

29P1-am010

インビトロ皮膚感作性試験 h-CLAT の適用拡大に関する検討

○黒瀬 光一¹, 宇梶 真帆¹, 杉山 永見子¹, 小泉 朋子¹, 打田 光宏², 土屋 敏行², 関口 和孝³, 水垂 亨³, 山口 嘉隆³, 斎藤 嘉朗¹(¹国立衛研・医安部, ²Meiji Seika ファルマ・医薬研, ³塩野義製薬 創薬・開発研)

【目的】我々は、全身投与用の医薬品のアレルゲン性を検出するための試験法として、アレルギー性接触皮膚炎を惹起する化学物質の評価法である h-CLAT (human cell line activation test) の適用を検討している。h-CLAT では細胞生存率が 75%となる被験物質暴露濃度 (CV75 値) を基準とする。しかしながら、医薬品の場合、細胞毒性が低いために濃度を上げて CV75 値が得られない (細胞が死なない) 場合や、難溶性のために十分な濃度を得られない場合がある。この問題を解決するためには、より低い暴露濃度で h-CLAT 陽性応答が見られるように被験物質に対する感度上昇の改良が必要であると考え、次の方法を試みた。

【方法】細胞障害性はあるが h-CLAT 陰性となる界面活性剤 (SDS, Tween 20, Tween 80) と被験物質を同時暴露することにより CV75 を達成し、単独暴露時よりも低い被験物質濃度で h-CLAT が陽性となるか否か検討した。被験物質としては、単独暴露で陽性判定の得られる ticlopidine、penicillamine、ampicillin、および皮膚感作性陽性物質である NiSO₄、CoCl₂、dinitrochlorobenzene (DNCB) を用いた。

【結果・考察】同時暴露により感度が上昇した被験物質と界面活性剤の組合せと倍率は次の通りであった: ticlopidine/SDS: 40 倍、NiSO₄/SDS: 25 倍、CoCl₂/Tween 80: 16 倍、NiSO₄/Tween20: 4 倍、CoCl₂/SDS: 4 倍。また、今回の条件では ticlopidine/Tween20、DNCB/Tween80、penicillamine/SDS、ampicillin/SDS の組合せで陰性となったが、界面活性剤と被験物質の濃度を最適化することにより、陽性となる可能性があるため、今後、安定的に感度上昇の得られる諸条件の検討を行い、実用化へ向けての試験系の開発を行う予定である。