Ojala, T., Vuorela, P., Kiviranta, J., Vuorela,H., Hiltunen, R., (1999) A bioassay using Artemia salina for detecting phototoxicity of plant coumarins, *Planta Med.* 65(8), 715-718

Pape, W.J., Maurer, T., Pfannenbecker, U., Steiling, W., (2001) The red blood cell phototoxicity test (photohaemolysis and haemoglobin oxidation): EU/COLIPA validation program on phototoxicity (phase II), *ATLA*, 29(2), 145-162

Pape, W.J.W., Brandt, M., and Pfannenbecker, U., (1994a) Combined *in vitro* assay for photohaemolysis and haemoglobin oxidation as part of a phototoxicity test system assessed with various phototoxic substances, *Toxicol. in Vitro*, 8, 755-757

Pendlington, R.U., and Barratt, M.D., (1990) Molecular basis of photocontact allergy, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 12, 91-103

Rosen, J.E., Prahalad, A.K., Schluter, G., Chen, D., Williams, G.M., (1997) Quinolone antibiotic photodynamic production of 8-oxo-7, 8-dihydro-2' -deoxyguanosine in cultured liver epithelial cells, *Photochem. Photobiol.*, 65(6), 990-996

Sugiyama, M., Itagaki, H., and Kato, S., (1994b) Photohemolysis test and Yeast growth inhibition assay to assess phototoxic potential of chemicals. *In*：*Alternative Methods in Toxicology vol.10, In Vitro Skin Toxicology Irritation, Phototoxicity, Sensitization*, ed by A. Rougier, A.M. Goldberg and H. Maibach, pp. 213-221, Mary Ann Liebert, New York.

Sugiyama, M., Itagaki, H., Hayashi, T., Murakami, N., and Kato, S., (1994a) *In vitro* assay to predict phototoxicity of chemicals：(1) Red blood cell hemolysis assay, *AATEX*, 2, 183-191

Traynor, N.J., Johnson, B.E., and Gibbs, N.K., (1996) Photohaemolysis assay for drugs phototoxicity complicated by ' bleaching ' of released haemoglobin,*Toxicol. in Vitro*, 10, 619-624

Traynor, N.J., Barratt, M.D., Lovell, W.W., Ferguson, J., Gibbs, N.K., (2000) Comparison of an *in vitro* cellular phototoxicity model against controlled clinical trials of fluoroquinolone skin phototoxicity, *Toxicol. In Vitro*, 14(3), 275-83

Vandenbogaerde, A.L., Cuveele, J.F., Proot, P., Himpens, B.E., Merlevede, W.J., de Witte, P.A., (1997) Differential cytotoxic effects induced after photosensitization by hypericin, *J. Photochem. Photobiol. B.*, 38(2-3), 136-142

Van Graft, M., Boot, J.H., (1996) Photodynamic effects of protoporphyrin on the cellular level-an *in vitro* approach, *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, 32(7), 394-398

Wilhelm, K.P., Biel, S., Siegers, C.P., (2001) Role of flavonoids in controlling the phototoxicity of Hypericum perforatum extracts, *Phytomedicine*, 8(4), 306-309

Yan, C., Liao, K., Hu, Y., Xu, Y., (1999) Quantitative *in vitro* assessment of drug phototoxicity by a chemiluminescence method, *Chin Med J.* 112(6), 501-503

4-4）考慮すべき事項

担当：今井弘一、板垣　宏

4-4-1）試験法の普及性

In Vitro の光毒性試験として 3T3-NR 法が広く普及するに至る条件として，試験法の簡便性や実験方法自体がフレキシブルで，試験担当者による若干の修正に対しても十分な頑健性があることが必要である．しかも，実験プロトコール全体に技術的な難易度が低く，試験担当者の教育訓練及び専門性についても，背景となる細胞培養の基礎的知識の個人差が結果に影響を及ぼすことが少なく，短時間の教育訓練で実施可能である点が重要である．また，一方で必要な装置や材料の入手も比較的容易であり，一般に普及している安価な器材で実施可能であることも広く普及に至る鍵を握る大きな因子となり得ると考えられる．

Presented by Medical*Online

4-4-1-1）若干の修正に対する頑健性

3T3-NR 法で実験条件を変更する場合には以下の各項目が想定できる．実験時はプロトコールに忠実に従うべきであるが，通常プロトコールに記載されないピペットの取扱い方や培養液の加温方法など，テクニカル面で若干の個人差があり，担当者が気付かないで細胞に多少のダメージを与えてしまう場合も考えられる．

（1）細胞

Balb/c 3T3 細胞はマウス由来の細胞株である．細胞因子として，a. 播種細胞数，b. 継代数・継代方法，c. 細胞周期が考えられる．3T3-NR 法では，この細胞の利用が最も基本的な条件の 1 つである．同じ Balb/c 3T3 細胞でも，各研究室あるいは継代歴の差によって，その性質や特徴にかなりの違いがあり注意を要することも指摘されている（瀬野ら、1993）．Balb/c 3T3 細胞以外の細胞や亜株である MC3T3-E1 細胞や NIH 3T3 細胞などの利用は始めから想定外と考えるものである．もし，これらの細胞を使用した場合には，Balb/c 3T3 細胞と細胞周期や栄養要求などが異なっていると考えられるため，当然のことながら結果に影響する可能性があり，光毒性評価法として使用するためには，妥当性が示されていなくてはならない．

a. 播種細胞数

96 ウェルマイクロプレートで 1 ウェルあたり 1×10^4 個の細胞播種が必要である．播種細胞数の変動は大きく結果に影響すると考えられる（Wataha *et al.*, 1993, Wieslander *et al.*, 1993）．播種細胞数が極端に多い場合には細胞は恒温器内で早期に confluent に達する．confluent に達した細胞はその感受性に及ぼす影響が異なる可能性が考えられる（Grosovsky *et al.*, 1985）．細胞が均一にウェル内に播種される必要があり，ウェル内部で部分的に細胞数の変動が大きいと結果に与える影響も考えられる．しかし，血球計算盤での算定誤差程度の播種細胞のバラツキであれば結果に大きな差はないと考えられる．

b. 継代数・継代方法

Spielmann らによる報告（Spielmann *et al.*, 1995）から，継代数 70 ～ 80 代の細胞を用いた 5 機関では，光照射量に対してほぼ同じ反応曲線を示したが，130 ～ 140 代の細胞を用いた 2 機関では，低照射量に対して細胞生存率が著しく低下し，細胞の継代数が結果に大きな影響を及ぼすことを指摘している．また，継代方法についても，常時 sub confluent に達するまでに継代している場合とそうでない場合には当然細胞自体に差が生じる可能性が考えられる．

c. 細胞周期

細胞増殖期の細胞を用いることが規定されているが，前述のように接触抑制がかかって細胞が D_0 期に移行しないようにすべきであるが，継代されている細胞株は増殖調節に関してはすでに正常でないとの指摘もあり，細胞密度や実験に用いる細胞の取扱いについては，普段の継代方法を含めて十分な注意が必要であると考えられる．なお，細胞周期が光毒性に影響を及ぼすことはすでに指摘されている（Yang *et al.*, 2002）．

（2）培養液

細胞培養における培養液の変更は大きな因子となる．培養液はその基盤となる浸透圧の調整はもちろんのこと，pH の緩衝作用や細胞に必要な無機イオンの供給源となる様々な緩衝塩類溶液が使用される．Earle, Gey, Hanks, Dulbecco などが利用されるが，培養液のメーカーやロットによってその成分が若干改変されているものも多い．

Presented by Medical*Online

さらに，ビタミン類，糖類やアミノ酸の添加量や種類が必ずしも一定していない．とくにアミノ酸の中でもグルタミンは熱に弱く培養液の保存状態による変動も大きいと考えられる．さらに，培養液の pH は炭酸ガス恒温器からの CO_2 量に依存するため，炭酸ガス恒温器の種類や扉の開閉による影響などによる結果への影響も否定できない．3T3-NR 法では DMEM の使用が記載されているが，DMEM は培地メーカーによってその組成に多少の差があるものの MEM と比較してほとんどのアミノ酸などが倍量程度配合されている．そのため，細胞に与える影響も無視できない．しかし，MEM を用いても結果が逆転するような大きな影響はないものと考えられる．もちろん他種の培養液の転用は実験データに様々な影響を及ぼすことは周知の事実である．実験者はガイドライン記載の DMEM での結果と相関することが証明されない限り，これらの使用は避ける必要がある．さらに，細胞の取扱い方法として基本的なことであるが，通常の植継ぎ用の培養液と実験に使用する培養液が全く異なる場合には細胞に与える影響は大きいものと考えられる．また，細胞を凍結状態から通常の培養環境下に戻した場合に，時間的制約から細胞のコンディションを無視して直ちに実験に使用することはデータに大きく影響することは言うまでもない．さらに，血清については培養液の中でも最大の変動因子となりうる可能性がある．従来から血清の添加量，メーカーやロット差が細胞毒性の結果に影響を及ぼすことが知られている．また，血清タンパクが光毒性に影響を及ぼすことも報告（Yang *et al.*, 2002）され，その重要性は大きい．

細胞の種類によって栄養要求の程度や pH 変動に対しての許容度が異なり，培養液の変動による影響も異なる．株化細胞である Balb/c 3T3 は初代細胞よりその影響は一般的に少ないものと考えられる．

(3) 試料調製法

被験物質を細胞に暴露するためには培養液に溶解することが条件となる．水溶性の被験物質では問題は少ないが，油溶性のものでは，溶媒を用いていったん溶解し，さらに培養液で希釈する方法が一般的である．しかし，難溶性または不溶性の試料では溶媒の種類や濃度によっては完全な溶解に至らず，培養液中でエマルジョン状態を呈する場合には IC_{50} 値のバラツキの原因となることが考えられる．そのため，エタノールや DMSO などの他に少量の界面活性剤の添加も試みられている．これらはいずれもその細胞毒性が被検体の細胞毒性データに多少の影響があると考えるのは当然である．そのため溶媒の最終濃度は規定されている．しかし，溶媒によってはその純度やメーカーによって細胞毒性レベルが微妙に異なる．被験物質の溶解性や溶媒の種類は大きな変動因子となるため，溶解されたか否かは実験者の肉眼での判定によっている．しかし，血清が添加されている培養液はすでに多少の濁りがあるのは普通であり，試料添加による懸濁と区別することが実際上判定し難い場合も多い．さらに，恒温器内で気化する可能性のある試料，比重が培養液と著しく異なる試料，プラスチックディッシュ自体を溶解する試料，ディッシュ内面のコーティングに短時間で影響を与える試料，培養液の成分と徐々に化学反応して時間と共に沈殿する試料，pH が大きく異なる試料や強い着色のある試料などの場合については難しい対応となる．試験担当者が溶媒のメーカーやその純度に対する認識はもちろんのこと，試料を培養液へ溶解する行為に関しては十分な知識と経験を積むことが重要である．

(4) 照射光源

照射光源として Dr. Hönle 社製の機器が使用されている．光源には太陽光に近いスペクトル分布をもつ水銀蒸着メタルハライドランプなどを使用し，さらにフィルターで UVB を遮断する必要がある．また，実際の光の状態は補正済みの UVA メーターで検査することも必要である，Dr. Hönle 社は UV ランプとその関係機器では歴史的

Presented by Medical*Online

にも著名なメーカーで，フランス，米国，ドイツ，英国，シンガポールなどに関連会社を設立している．本邦には代理店が存在するのみであり，光源に関する基礎データの入手，検査やメンテナンスの容易性などの点から国内メーカー製のものを使用した方が便利な点が多い．しかし，Dr. Hönle 社と国内メーカーの製品差についての基本的な情報，すなわち光源の安定性，波長分布や発熱などの様々な変動因子についての諸データについてはまったく未知数である．さらに，Dr. Hönle 社の製品についても改良などによって製品の種類や性能が時間とともに変化することが想定できる．光源の条件となる 1.6mW/cm^2 の変動については，UVA の光源の強さや波長に影響を及ぼすランプの劣化や電源などの不良による電圧の変動などが考えられる．光源の強さなど，様々な因子の変動は，実際の実験データに大きな影響を及ぼすことも否定できない．また，同時に光源によっては，細胞，培養液や培養容器への熱障害（Sheyhedin *et al.*, 1998, van den Biesen *et al.*, 2000）にも十分な注意を払う必要があると考えられる．なお，光源については使用機器やランプの種類が報告によって大きな差がある．また，環境光の影響も考えられるが，それらの詳細についての実験結果に及ぼす影響に関する報告は見当たらない．なお，光照射時間が多少変動することについての影響については，数分程度ではスクリーニング試験としては十分対応可能であると考えられる．

(5) 培養時間

24 時間の培養時間の変動については，被験物質の種類によっては，その洗浄後に新鮮培養液中で培養する時間が長いほど，細胞への障害が増大する場合と，逆に減少する場合があるが，時間経過に伴ってその傾向は大きくなる（Calabrese *et al.*, 2001）．したがって，その程度が問題であり，スクリーニングテストとして実験を実施する時に，恒温器から細胞を取り出す場合に数分あるいは数十分程度の時間誤差範囲であれば，特に問題とならない可能性が大きいが，数時間に及ぶ時間差は結果への影響も無視できない可能性もある（松本ら、1993）．

(6) 評価基準

OECD のガイドラインドラフト（2002 年 3 月 15 日）では，PIF ＞ 5 あるいは MPE ＞ 0.15 を phototoxicity として定義している．この値は相対値として位置づけられており，絶対的評価基準ではない．境界の被験体の場合に probable phototoxicity あるいは phototoxicity のどちらに分類するかという点については難しい選択となる．実験データの n 数，すなわち繰り返し回数などによっては変動する可能性も考えられ，結果的には異なった評価が与えられる場合の可能性を否定できない．

(7) エンドポイント

赤色色素である Neutral red が生細胞に取り込まれ，リソゾームに蓄積される性質を利用した NR 法はその簡便性や再現性の点から数多く利用されている．試験担当者が別のエンドポイントを便宜上採用する可能性も考えられるが，それぞれ細胞内での作用場所や機序が異なるものの実験結果に大きな差が見いだせない可能性もある．しかし，エンドポイントの変更については 3T3-NR 法との相関性や被験物質の光毒性評価に適していることを試験担当者が確認しておく必要がある．

4-4-1-2) 教育訓練及び専門性

細胞培養を実施するための，教育訓練と専門性については，まず，細胞の取扱い方法についての基本的知識が必要である．また，培養細胞自体に対する知識や培養液はもちろんのこと，継代培養，細胞増殖や凍結法などさまざまな知識が必要である．また，細胞培養に使用する器材の面から，ピペット，培養フラスコや遠沈管などのディスポーザブル製品について，また，使用する機器についても若干の知識が必要である．

Presented by Medical*Online

使用する設備機器が，無菌設備，恒温器設備，器具洗浄設備，細胞観察・測定設備，細胞保存設備に至るまで多種類に及ぶ上に，それぞれの利用方法についての知識と専門性が必要である．とくに無菌操作については訓練も必要で，さらに安全面についての認識，廃棄物の取扱いについての認識も重要である．

さらに，光毒性試験を実施する必要から，上記の基本的知識を踏まえた上で，光照射装置の取扱いに関して，および96ウェルプレートやマルチピペットの取扱いなどに関する専門的知識と経験が必要である．他方，前述の試料調製法に関しては，被験体についての知識やその溶解方法に関しては専門的知識と経験が必要となる．

4-4-1-3）必要な装置や材料の入手

細胞培養に必要な器材の入手は比較的容易である．細胞は細胞バンクから容易に手に入れることが可能である．また，各種ディスポーザブル製品についても特に入手が難しいものは見当たらない．太陽光に近いスペクトルを有している安定した光源の光照射装置については，水銀蒸着メタルハライドランプやキセノンランプが使用される．現在，この装置の入手が最も難しいと考えられる．

4-4-2）コストとそれに見合う有用性

一般的に培養細胞を使用する *in vitro* 試験法は実験動物を使用する *in vivo* の場合と比較して，実験に必要なコストは非常に低く経済面での有用性が大きい．実験動物でウサギは1匹2万円，モルモットは同じく4千円前後，比較的安価なマウスで1匹数百円程度である．しかし，餌や床敷が必要なことはもちろん，数多くの動物の飼育には衛生面や環境面でも十分配慮する必要があり，その設備面や汚物処理などに多大なコストが必要である．*In vitro* 試験法では動物実験と比べて，実験に必要な時間は短縮され，同一の時間で繰返し実験することが可能であり，実験例数の増加とともに統計的にも信頼性の高いものとなる可能性が大きい．さらに，動物を使用するという別次元でのリスクは金銭的には全く解決できない大きな問題であることは言うまでもない．

4-4-3）試験法導入に要する時間

試験法導入に必要な時間として，一般的に設備の設置に要する時間，器材購入に要する時間および，試験担当者の教育訓練に必要な時間が考えられる．設備の設置に要する時間と器材購入に要する時間は，購入先にもよるが，入手までには数日から数週間程度であると考えられる．ただし，光源設備を導入する場合に海外から輸入せざるを得ない場合には数ヶ月を要する場合も考えられる．一方，試験担当者の教育訓練に必要な時間については，細胞の継代練習を数回繰り返す場合を考慮すれば数ヶ月が必要となる．

4-4-4）3Rsの面からの考察

動物実験代替法の見地から *in vitro* プロトコールを考えた場合に，3Rsすなわち，Replacement，Refinement および Reduction に対しての有用性が認識される必要があると考えられる．

4-4-4-1）Replacement

本方法がEU/COLIPAでのバリディーションプロジェクトで光毒性物質と非光毒性物質を正しく検出可能であることが示されており，*in vitro* で光毒性物質を高い再現性で的確に見つけ出し，かつ光毒性物質の毒性機序についての解析ができる可能性が大きく，動物実験の代替に寄与するものと考えられる．動物実験については多くの研究者が始めは心理的にも躊躇する．しかし，時間の経過とともに多くの動物を取り扱

Presented by Medical*Online

うにつれて，いわゆる慣れによって動物を犠牲にすることによる心理的負担が低下する傾向が見受けられることも多い．*in vitro* 試験ではこのような点は全く発生しない．

4-4-4-2）Refinement

動物の痛みや苦痛および不快感を弱めたり最少限にし，動物の福祉を向上させるものであるが，3T3-NR 法の普及に伴って動物実験をする必要がなくなった場合には，この項目については完全に達成可能であると考えられる．

4-4-4-3）Reduction

現在，年に 1 万種以上の新しい化学物質が合成されており，化学構造から光毒性を有する可能性のある化学物質も多数開発されつつある．そのため，光毒性試験に供されるべき被験物質の数も非常に多いと想像される．しかし，これらのすべてを動物実験で評価することは不可能である．そのため，*in vitro* 試験法による信頼性の高いスクリーニング法が開発されることは使用動物数の削減に繋がるものと考えられる．

4-4-5）結　論

動物実験の縮小は世界の流れであり，*in vitro* 実験方法の発達によって動物実験が不可避な研究分野を可及的に狭めることが必要である．しかも *in vitro* の代替法の採用により，化学物質の安全性を能率良く，経済的に推進できるようになることは，危険な化学物質暴露によるリスクを減少させることにつながり，我々の QOL 向上のためにはたす役割りも大きい．今回検討した 3T3-NR 法は，動物実験代替法の側面以外にも，時間的，経済的な面から有利な点も多く，本実験方法がリスクとベネフィットのトータルバランスの点からも優れたものであると考えられる．

4-4-6）要望事項

光毒性試験は化粧品のみならず，医薬品や医薬部外品，また，一般化学物質の安全性評価に必要である．また，局所作用のみならず全身的作用，複合作用や代謝による影響などについても十分配慮する必要性も大きい．そのための諸因子を含めた幅広い *in vitro* 実験方法の開発について要望するものである．

今回の光毒性試験の導入で大きな問題は光源である．どのような光源が妥当であるかについてはさらに検討を加えなければならない．光毒性試験を普及させるためには，色々なメーカーの光源についてデータを蓄積する必要がある．

引用文献

瀬野悍二，小山秀機，黒木登志夫編．（1993）研究テーマ別動物培養細胞マニュアル，初版，共立出版，東京，pp.76-77

Wataha, J.C., Hanks, C.T., and Craig, R.G. (1993) The effect of cell monolayer density on the cytotoxicity of metal ions which are released from dental alloys, *Dent Mater*, 9, 172-176

Wieslander, A.P., Nordin, M.K., Hansson, B., Baldetorp, B. and Kjellstrand, P.T. (1993) *In vitro* toxicity of biomaterials determined with cell density, total protein, cell cycle distribution and adenine nucleotides, *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol*, 21, 63-70

Grosovsky, A.J. and Little, J.B. (1985) Confluent holding leads to a transient enhancement in mutagenesis in UV-light-irradiated xeroderma pigmentosum, Gardner's syndrome and normal human diploid fibroblasts, *Mutat Res*, 149, 147-155

Spielmann, H., Liebsch, M., Pape, W.J., Balls, M., Dupuis, J., Klecak, G., Lovell, W.W., Maurer, T., De Silva, O. and Steiling, W. (1995) EEC/COLIPA *in vitro* photoirritancy

Presented by Medical*Online

program：results of the first stage of validation, *Curr Probl Dermatol*, 23, 256-264
Yang, X.L., Fan, C.H. and Zhu, H.S. (2002) Photo-induced cytotoxicity of malonic acid [C(60)] fullerene derivatives and its mechanism, *Toxicol In Vitro*, 16, 41-46
Sheyhedin, I., Aizawa, K., Araake, M., Kumasaka, H., Okunaka, T. and Kato, H. (1998) The effects of serum on cellular uptake and phototoxicity of mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) *in vitro, Photochem Photobiol*, 68, 110-114
van den Biesen, P.R., Berenschot, T., Verdaasdonk, R.M., van Weelden, H. and van Norren, D. (2000) Endoillumination during vitrectomy and phototoxicity thresholds, *Br J Ophthalmol* , 84, 1372-1375
Calabrese, V., Scapagnini, G., Catalano, C., Bates, T.E., Dinotta, F., Micali, G. and Giuffrida Stella, A.M. (2001) Induction of heat shock protein synthesis in human skin fibroblasts in response to oxidative stress：regulation by a natural antioxidant from rosemary extract, *Int J Tissue React*, 23, 51-58
松本良造，今井弘一（1993）細胞回復度試験法の確立に関する基礎的検討－初期細胞数と細胞回復時間について－，歯科材料・器械，12, 374-392

4-5) 関連項目

担当：板垣宏、小島肇夫

4-5-1) EU/COLIPA 及び OECD により提案された試験プロトコールの一部変更について

本試験法（3T3 NRU 法）は、1992-1994 に実施された EU/COLIPA（欧州化粧品工業連合会）によるプレバリデーション（Phase I）に端を発する。このプレバリデーションでは、光毒性のスクリーニングを目的とした 8 種の試験法と作用機構の解析を目的とした 5 種の試験法について検討され（Spielmann *et al.*, 1994）、その結果として本 3T3 NRU 法が選択され、それ以降のバリデーションが進行した理由となっている。しかし、このプレバリデーションでは、被験物質がブラインドでないこと及び各試験法について何施設が参加し、3T3 NRU 法以外の試験法については個別にどのような結果が得られたかが不明である（Spielmann *et al.*, 1994, Liebsch *et al.*, 1994）。その後、1994-1996 に実施されたバリデーション（Phase II）（Spielmann *et al.*, 1998a）及び 1997-1998 に実施された紫外線吸収剤（Phase III）（Spielmann *et al.*, 1998b）の評価を通して本 3T3 NRU 法の有用性が確認されてきたという経緯を有している。

OECD ガイドラインのドラフトの公開以降で、本 3T3 NRU 法の改良について報告した論文はほとんど見当たらない。よって、本 3T3 NRU 法を構成する要因に分けてこれまでの知見を整理し、この項目に対する回答とする。

2002 年 3 月 15 日付の OECD ガイドラインドラフトでは、本 3T3 NRU 法は、Balb/c 3T3（clone 31）に被験物質を適用し、さらにソーラーシミュレーターによる照射後、ニュートラルレッド取り込み試験により細胞生存率を求める。また、光毒性のポテンシャルの評価は、Photo-Irritation Factor (PIF) または Mean Photo Effect (MPE) のいずれかの方法によることが記載されている。つまり、考えられる修正項目としては、上記の測定指標の他、用いる細胞種に関すること、光照射に関すること、及び評価方法に関することが挙げられる。以下に、現在提案されている OECD ガイドラインのドラフトを基本的に準拠し、これの変更点について記載した文献の結果を紹介する。

4-5-1-1) 細胞毒性評価指標の変更について

上記の試験法開発の経緯に示したように、光毒性試験代替法については、本 3T3 NRU 法に絞って光毒性の予測に適しているかという観点でバリデーションが進行してきた。そのため、細胞毒性の指標としては Neutral red 取り込み法以外の細胞毒性

Presented by Medical*Online