

P-093

In vivo 皮膚小核試験法の開発(3) —ヘアレスマウスによる検討—

○晴佐久満, 西川貴史, 福島 明, 中村恒彰, 足立邦明 (ライオン(株) 安全性評価センター)

Study of a skin *in vivo* micronucleus test (3) – Examination by Hairless mouse –

Mitsuru HARESAKU, Takashi NISHIKAWA, Akira FUKUSHIMA, Tsuneaki NAKAMURA, Kuniaki ADACHI (Human Safety Evaluation Center, Lion)

【目的】皮膚に接触する化学物質の遺伝毒性を *in vivo* で直接評価する方法として、げっ歯類を用いる皮膚小核試験の開発をすすめている。すでに、本学会の第27および28回大会で有毛のラットおよびマウスを用いた手法について報告した。今回、我々は *in vivo* 皮膚小核試験におけるヘアレスマウスの有用性を明かにすることを目的として、E₁₂化合物(ENNG, MMC)を用いて検討したので報告する。

【方法】5週齢雌のHos:HR-1マウスを使用し、背部皮膚にアトリエ：オリーブ油(4:1)を媒体とした各被験物質を1日1回、3日間塗布した。最終塗布24時間後、皮膚を摘出、細切し、低温トリプシン長時間処理法に従い標本作製後、アリジンソルビン染色を行い、蛍光顕微鏡下に小核の出現頻度を求めた。

【結果および考察】ENNGおよびMMCで共に小核の有意な誘発が観察された。この結果は、*in vivo* 皮膚小核試験法において有毛ラット、マウスと同様にヘアレスマウスの使用が可能であることを示唆するものである。ヘアレスマウスは、皮膚反応の観察が容易であり、手法の簡略化(除毛不要、表皮剥離が容易)および精度向上(毛周期の考慮不要)が図れることから優れていると考えられる。

Ref.: T. Nishikawa *et al.*, *Mutat. Res.* 444 (1999) 159-166

P-094

In vivo 皮膚小核試験法の開発(4) —*in vivo*でのCytokinesis-block法の適用検討—

○西川貴史, 晴佐久満, 福島 明, 中村恒彰, 足立邦明 (ライオン(株) 安全性評価センター)

Study of a skin *in vivo* micronucleus test (4) – Approach for *in vivo* application of Cytokinesis-block method –

Takashi NISHIKAWA, Mitsuru HARESAKU, Akira FUKUSHIMA, Tsuneaki NAKAMURA, Kuniaki ADACHI (Human Safety Evaluation Center, Lion)

【目的】*In vivo* 皮膚小核試験において、観察対象細胞として、被験物質処理開始後分裂した細胞をどのように選定するかが問題となっている。分裂した細胞を識別する手法としてCytochalasin B (Cyt B)を同時に処理することにより、細胞質の分裂を阻害し、2核細胞を小核の有無を解析するための標的細胞とする方法がある。この手法は *in vitro* 小核試験において用いられており、今回我々は *in vivo* 皮膚小核試験に適用を試みた。

【方法】5週齢雌のヘアレスマウスを使用し、背部皮下にCytBを注入し3日放置後、我々が開発した手法(1999)により標本作製した。標本は、アリジンソルビン染色を行い、蛍光顕微鏡下に2核細胞および小核を有する2核細胞の出現頻度を求めた。

【結果および考察】本法はStoppelaarらにより紹介された手法(2000)の変法であるが、効率よく2核細胞が誘発されることを確認した。また、小核の出現頻度として2核細胞を観察対象とすることにより、全幼若細胞を観察対象とした場合と比較して、より効率良く小核細胞を検出することができ、皮膚小核試験の感度ならびに精度の向上が期待できると考えられた。

Ref.: T. Nishikawa *et al.*, *Mutat. Res.* 444 (1999) 159-166., J.M. Stoppelaar *et al.*, *Mutatgenesis* 15 (2000) 155-164.