

P-047

MOA of hepatocarcinogenicity by ginkgo biloba extract in mice and its involvement of *in vivo* genotoxicity. 1. *in vivo* Genotoxicity

Jun Maeda¹, Kaoru Inoue¹, Ryohei Ichimura¹,
Tomomi Morikawa¹, Yuko Ogawa², Yukio Kodama³,
Midori Yoshida¹

¹Div Pathol, Natl Inst Health Sci, ²Lab Comp Toxicol, Azabu Univ, ³Div Toxicol, Natl Inst Health Sci

Ginkgo biloba extract (GBE) has been commonly used as an herbal supplement. A recent NTP study of GBE (TR578) relayed concerns of genotoxicity and reported clear evidence of hepatocarcinogenicity in mice and liver hypertrophy in rodents. Therefore, we evaluated the *in vivo* genotoxicity of GBE in the liver (comet assay) and bone marrow (micronucleus assay) of C3H (wild-type) and constitutive androstane receptor knockout (CARKO) mice, which were used due to purported CAR involvement in the MOA of hepatocarcinogenesis. GBE was administered for 3 days at doses of 500, 1000 and 2000 mg/kg by gavage to both sexes of both genotypes.

No significant change was observed in all genotoxicity tests. In wild-type mice, clear hepatocellular hypertrophy was induced in a dose-dependent manner. In contrast, slight hypertrophy was detected in CARKO mice only at 2000 mg/kg.

The data indicate that (1) GBE induces liver tumors through a nongenotoxic MOA and (2) GBE-induced hepatocellular hypertrophy is mainly CAR-mediated.

P-048

In vivo mutation assays in the livers of B6C3F₁ *gpt* delta mice treated with *Ginkgo biloba* extract

Aki Kijima¹, Yuji Ishii¹, Shinji Takasu¹, Ken Kuroda¹,
Kouhei Matsushita¹, Yukio Kodama², Takashi Umemura¹

¹Division of Pathology, NIHS; ²Division of Toxicology, NIHS

Background: *Ginkgo biloba* extract (GBE) has been used as a medicinal agent and supplement because of its various biological activities, including vasodilatation, analgesia, and cancer prevention. However, GBE has been reported to induce carcinogenesis in the livers of rodents in National Toxicology Program (NTP) studies. The genotoxicity of GBE still remains unclear. In this study, to clarify the participation of genotoxic mechanisms in GBE-induced liver carcinogenesis, we performed reporter gene mutation assays in the livers of *gpt* delta mice.

Methods: GBE of the same lot as that used in the NTP study was administered to 6-week-old male *gpt* delta mice at doses of 0, 20, 200, and 2000 mg/kg body weight by gavage for 13 weeks. *gpt* and *Sp1* assays were performed using liver tissues from these mice.

Results: Liver weights had a tendency to increase in the 200 mg/kg group, and a significant increase was observed in the 2000 mg/kg group compared with the control group. Centrilobular hypertrophy of hepatocytes was observed upon histopathological examination in the 2000 mg/kg group. *In vivo* mutation assays revealed that *gpt* and *Sp1* mutant frequencies were not changed in all GBE-treated groups compared with the control group, despite that significant increases were observed in the positive control group. These findings suggested that genotoxic mechanisms may not be involved in GBE liver carcinogenesis.

イチョウ葉エキスのマウス肝発がん性機序と遺伝毒性の関与 1. *in vivo* 遺伝毒性について

前田潤¹、井上薫¹、市村亮平¹、森川朋美¹、小川祐布子²、
児玉幸夫³、吉田緑¹

¹国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²麻布大学 比較毒性学研究室、³国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

イチョウ葉エキス (GBE)は、健康食品として使用されているが、NTP 毒性試験報告(TR578)ではげっ歯類の肝肥大、マウスの肝臓で発がん性の明らかな結果と遺伝毒性の懸念が報告されている。今回我々は GBE の *in vivo* 遺伝毒性評価を行うと共に、肝発がん機序について検討した。特に、GBE の肝発がん性に核内受容体 CAR の関与が疑われたため、雌雄の野生型 C3H マウスおよび CAR ノックアウトマウス (CARKO)を用いた。これらマウスに、GBE を 500, 1000, 2000 mg/kg の用量で 3 日間経口投与し肝臓のコメットアッセイおよび骨髓小核試験を実施した。

その結果、コメットアッセイにおける% tail DNA、小核を有する多染性赤血球数、共にいずれのマウスにも有意な変化は認められなかった。野生型マウスでは低用量群から用量依存的な肝細胞肥大がみられたが、CARKO マウスでは最高用量群で軽度の肝細胞肥大がみられたのみであった。

以上の結果から、GBE の発がん機序に *in vivo* 遺伝毒性メカニズムは関与していないと考えられた。また、GBE の肝肥大に CAR の関与が示唆された。

イチョウ葉エキスの *gpt* delta マウスを用いた *in vivo* 変異原性試験

木島綾希¹、石井雄二¹、高須伸二¹、黒田顕¹、松下幸平¹、
児玉幸夫²、梅村隆志¹

¹国立医薬品食品衛生研究所 病理部、²国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

【目的】イチョウ葉エキス (GBE) は、血管拡張作用、鎮痙作用、がん予防など様々な生理活性作用が知られており、医薬品やサプリメント剤として用いられている。しかし近年、米国毒性プログラム (NTP) でラット及びマウスの肝臓に発がん性が報告された。これまで、その遺伝毒性評価に統一的な結論が出されていないことから、今回、GBE の肝発がん機序と遺伝毒性メカニズムの関連性を明らかにする目的で、*gpt* delta マウス肝臓における *in vivo* 変異原性試験を行った。

【方法】6 週齢の雄の *gpt* delta マウスに、NTP 発がん性試験で使用された同一ロットの GBE を、0、20、200、2000 mg/kg bw の用量で 13 週間強制経口投与し、肝臓における *in vivo* 変異原性試験を実施した。

【結果】肝重量は、中間用量群から上昇傾向を示し、最高用量群では実重量・相対重量ともに対照群に比べ有意に上昇した。病理組織学的には、最高用量群で小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。*in vivo*変異原性試験では、*gpt* assayにおいて、陽性対照のIQ投与では*gpt*遺伝子突然変異体頻度が対照群より約 40 倍上昇したが、イチョウ葉エキス投与群では全ての用量で有意な上昇は認められなかった。*Sp1* assayにおいても、IQ投与では対照群より有意に増加したが、GBE投与群では変化は見られなかった。以上より、GBEのマウス肝発がん機序に遺伝毒性メカニズム関与の可能性は低いと考えられた。