

P-073

MMS/Pig-a Assay collaborative study: Genotoxicity evaluation of Melamine

Takahiro Kyoya, Masami Hori, Megumi Terada
Life Science Research Institute Kumiai Chemical Industry Co., Ltd.

In the MMS collaborative study, 24 compounds were tested to evaluate the usefulness of PIGRET Assay, an improved method of *Pig-a* assay (RBC *Pig-a* assay), as a short-term genotoxicity test. Kumiai Chemical conducted tests on Melamine, a chemical known as a non-genotoxic urinary bladder carcinogen. RBC *Pig-a* assay and PIGRET assay were conducted by administering Melamine singly by gavage to 8-Week Cr1;CD(SD) male rats at doses 500, 1000 and 2000 mg/kg. In both tests, increases in mutant frequency (MF) were not observed in all treated groups. Since increases in MF were not observed even in the group of 2000 mg/kg, the generally acknowledged limit dose for genotoxicity tests, we judged Melamine had no mutagenicity. On the other hand, MF in Ethyl nitrosourea, the positive control, significantly increased from Week 2 of administration in RBC *Pig-a* assay and from Week 1 in PIGRET assay. Basing on these results, PIGRET assay was considered to be capable of more accurately evaluating non-genotoxic carcinogens in a shorter period of time than RBC *Pig-a* assay.

MMS/Pig-a アッセイ共同研究：Melamine の遺伝毒性評価

京谷恭弘、堀真美、寺田めぐみ
クミアイ化学工業株式会社 生物科学研究所

MMS 共同研究において、*Pig-a* アッセイ (RBC *Pig-a* アッセイ) の改良法である PIGRET アッセイの短期試験としての有用性を評価するため、24 化合物の試験を実施している。クミアイ化学は非遺伝毒性膀胱発がん物質である Melamine について試験を実施した。Melamine を 500、1000、2000 mg/kg の用量で 8 週齢の Cr1;CD(SD) 雄ラットに単回強制経口投与し、RBC *Pig-a* アッセイと PIGRET アッセイを実施した。両試験ともに全ての投与群において mutant frequency (MF) の上昇は認められなかった。一般的な遺伝毒性試験の限界用量とされる 2000 mg/kg においても MF の上昇が認められないことから、Melamine に遺伝子突然変異原性はないと判断した。一方、陽性対照物質の Ethyl nitrosourea の MF は RBC *Pig-a* アッセイにおいて投与後 2 週目から、PIGRET アッセイにおいては投与後 1 週目から有意に増加した。これらの結果より、PIGRET アッセイは RBC *Pig-a* アッセイよりも短期間で非遺伝毒性発がん物質を正確に評価できると考えられた。

P-074

Evaluation of the *Pig-a*/PIGRET assay using chlorambucil: MMS Collaborative Study.

Akihisa Maeda, Kei Takahashi, Hiromi Tsuchiyama, Keiyu Oshida
Toray Industries, Inc., Pharmaceutical Research Laboratories

The *Pig-a* assay is a new method to assess the mutagenicity of compounds, and is expected to have a high degree of availability for the evaluation of genotoxicity. In this study, to assess the performance of the *Pig-a* assay targeting red blood cells (RBCs; RBC *Pig-a* assay) and reticulocytes (RETs; PIGRET assay), chlorambucil, which is a genotoxicant, was orally administered to male rats once at doses of 10, 20 and 40 mg/kg, and the mutant frequency (MF) of RBCs and RETs were examined, respectively, on pre-dosing, and Days 8, 15 and 29. As a result, in the RBC *Pig-a* assay, significant increases in the MF were observed at 40 mg/kg on Day 15 and at 20 mg/kg or more on Day 29. In the PIGRET assay, the MFs increased significantly at 10 mg/kg or more on Day 8 and 20 mg/kg on Day 15, but no difference in the MF was observed in the treatment groups compared to the vehicle control group on Day 29. In conclusion, the RBC *Pig-a* assay and PIGRET assay are sufficiently sensitive to detect the mutagenicity of chlorambucil in rats, and the PIGRET assay could detect the mutagenicity of it earlier and at lower dose than the RBC *Pig-a* assay.

Chlorambucil を用いたラット単回投与による *Pig-a* / PIGRET アッセイの有用性の検討

前田晃央、高橋圭、土山博美、大信田系裕
東レ株式会社 医薬研究所安全性研究室

Pig-a アッセイは、*Pig-a* 遺伝子を内在性レポーターとした突然変異試験であり、新規の遺伝毒性評価系として有用性が期待されている。今回、赤血球を標的とした *Pig-a* アッセイおよび網状赤血球を標的とした *Pig-a* アッセイ (PIGRET アッセイ) の単回投与による検出力を chlorambucil を用いて評価した。0、10、20、40 mg/kg の用量で、雄性ラットに単回投与し、投与前、Day 8、15 および 29 に変異頻度を測定した。その結果、*Pig-a* アッセイでは Day 15 に 40 mg/kg 群で、Day 29 に 20 および 40 mg/kg 群で、変異頻度の有意な増加がみられた。PIGRET アッセイでは Day 8 にすべての投与群で、Day 15 に 20 mg/kg 群で、変異頻度が有意に増加した。一方で、Day 29 にはコントロール群と比較して有意な変化は認められなかった。以上のことから、*Pig-a* アッセイ、PIGRET アッセイとも、単回投与した chlorambucil の遺伝子突然変異誘発性を検出可能であり、PIGRET アッセイにおいてより早期に高感度に評価できることが示された。