初めて手技を行った際に感じる難易度はどのくらい感じますか？

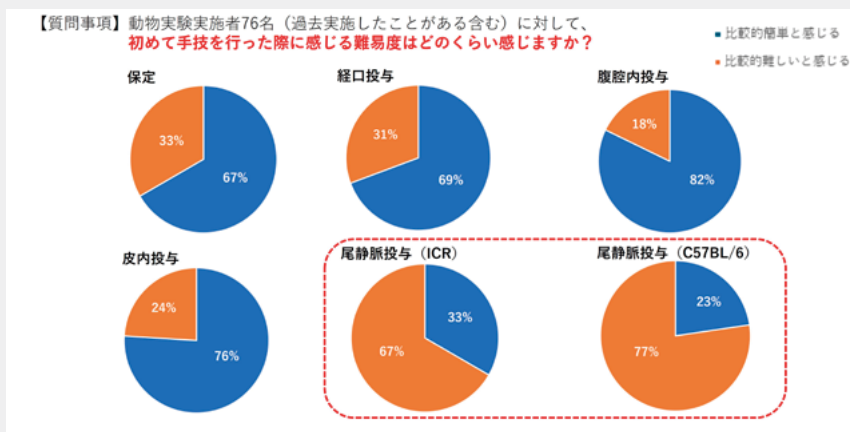


図3 アンケート結果②（実施：夏目製作所）

難易度の高い尾静脈投与の手技においては、実験者の経験が浅い、またはスキルが伴わない場合に、穿刺に時間を要したり、失敗をしたりすることで、動物への負担が増大することが起こりえる。さらに、実験精度の低下により必要以上の動物数が使用されることやスキル習得のために練習用途で多くの動物が用いられることもある。

ロボットにより当該手技を自動化することで実験精度を向上させ、可能な限り最小限の動物数で信頼性の高い実験を行うことが可能となり、生体購入や飼育のコストも削減できるようになる。また、製薬企業や生命科学の研究者が尾静脈投与に割く

時間コストだけでも、ロボットの導入により国内で大きな削減効果があると試算されている。

特別な技術がなくても尾静脈投与が可能になる為、柔軟な働き方や、新たな雇用の創出も期待できる。さらに、動物実験の3Rsの原則を尊重するという観点からも国内外で大きなニーズがあると考えられることから数年間の開発、製造の検討を経て今春より発売が開始されている。

■AUTiv™の機能紹介

AUTiv™は、①最小限のストレスでマウスを保定する「マウス保定機能（マウス保定台）」、②尾静脈の位置を正しく認識する「深層学習を用いた画像認識

技術」、③針先を正確に尾静脈に入れる「位置決め制御技術」、④系統毎に最適な穿刺位置を設定できる「パラメータ」、⑤逆血を確認し、決まった時間で薬液を投与する「力制御技術」から成り立っている^{2,3}。

①マウス保定台

マウスホルダ（以下、ホルダ）は体サイズにより、Sサイズ・Lサイズ（図4）から選択することができる。同ホルダはAUTiv™の固定台から着脱可能で、ケージ内でマウスをホルダに入れることができるため、不慣れな実験者でも逸走させてしまうリスクを最小限に抑えることができる。（図5）

また頭部をおさえることがない機構のため、従来の保定器よりもマウスのストレスを抑えることができる。（逸脱防止用キャップは使用 / 不使用が選択可能）

マウスを入れたホルダは



図4 マウスホルダおよび逸脱防止用キャップ



図5 ホルダにマウスを入れる様子

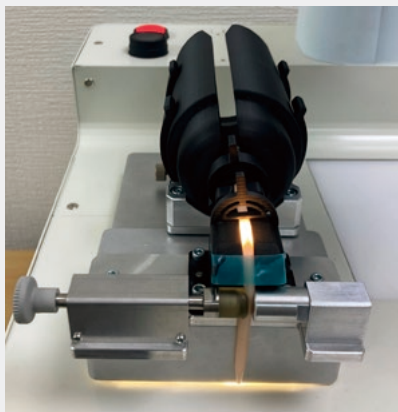


図6 AUTiv™にマウスホルダを設置した状態



図7 ヒーターマット (写真: KN-475 夏目製作所)

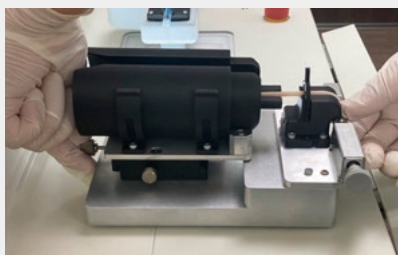


図8 AUTiv™ホルダ固定台調整の様子

AUTiv™の固定台に設置する。ホルダは左右に回転させることが可能で、尾静脈を真上に向けて固定することが容易な機構である。尾の固定は1か所で強く固定すると、血流を障害したり、尾を痛めたりしてしまう可能性があることから、2つのクリップと1つのレバー、サージカルテープなどで優しくかつ確実に行う。(図6)

マウスの状態により血管が収縮して怒張していない場合は、ケージごとヒーターマット(図7)

などで保温したり、カット綿や指を用いて尾静脈を怒張させたりすることで成功率が向上する。

尾静脈に穿刺する位置は、ホルダを設置した固定台ごと前後に移動させることで調整を行う。また尾がしっかりと張った状態でないと穿刺後に静脈から針が抜けることがあるため、固定後に尾を張る機能も兼ねている。(図8)

②深層学習を用いた画像認識技術

4Kステレオカメラは人間の眼と同じく2点から捉えることで、尾静脈を3次元的にとらえ、正確な静脈位置認識を可能とした。(図9、図10)

固定台の下から尾にLEDライトを照射することで、尾静脈を浮かび上がらせて撮影し、捉えた画像から静脈検出器を用いて尾静脈の位置を認識する。静脈検出器の開発には深層学習技術を用いており、従来手法で誤検出していた個体や、尾に水滴やゴミがついているケースにおいても、尾静脈を正しい位置で安

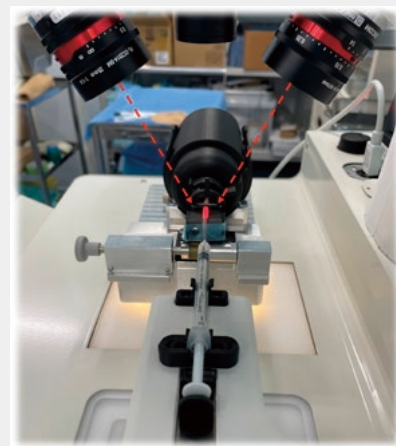


図9 4Kステレオカメラによる尾の撮影

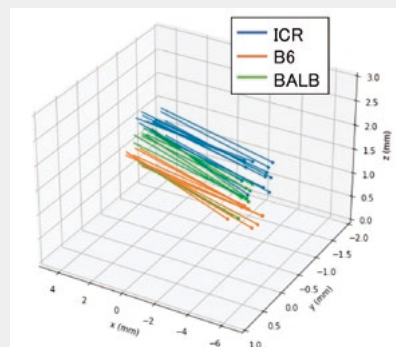


図10 3次元再構成した尾静脈の推定位置3

定して検出することが可能である。

認識した尾静脈の位置は、側面図に高さ(z軸)/前後(x軸)が表示され、タッチパネルでもリアルタイムで確認を行うことができる。(図11)

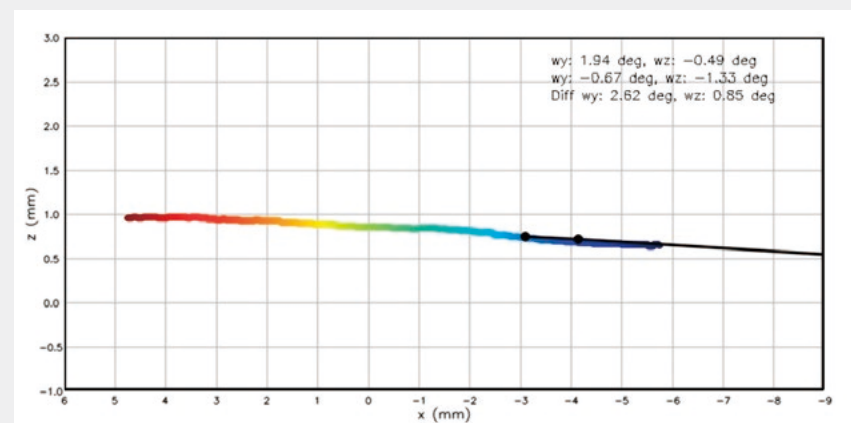


図11 静脈検出器により推定された尾静脈の側面図



図12 5軸ステージにシリンジを設置した様子

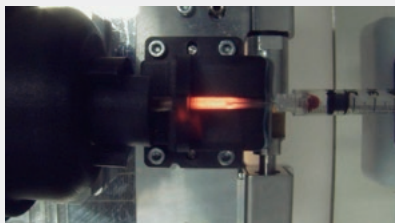


図13 逆血確認の様子
(マウス:C57BL/6,メス,7週齢)

③位置決め制御技術

薬液を充填したシリンジは、5軸ステージに設置し、ベベル面が真上となるよう調整する。(図12) 現在使用可能なシリンジは、マイジェクター(テルモ社)およびニプロVAシリンジ(ニプロ社)の1ml×27Gもしくは1ml×29Gとなっている。ニプロVAシリンジはベベル面と目盛りが同一面となるよう針が取り付けられているため、その調整が容易である。

針先位置の位置決め精度は約0.021mmと非常に高精度であり、2段階のキャリブレーション機能を実装している。キャリブレーションの1段目は装置の起動時に行うが、はじめに1分程度の診断で必要性を確認し、必要な場合にのみ実行する(8分程度)。2段目は注射器を装着する都度実行される(1秒以下)。これらの機能により、ワゴンに乗せて移動することや、シリンジの製造上のばらつきにも対応し、“精度”と“使い勝手”を実現している。

④パラメータ

AUTiv™は様々なパラメータを設定することが可能である。

- ・穿刺パラメータ: 穿刺開始位置、穿刺距離、穿刺速度
- ・投与パラメータ: 薬液注入時間、逆血確認動作時間

これらのパラメータを基に、穿刺後に逆血確認(図13)を行い、針先が尾静脈内に確実に入っていることを確認し、パラメータで設定された薬液注入時間(最長10秒)で投与を行う。

AUTiv™を用いて様々な個体に投与する中で、系統やオス/メスなどにより、最適な穿刺位置が異なることが判明した。最適なパラメータが設定できていない系統で初めて使用する際の穿刺成功率は20～30%程度であった。しかし現在では、ICR、

C57BL/6、BALB/c、BALB/c nu/nu、NOG に対しての適切なパラメータの設定が完了し、開発・製造元による評価試験(ICR、C57BL/6のみ実施)において、穿刺成功率は80%以上、投与成功率(同一個体に対して3回以内に投与成功)は100%を達成できるまでに向上している。(図14)

穿刺1回にかかる時間は、「ケージからマウスを取り出し、投与後ケージに戻すまで」に約2～3分を必要とする。

⑤力制御技術

5軸ステージに設けられた押子ホルダは力制御を行い、シリンジの押子を操作する。パラメータの説明の中でも述べた通り、押子を牽引して逆血をとったり、薬液の投与を設定通りの時間で行ったりすることを自動的に行うことができる。逆血確認動作は注射針が穿刺された位置から

使用例 | ICRとC57BL/6を用いた“穿刺精度”と“作業時間”



**AUTiv™ (製品版)を用いたマウス(ICRおよびC57BL/6) 22匹への生理食塩水の尾静脈投与において個体成功率が100%
1回の試行当たりの成功率はICR100%、BL/6が86%、作業時間は~3分以内/匹/人。**

系統	ICR			C57BL/6		
	15週齢	8週齢	5週齢	15週齢	8週齢	5週齢
使用動物数	4	3	3	4	4	4
試行回数	4	3	3	4	5	5
成功回数	4	3	3	4	4	4
エラー回数	0	0	0	0	1	1
試行成功率(%)	100%	100%	100%	100%	80%	80%
個体成功率(%)	100%	100%	100%	100%	100%	100%
使用針	29G	29G	29G	27G	27G	29G

■実施方法

系 統 : ICRおよびC57BL/6
週 齢 : 5, 8, 15週齢
性 別 : オス
匹 数 : 各群3~4匹
投与薬剤 : 生理食塩水(0.1ml)

穿刺条件: 片側の静脈に対して3回まで(穿刺失敗時、出血があれば1回とカウント)

ICR用、C57BL/6用に調整したパラメータ設定を使用

C57BL/6には補助固定としてテープを使用

尾への加温なし。血管が細い場合は、保定時に手で怒張操作を実施

Nautilus Scientific Co., Ltd. ~ Since 1946 ~ We are always researcher's good partner and going along with the future of life science. <https://www.naumi.co.jp/>

図14 ICRおよびC57BL/6に対するAUTiv™の評価試験結果

決められた距離を牽引する。また、薬液注入の際には、制限された電流値を利用し、注入に対してこれを超えた力が必要になったとき（例えば、血管でない部位に針が刺さった場合など）には自動停止するため、それ以降の薬液注入は中断される。

従って、AUTiv™を使用すれば、誤って組織に薬液を注入することで血管が見えなくなり、穿刺に失敗するリスクを軽減することができる。逆血を確認し、マウスが動かない状態であれば、投与を高い成功率で行うことが可能となる。

■AUTiv™の現在地点と将来展望

第一にまずは、高い成功率で尾静脈投与ができるように開発・製品化を進めた結果、以下のような課題解決ができるようになったことから、2025年3月には複数の研究施設様で運用がスタートする予定である。（図1）

【主な課題解決】

1. 尾静脈投与ができる人員が限られていることで、プロトコルの制限や、他の投与経路でやむなく行っているケースの改善。
2. 危険性のある薬物（感染性や毒性のある薬剤）の投与におけるリスクを下げること。
3. 人手では難しい刺激性の薬剤を安定して投与を可能にすること。

4. 尾静脈投与ができる人員が限られている施設での、実験者の業務負荷や、代理で投与することへの心理的プレッシャーから解放。

5. 投与速度を一定にして試験を行うことが可能。誤って急激に投与することがなく、動物への負担を軽減。

多くのデモンストレーションやユーザー様との意見交換を経ていく中で、今後は以下のような展望も視野に改良を進めていく。

【将来展望】

- ・投与（薬液注入）が可能な時間の延長（～数十秒程度）
- ・マイクロインジェクションへの対応
- ・ハイドロダイナミック法への対応
- ・翼付採血針（ヘマトクリット管）での採血
- ・より一層の穿刺精度アップ
- ・より早く穿刺できることで研究

の生産性向上

- ・自動プロセスの追加による人手での作業減少
- ・ラットへの展開
- ・その他の投与に関する“お困りごと”の解決

■夏目製作所の取り組み

夏目製作所では、実験動物関係者との連携を高め、ユーザーが欲しいモノのご提供だけでなく、したいコトの実現を目標に掲げている。研究者・実験者の皆さまが抱える“お困りごと”を「まずは夏目に聞いてみよう」とご相談いただけることを意識して活動を行っている。2023年10月にオープンしたコンシェルジュサイト（図15）もその取り組みの一つであり、“一人のアイデアからの特注品を業界全体のノウハウとして使えるよう”、“より良くなりそうならやってみる”を皆さまと伴走させていただきながら、実現していくためのメッセージサイトとなってい



図15 夏目製作所コンシェルジュサイトのご案内

る。

このような活動の中で、求められる“製品価格”と少ロットでの“モノづくり”のバランスが実現できない壁にぶつかることも多い。ステークホルダーの皆様と一緒に日々汗をかきながら、できるだけ多くの研究シーンに価値のあるものを、様々な側面からもっと「やすく」ご提供できるよう、新製品／改良品を生み出していきたいと考える。

とはいえ、まだまだ至らぬところも多く、日々改善が必要な状況ではあるが、夏目製作所のスローガンである「ライフサイエンスの未来とともに。人と動物に優しいものづくり」を実現できるよう、これからも歩みを止めず、活動を行っていく。

参考文献

1. 連載“DDSの「ちょっとした」技術・知識, Drug Delivery System 34-4 2019
2. Tianyi Ko, Koichi Nishiwaki, Koji Terada, Yusuke Tanaka, Shun Mitsumata, Ryuichi Katagiri, Junko Taketo, Naoshi Horiba, Hideyoshi Igata, Kazue Mizuno, “Development of a Stereo-vision based Highthroughput Robotic System for Mouse Tail Vein Injection,” The International Conference on Robotics and Automation (ICRA 2022)
3. マウス尾静脈注射ロボットシステムの開発, 株式会社Preferred Networks, 田中悠輔他, 第5回日本メディカルAI学会学術集会

(日動協ホームページ、LABIO21 カラーの資料の欄を参照)