

rasH2 マウス(短期発がんモデル)の 特性と品質管理



財団法人実験動物中央研究所

浦野 浩司



本日の話題

1. *rasH2* マウスとは？
2. 開発経緯と現状
3. 実質的標準動物としての
品質管理

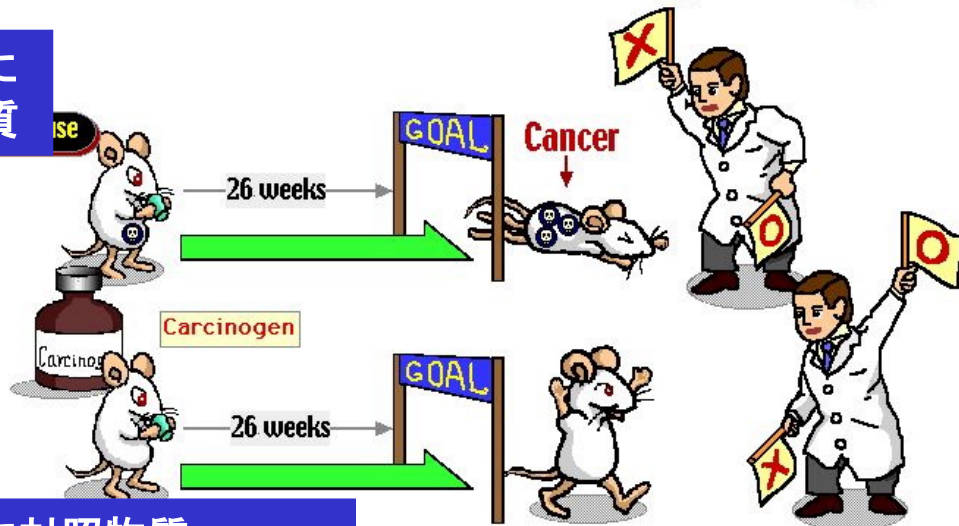
本日の話題

1. *rasH2* マウスとは？
2. 開発経緯と現状
3. 実質的標準動物としての品質管理

短期発がん性試験モデルの概要

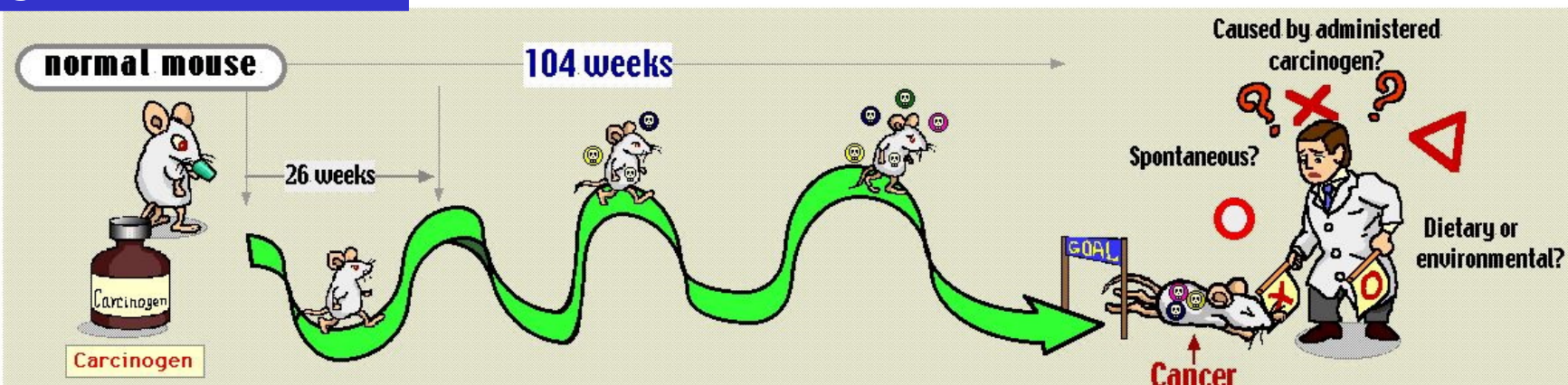
Short term Carcinogenicity Testing System

Tgマウスに
がん原物質



判定が明確である

Tgマウスに对照物質
nonTgマウスにがん原物質



Usual Carcinogenicity Testing

生涯飼育による自然発生腫瘍
偽陽性が多い

rasH2マウスにおける発生腫瘍

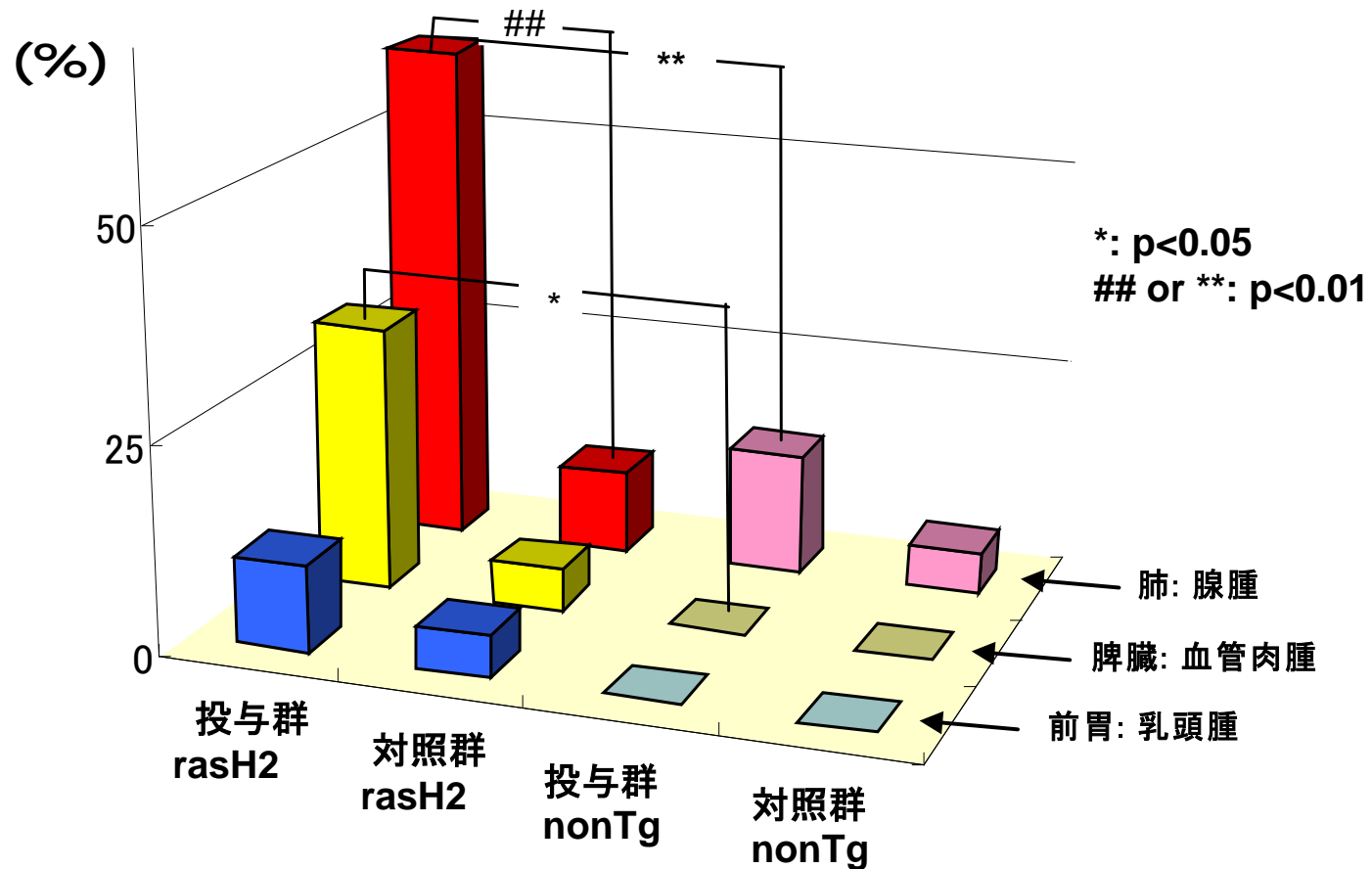
自然発生腫瘍（主として生後35週以後）

- 肺：腺腫
- 前胃：乳頭腫
- 脾臓：血管腫/血管肉腫
- 造血器：悪性リンパ腫

薬剤誘発腫瘍（ILSI/HESI 国際検証試験結果）

- 肺：腺腫 (Phenacetin, Cyclophosphamide)
- 脾臓：血管肉腫 (Phenacetin)
- 肝臓：腺腫 (Clofibrate, DEHP, Wy-14643)
- 膀胱：移行上皮乳頭腫 (Cyclophosphamide)
- ハーダー腺：腺腫 (Cyclophosphamide)
- 精巣：ライディッツヒ細胞腫 (Diethylstilbestrol)

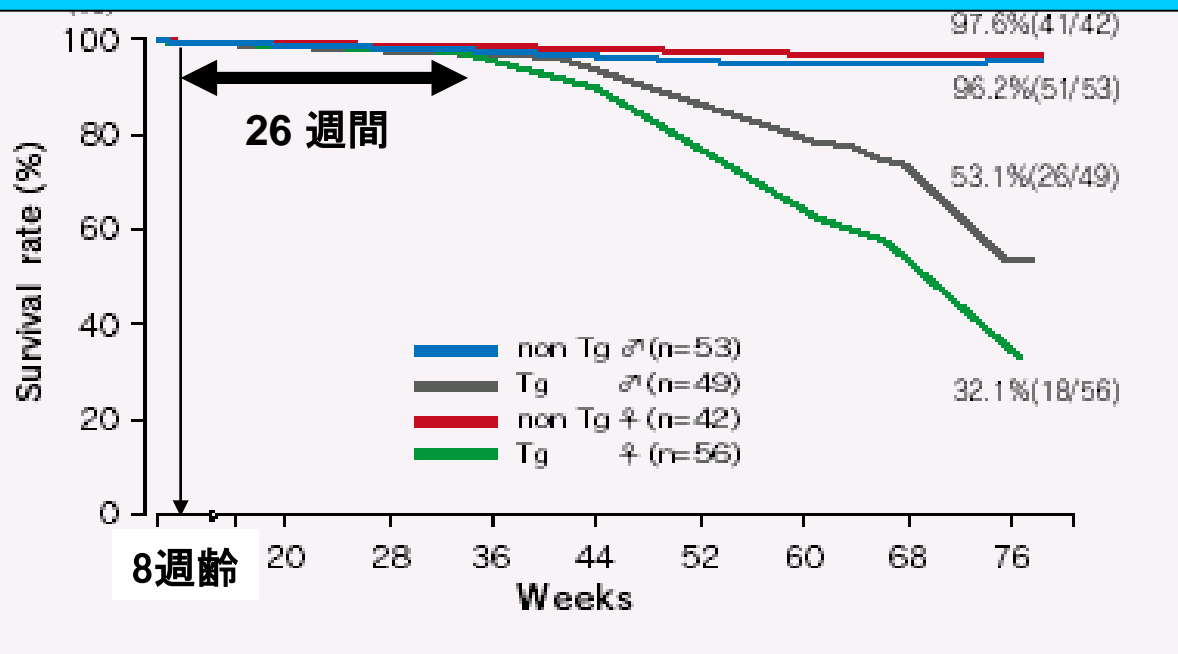
遺伝毒性発がん物質を投与した場合の 発がんの一例



rasH2マウスの生存曲線

- 35週齢まで生存率 95%以上
- 以降、自然発生腫瘍により死亡率増加

■ **重要:** 26 週間発がん性試験は 8 週齢時までに開始する (34 週齢時に試験終了)



本日の話題

1. *rasH2* マウスとは？
- 2. 開発経緯と現状**
3. 実質的標準動物としての
品質管理

rasH2マウス開発の経緯

1988 - 1992:

rasH2 (勝木ら), *p53*^{+/-} (Donehower et al.), *Tg.AC* (Leder et al.)
等の遺伝子改変マウスが開発される。

1992 - 1995:

国内において *rasH2* マウスの短期発がん性検証試験が実施され、
その結果が 1996年の ICH 3 会議 (横浜) にて公表される。

1997:

ICH4 (S1B)にてマウス 2年間発がん性試験の代替法として決定

1997 - 2000:

各モデルの有用な情報を収集・提供することを目的とし、日・米・EUの
産官学計54施設が参加した国際共同検証試験が、ILSI/HESIの主催
により総予算 3,500万ドルをかけて実施。

国際共同検証試験の成績一覧

Bold: Unexpected responses

		rasH2	p53+/-	TgAC		XPA-/-	XPA/p53	Neonatal	SHE
				Gavage	Skin				
Human carcinogens	phenacetin	Positive	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative
	cyclophosphamide	Positive	Positive	Positive	Equivocal			Positive	Positive
	melphalan	Equivocal	Positive	Positive	Equivocal				Positive
Immunosuppressive human carcinogen									
	cyclosporin A	Equivocal	Positive	Equivocal	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive
Human hormone carcinogen									
	diethylstilbestrol	Positive	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive	Negative	Positive
	17- β -estradiol	Negative	Equivocal	Negative	Positive	Negative	Positive	Positive	Positive
Nongenotoxic rodent-only carcinogen									
based on Epidemiology	clofibrate	Positive	Negative		Positive	Negative		Negative	Positive
	phenobarbital	Negative	Negative			Negative	Negative	Negative	Positive
	reserpine	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative		Positive
	dieldrin	Negative	Negative						Positive
	methapyrilene	Negative	Negative		Negative				Positive
based on mechanism	haloperidol	Negative	Negative			Negative	Negative	Negative	Positive
	chloroform	Negative	Equivocal						
	chlorpromazine	Negative	Negative					Negative	Positive
	metaproterenol	Negative	Negative					Negative	
	Wy-14643	Positive	Negative	Equivocal	Negative	Positive			Positive
	DEHP	Positive	Equivocal	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Positive
	sulfamethoxazole	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Negative	Positive
Non-genotoxic non-carcinogen									
	sulfisoxazole	Negative	Negative	Negative	Negative			Negative	Negative
	mannitol	Negative	Negative			Negative	Negative		Negative
	ampicillin	Negative	Negative			Negative			Positive

rasH2マウス開発の経緯

1989 - 1992:

rasH2 (勝木ら), p53^{+/-} (Donehower et al.), Tg.AC (Leder et al.) などの遺伝子
改変マウスが開発

1992 - 1995:

rasH2マウスの短期発がん性国内検証試験が実施され, それらの結果が
ICH 3 会議 (横浜) で公表される.

1997:

ICH4 (S1B)にてマウス 2年間発がん性試験の代替法として決定

1997-2000:

ILSI/HESIの主催により, 日・米・欧の産官学計54施設が参加した
国際共同検証試験を実施.

2003:

ILSI/HESI ワークショップにて日・米・欧行政当局より, 「Tgマウスのデータ
を申請資料として受理」する旨の指針決定

2009:

米国毒性病理学会にて シンポジウム開催

第36回日本トキシコロジー学会にて日本製薬工業協会より
アンケート結果が公表される.

Regulatory Forum Opinion Piece*: Transgenic/Alternative Carcinogenicity Assays: A Retrospective Review of Studies Submitted to CDER/FDA 1997–2014

ABIGAIL C. JACOBS¹ AND PAUL C. BROWN¹

¹Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Silver Spring, Maryland, USA

ABSTRACT

The International Conference on Harmonization (ICH; S1B of 1997) allows a second species carcinogenicity study to be an alternative to one of the traditional 2-year studies. In the past 17 years, the FDA's Center for Drug Evaluation and Research's (CDER) Executive Carcinogenicity Assessment Committee received 269 alternative carcinogenicity assay protocols for review. This committee's recommendations regarding choice of animal model and dose selection are generally followed by sponsors conducting these studies to increase the acceptability of such studies. The P53^{+/-} assay is generally considered appropriate for genotoxic products, and the TgRasH2 assay is appropriate for non-genotoxic or genotoxic drugs. In the United States, the TgAC assay is not used any more and the animals are no longer available. The TgAC assay can detect both tumor promoters and complete carcinogens, and consequently more than half of the dermal TgAC assays resulted in a positive assessment. Currently, more than 75% of mouse carcinogenicity studies are conducted in TgRasH2 mice. Behavior of genotoxic and non-genotoxic drugs in the various assays is reviewed.

Keywords: carcinogenicity; transgenic; regulatory; FDA.

carcinogens, and consequently more than half of the dermal TgAC assays resulted in a positive assessment. Currently, more than 75% of mouse carcinogenicity studies are conducted in TgRasH2 mice. Behavior of genotoxic and non-genotoxic drugs in the various assays is reviewed.

INTRODUCTION

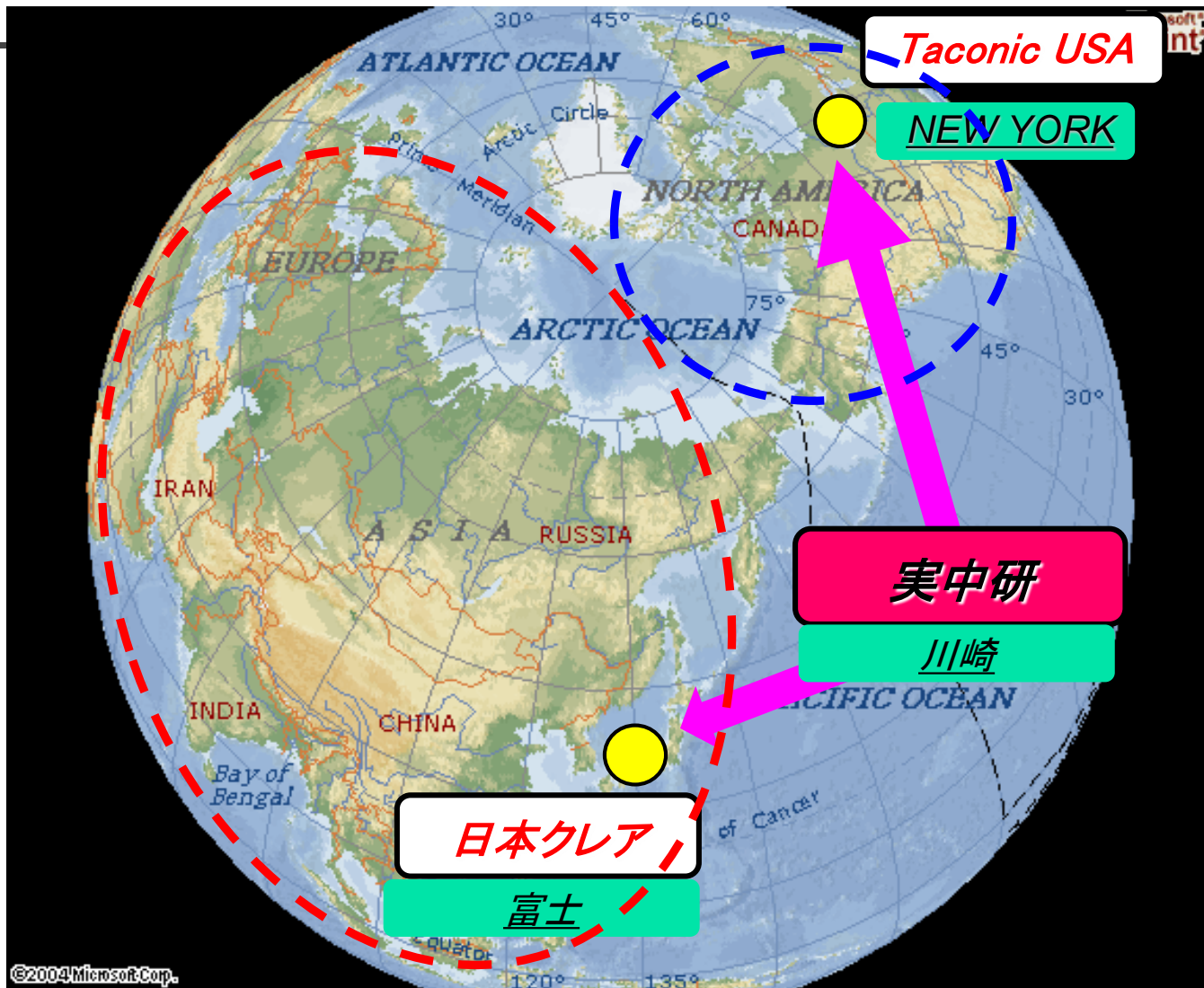
Assessment of the carcinogenic potential of small-molecule pharmaceuticals has generally been conducted in 2 species, most often rats and mice. International Conference on Harmonization (ICH; S1B of 1997) allows a second species carcinogenicity study to be an alternative to a 2-year study. Rats are

absence of clear evidence favoring a study in mice. Several alternative models have been used and are generally conducted in mice. In the United States, the CDER Executive Carcinogenicity Committee considers proposals and justification for the particular alternative animal model from drug sponsors. This article reviews the number of alternative protocols and

本日の話題

1. *rasH2* マウスとは？
2. 開発経緯と現状
3. **実質的標準動物としての
品質管理**

地域間差・世代間差を最小限に抑える 日米種コロニー同時更新システムを採用

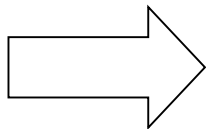


日米同時定期発がん性モニタリングの実施

凍結受精卵 in 実中研

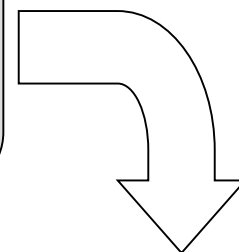


5-6年毎



Taconic & 日本クレア
種コロニー同時更新

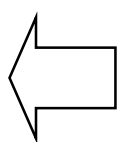
2005年
2010年
2015年



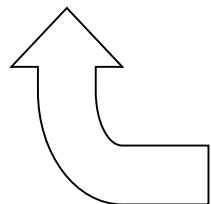
大規模
モニタリング
2006年
2012年



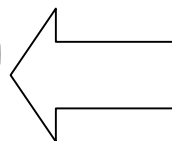
リタイア
2011年



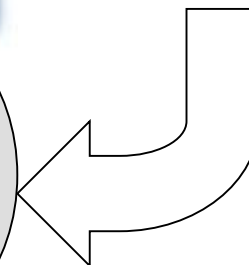
簡易
モニタリング
2010年



簡易
モニタリング
2009年
2015年

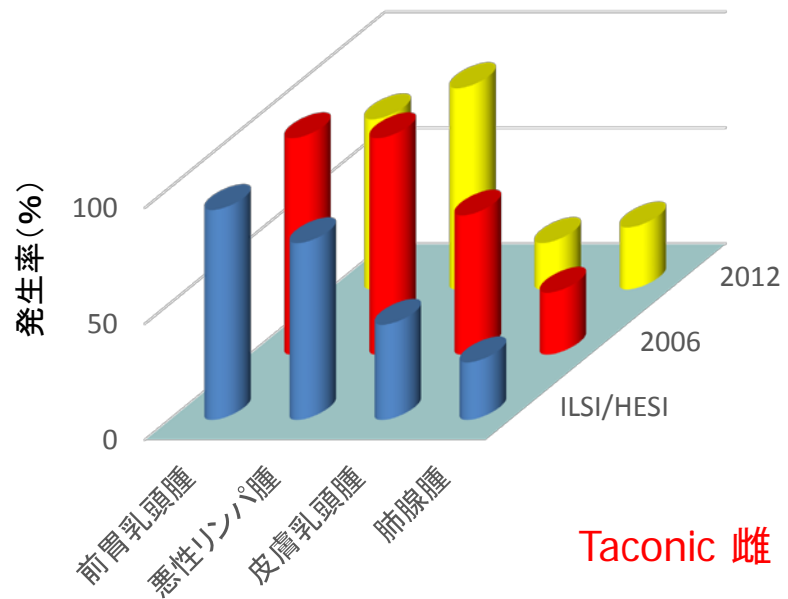
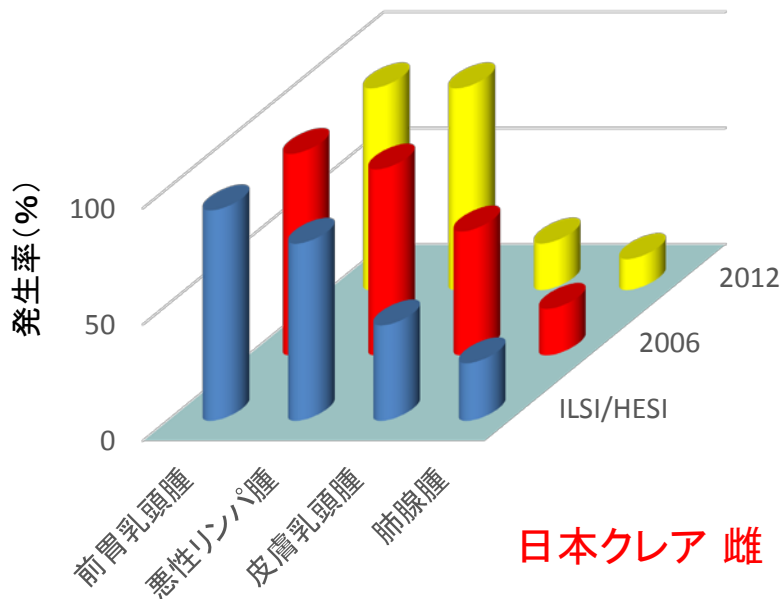
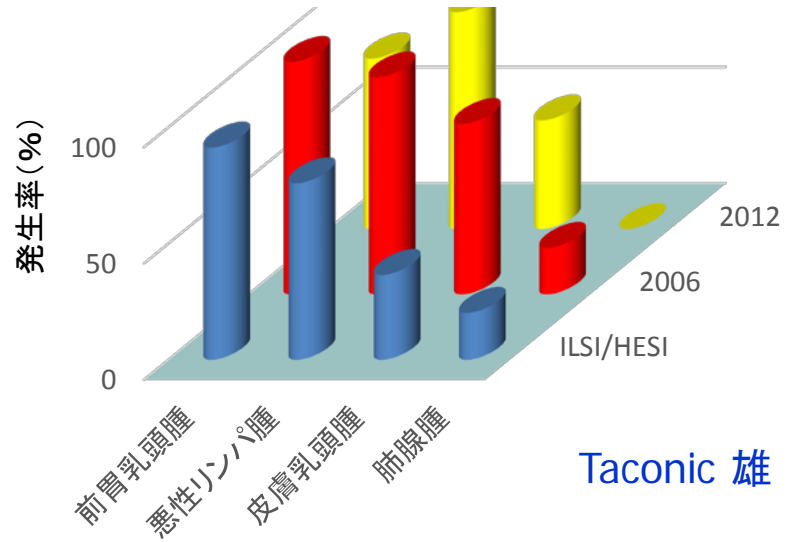
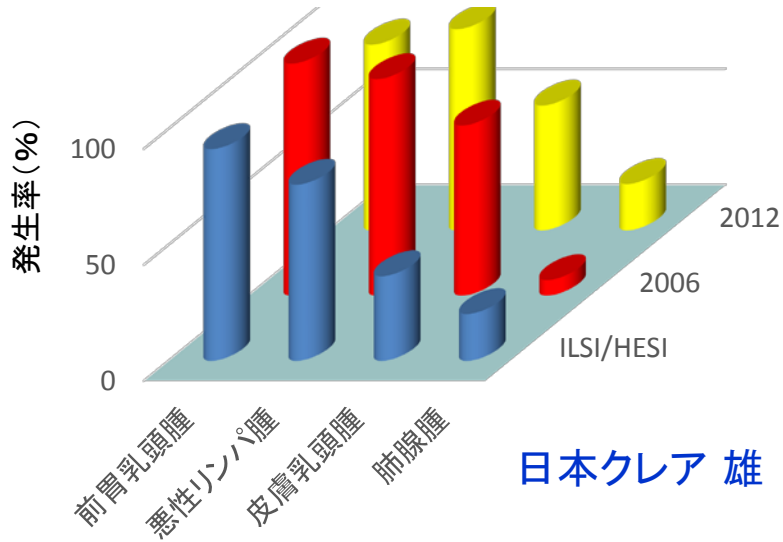


簡易
モニタリング
2008年
2014年



日米同時定期発がん性モニタリング結果

(標準陽性対照物質 MNUに対する反応)



まとめ

1. ヒトがん遺伝子を導入したrasH2マウスは、26週間の試験期間(従来の1/4)で、被験物質の発がん性を検出できる動物である。
2. 現在では、マウスの発がん性試験の75%以上がrasH2マウスで実施されDefacto Standardとなっている。
3. 日米で生産されるrasH2マウスを定期的に特性モニタリングすることにより、品質管理している。

ご静聴ありがとうございました



**ご質問は
ありませんか!**

