

マウス ES 細胞を用いた embryotoxicity 検出法の検討

○西村 友成, 西田 敦之, 小林 欣滋, 新比恵 啓志
(田辺製薬(株)安全性研究所)

【緒言】多分化能を有するマウスの embryonic stem cell(ES 細胞)を用いた embryotoxicity 検出法は, 従来の全胚培養法や Micromass 法と比較して, 試験実施にあたり実際に動物を使用することがなく, 継代された細胞を使用することから, 使用動物数の削減および試験結果の再現性向上が期待される. 今回, Newall ら(1994 年)の方法をもとに, 自社で樹立したマウス ES 細胞を用い, embryotoxicity 検出法を検討した.

【材料と方法】自社で樹立した ICR 系マウス由来の ES 細胞(TerSV-6 株)を使用した. 培地は LIF 非添加の ES 細胞用培地を用い, Newall らの方法に加え, 96-well プレーットのゼラチン処理および細胞増殖アッセイ WST-1(Cell Counting kit, DOJINDO)の使用を検討した. embryotoxicity の評価は, 段階希釈で化合物を含んだ培地で ES 細胞を 7 日間培養し, その増殖抑制および分化抑制の IC_{50} を比較する方法で実施した. 今回の検討は催奇形性の情報が明らかである 5 化合物(Penicillin G, Caffeine, Aspirin, Cyclophosphamide, Hydroxyurea)について行った.

【結果】プレートのゼラチン処理により ES 細胞の増殖は均一性を増し, さらに WST-1 の使用により操作の簡便性が向上した. embryotoxicity の評価については, 使用した 5 化合物すべてについて既知の催奇形性情報と一致した結果が得られた.

【考察】Newall らの方法に改良を加え, プレーットのゼラチン処理および WST-1 を採用することにより, TerSV-6 株は化合物の embryotoxicity の検出系として有用であることを確認した. さらに Newall らの方法では embryotoxicity を検出できなかった Caffeine についても検出できたことから, TerSV-6 株は検出感度についても向上している可能性が示唆された.