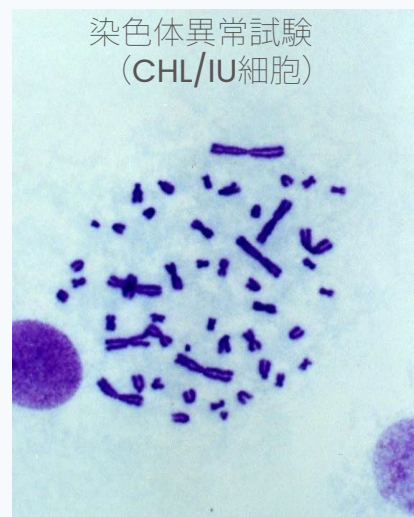
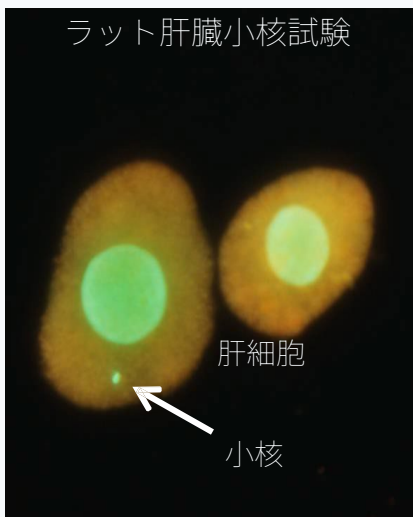


肝臓小核試験

—肝細胞における小核誘発を指標として、生体内における染色体異常誘発性を評価する試験法—

特長/有用性

- **In vitro** 染色体異常試験とエンドポイントが同じ（染色体の構造異常／数的異常）。 ⇔ **DNA**の一次損傷を検出するコメットアッセイや**UDS**試験，遺伝子突然変異を検出するトランスジェニック動物の試験とはエンドポイントが異なる。
- 肝臓小核試験は，肝臓における代謝活性化を必要とする遺伝毒性物質の検出に有用．例： **2,4-diaminotoluene** は，骨髓／末梢血小核試験では陰性であるが，肝臓小核試験では陽性．
- 骨髓／末梢血小核試験では，小核を有する評価対象細胞（幼若赤血球）が短期間で評価できなくなるのに対して，肝細胞（**HEPs**）の寿命が長く（**180日間前後**），小核を有する細胞（**MNHEPs**）も比較的長い期間観察可能と考えられ，骨髓／末梢血小核試験よりも標本作製可能時期が柔軟性に富んでいる。
- 染色体異常試験では，**in vitro** 試験，**in vivo** 試験ともに，評価対象細胞中の全ての染色体を検査する必要があるのに対して，肝臓に限らず，また，**in vitro** 試験，**in vivo** 試験に限らず，小核試験では小核の有無として容易に染色体異常を評価可能．



● 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

[東京] 〒174-0053 東京都板橋区清水町3-6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

試験法概要

幼若ラット（JA）法

- 4週齢の幼若ラットを使用
- 24時間間隔で2回投与
- 2回目投与4日後に標本作製

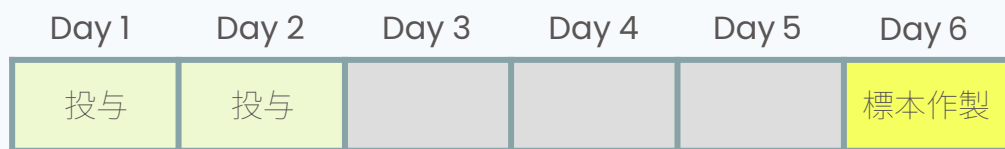
反復投与（RD）法

- 若齢成熟ラット（投与開始時6週齢）を使用
- 1日1回，2週間または4週間反復投与
- 最終投与翌日に標本作製（一般毒性試験と同時期）

利点と問題点

方法	利点	問題点
JA	● 末梢血小核試験との併合試験は可能 ● 比較的簡易な方法 ● 高い感受性／特異性	● 薬物代謝能が成熟ラットと同等か？ ● 短期試験では異数性検出不能
RD	● 一般毒性試験の組み込みが可能 ● 必要に応じて後日解析が可能 ● 高い感受性／特異性	● 異数性を十分に検出可能か疑問（耐性の問題） ● 試験期間が長い

JA法 (Takasawa *et al.*, Mutation Res., 698 [2010] 24-29)

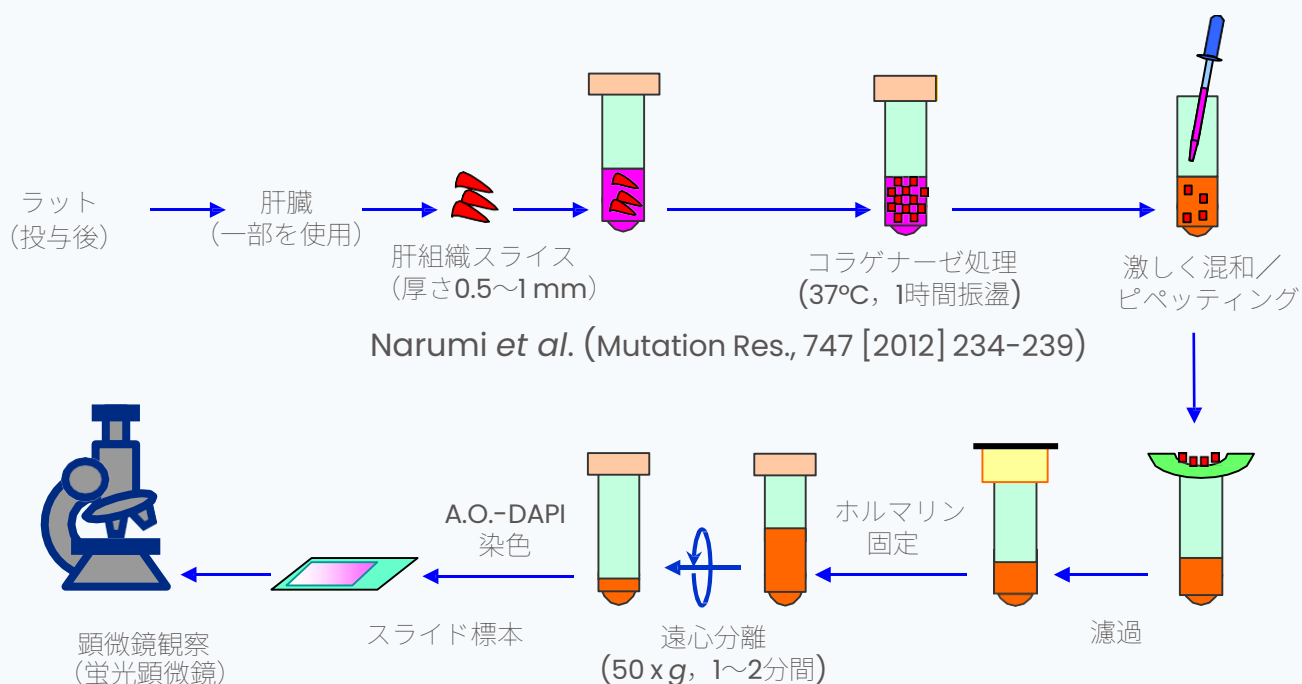


RD法 (Hamada *et al.*, Mutation Res., 780-781 [2015] 2-17)

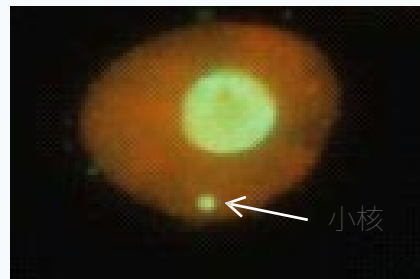
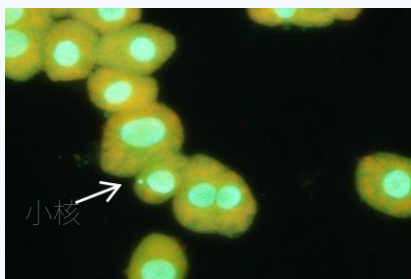
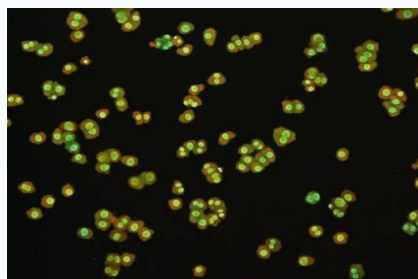


一般毒性試験の実験予定に準じる。

肝細胞分離の操作方法



非灌流法による肝細胞分離



肝細胞分離の従来法では、門脈からのコラゲナーゼ灌流を実施していた。これに対して上記の非灌流法では、肝臓のごく一部分を薄切し、温水中でコラゲナーゼ液による消化処理の後、肝細胞を分散させる。そのため、肝臓小核試験は他の遺伝毒性試験との併合試験が可能であることはもちろん、一般毒性試験で通常行われている病理組織学的検査や臨床検査等の種々検査を妨げることなく、一般毒性試験に組み込むことが可能である。