

MMS 研究会 2003 年度第 3 回拡大幹事会議事録

日時：2004 年 1 月 29 日（木） 13 時 30 分～17 時

場所：国立医薬品食品衛生研究所

出席者：浅野、田中、森田、兵庫、若田、本間、大山、山影

（欠席：林、矢嶋、宇野、松元、齋藤、浜田、中嶋）（順不同、敬称略）

（コメントアッセイ共同研究参加者および in vitro 小核試験研究班参加者：

中川、橋本、長尾、荒木、益森、田村、馬場、鈴木、林、今井、島田、齊藤、五十嵐、祖父尼、宮島、山本、岡）

議題

1. コメントアッセイ共同研究について

1) 以下の方々に話題提供頂いた。

- ・中川ゆづき 会員（食品薬品安全センター秦野研究所）
コメントアッセイ結果に影響を及ぼしうる要因について
- ・荒木春美 会員（富山化学工業株式会社総合研究所）
キットを用いた結果例について
- ・馬場博 会員（三菱ウェルファーマ株式会社安全性研究所）
非変異・がん原性への対策研究会で実施したコメントアッセイ共同研究結果について

2) 自由討論で以下のような議論が行われた。

- ・細胞の質（組織、vivo、vitro）が違ふと同じサンプル調製法をもちいても結果が異なる。
- ・胃と大腸ではコントロールのばらつきが大きかった。
- ・Tail 長を横軸に、その細胞の出現数を縦軸にしたときの分布が理解できない（tail 長の短い細胞がない）。
- ・共同研究では、tail 長のみで評価をおこなったが、観察者の判断で tail 長を測定する細胞と測定しない細胞（tail 長が 0）に区別した。
- ・共同研究の観察はコード化して行うべきである。
- ・画像解析装置を用いた場合、コントロールでも tail 長は 0 とならなかった。
- ・Tail のある無しの細胞数での評価は不適當か。
- ・今後の共同研究では、tail 長と tail をもつ細胞数の両方で評価する必要がある。
- ・サンプル調製の際に遠心操作を行った結果と考えられるが、コントロールにアポトーシス様の像は認められなかった。
- ・Type 分けやモーメントなどの評価方法の取扱はどうすべきか。
- ・サンプル調製の際の EDTA の濃度は、臓器毎に調製すべきか、それとも臓器共通の濃度を使用すべきか。
- ・サンプル調製時の温度や操作の手早さ、紫外線等はどの程度結果に影響するのか。
- ・コメントアッセイは、DNA が壊れやすい状態が結果に反映すると考えられるが、アダクトの種類によってつても DNA 切断性が異なる。

- In vivo の細胞集団の脆弱性により、コメットの tail の長はいくらでも出せる。
- なぜ、アルカリ条件で DNA が切断するのか良く分からない。
- 共同研究では、理論的戦略と手技的戦略の両方が必要である。
- 多臓器で初期傷害を検出できるのが最大のメリットである。他の試験としてトランスジェニックマウスがあるが、この労力は大変である。
- トランスジェニックやトキシコ共同研究結果があるので、ENU や DEN などのデータとコメットの関連性を比較するのは非常に有効と思われる。
- UDS とコメットの結果の関連性はどうなるのか。
- In vitro の結果だが、小核誘発濃度よりも高い濃度でないとコメットが陽性にならないほど、コメットの感度は低い。
- 化学物質毎あるいは臓器毎に試験条件を最適化しないといけないような試験ならばあまり意味がない。
- 本来陽性の結果だが、それが陽性でなくなるまでの時間はそれほど短くはないので、十分に評価に耐えうる試験である。
- 共同研究では、連投を行う方がよいのではないか。
- コメットアッセイの実施のタイミングとしては、薬物動態が明らかになってからがよい。それにより、標的臓器も明らかとなる。
- Diffusion assay の意味は。
- 各施設の方法について、アンケート調査を実施してはどうか。
- 同じサンプルを各施設に配布し、各施設の方法によるアッセイ結果を比較してはどうか。
- Comet Assay Interest Group (<http://cometassay.com/>)、インドの Alok Dhawan (<http://comet.itrcindia.org/>) や佐々木会員のプロトコル等の違いはどうか。
- Vitro と vivo の細胞では条件や結果が異なるのではないか。
- 今後の共同研究は、vivo と vitro のどちらが対象か。
- 各試験の技術的な経験レベルにどのくらいの差があるか。
- キットの利用の可能性は（安定性、安定した供給の問題あり）

3) 今後の共同研究の目的と進め方について

- 共同研究の目的は以下の 3 点
 1. 実験手技の確立（Standard 化、最優先）
 2. 評価方法の確立
 3. コメットアッセイの原理的理解
- この共同研究のとりまとめや計画立案役は、MMS 幹事の 3 役が中心になって行う。
- 最初は、以下の活動を行う。

MMS 会員全員にコメットアッセイのプロトコルに関するアンケート調査を実施する。アンケート内容としては、各施設で実施しているプロトコルを Tice や佐々木らの標準的方法と比較し、その違いや異なるプロトコルを採用した

理由を調査する。そのアンケート調査結果をもとに、MMS の暫定的な標準プロトコールを決める。その MMS 標準プロトコールと各施設のプロトコールを用いて実験を行う。

- ・ 幹事会でアンケートを早急に作成し、2～3 ヶ月の間に実施する。
- ・ 共同研究参加者で、以前実施した Tice による講習会のビデオを見たい人にはビデオを回覧する。

(なお、その後イギリスでもコメントアッセイの共同研究を実施するという情報が入り、イギリスの世話人である Brian Burlinson, Head of Cellular and Molecular Toxicology, Huntingdon Life Sciences Ltd. とコンタクトし、両者のジョイントを歓迎すること、5 月に開催する伊東の定例会でイギリスの共同研究の状況等を報告して頂けることを確認している。)

2 . 45 回 MMS 定例会について

- 1) ヤクルト株式会社の大山会員が世話役として開催する定例会に関する決定事項は以下の通り。

場 所：伊東研修センター（伊東駅からタクシーで約 5 分）

日 時：5 月 14 日(金)～15 日(土)、2 時～（1 時受付開始）

会 費：8000 円（宿泊費：5000 円、参加費：3000 円）

参加申込：MMS ホームページに掲載し、参加募集する。

※切は 2004 年 2 月末（確定人数を 5 月連休前に連絡する必要あり）

(2004 年 3 月 11 日現在の参加申込は約 16 名なので、3 月末に再度アナウンスする。3 月 2 日時点でホームページには申込※切延長の記事を掲載した)

コメント共同研究参加機関（2004年3月11日現在）

・技術部会に参加希望ないし参加予定

1. (財)食品薬品安全センター 秦野研究所（中川 ゆづき）
2. 日東電工株式会社 安全性試験センター（浅野 哲秀）
3. 三共株式会社 安全性研究所（橋本 和之）
4. 富山化学工業株式会社 総合研究所 安全性研究部（荒木 春美）
5. (財)食品農医薬品安全性評価センター 遺伝毒性グループ（益森 勝志）
6. 日本新薬株式会社 開発研究所 安全性研究部（田村 英之）
7. (財)残留農薬研究所 水海道研究所 毒性部第3研究室（和田 邦生）
8. 三菱ウェルファーマ株式会社 安全性研究所（馬場 博）
9. 株式会社イナリサーチ 第二研究所（鈴木 洋）
10. キリンビール株式会社 医薬カンパニー 医薬開発研究所（住田 浩之）
11. 明治製菓株式会社 医薬開発部門 動態安全性研究所（林 宏行）
12. 田辺製薬株式会社 安全性研究所 遺伝毒性（青木 朋訓）
13. 山之内製薬株式会社 安全性研究所（若田 明裕）
14. 株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所 毒性第2研究部（中川 宗洋）
15. 株式会社ヤクルト本社中央研究所 変異原性研究室（大山 ワカ子）

・評価部会に参加希望（またはどちらかに参加予定）

16. 共立薬科大学（長尾 美奈子）
17. 住友化学工業株式会社 生物環境科学研究所（小田原 恭子）
18. 日本たばこ産業株式会社 たばこ中央研究所 製品評価センター（尾崎 正康）
19. 京都薬科大学 公衆衛生学教室（渡辺 徹志）
20. 株式会社新日本科学 安全性研究所 安全性研究I部（西郷 和彦）
21. 第一製薬株式会社 安全性研究所（五十嵐 美由紀）
22. 東レ株式会社 医薬研究所 安全性研究室（宮本庸平、大信田系裕）

・