

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：33708

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K19413

研究課題名（和文）ルシフェラーゼ発現トランスジェニックマウスを用いた新規皮膚感作性試験法の構築

研究課題名（英文）Novel skin sensitization assay using luciferase-expressing transgenic mice.

研究代表者

井戸 章子（Ido, Akiko）

岐阜医療科学大学・薬学部・講師

研究者番号：00336629

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、独自に作製したリンパ球でルシフェラーゼを高発現している遺伝子改変（Luc-Tg）マウスとin vivoイメージング技術を用いて、動物福祉の観点から2R（ReductionとRefinement）を強く反映した皮膚感作性試験法の確立を目指した。本研究により、Luc-Tgマウスを用いた皮膚感作性試験において、現在の皮膚感作性確定試験であるLocal Lymph Node Assay（LLNA）と同様の評価結果が得られ、新規試験法確立の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、我々が独自に作製したLuc-Tgマウスを用いて皮膚感作性を評価することで、従来法であるLLNAで使用する放射性物質（RI）を必要とせず、またLLNAよりも操作が簡便なスループット性の向上した試験法を新たに構築できる可能性が示された。本成果により新規試験法が確立できれば、これまで必要であったRI施設が不要となり、コストの大幅削減や実験者の安全面の観点においてもLLNAよりも優れた試験法になることが大いに期待できる。

研究成果の概要（英文）：We aimed to development a skin sensitization assay that strongly reflects the 2Rs (Reduction and Refinement) from an animal welfare perspective, using transgenic mice with high expression of luciferase in lymphocytes (Luc-Tg mice), which we originally generated, and in vivo imaging technology. In this study, the skin sensitization test using Luc-Tg mice yielded the same evaluation results as the Local Lymph Node Assay (LLNA), the current skin sensitization definitive test, suggesting the possibility of establishing a new test method.

研究分野：環境衛生学

キーワード：皮膚感作性試験 Local Lymph Node Assay OECDガイドライン 動物愛護 リンパ球 代替法

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

近年、実験動物福祉に関する法律や指針が世界規模で厳しくなりつつあり、動物実験の適切な施行の国際原則である **3R**、即ち動物を用いない代替法への置換 (**Replacement**)、動物数の削減 (**Reduction**)、動物に対する苦痛軽減 (**Refinement**) の推進が強く求められている。特に化粧品開発については **EU** において動物実験が禁止されている上、それ以外の国においても動物実験を規制する法案が提出されている。しかしながら、動物を用いない代替法のみで安全性を評価するには問題点が山積しているのが現状であり、このままでは新規有効成分の承認が極めて難しくなることから、**2R** (**Reduction** と **Refinement**) をより強く反映した試験法の開発が必要不可欠となっている。

Local Lymph Node Assay (LLNA) は、**2002** 年に **OECD** のテストガイドライン*1 **429** (**TG429**) [1]として承認された皮膚感作性試験法であり、現在、皮膚外用剤として用いる医薬品ならびに化粧品原料を含む化学物質等の皮膚接触感作性を評価するための確定試験として頻用されている。この方法は、それ以前に用いられていた皮膚感作性試験と比較して、短期間で客観的に評価できる上に、アジュバントを必要としないなど実験動物へのストレスが少ないという利点がある。しかし、結果を得るためには最終的に動物を屠殺せねばならず、また必要動物数も決して少なくはないため、動物福祉の面においてはまだ改善すべき問題が存在する。

*1 **OECD** テストガイドラインとは、化学物質やその混合物の物理化学的性質、生態系への影響、生物分解及び生物濃縮、ならびにヒト健康影響などに関する知見を得るための国際的に合意された試験方法ガイドライン集である。

2. 研究の目的

本研究では、我々が独自に作製したルシフェラーゼ発現トランスジェニックマウス (**Luc-Tg** マウス) と *in vivo* イメージング技術を用いた新規試験法を確立し、最終的にはテストガイドラインへの収載を目指す。

* 本研究は新規試験法の構築が最終目的であり、今後の研究結果次第では特許申請を検討している。よって、今回の研究内容に関しては、**2025** 年 **3** 月 **31** 日まで公表を見合わせる。正式な成果報告書の公表は上記期日 (**2025** 年 **3** 月 **31** 日) 以降となる予定である。

参考文献

[1] **OECD Test No. 429: Skin sensitization: Local lymph node assay, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 2010a** (<https://www.oecd.org/env/test-no-429-skin-sensitisation-9789264071100-en.htm>)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Erina Shiraishi, Keishi Ishida, Daisuke Matsumaru, Akiko Ido, Youhei Hiromori, Hisamitsu Nagase, Tsuyoshi Nakanishi	4. 巻 22
2. 論文標題 Evaluation of the Skin-Sensitizing Potential of Brazilian Green Propolis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 13538 ~ 13538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222413538	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichiro Yoshida, Keishi Ishida, Hiroshi Yoshikawa, Sho Kitamura, Youhei Hiromori, Yasushi Nishioka, Akiko Ido, Tomoki Kimura, Jun-ichi Nishikawa, Jianying Hu, Hisamitsu Nagase, Tsuyoshi Nakanishi	4. 巻 385
2. 論文標題 In vivo profiling of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced estrogenic/ anti-estrogenic effects in female estrogen-responsive reporter transgenic mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Hazardous Materials	6. 最初と最後の頁 121526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jhazmat.2019.121526	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 廣森洋平、石井陽一郎、松丸大輔、井戸章子、永瀬久光、L. Filipe C. CASTRO、中西 剛
2. 発表標題 軟骨魚類Leucoraja erinaceaにおけるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR) に対する有機スズ化合物の応答性評価
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本勝也、椿原伊織、井戸章子、永瀬久光、松丸大輔、中西 剛
2. 発表標題 リポカリン分子C8 の重金属毒性防御機構の解明に向けて：重金属結合性の検討
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 白石絵里奈、高野恭平、松丸大輔、井戸章子、永瀬久光、中西 剛
2. 発表標題 有機スズ化合物による胸腺萎縮作用とその誘導機構の解明
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 白石絵里奈、高野恭平、松丸大輔、井戸章子、永瀬久光、中西 剛
2. 発表標題 有機スズ化合物による胸腺萎縮作用とその誘導機構に関する検討
3. 学会等名 フォーラム2020：衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本勝也、椿原伊織、青木 明、井戸章子、永瀬久光、中西 剛
2. 発表標題 リポカリン分子C8 が化学物質の毒性発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第46回日本毒性学会 学術年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsuyoshi Nakanishi, Akiko Ido, Youhei Hiromori, Hisamitsu Nagase ¹ , Jianying Hu
2. 発表標題 Occurrence of fibrates and their metabolites in source and drinking water in Shanghai and Zhejiang, China
3. 学会等名 15th International Congress of Toxicology (ICT XV 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高野恭平, 白石絵里奈, 井戸章子, 松丸大輔, 永瀬久光, 中西 剛
2. 発表標題 トリプチルスズによる胸腺萎縮の影響とその発現機構の解析
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高野恭平, 白石絵里奈, 井戸章子, 松丸大輔, 永瀬久光, 中西 剛
2. 発表標題 トリプチルスズによる胸腺萎縮作用とその誘導機構に関する検討
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2019
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	中西 剛 (Nakanishi Tsuyoshi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------