

P2-066

抗菌剤の MLA 評価において認められた MF 上昇の 生物学的意義に関する検討

今井聖子、小川真由美、林宏行、神藤康弘
明治製菓株式会社

Significance of the mutation frequency induction by antibiotics in the mouse
lymphoma tk assay (MLA)
Imai Masako, Ogawa Mayumi, Hayashi Hiroyuki, and Shindo Yasuhiro
Meiji Seika Kaisha, Ltd.

ICH ガイダンス S2B では抗菌作用が強い被験物質の遺伝毒性評価にマウスリンフォーマ tk 試験 (MLA) を推奨しているが、実際に抗菌剤等の MLA 評価に関する報告はまだ多くはない。我々がセフェム系、カルバペネム系等既存品を含めた抗菌剤 14 化合物のデータをレビューした結果、いくつかの抗菌剤では染色体異常試験で陰性となるにもかかわらず、MLA では細胞毒性が発現する用量群において、遺伝子突然変異頻度 (MF) の上昇傾向を示すことが明らかとなった。MLA では細胞毒性の指標となる RS (relative survival) が 20% 以下となる用量を最高用量に設定することが要求されている。さらに 24 時間処理では毒性影響が変異固定期間にも及ぶことがあり、その結果 PE2 (plating efficiency of day2) が低値を示すことで MF が相対的に上昇する可能性が考えられた。そこで、細胞毒性が現れる濃度域において認められる MF の上昇について、その生物学的な意義について詳

細に検討するため、検討を行った。

MLA 評価をカルバペネム系抗菌剤について、S9mix 非存在下で 24 時間の被験物質処理により実施した。その結果、1 薬剤は高用量まで明らかな細胞毒性は見られず、変異コロニー数の増加および MF の上昇は認められなかった。2 薬剤では明らかな細胞毒性が見られ、そのうち 1 薬剤では用量相関的な MF の上昇が認められた。この薬剤に関しては TFT 添加プレートに形成したラージコロニーおよびスモールコロニーを 10 日目にそれぞれ数コロニーずつ単離してプレートに播種し、TFT を添加した培地で培養することにより TFT 耐性コロニーを選択した。これらの変異コロニーの染色体標本作製し、tk 遺伝子のある 11 番染色体について FISH 法を用い解析を実施した。また、24 時間の薬剤処理直後の遺伝子発現解析について RT-PCR 法を用いて検討した。これらの結果から、細胞毒性と MF 上昇の関連について考察する。