

P-91

マウスを用いた再生肝小核試験による肝癌原物質の遺伝毒性の検出

○富田晴美¹、横濱奈津恵¹、佐々木有¹、大澤浩一²、木村正明² (¹八戸高専、²大正製薬・安全性)

Detection of genotoxicity of hepatocarcinogens by regenerating liver micronucleus test
Harumi TOMITA¹, Natsue YOKOHAMA¹, Yu F. SASAKI¹, Ko-ichi OHSAWA², Masaaki KIMURA² (¹Hachinohe Natl. Col. Techn., ²Taisho Pharmaceutical Co.,Ltd)

In vivo コメットアッセイによって DNA 損傷発現臓器が必ずしも癌原性標的臓器とはならないことを明らかにしてきた。コメットアッセイは DNA 初期損傷をアルカリ脆弱部位として検出するため、初期損傷の運命を明らかにすることはできない。そこで、マウスの再生肝を用いた小核試験によって肝癌原物質の in vivo 遺伝毒性を検討し、初期損傷の染色体異常への固定について調べた。対象としたものはマウス肝癌原物質(2,4-diaminotoluene, styrene-7,8-oxide, benzidine など)とマウス肝非癌原物質(2,6-diaminotoluene, MNNG, B[a]P など)である。

雄マウスに 1/2 x LD₅₀ を上限として投与、その翌日に肝部分切除術によって肝の 2/3 を切除した。その 4 日後に再生肝を摘出、コラゲナーゼ灌流によって肝細胞を単離し、ホルマリンで固定、アクリジンオレンジ染色によって観察した。同時に結腸粘膜における小核の誘発についても検討した。

多くの肝癌原物質ではコメットアッセイだけでなく小核試験においても肝で陽性になる傾向にあった。これらは癌原性標的臓器ではない結腸ではコメットアッセイ陽性にかかわらず小核試験では陰性になる傾向にあった。このことから、肝癌原物質では肝の DNA 初期損傷が染色体異常として固定されているが、非標的臓器では固定され難い傾向にあるものと考えられた。

P-92

幼若ラット肝細胞小核試験—げっ歯類肝がん原物質等による検討—

○鈴木洋、鈴木孝昌、白鳥孝、池田直弘、小林一男、島田康、萩原利行、長岡孝子、畠山茂樹、吉田純一、林真(JEMS・MMS 研究会、多臓器小核試験、肝臓小核試験グループ)

Hepatocyte Micronucleus Assay in Juvenile Rat: Examination by rodent hepatocarcinogens
Hiroshi SUZUKI, Takayoshi SUZUKI, Takashi SHIROTORI, Naohiro IKEDA, Kazuo KOBAYASHI, Yasushi SHIMADA, Toshiyuki HAGIWARA, Koko NAGAOKA, Shigeki HATAKEYAMA, Junichi YOSHIDA, Makoto HAYASHI (JEMS・MMS Liver Micronucleus Assay Group)

【目的】本試験法は、本学会で肝細胞を用いる遺伝毒性試験法として評価可能な試験法であることが報告された。そこで、げっ歯類の肝がん原物質 5 種類と非肝がん原物質 1 種類を用いて本試験の有用性を検討した。さらに、末梢血小核試験を同時に実施することにより、造血系臓器への評価についても検討した。

【被験物質】4,4'-methylenedianiline (MDA), o-toluidine, Quinoline, 4-chloro-o-phenylene diamine (CPDA), dimethylnitrosamine (DMN), methylmethanesulfonate (MMS)

【方法】動物は 4 週齢(剖検時)の雄性ラットを用いた。被験物質の 1/2LD₅₀, 1/4LD₅₀ 相当量を 1 回経口あるいは腹腔内投与した。投与後 3, 4 及び 5 日目にコラゲナーゼ灌流法により肝細胞を回収し、2 重蛍光染色 (AO/DAPI) 標本を作製した。観察は、1 個体あたり 2000 個の肝細胞中の小核出現率を求めた。末梢血小核試験は、被験物質投与後 2 日目に標本を作製した。網赤血球 2000 個中の小核出現率を求めた。

【結果】末梢血では検出しにくい DMN, Quinoline は肝臓で陽性となった。一方、MDA, CPDA はいずれも陰性、非肝がん原物質 MMS では肝臓で陰性となり、末梢血では陽性となった。

以上より、肝発がんの強いものは陽性、弱いものは陰性の結果となった。