



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	A study of micronucleated hepatocytes detection in the liver micronucleus assay using young adult rats [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	嶋田, 圭祐
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第12174号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62064
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Keisuke_Shimada_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：嶋田圭祐

審査委員	主査	教授	安居院高志
	副査	教授	稲波 修
	副査	教授	石塚真由美
	副査	准教授	森松正美

学位論文題名

A study of micronucleated hepatocytes detection in the liver
micronucleus assay using young adult rats
(成熟ラットを用いた肝臓小核試験における小核を有する肝細胞の検出に
関する研究)

毒性試験は新薬開発の際に必須の試験である。中でもがん原性試験は新薬の発がん性を調べるものとして重要である。しかし、がん原性試験は莫大なコストと時間が掛かることから後期臨床試験が行われている時期に行われることが一般的で、前臨床試験においては発がん性を予測するものとして遺伝毒性試験が行われている。インビボ遺伝毒性試験の代表例として造血細胞を用いた小核試験があるが、この試験は代謝活性化を必要とする発がん性物質の検出ができないことが多い。そこでこのような発がん性物質を検出することができる系として肝臓小核試験があげられる。しかし、肝臓小核試験は幼若動物または部分肝切除を施した動物を使用し、肝細胞採取のために肝臓のコラゲナーゼ還流を行う必要があることから一般毒性試験に組み込むことができなかった。申請者は博士論文研究において、成熟ラットを用い、部分肝切除及びコラゲナーゼ還流を行わず、肝臓小核試験を一般毒性試験に組み込むことを可能にした成熟ラットを用いた反復投与肝臓小核試験法について、その有用性及び最適な試験方法について研究を行った。

申請者はまず被験物質としてラットに対し発がん性を示し且つ遺伝毒性試験では陽性を示すマイトマイシン C を用い、反復投与肝臓小核試験の有用性を調べた。マイトマイシン C は低、中、及び高用量（0.25, 0.5 and 1.0 mg/kg/day）で 14 日間及び 28 日間反復投与し、その後肝細胞を採取し小核の検出を行った。その結果、すべての用量で小核を有する肝細胞の検出が有意に認められた。投与量が増えるに従い、小核検出頻度が下がったが、これはマイトマイシン C による肝細胞の増殖抑制

効果のためであることが示唆された。以上の結果より、反復投与肝臓小核試験はマイトマイシンCの遺伝毒性を検出できることが示された。

次に申請者は反復投与肝臓小核試験において、被験物質が成熟ラットの肝細胞に小核を誘導するには被験物質を反復投与したことによる小核の蓄積が重要なのではなく、初回投与から肝臓をサンプリングするまでの細胞が増殖するための期間が必要なのであって、必ずしも被験物質を反復投与する必要はないのではないかという仮説を立て、その可能性について検討した。即ち、成熟ラットに低、中、高用量のマイトマイシンC及びジエチルニトロソアミンを単回投与し、マイトマイシンCでは30日後に、ジエチルニトロソアミンでは14日及び28日後に肝細胞を採取し小核試験を実施した。その結果、両被験物質共に用量依存的に小核を有する肝細胞の増加が観察され、この仮説が正しいことが実証された。またこの方法はマイトマイシンCのような細胞分裂を抑制する遺伝毒性物質の検出に適していることが示唆された。

以上の結果は新薬開発における遺伝毒性試験において、より簡易で正確な方法を提唱しており、この分野の発展に大いに寄与するものである。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者嶋田圭祐氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。