

# MMS 研究会 肝小核試験の共同研究

## 2008 年度参加者（機関）募集

【目的】 幼若ラットを用いる肝小核試験について、現行のプロトコール（1 回投与後 3, 4, 5 日目にサンプリング）では過度の労力が必要となり、汎用性が低いと考えられるため、より簡便な実験方法（複数回投与後 1 回サンプリング）で同様に評価が可能なことを確認し、より汎用性の高い試験法を確立することを目的とする。

【検討対象化合物】（1 化合物あたり 2 機関で対応したい）  
現行プロトコールで陽性結果の得られた下記化合物を中心に実験を行う。

1. Diethyl nitrosamine (DEN, CAS No. 55-18-5)
2. 2,6-Dinitrotoluene (2,6-DNT, CAS No. 606-20-2)
3. Mitomycin C (MMC, CAS No. 50-07-7)
4. 2,4-Diaminotoluene (2,4-DAT, CAS No. 95-80-7)
5. 1,4-Dimethylaminoazobenzene (DAB, CAS No. 60-11-7)
6. 1,2-Dimethylhydrazine 2HCl (1,2-DMH, CAS No. 306-37-6)
7. 2,4-Dinitrotoluene (2,4-DNT, CAS No. 121-14-2)

### 【標準プロトコール】

試験動物： F344/DuCrIj または CrI:CD(SD)ラット，雄，投与時 26～27 日齢，  
4～5 匹/群

投与方法： 2 回（約 24 時間間隔）強制経口投与

投与用量： 死亡のみられない最高用量を含む 3 用量（公比 2～3 程度）以上

標本作製，標本観察：

- ① 2 回目投与後 4 日目（1 回投与の 4 & 5 日目に相当）にコラゲナーゼ液による肝臓の灌流を行い，肝細胞を採取する。
- ② 単離した肝細胞を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定し，観察前にアクリジンオレンジと DAPI の二重蛍光染色を施す。
- ③ 蛍光顕微鏡で 2000 個の肝細胞を観察し，mitotic index と小核を有する細胞の数を記録する。

統計処理： 小核を有する肝細胞数は Kastenbaum & Bowman の方法（または適切な統計処理）により，mitotic index および体重については Student の *t*-検定（またはその他適切な統計処理）により有意差検定を実施する。

### 【その他】

- ・参加機関には詳細を記載した手順書を配布予定。
- ・可能であれば末梢血の小核，肝代謝能についても検討する。
- ・2008 年日本環境変異原学会に発表可能な時期をデータ提出期限とし，後日設定する。
- ・参加希望の締め切りは 2008 年 2 月末日とさせていただきます。

連絡先：

株式会社三菱化学安全科学研究所

鹿島研究所 遺伝毒性グループ 高沢 博修

TEL : 0479-46-7552 FAX : 0479-46-7387 E-mail : [h-takasawa@ankaken.co.jp](mailto:h-takasawa@ankaken.co.jp)