

非臨床 News

第5号

はじめに 熊本研究所長 野口 浩一 2

最新研究紹介

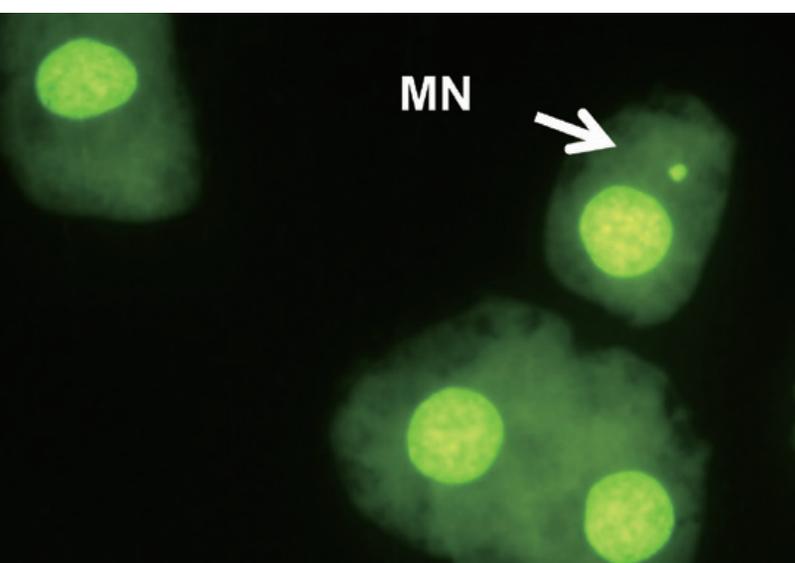
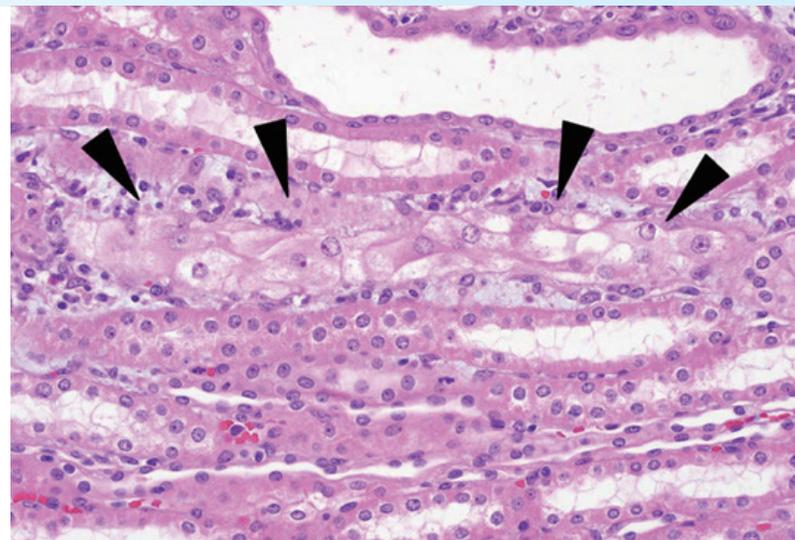
- ◆寒冷ストレス負荷によるラット線維筋痛症モデルを用いた各種薬物の疼痛緩和作用... 3
- ◆カニクイザルにおけるシスプラチン腎毒性－尿中腎障害バイオマーカーの測定－... 4
- ◆カニクイザルにおけるシスプラチン腎毒性－遠位尿細管傷害－ 5
- ◆トランスポーター発現細胞を用いた OATP1B1 及び OATP1B3 の Time dependent inhibition の評価 6

トピックス

- 1. 品質保証体制への取組（品質保証部） 7
- 2. GLP 調査結果報告 7
- 3. 放射性同位体標識化合物の受託合成 8
- 4. ヒト3次元培養表皮モデルを用いた皮膚刺激性試験 8

資格取得への取り組み

2014年学会にて各賞を受賞



はじめに



熊本研究所長
野口 浩一

非臨床 News 第5号発刊にあたり、試験研究センター熊本研究所の紹介を兼ねて一言ご挨拶申し上げます。

熊本研究所は、熊本県のほぼ中央部に位置する宇土市の丘陵地に立地しております。春には敷地内の二百本近い桜が一斉に咲き、桜の名所の様相を呈します。2015年3月1日時点で119名の職員を擁し、1986年の開設以来GLP適用の安全性試験や信頼性基準適用の薬効薬理試験等を数多く実施しております。

最近の規制当局等による熊本研究所の調査・査察等の状況について紹介いたします。昨年(2014年)8月に農薬GLP査察(評価:適合性確認)を、同年11月に医薬品及び医療機器GLP調査(いずれも評価:A)を、更に医薬品GLPの評価結果を基に化審法GLP申請を本年(2015年)3月にいたしました(評価:適合確認)。また、本年3月には試験研究センター(鹿島研究所及び熊本研究所)として2回目となるAAALAC InternationalによるSite visitを受け入れ、現在評価結果待ちという状況でございます(2012年の1回目は完全認証を受けております)。

さて、昨年11月26日に薬事法が大きく改正され、代わって医薬品医療機器等法が施行されました。医薬品及び医療機器については、試験を実施する際の対応が大きく変わることはなかったのですが、今回、再生医療等製品が新たに加わり、GLP省令も施行されました。このような薬事情勢が変わる中、熊本研究所の大きな特徴である薬効薬理試験においては、最近再生医療等製品の試験に積極的に取り組んでおります。各種の病態モデルを用いて試験を実施し、その実績を積み重ねております。また、GLP適用下で造腫瘍試験等の安全性試験の立ち上げにも取り組んでおり、2015年度内には受託を開始する計画です。

試験研究センターは、熊本研究所で安全性試験(小動物一般毒性、生殖毒性、特殊毒性)、薬理試験(安全性薬理、薬効薬理)、生化学試験(ELISA法等によるTK測定等も含む)等を、鹿島研究所で安全性試験(小・大動物一般毒性、がん原性、遺伝毒性、吸入毒性、安全性薬理等)、薬物分析と薬物動態試験等を、効率的に棲み分けする形で実施していますが、組織的に統括部制(安全性研究部や病理研究部)を取り入れたり、プロジェクトマネジメント部を設け、横断的に情報を共有してお客様に試験情報を提供したりと、両研究所の距離的な隔たりを様々な方法で補強・補完し、非臨床試験に関するお客様のご要望に、総合的に、かつ円滑にお応えできる一体運営での体制を構築しております。

最後になりましたが、日頃からのご愛顧に深く感謝申し上げますとともに、引き続きご指導、ご鞭撻を賜りますようよろしくお願い申し上げます。

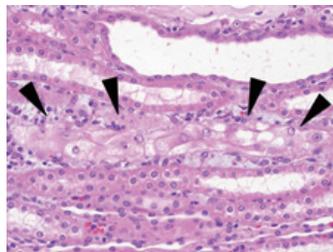


研究所入口ゲートから研究棟へ続く坂道を臨むところ。
沿道に続く桜並木が出迎えてくれます。

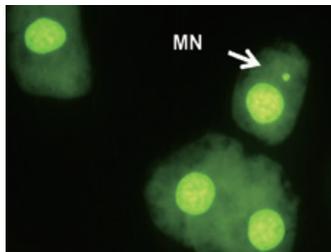
表紙写真紹介



安全性研究部の
大動物試験に携わる研究員



シスプラチンによる
腎尿細管上皮の傷害
(病理組織写真)



ホルマリン固定肝組織から分離した小核
(MN)を持つ肝細胞



2013～2014年度に
各種資格を取得した研究員の面々

薬理

寒冷ストレス負荷によるラット線維筋痛症モデルを用いた各種薬物の疼痛緩和作用



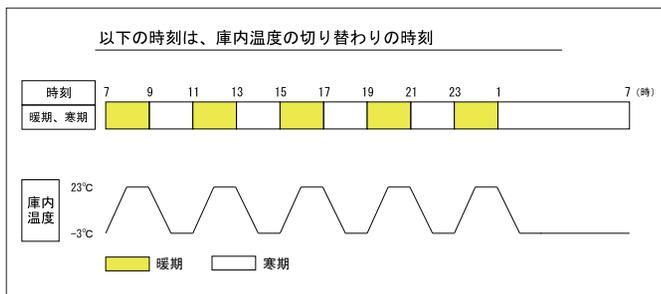
熊本研究所
左から守住グループリーダー、高橋研究員

【目的】

線維筋痛症は人口の約2%、特に閉経後の中高年女性に多く発症しているといわれており、全身性の激しい慢性痛が主症状です。この症状に対して、抗うつ薬や疼痛治療薬のプレガバリンなどが疼痛緩和に用いられていますが、現段階では根本的な治療法の確立には至っていません。本研究では、線維筋痛症の実験動物モデルとして報告されている寒冷ストレス負荷モデル^{*1, 2}に着目し、このモデルにおける薬理学的特性及び従来使用されている薬物の作用について検討しました。痛みの指標として、von Freyフィラメントを用いた機械刺激の疼痛閾値及びRandall-Selitto法による圧刺激の疼痛閾値を用いました。

【方法】

- ①動物：Cri:CD(SD)、♂、6週齢(寒冷ストレス開始時) プラスチック製ケージに床網を使用(寒冷ストレス開始以降)
- ②寒冷ストレス：暖期(23℃)と寒期(-3℃)を2時間間隔で5回切り替える条件(下図参照)に設定したプログラム機能付きインキュベーターに、雄性ラットを5日間収容することによって、寒冷ストレスを与えました。



③実験日程：寒冷ストレス終了3日あるいは10日後にフィラメントを用いた機械刺激の疼痛閾値の評価、寒冷ストレス終了8日後にRandall-Selitto法による圧刺激の疼痛閾値の評価を実施しました。

④疼痛閾値の測定：von Freyフィラメントを用いて、アップダウン法による50%疼痛閾値(Chaplanの方法^{*3}に準拠)を算出し、疼痛を評価しました。

Analgesy meterを用いて、Randall-Selitto法^{*4}による圧刺激に対する閾値を測定し、疼痛を評価しました。

【結果】

1. 寒冷ストレス負荷

5日間の寒冷ストレス負荷により von Freyフィラメントあるいは Randall-Selitto法による50%疼痛閾値及び圧刺激に対する疼痛閾値の低下が確認できました。更にこの疼痛閾値の低下は、1週間程度維持されました(図1及び図2)。

2. 薬物評価

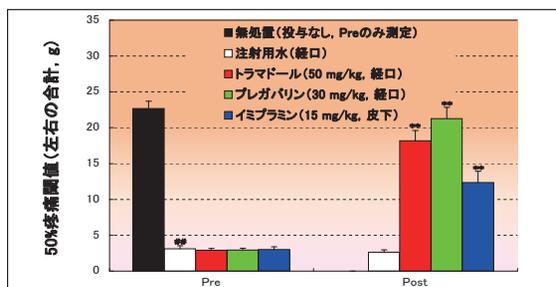
既存薬のトラマドール(抗うつ作用を併せ持ったオピオイド鎮痛薬)、

プレガバリン(疼痛治療薬)、イミプラミン(三環系抗うつ薬)及びデュロキセチン(セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害の抗うつ薬)は、寒冷ストレス負荷モデルの疼痛過敏を緩和しており、鎮痛作用が確認できました(図1、図2及び図3)。

【まとめ】

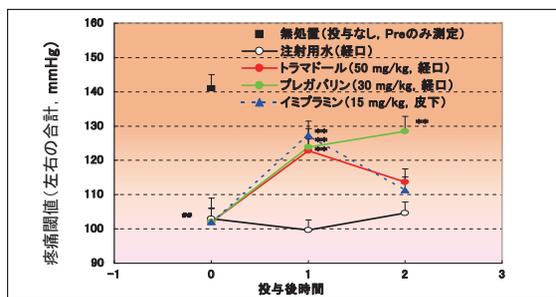
機械刺激あるいは圧刺激による疼痛評価では、寒冷ストレス負荷による疼痛閾値の低下、即ち、疼痛過敏状態に至っていることが明らかとなり、既存薬の鎮痛作用も確認できたことから、本モデルは、線維筋痛症モデルとして有用であることが判明しました。今後、お客様の多様なニーズにお応えしていきたいと考えています。

- *1: Physiology & Behavior 62(4): 849-855, 1997. Effects of Repeated Cold Stress on Feeding, Avoidance Behavior, and Pain-Related Nerve Fiber Activity / Kawanishi C. *et al*
 - *2: Life Science 62(24): 2181-2190, 1998. Neurotrophin induced Antinociceptive Effect by Enhancing Descending Pain Inhibitory Systems Involving 5-HT, and Noradrenergic α_2 Receptors in Spinal Dorsal Horn / Kawamura M. *et al*
 - *3: J Neurosci Methods 53: 55-63, 1994. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw / Chaplan S. *et al*
 - *4: Arch Int Pharmacodyn 111(4): 409-419, 1957. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue / Randall L. *et al*
- (原稿執筆/高橋 郁夫 E-mail: Takahashi.Ikuo@ma.medience.co.jp、守住 孝輔 E-mail: Morizumi.Kousuke@mn.medience.co.jp)



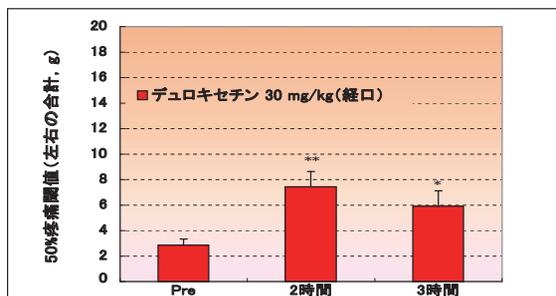
#: p<0.01, vs 無処置群 (t-test, N=6)
**: p<0.01, vs 注射用水群 (t-test, N=6) 【寒冷ストレス終了後3日に実施】

図1 von Frey フィラメント



#: p<0.01, vs 無処置群 (t-test, N=6)
**: p<0.01, vs 注射用水群 (t-test, N=6) 【寒冷ストレス終了後8日に実施】

図2 Randall-Selitto 法



*: p<0.05, **: p<0.01, Pre値との比較 【寒冷ストレス終了後10日に実施】

図3 デュロキセチン、von Frey フィラメント

安全性

カニクイザルにおけるシスプラチン腎毒性 —尿中腎障害バイオマーカーの測定—



鹿島研究所
安全性研究部の大動物試験に携わる研究員

【目的】

非侵襲的かつ経時的に得ることが可能な尿を用いて、腎障害を予測することは極めて有用であり、近年では臨床の現場においても活用されています。しかし、サル尿中腎障害マーカーに関するデータはほとんど報告されていません。当社では、腎毒性を誘発する薬剤をカニクイザルに投与して、尿中バイオマーカー（BM）の測定を試みました。加えて、従来推奨されている腎障害マーカーや、病理組織変化との関連性について比較検討しました*1。

【方法】

4～6歳齢の雌雄のカニクイザルにシスプラチン（0.5、1.5、5 mg/kg）を単回静脈内投与し、投与前、投与後第3、5及び8日に新鮮尿と血清の採取を行いました。尿中パラメータは、ヒト用測定キット（KIP3及びKIP5；MSD）を用いた電気化学発光法（ECL法）、あるいは生化学自動分析装置を用いて測定しました。血液中パラメータは、S-CreとBUNを測定しました。第8日の試料採取後に剖検を行い、腎臓の組織学的検査を行いました（高用量群は第5～6日に瀕死期解剖）。

【結果】

中用量群において、投与後第3～5日にCalbindin（ECL法）が約5倍に増加し、第3日の値は統計学的に有意でした（図1）。従来の腎障害マーカーであるS-CreやBUNを含む他のパラメータに有意な変化はみられませんでした。高用量群では、Calbindin、αGST、KIM-1、Osteoactivin、VEGF、Cystatin C、NGAL、TFF-3（ECL法、図1に代表例）、U-Alb、NAG（図2）、S-Cre、BUN（図3）が、投与後3日より増加しました。組織学的検査（詳細は5ページ参照）では、中用量群において遠位尿細管の変性、高用量群においては皮質を主体とした広範な壊死がみられました。中用量群では、遠位尿細管障害の特異的なBMとされるCalbindinのみが有意に増加し、高用量群においては、広範な壊死と関連し、近位及び遠位尿細管障害等を示唆する様々なBMが増加していました。したがって、増加したBMは、障害部位を反映していると考えられます。

【まとめ】

ヒト用ECLキットを用いて、サル尿中BMを測定し、その変動を捉えることができました。また、サルのシスプラチン腎症モデルでは、CalbindinがS-CreやBUNよりも高感度に、遠位尿細管障害を反映して増加することが確認できました。以上のことから、尿中BMの測定は、サルにおいても障害の部位、程度、時期を推定する良いツールになると考えられます。私たちは、シスプラチンの他、ドキシソルビシン（アドリアマイシン）、ポリミキシンB、アムホテリシンB等の腎障害誘発性物質の投与を行い、異なる障害部位及び障害機序によって変化するBMの測定を試みています。今後、様々な腎障害を正しく予測出来るよう、背景値の収集や測定項目の設定に取り組んでいきます。

*1：Final conclusions on the pilot Joint EMEA/FDA VXDS experience on Qualification of Nephrotoxicity biomarkers.2009.
(原稿執筆／小林 大礎E-mail:kobayashi.daiki@mu.medience.co.jp)

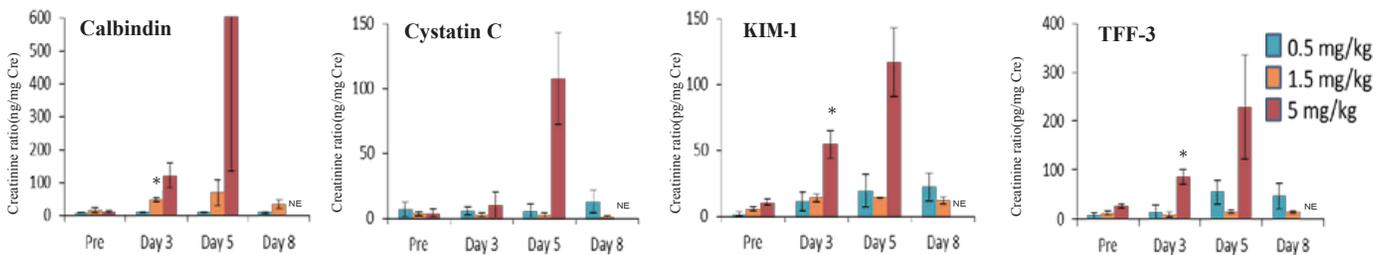


図1 シスプラチン投与による各マーカーの変動（ECL法）（各群 n=3）
*:p<0.05;vs Pre(Student's t-test or Aspin-Welch's t-test)

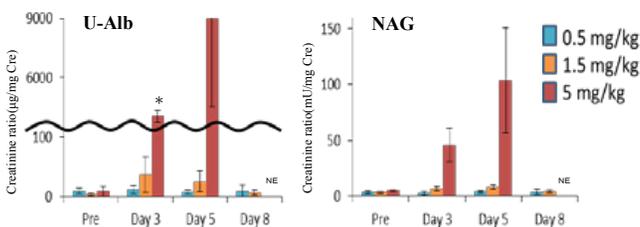


図2 シスプラチン投与による各マーカーの変動（酵素法 他）（各群 n=3）
*:p<0.05;vs Pre(Student's t-test or Aspin-Welch's t-test)

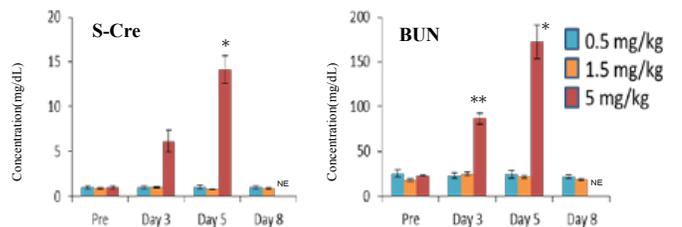


図3 シスプラチン投与による各マーカーの変動（血清）（各群 n=3）
*:p<0.05, **:p<0.01;vs Pre(Student's t-test or Aspin-Welch's t-test)

カニクイザルにおけるシスプラチン腎毒性 — 遠位尿細管傷害 —



鹿島研究所

後列左から黒滝研究員、土居チームリーダー、
菅野グループリーダー、山田研究員
前列左から友成、小林、涌生研究員

シスプラチンは臨床的に抗癌剤として使用されていますが、腎障害等の副作用が問題になります。ラットや培養細胞を用いた腎毒性の研究では近位尿細管傷害を惹起することが広く知られ、現在そのメカニズムについても盛んに研究が進められています。一方、ヒトの臨床検体を調べた研究では傷害部位が近位尿細管ではなく、遠位尿細管及び集合管であると記載されています*1。しかし、遠位尿細管傷害についてはほとんど注目されておらず、また、前臨床研究におけるサルのシスプラチン腎毒性についても明らかにされていないのが現状です。

今回、当社の解析により、カニクイザルではシスプラチン投与により遠位尿細管が傷害され、よりヒトに近いモデルとして有用であることが示唆されたので紹介します。

[方法]

尿中腎障害BM測定実験(4ページ参照)にてシスプラチンを投与したカニクイザルを、投与後第8日に剖検、または投与後第5あるいは6日に瀕死期解剖し、腎臓における組織学的及び免疫組織化学的検索を行いました。

[結果]

1. 組織学的検索

主な変化として皮質から髄質外帯における尿細管上皮の変性あるいは壊死が観察されました(図1)。中用量群では散在性に変性像がみられ、高用量群では広範な壊死が観察されました。私達は中用量群における変性像の分布に注目し、病変は遠位尿細管を主体としているのではないかと考えました。しかし、傷害により尿細管上皮は形態が崩れ、ネフロンの中のどのセグメントに相当するのか判断が困難になることから、免疫染色を用いた同定を行いました。

2. 免疫組織化学的検索

各セグメントのマーカーとなる3抗体を用いて(図2)、傷害部位を明らかにしました。すなわち、中用量群における主な傷害部位は遠位尿細管直部(ヘンレの太い上行脚)及び曲部(図3)でした。高用量群では近位尿細管や皮質集合管にも傷害が波及し、程度も高度でした。

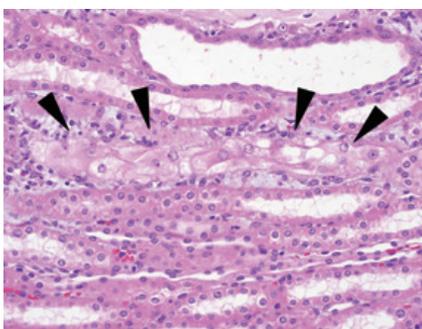
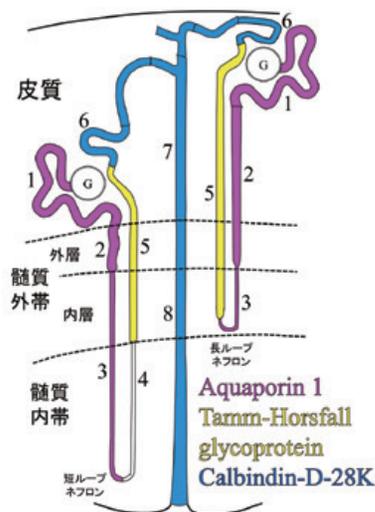


図1 尿細管上皮の腫大、空胞化(中用量群)



近位尿細管:1, 曲部 2, 直部
ヘンレループ:3, 細い下行脚 4, 細い上行脚
遠位尿細管:5, 直部(ヘンレの太い上行脚) 6, 曲部
集合管: 7, 皮質集合管 8, 髄質集合管

図2 本研究にて用いた各尿細管セグメントの免疫染色マーカー(図は参考文献 1, P16の図を一部改変)

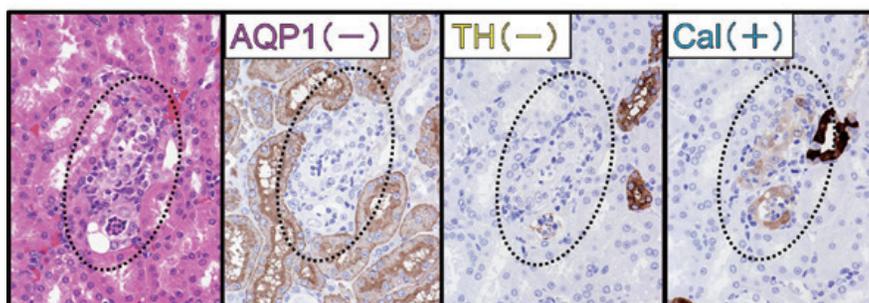


図3 免疫染色マーカーによる傷害部位の同定(Calbindin 陽性を示す遠位尿細管曲部が傷害)

[まとめ]

サルではシスプラチン投与により遠位尿細管が傷害されることが明らかになり、よりヒトに近い病態を再現できるモデル動物として有用であると考えられました。シスプラチンの毒性メカニズムに関する腎トランスporterは、発現や局在に動物種差があることがわかっていますが、サルでは調べられていません。尿中腎障害BM評価のヒトへの外挿性を考えた場合、本モデルにおけるそれらを検索することは非常に重要であると考えられます。今後は更に研究を進展させ、本モデルの病態解明や尿中腎障害BM評価の精度向上に努めたいと考えています。

当社病理研究部は、このような研究を通じ、個体に起きている生命現象の本質を正確に捉える能力を高め、精度の高い病理学的評価を維持していきたいと考えています。

*1: Acute Tubular Injury. In: Heptinstall's Pathology of the Kidney, 6th ed. 1139-1177, 2007. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. JC Jennette, JL Olson, MM Schwartz, FG Silva (eds) / Racusen L et al.

(原稿執筆/小林 亮介 E-mail: kobayashi.ryousuke@mu.medience.co.jp)

トランスポーター発現細胞を用いた OATP1B1 及び OATP1B3 の Time dependent inhibition の評価



鹿島研究所
後列左から庵、山口、大塚、木村研究員
前列左から金子(哲)、金子(健)、間舘、斎藤研究員

【背景】

OATP1B1/3は肝臓に発現し、血中からの薬物の取込みに関与する薬物トランスポーター (TP) で、日米欧の薬物相互作用に関する規制文書で評価が推奨されている分子種です。特に、OATP1B1は、臨床における相互作用事例が多く報告され、P-gpとともに最も重要な薬物TPであることが知られています。

また、OATPsでは、Time dependent inhibition (TDI) が起きることが報告されています*1-6。TDIは、阻害薬をプレインキュベーションすることで阻害効果の増強が認められる現象であり、日本の薬物相互作用ガイドラインにも留意事項として記載され、注目されています。そこで、当社のTP発現細胞を用いて、TDIの評価を実施しました。

【方法】

評価法：
TP発現細胞 (OATP1B1, OATP1B3及びMock/HEK293細胞) を用いた取込み実験
基質：³H]E17G (0.05 μmol/L)
阻害剤：
Cyclosporin A (CsA), Ritonavir (RIT), Saquinavir (SAQ), Rifampicin (RIF)

【結果及び考察】

OATP1B1では、方法Aと方法B (図1) のIC₅₀を比較すると、いずれの阻害剤においても方法Bのほうが低い値を示しTDI効果が認められました。CsA及びSAQにおいてその効果が特に強く認められています (図2)。

OATP1B3では、方法Aと方法B (図1) のIC₅₀を比較すると、CsAを除く阻害剤において方法Bのほうが低い値を示し、TDI効果が認められました。RIT及びSAQにおいてその効果が特に強く認められています (図3)。

【まとめ】

OATP1B1に対するCsA、RIT及びSAQについては、既報の文献と同様の結果が得られ、当社のTP発現細胞を用いたTDI効果の評価が可能であることが示唆されました。また、OATP1B3においても、既知の阻害剤についてTDI効果が認められることが確認されました。一方で、阻害剤によってTDI効果に差異が認められたことから、さらに検討を進め、より信頼を得られる受託試験としてご提供できるように尽力していきます。

本内容は、19th ISSX年会 (2014) にてポスター発表いたしました。

参考文献

- *1 : Drug Metab Dispos. 37: 1172-1178. 2009/Shitara Y et al.
- *2 : Drug Metab Pharmacokinet. 27: 368-378. 2012/Shitara Y et al.
- *3 : J Pharm Sci. 101: 2606-2615. 2012/Suzuki K et al.
- *4 : J Pharm Sci. 102: 3427-3435. 2013/Shitara Y et al.
- *5 : Drug Metab Dispos. 38: 1499-1504. 2010/Amundsen R et al.
- *6 : Drug Metab Dispos. 41: 615-621. 2013/Shirasaka Y et al.
- *7 : Drug Metab Dispos. 41: 1859-1866. 2012/Izumi S et al.
- *8 : J Pharmacol Exp Ther. 340: 223-228. 2003/Tirona RG. et al.
- *9 : Eur J Pharmacol. 584: 57-65. 2008/Gui C. et al.

略語

OATP: Organic anion transporting polypeptide
E17G: Estradiol 17β-D-glucuronide
原稿執筆/金子 健一 E-mail: kaneko.kenichi@ma.medience.co.jp

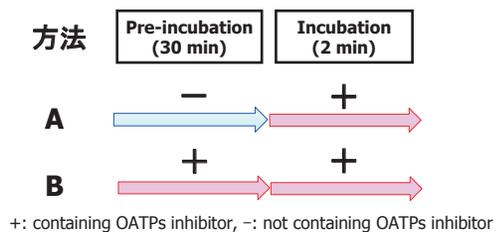
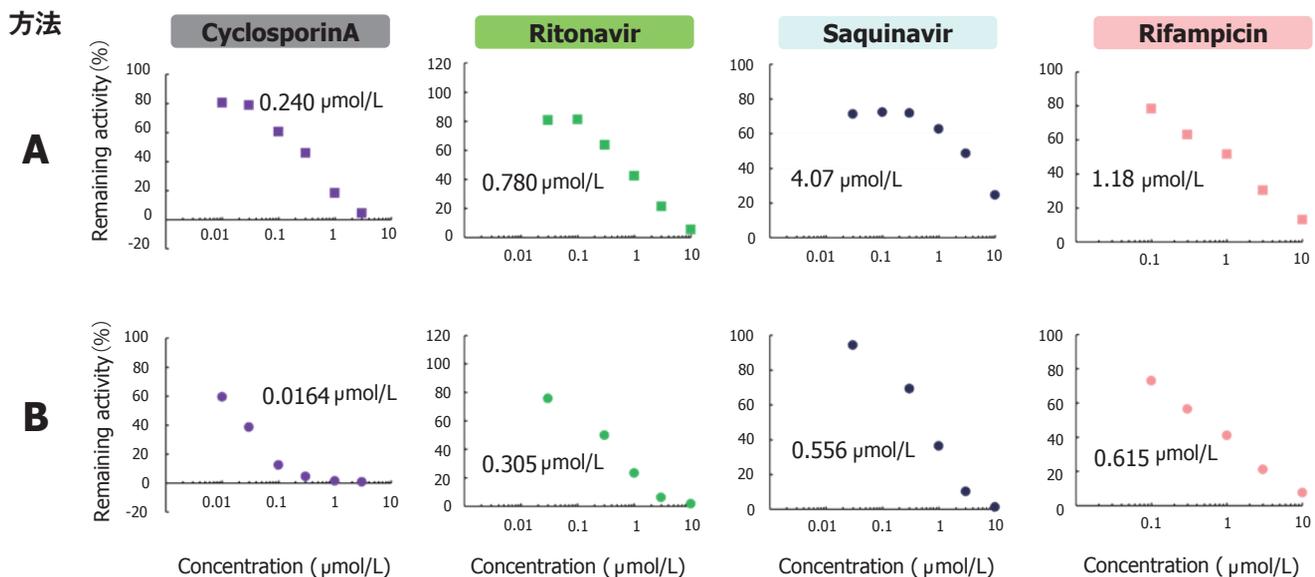


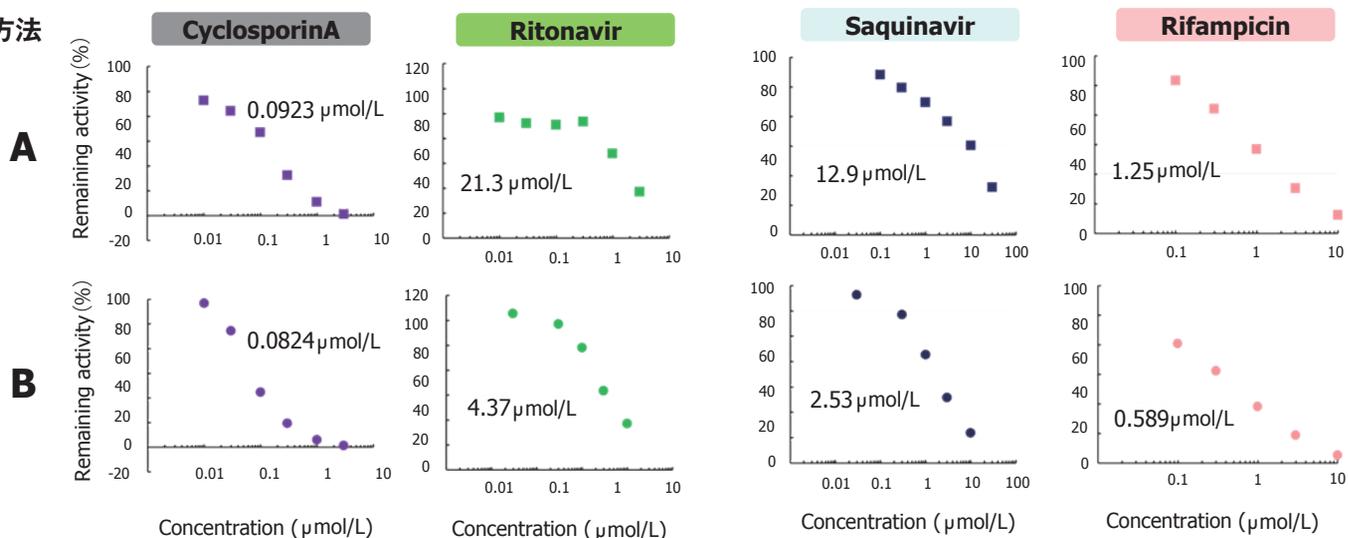
図1 インキュベーション方法



Previously-reported IC₅₀ values: CyclosporinA; 0.118 μmol/L*7, Ritonavir; 0.397 μmol/L*7, Saquinavir; 1.23 μmol/L*8, Rifampicin; 0.585 μmol/L*7

図2 典型阻害剤による OATP1B1 に対する阻害作用

方法



Previously-reported IC₅₀ values: Rifampicin; 2.6 μmol/L *⁹

図3 典型阻害剤による OATP1B3 に対する阻害作用

Topics
1

品質保証体制への取組(品質保証部)

当社は、お客様のご要望に応えご満足いただけるように、品質の高いサービス・報告書を提供できる品質保証体制の構築に努力しています。そのために、ヒューマンエラー防止と対策の外部講習会、ISO9001 や ISO/IEC17025 内部監査員養成講座、実践的内部監査ブラッシュアップ研修会なども受講し、人を育てることにより品質保証体制のレベル向上に努めています。

また、ヒューマンエラーの影響をコントロールするために、ヒヤリハットやインシデントの事例を試験研究センター全体で共有し、事故や不具合を未然に防ぐシステムを導入しました。本システムを用いて職員自らがミスゼロに向けてリスク事例を学び対策を立て技能や技術を向上させることで、試験研究センター全体の信頼性向上を目指しています。これからも、お客様に信頼される研究所として、意識改革と自己研鑽に努め、品質を追求し続けます。

(原稿執筆/東川国男 E-mail:Higashikawa.Kunio@me.medience.co.jp)



Topics
2

GLP 調査結果報告

2014年度、試験研究センターはGLP適合性調査年でした。鹿島研究所では、昨年5月19日の静岡分室ラボツアーを皮切りに20日から23日までの計5日間農薬GLPの査察を受け、続いて6月16日から20日までの5日間に医薬品GLPの適合調査を受けました。一方、熊本研究所では、8月5日から7日までの3日間、農薬GLPの査察を受け、11月10日から14日までの5日間に医薬品及び医療機器GLPの調査を受けました。結果は右表に示すとおり、「A」あるいは「適合確認」の評価でした。

	鹿島研究所(通知日)	熊本研究所(通知日)
厚生労働省 医薬品	A (2014年8月19日付)	A* ¹ (2015年1月5日付)
化学物質	適合確認 (2014年10月3日付)	適合確認 (2015年3月17日付)
安衛法	可* ² (2011年7月27日付)	
農林水産省 農薬	適合確認 (2014年7月4日付)	適合確認 (2014年12月22日付)

*1:医療機器を含む

*2:2014年6月より医薬品GLP / 化審法GLPの乗り入れ制度を利用するため、安衛法GLPの適合確認を受けないこととした

(編集部)

Topics
3

放射性同位体標識化合物の受託合成 ～高いラジオケミストリー技術をベースとした提案力ときめ細かな対応に注力～



メディシナルケミスト：
関谷浩一。「合成のことは私にご相談下さい」

放射性同位体 (RI) 標識化合物は、医薬品の研究開発における薬物動態 (全身オートラジオグラフィー、マスバランス、代謝物解析、トランスポーター、蛋白結合率等)、薬効薬理 (メカニズム解析等)、ラジオイムノアッセイ等の様々な評価において有用性の高いツールとして活用されています。

当社は、2011年より韓国Curachem社と提携し、RI標識化合物の受託合成サービスを行っております。Curachem社の高いラジオケミストリー技術に基づき、様々な¹⁴C及び³H標識体の合成に対応します。複雑な構造を持つ化合物の標識化についても、当社のメディシナルケミ

ストとCurachem社との間で協議し、適切な標識位置、高品質なスペックの製品をご提供するのはもちろんのこと、より安価に、かつ迅速に供給可能な合成ルートをご提案いたします。

その他、RI標識化合物の精製、輸入、輸送、小分け、安定性確認、保管サービス等についても承ります。また、薬物動態試験とパッケージでご依頼いただくことで、合成期間の調整を含め、よりスムーズに薬物動態試験を進めることが可能となります。RI標識化合物合成から薬物動態評価まで、お客様のニーズに対して「痒いところに手が届く」をモットーに、きめ細かなサービスが隔々まで行き届くよう心掛けています。

ご用命があれば、お客様のもとに直接お伺いいたしますので、お気軽にお声掛けいただければ幸いです。

(原稿執筆／関谷 浩一 E-mail：Sekiya.Kouichi@mg.medience.co.jp)

Topics
4

ヒト3次元培養表皮モデルを用いた皮膚刺激性試験

ヒト3次元培養表皮モデルを用いた皮膚刺激性試験は、化学物質等の皮膚刺激性(4時間適用)を評価する試験法であり、急性皮膚刺激性試験(OECD TG404)の代替法としてOECDガイドラインに記載されています*1。当社でも昨年度から受託を開始しました。被験物質を培養表皮モデルに暴露させた後、培養表皮の細胞生存率を指標として、刺激性を評価します。図1は既知の化学物質を用いた場合の結果例ですが、本試験法で得られた細胞生存率は各化学物質のGHS区分*2と良好な相関性を示しています。なお、培養表皮モデル(図2)は国内メーカー製(LabCyte EPI-MODEL24, 株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング)を使用しており、培養表皮モデルを入手後、約5日間で結果が得られます。近年、動物福祉の観点から、動物実

験代替法の開発・導入が積極的に進められています。当社では現在、眼刺激性試験の代替法の導入にも着手しており、お客様の多様なご要望にお応えできるよう、引き続き受託メニューを充実させていきたいと考えています。

(原稿執筆／財前 絹子 E-mail: zaizen.kinuko@md.medience.co.jp)

*1: Test No. 439: *In Vitro* Skin Irritation-Reconstructed Human Epidermis Test Method

*2: 「化学品の分類および表示に関する世界調和システム (GHS)」による危険有害性区分

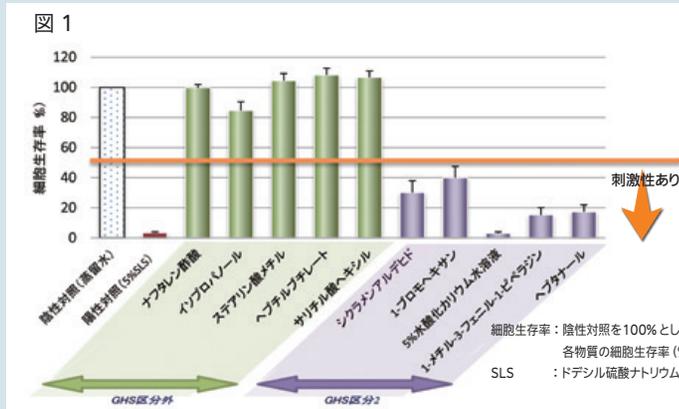
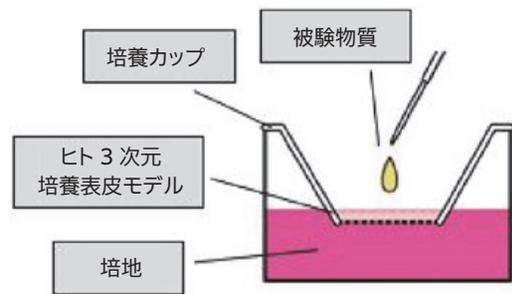


図2 培養表皮モデルの図



株式会社LSIメディエンス 創薬支援事業本部

- ◆試験研究センター 鹿島研究所 〒314-0255 茨城県神栖市砂山 14 番地 1 ☎ 0479-46-2871 FAX 0479-46-2874
- ◆試験研究センター 熊本研究所 〒869-0425 熊本県宇土市栗崎町 1285 番地 ☎ 0964-23-5111 FAX 0964-23-5122
- 【関東】創薬第1営業部 第1グループ 〒101-8517 東京都千代田区内神田一丁目13番4号 THE KAITEKIビル ☎ 03-5577-0807 FAX 03-5577-0857
- 【関西】創薬第1営業部 第2グループ 〒541-0044 大阪市中央区伏見町四丁目 1 番 1 号 ☎ 06-6204-8411 FAX 06-6204-8716

<http://www.medience.co.jp/>

株式会社LSIメディエンス 非臨床 News 第5号 2015年5月発行

賞

日本環境変異原学会 (JEMS) 第43回大会ベストプレゼンテーション賞受賞



鹿島研究所 安全性
志賀野 美幸研究員

JEMS第43回大会 (2014年12月4日～5日、東京)において「ホルマリン固定組織を用いた肝臓小核標本作製～コラゲナーゼ処理法との比較検討～」という演題でポスター発表を行い、ベストプレゼンテーション賞・エルゼビア賞を頂きました。

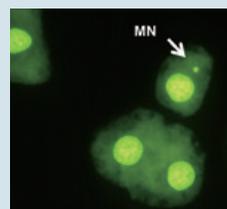
肝臓小核試験は、近年、国際的にも注目されている遺伝毒性試験の1つですが、中でも反復投与による方法は、JEMS・MMS研究会の共同研究により飛躍的に広まってきた試験法です。今回の発表では、ホルマリン固定肝臓組織から細胞を分離して肝臓小核試験を実施する方法を紹介しました。この肝細胞分離法は、既に報告されているものですが、標本観察に難点があり、長らく注目されずにいました。今回の検討では、約5年前に採取した固定肝臓組織から良好な肝細胞を分離することが

可能であることを証明できただけでなく、観察者間のバラツキを排除できる新たな肝細胞染色法を確立することができました。動物を用いる遺伝毒性試験では、動物福祉の観点から一般毒性試験に組み込むなどにより使用動物数の削減に努めることが求められています。ホルマリン固定肝臓組織を利用する方法は、従来標準的に利用されてきたコラゲナーゼ処理法以上に汎用性が高く、より一般毒性試験への組み込みに適した画期的な方法と考えます。

今後も、評価対象化合物の持つ遺伝毒性を正確に評価できるよう努めるだけでなく、遺伝毒性評価の様々なニーズにお応えするべく、研究活動に動んでまいります。

(原稿執筆/志賀野 美幸 E-mail: shigano.miyuki@ma.medience.co.jp)

ホルマリン固定肝臓組織から分離した肝細胞。染色法の検討により小核(MN)が明瞭に観察できるようになった。



賞

第31回日本毒性病理学会にてJTP最優秀論文賞及び功労賞金賞を受賞

2014年度のJournal of Toxicologic Pathology (JTP) の最優秀論文賞に鹿島研究所・病理1Gの佐藤ら5名(橋本、山田、土居、土谷)の論文「Histological Characteristics of the Regression of Corpora Lutea in Wistar Hannover Rats: the Comparisons with Sprague-Dawley Rats」が選ばれました。Wistar Hannoverの卵巣に着目したきっかけは、背景データ収集試験の鏡検を行っていた際の「なんだか卵巣の様子がいつもとちがうね」という気づきからです。このような系統による違いや特徴を把握しておくことは、毒性変化を検出するための重要な第一歩です。本論文の内容は、派手さはありませんが、多くの病理関係者から望まれていた内容ではないかと思われます。我々はCROの強みで、どの病理研究者よりも多くの動物を鏡検しており、そこから得られる背景的な知見を世に公表することは、病理学研究者としての我々の責務だと考えています。

上述した最優秀論文賞に加え、株式会社LSIメディエンス病理研究部としてJTP金賞を受賞しました。金賞はJTPへの論文投稿数が25報を越えた機関に贈られるものです。普段の鏡検業務での気づき、社内検討試験で得られた結果を、業務の合間を見ながら、部員一人一人が地道に論文として仕上げた結果と自負しています。今後も努力を怠ることなく、毒性病理学の発展に貢献していきたいと考えています。

(原稿執筆/佐藤 順子 E-mail: Satou.Junko@ms.medience.co.jp、菅野 剛 E-mail: Kanno.Takeshi@me.medience.co.jp)



鹿島研究所 病理
左から土谷 稔、佐藤 順子研究員(いずれも静岡分室所属)、土居 卓也チームリーダー

株式会社LSIメディエンス 創薬支援事業本部

- ◆試験研究センター 鹿島研究所 〒314-0255 茨城県神栖市砂山 14 番地 1 ☎ 0479-46-2871 FAX 0479-46-2874
- ◆試験研究センター 熊本研究所 〒869-0425 熊本県宇土市栗崎町 1285 番地 ☎ 0964-23-5111 FAX 0964-23-5122
- 【関東】創薬第1営業部 第1グループ 〒101-8517 東京都千代田区内神田一丁目13番4号 THE KAITEKIビル ☎ 03-5577-0807 FAX 03-5577-0857
- 【関西】創薬第1営業部 第2グループ 〒541-0044 大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 ☎ 06-6204-8411 FAX 06-6204-8716

<http://www.medience.co.jp/>

株式会社LSIメディエンス 非臨床 News 第5号 2015年5月発行

資格取得への取り組みを進めています！

「認定トキシコロジスト」 資格を取得

この度、2014年度の日本毒性学会「認定トキシコロジスト」認定試験に合格しました。認定トキシコロジストは、化学物質の有害作用を研究する学問であるトキシコロジー全般に亘る広い知識と技術を有する専門家として、学会に認定された資格です。一年程前からゆっくりと準備を始め、周囲の協力もあり自信を持って試験に臨めたことが良い結果につながったように思います。

日々の業務の中では、認められた変化を毒性と捉えるかどうか悩む機会にしばしば直面します。統計学的に有意差がついたとしても、その変化が毒性学的に有意かどうかを見極めるのは簡単なことではありません。そのためにも幅広い知識が必要であり、認定資格の取得は有意義なものです。

今後は認定試験で得た知識を活かし、毒性を正しく評価することによって、世の中に安全な医薬品や化学物質を送り出すトキシコロジストとしての責務を果たしていきたいと思っています。

(原稿執筆/
高橋 一彰
E-mail: takahashi.kazuaki@mg.medience.co.jp)



鹿島
高橋 一彰研究員

「実験動物 1 級技術者」資格を取得

実験動物1級技術者の認定講習を受講できるのは、毎年1施設につき1名のみです。2013年度は須藤先輩が選出され、見事に認定試験に合格されました。そして2014年度は熊本研究所を代表して私が選出され、重責を感じながら約半年間、試験勉強に励みました。

認定試験には記述と実技の試験があり、どちらも3種類の動物種を選択する必要があります。私は必須の小動物（マウス）に加え、選択動物種としては、熊本研究所で主として試験に用いられているラットを、もう一種は実務としてウサギを用いた生殖発生毒性試験、特殊毒性試験を担当していることもあり、ウサギを選択しました。必須のマウスに至っては、ほとんど取り扱った経験がなく、先輩方の指導のもと、一から教育・訓練を受け、試験に挑みました。

日々培ってきた知識や経験に加え、周りの環境や先輩方の支えにも恵まれ、無事に合格することができ、自分自身にとって大きな自信となりました。一昨年合格された須藤先輩も現在は鹿島研究所にて大動物（イヌ、サル、ブタ）試験の実施や後進の育成に頑張っておられます。私も実験動物1級技術者として後進を育て、質の高いスタッフによる質の高い試験を実施し、お客様に安心して試験をご依頼頂けるよう日々精進していきます。

(原稿執筆/半田 圭佑 E-mail: Handa.Keisuke@mk.medience.co.jp)



鹿島 須藤 元希研究員



熊本 半田 圭祐研究員

「病理専門家認定」資格を取得

実験動物に関わる病理認定資格は二つあります。一つは日本獣医病理専門家協会・日本獣医学会病理学分科会が実施する会員資格認定試験です。この認定試験は、実験動物だけでなく、産業動物や伴侶動物に関する病理学の知識が幅広く問われる試験となっています。もう一つは日本毒性病理学会が実施する毒性病理学専門家認定試験です。こちらの認定試験は実験動物分野に特化しており、

化学物質が動物に与える影響などについての病理学的知識が問われる試験です。いずれの試験も、筆記試験だけではなく実際にスライド標本を鏡検し診断する実技試験が実施されており、病理学的知識はもちろんですが、鏡検能力も試される試験となっています。

この度、当社病理研究部の小林研究員が日本獣医病理専門家協会会員認定試験に、隈部研究員及び私、山田直明が毒性病理

学専門家認定試験に合格しました。当社では、病理研究部鏡検者の教育の一環として、両試験合格を一人前の鏡検者となるための通過点と考えています。今後も両学会への積極的な参加・発表・論文投稿を通して研究員全体のレベル向上に努め、お客様のお役にたてるよう日々研鑽していきますので、今後ともご指導賜りますようお願いいたします。

(原稿執筆/山田 直明 E-mail:yamada.naoaki@mn.medience.co.jp)



熊本 隈部 志野研究員



鹿島 小林 亮介研究員



鹿島 山田 直明研究員