

P-047

Comparison of the level of DNA damage between RccHan:WIST rats and CD(SD) rats - negative and positive control data -

Sawako Kasamoto, Masahito Fukumuro,
Ai Miwa, Jin Tanaka, Misako Iio,
Masakatsu Natsume, Kenichiro Suzuki,
Fuyumi Uno, Shoji Masumori, Makoto Hayashi

Public Interest Incorporated Foundation Biosafety Research
Center

Because RccHanTM:WIST (Wister Hannover) rats have high survival rates and lower spontaneous tumor incidence, this strain has been widely used in Europe for long-term toxicity and carcinogenicity studies. In Japan, CD(SD) (Sprague-Dawley) rats have been widely used, but they have started to use RccHanTM:WIST rats. Therefore, we collected background data from comet assays using RccHanTM:WIST rats, and compared with those using CD(SD) rats.

Male 7-week-old RccHanTM:WIST rats were obtained from Japan Laboratory Animals, Inc. The rats were orally given the negative control (water for injection, physiological saline, 0.5% MC) or positive control (ethyl methanesulfonate, 200 mg/kg/day) once a day for 2 days at 8 weeks of age. At 3 hours after the final administration, the liver, kidney and stomach were removed, and the comet assay was performed.

In addition, bone marrow was removed from same animals, and the frequency of micronucleated immature erythrocytes was determined. The negative control data was compared with those using CD(SD) rats.

RccHan:WIST ラットと CD(SD) ラットの DNA 損傷性の比較 - 陰性対照および陽性対照について -

笠本 佐和子、福室 真仁、三輪 愛、田中 仁、
飯尾 美沙子、夏目 匡克、鈴木 健一郎、宇野 冬美、
益森 勝志、林 真

公益財団法人食品農医薬品安全性評価センター

RccHanTM:WIST (Wister Hannover) ラットは、生存率が高く、自然腫瘍発生が少ないことから、欧州では長期毒性試験や癌原性試験に広く使用されている。国内では CD(SD) (Sprague-Dawley) ラットが広く使用されているが、RccHanTM:WIST ラットの使用も始まっている。そこで、RccHanTM:WIST ラットを用いるコメットアッセイの背景データを収集し、CD(SD) ラットと比較した。

株式会社日本医科学動物資材研究所から7週齢の RccHanTM:WIST 雄ラットを購入した。8週齢で陰性対照（注射用水、生理食塩液、0.5% MC）または陽性対照（メタンスルホン酸エチル、200 mg/kg/day）を1日1回2日間経口投与し、最終投与後3時間に肝臓、腎臓、胃を摘出してコメットアッセイを行った。

また、同じ動物から骨髓を摘出し、小核含有幼若赤血球の出現頻度を求め、陰性対照のデータについて CD(SD) ラットと比較した。

P-048 (O-10)

Integrated analysis of microRNA expression profile and Comet assay in the mouse liver for correct classification of genotoxic compounds

Hiroyuki Oka¹, Takeki Uehara², Yuji Morikawa¹,
Hiroyuki Hanafusa¹, Koichi Masuno¹, Hirofumi Miyajima¹

¹Research Laboratory for Development, Shionogi & Co., Ltd.,

²Global Project Management Department, Shionogi & Co., Ltd.

Comet assay (CA) is one of the most common tests for genotoxicity; however, occasionally results in false positive. The present study aimed to identify miRNA biomarkers enabling appropriate interpretation of positive results in the CA.

Mice were treated with genotoxins and non-genotoxins, and the livers were collected for global miRNA expression analysis. Following pathway analysis, 13 miRNAs were selected. Expression changes of the selected miRNAs were confirmed by RT-PCR, and ROC analysis was further performed. As a result, 4 genes (miR-218, miR-22, miR-409-3p and miR-411) were selected as biomarkers and used for constructing a classification model by logistic regression. To confirm the classification performance of the model, data of additional 12 compounds were obtained. Subsequently, the positive and negative accuracy rates were 86% and 80%, respectively. These results indicate that expression analysis of these 4 miRNAs are useful for appropriate interpretation of positive results in the CA.

マイクロ RNA 発現解析による、コメットアッセイ偽陽性の判定

岡 宏之¹、上原 健城²、森川 裕二¹、花房 弘之¹、
増野 功一¹、宮島 博文¹

¹シオノギ製薬株式会社 開発研究所、

²シオノギ製薬株式会社 グローバルプロジェクトマネジ
メント部

コメットアッセイは遺伝毒性評価系の一つとして汎用されているが、評価臓器に障害が生じるような生理条件下などでは偽陽性となる場合がある。本研究の目的は、コメットアッセイにおける偽陽性の判別に有用な miRNA マーカーの探索である。

マウスに遺伝毒性物質4種及び非遺伝毒性物質3種を投与した後、肝臓左葉を摘出し、miRNA の網羅的発現解析を行った。両化合物群間で異なる発現変動を示した miRNA について、パスウェイ解析を行いマーカー候補を13種類選別した。

同様に非遺伝毒性物質2種をマウスに投与後、肝臓を採取した。先に採取した肝臓と合わせてコメットアッセイを行い、陽性判定となった群の肝臓について、13種の miRNA の PCR を行い、ROC 解析によりマーカー候補を miR-218, miR-22, miR-409-3p 及び miR-411 に絞り込んだ。さらにロジスティック回帰分析により判別モデルを構築した。

次に検証化合物12種を用いて判別モデルの有用性を検証した結果、陽性一致率86%、陰性一致率80%となった。以上より、コメットアッセイ偽陽性の判定にこれら miRNA の発現解析が有用であることが示唆された。