

P-105

ヒト肝細胞代謝活性化系を用いたチャイニーズハムスターV79細胞突然変異試験の開発

○佐々木澄志、加藤至紀子、梅田 誠、田中憲穂  
(食薬安全セ・細胞毒性)

Development of a mutation assay with V79 Chinese hamster cells using human hepatocyte-mediated metabolic activation system

Kiyoshi SASAKI, Shikiko KATOH, Makoto UMEDA, Noriho TANAKA (Cell Toxicol., Food and Drug Safety Ctr.)

【目的】通常、代謝活性化系には、ラット肝マイクロゾーム画分(S9)が用いられているが、薬物代謝作用は動物種によって異なる。そこで、一部ヒトの正常肝細胞の機能をよく保持している肝癌細胞(FLC-4、FLC-5、FLC-7)とV79細胞を共培養し、変異原物質を加え、V79細胞の突然変異率を求めるFLC-V79法の開発を試みた。さらに、マイクロゾーム経由法による突然変異試験も行い比較した。

【材料と方法】FLC細胞上にV79細胞を播種後、変異原物質(BP、MCA、CP、NDMA、AFB1)を添加した。混合状態のFLC細胞とV79細胞をウアバイン培地に再播種することで、突然変異の発現期間をおくと同時にV79細胞のみを選択した。V79細胞を6-チオグアニン培地に再播種し、6-チオグアニン耐性コロニーを数えた。

【結果と考察】BP及びMCAでは、FLC細胞において、FLC-V79法の方がマイクロゾーム経由法より高い突然変異率を示した。一方、CP、NDMA、AFB1では、FLC-V79法はマイクロゾーム経由法より低い突然変異率を示したか、または全く突然変異を誘導しなかった。BPやMCAがFLC-V79法において高い突然変異率を示したことから、本法は芳香族炭化水素の突然変異原性を調べる上で、有用な実験系となることが示唆された。

P-106

チャイニーズハムスター第一卵母細胞染色体に及ぼすトポイソメラーゼII阻害剤エトポシドの影響

○立野裕幸、上口勇次郎(旭川医大・生物)

Effects of topoisomerase II inhibitor etoposide on chromosomes of Chinese hamster primary oocytes  
Hiroyuki TATENO, Yujiroh KAMIGUCHI (Dept. of Biol. Sci., Asahikawa Med. Col.)

【目的】第一減数分裂前期から終期までの卵母細胞にエトポシド(VP-16)を作用させて、哺乳動物卵子成熟過程における染色体異常の誘発およびそのメカニズムについて検討した。

【方法】チャイニーズハムスターにPMSG-hCGを注射し過排卵を誘発した。hCG前50hからhCG後10hまでのいろいろな時期にVP-16(80mg/kg)を腹腔内に投与した。hCG後17-18hでMII卵を回収し、各VP-16投与時間における染色体異常率を調査した。さらに、高感受期におけるMI期および後期～終期の染色体分析も行なった。

【結果および考察】hCG前50hのVP-16処理では構造的染色体異常率の増加はなかったが、hCG前24h～hCG後2hの処理では異常率は急激に増加した。ところが、hCG後4hの処理では異常率は対照レベルまで低下した。hCG後6hと8hの処理では異常率は再び有意に増加したが、10hの処理では異常率の有意な増加はみられなかった。異数性の頻度もVP-16の投与時間によって同様な変化を示した。VP-16による構造的染色体異常はすでにMI期で多数形成されていた。また、後期～終期では染色体bridgeが高頻度で観察された。

以上の結果から、VP-16による染色体異常の誘発は卵母細胞の減数分裂過程に大きく依存することが示された。また、構造的染色体異常の形成には染色体の凝縮異常やキアズマの分離異常が関係しており、キアズマの分離異常はさらに染色体不分離の原因にもなっていると考えられる。

この研究は平成10年度土川記念哺乳動物研究助成金により行なわれたものである。