

「遺伝子改変動物による発がん性試験」の 期間延長(可変性)について

独立行政法人 労働者健康安全機構
日本バイオアッセイ研究センター

現在までの rasH2 の結果のまとめ

- 図1, 図2, 図3に示す如く、3試験、雌雄の半数(3/6)において、対照群の自然発生腫瘍が発生する前に26週の試験期間を終了している。
- 対照群の自然発生腫瘍(致死性)の発生率は3/6試験で0%、残りの3/6試験でも10%以下であった。
- 対照群において、定期解剖時に非致死性腫瘍が低頻度認められたが、その頻度はそれまでの致死性腫瘍と併せても10~30%であった。
- 処置群の総腫瘍誘発率は対照群より高いことが多かったが、組織型別には発生率が低く、有意差をもって増加する事例は少なく、それらのすべてはPeto検定等の傾向検定によるものであった。
- 尚、図4の示す通り、陽性対照物質MNUによるリンパ腫の誘発が確認され、用いたrasH2マウスの発癌感受性に問題がないことが確認された。

現在までの p53+/- の結果のまとめ

- 図5、図6に示す如く、2試験、雌雄のほぼすべて(4/4)において、対照群の自然発生腫瘍が発生する前に26週の試験期間を終了している(現在、肉眼所見のみ利用可能)。
- 処置群にも、肉眼的腫瘍発生の増加あるいは発生促進は認められなかった。

考察(1)

- 26週までの時点で、対照群の自然発生腫瘍が発生率が0～10%、定期解剖時の非致死性腫瘍を合わせても、高々、10～30%であったことは、[図7](#)に示す[Eastmond et al. *Crit Rev Toxicol.* 2013 September ; 43(8): 611–631]の記載に一致する。
- しかし、[図8](#)に示す[Tanaka et al., *Radiation Res.* 2003, 2007]の如く、終生観察に基づく発がん試験の結果からは、対照群の自然発生腫瘍の発生率が10～20%の時点で、処置による発がん促進効果が最も顕著に検出される事が示される([図8](#)の赤破線楕円で囲った部分)。この傾向は、2年間の発癌性試験に於いても該当する場合が多いことが経験されている(下記のJBRCでの「対照群20%～30%が自然発生致死性腫瘍を誘発する事」と対応)。
- 野生型の齧歯類を用いた発癌性試験の基本概念として「当該種の寿命に近い長期間暴露する」ことが挙げられるが、それは、JBRCにおいて対照群20%～30%が自然発生致死性腫瘍を誘発する事で、寿命に対して十分に長い期間であることを担保してきている。

考察(2)

- 当該マウスが持つ「寿命」を自然発生腫瘍の発癌率で推察することが可能であるとすると、JBRCがここまで実施した遺伝子改変マウス試験は、「寿命に比して十分に長い期間」に到達する前に試験を中断したことになると考えられる。
- 更に、[図8](#)に示す終生発がん試験の結果が示すところの、処置による発がん促進効果が最も顕著に検出される時期にも、到達してないと考えられる。
- 即ち、遺伝子改変マウスにおいて、処置による発がん促進効果が最も顕著に検出される時期は、[図9](#)の赤色四角で囲った6か月から9カ月の間の領域となる事が、[図8](#)の知見から類推される。
- 尚、現在までのJBRCでの解剖所見、文献上、及び、関係者の経験から、p53+/-マウスは、rasH2マウスよりも26週時点での自然発生腫瘍発生率が低いことが強く想定される。

試験計画の変更点

- 上記の結果と考察から、以下のとおり試験計画を最長9ヶ月まで延長可能とする(図10)。
 1. 遺伝子改変動物(rasH2及びp53+/-マウス)による発癌性試験の期間を最長9カ月まで延長可能(可変可能)とする。
 2. 対照群の途中解剖例が10%乃至15%程度に達した時点で試験を終了することを目安とする(達しなかった場合は9カ月で終了する)。
 3. 試験終了の最終判断は、病理担当者の腫瘍発生の経過状況の判断に基づき、試験実施責任者が下す。

図1 現在までの rasH2 の結果 (病理組織診) の概要 (1)
 (青 = 対照群、赤 = 最高用量処置群)

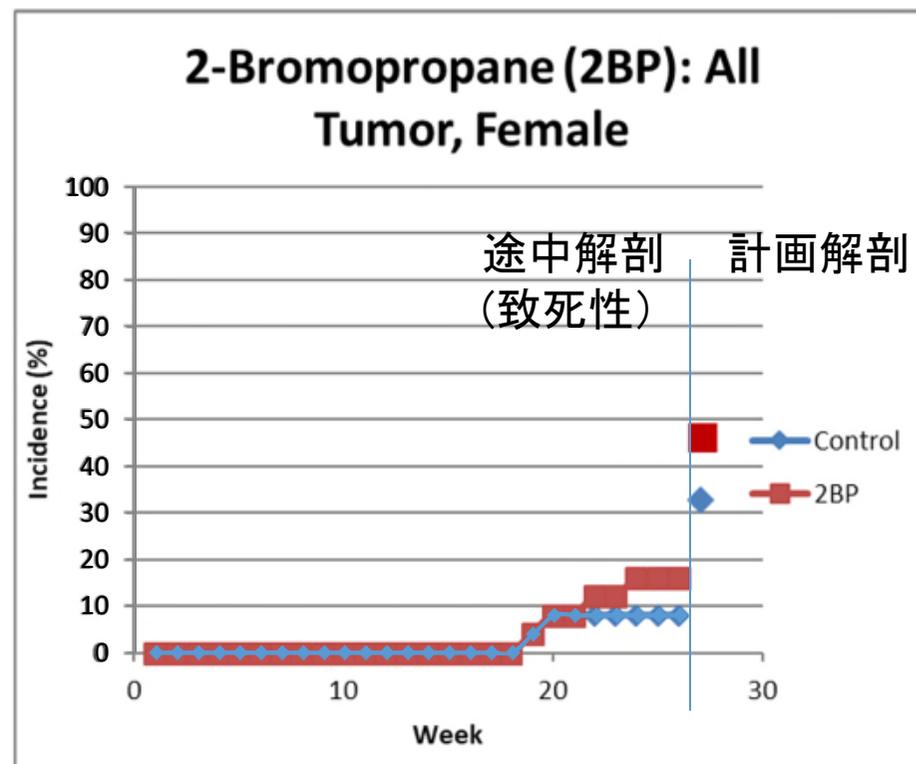
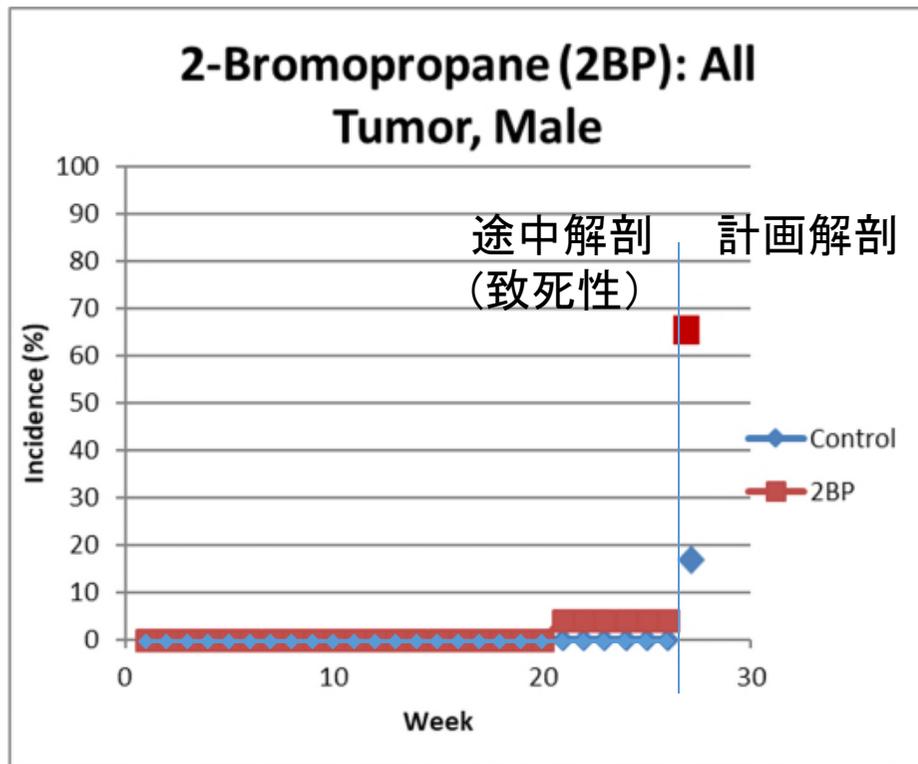


図2 現在までの rasH2 の結果 (病理組織診) の概要 (2)
 (青 = 対照群、赤 = 最高用量処置群)

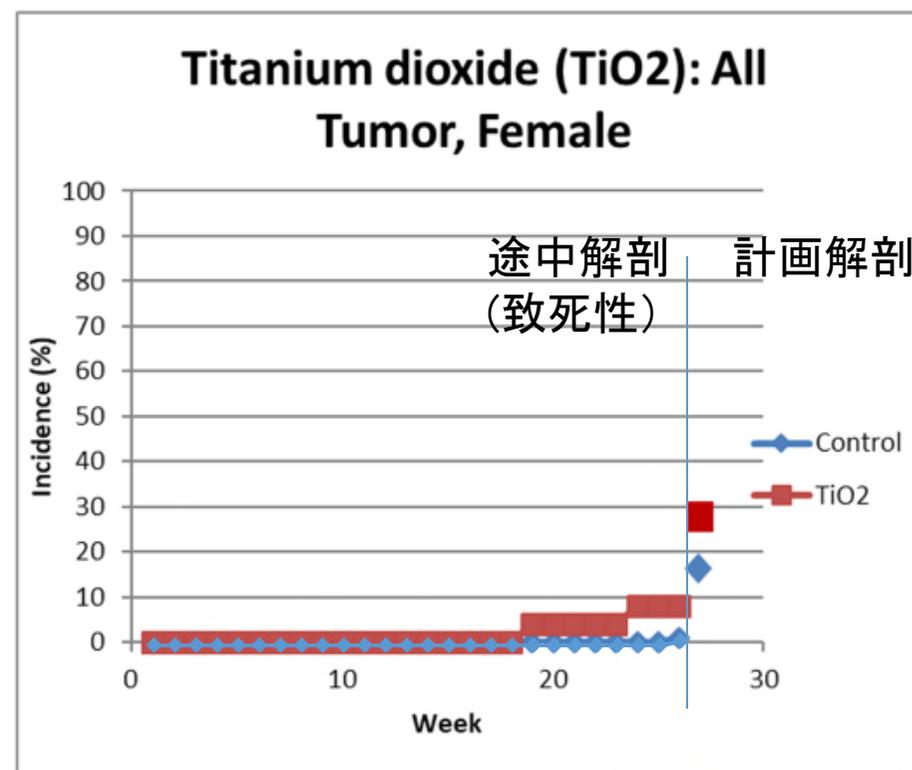
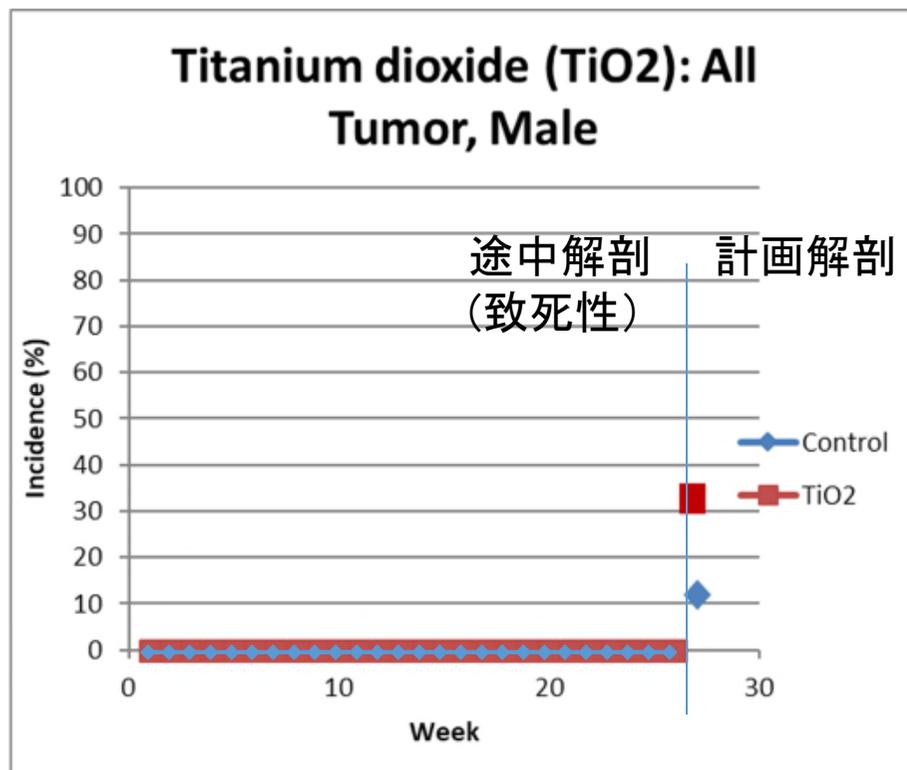


図3 現在までの rasH2 の結果 (病理組織診) の概要 (3)
 (青 = 対照群、赤 = 最高用量処置群)

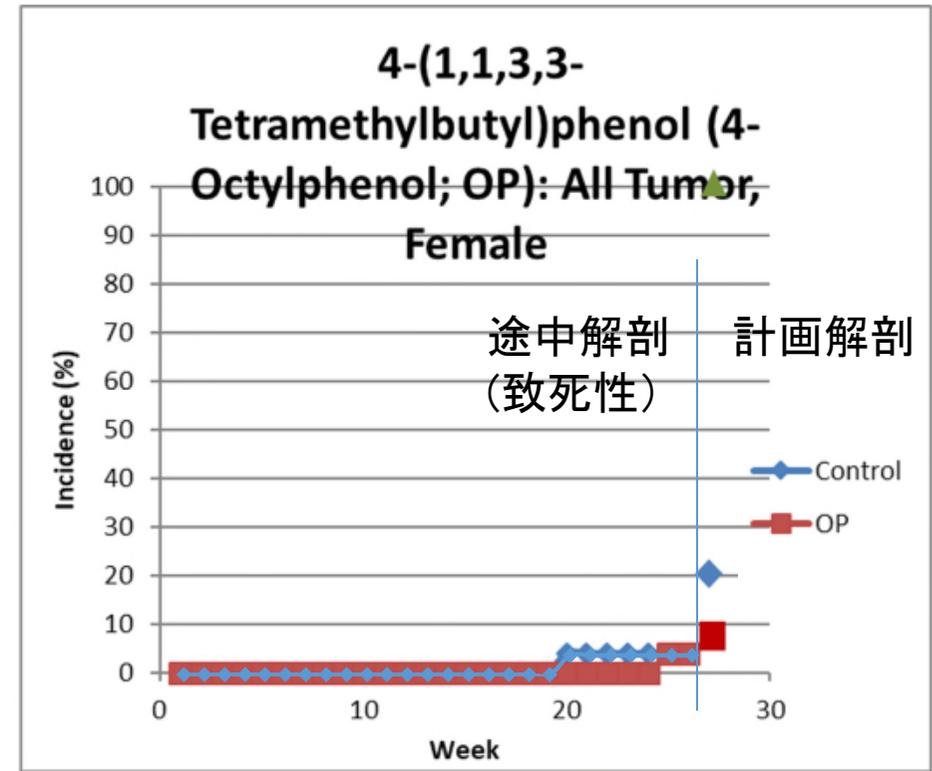
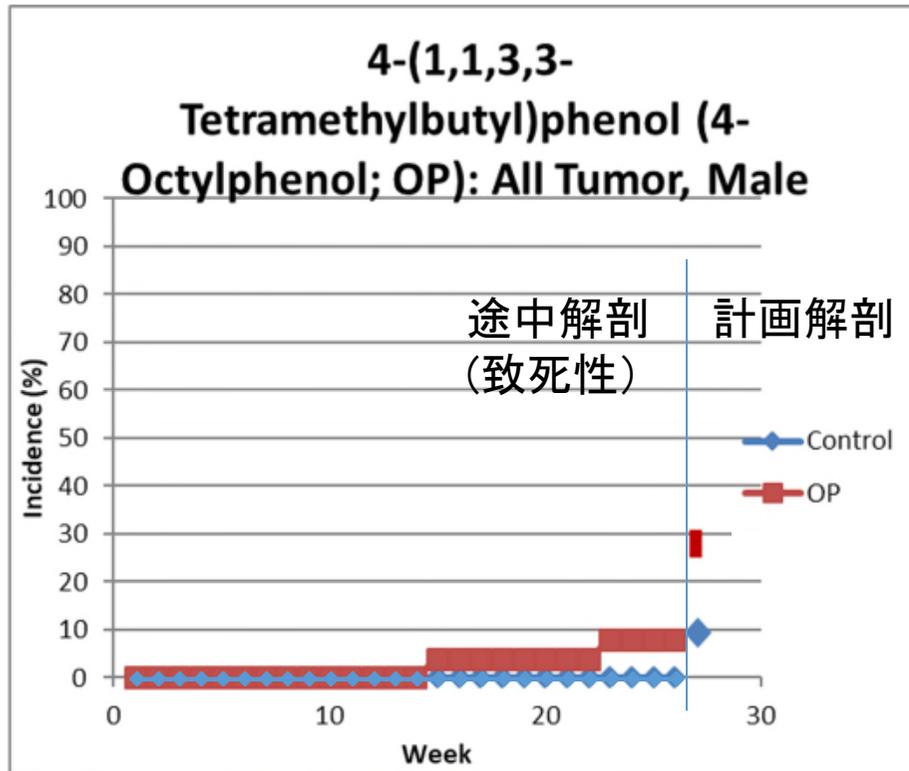


図4 現在までの rasH2 の結果 (病理組織診) の概要 (4)
 (青 = 対照群、緑 = 陽性対照物質MNU)

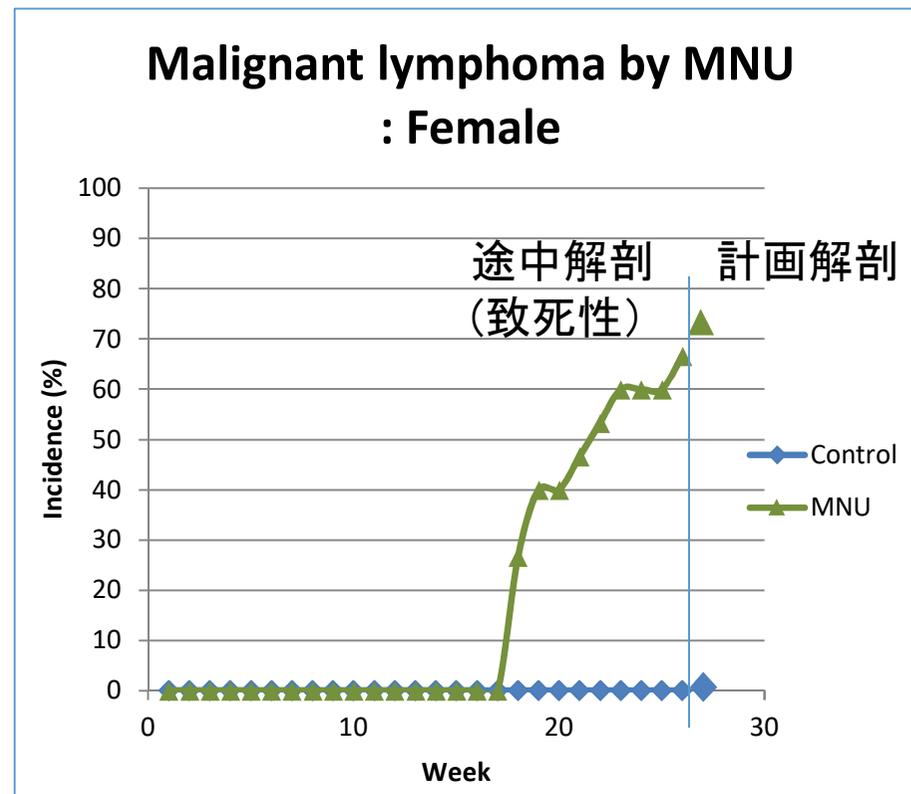
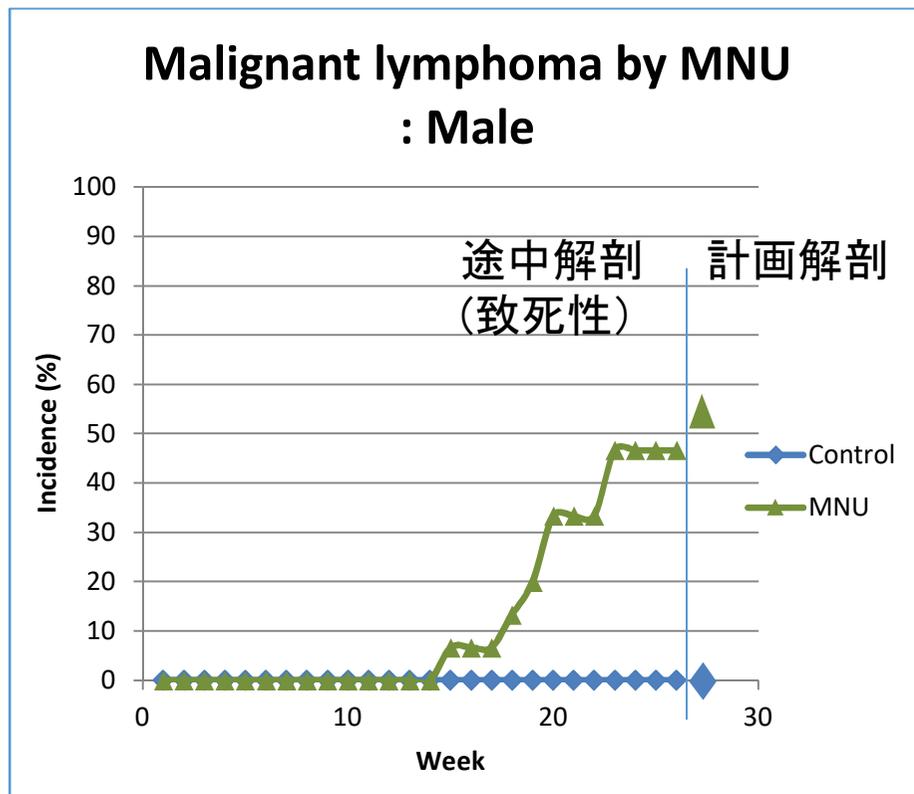


図5 現在までの p53+/- の結果 (肉眼病変) の概要 (1)
 (青 = 対照群、赤 = 最高用量処置群)

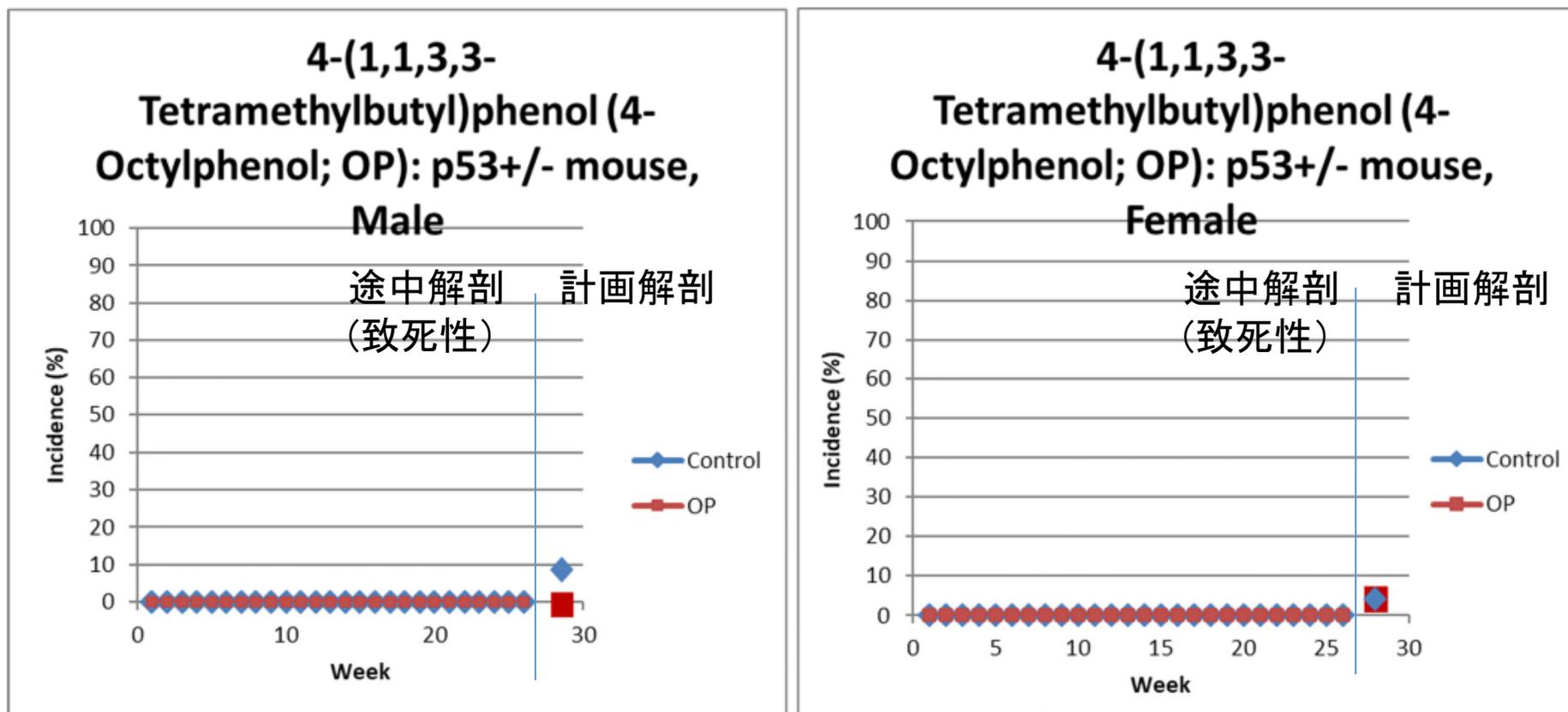
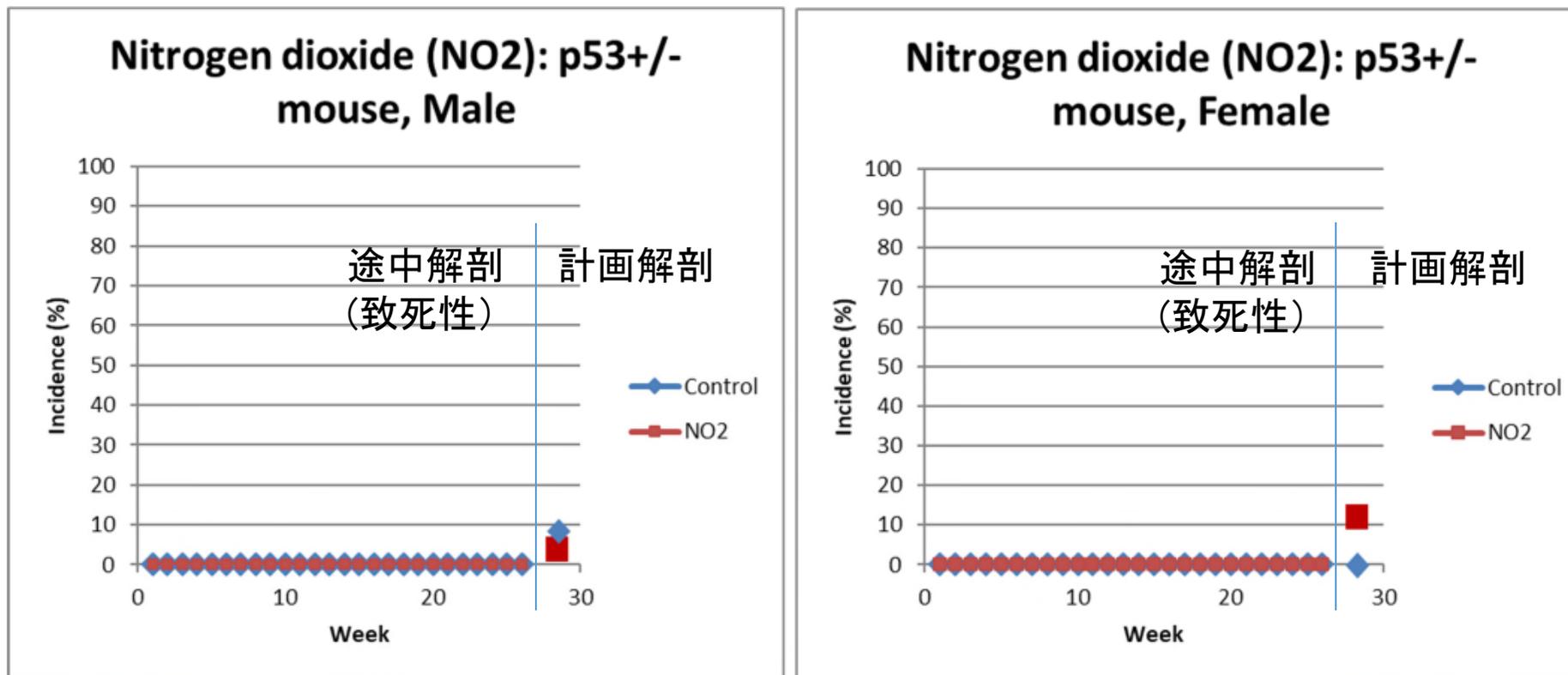


図6 現在までの p53+/- の結果 (肉眼病変) の概要 (2)
(青 = 対照群、赤 = 最高用量処置群)



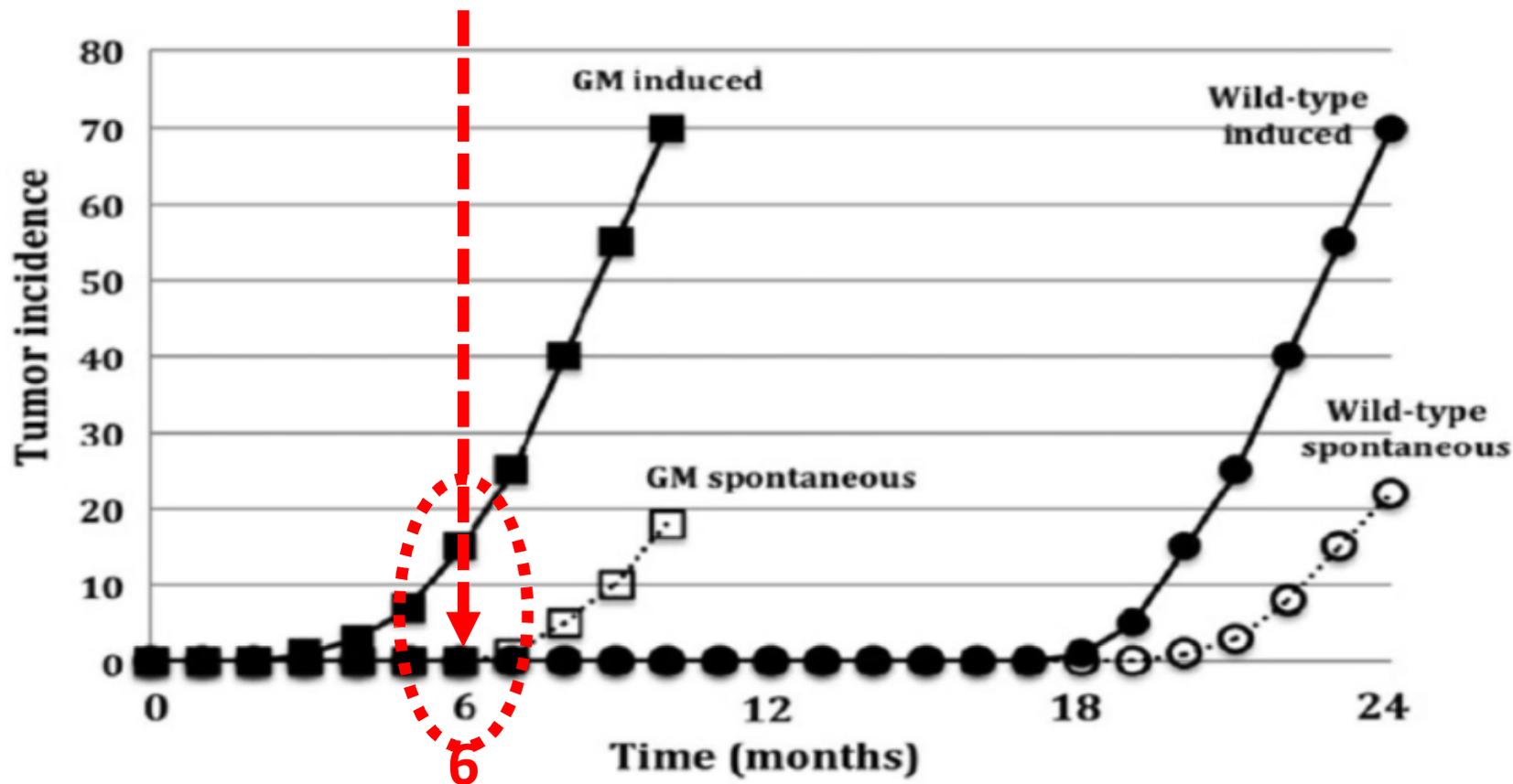


Figure 1.

Generalized time-response curves for spontaneous and chemically-induced tumors in genetically modified and wild type mouse bioassays. (Adapted from Tennant et al., 1999a. Used with permission from the CIIT Centers for Health Research (CIIT) and Byron E. Butterworth).

No Lengthening of Life Span in Mice Continuously Exposed to Gamma Rays at Very Low Dose Rates

S. Tanaka,^{a,1} I. B. Tanaka, III,^a S. Sasagawa,^a K. Ichinohe,^a T. Takabatake,^a S. Matsushita,^b T. Matsumoto,^a H. Otsu^a and F. Sato^a

^a Department of Radiobiology, Institute for Environmental Sciences, 1-7, Tenomae, Obuchi, Rokkasho-mura, Kamikita-gun, Aomori 039-3212, Japan; and ^b Laboratory of Animal Development and Research Group, National Institute of Radiological Sciences, 4-9-1, Anagawa, Inage-ku, Chiba-shi, Chiba 263-8555, Japan

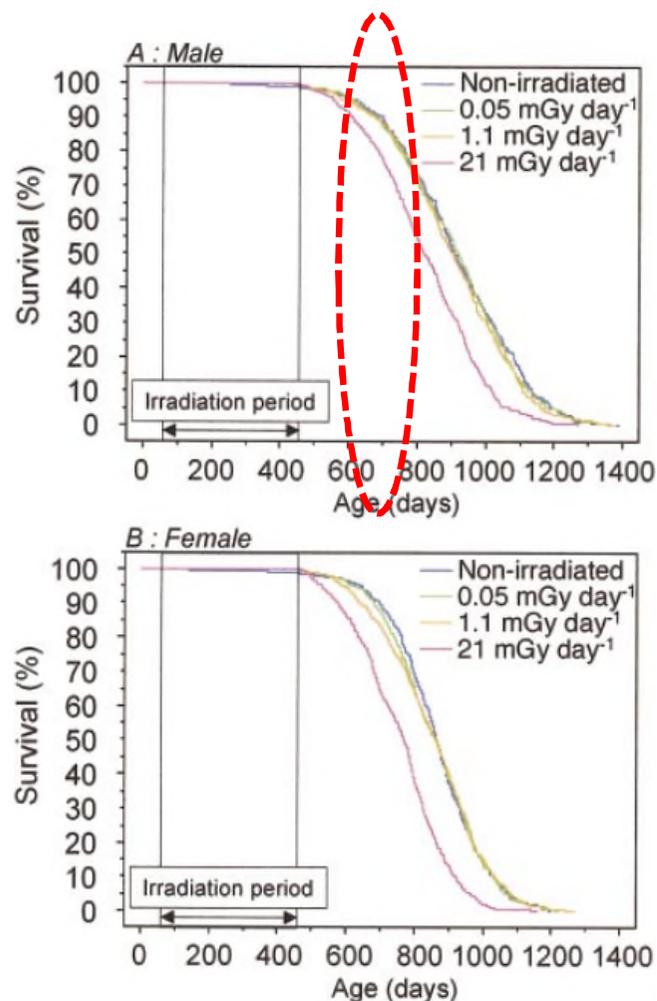


FIG. 1. Survival curves for B6C3F1 mice.

RADIATION RESEARCH 167, 417–437 (2007)

Cause of Death and Neoplasia in Mice Continuously Exposed to Very Low Dose Rates of Gamma Rays

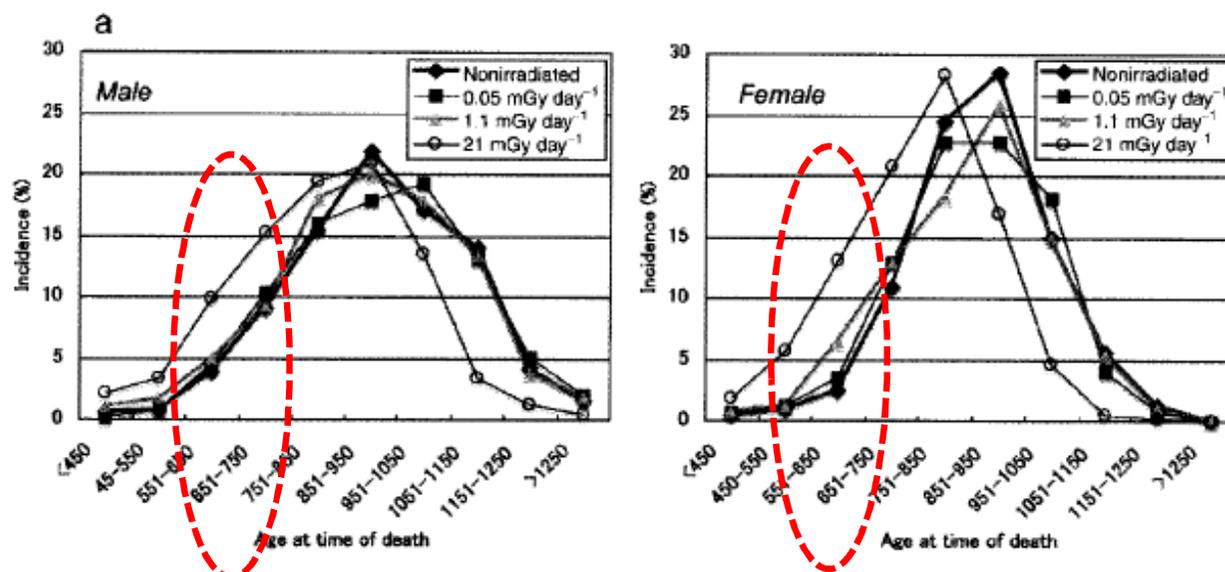


FIG. 1. Temporal distribution of all neoplasms that caused death (panel a) and of malignant lymphomas that caused death (panel b) in B6C3F1 mice irradiated with very low dose rates of γ rays for approximately 400 days.

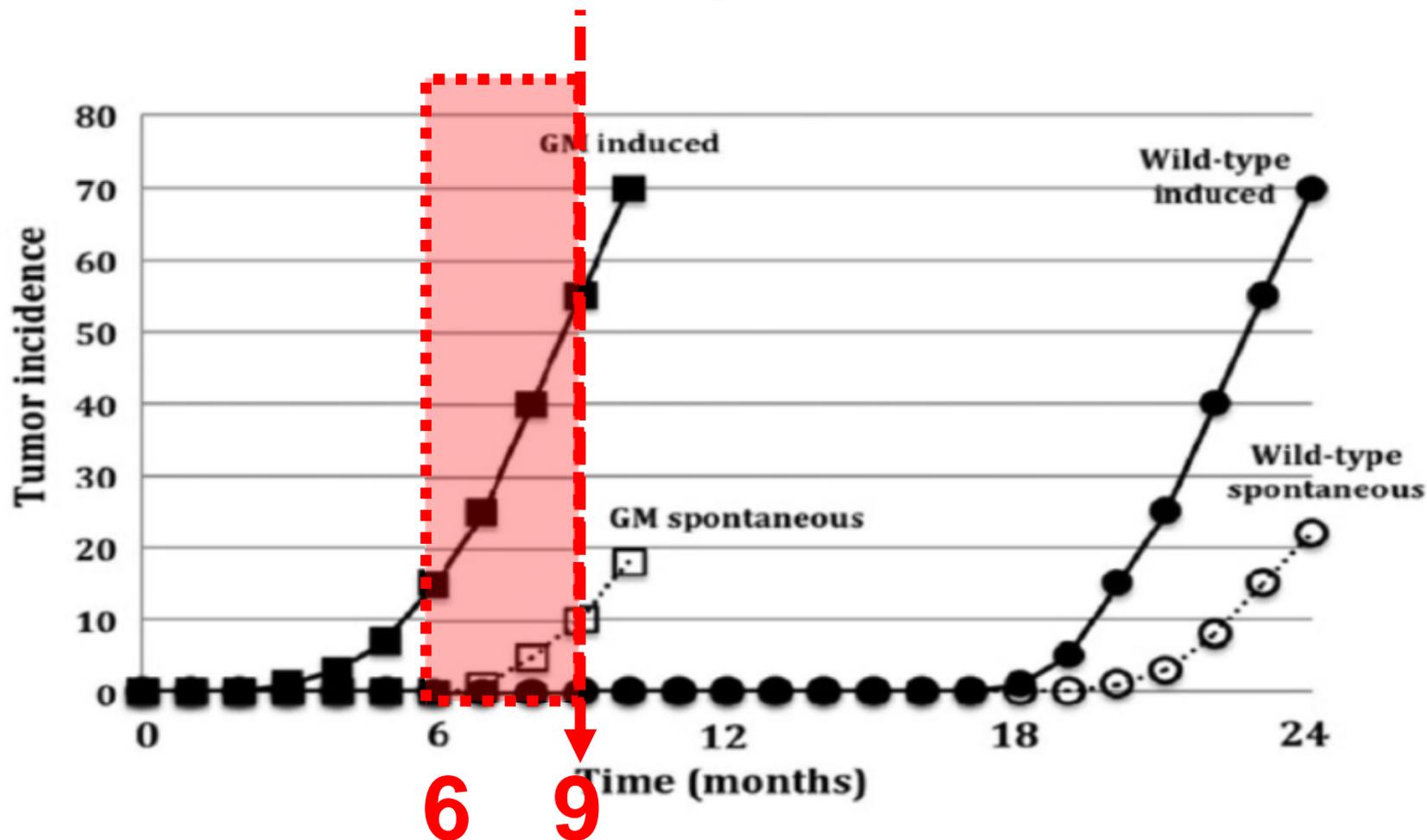
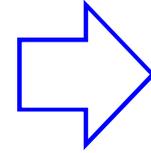


Figure 1.

Generalized time-response curves for spontaneous and chemically-induced tumors in genetically modified and wild type mouse bioassays. (Adapted from Tennant et al., 1999a. Used with permission from the CIIT Centers for Health Research (CIIT) and Byron E. Butterworth).

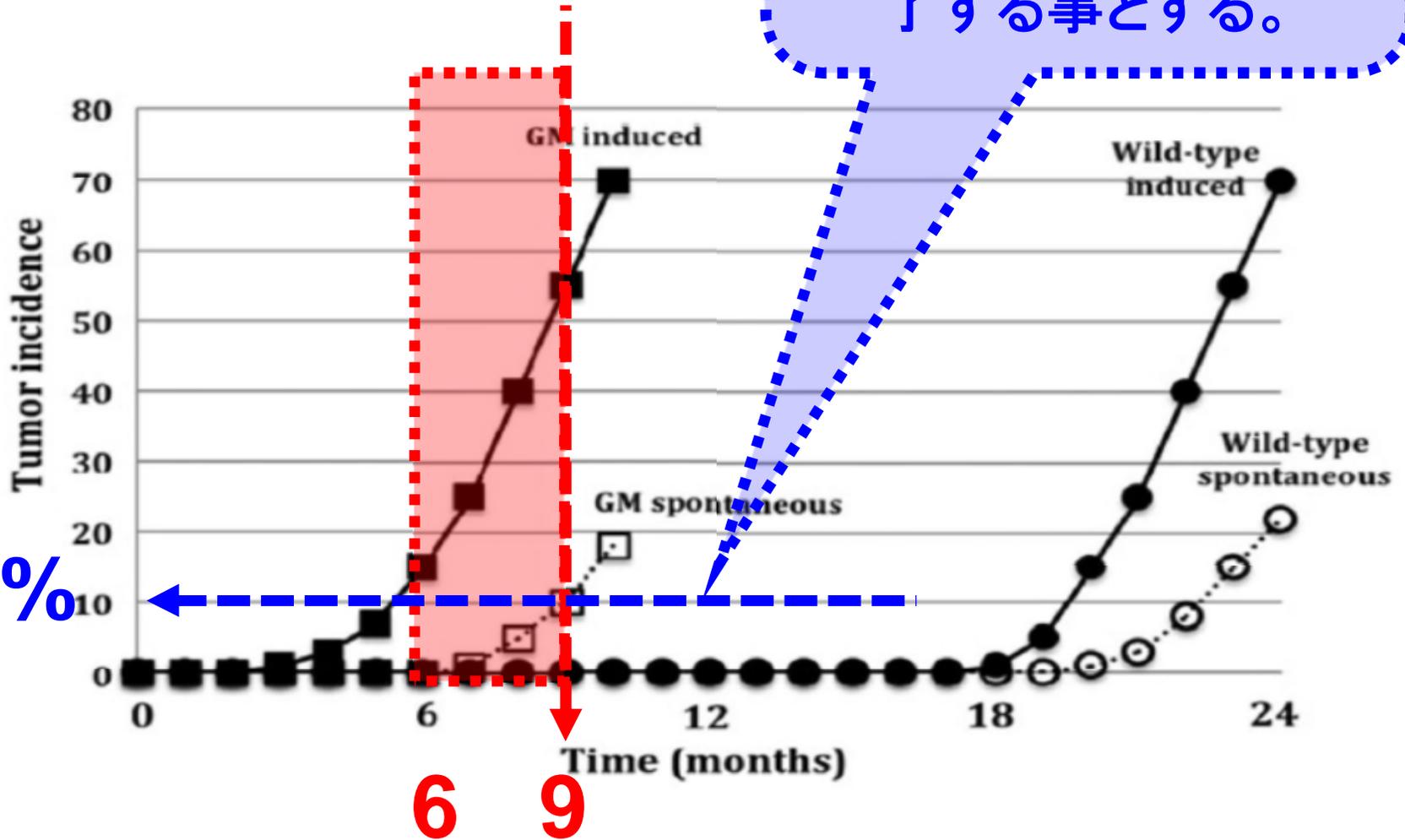
図10

試験計画の変更点：
試験期間を最長9カ月まで
延長可能(可変可能)とする。



対照群の途中解剖例
が10%乃至15%程度に
達した時点で試験を終
了する事とする。

10~15%



以上

遺伝子改変動物による発がん性試験の概要

【条件】

- 化学物質による多臓器の標的性を総合的に評価できる試験手法
- 長期発がん性試験に比べて、試験期間が大幅に短縮されるもの
- 中期肝発がん性試験で対応が困難な、以下の物質の発がん性調査に適切である
 - ① 肝臓への標的性が弱く、他の臓器への標的性が高い化学物質
 - ② 肝臓への標的性がなく、他の臓器への標的性が疑われる物質
 - ③ 経口ばく露による調査が不能なガス、蒸気又は粉状の化学物質

遺伝子改変動物による発がん性試験の概要

【遺伝子改変動物の選定】

発がんに関わる生物学的分子機構に基づき、大きく3通りのGMマウスモデルが存在する。

- ①細胞増殖促進(所謂、オンコジーン活性化)⇒rasH2
- ②異常細胞除去機能欠失(所謂、アンチ・オンコジーン不活性化)⇒p53+/-
- ③遺伝子変異修復機能欠失⇒XPA-/-

このうち③XPA-/-は、資料3(p8)が示す通り、修復機構全体のごく一部に関わるものであり、守備範囲が皮膚等に限定される。それを補うために、p53+/-との掛け合わせなどが、試行されているが、試験法としての適性は低い。その為、データ蓄積に乏しく、また、XPA-/-マウスの入手が困難である(販売終了)。

遺伝子改変動物による発がん性試験の概要

①rasH2 及び、②p53+/- は、ともに対象臓器、組織が原理的に広く、かつ、多数のデータの蓄積があり、両者の特徴が明らかとなっている。

★従来型の野生ラット、マウスによるがん原性試験における陽性物質に関して、

①rasH2は、

1. 広く、genotoxic, non-genotoxic な化学物質の発がん性を再現している。

② p53+/-は、

1. genotoxicな化学物質の発がん性を再現している。
2. 陰性物質を陽性と判定することが殆ど無いことが知られている。
3. アスベストなど、異物発癌と呼ばれる酸化ストレスが想定される発がん機構に感受性があることが知られている。

★吸入暴露による発がん性も、①②ともに再現することが、一部の典型的な発がん物質について確認されている。

遺伝子改変動物による発がん性試験の概要

【試験基準】①rasH2、及び、②p53+/- の両方を実施。

共通して、吸入6時間/5日/週のばく露を実施する。

- 2週間 用量設定試験： 雌雄、一群10*匹、対照、低、中、高用量群
- 4週間 用量設定試験： 雌雄、一群10*匹、対照、低、中、高用量群
- 26週間 本試験： 雌雄、一群25匹、対照、低、中、高用量群

(*:5匹の場合あり)

【評価基準】

- 個々の試験の陽性判定：対照群と比較して、特定の組織・臓器において腫瘍性病変**が有意に増加し、かつ、用量反応性が認められる場合、全臓器の発生が有意に増加し、かつ、用量反応性が認められる場合、及び、単一の用量群において明らかな増加が認められる場合。（**：発生母地等に共通性のある病変を合計する場合あり）
- 総合判定：①rasH2、及び、②p53+/-の一方、または両方が陽性判定の場合、総合判定を陽性とする。