

# In vitro 3T3 NRU光毒性試験

— マウス由来細胞を用いた光反応性物質の毒性を検出する短期毒性試験

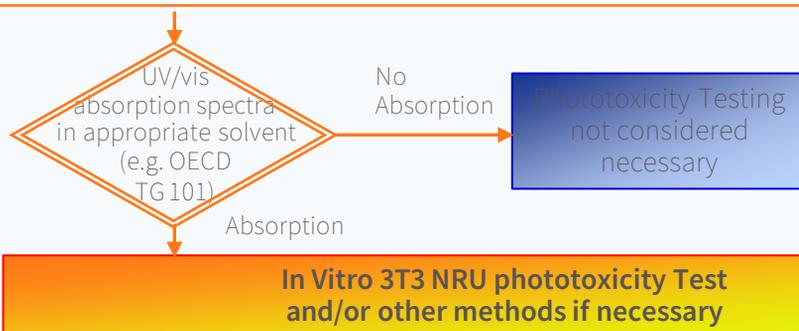
**GLP対応可能!**

OECD 432

**Role of the 3T3 NRU PT in a sequential approach to the phototoxicity testing of chemicals**

Initial Evaluation of the Physical, Chemical, and Toxicological Properties of the Test Substance

- Physico-chemical properties
- Chemical structure, structural alerts
- UV/vis - absorption
- QSAR - photochemistry
- General toxicity (including kinetics and metabolism)



“OECD Guideline for the testing of chemicals No. 432, In vitro 3T3 NRU phototoxicity test”に準拠

●お問い合わせ/資料請求はこちらまで

**メディフォード株式会社** [www.mediford.com](http://www.mediford.com)

[東京] 〒174-0053 東京都板橋区清水町3番1号

非臨床事業部 tel. **03-6905-5861**



「生きていく」を明るく、前向きにする。



**mediford**  
A Member of PHC Group

## In vitro 光毒性試験の特性

＊光を照射することによって活性化した化合物の細胞毒性を判定する試験.

＊*In vitro* 光毒性試験は, *in vivo* における結果との相関も良く, 被験物質の光毒性を評価するうえで有効であると考えられている.

＊ニュートラルレッドの細胞内取り込みを指標とする細胞試験法 (NR法) を適用するため, 短期間の試験で, 感度, 再現性共に高い結果を得られる.

＊偽陰性の発生率が低い.

文献調査による*in vivo* と *in vitro* 対応被験物質数 (＋; 陽性, -; 陰性)

human	Balb/c 3T3	PIF	MPE
+	+	21	17
+	-	2	1
-	+	1	1
-	-	9	7
評価被験物質数合計		33	26

PIF: Photo-irritancy factor =  $EC50(-UV)/EC50(+UV)$ , MPE:  $EC50$ が求められない場合の光毒性の指標  
Balb/c 3T3 細胞を用いNeutral red取り込みを指標とした光毒性試験代替法の評価結果報告.  
Altern Animal Test Experiment. 10(2), 2004 より引用

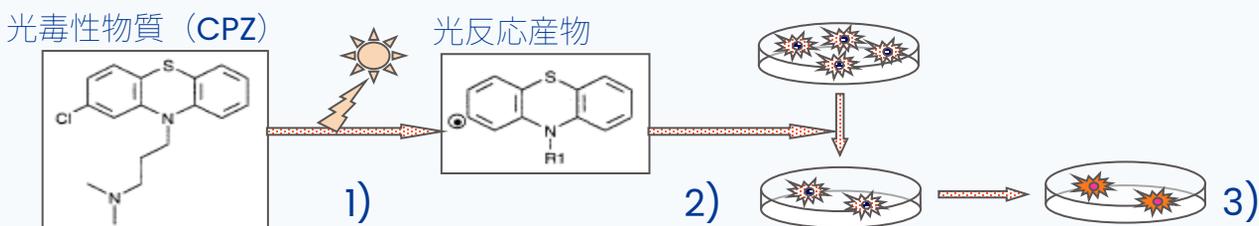
## 試験原理

＊太陽光照射

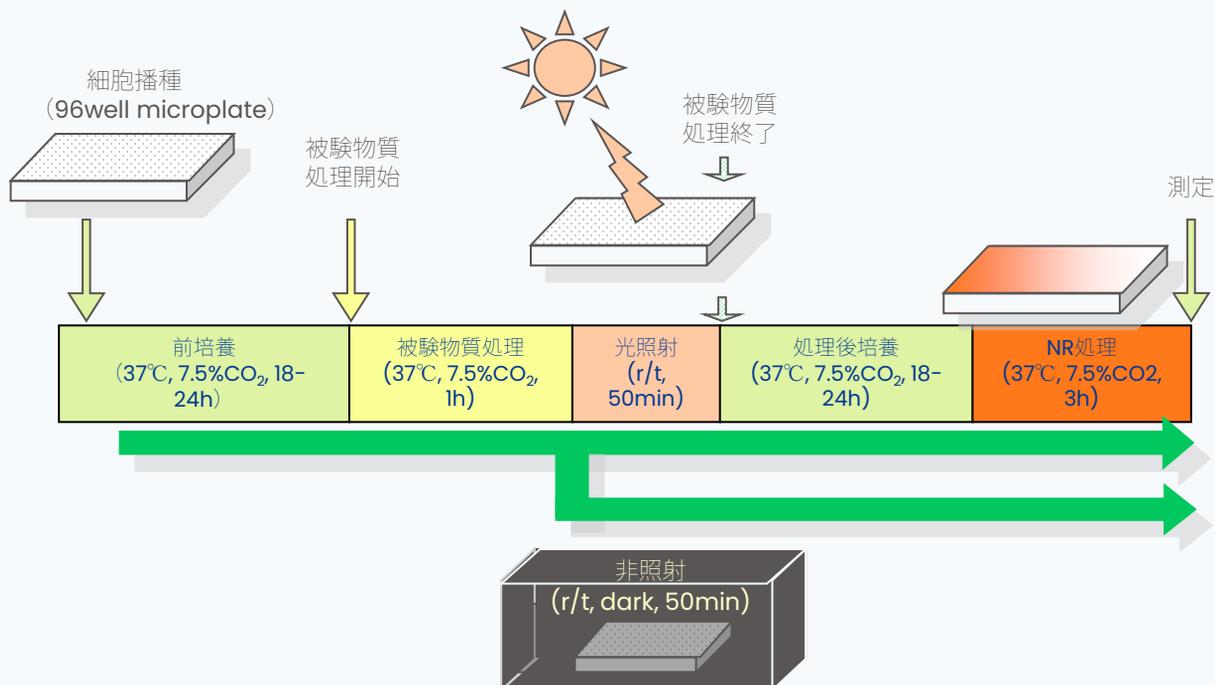
- 1) 太陽光放射装置 (セリック: SXL-2500V2形) を使用し, 紫外線から可視光線までのスペクトルを被験物質を処理した細胞に照射する.
- 2) 被験物質が光を吸収→光反応産物→毒性発現

＊NR法

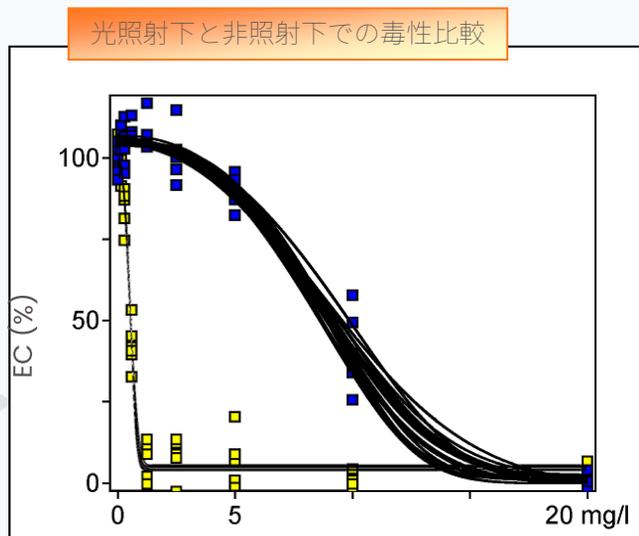
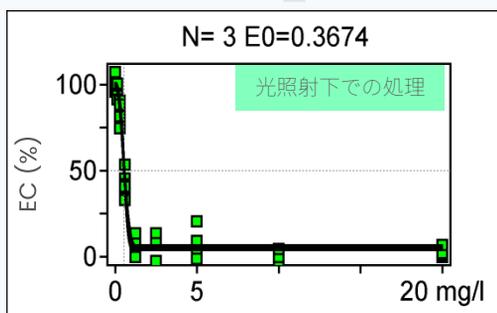
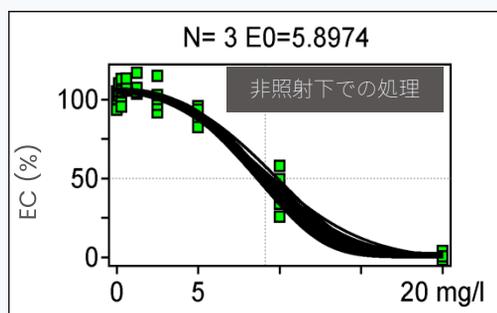
- 3) ニュートラルレッド (NR) は生細胞に蓄積されるため, 取り込まれたNRの総量を測定することで, 細胞数を測定できる.



# 試験の流れ



# データ解析



照射プレートと非照射プレートと比較することにより、細胞毒性と光毒性を算出する。

- \*IC<sub>50</sub>値: 細胞生存率が50%となる用量
- \*PIF: 照射と非照射のIC<sub>50</sub>値の比
- \*MPE: IC<sub>50</sub>値を算出不可能時に光毒性を予測するモデル

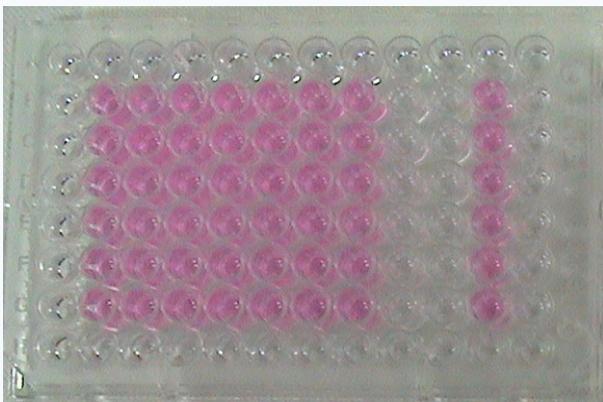
# 実施例：光毒性評価

化合物名	IC <sub>50</sub> (µg/mL)		PIF	MPE	判定*)	既知情報	
	(非照射下)	(照射下)				(in vitro)	(in vivo)
Chlorpromazine HCl	21.918	0.990	22.154	-	陽性	+ 1) 2) 3) 5) 6) + 2) 6)	
6-Methylcoumarin	ND	36.070	-	0.211	陽性	+ 2) 5)	+ 2)
Bithionol	13.130	3.277	4.021	-	疑陽性	+ 2) 5)	+ 2)
Fenofibrate	ND	1.404	-	0.495	陽性	+ 2) 4)	+ 7)
Nalidixic acid sodium salt	ND	9.894	-	0.742	陽性	+ 2) 3)	+ 2)
Ofloxacin	ND	45.250	-	0.579	陽性	+ 2) 3) 6)	+ 2) 6)
Lomefloxacin	ND	46.990	-	0.550	陽性	+ 6)	+ 6)
Amiodarone HCL	52.050	17.860	2.917	-	疑陽性	+ 1) 2)	+ 2)
Norfloxacin	ND	66.420	-	0.421	陽性	+ 1) 2) 3)	+ 2)
Anthracene	ND	0.236	-	0.385	陽性	+ 1) 2)	+ 2)
Protoporphyrin IX Disodium	ND	2.894	-	0.520	陽性	+ 1) 2)	+ 2)
L-Histidine	ND	ND	-	0.003	陰性	- 1) 5)	- 5)
Hexachlorophene	9.272	6.523	1.440	-	陰性	- 1) 2)	- 2)
Sodium lauryl sulfate	46.601	45.570	1.023	-	陰性	- 1) 2) 5)	- 5)
Chlorhexidine, free base	32.420	31.000	1.046	-	陰性	- 2)	no data
2-Hydroxy-4-methoxy-benzophenone	ND	ND	-	0.008	陰性	- 2)	no data
Piroxicam	ND	ND	-	-0.036	陰性		- 8)

\*) 陰性 : PIF < 2 or MPE < 0.1  
 疑陽性 : 2 ≤ PIF < 5 or 0.1 ≤ MPE < 0.15  
 陽性 : 5 ≤ PIF or 0.15 ≤ MPE

- 1) OECD Guideline for Testing of Chemicals. 432(2019)
- 2) Toxicol in Vitro, 12 (1998) 305-327
- 3) J Invest Dermatol, 98 (1992) 725-729
- 4) J Dermatol Sci, 13 (1996) 172-177
- 5) Cell Biol Toxicol, 16 (2000) 391-400
- 6) J Photochem Photobiol B, 79 (2005) 25-34
- 7) Acta Cient Venez, 47 (1996) 223-230
- 8) Photodermatol, 2 (1985) 377-382

Chlorpromazine HCl (-UV)



Chlorpromazine HCl (+UV)

