

## In vitro 探索的安全性試験サービス

### ●Balb/c 3T3 細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験

TN465

#### In Vitro Phototoxicity Test Using Balb/c 3T3 Cells

#### [概要]

光毒性試験は創薬段階における毒性スクリーニング試験の1つです。光毒性は「ある化学物質に最初に皮膚暴露し引き続き光に暴露した後に惹起される急性毒性反応、また化学物質の全身投与後に皮膚照射によって同様に誘発される急性毒性反応」と定義されています<sup>1)</sup>。当社ではマウス線維芽細胞株である Balb/c 3T3 clone A31 細胞（以下、Balb/c 3T3 細胞）を用いた光毒性試験の受託サービスを実施しています。以下に、当社での評価系の検証事例を示します。

**Keywords:** 安全性試験

#### [事例]

播種後一晩培養した Balb/c 3T3 細胞に、OECD ガイドライン<sup>2)</sup> に示されている5種類の参照化合物を添加し、1時間インキュベーション後、紫外線を50分間7.5J/cm<sup>2</sup>にて照射する系（紫外線照射下）と照射しない系（紫外線非照射下）を同時に処置しました。培地交換後一晩培養し、WST-8 試薬（Cell Counting Kit-8、同仁化学研究所）を一定時間反応させて吸光度測定を行いました。化合物未添加の DMSO 添加時の細胞生存率を100%として、参照化合物の各濃度における細胞生存率を算出し、Excel Solver 機能による非線形回帰にて各参照化合物の IC<sub>50</sub> 値を算出しました。

紫外線照射下及び非照射下の細胞生存率の例を以下に示します（図1）。各参照化合物の判定結果は、OECD ガイドライン<sup>2)</sup>や文献<sup>3)</sup>と一致しました（表1）。

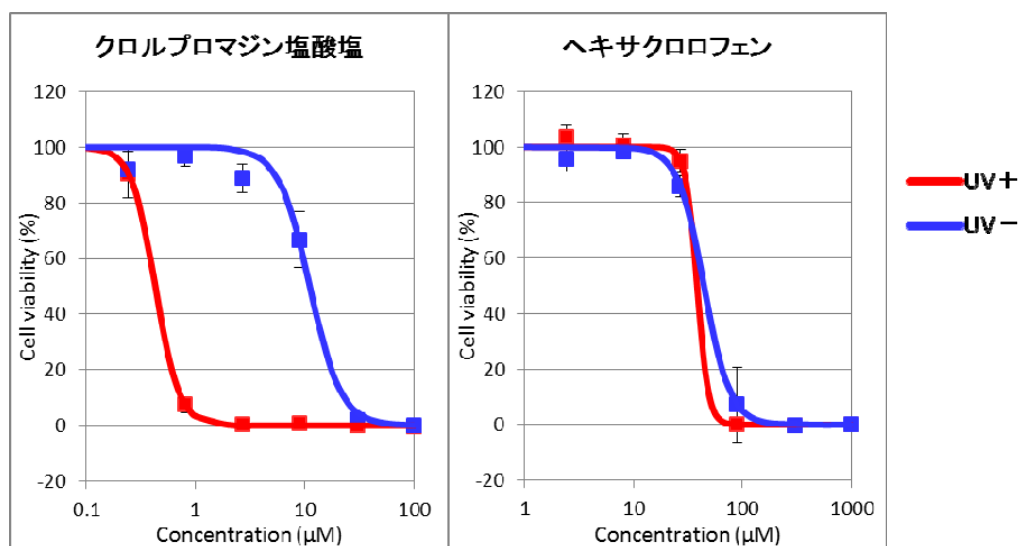


図1 紫外線照射下及び非照射下の細胞生存率（一例）

表 1 参照化合物における PIF および判定結果

化合物名	PIF	判定
クロルプロマジン塩酸塩	24.7 ± 1.1	(+)
アミオダロン塩酸塩	>40.1 ± 4.6	(+)
ノルフロキサシン	>17.1 ± 5.3	(+)
プロトポルフィリン IX 2 ナトリウム塩	>296.6 ± 157.3	(+)
ヘキサクロロフェン	1.4 ± 0.3	(-)

【結果の解釈】

PIF<sup>\*1</sup> < 2 : 光毒性なし(-)

2 ≤ PIF < 5 : 光毒性の可能性あり(+/-)

PIF ≥ 5 : 光毒性あり(+)

※1 : Photo-Irritation-Factor (光毒性係数) は以下の式より算出

$$PIF = \frac{\text{紫外線非照射下の IC}_{50} \text{ 値}}{\text{紫外線照射下の IC}_{50} \text{ 値}}$$

当社では、信頼性の高い評価系での試験を提供しております。

試験で使用する陽性対照など、試験実施に関する内容はお気軽にご相談ください。

[引 用]

- 1) 国立医薬品食品衛生研究所；経済協力開発機構(OECD)  
化学物質の試験に関するガイドライン *In vitro* 3T3 NRU 光毒性試験  
<http://www.nihs.go.jp/hse/chem-info/oecd/tgj/tg432j.pdf>
- 2) 経済協力開発機構(OECD)  
化学物質の試験に関するガイドライン *In vitro* 3T3 NRU 光毒性試験  
<http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9743201e.pdf>
- 3) H. Spielmann et al., The International EU/COLIPA *In Vitro* Phototoxicity Validation Study: Results of Phase II (Blind Trial). Part 1: The 3T3 NRU Phototoxicity Test. (1998) *Toxicology in Vitro* **12**: 305-327