The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	抗腫瘍性薬物の変異原性複合試験系の検討
Author(s)	坂本, 豊
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34843
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【58】

氏名・（本籍）	坂本　豊（さかもと　ゆたか）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　6641　号
学位授与の日付	昭和59年10月31日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**抗腫瘍性薬物の変異原性複合試験系の検討**
論文審査委員	（主査） 教授　近藤　宗平 （副査） 教授　本庶　佑　教授　松原　謙一

論文内容の要旨

（目　的）

抗腫瘍性薬物の一部については，催奇形性，変異原性，あるいは癌原性のあることが報告されている。しかし，多数の抗腫瘍性薬物について，組織的に変異原性を調べた報告はまだなされていない。そこで，本研究では44種の抗腫瘍性薬物の変異原性を，複数の試験を用いてテストし，人体への危険度を評価するのに役立つ総合的短期試験法を検討した。

用いた試験法は，つぎの3通りである。①世界的に広く使われている，サルモネラ菌など細菌を用いる復帰変異試験，②枯草菌殺菌作用によるDNA損傷試験（著者が改良したもの），③最も簡単な動物試験であるショウジョウバエの体細胞突然変異検出試験。

（方　法）

細菌を用いる復帰変異試験では，小試験管の中に検体0.1 ml，*in vitro* 代謝活性化を行うS-9 Mix（あるいは代謝活性化が不要の時は燐酸緩衝液）0.5 mlに菌液0.1 mlを加えてよく混合し，37℃で20分間振盪培養をしたうえで，微量のアミノ酸を含む半栄養軟寒天2 mlを加えて全量をペトリ皿のグルコース最小寒天平板に重層した。2日培養後，復帰変異して増殖能を獲得しコロニーを作ったものを計数し，溶媒対照の平板と比較した。

DNA損傷試験は，修復能を持たぬ*rec*⁻株と正常株の枯草菌2株を1対で用い，検体0.1 ml，S-9 Mix（あるいは燐酸緩衝液）0.5 mlに菌液0.2 mlを加えて37℃で30分間反応させ，栄養軟寒天2 mlを加えた後，栄養寒天平板に重層して2日培養後，2株間で生菌数を比較して判定した。

ショウジョウバエでは次の2種の変異を試験した。1つは遺伝子突然変異の検出で，黄色複眼の中に

赤色斑が復帰変異として出現する系を用いた。この系はzeste座とunstable white座をもつ株*UZ*に除去修復欠損遺伝子*mei*−9あるいは*mus*201を導入した株である。もう1つは染色体組換えの検出で，多翅毛*mwh*遺伝子と炎毛*flr*遺伝子をトランスヘテロ接合体として持つハエを作り，成虫の翅上の毛の変異細胞（多翅毛または炎毛）集落が染色体組換え（あるいは欠失）により出現する系を用いた。

（結　　果）

細菌の復帰変異試験とDNA損傷試験を用いて，50種の既知変異原物質を調べたところ，両試験とも48検体に陽性を示し，陰性なのはhexamethylphosphoramide（HMPA）とurethaneのみであった。しかし，抗腫瘍性薬物では，どちらか一方のみ陽性という検体が目立った。両者で陽性となる検体と，復帰変異試験だけで陽性となる検体は，抗腫瘍性薬物の中ではアルキル化剤と抗生物質が主であり，DNA損傷試験で陽性となる検体は抗生物性と代謝拮抗剤に多かった。DNA損傷試験のみで陽性となる検体の中からaclarubicin（ACR）と5−fluorouracil（5FU）を選んでショウジョウバエの染色体組換え試験で調べたところ，いずれも陽性となった。主要な14検体の毒性をショウジョウバエによる試験結果を加味して分類すると以下のようになる。（但し，mitomycin C, cyclophosphamide, procarbazine, およびvinblastineのデータは文献より引用。）

A群　細菌の両試験でも，ショウジョウバエの遺伝子突然変異試験でも陽性。
　　carbazilquinone, bleomycin, daunomycin, mitomycin C

B群　細菌のDNA損傷試験で陰性だが，細菌とハエの遺伝子突然変異試験で陽性。
　　improsulfan tosilate, cyclophosphamide, thioinosine

C群　細菌のDNA損傷試験とハエの染色体組換え試験で陽性だが，細菌の遺伝子突然変異試験で陰性。
　　ACR, 5FU, procarbazine（Natulan）

D群　いずれか一つの試験で陽性。　tegafur, vinblastine

E群　いずれの試験でも陰性。　bromodeoxyuridine, krestin

（総　　括）

①細菌の復帰変異試験は感度が高く，容易に実施できるので，スクリーニングとしてすぐれた方法である。細菌のDNA損傷試験の結果は復帰変異試験の結果と必ずしも一致しないが，復帰変異試験では検出できない上記C群のような検体（ショウジョウバエやマウスで遺伝子突然変異が、そして癌原性も知られているprocarbazineを含む）の検出に有用である。

②ショウジョウバエの試験系では，細菌の2試験の結果を確認するのみでなく，細菌では検出できない癌原性物質のurethaneやHMPAに陽性を示す。さらに，細菌を用いる試験では変異原性を過大評価されがちな検体（実験動物体内では代謝などにより無毒化され発癌性が弱いもの），例えばTrp P−1（tryptophanの加熱生成物）などのような検体の毒性もハエでは‘正当に評価’され，弱変異原として検出される。

③以上の試験系は単独では短所もあるが，複合的に用いると，長所，短所が補完し合って，ヒトへの毒性を検出するための短期変異原性試験として，有用性が格段に高くなるものと思われる。

④この複合試験系を用いて，44種の抗腫瘍性薬物の変異原性の特性を，A〜Eの5群に分類した。

論文審査の結果の要旨及び担当者

医薬品の副作用の中で，遺伝物質への毒性は，発がんと遺伝毒性の危険度があるとして心配される。本論文は，①常用の試験法（バクテリアの突然変異検出系），に②殺菌効果を指標にしたDNA損傷試験の改良法と③ショウジョウバエの体細胞突然変異試験法を併用し，検体のDNAへの作用を総合的に判定しようと試みたものである。44種の抗腫瘍性薬物の試験の結果は，3試験法の全てに陽性のものから全てに陰性のものまで，DNA作用の強さを5段階にわけることができた。新しい薬品ほど陰性の指標が多い傾向にあった。この結果は，本試験法が，ヒトへのリスクの評価に役立つ1つの指標を与えるもので，学位論文に値すると思う。