

Sodium hyaluronate の培養細胞を用いる染色体異常試験

鈴木 音哉, 石村 勝正*, 高橋 響, 宮内 聡**

In Vitro Chromosome Aberration Test of Sodium hyaluronate in Cultured Mammalian Cells

Otoya Suzuki, Katsumasa Ishimura*, Toyomi Takahashi
and Satoshi Miyauchi**

(*JBC Inc., 52 Fukue, Kaizu-cho, Kaizu-gun, Gifu 503-06, Japan

**Tokyo Research Institute, Seikagaku Corporation, 3-1253
Tateno, Higashi-Yamato, Tokyo 207, Japan)

Received April 3, 1995, Accepted May 24, 1995

As part of a mutagenicity testing program, sodium hyaluronate (Na-HA) with a molecular weight of 276×10^4 was examined for its clastogenicity by using cultured Chinese hamster lung fibroblast cells. Concentrations of 1,250, 2,500 and 5,000 $\mu\text{g/ml}$ were tested with and without metabolic activation. Examination of 200 mitoses per concentration for chromosome aberrations showed that Na-HA did not differ significantly from the negative control. It is concluded that Na-HA with a molecular weight of 276×10^4 is not a clastogen under the conditions of the experiment.

Key words: Sodium hyaluronate/Mutagenicity/*In vitro* chromosome aberration test.

緒 言

SI-4402 は分子量約 200 万の sodium hyaluronate (Na-HA) を 1% の濃度で含有する製剤で、全層角膜移植手術や眼内レンズ挿入術などの前眼部手術において、前房深度を維持し、眼内組織を保護するための手術補助剤として開発中の薬剤である。今回、著者らは、本医薬品開発における安全性試験の一環として、SI-4402 の原薬である分子量 276 万の Na-HA の染色体異常誘発性を評価する目的で、Chinese hamster 培養細胞を用いる染色体異常試験を「医薬品のための毒性試験法ガイドライン」(薬審第 118 号, 1984 年 2 月 15 日) に準拠して実施したので報告する。

実験材料および実験方法

1. 被験物質

Na-HA (FIG 1) は、水に溶けにくく、ether, acetone,

ethanol にはほとんど溶けない白色の粉末である。本試験には、生化学工業株式会社より提供を受けた Na-HA (Lot No. TY-12, 分子量 276 万) を使用した。

2. 対照物質

陰性対照には溶媒である培養液を用いた。陽性対照物質は直接法では mitomycin C (MMC, 協和発酵), 代謝活性化法では dimethylnitrosamine (DMN, 和光純薬) を用いた。

3. 使用細胞

試験には、大日本製薬株式会社より 1989 年 1 月 7 日に購入した CHL/IU 細胞を用いた。この細胞は、Chinese hamster 肺線維芽細胞に由来する (Koyama *et al.*, 1970)。染色体数は 25 をモードとする分布を示し、細胞周期は約 15 hr である。継代は原則として 3~5 日ごとに行った。

4. 培養液および培養条件

培養液は、仔牛血清 (FLOW) を 10% となるよう加えたイーグルの MEM (日水製薬) を用いた。培養条件は、37°C, 5% CO₂ とした。なお、被験物質処理時の培

* 岐阜県海津郡海津町福江 52 (〒503-06) 株式会社 日本生物化学センター

** 東京都東大和市立野 3-1253 (〒207) 生化学工業株式会社 東京研究所