The Environment Mutagen Society of Japan

P1-030

急性毒性試験代替法の検討（2）II. 2施設間における急性毒性試験を予測するための2種の細胞毒性試験の評価

北垣　雅人[1]、若栗　忍[2]、板垣　宏[1]、田中　憲穂[2]、豊田　英一[1]
[1]株式会社資生堂　安全性・分析センター、
[2]財団法人食品薬品安全センター　秦野研究所

Alternative study for acute systemic toxicity in vivo（2）:II. Evaluation of two cytotoxicity test for predicting In Vivo rodent acute systemic toxicity between two labs

Kitagaki　Masato[1], Wakuri　Shinobu[2], Itagaki　Hiroshi[1], Tanaka　Noriho[2], and Toyoda　Hidekazu[1]
[1]Shiseido Safety and Analytical Research Center,
[2]Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

【目的】

EU 化粧品指令第 7 次改正により 2009 年には急性毒性試験を含む多くの動物実験が禁止される方向にある．これに伴い，近年，ICCVAM/ECVAM (1) ならびに MEIC Program (2) を中心とした急性毒性試験代替法の開発が進められている．我々は急性毒性試験における代替法開発の一環として，SIRC 細胞を用いた細胞毒性試験(SIRC 細胞を用いたクリスタルバイオレット法：SIRC-CV) (3) の IC50 値と実験動物の既知毒性データである LD50 値を比較し、本法が *In Vivo* の急性毒性試験結果を予測する上で有用な試験法であることを報告した（第 17 回日本動物実験代替法学会）．一方、細胞毒性試験は使用細胞株、試験方法および試験施設などの要因により試験結果が大きく異なり結果判断の妥当性に問題を生じることがある。そこで、我々は先に実施された SIRC-CV の IC50 値と ICCVAM/ECVAM での急性毒性試験代替法で提案されている BALB/c 3T3 Clone A31 を用いたニュートラルレッド法(BALB-NRU)の IC50 値とを比較し，細胞種間の差異について検討した。その結果、2 種細胞間に良好な相関性が確認された（急性毒性試験代替法の検討（2）：秦野研究所報告）。これら値を用い、既存の実験動物データである LD50 値と各細胞毒性試験の IC50 値との比較を実施し、両細胞試験における *In Vivo* 急性毒性試験（LD50 値）の予測性について検討した。また、SIRC-CV の有用性を確認するために、133 化学物質を用い同様の検討を実施した。

【方法】

ICCVAM/ECVAM ならびに MEIC Program で共通に用いられた 22 化学物質について，SIRC-CV および BALB-NRU を実施した．各細胞試験から得られた IC50 値の結果は、ラットを用いた経口投与による各化学物質の LD50 値（RTECS 引用）との相関性について比較検討した。有用性の確認検討で用いた 133 化学物質は ZEBET(4)での検討から 127 化学物質ならびに任意に 6 化学物質を選択した。

【結果と考察】

SIRC-CV および BALB-NRU の IC50 値と LD50 値を比較した結果、SIRC-CV および BALB-NRU ともにいずれの施設でも高い相関性が確認され、また LD50 値の予測性についても細胞種間で同等であることが確認された。また、有用性の確認検討では ZEBET の検討と同様の結果が得られた。したがって、SIRC-CV が BALB-NRU 同様に安定した試験であり、急性毒性試験を予測する上で BALB-NRU の置換もしくは並列試験として ICCVAM/ECVAM への提案が十分可能であると判断された。今後 SIRC-CV を用い多くの化学物質について有用性を確認していくとともに、薬物の生体内での ADME による薬物代謝を考慮し細胞毒性試験へ代謝活性化法の導入を検討していく予定である。

[参考文献]

1. ICCVAM, (2001) http://iccvam.niehs.nih.gov/.
2. I. Bondesson et al., (1989) Cell Biol Toxicol 5, 331-47.
3. H. Itagaki et al., (1991) Toxicol In Vitro 5, 139-143.
4. W. Halle (2003) ATLA 31, 89-198.

NII-Electronic Library Service