

ヒトS9を用いる変異原性試験の共同研究 - 総括及び進捗状況 -

エーザイ(株) 安全性研究所

羽倉 昌志

HAKURA ATSUSHI

第31回BMS定例会
(2003年11月25日)

ヒトS9を用いる共同研究の進行状況

第1回Ames試験共同研究(BMS)：参加費用(S9や投稿費等)として3万円

2000年10月：共同研究参加機関を確認し，計画書を完成

2001年6月1日：第27回BMS研究会で発表

2001年10月22日：第8回ICEM (静岡)で発表

現在：論文執筆中。今年度中にドラフトを送付予定

第2回Ames試験共同研究(BMS)：参加費用(S9や投稿費等)として4万円

2002年1月：共同研究参加機関を確認し，計画書を完成

2002年6月21日：第28回BMS研究会で発表

2002年11月28日：JEMS第31回大会で発表

第2回ヒト培養細胞共同研究(MMS)：参加費用(S9や投稿費等)として5万円

2002年6月：共同研究参加機関を確認し，計画書を完成

2003年11月27日：JEMS第32回大会で発表

ヒトS9を用いるAmes試験第1回共同研究

(日本環境変異原学会・微生物変異原性試験研究会会員とHAB協議会との共同研究)

共同研究世話人：羽倉昌志、島田弘康、中嶋 圓、須井 哉、北本幸子

共同研究協力者：【HAB協議会】佐藤哲男、鈴木 聡

共同研究参加者：

氏名1	氏名2	氏名3	氏名4	氏名5	所属機関
1 羽倉昌志*	澤田繁樹	杉原忠一	堀 雄二	内田加奈子	エーザイ(株)
2 橋本典子*	守永太賀彦				環境バイリス研究所
3 小林一男*	高島佳代子	沖野ゆかり	小沢重成		キッセイ薬品工業(株)
4 加藤幸彦	安藤福久枝*	小林孝子			キャノン(株)
5 井上晴貴*	Golam Sarwar	高野睦美			(株)実医研
6 中嶋 圓	田中 仁*	春田由美江			(財)食品農医薬品安全性評価センター
7 須井 哉*	米屋 浩子	原 巧			(財)食品薬品安全センター
8 西郷和彦	鳥越直彦*				(株)新日本科学
9 北本幸子*	太田美佳				住友化学工業(株)
10 三浦美樹*	五十嵐美由紀	伊東 悟	中山志保	林崎弥生	第一製薬(株)
11 橋本清弘*	大澤浩一				大正製薬(株)
12 片見 誠*	神本敏弘				(株)ツムラ
13 土子郁子*					東洋インキ製造(株)
14 吉田知佳子*	殿山晴美	荒木春美			富山化学工業(株)
15 斉藤優子*					日研化学(株)
16 小川いづみ	久保田理恵*				日産化学工業(株)
17 金代由樹子	高橋美津子	松下佳代	佐藤秀隆*		(財)日本食品分析センター
18 山下康弘*	田村英之				日本新薬(株)
19 佐竹聖人*					日本バイエルアグロケム(株)
20 小島肇夫*					日本メナード化粧品(株)
21 中村真人*					(社団)日本油料検定協会総合分析センター
22 藤田正晴*	柳川昌子	曾我ふじ子			富士写真フイルム(株)
23 坂田 武*	犬童正臣				(株)富士バイオメディックス
24 大崎利隆*					ホーユー(株)
25 晴佐久 満*	山本康人				ライオン(株)

*：各機関の連絡担当者

第2回ヒトS9を用いるAmes試験共同研究参加者

共同研究世話人:羽倉昌志,島田弘康,中嶋 圓,須井 哉,北本幸子

共同研究機関(ヒトS9供給):HAB協議会(佐藤哲男,鈴木 聡)

共同研究参加機関(*:連絡者)

氏名1	氏名2	氏名3	氏名4	所属機関
1 羽倉昌志*				エーザイ(株) 開発安全性研究部
2 酒井美雪*	藤本裕子	米野雅晴*		小野薬品工業(株) 福井安全性研究所
3 橋本典子*	守永太賀彦			(株)環境バイリス研究所
4 小林一男*	高島佳代子	寺島ゆかり	安江香里	キッセイ薬品工業(株) 安全性研究所
5 井上晴貴*	Golam Sarwar	霞 晶弘		(株) 実医研
6 中嶋 圓	田中 仁*	仲村渠 奈美子	春田 由美江	(財)食品農医薬品安全性評価センター
7 須井 哉*	大山徳子	原 巧		(財)食品薬品安全センター 秦野研究所
8 西郷和彦*	鳥越直彦			(株)新日本科学
9 北本幸子*				住友化学工業(株) 生物環境科学研究所
10 橋本清弘*	大澤浩一			大正製薬(株) 医薬研究所
11 林崎弥生*	伊東 悟			第一製薬(株) 安全性研究所
12 土子郁子*				東洋インキ製造(株) 開発研究所
13 小川いづみ	久保田理恵*			日産化学工業(株) 生物科学研究所
14 田村英之*				日本新薬(株) 安全性研究部
15 佐竹聖人*				日本バイエルアグロケム(株) 結城中央研究所
16 小島肇夫*				日本メナード化粧品(株) 総合研究所
17 中村真人*	祝原 修	堤 稚香子		(社)日本油料検定協会 総合分析センター
18 大崎利隆*				ホーユ- (株) 総合研究所
19 晴佐久 満*	山本康人			ライオン(株) 安全性評価センター

総括

- (1) 60種類を超える化学物質を調べた結果、変異原物質 (75%) の多くは、酵素誘導ラット S9 よりヒト S9 存在下の方が変異原性が弱かった。しかし、一部の芳香族アミンやジメチルニトロソアミンを含む他の25%の化合物については、酵素誘導ラット S9 よりヒト S9 存在下の方が変異原性が強い場合があった。
- (2) ヒトS9による変異原性には大きな個人差が認められ、化学構造によってその差に違いがあった。CYP1A1/2で多分代謝される化合物に大きな差が認められる場合が多かった。

ヒトS9を用いる変異原性試験(総括)

Hazard identificationの目的

Risk evaluationの目的

酵素誘導ラット肝S9

ヒト肝S9

変異原性に大きな差
(酵素誘導という特殊
要因と種差による)が
ある化合物が存在

変異原性に大きな個人差
がある化合物が存在

酵素活性の高いドナー肝

ヒト(pooled)肝

変異原性の大きな差の要因: 薬物代謝酵素の量と質(組成)

第2回ヒト細胞共同研究

→ 観察する試験系やEndpointによって結果に差があることが明確になった

日本環境変異原学会2002年度スローガン: 国際化とヒト化への挑戦

ヒト型の遺伝毒性試験系 (ヒト細胞+ヒトS9)

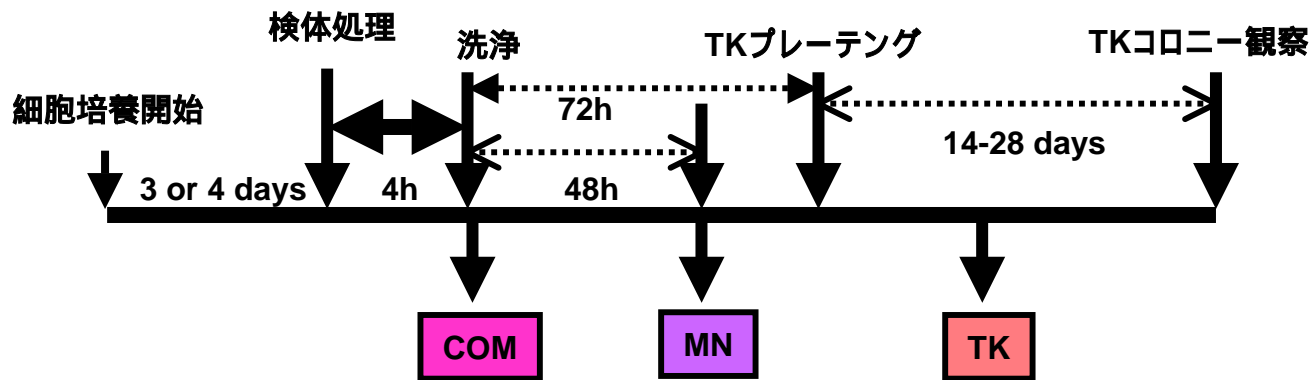
細胞・S9

細胞: ヒトリンパ芽球細胞株WTK-1

S9: HAB研究機構から供与された薬物代謝酵素活性が高いドナーの肝S9 (HLS-059) と15人の肝をプールして調製したヒト肝S9 (Pooled), 比較として酵素誘導処理及び非処理ラットS9を使用。

試験方法

コメット試験(COM), 小核試験(MN), TK突然変異試験(TK)を実施(下図)。



第2回ヒト細胞を用いる共同研究より(本大会P-1で発表予定)

第2回ヒト細胞共同研究参加機関（順不同）

No.	参加機関	担当者(敬称略)
1	(財)食品薬品安全センター秦野研究所	若栗, 田中
2	キッセイ薬品工業株式会社	小林
3	(株)三菱科学安全科学研究所	中川
4	大日本製薬(株)	広垣, 大石
5	(財)食品農医薬品安全評価センター	益森, 菊池
6	山之内製薬株式会社	若田
7	日本新薬株式会社	田村
8	大鵬薬品工業株式会社	岡, 大内田
9	社団法人日本油料検定協会総合分析センター	中村
10	ライオン(株)	山本
11	日本たばこ産業株式会社	尾崎,
12	国立医薬品食品衛生研究所	坂本, 本間
13	(株)新日本化学	西郷
14	塩野義製薬(株)	近藤
15	エスエス製薬(株)	浜田
16	三共株式会社	長谷川, 渡邊, 兵庫
17	明治製菓(株)	長沢, 林, 小川
18	八戸高等専門学校	佐々木
19	エーザイ(株)	羽倉

第2回ヒト細胞試験化合物

No.	化合物	IARC Group	特徴	Genotoxicity ^{a)}			Ames TA100 (revertants/μg/plate) ^{b)}		
				SAL	ABS	MLA	Rat -Induce	HLS -014	Human- pooled
1	Benzo[a]pyrene	2A	芳香族炭化水素	+		+	470	310	±
2	2,4-Diaminotoluene	2B	芳香族アミン	+	+	+	0.044	±	0
3	2-Aminoanthracene (2AA)	nc	芳香族アミン	+			1500	24000	22000
4	1-Aminopyrene (1-AP)	nc	芳香族アミン				390	190	±
5	IQ	2A	ヘテリサイクリックアミン				18000	6000	340
6	AF-2	2B	ニトロ化合物	+	+		15000	31000	41000
7	4-Aminoazobenzene (PAAB)	2B	アゾ化合物	+			4.6	1.4	0
8	N-Nitrosodimethylamine (DMN)	2A	ニトロソアミン	+	+		5.1*	39*	28*
9	N-Nitroso-di-n-butylamine (DBN)	2B	ニトロソアミン				52*	0.52*	±*
10	Acrylamide	2A	ビニル化合物	-	+	+	0	0	0
11	Styrene	2B	ビニル化合物	-	+		0	0	0
12	Cyclophosphamide (CP)	1	制癌剤	+	+	+	0.51	0.14	0.054
13	Benzene	1	芳香族炭化水素	-	+	+	Nt	Nt	Nt
14	Phenacetine	2A	解熱鎮痛薬	+	+		Nt	Nt	Nt
15	Azobenzene	3	アゾ化合物	+	-		5.1	2.9	0
16	2-Naphthylamine (2-NA)	1	芳香族アミン	+		+	Nt	Nt	Nt
17	Benzidine	1	芳香族アミン	+	+		Nt	Nt	Nt

a) 主としてHandbook of Carcinogenic Potency and Genotoxicity Databases (Gold and Zeiger)より引用

b)BMS共同研究より

* YG7108, Nt: Not tested

結論および展望

代表的IARC発癌物質の多く、特にIARC 1に属する化合物の変異原性がBenzeneを除いて本試験系で陽性になった。これらの結果から、本試験系(ヒト培養細胞/ヒトS9)のヒトに対する遺伝毒性評価系として利用が期待される。

本試験で得られた結果から、ヒトに対する遺伝毒性を再評価したほうがよいと思われる化合物が示唆された。例えば、BaP, IQ, DBNなどは、これまで酵素誘導ラットS9を用いたAmes試験において強い陽性を示すことが示されてきたが、ヒトS9を用いた本系においては遺伝毒性は比較的低いことが示された。一方、逆にIARC未分類の2AAはヒトS9存在下ではラットS9存在下よりかなり強い変異原性を示した。これら類縁化合物の遺伝毒性に関してはより慎重な評価が求められる。

ヒトS9が遺伝毒性試験に今後多いに 利用されるか否かの鍵 (展望)

- (1) ヒトに対する遺伝毒性のリスク評価：
Hazard identification (定性的評価) から Risk evaluation (定量的評価) 重視への概念の変革。
- (2) 数多くの種類のヒトS9 (人種差や個体差を調べられるように) の安定的供給。ヒト組織供給のための公的バンク・システムの進展と同時にヒトES細胞を利用した再生医療技術が将来有用になると期待。