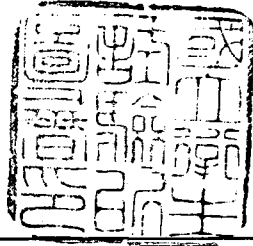


ISSN 0077-4715
CODEN: ESKHA 5

衛生試験所報告

第 103 号



昭和 60 年

BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES

No. 103 1985

国立衛生試験所

衛生試験所
Eisei Shikenjo Hokoku

衛生試験所報告

第 103 号

昭和 60 年

**BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES**

No. 103 1985

Published by
National Institute of Hygienic Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

報 文

ヒト多形核白血球による <i>Candida albicans</i> の食菌作用, 食殺菌作用に対する抗炎症剤の影響押沢 正・山村雅一・早川堯夫.....	1
高速液体クロマトグラフィーによる国際標準品原料のインシュリンの分析太田美矢子・木村俊夫・山羽 力.....	6
エタノールの妊娠期投与によるラット胎仔の発育に及ぼす影響川島邦夫・田中 悟・中浦慎介・高仲 正・大森義仁.....	10
臭素酸カリウム投与によるラット腎尿管上皮に見られた Eosinophilic body について小野寺博志・谷川廣行・松島裕子・前川昭彦・黒川雄二・林 裕造.....	15
F344 ラットにおける塩化第二鉄の癌原性試験実施にあたっての予備試験 (亜慢性毒性) の成果 について.....佐藤秀隆・豊田和弘・古川文夫・小久保 武・高橋道人・林 裕造.....	21
牛黄の毒性に関する研究鈴木康雄・会田喜崇・吉本浜子・門馬純子・高田幸一・鈴木幸子・小林和雄・戸部満寿夫.....	29
家庭用品に使用されている化学物質の急性毒性試験 (その2)池田康和・鎌田栄一・会田喜崇・内藤克司・鈴木康雄・戸部満寿夫.....	37
腎障害に関する基礎的研究 — puromycin aminonucleoside および bis-(2,3-dibromopropyl) phosphate 投与による尿中酵素活性と組織学的変化の相関性—戸部満寿夫・中路幸男・小林和雄・中村晃忠・内藤克司・斎藤 実・鈴木幸子・ 内田雄幸・安原加寿雄・高田幸一・大場 栄.....	51
水道水汚染有機化合物およびその関連物質の変異原性に関する研究 I. 微生物による遺伝子突然変異試験.....能美健彦・宮田ルミ子・吉川邦衛・石館 基.....	60
水道水汚染有機化合物およびその関連物質の変異原性に関する研究 II. 哺乳動物培養細胞による染色体異常試験祖父尼俊雄・林 真・松岡厚子・沢田 稔・畑中みどり・石館 基.....	64
ラット仔の生後発育に及ぼす Trypan blue の影響について江馬 真・伊丹孝文・川崎浩之進・加納晴三郎.....	75
A群溶血性レンサ球菌の産生する発熱性外毒素の精製とその二, 三の性状について村井敏美・小川義之・川崎浩之進・加納晴三郎.....	82
ノ ー ト	
アデニンおよびその関連化合物とホルムアルデヒドの反応末吉祥子・丹野雅幸・宮原美知子・神谷庄造・石野正蔵.....	89
向精神剤の鑑定法 (第4報) フェンサイクリジンおよびその関連化合物の分析島峯望彦・高橋一徳・大野昌子・香取典子・内山 充.....	93
人工胃液による催吐性オゴノリの HPLC パターン変化内山貞夫・石坂 孝・斎藤行生・降矢 強・関田清司・戸部満寿夫.....	97
Trypan blue によるラット胎仔の子宮内死亡と奇形について江馬 真・伊丹孝文・川崎浩之進・加納晴三郎.....	101
ブタ臍性カリジノゲナーゼ製剤のエンザイムイムノアッセイ.....柴田 正・伊阪 博...	103
ケシの花芽分化と発育について.....熊谷健夫・畠山好雄...	106
資 料	
国立衛生試験所リボフラビン標準品 (Control 831)	111
国立衛生試験所アスコルビン酸標準品 (Control 831)	112
国立衛生試験所含糖ペプシン標準品 (Control 831)	114

国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 841)	谷本 剛・福田秀男・木村俊夫・山羽 力	116
国立衛生試験所塩酸チアミン標準品 (Control 841)	太田美矢子・木村俊夫・山羽 力	118
国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 841)	太田美矢子・木村俊夫・山羽 力	121
梅加工「健康食品」中のシアノ化合物含有量の測定	米谷民雄・内山貞夫・斎藤行生	123
食品中の残留農薬分析に関する研究 (第40報) カナダ領五大湖産輸入ワカサギ中の PCB の残留 分析	関田 寛・佐々木久美子・河村葉子・武田明治・内山 充	125
食品中の残留農薬分析に関する研究 (第41報) フライドポテト用輸入冷凍パレイシヨ中のクロル プロファムの残留分析	関田 寛・佐々木久美子・河村葉子・武田明治・内山 充	127
食品中の残留農薬分析に関する研究 (第42報) 日常食からのエンドスルファン, クロルベンジレ ート, キャプタンなどの摂取量調査 (昭和57年度分)	関田 寛・佐々木久美子・河村葉子・武田明治・内山 充	129
食品中の残留農薬分析に関する研究 (第43報) 韓国産輸入玄米中の有機塩素系農薬および有機リ ン系農薬の残留分析	佐々木久美子・関田 寛・武田明治・斎藤行生	133
食品中の残留農薬分析に関する研究 (第44報) 市販食肉, 乳製品, 魚介類および輸入食肉, 穀物 中のクロルデン類の残留実態	関田 寛・高橋正紀・神里興輝・佐々木久美子・河村葉子・武田明治・内山 充	137
食品中の残留農薬分析に関する研究 (第45報) 日常食からのクロルデン類の摂取量調査 (昭和58 年度分)	関田 寛・武田明治・内山 充	143
食品中の残留農薬分析に関する研究 (第46報) GC-MS による淡水魚中に残留するクロルデン類 の確認	関田 寛・福原克治・武田明治・内山 充	146
蛍光検出高速液体クロマトグラフィーによる柑橘類の果皮および果肉中のオルトフェニルフェノ ールの定量	川崎洋子・山田 隆・義平邦利・谷村顕雄	148
厚生省告示準備最終原案によるアクリロニトリル材質試験法および溶出試験法の追試験	井上たき子・石綿 肇・谷村顕雄	150
国際標準化機構法による食品用器具および容器からの重金属等の溶出	石綿 肇・井上たき子・山崎 壮・山本 都・酒井綾子・山田 隆・谷村顕雄	154
サフランとクチナシ果実から抽出される黄色天然色素の比較	神蔵美枝子・中里圭子	157
規格基準設定のための市販のあん類, ソース類および乾燥食品の細菌学的汚染調査結果について	河西 勉・鈴木 昭・高山澄江・萩原秀樹	161
デヒドロ酢酸, ソルビン酸およびそれらの併用時の急性経口毒性に関する研究	内田雄幸・内藤克司・安原加寿雄・大場 栄・佐藤千百合・下温湯シズ・小林和雄・戸部満寿夫	166
引用文献頻度からみた外国雑誌の利用状況—1979~1983年の衛生試験所報告より—	竹中祐典・佐藤美恵子	172
市販の各種デキストリン中に含まれる還元糖 (デキストロース・エキバレント) の試験法につい て	伊阪 博・榊谷真美・長谷川隆一・小室徹雄	177
業務報告		181
特別研究報告		213
誌上发表		224
学会発表		256
衛試験例		267
昭和59年度に行った主な研究課題		272
国家検定および検査等の処理状況		275
国立衛生試験所標準品		286

CONTENTS

Originals

T. OSHIZAWA, M. YAMAMURA and T. HAYAKAWA: Effects of Anti-Inflammatory Drugs on Phagocytosis and Intracellular Killing of <i>Candida albicans</i> by human polymorphonuclear leukocytes	1
M. OHTA, T. KIMURA and T. YAMAHA: Analysis of Material for International Standard Insulin by High-Performance Liquid Chromatography	6
K. KAWASHIMA, S. TANAKA, S. NAKAURA, A. TAKANAKA and Y. OMORI: Effect of Ethanol on Prenatal Developments of Rats	10
H. ONODERA, H. TANIGAWA, Y. MATSUSHIMA, A. MAEKAWA, Y. KUROKAWA and Y. HAYASHI: Eosinophilic Bodies in the Proximal Renal Tubules of Rats given Potassium Bromate	15
H. SATO, K. TOYODA, F. FURUKAWA, T. KOKUBO, M. TAKAHASHI and Y. HAYASHI: Oral Subchronic Toxicity Studies of Ferric Chloride in F344 Rat	21
Y. SUZUKI, Y. AIDA, H. YOSHIMOTO, J. MOMMA, K. TAKADA, S. SUZUKI, K. KOBAYASHI and M. TOBE: Toxicity of Oriental Bezoar and Its Components	29
Y. IKEDA, E. KAMATA, Y. AIDA, K. NAITO, Y. SUZUKI and M. TOBE: Acute Toxicity of Chemicals in Household Goods (II).....	37
M. TOBE, Y. NAKAJI, K. KOBAYASHI, A. NAKAMURA, K. NAITOH, M. SAITOH, S. SUZUKI, O. UCHIDA, K. YASUHARA, K. TAKADA and S. OHBA: Studies on the Evaluation of Toxic Renal Injuries in Rats—correlation between urinary enzyme activities and histological changes induced by puromycin aminonucleoside and bis-(2,3-dibromopropyl) phosphate—	51
T. NOHMI, R. MIYATA, K. YOSHIKAWA and M. ISHIDATE, Jr.: Mutagenicity Tests on Organic Chemical Contaminants in City Water and Related Compounds I. Bacterial Mutagenicity Tests	60
T. SOFUNI, M. HAYASHI, A. MATSUOKA, M. SAWADA, M. HATANAKA and M. ISHIDATE, Jr. Mutagenicity Tests on Organic Chemical Contaminants in City Water and Related Compounds II. Chromosome Aberration Tests in Cultured Mammalian Cells.....	64
M. EMA, T. ITAMI, H. KAWASAKI and S. KANO: Postnatal Development of Offspring from Pregnant Rats treated with Trypan Blue	75
T. MURAI, Y. OGAWA, H. KAWASAKI and S. KANO: Purification and Some Properties of Group A Streptococcal Pyrogenic Exotoxin	82

Notes

S. SUEYOSHI, M. TANNO, M. MIYAHARA, S. KAMIYA and S. ISHINO: Reactions of Adenine and Related Compounds with Formaldehyde	89
M. SHIMAMINE, K. TAKAHASHI, M. ŌNO, N. KATORI and M. UCHIYAMA: Identification of Psychotropic Drugs. IV Analysis of Phencyclidine and Its Analogues	93
S. UCHIYAMA, T. ISHIZAKA, Y. SAITO, T. FURUYA, K. SEKITA and M. TOBE: HPLC-Pattern Change of Emetic Ogonori (<i>Gracilaria verrucosa Papenf.</i>) Components treated by an Artificial Gastric Juice	97
M. EMA, T. ITAMI, H. KAWASAKI and S. KANO: Fetal Intrauterine Death and Fetal Malformation Induced by Trypan Blue in Rats	101
T. SHIBATA and H. ISAKA: Studies on the Enzyme Immunoassay of Porcine Pancreatic Kalligenogenase Preparations.....	103
T. KUMAGAI and Y. HATAKEYAMA: Flower Bud Differentiation and Development of Opium Poppy (<i>Papaver somniferum L.</i>).....	106

Technical Data

H. TOKUNAGA, T. KIMURA and T. YAMAHA: Riboflavin Reference Standard (Control 831) of National Institute of Hygienic Sciences	111
H. TOKUNAGA, T. KIMURA and T. YAMAHA: Ascorbic Acid Reference Standard (Control 831) of National Institute of Hygienic Sciences	112
H. FUKUDA, T. TANIMOTO, T. KIMURA and T. YAMAHA: Saccharated Pepsin Reference Standard (Control 831) of National Institute of Hygienic Sciences	114
T. TANIMOTO, H. FUKUDA, T. KIMURA and T. YAMAHA: Kallidinogenase Reference Standard (Control 841) of National Institute of Hygienic Sciences	116

M. OHTA, T. KIMURA and T. YAMAHA: Thiamine Hydrochloride Reference Standard (Control 841) of National Institute of Hygienic Sciences	118
M. OHTA, T. KIMURA and T. YAMAHA: Cyanocobalamin Reference Standard (Control 841) of National Institute of Hygienic Sciences	121
T. MAITANI, S. UCHIYAMA and Y. SAITO: Determination of Cyanogenic Compounds in "Health Foods" made of Ume (Japanese Apricot)	123
H. SEKITA, K. SASAKI, Y. KAWAMURA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XL) PCB (Polychlorinated Biphenyls) Residues in Imported Smelt fished from the Canadian Great Lakes	125
H. SEKITA, K. SASAKI, Y. KAWAMURA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLI) Chlorpropham (IPC) Residues in Imported Refrigerated Potatoes for French-Frying	127
H. SEKITA, K. SASAKI, Y. KAWAMURA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLII) Surveillance of the Daily Intake of Endosulfan, Chlorobenzilate, Captan and Others from Total Diet in 1982.....	129
K. SASAKI, H. SEKITA M. TAKEDA and Y. SAITOH: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLIII) Organochlorine and Organophosphorus Pesticide Residues in Unpolished Rice Grain imported from South Korea	133
H. SEKITA, M. TAKAHASHI, K. KAMISATO, K. SASAKI, Y. KAWAMURA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on Pesticide Residues in Foods (XLIV) Surveillance of Chlordane Congeners Residues in Meat, Dairy Products, Fish and Shellfish on the Market and Imported Meat, Grain and Beans	137
H. SEKITA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLV) Surveillance of Daily Intake of Chlordane Congeners from Total Diet in 1983	143
H. SEKITA, K. FUKUHARA, M. TAKEDA and M. UCHIYAMA: Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLVI) Confirmation of Chlordane Congeners in Freshwater Fish by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).....	146
Y. KAWASAKI, T. YAMADA, K. YOSHIHARA and A. TANIMURA: Determination of <i>o</i> -Phenylphenol in the Peel and Flesh of Citrus Fruits by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection	148
T. INOUE, H. ISHIWATA and A. TANIMURA: Supplementary Examinations on Material and Migration Test Methods for Acrylonitrile Monomer in the Final Draft for Japanese Standards on Plastic Packages and Containers for Foodstuffs	150
H. ISHIWATA, T. INOUE, T. YAMAZAKI, M. YAMAMOTO, A. SAKAI, T. YAMADA and A. TANIMURA: Migration of Heavy Metals from Tableware determined by the Method of International Organization for Standardization	154
M. KAMIKURA and K. NAKAZATO: Comparison of Natural Yellow Colors extracted from Saffron (<i>Crocus sativus</i> LINNE) and Gardenia Fruit (<i>Gardenia jasminoides</i> ELLIS)	157
T. KAWANISHI, A. SUZUKI, S. TAKAYAMA and H. HAGIWARA: Bacteriological Examination of Marketed Bean Jam "AN", Sauce-Type Seasonings and Dehydrated Foods	161
O. UCHIDA, K. NAITO, K. YASUHARA, S. OHBA, C. SATO, S. SHIMONURI, K. KOBAYASHI and M. TOBE: Studies on the Acute Oral Toxicity of Dehydroacetic Acid, Sorbic Acid and Their Combination Compound in Rats	166
Y. TAKENAKA and M. SATOH: Pattern of Foreign Journal Utilization as seen from Frequency of Citations—From the Bulletins of National Institute of Hygienic Sciences (1979~1983)—	172
H. ISAKA, M. KUSHIYA, R. HASEGAWA and T. KOMURO: Determination of Reducing Sugars (Dextrose Equivalent) contained in Various Commercial Dextrins	177
Annual Reports of Divisions	181
Reports of Collaborative Study	213
Summaries of Papers Published in Other Journals	224
Titles of Speeches at Scientific Meetings.....	256
Seminars	267
Main Research Projects Carried Out in 1984	272
Survey of The Results of National Tests	275
Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences	286

ヒト多形核白血球による *Candida albicans* の食菌作用、
食殺菌作用に対する抗炎症剤の影響

押沢 正・山村雅一*・早川堯夫

Effects of Anti-Inflammatory Drugs on Phagocytosis and Intracellular Killing
of *Candida albicans* by human polymorphonuclear leukocytes

Tadashi OSHIZAWA, Masaichi YAMAMURA* and Takao HAYAKAWA

Opportunistic infection has become a problem in the clinical field. Wide use of drugs may impair the immunological system and facilitate infection by non-pathogenic microorganism. In this paper we studied, *in vitro*, the effect of some anti-inflammatory drugs on phagocytosis and intracellular killing of *Candida albicans* by human polymorphonuclear leukocytes. *Candida* was chosen to represent opportunistic pathogens. The following drugs were investigated: phenylbutazone, oxyphenbutazone, ketophenylbutazone, sulfipyrazone, mefenamic acid, flufenamic acid, ibuprofen, ibufenac, azapropazone, bucolome, benzydamine, imipramine, hydrocortisone, and betamethasone. It was found that some non-steroidal anti-inflammatory drugs, phenylbutazone and oxyphenbutazone inhibited both phagocytosis and intracellular killing at their therapeutic concentration, while steroids, hydrocortisone and betamethasone had no significant effect on phagocytic activity.

(Received May 31, 1985)

食細胞は、無脊椎動物から脊椎動物に共通する異物排除細胞で、その機能は生体防禦反応の基本的なものといえる。高等動物において、その基本的特徴を最も残している食細胞は多形核白血球で、微生物等の侵入に対していち早く局所に集まり、微生物を食食し、殺菌する。従って、もし、多形核白血球機能に何等かの欠陥が生ずれば、生体防禦機構に破綻が生ずることになる。ちなみに遺伝的な多形核白血球機能不全症の一つである慢性肉芽腫症患者は、繰り返し重篤な感染症に罹り、そのために死に至る例も少なくない。

一方、近年、日和見感染(易感染, opportunistic infection)という現象が臨床上の大きな問題となっている。これは平素は無害な弱病原性の微生物によって引き起こされる感染症で、宿主側の防禦能低下がその原因であるとされている。この日和見感染は、広域抗生剤、抗腫瘍剤や抗炎症剤等の使用頻度に比例しており、最近20年間で約10倍近くの増加をみているという¹⁾。繁用されている薬剤が生体の防禦機構に悪影響を与え、微生物の体内侵入や増殖に対する抵抗力の低下を招き、日和見感染の原因の一つとなっている可能

性は極めて高い。したがって、医薬品が多形核白血球機能に及ぼす影響を検討することは、生体防禦機能の面での医薬品の安全性の予測を行う上で意義あるものと考えられる。

本研究では、ヒト多形核白血球による *Candida albicans* の食菌作用、食殺菌作用に対する各種抗炎症剤の影響を検討した。

実験方法

1. 食細胞の調製

ヒトの多形核白血球は、健常人の末梢血より、プラズマ・ゲルを用いて分離した。すなわち、ヘパリンを加えて採血した健常人の末梢血(40 units/ml)を150×gで5分間遠心して血漿を除いて得た血球に、血漿と同容量のRPMI 1640を加え、さらに同容量のプラズマ・ゲルを加えて37°Cで約1時間放置する。白血球に富む上清をとり、150×gで10分間遠心する。集めた細胞はRPMI 1640で繰り返し3回洗浄し、最後にRPMI 1640に懸濁して試験に用いた。

2. *Candida albicans* の調製

Candida albicans UC820 (以下 *Candida*) を用いた。2%寒天、1%ペプトン、2%グルコースの斜面培地

* 東海大医学部

で保菌した。1%ペプトン、2%グルコース中で28°C、3日間培養したのち、4°Cで保存した。食作用機能の測定には、培養後1週間以内のものを使用した。生存率は99%以上(トリパンブルー)。

3. 血漿の調製

AB型の健常人よりヘパリン加血により得た末梢血を遠心し、上清を用いた。-80°Cで保存し、用事溶解して用いた。

4. ³H-ウリジンの調製

[6-³H]ウリジン(NEN社)を用いた。40 μCi/ml, 5 Ci/mole に調整した。

5. デオキシコール酸、デオキシリボヌクレアーゼ溶液の調製

デオキシコール酸、およびデオキシリボヌクレアーゼは、生理食塩水で溶かして、それぞれ1.2%、0.4 mg/mlとした。

6. 薬液の調製

使用した薬剤のうち、フェニルブタゾン、オキシフェンブタゾン、メフェナム酸、フルフェナム酸、イブプロフェン、イブフェナック、ブコロームなどは水に難溶性なのでエタノールに溶解して用いた。反応液中におけるエタノール終濃度は1.25%までとしたが、通常この濃度では多形核白血球による *Candida* の食作用に悪影響はみられなかった。しかし常に、被検液と同濃度のエタノールを加えた系をコントロールとして用いることとした。

7. 食菌作用、食殺菌作用の測定

多形核白血球 (2×10^5 , コントロールは RPMI) 250 μl, RPMI (薬剤の効果をみるときは、ここに RPMI もしくは 4~5%エタノール-RPMI 混液中に溶かした薬剤検液) 250 μl を 2 ml のチューブに取り、37°Cで1時間ブレインキュベートした。*Candida* と血漿は 37°Cで30分間ブレインキュベートした。*Candida* (1×10^6) - 5%血漿混液 500 μl を多形核白血球のチューブに移し、37°Cで end-over-end 回転(30回転/分)しながら40分間インキュベートした。

(1) 食菌能の測定: マイクロタイターウエルに ³H-ウリジン 0.2 μCi, 上記反応液 200 μl を duplicate でとり、シールをして、37°C, 1時間標識した。セルハーベスターでガラスフィルター上に細胞を集め、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。白血球を加えた試料の放射能(食菌されずに白血球の外にいる *Candida* の数に対応する)と、白血球を加えていないコントロールの放射能(*Candida* の全数に対応する)とから食菌された *Candida* 数を算出した。食菌能(phagocytic index)は、白血球1個当たりが取り込

んだ *Candida* の数で示した。薬剤の影響は、薬剤を入れない白血球の系における食菌能に対する阻害率で表した。

(2) 食殺菌(細胞内殺菌)能の測定: ウエルに ³H-ウリジン 0.2 μCi とデオキシコール酸、デオキシリボヌクレアーゼ各 20 μl をとり、上記反応液 200 μl を加え、シールして、37°C, 1時間標識した。実験は duplicate で行った。以降は食菌能と同様にして放射能を測定した。デオキシコール酸で白血球が破壊されるため、食菌されなかった *Candida* と食菌されても殺されていない *Candida* の数の和に対応する放射能が得られる。コントロールとして白血球を加えていない試料の放射能(これは *Candida* の全菌数に対応)をととり、これらの放射能から殺された *Candida* の数を算出した。食殺菌能(killing index)は、白血球1個当たりの殺菌数で示した。薬剤の影響は、薬剤を入れない白血球の系における食殺菌能に対する阻害率で表した。

実験結果

1. 多形核白血球の食作用機能の測定法について

多形核白血球機能の最も基本的なものは、食作用と食殺菌作用である。これらの機能を測定するには、顕微鏡下での観察、コロニー形成細胞数の測定、代謝物の測定等の方法がとられてきた。しかし、これらの方法には、多大の時間と労力を必要とする、細胞内と細胞外の微生物の分離操作を必要とする。などの欠点があった。

一方、多形核白血球の食作用機能に関する生化学的指標の一つとして O_2^- 産生能を測定する方法もある。これは比較的簡単な測定法として有用ではあるが、この方法では当然食作用能そのものは測定できない。また O_2^- 産生能は白血球のトータルな食殺菌能を直接反映するものでもない。白血球の殺菌機構には、酸素に依存する殺菌系と、依存しない殺菌系が存在し、前者の系において O_2^- の産生は重要な前提ではあるが、むしろ実際の殺菌能に関しては OH^\cdot , H_2O_2 , 一重項酸素がより重要であり、とくに H_2O_2 を基質とするアズール顆粒内酵素ミエロペルオキシダーゼを中心とした殺菌系の寄与が極めて大きいとされている⁶⁾。酸素に依存せず、 O_2^- の産生とは無関係な殺菌系の要素も、食菌後の食胞内の低 pH や有機酸、細胞内顆粒より食胞内に放出されるリゾチーム、多数の分解酵素類や抗菌性の蛋白質類(ラクトフェリン、塩基性の蛋白質)など数多く知られており、これらがさまざまな形で白血球の食殺菌能に寄与していると考えられている。したがって、多形核白血球のより本来の機能、あ

Table 3. Effects of anti-inflammatory drugs on intracellular killing of *Candida albicans* by human polymorphonuclear leukocytes

	Inhibition(%)										
	10 μM	20 μM	50 μM	0.1 mM	0.2 mM	0.25 mM	0.4 mM	0.5 mM	1.0 mM	1.25 mM	2.0 mM
Phenylbutazone				33	34		58		100		
Oxyphenbutazone	38	98		96	100				100		
Ketophenylbutazone					0						
Sulphinpyrazone					17				13		
Mefenamic acid							13			31	
Flufenamic acid	0	15	38	46	94	97				100	
Ibuprofen					0			7	10	61	100
Ibufenac										50	
Azapropazone						0					
Bucolone					28			47		56	
Benzydamine HCl			22	44	93				100		
Imipramine			0	61	87				100	100	
Hydrocortisone					1				13		20
Betamethasone										17	

ピラゾリジン誘導体のうちフェニルブタゾン、オキシフェンブタゾンは濃度依存的に阻害作用を示した。フェニルブタゾンは、0.4 mM で約60%の阻害、1 mM では80%以上の阻害作用を示した。オキシフェンブタゾンは10 μM で約50%の阻害、0.2 mM で100%と極めて強い阻害作用を示した。一方、ケトフェニルブタゾンは1 mM でも全く影響せず、スルフィンピラゾンはその中間型で、1 mM でも阻害率は50%以下であった。酸性の非ステロイド系抗炎症剤のうち顕著な阻害作用がみられたのはフルフェナム酸で、約50%阻害に要する濃度は0.1 mM 付近であった。メフェナム酸、イブプロフェン、イブフェナックは1 mM 付近でも阻害率が40%以下であった。塩基性の抗炎症剤であるベンジダミン、イミプラミンは0.1 mM で約30%、0.2 mM ではいずれも80%以上の阻害作用を示した。ステロイド剤の場合、1 mM 以上でも余り影響がみられなかった。

3. ヒト多形核白血球による *Candida albicans* の食殺菌作用に対する抗炎症剤の影響

Table 3 にヒト多形核白血球による *Candida* の食殺菌作用に対する各種薬剤の影響を検討した結果を示した。ピラゾリジン誘導体では、食菌作用の場合と同じくフェニルブタゾン、オキシフェンブタゾンに強い阻害作用が認められた。前者は0.4 mM で約60%、1 mM で100%の阻害を示し、後者は、10 μM で約40%、20 μM で90%以上の阻害を示した。その程度は食菌作用に対する影響とほぼ同程度であった。一方、

ケトフェニルブタゾン、スルフィンピラゾンには食菌作用の場合と同様、ほとんど阻害作用が認められないか、認めてもその程度は余り顕著なものではなかった。強い阻害作用を有するのは鎖錐にアルキル基を有するピラゾリジン誘導体である。その他の薬剤での傾向も食菌作用の場合とほぼ同じで、フルフェナム酸では0.1 mM で約50%、0.2 mM で90%以上の阻害作用が認められた。メフェナム酸、イブプロフェン、イブフェナックは1.25 mM で30~60%の阻害を示した。ベンジダミン、イミプラミンは、いずれも0.1 mM で約50%の阻害作用を示し、0.2 mM で約90%の阻害作用を示した。ステロイド剤は、1 mM 以上でも、その影響はわずかなものであった。

考 察

日和見感染との関連で臨床に繁用されているいくつかの抗炎症剤について、これらがヒト多形核白血球による *Candida albicans* の食菌作用、食殺菌作用に及ぼす影響を及ぼすかを検討した。フェニルブタゾン、オキシフェンブタゾン、フルフェナム酸、ベンジダミン、イミプラミンに顕著な食細胞機能障害作用が認められたが、このうち前二者の作用については特に注目する必要がある。Goth によれば、フェニルブタゾンの医薬品としての有効血中濃度は0.3 mM であるという⁴⁾。オキシフェンブタゾンはその主な代謝産物であり、それ自身も医薬品として繁用されている。フェニルブタゾンはその有効血中濃度付近で多形核白血球の食作用

機能を約50%程度阻害し、オキシフェンブタゾンはその1/10の濃度で約90%の阻害作用を示した。これが臨床上的ような意味を有するかはさらに多くの検討が必要であるが、少なくとも生体の免疫面からみた医薬品の安全性を考える上で留意すべき知見であると思われる。塩基性の抗炎症剤であるベンジダミン、イミプラミンについても50%阻害率が約0.1 mM付近で見られたが、これらの臨床投与量、血中濃度(数 μM)から考えて、通常の投与条件下では前二者ほど問題視する必要はないかも知れない。

ステロイド療法はしばしば重篤な日和見感染症をひき起こすことが報告されているが、ステロイド剤であるヒドロコルチゾン、ベタメタゾンが多形核白血球の食作用機能に対してはmMのオーダーでもほとんど障害的に作用しなかった。臨床投与量から考えても、これらによる日和見感染の原因が多形核白血球機能障害によるとは考えにくい。日和見感染は生体防禦機能の低下により誘発されるから、当然多形核白血球以外の免疫担当細胞機能障害も問題になる。先に我々は、ステロイド剤がヒトリンパ球のPHAによる幼若化反応に対して μM のオーダーで著しい障害作用を示すことを観察した⁵⁾。これは、ステロイド療法による重篤な感染症の誘発はリンパ球への影響と関係があると多くの知見と一致する。これに関して、フェニルブタゾンが0.4 mMで、オキシフェンブタゾンが40 μM でそれぞれPHAによるヒトTリンパ球の幼若化反応を90%以上阻害したことは注目する必要がある。特に後者の阻害作用はヒドロコルチゾンに匹敵する顕著なものである。フェニルブタゾン、オキシフェンブタゾンには*in vivo*で顆粒球(多形核白血球)減少作用も知られており、多形核白血球には数の面および機能の面から、リンパ球には機能の面からなど、生体防禦機能に対して二重三重に悪影響を及ぼしている可能性がある。

フェニルブタゾンなどの抗炎症剤による治療は原因

療法ではなく、消炎、解熱、鎮痛などに対する対症療法である。一方、炎症、発熱、痛みなどは感染等の成立を告げる生体側のサインである。こうした生体側のサインを除去する作用を有する医薬品の問題点の一つは、原因である感染症の進行を隠蔽してしまうことにある。フェニルブタゾンなどの使用上の一般的注意として感染症を不顕性化するおそれがあるので、感染による炎症に対して用いる場合には適切な抗菌剤を併用し、観察を十分行い慎重に投与することと記載されているのはそのような背景による。

しかし、感染によらない炎症に対して使用される場合にもかなりの危険性を考えて慎重な投与が望まれる。すなわち、感染によらない炎症(リウマチ、痛風、関節症など)を治療中に、感染が成立してもそのサインがマスクされるために感染の進行に気づかず重大な事態を招く可能性も考えられる。また、前述のようにフェニルブタゾン、オキシフェンブタゾンなどは臨床治療用量で感染防禦機能に対してはかなりの悪影響を及ぼし、感染機会の増大や弱病原性の常在菌の異常増殖を招く可能性があるため、危険信号の隠蔽作用とあわせ、日和見感染の原因の一つとして留意しておく必要があると思われる。

参 考 文 献

- 1) 奥平雅彦, 久米 光: 医学のあゆみ, **111**, 1029 (1979)
- 2) C. G. Bridges et al.: *Clin. Exp. Immunol.*, **42**, 226 (1980)
- 3) M. Yamamura et al.: *J. Immunol. Methods*, **13**, 227 (1976)
- 4) A. Goth: *Medical Pharmacology*, 8th ed. C. V. Mosby Co., St. Louis, Mo., p. 335 (1976)
- 5) 押沢 正ら: 衛生試験, **102**, 36 (1984)
- 6) S. J. Klebanoff et al.: *Phagocytosis*, ed. by Y. Kobayashi and N. Kobayashi, Univ. of Tokyo Press, Tokyo, p. 109 (1979)

高速液体クロマトグラフィーによる国際標準品原料のインシュリンの分析

太田美矢子・木村俊夫・山羽 力

Analysis of Material for International Standard Insulin by
High-Performance Liquid Chromatography

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Tsutomu YAMAHA

New International Standards for highly purified bovine, porcine and human insulins are being prepared to replace the current International Standard that consists of a mixture of relatively impure bovine and porcine insulins. We participated in the international collaborative study to establish the new standards and reported the results of bioassay, electrophoresis and high-performance liquid chromatographic (HPLC) analysis to WHO in 1984. By HPLC analysis, we identified coded ampoules sent from the National Institute for Biological Standards and Control, London and estimated their impurities. The numbers and total amount of related substances contained in the materials were 6.9% from 9 peaks (including 4.9% of monodesamido-insulin) in bovine insulin, 1.4% from 5 peaks (monodesamido-insulin 0.5%) in porcine insulin and 1.3% from 8 peaks (monodesamido-insulin 0.5%) in human insulin. Further, when assayed in terms of porcine insulin, bovine and human insulins showed 90.4% and 99.8%, respectively.

(Received May 31, 1985)

最近のインシュリン製剤の進歩はめざましく、製剤原料に用いられているウシインシュリンおよびブタインシュリンは高純度に精製したものが多くなっている。また、遺伝子組換え技術やブタインシュリンから部分合成された高純度のヒトインシュリンも実用化されつつある。

しかし、現在使用されている国際標準品¹⁾は30年前に作成されたもので、ウシおよびブタインシュリンの混合物であり不純物も多い。そのために、新国際標準品の制定が必要になり、高純度のウシインシュリン、ブタインシュリンおよびヒトインシュリンの3種類のインシュリン標準品が作成される予定である。これらのインシュリン標準品を作成するために、WHOは各国に共同研究を依頼し、当国立衛生試験所でもそれに参加し、力価の検定、電気泳動、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法などを行った。本報では HPLC 法による不純物の分離および定量について報告する。

実験の部

1. 試料

インシュリン国際標準品 (現行のもの、第4回)、原料A (Preparation A, ウシインシュリンと推定)、原料B (Preparation B, ブタインシュリンと推定)、原料C (Preparation C, ヒトインシュリンと推定) は WHO より送付された。ウシインシュリン、ブタイン

シュリン、ウシプロインシュリンおよびブタプロインシュリンはノボ社より購入した。ヒトインシュリン、ヒトモノデスアミドインシュリンおよびヒトブタインシュリンはリリー社から寄贈された。ウシモノデスアミドインシュリンおよびブタモノデスアミドインシュリンは各々のインシュリンを 0.01 N 塩酸溶液中、37°C、4週間保存した後、凍結乾燥した。

2. 試薬および溶媒

アセトニトリルは半井化学薬品株式会社製の高速液体クロマトグラフ用溶媒を用い、他の試薬は試薬特級品を用いた。

内部標準溶液—パラオキシ安息香酸メチル 10 mg を 0.001 N 塩酸溶液に溶かして 100 ml とした (0.1 mg/ml)。

試料溶液—原料A, BおよびC 10 mg を 0.001 N 塩酸溶液に溶かして 50 ml とした (0.2 mg/ml)。

溶媒A—アセトニトリルと 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH3.0) (27:73) の混液に 0.1 M の硫酸ナトリウムを加えた。

溶媒B—アセトニトリルと 0.1 M リン酸塩緩衝液 (pH 3.0) (30:70) の混液に 0.1 M の硫酸ナトリウムを加えた。

3. 装置および HPLC の条件

HPLC の装置は日立プロセッサ— 655-60 (データ処理装置) 付き日立高速液体クロマトグラフ 655 形を

用いた。カラムはリクロソルブ RP-18 (メルク社, 5 μm , 250 mm \times 4 mm i.d.), カラム温度は 40°C, 流量は 0.8 ml/min で溶出した。検出器は日立波長可変 UV モニター 638-41 を用い, 波長は 210 nm, 感度は 0.08 O.D. (純度試験用) および 0.16 O.D. (定量用) とした。移動相は, 純度試験のためには最初から 20 分後までは溶媒 A のみで溶出し, 20 分から 50 分後までは溶媒 A から溶媒 B への直線濃度勾配法を行い, その後溶媒 B のみで 55 分後まで溶出した。定量のときは溶媒 A のみで溶出した。

4. 純度試験

インシュリン 1 mg を 0.001 N 塩酸 1 ml に溶かし, その 10 μl を HPLC に注入した。各ピークの含量は, 全ピークのピーク面積の総和を 100% として算出した。

5. 定量

試料溶液 4 ml と内部標準溶液 1 ml を混合し, その 10 μl を HPLC に注入した。定量は, 内部標準に対するインシュリンのピーク面積比を計算し, 比較的不純物の少ない原料 B を標準 (100%) として行った。インシュリン国際標準品はあまりに不純物が多すぎて, HPLC 法で定量するときの標準にすることはできなかった。

結果と考察

WHO より送付された原料 A, B および C は, 標品の保持時間が一致することから, それぞれウシインシュリン, ブタインシュリンおよびヒトインシュリンと推定された。

1. HPLC の条件について

リクロソルブ RP-18 を用いた移動相の変化に対するインシュリンの挙動については, 著者らの報告^{2,3)}に類似し, アセトニトリルや硫酸ナトリウムの濃度の増加はインシュリンの保持時間を短くし, 温度の上昇は保持時間を長くした。溶媒 A のみで溶出する場合には, ヒトプロインシュリンおよびブタプロインシュリンが 50.5 分および 97.5 分と保持時間が非常に長くなることから, 純度試験では直線濃度勾配法を用いた。ウシ, ブタおよびヒトインシュリンとそれらのモノデアミドインシュリンを溶媒 A のみで溶出したものを Fig. 1. に, ウシ, ブタおよびヒトインシュリンとそれらのプロインシュリンを溶媒 A から B への直線濃度勾配法で溶出したものを Fig. 2. に示した。Fig. 1. および 2. の条件では, ブタモノデアミドインシュリンとウシプロインシュリンは分離しなかったが, 原料 A, B および C が混合物でないのでこの分離は必要と

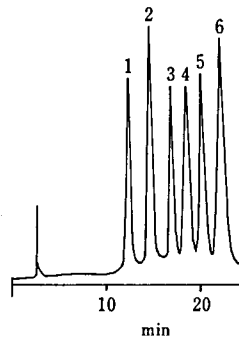


Fig. 1. Chromatogram of Bovine, Human and Porcine Insulins and their Monodesamido-insulins

Compounds: (1) bovine insulin, (2) bovine monodesamido-insulin, (3) human insulin, (4) porcine insulin, (5) human monodesamido-insulin, (6) porcine monodesamido-insulin

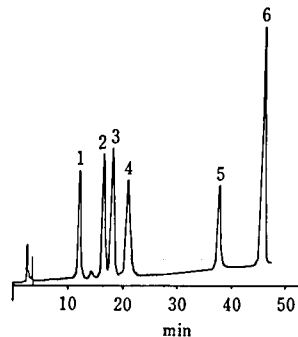


Fig. 2. Chromatogram of Bovine, Human and Porcine Insulins and their Proinsulins

Compounds: (1) bovine insulin, (2) human insulin, (3) porcine insulin, (4) bovine proinsulin, (5) human proinsulin, (6) porcine proinsulin

しない (ヒトモノデアミドインシュリンとウシプロインシュリンは分離した)。

2. インシュリンの国際標準品

現在の国際標準品はウシとブタインシュリンの混合物として, 1958年に作成された。生物検定の力価を統一することを目的として制定された標準品のため, 十分に精製されたものではなかった。そのため, HPLC で溶出すると Fig. 3. に示すように多くの不純物を含んでいた。図中に示した 5 個のピークは, インシュリン由来の化合物ですが, 多数の他の小ピークにつきまちは, 臓器由来の物質の可能性もあり明確でない。全ピークの面積の総和を 100% として各ピーク的面積百分率を計算すると, ウシインシュリン (ピーク 1)

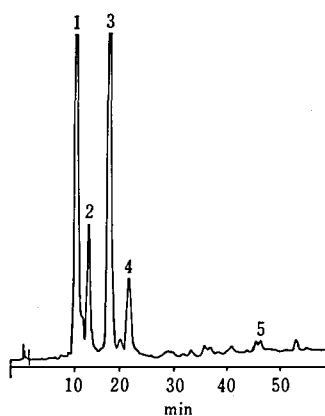


Fig. 3. Chromatogram of International Standard for Insulin

Compounds: (1) bovine insulin, (2) bovine monodesamido-insulin, (3) porcine insulin, (4) porcine monodesamido-insulin and bovine proinsulin, (5) porcine proinsulin

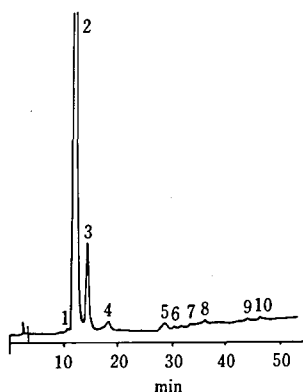


Fig. 4. Chromatogram of Preparation A

Compounds: (2) bovine insulin, (3) bovine monodesamido-insulin

は45%, そのモノデサアミドインシュリン(ピーク2)は8%, プタインシュリン(ピーク3)は36%, そのモノデサアミドインシュリンとウシプロインシュリン(ピーク4)の混合物は6%, プタプロインシュリン(ピーク5)は0.5%で, 他の多数のピークの合計は4.5%であった。ウシおよびプタインシュリンに対するHPLCの検出感度が等しいと仮定するとき, ウシ/プタの混合比は1.25であった。この国際標準品はウシ/プタの混合比は約1.08であるといわれている¹⁾ので, その差はHPLCにより検出されるデサアミド体およびその他の類縁物質に由来する。

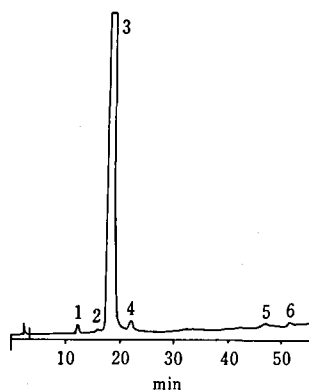


Fig. 5. Chromatogram of Preparation B

Compounds: (3) porcine insulin, (4) porcine monodesamido-insulin, (5) porcine proinsulin

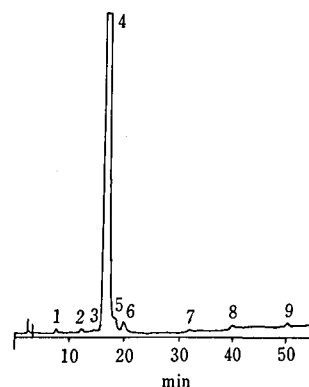


Fig. 6. Chromatogram of Preparation C

Compounds: (4) human insulin, (6) human monodesamido-insulin

3. 純度試験

原料A, BおよびCをそれぞれ10 μ lずつ注入したときのクロマトグラムをFig. 4, 5および6に示し, 各ピークの含量を算出した結果をTable 1に示す(原料A, BおよびCの水分含量は, おのおの6.3%, 6.1%および6.2%であった)。原料Bは不純物数は5個で, いずれも微小で主成分のプタインシュリンが98.6%であった。原料Cも不純物数は8個でいずれも微小でヒトインシュリンが98.7%であった。しかし, 原料Aは不純物数は9個だが, モノデサアミドインシュリンが4.9%も混入し, 主成分のウシインシュリンも93.1%と非常に低かった。しかし, モノデサアミドインシュリンの生物活性はインシュリンとほぼ等しいといわれているので, 生物学的力価のみを問題にする時は, あまり大きな問題ではない。

4. 定量

インシュリン国際標準品は, 生物検定の標準品とし

Table 1. Content of Insulin and the Impurities in Preparation A, B and C by HPLC

Peak No.	Preparation A	Preparation B	Preparation C
1	0.2%	0.3%	0.1%
2	93.1	0.1	0.1
3	4.9	98.6	0.1
4	0.7	0.5	98.7
5	0.6	0.3	0.1
6	0.1	0.2	0.5
7	0.1	—	0.1
8	0.1	—	0.1
9	0.1	—	0.1
10	0.1	—	—

て使用できるけれども、Fig. 3. からもわかるように、HPLC の標準品としては不適當である。そこで、比較的純物の少ない原料Bを標準(100%)として、原料AおよびCを定量することにした。前記^{3,4)}のインシュリンの定量の中で、ウシおよびブタインシュリンの検量線は、それぞれ0~20.5 IU/ml (0~0.76 mg/ml) および0~24 IU/ml (0~0.88 mg/ml) で直線性が成立したが、このとき内部標準とのピーク面積比の検量線をみたところ、両者の検量線がよく一致した。このことから、標準品と試料のピーク位置が異なっているにもかかわらず、モル吸光係数が同じであれば内部標準とのピーク面積比を用いれば、異種インシュリンを標準として用いても定量出来ることが明らかになった。内部標準のパラオキシ安息香酸メチルとウシ、ブタおよびヒトインシュリンを定量条件で溶出したときのクロマトグラムをFig. 7. に示す。原料Bのブタインシュリンを100% (n=4, 変動係数0.94%) としたとき、原料Aはウシインシュリンが90.4% (n=4, 変動係数1.18%), 原料Cはヒトインシュリンが99.8% (n=4, 変動係数0.76%) であった。

結 論

WHO の新規インシュリン国際標準品について、HPLC を用いて主に不純物の推定および標準品相互の定量について検討した。原料A, BおよびCはそれ

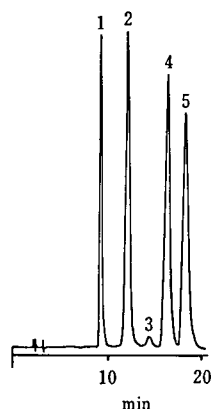


Fig. 7. Chromatogram of Methyl *p*-Hydroxy Benzoate and Various Insulins

Compounds: (1) methyl *p*-hydroxy benzoate, (2) bovine insulin, (3) bovine monodesamido-insulin, (4) human insulin, (5) porcine insulin
Sample size: Preparation A; 1.68 μ g, Preparation B; 1.64 μ g, Preparation C; 1.70 μ g.

ぞれウシインシュリン、ブタインシュリンおよびヒトインシュリンでした。面積百分率法による純度試験では、原料Aはウシインシュリン93.1%, 原料Bは98.6%および原料Cは98.7%を示した。また原料Bを標準として定量するとき、原料Aは90.4%, 原料Cは99.8%であった。この中で原料Bと原料CはHPLCの標準品として十分な品質をもっていたが、原料Aは生物検定用としては十分としても、HPLC法等の機器分析等の使用にたえる品質ではなかった。

終りに、心よく試料をご提供下さったリリー社に感謝致します。

文 献

- 1) D. R. Bangham, M. V. Mussett: *Bull. Wld. Hlth. Org.*, **20**, 1209 (1959)
- 2) M. Ohta, H. Tokunaga, T. Kimura, H. Satoh, J. Kawamura: *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3566 (1983)
- 3) 太田美矢子, 徳永裕司, 木村俊夫, 佐藤 浩, 山羽 力: *衛生試験*, **102**, 33 (1984)
- 4) M. Ohta, H. Tokunaga, T. Kimura, H. Satoh, J. Kawamura: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4641 (1984)

エタノールの妊娠期投与によるラット胎仔の発育に及ぼす影響

川島邦夫, 田中 悟, 中浦楨介, 高仲 正, 大森義仁

Effect of Ethanol on Prenatal Developments of Rats

Kunio KAWASHIMA, Satoru TANAKA, Shinsuke NAKAURA, Akira TAKANAKA
and Yoshihito OMORI

Ethanol was given to pregnant rats by oral intubation during days 7 to 17 of gestation at dose levels of 0, 2.7, 4 and 6 g/kg, and its teratogenic effect was examined in the fetuses.

Significant suppressions in maternal food consumption were observed in all ethanol-treated groups and in maternal body weight gain in the 6 g/kg group. Moreover, a significant decrease in fetal body weight was observed in the 6 g/kg group. There was no evidence of an increase in fetal death or of gross malformation attributable to the treatment with ethanol in any of the ethanol-treated groups examined. However, high incidences of skeletal malformation and internal organ anomalies were observed in ethanol-treated groups. Skeletal malformations included lordosis, kyphosis, scoliosis and scoliorlordosis, and internal organ anomalies included dilatation of the renal pelvis.

It was concluded that ethanol has a teratogenic effect in the rat.

(Received May 31, 1985)

我々は医薬品を始め、諸種化学物質の安全性に関する研究の一環として、妊娠中に投与した化学物質の胎仔発育に及ぼす影響を催奇形性を中心に検索している。今回は妊娠中に飲酒の経験がある婦人から生まれた子供に形態異常(奇形)、および精神異常が発現することで問題になっているエタノールの催奇形性をラットを用いて調べた。

Lemoini ら¹⁾は1968年にアルコール中毒の婦人から特徴のある顔立ち、発育不全、精神異常など共通した障害をもつ子供が生まれたことを報告している。しかし、この障害は Jones ら²⁾が Fetal alcohol syndrome (胎児性アルコール症候群; FAS) と名付けるまでは十分に認識されていなかった。Jones ら²⁾によりアルコール中毒母体と形態発生異常、発育遅延および精神薄弱の合併症との関連が示唆されて以来、出生前と出生後の成長抑制、重篤および軽微な奇形の発生、遅鈍などを特徴とした FAS について多くの臨床報告がなされている³⁻⁵⁾。FAS の発現については種々の実験動物を用いて器官形成期投与⁶⁻¹¹⁾、あるいは胎芽の培養^{12,13)}を行って研究されているが、ラットを用いた実験で奇形(形態異常)が発現したという報告は少ない^{8,9)}。

実験方法

1. 実験動物

ウィスター系ラット(日本ラット, 12~13週齢)を

用い、妊娠ラットを得るために未経産雌を雄と終夜同居させた。翌朝陰垢中に精子が認められた雌ラットを実験に供し、この日を妊娠0日として起算した。妊娠ラットはアルミ製ケージ(夏目製作所製)に1匹ずつ収容し、固形飼料(オリエンタル酵母, MF)および水道水を自由に摂取させた。動物飼育室は温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数 15/hr、明暗交代12時間(明 6:00~18:00)とした。

2. 薬物および投与方法

日本薬局方エタノール(今津薬品工業, Lot. No. 840203)を用い、蒸留水で 30 W/V% 液を調製し、0, 2.7, 4 および 6 g/kg 用量を各群 18~20匹の妊娠ラットに胎仔の器官形成期を含む妊娠7~17日の毎日1回胃ゾンテを用いて経口投与した。

3. 胎仔試験

妊娠ラットは毎日一般状態を観察し、体重および摂餌量を測定した。妊娠20日目にエーテル麻酔下で開腹して子宮を摘出し、黄体数、着床数および胎仔死亡を調べた。生存胎仔については肉眼触手による外表異常の検索を行い、体重を測定した。各母体について生存胎仔数の約1/3はブアン液で2週間固定した後、ウィルソンの方法¹⁴⁾にしたがって内部器官の検索を行った。残り約2/3の胎仔は90%エタノール液で固定後、アリザリン赤染色骨格標本作製して骨格系の異常を拡大鏡下で調べた。

4. 統計処理

実験成績は母体を評価の単位として、 χ^2 検定 (母ラットの死亡率), t 検定 (母ラットの体重, 摂餌量, 黄体数, 着床数, 胎子数, 胎子体重) および順位検定 (胎子の死亡率, 形態異常発生頻度, 骨化数) を用い, $P < 0.05$ および $P < 0.01$ の水準で対照群と比較した. なお, t 検定では等分散の場合には Student の方法を, 不等分散の場合には Aspin-Welch の方法を用いた.

実験成績

I 妊娠母体に及ぼす影響

1) 一般症状

2.7 g/kg 群では一般症状に変化は認められなかったが, 4 および 6 g/kg 群で四肢脱力, 鎮静状態が 3 ~ 6 時間観察された.

2) 摂餌量

妊娠期間中における各群母ラットの平均摂餌量の推移を Fig. 1 に示した. 各エタノール投与群とも全投与期間をとおして摂餌量の減少がみられ, その程度は用量の増加にともない著明であった. これら投与群にみられた摂餌量の低下は, 投与終了後も対照群の水準まで回復しなかったが, 死亡例は認められなかった.

3) 体重

妊娠期間中における各群母ラットの平均体重の推移を Fig. 2 に示した. エタノール 2.7 および 4 g/kg 群では投与開始 9 日後 (妊娠 15 日目) から体重の増加抑制が認められたが, 有意な変化ではなかった. 6 g/kg 群では投与開始 2 日後 (妊娠 8 日目) から体重の増加抑制が観察され, 投与終了後も対照群の水準まで回復せず妊娠 13 ~ 20 日の体重は有意に低かった.

4) 黄体数, 着床数および着床率

黄体数, 着床数および着床率において対照群とエタノール投与群との間に有意な変化は認められなかった (Table 1).

II 胎子に及ぼす影響

1) 生存仔数, 性比, 体重および死亡率

Table 2 に示したように平均胎子数および性比とも対照群とエタノール投与群との間に有意差は認められなかった. 体重 2.7 はおよび 4 g/kg 群では対照群との間に有意差は無かったが, 6 g/kg 群では雌雄とも有意に低い値を示した. 胎子死亡率はいずれのエタノール投与群とも対照群に比べ高い値を示したが, 有意差は認められなかった.

2) 外表検査成績

肩部あるいは背部の中央に血腫をもつ胎子が各エタノール投与群に 6 (2.0%) ~ 10 例 (6.1%) 観察され

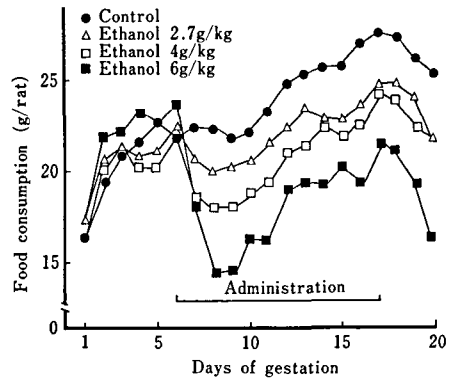


Fig. 1. Effect of oral administration of ethanol on food consumption of pregnant rats.

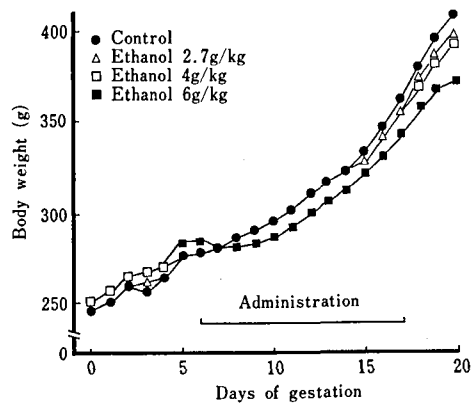


Fig. 2. Effect of oral administration of ethanol on body weight of pregnant rats.

た (Table 2). しかし, いずれのエタノール投与群の発生率も対照群との間に有意差は認められなかった.

3) 骨格検査成績

骨格検査成績を Table 3 にまとめて示した.

a) 骨格奇形

骨格奇形を有する胎子が 2.7 g/kg 群に 4 例 (2.2%), 4 g/kg 群に 8 例 (4.1%) および 6 g/kg 群に 7 例 (3.8%) それぞれ観察されたが, 発生率には有意差は認められなかった. 観察された骨格奇形の種類とその発生率は以下の通りである. 軽度の脊柱前弯症が 2.7 g/kg 群に 3 例 (1.6%), 4 および 6 g/kg 群にそれぞれ 5 例 (2.5%, 2.6%) 観察された. 脊柱後弯症が 6 g/kg 群に 1 例 (0.6%), 脊柱側弯症が 4 g/kg 群に 3 例 (1.6%), および脊柱前側弯症が 2.7 および 6 g/kg 群にそれぞれ 1 例 (0.6%) 観察された. これらの奇形の発生率には有意差は認められなかった.

b) 骨格変異

骨格変異を有する胎子が対照群に 117 例 (72.3%),

Table 1. Effect of oral administration of ethanol on pregnant rats

Dose (g/kg)	0	2.7	4	6
No. of dams	18	19	20	19
No. of dead dams Mortality (%)	0 0	0 0	0 0	0 0
No. of dams with live fetuses	18	19	20	19
No. of corpora lutea (mean±S.D.)	261 (14.5±1.8)	263 (13.8±1.5)	284 (14.2±2.4)	263 (13.8±1.5)
No. of implants (mean±S.D.)	236 (13.1±2.0)	244 (12.8±1.7)	247 (12.3±2.8)	235 (12.3±2.9)
Implantation ratio (%)	90.6	92.9	86.6	89.4

Table 2. Effect of oral administration of ethanol to pregnant rats on fetal development

Dose (g/kg)	0	2.7	4	6
No. of dams	18	19	20	19
No. of implants	236	244	247	235
No. of live fetuses (mean±S.D.)	235 (13.0±2.0)	240 (12.6±1.6)	240 (12.0±2.9)	233 (12.2±2.9)
Sex ratio(male/female)	118/117	122/118	116/124	106/127
Body weight(g)				
male(mean±S.D.)	3.6±0.3	3.4±0.3	3.5±0.2	3.1±0.4**
female(mean±S.D.)	3.3±0.3	3.2±0.2	3.3±0.3	2.9±0.3**
No. of dead implants	1	4	7	2
Early death	1	4	7	2
Late death	0	0	0	0
Mortality(%)	0.46	1.54	2.87	0.84
No. of fetuses with hematoma	0	6 (2.0) ^a	6 (2.0) ^a	10 (6.1) ^a

^a : Occurrence rate(%) in parentheses is the average of the incidence in each litter.

* : P<0.05, ** : P<0.01

2.7 g/kg 群に145例(88.4%), 4 g/kg 群に153例(94.0%) および 6 g/kg 群に154例(96.7%) 観察された。対照群に比べて, 2.7 g/kg 群の発生率には有意な差は認められなかったが, 4 および 6 g/kg 群の発生率は対照群より有意に高かった。観察された骨格変異の種類とその発生率は以下の通りである。頸肋が対照群を含む各群に5.2~31.9% 観察され, 6 g/kg 群の発生率は対照群に比べ有意に高かった。頸椎弓の分離が4 g/kg 群に2.0%, 6 g/kg 群に1.3%, 胸椎体の異常(変形, 分離)が対照群を含む各群に6.0~13.0% 観察されたが, 発生率には有意差は認められなかった。また胸骨核の異常(変形, 分離, 欠損)が対照群を含

む各群に45.5~92.6% 観察され, 4 および 6 g/kg 群の発生率は対照群に比べ有意に高かった。腰肋(痕跡状を含む)が対照群を含む各群に37.8~47.5% 観察されたが, 発生率には有意差は認められなかった。

c) 骨化状態

骨化状態については中手骨, 中足骨および仙・尾椎骨の骨数を調べて判定したが, いずれの骨数においても対照群との間に有意差は認められなかった。

4) 内部器官検査成績

胎仔の内部器官の検査成績を Table 4 に示した。腎盂の拡張が対照群を含む各群に6.9~24.2% 観察され, 4 および 6 g/kg 群の発生率は対照群に比べ有意

Table 3. Effect of oral administration of ethanol to pregnant rat on skeletal development of the fetuses

Dose (g/kg)	0	2.7	4	6
Number of dams examined	18	19	20	19
Number of fetuses examined	162	164	163	159
Number of fetuses with malformations	0	4 (2.2)	8 (4.1)	7 (3.8)
Lordosis	0	3 (1.6)	5 (2.5)	5 (2.6)
Kyphosis	0	0	0	1 (0.6)
Scoliosis	0	0	3 (1.6)	0
Scoliolordosis	0	1 (0.6)	0	1 (0.6)
Number of fetuses with variations	117 (72.3)	145 (88.4)	153 (94.0) **	154 (96.7) **
Cervical ribs	9 (5.2)	25 (15.1)	19 (12.7)	50 (31.9) *
Varied cervical arches	0	0	3 (2.0)	2 (1.3)
Varied thoracic centra	10 (6.0)	15 (9.0)	22 (13.0)	21 (12.1)
Varied sternbrae	75 (45.5)	106 (64.1)	129 (79.6) **	140 (92.6) **
Lumbar ribs	67 (41.2)	64 (38.4)	82 (69.9)	89 (55.9)
rudimentary	66 (40.5)	63 (37.8)	77 (66.8)	76 (47.5)
extra	1 (0.7)	1 (0.6)	5 (3.1)	13 (8.4)
Ossification state (average number)				
Metacarpi	7.0	6.8	6.4	6.3
Metatarsi	8.0	8.0	8.0	8.0
Sacro-caudal vertebrae	7.5	7.1	7.1	6.8

Occurrence rate(%) in parentheses is the average of the incidence in each litter.

* : P<0.05, ** : P<0.01

Table 4. Effect of oral administration of ethanol to pregnant rat on internal organ development of the fetuses

Dose (g/kg)	0	2.7	4	6
Number of dams examined	18	19	20	19
Number of fetuses examined	73	76	77	74
Dilatation of the renal pelvis	4 (6.9)	11 (16.7)	18 (21.2) *	19 (24.2) *

Occurrence rate(%) in parentheses is the average of the incidence in each litter.

* : P<0.05

に高かった。

考 察

妊娠ラットにエタノールを経口投与した場合、2.7 g/kg 以上の用量で摂餌量の有意な減少が認められ、6 g/kg 用量では体重増加の有意な抑制が認められた。これらは食物摂取に対するエタノールの抑制作用および同化の減弱などを反映した結果と考えられる¹⁵⁾。

胎仔に対する影響として 6 g/kg 用量では胎仔体重の有意な低下が認められた。Dreosti ら¹⁶⁾は妊娠16日目の母ラットに 5 g/kg のエタノールを ³H-チミジン投与の1時間前に1回、あるいは7時間前と1時間前

にそれぞれ1回投与した場合、胎仔 DNA への ³H-チミジンの取り込みが低下することを認め、2回前投与が1回前投与より作用が顕著なことを報告している。また、ラット胎仔の培養実験においてもエタノール添加 (33 mM) により胎仔の総 DNA 量および蛋白量の減少が報告されている¹³⁾。これらの報告から、本実験で認められた胎仔体重の有意な低下はエタノールの胎仔への直接作用によって胎仔の蛋白合成が抑制されたためではないかと考えられる。しかし、先に述べた母体に対する食物摂取の抑制、同化の減弱などによる二次的な発育抑制も否定できない。

胎仔死亡率の増加が各エタノール投与群に認められ

たが発生率は低いものであった。Kennedyら⁷⁾はエタノール 2 ml (30 V/V%) を妊娠 9 日から 12 日まで Sprague-Dawley ラットに腹腔内投与した場合でも、胎仔死亡は増加しなかったと今回の結果と一致した成績を報告している。しかし、エタノール 4 ml/kg を Long-Evans ラットへ妊娠 6 日から 15 日まで経口投与、あるいはエタノール 2 g/kg を Wistar ラットへ妊娠 6 日および 7 日に静脈内投与すると、胎仔死亡が有意に増加することが報告されている^{8,12)}。

外表異常として血腫が各エタノール投与群に 2~6% 観察されたが有意差はなかった。また、人の FAS でも血腫の発現は認められておらず²⁾、この血腫はエタノール投与に起因したものとは考え難い。本実験ではその他外表異常の発現は認められなかった。また、Sandorら¹²⁾はエタノール 2 g/kg を Wistar ラットへ妊娠 6 日および 7 日に静脈内投与した場合、外表奇形の発現は認めていない。しかし、Mankesら⁸⁾はエタノール 4 ml/kg を Long-Evans ラットへ妊娠 6 日から 15 日まで経口投与した場合、小脳症、眼瞼開存、小眼球症が発現することを報告している。これらの外表奇形の発現に関する成績の差異は、用いたラットの感受性などによるものと考えられる。

骨格奇形として脊柱前弯症、脊柱後弯症、脊柱側弯症および脊柱前側弯症が観察された。これら骨格奇形は、発生率に有意差は認められなかったが、本実験の対照群および当研究室の背景データでは認められていないものであったことから、エタノール投与による影響が考えられる。

骨格変異を有する胎仔の発生率が 4 および 6 g/kg 用量で有意に増加した。Mankesら⁹⁾および Schwetzら¹⁰⁾はエタノールを Long-Evans ラットに強制経口投与あるいは飲料水に混じて Sprague-Dawley ラットに与えた場合、骨格変異を有する胎仔の発生率が増加することを認めており、エタノールはラット胎仔に対して骨格変異の頻度を増加させることが確認された。

内部器官の異常として腎盂の拡張を有する胎仔の発生率が 4 および 6 g/kg 群で有意に増加し、エタノール投与の影響が認められた。また、Mankesら^{8,9)}はエタノール 4 ml/kg を Long-Evans ラットへ妊娠 6 日から 15 日まで経口投与し、胎仔の水腎症および骨盤腎の発現を報告している。

ま と め

エタノールの 2.7, 4 および 6 g/kg をラットに胎

仔の器官形成期を含む妊娠 7 日から 17 日まで毎日 1 回強制経口投与し、妊娠母体および胎仔に及ぼす影響を催奇形性を中心に検索した。

1) 妊娠母体について、摂餌量の低下および体重増加の抑制が各エタノール投与群にそれぞれ認められたが、死亡例は認められなかった。

2) 妊娠 20 日目の胎仔について、いずれのエタノール投与群とも平均胎仔数、性比および胎仔死亡率に有意な変化は認められなかった。6 g/kg 用量では胎仔体重の有意な低下が認められた。外表奇形の発現は認められなかったが、骨格変異の発生率の増加、脊柱前弯症、脊柱後弯症、脊椎側弯症および脊柱前側弯症などの骨格奇形が観察され、内部器官の異常として腎盂の拡張が認められた。

以上、ヒトにおける FAS の特徴である出生前と出生後の成長抑制、重篤および軽微な奇形の発生、遅鈍のうち、本実験では出生前の成長抑制（胎仔体重の低下）、軽微な奇形の発生率の上昇（骨格奇形、腎盂の拡張、骨格変異の発現率の増加）が認められ、エタノールのラットに対する催奇形性が明らかとなった。

文 献

- 1) S. Lemoine et al.: *Ouest Med.*, **25**, 477 (1968)
- 2) K. L. Jones, D. W. Smith: *Lancet*, **2**, 999 (1973)
- 3) C. N. Steeg, C. Woolf: *Am. Heart. J.*, **98**, 635 (1979)
- 4) J. Herrmann et al.: *Eur. J. Pediatr.*, **133**, 221 (1980)
- 5) J. C. Martin, D. W. Smith: *Science*, **209**, 353 (1980)
- 6) W. S. Webster et al.: *Teratology*, **27**, 231 (1983)
- 7) L. A. Kennedy, T. V. N. Persaud: *Advances in the study of birth defects* Vol. 2. Teratological testing. edited by T. V. N. Persaud, p. 223 (1979)
- 8) R. F. Mankes et al.: *J. Toxicol. Environ. Health*, **10**, 267 (1982)
- 9) R. F. Mankes et al.: *J. Toxicol. Environ. Health*, **11**, 583 (1983)
- 10) B. A. Schwetz et al.: *Teratology*, **18**, 385 (1978)
- 11) P. M. Blakley, W. J. Scott: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **72**, 364 (1984)
- 12) S. Sandor, D. Amels: *Rev. Roum. Embryol.*, **8**, 105 (1971)
- 13) N. A. Brown et al.: *Science*, **206**, 573 (1979)
- 14) J. G. Wilson: *Teratology—Principles and Techniques*, edited by J. G. Wilson and J. Warkany, p. 262–277, The University of Chicago Press, Chicago and London, 1965.
- 15) E. L. Abel, B. A. Dintcheff: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **207**, 916 (1978)
- 16) I. E. Dreosti et al.: *Alcoholism*, **5**, 357 (1981)

臭素酸カリウム投与によるラット腎尿細管上皮に見られた Eosinophilic body について

小野寺博志・谷川廣行・松島裕子・前川昭彦・黒川雄二・林 裕造

Eosinophilic Bodies in the Proximal Renal Tubules of Rats given Potassium Bromate

Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA, Yuko MATSUSHIMA, Akihiko MAEKAWA,
Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI

Male F344 rats were given 600 ppm solution of potassium bromate, which is known as a renal carcinogen, for 12 weeks as their drinking water. The rats were sacrificed at weeks 4, 8 and 12, and also after a recovery for period of 4 weeks at week 16 for histological and electron-microscopical examination and biochemical analysis of serum and urine. Various-sized droplets stained strongly by eosin were found in the cytoplasm of the proximal renal tubules of rats 4 weeks after commencement of the treatment. These droplets were positive to Azan stain, negative to PAS stain and partly positive to hemoglobin and hemociderin stains. These droplets were also observed in control rats, though in a lesser degree. Electron-microscopically, the droplets showed high electron density surrounded by a layer of limiting membrane. The incidence of the droplets decreased to control levels 4 weeks after the termination of the treatment. From the morphological characteristics of the droplets observed in this study, it was concluded that they are so-called eosinophilic bodies rather than hyaline droplets. Also the mechanism for the occurrence of the droplets and its relationship with renal tumor development were discussed.

(Received May 31, 1985)

はじめに

臭素酸カリウム (臭カ) を飲料水として、500 ppm および 250 ppm の濃度でラットに2年間投与すると、腎細胞性腫瘍が高率に発生してくる事が知られている^{1,2)}。この実験において腫瘍性以外の腎病変として、近位尿細管上皮にエオジン好染、PAS 陰性で大小不同の滴状物が特に雄投与群において認められた。この滴状物は13週間投与の亜急性毒性試験でも対照群に比べ投与群に用量相関を持って認められた³⁾。

今回我々はこの病変の形態学的特徴、発生機序、生体に及ぼす影響、および腎腫瘍との関連性を検索する目的で短期間臭カを投与し、組織学的、電顕的、生化学的に検討したので報告する。

なお、この実験の一部は第42回日本癌学会総会で報告した⁴⁾。

実験材料および方法

1. 動物

4週齢の雄 F344 ラット (日本チャールスリパー, 厚木) を購入し、基本食 CRF-1 (オリエンタル酵母, 東京) を自由摂取させ、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$

の barrier-system 下の動物室で飼育した。

2. 検体

実験には先の臭カの癌原性試験¹⁾と同じ臭カ (松永化学工業, 広島) を使用した。臭カは蒸留水に 600 ppm の濃度に週 2 回調製し、飲料水として自由に摂取させた。この実験で用いた濃度は先の癌原性試験で用いた最高用量 (500 ppm) にはほぼ匹敵する濃度である。なお、対照群には蒸留水を同様の方法で投与した。

3. 実験スケジュール

動物は6週齢より臭カを投与し、投与開始後、経時的に 4, 8, 12週目および12週間の検体投与終了後 4 週間の休薬期間をおいた16週目に、各々投与群 5 匹、対照群 3 匹の動物を屠殺剖検した。

4. 剖検時観察および病理組織学的検索

剖検時に体重、腎重量を測定の後、肝・腎・心・肺・脾・副腎を10%中性ホルマリンに固定し、常法にしたがってパラフィンに包埋後、薄切、ヘマトキシリン-エオジン染色 (H-E) を行い病理組織学的に検索した。なお腎については H-E 染色の他 PAS, アザン, ヘモグロビン, リポフスチン染色を、脾についてはヘモジデリン染色を実施した。

Table 1. Body and kidney weights of F344 rats given potassium bromate

Weeks	Dose (ppm)	Number of animals	Body weight(g)	Kidney weight			
				absolute(g)		relative(mg%)	
				right	left	right	left
4	600	5	238.3 ^{**} ±7.6	0.8510 ±0.0294	0.8900 ±0.0283	357.17 [*] ±11.58	373.42 ^{**} ±1.41
	0	3	264.0 ±4.0	0.8610 ±0.0255	0.8700 ±0.0050	326.08 ±4.73	329.61 ±6.88
8	600	5	283.6 ±11.5	1.0604 ±0.0869	1.0238 ±0.0619	373.78 [*] ±24.15	360.99 ^{**} ±15.91
	0	3	289.3 ±13.6	0.9306 ±0.0609	0.9156 ±0.0627	321.47 ±5.84	316.27 ±8.16
12	600	5	302.0 ±34.5	1.0578 ±0.0636	1.0792 ±0.1025	351.91 [*] ±19.04	358.21 ^{**} ±18.76
	0	3	346.0 ±19.3	1.0720 ±0.0549	1.0900 ±0.0635	310.01 ±11.46	315.00 ±0.76
16 ^{***}	600	5	323.2 ^{**} ±12.5	0.9440 ±0.0795	0.9774 ±0.0663	292.07 ±21.46	302.33 ±14.95
	0	3	370.3 ±13.2	1.0403 ±0.0741	1.0573 ±0.0219	280.67 ±10.12	285.62 ±5.18

Data represent mean value ± SD.

* : Significantly different from control, $p < 0.05$.

** : Significantly different from control, $p < 0.01$.

*** : Four weeks after the termination of treatment

5. 電顕的検索

各剖検時に実験群および対照群各2匹ずつの腎について、2.5% グルタルアルデヒドで前固定、続いて1%オスミウム酸で後固定、脱水、エポキシ樹脂包埋を行い、クエン酸鉛-酢酸ウランニ重電子染色を施し日立 H-600 型電子顕微鏡を用いて検索した。

6. 尿の生化学的検査

投与開始後4, 8, 12週目および4週間休薬後の16週目に、実験群、対照群各5匹ずつを用い24時間絶食後一晩代謝ケージにて蓄尿し尿量、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、クロルを日立 105 型システム分析装置で測定した。

7. 血清の生化学的検査

全動物を解剖時に、エーテル麻酔下で腹部大動脈より採血し、その後 3000 rpm で10分間遠沈し血清を分離、日立 105 型システム分析装置を用い血清中のクレアチニン、尿素窒素、総蛋白、A/G 比、蛋白分画、ナトリウム、カリウム、カルシウム、クロルの各項目を対照群5匹、投与群3匹を用いて測定した。

結 果

1. 体重および腎重量

Table 1 に示すごとく、投与群では実験全期間を通じ、対照群に比べ体重の増加抑制傾向を示した。腎重

量については、全期間を通して絶対重量では投与群と対照群との間に有意差は認められなかったが、相対重量で投与群で有意の増加が認められた。腎相対重量の増加は投与期間が長くなっても増強あるいは軽減する傾向はみられなかったが、投与を中止することにより回復傾向を示し、4週間の休薬後は対照群との間に有意差はみられなかった。

2. 病理組織学的検索

検体投与群の腎近位尿細管上皮には H-E 染色でエオジンに好染する大小不同の滴状物が認められた。この滴状物はアザン染色では赤褐色に染色されたが、PAS 染色では陰性であった。またヘモグロビン染色では暗桃色、リポフスチン染色では赤褐色に染色されたが、これらヘモグロビンおよびリポフスチン染色ではすべての滴状物が陽性を示さず、一部には陰性のものみみられた。これら滴状物はわずかながら対照群でも認められた。Table 2 は各投与時期における近位尿細管上皮の滴状物および再生像の出現頻度をまとめたものである。各染色法によるこの滴状物の出現頻度および出現時期は、H-E およびアザン染色では対照群で実験期間中±〜+であったが、投与群では4週目において±〜++であり、投与期間が進むにつれその程度がやや強くなる傾向にあり、休薬後は対照群と同程度にまで回復した。PAS 染色では全期間を通じ対照群

Table 2. Staining characteristics of droplets

Weeks	Dose (ppm)	Anim. No.	Staining methods					Regeneration of proximal convoluted tubules	
			HE	PAS	Azan	Hemoglobin	Lipofuscin		
4	600	1	++	+	++	±	++	+	
		2	+++	+	+++	+	±	++	
		3	++	+	++	+	++	++	
		4	++	±	++	+	++	++	
		5	++	+	++	++	++	+	
	0	49	±	±	+	+	±	±	
		50	±	±	+	+	±	±	
		51	+	±	+	+	±	±	
	8	600	6	+++	±	+++	++	++	++
			7	+++	±	+++	+	++	±
8			++	+	++	++	++	++	
9			++	+	++	+++	++	+	
10			++	±	++	+++	+++	+	
0		52	+	±	+	+	±	+	
		53	+	±	+	+	±	±	
		54	+	±	+	+	±	±	
12		600	11	+++	+	+++	++	++	++
			12	+++	+	++	+	+++	++
	13		++	+	++	+	++	++	
	14		+++	+	++	+	++	++	
	15		+++	+	+++	+	++	++	
	0	55	+	+	+	+	±	±	
		56	+	±	+	±	±	±	
		57	+	±	+	+	±	±	
	16*	600	21	+	±	+	±	±	+
			22	+	±	+	+	±	±
23			+	±	+	±	±	+	
24			+	±	+	±	+	+	
25			+	±	+	±	±	+	
0		61	±	±	±	±	±	±	
		62	+	±	±	±	±	±	
		63	±	±	±	±	±	±	

±: slightly, +: moderate, ++: moderately high, +++: high

* : Four weeks after the termination of treatment

Table 3. Urinalysis in F344 rats given potassium bromate

Weeks	Dose (ppm)	Number of animals	Urine volume (ml/day)	Urea nitrogen (mg/day)	Creatinine (mg/day)	Na (mEq/day)	K (mEq/day)	Ca (mg/day)	Cl (mEq/day)
4	600	5	6.86 ^{**} ±0.52	203.4 [*] ±12.6	7.733 ±0.680	0.919 ±0.159	0.902 ^{**} ±0.046	0.658 ^{**} ±0.099	1.147 ±0.112
	0	5	2.24 ±0.68	181.6 ±16.2	7.388 ±0.857	0.920 ±0.132	0.247 ±0.084	0.226 ±0.042	1.172 ±0.128
8	600	5	7.86 ±1.22	240.7 ±23.7	9.909 ±1.255	0.641 ±0.377	0.995 [*] ±0.156	0.810 ±0.172	1.074 ±0.404
	0	5	5.94 ±1.61	211.4 ±68.6	10.145 ±1.337	0.434 ±0.505	0.608 ±0.235	0.620 ±0.285	0.808 ±0.706
12	600	5	8.68 ^{**} ±1.33	214.9 ±35.2	9.546 ±1.134	1.090 [*] ±0.319	0.919 ^{**} ±0.180	0.916 [*] ±0.306	1.152 ±0.435
	0	5	4.44 ±1.78	189.0 ±39.0	10.054 ±1.183	0.611 ±0.330	0.488 ±0.219	0.447 ±0.140	0.937 ±0.402
16 ^{***}	600	5	8.02 [*] ±1.77	227.9 ±31.8	10.944 ±1.368	1.278 ±0.262	1.093 ±0.191	0.442 ±0.156	1.468 ±0.212
	0	5	6.08 ±0.61	244.8 ±21.3	12.263 ±0.760	1.080 ±0.276	0.869 ±0.113	0.395 ±0.095	1.318 ±0.225

Data represent mean value ± SD.

* : Significantly different from control, p < 0.05.

** : Significantly different from control, p < 0.01.

*** : Four weeks after the termination of treatment

と実験群の間に大きな差は認められなかった。投与期間中ヘモグロビン、リポスチン染色で陽性を示す滴状物の増加が見られたが休薬後は対照群と同程度になった。近位尿細管上皮の滴状物と共に、近位尿細管の再生像が投与群で強く認められ、投与期間と共に増加する傾向を示したが、休薬後は対照群と差がなかった。組織学的に腎の変化は近位尿細管に限局し、糸球体をはじめ他の部位には著変を認めなかった。脾臓では投与期間中、投与群において髄外造血像およびヘモジデリンの沈着が対照群よりも強かった。その他の臓器については検体投与に起因すると考えられるなんらの組織学的変化も認めなかった。

3. 電顕的検索

近位尿細管上皮細胞に見られた滴状物は、電顕的には大小不同の、一層の限界膜を持った電子密度が高い物質として認められ、中には巨大な滴状物が細胞質を占領し核を圧迫する所見も認められた。これらの所見は各投与時期ではほぼ同様であったが、休薬により軽減した。それに比べ対照群で見られた滴状物は、同様に一層の限界膜を持っていたが、投与群より電子密度が低くその大きさに均一性があり、核を圧迫するような像は認められなかった。

4. 尿生化学的検査

Table 3 は各時期における尿の生化学的検査の結果

をまとめたものである。表に示すごとく尿量は投与群において全期間を通じ対照群より高値を示し、またカリウム、カルシウムの排泄量も全期間を通じ投与群で高く、休薬後もその傾向が認められた。ナトリウム、クロルは投与開始8週目より高値を示し、休薬後もその傾向が続いた。尿素窒素は投与群で投与期間中高値を示したが、休薬後は対照群と同程度まで回復した。これに対しクレアチニンは全投与期間を通じて投与群と対照群の間にほとんど差異を認めなかった。なお剖検時にラプステックスを用いて行った新鮮尿の検査において、潜血反応は対照群、投与群いずれの場合においても陰性であった。

5. 血清生化学的検査

Table 4 は血清の生化学的検査の結果をまとめたものである。ナトリウム、クロルは投与群で投与期間中わずかに低下傾向が見られたが、休薬後は回復した。カリウムは投与期間中および休薬後も対照群より低値を示した。他の検査項目については著明な変化が認められなかった。

考 察

臭カを飲料水として 600 ppm の濃度で雄 F344 ラットに投与したところ、4週目より腎近位尿細管上皮に、光顕的にはエオジン、アザンに好染し、ヘモグロ

Table 4. Biochemical serum analysis of F344 rats given potassium bromate

Weeks	Dose (ppm)	Number of animal	Creatinine mg/dl	Urea nitrogen mg/dl	Total protein g/dl	A/G albumin ratio	Protein fraction(%)				Na mEq/l	K mEq/l	Ca g/dl	Cl mEq/l	
							globulin								
							α_1	α_2	β	γ					
4	600	5	0.72 ±0.04	18.6 ±2.9	5.80 ±0.10	1.08 ±0.05	51.86 ±1.26	20.24 ±0.87	14.16 ±1.08	12.76 ±1.82	1.02 ±0.57	144.2 ±0.8	4.04 ±0.29	10.24 ±0.18	97.6 ±2.5
	0	3	0.70 ±0.00	21.7 ±1.5	5.73 ±0.15	1.02 ±0.06	50.47 ±1.55	21.53 ±0.96	14.46 ±0.96	11.90 ±0.92	1.67 ±1.76	146.0 ±0.0	4.20 ±0.00	10.23 ±0.15	101.0 ±1.7
8	600	5	0.74 ±0.05	20.0 ±2.3	5.84 ±0.09	1.01 ±0.09	50.12 ±2.38	19.20 ±0.88	14.22 ±1.33	14.60 ±0.72	1.86 ±0.62	147.0 ±0.7	3.32 ±0.08	10.26 ±0.19	99.6 ±2.1
	0	3	0.70 ±0.00	21.0 ±1.0	6.10 ±0.26	0.95 ±0.09	48.73 ±2.45	20.26 ±0.76	15.40 ±1.04	13.60 ±1.39	2.00 ±0.35	148.7 ±1.5	3.47 ±0.31	10.13 ±0.40	102.7 ±1.2
12	600	5	0.76 ±0.15	22.2 ±1.3	5.84 ±0.09	1.12 ±0.06	52.72 ±1.34	18.74 ±1.20	14.44 ±0.53	12.20 ±0.63	1.90 ±0.30	147.4 ±0.5	4.02* ±0.22	10.34 ±0.13	97.2 ±1.6
	0	3	0.80 ±0.00	21.3 ±1.2	6.10 ±0.26	1.08 ±0.07	51.93 ±1.57	20.53 ±0.65	14.17 ±0.15	11.07 ±1.15	2.40 ±0.56	149.3 ±2.1	4.53 ±0.29	10.23 ±0.31	99.7 ±3.5
16**	600	5	0.74 ±0.05	16.4 ±1.3	6.50 ±0.17	1.05 ±0.14	51.24 ±3.20	21.52 ±0.75	14.88 ±6.70	11.64 ±5.00	1.60 ±1.49	147.0 ±0.7	4.10 ±0.31	10.32 ±0.15	98.2 ±0.8
	0	3	0.73 ±0.06	15.7 ±1.5	6.40 ±0.10	1.03 ±0.02	50.77 ±0.49	21.33 ±0.32	12.80 ±0.61	13.20 ±0.66	2.67 ±0.15	146.0 ±0.0	4.73 ±0.40	10.43 ±0.12	98.7 ±0.6

Data represent mean value ± SD.

* : Significantly different from control, $p < 0.05$.

** : Four weeks after the termination of treatment

ピン、リボフスチン染色で一部陽性、PAS 陰性の、電顕的には大小不同で、一層の限界膜をもち電子密度が高い滴状物が認められた。この滴状物の出現頻度は投与期間に比例してやや増加したが、投与を中止し 4 週間の休業期間を置くとその出現頻度は対照群と同程度にまで回復した。ラットの腎尿管上皮には生理的变化として、小型で円形の PAS 染色で好染する Hyaline droplet が見られることは良く知られている。一方、尾上ら⁵⁾は無処置雄 SD ラットで生後 25 週目頃より腎近位尿管上皮に PAS 陰性、エオジン好染、大小不同の滴状物を認めており、また内田ら⁶⁾も生後 9 週目から F344/Yit 雄ラットに、同じく河合ら⁷⁾も生後 10 週目頃より雄の Wistar ラットに同様の物質の発現を報告している。この物質はその染色性、電顕的所見などから従来の Hyaline droplet と区別され Eosinophilic body と称されている。今回我々の実験で認められた滴状物は、臭カ投与で増加したが、その形態、染色性、電顕的所見等より尾上らのいう Eosinophilic body と同じ物であると考えられる。電顕的な所見からはこの滴状物はライソゾームと推定され、細胞内で合成、分泌された物質ではなく、何らかの機転による物質の再吸収、貯留像であると考えられる。

臭カの毒性の一つとして赤血球の溶血作用が考えられる。今回の実験において、脾にヘモジデリン沈着や髄外造血が対照群に比べ投与群でより著明であった事などより、臭カ投与により溶血が起こっていた可能性

が示唆された。しかし、溶血による貧血や尿中潜血反応は認められなかった事などより、この溶血作用は生体の適応範囲内であったものと推測される。溶血により生じたヘモグロビンは、生体の細網内皮系細胞に貪食されヘモジデリンとなるが、一部遊離ヘモグロビンは腎の近位尿管から、athrocytosis により吸収される事が知られている。腎のヘモグロビン染色の結果から、投与群でヘモグロビン染色陽性の滴状物が投与期間中増加しているものの、一部では陰性の滴状物も認められる事より、本滴状物が単一成分よりなるとは考えがたいが、一部は溶血作用に起因する溶血性蛋白質の再吸収機能亢進像と推察される。

血清生化学検査においてナトリウム、カリウム、クロルの軽度な低下が認められ、また尿の生化学的検査では、それらのイオンおよびカルシウムの尿中排泄量の増加と尿量の増加が認められた。これら電解質の大半が近位尿管より再吸収されることより、投与群における近位尿管の形態的变化が、電解質の再吸収機能になんらかの変化を与えた可能性が示唆された。投与群における尿量およびカリウムの尿中排泄量の増加については、投与群の摂水量が対照群を上回っていることや、臭カ投与に起因するカリウムイオンの過剰摂取が関与しているものと考えられる。

動物の腎臓に癌を起こす物質は数多く知られている。これら腎発癌物質の投与により見られる随伴病変として、近位尿管上皮の胞体の空胞化、核の巨大化や空

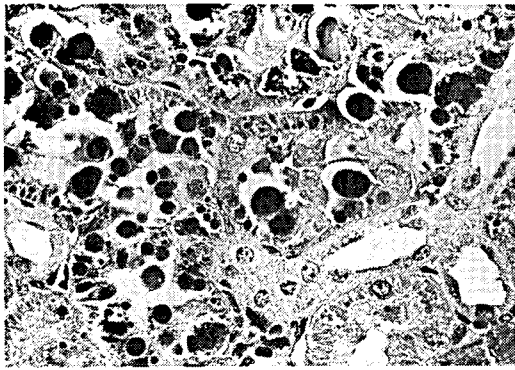


Fig. 1. Droplets observed in the cytoplasm of the proximal renal tubules of rats given potassium bromate for 4 weeks. Various-sized droplets were stained strongly by eosin (H-E stain, $\times 160$)

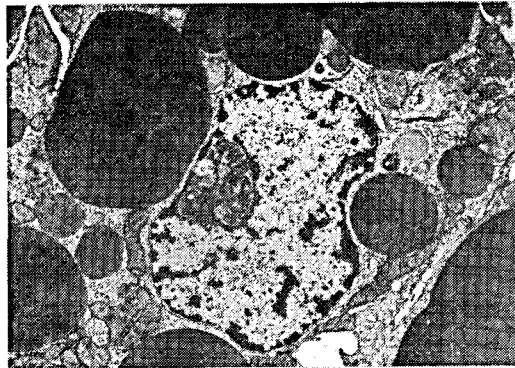


Fig. 2. Electron microscopical picture of droplets. Various-sized electron-dense droplets were surrounded by a layer of limiting membrane

胞化を示す異型細胞巣などの出現が報告されているが⁸⁾, Eosinophilic body の出現は報告されていない。今回の実験では Eosinophilic body の出現を除くこれら尿管上皮の病変は全く認められなかった。臭カ投与により増強したとはいえ、本滴状物は対照群にも見

られること、また制限給餌により出現が抑制され、雄により強く、去勢により軽減することなどの報告⁷⁾などからも、本滴状物の出現は腎発癌の随伴病変ではなく臭カ投与による非特異的な作用と考えられる。現在まで、化学物質により Eosinophilic body の出現が増強するという報告はなく、今回の実験結果は興味深い。臭カの酸化剤としての作用は、腎に過酸化脂質の増加をきたすことが報告されており⁹⁾, また当然細胞膜への作用が考えられることから、今後 Eosinophilic body の出現に対する各種酸化剤の作用機序の検討が興味あるところである。

結 語

雄 F344 ラットに 600 ppm の臭素酸カリウム (臭カ) を飲料水として投与して、経時的に屠殺剖検し、組織学的、電顕的、生化学的に検索した。投与開始 4 週目より腎近位尿管上皮細胞質内にエオジンに好染し、アザン染色陽性、PAS 染色陰性、ヘモグロビン、ヘモジリン染色で一部陽性の滴状物が認められた。この滴状物は電顕的に一層の限界膜を持っていた。これら形態学的特徴よりこの滴状物は Eosinophilic body と呼ばれているものと考えた。臭カ投与による Eosinophilic body の出現機序として、臭カを持つ溶血作用に起因する溶血性蛋白質の再吸収機能亢進が示唆された。

文 献

- 1) Y. Kurokawa *et al.*: *Gann*, **73**, 335 (1982)
- 2) Y. Kurokawa *et al.*: *JNCI*, **71**, 965 (1983)
- 3) 大野裕子ら: 衛生試験所報告, **100**, 93 (1982)
- 4) 小野寺博志ら: 第42回日本癌学会総会 (1983)
- 5) 尾上正治ら: 実験動物, **27**, 405 (1978)
- 6) 内田和美ら: 実験動物, **29**, 45 (1980)
- 7) 河合清之ら: 実験動物, **29**, 181 (1980)
- 8) 白井智之, 伊東信行: 変異原と毒性, **5**, 317 (1982)
- 9) 林 裕造, 黒川雄二: 第43回日本癌学会総会 (1984)

F344 ラットにおける塩化第二鉄の癌原性試験実施にあたっての 予備試験（亜慢性毒性）の成果について

佐藤秀隆・豊田和弘・古川文夫・小久保 武・高橋道人・林 裕造

Oral Subchronic Toxicity Studies of Ferric Chloride in F344 Rat

Hidetaka SATO, Kazuhiro TOYODA, Fumio FURUKAWA, Takeshi KOKUBO,
Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI

Subchronic toxicity tests were conducted with ferric chloride using 120 male and female F344 rats. Groups of 10 rats per sex received ferric chloride at doses of 0.12%, 0.25%, 0.5%, 1.0% or 2.0% ferric chloride in drinking water for 14 weeks. Ten rats per sex served as untreated controls. Suppression of body weight gains and intake of drinking water were observed in the higher dose groups. Higher level of serum iron and higher counts of red blood cells were observed in treated male rats. Histologically, deposition of hemosiderin in many tissues was observed significantly in higher dose groups, with Berlin blue staining. These results suggest that the subchronic oral administration of ferric chloride cause extensive deposits of significant amounts of iron-laden pigments in the organs of the rat. Carcinogenicity testing is in progress based on the results of these preliminary subchronic experiments.

(Received May 31, 1985)

はじめに

塩化第二鉄 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) は、昭和38年に食品添加物の指定を受けたが、その主な用途は調製粉乳の鉄分強化剤として添加されている。臨床的には、局所止血薬、貧血の治療などに用いられることもあるが内用されることはほとんどない。

塩化第二鉄の外観は、黄褐色の結晶あるいは塊で、水に溶けやすく、空气中に放置すると潮解して赤褐色の液状物となる。また、水溶液は強酸性を呈する。

毒性としては、第二鉄塩の局所腐食性が知られている¹⁾。ラットにおける致死量は、経口投与で 900 mg/kg とされている²⁾。

変異原性は、*S. typhimurium*・TA100・TA98・TA2637・TA94 を用いた Ames テストで、S9 存在・非存在下ともに陰性であり、またチャイニーズ・ハムスター線維芽細胞株 (CHL) を用いた染色体異常試験においても陰性であると報告されている³⁾。

塩化第二鉄の経口毒性については、必ずしも十分なデータがあるとはいえず、特にその病理組織学的検索についての報告は、ほとんどなされていない。

今回我々は、塩化第二鉄の癌原性試験実施に先立ち第2次予備試験（亜慢性毒性試験）を行い、種々の成果を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 検体および動物の飼育

米山薬品工業(株) (大阪)製の塩化第二鉄(食品添加物用)を購入し、検体とした。

動物は、SPFのF344ラット4週齢、雌雄各60匹を日本チャールスリバー社より購入した。2週間、馴化した後、無作為に雌雄各6群(各群10匹)に分け実験用とした。

動物の飼育は、バリエーションシステムの動物室で、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数 18/hr (オールフレッシュ)、明暗サイクル各12時間の人工照明下で行った。

動物は、プラスチックケージに各5匹ずつで収容し、床敷は三協ラボサービス(株) (東京)のソフトチップを用い、これを週2回交換した。飼料は、日本チャールスリバー社製の固型飼料 CRF-1 を用い、実験期間中自由に摂取させた。

2. 実験方法

実験処置群は投与濃度を 2%・1%、0.5%、0.25%・0.12% と設定し、雌雄各5群を設け、その他に無処置対照群として雌雄各1群を加えた。

塩化第二鉄は、イオン交換水中に溶解して飲料水とし実験期間中、動物に自由に摂取させた。給水瓶は酸

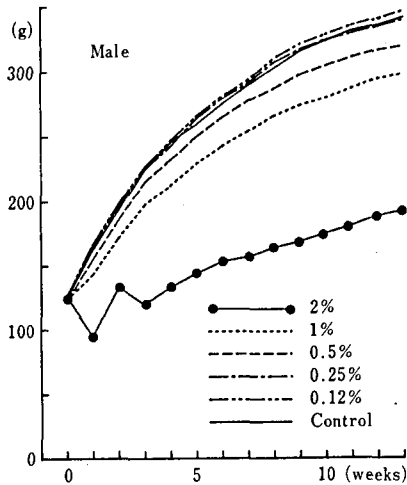


Fig. 1. Growth curves of male rats on ferric chloride

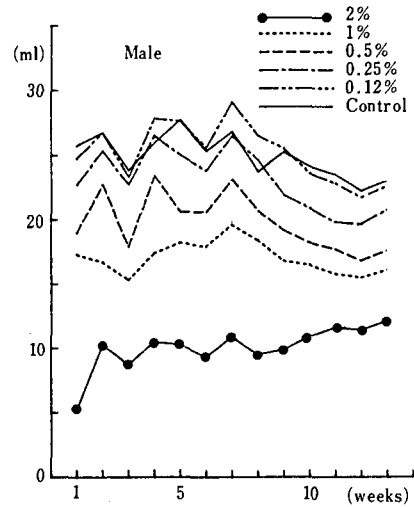


Fig. 3. Daily intake of drinking water containing ferric chloride for male rats

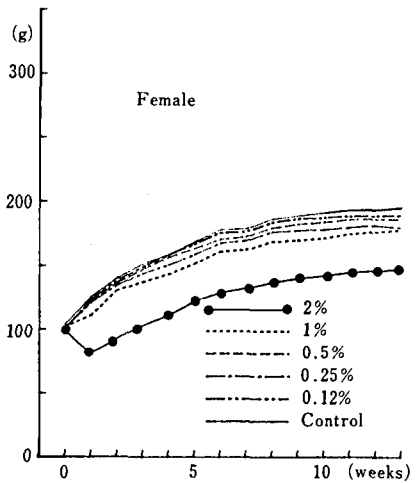


Fig. 2. Growth curves of female rats on ferric chloride

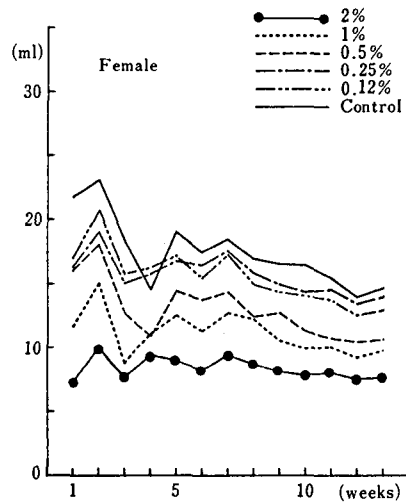


Fig. 4. Daily intake of drinking water containing ferric chloride for female rats

による腐食を避けるため、プラスチック製の給水瓶にガラス製先管を使用した。

実験期間は13週とし、期間中、連日、動物の健康状態を観察すると共に、週2回の摂水量の計測および週1回の体重測定を実施した。

なお各溶液のpHを測定したところ、イオン交換水ではpH 6.03であるのに対し、0.12%溶液ではpH 2.58、0.25%ではpH 2.38、0.5%ではpH 2.19、1%ではpH 1.98、2%ではpH 1.78と強酸性の状態であった。

3. 生化学的および血液学的検索

屠殺に先立ち、エーテル麻酔下で開腹後、腹部大動脈(総腸骨動脈分岐部)より採血し、コールターカウンター(コールターカウンター社製ZB-I型)を用いて赤血球数(RBC)・白血球数(WBC)を計測した。また分離した血清は凍結保存し、味の素(株)分析センター(川崎)に検査を依頼した。

生化学的検査項目は、glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)・glutamic pyruvic transaminase (GPT)・乳酸脱水素酵素(LDH)・アルカリホスファターゼ(ALP)・総コレステロール(TC)・中性脂肪(TGL)・

Table 1. Intake of Drinking water containing Ferric chloride

Sex	Group	Drinking water		Ferric chloride	
		Total (ml/rat)	Daily average (ml/rat/day)	Total (g/rat)	Daily average (g/rat/day)
Male	2.0 %	986.1	10.2	19.72	0.20
	1.0 %	1784.3	18.4	17.84	0.18
	0.5 %	2024.7	20.9	10.12	0.10
	0.25 %	2272.5	23.4	5.68	0.06
	0.12 %	2452.2	25.3	2.94	0.03
	Control	2450.4	25.3	—	—
Female	2.0 %	820.6	8.5	16.41	0.17
	1.0 %	1167.2	12.0	11.67	0.12
	0.5 %	1423.3	14.7	7.12	0.07
	0.25 %	1615.7	16.7	4.04	0.04
	0.12 %	1688.2	17.4	2.03	0.02
	Control	1804.4	18.6	—	—

・総蛋白(TP)・アルブミン-グロブリン比(A/G)・尿素窒素(BUN)・クレアチニン(CR)・尿酸(UA)および血清鉄(Fe)である。

4. 病理学的検索

動物は、実験終了後エーテル麻酔下に開腹し、腹部大動脈より血液を採取し、瀉血屠殺した。すべての動物について病理解剖を実施し、各臓器の肉眼的観察を行い、唾液腺・胸腺・肺・心臓・肝臓・脾臓・副腎・腎臓・精巣・卵巣・脳・下垂体については重量測定の後、鼻腔を含む頭蓋・気管・舌・食道・胃・小腸・大腸・膀胱・胸骨・大腿骨・リンパ節・膀胱・乳腺・前立腺・子宮・脊髄・眼球・筋肉・皮膚などと共に10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。固定後、各臓器を切り出し、水洗、脱水、透徹、パラフィン包埋の後、薄切切片を作製し、Hematoxylin-Eosin (H.E) 染色を行い、病理組織学的に検索を行った。また、ベルリン靑法による鉄染色も合わせて行った。

結 果

実験期間中、各群共死亡した動物はなく、また特記するような症状を呈する動物もなかった。

1. 体重変化

実験経過中の各群の体重推移を Fig. 1, Fig. 2 に示した。雄においては、2%群で明らかな体重抑制がみ

られ、投与開始後1週目までに平均30g程度の体重減少を示し、その後3週目までやや変動し、以後漸次増加に転じたが、終始他の群に比べ抑制状態を示した。また1%および0.5%群では対照群に比べ、軽度の体重抑制が認められ、2%、1%および0.5%群の変化は用量と相関していた。その他の群は対照群とほとんど差がなかった。

雌においては雄と同様に、2%群において1週目に著しい体重減少がみられ、その後増加に転じたが、抑制状態が続いた。また他の群では、対照群に比し、軽度の増加抑制傾向が用量相関をもってみられた。

2. 摂水量および検体摂取量

実験期間中の摂水量の推移については Fig. 3, 4 に示した。雌雄共、投与初期において多少の変動がみられたが、全期間を通じてほぼ用量に相関した差がみられ、特に高濃度群で著しい減少を示した。

また Table 1 に示した如く、ラット1匹1日当たりの摂水量は、2%群の雄では対照群の25.3mlに対し10.2mlと減少し、雌では対照群18.6mlに対し8.5mlと明らかに減少していた。

しかしながら、検体の総摂取量については雌雄共ほぼ用量に相関した値が示されている。

3. 生化学的および血液学的所見

生化学的および血液学的検査の結果は、Table 2, 3

Table 2. Biochemical and hematological data for male rats

	2%	1%	0.5%	0.25%	0.12%	Control
GOT (KU)	76.1±4.9	72.5±7.2	78.5±6.9*	70.5±11.8	70.4±8.7	69.2±11.3
GPT (KU)	24.1±2.2	24.6±2.5	26.7±3.8	25.9±4.0	27.0±3.6	26.2±4.0
LDH (WU)	848±184**	540±289	936±148**	547±231	606±411	367±271
ALP (KAU)	13.2±1.1**	10.8±0.8	9.7±0.6	9.9±0.6	9.0±0.7*	10.0±1.0
TC (mg/dl)	33.1±2.5	34.1±2.1	35.2±3.8	33.2±1.9	33.7±2.6	32.8±2.0
TGL (mg/dl)	107±13	123±22**	122±29*	106±18	115±27	97.3±13.5
TP (g/dl)	6.5±0.2**	6.7±0.1	6.9±0.2	6.9±0.2	6.8±0.3	6.8±0.2
A/G	1.8±0.2	1.8±0.1	1.7±0.1	1.6±0.1	1.7±0.1	1.7±0.1
BUN (mg/dl)	25.1±2.3**	20.8±0.8**	19.8±0.9**	18.1±0.7	18.6±1.1*	17.6±0.7
CR (mg/dl)	0.42±0.09	0.45±0.07*	0.43±0.07	0.42±0.04*	0.40±0.05	0.38±0.04
UA (mg/dl)	2.4±0.2	2.2±0.2	3.0±1.2	2.5±0.5	2.3±0.1	2.4±0.5
Fe (μg/dl)	156	139±10	129±22	109±8	107±11	102±5
RBC (×10 ⁴ /mm ³)	676±71**	629±47**	636±26**	607±35**	593±24**	549±33
WBC (×10 ² /mm ³)	4639±843*	4366±774	4133±881	4215±463	4430±676	3829±683

Mean±S.D. * Significant at 5% level

** Significant at 1% level

Table 3. Biochemical and hematological data for female rats

	2%	1%	0.5%	0.25%	0.12%	Control
GOT (KU)	71.1±6.6**	78.6±29.4	77.3±16.2**	68.3±10.1	71.4±16.8	61.1±4.8
GPT (KU)	19.0±2.8	26.1±18.3	20.7±5.1	17.7±4.3	20.7±10.5	18.3±3.6
LDH (WU)	813±167**	513±224*	850±112**	492±200*	786±123**	312±179
ALP (KAU)	10.0±1.6**	7.2±1.1	7.4±1.0*	6.5±0.5	6.2±0.7	6.4±0.9
TC (mg/dl)	40.6±5.6**	50.6±3.4**	51.7±4.2**	54.2±5.2	55.9±4.3	58.2±4.0
TGL (mg/dl)	114±30**	171±54**	122±23**	83±18*	80±18	66±13
TP (g/dl)	6.2±0.5**	6.8±0.3	6.6±0.3*	6.6±0.2**	6.7±0.2	6.9±0.3
A/G	1.8±0.2	1.6±0.1*	1.8±0.1	1.8±0.1	1.7±0.1	1.7±0.1
BUN (mg/dl)	26.8±1.9**	23.9±1.7**	19.2±1.7	18.3±1.6	17.8±0.8	18.5±1.4
CR (mg/dl)	0.51±0.08*	0.61±0.12**	0.55±0.10**	0.42±0.06	0.45±0.07	0.41±0.07
UA (mg/dl)	2.4±0.3	2.4±0.2**	2.9±0.9	2.5±0.3	2.8±0.3	2.7±0.3
RBC (×10 ⁴ /mm ³)	681±35	654±18	672±28	656±16	664±10	673±27
WBC (×10 ² /mm ³)	4034±490*	3607±680	3928±1047	4006±555*	3794±981	3304±637

Mean±S.D. * Significant at 5% level

** Significant at 1% level

に示した。各項目の有意差検定(t検定)の結果、雄では2%群においてLDH・ALP・BUN・RBC・WBCの増加およびTPの減少がみられた。1%群ではTGL・BUN・RBCおよびCRの増加がみられ、0.5%群ではLDH・BUN・RBCおよびGOT・TGLの増加、0.25%群ではRBCおよびCRの増加、0.12%群ではRBC・BUNの増加およびALPの減少が

みられた。

雌では2%群においてGOT・LDH・ALP・TGL・BUN・CR・WBCの増加およびTC・TPの減少がみられた。1%群ではTGL・BUN・CR・LDHの増加およびTC・UA・A/Gの減少が認められた。0.5%群ではGOT・LDH・TGL・CR・ALPの増加およびTC・TPの減少がみられ、0.25%群では

Table 4. Absolute body weight and organ weight for male rats

	2%	1%	0.5%	0.25%	0.12%	Control
Body weight	182.8±12.2**	284.4±12.9**	304.4±14.9**	322.4±9.5	325.7±15.1	337.7±32.9
Salivary	0.62±0.12	0.60±0.08*	0.55±0.07	0.55±0.04	0.57±0.13	0.53±0.05
Thymus	0.11±0.05**	0.17±0.03*	0.21±0.04	0.20±0.04	0.23±0.04	0.22±0.04
Lung (R)	0.55±0.04**	0.77±0.08	0.74±0.07*	0.78±0.06	0.79±0.08	0.82±0.10
(L)	0.28±0.02**	0.40±0.05	0.37±0.03*	0.40±0.02	0.40±0.06	0.41±0.03
Heart	0.66±0.05**	0.92±0.05**	0.97±0.10	0.99±0.06	1.02±0.06	1.02±0.05
Liver	4.40±0.37**	6.90±0.39**	7.64±0.71*	7.85±0.32*	8.17±0.50	8.34±0.53
Spleen	0.35±0.04**	0.52±0.03	0.54±0.03	0.59±0.02	0.58±0.04	0.56±0.08
Adrenal (R)	0.023±0.007	0.017±0.006	0.020±0.004	0.020±0.004	0.021±0.006	0.020±0.003
(L)	0.021±0.003	0.022±0.004	0.019±0.003	0.019±0.004	0.023±0.004	0.021±0.002
Kidney (R)	0.72±0.06**	0.92±0.06**	0.94±0.09*	1.01±0.04	0.99±0.05	1.01±0.06
(L)	0.70±0.05**	0.95±0.05*	0.95±0.07*	1.01±0.07	1.01±0.07	1.01±0.06
Testis (R)	1.27±0.15**	1.33±0.27	1.46±0.10	1.45±0.08	1.45±0.08	1.50±0.06
(L)	1.32±0.06**	1.42±0.07**	1.45±0.08*	1.60±0.24	1.53±0.04	1.53±0.08
Brain	1.82±0.09**	2.00±0.09	1.92±0.12	1.95±0.10	1.96±0.13	1.99±0.10
Pituitary	0.006±0.001	0.009±0.003	0.008±0.003	0.008±0.002	0.007±0.001	0.007±0.002

Mean±S.D. * Significant at 5% level
** Significant at 1% level

Table 5. Absolute body weight and organ weight for female rats

	2%	1%	0.5%	0.25%	0.12%	Control
Body weight	140.8±12.0**	166.5±5.8*	176.6±4.4	175.4±5.1	174.1±13.8	177.8±13.7
Salivary	0.47±0.08**	0.34±0.04	0.35±0.04	0.34±0.04	0.35±0.04	0.32±0.04
Thymus	0.13±0.03**	0.15±0.02*	0.18±0.04	0.19±0.04	0.16±0.06	0.19±0.05
Lung (R)	0.44±0.06**	0.56±0.08	0.56±0.04	0.58±0.07	0.56±0.06	0.56±0.04
(L)	0.24±0.03**	0.29±0.04	0.27±0.02	0.28±0.04	0.28±0.03	0.29±0.03
Heart	0.53±0.05**	0.59±0.03	0.60±0.05	0.58±0.06	0.59±0.04	0.60±0.04
Liver	3.45±0.45**	4.07±0.25	4.06±0.31	4.05±0.29	4.15±0.49	4.17±0.24
Spleen	0.33±0.03**	0.38±0.05	0.39±0.03	0.39±0.03	0.39±0.03	0.40±0.02
Adrenal (R)	0.021±0.003	0.021±0.004	0.025±0.005	0.018±0.004	0.022±0.004	0.022±0.005
(L)	0.021±0.004	0.022±0.005	0.023±0.004	0.022±0.004	0.023±0.004	0.021±0.003
Kidney (R)	0.55±0.05	0.60±0.04*	0.61±0.04**	0.58±0.05	0.58±0.05	0.57±0.02
(L)	0.54±0.04**	0.62±0.04**	0.60±0.04	0.56±0.04	0.58±0.05	0.58±0.03
Ovary (R)	0.024±0.007	0.031±0.008	0.029±0.006	0.029±0.010	0.031±0.007	0.030±0.013
(L)	0.021±0.007*	0.029±0.009	0.032±0.007	0.030±0.008	0.031±0.010	0.028±0.005
Brain	1.77±0.08**	1.86±0.05	1.83±0.10	1.86±0.05	1.87±0.06	1.86±0.05
Pituitary	0.008±0.002	0.015±0.003**	0.009±0.002	0.010±0.001	0.011±0.002	0.010±0.002

Mean±S.D. * Significant at 5% level
** Significant at 1% level

Table 6. Organ weight as a percent of body weight in male rats

	2%	1%	0.5%	0.25%	0.12%	Control
Salivary	0.344±0.073	0.211±0.025	0.180±0.019	0.169±0.012	0.174±0.038	0.159±0.021
Thymus	0.058±0.028	0.061±0.009	0.068±0.012	0.062±0.010	0.071±0.010	0.064±0.010
Lung (R)	0.301±0.021	0.269±0.030	0.242±0.019	0.241±0.015	0.243±0.026	0.246±0.039
(L)	0.151±0.011	0.141±0.019	0.121±0.009	0.122±0.007	0.123±0.018	0.121±0.014
Heart	0.362±0.019	0.321±0.010	0.318±0.021	0.307±0.020	0.312±0.017	0.304±0.027
Liver	2.409±0.109	2.427±0.071	2.506±0.148	2.434±0.055	2.508±0.111	2.485±0.224
Spleen	0.193±0.016	0.183±0.005	0.179±0.006	0.184±0.007	0.176±0.010	0.166±0.028
Adrenal (R)	0.012±0.004	0.005±0.001	0.006±0.001	0.006±0.001	0.006±0.002	0.006±0.001
(L)	0.011±0.002	0.007±0.001	0.006±0.001	0.005±0.001	0.007±0.001	0.006±0.000
Kidney (R)	0.392±0.030	0.322±0.013	0.307±0.025	0.314±0.009	0.304±0.017	0.299±0.030
(L)	0.385±0.024	0.333±0.016	0.311±0.018	0.312±0.014	0.309±0.020	0.301±0.025
Testis (R)	0.698±0.104	0.467±0.092	0.478±0.022	0.450±0.025	0.447±0.033	0.445±0.034
(L)	0.724±0.055	0.501±0.031	0.476±0.016	0.496±0.074	0.469±0.021	0.456±0.040
Brain	0.998±0.078	0.705±0.056	0.631±0.031	0.605±0.031	0.602±0.035	0.594±0.060
Pituitary	0.003±0.000	0.003±0.001	0.002±0.001	0.002±0.000	0.002±0.000	0.002±0.000

Mean±S.D.

Table 7. Organ weight as a percent of body weight in female rats

	2%	1%	0.5%	0.25%	0.12%	Control
Salivary	0.332±0.049	0.201±0.019	0.197±0.019	0.191±0.020	0.202±0.029	0.181±0.026
Thymus	0.094±0.020	0.092±0.010	0.103±0.025	0.107±0.021	0.089±0.031	0.105±0.025
Lung (R)	0.312±0.033	0.339±0.052	0.317±0.021	0.329±0.039	0.322±0.019	0.319±0.033
(L)	0.169±0.019	0.174±0.025	0.155±0.008	0.157±0.017	0.159±0.015	0.162±0.020
Heart	0.380±0.051	0.356±0.019	0.340±0.030	0.332±0.029	0.341±0.019	0.335±0.018
Liver	2.443±0.160	2.447±0.126	2.299±0.137	2.305±0.130	2.376±0.112	2.352±0.132
Spleen	0.236±0.032	0.227±0.027	0.221±0.015	0.223±0.014	0.221±0.013	0.224±0.016
Adrenal (R)	0.015±0.001	0.013±0.002	0.014±0.002	0.010±0.002	0.013±0.003	0.012±0.003
(L)	0.015±0.003	0.013±0.003	0.013±0.002	0.012±0.002	0.013±0.001	0.012±0.002
Kidney (R)	0.396±0.026	0.359±0.018	0.343±0.015	0.327±0.020	0.332±0.015	0.320±0.022
(L)	0.381±0.018	0.374±0.015	0.338±0.016	0.320±0.019	0.332±0.013	0.327±0.026
Ovary (R)	0.016±0.004	0.019±0.005	0.016±0.003	0.016±0.005	0.018±0.004	0.016±0.007
(L)	0.015±0.004	0.017±0.005	0.018±0.004	0.017±0.004	0.017±0.005	0.016±0.002
Brain	1.260±0.099	1.116±0.040	1.034±0.053	1.059±0.030	1.080±0.098	1.054±0.085
Pituitary	0.005±0.001	0.009±0.002	0.005±0.001	0.006±0.000	0.006±0.001	0.005±0.001

Mean±S.D.

LDH・TGL・WBC の増加および TP の減少、0.12%群では LDH の増加がみられた。

4. 病理学的検索

1) 肉眼的所見

剖検時の肉眼的所見は、雄では胸腺萎縮が2%群に4例、精巣萎縮が1%群で1例みられ、また、処置群

の中には、盲腸に黒緑色の内容物を認めるものが数例みられた。

雌では0.12%群の1例に前胃の白色の小隆起がみられたほかは、特記すべき所見はなかった。

2) 臓器重量および臓器/体重比

剖検時における体重および臓器重量を Table 4, 5

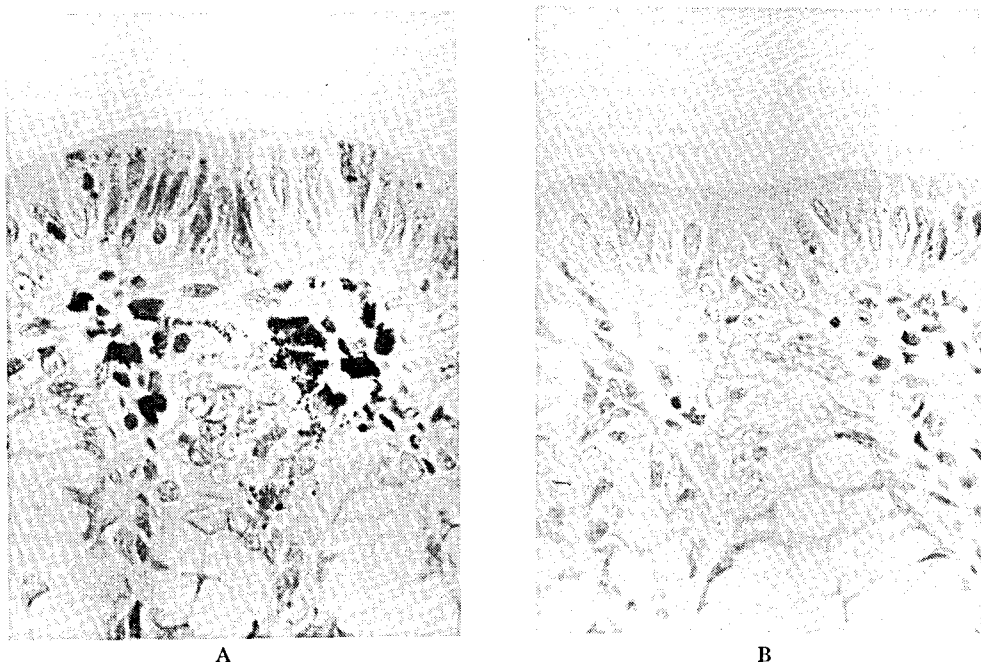


Fig. 5. A: Large intestine from a male rat treated with 2% ferric chloride in drinking water; Berlin blue reaction $\times 200$.
B: Large intestine from a male control rat; Berlin blue reaction $\times 200$.

に示した。対照群に対する有意差検定（ t 検定）の結果、雄では2%群において胸腺・肺（左右）・心臓・肝臓・脾臓・腎臓（左右）・精巣（左右）および脳に減少がみられた。1%群では唾液腺の増加および心臓・肝臓・左精巣・胸腺・腎臓（左右）の減少が示され、0.5%群では肺（左右）・肝臓・腎臓（左右）・左精巣の減少、0.25%群では肝臓の減少がみられた。雌では2%群において雄と同様に唾液腺の増加、および胸腺・肺（左右）・心臓・肝臓・脾臓・左腎臓・脳および左卵巣の減少がみられた。1%群では左腎臓・下垂体・右腎臓の増加および胸腺の減少、0.5%群では右腎臓の増加がみられた。

また臓器/体重比をみると、雌雄共に2%群では臓器重量が有意に減少を示すものでも、臓器/体重比では増加を示した。しかし他の群では臓器重量とはほぼ同様の変化がみられた（Table 6, 7）。

3) 病理組織学的所見

H・E染色による病理組織学的検索の結果、処置群雌雄に共通した変化として、食道粘膜表層の角化部位に黒褐色の沈着物を認めた。また、高濃度群において、大腸粘膜固有層に黄褐色のヘモジデリン様の色素沈着を認め、これらの沈着物はベルリン青染色による鉄反応で陽性を呈した。その他、小腸粘膜にビランを認め

る例が散発したが、これは対照群を含め全群に共通したみられた所見であった。

また、ベルリン青法による鉄染色では、雄の2%群において、気管および気管支の軟骨基質、舌・食道及び前胃の扁平上皮粘膜角化部、小腸および大腸粘膜の上皮および間質、肝臓の肝細胞・類洞内およびグリソン鞘内、脾臓の白脾髄、腎尿管上皮および脂肪組織などにびまん性に陽性部位が認められた。また、心筋細胞内、鼻腔内分泌粘液、肺胞上皮、副腎の髓質および皮質、精巣の精細管上皮、脳および脊髄の軟膜、眼球の角膜上皮、骨基質およびリンパ節の髓質などにも軽度に陽性部位を認めた。陽性部位の存在範囲および出現頻度は、投与濃度の低い群ほど少なく、0.12%群では対照群と大差なく、いずれも気管および気管支の軟骨基質、脾臓の白脾髄、骨基質、鼻腔内分泌粘液およびリンパ節の髓質などに陽性部位が認められたが、これらはヘモジデリンで、通常の沈着部位と考えられた。

雌においても、2%群では気管および気管支の軟骨基質、食道粘膜の角化部、肝臓の肝細胞・類洞内およびグリソン鞘内、脾臓の白脾髄、腎尿管上皮、副腎の皮質および髓質、卵巣の間質および骨基質などに陽性部位を認めた。雌においても雄にみられたように濃

度低下に従い、陽性部位の存在範囲および頻度が少なくなり、最低濃度の0.12%群では、気管および気管支の軟骨基質、肝臓の類洞内、脾臓の白脾髄、リンパ節の髄質、卵巣の間質、骨基質などに認めたが、これらの沈着部位は対照群とほぼ同様の結果であり、ヘモジデリンの通常の沈着部位とみなされた。

Fig. 5 に大腸粘膜におけるベルリン青染色の結果を示した。Aでは粘膜上皮細胞内および固有層にベルリン青陽性物を認めるが、Bではみられなかった。

考 察

今回の癌原性試験を開始するための予備試験（亜慢性毒性試験）では、高濃度群に著しい体重抑制と臓器重量の低下がみられ、明らかな用量相関が認められた。これは摂水量の低下に起因する変化と思われたが、その最大の原因は溶液のpH低下と考えられる。また、雄の処置群に示された血清鉄および赤血球の増加は、投与濃度との間に相関性がみられた。この変化は、摂水量の低下による影響も一因であると考えられるが、鉄剤の長期投与の結果、鉄吸収の亢進ならびに骨髓機能の亢進が起こることが報告されていることから、今回の結果はそれらの影響についても考慮する必要がある。経口摂取された鉄の体内吸収に際しては、消化管における特殊な調節機構が作用し、過剰の鉄は消化管での吸収を受けず体外へ排泄されるとされている。したがって、ある一定の濃度までは鉄の投与によって生体に影響を与えることがないものと思われる。しかし、極めて多量の鉄剤を長期間投与した場合には、鉄吸収の調節機構に変化を生じ、消化管粘膜から鉄吸収の亢進が起こることが予想され、その結果体内鉄量の増加

を来し、肝障害および腎障害などを招来する可能性もあるとされる⁴⁾。

鉄染色により、高濃度群において広範囲の組織に示された鉄の沈着はヘモジデリンおよび貯蔵鉄の増加を示すものであり、動物が鉄の過剰状態にあったために生じた変化と考えられる。また、動物が多血状態であったことから、それによる血球破壊の亢進についても考慮する必要がある。

このように長期にわたる鉄の過剰状態が続いた場合の慢性的影響について、明らかにしておくことはヘモジデロシスおよびヘモクロマトシスの発症原因を考える上にも極めて重要である。また、鉄を筋肉内および皮下に投与した時、肉腫を発生することがヒトおよび動物で報告⁵⁾されていることから、鉄が経口的に投与された時、その影響が発癌性にどのように作用するのか、興味のあるところである。

以上のことから塩化第二鉄の癌原性試験に用いる濃度は、雌雄共、最高用量群を0.5%、低用量群を0.25%として、2年間の癌原性試験を開始することにした。

文 献

- 1) 石館守三：第四版食品添加物公定書解説書，P. B-142 (1979) 廣川書店
- 2) Spector, W. S.: Handbook of Toxicology, I, 140 (1965)
- 3) 石館 基ら：トキシコロジーフォーラム，6(6)，671 (1983)
- 4) 島本暉朗：薬理学，p. 668 (1964)，医学書院
- 5) 和田 攻：金属とヒト，p. 50, 73 (1985) 朝倉書店

牛黄の毒性に関する研究

鈴木康雄・会田喜崇・吉本浜子・門馬純子
高田幸一・鈴木幸子・小林和雄・戸部満寿夫

Toxicity of Oriental Bezoar and Its Components

Yasuo SUZUKI, Yoshitaka AIDA, Hamako YOSHIMOTO, Junko MOMMA, Koichi TAKADA,
Sachiko SUZUKI, Kazuo KOBAYASHI and Masuo TOBE

Acute and subacute toxicity studies of oriental bezoar and its components were carried out in ddY mice. Groups of 10 male and 10 female mice were dosed orally with oriental bezoar, bilirubin, cholic acid, desoxycholic acid, dehydrocholic acid and the sodium salts of the three bile acids, and intraperitoneally with oriental bezoar, bilirubin, sod. cholate and sod. desoxycholate. Sodium desoxycholate is ranked as the most toxic substance among the bile acids and sodium salts by oral and intraperitoneal administration. LD₅₀ values for oriental bezoar were found to be over 15 g/kg (male and female) orally and 440 mg/kg (male) and 660 mg/kg (female) intraperitoneally. LD₅₀ values of bilirubin were over 15 g/kg (male and female) orally and over 2 g/kg (male and female) intraperitoneally.

In the subacute study, groups of 10 male mice were administered 200, 600 and 1800 mg/kg/day of oriental bezoar and 50 and 200 mg/kg/day of sod. desoxycholate daily for a month by gavage. Slight depressions in body weight gain were observed in the groups given 1800 mg/kg/day of oriental bezoar and 50 and 200 mg/kg/day of sod. desoxycholate while two animals died in the group given 200 mg/kg/day of sod. desoxycholate. Increases in the relative weight of the liver and decreases in serum glucose and triglyceride were observed in the group given 1800 mg/kg/day of oriental bezoar. No change was noted in the group given 200 mg/kg/day of oriental bezoar. On the other hand, increases in the absolute and relative weights of the liver, rises in serum ALP, GOT and GPT activities and decreases in serum glucose, phospholipids and triglyceride were observed in the group given sod. desoxycholate. Very slight damage of the liver was observed in the group given 200 mg/kg/day of sod. desoxycholate.

(Received May 31, 1985)

牛黄は日本薬局方第2部に収載されている動物性生薬のひとつで、ウシに生ずる胆石を採取して乾燥したものである。この牛黄は古来より中国や日本に於て鎮痙、鎮静、下熱あるいは不老長寿の薬として広く愛用されてきており、現在でも家庭薬の原料生薬として珍重されている。

近年、野生動植物生薬類では、乱獲や生態系の変化で絶滅の怖れのある種もあり、また環境変化等による有効成分の組成あるいは含有量に差異を生ずる場合も起こり得るので、現時点に於ける生薬類のより明確な薬効および毒性の把握が必要とされ、種々の検討が行われている。

牛黄については産地による成分含有量に差異のあること^{1,2)}が知られており、またその薬理作用については赤血球新生促進作用³⁾、鎮痙作用⁴⁾、強心・血圧上昇および下熱作用⁵⁾、血圧降下作用⁶⁾、強心・下熱・利胆および鎮痙作用⁷⁾、胆汁排出促進作用⁸⁾、平滑筋収縮作用⁹⁾など多くの報告がなされているが、毒性について

の報告は少ない。

今回、我々は牛黄の毒性を検索するため、その成分であるビリルビンおよび胆汁酸と共に、経口および腹腔内投与による急性毒性ならびに経口亜急性毒性についてマウスを用いて検討した。

実験方法

動物：Slc:ddY マウス (SPF) (静岡県実験動物農業協同組合) の4週令を購入し、1週間馴化して実験に供した。急性毒性試験では雄および雌を、亜急性毒性試験では雄を用いた。動物の飼育は、急性毒性試験ではコンベンショナルな動物室で、亜急性毒性試験はバリアー・システムの動物室で行った。なお、動物室の環境条件は室温 24±1℃、湿度 55±5%、照明は12時間間隔の点滅で行い、動物には固型飼料 (F-2, 船橋農場) および飲水 (上水道水) を自由に摂取させた。

検体：牛黄はオーストラリア産を用い、コール酸、デソキシコール酸およびデヒドロコール酸とそれら

のナトリウム塩, およびビリルビンは試薬(和光純薬)を用いた。

急性毒性試験: 経口投与では動物は検体投与16時間前より投与後3時間目まで除餌を行った。

牛黄は5%アラビアゴム液で20%懸濁液を, ビリルビンおよび胆汁酸(コール酸, デスオキシコール酸およびデヒドロコール酸)は5%アラビアゴム液でそれぞれ10%懸濁液を, さらに胆汁酸のナトリウム塩はそれぞれ10%水溶液を調製し投与液とした。各投与液はマウス用金属製胃管を用い, 1群雄, 雌各10匹のマウスに経口投与した。なお, 各検体の投与量は牛黄およびビリルビンでは雄, 雌ともに15 g/kg, コール酸では雄, 雌ともに2.69, 3.50, 4.55, 5.92および7.69 g/kg, デスオキシコール酸では, 雄は0.74, 1.06, 1.46, 2.04, 2.86および4.00 g/kg, 雌は1.93, 2.32, 2.78および3.33 g/kg, デヒドロコール酸では雄, 雌ともに5.50, 6.05, 6.60, 7.32および8.05 g/kg, コール酸ナトリウムでは雄, 雌ともに1.61, 1.93, 2.32, 2.78, 3.33および4.00 g/kg, デスオキシコール酸ナトリウムでは2.05, 2.26, 2.48, 2.73, 3.01, 3.31および3.64 g/kg, デヒドロコール酸ナトリウムでは雄, 雌ともに2.05, 2.26, 2.48, 2.73, 3.01, 3.31および3.64 g/kgで行った。

腹腔内投与では, 牛黄およびビリルビンは10%オリブ油懸濁液を, コール酸ナトリウムは2.5%水溶液を, デスオキシコール酸ナトリウムは0.7%水溶液を, それぞれ調製して投与液とし, 1群雄, 雌各10匹のマウスに腹腔内投与した。なお, 検体の投与量は牛黄では雄, 雌ともに255, 357, 500, 700および980 mg/kg, ビリルビンでは雄, 雌ともに1.0および2.0 g/kg, コール酸ナトリウムでは雄, 雌ともに104, 125, 150, 180, 216および259 mg/kg, デスオキシコール酸ナトリウムでは雄, 雌ともに24.1, 28.9, 34.7, 41.7および50.0 mg/kgで行った。なお各検体の投与時に対照群として1群雄, 雌各10匹のマウスを用意し検体の最高投与容量と同じ容量の各溶媒を投与した。

検体投与後, 動物の一般状態および死亡の観察は経口投与では7日間, 腹腔内投与では14日間行った。死亡動物および観察終了時の生存動物はすべて剖検所見を記録した。なお観察期間中の死亡動物数より Litchfield-Wilcoxon 法¹⁰⁾でそれぞれの LD₅₀ を算出した。

亜急性毒性試験: 牛黄およびデスオキシコール酸ナトリウムについて行った。

投与量は牛黄では LD₅₀ が 15 g/kg 以上と急性毒性値が弱いため, 中薬大辞典上の 0.6 g/kg/day の牛黄をマウスに12日間投与すると軽度な体重増加抑制が認め

られた¹¹⁾との記述を参考にして, 200, 600 および 1800 mg/kg/day の3用量を設定した。またデスオキシコール酸ナトリウムは LD₅₀ の 1/3 量を高用量として 50 および 200 mg/kg/day の2用量を設定した。両検体は5%アラビアゴム液で15%牛黄懸濁液および5%デスオキシコール酸ナトリウム液を調製し検体投与液とした。検体の投与は週2回測定した体重に基づいて投与量を算出して, 1群10匹の雄マウスに1日1回, 1ヵ月間連続してマウス用胃管を用いて経口投与した。なお対照群には, 1群20匹の雄マウスに5%アラビアゴム液(12 ml/kg/day)を投与した。

動物の一般状態および死亡は毎日観察し, 体重および摂餌量は週2回測定した。

投与1ヵ月目に各群の生存動物は, 全例屠殺前約15時間絶食させた後, 尿検査, 血液学的検査および血清生化学的検査を行い, その後屠殺し剖検, 器官重量の測定ならびに病理組織学的検査を行った。また各群より無作為に選んだ対照群10匹および各処置群5匹について肝臓の脂質成分を測定した。なお, 各種検査は下記のごとく行った。

尿検査: 動物の新鮮尿を採取し, ラブスティックスⅢ(マイルス・三共)を用いて, pH, 蛋白, グルコース, ケトン体および潜血を測定した。

血液学的検査: 眼窩静脈叢より採血し, コールター・カウンター SP 型(米国 Coulter Electronics)で赤血球数(RBC), ヘモグロビン量(Hgb), ヘマトクリット値(Hct), 平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球色素量(MCH), 平均赤血球色素濃度(MCHC), 血小板(PLT)および白血球数(WBC)を測定し, さらに白血球百分率はマイクロックA型(立石電気)で算出した。

血清生化学的検査: 血液学的検査終了後, 直ちに動物をエーテル麻酔下で頸部切断し血液を採取し, 分離した血清を用いて, ジェムサックIV型自動分析機(米国 Electro-Nucleonics)で総蛋白(T-PRO), アルブミン(ALB), A/G, 尿素窒素(BUN), グルコース(GLU), 遊離脂肪酸(NEFA), リン脂質(PL), トリグリセライド(TG), 総コレステロール(T-CHO), アルカリ性ホスファターゼ(ALP), GOT および GPT を測定した。

器官重量の測定: 屠殺した動物の剖検所見を記録したのち, 脳, 肺, 心臓, 肝臓, 腎臓, 脾臓および精巣の重量を測定し, 比重量を算出した。

病理組織学的検査: 重量を測定した器官および下垂体, 甲状腺, 気管, 食道, 胃, 十二指腸, 小腸, 大腸, 膀胱, 副腎, 膀胱, 精巣, 脊髄および坐骨神経等の器

官・組織を切片にして10%中性ホルマリン液に固定し、常法に従いヘマトキシリン-エオジン染色標本を作り鏡検した。

肝臓の脂質成分の測定；肝臓重量測定の後、直ちに外側左葉より肝臓の組織を0.5g精秤して遠沈管にとり、ホルチ液（クロロフォルム：メチルアルコール＝2：1）6mlと精製水1.5mlを加えてホモジネイトした後遠心し、上清のクロロフォルム層を取る。この操作を2回行ってクロロフォルム層を合わせ、クロロフォルム層より5mlを取りN₂気流中で乾燥し、ジメチルスルフォキシド1mlで乾燥物を溶解して脂質測定用の試料とした。脂質成分として遊離脂肪酸（NEFA, NEFA 試薬, 栄研化学）、リン脂質（PL, ホスホリピッドBテスト, 和光純薬）、トリグリセライド（TG, トリグリセライムV, 栄研化学）、総コレステロール（T-CHO, モノテスト・コレステロール, ペーリンガー・マンハイム山之内）および遊離コレステロール（F-CHO, フリー・コレステロール, ペーリンガー・マンハイム山之内）を測定した。

各群の血清生化学的検査値, 白血球百分率を除く血液学的検査値および器官重量の値の統計処理については、Bartlett'sの等分散の検定¹²⁾を行い等分散の場合には一元配置分散分析法で有意差が認められれば Scheffé型¹³⁾での多重比較を行い、等分散でない場合はKruskal-Wellis法¹⁴⁾で有意差が認められれば Scheffé型での多重比較を行った。

なお検体投与期間中にデスオキシコール酸ナトリウム50mg/kg/dayおよび200mg/kg/dayの各処置群で各1例投与ミスによる動物の死亡が認められたので、実験データよりこれらの動物のデータは除外した。

実験成績

1. 急性毒性試験

牛黄, ビリルビンおよび胆汁酸類の経口投与あるいは腹腔内投与によるマウスでのLD₅₀をTable 1に示す。

牛黄は経口投与では雄, 雌ともに技術的に投与できる最高用量の15g/kgでも動物の死亡は認められず, また発現する徴候もごく軽度な自発運動の抑制が見られるにすぎない。一方腹腔内投与ではLD₅₀が雄で440mg/kg, 雌で660mg/kgを示し, 発現する徴候は自発運動の抑制, 閉眼, 体温下降, 呼吸数の減少, 透明な粘液便の排泄が認められる。動物の死亡は投与後24時間目より7日目まで認められる。死亡動物の剖検では腹腔内臓器の癒着, 胃・小腸内に水様の内容物の貯留, 小腸の弛緩が見られ, さらに腸間膜の血管周囲

や腎周囲の脂肪組織に牛黄の不溶成分と思われる物質が取り込まれている所見が認められる。なお死をまぬがれた動物は比較的すみやかに回復を示すが, 2週間生存動物の剖検では260mg/kg以上の投与群に腸管と腹膜の癒着が認められる。

ビリルビンでは経口投与で15g/kgの投与量で, 腹腔内投与では2g/kgの投与量で動物の死亡はいずれも認められない。なお腹腔内投与した2週間生存動物の剖検では腸間膜の血管周囲と腎臓周囲の脂肪組織に投与した検体と思われる黄色物質の取り込みが見られる。

3種の胆汁酸およびそれらのナトリウム塩では, 経口投与の場合, デスオキシコール酸ナトリウムは, LD₅₀が雄で1.50g/kg, 雌で1.05g/kgと最も毒性が強く, デヒドロコール酸はLD₅₀が雄で6.40g/kg, 雌で7.05g/kgと最も弱い毒性を示す。なお, 用いた3種の胆汁酸はいずれもナトリウム塩で毒性が強く認められる。胆汁酸の中毒徴候としては共通して自発運動の抑制が認められるが, コール酸では下痢を, デヒドロコール酸では振戦と下痢を伴った。またデヒドロコール酸とその塩では死亡動物の肺にうっ血が認められる。腹腔内投与ではコール酸ナトリウムのLD₅₀は, 雄で164mg/kg, 雌で183mg/kgであり, デスオキシコール酸ナトリウムでは雄で36.0mg/kg, 雌で39.5mg/kgで, デスオキシコール酸ナトリウムの毒性が強い。発現する徴候は両者に差はなく, 投与直後に興奮状態, 閉眼, 腹臥, 下痢, 腹部膨大を示し, 死亡した動物の剖検では腹腔内臓器の癒着, 胃・小腸の充・うっ血および黒褐色水様内容物の貯留などが認められる。

2. 1カ月間経口亜急性毒性試験

i) 体重および摂餌量

牛黄では, 1800mg/kg/dayで投与初期より体重増加抑制が認められるが, 600mg/kg/day以下では体重増加に影響は見られない。

デスオキシコール酸ナトリウムは50mg/kg/dayで投与15日目ごろより, 200mg/kg/dayでは投与初期より体重増加抑制が認められる。

なお摂餌量については各群ともに著変をみない (Fig. 1)。

ii) 一般状態および動物の死亡

牛黄の各処置群共に投与期間中, 一般状態に変化は見られず, 動物の死亡も認められない。

デスオキシコール酸ナトリウムの各処置群では投与期間中, 検体投与直後ケージ内を駆け廻る興奮状態を示す動物が多く見られる。なお動物の死亡は200mg/kg/dayで投与後26日目および29日目にそれぞれ1例

Table 1. Summary of acute oral and intraperitoneal toxicity of drugs in mice

Drugs	Route	Concentration and vehicle	Observation period	Sex	L ₅₀ with 95% confidence limit (mg / kg)	Death time	Toxic signs
Oriental bezoar	Oral	20% susp. in 5% gum arabic soln.	7days	Male	> 15000	—	depression of spontaneous movement
	i.p. ^{a)}	10% susp. in olive oil	14days	Female	> 15000	—	depression of spontaneous movement and respiration, hypothermia, mucous stools
Bilirubin	Oral	10% susp. in 5% gum arabic soln.	7days	Male	440 (394-490)	24hr-7days	depression of spontaneous movement and respiration, hypothermia, mucous stools
	i.p.	10% susp. in olive oil	14days	Female	660 (452-964)	24hr-7days	subcutaneous congestion, adhesion of abdominal organs and tissues, atony of small intestine
Cholic acid	Oral	10% susp. in 5% gum arabic soln.	7days	Male	> 15000	—	depression of spontaneous movement
	i.p.	10% susp. in olive oil	14days	Female	> 15000	—	depression of spontaneous movement
Desoxycholic acid	Oral	10% susp. in 5% gum arabic soln.	7days	Male	> 2000	—	yellowish material attached to mesentery
	i.p.	10% susp. in olive oil	14days	Female	> 2000	—	yellowish material attached to mesentery
Dehydrocholic acid	Oral	10% susp. in 5% gum arabic soln.	7days	Male	4950(4030-5690)	3hr-3days	depression of spontaneous movement, diarrhea, hemorrhage in stomach and small intestine
	i.p.	10% susp. in olive oil	14days	Female	5400(4320-6750)	5hr-3days	depression of spontaneous movement, diarrhea, hemorrhage in stomach and small intestine
Sodium chololate	Oral	10% aqueous soln.	7days	Male	1800(1480-2200)	3hr-4days	depression of spontaneous movement, hemorrhage in stomach and small intestine
	i.p.	2.5% aqueous soln.	14days	Female	2540(2210-2920)	3hr-4days	depression of spontaneous movement, hemorrhage in stomach and small intestine
Sodium desoxycholate	Oral	10% aqueous soln.	7days	Male	6400(6010-6820)	24hr-3days	depression of spontaneous movement, diarrhea, tremor, congestion of lungs
	i.p.	2.5% aqueous soln.	14days	Female	7050(6500-7650)	4hr-3days	depression of spontaneous movement, diarrhea, tremor, congestion of lungs
Sodium dehydrocholate	Oral	10% aqueous soln.	7days	Male	2400(2120-2720)	1hr-24hr	depression of spontaneous movement, hemorrhage in stomach and small intestine
	i.p.	2.5% aqueous soln.	14days	Female	2600(2270-2970)	1hr-24hr	depression of spontaneous movement, hemorrhage in stomach and small intestine
Sodium desoxycholate	Oral	10% aqueous soln.	7days	Male	164 (134-200)	24hr-11days	excitation-laying on its abdomen, diarrhea, abdominal distension
	i.p.	0.7% aqueous soln.	14days	Female	183 (161-209)	4days-11days	congestion of stomach and small intestine, adhesion of abdominal organs and tissues, ascites, pleural effusion
Sodium dehydrocholate	Oral	10% aqueous soln.	7days	Male	1500(1210-1870)	1hr-3days	depression of spontaneous movement, hemorrhage in stomach and small intestine
	i.p.	0.7% aqueous soln.	14days	Female	1050(910-1210)	1hr-3days	depression of spontaneous movement, hemorrhage in stomach and small intestine
Sodium dehydrocholate	Oral	10% aqueous soln.	7days	Male	36.0 (32.0-40.5)	2days-8days	excitation-laying on its abdomen, diarrhea, abdominal distension
	i.p.	0.7% aqueous soln.	14days	Female	39.5 (34.6-45.0)	2days-13days	congestion of stomach and small intestine, adhesion of abdominal organs and tissues, ascites, pleural effusion
Sodium dehydrocholate	Oral	10% aqueous soln.	7days	Male	2800(2640-2980)	1hr-3days	depression of spontaneous movement, congestion of lungs
	i.p.	0.7% aqueous soln.	14days	Female	3010(2540-3200)	1hr-2days	depression of spontaneous movement, congestion of lungs

a) i.p., intraperitoneal

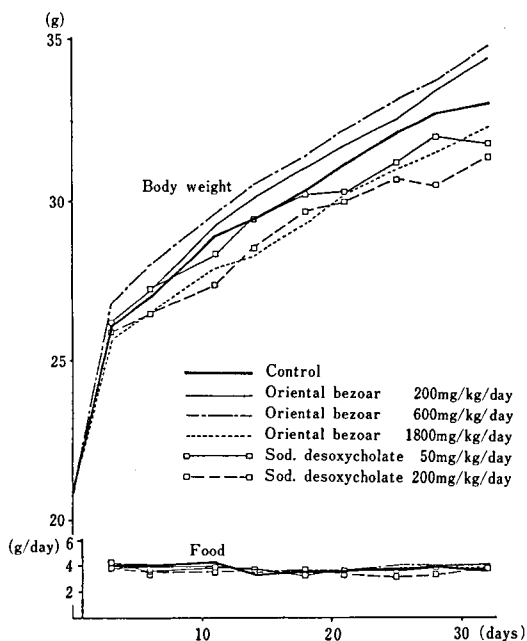


Fig. 1. Curves for growth and food consumption

Table 2. Hematological findings in male mice administered oriental bezoar and sodium desoxycholate for a month

Group	Control	Oriental bezoar(mg/kg/day)			Sod.desoxycholate(mg/kg/day)	
		200	600	1800	50	200
No. of animals	20	10	10	10	9	7
RBC ($\times 10^6$)	10.69 \pm 0.62	10.45 \pm 0.37	10.27 \pm 0.52	10.25 \pm 0.49	10.12 \pm 0.62	10.70 \pm 0.58
Hgb (g/dl)	16.3 \pm 0.9	16.4 \pm 0.6	16.3 \pm 0.8	16.5 \pm 0.6	16.3 \pm 0.7	16.9 \pm 1.0
Hct (%)	48.0 \pm 2.7	47.0 \pm 1.6	46.1 \pm 2.6	46.2 \pm 1.8	45.8 \pm 2.0	47.6 \pm 2.6
MCV (μm^3)	44.8 \pm 1.6	45.0 \pm 1.3	44.8 \pm 0.9	45.1 \pm 1.5	45.3 \pm 1.4	44.4 \pm 1.0
MCH (μg)	15.3 \pm 0.8	15.8 \pm 0.7	15.9 \pm 0.4	16.1 \pm 0.6	16.1 \pm 0.6	15.8 \pm 0.7
MCHC (%)	34.1 \pm 1.0	35.0 \pm 0.7	35.4 \pm 0.6**	35.6 \pm 0.8**	35.5 \pm 0.6**	35.6 \pm 0.8**
PLT ($\times 10^3$)	1240 \pm 343	1261 \pm 282	1429 \pm 349	1307 \pm 90	1366 \pm 201	1384 \pm 399
WBC ($\times 10^3$)	8.1 \pm 1.5	7.5 \pm 1.5	7.0 \pm 0.9	7.3 \pm 1.8	7.4 \pm 1.3	7.6 \pm 1.3
Differential (%)						
Baso	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Eosino	5.9 \pm 4.5	3.4 \pm 2.1	4.4 \pm 2.6	2.8 \pm 2.4	4.7 \pm 2.7	2.6 \pm 1.9
Neutro						
Band	0.8 \pm 0.9	1.0 \pm 1.1	1.1 \pm 1.4	0.5 \pm 0.6	0.8 \pm 1.0	0.9 \pm 0.7
Seg	17.0 \pm 7.4	20.9 \pm 12.4	21.1 \pm 9.4	17.7 \pm 9.0	21.9 \pm 5.9	24.0 \pm 21.8
Lympho	75.0 \pm 8.3	73.3 \pm 14.2	72.3 \pm 11.6	78.3 \pm 10.5	71.2 \pm 7.6	70.7 \pm 21.1
Mono	1.3 \pm 1.3	1.5 \pm 1.1	1.1 \pm 0.7	0.8 \pm 0.5	1.4 \pm 1.0	1.8 \pm 1.6

Values represent mean \pm S.D.Significantly different from control, * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

Table 3. Biochemical findings in male mice administered oriental bezoar and sodium desoxycholate for a month

Group	Control	Oriental bezoar(mg/kg/day)			Sod. desoxycholate(mg/kg/day)	
		200	600	1800	50	200
No. of animals	20	10	10	10	9	7
T-PRO (g/dl)	4.98 ± 0.43	4.85 ± 0.32	4.87 ± 0.39	4.92 ± 0.23	4.83 ± 0.31	4.82 ± 0.13
ALB (g/dl)	3.61 ± 0.22	3.44 ± 0.17	3.49 ± 0.25	3.51 ± 0.17	3.43 ± 0.22	3.54 ± 0.12
A/G	2.60 ± 0.33	2.50 ± 0.41	2.57 ± 0.32	2.52 ± 0.38	2.47 ± 0.23	2.79 ± 0.32
BUN (mg/dl)	33.9 ± 5.5	28.3 ± 5.4	26.0 ± 4.4*	28.6 ± 7.3	21.3 ± 3.2**	25.1 ± 6.0
GLU (mg/dl)	211 ± 37	176 ± 36	149 ± 17**	153 ± 24**	142 ± 28**	144 ± 20**
NEFA (mg/dl)	1.39 ± 0.28	1.50 ± 0.23	1.44 ± 0.20	1.38 ± 0.32	1.29 ± 0.29	1.21 ± 0.41
PL (mg/dl)	231 ± 22	230 ± 26	211 ± 37	209 ± 20	212 ± 19	185 ± 40*
TG (mg/dl)	158 ± 34	172 ± 33	127 ± 34	117 ± 26**	112 ± 14**	79 ± 26**
T-CHO (mg/dl)	94 ± 17	99 ± 19	97 ± 35	106 ± 12	103 ± 23	96 ± 34
ALP (mu/ml)	227 ± 55	219 ± 48	285 ± 91	296 ± 79	252 ± 84	468 ± 197*
GOT (mu/ml)	256 ± 120	405 ± 228	326 ± 112	353 ± 95	312 ± 95	542 ± 264*
GPT (mu/ml)	55 ± 21	70 ± 42	87 ± 32	95 ± 22	138 ± 159	373 ± 385**

Values represent mean ± S.D.

Significantly different from control, * p<0.05 ** p<0.01

Table 4. Absolute and relative organ weights of male mice administered oriental bezoar and sodium desoxycholate for a month

Group	Control	Oriental bezoar(mg/kg/day)			Sod. desoxycholate(mg/kg/day)	
		200	600	1800	50	200
No. of animals	20	10	10	10	9	7
(Absolute weight)						
Body weight (g)	31.0 ± 2.7	31.3 ± 1.8	32.6 ± 2.4	30.1 ± 1.6	30.1 ± 1.6	29.3 ± 1.8
Brain (g)	0.46 ± 0.02	0.45 ± 0.01	0.46 ± 0.03	0.46 ± 0.02	0.45 ± 0.01	0.47 ± 0.02
Heart (g)	0.15 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.02
Lung (g)	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.23 ± 0.05
Liver (g)	1.09 ± 0.11	1.14 ± 0.09	1.24 ± 0.11	1.23 ± 0.11	1.18 ± 0.12	1.33 ± 0.18**
Kidneys (g)	0.46 ± 0.05	0.46 ± 0.06	0.51 ± 0.07	0.47 ± 0.05	0.48 ± 0.07	0.44 ± 0.06
Spleen (g)	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.02
Testes (g)	0.22 ± 0.04	0.22 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.04	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.02
(Relative weight)						
Brain (g%)	1.51 ± 0.12	1.44 ± 0.10	1.42 ± 0.13	1.52 ± 0.12	1.51 ± 0.07	1.60 ± 0.10
Heart (g%)	0.49 ± 0.05	0.46 ± 0.03	0.44 ± 0.03	0.45 ± 0.03	0.47 ± 0.05	0.48 ± 0.09
Lung (g%)	0.65 ± 0.09	0.66 ± 0.07	0.68 ± 0.09	0.70 ± 0.05	0.65 ± 0.05	0.78 ± 0.16
Liver (g%)	3.53 ± 0.16	3.63 ± 0.22	3.82 ± 0.20	4.08 ± 0.18**	3.90 ± 0.29	4.57 ± 0.76**
Kidneys (g%)	1.48 ± 0.13	1.47 ± 0.17	1.57 ± 0.16	1.58 ± 0.18	1.58 ± 0.17	1.48 ± 0.13
Spleen (g%)	0.26 ± 0.02	0.25 ± 0.04	0.26 ± 0.04	0.24 ± 0.03	0.29 ± 0.08	0.27 ± 0.06
Testes (g%)	0.73 ± 0.14	0.70 ± 0.07	0.68 ± 0.05	0.70 ± 0.14	0.66 ± 0.04	0.73 ± 0.08

Values represent mean ± S.D.

Significantly different from control, * p<0.05 ** p<0.01

Table 5. Histopathological findings in male mice administered oriental bezoar and sodium desoxycholate for a month

Group	Control	Oriental bezoar (mg/kg/day)			Sod. desoxycholate (mg/kg/day)	
		200	600	1800	50	200
No. of animals	20	10	10	10	9	7 (2)
Liver						
Single cell necrosis, very slight					1	1
Kupffer's cell hypertrophy						1
Congestion						(1)
Vacuolization, moderate						1
Kidney						
Tubules, Epithelial cast	1			2	2	
Stomach						
Papillary hyperplasia		1				

Figures in parentheses show the number of dead animals

Table 6. Concentration of lipids in the liver of male mice treated with oriental bezoar and sodium desoxycholate for a month

Group	Control	Oriental bezoar(mg/kg/day)			Sod. desoxycholate(mg/kg/day)	
		200	600	1800	50	200
No. of animals	10	5	5	5	5	5
(mg / g Liver)						
NEFA	1.03 ± 0.09	1.18 ± 0.08	1.12 ± 0.15	1.02 ± 0.13	0.94 ± 0.15	0.82 ± 0.33
PL	6.39 ± 0.49	6.73 ± 0.40	6.73 ± 1.46	6.39 ± 0.38	5.83 ± 0.30	5.54 ± 0.57
TG	4.87 ± 0.91	6.51 ± 1.93	7.22 ± 1.33	4.84 ± 1.99	3.65 ± 1.49	2.94 ± 0.52
T-CHO	2.45 ± 0.23	2.52 ± 0.18	2.58 ± 0.37	2.42 ± 0.42	2.32 ± 0.18	2.24 ± 0.04
F-CHO	2.12 ± 0.13	1.94 ± 0.25	1.92 ± 0.38	1.95 ± 0.19	1.96 ± 0.16	2.02 ± 0.26

Values represent mean ± S.D.

認められる。それらの動物の剖検では胆嚢の拡張、小腸の弛緩が認められる。

iii) 血液学的所見

牛黄の 600 および 1800 mg/kg/day, デスオキシコール酸ナトリウムの 50 および 200 mg/kg/day で MCHC の増加が有意に認められるが、いずれも変化は軽微である。なお、その他の指標には変化は見られない (Table 2)。

iv) 血清生化学的所見および尿所見

牛黄の 200 mg/kg/day では変化は認められないが、600 mg/kg/day では BUN および GLU の減少が、1800 mg/kg/day では GLU および TG の減少が認められる。

デスオキシコール酸ナトリウムでは 50 mg/kg/day で BUN・GLU および TG の減少が、200 mg/kg/day

では GLU および TG の減少と ALP・GOT および GPT 活性の上昇が見られる (Table 3)。

なお尿検査では牛黄およびデスオキシコール酸ナトリウムの各処置群で変化は認められない。

v) 器官重量

牛黄の 1800 mg/kg/day の肝臓の比重量に増加が認められる。

デスオキシコール酸ナトリウムの 200 mg/kg/day の肝臓の実重量と比重量に増加が見られるが、その他の器官重量に変化は認められない (Table 4)。

vi) 剖検所見

牛黄およびデスオキシコール酸ナトリウムの各処置群に変化は認められない。

vii) 病理組織学的所見

各群の肝臓、腎臓および胃の組織学的所見を Table

5に示す。牛黄の各処置群では肝臓に変化が見られなかった。デソキシコール酸ナトリウムでは50 mg/kg/dayでは1例の肝臓に軽度な単細胞壊死が、200 mg/kg/dayでは1例の肝臓に軽度な単細胞壊死およびクッパー細胞の肥大が見られ、また充血あるいは空胞変性がそれぞれ1例の肝臓に見られる。その他の器官および組織に変化は認められない。

viii) 肝臓中の脂質成分への影響

肝臓中の脂質成分の分析をTable 6に示す。牛黄およびデソキシコール酸ナトリウムの各処置群では、いずれも変化は認められない。

考 察

牛黄の急性毒性については、体重20gのdd系雄マウスに2g/kgを経口投与して1週間観察したが死亡は見られないと云う報告⁷⁾がある。

また、胆汁酸類の急性毒性(LD₅₀)については経口の値がデヒドロコール酸はマウスで3100 mg/kg¹⁵⁾、ラットで4000 mg/kg¹⁵⁾、デヒドロコール酸ナトリウムはマウスで2150 mg/kg¹⁵⁾、デソキシコール酸ナトリウムはマウスで雄は1550 mg/kg、雌は1400 mg/kg¹⁶⁾、腹腔内投与による値はコール酸はマウスで330 mg/kg¹⁵⁾、デヒドロコール酸ナトリウムはマウスで1480 mg/kg¹⁵⁾、ラットは1100 mg/kg¹⁵⁾、デソキシコール酸はマウスで130 mg/kg¹⁵⁾、デソキシコール酸ナトリウムはマウスで雄は75 mg/kg、雌は80 mg/kg¹⁶⁾が知られている。

今回の牛黄の急性毒性は経口投与では15 g/kgの投与でも動物の死亡が認められず、経口毒性が極めて低いことが示された。一方腹腔内投与ではLD₅₀が雄で440 mg/kg、雌で660 mg/kgを示し、経口に比し著しい差がみられた。

ビリルビンでは経口投与では15 g/kgで、腹腔内投与では2 g/kgでいずれも動物の死亡が認められなかったことから、腹腔内投与で示される牛黄の毒性は、牛黄に50%近く含まれるビリルビンの関与はほとんど無く、むしろ10%前後含まれている胆汁酸類の作用が主体をなしていると考えられる。

牛黄と胆汁酸塩の腹腔内投与に見られた消化管への影響は、牛黄は透明な粘液便の排泄が投与2時間目より24時間目まで認められた。このことは消化管粘膜、殊に下部消化管の強い炎症性変化が考えられる。一方胆汁酸は牛黄と異なり下痢が投与後24時間以降5日目まで見られており、牛黄と胆汁酸の消化管に対する作用の強さに違いが示された。

胆汁酸類の毒性の強さはデソキシコール酸、コー

ル酸、デヒドロコール酸の順であり、それらのナトリウム塩も同様の順序であった。今回のLD₅₀は既知のLD₅₀とかならずしも一致しない場合も見られるが、毒性の強さの順序に相違はなかった。なお用いた胆汁酸のうちデヒドロコール酸はコール酸を酸化して製した物質であり天然の胆汁酸ではない。このデヒドロコール酸は用いた胆汁酸のうちで毒性が最も弱く、また肺にうっ血を生じるなど、他の胆汁酸との違いを認めた。

牛黄の亜急性毒性については、マウスに経口で0.6 g/kg/dayの7日間投与では異常は見られないが、12日間以上の投与では体重増加抑制を示す報告¹¹⁾が知られているがその詳細は不明であった。

今回の牛黄の亜急性毒性では600 mg/kg/dayで体重増加抑制が見られず、さきの報告より毒性の発現が弱いように見られるが、肝臓重量の増加、血清グルコースおよびトリグリセライドの減少等新しい知見を得た。血清グルコースおよびトリグリセライドの減少は、牛黄の投与が糖および脂質代謝に影響を与えていると思われるが、肝臓の脂質成分に変化がみられていないことから、脂質代謝への影響よりも糖代謝への影響が強いように思われた。また牛黄およびデソキシコール酸ナトリウムの両群とも肝臓重量の軽度な増加が見られたが、この変化と明かに対応するような、生化学的あるいは組織学的所見は認められなかった。

なお、生化学的検索において血清尿素窒素の減少、組織学的検索で腎臓および胃にごく軽微な変化がみられたが、これらの変化はその程度、頻度および用量関係などからみて検体投与による影響とは考えられなかった。

牛黄は造血作用のあることが報告されている³⁾が、今回の成績では血液に対する影響は平均赤血球血色素濃度がごく軽度に増加したにすぎなかった。

なお牛黄の1800 mg/kg/dayとデソキシコール酸の50 mg/kg/dayはほぼ同様の変化を示し、牛黄の連続投与による毒性発現は、胆汁酸に帰因することが示唆された。

デソキシコール酸ナトリウムの亜急性毒性については経口投与の報告はなく、腹腔内投与の報告¹⁶⁾があるが、投与経路が異なるため参考にはならなかった。デソキシコール酸ナトリウムの高用量の投与では、牛黄に見られた変化に加え、血清リン脂質の減少、血清ALP・GOTおよびGPT活性の上昇が見られ、さらに肝臓に軽度な単細胞壊死等が見られたことから、これらの変化はデソキシコール酸ナトリウムの肝細胞あるいは肝細胞膜への直接作用に基づくものと思われる。

る。

ま と め

牛黄およびその関連化合物の急性毒性と、牛黄およびデスオキシコール酸ナトリウムの1ヵ月間経口亜急性毒性について ddY 系マウスを用いて検討した。

牛黄の急性毒性は経口投与では雄、雌とも 15 g/kg の投与で動物の死亡は認められなかったが、腹腔内投与では LD₅₀ は雄で 440 mg/kg, 雌で 660 mg/kg であった。ビリルビンでは雄、雌とも経口投与で 15 g/kg, 腹腔内投与で 2 g/kg でいずれも動物の死亡は見られなかった。胆汁酸では急性毒性の強さはデスオキシコール酸、コール酸、デヒドロコール酸の順であり、さらにそれぞれのナトリウム塩では毒性がより強くなる。

牛黄およびデスオキシコール酸ナトリウムの1ヵ月間経口亜急性毒性は、牛黄では軽度な体重増加抑制、血清グルコースおよびトリグリセライドの減少、肝臓重量の比重量の増加が主たる変化であり、200 mg/kg/day では影響は認められなかった。一方デスオキシコール酸ナトリウムでは 200 mg/kg/day では動物の死亡も認められ、体重増加抑制、血清グルコース、リン脂質およびトリグリセライドの減少、血清 ALP・GOT および GPT 活性の上昇、肝臓重量の増加が見られた

が、肝臓はごく軽度な障害がみられたにすぎない。この結果牛黄の影響の大部分が、その成分中に含まれるデスオキシコール酸ナトリウムに帰因することを示唆するものと考えられた。

文 献

- 1) 高橋真太郎ら：薬学研究, **32**, 523 (1960)
- 2) 志甫伝逸ら：薬誌, **83**, 882 (1963)
- 3) 杉本重利：日薬物誌, **21**, 23, 40 (1935)
- 4) 杉本重利：満州医誌, **33**, 1157 (1940)
- 5) 羽野 寿ら：日薬理誌, **40**, 433 (1944)
- 6) 岩城利一郎ら：日薬理誌, **60**, 529 (1940)
- 7) 岩城利一郎ら：薬誌, **85**, 899 (1965)
- 8) 木村正康ら：薬誌, **87**, 550 (1967)
- 9) 木村正康ら：薬誌, **86**, 877 (1966)
- 10) L. H. Litchfield, F. Wilcoxon: *J. Pharmacol. Expt. Therap.*, **96**, 99 (1949)
- 11) 江蘇新医学院編：中薬大辞典, p.414 (1977) 上海科学技術出版
- 12) 畑村又好ら共訳：統計的方法, p.282 (1980) 岩波書店
- 13) H. Sheffé: *Biometrics*, **40**, 87 (1964)
- 14) W. H. Kraskal and W. A. Wallis: *J. Am. Statistic. Assoc.*, **47**, 583 (1952)
- 15) NIOSH: *Registry of Toxic Effect of Chemical Substance* (1984)
- 16) Y. Nagasaka et al.: *Pharmacokinetics*, **3**, 45 (1969)

家庭用品に使用されている化学物質の急性毒性試験（その2）

池田康和・鎌田栄一・会田喜崇・内藤克司
鈴木康雄・戸部満寿夫

Acute Toxicity of Chemicals in Household Goods (II)

Yasukazu IKEDA, Eiichi KAMATA, Yoshitaka AIDA, Katsusi NAITO,
Yasuo SUZUKI and Masuo TOBE

Acute oral and percutaneous LD₅₀ studied of 10 chemicals used in household goods (1 fire retardant, 2 fertilizers, 4 surfactants, 3 water repellents) were carried out in male and female ddY mice.

The oral LD₅₀ values of 2-trifluoromethyl-4-(2,4,5-trichlorophenoxy)-5,7-dichlorobenzimidazole were 35.3 mg/kg in male and 37.0 mg/kg in female. It was found to be the most toxic among the 10 chemicals examined.

The acute LD₅₀ values of Stearyltrimethyl ammonium chloride were 663 mg/kg in male and 536 mg/kg in female on oral administration and 1600 mg/kg in male and 1820 mg/kg in female on percutaneous administration. It indicated the highest toxicity among the 4 surfactants examined.

Methyl hydrogen siloxane was less toxic than other the 2 water repellents in this study. It acute oral and percutaneous LD₅₀ values were over 100000 mg/kg and 10000 mg/kg in mice of both sexes.

(Received May 31, 1985)

家庭用品に使用されている化学物質の安全性評価のために、各種の毒性試験が実施されている。今回は、防炎加工剤1種、防虫加工剤2種、界面活性剤4種、撥水剤3種についてマウスを用いた経口急性毒性試験および経皮急性毒性試験を行った。

実験方法

1. 動物: Slc: ddY マウス(静動協)雄, 雌を4週齢で購入し, 動物室で馴化した後経口投与試験には5週齢を, 経皮投与試験では6週齢を各々1群10匹として使用した。なお動物はコンベンショナルな動物舎で飼育した。動物室の環境条件は室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $60 \pm 10\%$, 照明は点灯午前6時の12時間照明とした。

2. 被験物質: 用いた化学物質は, mono and bis (2,3-dibromopropyl) ammonium phosphate (防炎加工剤, Nonnen B-74, 純度 80%, 淡褐色液体, 丸菱油化工業), polychloro-2-(chloromethylsulfonamido)-diphenyl ether (防虫加工剤, Eulan U-33, 純度 33%, 淡褐色液体, Bayer 社), 2-trifluoromethyl-4-(2,4,5-trichlorophenoxy)-5,7-dichlorobenzimidazole (防虫加工剤, Mitin LA, 5%褐色水溶液, Ciba Geigy 社), stearyltrimethyl ammonium chloride (界面活性剤, 27.5%白色乳液, 花王石鹸), condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrin (界面活性剤, 9.9%淡褐色乳液, 花王石鹸), polyoxyethylene (30) nonylphenyl ether (界面活性剤, ワックス状, 白色, 花王石鹸), stearyldimethylcarboxymethyl ammonium hydroxide (界面活性剤, 27.8%白色乳液, 花王石鹸), stearate chromic chloride (撥水剤, 25%イソプロピルアルコール溶液, 緑色, 一方油脂社), stearylamidomethyl pyridinium chloride (撥水剤, ワックス状, 白色, 純度70%, 一方油脂社), methyl hydrogen siloxane (撥水剤, KF-99, 無色透明液体, 信越シリコン社)の10種類である。

なお, condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrin は凍結乾燥により粉末状にしたものを使用した。

各被験物質の投与用量は各々 Table 1~18 に示した。各被験物質は経口投与では Table 19 に示す濃度で投与容量を変えて, マウス用金属製胃管を付した注射筒を用いて1回強制経口投与した。なお動物は被験物質投与に際し投与16時間前より投与後6時間目まで除餌した。なお, その間も飲水は自由に摂取させた。

経皮投与ではガラス製ノズル(ノズル幅 1 cm)を付した注射筒を用いて塗布前日に電気バリカンで剪毛した背部皮膚の 1×2 cm の幅に最高 0.1 ml/10 g 体

重の用量を Table 20 に示す濃度で1回塗布した。なお, 予備試験で死亡の認められなかった被験物質については技術的に可能な最高用量を塗布した。対照群には被験物質の最高投与用量と同じ用量の各溶媒を投与した。検体投与後の動物の一般状態の観察ならびに死亡動物数の記録は徴候の回復が認められる1週目あるいは2週目まで行った。死亡動物ならびに観察終了時の生存動物はすべて剖検し, 所見を記録した。実験期間中に死亡した動物数より Litchfield-Wilcoxon 法¹⁾を用いて LD_{50} 値を算出した。なお, LD_{50} 値は原体に換算した値で示した。

結果

A. 防炎加工剤

1. Mono and bis (2,3-dibromopropyl) ammonium phosphate

a. 経口: 雄, 雌ともに投与直後より各投与群に自発運動の抑制が見られる。さらに雄の 449 mg/kg 以上の群, 雌の 265 mg/kg 以上の群では閉眼, 歩行失調, 体温の低下が見られる。死をまぬがれた動物のこれらの徴候は, 雄では4日目までに回復を示すが, 雌では観察終了時の投与後7日目まで自発運動の抑制が見られる。動物の死亡は3時間目より始まり雄では5日目までに, 雌では3日目までに終了する (Table 1)。死亡動物の剖検では24時間目までの死亡動物では胃にびらんおよび潰瘍が見られる。また24時間目以降の死亡動物では腸管の癒着, 肝臓および腎臓に鬱血が見られる。7日間生存動物の剖検では肝臓の黄緑色化および腫大, 脾臓の腫大が認められる。

死亡動物数より算出した mono and bis (2,3-dibromopropyl) ammonium phosphate の経口 LD_{50} 値とその95%信頼限界は雄では 436(376~506) mg/kg, 雌では 243(223~265) mg/kg である。

b. 経皮: 雄, 雌とも塗布直後より各投与群に自発運動の抑制, 閉眼が見られ, 高用量群では腹這い状態, 歩行困難も認められる。なお, これらの徴候は6日目以降11日目までには回復する。動物の死亡は3時間目より始まり雄では6日目に, 雌では4日目に終了する (Table 2)。死亡動物の剖検所見では24時間目以内に死亡した動物では肝臓に鬱血が, 24時間目以降の死亡動物では塗布部皮下の血管拡張, 肝臓の腿色あるいは鬱血, 腎臓の腿色が見られる。14日間生存動物の剖検所見は雄, 雌ともに若干の例に肝臓の腿色が見られる。

死亡動物数より算出した mono and bis (2,3-dibromopropyl) ammonium phosphate の経皮 LD_{50} 値とその95%信頼限界は雄では 4092(3556~4613) mg/kg,

Table 1. Mortality of mice orally administered with mono and bis (2,3-dibromopropyl) ammonium phosphate

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths		
			Hours				Days								
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6		7	
Male	257	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	296	10	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	341	10	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
	391	10	0	0	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	4
	449	10	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	518	10	0	3	5	1	0	1	-	-	-	-	-	-	10
Female	211	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	237	10	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
	265	10	0	6	2	0	0	0	2	-	-	-	-	10	
	296	10	0	3	4	0	0	1	1	0	0	0	0	9	
	332	10	0	7	2	0	0	1	-	-	-	-	-	10	

Table 2. Mortality of mice with a percutaneous application of mono and bis (2,3-dibromopropyl) ammonium phosphate

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead											Total No. of deaths		
			Hours			Days										
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7	8-14			
Male	2485	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2991	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3586	10	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3
	4300	10	0	0	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	5163	10	0	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	6205	10	0	1	6	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	9
	7440	10	0	0	5	2	2	0	0	0	1	-	-	-	10	
Female	2485	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2991	10	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	3586	10	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	4	
	4300	10	0	0	4	1	3	0	1	0	0	0	0	0	9	
	5163	10	0	0	6	3	0	0	0	0	0	0	9	9		
	6205	10	0	1	6	2	0	0	1	-	-	-	-	10		
	7440	10	0	7	3	-	-	-	-	-	-	-	-	10		

雌では 3794(3333~4330) mg/kg である。

B. 防虫加工剤

1. Polychloro-2-(chloromethyl sulfonamido)-diphenyl ether

a. 経口：雄、雌とも低用量群(98~139 mg/kg)では投与後1時間目より自発運動の抑制、腹這い状態が

見られる。中用量群では、これらの徴候が投与直後より見られ、さらに跳躍を示す例が見られる。高用量群(343~492 mg/kg)ではさらに水様性の下痢を伴う。死をまぬがれた動物のこれらの徴候は雄、雌とも12時間目より2日目までに回復する。死亡する動物はすべて死の直前に跳躍、四肢の硬直を示し、死亡は投与1

Table 3. Mortality of mice orally administered with polychloro-2-(chloromethylsulfonamido)-diphenyl ether

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths		
			Hours				Days								
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6		7	
Male	95	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	116	10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	139	10	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	165	10	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	198	10	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
	238	10	1	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	284	10	1	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8
	343	10	5	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Female	95	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	116	10	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	139	10	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
	165	10	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
	198	10	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
	238	10	1	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	284	10	1	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	343	10	3	2	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	8
409	10	7	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	

時間目より始まり雄では8時間目まで、雌では3日目までに終了する (Table 3)。死亡動物の剖検では肺に軽度な鬱血が見られる。7日間生存動物の剖検では腎臓に臍色が散見されるが他に変化を認めない。

死亡動物数より算出した polychloro-2-(chloromethylsulfonamido) diphenyl ether の経口 LD₅₀ 値とその95%信頼限界は雄では 201(165~246) mg/kg, 雌では 205(173~242) mg/kg である。

b. 経皮: 雄では 215 mg/kg 以上の群で自発運動の抑制および塗布部皮膚の紅斑が投与直後より見られる。雌では 149 mg/kg 以上の群の1例に塗布部の紅斑が見られる。動物の死亡は雄、雌ともに腹這いの状態のまま6時間目以降24時間目までに見られる (Table 4)。

死亡動物数より算出した Polychloro-2-(chloromethylsulfonamido) diphenyl ether の経皮 LD₅₀ 値とその95%信頼限界は雄では 309(244~389) mg/kg, 雌では 292(226~376) mg/kg である。

2. 2-trifluoromethyl-4-(2, 4, 5-trichlorophenoxy)-5, 7-dichlorobenzimidazole

a. 経口: 雄、雌とも投与後5~20分より各投与群に自発運動の抑制が見られ、さらに腹這い、うずくまりの状態が散見される。動物の死亡は後肢伸展の状態

で投与後30分より始まり、雄では24時間目まで、雌では3日目まで見られる (Table 5)。死をまぬがれた動物のこれらの徴候は雌雄とも24時間目までに回復を示す。死亡動物の剖検では肝小葉の明瞭化が散見される。7日間生存動物の剖検では変化は見られない。

死亡動物数より算出した 2-trifluoromethyl-4-(2, 4, 5-trichlorophenoxy)-5, 7-dichlorobenzimidazole の経口 LD₅₀ 値とその95%信頼限界は、雄では 35.3(30.6~41.2) mg/kg, 雌では 37.0(31.4~43.7) mg/kg である。

C. 界面活性剤

1. Stearyltrimethyl ammonium chloride

a. 経口: 雄、雌ともに投与直後より各投与群に自発運動の抑制が見られ、さらに立毛、発声、閉眼および水様性の下痢が見られる。死をまぬがれた動物のこれらの徴候は雌雄ともに2~5日目までに回復を示す。動物の死亡は雄では3時間目より4日目までに、雌では6時間目より3日目までに見られる。なお動物は歩行失調を示した後、うずくまり状態のまま死亡する (Table 6)。死亡動物の剖検では胃粘膜の点状出血、十二指腸に充出血が見られる。7日間生存動物の剖検では特に変化は認められなかった。

Table 4. Mortality of mice with a percutaneous application of polychloro-2-(chloromethylsulfonamido)-diphenyl ether

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths	
			Hours			Days								
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		
	66	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	99	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	149	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	215	10	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
	330	10	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	5
	495	10	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	9
	743	10	0	0	0	10	-	-	-	-	-	-	-	10
	66	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	99	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	149	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	215	10	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
	330	10	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	6
	495	10	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	9
	743	10	0	0	0	10	-	-	-	-	-	-	-	10

死亡動物数より算出した Stearyltrimethyl ammonium chloride の経口 LD₅₀ 値とその 95%信頼限界は雄では 633(550~728)mg/kg, 雌では 536(479~600)mg/kg である。

b. 経皮：雄、雌ともに塗布部皮膚の紅斑が直後より各投与群に見られ、814 mg/kg 以上の群では、さらに自発運動の抑制が見られる。塗布後 1~3 日目ごろより塗布部皮膚は茶褐色化し、硬結あるいは肥厚を伴う。7~9 日目ごろより肥厚硬化した表皮は剝離し、脱毛や湿潤が見られる。またその他の部分で粗毛が見られるが 5~7 日目までに回復を示す。動物の死亡は 2 日目より始まり雄では 7 日目、雌では 6 日目までに終了する (Table 7)。死亡動物の剖検では塗布部の皮下血管の拡張が認められる。14 日間生存動物の剖検では塗布部皮膚の皮下血管の拡張が認められる。

死亡動物数より算出した stearyltrimethyl ammonium chloride の経皮 LD₅₀ 値とその 95%信頼限界は、雄では 1600(1190~2140) mg/kg, 雌では 1820(1300~2540) mg/kg である。

2. Condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrin

a. 経口：雄、雌ともに投与直後より 3 時間目まで各投与群に自発運動の抑制が見られるが、24 時間目までには回復を示す。なお動物の死亡は観察終了時まで

1 例も認められず (Table 8)、7 日間生存動物の剖検でも変化は認められない。したがって経口 LD₅₀ 値は雄、雌ともに 3000 mg/kg 以上である。

b. 経皮：3000 mg/kg を塗布しても雄、雌とも一般状態に変化は認められない。また動物の死亡は観察終了時までには 1 例も認められない (Table 9)。また 7 日間生存動物の剖検でも変化は認められない。したがって LD₅₀ 値は雄、雌ともに 3000 mg/kg 以上である。

3. Polyoxyethylene (30) nonylphenyl ether

経口：雄、雌ともに 12500 mg/kg 以上の群で軟便と肛門周囲の汚染が見られる。さらに 25000 mg/kg 以上の群では投与直後にうずくまりを示すが 12 時間目までには回復を示す。なお、動物の死亡は観察終了時までには 1 例も認められず (Table 10)、7 日間生存動物の剖検でも変化は認められない。したがって polyoxyethylene (30) nonylphenyl ether の経口 LD₅₀ 値は雄、雌ともに 50000 mg/kg 以上である。

4. Stearyldimethylcarboxymethyl ammonium hydroxide

a. 経口：雄、雌ともに 3860 mg/kg 以上の群で投与直後より自発運動の抑制、腹這い状態、軟便、肛門周囲の汚染および粗毛がみられる。死をまぬがれた動物のこれらの徴候は 3860~4630 mg/kg 群では 5~6

Table 5. Mortality of mice orally administered with 2-trifluoromethyl-4-(2,4,5-trichlorophenoxy)-5,7-dichlorobenzimidazole

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths		
			Hours				Days								
			1	3	6	8	1	2	3	4	5	6		7	
Male	20.9	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25.0	10	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	30.0	10	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	36.0	10	0	4	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	6
	43.2	10	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	51.9	10	6	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9
	62.2	10	4	4	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Female	20.9	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25.0	10	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	30.0	10	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	5
	36.0	10	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5
	43.2	10	1	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	51.9	10	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7
	62.2	10	0	7	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	9
	74.7	10	8	0	0	0	2	-	-	-	-	-	-	-	10

Table 6. Mortality of mice orally administered with stearyltrimethyl ammonium chloride

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths		
			Hours				Days								
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6		7	
Male	363	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	417	10	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	480	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	552	10	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0
	635	10	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5
	730	10	0	2	6	0	0	2	-	-	-	-	-	-	10
Female	363	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	417	10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	480	10	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	3
	552	10	0	0	2	0	5	0	3	-	-	-	-	-	10

時間目までに、5560 mg/kg 以上の群では4~6日目までに回復を示す。動物の死亡は腹這いの状態のまま3時間目より始まり、雄では3日目、雌では2日目までに終了する (Table 11)。死亡動物の剖検では肝小葉の明瞭化、腎臓の三層の不明瞭化が各々散見される。7日間生存動物の剖検では変化は認められない。

死亡動物数より算出した stearyldimethylcarboxy-

methyl ammonium hydroxide の経口 LD₅₀ 値とその95% 信頼限界は、雄では 4360(3490~5460) mg/kg、雌では 4590(4090~5140) mg/kg である。

b. 経皮：雄、雌ともに塗布後24時間目より塗布部皮膚に紅斑が見られ、2日目より皮膚は硬結あるいは肥厚し、さらに3日目では脱毛が見られる。4日目以降これらの所見は軽減するが、14日目の観察終了時で

Table 7. Mortality of mice with a percutaneous application of stearyltrimethyl ammonium chloride

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead											Total No. of deaths	
			Hours						Days						
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7	8-14		
Male	545	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	814	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	1221	10	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2	
	1834	10	0	0	0	0	0	0	3	0	1	1	0	5	
	2750	10	0	0	0	0	1	2	4	2	0	0	0	9	
Female	545	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	814	10	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
	1221	10	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	0	4	
	1834	10	0	0	0	0	1	2	1	0	1	0	0	5	
	2750	10	0	0	0	0	5	2	0	0	0	0	0	7	

Table 8. Mortality of mice orally administered with condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrin

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead											Total No. of deaths	
			Hours				Days								
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6	7		
Male	15000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	15000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	30000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 9. Mortality of mice with a percutaneous application of condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrin

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead											Total No. of deaths
			Hours						Days					
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		
Male	3000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	3000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

も脱毛部位の回復は完全でない。雄、雌ともに動物の死亡は観察期間中1例も認められず (Table 12), 14日間生存動物の剖検でも、塗布部の変化以外は特に変化は認められない。

したがって stearyldimethylcarboxymethyl ammonium hydroxide の経皮 LD₅₀ 値は 2780 mg/kg 以上

である。

D. 撥水剤

1. Stearate chromic chloride

a. 経口：雄、雌ともに投与直後軽度な自発運動の亢進が各投与群に見られた後自発運動の抑制、腹這い、立毛が認められる。これらの徴候は 1510 mg/kg 以下

Table 10. Mortality of mice orally administered with polyoxyethylene (30) nonylphenyl ether

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead											Total No. of deaths	
			Hours				Days								
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6	7		
Male	3130	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6250	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12500	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	3130	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6250	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12500	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 11. Mortality of mice orally administered with stearyldimethylcarboxymethyl ammonium hydroxide

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead											Total No. of deaths	
			Hours				Days								
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6	7		
Male	3220	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3860	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4630	10	0	0	1	2	0	1	1	0	0	0	0	5	
	5560	10	0	0	0	2	3	1	3	0	0	0	0	9	
	6670	10	0	4	1	2	2	0	1	-	-	-	-	10	
	8010	10	0	1	0	3	6	-	-	-	-	-	-	10	
	9610	10	0	2	3	3	2	-	-	-	-	-	-	10	
	11570	10	0	6	3	1	-	-	-	-	-	-	-	10	
Female	3220	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3860	10	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0		
	4630	10	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5		
	5560	10	0	1	0	0	0	7	0	0	0	0	8		
	6670	10	0	2	2	0	6	-	-	-	-	-	10		
	8010	10	0	4	0	1	5	-	-	-	-	-	10		
	9610	10	0	4	3	3	-	-	-	-	-	-	10		
	11570	10	0	7	3	-	-	-	-	-	-	-	10		

の群では5~12日までに回復する。1740 mg/kg 以上の群では6~12日までに回復する。一方、被験物質にはイソプロピルアルコールが10%含まれているので、対照群には10%イソプロピルアルコールを被験物質投与の最高投与容量 (26.5 ml/kg) に合わせて投与した。イソプロピルアルコールの投与群では雄、雌ともに投

与直後より一過性の軽度な自発運動の亢進が認められたが6時間目までには回復する。動物の死亡は雄では12時間目より始まり7日目までに終了し、雌では1時間目より始まり4日目までに終了する (Table 13)。死亡動物の剖検では前胃部に偽膜形成、肝臓の腿色・黄色斑が見られる。14日間生存動物の剖検では1320

Table 12. Mortality of mice with a percutaneous application of stearyldimethylcarboxymethyl ammonium hydroxide

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead											Total No. of deaths	
			Hours			Days									
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7	8-14		
Male	2780	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	2780	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 13. Mortality of mice orally administered with stearate chromic chloride

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead											Total No. of deaths	
			Hours				Days								
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6	7		8-14
Male	750	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	860	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	990	10	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2
	1140	10	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2
	1320	10	0	0	0	0	0	6	2	0	0	0	0	0	8
	1510	10	0	0	0	0	0	2	3	1	0	0	1	0	7
	1740	10	0	0	0	0	1	2	3	1	0	0	0	0	7
	2000	10	0	0	0	2	1	6	0	1	-	-	-	-	10
Female	750	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	860	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	990	10	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0	0	4
	1140	10	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	3
	1320	10	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	2
	1510	10	0	0	0	0	0	3	2	0	1	0	0	0	6
	1740	10	0	0	0	0	0	1	2	1	1	0	0	0	5
	2000	10	1	0	0	0	3	4	2	-	-	-	-	-	10

mg/kg 以上の群で胃壁の肥厚，胃粘膜に被験物質の付着が認められる。また，胃と肝臓の癒着および精巢の萎縮も若干例に認められる。

死亡動物数より算出した stearate chromic chloride の経口 LD₅₀ 値とその 95% 信頼限界は雄では 1280 (1150~1420)mg/kg，雌では 1580(1260~1980)mg/kg である。

b. 経皮：雄，雌ともに塗布直後より被験物質が背部皮膚に固着しているが，5日目までには脱落する。なお，雌では9時間目より塗布部皮膚の軽度な肥厚が認められる。7日間の観察期間中雄，雌ともに動物の死亡は1例も認められない (Table 14)。7日間生存

動物の剖検では背部皮膚に軽度な肥厚が見られる他に特に変化は認められない。

したがって stearate chromic chloride の経皮 LD₅₀ 値は雄，雌ともに 2500 mg/kg 以上である。

2. Stearylamidomethyl pyridinium chloride

a. 経口：雄の 810 mg/kg 群では投与後直ちに立毛が見られるが，3時間目までには回復する。また雄の 970 mg/kg 以上の群，雌の 1170 mg/kg 以上の群では投与後直ちに自発運動の抑制，立毛，腹這いが見られる。死をまぬがれた動物のこれらの徴候は，3~10時間目までに回復を示す。動物の死亡は雄の 1170 mg/kg の1例が投与5日目に死亡した他は，雌雄とも

Table 14. Mortality of mice with a percutaneous application of stearate chromic chloride

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths	
			Hours			Days								
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		
Male	2500	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	2500	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 15. Mortality of mice orally administered with stearylamidomethyl pyridinium chloride

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths	
			Hours				Days							
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6		7
Male	810	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	970	10	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	1170	10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	1400	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	1680	10	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
	2020	10	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	2420	10	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
	2910	10	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Female	810	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	970	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1170	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1400	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	1680	10	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
	2020	10	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	2420	10	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10

投与直後より1時間以内に終了し、跳躍あるいは痙攣の後に死亡する (Table 15)。死亡動物の剖検では5日目に死亡した雄の1例に肝臓に軽度な鬱血が見られる他は特に変化を認めない。7日間生存動物の剖検では雄の1170 mg/kg以上の群のほとんどの例と雌の1680および2020 mg/kgの各1例に胃と脾臓の癒着が見られる。

死亡動物数より算出した stearylamidomethyl pyridinium chloride の経口 LD₅₀ 値とその95%信頼限界は雄では1820(1490~2200)mg/kg, 雌では1820(1600~2070)mg/kgである。

b. 経皮: 雄, 雌ともに塗布直後自発運動の抑制が見られる。なお塗布部位に変化は見られない。動物の

死亡は1例も認められず (Table 16), 7日間生存動物の剖検でも特に変化は認められない。

したがって stearylamidomethyl pyridinium chloride の経皮 LD₅₀ 値は雄, 雌ともに4900 mg/kg以上である。

3. Methyl hydrogen siloxane

a. 経口: 雄, 雌ともに30000 mg/kg群では投与後2時間目より, 40000 mg/kg以上の群では30分目より肛門から被験物質の排泄が見られ, その後被毛に付着し油污れ状態を呈するが, 動物の一般状態に変化は見られない。なお, 被毛の油污れは2日目までには消失する。動物の死亡は1例も認められない (Table 17)。7日間生存動物の剖検でも特に変化を認めない。した

Table 16. Mortality of mice with a percutaneous application of stearylamidomethyl pyridinium chloride

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths	
			Hours			Days								
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		
Male	4900	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	4900	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 17. Mortality of mice orally administered with methyl hydrogen siloxane

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths	
			Hours				Days							
			1	3	6	12	1	2	3	4	5	6		7
Male	30000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	30000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 18. Mortality of mice with a percutaneous application of methyl hydrogen siloxane

Sex	Doses (mg/kg)	No. of rats	No. of animals dead										Total No. of deaths	
			Hours			Days								
			1	3	6	1	2	3	4	5	6	7		
Male	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	10000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

がって methyl hydrogen siloxane の経口 LD₅₀ 値は雄、雌ともに 100000 mg/kg 以上である。

b. 経皮：10000 mg/kg の塗布により雄、雌ともに一般状態に特に変化は認められず、また動物の死亡も見られない (Table 18)。7日間生存動物の剖検でも特に変化は認めない。

したがって methyl hydrogen siloxane の経皮 LD₅₀ 値は雄、雌ともに 10000 mg/kg 以上である。

考察およびまとめ

今回取り上げた化学物質はいずれも繊維製品の加工工程に使用されるもので、防炎剤、防虫剤、帯電防止あるいは柔軟剤および撥水剤に用いられるものの中から選んだ物質である。マウスを用いた急性毒性の検索は、この後に行う長期毒性の検索のためのステップとして行った。なお、家庭用品に用いられている化学

Table 19. Summary of acute oral toxicity of chemicals in mice

Material	Concentration and vehicle	Observation period	Sex	LD ₅₀ with 95% confidence limits (mg/kg)		Death time	Toxic signs
				male	female		
Mono and bis(2,3-dibromopropyl) ammonium phosphate	2% aqueous soln. (male) 1% aqueous soln. (female)	7 days	male female	436 (376—506) 243 (223—265)		3 hr.—5 days	Depression of spontaneous movement, ataxia, hypothermia
Polychloro-2-(chloromethyl)sulfonamido)-diphenyl ether	10% aqueous soln.	7 days	male female	201 (165—246) 205 (173—242)		1 hr.—3 days	depression of spontaneous movement, lie prostra diarrhea, stiffness of limbs
2-trifluoromethyl-4-(2,4,5-trichlorophenoxy)-5,7-dichlorobenzimidazole	20% aqueous soln.	7 days	male female	35.3 (30.6—41.2) 37.0 (31.4—43.7)		30 min.—3 days	Depression of spontaneous movement,
Stearyltrimethyl ammonium chloride	30% aqueous soln.	7 days	male female	633 (550—723) 536 (479—600)		3 hr.—4 days	Depression of spontaneous movement, piloerection, diarrhea, ataxia
Condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrin	30% aqueous slon.	7 days	male female	>30000 >30000		—	Depression of spontaneous movement
Polyoxyethylene(30) nonylphenyl ether	2% aqueous slon.	7 days	male female	>50000 >50000		—	Loose stools
Stearyl dimethylcarboxymethyl ammonium hydroxide	50% aqueous slon.	7 days	male female	4360(3490—5460) 4590(4090—5140)		3 hr.—3 days	Depression of spontaneous movement, piloerection, diarrhea,
Stearate chromic chloride	10% aqueous slon.	14 days	male female	1280(1150—1420) 1580(1260—1980)		1 hr.—7 days	Depression of spontaneous movement, piloerection,
Stearyl dimethyl pyridinium chloride	20% aqueous slon.	7 days	male	1820(1490—2200) 1820(1600—2070)		1 hr.—5 days	Depression of spontaneous movement, piloerection, startle, convulsion
Methyl hydrogen siloxane	undiluted	7 days	male female	>100000 >100000		—	Oily hair

Table 20. Summary of acute percutaneous toxicity of chemicals in mice

Material	Concentration and vehicle	Observation period	Sex	LD ₅₀ with 95% confidence limits (mg/kg)		Death time	Toxic signs
				male	female		
Mono and bis(2,3-dibromopropyl) ammonium phosphate	50% aqueous soln.	14 days	male female	4092 (3556—4613) 3794 (3333—4330)		3 hr.—6 days	Depression of spontaneous movement
polychloro2-(chloromethylsulfonamido)-diphenyl ether	50% olive oil susp.	7 days	male female	309 (244—389) 292 (226—376)		1 days	Erythema, hypertrophy and loose of hair of treated area
Stearyltrimethyl ammonium chloride	undiluted	14 days	male female	1600 (1190—2140) 1820 (1300—2540)		2 days—7 days	Erythema, hypertrophy and loose of hair of treated area depression of spontaneous movement
Condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrin	freedzed dry 30% aqueous soln.	7 days	male female	>3000 >3000		—	No changes
Stearyl dimethylcarboxymethyl ammonium hydroxide	undiluted	14 days	male female	>2780 >2780		—	Erythema, hypertrophy and loose of hair of treated area
Stearate chromic chloride	undiluted	7 days	male female	>2500 >2500		—	Hypertrophy of treated area
Stearylaminodimethyl pyridinium chloride	70% aqueous soln.	7 days	male female	>4900 >4900		—	Depression of spontaneous movement
Methyl hydrogen siloxane	undiluted	7 days	male female	>10000 >10000		—	No changes

物質の多くは公表されている毒性資料がない場合が多く、実施した10種の化学物質の毒性に関する資料はほとんど見当たらない。

今回実施した10種の化学物質のうち、もっとも強い毒性を示した物質は、防虫加工に用いられる 2-trifluoromethyl-4-(2, 4, 5-trichlorophenoxy)-5, 7-dichloro-benzimidazole で、経口 LD₅₀ 値は雄 35.3 mg/kg, 雌 37.0 mg/kg であった。次いで防虫剤の polychloro-2-(chloromethylsulfonamido)-diphenyl ether と消炎剤の mono and bis (2, 3-dibromopropyl) ammonium phosphate も比較的強い毒性を示した。なお、polychloro-2-(chloromethylsulfonamido)-diphenyl ether は経口 LD₅₀ 値は雄 201 mg/kg, 雌 205 mg/kg, 経皮 LD₅₀ 値は雄 309 mg/kg, 雌 292 mg/kg であり、経口と経皮の値が接近しており、経皮吸収の良いことが示唆された。これら3物質の中毒徴候はいずれも中枢神経系の抑制が主であったが、防虫剤の mono and bis (2, 3-dibromopropyl) ammonium phosphate は胃粘膜への強い刺激と急性の肝臓および腎臓の腫大が認められた。

界面活性剤では4級アンモニウム塩の stearyl trimethyl ammonium chloride が最も毒性が強く経口 LD₅₀ 値は雄 633 mg/kg, 雌 536 mg/kg であり、経皮 LD₅₀ 値は雄 1600 mg/kg, 雌 1820 mg/kg であった。多くの4級アンモニウム塩は殺菌剤などに用いられており、その生物作用は共通しているように思われる。その他

の界面活性剤のうち condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrin と polyoxyethylene (30) nonylphenyl ether ではないずれも経口、経皮投与とも最高投与用量で動物の死亡は見られなかった。界面活性剤の経口投与における中毒徴候は中枢神経系の抑制と下痢あるいは軟便などの消化管への軽度な刺激などであった。経皮投与では塗布部の皮膚の紅斑、肥厚や脱毛が見られたが、非イオン活性剤の condensation product of behenic acid with diethylenetriamine and epichlorohydrine では何ら影響は見られなかった。

撥水剤では stearate chromic chloride は経口投与では毒性が強く、LD₅₀ 値は雄 1280 mg/kg, 雌 1580 mg/kg であり、消化管、肝臓および精巣への影響が見られたが、経皮投与での毒性は弱い。Stearylaminodimethyl pyridinium chloride は経口、経皮毒性は弱く吸収されにくい物質と思われる。なお、methyl hydrogen siloxane は3種の撥水剤のうちで最も毒性が弱く、経口投与では 100000 mg/kg で、経皮投与では 10000 mg/kg で雌雄いずれも動物の死亡は見られなかった。

文 献

- 1) J. T. Litchfield, F. Wilcoxon: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **96**, 99 (1949)

腎障害に関する基礎的研究

—puromycin aminonucleoside および bis-(2,3-dibromopropyl) phosphate 投与による尿中酵素活性と組織学的変化の相関性—

戸部満寿夫・中路幸男・小林和雄・中村晃忠・内藤克司・斎藤 実
鈴木幸子・内田雄幸・安原加寿雄・高田幸一・大場 栄

Studies on the Evaluation of Toxic Renal Injuries in Rats

—correlation between urinary enzyme activities and histological changes induced by puromycin aminonucleoside and bis-(2,3-dibromopropyl) phosphate—

Masuo TOBE, Yukio NAKAJI, Kazuo KOBAYASHI, Akitada NAKAMURA,
Katusi NAITOH, Minoru SAITOH, Sachiko SUZUKI, Osayuki UCHIDA,
Kazuo YASUHARA, Kohichi TAKADA and Sakae OHBA

This experiment was carried out to determine the effect of a single intraperitoneal injection of various chemicals in rat and to study biochemically and histologically, the development and course of resultant renal injuries for 14 days.

After the injection of Puromycin aminonucleoside 100 mg/kg, urinary protein increased and several enzymes except GPDAP and γ -GTP were discharged in the urine after day 7.

After the injection of Bis-(2,3-dibromopropyl)phosphate 100 mg/kg, an increase in urinary protein and the discharge of enzymes were observed temporarily at day 1. A decrease of ALP, γ -GTP and LAP localized in the kidneys were observed on and after day 3.

These changes corresponded well with histological findings. It seems that the former indicate the injury of the glomerulus and the latter shows the injury of the renal tubuli. While it is difficult to pinpoint the injury site from the changes in serum components, it may be possible to conjecture the injury site by studying the changes in the components of urine collected on a continuous basis.

(Received May 31, 1985)

化学物質の安全性を評価する一つの手段として、通常、先ず一般毒性試験が行われる。この試験から、化学物質を投与された動物の一般状態の変化、体液の生化学的および組織・器官の病理学的変化など様々な種類の生体情報が得られるが、これら検査値の相互関係、特に病理組織学的所見と臨床生化学的検査成績との関連性についての総合的判断の方法は確立されていない。そこで、前報¹⁾の実験的肝障害に引き続き、主たる障害部位を腎臓とするピューロマイシン・アミノスクレオンド(糸球体障害)²⁾およびビス-(2,3-ジブromopropyl)ホスフェート(尿細管障害)³⁾を対象薬物として選び、ラットの実験的腎障害について総合的に検討した。

実験方法

1. 実験動物

Clrl: F344 雄ラット(チャールス・リバー)を使用した。8週令の動物を購入し、室温 24±1°C、湿度 60

～70%および照明12時間の飼育室で1週間馴化飼育した後、体重約 240 g の動物を次の4群に分け、金網ケージにそれぞれ5匹ずつ収容し、実験を行った。固形飼料(オリエンタル酵母, MF)および水は自由に摂取させた。

2. 薬物および投与方法

薬物はピューロマイシン・アミノスクレオンド(PM, Sigma)およびビス-(2,3-ジブromopropyl)ホスフェート(Bis-BP, 著者合成)を使用し、投与量は予試験において得られたおおよその最大耐量とした。薬物は腹腔内に1回投与し、動物を1, 3, 7および14日後に屠殺した。

第1群: 生理食塩水を投与した対照群—生理食塩水 4 ml/kg を投与した。

第2群: PM 投与群—PM を生理食塩水に溶かし、100 mg/4 ml/kg を投与した。

第3群: Tween 80 を投与した対照群—1% Tween 80

Table 1. Test and Reagent Kit

Test (Abbreviation)	Manufacturer (Code number)	Test (Abbreviation)	Manufacturer (Code number)
Total protein (T-PRO)	Wako(274-24301)	Glutamic dehydrogenase (GLDH)	BMV(124311)
Albumin (ALB)	Wako(274-24301)	Dipeptidyl-aminopeptidase IV (CPDAP)	Fuji rebio(FS 113)
Albumin-globulin ratio (A/G)		Glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT)	SK1(89049)
(Blood) Urea nitrogen (BUN) or (UA)	Shinotest(418010)	Glutamic-pyruvic transaminase (GPT)	SK1(89079)
Creatinine (CRN)	BMV(124192)	γ -Glutamyl transpeptidase (γ -GTP)	BMV(158208)
Glucose (GLU)	BMV(166391)	Isocitrate dehydrogenase(NADP+) (ICDH)	BMV(125989)
Phospholipides (PL)	Wako(275-54001)	Leucine aminopéptidase (LAP)	Wako(279-64391)
Triglycerides (T-GLY)	BMV(470694)	Lactate dehydrogenase (LDH)	Shinotest(403020)
Total cholesterol (T-CHO)	BMV(290319)	Calcium (Ca)	Wako(272-21801)
Aldorase (ALD)	BMV(123838)	Phosphorus, inorganic (Pi)	Wako(278-23101)
Alkaline phosphatase (ALP)	Wako(277-64191)	Sodium (Na)	Daiichi
α -Amylase (AMY)	Beckman(AU-3203)	Potassium (K)	Daiichi
Pseudocholinesterase (CHE)	BMV(124125)		

Beckman : Beckman Instruments. BMV : Boeringer Mannheim Yamanouchi. Daiichi : Daiichi Pure Chemical Co.Ltd. Fuji Rebio : Fuji rebio Pharmaceutical Co.,Ltd. Shinotest : Shinotest Laboratory. SK1 : SmithKline Instruments, Inc. Wako : Wako Pure Chemical Industries Ltd.

4ml/kg を投与した。

第4群 : Bis-BP を1% Tween 80 に懸濁し, 100 mg/4 ml/kg を投与した。

3. 検査および測定

3.1 体重, 摂餌量および摂水量の測定

動物の体重は毎日, 摂餌量および摂水量は一日おきに測定した。

3.2 臨床生化学的検査

3.2.1 血清成分 無麻酔下に頸静脈より採血した血清について Table 1 に掲げる血清成分を多項目自動分析機 (GEMSAEC IV 型, Electro Nucleonics) および原子吸光度計 (170-50型, 日立) により測定した。

3.2.2 尿成分 採血および屠殺の一日前に, ラットを採尿ケージに入れ, 蓋尿瓶を4°C以下に保持し, 24時間尿を採取する。尿は尿量を測定後, 直ちに血清成分と同様にして Table 1 に掲げる T-PRO, UN, CRN, GLU, Na, K および12種の酵素活性を測定した。

3.2.3 臓器ホモジネートの調製および酵素活性の測定 肝臓(肝)および腎臓(腎)それぞれ0.5gずつを秤取し, -80°Cで保存した。後日, これに氷冷した等張塩化カリウム (i-KCL, 1.19%) 1.5 ml を加え,

テフロン軸ガラスホモジナイザー (Potter 型, Weaton 社) で往復5回ホモジナイズした。そのホモジネートを10000×g 20分間冷却遠心し, 上清について, 血清成分と同様にして Table 1 に掲げる T-PRO および12種の酵素活性を測定した。

3.3 臓器重量 動物は採血後, 断頭屠殺し, 肉眼的観察を行った後, 肝および腎の湿重量を測定した。

3.4 病理組織学的検査 肝臓および腎臓を10%ホルマリン液で固定し, 常法に従い, Hematoxylin-Eosin 重染色および PAS 染色を施して鏡検した。

4. 統計処理 各測定値については, Student's t-test により各対照群との間の有意差を調べた。なお, 有意水準は $P < 0.05$ および $P < 0.01$ とした。

結果および考察

I. PM

1. 体重, 摂餌量および摂水量 (Fig. 1)

PM 投与後, 一般状態に特異な変化は見られないが, 顕著な体重増加の抑制が生じ, 7日目以降は体重が急激に減少した。摂餌量は対照群より少ないがほぼ一定しており, 摂水量はやや変動し, 9日目が最大であった。

2. 血清および尿成分ならびに肝および腎酵素活性

に及ぼす影響 (Table 2, 3; Fig. 2)

血清では7および14日目に著しい変化が見られた。即ち、7日目にBUNおよびCRN、14日目にT-PROおよびK、ならびに7および14日目にPL、T-GLY、T-CHOおよびPiが増加した。この時点で対応する尿成分は7および14日目にT-PROの増加およびBUNの減少であった。特に7日目は血清中のALBの減少が著しく、また体重の減少もあり脱水症状とも見られるが、尿量も多く、組織学的にも肝および腎に全く浮腫は認められなかった。

尿中酵素および腎内酵素に大きな変化が現れた。尿中酵素は硝子様円柱の認められた7および14日目にALD, ALP, AMY, CHE, GLDH, GOT, GPT, ICDHおよびLDHが増加した。しかしGPDAPおよび γ -GTPには変化がなかった。大野ら⁴⁾は、PMの75 mg/kgを投与したラットの6日目以降の尿中にLDH, GOT, GPT, ALPおよびLAPが増加し、 γ -GTPに変化がなかったと報告しておりこれによく一致している。一方、腎内酵素は同時期にALP, GLDH, GOT, GPT, γ -GTP, ICDHおよびLAPが減少した。この時、血清酵素はALPの著しい減少のほか、大きな変化はなく、同様に、肝内酵素も血清中の酵素の動態を反映していると思われる変化は認められなかった。

正常ラットの尿中に通常認められる少量の蛋白、中でも比較的活性の低いALD, ALP, CHE, GLDH, GOT, GPTおよびLDH等の高分子蛋白(分子量: 約9~41万)が7および14日目に増加したこと、またボーマン囊の形態的变化が14日目に認められることは、PMの腎への影響が比較的遅発性に出現することを示唆すると思われる。しかし、尿中蛋白の推移をみると7日目以前に軽度の増加が見られるところから、光顕レベルでは認められなかったがおそらく早い時期から糸球体基底膜の透過性が亢進していることも推測される。

さらに、7日目以降の腎内酵素の減少はPMによる影響が糸球体障害にとどまらないことを示しており、この時期に組織学的変化としては尿細管の拡張が認められ、これと無関係ではないと思われる。

3. 臓器重量 (Table 4)

肝は1および3日目に減少し、14日目には増加した。腎は1および3日目に減少しないしその傾向があり、7日目に増加した。

4. 病理学的検査 (Table 5)

4.1 肉眼所見; 肉眼的検査では、いずれの臓器にも全く変化を認めなかった。

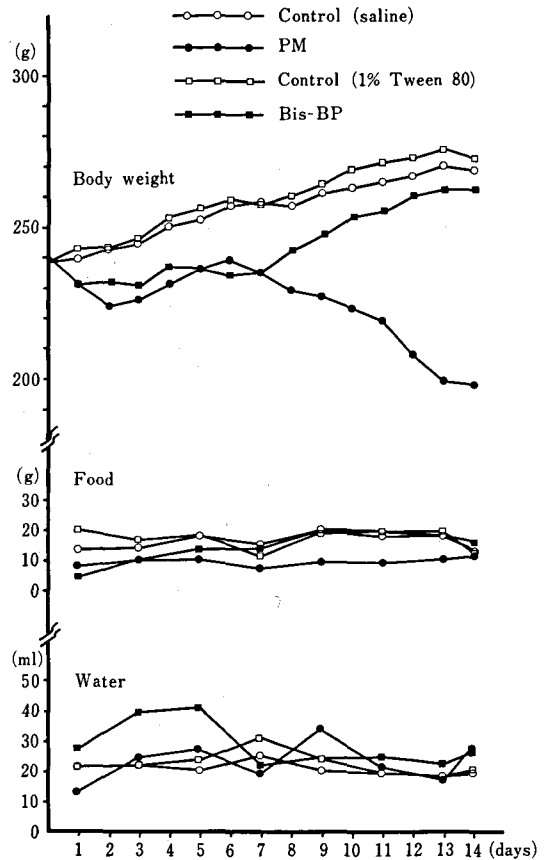


Fig. 1. Time course changes of body weight, food and water consumptions.

4.2 病理組織学的所見; 肝で1および3日目の肝細胞の好酸性変性、さらに全期間を通じて肝細胞の分裂像が比較的多く認められた。腎では近位尿管腔の拡張が1日目から、上皮細胞の膨化および再生、ならびに管腔内に硝子様円柱が7日目から見だし、7日目には尿管上皮細胞の分裂、また、糸球体上皮細胞が腫大し、さらにボーマン囊壁に癒着し、次いで14日目にボーマン囊の側壁板の膨化が認められた。

II. Bis-BP

1. 体重、摂餌量および摂水量 (Fig. 1)

顕著な体重増加の抑制が7日目まで続き、その後回復した。この間、一般状態にならば変化を認めなかった。摂餌量は対照群に比べ5日目まで少なく、摂水量は3~5日目にかけて対照群の約2倍を示した。

2. 血清および尿成分ならびに肝および腎酵素活性に及ぼす影響 (Table 2, 3; Fig. 3)

投与後3日目までに、血清ではBUN, CRN, GLDH, および γ -GTPが増加し、T-GLYおよびCHEが減

Table 2. Changes in serum components of rats administered PM or Bis-BP intraperitoneally

Tests	Units	Days	Control(Saline) (4ml/kg)	P M (100mg/4ml/kg)	Control(1% Tween 80) (4ml/kg)	Bis-BP (100mg/4ml/kg)
T-PRO	(g/dl)	1	6.51 ± 0.07	6.43 ± 0.25	6.49 ± 0.10	6.33 ± 0.18
		3	6.32 ± 0.32	5.41 ± 0.15 **	6.53 ± 0.35	6.03 ± 0.12 *
		7	6.80 ± 0.31	9.08 ± 3.23	6.52 ± 0.17	6.25 ± 0.21
		14	6.66 ± 0.16	15.21 ± 6.53 *	6.99 ± 0.18	6.57 ± 0.17 **
ALB	(g/dl)	1	4.05 ± 0.05	4.22 ± 0.10 **	4.13 ± 0.05	4.00 ± 0.08 *
		3	4.13 ± 0.15	3.63 ± 0.06 **	4.19 ± 0.06	3.89 ± 0.11 **
		7	4.38 ± 0.15	2.38 ± 0.23 **	4.30 ± 0.07	4.08 ± 0.18 *
		14	4.22 ± 0.07	3.11 ± 0.30 **	4.33 ± 0.13	4.23 ± 0.12
A/G		1	1.64 ± 0.03	1.92 ± 0.10 **	1.75 ± 0.06	1.72 ± 0.08
		3	1.89 ± 0.14	2.05 ± 0.09	1.80 ± 0.18	1.82 ± 0.12
		7	1.82 ± 0.10	0.43 ± 0.21 **	1.95 ± 0.10	1.89 ± 0.12
		14	1.74 ± 0.13	0.32 ± 0.18 **	1.63 ± 0.03	1.81 ± 0.09 **
BUN	(mg/dl)	1	21.1 ± 1.1	31.1 ± 1.8 **	21.2 ± 2.4	48.3 ± 3.9 **
		3	20.5 ± 2.2	30.8 ± 3.2 **	20.8 ± 2.0	71.3 ± 16.6 **
		7	23.7 ± 1.7	131.4 ± 20.4 **	19.3 ± 0.9	23.9 ± 4.1
		14	20.5 ± 1.8	24.5 ± 7.1	20.3 ± 2.5	23.6 ± 3.3
CRN	(mg/dl)	1	0.55 ± 0.03	0.62 ± 0.07	0.53 ± 0.05	2.11 ± 0.12 **
		3	0.60 ± 0.04	0.65 ± 0.04	0.59 ± 0.02	2.00 ± 0.45 **
		7	0.60 ± 0.05	1.40 ± 0.17 **	0.62 ± 0.07	0.86 ± 0.14 **
		14	0.56 ± 0.01	0.77 ± 0.22	0.60 ± 0.05	0.73 ± 0.03 **
GLU	(mg/dl)	1	190 ± 22	169 ± 22	176 ± 11	167 ± 28
		3	189 ± 12	167 ± 8 *	178 ± 12	167 ± 18
		7	198 ± 17	145 ± 9 **	185 ± 15	164 ± 18
		14	175 ± 19	115 ± 15 **	179 ± 5	178 ± 9
PL	(mg/dl)	1	185 ± 12	131 ± 6 **	191 ± 10	155 ± 10 **
		3	173 ± 12	182 ± 6	177 ± 13	138 ± 10 **
		7	181 ± 7	466 ± 66 **	152 ± 15	185 ± 5 **
		14	192 ± 11	425 ± 22 **	190 ± 10	178 ± 9
T-GLY	(mg/dl)	1	164 ± 14	76 ± 16 **	217 ± 26	44 ± 5 **
		3	144 ± 23	100 ± 13 **	161 ± 56	80 ± 18 *
		7	243 ± 61	2470 ± 1026 **	125 ± 20	190 ± 54
		14	176 ± 35	2204 ± 978 **	139 ± 42	184 ± 63
T-CHO	(mg/dl)	1	74 ± 7	57 ± 6 **	70 ± 3	82 ± 7 **
		3	65 ± 5	76 ± 6 *	69 ± 4	58 ± 5 **
		7	70 ± 6	411 ± 47 **	59 ± 6	74 ± 4 **
		14	66 ± 5	345 ± 45 **	68 ± 6	75 ± 5
ALD	(mU/ml)	1	22.1 ± 2.0	23.3 ± 4.5	27.5 ± 5.6	30.1 ± 11.2
		3	25.2 ± 9.7	21.8 ± 9.4	29.3 ± 22.8	22.3 ± 7.7
		7	17.3 ± 2.1	20.9 ± 5.0	16.8 ± 1.6	17.8 ± 2.4
		14	15.0 ± 1.8	28.1 ± 15.6	16.0 ± 3.0	16.8 ± 3.9
ALP	(mU/ml)	1	787 ± 33	654 ± 19 **	899 ± 29	745 ± 59 **
		3	691 ± 79	289 ± 19 **	722 ± 95	641 ± 56
		7	740 ± 43	220 ± 9 **	574 ± 41	559 ± 113
		14	626 ± 41	170 ± 17 **	626 ± 70	598 ± 37
AMY	(mU/ml)	1	659 ± 12	695 ± 40	653 ± 33	469 ± 78 **
		3	659 ± 46	1141 ± 48 **	678 ± 23	651 ± 49
		7	686 ± 35	703 ± 56	713 ± 126	695 ± 38
		14	669 ± 30	850 ± 97 *	725 ± 39	706 ± 41
CHE	(mU/ml)	1	611 ± 16	317 ± 86 **	782 ± 65	190 ± 21 **
		3	550 ± 70	561 ± 47	671 ± 147	407 ± 58 *
		7	804 ± 188	667 ± 176	559 ± 77	818 ± 207 *
		14	882 ± 89	595 ± 233 *	682 ± 136	739 ± 161

Values are the mean ± S.D. of five animals.

*,** : Significantly different from the control at p<0.05 and p<0.01, respectively.

Table 2. (Concluded) Changes in serum components of rats administered PM or Bis-BP intraperitoneally

Tests	Units	Days	Control(Saline) (4ml/kg)	P M (100mg/4ml/kg)	Control(1% Tween 80) (4ml/kg)	Bis-BP (100mg/4ml/kg)
GLDH	(mU/ml)	1	18.45 ± 22.71	13.59 ± 5.04	7.76 ± 3.29	52.77 ± 24.46 *
		3	10.66 ± 1.14	7.37 ± 1.05 **	8.39 ± 2.05	16.25 ± 3.75 **
		7	7.53 ± 1.55	12.64 ± 4.56	8.80 ± 3.45	15.70 ± 7.21
		14	8.94 ± 3.84	15.09 ± 9.67	7.05 ± 1.96	6.96 ± 0.79
GPDAP	(mU/ml)	1	0.89 ± 0.79	1.74 ± 0.34	1.47 ± 0.28	0.79 ± 0.53 *
		3	1.02 ± 0.59	2.76 ± 0.58 **	1.67 ± 0.67	3.24 ± 0.76 *
		7	2.76 ± 0.49	3.33 ± 6.90	3.71 ± 0.60	0.68 ± 0.38 **
		14	1.40 ± 0.49	1.76 ± 2.56	1.10 ± 0.27	2.26 ± 0.43 **
GOT	(mU/ml)	1	72 ± 14	92 ± 17	68 ± 5	130 ± 42 *
		3	66 ± 9	64 ± 11	60 ± 3	78 ± 6 **
		7	66 ± 8	35 ± 14 **	66 ± 8	72 ± 20
		14	68 ± 9	58 ± 20	70 ± 10	68 ± 9
GPT	(mU/ml)	1	29 ± 6	41 ± 8 *	27 ± 1	28 ± 5
		3	28 ± 3	27 ± 4	27 ± 3	25 ± 4
		7	29 ± 4	22 ± 5 *	28 ± 3	31 ± 10
		14	31 ± 6	34 ± 11	31 ± 5	31 ± 4
γ-GTP	(mU/ml)	1	ND	0.18 ± 0.38	ND	1.11 ± 0.88 *
		3	ND	0.30 ± 0.39	ND	1.59 ± 0.76 **
		7	ND	ND	0.34 ± 0.31	1.27 ± 0.26 **
		14	ND	ND	0.34 ± 0.30	0.85 ± 0.15 **
ICDH	(mU/ml)	1	5.89 ± 1.58	9.43 ± 6.75	4.43 ± 0.70	9.21 ± 2.08 **
		3	5.27 ± 1.41	4.24 ± 1.81	4.08 ± 1.59	3.95 ± 1.18
		7	7.12 ± 3.43	4.65 ± 1.36	5.32 ± 2.68	7.55 ± 8.14
		14	6.67 ± 2.95	5.31 ± 7.27	8.24 ± 3.83	7.40 ± 3.90
LAP	(mU/ml)	1	54 ± 3	61 ± 3 **	56 ± 1	50 ± 2 **
		3	51 ± 6	64 ± 2 **	53 ± 2	54 ± 1
		7	56 ± 3	41 ± 3 **	54 ± 2	52 ± 3
		14	54 ± 1	38 ± 6 **	57 ± 1	56 ± 8
LDH	(mU/ml)	1	328 ± 97	350 ± 138	277 ± 108	709 ± 437
		3	428 ± 244	311 ± 144	257 ± 83	397 ± 144
		7	322 ± 76	322 ± 133	274 ± 60	266 ± 105
		14	280 ± 39	361 ± 64 *	281 ± 70	239 ± 85
Ca	(mg/dl)	1	10.1 ± 0.6	10.5 ± 0.5	10.2 ± 0.3	10.8 ± 0.6
		3	10.6 ± 0.5	12.1 ± 0.1 **	10.7 ± 0.3	10.5 ± 0.5
		7	11.2 ± 0.7	10.9 ± 0.4	10.8 ± 0.5	10.8 ± 1.0
		14	10.6 ± 0.3	11.6 ± 1.4	10.8 ± 0.4	11.4 ± 0.2 *
Pi	(mg/dl)	1	10.3 ± 0.8	12.6 ± 1.0 **	10.7 ± 0.6	9.6 ± 0.8 *
		3	10.6 ± 1.3	10.9 ± 0.4	10.2 ± 0.6	8.4 ± 1.2 *
		7	10.5 ± 1.1	13.3 ± 1.6 *	10.2 ± 0.7	8.9 ± 1.5
		14	8.7 ± 0.9	14.0 ± 3.7 *	9.7 ± 0.6	9.0 ± 0.8
Na	(mEq/l)	1	137 ± 8	130 ± 15	136 ± 8	140 ± 6
		3	142 ± 4	146 ± 4	154 ± 3	147 ± 6
		7	142 ± 6	136 ± 16	147 ± 5	145 ± 6
		14	141 ± 8	139 ± 12	141 ± 9	134 ± 11
K	(mEq/l)	1	5.1 ± 0.4	4.3 ± 0.7	4.8 ± 0.5	5.1 ± 0.4
		3	5.7 ± 0.5	5.2 ± 0.4	5.8 ± 0.3	5.0 ± 0.7
		7	5.9 ± 0.4	5.9 ± 1.0	5.5 ± 0.5	5.3 ± 1.4
		14	5.3 ± 0.2	6.3 ± 0.6 *	5.5 ± 0.6	5.0 ± 0.5

Values are the mean ± S.D. of five animals. ND: Not detected.

*, **: Significantly different from the control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

Table 3. Changes in urine components of rats administered PM or Bis-BP intraperitoneally

Tests	Units	Days	Control(Saline) (4ml/kg)	P M (100mg/4ml/kg)	Control(1% Tween 80) (4ml/kg)	Bis-BP (100mg/4ml/kg)
Urine (ml/hr) volume		1	0.20 ± 0.04	0.28 ± 0.07	0.28 ± 0.06	0.91 ± 0.17 **
		3	0.17 ± 0.02	0.27 ± 0.06 *	0.26 ± 0.05	1.02 ± 0.18 **
		7	0.15 ± 0.04	0.56 ± 0.11 **	0.19 ± 0.05	0.35 ± 0.12 *
		14	0.19 ± 0.04	0.34 ± 0.05 **	0.20 ± 0.03	0.32 ± 0.06 **
T-PRO (mg/hr)		1	2.12 ± 0.30	2.93 ± 0.59 *	2.70 ± 0.44	9.16 ± 0.58 **
		3	2.02 ± 0.13	3.24 ± 0.28 **	2.53 ± 0.59	11.27 ± 2.36 **
		7	1.98 ± 0.28	23.34 ± 1.51 **	2.25 ± 0.28	3.42 ± 0.94 *
		14	2.02 ± 0.26	23.73 ± 2.09 **	2.09 ± 0.29	2.86 ± 0.34 **
UN (mg/hr)		1	6.62 ± 1.08	7.00 ± 0.79	7.37 ± 1.75	5.41 ± 0.87
		3	7.16 ± 1.16	7.91 ± 0.91	7.95 ± 1.83	11.12 ± 1.29 *
		7	6.75 ± 1.12	4.66 ± 0.62 **	6.75 ± 0.79	6.95 ± 1.25
		14	8.25 ± 2.29	5.41 ± 0.54 *	7.70 ± 1.25	10.25 ± 1.83 *
CRN (mg/hr)		1	0.25 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.25 ± 0.05	0.25 ± 0.05
		3	0.22 ± 0.03	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0.04	0.31 ± 0.03 *
		7	0.23 ± 0.01	0.27 ± 0.02 *	0.26 ± 0.03	0.24 ± 0.03
		14	0.27 ± 0.03	0.22 ± 0.02 *	0.29 ± 0.05	0.30 ± 0.02
GLU (mg/hr)		1	0.12 ± 0.04	0.07 ± 0.01	0.27 ± 0.05	16.17 ± 2.56 **
		3	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.04	0.24 ± 0.10	17.40 ± 5.30 **
		7	0.09 ± 0.03	0.01 ± 0.03 **	0.11 ± 0.03	0.89 ± 0.96
		14	0.18 ± 0.07	0.31 ± 0.10	0.13 ± 0.04	0.14 ± 0.01
ALD (mU/hr)		1	0.51 ± 0.18	0.79 ± 0.32	1.68 ± 0.59	44.24 ± 4.67 **
		3	0.34 ± 0.14	0.54 ± 0.12 *	4.49 ± 7.92	3.70 ± 1.52
		7	0.55 ± 0.24	5.13 ± 0.46 **	0.75 ± 0.12	0.76 ± 0.51
		14	0.50 ± 0.17	3.94 ± 1.11 **	0.60 ± 0.17	0.43 ± 0.13
ALP (mU/hr)		1	100 ± 40	125 ± 33	123 ± 10	781 ± 158 **
		3	58 ± 13	95 ± 22 *	229 ± 334	80 ± 11
		7	56 ± 16	165 ± 10 **	88 ± 24	40 ± 14 **
		14	35 ± 22	203 ± 54 **	60 ± 8	36 ± 16 *
AMY (mU/hr)		1	416 ± 21	348 ± 76	306 ± 74	623 ± 97 **
		3	359 ± 60	478 ± 93 *	401 ± 67	407 ± 52
		7	366 ± 72	2240 ± 176 **	414 ± 80	327 ± 53
		14	353 ± 75	1689 ± 108 **	459 ± 72	982 ± 1129
CHE (mU/hr)		1	3.21 ± 2.00	7.99 ± 3.59 *	4.08 ± 1.59	ND
		3	2.95 ± 1.91	5.04 ± 5.32	1.19 ± 1.42	0.50 ± 0.72
		7	4.28 ± 3.24	45.69 ± 26.64 *	3.60 ± 0.79	5.42 ± 3.14
		14	4.50 ± 3.52	29.86 ± 7.47 **	4.09 ± 0.38	4.14 ± 1.45
GLDH (mU/hr)		1	1.34 ± 0.33	1.41 ± 0.41	2.31 ± 0.60	65.83 ± 13.33 **
		3	2.17 ± 0.46	2.84 ± 0.73	26.52 ± 52.52	61.25 ± 29.27
		7	1.57 ± 0.62	7.89 ± 1.21 **	1.71 ± 0.46	4.08 ± 2.29
		14	1.93 ± 1.04	8.37 ± 4.93 *	1.77 ± 0.32	1.86 ± 0.24
GPDAP (mU/hr)		1	1.97 ± 0.21	2.70 ± 0.32 **	2.19 ± 0.65	6.36 ± 0.68 **
		3	1.38 ± 0.16	2.04 ± 0.08 **	1.44 ± 0.35	1.47 ± 0.90
		7	1.42 ± 0.16	1.70 ± 0.14 *	1.63 ± 0.34	1.07 ± 0.15 *
		14	1.47 ± 0.28	1.65 ± 0.46	1.73 ± 0.21	1.88 ± 0.40
GOT (mU/hr)		1	2.83 ± 0.62	5.54 ± 3.12	4.16 ± 0.95	504.50 ± 47.20 **
		3	3.20 ± 0.91	3.87 ± 0.91	12.29 ± 18.20	108.58 ± 59.12 *
		7	2.83 ± 0.62	52.20 ± 6.00 **	3.62 ± 0.45	12.70 ± 4.00 **
		14	3.16 ± 0.70	43.29 ± 7.70 **	3.87 ± 0.95	4.16 ± 0.83
GPT (mU/hr)		1	0.92 ± 0.45	1.10 ± 0.28	1.00 ± 0.41	37.56 ± 4.10 **
		3	1.25 ± 0.37	1.36 ± 0.24	7.00 ± 12.78	21.86 ± 9.33
		7	0.79 ± 0.32	15.66 ± 1.15 **	0.79 ± 0.17	2.45 ± 1.02 *
		14	0.55 ± 0.34	11.52 ± 2.69 **	0.42 ± 0.24	1.02 ± 0.59

Values are the mean ± S.D. of five animals. ND : Not detected.

*, **: Significantly different from the control at p<0.05 and p<0.01, respectively.

Table 3. (Concluded) Changes in urine components of rats administered PM or Bis-BP intraperitoneally

Tests	Units	Days	Control(Saline) (4ml/kg)	P M (100mg/4ml/kg)	Control(1% Tween 80) (4ml/kg)	Bis-BP (100mg/4ml/kg)
γ -GTP(mU/hr)		1	302 \pm 48	431 \pm 91 *	376 \pm 54	2539 \pm 397 **
		3	210 \pm 30	400 \pm 49 **	241 \pm 42	161 \pm 34 *
		7	242 \pm 40	264 \pm 17	315 \pm 86	58 \pm 13 **
		14	251 \pm 45	216 \pm 35	336 \pm 55	126 \pm 22 **
ICDH (mU/hr)		1	3.25 \pm 0.83	5.37 \pm 1.95	9.04 \pm 1.41	501.54 \pm 48.79 **
		3	1.94 \pm 0.50	2.46 \pm 0.75	8.07 \pm 3.59	15.35 \pm 4.27 *
		7	3.10 \pm 0.70	10.67 \pm 2.56 **	3.93 \pm 1.39	4.74 \pm 1.83
		14	2.77 \pm 0.48	6.56 \pm 1.33 **	3.26 \pm 0.98	2.25 \pm 0.26
LAP (mU/hr)		1	18.9 \pm 3.2	17.9 \pm 3.7	24.6 \pm 4.5	194.2 \pm 28.9 **
		3	13.1 \pm 1.7	26.7 \pm 2.7 **	17.2 \pm 8.9	14.7 \pm 2.7
		7	11.8 \pm 1.4	22.1 \pm 0.9 **	17.1 \pm 4.0	4.0 \pm 0.5 **
		14	12.1 \pm 2.7	16.7 \pm 2.2 *	16.0 \pm 2.4	6.9 \pm 1.4 **
LDH (mU/hr)		1	7.54 \pm 1.62	7.50 \pm 2.20	10.45 \pm 2.58	1715.00 \pm 220.41 **
		3	8.04 \pm 1.66	10.83 \pm 3.70	19.29 \pm 18.41	90.12 \pm 28.66 **
		7	5.04 \pm 0.87	109.54 \pm 18.50 **	7.12 \pm 2.33	21.20 \pm 7.12 **
		14	8.54 \pm 2.12	76.45 \pm 13.91 **	8.25 \pm 2.91	6.50 \pm 2.45
Na (μ Eq/hr)		1	27.9 \pm 3.8	39.6 \pm 8.3 *	33.3 \pm 7.1	32.9 \pm 14.6
		3	25.0 \pm 2.5	8.7 \pm 18.3	28.8 \pm 8.8	15.8 \pm 5.0 *
		7	24.6 \pm 6.3	2.1 \pm 0.8 **	17.9 \pm 4.6	12.5 \pm 5.8
		14	24.6 \pm 6.7	37.9 \pm 7.9 *	24.2 \pm 12.1	27.1 \pm 8.8
K (μ Eq/hr)		1	42.5 \pm 7.1	50.4 \pm 7.1	57.5 \pm 13.8	72.9 \pm 10.4
		3	43.3 \pm 5.4	37.5 \pm 1.7	50.4 \pm 10.0	65.4 \pm 6.3 *
		7	35.8 \pm 6.7	50.4 \pm 5.4 **	44.2 \pm 7.1	50.4 \pm 7.1
		14	36.7 \pm 6.3	25.4 \pm 3.3 **	32.9 \pm 8.8	44.2 \pm 7.9

Values are the mean \pm S.D. of five animals.

*,** : Significantly different from the control at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

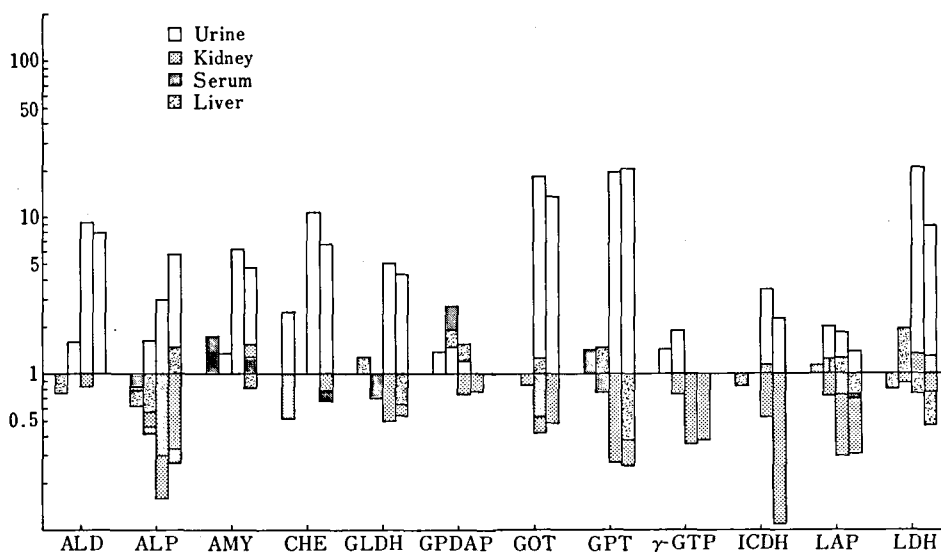


Fig. 2. Comparison of enzyme activities in serum, urine, liver and kidney of rats administered PM intraperitoneally

Each column represents the ratio to the control levels in serum (mU/ml), urine (mU/hr) and liver or kidney homogenates (mU/mg protein in supernatants of 10000 \times g), at day 1, 3, 7 and 14 from the left.

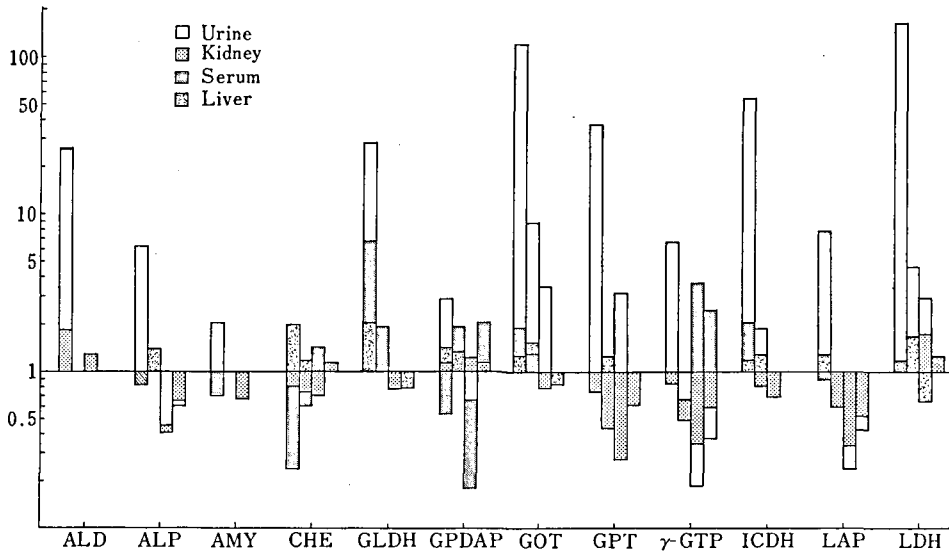


Fig. 3. Comparison of enzyme activities in serum, urine, liver and kidney of rats administered Bis-BP intraperitoneally

Each column represents the ratio to the control levels in serum (mU/ml), urine (mU/hr) and liver or kidney homogenates (mU/mg protein in supernatants of 10000×g), at day 1, 3, 7 and 14 from the left.

Table 4. Changes in body and organ weights of rats administered PM or Bis-BP intraperitoneally

Items	Units	Days	Control(Saline) (4ml/kg)	P M (100mg/4ml/kg)	Control(1% Tween 80) (4ml/kg)	Bis-BP (100mg/4ml/kg)
Body	(g)	1	240.8 ± 9.9	229.2 ± 4.7 *	243.8 ± 4.0	225.2 ± 8.9 **
		3	239.8 ± 5.7	229.6 ± 5.4 *	239.6 ± 6.2	232.6 ± 8.3
		7	261.6 ± 4.6	236.0 ± 4.3 **	256.2 ± 11.3	230.4 ± 10.5 **
		14	269.6 ± 8.3	199.2 ± 10.7 **	272.8 ± 10.2	262.6 ± 3.8
Liver	(g)	1	9.83 ± 0.91	8.32 ± 0.33 *	10.35 ± 0.38	7.86 ± 0.53 **
		3	9.41 ± 0.47	8.51 ± 0.48 *	9.31 ± 0.96	8.59 ± 0.86
		7	10.22 ± 0.31	9.73 ± 0.50	9.06 ± 0.84	8.89 ± 0.67
		14	9.83 ± 0.36	13.18 ± 0.98 **	9.93 ± 1.00	10.03 ± 0.62
Kidney	(g)	1	1.63 ± 0.11	1.49 ± 0.09	1.65 ± 0.03	1.47 ± 0.04 **
		3	1.58 ± 0.10	1.38 ± 0.09 *	1.52 ± 0.11	1.79 ± 0.09 **
		7	1.71 ± 0.16	1.95 ± 0.08 *	1.66 ± 0.08	1.92 ± 0.25
		14	1.67 ± 0.05	1.83 ± 0.20	1.84 ± 0.10	1.71 ± 0.07 *

Values are the mean ± S.D. of five animals.

*,** : Significantly different from the control at p<0.05 and p<0.01, respectively.

少, 尿では T-PRO, GLU, ALD, ALP, GLDH, GPDAP, GOT, GPT, γ-GTP, ICDH, LAP および LDH が増加した。さらに, 肝内酵素には著しい変化がなく, 腎内酵素では GPT および γ-GTP が減少した。

この間, 組織学的には近位尿管の拡張, 上皮細胞の壊死, 膨化および再生像, また, 管腔内に上皮細胞の脱落, および硝子様円柱が認められている。このような形態的变化は, 上皮細胞の細胞質 ALP, LAP お

よび LDH の活性消失と同酵素の尿中増大を示す塩化第二水銀による腎尿管障害⁵⁾によく類似している。Bis-BP による尿中の蛋白増加は, 血清蛋白の大きな減少がないことから腎由来であり, 同時に尿中出现した酵素の増加は, 主として尿管の壊死に基づくものと思われる。ミトコンドリアに局在する GLDH の血清および尿中の増加は尿管の壊死が1日目に最も著しかったことを示すのであろう。

投与後7日目以降になると, 血清では γ-GTP の

Table 5. Histological findings of kidney and liver of rats administered PM or Bis-BP intraperitoneally

	day 1			day 3			day 7			day 14		
	Cont. I	PM II	Bis-BP	Cont. I	PM II	Bis-BP	Cont. I	PM II	Bis-BP	Cont. I	PM II	Bis-BP
Kidney (tubuli)												
necrosis			5			5						
dilatation	1	2	3	4	1	5	3	4	4	5	2	5
hyaline cast				4			5	5	5	5	3	1
epithelial cast		2	3	3	1		1		2			2
epithelium desquamation	1			4								1
epithelium swelling				1	1		3	5	5		4	5
epithelium mitosis							5	4				
regeneration					1		3	1	5	5	5	5
droplet degeneration								2		1		
pyknosis				1								
(Bowman's capsule)												
parietal layer swelling											5	
Liver												
necrosis		1										
eosinophilic degeneration		5			2							
mitosis		1			5			5			4	
fibrosis												1
focal cell infiltration		4			3					1	1	2

Each value represents the number of animals with histological changes.

Cont. I : Control(Saline 4ml/kg), PM(100mg/4ml/kg), Cont. II : Control(1%Tween 80 4ml/kg), Bis-BP(100mg/4ml/kg)

増加および GPDAP の減少 (3日目) があり, 尿中では GPT, また1日目から漸減的な GOT および LDH の著しい増加, ALP, γ -GTP および LAP の減少となり, 肝内酵素に変化なく, 腎内酵素で ALP, GPT, γ -GTP および LAP の減少を示した.

組織学的には, 尿細管上皮細胞の壊死はもはや痕跡もなく, 若い尿細管上皮細胞の再生像が明瞭になっている. 腎に局在性の高い ALP (肝:腎=0.5:100), γ -GTP (肝:腎=0.06:100) および LAP (肝:腎=6:100) の尿中活性低下は腎内同酵素の活性低下によるものであり, 上皮細胞の再生が認められても微絨毛がまだ未成熟であり腎皮質の総体的な尿細管の機能としてまだ不完全であることを示すように思われる.

3. 臓器重量 (Table 4)

肝は1日目に減少するが, 3日目以降は殆んど変化を見ない. 腎は1日目に減少を示すが, 3日目以降に増加ないしその傾向を示した.

4. 病理学的検査 (Table 5)

4.1 肉眼所見 肉眼的検査では, いずれの臓器にも全く変化を認めなかった.

4.2 病理組織学的所見 肝には何の変化も認められなかった. 腎では近位尿細管上皮の扁平化による管腔の拡張, 上皮細胞の脱落および膨化, ならびに硝子様円柱が1日目から, 1および3日目に上皮細胞の壊死, 3日目に上皮細胞の分裂像が見出され, さらに3日目から上皮細胞の再生を見るが微絨毛は14日目に認められた.

ま と め

腎障害を血清成分の変化から検知することは指標となる成分が明らかにされていないため極めて困難である. それに対して尿成分特に酵素の排出量の増大は腎の形態的变化を反映していると思われ, その酵素活性の経時的測定は腎の機能的な面から障害部位を見出す可能性を有している.

PM: 投与7日目以降に大きな変化があった. 体重は減少し, 主として腎糸球体障害に基づく変化で尿中に GPDAP および γ -GTP を除いて ALD, ALP, AMY, CHE, GLDH, GOT, GPT, ICDH および LDH を著しく持続的に排出した.

Bis-BP: 投与後, 一過性の変化があり, 尿中酵素 ALD, ALP, GLDH, GPDAP, GOT, GPT, γ -GTP, ICDH, LAP および LDH は1日目に著しく増加した. 特に7日目以降の腎および尿の ALP, γ -GTP および LAP の一致した減少は腎尿細管の継続的な障害を示すものと思われる.

文 献

- 1) 戸部ら: 衛生試験報; **99**, 156 (1981)
- 2) R. Lannigan *et al.*: *J. Path. Bact.*; **83**, 357 (1962)
- 3) Elliott, W. C. *et al.*: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*; **62**, 179 (1982)
- 4) 大野ら: 衛生試験報; **97**, 49 (1979)
- 5) R. C. Cottrel *et al.*: *Fd. Cosmet. Toxicol.*; **14**, 593 (1976)

水道水汚染有機化合物およびその関連物質の変異原性に関する研究

I. 微生物による遺伝子突然変異試験

能美健彦・宮田ルミ子・吉川邦衛*・石館 基

Mutagenicity Tests on Organic Chemical Contaminants in City Water and Related Compounds

I. Bacterial Mutagenicity Tests

Takehiko NOHMI, Rumiko MIYATA, Kunie YOSHIKAWA* and Motoi ISHIDATE, Jr.

The mutagenicities of organic chemical contaminants in city water and related compounds were examined by the *Salmonella*/microsome test (Ames test). Out of 21 chemicals tested, 1,2-dichloroethane was mutagenic in *S. typhimurium* TA100 in the presence of S9 mix. The other 20 compounds including the 3 isomers of trichlorobenzene, 1,1-dichloroethane, chlorobenzene, were not mutagenic in the present test system.

(Received May 31, 1985)

水道水の汚染については当初塩素処理によって自然界由来のフミン酸から生成されるトリハロメタンが問題視され、さらに、トリクロロメタン、テトラクロロエチレンなどの合成有機化合物の地下水汚染が注目されるに至って、水道水中への有機化合物の微量汚染が大きな社会問題となってきた。

トリハロメタンとしてはクロロフォルム、プロモジクロロメタン、ジプロモクロロメタン、プロモフォルムが検出されたという報告があり、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、四塩化炭素などの塩素化炭化水素が11種検出されているという¹⁾。これらの有機化合物の汚染源としては、化学工業廃棄物、一般廃棄物、さらには工場排水や農薬などが挙げられており、本邦においても地下水の汚染調査が行われている。それによると、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、クロロフォルム、1,1,1-トリクロロエタン、四塩化炭素の順に検出率が高いことが報告されている²⁾。

本研究においては、これら水道水中の微量有機化合物の有害性を評価するために、1981年度より厚生省環境衛生局・水道環境部の依頼を受けて、微生物による変異原性試験を行い、変異原性の有無を検討したので報告する。

試験方法

サルモネラ菌 (*S. typhimurium*) を用い、代謝活性化法を併用して Ames 試験を行った。1982年度は3菌

株、TA100, TA2637 (または TA1537), TA98 を、1983年度は4菌株、TA100, TA98, TA102, TA97 を用いた。試験操作は原則として Ames らの原法³⁾に準じたが、S9 は PCB (KC-400) 処理をした BALB/c マウスの肝より調製し、S9 mix にはプレート当たり 2 μ moles の NADH を添加した。菌体を検体および S9 mix と共に、37°C、20分間インキュベート後、寒天平板上に重層した。2日間培養後に、復帰突然変異コロニー数を計測した。検体濃度は6段階とし、最高濃度は静菌作用が認められる濃度、ないしは溶解限界濃度とした。

結果の判定は、復帰突然変異コロニー数が対照値 (溶媒処理群) の2倍以上を示し、かつ検体濃度依存性が認められた場合を陽性とした。結果が疑陽性的場合には、再度実験を繰り返した。

結 果

Table 1 に1982年度の研究結果を示す。13種類の検体 (ただし、3種の trichlorobenzene の異性体を含む) はいずれも静菌作用が認められる濃度まで実験を行ったが、変異コロニー数の増加は認められなかった。すなわち、これらの化合物は代謝活性化の有無にかかわらず、サルモネラ菌3株 (TA100, TA2637, TA98) に対して突然変異誘発性はないものと判断された。なお、1,2,3-, 1,2,4-trichlorobenzene および *l*-menthol では TA2637 の代わりに TA1537 による結果を示してある。

Table 2 に1983年度の結果を示す。8検体のうち、

* 現勤務先: 三菱化成総合研究所

Table 1. Mutagenicity tests in *Salmonella typhimurium* (TA100, TA2637, TA98) (1982)

Compound	Solvent	Dose (mg/plate)	TA100		TA2637		TA98		Judge	
			-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix		
Benzaldehyde	DMSO	0.05	117	104	21	29	18	30	-	
		0.1	87	104	21	29	6	25		
		0.2	112	115	25	39	16	39		
		0.5	86	92	17	24	8	28		
		1.0	80	86	20	20	8	27		
		2.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE		
Acetophenone	DMSO	0.05	97	101	36	17	17	25	-	
		0.1	105	88	28	25	11	35		
		0.2	105	138	27	43	9	37		
		0.5	103	113	26	22	9	30		
		1.0	96	85	31	17	28	24		
		2.0	LE	LE	LE	LE	LE	11		
Benzyl cyanide	DMSO	0.05	95	91	27	25	16	32	-	
		0.1	113	101	25	23	8	30		
		0.2	113	116	24	23	27	44		
		0.5	125	127	26	20	30	29		
		1.0	96	103	23	30	28	23		
		2.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE		
o-Dichlorobenzen	DMSO	0.005	124	134	48	22	36	37	-	
		0.01	92	114	28	22	34	20		
		0.02	98	131	56	42	32	45		
		0.05	106	118	27	25	34	35		
		0.1	68	92	11	18	9	23		
		0.2	LE	LE	17	LE	LE	LE		
1,2,3-Trichloro- benzene‡	DMSO	0.03	91	133	14	25	28	53	-	
		0.1	LE	122	LE	20	LE	41		
		0.3	LE	110	LE	16	LE	62		
		1.0	LE	LE	LE	LE	LE	35		
		3.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE		
		0.03	104	146	9	9	24	44		
1,2,4-Trichloro- benzene‡	DMSO	0.1	LE	123	LE	28	LE	41	-	
		0.3	LE	95	LE	11	LE	29		
		1.0	LE	146	LE	16	LE	24		
		3.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE		
		0.1	102	125	32	23	17	32		-
		0.2	99	160	31	24	17	38		
0.5	101	155	34	25	15	36				
1.0	93	86	26	18	20	27				
2.0	125	96	33	34	21	30				
5.0	99	94	25	15	54	LE				
1,3,5-Trimethyl- benzene	DMSO	10.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE		
		0.005	126	112	77	32	54	28	-	
		0.01	90	100	43	23	26	33		
		0.02	113	109	66	36	43	42		
		0.05	134	121	16	33	20	26		
		0.1	92	102	7	9	4	30		
Naphthalene	DMSO	0.2	70	LE	LE	LE	LE	LE		-
		0.5	LE	LE	LE	LE	LE	LE		
		0.01	82	-	45	-	26	-		
		0.02	103	-	37	-	43	-		
		0.05	103	-	31	-	14	-		
		0.1	124	106	17	29	10	30		
		0.2	94	101	27	31	25	20		
		0.5	73	97	LE	13	5	9		
		1.0	LE	65	LE	20	LE	14		
		2.0	LE	80	LE	28	LE	17		
5.0	LE	72	LE	18	LE	15				
10.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE				

Table 1. (continued)

Compound	Solvent	Dose (mg/plate)	TA100		TA2637		TA98		Judge	
			-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix		
Biphenyl	DMSO	0.01	107	133	39	26	39	28	-	
		0.02	98	110	36	45	36	48		
		0.05	111	79	31	37	7	42		
		0.1	131	107	27	20	11	13		
		0.2	108	76	22	28	10	26		
		0.5	112	98	10	36	5	32		
		1.0	102	65	6	46	3	22		
		2.0	LE	82	LE	LE	LE	LE		27
		5.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE		LE
Dibenzofuran	DMSO	0.01	93	102	39	30	48	28	-	
		0.02	122	120	56	28	45	31		
		0.05	92	109	20	9	7	10		
		0.1	94	74	7	5	6	11		
		0.2	91	99	16	13	3	9		
		0.5	35	38	3	LE	LE	LE		
		1.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE		
l-Menthol*	DMSO	0.02	113	121	38	28	45	50	-	
		0.05	96	107	54	81	33	69		
		0.1	LE	112	24	42	41	54		
		0.2	LE	LE	0	7	0	24		
dl-Menthol	DMSO	0.005	109	121	42	38	36	27	-	
		0.01	90	161	35	30	30	39		
		0.02	104	165	32	29	36	44		
		0.05	150	140	23	37	32	42		
		0.1	96	159	20	32	16	29		
		0.2	LE	82	7	10	9	28		
		0.5	LE	LE	LE	LE	LE	LE		
Control(DMSO)		100 μ l	149	103	19	27	27	35		
AF-2	Buffer	0.00002	1024	-	-	-	215	-		
9-Aminoacridine	DMSO	0.2	-	-	1316	-	-	-		
2-Aminoanthracene	DMSO	0.05	-	3458	-	369	-	2871		

* For these chemicals, data in TA1537 instead of TA2637 were present.
LE: Lethal effect in background lawn. -: not tested.

1,2-dichloroethane のみが TA100 で S9 mix 共存下で、濃度に依存して明らかな変異コロニー数の増加が認められた。一方、2種のフタル酸エステルでは最高濃度においても静菌作用も示さず、変異コロニー数の有意な増加もみられていない。その他の5種類の検体では、最高濃度でそれぞれ静菌作用がみられるところまで実験を行ったが、変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。以上の結果から、1983年度の検体のうち突然変異誘発作用が認められたのは、1,2-dichloroethane だけで、塩基対置換型の突然変異を誘発することが明らかになった。

考 察

58年度の8検体については、1,2-dichloroethane のみが代謝活性化で陽性の結果を示し、他はすべて陰性であった。本研究の培養細胞を用いる染色体異常試験においても同様の結果を得ている。

Cis-1,2-dichloroethylene の *Saccharomyces cerevisiae*

による変異原性試験(組換え試験、遺伝子突然変異試験、遺伝子変換試験)ではS9の共存、非共存下にかかわらず、陰性の結果が報告されている⁴⁾。また、dibutylphthalate の *S. cerevisiae* による変異原性試験⁵⁾、培養細胞による染色体異常試験および姉妹染色分体交換試験⁶⁾の報告でも、陽性の結果は示されていない。これらの報告は本研究結果と一致している。

今回試験した化合物のうちで唯一陽性となった1,2-dichloroethane の代謝的活性化機構については、P. F. Guengerich らにより詳細な検討がなされている⁷⁾。すなわち、1,2-dichloroethane の代謝的活性化は、サルモネラ菌に対する突然変異原性を指標にした場合、細胞質中のグルタチオン転移酵素によるのみ触媒され、生成するS-(2-chloroethyl)glutathion が活性中間体と考えられている。同様の代謝的活性化経路は、1,2-bromoethane についても提唱されており⁸⁾、通常の代謝反応では解毒に働くという点で興味深い。

Table 2. Mutagenicity tests in *Salmonella typhimurium* (TA100, TA98, TA102, TA97) (1983)

Compound	Solvent	Dose (mg/plate)	TA100		TA98		TA102		TA97		Judge
			-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix	
Chlorobenzene	DMSO	0	111	124	21	22	263	269	208	236	
		0.02	129	117	11	19	239	273	217	286	
		0.05	116	110	20	24	210	308	180	246	
		0.1	109	121	13	21	228	269	144	246	
		0.2	180	191	5	13	111	184	70	110	
		0.5	73	90	LE	10	113	247	89	169	
		1.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	
1,1-Dichloroethane	DMSO	0	154	143	22	31	310	362	217	242	
		1.0	108	114	26	23	258	360	150	188	
		2.0	153	145	18	23	312	343	128	253	
		5.0	124	114	19	21	289	393	182	232	
		10.0	138	106	14	24	230	330	138	174	
		20.0	190	134	20	16	248	284	258	272	
		50.0	LE	LE	LE	LE	LE	250	LE	LE	
1,2-Dichloroethane	DMSO	0	154	143	22	31	310	362	217	242	
		0.5	171	170	24	37	260	376	164	214	
		1.0	134	220	16	29	279	361	178	235	
		2.0	172	272	14	12	320	362	175	244	
		5.0	153	229	15	19	267	341	140	199	
		10.0	118	96	LE	4	146	176	LE	134	
		20.0	LE	LE	LE	LE	LE	266	LE	238	
cis-1,2-Dichloroethylene	DMSO	0	154	143	22	31	310	362	217	242	
		1.0	139	138	24	21	259	341	146	215	
		2.0	147	149	20	20	289	341	188	215	
		5.0	176	130	18	20	262	316	159	216	
		10.0	106	102	20	14	252	260	278	298	
		20.0	150	114	LE	22	132	344	LE	168	
		50.0	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	
Geosmin	DMSO	0	171	139	19	17	280	364	185	247	
		0.002	164	158	20	13	271	324	214	208	
		0.005	164	167	23	12	249	307	193	214	
		0.01	141	180	13	18	242	301	190	179	
		0.02	174	154	19	23	223	274	244	249	
		0.05	137	140	3	18	202	249	134	229	
		0.01	43	115	LE	12	98	258	30	157	
2-Methylisoborneol	DMSO	0	171	139	19	17	280	364	185	247	
		0.01	135	137	15	20	210	273	176	222	
		0.02	159	169	18	24	258	286	213	247	
		0.05	164	152	23	21	231	303	194	268	
		0.1	153	120	18	23	222	251	191	284	
		0.2	LE	82	LE	8	70	238	LE	118	
		0.5	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	
Dibutylphthalate	DMSO	0	149	128	17	18	189	311	219	246	
		0.2	150	133	21	11	232	265	202	224	
		0.5	125	120	22	10	256	240	207	241	
		1.0	124	131	14	8	229	267	200	210	
		2.0	154	143	13	15	224	241	199	218	
		5.0	146	126	17	15	206	174	213	249	
		10.0	130	109	15	4	233	93	190	210	
Di(2-ethylhexyl)-phthalate	DMSO	0	171	139	19	17	280	364	185	247	
		0.2	156	132	12	16	290	289	195	226	
		0.5	132	104	10	11	232	355	213	244	
		1.0	123	134	12	10	193	288	186	193	
		2.0	143	145	16	15	248	297	215	214	
		5.0	129	136	15	10	217	310	164	225	
		10.0	116	153	16	17	160	287	172	179	
Positive Control											
A F - 2	DMSO	0.00002	993	-	417	-	-	-	-	-	
Mitomycin C	D.W.	0.00002	-	-	-	-	1514	-	-	-	
I C R - 1 9 1	DMSO	0.0001	-	-	-	-	-	2444	-	-	
Benzo(a)pyrene	DMSO	0.02	-	1675	-	825	-	660	-	1009	

LE, - : See the foot-notes in Table 1.

これまで合計21種の化合物について検索を行ったが、1,2-dichloroethane のみが TA100 において S9 mix 共存下で陽性の結果を示し、他はすべて陰性であった。これらの検体については哺乳動物培養細胞に対する染色体異常誘発性をも検討しており、その結果を本誌に併せて発表してあるので参照されたい。

文 献

- 1) 佐谷戸安好: トキシコロジーフォーラム, 7, 443 (1984)
- 2) 矢部禎明: 水, 1, 86 (1983)
- 3) Ames, B. N. et al.: *Mutation Res.*, 31, 347 (1975)
- 4) Galli, A. et al.: *Boll.-Soc. Ital. Biol. Sper.*, 58, 860 (1982)
- 5) Shahin, M. and R. C. von Borstel: *Mutation Res.*, 48, 173 (1977)
- 6) Abe, S. and M. Sasaki: *J. Natl. Cancer Inst.*, 58, 1635 (1977)
- 7) Guengerich, F. P. et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 55, 303 (1980)
- 8) Ozawa, N. and F. P. Guengerich: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 5266 (1983)

水道水汚染有機化合物およびその関連物質の変異原性に関する研究

II. 哺乳動物培養細胞による染色体異常試験

祖父尼俊雄・林 真・松岡厚子・沢田 稔
畑中みどり・石館 基

Mutagenicity Tests on Organic Chemical Contaminants in City Water and Related Compounds

II. Chromosome Aberration Tests in Cultured Mammalian Cells

Toshio SOFUNI, Makoto HAYASHI, Atsuko MATSUOKA, Minoru SAWADA,
Midori HATANAKA and Motoi ISHIDATE, Jr.

The clastogenic potential of organic chemical contaminants in city water and related compounds was examined using Chinese hamster cells (CHL) in culture. Out of 25 chemicals tested without a metabolic activation system, two chemicals, acrylonitrile and acrylamide, significantly induced chromosome aberrations. By the metabolic activation system, 27 chemicals were tested, and 5 of them, anthracene, pyrene, acetophenone, biphenyl and 1,2-dichloroethane, were positive only in the presence of S9 mix. Two chemicals, acrylonitrile and acrylamide, were also positive both with and without S9 mix. One chemical, benzaldehyde, was positive only in the absence of S9 mix. Other chemicals showed no significant increase in the incidence of chromosome aberrations when used with and without S9 mix. In summary, out of 32 chemicals examined with or without the metabolic activation system, 8 chemicals were positive in the presence and/or absence of S9 mix.

(Received May 31, 1985)

水道水中の微量有機化合物について、微生物による遺伝子突然変異試験に加えて、哺乳動物培養細胞による染色体異常試験を行ったので、その結果について報告する。

試験方法

チャイニーズ・ハムスター肺由来の細胞株 (CHL) を用い、代謝活性化を行わない直接法¹⁾、あるいは S9 を用いる代謝活性化法²⁾ による染色体異常試験を行った。

直接法では 2×10^4 個の細胞をガラス培養瓶に播き、

3日目に検体を加え、24時間および48時間後に染色体標本作製した。検体濃度は、予備試験によって細胞増殖が約50%抑制される濃度を求めて、それを指標として3段階濃度(原則として公比2)を選択した。

代謝活性化法では、ガラス培養瓶に細胞を播種し、3日目に検体と S9 mix とで6時間処理した。その後、新しい培養液と交換し、さらに18時間培養し、染色体標本作製した。S9 は Ames 試験に用いたものと同じく、PCB (KC 400) 処理したラットまたはマウスの肝から調製した。

染色体の観察は、培養瓶当たり100個のよく広がっ

Table 1. (continued)

Compound	Solvent	Dose (mg/ml)	Treatment time (h)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells*						Judge		
					ctg	ctb	cte	csb	cse	Total			
γ -Chlordane	DMSO	0	24	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0			
		0.0125	24	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-		
		0.025	24	3.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-		
		0.05	24	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-		
		0.1	24	TOX	-	-	-	-	TOX	-	-	-	
		0	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0		
		0.0125	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.025	48	3.0	0.0	0.0	1.0	0.0	1.0	2.0	2.0	-	
		0.05	48	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.1	48	TOX	-	-	-	-	TOX	-	-	-	
		Acrylonitrile	Saline	0	24	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
				0.01	24	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
				0.015	24	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	4.0	-
				0.02	24	1.0	2.0	6.0	2.0	0.0	0.0	9.0	±
0.025	24			1.0	5.0	3.0	1.0	0.0	0.0	8.0	±		
0	48			0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	2.0			
0.01	48			0.0	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-		
0.015	48			2.0	2.0	3.0	7.0	0.0	0.0	9.0	±		
0.02	48			3.0	5.0	6.0	6.0	0.0	1.0	15.0	+		
0.025	48			NM	-	-	-	-	NM	-	-	-	
Acrylamide	Saline			0	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
				0.1	24	1.0	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0	4.0	-
				0.15	24	0.0	5.0	3.0	2.0	0.0	0.0	10.0	+
				0.2	24	3.0	4.0	8.0	1.0	0.0	0.0	11.0	+
		0.25	24	1.0	14.0	16.0	3.0	0.0	0.0	25.0	+		
		0	48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0			
		0.1	48	1.0	4.0	4.0	2.0	0.0	0.0	7.0	±		
		0.15	48	4.0	10.0	15.0	4.0	0.0	0.0	22.0	+		
		0.2	48	4.0	47.0	60.0	12.0	0.0	0.0	73.0	+		
		0.25	48	NM	-	-	-	-	NM	-	-	-	
		Anthracene	DMSO	0	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
				0.006	24	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-
				0.0125	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
				0.025	24	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
0.05	24			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
0	48			0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0			
0.006	48			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
0.0125	48			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
0.025	48			1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
0.05	48			3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
Pyrene	DMSO			0	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
				0.06	24	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-
				0.125	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
				0.25	24	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		0.5	24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-		
		0	48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0			
		0.06	48	2.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-		
		0.125	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
		0.25	48	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-		
		0.5	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		

* ctg:chromatid and isochromatid gaps, ctg:chromatid breaks, cte:chromatid exchanges, csb:chromosome breaks, cse:chromosome exchanges including dicentric and ring chromosomes. TOX:Almost no survival cells. NM:Almost no mitotic cells.

Table 2. Chromosome aberration tests in cultured Chinese hamster cells (Direct method) (1982)

Compound	Solvent	Dose (mg/ml)	Treatment time (h)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells*					Judge			
					ctg	ctb	cte	csb	cse		Total		
1,2,3-Trichloro- benzene	DMSO	0	24	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0			
		0.0157	24	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-		
		0.0313	24	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-		
		0.0625	24	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-		
		0	48	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0			
		0.0157	48	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
		0.0313	48	2.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-		
		0.0625	48	3.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-		
		1,2,4-Trichloro- benzene	DMSO	0	24	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		0.0313		24	3.0	0.0	2.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-	
0.0625	24	3.0		1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-			
0.125	24	TOX		-	-	-	-	-	-	-	-		
0	48	0.0		1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0				
0.0313	48	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-			
0.0625	48	1.0		0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-			
0.125	48	TOX		-	-	-	-	-	-	-	-		
1,3,5-Trichloro- benzene	DMSO	0		24	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0		
0.0157		24		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-		
0.0313		24	4.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-			
0.0625		24	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-			
0		48	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0				
0.0157		48	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-			
0.0313		48	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-			
0.0625		48	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-			
Biphenyl		DMSO	0	24	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0		
0.075			24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-		
0.1	24		1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-			
0.125	24		1.0	0.0	4.0	0.0	0.0	0.0	4.0	-			
0	48		0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0				
0.075	48		0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-			
0.1	48		2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	-			
0.125	48		2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-			
<i>l</i> -Menthol	DMSO		0	24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0		
0.0313			24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-		
0.0625		24	0.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-			
0.125		24	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	1.0	3.0	-			
0		48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0				
0.0313		48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-			
0.0625		48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-			
0.125		48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-			
<i>dl</i> -Menthol		EtOH	0	24	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0		
0.1			24	2.0	3.0	1.0	1.0	0.0	0.0	5.0	±		
0.15	24		1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-			
0.2	24		0.0	3.5	2.5	0.5	0.0	0.0	6.0	±			
0	48		1.0	2.0	1.0	0.0	0.0	1.0	3.0				
0.1	48		0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-			
0.15	48		0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-			
0.2	48		0.0	2.0	1.0	2.0	0.0	1.0	4.0	-			

* ,TOX: See the foot-notes in Table 1.

Table 3. Chromosome aberration tests in cultured Chinese hamster cells (Direct method) (1983)

Compound	Solvent	Dose (mg/ml)	Treatment time (h)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells†					Judge		
					ctg	ctb	cte	csc	cse		total	
Chlorobenzene	DMSO	0	24	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0		
		0.125	24	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		0.25	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.5	24	TOX	-	-	-	-	-	-	-	-
	DMSO	0	48	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		0.125	48	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		0.25	48	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
		0.5	48	TOX	-	-	-	-	-	-	-	-
		- - - - - TOX - - - - -										
		- - - - -										
1,1-Dichloroethane	Saline	0	24	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0		
		0.25	24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		0.5	24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		1.0	24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
	Saline	0	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		0.25	48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		0.5	48	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		1.0	48	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		- - - - - TOX - - - - -										
		- - - - -										
1,2-Dichloroethane	Saline	0	24	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0		
		0.25	24	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
		0.5	24	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		1.0	24	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
	Saline	0	48	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0		
		0.25	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.5	48	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-	
		1.0	48	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		- - - - - TOX - - - - -										
		- - - - -										
<i>cis</i> -1,2-Dichloroethylene	DMSO	0	24	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		0.25	24	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.5	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		1.0	24	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
	DMSO	0	48	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		0.25	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
		0.5	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		1.0	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		- - - - - TOX - - - - -										
		- - - - -										
Geosmin	DMSO	0	24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0		
		0.0125	24	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	1.0	-	
		0.025	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.05	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
	DMSO	0	48	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		0.0125	48	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
		0.025	48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		0.05	48	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		- - - - - TOX - - - - -										
		- - - - -										
2-Methylisoborneol	DMSO	0	24	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0		
		0.025	24	3.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-	
		0.05	24	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	2.0	-	
		0.1	24	NM	-	-	-	-	-	-	-	-
	DMSO	0	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0		
		0.025	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.05	48	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		0.1	48	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		- - - - - TOX - - - - -										
		- - - - -										
Dibutylphthalate	DMSO	0	24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0		
		0.0313	24	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		0.0625	24	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.125	24	0.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-	
	DMSO	0	48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0		
		0.0313	48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		0.0625	48	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		0.125	48	0.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-	
		- - - - - TOX - - - - -										
		- - - - -										

Table 3. (continued)

Compound	Solvent	Dose (mg/ml)	Treatment time (h)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells‡						Judge	
					ctg	ctb	cte	csb	cse	total		
Di(2-ethylhexyl)- phthalate	DMSO	0	24	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		0.0625	24	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		0.125	24	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		0.25	24	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		0	48	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	
		0.0625	48	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		0.125	48	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	
		0.25	48	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

‡, TOX, NM: See the foot-notes in Table 1.

た分裂中期像について行い、染色分体ギャップ (ctg)、染色分体切断 (ctb)、染色分体交換 (cte)、染色体切断 (csb)、染色体交換 (cse) などの構造異常をもつ細胞の出現頻度を記録した。さらに、いずれかの構造異常を1個以上もつ異常細胞の出現頻度を求めると共に、倍数性細胞の出現頻度も記録した。判定は異常細胞の出現頻度が5%未満を陰性(-)、5%以上10%未満を疑陽性(±)、10%以上を陽性(+)とした。結果が疑陽性になった場合には、検体濃度を調節して、再度実験を繰り返した。

結 果

1. 直接法

代謝活性化を行わない直接法の結果を Table 1~3 に示す。1981年度の11種類の検体(2種の chlordane の異性体を含む)のうち、acrylonitrile は 0.02 mg/ml で、acrylamide は 0.15 mg/ml 以上で陽性と判定されたが、他の9検体はいずれも陰性であった (Table 1)。1982年度は6種類の検体(3種の trichlorobenzene の異性体、2種の menthol の異性体を含む)について直接法で検討したが、いずれも陰性の結果に終わっており (Table 2)、直接染色体異常を誘発する性質をもたないものと判断された。1983年度の8種類の検体(2種の dichloroethane の異性体を含む)も直接法ではいずれも染色体異常誘発性を示さなかった (Table 3)。

2. 代謝活性化法

代謝活性化法による結果を Table 4~6 に示す。検体処理時の S9 の最終濃度は5%とし、S9 mix の添加、不添加にかかわらず処理時間は6時間とした。1981年度の検体のうち、 α - および γ -chlordane は検体量が少なかつたため実験はできなかつた、Acrylonitrile および acrylamide は直接法と同様 -S9 で共に陽性の結果を示したが、直接法に比べて約2倍の濃度が必要であった。また、両検体は +S9 でも陽性の結

果で示したが、-S9 の時とほぼ同じ濃度範囲であった (Table 4)。一方、anthracene および pyrene は +S9 の時のみ陽性の結果を示し、しかも、細胞致死効果も強まる傾向にあった。ただし、異常の出現頻度には明確な濃度依存性はみられていない。尚、他の5検体は代謝活性化法によっても染色体異常誘発性は認められなかつた (Table 4)。

代謝活性化法での S9 の最終濃度は5%にしてあるが、これを徐々に20%まで増加させると、1,1-dichloroethylene が染色体異常を誘発することが判明した。Acrylonitrile でも異常の増強効果が認められたが、trichloroethylene, tetrachloroethylene, 1,1,1-trichloroethane, carbon tetrachloride では S9 の割合を増加しても染色体異常の誘発は認められなかつた。1,1-dichloroethylene の染色体異常誘発性の詳細については他の報告³⁾を参照されたい。

1982年度の10種類の検体の結果を Table 5 に示す。Benzaldehyde は -S9 の時に陽性の結果を示し、+S9 では疑陽性の範囲にとどまり、しかも細胞致死効果も幾分低下の傾向を示した。一方、acetophenone および biphenyl は +S9 の時のみ陽性の結果を示し、染色体異常誘発効果は後者の方が著しかった。なお、benzyl cyanide および naphthalene は +S9 の時に最高濃度で疑陽性となつたにとどまつた。他の5検体はいずれも染色体異常誘発性は認められなかつた。

Table 6 に1983年度の結果を示す。8検体(2種の dichloroethane の異性体を含む)のうち 1,2-dichloroethane のみが +S9 の時に明らかな染色体異常誘発性を示し、しかも、濃度に依存して異常頻度が増加した。-S9 の時は最高濃度でのみ幾分異常細胞が増加したが、疑陽性の範囲にとどまつた。1,2-dichloroethane の異性体である 1,1-dichloroethane は染色体異常を誘発せず、細胞毒性も 1,2-体より弱かつた。他の6検体はいずれも陰性の結果を示した。

Table 4. Chromosome aberration tests in cultured Chinese hamster cells (Metabolic activation method) (1981)

Compound	Solvent	S 9	Dose (mg/ml)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells†						Judge	
					ctg	ctb	cte	csb	cse	total		
Carbon tetrachloride	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.13	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0	0.0	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	0.13	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0.25	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0.5	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
1,1-Dichloro- ethylene	DMSO	-	0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
		-	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
		-	2.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		-	4.0	0.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-	
		-	8.0	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-	
		+	0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		+	1.0	0.0	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-	
		+	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
Trichloro- ethylene	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		-	0.25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		+	0.25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
		+	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	2.0	-	
Tetrachloro- ethylene	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		-	0.13	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		-	0.25	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		+	0.13	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	0.25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	0.5	1.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-	
		+	1.0	1.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
1,1,1-Trichloro- ethane	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		-	0.25	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		-	0.5	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	2.0	-	
		-	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		+	0	0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		+	0.25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	1.0	1.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
Acrylonitrile	Saline	-	0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-	
		-	0.01	0.0	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-	
		-	0.02	0.0	2.0	1.0	2.0	0.0	0.0	5.0	±	
		-	0.04	0.0	5.0	7.0	5.0	0.0	0.0	15.0	+	
		-	0.08	0.0	21.0	39.0	40.0	0.0	0.0	70.0	+	
		+	0	0.0	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-	
		+	0.01	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
		+	0.02	0.0	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-	
		+	0.04	1.0	4.0	3.0	11.0	0.0	0.0	15.0	+	
		+	0.08	0.0	22.0	53.0	54.0	0.0	0.0	77.0	+	

Table 4. (continued)

Compound	Solvent	S9	Dose (mg/ml)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells [†]					Judge	
					ctg	ctb	cte	csb	cse		total
Acrylamide	Saline	-	0	3.0	2.0	1.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-
		-	0.13	0.0	1.0	4.0	0.0	0.0	0.0	4.0	-
		-	0.25	1.0	2.0	2.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-
		-	0.5	1.0	13.0	18.0	9.0	0.0	0.0	29.0	+
		-	1.0	0.0	47.0	70.0	46.0	0.0	1.0	95.0	+
		+	0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-
		+	0.13	1.0	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-
		+	0.25	4.0	3.0	0.0	1.0	0.0	0.0	4.0	-
		+	0.5	0.0	8.0	10.0	8.0	0.0	0.0	20.0	+
		+	1.0	0.0	38.0	70.0	47.0	0.0	0.0	100.0	+
Anthracene	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.01	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.015	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.02	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.025	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0.01	1.0	0.0	1.0	3.0	0.0	0.0	4.0	-
		+	0.015	1.0	1.0	2.0	8.0	0.0	0.0	9.0	±
+	0.02	1.0	4.0	7.0	9.0	0.0	0.0	14.0	+		
Pyrene	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.005	2.0	2.0	2.0	1.0	0.0	0.0	4.0	-
		-	0.01	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		-	0.015	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-
		-	0.02	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0.005	1.0	1.0	2.0	1.0	0.0	0.0	3.0	-
+	0.01	3.0	15.0	13.0	10.0	0.0	0.0	24.0	+		

[†] See the foot-notes in Table 1.

考 察

1981年度の11種類の検体のうちacrylonitrileとacrylamideは直接法で陽性の結果が得られた。一方、サルモネラ菌によるAmes試験ではacrylonitrileは代謝活性化を行った時(+S9)にのみ陽性の結果が報告されている⁴⁾。本研究の培養細胞による染色体異常試験でも+S9で陽性となったが、その異常誘発効果は-S9の時と同程度であった。これらの結果は微生物での突然変異誘発と哺乳動物細胞での染色体異常誘発とはその発現機構に若干の差異があることが考えられる。なお、哺乳動物細胞による姉妹染色分体交換試験、体細胞突然変異試験においても本研究の染色体異常試験と同様に陽性結果が報告されている⁵⁾。

Anthraceneとpyreneは+S9の時にのみ陽性の結果が得られた。Anthraceneの微生物による変異原性試験では一般に陰性の結果が報告されているが、なかには陽性の結果もみられ、逆にpyreneでは比較的陽性の結果が報告されている⁶⁾。ただし、一般的には代謝活性化の有無にかかわらず変異原性はないとの判

断がなされている⁷⁾。しかし、両検体については発癌性を示唆する報告もあり⁸⁾、今後慎重に検討する必要がある。

1,1-dichloroethyleneは本研究の通常の代謝活性化法(5% S9)では陰性であったが、S9の濃度を上げることによって染色体異常が誘発された³⁾。本検体は微生物による変異原性試験でも代謝活性化法によって陽性の結果が報告されており⁹⁾、さらに、哺乳動物培養細胞での姉妹染色分体交換試験でも+S9の時に陽性と判定されている³⁾。ただし、マウスによる小核試験では陰性の結果となっており³⁾、生体内での作用機序についてはさらに詳細に検討すべきである。

1982年度の検体の一つであるbiphenylは微生物による突然変異試験および哺乳動物培養細胞による染色体異常試験(直接法)で共に陰性の結果が得られた。チャイニーズ・ハムスター培養細胞(Don)による染色体異常および姉妹染色分体交換(SCE)試験でも陰性の結果が報告されており¹⁰⁾、また、シリアン・ハムスター(BHK21)による細胞形質転換試験でも陰性の結果であった¹¹⁾。一方、本研究での代謝活性化法によ

Table 5. Chromosome aberration tests in cultured Chinese hamster cells (Metabolic activation method) (1982)

Compound	Solvent	S 9	Dose (mg/ml)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells†					total	Judge
					ctg	ctb	cte	csb	cse		
Benzaldehyde	DMSO	-	0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-
		-	0.8	11.0	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	2.0	-
		-	1.0	3.0	1.0	13.0	18.0	0.0	0.0	24.0	+
		+	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0.8	11.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	1.0	5.0	3.0	3.0	4.0	0.0	0.0	9.0	±
		+	1.2	0.0	0.0	3.0	5.0	4.0	0.0	9.0	±
Acetophenone	DMSO	-	0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-
		-	0.8	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	1.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		-	1.2	0.0	1.0	1.0	3.0	0.0	0.0	4.0	-
		+	0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	2.0	-
		+	0.6	2.0	0.0	3.0	5.0	0.0	0.0	7.0	±
		+	0.8	2.0	1.0	7.0	12.0	0.0	0.0	17.0	+
+	1.0	1.0	1.0	9.0	12.0	0.0	0.0	16.0	+		
Benzyl cyanide	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.5	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	1.0	4.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0.25	2.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0.5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
+	1.0	1.0	0.0	3.0	5.0	0.0	0.0	7.0	±		
<i>p</i> -Dichlorobenzene	DMSO	-	0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.05	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.1	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.2	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0.05	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0.1	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
+	0.2	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-		
1,2,3-Trichlorobenzene	DMSO	-	0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.1	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.125	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0.1	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
+	0.125	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-		
1,3,5-Trimethylbenzene	DMSO	-	0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.025	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.05	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.1	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	0.05	2.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	0.1	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
+	0.2	1.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-		
Naphthalene	DMSO	-	0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.01	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	-
		-	0.02	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.04	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0.01	1.0	1.0	0.0	2.0	0.0	0.0	3.0	-
		+	0.02	2.4	2.4	2.4	1.2	0.0	0.0	4.9	-
+	0.04	1.0	2.0	3.0	7.0	0.0	0.0	8.0	±		

Table 5. (continued)

Compound	Solvent	S9	Dose (mg/ml)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells‡					Judge		
					ctg	ctb	cte	csb	cse		total	
Biphenyl	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.01	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.015	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.02	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		+	0	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	±
		+	0.01	4.0	2.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	5.0	±
		+	0.015	1.0	0.0	10.0	31.0	0.0	0.0	0.0	35.0	+
		+	0.02	1.0	4.0	35.0	28.0	0.0	0.0	0.0	51.0	+
Dibenzofuran	DMSO	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
		-	0.025	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.05	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	0.1	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	0	1.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	0.025	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0.05	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	0.1	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
l-Menthol	DMSO	-	0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		-	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		-	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
		+	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		+	0.2	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-	
		+	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	-

‡ See the foot-notes in Table 1.

る染色体異常試験では S9 mix を添加すると明らかな染色体異常誘発性が認められており, biphenyl の代謝産物の中に染色体異常誘発物質が含まれているものと考えられる。

1983年度の8検体についての培養細胞による染色体異常試験の結果は, サルモネラ菌を用いる Ames 試験の結果と同一であった。つまり, 1,2-dichloroethane のみが代謝活性化法で陽性の結果を示し, 他はすべて陰性であった。

Cis-1,2-dichloroethylene の *Saccharomyces cerevisiae* による変異原性試験 (組換え試験, 遺伝子突然変異試験, 遺伝子交換試験) では S9 の共存, 非共存下にかかわらず, 陰性の結果が報告されている¹²⁾。また, dibutylphthalate の *S. cerevisiae* による変異原性試験¹³⁾, 培養細胞による染色体異常試験および姉妹染色分体交換試験¹⁰⁾の報告でも, 陽性の結果は示されていない。これらの報告は本研究結果と一致している。

Di(2-ethylhexyl) phthalate は NTP (National Toxicology Program) の実験で発癌性が実証された¹⁴⁾が, 変異原性試験では, マウスによる優性致死試験¹⁵⁾で陽性となった以外は S9 を併用しても, *in vitro* の変異原性試験は陰性に終わっている¹⁰⁾。Di(2-ethylhexyl) phthalate の加水分解物である monoethylhexylphtha-

late は, 姉妹染色分体交換を起こさないが, 染色体異常誘発性を示すという報告がある¹⁶⁾。Di(2-ethylhexyl) phthalate は S9 mix で加水分解されない¹⁷⁾ため, 本研究の染色体異常試験でも陰性に終わったものと考えられる。

これまで直接法あるいは代謝活性化法のいずれかまたは両法で, 合計32種の化合物について染色体異常誘発性を検討してきたが, 8種の化合物 (acrylonitrile, acrylamide, anthracene, acetophenone, pyrene, biphenyl, 1,2-dichloroethane, benzaldehyde) が S9 mix 共存下あるいは非共存下で陽性となった。1984年度以降も引き続き水道水汚染化学物質とその関連化合物について検索を行っており, それらの結果についても追って報告する予定である。

文 献

- 1) Ishidate, M., Jr. and S. Odashima: *Mutat. Res.*, **48**, 337 (1977)
- 2) 祖父尼俊雄, 松岡厚子: 環境変異原研究, **5**, 4 (1984)
- 3) 沢田 稔, 祖父尼俊雄, 石館 基: 環境変異原研究, **6**, 149 (1984)
- 4) IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, **19**, 84

Table 6. (continued)

Compound	Solvent	S 9	Dose (mg/ml)	Polyploid (%)	Frequency (%) of aberrant cells [‡]					Judge	
					ctg	cib	cte	csb	cse		total
Di(2-ethylhexyl)- phthalate	Medium	-	0	0.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		-	10.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	15.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		-	20.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	0	2.0	3.0	0.0	2.0	0.0	0.0	4.0	-
		+	10.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
		+	15.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
		+	20.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-

[‡],NM: See the foot-notes in Table 1.

- (1979)
- 5) Danford, N. *et al.*: Progress in Mutation Research, **5**, 69 (1985)
 - 6) Bridges, B. A. *et al.*: Progress in Mutation Research, **1**, 49 (1981)
 - 7) 賀田恒夫, 石館 基: 環境変異原データ集1 (1981)
 - 8) Sax, N. I.: Cancer Causing Chemicals, (1981)
 - 9) Bartsch, H. *et al.*: *Nature*, **255**, 641 (1975)
 - 10) Abe, S. and M. Sasaki: *J. Natl. Cancer Inst.*, **58**, 1635 (1977)
 - 11) Styles, J. A.: *Br. J. Cancer*, **37**, 931 (1978)
 - 12) Galli, A. *et al.*: *Boll-Soc. Ital. Biol. Sper.*, **58**, 860 (1982)
 - 13) Shahin, M. and R. C. von Rorstel: *Mutat. Res.*, **48**, 173 (1977)
 - 14) NTP, Research Triangle Park, NC, OHHS Publication No (NIH) 81 (1981)
 - 15) Singh, A. R. *et al.*: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **29**, 35 (1974)
 - 16) Phillips, B. J. *et al.*: *Mutat. Res.*, **102**, 297 (1982)
 - 17) Daniel, J. W. *et al.*: *Toxicology*, **2**, 51 (1974)

ラット仔の生後発育に及ぼす Trypan blue の影響について

江馬 真・伊丹孝文・川崎浩之進・加納晴三郎

Postnatal Development of Offspring from Pregnant Rats treated with Trypan Blue

Makoto EMA, Takafumi ITAMI, Hironoshin KAWASAKI and Seizaburo KANOH

The fetal toxicity of trypan blue (TB) was studied in two generations of Wistar rats. Pregnant rats (F₀) were treated with TB at a dose of 50 or 10 mg/kg subcutaneously on day 7 of pregnancy. After spontaneous delivery, the offspring (F₁) were reared until 15 weeks of age. In the TB-treated groups, the number of live newborns per dam and the live birth index were slightly reduced compared with that of the control group. No adverse effect on the postnatal growth of the offspring was observed in both of the TB-treated groups. The offspring of the 50 mg/kg group showed a slower response than that of the control group in righting reflex test at 7 days of age. In open-field test of the offspring at 21 days of age, the number of squares entered in the TB-treated groups was significantly lower than that of the control group. After 10 weeks of age, the female offspring (F₁) of all the groups were mated with the males (F₁) of the same group. Good reproductive performance was shown in all the groups. The pregnant rats (F₁) were killed on day 20 of pregnancy, and the fetuses (F₂) were examined. Some of the pregnant rats (F₁) were allowed to litter spontaneously, and the offspring (F₂) were reared until 10 weeks of age. No harmful effect on the pre- and postnatal development of the offspring was observed in any group.

(Received May 31, 1985)

ま え が き

妊娠中に投与された薬物による仔の生後の行動異常

については最近特に注目を集めている。妊娠動物への薬物投与によって妊娠末期胎仔に形態的な異常が認められなくても生後に感覚や運動機能に障害を引起こす

可能性があり¹⁻³⁾、多くの薬物について仔の生後に機能異常が発現することが知られている⁴⁻⁶⁾。

Trypan blue (TB) の催奇形性については1948年に Gillman ら⁷⁾によって最初に報告されて以来多くの研究が行われている。我々も前報^{8,9)}において、TB のラットに対する胎仔毒性を検討し、胎仔に対する形態的な影響について明らかにしてきた。TB の胎仔毒性を検索するには胎仔の形態的な検査だけでは不十分であり、仔の生後発育に及ぼす影響についても検討を行う必要がある。しかし、TB は古典的な形態学的催奇形物質として知られているにもかかわらず、妊娠中に投与された TB による仔の生後の行動異常についての検討はなされていない。そこで、今回、妊娠中に TB を投与されたラットから得た仔の生後発育を調べたところ、興味ある知見が得られたので報告する。

実験材料および方法

1. 使用動物

Wistar ラットを使用した。

動物は室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ に調節された動物室にて飼育用固型飼料 (日本農産工業: ラボ MR-ストック)、妊娠期間中は繁殖用固型飼料 (日本農産工業: ラボ MR-スタンダード) と自動給水装置により水道水を自由に摂取させて飼育した。

12~16週齢の処女ラットを雄ラットと午後5時から翌朝9時まで同居させた、陰腔および腔内に精子を認めたものを交配成立とみなし、この日を妊娠0日と定め、以後個別ケージに移して飼育した。

2. 投与薬物および投与方法

Trypan blue (TB: Chroma-Gesellschaft, Schmid GmbH & Co., Stuttgart, West Germany, Lot IF577) を注射用生理食塩液に用時溶解した。

妊娠7日に TB50 または 10 mg/kg を皮下投与した。投与量は 10 ml/kg となるように濃度を調整し、妊娠0日の体重によって定めた量を11時30分から12時30分までの間に投与した。対照群には注射用生理食塩液を同様に投与した。

3. 観察方法

Fig. 1 に示した実験計画にしたがって、母および仔ラットの観察を行った。

3.1. 母ラットの観察

分娩後の1週毎に体重を測定し、一般状態の観察を行った。分娩後21日 (離乳日) に頸椎脱臼によって母ラットを殺し、内部器官の異常の有無を調べ、着床痕数を記録した。

3.2. 仔ラットの観察

妊娠ラットを自然分娩させて新生仔を得た。分娩発見日を生後0日とし、分娩仔数とその生死を調べた。生仔については性と外表奇形の有無を検索し、体重を測定した後、1母体当たり雌雄各4匹となるように仔数を調整した。仔は雌雄別に烙印で番号を付けた後、母ラットにそのまま哺育させた。生後7日、14日および21日に仔の生死と一般状態を観察し、生仔の体重を測定し、生後21日に母ラットから離乳させた。離乳後仔は雌雄別に生後15週まで飼育し、1週毎に体重を測定し、一般状態の観察を行った。

3.3. 仔 (F₁) の行動・機能の検索

1) 立直り反射 (Righting reflex)¹⁰⁾

生後7日に行った。動物をあおむ向けに置き、四肢を下にした正常の姿勢に戻るまでの秒数を測定した。1匹について3回の検査を行った。

2) 水泳試験 (Swimming)¹¹⁾

生後7日に行った。動物を水面 10 cm 上方から $20 \pm 1^\circ\text{C}$ の水槽に落下させ、頭部および鼻部の位置に

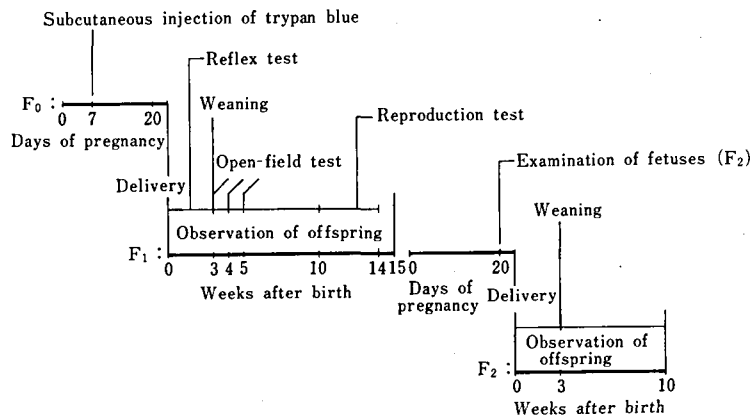


Fig. 1. Experimental schedule of studies on fetal toxicity of trypan blue

Table 1. Observations of dams (F₀) and their offspring (F₁)

Dose (mg/kg, s.c.)	50	10	0 (Control)
Dam			
No. of litters	10	11	11
Length of gestation (day, mean±S.D.)	21.7±0.5	21.5±0.7	21.4±0.5
No. of implants	116	117	125
Offspring			
No. of live newborns	95	105	116
No. of live newborns per dam (mean±S.D.)	9.5±3.4	9.5±2.1	10.5±2.4
No. of dead newborns	3	4	0
No. of newborns with external anomaly	2 ^c	0	0
Live birth index (%) ^a	80.2	89.7	92.3
Weaning rate (%) ^b	96.3	95.5	97.7

a: (No. of live newborns /No. of implants) x 100.

b: (No. of live offspring at weaning/No. of live newborns after adjustment on day 0) x 100.

c: Spina bifida, club foot and kinky tail.

よって得点を記録した。すなわち、得点は、0：頭部が水面下，1：鼻部が水面下，2：鼻部が水面，3：鼻部が水面から完全に出ている，とした。

3) 音響驚愕反応 (Auditory startle)¹⁰⁾

生後14日に実験者が手をたたいた音に対する驚愕またはすくみの反応の有無を調べた。

4) 開眼

生後14日に両眼の開眼の有無を調べた。

以上の 1)~4) の離乳前の検査は雌雄の仔について行った。

5) Open-field による行動の検査

生後21日，28日および35日に雄仔について行った。50×50 cm の灰色塩化ビニール板を黒色の線によって16に分画し，高さ 20 cm の木製の外壁に囲まれた open-field 上の一角にラットを置き，その後3分間の観察を行った。以下に示す項目について調べた。1：最初の区画から別の区画へ移動するまでの時間，2：移動区画数，3：後肢による立ち上がり回数，4：脱糞の有無と数，5：排尿の有無，6：その他の一般歩行状態。

以上の行動・機能の検査は13時から15時までの間に行った。

3.4. F₁ の生殖試験

10週齢に達した F₁ を用いて生殖試験を行った。同

腹とならないように同一群の雄と雌とを1対1で2週間同居させ，この間毎朝交尾の有無を調べた。2週間以内に交尾の認められなかった雌は，同一群の生殖試験用の別の雄とさらに2週間同居させた。

3.5. 妊娠末期胎仔の観察

各群4～5匹の妊娠ラット (F₁) を残し，他の妊娠ラットは胎仔 (F₂) に対する影響を調べるために妊娠20日に頸椎脱臼によって殺し，着床数，胎仔の子宮内死亡数，生存胎仔については性別，体重および外表異常の有無を調べ，さらに，胎盤重量を測定した。生存胎仔の約半数はアルコールに固定し，Dawsonの方法¹²⁾によって骨格標本作製して骨格異常の検索を行った。残りの半数の胎仔については Bouin 液に固定し，Wilsonの方法¹³⁾によって内臓異常の検索を行った。

3.6. 母 (F₁) および仔ラット (F₂) の観察

各群4～5匹の妊娠ラット (F₁) から得られた仔ラット (F₂) については行動・機能の検索および生殖試験を行わなかったが，その他の母および仔ラットの観察は前述の方法と同様に行い，仔 (F₂) は生後10週まで飼育した。

4. 統計処理

妊娠末期胎仔および離乳までの仔の各検査項目については1腹を単位として成績を集計した。各群の比較

は Student の t 検定, Wilcoxon と Wilcox の順位和検定, χ^2 検定または Fisher の直接確立計算法によって行った。

結 果

1. 仔 (F₁) の成長に及ぼす影響

妊娠 7 日に TB50 または 10 mg/kg を皮下投与した母ラット (F₀) および自然分娩によって得られた仔ラット (F₁) の所見を Table 1 に示した。各群の母ラットの妊娠中の母体重増加および妊娠日数には差はみられなかった。50 mg/kg 群に 3 例, 10 mg/kg 群に 4 例の死亡仔が観察され, 分娩直後の 1 腹当たりの生存仔数および生仔分娩率がわずかに減少したが, 対照群との間に有意差はなかった。また, 50 mg/kg 群において 2 例の外表面奇形仔が観察された。

各群の仔の生後 15 週までの体重の推移を Fig. 2 に示した。両 TB 群の雌雄の仔体重には対照群との間に有意差は認められなかった。また, 生後 15 週までの仔生存率はいずれの群ともに 90% 以上であった。

2. 仔 (F₁) の行動・機能に及ぼす影響

離乳前に行った仔の行動・機能検査の結果を Table 2 に示した。立直り反射は 50 mg/kg 群の雌仔で対照群に比べて有意に遅れ, 雄仔では遅れる傾向がみられた。10 mg/kg 群においては雌雄の仔ともに対照群と同程度の値を示した。水泳試験, 音響驚愕反応および開眼の検査では両 TB 投与群の雌雄の仔ともに対照群と同程度の値が示された。

Open-field における各群の移動区画数を Fig. 3 に示した。生後 21 日における検査では両 TB 群において移動区画数が対照群に比べて有意に減少した。しかし, 生後 28 日および 35 日における検査では両 TB 群と対照群との間に差はみられなかった, また, 生後 21 日の

50 mg/kg 群で脱糞ラット数が有意に増加し, 生後 35 日の 50 mg/kg 群で放尿ラット数が有意に減少した。

3. 仔 (F₁) の生殖能力に及ぼす影響

生後 10 週に達した雌雄の F₁ を用いて行った生殖試験の結果を Table 3 に示した。雌の交尾率は両 TB 群でわずかな減少がみられたが, 対照群との間に有意差は認められなかった。また, 雌の妊娠率は各群ともに同程度であり, 高い値が示された。

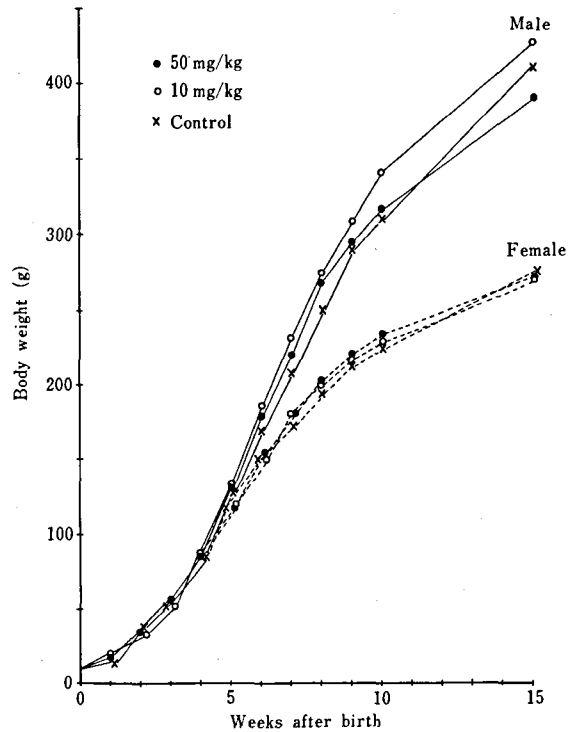


Fig. 2. Body weight of offspring (F₁)

Table 2. Prewaning reflex tests of offspring (F₁)

Sex of offspring	Male			Female			
	Dose (mg/kg, s.c.)	50	10	0 (Control)	50	10	0 (Control)
No. of litters		6	6	7	6	6	7
Righting on day 7 (sec., mean±S.D.)		3.4±2.3	2.2±0.7	1.8±0.4	5.3±3.7*	2.4±1.1	2.2±0.5
Swimming on day 7 (score, mean±S.D.)		1.8±0.5	1.3±0.4	1.7±0.3	1.5±0.3	1.4±0.4	1.5±0.4
Auditory startle on day 14 (%)		100	100	100	100	100	100
Eyes opening on day 14 (%)		8	25	18	4	26	22

*: p < 0.05 (Significant difference from the control).

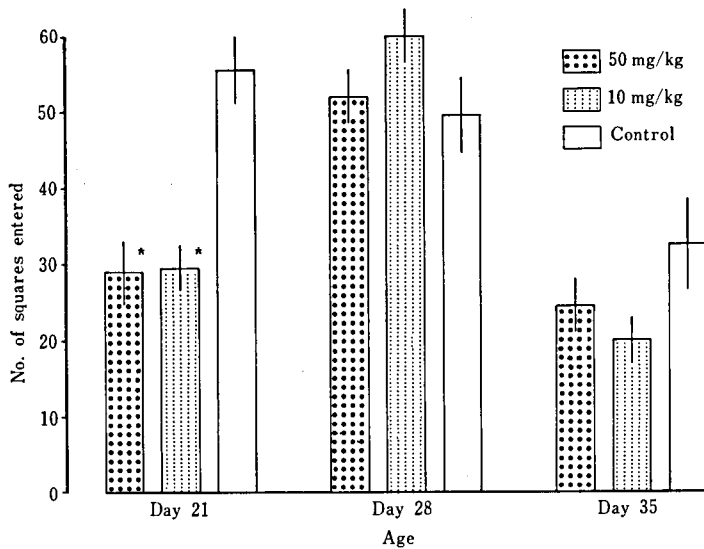


Fig. 3. Open-field activity in male offspring (F₁)
 Each column represents the mean with S.E.
 * p<0.05 (Significant difference from the control).

Table 3. Reproductive performance of female offspring (F₁)

Dose (mg/kg, s.c.)	50	10	0 (Control)
No. of females	16	16	17
Copulation index (%) ^a	87.5	87.5	94.1
Fertility index (%) ^b	92.9	92.9	93.8

a: (No. of females copulated/No. of females) x 100.

b: (No. of pregnant females/No. of females copulated) x 100.

4. 胎仔 (F₂) に及ぼす影響

各群の雌雄の F₁ にて交配を行って得られた妊娠ラット (F₁) を妊娠20日に殺し、胎仔 (F₂) の検査を行った結果を Table 4 に示した。妊娠中の母体重増加、黄体数、着床数、生存胎仔の性比および体重、胎盤重量には両 TB 群と対照群との間の差は認められなかった。また、生存胎仔の外表、骨格および内臓異常の検索を行ったが、いずれの群の胎仔にも異常は観察されなかった。

5. 仔 (F₂) の成長に及ぼす影響

母ラット (F₁) および自然分娩によって得られた仔ラット (F₂) の所見を Table 5 に示した。各群の母ラットの妊娠日数には差はみられなかった。分娩直後に 10 mg/kg 群および対照群において死亡仔が観察さ

れたが、1腹当たりの生存仔数には各群間の差はみられなかった。また、いずれの群にも外表奇形仔は認められなかった。生仔分娩率および仔の離乳率にも各群間の差はみられなかった。

各群の仔の生後10週までの体重の推移を Fig. 4 に示した。両 TB 群の雌雄の F₂ ともに対照群と同様の体重の推移を示した。また、生後10週までの仔の生存率はいずれの群ともに90%以上であった。いずれの群にも仔の一般状態に変化は認められなかった。

考 察

妊娠ラットに投与した TB が胚に移行し^{9,10}、かつ、奇形が最も発現しやすい時期である妊娠7日に、生存仔が得られる投与量である 50 または 10 mg/kg の TB

Table 4. Observations of dams (F₁) and their fetuses (F₂)

Dose (mg/kg, s.c.)	50	10	0 (Control)
No. of dams	8	8	11
Body weight gain during pregnancy (g, mean±S.D.)	119±12	115±11	125±17
No. of corpora lutea	100	95	141
No. of corpora lutea per dam (mean±S.D.)	12.5±1.2	11.9±0.8	12.8±1.9
No. of implants	95	89	134
No. of implants per dam (mean±S.D.)	11.9±1.2	11.1±1.5	12.2±1.5
No. of intrauterine death	7	1	4
% of intrauterine death ^a	7.4	1.1	3.0
No. of live fetuses (male/female)	41/47	41/47	65/65
No. of live fetuses per dam (mean±S.D.)	11.0±1.5	11.0±1.5	11.8±1.7
Fetal body weight (g, mean±S.D.)			
Male	4.27±0.28	4.17±0.26	4.16±0.33
Female	4.10±0.29	4.07±0.41	3.94±0.36
Placental weight (g, mean±S.D.)	0.48±0.03	0.44±0.04	0.45±0.04
No. of fetuses with anomaly	0	0	0

a: (No. of intrauterine death/No. of implants) × 100.

Table 5. Observations of dams (F₁) and their offspring (F₂)

Dose (mg/kg, s.c.)	50	10	0 (Control)
Dam			
No. of litters	5	5	4
Length of gestation (day, mean±S.D.)	21.0±0	21.0±0	21.3±0.5
No. of implants	63	56	45
Offspring			
No. of live newborns	58	52	40
No. of live newborns per dam (mean±S.D.)	11.6±1.5	10.4±1.1	10.0±1.4
No. of dead newborns	0	1	3
No. of newborns with external anomaly	0	0	0
Live birth index (%) ^a	92.0	93.0	89.8
Weaning rate (%) ^b	95.0	95.0	93.8

a,b: See the foot note of Table 1.

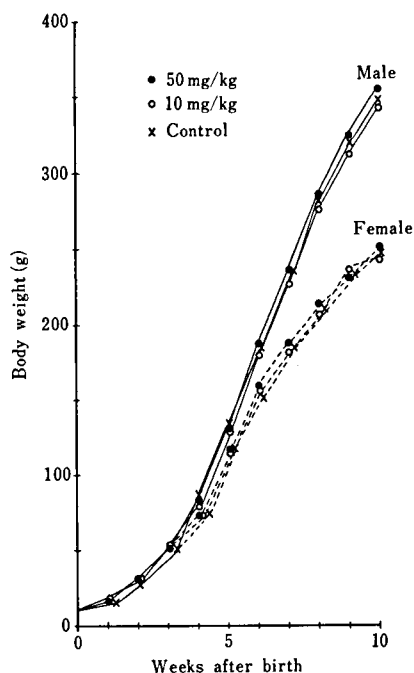


Fig. 4. Body weight of offspring (F₂)

を皮下投与し^{8,9)}, TB の仔の生後発育に及ぼす影響を検討した。

F₀ に TB を投与したとき, 1 腹当たりの生存仔数および生仔分娩率が若干減少する傾向がみられた。しかし, 仔の成長は良好であり, 生後15週までの F₁ の生存率も高かった。これらのことは, 妊娠7日に投与された TB は次世代に対する出生前における致死作用を示すが, 仔の生後の成長には影響を及ぼさないことを示唆している。

F₁ の行動・機能を検査したところ, 50 mg/kg 群において立直り反射の遅れがみられた。また, open-field 検査では, 一過性ではあったが, 両 TB 群において移動区画数の減少が認められた。これらの検査時における仔体重には TB 群と対照群との間の差は認められなかった。さらに, 仔の生後の行動異常は妊娠母体に投与された薬物が胎仔の中枢神経系に作用した結果引き起こされると考えられている⁹⁾。これらのことから, 妊娠7日に投与された TB が F₁ の中枢神経系に何らかの影響を及ぼした結果, 生後の行動・機能に変化が生じたものと考えられる。

妊娠中に投与された薬物による次世代への影響の1つとして, 生殖に対する障害を検索する重要性が指摘

されている¹⁵⁾。そこで, 生後10週に達した F₁ を用いて生殖試験を行ったところ, TB 群においても対照群と同様に良好な生殖能力が示され, TB による影響は見出されなかった。

次々世代 (F₂) に対する影響についても検討を行ったが, F₂ の出生前および出生後の成長は良好であり, F₀ の妊娠中に投与された TB は F₂ の成長に対して悪影響を及ぼさないものと推察される。

以上の結果から, F₀ の妊娠7日に投与された TB は次世代 (F₁) の生後の成長および生殖能力, さらに, 次々世代 (F₂) の成長に対しては影響を及ぼさないが, F₁ の行動・機能に対しては影響を及ぼしうるものと考えられる。

しかし, TB による仔の行動異常についてより詳細に検索するためには, 親動物 (F₀) の選択¹⁶⁾および養母法²⁾を用い, より広汎な多項目の F₁ の行動検査, さらに, F₂ における行動検査を行う必要がある。

文 献

- 1) J. M. Spyker: *Fed. Proc.*, **34**, 1835 (1975)
- 2) S. M. Barlow, F. M. Sullivan: *Teratology-Trends and Applications*, C. L. Berry and D. E. Poswillow ed., p. 103 (1965), Springer-Verlag, Berlin
- 3) I. Coyle et al.: *Pharmacol Biochem. Behav.*, **4**, 191 (1976)
- 4) D. E. Hutchings: *Studies on the Development of Behavior and the Nervous System vol. 4. Early Influences*, G. Gottlieb ed., p. 7 (1978), Academic Press, New York
- 5) I. Coyle et al.: *Advances in the Study of Birth Defects*, vol. 4. *Neural and Behavioral Teratology*, T. V. N. Persaud ed., p. 111 (1980), MTP Press, Lancaster
- 6) C. V. Vorhees, R. E. Butcher: *Developmental Toxicology*, K. Snell ed., p. 247 (1982), Croom Helm, London
- 7) J. Gillman et al.: *S. Afr. J. Med. Sci.*, **13**, 47 (1948)
- 8) 江馬 真, 加納晴三郎: 日薬理誌, **79**, 369 (1982)
- 9) 江馬 真, 加納晴三郎: 日薬理誌, **83**, 433 (1984)
- 10) W. M. Fox: *Anim. Behav.*, **13**, 234 (1965)
- 11) S. Schapiro et al.: *Science*, **168**, 147 (1970)
- 12) A. B. Dawson: *Stain Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 13) J. G. Wilson: *Teratology-Principles and Techniques*, J. G. Wilson and J. Warkany ed., p. 262 (1965), University of Chicago Press, Chicago
- 14) L. Dencker: *Teratology*, **15**, 179 (1977)
- 15) 谷村 孝: 医薬品研究, **7**, 125 (1976)
- 16) 山田 隆ら: 実験動物, **33**, 471 (1984)

A群溶血性レンサ球菌の産生する発熱性外毒素の精製とその 二、三の性状について

村井敏美・小川義之・川崎浩之進・加納晴三郎

Purification and Some Properties of Group A Streptococcal Pyrogenic Exotoxin

Toshimi MURAI, Yoshiyuki OGAWA, Hironoshin KAWASAKI and Seizaburo KANO

Streptococcal pyrogenic exotoxin (PE) was partially purified from culture filtrates of *Strep. pyogenes* (Type 12), based on the different solubility in ethanol and acetate-buffered saline. The toxin prepared in this way consisted of several proteins and hyaluronic acid and produced biphasic pyrogenicity in rabbits. In preliminary experiment by analytical chromatofocusing (CF), the partially purified toxin was found to contain three types of PE with different isoelectric points. It was also found that hyaluronic acid and LPS-like contaminant were effectively eliminated from the toxin by CF. One of the PEs contained in the partially purified toxin was isolated in a highly purified form by preparative CF using a pH gradient of 5.5 to 4.5. The CF-purified PE showed characteristic activities in rabbits, including monophasic pyrogenicity and enhancement of lethal toxicity in combination with LPS. The molecular weight of the purified PE was determined by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis as 27500 and the isoelectric point was estimated to be 5.2 by analytical isoelectric focusing. These values were similar to those of the type A PE previously reported. These findings indicate that the CF method is useful for purification of PE.

(Received May 31, 1985)

緒 言

A群溶血性レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) はそれ自身猩紅熱、腎炎等の急性感染症を惹起するのみならず、その菌体成分あるいは菌体外毒素が潜在的に二、三の慢性疾患の要因になりうるものと考えられ、近年重要視されてきている。発熱性外毒素 (Pyrogenic exotoxin, PE) は本菌により産生される蛋白毒素の一つで、発熱作用をはじめとして多彩な生物活性を有することが知られている¹⁻⁴⁾。著者らは本毒素とグラム陰性菌の細菌内毒素 (LPS) とを併用すると著しい致死毒性増強反応がみられることを明らかにし⁵⁾、このような毒素-毒素間の相互作用についてその病因学的意義の検討、また作用機構の解析を行いつつある。

PEの単離・精製に関しては、現在までのところ、抗原的に異なるA、B、C3種のPEの存在が確認され¹⁾、それぞれのtypeのPEについて精製とその性状分析が試みられてきている⁶⁻¹³⁾。しかしながら本毒素は *in vitro* での産生量が少ないうえに精製が容易でないことから、その正確な物理化学的性状についてはなお明らかにされていない。今回著者らはPEに関する研究の一端として、クロマトフォーカシング (CF) という簡易な手段によるPEの精製を試み、得られた

精製毒素について二、三の性状を検討したので報告する。

実験材料と方法

1. 使用菌株および培養条件

大阪府立公衆衛生研究所より分与された *Strep. pyogenes* Type 12 (阪大微研株) を用い、アミノペプトン培地で37℃、22時間培養した。

2. 部分精製毒素の調製

培養液を連続遠心後、メンブランフィルター (孔径0.45 μm) でろ過し、得られた培養ろ液から Kim および Watson⁶⁾ の方法に準じてエタノール沈澱を5回以上繰り返して部分精製毒素を調製した。その方法を Fig. 1 に示した。

3. クロマトフォーカシング (CF)

CFはファルマン社製の Fast protein liquid chromatography system を用い、pH範囲が(1) 6-4、(2) 9-6、(3) 5.5-4.5の3種類のCFを行った。それぞれのCFにおける開始 buffer と溶出 buffer は、(1) 25 mM Bis Tris-HCl pH 6.3, Polybuffer 74 (ファルマン社製)-HCl pH 4.0、(2) 75 mM Tris-CH₃CO-OH pH 9.3, Polybuffer 96-HCl pH 6.0、(3) 25 mM piperazine-HCl pH 6.3, Polybuffer 74-HCl pH 4.5

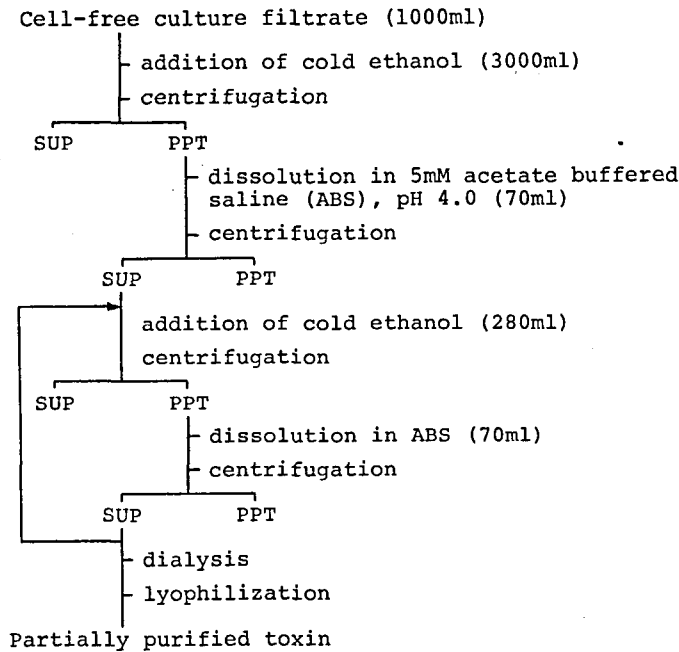


Fig. 1. Procedures for preparation of partially purified toxin

を用いた。カラムは Mono P ブレパック HR5/20 (ファルマシア社製) を用い、1 ml/min の流速で溶出して 2~3 ml ずつ分画した。PE の検出はウサギに静注したときの発熱活性を指標として行った。フラクションからの蛋白の回収および Polybuffer の分離には硫酸アンモニウムによる塩析法を用いた。回収された蛋白は蒸留水にて透析したのち凍結乾燥した。

4. 物理化学的性状の検討

精製過程における蛋白量の測定は 280 nm の紫外外部吸収法およびマイクロビュレット法¹⁴⁾ によった。ヒアルロン酸はカルパゾール反応¹⁵⁾ により定量した。精製 PE の分子量は Laemmli¹⁶⁾ の方法に準じてスラブ型 sodium dodecyl sulfate (SDS) ポリアクリルアミドゲル電気泳動により測定した。またその等電点の測定は薄層ポリアクリルアミドゲル等電点電気泳動により行った。

5. 生物学的活性の検討

体重約 3 kg の雄性白色ウサギを用い、毒素を静注して発熱活性を検討した。また PE と LPS の併用による致死毒性増強効果の検討としては、ウサギに PE を静注し、その 3 時間後に LPS を 25 µg/kg (1/20 LD₅₀) 静注して 48 時間後まで生死を観察した。LPS は *E. coli* UKT-B 株より hot phenol 法で抽出し、超遠心で精製したものをを用いた。

実験結果

1. 部分精製毒素の性状

Fig. 1 に示した方法により、培養ろ液 1 l から約 200 mg の部分精製毒素が得られた。本毒素には大量のヒアルロン酸が夾雑しており (約 50% 重量)、また SDS 電気泳動では十数本のバンドが認められることから多種類の蛋白が含まれることが明らかとなった (Fig. 6, Lane A)。本毒素をウサギに静注したときの発熱パターンを Fig. 2 に示した。その 10 µg/kg 以上の投与では 1.5~2 時間目にも小さなピークを有する二峰性の発熱が認められた。

2. CF による精製

精製に用いる CF の pH 範囲を設定するための予備実験として、まず広い pH 範囲での CF を行い、部分精製毒素に含まれる PE の等電点を検討した。部分精製毒素を pH 範囲 6-4 の CF にかけたときの溶出パターンを Fig. 3-A に示した。溶出されたすべてのフラクションについて発熱活性を検討したところ、カラムを素通りするフラクション、すなわち等電点が 6 より高い蛋白を含むフラクション (fr. 1) と pH 5 付近で溶出されるフラクション (fr. 2) にのみ一峰性の発熱活性が検出された。また CF 終了後に 2 M 塩化ナトリウムで洗い出したフラクション (fr. 3) にも発熱活性が認められたが、その発熱パターンは LPS

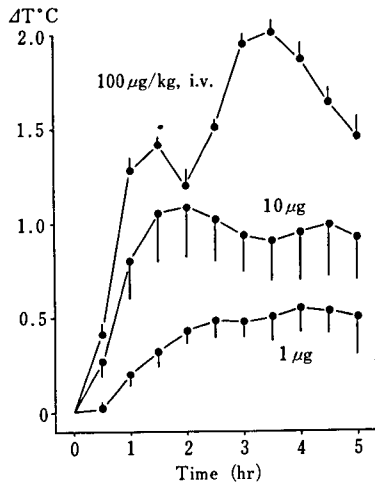


Fig. 2. Pyrogenic activity of partially purified toxin in rabbits

による発熱と酷似した二峰性を示し、PEのそれとは明らかに異質のものであった。さらに各フラクションについてヒアルロン酸含量の定量を行ったところ、CFで溶出されるフラクションには痕跡量しか検出されず、fr. 3にそのほぼ全量が押し出されることが明らかとなった。

次にfr. 1に溶出されるPEの等電点をより明らかにするために、部分精製毒素についてpH範囲9-6のCFを行った。その結果をFig. 3-Bに示した。得られた全フラクションについて発熱活性を検討したところ、pH8付近で溶出されるフラクション(fr. 4)に強い一峰性の発熱活性が検出され、さらにpH7付近で溶出されるフラクション(fr. 5)にも弱いながら発熱活性が認められた。

以上の結果から、部分精製毒素には等電点が約5(fr. 2)、約8(fr. 4)あるいは約7(fr. 5)と推定される異なった3種類のPEが含まれることが明らかとなった。今回はそれらのうち等電点が約5のPEに着目し、その単離精製を目的として、pH範囲を5.5-4.5と設定してCFを行った。その溶出パターンをFig. 4に示した。pH勾配形成中に溶出された全フラクションについて発熱活性を検討したところ、pH5.0付近で溶出されるピークフラクションにのみ強い発熱活性が検出された。このフラクションを集めて蛋白を回収し、凍結乾燥して精製標品とした。この方法で、添加した部分精製毒素の約1%重量の精製PEが得られた。

3. 物理化学的性状

CF精製PEの紫外外部吸収スペクトルをFig. 5に示した。その極大吸収は277nmに、また極小吸収は

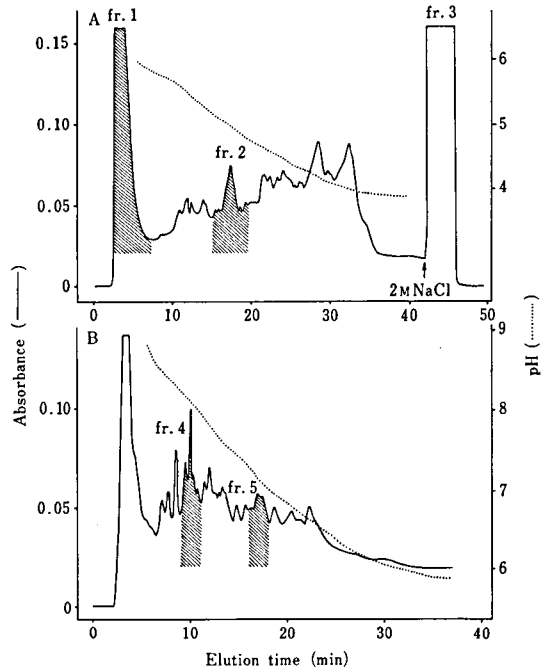


Fig. 3. Analytical chromatofocusing of partially purified toxin

Partially purified toxin (20 mg) was chromatofocused in a pH range of 6 to 4 (A) or 9 to 6 (B). The shaded areas indicate the fractions showed pyrogenic activity.

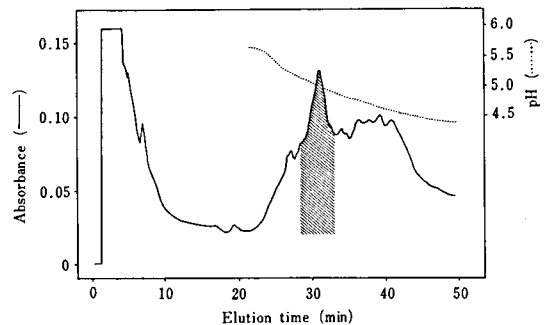


Fig. 4. Preparative chromatofocusing of partially purified toxin for purification of PE

Partially purified toxin (75 mg) was chromatofocused in a pH range of 5.5 to 4.5. The shaded area indicates the fraction showed pyrogenic activity.

255 nmに認められた。本精製PEを1% SDS, 5% 2-メルカプトエタノール存在下で100°C, 5分間処理したのちSDS電気泳動にかけた結果をFig. 6, Lane Bに示した。精製PEはほぼ単一のバンドを形成し、そ

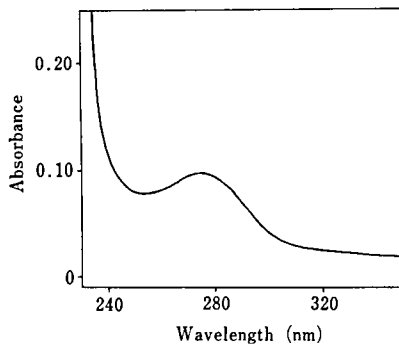


Fig. 5. Absorption spectrum of CF-purified PE (100 µg/ml)

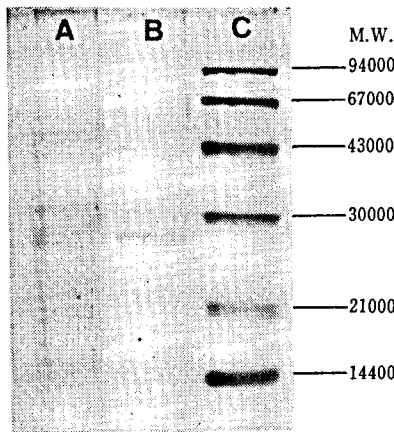


Fig. 6. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of partially purified and CF-purified toxin. Lane A, partially purified toxin (300 µg). Lane B, CF-purified toxin (500 µg). Lane C, molecular weight markers from the top: phosphorylase b, bovine serum albumin, ovalbumin, carbonic anhydrase, soybean trypsin inhibitor, and β-lactalbumin.

の分子量は約 27500 と推定された。しかしながらこのバンド以外にもなお若干の痕跡的なバンドが認められた。さらに精製 PE の等電点を薄層等電点電気泳動により測定した。その結果 Fig. 7 に示されるように、等電点は約 5.2 と推定された。

4. 生物学的活性

CF 精製 PE をウサギに 0.1~10 µg/kg の用量で投与したときの発熱パターンを Fig. 8 に示した。これらのいずれの投与量においても、体温は連続的に上昇し、ほぼ 5 時間目にピークに達する直線的な一峰性の発熱が惹起された。

次にこれら発熱活性の指標として、部分精製毒素、CF 精製 PE 両者についてそれらの 5 時間目の発熱度

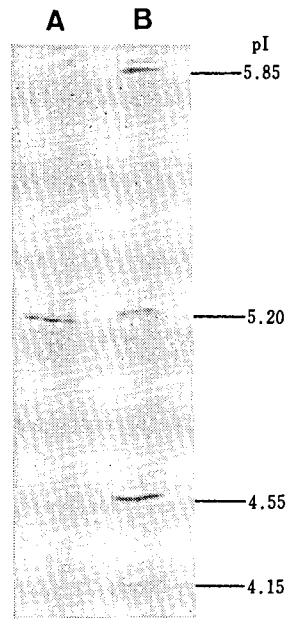


Fig. 7. Thin-layer polyacrylamide gel isoelectric focusing of CF-purified PE

Lane A, CF-purified toxin. Lane B, pI markers from the top: bovine carbonic anhydrase B, β-lactoglobulin A, soybean trypsin inhibitor, and glucose oxidase.

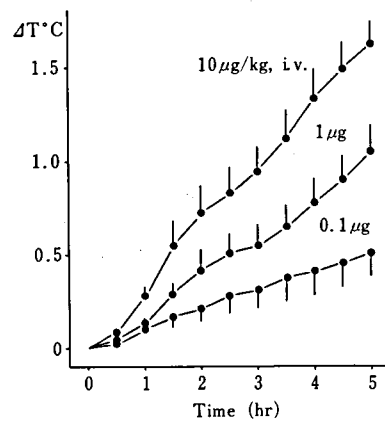


Fig. 8. Pyrogenic activity of CF-purified toxin in rabbits

をもとに最少発熱量 (Minimum pyrogenic dose) を求め、両者の活性を比較した。その結果、Fig. 9 に示したように、部分精製毒素の最少発熱量は 1.8 µg/kg、CF 精製 PE では 0.15 µg/kg と算定され、このことから後者の活性は前者の約 12 倍と推定された。

さらに PE と LPS の併用による致死毒性増強効果

について部分精製毒素と CF 精製 PE とを比較検討した。その結果について Table 1 に示した。いずれの PE においてもその投与量に対応して致死率の上昇が認められ、両 PE を比較すると CF 精製 PE で部分精製毒素の10倍以上の致死毒性増強効果が示された。

考 察

PE の単離・精製についてはいくつかの業績が認められるが、その物理化学的性状、特に分子量については一致した成績が得られていない⁷⁻¹³⁾。それらの精製

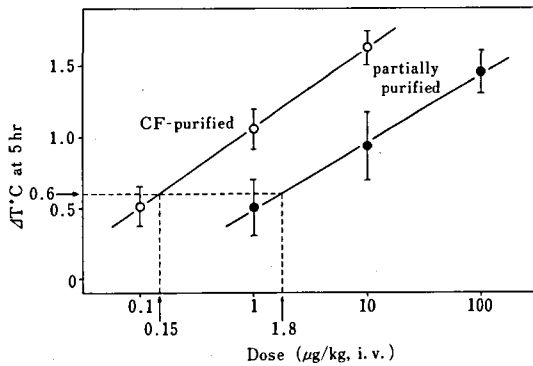


Fig. 9. Determination of minimum pyrogenic dose at 5 hr

●: partially purified toxin, ○: CF-purified toxin. A temperature change of 0.6°C was considered the minimum significant fever.

方法としては、イオン交換クロマトグラフィーあるいは薄層等電点電気泳動 (IEF) といった手法が用いられているが、いずれの手法についても一長一短があり^{6,17)}、必ずしも最適の方法であるとは言えない。そこで著者らは新しい方法としてより簡便かつ迅速な手法である CF の適用を試みた。

精製材料としてエタノール沈澱の繰り返しにより調製した部分精製毒素を用いた。この調製法では他の活性物質、例えばストレプトリジンなどは完全に分離除去されることが報告されている⁶⁾が、著者らの成績ではなお多種類の蛋白と多量のヒアルロン酸が夾雑し、さらに PE とは異質な二峰性の発熱活性物質が混在することが示された。この部分精製毒素を予試験的に pH 範囲 6—4 および 9—6 の CF にかけることにより、等電点が約 5、約 8 あるいは約 7 の異なる 3 種類の PE が含まれていることが明らかとなった。PE の等電点についてはおおむね、type A が 4.5—5.5⁷⁻⁹⁾、type B が 8.0—9.5^{7,10,11)}、type C が 6.7—6.9^{12,13)} と報告されており、これらの値と対照して、部分精製毒素に含まれる 3 種の PE はそれぞれ type A、type B および type C に相当するものと考えられる。各 type の PE の産生能は菌株により異なり¹⁸⁾、その type の確定的な同定には血清学的な検討が必要とされるが、最近 Knöll ら¹⁹⁾は特異抗血清を必要としない簡便な PE の検出・同定方法として IEF による分析法の有用性を報告している。それは各 type の PE の等電点が明瞭に異なることに基づく方法であり、CF につい

Table 1. Enhancement of lethal toxicity in rabbits given PE in combination with LPS

Treatment (μg/kg, i.v.)		Dead/Total Lethality (%)	
PE	LPS	(3hr after PE injection)	
Partially purified			
—	25	0/5	0
1	25	1/5	20
10	25	2/5	40
100	25	4/5	80
100	—	0/5	0
CF-purified			
0.1	25	2/5	40
1	25	3/5	60
10	25	5/5	100
10	—	0/5	0

でもその分離機作から同様に有効な手段となりうるものと考えられる。

部分精製毒素に夾雑する大量のヒアルロン酸はこの菌の莢膜の構成成分として菌体表面に分泌されたものと考えられる。また二峰性の発熱活性物質についてはその発熱作用が LPS のそれと酷似していることから培地成分に夾雑した LPS である可能性が高い。これらの夾雑物、特に後者の分離除去は PE を精製するうえで非常に重要であるが、今回行った CF ではこれらの物質はカラムに吸着されたまま溶出されず、極めて効率良く分離除去されることが明らかとなった。

部分精製毒素に含まれる3種の PE のうち、今回は等電点が約 5、すなわち type A に相当すると考えられる PE の単離精製を目的として pH 範囲 5.5—4.5 の CF を行い高純度の精製標品を得た。その分子量は約 27500、等電点は約 5.2 と推定された。Type A の PE は A、B、C の各 type のなかで predominant な type の PE であろうと報告されている¹⁹⁾。その等電点については Cunningham ら⁷⁾ は 4.5—5.5 であるとし、Gerlach ら⁸⁾ および Houston ら⁹⁾ は 5.2 と報告しており、ほぼ一致をみている。しかしながら分子量については 5500 および 8000⁷⁾、28000⁸⁾ あるいは 8500⁹⁾ と大きく異なった値が報告されている。Nauciel ら²⁰⁾ は type A の PE に multimetric form があることを報告しているが、これらの差異を説明するものではない。今回著者らの得た精製 PE の分子量は Gerlach ら⁸⁾ の報告とほぼ一致したが、他の type の PE も含めてそれらの正確な分子量の決定については今後の研究にまたねばならない。

CF 精製 PE はウサギに対して直線的な一峰性の発熱を惹起した。その作用機序については、LPS のように内因性発熱物質を介さない発熱中枢に対する直接作用が推定されている²¹⁾。さらに CF 精製 PE は、おそらくその致死量の数百分の1以下と思われる量を LPS と併用することにより、著しい致死毒性増強効果を示した。この作用機序の詳細についてはなお明らかではないが、この作用は PE の作用のうちで最も特異的かつ重要なものの一つと考えられる。これらの作用について CF 精製 PE では部分精製毒素と比較して10倍以上の活性の上昇が認められた。今回の CF 法では添加した部分精製毒素量に対してその約1%重量の精製 PE が得られたが、部分精製毒素には他の type の PE も含まれていることを考慮すればこれはそれほど低い回収率ではないかも知れない。しかしながら今回 Polybuffer の分離手段として用いた塩析法では蛋白の損失が大きいとの報告があり²²⁾、さらにまた得ら

れた精製 PE にはなお微量の不純物が夾雑していることが電気泳動的に示されたことから、現在、これら Polybuffer の分離と不純物の分離除去を兼ねる方法としてゲルろ過など他の分離手法との組み合わせを検討中である。

CF を毒素の精製に適用した報告として最近、*Staphylococcus aureus* の産生する外毒素で、Toxic shock syndrome との関連性が強く示唆されている Toxic shock toxin (TST) に関するものがみられる^{23,24)}。TST は PE と類似した生物活性を有する分子量約2万の蛋白毒素で、Reeves ら²⁴⁾ はその精製方法として IEF と CF を比較したとき、CFの方がより簡易かつ効果的であったと報告している。PE の精製においても以上の実験結果から CF は非常に有効であり、精製手段として好適であると考えられる。今回は type A の PE についてのみ検討したが、type B、C の PE の単離・精製についても今後検討する予定である。

文 献

- 1) D. W. Watson: *J. Exp. Med.*, **111**, 255 (1960)
- 2) V. Hribalova, M. Pospisil: *Experientia*, **29**, 704 (1973)
- 3) V. Hribalova: *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, **18**, 297 (1974)
- 4) E. L. Barsumian *et al.*: *Infect. Immun.*, **22**, 681 (1978)
- 5) D. W. Watson, S. Kanoh: *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, **30**, 37 (1977)
- 6) Y. B. Kim, D. W. Watson: *J. Exp. Med.*, **131**, 611 (1970)
- 7) C. M. Cunningham *et al.*: *Infect. Immun.*, **14**, 767 (1976)
- 8) D. Gerlach *et al.*: *Zbl. Bakt. Hyg.*, **A247**, 177 (1980)
- 9) C. W. Houston, J. J. Ferretti: *Infect. Immun.*, **33**, 862 (1981)
- 10) E. L. Barsumian *et al.*: *Infect Immun.*, **20**, 512 (1978)
- 11) D. Gerlach *et al.*: *Zbl. Bakt. Hyg.*, **A255**, 221 (1983)
- 12) P. M. Schlievert *et al.*: *Infect. Immun.*, **16**, 673 (1977)
- 13) J.-H. Ozegowski *et al.*: *Zbl. Bakt. Hyg.*, **A257**, 38 (1984)
- 14) S. Zamenhof: *Methods Enzymol.*, **3**, 696 (1957)
- 15) J. T. Galambos: *Anal. Biochem.*, **19**, 119 (1967)
- 16) U. K. Laemmli: *Nature*, **227**, 680 (1970)
- 17) T. G. Bloomster, D. W. Watson: *Infect. Immun.*, **39**, 311 (1983)
- 18) P. M. Schlievert *et al.*: *J. Infec. Dis.*, **140**, 676 (1979)
- 19) H. Köll *et al.*: *Zbl. Bakt. Hyg.*, **A256**, 49 (1983)
- 20) C. Nauciel *et al.*: *Eur. J. Biochem.*, **11**, 160 (1969)

-
- 21) P. M. Schlievert, D. W. Watson: *Infect. Immun.*, (1983)
21, 753 (1978)
- 22) I. A. Ende *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **46**, 1323
- 23) H. Igarashi *et al.*: *Infect. Immun.*, **44**, 175 (1984)
- 24) M. W. Reeves *et al.*: *Infect. Immun.*, **46**, 590 (1984)

アデニンおよびその関連化合物とホルムアルデヒドの反応¹⁾末吉祥子・丹野雅幸・宮原美知子・神谷庄造・石野正蔵²⁾Reactions of Adenine and Related Compounds with Formaldehyde¹⁾

Shoko SUEYOSHI, Masayuki TANNO, Michiko MIYAHARA,

Shozo KAMIYA and Shozo ISHINO²⁾

Adenine reacted with formalin at 0°C to give 6-hydroxymethyladenine, but did not form methylene bis-adenine. The reaction of adenine and 9-benzyladenine with formalin in the presence of piperidine afforded 6,9-(dipiperidinomethyl)adenine and 6-piperidinomethyl-9-benzyladenine, respectively.

The carbon-13 nuclear magnetic resonance of several adenine derivatives were studied for the structural assignment of the products.

(Received May 31, 1985)

ホルムアルデヒドは合成樹脂の原料や殺菌剤、塗料等に広く用いられているが、吸入による鼻腔発癌性³⁾が報告されてから生活環境中でのホルムアルデヒドの気散が問題になっている。毒性部が化学物質の吸入による毒性学的研究⁴⁾の中でホルムアルデヒドの毒性を調べるにあたり、当部では毒性発現機構を化学的な立場から検討することになったので、先ず生体成分との反応性を調べた。その中で鼻腔粘膜を構成する各種アミノ酸類との反応については神谷ら⁵⁾が報告しているので、今回は核酸塩基類との反応について検討した結果を述べる。

ホルムアルデヒドは求電子性が強く、アミン類と反応してヒドロキシメチル体またはジッフ塩基を生成することが知られているが、これらの化合物は一般に不安定で単離しにくい。核酸塩基を用いた反応ではウラシル誘導体において1,3-ジヒドロキシメチル体 (**1a**: 融点 101°C)、3-ヒドロキシメチル体 (**1b**: 融点 110°C)、1-ヒドロキシメチル体 (**1c**: 融点 92°C) が単離されている⁶⁾にすぎない。アデニン (**2a**) 及びアデノシン類 (**2b**)⁷⁾ またはグアノシン⁸⁾ における反応ではヒドロキシメチル体 (**3**) やメチレンビス体 (**4**) が生ずると言われているが、スペクトルまたは速度論的根拠に基づくものであって生成物を単離していない。

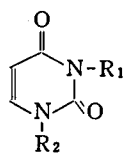
我々はアデニン (**2a**) を 2.5% 水酸化ナトリウム液中で過量のホルマリンと 0°C で反応させたところ $C_6H_7N_5O$ の組成をもつ白色粉末を得た。¹H-NMR で 4.97 ppm (doublet, 重水添加により singlet に変化) にメチレンの水素によるシグナルが認められ、ア

デニンのヒドロキシメチル体 (**3a**) であると推定した。Bansal ら⁶⁾ はヒドロキシメチルウラシルのメチレン水素は 5.1~5.2 ppm にあると述べているので近似の値を示している。

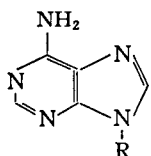
次に 5% 水酸化ナトリウム液中でアデニン (**2a**) とホルマリンを室温で 3 日間反応させるとメチレンビス体 (**4**) は得られず、 $C_6H_5N_5$ の組成をもつ白色粉末が得られる。IR で 3200 cm^{-1} に NH の吸収があることや希塩酸で分解しやすいことなどからアデニンにメチレン基が付加したものと考えられたが、非常に難溶性であるために構造を決めることができなかった。またアデノシン-5'-リン酸 (**2b**) も同様に反応させたが N-ヒドロキシメチル体を単離できなかった。

さらにアデニンの 9 位に置換基を導入した 9-ベンジルアデニン (**2c**) についても緩和な条件下における反応を試みた。しかし、原料である **2c** を回収したので、二級アミンを加えたところメチレン橋を生成したすなわちアデニンとホルマリンをピペリジンの存在下で 60°C に加温すると 2 個のメチレン橋をもつ化合物 (**5**) (分解点 132~133.5°C) が 40% の収率で得られた。同様にして 9-ベンジルアデニン (**2c**) からは 1 個のメチレン橋をもつ化合物 (**6**) (分解点 136°C) が 18% 得られた。

これらの結果は塩基単独では反応性が低いものであっても、二級アミンが存在すると N-ヒドロキシメチル体を経て架橋化合物を容易に生成することを示している。これはホルムアルデヒドが生体内において蛋白質や核酸等の生体成分と反応するとき、より反応性



1

1a: R₁=R₂=CH₂OH1b: R₁=CH₂OH, R₂=CH₃1c: R₁=CH₃, R₂=CH₂OH

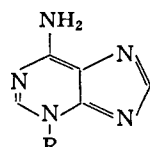
2

2a: R=H

2b: R=ribose-5'-phosphate

2c: R=CH₂C₆H₅

2

2d: R₁=R₂=H, R₃=CH₃2e: R₁=H, R₂=CH₃, R₃=CH₂C₆H₅2f: R₁=R₂=CH₃, R=H

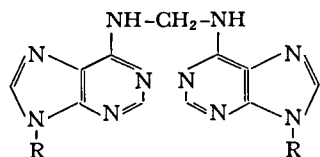
7

7a: R=CH₃7b: R=CH₂C₆H₅

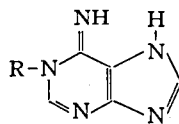
3

3a, 4a: R=H

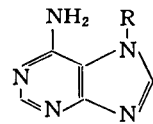
3b, 4b: R=ribose-5'-phosphate



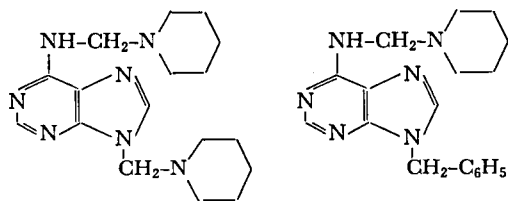
4



8

R=CH₃

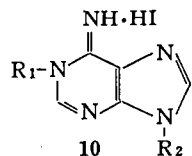
9

R=CH₃

5

6

Chart 1



10

R₁=CH₃, R₂=CH₂C₆H₅

Chart 2

の高いアミノ酸残基に先ず反応が起こりヒドロキシメチル体を生じ、これがさらに核酸塩基と反応して架橋体を生成する可能性を示している。

アデニン類とホルムアルデヒドとの反応によって生じた N-ヒドロキシメチル体やメチレン架橋体がアデニン類のどの位置において結合しているかを明らかにする必要がある。¹H および ¹³C-NMR データより炭素との結合は否定されるので、Chart 2 に示したような種々の N-置換アデニン誘導体を合成し ¹³C-NMR を測定した。それらの結果は文献上のデータともあわせて Table 1 に示した。アデニン (2a) の 9 位に置換基がついた 9-ベンジル体 (2c) および 9-メチル体 (2d) において C⁸ が約 2 ppm 低磁場シフトするが、他の位置におけるケミカルシフトはほとんど変化がない。そこで 9-ベンジルアデニン (2c) を基準にして検討するとアデニンの各窒素 (1 位, 3 位, 7 位の窒素および 6 位炭素上の窒素) に置換基が結合した場合に各々の ¹³C-ケミカルシフトの変化に規則性があることがわかり、この規則性を用いればどの窒素にホルムアルデヒドが反応したかを推定できると考えた。すなわち

2c を基準として、N¹-置換体では C², C⁴ および C⁶ が各 5~6 ppm, 3 ppm および 5 ppm ほど高磁場へシフトし、C⁸ は 3 ppm ほど低磁場へシフトする。N³-置換体では C² が約 10 ppm 高磁場へ、C⁸ は約 10 ppm 低磁場へシフトし、C⁴ はほとんど変化しない。N⁷-置換体では C⁵ および C⁶ が 5~8 ppm 高磁場へ、C⁴ および C⁸ が約 10 ppm および 4 ppm 低磁場へ変化している。一方 6 位置換体では C⁶ および C⁸ が 1~2 ppm 高磁場へシフトするほかほとんど変化しない。これらの規則をあてはめることによってアデニン類との反応で得られた N-ヒドロキシメチル体や架橋化合物はいずれも 6 位に結合したものであると推定した。

実験の部

アデニン (2a) とホルマリンの反応

i) 2a, 135 mg を 2.5% NaOH 液 3 ml に溶かし 37%ホルマリン 0.3 g を加えたのち 0°C, 30分間攪拌する。次に 1N HCl で中和したのち減圧乾固する。残渣に水を加えて濾過し水層をとり、これに EtOH を加え析出した沈殿物を濾取する。この操作を数回繰り返して 6-ヒドロキシメチルアデニン (3a) を得る。白色粉末。融点 280°C 以上。収量 30 mg (18%)。¹H-

Table 1. Carbon-13 Chemical Shifts (ppm) of Adenine Derivatives

Compounds	Adenine ring			C-8	CH ₃ , CH ₂	Benzyl ring			
	C-2	C-4	C-5			C'-1	C'-2	C'-3	C'-4
2a	152.45	151.35	117.60	155.35	139.40				
2c	153.22	149.89	118.99	156.33	141.64	46.92	137.31	128.07	129.31
2c·HCl	145.26	148.57	118.19	150.57	144.05	47.13	135.97	127.75	128.89
2d	152.93	149.94	118.72	155.93	141.47	29.39			
2e ^{a)}	153.34	c	119.77	155.63	139.48	27.77 ^{b)} 47.14	135.85	127.78	128.99
2f	151.80	151.15	118.90	154.30	137.80	37.85			
7a	143.80	150.30	120.09	154.90	152.29	35.77			
7b	143.22	149.64	120.35	154.80	152.41	50.00	135.97	127.94	128.43
8	146.48	146.75	117.58	149.50	145.43	37.04			
9	152.06	159.70	111.67	151.77	145.82				
10	147.67	146.87	118.55	150.62	144.29	37.72 46.97	135.80	127.63	128.70
3a	152.08	152.25	117.26	153.61	139.75	64.54			
5 ^{d)}	152.25	149.94	118.34	155.22	141.06	62.25 64.73			
6 ^{f)}	152.32	149.50	118.56	155.19	140.55	46.12 62.22	136.90	127.46	128.48

a) The data for 2e was obtained in CDCl₃. b) Broad signal c) Not observable under the experimental conditions used. d) The chemical shifts for piperidine ring were 50.86, 25.39, 23.40 and 50.86, 25.56, 23.96. f) The chemical shifts for piperidine ring were 50.74, 25.37, 23.74.

NMR (DMSO-*d*₆) ppm : 8.24 (s), 8.18 (s), 4.97 (d, D₂O 添加により s). 元素分析値 計算値 (C₆H₇N₅O·1/4 H₂O) : C, 42.48; H, 4.46; N, 41.30. 実験値 : C, 42.45; H, 4.18; N, 41.15.

ii) 2a, 2.7 g を 5% NaOH 液 20 ml に溶かし 37%ホルマリン 5 ml を加えたのち室温で 3 日間放置する。析出した沈殿を濾取し、水および EtOH で洗う。白色粉末。融点 300°C 以上。収量 1.8 g. IR (Nujol) cm⁻¹ : 3200, 1605. 元素分析値 計算値 (C₆H₅N₅·3/5 H₂O) : C, 45.62; H, 3.96; N, 44.34. 実験

値 : C 45.67; H, 3.82; N, 44.45.

ピペリジン存在下におけるアデニン (2a) とホルマリンの反応

2a, 1.35 g にピペリジン 1.5 g と水 10 ml を加え、さらに 37%ホルマリン 4 ml を加える。60°C で 16 時間加熱したのち減圧乾固する。残査をエーテルで洗う。6,9-(ジピペリジノメチル)アデニン (5) を得る。白色粉末。分解点 132~133.5°C。収量 1.3 g (40%)。元素分析値 計算値 (C₁₇H₂₇N₇) : C, 61.97; H, 8.26; N, 29.76. 実験値 : C, 61.86; H, 8.37; N, 29.53.

ピペリジン存在下における 9-ベンジルアデニン (2c) とホルマリンの反応

2c, 0.5 g にピペリジン 0.4 g と水 5 ml を加え, さらにホルマリンを 3 ml 加えたのち室温で1日間放置する. 以下 2a の場合と同様に処理すると 6-ピペリジノメチルベンジルアデニン (6) を得る. 白色粉末. 分解点 136°C. 収量 130 mg (18%). 元素分析値 計算値 (C₁₈H₂₂N₆): C, 67.05; H, 6.88; N, 26.07. 実験値: C, 66.75; H, 6.85; N, 25.83.

なお 3a, 5, 6 の ¹³C-NMR データは Table 1 に示した.

N-置換アデニン誘導体の合成

i) 9-ベンジルアデニン (2c): 2a, 5.4 g を THF 300 ml に溶かし, 等容量の NaH, 次いで臭化ベンジルを少量ずつ加える. 混合物を1夜放置して析出した沈殿を濾取すると 9-ベンジルアデニンを得る. 白色粉末 (EtOH-THF 再結), 融点 236°C (lit.,⁹⁾ 234°C). 収率, 25%.

ii) 1-メチル-9-ベンジルアデニンのヨウ化水素酸塩 (10): 2c, 450 mg を CHCl₃ に溶かし CH₃I, 340 mg を加えて1夜放置し, 析出した結晶を濾取する. 無色針状晶. 融点 268~270°C. 元素分析値 計算値 (C₁₃H₁₄N₅I): C, 42.52; H, 3.87; N, 19.07. 実験値: C, 42.35; H, 3.77; N, 19.28.

iii) その他の N-置換アデニン誘導体のうち 2c・HCl¹⁰⁾, 7a, 7b¹⁰⁾, 8¹¹⁾, および 9^{12,13)} の化合物は文献にしたがって合成し ¹³C-NMR を測定した. 2a¹⁴⁾, 2d¹³⁾, 2f¹⁴⁾ は文献値を採用した. 2e は 2c とジメチル硫酸等量を反応させたのちトリメチルアミンを加え1時間加温する. さらに CHCl₃ で抽出し, 減圧乾固する. 残査は精製せずに CDCl₃ 中で測定した.

使用機器および操作条件

機種 ¹³C-NMR: 日本電子 FX-200 型

操作条件 frequency, 50.10 MHz; spectral width, 10000 Hz; pulse width, 6 μs (θ=36°); acquisition time, 0.81892 s, data point, 16384; accurate ±0.05 ppm; concentration, 0.2~0.9 g/ml; internal standard, Me₄Si; Solvent, DMSO-d₆

文 献

- 1) 本研究の一部は厚生科学研究費により行った.
- 2) 埼玉県衛生研究所
- 3) J. A. Swenberg: *Cancer Res.*, **40**, 3398 (1981)
- 4) 戸部満寿夫, 中路幸男, 金子豊蔵, 鈴木幸子, 内田雄幸, 鎌田栄一, 池田康和, 小川幸男: 研究報告書 (環境衛生局) 1981)
- 5) 神谷庄造, 末吉祥子, 宮原美知子, 丹野雅幸, 中路幸男, 鈴木幸子, 鎌田栄一, 金子豊蔵, 戸部満寿夫: 日本薬学会第104年会 (仙台) 1984, 講演要旨集 p. 442
- 6) P. D. Bansal, I. H. Pitman, J. N. Tam, M. Mertes, J. J. Kaminski: *J. Pharm. Sci.*, **70**, 850 (1981)
- 7) M. Y. Feldman: "Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology", Academic Press, New York, 1973, vol. 13, p. 1
- 8) K. Heminki: *Toxicol. Lett.*, **9**, 161 (1981)
- 9) N. J. Leonard, K. L. Carraway, J. P. Jelgson: *J. Heterocyclic Chem.*, **2**, 291 (1961)
- 10) 石野正蔵, 森本 功, 興津知明: 日本薬学会第105年会 (金沢), 1985, 講演要旨集 p. 596
- 11) P. Brookes, P. D. Lawley: *J. Chem. Soc.*, **1960**, 539
- 12) N. J. Leonard, J. A. Deyrup: *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 2148 (1962)
- 13) M.-T. Chenon, R. J. Pugmire et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 4627 (1975)
- 14) G. C. Levy, R. L. Lichter, G. L. Nelson, "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy", A Wiley-Interscience Pub., New York, 1980, p. 270

向精神剤の鑑定法（第4報）
フェンサイクリジンおよびその関連化合物の分析
島峯望彦・高橋一徳・大野昌子・香取典子・内山 充

Identification of Psychotropic Drugs. IV
Analysis of Phencyclidine and Its Analogues

Mochihiko SHIMAMINE, Kazunori TAKAHASHI, Masako ONO,
Noriko KATORI and Mitsuru UCHIYAMA

For the detection and identification of phencyclidine and its analogues, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography and gas chromatography, measurements of UV spectra, GC/MS and IR spectra, and microcrystal tests were carried out on very small amounts of these compounds.

TLC, HPLC, GC, GC/MS, IR and microcrystal test were useful for this purpose, but UV spectra of these analogues were similar and indistinguishable from each other.

The data obtained by these test are shown in Tables 1 to 5 and Figs. 1 to 3.

(Received May 31, 1985)

最近アメリカにおいて数種の新しい向精神剤の乱用が報告されているが、フェンサイクリジン (PCP) の関連化合物の多くについてもまた同様である。PCPの鑑定法についてはすでに第2報¹⁾で詳細に述べたとおりであり、さらに関連化合物の研究を試みることにし、先ず PCPy, PCE について検討を行った。

実験の部

試料

- 1) PCPy HCl 1-(1-Phenylcyclohexyl) pyrrolidine hydrochloride : 自製
- 2) PCE HCl 1-(1-Phenylcyclohexyl)ethylamine hydrochloride : 自製
- 3) PCP HCl 1-(1-Phenylcyclohexyl)piperidine hydrochloride : 自製

I. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

- 1) 試料溶液：各試料のメタノール溶液 (1→500)
- 2) 薄層板：Silica gel 60F₂₅₄ (precoated), Merck
- 3) 展開溶液
 - i) methanol : 28% ammonia water = 100 : 1.5
 - ii) chloroform : methanol : 28% ammonia water = 27 : 3 : 0.1
 - iii) chloroform : acetone : methanol : 28% ammonia water = 15 : 12 : 3 : 0.1
- 4) 発色剤：塩化白金ヨウ化カリウム溶液²⁾

II. UV

- 1) 試料溶液：各試料のエタノール溶液 (1→2000)
- 2) 装置：HITACHI EPS-3T

III. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

- 1) 試料溶液：各試料の水溶液 (1→1000)
- 2) 測定条件
Column : HITACHI 3056 (ODS)
I.D. 4.6 mm, L. 150 mm, 40°C
Eluent : i) M/6 NaH₂PO₄ : CH₃CN = 3 : 2
ii) M/6 NaH₂PO₄ : MeOH : CH₃CN = 3 : 1 : 1
Flow rate : 1 ml/min
Detector : UV Detector NS-310 (Nihon Seimitsu)
Recorder & Integrater : CHROMATOPAC C-R1A (Shimadzu)

Detector wave length: 262 nm

IV. ガスクロマトグラフィー (GC) および GC/MS

- 1) 試料溶液
 - (1) 試料のエタノール溶液 (1→1000) (測定 i 用)
 - (2) 試料のエタノール溶液 (1→10000) (測定 ii 用)
 - (3) 試料のエタノール溶液 (1→50000) (測定 iii 用)
- 2) 測定条件
 - i) カラムとして OV-17, 2% (Gas-chrom Q, 60~80 mesh), glass I.D. 2 mm, L. 1.2 m を用いた場合

Table 1. Thin layer chromatographic data of the drugs tested

Compound	Rf × 100			Coloration
	Solvent			
	i	ii	iii	
PCPy HCl	54	44	46	purple
PCE HCl	63	49	52	grayish black
PCP HCl	68	60	65	purple

Table 2. UV data of the drugs

Compounds	$\lambda_{\min}^{\text{EtOH}}$		$\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$	
	nm	E _{1cm} ^{1%}	nm	E _{1cm} ^{1%}
PCPy HCl	231	1.3	252	7.8
	254	7.7	258	10.8
	260	9.2	262	12.9
	267	6.2	269	9.9
PCE HCl	230	1.5	252	7.7
	254	7.3	258	10.4
	260	8.4	262	10.6
	267	5.2	269	7.9
PCP HCl	232	2.7	252	8.2
	254	8.1	258	11.0
	260	9.6	262	12.8
	267	6.8	269	9.9

装置: YHP 5710A (FID) connected with CHROMATOPAC C-R3A (Shimadzu)

Temp.: Column 160°C, Det. 290°C, Inj. port 250°C

Flow rate: N₂ 30 ml/min, H₂ 30 ml/min, Air 240 ml/min

ii) カラムとして Fused Silica W. C. O. T. Methyl silicone, I.D. 0.53 mm, L. 5 m を用いた場合

a) 装置: YHP 5890A (FID) connected with CHROMATOPAC C-R3A (Shimadzu)

Temp.: Column 160°C, Det. 290°C, Inj. port 250°C

Flow rate: N₂ 15 ml/min, Split inj. (2:1)

b) 装置: JMS-DX300 (Nippon Denshi)

Temp.: Column 140°C, Inj. port 250°C

Flow rate: He 20 ml/min

Electron energy: 70 eV, Emission: 300 μ A

iii) カラムとして Fused Silica W. C. O. T. Methyl silicone, I.D. 0.32 mm, L. 25 m を用いた場合

装置: YHP 5890A (FID) connected with CHROMATOPAC C-R3A (Shimadzu)

Temp.: Column 60°C (0.5 min) ~ 20°C/min ~ 200°C,

Table 3. Retention times (min) of the drugs under above-mentioned condition by HPLC

Compound	Eluent	
	i	ii
PCPy HCl	4.9	8.9
PCE HCl	3.7	7.1
PCP HCl	5.5	10.0

Table 4. Retention times (min) of the drugs under above-mentioned condition by GC and GC/MS

Compound	Condition			
	i	ii-a	ii-b	iii
PCPy HCl	4.0	2.5	2.2	13.2
PCE HCl	1.4	0.9	0.7	9.5
PCP HCl	5.4	3.5	3.2	15.1

Det. 290°C, Inj. port 200°C

Flow rate: $\bar{\mu}$ (N₂) = 25 cm/sec, Splitless inj.

V. IR

1) KBr 錠: 各試料 1 mg を用いて調製する。

2) 装置: HITACHI 270-30 IR Spectrophotometer

VI. マイクロクリスタルテスト

結晶形成法¹⁾

試液

ライネッケ試液¹⁾

臭化金試液¹⁾

実験結果および考察

I. TLC

前記の方法による各試料の TLC の結果は Table 1 に示すとおりであった。

いずれの展開溶媒を用いてもこれらの試料は明らかに区別できる。また塩化白金ヨウ化カリウム溶液により PCE は紫色に呈色しない。

II. UV

λ_{\min} , λ_{\max} および E_{1cm}^{1%} 値についての測定結果は Table 2 のとおりであった。

吸収曲線は互いに類似し、区別は困難である。しかし UV スペクトルでみられる明らかな差としては λ_{\max} 258 nm, 262 nm における E_{1cm}^{1%} 値の比が PCPy, PCP はそれぞれ 1.19, 1.16 であるのに反し PCE では 1.0 を示すことである。

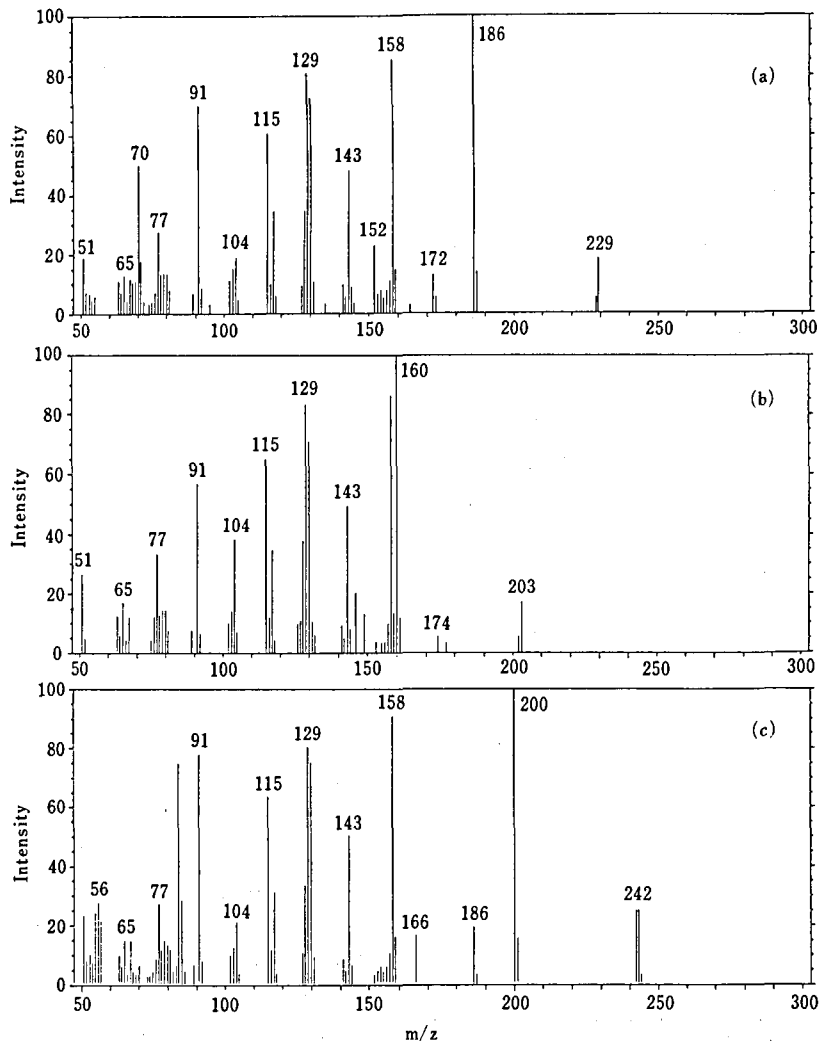


Fig. 1. Mass spectra (EI) of PCPy HCl (a), PCE HCl (b) and PCP HCl (c)

Table 5. Forms and characteristics of the crystals of PCPy, PCE and PCP by microcrystal test

Compound	Reagent	
	Reineckate	Auric bromide
PCPy	X's crystals, whitish, very bright CP, positive elong. RP	yellow large needles & plates, yellowish CP, neg. elong. RP
PCE	long needles & dendrites, whitish, weak CP, positive elong. RP	oily dots
PCP	rosettes & sheaves of needles, large, yellow-brown CP, positive elong. RP	immediately yellow segmented, skeletonized plates are formed, yellowish white, birefringence CP, no elong. RP

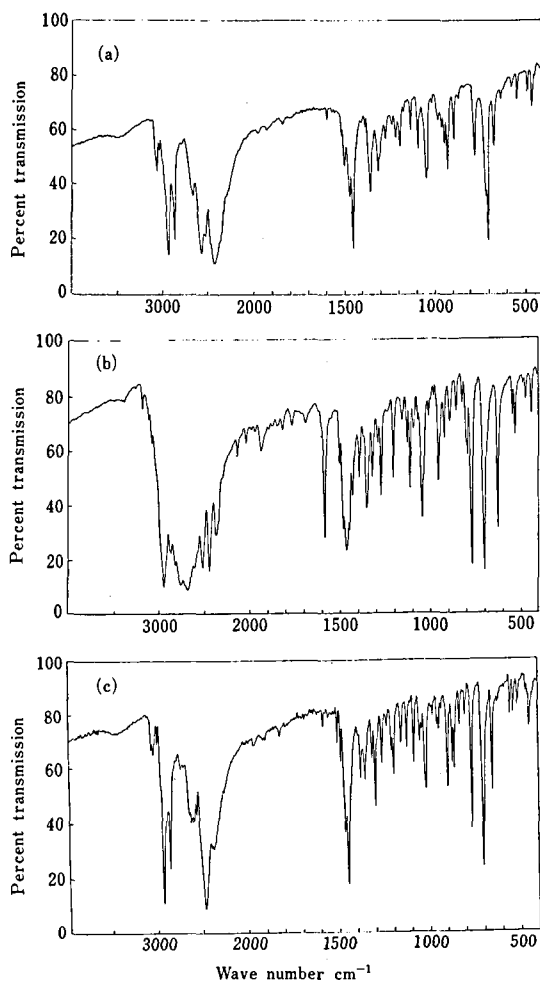


Fig. 2. Infrared spectra of PCPy HCl (a), PCE HCl (b) and PCP HCl (c), (KBr disk)

III. HPLC

各試料はいずれの溶離液によってもよく分離することができるが Table 2 に示すように $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 値が小さく、紫外吸収による検出には最低 $10 \mu\text{g}$ を必要とした。tR については Table 3 に示す。

IV. GC および GC/MS

前記の各条件下で各試料とも Table 4 に示すように互いによく分離した。

マススペクトル (Fig. 1) の基準ピークはいずれも M-43 であり、分子ピークを認めることができた。また共通ピークは 91, 115, 129, 130, 143, 158 であった。

V. IR

Morris³⁾ によれば PCPy HCl と PCP HCl の IR

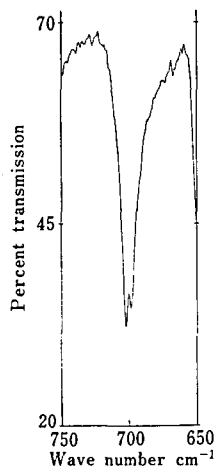


Fig. 3. Infrared spectrum of PCP HCl in 650~750 cm^{-1} region

スペクトルにおける差は 700 cm^{-1} 付近に現われる大小 2 本のピークで、前者では小さい波数側が大きく、これに反し PCP はその逆を示す。しかしわれわれの測定結果は Fig. 2 に示すように 700 cm^{-1} 付近におけるピークは Morris の報告とは異なり PCP の場合 2 本認めることができなかったので、スリット幅を狭くし、駆動速度を遅くすることではじめて同一の結果を得ることができた (Fig. 3)。

われわれの測定した結果では 700 cm^{-1} 付近の 2 本のピークの比較によらなくてもそれぞれのスペクトルから十分に相互の区別ができる。

VI. マイクロクリスタルテスト

得られた結果は Table 5 に示す。

PCE は臭化金試液で一晩放置後も結晶化しないが、 $1 \mu\text{g}$ で行う相互区別の試験方法としては簡便、确实であった。

本研究は1971年向精神剤に関する条約の別表IIに含まれる PCP と同様の薬理作用を有し、乱用が注目されている PCPy および PCE についての鑑定法を確立する目的で行った。ここで示した各試験によれば関連化合物相互の分離、確認が容易にできる。

文 献

- 1) 島峯望彦, 高橋一徳, 大野昌子: 衛生試報, **97**, 82 (1979)
- 2) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試報, **95**, 38 (1977)
- 3) W. A. Morris: *Microgram*, **10** (No. 11), 156 (1977)

人工胃液による催吐性オゴノリの HPLC パターン変化

内山貞夫・石坂 孝・斎藤行生・降矢 強
関田清司・戸部満寿夫HPLC-Pattern Change of Emetic Ogonori (*Gracilaria verrucosa Papenf.*)
Components treated by an Artificial Gastric JuiceSadao UCHIYAMA, Takashi ISHIZAKA, Yukio SAITO, Tsuyoshi FURUYA,
Kiyoshi SEKITA and Masuo TOBE

The change in the composition of emetic ogonori (*Gracilaria verrucosa Papenf.*) treated with artificial gastric juice was investigated by high performance liquid chromatography (HPLC). Although the appearance of new peaks and minor change of three-dimensional absorption spectra were seen, no extensive change was found in the methanol extract from the treated ogonori.

Significant difference between emetic and non-emetic ogonori was also not observed in HPLC patterns but the intensities of the peaks with the retention time at 1.13 and 1.47 min were slightly stronger in the emetic ogonori extract than in those of the control.

(Received May 31, 1985)

はじめに

生のオゴノリ類 (*Gracilaria verrucosa Papenf.*) による原因不明の食中毒事件は昭和55年8月に山形県¹⁾、昭和57年4月愛媛県下で発生し、摂取後嘔吐、腹痛、下痢、血圧低下などの症状を呈し死亡者もだした。厚生省では直ちに研究班²⁾を結成し様々な方面から原因物質の究明に当たった結果、オゴノリ成分中に薬理活性を示すものの存在することが判明した。しかしこれらの薬理活性物質がヒトの中毒にどのように関連しているかはいまだ不明である。

一方オゴノリ摂取後、短時間で中毒症状を発現したことを考慮すると胃液の作用によって成分変化が起こる可能性があり、このことはまた中毒発現の個体差に大いに関わるものと考えられる。この点を検討するためにサルの経口投与実験で嘔吐反応を示した生のオゴノリを用い、人工胃液処理による成分変化を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるピークパターン変化と多波長分析による3次元プロットの変化としてとらえ、胃液による成分変化の可能性を推察した。また催吐性オゴノリと非催吐性オゴノリのピークパターンの相違について若干の知見を得たので併せて報告する。

実験方法

1. 試料・試薬

a) 催吐性オゴノリは昭和59年5月愛媛県下で採取した生のオゴノリ 50g に精製水を加えホモジナイズし、120 ml (50g/120 ml) をカニクイザル (体重 2.0~3.0 kg, 推定年齢 3~5才の雄) に強制経口投与した結果、嘔吐を示したもの。非催吐性のオゴノリは昭和57年4月愛媛県下で採取したものを-20°Cで保存したものを上記操作で強制経口投与した結果、嘔吐反応を示さなかったもの。生のオゴノリとは採取後消石灰処理などのような処理をしないものをいう。

b) 試薬は特級品を使用。有機溶媒は再蒸留したものを使用。

2. 装置

ヒューレット・パッカード社製液体クロマトグラフ HP-1090 型, データ処理 HP-85B 付き, FTS・システム社製凍結乾燥機, 日本精機社製ホモジナイザー。

3. 試験溶液の調製

生のオゴノリ 25g (-20°Cで保存) を細切し、精製水 125 ml を加えて5分間氷で冷却しながらホモジナイズした。その後4°Cで3日間凍結乾燥し、メタノール 100 ml を加えて室温で2時間緩やかに振盪しながら抽出した。ろ紙 (東洋ろ紙, No. 2) によるろ過後、残渣は再度 100 ml のメタノールで1時間抽出し、ろ

Table 1. HPLC-peak change of the butanol fraction of emetic ogonori treated with an artificial gastric juice^{a)}

Sample	Sum of all area	Area of peak			
		retention time (min.)			
		1.13	1.20	1.47	3.59
Not treated Ogonori	964 ± 26	280 ± 15	—	11.4 ± 2.0	1.8 ± 0
treated Ogonori	1206 ± 315	—	121 ± 15	6.3 ± 2.3*	49 ± 13*

a) All peaks were monitored by the absorption at 254 nm and peak areas were calculated as an arbitrary unit. Values are mean ± SD (n=3) and values marked with asterisk are significantly different from the other at $P < 0.05$.

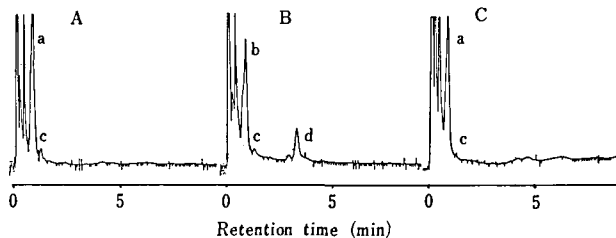


Fig. 1 High performance liquid chromatograms of the butanol fractions of ogonori extracts

A: emetic ogonori; B: emetic ogonori treated with an artificial gastric juice; C: non-emetic ogonori

Retention times of peak a, b, c, and d: 1.13, 1.20, 1.47 and 3.59 (min), respectively.

液は先のろ液に合わせた。ろ液は30℃以下で減圧濃縮し、メタノール部分を留去し、残渣はn-ブタノールおよび精製水それぞれ5mlを加えて1分間激しく振盪抽出した。ブタノール画分と水画分の2層の溶液をそれぞれ分取し試験溶液とした。

人工胃液処理を行う場合は生のオゴノリ25gを細切したものに人工胃液(日本薬局方第7改正版に準じ調製)125mlを加え、5分間水で冷却しながらホモジナイズし、37℃で2.5時間緩やかに振盪しながらインキュベートした。反応液は少量の1N NaOHを加えてpH 7.0に調製してから4℃で凍結乾燥し、メタノールで抽出する前記の方法と同様にして試験溶液を調製した。

4. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

ブタノール画分はそのまま、水画分は0.45μのメ

ンブランフィルターを用いてろ過したのち、ろ液を逆相液体クロマトグラフに注入した。各ピークの成分含量はピーク面積として算出した。高速液体クロマトグラフィーの測定条件は以下のとおりである。

a) ブタノール画分

カラム: Hypersil ODS, 5μm (100mm×2.1mm I.D.); カラム温度: 40℃; 検出波長: 254nm および多波長 (200~600nm); 流量: 0.5ml/min; 移動相: メタノールと精製水の混液 (1:1); 注入量: 1μl.

b) 水画分

カラム: Hypersil ODS, 5μm (100mm×2.1mm I.D.); カラム温度: 室温; 検出波長: 254nm および多波長 (200~600nm); 流量: 0.2ml/min; 移動相: メタノールと精製水の混液 (1:2); 注入量 1μl.

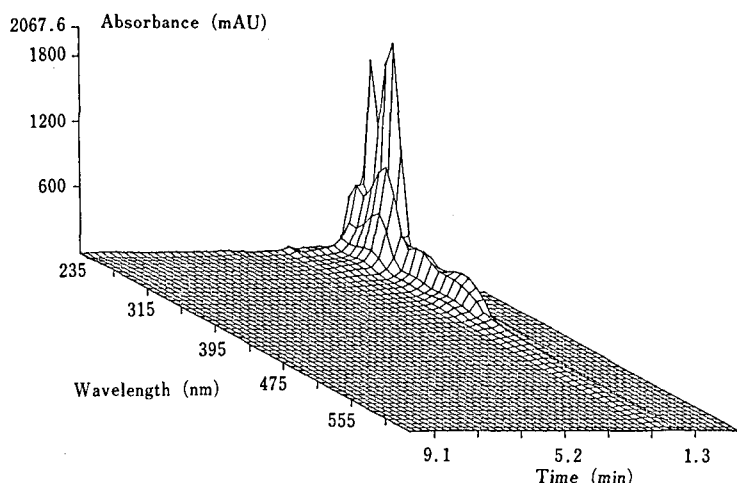


Fig. 2. Three-dimensional plot of the butanol fraction of emetic ogonori extract by multi-wavelength measurement

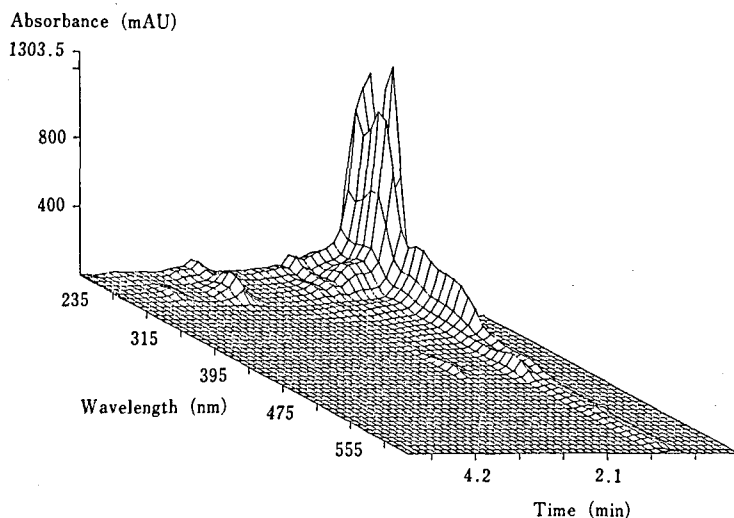


Fig. 3. Three-dimensional plot of the butanol fraction of emetic ogonori extract treated with an artificial gastric juice by multi-wavelength measurement

実験結果

1. メタノール抽出物中のブタノール可溶画分の変動

生の催吐性オゴノリを凍結乾燥しメタノールで抽出し、濃縮すると結晶性物質が析出した。そこでメタノールを留去した残渣にブタノールと水を加え振盪抽出し、両者の抽出溶液について高速液体クロマトグラフィーを行い成分変動を調べた。

人工胃液未処理および処理したブタノール画分のピークパターンはそれぞれ Fig. 1 A と Fig. 1 B に示すように、人工胃液処理によって保持時間 (RT) 1.13 のピークが減少し、1.20 および 3.59 に特色あるピーク

が出現した。Table 1 にはブタノール画分のピークについての要約を示した。また多波長分析の3次元プロット (Fig. 2, Fig. 3) から人工胃液処理によって主ピーク (λ_{\max} は 235 nm 附近) の減少が見られ、逆に 300 nm 附近の吸光度が増加することが判明した。最も特色ある出現ピーク (RT 3.59) は最大吸収波長が 245 nm 附近であることが判明した。また 254 nm の吸収ピークパターンの総面積においては処理と未処理で有意の差はなかった。

2. メタノール抽出物中の水可溶画分の変動

催吐性オゴノリのメタノール抽出物の水可溶画分について、同様に液体クロマトグラフィーを行ったところ、Fig. 4 B に見られるように RT 3.08 に人工胃液

処理による新たな小ピークが出現したが、全体として大きな変動は示されなかった。末処理のオゴノリの多波長分析において 210 nm および 335 nm 附近に吸収最大を有する成分が存在するが、人工胃液処理による差異はほとんど見られなかった。また 254 nm の吸収ピークパターンの総面積においても処理と末処理で有意の差はなかった。

3. 非催吐性オゴノリのピークパターン

催吐性オゴノリのピークパターンの特性を調べるため、サルで嘔吐反応を示さなかった生のオゴノリを同様に抽出し、高速液体クロマトグラフィーを行い比較検討した。Fig. 1C と Fig. 5 はそれぞれブタノール画分のピークパターンと多波長分析である。ピークパターンにおいて両者に顕著な相違は見られなかったが、催吐性オゴノリで RT 1.13 と 1.47 のピークが高く、

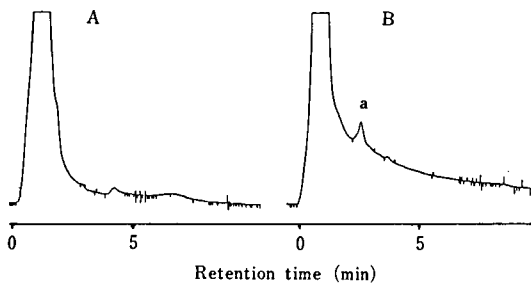


Fig. 4. High performance liquid chromatograms of the water fractions of ogonori extracts

A: emetic ogonori; B: emetic ogonori treated with an artificial gastric juice

Retention time of peak a: 3.09 (min)

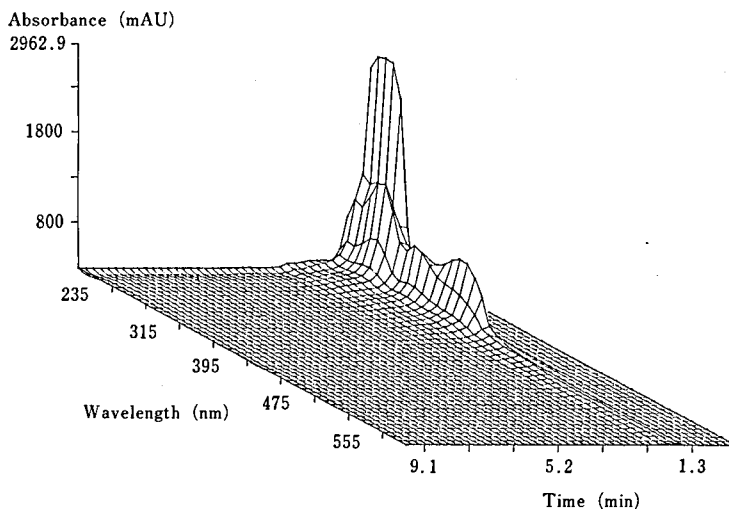


Fig. 5. Three-dimensional plot of the butanol fraction of non-emetic ogonori extract by multi-wavelength measurement

多波長分析において 250 nm 附近の吸光度に差異が認められた。また 254 nm におけるピーク面積の総和は 2 倍ほど非催吐性オゴノリが多く、オゴノリ成分の個体差によることが示唆された。水分画分のピークパターンおよび多波長分析においては催吐・非催吐性オゴノリに差異は認められなかった。但しピーク面積の総和は同様に 2 倍ほど非催吐性オゴノリの方が多いことが判明した。

考 察

サルに対して催吐性を示した生のオゴノリに人工胃液処理をすると、著しい成分変化は認められないものの、個々のピークにおいて増加、減少、出現などの変化があること、多波長分析から吸収スペクトルにも変化があることが判明した。このことから摂取後に胃液で成分変化が生ずることが示唆され、今後は生のオゴノリの常在成分の検索のみならず、中毒発現の個体差にかかわるものとして胃液等の消化液作用による毒性成分検索も必要と考えられる。

催吐性オゴノリと非催吐性オゴノリのピークパターンおよび多波長分析の結果に若干の差異が見られたが、これらの差異が中毒発現に直接かかわるものであるかは不明であり、分取し嘔吐反応を示すものであるかを確認する必要がある。また今回は凍結乾燥しメタノールで抽出したもので吸収スペクトルを有する成分だけに検討を加えたが、他の成分についても検討が必要と考える。原田ら³⁾によれば消石灰で処理する市販オゴノリは経口投与実験で薬理活性を示す成分は消滅するという。しかしまだまだ生のオゴノリをそのまま食べ

る習慣があり、無処理の生のオゴノリを摂食し中毒を起した場合の判定に有力な参考資料となるよう、今後は例数を増して催吐性オゴノリのより確かな特性を示す資料を作成する必要がある。なお、本研究は厚生科学研究費補助金によって支弁された。

文 献

- 1) 久間木国男, 相川勝悟, 細矢恵美子, 片桐 進, 宇留野勝水, 大島泰克, 安元 健: 日本食品衛生学会第41回学術講演要旨集, p. 4 (1981年5月, 横浜市)
- 2) 園田俊郎: 食衛誌, 24, 507 (1980)
- 3) 原田正敏: 食品衛生調査研究事業報告書, 昭和60年4月, 生活衛生局食品保健課

Trypan blue によるラット胎仔の子宮内死亡と奇形について

江馬 真・伊丹孝文・川崎浩之進・加納晴三郎

Fetal Intrauterine Death and Fetal Malformation induced by Trypan Blue in Rats

Makoto EMA, Takafumi ITAMI, Hironoshin KAWASAKI and Seizaburo KANOH

The relationship between fetal intrauterine death and fetal malformation was studied in Wistar rats. Pregnant rats that had received trypan blue subcutaneously at a dose of 250 mg/kg on day 7 of pregnancy were killed on day 12, 14, 16 or 20 of pregnancy, and the fetuses were examined. The rate of the fetal intrauterine deaths increased with the increase in days after the administration of trypan blue. Conversely, the incidence of fetuses with external malformations decreased as pregnancy continued. The same decrease was observed in the incidences of fetuses with some particular malformations such as anomaly of tail and exencephaly. It was suggested that some of the fetal intrauterine deaths resulting from the administration of trypan blue were secondary to fetal malformation.

(Received May 31, 1985)

ま え が き

Trypan blue (TB) の催奇形性については1948年に Gillman ら¹⁾ によって最初に報告されて以来多くの研究が行われている。我々も前報^{2,3)} においてラットに対する TB の催奇形作用について検討し、50 mg/kg 以上の TB を妊娠10日以前に皮下投与したときに奇形が発現することを明らかにした。また、妊娠6日から8日までの間に TB を投与したときに奇形胎仔の発現頻度が高くなり、同時に胎仔の子宮内死亡率も上昇する傾向がみられた。しかし、奇形の発現が認められない妊娠11日以後の TB 投与では胎仔の子宮内死亡率の上昇も認められなかった。これらのことから、TB によって発現した奇形が要因となって胎仔の死亡が二次的に起こる可能性が推測された。そこで、TB の胎仔に対する影響が最も強く発現する妊娠7日²⁾ に TB を投与し、その後経時的に胎仔を採取し、それぞれの時期における胎仔の子宮内死亡および奇形の頻度を調べ、両頻度の推移を比較することにより、TB 投与によって発現した奇形が子宮内死亡の要因となっているか否

かの推定を試みた。

実験材料および方法

1. 使用動物

Wistar ラットを使用した。

動物は室温 24±1°C, 湿度 55±5% に調節された動物室にて飼育用固型飼料 (日本農産工業: ラボ MR-ストック), 妊娠期間中は繁殖用固型飼料 (日本農産工業: ラボ MR-スタンダード) と自動給水装置により水道水を自由に摂取させて飼育した。

12~16週齢の処女ラットを雄ラットと午後5時から翌朝9時まで同居させた。膣栓および膣内に精子を認めたものを交配成立とみなし、この日を妊娠0日と定め、以後個別ケージに移して飼育した。

2. 投与薬物および投与方法

Trypan blue (TB: Chroma-Gesellschaft, Schmid GmbH & Co., Stuttgart, West Germany, Lot IF577) を注射用生理食塩液に用時溶解した。

妊娠7日に 250 mg/kg をラットの背部皮下に投与した。投与量は 10 ml/kg とするよう濃度を調整し、

Table 1. Effect of trypan blue treated at day 7 of pregnancy on fetuses at various stages

Day killed	12	14	16	20
No. of pregnant rats ^a	7	7	9	6
No. of implants	73	77	112	66
No. of intrauterine death (%) ^b	22 (33.6)	40 (53.4)	74 (65.9)	44 (72.9)
No. of live fetuses	51	37	38	22
No. of fetuses with external malformation (%) ^b	-	22 (27.3)	22 (19.7)	11 (15.0)
Type of malformation				
Anomaly of tail (%) ^b	-	14 (17.6)	9 (8.5)	4 (5.9)
Spina bifida (%) ^b	10 (11.9)	7 (8.4)	11 (9.9)	7 (9.2)
Exencephaly (%) ^b	9 (13.2)	5 (5.9)	7 (5.7)	2 (2.9)

a: Pregnant rats were injected with trypan blue subcutaneously at a dose of 250 mg/kg.

b: % in implants.

妊娠0日の体重によって定めた量を11時30分から12時30分までの間に投与した。

3. 観察方法

妊娠12日, 14日, 16日または20日に妊娠ラットを頸椎脱臼によって殺し, 着床数および胎子の生死を調べた。胎子はすべて Bouin 液で固定し, 実体顕微鏡下にて外表奇形を調べた。

4. 成績の集計

実験成績は1腹を単位として集計した。

結果および考察

妊娠7日に TB 250 mg/kg を皮下投与し, 経時的に胎子を採取して胎子への影響を調べた結果を Table 1 に示した。胎子の子宮内死亡率は投与後5日の妊娠12日で既に33.6%であり, 投与後の日数の経過とともに上昇し, 妊娠20日では72.9%に達した。

胎子の外表奇形について調べたところ, 外表奇形胎子の発現頻度は妊娠14日では27.3%であったが, 妊娠20日では15.0%となり, 胎子の子宮内死亡率とは逆に投与後の日数経過とともに低下する傾向がみられた。

なお, 妊娠12日の胎子では検出可能な奇形が限られているので, 神経管の部位を主に検索し, 外表奇形胎子数としての記載はしなかった。さらに, TB 投与によ

ってよく観察される奇形^{2,3)}である尾奇形, 二分脊椎および外脳について調べたところ, 二分脊椎では明確な傾向はみられなかったが, 尾奇形および外脳を有する胎子の発現頻度が TB 投与後の日数経過とともに低下する傾向がみられた。

胎子の奇形と子宮内死亡との関係についてはさまざまな議論が行われている。一般的には, 胎子の奇形と死亡とは分離した現象とみなされ⁴⁾, Wilson⁵⁾ は奇形と死亡とは胎子の障害に対する反応の程度差によるものではないと述べている。また, Chamberlain と Goldyne⁶⁾ および Gebhardt⁷⁾ は死亡と奇形とは異なった機序で発現すると述べている。さらに, 催奇形性は示さないが, 胎子致死作用を示す多くの物質 (例えば, cyclohexylamine⁸⁾, DDT⁹⁾, 細菌内毒素¹⁰⁾など) があることも知られている。しかし, 妊娠動物に催奇形物質を投与したとき, 奇形胎子の発現頻度と胎子の子宮内死亡率がともに上昇することもよくみられる現象である^{4,11)}。このような現象は, 発現した奇形が要因となって胎子の死亡が二次的に起こることを推測させる。TB でもこのような現象が観察された^{2,3)}ことから, TB の作用が最も強く発現する妊娠7日に TB を投与して胎子を経時的に採取して調べた。その結果, 投与後の日数経過とともに胎子の子宮内死亡率が上昇し,

奇形胎仔の発現頻度は低下する傾向がみられた。すなわち、TB 投与によって増加する胎仔の子宮内死亡のうちには、奇形発現の結果として二次的に誘起された死亡が含まれていることが示唆された。

文 献

- 1) J. Gillman *et al.*: *S. Afr. J. Med. Sci.*, **13**, 47 (1948)
- 2) 江馬 真, 加納晴三郎: 日薬理誌, **79**, 369 (1982)
- 3) 江馬 真, 加納晴三郎: 日薬理誌, **83**, 433 (1984)
- 4) J. G. Wilson: *Environment and Birth Defects*, (1973), Academic Press, New York
- 5) J. G. Wilson: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **104**, 429 (1964)
- 6) J. G. Chamberlain, M. E. Goldyne: *Teratology*, **3**, 11 (1970)
- 7) D. O. E. Gebhardt: *Teratology*, **3**, 273 (1970)
- 8) B. A. Becker, J. E. Gibson: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **17**, 551 (1970)
- 9) M. M. Hart *et al.*: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **192**, 286 (1971)
- 10) S. Kanoh, M. Ema: *Cong. Anom.*, **20**, 151 (1980)
- 11) H. Nishimura, T. Tanimura: *Clinical Aspects of the Teratogenicity of Drugs*, (1976), Excerpta Medica, Amsterdam

ブタ膵性カリジノゲナーゼ製剤のエンザイム免疫アッセイ

柴田 正・伊阪 博

Studies on the Enzyme Immunoassay of Porcine Pancreatic Kalligenogenase Preparations

Tadashi SHIBATA and Hiroshi ISAKA

The enzymatic activities of some kalligenogenase preparations were measured by the method of enzyme immunoassay and the results were found to agree with the values obtained by the method of enzymatic assay. Moreover, HPLC indicated that all preparations contained unknown proteins.

(Received May 31, 1985)

カリジノゲナーゼの定量試験にはイヌ股動脈血流増加測定法¹⁾を用いる生物学的測定法が採用されているが操作が複雑なため、*in vitro*の力価測定法として酵素活性測定法²⁻⁴⁾、遊離するキニンを測定する方法⁵⁾、ラジオ免疫アッセイ⁶⁾およびエンザイム免疫アッセイ⁷⁾などが検討されてきた。

最近酵素活性測定法のうちブタ膵性カリジノゲナーゼに比較的特異性の高い合成基質 H-D-バリル-ロイシル-アルギニン-P-ニトロアニリド (S2266) を用いる方法⁸⁾が報告された。この酵素活性測定法と先に報告したエンザイム免疫アッセイ⁷⁾をカリジノゲナーゼ製剤に適用したところ両者の力価はよく一致した。

またゲル濾過カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって夾雑物の検討を行ったので報告する。

実 験 方 法

10 試 料

カリジノゲナーゼ製剤13種 (錠剤7種, カプセル剤3種および注射剤3種) は衛生試験所生物化学部より

分与された。

2) 標準品

衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品 (110単位/アンブル) を使用した。

3) 試薬・試液

H-D-バリル-ロイシル-アルギニン-P-ニトロアニリド (S2266) は第一化学薬品, ダイズトリプシンインヒビターは Sigma 社, その他緩衝液に用いた試薬は試薬特級品を使用した, またエンザイム免疫アッセイに用いた試薬, 試液は前報⁷⁾と同じである。なお免疫に用いたカリジノゲナーゼはバイエル社より供与された 1029 KU/mg の活性を有する凍結乾燥品を使用した。

4) カリジノゲナーゼ酵素活性測定法

谷本らの方法⁸⁾に従った。

5) カリジノゲナーゼのエンザイム免疫アッセイ

試料溶液は酵素活性測定法に用いた製剤からの抽出液をリン酸緩液, pH 7.0 (0.1% ウシ血清アルブミン, 0.1 M 塩化ナトリウム, 0.01% チッ化ナトリウム, 0.01 M 塩化マグネシウム含有) を用いて希釈し, 0.01

Table 1. Potency of kalliginogenase in pharmaceutical preparations by the enzymatic assay and enzyme immunoassay

Sample (Unit in one preparation)*	Potency					
	Enzymatic assay			Enzyme immunoassay		
	No. of exp. n	Mean Unit	Mean percent (%)**	No. of exp. n	Unit \pm S.D.	Mean percent (%)**
1-01 (T : 50)	2	24.18	48.4	6	24.6 \pm 0.74	49.2
2-03 (T : 50)	2	28.93	59.9	6	26.3 \pm 0.79	52.6
3-04 (T : 200)	2	74.88	37.4	9	47.2 \pm 1.12	23.6
4-07 (T : 10)	2	6.29	62.9	9	5.09 \pm 0.11	50.9
5-12 (T : 50)	2	27.68	55.4	6	41.9 \pm 1.66	83.7
6-13 (T : 50)	2	37.49	75.0	6	36.3 \pm 1.20	72.5
7-15 (T : 10)	2	4.30	43.0	6	4.64 \pm 0.24	46.4
8-02 (C : 50)	2	24.55	49.1	6	25.0 \pm 0.77	50.0
9-08 (C : 50)	2	38.38	76.8	6	39.6 \pm 0.69	79.1
10-14 (C : 50)	2	28.08	57.4	9	23.0 \pm 0.89	46.0
11-05 (I : 40)	2	20.82	52.1	6	20.6 \pm 0.88	51.5
12-06 (I : 10)	2	4.53	45.3	6	4.17 \pm 0.09	41.7
13-11 (I : 40)	2	43.68	109.2	6	45.2 \pm 0.36	112.9

* , T, C, and I represent Tablet, Capsule, and Injection. Numbers in parenthesis are the unit represented in T, C, and I, respectively.

** , Percent represents the mean value per unit in one preparation.

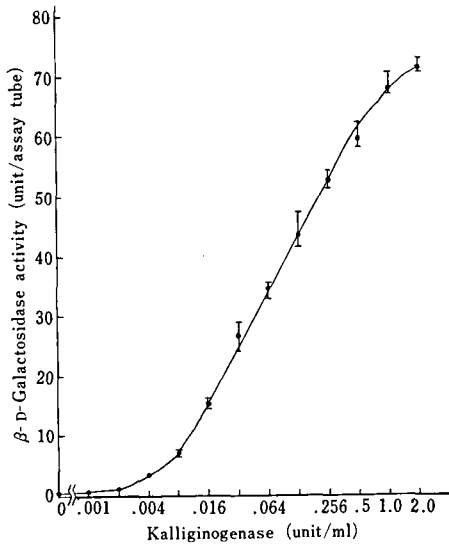


Fig. 1. Standard curve for kalliginogenase by enzyme immunoassay

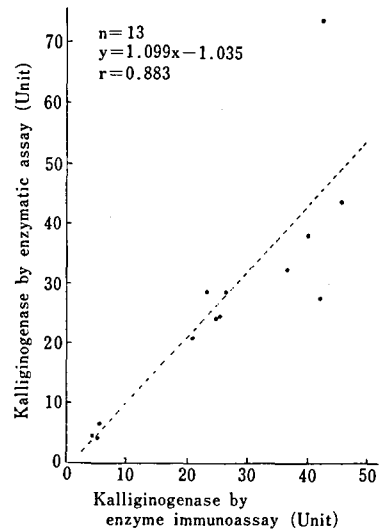


Fig. 2. Correlation between kalliginogenase unit by enzymatic assay and by enzyme immunoassay

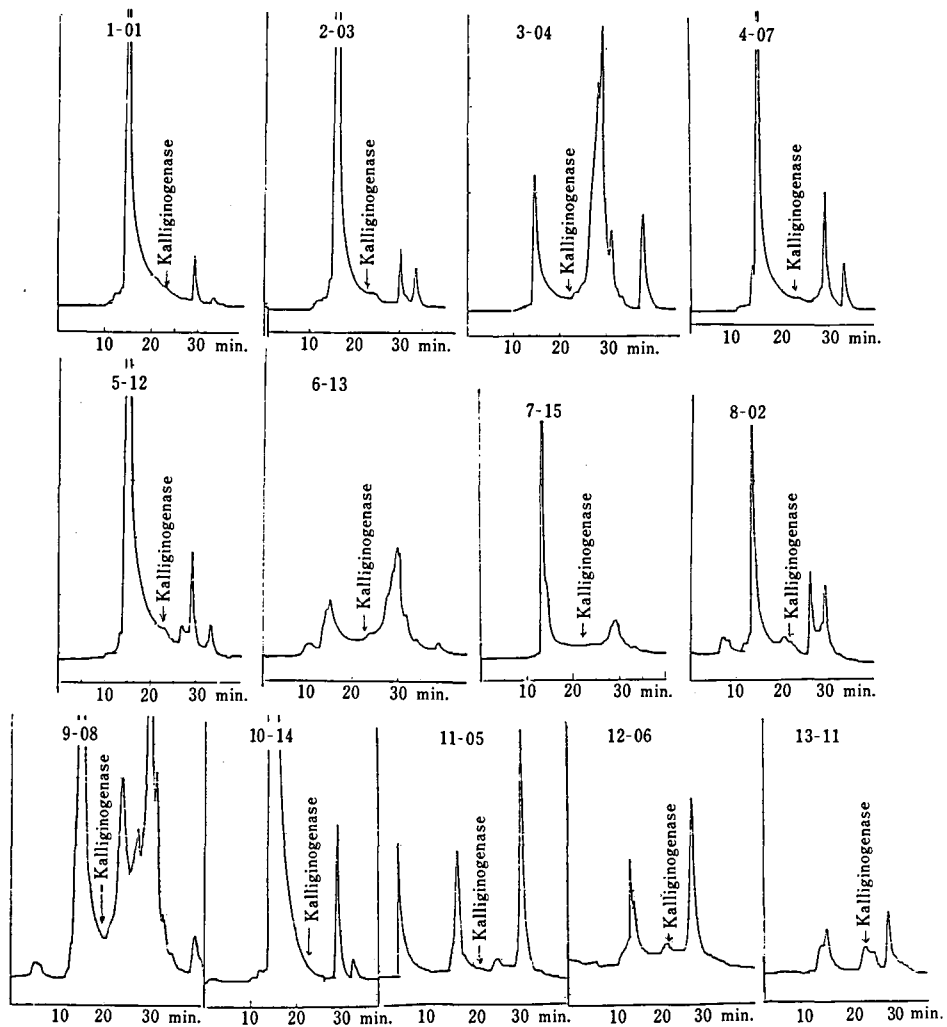


Fig. 3. HPLC of various kalligenogenase preparations

Column: Toyo Soda TSK GEL G2000SW (0.75×60 cm). Mobile phase: 0.05 M phosphate buffer in 1.2% NaCl (pH 7.0). Flow rate: 1.0 ml/min. Detector: UV (280 nm). Sensitivity: ×0.08

～0.5 unit/ml の溶液とし、試料溶液とした。

抗体の調製ならびにアッセイ操作は前報⁷⁾に従った。

6) HPLC

装置は島津高速液体クロマトグラフ LC-6A 型と紫外線検出器型 SPD-6A を用い、カラムは東洋曹達 TSK GEL G2000 SW (0.75×60 cm) を用いた。検出波長は 280 nm、感度は 0.08、移動相は 0.05 M リン酸緩衝液、pH 7.0 (1.2% 塩化ナトリウム含有)、流量は 1.0 ml/min の条件でクロマトグラフィーを行った。

結果と考察

エンザイムイムノアッセイの検量線の一例を Fig. 1 に示す。各プロットは 3 回の平均値と変域を表す。

片対数プロット法による標準品の検量線は 0.004～1 unit/ml の範囲で測定が可能であり、0.0032 unit/assay tube を用いた測定値の偏差 (c.v. 値) は 3.4% であった。なお各試料の含量は検量線の直線部分における標準品と試料の unit 値の比から求めた。

酵素活性測定法とエンザイムイムノアッセイの結果を Table 1 に示す。両者は比較的良好に一致しており、エンザイムイムノアッセイは生物的効力比にほぼ比例すると思われる。この二法間には Fig. 2 に示すように良好な相関が認められた。しかし試料 3-04 のようにエンザイムイムノアッセイが低い値を示す場合と逆に 5-12 のように高い値を示す場合がある。その原因をイムノアッセイ側からみると、製剤中に夾雑物とし

て交叉反応をするもの、または抗原抗体反応を妨害するものの存在する可能性、さらに主剤のカリジノゲナーゼが製剤工程中一部失活したものでイムノアッセイには測定される場合などが考えられる。Fig. 3 に製剤のクロマトグラムを示す。注入量はカリジノゲナーゼ0.4 単位相当量である。カリジノゲナーゼは他のピークの肩にみられ夾雑物が多く認められた。このいずれが測定に影響を及ぼすか検討する必要がある。

ま と め

エンザイムイムノアッセイをカリジノゲナーゼ製剤に適用し、生物学的効力比とほぼ比例する結果を得て、本法が製剤分析に適用可能であることを確めた。

しかし、一部の製剤に酵素活性測定法と本法の測定

結果に差がみられ、両者が合致するための前処理法を検討する必要がある。

文 献

- 1) H. Moriya *et al.*: *J. Biochem.*, **58**, 20 (1965)
- 2) P. S. Roberts: *J. Biol. Chem.*, **232**, 285 (1958)
- 3) I. Trautschold, E. Werle: *Z. Physiol. Chem.*, **325**, 48 (1961)
- 4) 森脇千秋ら: 薬学雑誌, **91**, 413 (1971)
- 5) I. Trautschold: *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 25, ed. E. G. Erdos, p. 50 (1960), Springer-Verlag, New York
- 6) E. Fink *et al.*: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **290**, 183 (1978)
- 7) 柴田 正ら: 薬学雑誌, **103**, 183 (1983)
- 8) 谷本 剛ら: 衛生試験, **101**, 83 (1983)

ケシの花芽分化と発育について

熊谷健夫・島山好雄

Flower Bud Differentiation and Development of Opium Poppy (*Papaver somniferum* L.)

Takeo KUMAGAI and Yoshio HATAKEYAMA

Flower bud differentiation in opium poppy (*Papaver somniferum* L.) was investigated under the condition of spring sowing in a cold area. The flower buds were differentiated from higher to lower order nodes. The flower bud differentiation of terminal flower of 1/0 node was observed in early June, and then after 5 days that of the lateral flowers of 3/0 and 4/0 nodes. The beginning of ovary formation was observed after 20 days in 1983 and 15 days in 1984 after flower bud differentiation.

(Received May 31, 1985)

緒 言

植物は、栄養体の生長を行う栄養成長と生殖器官の生長を行う生殖生長の二相をもち、花芽分化期が栄養生長より生殖生長への転換期とみなされる¹⁾。生理学的には花芽が形成されるということは、栄養的代謝から生殖的代謝への転換を意味し、単に花芽が形成されるだけでなく、その植物全体の物質代謝に変換がおこっていると考えられる²⁾。イネでは花芽分化と生育速度との関連があるとされ³⁾、また、イネやダイズでは、花芽分化前の栄養生長期と後の生殖生長期では養分に対する要求が変化すること⁴⁾が認められている。

花芽形成は日長時間や温度によって影響され、イネでは北海道や東北などの北に栽培される早生品種は感温性高く、感光性は低いが、九州などの西南暖地に栽培される晩生品種は、感温性低く、感光性が高いとい

われており⁵⁾、栽培地域によって出穂性が異なり、ケシの早晚性に関しても同様なことが考えられる。このように、花芽分化の形成過程を究明しておくことは、栽培・育種の基礎資料となる。

ケシの花芽分化については、暖地秋播き栽培は木下⁶⁾によって報告されているが、寒冷地春播き栽培についてはなされていないので、本研究を行い多少の知見を得たので報告する。

実験材料および方法

実験は1983年、1984年の2回行った。両年ともに供試材料は「一貫種」を使い、播種は5月2日、10a当り500g条播、1983年N6.2, P5.4, K7.5kg, 1984年はN15.0, P10.6, K17.6kgを施し、栽植密度は60×20cmとした。

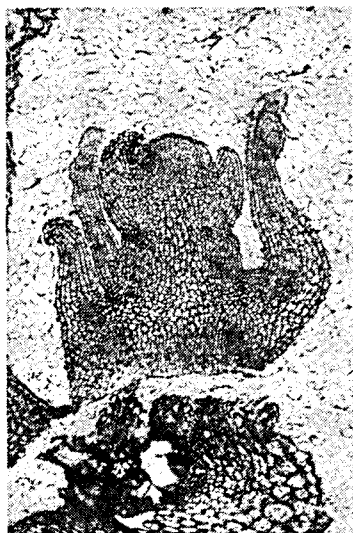
試料は1983年は6月4日から7月4日まで5日毎に、



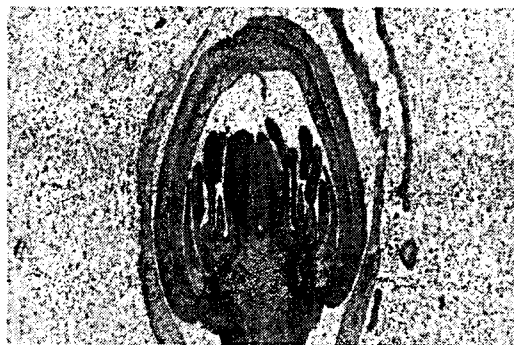
Stage A (×330)



Stage I (×100)



Stage D (×250)



Stage L-M (×50)

Photo. 1. Growing process of flower bud

1984年は6月5日から6月20日まで5日毎に各15~20株を採取し、FAA液に固定、固定の終わった試料は正ブタノールとエタノールで脱水・透徹、それをパラフィン浸透、包埋しマイクロトームで厚さ10ミクロンに連続切片を作り、検鏡した。

実験結果および考察

花芽の生育程度の基準は木下の報告によった。各生育段階は次のとおりである。

NO：花芽分化なし。

ND：花梗あるいは分枝の分化中。

A以前：花芽未分化で葉芽分化中。

A：花芽分化が始まる。

B：花芽が球形を呈し、形が大きくなる。

C：花芽の両端にくびれが生じ、がく片が分化する。

D：がく片の分化が明らかになり、全体に大きく生

長する。

E：がく片が全体をつつむようになる。

F：がく片が完全に全体をつつみ、密着している。

G：全体の形が大きくなり、両端にくびれが生じ花弁の分化が認められる。

H：花弁および雄しべの発生ヶ所が明らかになり、雄しべ、雌しべの位置が判然と認められる。

I：花弁が伸長し始め、雄しべの発生が認められ雌しべに突起がみられる。

J：花弁と雄しべはさらに伸長し、雌しべの突起は明らかとなる。

K：雄しべは上方に向かって伸長し、雌しべは両端の突起が上方に向かって立ち、中央の突起は円筒状を呈している。

L：雄しべはさらに伸長し、その上端は膨張しこん棒状を呈し、葯の形成が認められる。

Table 1. Appearance rate (%) of flower bud (1983)

Node order	June 4	June 9	June 14	June 19	June 24	June 29	July 4
1/0	Before A 100	Before A 85 A 5 B 10	B 6 C 24 D 18 E 47 F 6	E 6 F 24 G 24 H 41 I 6	H 5 I 39 J 33 K 17 L 5	K 16 L~M 84	L~M 100
3/0		NO 100	Before A 12 A 12 B 6 NO 71	A 19 B 69 C 6 NO 6	D 7 E 22 F 7 G 29 H 14 NO 21	D 5 E 0 F 5 G 20 H 0 I 25 J 10 K 20 NO 15	H 6 I 11 J 44 K 22 NO 17
4/0			Before A 41 A 18 NO 41	A 33 B 33 NO 33	B 8 C 15 D 8 E 31 F 31 G 2	D 6 E 0 F 23 G 18 H 0 I 35 J 18	G 6 H 12 I 53 J 29
5/0			Before A 24 NO 76	A 46 B 15 NO 38	Before A 29 A 7 B 21 C 7 D 0 E 14 F 21	B 6 C 12 D 6 E 0 F 6 G 25 H 37	G 38 H 54 I 0 J 8
6/0			Before A 18 NO 82	—	Before A 21 A 37 B 32 ND 10	C 20 D 13 E 13 F 20 G 33	F 7 G 13 H 20 I 60
7/0			Before A 6 NO 94	—	ND 37 Before A 32 A 0 B 10 C 10 NO 10	C 22 D 5 E 28 F 17 G 17 NO 11	D 11 E 17 F 28 G 17 NO 28
8/0			NO 100	—	ND 16 Before A 42 A 21 B 0 C 5 NO 16	B 5 C 48 D 5 E 0 F 10 G 5 NO 27	D 18 E 35 F 6 G 0 H 6 NO 35
9/0				—	ND 6 Before A 24 A 24 NO 47	Before A 5 A 11 B 22 C 28 NO 33	C 17 D 28 E 5 NO 50
10/0				—	Before A 30 A 15 NO 55	Before A 25 A 0 B 15 C 5 NO 55	C 22 D 22 NO 56

Table 1. (continued)

Node order	June 4	June 9	June 14	June 19	June 24	June 29	July 4
11/0				—	ND 5 Before A 10 A 5 NO 80	Before A 15 A 10 NO 75	B 28 C 11 NO 61
12/0				—	Before A 15 A 5 NO 80	Before A 20 A 5 NO 75	NO 100
13/0				—	Before A 10 NO 90	Before 10 NO 90	—
14/0				—	—	NO 100	

Table 2. Appearance rate (%) of flower bud (1984)

Node order	June 5	June 11	June 15	June 20
1/0	Before A 60 A 33 B 0 C 7	H 6 I 56 J 38	J 7 K 93	L 14 M 86
3/0		ND 12 NO 88	B 7 C 13 NO 80	G 7 I 13 J 7 NO 73
4/0		ND 19 Before A 12 NO 69	Before A 13 A 13 B 33 C 13 NO 28	E 7* F 36 G 36 NO 14
5/0		ND 7 Before A 7 NO 86	Before A 40* B 7 C 13 NO 33	Before A 7 B 7 C 14 D 29 G 7 NO 36

* Appearance rate don't make a total of 100% for the shortage of materials due to insect injury and others.

M: 雌しべは葯と花糸が判然と区別され、雌しべは球形を呈する。

各生育段階の主なものは Photo 1 に示した。

花芽分化は順次上位節より下位節に向かって行われ、頂花から下位節に向かって 1/0 2/0……a/0 とした。1983年の各時期における花芽の生育段階の出現率を Table 1 に示した。主莖節は15~19節あり、そのうち花芽分化は 9/0 節までみられ、なかには 13/0 節までみられるものもあったが、1株当たりの花数は慣行の栽培法では3個前後で、他のものは座止してしまう。

座止してしまう原因は今のところ明らかでないが、過去における栽植密度の試験では疎植にすると花数が増え、密植にすると減り、体内での養水分の競合によ

るものと考えられる⁸⁾。

まず、頂花 1/0 節についてみると、6月4日では葉芽の分化中で花芽が形成されておらず、A以前が 100%、同9日には生長点の頂部が肥厚し始め、花芽分化の形態的徴候がみられ、Aが10%、Bが10%みられた。同14日には多くの個体でがく片の分化が始まり、がく片分化直後のC、がく片が伸長し始めたD、がく片がさらに伸長して全体をおおうようになったEの個体を合わせると90%近くあった。同19日には花卉の分化がみられ、さらに生長が進んで雌しべや雌しべの位置に突起がみられるようになったのみみられ、F、G、Hの個体合わせて90%近くであった。同24日には雌しべが発生し、雌しべの突起も明らかとなり、平坦状の

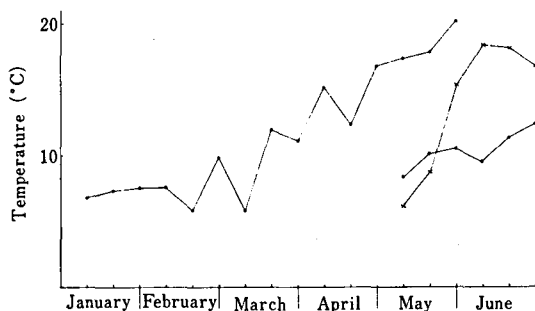


Fig. 1. Mean temperature in the period of flower bud differentiation.

○: Mean temperature of Wakayama in 1958.
 ●: " of Nayoro in 1983.
 ×: " of Nayoro in 1984.

突起がくびれ始めるものもみられ、I、J、Kの個体合わせて90%近くであった。同29日には雌しべに葯の形成がみられ、また雌しべは肥大して子房が形成され始め、L—Mの個体が80%以上みられ、7月4日にはすべてL—Mの個体であった。

分枝については、2/0節は多くの場合花芽分化はみられず、3/0節と4/0節では頂花の花芽分化後5日目に始まり、5/0節では10日後、6/0—12/0節では15日後にみられた。3/0—6/0節の上位節では、頂花と同様に5日毎に3段階くらいずつ生長し、7月4日には雌しべが発生し雌しべの突起も認められ、3/0節ではI—Kの個体が80%近く、4/0節ではH—Jの個体が90%以上、5/0節では60%以上、6/0節ではH—Iの個体が80%以上であった。一方、7/0節以下の下位節では上位節に比べて生長速度が鈍化して、上位節のように雌しべが発生し雌しべに突起がみられる段階までには至らなかった。

1984年は1983年に比べて多少花芽分化の経過に相違がみられ、花芽分化の始まる時期は4日、子房が形成され始める時期は約10日早かった (Table 2)。これは1984年が1983年に比べて気温が高かったため、花芽の生育が促進されたためであると考えられる。また、花芽分化をしてから子房が形成されるまでの期間は、1983年で20日、1984年で15日を要し、和歌山での試験

結果と比べて30~35日短い。これは和歌山では秋播きし、花芽分化の始まる時期が2月中旬の低温期のため、花芽の生育に長期間を要するのに対し、北海道では春播きのため、6月上旬には始まり、短期間で花芽の生育が進むものと考えられる (Fig. 1)。花芽分化に及ぼす温度の影響については、イネにおいて幼穂分化は30°Cが適温であること⁹⁾、落花性の間花始期までの日数は気温が高いほど短縮され、温度が花芽分化に直接的に作用したこと¹⁰⁾などが報告されている。また、花芽生育の各段階の形態が木下の報告と多少合わない点がいくつかみられ、例えば雌しべが形成され始めるI段階で花芽はかなり伸長しているとあるが、本実験では伸長し始めか、わずかに伸長している程度であった。

摘 要

1983年と1984年の両年、ケシの寒冷地における春播き栽培の花芽分化について調査した。調査結果は次のとおりである。

1. 主茎節は15~19節あり、そのうち花芽分化は多くの個体において9/0節までみられ、なかには13/0節までみられる個体もあった。
2. 花芽分化は上位節から順次下位節に向かい、6月上旬に頂花1/0節で始まり、頂花の分化後5日目に分枝3/0と4/0節の花芽分化が始まった。
3. 花芽分化を開始してから、子房が形成されるまでの期間は15~20日であった。

文 献

- 1) 松尾孝嶺: 育種学, p. 392 (1959) 養賢堂
- 2) 志佐 誠, 加藤幸雄: 植物生殖生理学, p. 345 (1962) 誠文堂新光社
- 3) 木村四郎, 関口貞介: 日作紀, 22, 65 (1954)
- 4) 高橋英一ら: 作物栄養学, p. 189 (1969) 朝倉書店
- 5) 石井和夫: 農及園, 58, 1500 (1983)
- 6) 管 洋, 西沢武明: 農及園, 57, 493 (1982)
- 7) 木下孝三: 衛生試験報, 77, 273 (1959)
- 8) 畠山好雄: 生薬, 35, 321 (1981)
- 9) 羽生幸夫ら: 日作紀, 52, 135 (1983)
- 10) 小野良孝ら: 日作紀, 43, 237 (1974)

国立衛生試験所リボフラビン標準品 (Control 831)

徳永裕司・木村俊夫・山羽 力

Riboflavin Reference Standard (Control 831) of National
Institute of Hygienic Sciences

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Tsutomu YAMAHA

Riboflavin was tested for the preparation of a "Riboflavin Reference Standard". Analytical data obtained were as follows; loss on drying: 0.23%, optical rotation: $[\alpha]_D^{20} = -134.5^\circ$, melting point: 292.8~294.8°C (decomposition), infrared spectrum: same as Riboflavin Reference Standard (Control 811), thin-layer chromatography: four contaminants, solubility: less than 12 min, nitrogen: 14.88% (theoretical values: 14.89%), assay: 100.5%.

This material was authorized as the Japanese Pharmacopocia Standard.

(Received May 31, 1985)

第十改正日本薬局方 (JPX) リボフラビンの定量法、同散の定量に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) "リボフラビン標準品" (Control 831) を製造したので報告する。

1. 原料 東京田辺製薬株式会社より購入した。

2. 参照物質および試薬 日本薬局方標準品 (Control 811), 試薬は試薬特級品を用いた。薄層板はメルク社製プレコートシリカゲル60を用いた。

3. 装置 島津 QV-50 型分光光度計, 応用電気製旋光度計, 日立製 270-30 型赤外分光光度計を用いた。

4. 試験方法 i) 乾燥減量, 旋光度, 定量は, JPX リボフラビンの試験法を準用し, 融点 (分解点) は, JPX 一般試験法を用いた。

ii) 赤外吸収スペクトル: 臭化カリウム錠剤法を用いた。

iii) 薄層クロマトグラフ法: 標準品 (Control 811) および原料を乾燥し, その約 1 mg を精密に量り, 希水酸化ナトリウム試液 (0.1 N) 0.1 ml を加えて溶解後, メタノール 4.8 ml および 0.1 N 塩酸 0.1 ml を加え, 標準溶液, 試料溶液とした。標準および試料溶液 10 および 20 μ l ずつを薄層板にスポットし, ジクロ

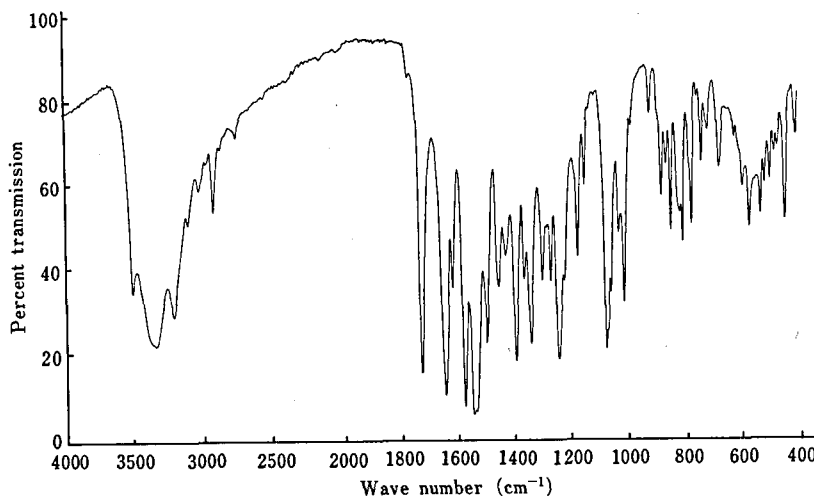


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Riboflavin Reference Standard (Control 831)

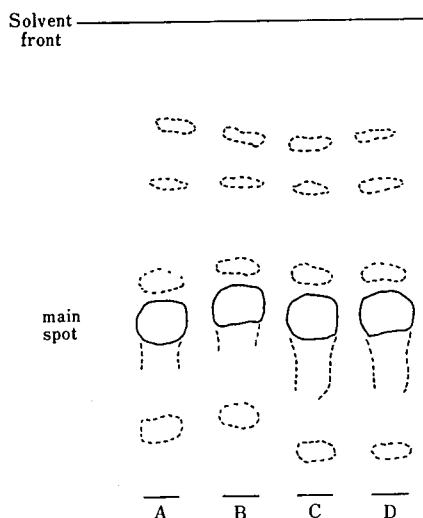


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of Riboflavin
A,C: Japanese Pharmacopoeia Standard 10,20 μ g
B,D: material 10,20 μ g

ルメタン・メタノール・水酸化テトラメチルアンモニウム混液 (80:19:1) を展開溶媒として約 10 cm 展開した。薄層板を風乾したのち、長波長紫外線 (366 nm) を照射し、生じた蛍光スポットを観察した。

iv) 溶解度: 標準品および原料を乾燥し、その約 10 mg を精密に量り、5% 酢酸 100 ml を加え、75 \pm 1 $^{\circ}$ C に加熱し、リボフラビンの溶解を観察した。

v) 窒素: 原料を乾燥し、その約 5 mg を精密に量

り、窒素測定用アルミポートに入れ、窒素分析計にて窒素の定量を行った。

5. 試験成績 i) 性状: だいたい黄色の粉末で、わずかににおいがある。

ii) 乾燥減量: 0.23% (0.5 g, 105 $^{\circ}$ C, 2時間)

iii) 旋光度: $[\alpha]_D^{20} = -134.5^{\circ}$

iv) 融点: 292.8~294.8 $^{\circ}$ C (分解)

v) 赤外吸収スペクトル: Fig. 1 に示す。

標準品と同一のスペクトルを与えた。

vi) 薄層クロマトグラフ法: Fig. 2 に示す。

原料および標準品では、各 4 個の不純物の蛍光スポットが観察された。

vii) 溶解度: 原料および標準品は、ともに 12 分以内に溶解した。

viii) 窒素: 14.88% (理論値: 14.89%)

ix) 定量: 100.5%

結 論

標準品原料として入手したリボフラビンを日本薬局方標準品 (Control 811) と比較検討した。薄層クロマトグラフ法により、原料中には、4 個の蛍光性不純物が検出され、その定量値は、100.5% であった。その他の測定結果より、今回入手した標準品原料は国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認めた。

終りに、標準品の製造にあたり協力いただいた東京田辺製薬株式会社に感謝いたします。

国立衛生試験所アスコルビン酸標準品 (Control 831)

徳永裕司・木村俊夫・山羽 力

Ascorbic Acid Reference Standard (Control 831) of National
Institute of Hygienic Sciences

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Tsutomu YAMAHA

Ascorbic acid was tested for the preparation of a "Ascorbic Acid Reference Standard". Analytical data obtained were as follows; loss on drying: 0.00%, optical rotation: $[\alpha]_D^{20} = +21.2^{\circ}$, melting point: 189.6~190.8 $^{\circ}$ C (decomposition), infrared spectrum: same as the Ascorbic Acid Reference Standard (control 811), and assay: 100.7% by iodometry, 100.2% by 2,6-dichlorophenol indophenol method.

This material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1985)

第十改正日本薬局方 (JPX) アスコルビン酸散、および同注射液の定量に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “アスコルビン酸標準品” (Control 831) を製造したので報告する。

1. 原料：武田薬品工業株式会社より購入した。
2. 参照物質および試薬 日本薬局方標準品 (Control 811)。試薬は試薬特級品を用いた。
3. 装置：ヤマト科学製融点測定装置，応用電気製旋光度計，および日立製 270-30 型赤外分光光度計を用いた。
4. 試験方法 i) 乾燥減量，旋光度，定量は，JPX アスコルビン酸および同散の試験法を準用し，融点 (分解点) は JPX 一般試験法を準用した。
ii) 赤外吸収スペクトル：臭化カリウム錠剤法を準用した。
5. 試験成績 i) 性状：白色の結晶でにおいはない。

- ii) 乾燥減量：0.00% (1g, シリカゲル, 24時間)
- iii) 旋光度： $[\alpha]_D^{20} = +21.2^\circ$ (1g, 水, 20ml, 100mm)
- iv) 融点：189.6~190.8°C (分解)
- v) 赤外吸収スペクトル：Fig. 1 に示す。
標準品 (Control 811) と同一のスペクトルを与えた。
- vi) 定量：ヨウ素法 -100.7%，2,6-ジクロルフェノールインドフェノール法 -100.2%。

結 論

標準品原料として入手したアスコルビン酸を日本薬局方標準品 (Control 811) と比較検討した。各種の試験の結果，今回入手した標準品原料が国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認めた。

終りに，標準品の製造にあたり協力いただいた武田薬品工業株式会社に感謝いたします。

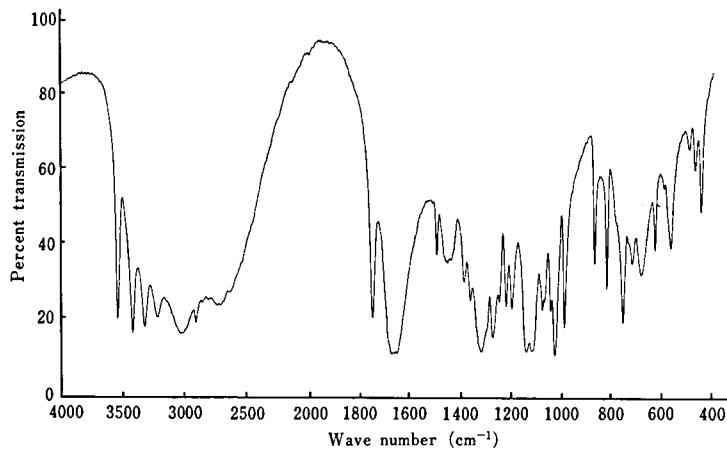


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Ascorbic Acid Reference Standard (Control 831)

国立衛生試験所含糖ペプシン標準品 (Control 831)

福田秀男・谷本 剛・木村俊夫・山羽 力

Saccharated Pepsin Reference Standard (Control 831) of National Institute of Hygienic Science

Hideo FUKUDA, Tsuyoshi TANIMOTO, Toshio KIMURA and Tsutomu YAMAHA

The National Institute of Hygienic Sciences Reference Standard for Saccharated Pepsin (Control 831) was prepared. The potency of the material for this standard was measured by the Casein-Folin method and estimated as 7.89 units per mg. On the basis of this potency it was decided that the amount of the standard to be used in the procedure for proteolytic activity of Saccharated Pepsin in J.P.X is 48 mg.

(Received May 31, 1985)

国立衛生試験所含糖ペプシン標準品はこれまでに6回更新されてきたが、今回7回目の新標準品 (Control 831) の力価を設定するに当たり、その酵素活性を測定し、力価を決定したので報告する。

1. **新標準品 (Control 831)** : 丸石製薬株式会社により調製、提供された原料を約 5g ずつ標準品用小瓶に小分けし密栓したもの。

2. **試薬** : 日本薬局方含糖ペプシン標準品 (現標準品, Control 771), 日本薬局方標準品 チロジン標準品, Difco 社製乳製カゼインおよび和光純薬株式会社製フェノール試薬を用いた。

3. **測定方法** : 長沢らの方法¹⁾ に準じて行った。

(a) **試料溶液** 新標準品および現標準品 20~40mg をそれぞれ精密に量り、0.01 N 塩酸を加えて溶かし、100 ml とした。

(b) **基質溶液** 乳製カゼイン 1.8 g に 0.05 N 塩酸 240 ml を加えて溶かし、透明になるまで 70°C で加温したのち、水 60 ml を加えた。

(c) **トリクロル酢酸溶液** トリクロル酢酸 18 g, 酢酸ナトリウム (3水和物) 30 g, 酢酸 20 g に水を加えて溶かし、11 とした。

(d) **フォリン試液** フェノール試薬を水で3倍にうすめて用いた。

(e) **チロジン標準液** チロジン標準品適量を精密に量り、0.2 N 塩酸を加えて 200 ml とし、さらにこの液 2 ml を正確に量り、0.2 N 塩酸を加えて 20 ml とした。

(f) **操作法** 40°C に予温した試料溶液 1 ml に、同温に予温した基質溶液 5 ml を加え、40°C で1時間反応させたのち、トリクロル酢酸 5 ml を加え、40°C で

30分間放置後にろ過、ろ液 2 ml に 0.55 M 炭酸ナトリウム液 5 ml およびフォリン試液 1 ml を加え、40°C で20分間放置した後波長 660 nm における吸光度を測定した。これとは別に、適当な試料溶液にトリクロル酢酸溶液を加え、つぎに基質溶液を加えて、以下同様に操作し、得られた値を空試験値とした。一方、チロジン標準液 2 ml をろ液の代りに用いて同様に操作し、標準値を得た。この際空試験は 0.2 N 塩酸を用いた。

4. **測定結果** : 各試験毎に新標準品 8 試料 (Exp. 4 では 4 試料) および現標準品 2 試料 (Exp. 4 では 4 試料) から一定量を採取して得た試料溶液についてそれぞれ 5 回ずつの測定を行った。それらの結果を Table 1 に示す。

各測定力価より算出した総平均値は新標準品及び現標準品それぞれ 7.89 単位/mg および 5.40 単位/mg であった。今回得られた現標準品の力価 5.40 単位/mg はその制定時の力価 5.36 単位²⁾ と極めて良く一致しており、このことは今回の試験結果が信頼しうることを示すものと考えられ、したがって、ここに得た新標準品の力価の信頼性は高いと考えられる。日本薬局方含糖ペプシンは 3.80 単位/mg 以上と規定されている¹⁾ ので、日局の蛋白消化力試験における試料の使用量 100 mg に対する新標準品の使用量は 48.2 mg 相当となる。

以上のことから、新標準品 (Control 831) の日局含糖ペプシンの蛋白消化力試験における使用量を 48 mg とし、その旨をラベルに表示することとした。

5. **考察** : 一般に新標準品の力価を設定する場合、従来の力価単位を継続させることが混乱を防ぐ意味で

Table 1. Potencies of the National Institute of Hygienic Sciences Reference Standard (Japanese Pharmacopoeia Reference Standard) for Saccharated Pepsin (Control 831 and 771) estimated by Casein-Folin method¹⁾

Exp.1			Exp.2			Exp.3			Exp.4		
sample No.	u/mg	c.v.	sample No.	u/mg	c.v.	sample No.	u/mg	c.v.	sample No.	u/mg	c.v.
(Control 831)											
1	8.745	3.0	9	7.272	3.0	17	7.034	5.2	25	8.211	3.9
2	8.534	8.1	10	7.545	2.6	18	7.142	2.8	26	8.153	2.5
3	8.245	4.5	11	7.324	1.0	19	7.712	1.9	27	7.831	1.3
4	8.762	5.4	12	7.465	1.2	20	7.768	3.4	28	8.009	3.0
5	9.236	4.0	13	7.595	1.9	21	7.371	3.3			
6	9.122	4.0	14	7.525	1.9	22	7.799	4.7			
7	8.190	7.3	15	7.848	1.6	23	6.857	5.6			
8	8.490	5.5	16	7.400	1.2	24	7.777	7.9			
mean	8.665	4.1		7.496	2.2		7.432	4.8		8.051	1.8
(Control 771)											
1	5.608	2.2	3	5.154	2.7	5	5.009	0.9	7	5.347	2.7
2	5.130	5.0	4	4.978	1.6	6	5.306	2.5	8	5.939	8.2
									9	5.644	6.5
									10	5.893	2.5
mean	5.369			5.066			5.157			5.706	4.1

c.v. : coefficient of variation
 Each figure (u/mg) is the average of 5 measurements.

大切となる。今回の標準品の力価を設定するに当たり、測定法として二通りが考えられた。一つは、現標準品を基準に新標準品の力価を算出するもの、他方は、第1回の標準品が制定される時にその力価の測定に利用された方法に基づいて絶対単位を求めるものである。今回はこの両測定法を同時に行う形式で行ったが、絶対測定法によって得られた現標準品の力価がその制定時の力価と良く一致したので、新標準品の力価を算出するに当たり、どちらの測定法を採用しても結果的には同じであった。また、Table 1 に示したように、各

実験内での測定値の変動 (C.V. 値) は個々の5回の測定値の変動と比べて大差のないことから、新標準品の原料の均一性に問題はないと判断される。

当標準品を製造するに当たり、ご協力頂いた丸石製薬株式会社に感謝致します。

文 献

- 1) 長沢佳熊ら：衛生試報，78，135 (1960)
- 2) 横田椅江ら：衛生試報，95，70 (1977)

国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 841)

谷本 剛・福田秀男・木村俊夫・山羽 力

Kallidinogenase Reference Standard (Control 841) of National Institute of Hygienic Sciences

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA, Toshio KIMURA and Tsutomu YAMAHA

The second "Kallidinogenase Reference Standard" (Control 841) of National Institute of Hygienic Sciences was prepared. The kallidinogenase potency of the standard material was assayed against the first "Kininogenase International Standard" by the bioassay method based on vasodilator activity in the dog and the enzyme assay methods using benzoyl arginine ethyl ester and H-D-valyl-L-leucyl-L-arginine-*p*-nitro-anilide as substrates in collaboration with six laboratories. The potency of the kallidinogenase reference standard material thus obtained was defined as 115 International Units per ampoule.

(Received May 31, 1985)

1982年、WHOはカリジノゲナーゼ国際標準品を確立した¹⁾。これに伴い、我国でもカリジノゲナーゼ標準品を制定することになり、1983年に第1回の国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品を製造した。

今回、第1回標準品 (Control 821) の在庫が少なくなったので、2回目の標準品を製造し、ロットの更新を行った。以下、その結果を報告する。

なお、標準品の製造にあたり、当部を含めた6機関による共同検定によって単位を決定した。共同検定には株式会社三和化学研究所、大蔵製薬株式会社、帝國臓器製薬株式会社、生化学工業株式会社およびバイエル薬品株式会社 (順不同) の5社に参加を依頼し、参加各機関に対し共同検定に用いる国際標準品および国立衛生試験所標準品用原料を配布した。各機関の検定結果は当部において集計した。

実験方法

1. 国際標準品

カリジノゲナーゼ国際標準品 (ブタ膵性, porcine pancreatic kininogenase) は WHO から供与されたものであり、その1アンブルは22.5国際単位を含むものである。

2. 国立衛生試験所標準品用原料

国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品用原料は高度に精製したブタ膵性カリジノゲナーゼ (アイソザイムAおよびBを含む) を乳糖と共に水に溶かした後、アンブルに分注し、凍結乾燥したものであり、バイエル薬品株式会社より購入した。同社による試験成績は

Table 1 に示す通りであり、各アンブル間での内容重量、活性のバラツキは極めて小さいものであった。

3. 検定方法

カリジノゲナーゼ標準品用原料の検定方法としては、バイオアッセイ法と合成基質を用いる酵素活性測定法の両法を併用した。バイオアッセイ法にはイヌ血流増加測定法^{3,4)}を用い、合成基質を用いる方法には N-ベンゾイルアルギニンエチルエステル (BAEE) を基質にしたエステラーゼ活性測定法^{5,6)} とペプチド合成基質 (D-バリル-ロイシル-アルギニン-*p*-ニトロアニリド, S-2266) を基質にした活性測定法⁷⁻⁹⁾ の2法を用いた。各検定機関はこれら3方法のうちから任意に検定方法を選じた。

バイオアッセイ法および酵素活性測定法の操作は前報¹⁰⁾に準じて行った。

結果とまとめ

カリジノゲナーゼ国際標準品を標準にして行った6機関による検定結果を Table 2 に示した。イヌ血流増加測定法、S-2266を用いた酵素活性測定法およびBAEEを用いた酵素活性測定法による検定結果の単純平均値はそれぞれ1アンブル当たり 111.1, 117.1, 110.6 国際単位であり、これら方法による結果の単純平均は1アンブル当たり 112.9 国際単位であった。

この結果から、今回検定した標準品原料は1アンブル当たり 115 国際単位を含むものと定め、第2回国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 841) とした。

Table 1. Results of analysis of "Kallidinogenase Reference Standard" material

	Contents weight ^{**} (mg/ampoule)	Lactose 1H ₂ O ^{***} (mg/ampoule)	Potency ^{****} (KU/ampoule)
n [*]	12	12	12
Mean	4.963	4.879	108.0
S.D.	±0.029	±0.027	±0.42
C.V. ^{*****}	0.58%	0.55%	0.39%

* Number of ampoule

** On account of the hygroscopicity of lactose, the weight control of contents of the open ampoules is only possible in an atmosphere without humidity (therefore P₂O₅ in the balance compartment and in desiccator).

*** Lactose determination was carried out with Dinitro-salicylic acid method as described by Sumner (Ref. 2).

**** Obtained titrimetric assay method using BAEE as substrate. KU: kallidinogenase unit.

***** Coefficient of variation : (S.D./Mean)×100.

Table 2. Potency of "Kallidinogenase Reference Standard" material

Assay method	Lab.	IU/Ampoule (n)	Remarks
Bioassay (Vasodilator activity in dog)	A	115.8 (1)	
	B	119.8 (3)	
	C	97.7 (3)	
	average	111.1	
Enzyme assay (Amidolytic activity on S-2266)	A	115.2 (3)	pH 8.0, 30°C, rate, +SBTI
	B	120.2 (6)	pH 8.0, 30°C, rate
	D	114.9 (5)	pH 8.0, 30°C, rate, +SBTI
	F	118.1 (12)	pH 8.0, 30°C, rate, +SBTI
	average	117.1	
Enzyme assay (Esterase activity on BAEE)	A	114.2 (2)	pH 8.0, 30°C, pH stat, +SBTI
	C	105.2 (12)	pH 8.0, 30°C, rate
	E	108.0 (12)	pH 8.0, 30°C, pH stat
	F	115.0 (12)	pH 8.0, 30°C, rate, +SBTI
	average	110.6	

S-2266: H-D-Valyl-L-leucyl-L-arginine-p-nitroanilide dihydrochloride

BAEE: N-Benzoyl-L-arginine-ethyl ester

SBTI: Soybean trypsin inhibitor

終りに、共同検定に参加していただいた各機関に対して深く感謝いたします。

文 献

- 1) WHO/BS/82.1367
- 2) J. B. Sumner: *J. Biol. Chem.*, **47**, 5 (1921); **62**, 287 (1925)
- 3) S. J. Sarnoff, R. B. Cose and R. Macruz: *Circulation Res.*, **6**, 522 (1958)
- 4) H. Moriya, K. Yamazaki and H. Fukushima: *J. Biochem.*, **58**, 201 (1965)
- 5) G. W. Schwert and Y. Takenaka: *Biochim. Biophys. Acta*, **16**, 570 (1955)
- 6) I. Trautschold and E. Werle: *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **325**, 48 (1961)
- 7) L. Svendsen, B. Blombäck and P. Olsson: *Thromb. Res.*, **1**, 267 (1972)
- 8) L. E. Mattler and N. U. Band: *Thromb. Haemost.*, **38**, 776 (1977)
- 9) I. Witt: *New Methods for the Analysis of Coagulation Using Chromogenic Substrates*, Walter de Gruyter (1977)
- 10) 谷本 剛ら: 衛生試験報, **101**, 128 (1983)

国立衛生試験所塩酸チアミン標準品 (Control 841)

太田美矢子・木村俊夫・山羽 力

Thiamine Hydrochloride Reference Standard (Control 841) of National Institute of Hygienic Sciences

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Tsutomu YAMAHA

The "Thiamine Hydrochloride Standard (Control 841)" for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained; melting point: 239.4°C, infrared spectrum: same as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 811), pH: 3.2 (1% in water), loss on drying: 0.8%, water content: 0.65%, nitrogen: 16.7%, thin-layer chromatography: no contaminant, high-performance liquid chromatography (HPLC): seven contaminants, assay: 99.5% by the JPX method (thiochrome method), 99.8% by UV method (246 nm), 100.2% by total chloride method and 100.1% by HPLC. On the basis of these results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 841)

(Received May 31, 1985)

第十改正日本薬局方 (JPX) の塩酸チアミン、同散、同注射液、硝酸チアミン、乾燥酵母の定量法に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) (Control 841) を製造したので報告する¹⁾。

1. 標準品原料 武田薬品工業株式会社より購入した (JPRS-M)。

2. 参照物質および試薬 日本薬局方標準品 (Control 811, JPRS)、試薬は試薬特級品を用いた。薄層板はメルク製プレコートッドシリカゲル 60F₂₅₄ を用いた。

3. 装置 島津分光光度計 QV-50 型、日立赤外分光光度計 270-30 型、平沼微量水分測定装置 AQ-1 型、コールマン窒素分析装置 29A 型、ユニオン技研高感度自記分光光度計 SM-401 型、日立プロセッサ 655-60 型 (データ処理装置) 付き日立高速液体クロマトグラフ 655 型、日立波長可変 UV モニター 638-41 型。

4. 試験方法 特に記すもののほかは、JPX の一般試験および医薬品各条 "塩酸チアミン" の試験方法を準用した。定量法は、局方記載のチオクロム法 (JPX 法) のほか、246 nm の吸光度を測定する方法 (UV 法)、0.01 N 硝酸銀液による滴定法 (総塩素法) および高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法も合わせて行った。

HPLC 法の測定条件: カラム: ケムコソルブ 50DS-H (ケムコ株式会社, 5 μm, 250 mm × 4 mm i.d.), カラム温度: 40°C, 流量: 0.8 ml/min, 検出: 246 nm (0.08 O.D.), 移動相: フェトニトリル・0.1 M リン酸緩衝液 (pH 3.0) (17:83) 混液に 10 mM のオクタンスルホン酸ナトリウムを加えた。

HPLC による定量法: JPRS および JPRS-M 100 mg を 0.001 N 塩酸溶液に溶かして 200 ml とし、この液 10 ml をとり 0.001 N 塩酸溶液を加えて 50 ml

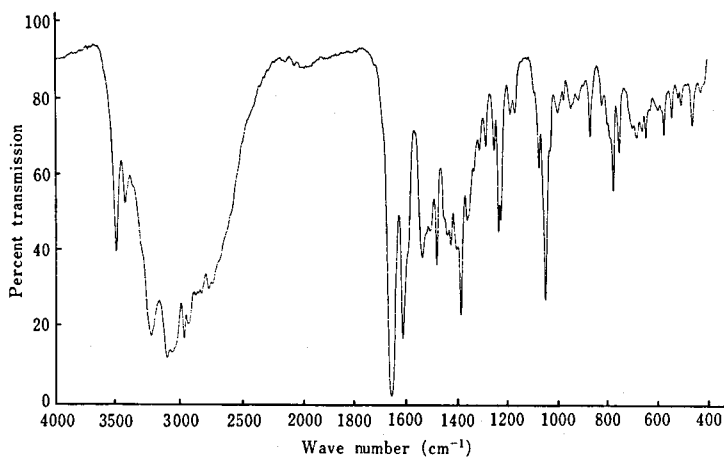


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Thiamine Hydrochloride Reference Standard (Control 841)

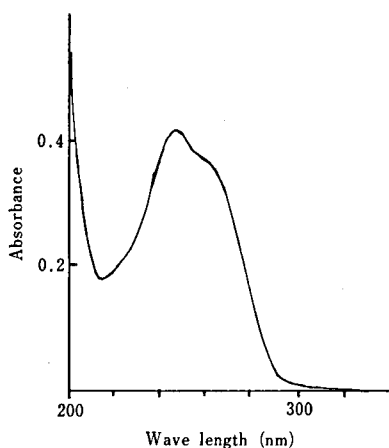


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Thiamine Hydrochloride Reference Standard (Control 841)

とする。その 10 μ l を HPLC に注入する。JPRS を標準として、絶対検量線法を用いて定量した。

5. 試験成績

1) 性状：白色結晶性の粉末で、わずかに特異なおいがある。

2) 融点：239.4°C (n=6, 変動係数 0.57%), なお JPRS は 240°C (n=5, 変動係数 0.57%) であった。

3) 溶状：JPRS-M 1 g を水 5 ml に溶かすとき、液は無色澄明であった。

4) pH: 3.2 (1%溶液)

5) 赤外吸収スペクトル：KBr 錠剤法で測定した JPRS-M の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。これを JPRS のスペクトルと比較するとき、両者は同

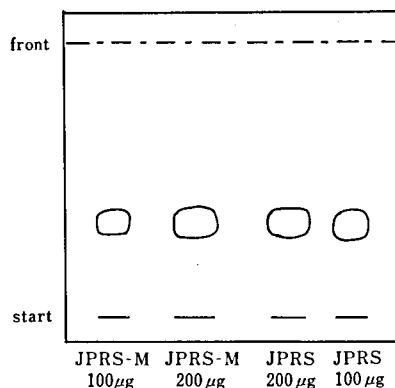


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of thiamine hydrochloride

Conditions: TLC plate; silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, precoated, 0.25 mm), developing solvent; the lower layer of the mixture of 10% sodium sulfate-benzene-acetone-methanol (5:3:1:1), detected under UV light (254 nm).

JPRS-M: Material for thiamine hydrochloride reference standard, JPRS: Japanese pharmacopocia standard (control 811)

一波数位置に吸収を認め、それらの吸収強度は等しかった。

6) 紫外吸収スペクトル：JPRS-M を塩酸溶液に溶かしたときの紫外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。JPRS-M に 0.001 N 塩酸溶液 (pH 3.0) を加えて 10 μ g/ml とし測定した。極大波長は 246 nm であった。

7) 乾燥減量：0.8% (0.1 g, 105°C, 2時間)

8) 水分：0.65% (0.5 g)

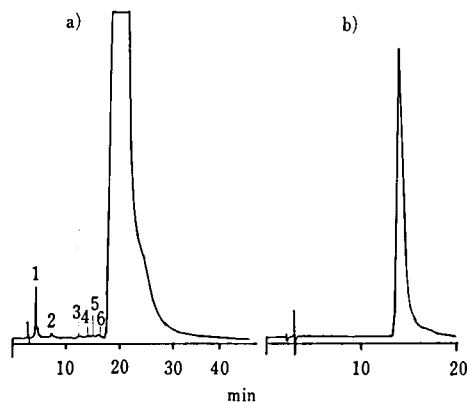


Fig. 4. Chromatograms of the material for Thiamine Hydrochloride Reference Standard

a) JPRS-M (50 μ g), b) JPRS-M (1 μ g)

Conditions: column, Chemcosorb 5ODS-H (250 mm \times 4 mm i.d., 40°C); flow rate, 0.8 ml/min; detection, 246 nm (0.08 O.D.); mobile phase, a mixture of acetonitrile-0.1 M Phosphate buffer (pH 3.0) (17:83) containing 10 mM sodium octane sulfonate.

9) 窒素: 16.7% (n=4, 理論値 16.61%)

10) 薄層クロマトグラフ法: JPRS-M および JPRS のそれぞれ 5 mg にメタノール 1 ml を加えて溶かし, その 20 μ l および 40 μ l を用いて薄層クロマトグラフ法を行った結果を Fig. 3 に示す。なお, 検出は 254 nm の紫外線を照射して観察した。いずれも 40 μ l (200 μ g) の塗布量でも, 主スポット以外に不純物のスポットは認められなかった。

11) HPLC 法による純度試験: JPRS-M および JPRS のそれぞれ 5 mg に水 1 ml を加えて溶かし, その 10 μ l (50 μ g) を HPLC に注入した。JPRS-M のクロマトグラムを Fig. 4a) に示す。不純物のピークは, 塩酸チアミンより保持時間の短いものが 6 個とシ

ルダーが 1 個認められたが, ピーク (1) をのぞいてはいずれも微小 (<0.02%) であった。全ピーク面積の総和を 100% としてピークの面積百分率を計算すると, 塩酸チアミン 99.8%, ピーク (1) 0.2% であった。JPRS も JPRS-M と全く同様のクロマトグラムを与え, 含量も同じであった。

12) 定量: JPRS-M は JPX 法, UV 法, 総塩素法および HPLC 法により定量を行うとき, それぞれ 99.5% (n=10, 変動係数 0.99%), 99.8% (n=8, 変動係数 0.30%), 100.2% (n=3, 変動係数 0.44%) および 100.1% (n=4, 変動係数 0.56%) であった。ただし, JPX 法, UV 法および HPLC 法は JPRS を 100.0% としたときの値である。HPLC 法で定量したときの JPRS-M クロマトグラムを Fig. 4b) に示す。内部標準物質を用いなくても, 変動係数 0.56% と再現性も良くバラツキが少なかった。

結 論

標準品として入手した塩酸チアミンを日本薬局方標準品 (Control 811) と比較検討した。その結果, 各種試験方法での値は良好であり, 特に定量値はこの標準品と一致した。これらの試験結果により, 今回入手した標準品原料は国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認め, Control 841 として配布を開始した。終わりに標準品を製造するに当たり協力して頂いた武田薬品工業株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) 太田美矢子, 木村俊夫, 川村次良: 衛生試験, 100, 167 (1982)

国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 841)

太田美矢子・木村俊夫・山羽 力

Cyanocobalamin Reference Standard (Control 841) of National Institute of Hygienic Sciences

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Tsutomu YAMAHA

The "Cyanocobalamin Reference Standard (Control 841)" for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained; infrared spectrum: same as Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 821), loss on drying: 9.4%, assay: 99.8% by JPX method (UV: 361 nm) and 101.0% by high-performance liquid chromatographic (HPLC) method. One contaminant was detected by thin-layer chromatography and four contaminants were by the HPLC method. On the basis of these results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 841).

(Received May 31, 1985)

第十改正日本薬局方 (JPX) のシアノコバラミン、同注射液の定量に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) (Control 841) を製造したので報告する¹⁾。

1. 標準品原料 日本メルク万有株式会社より購入した (JPRS-M)。

2. 試料および試薬 日本薬局方標準品 (Control 821, JPRS)。他の試薬は試薬特級品を用いた。

3. 装置 島津分光光度計 QV-50 型, 日立二波長自記分光光度計 577 型, 日立赤外分光光度計 270-30 型, 日立プロセッサ 655-60 型 (データ処理装置) 付き日立高速液体クロマトグラフ 655 型, 日立波長可変 UV モニター 638-41 型。

4. 試験方法 特に記すもののほかは, JPX の一般試験方法および医薬品各条 "シアノコバラミン" の試験方法を準用した。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法: 吸着剤: メルクプレコートッドシリカゲル 60, 展開溶媒: (A) プロパノール・水・10%アンモニア水混液 (7:2:1), (B) n-ブタノール・水・クロロホルム・酢酸・メタノール (25:11:10:9:5) をよく混和したのち, 静置して分層させ, その下層を用いた。試料溶液: 末乾燥の JPRS-M および JPRS の乾燥物に換算して 5 mg 相当を 0.5 ml のメタノールに溶かした。

高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法の測定条件: カラム: ケムコソルブ 5ODS-H (ケムコ株式会社,

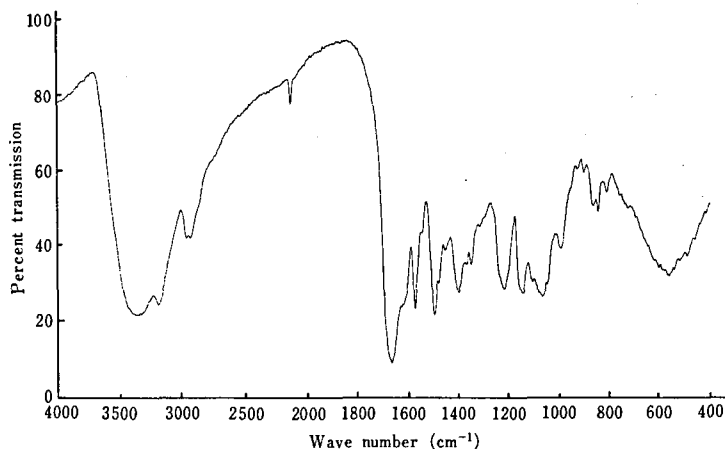


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Cyanocobalamin Reference Standard (Control 841)

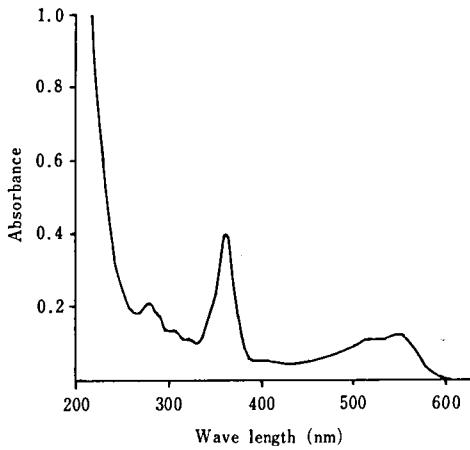


Fig. 2. Ultraviolet and visible spectrum of the material for Cyanocobalamin Reference Standard (Control 841)

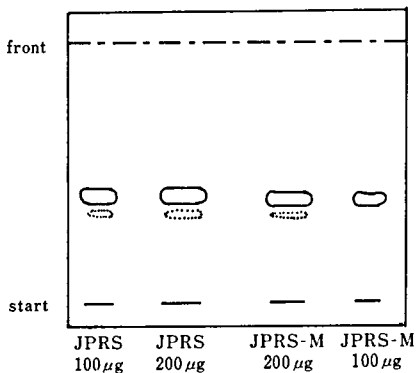


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of cyanocobalamin
Conditions: silica gel 60 (Merck, Pre-coated, 0.25 mm);
propanol-water-10% ammonia (7:2:1)
JPRS: Japanese pharmacopoeia standard (control 821),
JPRS-M: Material for cyanocobalamin reference standard

5 μm , 250 mm \times 4 mm i.d.), カラム温度: 40°C, 流量: 0.8 ml/min, 検出: 246 nm (0.08 O.D.), 移動相: アセトニトリル・0.1 M リン酸緩衝液 (pH 3.0)・ジエチルアミン (11:89:0.5).

HPLC による定量法: JPRS および JPRS-M 15 mg を水に溶かして 50 ml とし, この液 10 μl を注入した. JPRS を標準として絶対検量線法を用いて定量した.

5. 試験成績

1) 性状: 暗赤色結晶性の粉末ではない。

2) 赤外吸収スペクトル: 臭化カリウム錠剤法で測定した JPRS-M の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す. これは JPRS の赤外吸収スペクトルとよく一致した.

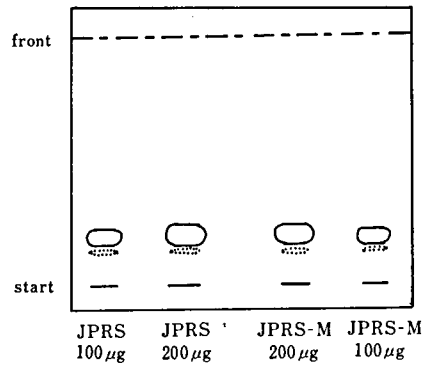


Fig. 4. Thin-layer chromatogram of cyanocobalamin
Developing solvent: the lower layer of a mixture of *n*-butanol, water, chloroform, acetic acid and methanol (25:11:10:9:5). Other conditions were the same as those in Fig. 3.

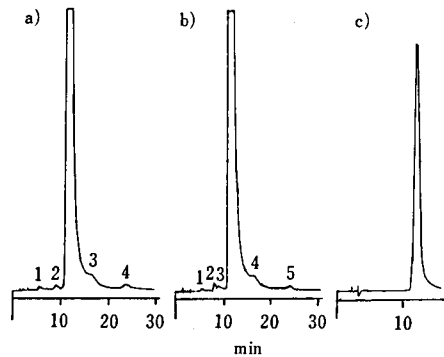


Fig. 5. Chromatograms of cyanocobalamin
a) JPRS-M (50 μg), b) JPRS (50 μg), c) JPRS-M (3 μg)
Conditions: column, Chemcosorb 5ODS-H (250 mm \times 4 mm i.d., 40°C); flow rate, 0.8 ml/min; detection, 361 nm (0.08 O.D.); mobile phase, acetonitrile-0.1 M phosphate buffer (pH 3.0)-diethylamine (11:89:0.5).

3) 紫外および可視吸収スペクトル: JPRS-M 20.85 mg (乾燥物換算量 18.89 mg) を水 1000 ml に溶かしたときの紫外および可視スペクトルを Fig. 2 に示す. Fig. 2 でも明らかなように, 279 nm, 361 nm, 550 nm に吸収極大をもち, それぞれの波長における吸光度を A_1 , A_2 および A_3 とするとき, A_1/A_2 は 0.53, A_3/A_2 は 0.30 であった.

4) 乾燥減量: 9.4% (0.05 g, 減圧, 5 mmHg 以下, 五酸化リン, 100°C, 4時間)

5) TLC 法: 展開溶媒 A および B で展開した結果をそれぞれ Fig. 3 および 4 に示す. 不純物スポットを明確に検出できるようにプレートの裏面より光を照射して観察した. JPRS-M 200 μg の塗布で溶媒 A および B で 1 個の不純物スポットが認められた. 不純物

の数は JPRS と同じであった。

6) HPLCによる純度試験：JPRS-MおよびJPRSそれぞれ5mgに水1mlを加えて溶かし、その10 μ l(50 μ g)をHPLCに注入した。JPRS-MおよびJPRSのクロマトグラムをFig.5のa)およびb)に示す。不純物ピークはJPRS-Mで4個、JPRSで5個認められた。特にJPRSでは、JPRS-Mで認められないピーク2が観察された。

7) 定量：JPRS-MはJPX法およびHPLC法によりJPRSと比較するとき、99.8% ($E_{270}^{1\%}$ 207.1, $n=4$, 変動係数0.30%)および101.0% ($n=4$, 変動係数0.27%)であった。HPLC法で定量した時のJPRS-MのクロマトグラムをFig.5c)に示す。内部標準物質を用いなくても、変動係数が0.27%と小さく定量値のバラツキも少なく、再現性も良かった。

結 論

標準品原料として入手したシアノコバラミンをJPRS(Control 821)と比較検討した。各種試験の結果は良好であり、特に定量値はJPRSとよく一致した。これらの試験結果により今回入手した標準品原料は国立衛生試験所標準品(日本薬局方標準品)に適した品質を有することを認め、Control 841として配布した。終りに、標準品を製造するに当たりご協力いただいた日本メルク万有株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) 太田美矢子, 木村俊夫, 川村次良: 衛生試報, **99**, 113 (1981); **101**, 123 (1983)

梅加工「健康食品」中のシアン化合物含有量の測定

米谷民雄・内山貞夫・斎藤行生

Determination of Cyanogenic Compounds in "Health Foods" made of Ume (Japanese Apricot)

Tamio MATSUI, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO

There is the possibility of cyanogenic glycosides found in a high concentration in so-called health foods made of ume (Japanese apricot). Therefore, the total concentration of cyanogenic compounds was determined from 6 samples available commercially by the hydrolysis with β -glucosidase (almond emulsin) followed by steam distillation of liberated hydrogen cyanide and colorimetric determination. The cyanide contents were found to be below 20 ppm as HCN except for 163 ppm in bainiku-ekisu (condensed extract of the edible portion). The free cyanide concentrations determined without β -glucosidase were in the range of 0.6~10 ppm. Special care should be taken concerning the amount of β -glucosidase used.

(Received May 31, 1985)

植物の中には、葉や種子にシアン配糖体を含むものがあり、青梅はその代表的なものの一つである。元来、梅はいわゆる可食部を少量食するものであり、たとえシアン配糖体が含まれていても食品衛生上それほど問題とはならなかった。しかし近年のいわゆる健康食品(今後単に健康食品という)のブームにより、種々の梅加工品が健康食品として市販されるようになり、製品中にシアン配糖体が濃縮されている可能性がでてきた。そこで市販されている数種の梅加工健康食品中のシアン化合物含有量を酵素法¹⁾により測定し、また分析法についても若干の検討を行った。

実 験 方 法

1. 試料および試薬

試料は市販の梅加工健康食品の中から、形態別に計6種類(プルーン製品1種を含む)収集した。

β -グルコシダーゼはアーモンド由来のP-L Biochemicals社のものを使用した。他の試薬は市販のシアン定量用製品もしくは特級品を用いた。

2. 定量方法

今回用いた方法は都衛研の方法²⁾に準拠している。すなわち

a) 総シアン：試料0.5~2gを二頸フラスコに秤

取し、クエン酸緩衝液 (pH 5.8) 100 ml および β -グルコシダーゼ 11000 U を加え、密栓し、時々振とうしながら25°Cで3時間インキュベートした。その後水蒸気蒸留を行い、留液は1% NaOH 溶液 30 ml を入れた受器に 90 ml になるまで集めた。フェノールフタレインを指示薬として10% 酢酸で中和後、水を加え100 ml とし、その2または10 ml を用いて、ピリジン・ピラズロン法³⁾によりシアン量を比色定量した。

b) 遊離シアン: 試料 2~12 g を秤取し、クエン酸緩衝液 100 ml を加えた後、直ちに水蒸気蒸留した。留液は総シアンの時と同様に集め、中和、希釈後、その10 ml を用いてシアンを定量した。

結果および考察

1. 添加回収実験

シアン化水素 40 μ g 相当量を用い、遊離シアン測定法と同様の操作を行ったところ、回収率は97%であつた。

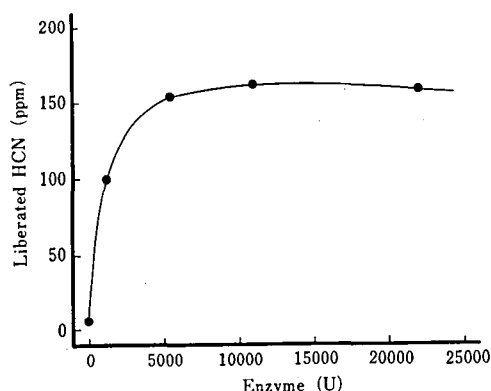


Fig. 1. Liberation of HCN from Bainiku-ekisu by β -glucosidase

Bainiku-ekisu (0.9 g) in citrate buffer (pH 5.8) was mixed gently with β -glucosidase (almond emulsin) and incubated at 25°C for 3 hr.

た。

水蒸気蒸留の速度による回収率の低下を検討するため、二頸フラスコの部分をマントルヒーターで加熱し、勢いよく水蒸気蒸留を行い、3分以内に初留を留出させたところ、回収率は81%に低下した。このことから、シアンが蒸留されていると思われる蒸留の初期において、ある程度水蒸気蒸留の速度に注意する必要がある、蒸留開始後少なくとも8分以後に初留が留出するよう調整した。

2. 酵素量についての検討

梅加工品の中には高濃度のシアン化合物を含むものもあると考えられたので、梅肉エキスをを用い、総シアン測定時の必要酵素量について検討を行った。試料 0.9 g を用いた時の添加酵素量 (U) と総シアン含量の測定値 (ppm) との関係を図 1 に示す。5500 または 11000 U 以上の酵素の添加で測定値が一定になった。また酵素量は 11000 U のままで試料を 0.3 g にした場合にもほぼ同様の値 (165 ppm) が得られた。なお3時間全く振とうしないでインキュベートした場合には、測定値に若干の低下が見られた。

今回用いた検体では試料 0.9 g の時に 5500 または 11000 U の酵素量が必要であったが、さらに高濃度のシアン配糖体を含む検体や、酵素の活性を阻害すると考えられる物質 (たとえばエタノール) を多量含む検体では、添加する酵素量および試料量に十分に注意することが必要であると考えられる。

3. 測定結果

数種の市販されている梅加工健康食品について、総シアン量、遊離シアン量を測定した結果を Table 1 に示した。酵素量はすべて 11000 U を用いた。梅肉エキスの総シアン量において高値が認められた他は、総シアン量、遊離シアン量ともすべて 20 ppm 以下であった。

今回の測定では梅肉エキスを除くすべての検体にお

Table 1. Cyanide content in ume (Japanese apricot) products (ppm as HCN)

	Total	Free
Bainiku	5.9	3.2
Bainiku-ekisu	163	6.0
Umezu	15.9	10.5
Processed ume	13.5	9.0
Processed ume kernel	15.3	8.0
Prune-ekisu(extract)	0.6	0.6

いて、0.6~10 ppm の遊離シアン量が検出された。これが検体中にもともと遊離した形で含まれていたものか、水蒸気蒸留の操作中にシアン配糖体から遊離してきたものかは興味ある問題である。

梅核加工品 (processed ume kernel) では、予想に反し低い総シアン量しか観測されなかった。これは梅が元々もっている酵素によりシアン配糖体が分解したもののか、この製品の加工工程中にシアン配糖体が消失したもののか、不明である。

文 献

- 1) 宇田 裕, 伊藤智子, 冠 政光, 直井家壽太: 衛生化学, 30, 290 (1984)
- 2) 冠 政光, 勝木康隆, 中沢久美子, 二島太一郎: 日本食品衛生学会第49回学術講演会講演要旨集, p. 19 (1985)
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法注解, p. 72 (1980) 金原出版

食品中の残留農薬分析に関する研究 (第40報)
 カナダ領五大湖産輸入ワカサギ中の PCB の残留分析
 関田 寛・佐々木久美子・河村葉子・武田明治・内山 充

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XL)
 PCB (Polychlorinated Biphenyls) Residues in Imported
 Smelt fished from the Canadian Great Lakes

Hiroshi SEKITA, Kumiko SASAKI, Yohko KAWAMURA,
 Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The inspection of PCB (polychlorinated biphenyls) residues in pond smelt samples imported from Canada in June, 1983, fished from Lake Erie, one of the Great Lakes, was performed by gas chromatography with ECD. From the result of the quantification by the method by Kashimoto's, PCB residues in 10 smelt samples tested in this inspection ranged from 0.12 to 0.24 ppm (average: 0.166 ppm).

(Received May 31, 1985)

PCB (polychlorinated biphenyls) は、今や環境汚染物質の代表格として世界的に広範囲に拡散している芳香族有機塩素系化合物の一種であり^{1,2)}、わが国では厚生省がいくつかの食品中の PCB の残留規制値を定めている³⁾。

著者らは昭和58年6月、当時ダイオキシン (ポリ塩化ジベンゾジオキシン) により汚染された魚介類の生息している五大湖の一つであるヒューロン湖に隣接するエリー湖で商業用に捕獲され、カナダから輸入された冷凍ワカサギについて、PCB による汚染の程度を把握する目的で PCB の残留分析を行ったので、その結果について報告する。

試 験 方 法

1. 試 料

昭和58年6月中旬、厚生省食品衛生課 (59年7月に食品保健課に改組改称) および同時期に福岡県衛生部

局より送付されたカナダ領エリー湖産のフライ用輸入冷凍ワカサギ計10検体。

2. 試薬・器具

溶媒のヘキサンおよびエタノールならびに水は残留農薬試験用に適格するものを使用した⁴⁾。

無水硫酸ナトリウム: 和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用。

フロリジル: 同社より購入した Floridin 社製の残留農薬試験用を 130°C で16時間以上加熱活性化して使用した。

その他の試薬は特に指定しないかぎり、市販の特級品を使用した。

ホモジナイザー: (株)日本精機製作所製マルチブレンダーミル。

減圧濃縮器: (株)前田製作所製クデルナ・ダニッシュ型濃縮器。

3. 抽出・精製

厚生省 PCB 分析研究班によって作成された PCB 標準試験法^{4,5)}に従って、アルカリ分解法により抽出および精製を行った。

4. ガスクロマトグラフィーの条件

機種：(株)島津製作所製 GC-4BM 型 (ECD 付き)

にデータ処理装置として同社製のクロマトパック C-R1A 型を接続。

カラム：内径 2.6 mm, 長さ 1.5 m (ガラス製)

充てん剤：2% OV-1 (クロモソルブ W-HP, 100 ~120メッシュ)

カラム温度：220°C

注入口・検出器温度：270°C

キャリアガス・流量：窒素, 25 ml/min

感度：16

注入量：2 μ l

なお、PCB の定量は、楳本らの方法 (数値化法)⁶⁾により行った。

結果および考察

昭和58年6月下旬、当時米国およびカナダにおいてダイオキシン汚染が問題となっていた五大湖の一つであるヒューロン湖に隣接するエリー湖で捕獲され、カナダから輸入された冷凍ワカサギについて、有機塩素系環境汚染物質として世界的に広範囲に拡散している PCB の残留分析を行ったところ、Table 1 に示したような結果が得られた。

今回分析した輸入ワカサギ試料中の PCB の残留量は 0.12~0.24 ppm (平均値：0.166 ppm) の範囲にあり、これらの数値を厚生省が定めた魚介類中の PCB の残留規制値 (内海内湾産魚介類に対して 3 ppm)³⁾と比較すると、1/10 以下の低濃度であった。

なお、別に著者らは同一試料について、ダイオキシン (2,3,7,8- および 1,3,6,8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン) を GC-MS 法により検索したが、ダイオキシンは検出されなかった。

Table 1. PCB residues in the pond smelt samples imported from Canada fished from Lake Erie one of the Great Lakes in 1983

Sample No.	P C B residues (ppm)
1	0.12
2	0.19
3	0.14
4	0.16
5	0.13
6	0.13
7	0.14
8	0.19
9	0.24
10	0.22
Average	0.166

文 献

- 1) 竹下隆三, 武田明治, 土屋悦輝: 環境汚染分析法 (山縣 登, 大喜多敏一・編), 第9巻 (1973) 大日本図書
- 2) 千葉幹雄: PCB 汚染とその分析法. (1978) ラテイス (丸善)
- 3) 昭和47年8月24日環食第442号環境衛生局長通知; 食衛誌, 14, 126 (1973)
- 4) 武田明治: 農薬科学, 2, 129 (1974)
- 5) 厚生省環境衛生局 PCB 分析研究班報告書 (1972年6月) (昭和44年度科学技術庁特別研究調整促進費による成果報告書)
- 6) 鶴川昌弘, 中村彰夫, 楳本 隆: 食衛誌, 14, 415 (1973)

食品中の残留農薬分析に関する研究 (第41報)

フライドポテト用輸入冷凍パレイシヨ中のクロルプロファムの残留分析

関田 寛・佐々木久美子・河村葉子・武田明治・内山 充

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLI)

Chlorpropham (IPC) Residues in Imported Refrigerated Potatoes for French-Frying

Hiroshi SEKITA, Kumiko SASAKI, Yohko KAWAMURA,
Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The inspection of residues of chlorpropham [isopropyl *N*-(3-chlorophenyl)carbamate, IPC], which is used as an antigerminant in stored potatoes after harvesting in U.S.A., but which is permitted only as a herbicide in Japan, was carried on refrigerated potatoes for French-frying imported in June, 1983 from U.S.A. was performed by gas chromatography with NP-FID. IPC in the potato sample tested in this inspection was detected at the low level of 0.20 ppm. Furthermore, IPC residues in this sample decreased about 55% after frying.

(Received May 31, 1985)

クロルプロファム [Chlorpropham, isopropyl *N*-(3-chlorophenyl)carbamate, IPC] はカーバメート系除草剤の一種であるが²⁾, 米国においては除草剤としてのほかに, パレイシヨに対して “post-harvest application” が認められており, 貯蔵パレイシヨの発芽防止剤として広く使用されており, その残留許容量は 50 ppm と定められている²⁾.

一方, わが国の“農薬取締法”においては, IPC は除草剤としてのみ登録されており, 米国のような収穫後適用の規定は見当たらない. また, “食品衛生法”においても, IPC は食品中の残留規制はなされていない.

昭58年3~5月にかけて, 米国から輸入されたフレンチフライドポテト用冷凍パレイシヨ中の IPC 残留の食品衛生上の問題が提起された³⁾のを契機として, 厚生省食品化学課より依頼のあった当該試料における IPC の残留分析の結果について報告する.

試験方法

1. 試料

昭和58年5月下旬に米国から横浜港に輸入され, 同年6月下旬に当所に送付されたフレンチフライドポテト用冷凍パレイシヨ1検体.

2. 試薬・標準品および器具

有機溶媒ならびに水は残留農薬試験用に適格するも

のをを用いた⁴⁾.

無水硫酸ナトリウム: 和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用.

フロリジル: 同社より購入した Floridin 社製の残留農薬試験用を 130°C で16時間以上加熱活性化したものを用いた.

塩化ナトリウム: 市販の試薬特級品.

IPC 標準品: 日本食品分析センターより分与されたもの.

ホモジナイザー: (株)日本精機製作所製マルチブレンダーミル.

減圧濃縮器: (株)前田製作所製クデルナ・ダニッシュ型濃縮器.

3. 抽出・精製

後藤・加藤のテキスト⁵⁾に準じて行った. すなわち, 試料 25 g に2倍量の水を加えてホモジナイズしたものを分液ロートに取り, これにアセトン 50 ml およびヘキサン 75 ml を加えて振とう抽出し, 上層を分取したのち, 下層にヘキサン 75 ml を加えて再び同様の操作を繰り返し, ヘキサン抽出液を合わせたのち, 減圧下溶媒を留去した.

残留物をヘキサン 15 ml に溶解したのち, 常法に従ってアセトニトリルにて液々分配抽出を行ったのち, ヘキサン 100 ml で再抽出を行い, 減圧下 5 ml に濃縮した.

Table 1. Chlorpropham (IPC) residues in the refrigerated potato samples for French-frying imported from U.S.A.

Sample No.	IPC residues (ppm)	Date of import
1	0.20	May 23, 1983
2	N.D.	Dec. 21, 1982
3	0.24	Dec. 8, 1982
4	N.D.	Dec. 12, 1982
5	N.D.	May 11, 1982
6	0.11	June 13, 1982
7	N.D.	Nov. 9, 1982
8	N.D.	Oct. 15, 1982

Analytical data of No. 2 to 8 were referred to the reference in this report.

この濃縮液を湿式で調製したフロリジルカラム (充てん量: 10 g) に注入し, 最初に5%エーテル含有ヘキサン 100 ml で洗浄したのち, 5%アセトン含有ヘキサン 150 ml で溶出される画分を取り, 減圧下 5 ml に濃縮し, これを IPC 試験溶液とした。

加熱処理の方法は, 試料 100 g を取り, 予め 250°C に加熱しておいた食用油 (700 ml) の中に入れ, 3 分間加熱した。これを分析試料として, 前述と同様の操作で抽出および精製を行った。なお, この場合 100 g の試料から 57.4 g の加熱処理試料が得られた。

4. ガスクロマトグラフィーの条件

機種: Hewlett-Packard 社製 5710A 型 (NP-FID 付き) データ処理装置として(株)島津製作所製クロマトバック C-R1A 型を接続。

カラム: 内径 2 mm, 長さ 1.2 m (ガラス製)

充てん剤: 10% DC-200 (クロモソルブ W-HP, 100~120メッシュ)

注入口温度: 250°C

カラム温度: 185°C

検出器温度: 300°C

キャリアガス流量: 30 ml/min

水素ガス流量: 3.4 ml/min

空気ガス流量: 50 ml/min

感度: 8 または 4

注入量: 1 μ l

定量法: 2 点標準・絶対検量線法

結果および考察

昭和58年5月下旬にわが国に輸入され, 当所に送付されたフレンチフライドポテト用冷凍バレイショにつき, NP-FID 付きガスクロマトグラフィーにより IPC の残留分析を行ったところ, 未処理の試料より 0.20 ppm の IPC が検出された。また, この試料を食用油で加熱処理したものでは 0.09 ppm に減少した (減少率約55%)。

なお, Table 1 に他の分析機関における過去の分析データ³⁾を示した。

これらの IPC の残留値を比較すると, 輸入時期が同時期にもかかわらず, フレンチフライドポテト用バレイショからは, 検出されないものから最高 0.24 ppm 検出されたものまで分散していることが認められた。また, 他の残留農薬と同様に皮の部分に IPC の残留値が高いことも認められている³⁾。

今回の分析に供した試料中の IPC の残留量は, 米国で定められているトレランス (残留許容量)²⁾ 50 ppm の 1/250 の数値であった。

わが国においては, 農薬の “post-harvest application” の実用例としては, 貯蔵害虫に対する臭化メチルおよびミバエ類防除のための EDB の2種のくん蒸剤以外には見当たらない。米国では除草剤や殺虫剤などの “post-harvest application” の場合には, その食品がほとんどなまのままでは食用に供しないということで, トレランスが一般に高く設定されているのに対

して、わが国ではそのような適用例がないことから、残留規制値が低く設定されている傾向が見受けられる。このような適用例は IPC の他にもフェニトロチオン、マラチオン、2,4-D などでも見られ、これらはいずれも食品中の農薬残留規制において、日米間で食い違った規制がとられている典型的な例である。

近年 IPC にはマウスに対して発がん性があるとの説もあり³⁾、食品衛生上の見地からも、“post-harvest application” の使用例の多い前記の農薬に対する毒性の評価およびそれらの食品中の残留規制の国際的な合意が望まれる。

終わりに、本試験に当たり、IPC の標準品を分与

していただいた(財)日本食品分析センター理事加藤誠哉氏に感謝致します。

文 献

- 1) 富沢長次郎, 上路雅子: 最新農薬データブック, p. 52 (1982) ソフトサイエンス社
- 2) Code of Federal Regulations 40—Protection of Environment, The National Archives of the United States, 180. 181
- 3) 昭和58年5月20, 21日付日本農業新聞
- 4) 武田明治: 農薬科学, 2, 129 (1974)
- 5) 後藤真康, 加藤誠哉: 残留農薬分析法, p. 245 (1980) ソフトサイエンス社

食品中の残留農薬分析に関する研究 (第42報)

日常食からのエンドスルファン、クロルベンジレート、キャプタンなどの 摂取量調査 (昭和57年度分)

関田 寛・佐々木久美子・河村葉子・武田明治・内山 充

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLII) Surveillance of the Daily Intake of Endosulfan, Chlorobenzilate, Captan and Others from Total Diet in 1982

Hiroshi SEKITA, Kumiko SASAKI, Yohko KAWAMURA,
Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The surveillance of the intake from the usual diets of several kinds of organohalogenic pesticides other than BHC, DDT and cyclodienes, which have already been analyzed up to this time in the total diet study in Japan, was carried out in 1982. Seven pesticides, endosulfan, chlorobenzilate, chloropropylate, bromopropylate, tetradifon, captan and catpafol were extracted from the total diet samples (group VII and VIII) prepared by our laboratory and from samples sent from 9 prefectural laboratories (Miyagi, Niigata, Yamana-shi, Osaka, Nara, Wayakama, Shimane, Ehime and Fukuoka) and 2 municipal laboratories (Yokohama and Nagoya), followed by clean up by Florisil-charcoal column chromatography and finally analyzed by gas chromatography with ECD. None of those pesticides was detected in our latest study. Therefore, the intake of those pesticides from the usual diets in Japan was considered to be negligible.

(Received May 31, 1985)

従来一般に行われている作物中の残留農薬分析は、いわゆる“なま”の状態での分析した例がほとんどであり、実際に我々が摂取する状態に調理したのちに分析した報告は、わが国では厚生省の汚染物質研究班などによるいわゆるトータル・ダイエット・スタディにおける有機塩素系農薬および有機リン系農薬の例が見られる程度である^{1,2)}。

しかるに、米国においては FDA が同様のトータル

ダイエット・スタディを、前記の農薬や PCB 以外にカーバメート系農薬 (カルバリル), 除草剤 (2,4-D), 殺菌剤 (キャプタン), クロルデン類その他各種のクロルフェノール類など広範囲な環境汚染物質を分析対象として、長年に渡って精力的に実施している³⁻²⁰⁾。

著者らは、食品中有毒物質摂取量調査研究の一環として、従来わが国で行われている日常食からの残留農薬摂取量調査における分析対象としている有機塩素系

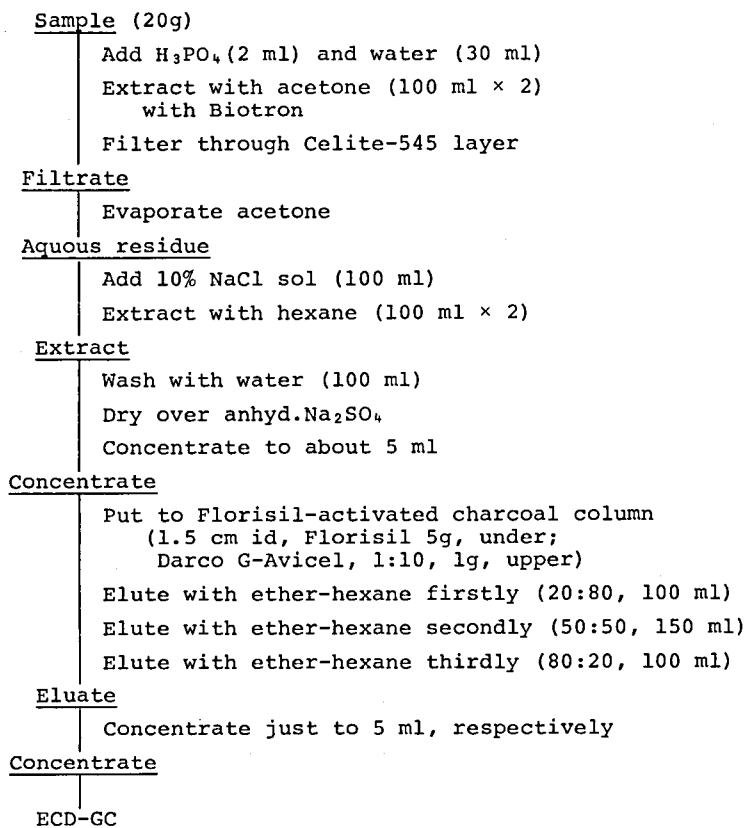


Chart 1. Procedure of extraction and clean-up of organohalogenic pesticides tested in this surveillance

および有機リン系農薬以外の発がん性の疑いのあるものを含めて殺虫剤、殺ダニ剤、殺菌剤など数種の有機ハゲロン含有農薬の摂取量調査を行ったので、その結果について報告する。

試験方法

1. 試料

厚生省汚染物質研究班による“日常食汚染物質摂取量調査実施要項”¹⁾に従って第Ⅶ群および第Ⅷ群の食品群について、著者らの研究室において調製されたものならびに下記の11か所の地方自治体の衛生研究所等において調製されたのち凍結状態にして送付されたもの。

試料提供機関：宮城県保健環境センター、新潟県衛生研究所、山梨県立衛生公害研究所、大阪府立公衆衛生研究所、奈良県衛生研究所、和歌山県衛生研究所、島根県衛生公害研究所、愛媛県衛生研究所、福岡県衛生公害センター、横浜市衛生研究所および名古屋市衛生研究所。

第Ⅶ群：緑黄色野菜を組成とする食品群。

第Ⅷ群：その他の野菜および海藻を組成とする食品群。

2. 試薬・器具

有機溶媒ならびに水は残留農薬試験用に適格するものを使用した²⁾。

無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用。

フロリジル：同社より購入したフロリジン社製の残留農薬試験用を130℃で16時間以上加熱活性化したものを使用した。

活性炭：同社より購入したDarco社製ダルコG-60。セルロース末：フナコシ薬品(株)より購入した旭化成工業(株)製カラムクロマトグラフィー用微結晶セルロース(アビセル)。

なお、活性炭カラムの調製には上記活性炭とアビセルの1:10の混合物を使用した。

そのほかの試薬は特に指定しないかぎり、市販の特級品を使用した。

Table 1. Clution recovery of organohalogenic pesticides from activated charcoal-Florisol column

Pesticide	Addition (µg)	Recovery (%)			Total
		1-st eluate	2-nd eluate	3-rd eluate	
α-Endosulfan	0.5	95.9	0	0	95.9
β-Endosulfan	0.5	0	97.6	0	97.6
Endosulfan sulfate	5.0	0	96.5	2.0	98.5
Chlorobenzilate	10.0	0	98.4	0	98.4
Chloropropylate	10.0	0	94.6	0	94.6
Bromopropylate	4.0	0	95.6	0	95.6
Tetradifon	2.0	0	67.2	26.9	94.1
Captan	5.0	0	94.2	0	94.2
Captafol	20.0	0	66.3	0	66.3

Recovery values of added pesticides are shown as the averages from five experiments.

かく拌抽出器：スイス Biotrona 社製バイオトロン。
減圧濃縮器：佛前田製作所製クデルナ・ダニッシュ
型濃縮器。

3. 抽出・精製

凍結試料を温湯中で融解したのち、著者²²⁻²⁴⁾らの方法を組合せて Chart 1 に示した方法に従って操作した。

なお、本法における分析対象農薬のカラムクロマトグラフィーにおける添加回収率を Table 1 に示した。

4. ガスクロマトグラフィーの条件

機種：GC-4BM 型 (ECD 付き) にデータ処理装置として、クロマトバック C-RIA 型を接続。

カラム：a) 内径 3mm, 長さ 1m, b, c, d) 内径 3mm, 長さ 1.5m (ガラス製)

充てん剤：a) 5% OV-17, b) 2% QF-1, c) 5% XE-60, d) 2% DEGS+0.5%リン酸, 担体はいずれもガスクロム Q (80~100メッシュ)。

カラム温度：a, b, c) 220°C, d) 200°C

注入口・検出器温度：250°C

キャリアガス：N₂, a) 1.2 kg/cm², b, c) 0.80kg/cm², d) 0.60 mg/cm²

感度：8

注入量：2 µl

結果および考察

著者らが昭和57年度に行った日常食からの BHC,

DDT 等の従来行われている有機塩素系農薬以外の有機ハロゲン系農薬 [エンドスルファン (殺虫剤), クロルベンジレート, クロルプロピレート, ブロムプロピレート, テトラジホン (以上殺ダニ剤), キャプタンおよびキャプタホール (以上殺菌剤) の計7農薬] の摂取量調査の結果を Table 2 に示した。

今回行った調査結果からは、分析対象とした7種の農薬はいずれも全く検出されなかった。

元来、キャプタンおよびキャプタホールは分析試料を調製する操作中に分解しやすいことから、それを防ぐために酸性下でホモジナイズするのが常法となっている^{25,26)}。

したがって、もし仮に各群構成試料中にキャプタンあるいはキャプタホールが残留していたとしても、分析操作以前のトータルダイエット試料調製中あるいは凍結保存さらには分析操作のための凍結融解の段階において、両農薬は分解してしまった可能性も考えられる。

このことは検討した各食品群 (第VII群：緑黄色野菜群, 第VIII群：その他の野菜・海藻群) の組成のもととの食品中に分析対象農薬が残留していなかったのか、あるいは分析試料を調製あるいは貯蔵中にそれらの農薬が分解したのか、そのいずれかなのかあるいはその両方なのかは、今回の試験結果からは、厳密に判断することはできなかった。

今後、日常食からのキャプタンおよびキャプタホー

Table 2. Organohalogenic pesticide residues in the total diet samples (food composite: VII and VIII)

Food composite and location	Endosulfan	Chloro-benzilate	Chloro-propylate	Bromo-propylate	Tetradifon	Captan	Captafol
Group VII* ¹							
Miyagi	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Tokyo* ³	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Yokohama	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Niigata	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Yamanashi	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Nagoya	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Ohsaka	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Nara	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Wakayama	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Shimane	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Ehime	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Fukuoka	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Group VIII* ²							
Miyagi	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Tokyo* ³	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Yokohama	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Niigata	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Yamanashi	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Nagoya	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Ohsaka	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Nara	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Wakayama	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Shimane	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Ehime	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Fukuoka	N D	N D	N D	N D	N D	N D	N D
Limit of detection (µg/g)	0.001	0.01	0.01	0.001	0.001	0.002	0.01

N D : not detected

*1 Green vegetables

*2 Vegetables other than green vegetables, and sea weeds

*3 our laboratory

ルを分析する場合には、試料調製後直ちに分析操作を行うことが不可欠であろう。

最近、キャプタンおよびキャプタールにはマウスに対して発がん性があるとの報告が出されているが²⁷⁾、わが国において生鮮果実野菜類中にキャプタンおよびキャプタールが残留していることが見出された例は極めて少なく(昭和49年以降約2千件の検体中検出限

界以上のもの数件程度といわれている)、食品衛生上の問題よりも、むしろこれらの農薬散布などによる農業従事者の職業的暴露による発がんの可能性のほうが問題とされている²⁾。

終わりに、本研究に当たり、分析試料を提供していただいた宮城県保健環境センター、新潟県衛生研究所、山梨県立衛生公害研究所、大阪府立公衆衛生研究所、

奈良県衛生研究所，和歌山県衛生研究所，島根県衛生公害研究所，愛媛県衛生研究所，福岡県衛生公害センター，横浜市衛生研究所ならびに名古屋衛生研究所の関係各位に感謝の意を表します。

なお，本研究は昭和57年度厚生省がん研究助成金により行った。

文 献

- 1) 昭和52年度食品中の各種汚染物質の実態に関する調査研究報告書（厚生科学研究成果報告書）
- 2) 昭和57年度食品中の各種汚染物質の実態に関する調査研究報告書（厚生科学研究成果報告書）
- 3) R. E. Duggan, F. J. Mcfarland: *Pesticide Monitoring Journal*, **1** (1), 1 (1967)
- 4) R. E. Duggan, H. C. Barry, L. Y. Johnson: *Pesticide Monitoring Journal*, **1**(2), 2 (1967)
- 5) R. J. Martin, R. E. Duggan: *Pesticide Monitoring Journal*, **1**(4), 11 (1968)
- 6) P. E. Corneliussen: *Pesticide Monitoring Journal*, **2**, 140 (1969)
- 7) P. E. Corneliussen: *Pesticide Monitoring Journal*, **4**, 89 (1970)
- 8) P. E. Corneliussen: *Pesticide Monitoring Journal*, **5**, 313 (1972)
- 9) D. D. Manske, P. E. Corneliussen: *Pesticide Monitoring Journal*, **8**, 110 (1974)
- 10) D. D. Manske, R. D. Johnson: *Pesticide Monitoring Journal*, **9**, 94 (1975)
- 11) R. D. Johnson, D. D. Manske: *Pesticide Monitoring Journal*, **9**, 157 (1975)
- 12) D. D. Manske, R. D. Johnson: *Pesticide Monitoring Journal*, **10**, 134 (1977)
- 13) R. D. Johnson, D. D. Manske: *Pesticide Monitoring Journal*, **11**, 116 (1977)
- 14) R. D. Johnson, D. D. Manske, D. S. Podrebarac: *Pesticide Monitoring Journal*, **15**, 54 (1981)
- 15) R. D. Johnson, D. D. Manske, H. N. Dallas, D. S. Podrebarac: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **67**, 154 (1984)
- 16) D. S. Podrebarac: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **67**, 176 (1984)
- 17) R. D. Johnson, D. D. Manske, H. N. Dallas, D. S. Podrebarac: *Pesticide Monitoring Journal*, **15**, 39 (1981)
- 18) R. D. Johnson, D. D. Manske, H. N. Dallas, D. S. Podrebarac: *Pesticide Monitoring Journal*, **15**, 54 (1981)
- 19) R. D. Johnson, D. D. Manske, H. N. Dallas, D. S. Podrebarac: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **67**, 145 (1984)
- 20) D. S. Podrebarac: *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, **67**, 166 (1984)
- 21) 武田明治：農薬科学，**2**，128 (1974)
- 22) 福原克治，武田明治，内山 充：食衛誌，**18**，149 (1977)
- 23) 福原克治，武田明治，内山 充：食衛誌，**17**，302 (1976)
- 24) 武田明治，関田 寛，内山 充：食衛誌，**18**，20 (1977)
- 25) 後藤真康，加藤誠哉：残留農薬分析法，p. 193 (1980) ソフトサイエンス社
- 26) 奴田原誠克，山本公昭：農薬誌，**3**，101 (1978)
- 27) 昭和57年度厚生省がん研究報告書

食品中の残留農薬分析に関する研究（第43報）

韓国産輸入玄米中の有機塩素系農薬および有機リン系農薬の残留分析

佐々木久美子・関田 寛・武田明治・斎藤行生

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLIII)

Organochlorine and Organophosphorus Pesticide Residues in Unpolished Rice Grain imported from South Korea

Kumiko SASAKI, Hiroshi SEKITA Mitsuharu TAKEDA and Yukio SAITOH

The inspection of organochlorine and organophosphorus pesticide residues in the unpolished rice grain imported from South Korea between July to November, 1984 was performed by gas chromatography with ECD and FPD, respectively. From the results of the analyses of the total 35 rice grain samples tested in this inspection, pesticide residues of BHC, DDT, aldrin, dieldrin, endrin, diazinon, EPN, fenitrothion, fenthion, malathion, parathion, phenthoate and edifenphos were below detectable levels.

(Received May 31, 1985)

わが国の食品衛生法における穀物・果実・野菜等の農作物中の残留農薬の規制は、現在までに53品目、25種の農薬について設定されている¹⁾。

一方、わが国の食糧供給事情は、代表的な主食である米以外の小麦、トウモロコシ、大豆等の穀物のほとんどを、諸外国からの輸入に頼っている現状である。

しかるに、自給率の高かった米についても、昨年夏ごろに需給が逼迫し、急拠韓国より加工用米として輸入することになり、それに伴って韓国産米中の残留農薬という食品衛生上の懸念が持ち上がった²⁾。

著者らは当該試料についての残留農薬試験のうち、

厚生省が設定した残留基準値のある有機塩素系農薬および有機リン系農薬の分析を担当したので、それらの分析結果について報告する。

試験方法

1. 試料

昭和59年7月下旬から同年11月中旬にかけて厚生省食品保健課検疫所業務管理室を通じて、各輸入港駐在または派遣の食品衛生監視員により採取され、当所に送付された韓国産(1981~1983年産)輸入玄米計35検体。

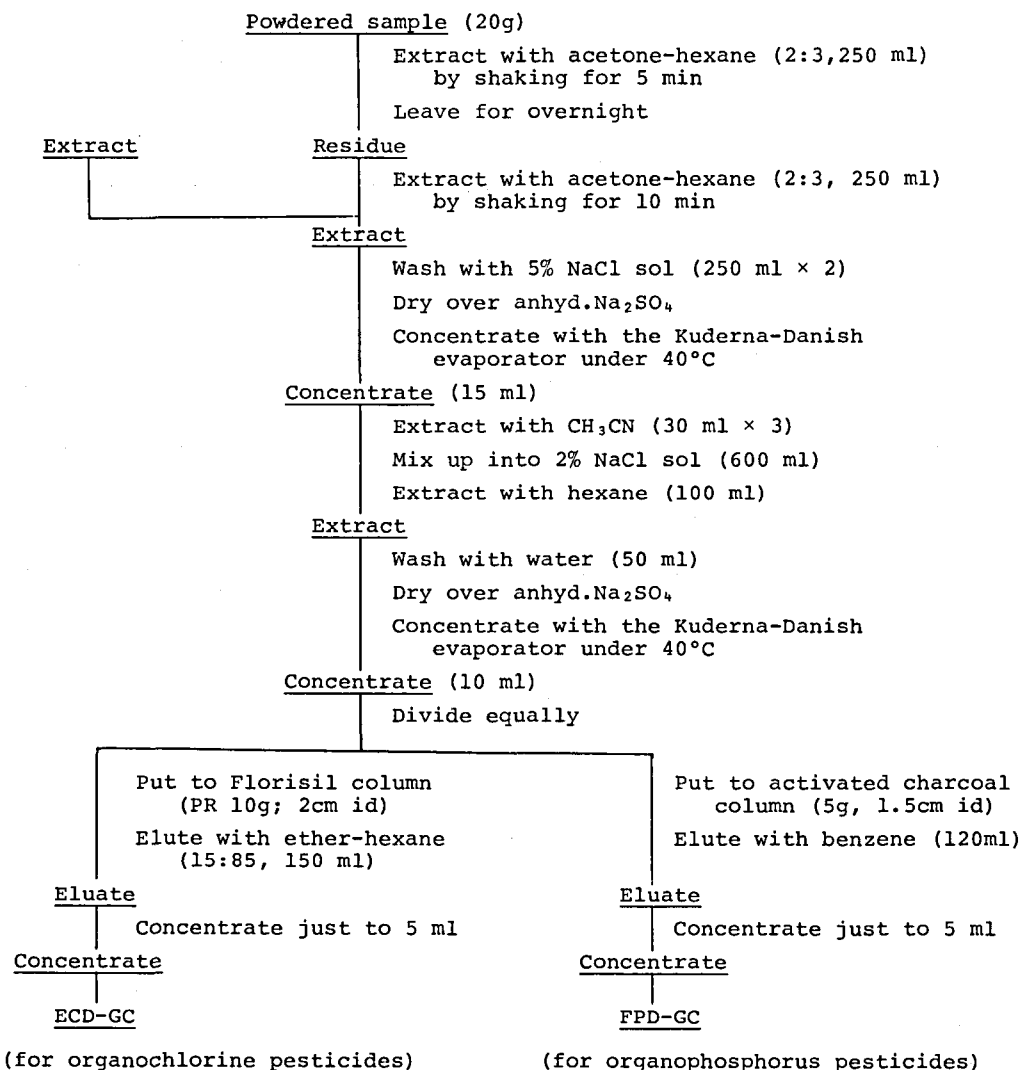


Chart 1. Analytical procedure for organochlorine and organophosphorus pesticide residues in unpolished rice grain samples imported from South Korea in 1984

Table 1. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in the unpolished rice grain imported from South Korea (Republic of Korea) in 1984

Sample No.	Organochlorine pesticide					Organophosphorus pesticide					Region*3 and year of production		
	BHC*1	DDT*2	Aldrin.+ Dieldrin	Endrin	Diazinon	EPN	(MEP) Fenitrothion	(MPP) Fenthion	Mala-thion	Para-thion		(PAP) Phen-thoate	(EDDP) Edifen-phos
1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A 1981
2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	B 1981
3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	C 1981
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	D 1981
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1981
6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1981
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1981
8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A 1982
9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	B 1982
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	C 1982
11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1982
12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	F 1982
13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	D 1983
14	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	D 1981
15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	D 1983
16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, C 1982
17	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1981
18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1982
19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, B 1982
20	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	D 1981
21	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	D 1983
22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, C 1981
23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, C 1982
24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, B 1981
25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, B 1982
26	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, C 1981
27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	F 1981
28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1981, '82
29	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	D 1981, '83
30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, B 1981
31	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1981, '82
32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	D 1981, '83
33	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, C 1981, '82
34	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	A, B 1981, '82
35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	E 1981, '82

Limit of detection

0.005 0.005 0.005 0.005 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 (ppm)

*1: Total of α , β , γ - and δ -BHC *2: Total of p,p' -DDT, DDE and DDD *3: A, 忠清北道 B, 忠清南道 C, 全羅北道 D, 全羅南道 E, 慶尚北道 F, 慶尚南道 ND: not detected

2. 試薬・器具

有機溶媒ならびに水は、いずれも残留農薬試験用に適格するものを用いた^{3,4)}。

無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用。

フロリジル：同社より購入した Floridin 社製残留農薬試験用を 130°C で16時間以上加熱活性化したものを使用した。

活性炭：同社より購入した Darco 社製ダルコ G-60。

セルロース粉末：フナコシ薬品(株)より購入した旭化成(株)製カラムクロマトグラフィー用微結晶セルロース(アピセル)。

塩化ナトリウム：市販の試薬特級品。

粉碎機：(株)日本精機製作所より購入した西独 Retsch 社製 ZM1 型。

減圧濃縮器：(株)前田製作所製クデルナ・ダニッシュ型濃縮器。

3. 抽出・精製

厚生省制定の公定法^{3,4)}に準じて Chart 1 に示した方法で抽出ならびに精製を行った。

4. ガスクロマトグラフィーの条件

a) 有機塩素系農薬の分析条件

機種：(株)島津製作所製 GC-9A 型 (ECD 付き)
にデータ処理装置として同社製クロマトパック C-R2AX 型を接続。

カラム：内径 2.6 mm, 長さ 1.5 m (ガラス製)

充てん剤：5% OV-17 (ガスクロム Q, 80~100 メッシュ)

カラム温度：230°C

注入口・検出器温度：250°C

キャリアガス流量：窒素, 20 ml/min

感度：16

注入量：2 μl

b) 有機リン系農薬の分析条件

機種：(株)島津製作所製 GC-9A 型 (FPD 付き)
にキャピラリーカラム用キャリアガス導入装置 SPL G-9 型およびデータ処理装置として同社製クロマトパック C-R2AX 型を接続。

注入方式：スプリットレス法

カラム：Hewlett-Packard 社製溶融シリカ製キャピラリーカラム, Ultra #2 (5% フェニルメチルシリコン, SE-54 相当) 内径 0.20 mm, 長さ 25 m
カラム昇温条件：初期温度 (時間), 70°C (2 分間),

第1段昇温速度 (到達温度, 保持時間), 30°C/min (190°C, 4 分間); 第2段昇温速度 (最終温度, 保持時間), 7°C/min (295°C, 0 分)

注入口・検出器温度：300°C

付属装置温度：320°C

キャリアガス流量：He, 2.5 kg/cm²

メークアップガス流量：N₂, 40 ml/min

水素ガス流量：55 ml/min

空気ガス流量：45 ml/min

バーン時間：2 分間

感度：16

注入量：1 μl

結果および考察

昭和59年7月中旬から同年11月上旬にかけて韓国から輸入された玄米計35検体について、わが国の食品衛生法において、米(玄米)についての残留規制のある有機塩素系農薬5種、有機リン系農薬8種(未規制の有機リン剤エディフェンホスを含む)の残留分析を行った結果を Table 1 に示した。

今回の韓国産玄米中の残留農薬の試験結果から、分析対象とした5種の有機塩素系農薬は、0.005 ppm の検出限界においていずれの検体からも検出されなかった。また、8種の有機リン系農薬も Table 1 に示したそれぞれの農薬の検出限界において、まったく検出されなかった。

以上の結果から、今回の韓国産玄米中の残留農薬試験において分析対象とした、BHC, DDT, アルドリル、ディルドリンおよびエンドリンの有機塩素系農薬ならびに EPN, エディフェンホス, ダイアジノン, パラチオン, フェニトロチオン, フェンチオン, フェントエートおよびマラチオンの有機リン系農薬については、食品衛生法上なら問題はないと思料された。

終わりに、本調査に当たり、分析に御協力いただいた広島市衛生研究所橋本和久氏に感謝致します。

文 献

- 1) 厚生省食品衛生課乳肉衛生課食品化学課共編：食品衛生関係法規集，第2分冊，p. 8531 (1978); 食衛誌，25, 52 (1985)
- 2) 朝日新聞昭和60年5月29日付，同年8月2日付他
- 3) 武田明治：農薬科学，2, 128 (1974)
- 4) 武田明治：農薬科学，2, 193 (1974)

食品中の残留農薬分析に関する研究（第44報）
市販食肉，乳製品，魚介類および輸入食肉，穀物中のクロルデン類の残留実態

関田 寛・高橋正紀*1・神里興輝*2・佐々木久美子
河村葉子・武田明治・内山 充

Studies on Pesticide Residues in Foods (XLIV)

Surveillance of Chlordane Congeners Residues in Meat, Dairy Products, Fish and Shellfish on the Market and Imported Meat, Grain and Beans

Hiroshi SEKITA, Masanori TAKAHASHI*1, Kohki KAMISATO*2, Kumiko SASAKI,
Yohko KAWAMURA, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The surveillance of chlordane congener residues in various kind of food on the market including imported foods was carried out in the 1983 fiscal year. Five components of main chlordane congeners, *trans*- and *cis*-chlordane, *trans*- and *cis*-nonachlor and oxychlordane, were extracted from about 100 samples of cereals, soy beans, meat, eggs, dairy products, fish and shellfish, followed by cleaning up by Florisil column chromatography and finally, analyzed by gas chromatography with ECD.

As the results, all components of five chlordane congeners were detected at levels of 1.1 to 33.4 ppb (mean: 10.1 ppb) as the total chlordanes in fish and shellfish samples, and some components of chlordane congeners were detected at levels of 0.11 to 1.28 ppb (mean: 0.65 ppb) in imported chicken samples. But chlordane congeners were not detected at all or scarcely detected in other samples.

(Received May 31, 1985)

クロルデンは、現在わが国では無登録となっている有機塩素系殺虫剤の一種であるが、既に環境庁等の環境調査からも水生生物、特に魚介類の汚染が顕著となっている¹⁻³⁾。また、日本人の母乳^{6,7)}や南氷洋のアザラン⁸⁾の体内からもクロルデンが検出されており、クロルデンの環境汚染は、DDT や PCB など他の有機塩素化合物と同様に、全地球レベルでの環境汚染の様相を呈している。

このように、クロルデンの環境汚染が明白であるにもかかわらず、我々の日常摂取している食肉類、魚介類、乳製品、穀物等の上記有機塩素系農薬や PCB が一般的に検出される食品中のクロルデンの汚染の実態はほとんど明らかにはされていない。

厚生省食品衛生課（昭和59年7月1日食品保健課に改組改称）は、昭和58年度より3カ年計画で、各種食品中に含まれる各種有害物質についてそれらの汚染状況を調査すること、さらに、それらの結果を食品衛生分野の専門家からなる評価検討委員会において、当該有害物質の各種毒性等を勘案して、必要に応じてそれらの規格基準の策定等の規制を行うか否かの行政措置

等の科学的な検討を推進することとしている⁹⁾。

本計画の初年度の昭和58年度における調査対象有害物質としては、クロルデン類、有機リン系農薬およびステリグマトシステンの3項目が選定され、当所食品部において各種食品中の汚染実態の調査が行われた⁹⁾。

著者らは上記有害物質のうち、クロルデン類の実態調査を行ったので、その調査結果について報告する。

実験方法

1. 試料

市販品試料の魚介類、牛肉、豚肉、鶏肉、鶏卵、牛乳、バターおよびマーガリンは、昭和58年9月～59年1月にかけて東京都世田谷区用賀近辺のスーパーマーケットで購入した。輸入品試料の小麦、トウモロコシ、そば、大豆、牛肉、豚肉および鶏肉は、昭和58年5～9月に東京港および横浜港に輸入され、各港駐在の厚生省食品衛生監視員により採取され、当所に送付されたもの。

2. 試薬および器具

今回分析対象とした工業用クロルデンの構成成分のクロルデン（トランス体およびシス体）、ノナクロール（トランス体およびシス体）ならびに代謝物のオキ

*1：(財)日本銜詰検査協会横浜検査所

*2：(財)沖縄県環境科学検査センター

シクロルデンのガスクロマトグラフィー用標品は、Velsicol Pacific 社より分与されたものを使用した。

有機溶媒のヘキサン、アセトン、エーテルおよびアセトニトルならびに水は、残留農薬試験用に適格するものを使用した¹⁰⁾。

無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用を使用した。

フロリジル：同社より購入した Floridin 社製の残留農薬試験用を 130°C で 16 時間以上活性化したものを使用した。

他の試薬は特に指定しないかぎり、市販の特級品を使用した。

粉碎機：日本精機(株)より購入した西独 Retsch 社製 ZM 1 型。

かく拌抽出器：スイス Biotrona 社製バイオトロン減圧ろ過器：(有)桐山製作所製 SU-60 型。

減圧濃縮器：(株)前田製作所製クデルナ・ダニッシュ型濃縮器。

3. 抽出・精製

i) 抽出

a) 食肉類・魚介類

細切した可食部 20 g をバイオトロンに取り、アセトン・ヘキサン混液 (1:2, 100 ml) を加えてかく拌抽出し、懸濁液を減圧ろ過し、残留物を少量のアセトンで洗浄し、洗液をろ液に合したのち、ろ液に 5% 塩化ナトリウム溶液 50 ml を加えて洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水したのち、減圧下約 5 ml に濃縮した。

b) 穀類・豆類

粉碎した試料 20 g を分液漏斗に取り、これをアセトン・ヘキサン混液 (1:2, 100 ml) で振とう抽出した。内容物を減圧ろ過し、残留物を少量のアセトンで洗浄し、洗液をろ液に合したのち、ろ液を減圧下約 5 ml に濃縮した。

c) 鶏卵、牛乳、バターおよびマーガリン

鶏卵は殻を除去し、十分に攪拌混和したのち、また、牛乳は開封してそのまま 20 g を取り、バターおよびマーガリンは 2~3 g を取って、残留農薬試験法¹¹⁾の常法に従って抽出した。

ii) アセトニトリル分配

前項 a~c で得られた濃縮液を 100 ml の分液漏斗にヘキサンで洗い込みながら 15 ml とし、これをヘキサン飽和のアセトニトリル 30 ml ずつで 3 回抽出した。各抽出液をあらかじめ 5% 塩化ナトリウム溶液 300 ml の入れてある分液漏斗に混和したのち、新たにヘキサン 100 ml を加えて振とう抽出した。抽出液を脱水後、減圧下約 5 ml に濃縮した。

iii) フロリジルカラムクロマトグラフィー

前項で得られた濃縮液全量を、湿式で充てんして調製したフロリジルカラム (内径 2 cm, 充てん量 20 g) に注入し、最初ヘキサン 100 ml で溶出して PCB 画分を除去し、さらにヘキサン 100 ml で溶出してトランス-ノナクロール画分を溶出し、最後にエーテル・ヘキサン (6:94) 混液 150 ml で溶出してその他のクロルデン類画分を得た。

各溶出液をそれぞれ減圧下 5 ml に濃縮したものをガスクロマトグラフィー用試験溶液とした。

4. ガスクロマトグラフィーの条件¹²⁾

機種：(株)島津製作所製 GC-9A 型にクロマトグラフ用データ処理装置として同社製クロマトパック C-R2A 型を接続したもの。

検出器：ECD (⁶³Ni)

カラム：1, 2) 内径 2.6 mm, 長さ 2 m, 3) 内径 3 mm, 長さ 1.5 m (いずれもガラス製)

充てん剤：2% OV-17, 2) 3% OV-210 (担体はいずれもクロモソルブ W-HP, 100~120メッシュ), 3) 5% XE-60 (担体はガスクロム Q, 80~100メッシュ)

カラム温度：1) 210°C, 2) 165~170°C, 3) 163~165°C

注入口・検出器温度：250°C

キャリアガス流量：高純度窒素, 1) 20~30 ml/min, 2) 50~70 ml/min, 3) 40~70 ml/min

注入量：2 μl

定量法：2点標準・絶対検量線法

なお、各クロルデン類の残留値は、上記 3 種のカラムのいずれからも定性されたものについて、それぞれのカラムで得られた測定値の平均値を算出して充てた。

結果および考察

各種の市販および輸入食品 (食肉、鶏卵、乳製品、魚介類、穀物) 中のクロルデン類の汚染の実態を把握することを目的として、ECD 付きガスクロマトグラフィーにより分析したところ、Table 1 および Table 2 に掲げたような結果が得られた。

今回の調査結果を概略的に述べると、環境庁等の調査結果と同様に、魚介類ではほとんど全例にクロルデン類の各成分の汚染が認められ、その程度は総クロルデン (トランスおよびシス-クロルデン、トランスおよびシス-ノナクロールならびにオキシクロルデンの 5 成分の残留量の総和) として最高で 20~30 ppb のレベルであった。この汚染レベルは、PCB のそれと比較すると、約 1/10 程度の低いものであった。

Table 1. Chlordane congener residues in various foods on the market

Sample	Purchase date	<i>trans</i> -Chlordane	<i>cis</i> -Chlordane	Oxychlordane	<i>trans</i> -Nonachlor	<i>cis</i> -Nonachlor	Total Chordanes
Fish							
Horse mackerel	Oct. 4, '83	3.01	6.28	1.67	5.02	2.31	18.29
Horse mackerel	Nov. 9, '83	3.35	3.53	0.78	4.86	1.48	14.00
Ishimochi	Oct. 4, '83	4.43	7.28	6.74	10.03	4.92	33.40
Ishimochi	Nov. 9, '83	0.44	0.59	0.18	0.17	0.13	1.51
Sweetfish	Oct. 4, '83	2.00	2.84	0.40	2.35	0.57	8.16
Plaice	Nov. 9, '83	0.26	0.33	0.20	0.23	0.10	1.12
Rainbow trout	Oct. 4, '83	0.63	1.34	0.40	1.26	0.36	4.49
Rainbow trout	Nov. 9, '83	1.06	1.66	0.35	1.31	0.40	5.28
Pond smelt	Oct. 4, '83	2.08	3.30	0.73	2.04	0.98	9.23
Pond smelt	Nov. 9, '83	1.70	2.16	0.41	1.97	0.49	6.73
Average		1.60	2.93	1.19	2.92	1.17	10.11
Shellfish							
Short-necked clam	Dec. 6, '83	0.41	0.61	ND	0.48	0.21	1.71
Short-necked clam	Jan. 22, '84	0.44	0.67	ND	ND	0.42	1.53
Corbicula	Dec. 6, '83	8.29	8.26	0.50	10.73	3.30	31.08
Corbicula	Jan. 22, '84	1.31	0.85	2.05	0.70	0.57	5.58
Oyster	Dec. 6, '83	0.45	0.65	ND	0.44	0.35	1.94
Oyster	Jan. 22, '84	0.83	1.01	0.22	0.80	0.54	3.40
Average		1.96	2.01	0.46	2.09	0.90	7.43
Beef							
1	Sept. 30, '83	ND	ND	ND	0.34	ND	0.34
2	Nov. 4, '83	ND	ND	0.20	0.13	ND	0.33
3	Nov. 24, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	Dec. 6, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Jan. 20, '84	0.21	0.57	0.27	0.17	ND	1.22
Average		0.04	0.11	0.09	0.13	ND	0.37
Pork							
1	Sept. 30, '83	ND	ND	ND	0.19	ND	0.19
2	Nov. 4, '83	ND	ND	0.20	0.14	ND	0.34
3	Nov. 24, '83	ND	ND	0.14	ND	ND	0.14
4	Dec. 6, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Jan. 20, '84	0.18	0.30	0.16	0.21	ND	0.85
Average		0.04	0.06	0.10	0.11	ND	0.31
Chicken							
1	Sept. 30, '83	0.11	ND	ND	0.21	ND	0.32
2	Nov. 4, '83	0.17	ND	ND	ND	ND	0.17
3	Nov. 24, '83	ND	ND	0.15	ND	ND	0.15
4	Dec. 6, '83	0.33	ND	ND	ND	ND	0.33
5	Jan. 20, '84	ND	ND	0.12	0.39	ND	0.51
Average		0.12	ND	0.05	0.12	ND	0.29
Egg							
1	Sept. 30, '83	0.14	ND	ND	0.29	ND	0.43
2	Nov. 4, '83	ND	ND	ND	0.08	ND	0.08
3	Nov. 24, '83	0.24	ND	ND	ND	ND	0.24
Average		0.13	ND	ND	0.12	ND	0.25

Table 1. (continued)

Sample	Purchase date	<i>trans</i> -Chlordane	<i>cis</i> -Chlordane	Oxychlordane	<i>trans</i> -Nonachlor	<i>cis</i> -Nonachlor	Total Chordanes
Milk							
1	Sept. 25, '83	0.12	ND	0.39	ND	ND	0.51
2	Nov. 4, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	Nov. 24, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Average		0.04	ND	0.13	ND	ND	0.17
Butter							
1	Sept. 30, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	Nov. 24, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Margarin							
1	Sept. 30, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	Nov. 24, '83	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND: not detected (<0.1 ppb)

Each value of chlordane congener residues (ppb on whole sample basis) is shown as the average of gas chromatographic data from three columns of 2% OV-17, 3% OV-225 and 5% X E-60.

Table 2. Chlordane congener residues in various imported foods

Sample	Import date	Export country	<i>trans</i> -Chlordane	<i>cis</i> -Chlordane	Oxychlordane	<i>trans</i> -Nonachlor	<i>cis</i> -Nonachlor	Total Chordanes
Wheat								
1	Aug. 22, '83	Australia	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	Aug. 21, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	July 14, '83	Australia	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	Aug. 4, '83	U.S.A.	0.35	0.29	ND	ND	ND	0.64
5	Aug. 20, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	Sept. 16, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	Sept. 16, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	—	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	Aug. 29, '83	U.S.A.	1.12	1.06	0.15	ND	ND	2.33
10	Sept. 5, '83	U.S.A.	0.55	0.45	ND	ND	ND	1.00
Average			0.20	0.18	0.02	ND	ND	0.40
Corn (Maize)								
1	July 28, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	July 26, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	June 25, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	Aug. 17, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	Sept. 1, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	Aug. 31, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	Sept. 8, '83	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Buckwheat								
1	June 10, '83	China	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	—	China	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	Aug. 28, '83	China	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Table 2. (continued)

Sample	Import date	Export country	<i>trans</i> -Chlordane	<i>cis</i> -Chlordane	Oxychlordane	<i>trans</i> -Nonachlor	<i>cis</i> -Nonachlor	Total Chordanes
Soy beans								
1	July 2, '83	Canada	3.46	0.87	ND	ND	ND	4.33
2	Aug. 22, '83	U.S.A.	0.52	0.44	ND	ND	ND	0.96
3	Sept. 10, '83	China	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	Aug. 31, '83	China	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	—	China	0.28	0.30	ND	ND	ND	0.58
6	June 29, '83	U.S.A.	0.51	0.21	ND	ND	ND	0.72
7	Aug. 15, '83	U.S.A.	0.44	0.43	ND	ND	ND	0.87
8	July 15, '83	U.S.A.	0.36	0.31	0.21	ND	ND	0.88
9	Aug. 19, '83	China	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	Aug. 15, '83	Canada	0.36	0.30	ND	ND	ND	0.66
Average			0.59	0.29	0.02	ND	ND	0.90
Beef								
1	—	Australia	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	—	Australia	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	—	Australia	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	—	U.S.A.	ND	ND	0.34	ND	ND	0.34
5	—	New Zealand	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	—	U.S.A.	ND	ND	0.80	ND	ND	0.80
7	—	U.S.A.	ND	ND	0.55	ND	ND	0.55
8	—	U.S.A.	ND	ND	0.59	ND	ND	0.59
9	—	U.S.A.	ND	ND	1.57	ND	ND	1.57
10	—	U.S.A.	ND	ND	0.58	ND	ND	0.58
Average			ND	ND	0.44	ND	ND	0.44
Pork								
1	—	Taiwan	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	—	U.S.A.	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	—	Canada	ND	ND	0.19	ND	ND	0.19
4	—	Ireland	ND	ND	0.23	ND	ND	0.23
5	—	Sweden	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	—	New Zealand	ND	ND	ND	0.11	ND	0.11
7	—	Canada	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	—	Canada	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	—	U.S.A.	ND	ND	0.49	0.29	ND	0.78
10	—	Ireland	0.27	ND	ND	0.31	ND	0.58
Average			0.04	ND	0.10	0.07	ND	0.21
Chicken								
1	—	Thailand	0.28	0.19	0.15	0.34	ND	0.96
2	—	U.S.A.	0.11	0.19	ND	0.18	ND	0.48
3	—	Brazil	0.24	0.15	ND	ND	ND	0.39
4	—	Hungary	0.12	0.18	ND	0.13	ND	0.43
5	—	China	0.24	0.11	ND	0.14	ND	0.49
6	—	China	ND	0.31	0.25	0.65	0.12	1.28
7	—	China	ND	ND	ND	0.11	ND	0.11
8	—	U.S.A.	0.20	0.31	ND	0.11	ND	0.62
9	—	U.S.A.	0.17	0.39	ND	0.13	ND	0.69
10	—	U.S.A.	0.13	0.36	ND	0.32	0.14	0.95
Average			0.15	0.22	0.04	0.21	0.03	0.65

See Table 1 footnote

他の食品中においては、輸入の鶏肉においてクロルデン類の検出率が高かったことが注目されたものの、クロルデン類の汚染程度は全般的に極めて低く、検出されない成分も多く、総クロルデン類としてもせいぜい数 ppb のレベルであり、今回分析したバター、マーガリン、輸入トウモロコシ粒（メイズ）および輸入のソバからは、今回検討したクロルデン類5成分は、いずれも全く検出されなかった。

なお、今回の各種食品中のクロルデン類の残留実態調査の結果についての評価検討委員会の結論としては、FAO/WHO により評価されたクロルデンのヒトに対する暫定一日摂取許容量 0.001 mg/kg/day から算出された日本人の一日摂取許容量 50 µg/day を前提とした場合、クロルデンのヒトの健康に及ぼす影響については、現状の汚染程度では問題がないとしている⁹⁾。

今回のクロルデン類の残留分析法としてのガスクロマトグラフィーには、従来利用されている充填カラムを用いたために、調査対象としたクロルデン類の定性・定量に長時間を要した。現在では多成分分析法に有効な分離能の極めて優れたキャピラリーカラムが実用化されていることから、今後これを装着したいいわゆる高分解能ガスクロマトグラフィーさらにはキャピラリーカラムを用いた高分解能ガスクロマトグラフィー・質量分析法がクロルデン類その他の環境汚染物質の残留分析法として日常的業務にも応用されることが期待される。

終わりに、本調査研究に当たり、クロルデン類の分析に御協力いただいた佐賀県衛生研究所松本高次氏に感謝致します。また、クロルデン類分析用輸入食品検体の採取等に御協力いただいた東京検疫所および横浜

検疫所駐在の厚生省食品衛生監視員諸氏、ならびにクロルデン類のガスクロマトグラフィー用標品を分与していただいたヴェルシコール・パシフィック社に謝意を表します。

本調査研究は、昭和58年度厚生省食品衛生課食品汚染有害物質調査に係る委託研究費により行った。

文 献

- 1) 環境庁環境保健部保健調査室レポートシリーズ No. 9, 昭和58年版ケミカルアセスメントアニュアルレポート“化学物質と環境”
- 2) T. Miyazaki, K. Akiyama, S. Horii, T. Yamagishi, S. Kaneko: *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **25**, 305 (1980)
- 3) 山岸達典, 宮崎奉之, 秋山和幸, 金子誠二, 堀井昭三: *食衛誌*, **22**, 270 (1981)
- 4) 大城善昇: 沖縄県衛生公害研究所報, No. 14, 1 (1981)
- 5) 堀内遼一, 串間奉文, 本田喜善, 斎藤和洋: 宮崎県衛生研究所報, No. **25**, 29 (1984)
- 6) T. Miyazaki, K. Akiyama, S. Kaneko, S. Horii: *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **25**, 518 (1980)
- 7) 酒井 洋, 高井 透, 郷 周一, 石月要一: 第19回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p. 38 (1982年9月, 京都市)
- 8) M. Kawano, T. Inoue, H. Hidaka, R. Tatsukawa: *Chemosphere*, **13**, 95 (1984)
- 9) 厚生省環境衛生局食品衛生課昭和58年度食品汚染有害物質調査報告書
- 10) 武田明治: *農薬科学*, **2**, 129 (1974)
- 11) 竹下隆三, 武田明治, 土屋悦輝: 環境汚染分析法(山縣 登, 大喜多敏一編), 第9巻, p. 36 (1973) 大日本図書
- 12) 蛭川みづ子: クロルデンの多成分残留分析法(昭和59年度昭和大学薬学部卒業実習論文)

食品中の残留農薬分析に関する研究（第45報）
日常食からのクロルデン類の摂取量調査（昭和58年度分）

関田 寛・武田明治・内山 充

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLV)
Surveillance of Daily Intake of Chlordane Congeners from Total Diet in 1983

Hiroshi SEKITA, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The surveillance on the daily intake of chlordane congeners from the usual diet was performed by total diet study in 1983. Five components of the main chlordane congeners, *trans*- and *cis*-chlordane, *trans*- and *cis*-nonachlor and oxychlordane, in the extracts of the total diet samples of group V (soy beans, etc.), group X (fish and shellfish) and group XI (meat and eggs) which had been sent from 5 prefectural laboratories (Miyagi, Chiba, Yamanashi, Shimane and Fukuoka) and one municipal laboratory (Nagoya) were analyzed by gas chromatography with ECD. As the result the intake of total chlordane congeners in adult Japanese was found to be an average of 0.6 $\mu\text{g}/\text{day}$ in the total diet samples collected from 6 districts in Japan in 1983.

(Received May 31, 1985)

クロルデンはわが国では現在無登録農薬となっている有機塩素系殺虫剤の一種であるが¹⁾、近年木材、木造建造物などのシロアリ駆除剤として広範囲に使用されており、その年間使用量は1000トン以上といわれている²⁾。

一方、わが国におけるクロルデンの環境汚染および人体汚染の状況については、既にいくつかの報告があるが³⁻⁶⁾、実際に我々が日常摂取している食品中のクロルデン残留の実態は明らかではない。

著者らは、厚生省汚染物質研究班による昭和58年度の“日常食中汚染物質摂取量調査”⁷⁾において、数機関からの分析試料についてクロルデン類の分析を担当したので、その結果について報告する。

試 験 方 法

1. 分析試料

昭和58年度後半に下記の6カ所の地方自治体の衛生研究所等より送付された“日常食中汚染物質摂取量調査”のために調製された日常食試料（後述の3群）より有機塩素系農薬の分析法に従って抽出されたものの濃縮液、またはその溶媒を留去したあとの残留物。

試料提供機関：宮城県保健環境センター、千葉県衛生研究所、山梨県立衛生公害研究所、鳥根県衛生公害研究所、福岡県衛生公害センターおよび名古屋市衛生研究所。

第V群：豆類およびそれらの加工品を組成とする食品群

第X群：魚介類を組成とする食品群

第XI群：食肉類・卵類を組成とする食品群

2. 試薬・器具

ガスクロマトグラフィー用のクロルデン類の標品は、Velsicol Pacific 社より分与を受けた。

有機溶媒ならびに水は残留農薬試験用に適格するものを使用した⁸⁾。

無水硫酸ナトリウム：和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用。

フロリジル：同社より購入した Floridin 社製の残留農薬試験用に130°Cで16時間以上加熱活性化したものをを使用した。

減圧濃縮器：(株)前田製作所製クデルナ・ダニッシュ型濃縮器。

3. クリーンアップ

前法⁹⁾に従って操作してトランス-ノナクロール画分および他のクロルデン類画分のガスクロマトグラフィー用試験溶液を得た。

4. ガスクロマトグラフィーの条件

機 種：(株)島津製作所製 GC-9A 型 (ECD 付き)

データ処理装置として、同社製のクロマトバック C-R2AX 型を接続。

カラム：a, b) 内径 2.6 mm, 長さ 2 m; c) 内径 3

Table 1. Daily intake of chlordane congeners from total diet samples in 1983

Location	Food composite group*	<i>trans</i> -Chlordane	<i>cis</i> -Chlordane	Oxychlordane	<i>trans</i> -Nonachlor	<i>cis</i> -Nonachlor	Total Chlordane
Miyagi	V	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	X	0.095	0.229	0.067	0.248	0.095	0.734
	XI	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Total	0.095	0.229	0.067	0.248	0.095	0.73
Chiba	V	0.007	0.006	ND	0.003	ND	0.016
	X	0.105	0.239	0.041	0.293	0.093	0.771
	XI	ND	ND	0.017	0.020	ND	0.037
	Total	0.112	0.245	0.058	0.316	0.093	0.82
Yamanashi	V	0.019	0.014	ND	ND	ND	0.033
	X	0.073	0.177	0.036	0.182	0.073	0.541
	XI	ND	ND	0.032	ND	ND	0.032
	Total	0.092	0.191	0.068	0.182	0.073	0.61
Nagoya	V	0.008	0.005	0.004	0.004	ND	0.021
	X	0.062	0.123	0.031	0.153	0.051	0.420
	XI	0.006	0.015	0.021	0.041	0.009	0.092
	Total	0.076	0.143	0.056	0.198	0.060	0.53
Shimane	V	0.080	0.080	ND	ND	ND	0.160
	X	0.200	0.167	ND	0.167	ND	0.534
	XI	0.107	0.107	ND	ND	ND	0.214
	Total	0.387	0.354	ND	0.167	ND	0.91
Fukuoka	V	0.015	0.015	ND	0.004	ND	0.034
	X	0.026	0.042	ND	0.058	ND	0.126
	XI	ND	0.038	ND	0.050	ND	0.088
	Total	0.041	0.095	ND	0.112	ND	0.248
Average	V	0.022	0.020	0.001	0.002	ND	0.045
	X	0.094	0.163	0.029	0.184	ND	0.470
	XI	0.019	0.027	0.012	0.019	ND	0.077
	Total	0.135	0.210	0.042	0.205	ND	0.59

* Group V: soy beans Group X: fish and shellfish Group XI: meat and egg

ND: not detected (<0.1 ppb)

Each value ($\mu\text{g}/\text{day}$) is calculated from the average of analytical values of three columns of 2% OV-17, 3% OV-210 and 5% XE-60 in gas chromatography.

mm, 長さ 1.5 m; (ガラス製)

充てん剤: a) 2% OV-17, b) 3% OV-210, c) 5% XE-60.

担体: a, b) クロモソルブ W-HP, 100~120
メッシュ; c) ガスクロム Q, 80~100 メッシュ.
カラム温度: a) 210°C; b) 165~170°C; c) 163~165°C

注入口・検出器温度: 250°C

キャリアガス流量: N_2 , a) 20~30 ml/min; b) 50~70 ml/min, c) 40~70 ml/min.

感度: 8

注入量: 2 μl

検量線作成法: 2点標準・絶対検量線法

なお、各クロルデン類成分の分析値は、上記3種の充てん剤のカラムにおける各々の測定値の平均値を充てた。

結果および考察

今回“日常食中食品汚染物摂取量調査”の一環として昭和58年度に行った地方自治体の分析機関6カ所から送付されたトータル・ダイエツト方式による第V群、第X群および第XI群の食品群試料からの抽出物中のクロルデン類の分析結果を Table 1 に示した。

今回検討した食品群3群に関しては、トランスおよびシス-クロルデンならびにトランス-ノナクロールが第V群および第X群のほとんどの検体から検出されたが、オキソクロルデンとシス-ノナクロールは、第V群からはほとんどあるいはまったく検出されず、特にシス-ノナクロールの検出率は他のクロルデン類に比べて極めて低かった。

なお、今回の調査から算出された成人のクロルデン類（トランス-, シス-クロルデン, トランス-, シス-ノナクロールの合計値）の平均1日摂取量は約0.6 μ gであった。この数値を他の有機塩素系農薬等の1日摂取量と単純に比較した場合、総BHC, 総DDTおよびPCBなどよりは格段に低く、ディルドリンの数値にほぼ匹敵していた。

今回のような各機関で抽出を行い、最後の定量を1カ所の機関で行う場合の問題点としては、途中までの抽出操作における回収率には有意差がないものとみなしても、最初の分析試料の調製量（日数分）ならびに実際に分析に供した試料採取量に大きな開きがある場合には、最後の定量の際の定量限界に機関ごとに大きな差が生じ、統計処理に大きな誤差を生ずる原因となって表われることになる。

したがって、このような調査においては、調査項目ごとに1機関がまとめて分析するか、または分析精度管理を行ってから各機関が分析するのが統計的に比較し得る結果を得る良好な方策であろう。

終わりに、本研究に当たり、分析試料を提供された宮城県保健環境センター、千葉県衛生研究所、山梨県立衛生公害研究所、島根県衛生公害研究所、福岡県衛生公害センターならびに名古屋市衛生研究所の関係各位に謝意を表します。また、クロルデン類の標品を分与していただいたヴェルソコール・パンフィック社に謝意を表します。

文 献

- 1) 富沢長次郎, 上路雅子: 最新農薬データブック, p. 40 (1982) ソフトサイエンス社
- 2) 厚生省食品衛生課昭和58年度食品汚染有害物質調査報告書
- 3) M. Miyazaki, K. Akiyama, S. Kaneko, S. Horii, T. Yamagishi: *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **25**, 518 (1980)
- 4) 大城善昇: 沖縄県公害衛生研究所報, **14**, 1 (1980)
- 5) 酒井 洋, 高井 透, 郷 周一, 石月要平: 第19回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p. 38 (1982年9月, 京都市)
- 6) 環境庁保健調査部保健調査室レポートシリーズ No. 9, 昭和58年版ケミカルアセスメントアニュアルレポート“化学物質と環境”
- 7) 昭和58年度食品中の各種汚染物の実態に関する調査研究報告書(厚生科学研究成果報告書)
- 8) 武田明治: 農薬科学, **2**, 129 (1974)
- 9) 関田 寛, 高橋正紀, 神里興輝, 佐々木久美子, 河村葉子, 武田明治, 内山 充: 衛生試報, **103**, 137 (1985)

食品中の残留農薬分析に関する研究 (第46報)
GC-MS による淡水魚中に残留するクロルデン類の確認

関田 寛・福原克治*1・武田明治・内山 充

Studies on the Analysis of Pesticide Residues in Foods (XLVI)
Confirmation of Chlordane Congeners in Freshwater Fish by
Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Hiroshi SEKITA, Katsuharu FUKUHARA*1, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA

The confirmation of chlordane congeners which had been detected at high levels in eel and sweetfish samples collected in the rivers in Miyazaki prefecture in 1983 was performed by gas chromatography-mass spectrometry. From the result of EI-SIM mass fragmentography (m/z : 373, 375, 387, 389, 407 and 409) of the chlordane fractions of the extracts of those freshwater fish samples, the presence of all five chlordane congeners, *trans*- and *cis*-chlordane, *trans*- and *cis*-nonachlor and oxychlordane were confirmed.

(Received May 31, 1985)

前報^{1,2)}でも述べたように、クロルデンはわが国では現在では無登録農薬となっている有機塩素系殺虫剤の一種であるが、近年木材、木造住宅などのシロアリ駆除用にディルドリンの代替品として多量に使用されており、クロルデンによる環境汚染、食品汚染さらには人体汚染が懸念されている。

クロルデンの工業用原体の組成は主成分のクロルデン (トランス体およびシス体) が約45%のほか、ノナクロール (トランス体およびシス体) が10%弱、ヘブタクロールが約7%、その他確認されているものだけでも、50種類程の成分からなっている³⁾。

わが国におけるクロルデンの環境汚染や食品汚染の状況については、前報^{1,2)}でも述べたように、既にいくつかの報告があるが⁴⁻⁶⁾、魚介類等の環境試料からは濃度の高低は別にしても、通常前述のクロルデンおよびノナクロールの他に、クロルデンの生体内代謝産物であるオキシクロルデンを含めて、多種類のクロルデン同族体 (クロルデン類) が検出されている。

今回通常検出されている海水産の魚介類よりも比較的高濃度のクロルデン類が検出された宮崎県内の河川より採取されたウナギおよびアユ⁶⁾からの抽出液のクロルデン分画について、ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS) によるクロルデン類の確認を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料

昭和58年12月に宮崎県衛生研究所より送付されたウナギおよびアユ検体由来のクロルデン類分析用のガスクロマトグラフィー試験溶液。

2. 試薬

GC-MSの標品として用いたクロルデン (トランス体およびシス体)、ノナクロール (トランス体およびシス体) およびオキシクロルデンは、Versicol Pacific社より分与を受けた。

ヘキサシラン: 和光純薬工業(株)の残留農薬試験用。

3. GC-MSの条件

機種: 備島津製作所製 LKB-9000B 型

カラム: 内径 3 mm, 長さ 2 m, (ガラス製)

充てん剤: 3% OV-210 (ガスクロム Q, 80~100メッシュ)

注入口温度: 200°C

カラム温度: 160°C

セパレーター温度: 260°C

イオン源温度: 290°C

キャリアガス流量: He, 20 ml/min

印加電圧: 3.5 kV

イオン化電圧: 70 eV

トラップ電流: 60 μ A

スキャン速度: 7 秒

*1: (財)食品薬品安全センター・秦野研究所

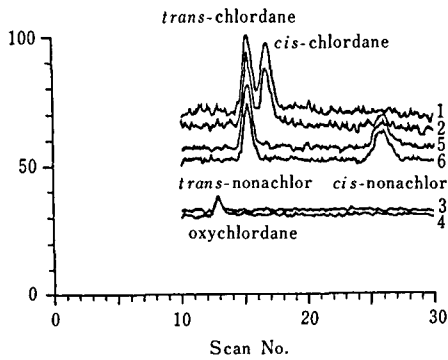


Fig. 1. Mass fragmentgrams of standard chlordane congener samples

1: m/z 373, 2: m/z 375, 3: m/z 387, 4: m/z 389, 5: m/z 407, 6: m/z 409

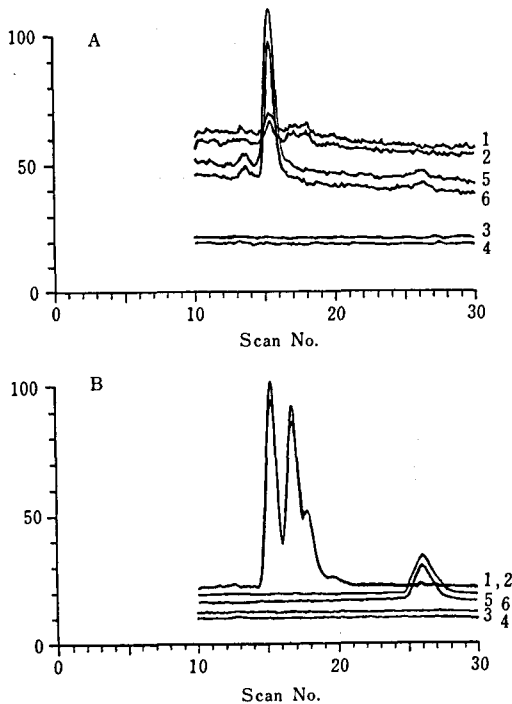


Fig. 2. Mass fragmentgrams of sweetfish extract

A: *trans*-nonachlor fraction
B: other chlordane fraction
1~6: See Fig. 1.

結果および考察

工業用クロルデンの主成分であるクロルデン（トランス体およびシス体）、ノナクロール（トランス体およびシス体）およびクロルデンの主要な生体内代謝産

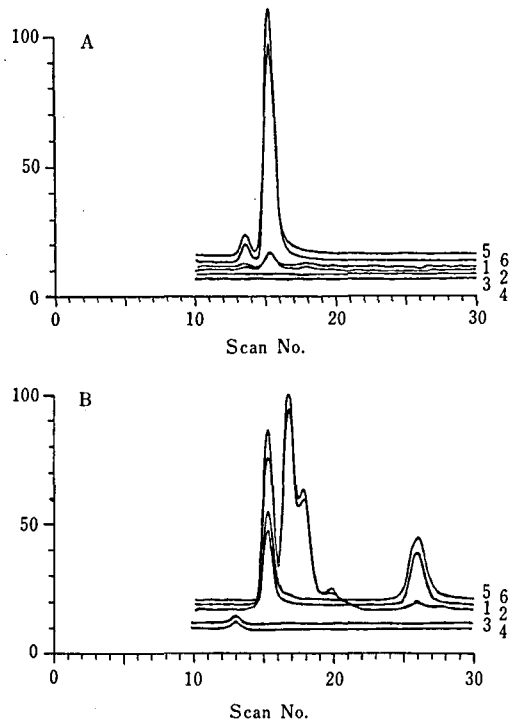


Fig. 3. Mass fragmentgrams of eel extract

A: *trans*-nonachlor fraction
B: other chlordane fraction
1~6: See Fig. 1.

物であるオキソクロルデンの計5種類のクロルデン同族体を分析対象物質として、宮崎県内の河川で採取されたウナギおよびアユから抽出・精製されたクロルデン画分について、GC-MSによる検討を行った。

これらのクロルデン類をモニターするための質量数として、クロルデンに対しては m/z 373 と 375、ノナクロールに対しては m/z 407 と 409 (373 と 379 に微小フラグメント)、また、オキソクロルデンに対しては m/z 387 と 389 を選択して^{7,8)}、マスフラグメントグラフィーを行った。

クロルデン類の各成分ならびに、今回検討したウナギおよびアユ抽出液由来のクロルデン画分について得られたマスフラグメントグラム (MFG) を Fig. 1~3 に示した。

ウナギの検液からは多量のトランス-ノナクロールの残留が確認されたほか、トランスおよびシス-クロルデン、シス-ノナクロールさらにオキソクロルデンの残留も確認された。

一方、アユの検液から、トランスおよびシス-クロルデンならびにトランスおよびシス-ノナクロールの残留が確認されたが、オキソクロルデンの残留は、検

出限界(約 1 ppb)以下で、確認できなかった。

なお、これらのクロルデン成分の残留量をMFGから概算したところ、宮崎県衛生研究所で得られたガスクロマトグラフィーによる分析値⁹⁾とはほぼ合致した。

クロルデンは最近、昭和58年12月に“毒物劇物取締法”における“劇物”に指定されたが、含有量が6%以下の製剤は“普通物”とされており、通常使用されているシロアリ駆除剤は2%含有製剤であることから、同法による規制の対象外となっている。

したがって、シロアリ駆除剤が使用される頻度の高い住宅地域ほどクロルデンの濃厚な汚染源となることが予想され、また、クロルデンの環境汚染はシロアリによる被害の多い西日本、特に沖縄・九州地方に高いことが予想されていることから、同地方におけるクロルデンの食品汚染ならびに人体汚染の実態を今後とも詳細に把握しておくことが急務であろう。

終わりに、本研究に当たり、クロルデン類の標品を分与していただいたヴェルシコール・パシフィック社ならびにクロルデン分析用の試料を提供していただ

いた宮崎県衛生研究所関係各位に感謝致します。

文 献

- 1) 関田 寛, 高橋正紀, 神里興輝, 佐々木久美子, 河村葉子, 武田明治, 内山 充: 衛生試験, **103**, 137 (1985)
- 2) 関田 寛, 武田明治, 内山 充: 衛生試験, **103**, 143 (1985)
- 3) G. W. Sococcol, R. G. Lewis, R. L. Harless, N. K. Wilson, R. D. Zehr: *Anal. Chem.*, **49**, 734 (1977)
- 4) 大城善昇: 沖縄県公害衛生研究所報, **14**, 1 (1981)
- 5) 環境庁環境保健部保健調査室レポートシリーズ No. 9, 昭和58年版ケミカルアセスメントアニュアルレポート“化学物質と環境”
- 6) 堀内遼一, 串間奉文, 本田喜善, 斎藤和洋: 宮崎県衛生研究所報, **25**, 29 (1984)
- 7) S. I. M. Skinner, R. Greenhalgh: *Reference Guide, Mass Spectra, of Insecticides, Herbicides and Fungicides and Metabolites*, (1977) Chemistry and Biology Research Institute, Research Branch, Agriculture, Canada
- 8) 島津アプリケーションニュース, GC-MS No. 36 (CA 146-129)

蛍光検出高速液体クロマトグラフィーによる柑橘類の果皮および果肉中のオルトフェニルフェノールの定量

川崎洋子・山田 隆・義平邦利・谷村顕雄

Determination of *o*-Phenylphenol in the Peel and Flesh of Citrus Fruits by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection

Yoko KAWASAKI, Takashi YAMADA Kunitoshi YOSHIHARA and Akio TANIMURA

Citrus fruits (lemon, orange and grapefruit) were carefully peeled and the *o*-phenylphenol (OPP) in the peel and flesh determined. A sensitive and simple method with high performance liquid chromatograph equipped with fluorescence detector was used to carry out the analysis. Recovery was 88.1% in the peel spiked with 1 ppm OPP and 66.6% in the flesh spiked with 0.05 ppm OPP, respectively. Correlation was found between the amounts of OPP in the peel and the flesh.

(Received May 31, 1985)

オルトフェニルフェノール (OPP) は、果実、果菜類の防ばい剤として、米国、EC 諸国で広く利用されている。OPP はかんきつ類の腐敗の原因となるかび病に有効であり、軸ぐされ病や炭疽病にも効果があるとされ、我が国では昭和52年4月に食品添加物として、10 ppm の残留許容基準値をもって指定許可された。

一般にかんきつ類は果肉のみを摂取する場合は最も多いと考えられるが、使用基準が果実全体で 10 ppm 以下とされているため、果肉と果皮に分けて分析している例は少なく、わずかに井部ら¹⁾が高濃度の OPP を用いたモデル実験として可食部分へ OPP が浸透するか否かを調査し、その結果いずれのかんきつ類におい

Table 1. Contents of OPP in Lemons (ppm)

	flesh	peel	whole
1	0.032	2.04	0.56
2	0.018	2.06	0.60
3	0.027	3.58	0.97
4	0.016	2.94	0.77
5	0.056	5.00	0.98
6	0.023	5.13	1.18
7	0.033	4.17	1.10
8	0.103	13.11	3.05
9	0.069	13.80	3.45
10	0.085	14.38	3.74
11	0.108	15.31	4.52
12	0.064	10.73	3.52
13	0.094	11.46	2.81
14	0.058	6.04	1.68

Table 2. Contents of OPP in Oranges (ppm)

	flesh	peel	whole
1	0.002	5.90	1.34
2	0.009	1.61	0.38
3	0.002	2.61	0.68
4	0.042	16.10	3.89
5	0.017	11.60	4.31
6	0.002	3.40	0.45
7	0.004	10.17	2.78
8	0.001	7.54	2.33
9	0.004	10.68	3.03
10	0.027	16.50	3.81

Table 3. Contents of OPP in Grapefruits (ppm)

	flesh	peel	whole
1	0.042	0.67	0.27
2	0.022	0.46	0.17
3	0.011	0.43	0.14
4	0.025	0.65	0.25
5	0.023	0.59	0.20
6	0.034	0.76	0.30
7	0.060	1.06	0.34
8	0.006	0.63	0.23
9	0.069	1.76	0.55
10	0.042	0.85	0.30
11	0.026	0.76	0.25
12	0.028	0.73	0.23
13	0.075	1.15	0.38

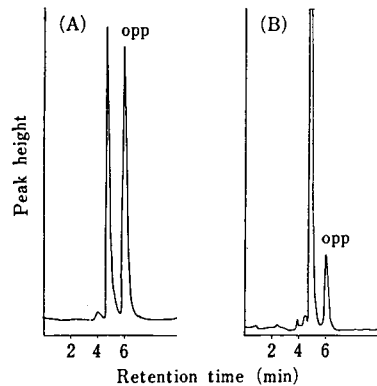


Fig. 1. Chromatograms of OPP in peel (A) and flesh (B) of grapefruit

でも OPP の可食部への浸透はみられなかったと報告している。一方、林らは²⁾グレープフルーツを果皮と果肉のジュースにわけて定量したところ、ジュース部分にも微量の OPP を検出している。果肉を生食した際、OPP を摂取する可能性の有無を検討するため我々は今回、OPP を使用したレモン、オレンジ、グレープフルーツを試料とし、果肉と果皮を分け、各々からの OPP を定量した。かんきつ類およびその加工品からの OPP の定量法は、比色法³⁾、GC 法⁴⁾、HPLC 法²⁾などが報告されている。しかし、これまでの報告で果肉中の OPP は極めて微量であることが考えられたので、より高感度な微量定量法として、精油定量装置により OPP を水蒸気蒸留した後、単一溶出系による蛍光検出高速クロマトグラフィーを行った。

実験方法

果皮と果肉の接触を避けるために、上下の果皮を切ったあと、果皮に接触したナイフや手が果肉に触れないように注意して果皮と果肉に分けて、果皮 10g、果肉 50g を採取し「食品中の食品添加物分析法」⁵⁾に従い、精油定量装置をもちいて抽出後、逆相系カラムで、メタノール：水の単一溶出系による蛍光検出高速液体クロマトグラフィーで定量した。励起波長および蛍光波長は林らの測定条件²⁾に従った。なお、OPP が未使用であることが確実にある柑橘類の入手は困難であったため、OPP の標準品と同一保持時間のピークを OPP として定量した。

HPLC 条件

カラム : Nucleosil 5C₁₈ 250 mm × 4.8 mm i.d.
 カラム温度 : 室温
 移動相 : メタノール : 水 = 8 : 2
 流速 : 1.0 ml/min
 検出器 : Shimadzu fluorescence spectromonitor RF-530 Em. 350 nm Ex. 285 nm

結果および考察

従来の GC 法の検出限界は 0.05 ppm であり、今回の実験では大部分の果肉中の OPP が検出限界以下であった。我々が改良した蛍光 HPLC 法では GC 法に比べ50倍の感度があり検出限界は 0.001 ppm であり極めて微量の OPP も定量可能であった。この定量法による添加回収率は、果皮に 1 ppm 添加したとき 88.1% であり、果肉に 0.05 ppm 添加したとき 66.6% であった。レモン、オレンジ、グレープフルーツを試料とし、定量した結果を Table 1~3 に示した。Fig. 1 には、その際得られた代表的なクロマトグラムを示し

た。微量ではあるがすべての検体の果肉から OPP が検出され、果皮と果肉中の OPP の相関係数はレモンで 0.908、グレープフルーツで 0.842、オレンジで 0.684 であり果皮中の OPP が多いほど果肉中の OPP の検出量が多い傾向がみられた。果皮と果肉中の OPP に相関はみられたが、実験操作上果皮から果肉への汚染を完全に防ぐことは不可能であり果肉中より定量されたが OPP 果皮からの汚染によるものであるか、浸透に起因するかは判別しがたい。

文 献

- 1) 井部明広ら：東京衛研年報，33，198 (1982)
- 2) 林 時司ら：衛生化学，25，131 (1979)
- 3) V. Chioffi: *Boll. Laboratoriechem. Prov.*, 16, 306 (1965)
- 4) 外海泰秀ら：食衛誌，16，397 (1975)
- 5) 厚生省環境衛生局食品化学課編：食品中の食品添加物分析法，p. 193~199 (1982) 講談社

厚生省告示準備最終原案によるアクリロニトリル 材質試験法および溶出試験法の追試験

井上たき子・石綿 肇・谷村顕雄

Supplementary Examinations on Material and Migration Test Methods for Acrylonitrile Monomer in the Final Draft for Japanese Standards on Plastic Packages and Containers for Foodstuffs

Takiko INOUE, Hajimu ISHIWATA and Akio TANIMURA

Material and migration test methods for acrylonitrile monomer in acrylonitrile-containing plastics in the final draft for Japanese Standards on Plastic Packages and Containers for Foodstuffs were supplementarily examined.

A nitrogen-phosphorus detector (NPD) was found to be necessary instead of the flame-ionization detector for gas chromatography designated in the draft due to the sensitivity and specificity of the migration test. No problem in the material test method was noted in the present examination. The material test method indicated in the draft and the migration test method using NPD were applied to several kinds of acrylonitrile-containing plastics. The monomer in the plastics and the migration amount were less than the limits set in the draft.

(Received May 31, 1985)

現在、食品用容器包装に用いられるプラスチックについてはアクリロニトリル (AN) モノマーの残存規制はされていないが、AN 系プラスチック中の AN モノマー残存量および溶出量についての規格、基準が考えられている。厚生省告示準備最終原案¹⁾には AN 材質

試験法および溶出試験法が記載されているが、本原案はまだ準備段階であり、同試験法についても追試験を試みる必要がある。

本報では原案による AN 材質試験法および各条中の溶出試験法にそって追試験を行い、問題点および改

Table 1. Material and migration tests of acrylonitrile monomer in plastics made of polyacrylonitrile

Test	Solvent	Condition		Sample		
				1	2	3
Material*1	DMF*2	room temp., 1 hr	$\mu\text{g/g}$	nd	nd	9.6 ± 0.2
Migration*3	water	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
		95°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	15
	4% acetic acid	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
		95°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	15
	20% ethanol	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
	n-heptane	room temp., 1 hr	ng/ml	nd	nd	nd

*1 Determined with GC-FID, mean \pm S.D. (n=3)

*2 Dimethylformamide

*3 Determined with GC-NPD, mean (n=2)

The detection limits of *1 and *3 were 0.2 $\mu\text{g/g}$ and 10 ng/ml, respectively.

Table 2. Material and migration tests of acrylonitrile monomer in plastics made of styrene-acrylonitrile resin

Test	Solvent	Condition		Sample		
				1	2	3
Material*1	DMF*2	room temp., 1 hr	$\mu\text{g/g}$	35 ± 1	69 ± 3	24 ± 3
Migration*3	water	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
		95°C, 30 min	ng/ml	29	47	18
	4% acetic acid	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
		95°C, 30 min	ng/ml	31	69	25
	20% ethanol	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
	n-heptane	room temp., 1 hr	ng/ml	nd	nd	nd

*1 Determined with GC-FID, mean \pm S.D. (n=3)

*2 Dimethylformamide

*3 Determined with GC-NPD, mean (n=2)

The detection limits of *1 and *3 were 0.2 $\mu\text{g/g}$ and 10 ng/ml, respectively.

良法による AN の測定値について述べる。

実験方法

1. 試料 厚生省食品化学課より送付された以下の試料（シートまたはフィルム）を用いた。

- 1) アクリロニトリル・スチレン樹脂製プラスチック (AS), 3種類
- 2) アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン樹脂製プラスチック (ABS), 3種類
- 3) ポリアクリロニトリル製プラスチック (PAN), 3種類
- 4) メタクリル酸メチル・アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン樹脂製プラスチック (MABS), 3種類

2. 試薬 1) AN 東京化成, 純度98%

2) ガスクロマトグラフィー用カラム充てん剤 Chromosorb 101, 60~80メッシュ (ガスクロ工業), Porapak Q, 50~80メッシュ (ウォーターズ)

3) その他の試薬 JIS 特級を用いた。

3. 装置および操作条件

1) ガスクロマトグラフ Hewlett-Packard 5710A
 i) カラム 内径 3 mm \times 1.2 m ガラスカラム, ii) カラム温度 Chromosorb 101 を用いた場合は 120°C, Porapak Q を用いた場合は 170°C, iii) 注入口温度 250°C, iv) 検出器 FID または NPD, 250°C, v) 水素 FID は 30 ml/min, NPD は 3 ml/min, vi) 空気 FID は 200 ml/min, NPD は 50 ml/min, vii) キャリヤー 窒素 30 ml/min.

Table 3. Material and migration tests of acrylonitrile monomer in plastics made of acrylonitrile-butadiene-styrene resin

Test	Solvent	Condition	Sample			
			1	2	3	
Material* ¹	DMF* ²	room temp., 1 hr	$\mu\text{g/g}$	7.3 ± 0.6	5.1 ± 0.2	43 ± 4
Migration* ³	water	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
		95°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
	4% acetic acid	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
		95°C, 30 min	ng/ml	10	nd	84
	20% ethanol	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
	n-heptane	room temp., 1 hr	ng/ml	nd	nd	nd

*¹ Determined with GC-FID, mean \pm S.D. (n=3)

*² Dimethylformamide

*³ Determined with GC-NPD, mean (n=2)

The detection limits of *¹ and *³ were 0.2 $\mu\text{g/g}$ and 10 ng/ml, respectively.

Table 4. Material and migration tests of acrylonitrile monomer in plastics made of methylmethacrylate-acrylonitrile-butadiene-styrene resin

Test	Solvent	Condition	Sample			
			1	2	3	
Material* ¹	DMF* ²	room temp., 1 hr	$\mu\text{g/g}$	nd	22 ± 2	35 ± 3
Migration* ³	water	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
		95°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	46
	4% acetic acid	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
		95°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	67
	20% ethanol	60°C, 30 min	ng/ml	nd	nd	nd
	n-heptane	room temp., 1 hr	ng/ml	nd	nd	nd

*¹ Determined with GC-FID, mean \pm S.D. (n=3)

*² Dimethylformamide

*³ Determined with GC-NPD, mean (n=2)

The detection limits of *¹ and *³ were 0.2 $\mu\text{g/g}$ and 10 ng/ml, respectively.

2) 積算計 クロマトパック C-R1A

結果および考察

1. 材質試験法について

問題点は特になかったが、材質の溶解および AN 標準液の溶媒として用いられるジメチルホルムアミドは開封後日がたつと妨害ピークが認められる場合があった。また標準液 (4 ppm) は室温に 2 週間放置する事により、初期濃度の 75% に減少した。1000 ppm 溶液を冷蔵庫中に保存した場合は少なくとも 2 ヶ月間は安定であった。ジメチルホルムアミドの代りにアセトンまたは水を用いた場合には 0.1 ppm 溶液でも 1 ヶ月間は安定であり、後述のごとく、検出器として NPD を用いるならば少なくとも標準液の溶媒としては水ま

たはアセトン²⁾を用いる事が望ましいと考えられる。

測定条件として、原案ではカラム担体としてポラスポリマービーズを用い、カラム温度を 160~180°C の一定温度に設定する事となっているが、本実験の範囲では、Porapak Q を用いた場合は原案の条件内で測定可能であったが、Chromosorb 101 では至適温度は 110~130°C であり、原案の温度範囲をかなり広げる必要があるように思われる。

AS または MABS 1g にジメチルホルムアミド 20 ml および AN 50 μg を添加したときの回収率は前者で 104%、後者で 106% (n=2 の平均値) であった。

2. 溶出試験について

検出器として FID を用いた場合、AN の検出限界は試料液中の濃度で 0.2 ppm であり、材質中の AN

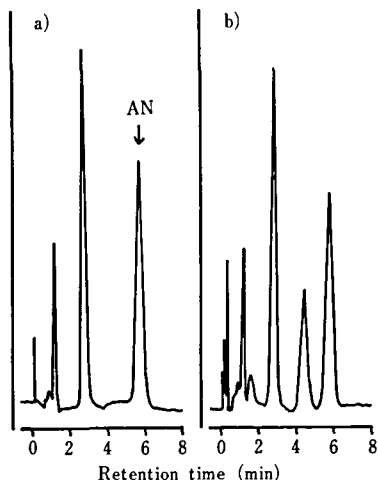


Fig. 1. Gas chromatogram of the test solution obtained by the material test of plastics made of styrene-acrylonitrile resin

1-a) acrylonitrile standard solution, 4 ppm
1-b) test solution

Conditions were: gas chromatograph; Hewlett-Packard 5710 A attached with FID, column; 3 mm diameter and 1.2 m length glass column packed with Chromosorb 101 (60~80 mesh), 110°C, carrier; nitrogen 30 ml/min.

の限度である 4 ppm は十分測定できるが溶出限度である 0.05 ppm は検出限界以下であった。また、溶出用液として 4% 酢酸, 20% エタノール, *n*-ヘプタンを用いた場合, AN の保持時間とこれらの溶媒のそれとが同じであるため測定不能であった。FID の代わりに NPD を用いた場合には, いずれの溶出用液を用いても AN 測定上の妨害は認められず, また検出限界は試料液中の濃度で 0.01 ppm であり, 特異性, 感度共に良好な結果を得た。

AN の材質あるいは溶出試験を行う場合, NPD を用いる事はすでに広く行われており²⁻⁷⁾ あえて FID を用いる必要性はまったくなかった。

3. AN 系プラスチック試料への試験法の応用

これまでの結果から, 材質試験については原案の方法で測定可能な事, 溶出試験についてはガスクロマトグラフの検出器を FID から NPD に変換すれば測定可能な事が判明した。原案では材質試験は AS, ABS, MABS に, 溶出試験は PAN に適用されているが, 本報では全試料について各々 3 種類の製品について原案による材質試験および NPD を用いた溶出試験を行った。

試験結果を Table 1~4 に示し, 材質および溶出試

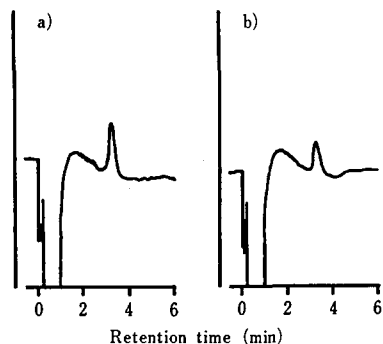


Fig. 2. Gas chromatogram of the test solution obtained by the migration test of plastics made of polyacrylonitrile

2-a) acrylonitrile standard solution, 50 ppb
2-b) test solution

Conditions were same as Fig. 1 except the use of NPD as a detector.

Migration was carried out at 95°C for 30 min with water.

験の代表的ガスクロマトグラムをそれぞれ Fig. 1 および 2 に示す。

AN 系プラスチック中の AN モノマーの残存あるいは溶出についてはすでに多くの報告²⁻⁷⁾ があり, ほとんどの報告では検出器として NPD を用いているにもかかわらず, 原案であえて FID を用いたのはその普及性にあるものと考えられる。材質試験では FID を用いた原案で試験可能であるが, 溶出試験では溶媒と AN の保持時間が同じである事, 検出限界が溶出限度より高い事の 2 点において実行不能であった。この点については従来の研究報告²⁻⁷⁾ 通り, NPD を用いることにより解決する。したがって材質試験においてもあえて FID を用いる必要性はまったくない。なお, 本実験に供した試料で原案の限度を超える AN は材質試験, 溶出試験ともに認められなかった。

結 論

AN 系プラスチック中の AN モノマーについて厚生省告示原案による材質試験法および溶出試験法について追試験を行った。その結果, 材質試験については特に問題はなかったが, 溶出試験ではガスクロマトグラフ用検出器として FID の代わりに NPD を使用する必要がある事が示された。原案による材質試験法および NPD を用いた溶出試験法を AN 系プラスチックに応用したところ, 特に問題はなく, また AN の値は原案規格値以内であった。

文 献

- 1) 厚生省食品化学課: 日本食品用プラスチック容器・包装等規格(厚生省告示準備最終原案), p. 20 (1983)
- 2) 辰濃 隆ら: 衛生試験, 97, 93 (1979)
- 3) 辰濃 隆ら: 衛生試験, 98, 110 (1980)
- 4) 吉田令子ら: 東京衛研年報, P. H. 31-1, 190 (1980)
- 5) M. E. Brown *et al.*: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 61, 1383 (1978)
- 6) T. McNeal *et al.*: *ibid.*, 65, 184 (1982)
- 7) B. D. Page, C. F. Charbonneau: *ibid.*, 66, 1096 (1983)

国際標準化機構法による食品用器具および容器からの重金属等の溶出

石綿 肇・井上たき子・山崎 壮・山本 都
酒井綾子・山田 隆・谷村顕雄

Migration of Heavy Metals from Tableware determined by the Method of International Organization for Standardization

Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE, Takeshi YAMAZAKI, Miyako YAMAMOTO,
Ayako SAKAI, Takashi YAMADA and Akio TANIMURA

Tests for migration of lead and cadmium from tableware were carried out by the method of International Organization for Standardization and of arsenic or alkali by its modified methods.

No detectable lead (<50 ppb), cadmium (<2 ppb) nor arsenic (<40 ppb) migrated from most of the samples tested except for 100-3000 ppb of lead migrating from ceramicware and lead-glassware. No flake was observed in any of the thermos tested. Contents of bottled food and beverages did not contain detectable amount of these metals. There was no noticeable problem in applying these methods to the test samples.

(Received May 31, 1985)

各種規格, 基準あるいは試験法は各国の事情に応じて独自の設定がなされている。食品用の器具および容器についても食品衛生法により我国独自の試験法を有しているが, その一方で試験法の国際化も検討されている。

先に著者らは陶磁器, ホウロウ引きおよびガラス製品の試作品について重金属の溶出試験を行い, 国内現行法¹⁾に比べ, 国際標準化機構(ISO)法が一般に高い値を示す事を報告した^{2,3)}。そこで, 今回は市販品についてISO法による溶出試験を行い重金属等の溶出量の調査を行った。

実 験 方 法

1. 試 料

陶磁器: 湯飲み茶わん, 皿, グラタン皿.

ホウロウ引き: ボール, マグカップ, 皿, なべ, ミルクパン.

ガラス器具: 皿(ソーダ石灰ガラス製および鉛ガラ

ス製), ボール(ソーダ石灰ガラス製および鉛ガラス製), コップ(ソーダ石灰ガラス製および鉛ガラス製).

魔法瓶: A社およびB社製の0.3, 0.75, 1.0, 1.9および2.2 l容のもの.

瓶(内容物入り): 食酢, ミネラルウォーター, コーラ飲料, スポーツドリンク.

2. 溶出方法

ISOに試験法が記載されている鉛およびカドミウムについてはISOによる溶出試験法⁴⁻⁶⁾を用いた。すなわち, 4% (v/v) 酢酸をあふれ出る点から5 mm下の所まで満し, 暗所, 室温(ISO法では溶出温度は22±2°Cとされている)で24時間放置した。

ヒ素およびアルカリの溶出についてはISOに基準, 試験法がないため, ヒ素については鉛およびカドミウムの溶出方法に準じ, また, ガラス製品からのアルカリの溶出については溶出用液として水を用い, 食器については60°Cで30分間, 魔法瓶については95°Cの水を注ぎ栓をして24時間, また, 瓶については室温で24時

Table 1. Migration of Pb, Cd and As from ceramicware

	Migration, ppb		
	Pb	Cd	As
Tea cup (yunomi) (n=3)	73 ± 16	nd	nd
Dish (n=3)	105 ± 39	2 ± 2	nd
Gratin dish (n=3)	115 ± 30	nd	nd

Migration conditions: with 4% acetic acid at room temperature (24–27°C) for 24 hr, mean ± S.D.

Detection limits: Pb, 50 ppb; Cd, 2 ppb; As, 40 ppb

Table 2. Migration of Pb, Cd and As from enamelware

	Migration, ppb		
	Pb	Cd	As
Bowl (n=3)	nd	nd	nd
Mug (n=3)	nd	24 ± 6	nd
Dish (n=2)	nd	nd	nd
Pot (n=4)	nd	nd	nd
Pan (n=4)	nd	nd	nd

Migration conditions and detection limits: see Table 1

Table 3. Migration of Pb, Cd, As and alkali from glassware

	Migration, ppb				pH
	Pb	Cd	As	alkali	
Dish soda-lime (n=2)	nd	nd	nd	nd	4.4
lead (n=1)	3250	nd	nd	nd	4.5
Bowl soda-lime (n=2)	nd	nd	nd	nd	5.0
lead (n=1)	600	nd	nd	nd	5.6
Cup soda-lime (n=2)	nd	nd	nd	nd	5.2
lead (n=1)	1300	nd	nd	nd	5.5

Migration conditions and detection limits of Pb, Cd and As: see Table 1

Migration conditions of alkali: with water at 60°C for 30 min

Detection limit of alkali: 100 ppb as Na₂O

間放置した。

今回の実験期間中の室温は24～27°Cであった。

3. 測定方法

1) 鉛およびカドミウムは Perkin-Elmer 403 型原子吸光度計を用い、フレイムレス原子吸光度法²⁾ による。

2) ヒ素はジエチルジチオカルバミン酸銀法¹⁾ による。ただし、ピリジンの代わりにブルシン・クロホルム溶液³⁾ を用いた。

3) pH は Beckman-Toshiba Lab-O-Mate II pH メーターによる。

4) フレークの生成の有無は6名による肉眼判定による。

結 果

1. 陶磁器からの鉛、カドミウムおよびヒ素の溶出
鉛の溶出はいずれの試料からも、溶出液中の濃度で 100 ppb 前後認められた。カドミウムでは皿について 3 例中 2 例に溶出が認められた (平均 2 ppb) 他はいずれの試料からも認められなかった (検出限界 2 ppb)。また、ヒ素の溶出は全例とも認められなかった (検出限界 40 ppb) (Table 1)。

Table 4. Migration of Pb, Cd, As and alkali from thermos and formation of flakes

	Migration, ppb				pH	Flake	Temp. after 24 hr, °C
	Pb	Cd	As	Alkali			
A-300 (n=1)				200	6.3	nd	65
B-300 (n=1)				100	6.0	nd	52
A-750 (n=1)				100	6.3	nd	64
B-750 (n=1)				100	6.1	nd	73
A-1000 (n=1)	nd	nd	nd	200	6.2	nd	73
B-1000 (n=1)	nd	nd	nd	100	6.4	nd	73
A-1900 (n=1)				100	6.0	nd	77
B-1900 (n=1)				100	5.9	nd	77
A-2200 (n=1)				200	6.3	nd	81
B-2200 (n=1)				100	6.0	nd	78

Migration conditions of Pb, Cd and As: see Table 1

Migration conditions of alkali and formation of flakes: poured hot water at 95°C and stood at room temperature for 24 hr with a plug

Table 5. Concentrations of Pb, Cd and As in bottled vinegar and beverages and migration test of the bottles

		Conc. in content			Migration				pH
		Pb	Cd	As	Pb	Cd	As	Alkali	
Vinegar	(n=2)	nd	nd	nd	nd	nd	nd		5.8
Mineral water	(n=2)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Cola	(n=2)	ud	nd	nd	nd	nd	nd		
Sports drink	(n=1)	nd	nd	nd	nd	nd	nd		

Migration conditions and detection limits of Pb, Cd and As: see Table 1

Migration conditions of alkali: with water at room temperature for 24 hr

Detection limit of alkali: see Table 3

2. ホウロウ引きからの鉛、カドミウムおよびヒ素の溶出

ホウロウ引きについてはマグカップから 24 ppb のカドミウムが溶出した他は、いずれの試料からも鉛、カドミウムおよびヒ素の溶出は認められなかった (Table 2)。

3. ガラス製食器からの鉛、カドミウム、ヒ素およびアルカリの溶出

ソーダ石灰ガラスおよび鉛ガラスについて試験した。ソーダ石灰ガラス製品からの溶出は鉛、カドミウム、ヒ素ともに認められなかったが、鉛ガラス製品からは全試料ともに鉛の溶出が認められた (Table 3)。

アルカリの溶出については ISO に規格がないため、食品衛生法の方法により水を用い、60°Cで30分間溶出を行ったが、いずれの試料からも溶出は認められなかった。また、参考までに溶出液の pH を測定したと

ころ、4.4~5.6であった (Table 3)。アルカリの溶出試験は酢酸による誤差をさけるため、重金属の溶出試験とは別室で行った。

3. 魔法瓶からの鉛、カドミウム、ヒ素およびアルカリの溶出とフレークの生成

本実験は試料数の関係からいずれも 1 検体ずつの結果であるが、2社の製品について同一容量のものをそろえて平行して試験した。鉛、カドミウムおよびヒ素の試験は 1 l 容量のものを用いて、ISO のガラス器具の条件に準じ、4%酢酸を用い、室温で24時間放置したが、鉛、カドミウム、ヒ素ともに検出されなかった (Table 4)。

アルカリの溶出は使用状況を加味し、95°Cの水を注ぎ、24時間放置した。溶出アルカリ量は Na₂O として 0.1~0.2 ppm であった。また、この時の溶出液の pH は 5.9~6.4 であった。しかし、フレークの生成は全例

とも認めなかった。24時間後の溶出液の温度は容量の小さいものほど低く、最高で81°C、最低で52°Cであった (Table 3)。

5. 瓶詰め飲食物中の鉛、カドミウムおよびヒ素ならびに瓶の溶出試験

これまでの試験は未使用の試料を用いたが、ここでは飲食物充てん済み容器を用い、内容物中の鉛、カドミウム、ヒ素の定量と使用されていたびんについて溶出試験を試みた。

食酢、ミネラルウォーターおよび炭酸飲料については各々2種、スポーツドリンクについては1種について試験したが、内容物、溶出液共に、鉛、カドミウム、ヒ素は検出されなかった。ミネラルウォーターの瓶については別に溶出用液として水を用い室温で24時間アルカリの溶出試験を行ったが、溶出は認められなかった (Table 5)。

考 察

ISO による鉛およびカドミウムの溶出基準は、浅型 (深さ 25 mm 以下) では鉛 1.7 mg/dm²、カドミウム 0.17 mg/dm²、小型 (深さ 25 mm を超えるもので容量 1.1 l 未満) では鉛 5.0 mg/l、カドミウム 0.5 mg/l、大型 (深さ 25 mm を超えるもので容量 1.1 l 以上) では鉛 2.5 mg/l、カドミウム 0.2 mg/l とされている。また、ハウロウ引き加熱器具では、浅型では鉛 0.5 mg/dm²、カドミウム 0.05 mg/dm²、深型では鉛 2.5 mg/l、カドミウム 0.25 mg/l とされている。

今回用いた試料で ISO の基準を超えるものはなかった。また、ISO 法の適用に際して何ら問題はなかったが、今後深さが 5 mm 以下の浅皿の場合や煮沸用器具または魔法瓶の溶出条件あるいは溶出物の測定項目の選択についてはさらに検討を必要とする。

我国の現行法ではカドミウムの溶出基準はなく、一方、ISO には無いがヒ素およびガラスからのアルカリの溶出については基準が定められている。さらに現行法と ISO とでは溶出条件が大きく異なるため、今回得た結果をそれぞれの基準に直接あてはめる事はできないが、ほとんどすべての結果が不検出かあるいは非常に低濃度であった事から、実験に供した試料は現行法に十分適合するものと考えられる。

本試験の一部は昭和59年度厚生科学研究費による。

文 献

- 1) 厚生省告示第20号 (1982年2月16日)
- 2) 井上たき子ら: 衛生時報, 102, 141 (1984)
- 3) 石綿 肇ら: 食衛誌, 25, 445 (1984)
- 4) International Organization for Standardization: ISO 7086/1-1982 (1982)
- 5) International Organization for Standardization: ISO/TC 107/SC6N81 (1981)
- 6) International Organization for Standardization: ISO 6486/1-1981 (1981)
- 7) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, p. 2 (1981) 金原出版
- 8) 日本薬学会編: 同上, p. 47 (1981) 金原出版

サフランとクチナシ果実から抽出される黄色天然色素の比較

神蔵美枝子・中里圭子

Comparison of Natural Yellow Colors extracted from Saffron (*Crocus sativus* LINNE) and Gardenia Fruit (*Gardenia jasminoides* ELLIS)

Micko KAMIKURA and Keiko NAKAZATO

Saffron (*Crocus sativus* LINNE) and gardenia fruit (*Gardenia jasminoides* ELLIS) contain natural colors as well as crocin and crocetin. The natural yellow colors in saffron and gardenia fruit can be extracted with ethanol and aqueous ethanol. The extracts obtained were analyzed by high performance liquid chromatography. The height of the peak (X₁) on the chromatogram of the ethanolic extract of saffron was higher than that of crocin, but the main coloring principle in gardenia fruit extracts was crocin. Crocetin was not detected from these extracts.

(Received May 31, 1985)

サフランは日本薬局方に収載されており¹⁾、漢方では鎮静薬として用いられるが、古くから香料として、また、黄色天然色素クロシンを含むため、着色料としても用いられてきた。FAO²⁾では食用色素としてサフラン、クロシン、クロセチンを収載し、米国の The Code of Federal Regulations³⁾では食品用色素添加物の検定除外品目としてサフランを指定している。このように、欧米諸国ではクロシン含有植物としてサフランが用いられている。しかし、わが国ではサフランは極めて高価なため実際には使用されず、古くからクチナシ果実が用いられ、現在は同抽出物がクチナシ色素として流通している。

著者らは天然着色料の品質につき種々検討してきたが⁴⁾、本研究はその一環としてサフランおよびクチナシ果実から抽出される黄色天然色素を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって分析し、両抽出色素の相違を調べ、両者の判別の可能性について検討した。

実験方法

1. 試料

サフラン：日本薬局方，三弘製薬(株)

クチナシ果実：台湾産水梔子 (スイシン)

2. 試薬

アセトン，エタノール，エチルエーテル，メタノールその他の試薬はいずれも試薬特級品を用いた。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ：島津—デュポン 830 型 (UV 254 nm 検出器付属)，可変波長検出器 島津 SPD-1 付属

4. サフランから色素の抽出

サフラン 1.03 g を内容 200 ml のナス型フラスコにとり、エチルエーテル 50 ml を加え、約 1 時間還流した後 (エチルエーテル抽出液は淡黄色を呈し、ロウ状黄色物質が析出した)、フラスコ内のサフランを

ロウ状黄色物質が付着しないように、すすぎながら引き上げ、ロ紙上にのせ、風乾した。ついで、このサフランにエタノール 30 ml を加え、42 時間冷浸した。抽出液 (I) を分取し、フラスコ内のサフランに 70 v/v % エタノール 30 ml を加え、48 時間同様に抽出し、抽出液 (II) を分取した。

5. クチナシ果実から色素の抽出

前報に準じた⁴⁾。

6. HPLC

4. の抽出液 I および II ならびに 5. の抽出液につき、下記の分析条件にしたがって操作した。

カラム：Nucleosil 7C₁₈ 4.6 mm i.d. × 250 mm

溶離液：第 1 液 50 v/v % メタノール，第 2 液 メタノール

グラジエント：3%/min, linear, 第 2 液 50~100%

圧力：100 kg/cm²

流速：0.6 ml/min

測定波長：UV 254 nm, SPD-1 438 nm

注入量：5 μl

実験結果および考察

サフランに含まれる色素成分はクロシン，クロセチンであるといわれ^{5,6)}，Fig. 1 に示す構造式ならびに特性を有する。

実験方法 4. の抽出液 I および II につき、実験方法 6. にしたがって HPLC を行った結果を Fig. 2 および 3 に示す。抽出液 I (エタノール抽出液) ではクロシンのほかに 2 つのピークが認められた。クロシン：ピーク (X₁) (保持時間 (t_R) 約 15 分)：ピーク (X₂) (t_R 約 18 分) のピーク高さの比は 1:1.4:0.6 で、この比率は抽出 18 時間でもほぼ同程度であった。しかし、抽出液 II (70 v/v % エタノール抽出液) ではこれらの比率が 1:0.7:0.2 となりクロシンの比が高くなっている。サフランのエタノール抽出液の HPLC でピー

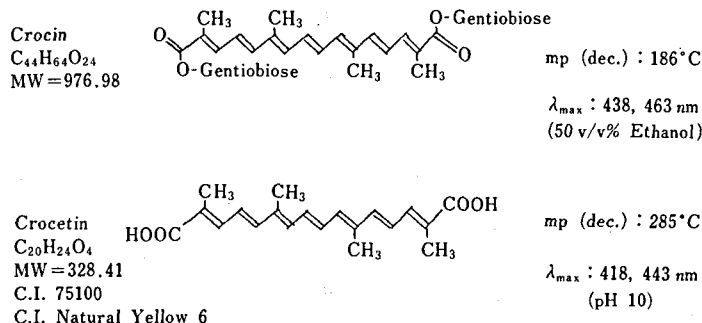


Fig. 1. Structures and physical properties of crocin and crocetin

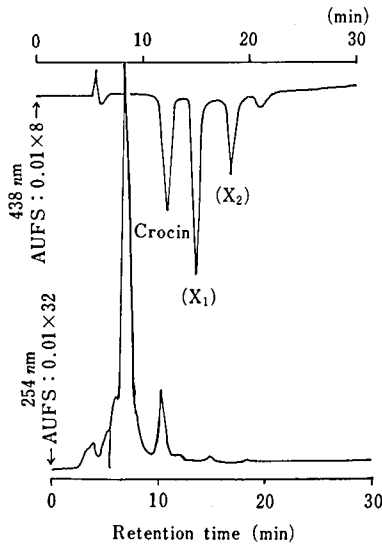


Fig. 2. High performance liquid chromatogram of ethanolic extract of saffron

Chromatographic condition: Column; Nucleosil 7 C₁₈ 4.6 mm i.d. × 250 mm, Eluant; primary 50 v/v% methanol, secondary methanol, Gradient; 3%/min linear, secondary 50-100%, Pressure; 100 kg/cm², Injection; 5 μl

Liquid chromatograph: Shimadzu Du-pont Model 830, detector SPD-1

ク (X₁) に相当する色素はクチナン果実のアセトン抽出液のピーク (A) に該当し、同じくピーク (X₂) は (B) に該当するものと思われる (Fig. 4).

クチナン果実のエタノールおよび 50 v/v% エタノール抽出液のクロマトグラムは Fig. 5 に示すとおりであり、いずれの場合にもクロシンのピーク高さが他の色素のそれに比し著しく高く、HPLC のパターンからサフラン抽出物とクチナン果実抽出物の判別は可能であるとする。ただし、サフラン、クチナン果実など天然物の場合には、前報⁴⁾でも述べたように産地、収穫時期および保管状態などにより成分の変動も考えられる。また、本研究においては食品衛生的な観点から抽出用溶媒としてエタノールおよび水性エタノールを用いたが、抽出用溶媒の差違による原料植物からの移行物質とその量が異なることは明らかである⁴⁾。しかし、クチナン果実については、その抽出液の HPLC パターン、UV スペクトルが現在流通しているクチナン色素の代表的な試料のそれらとよく一致した。サフランについては現在天然着色料として流通しておらず、試料の入手がはなはだ困難であった。そのため、局方品を用いて両者の比較検討を行った。

サフランのクロシン以外のピークの色素について

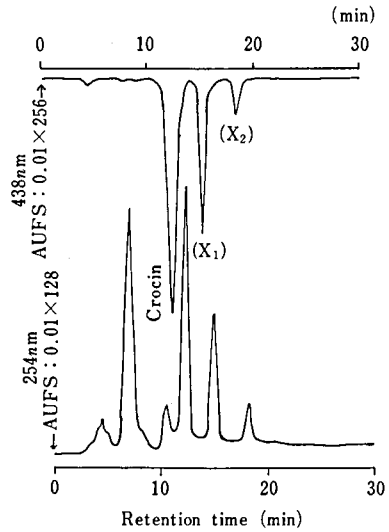


Fig. 3. High performance liquid chromatogram of 70 v/v% ethanolic extract of saffron

Chromatographic condition: Refer to Fig. 2

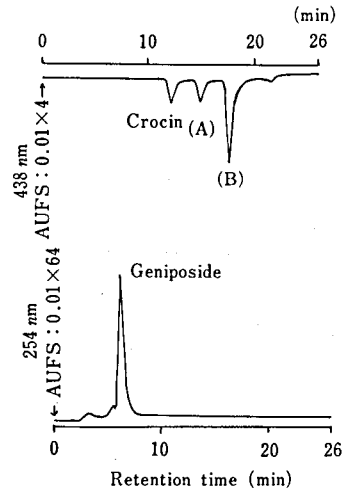


Fig. 4. High performance liquid chromatogram of acetone extract of gardenia fruit

Chromatographic condition: Refer to Fig. 2

は、クロシンに類似する構造を有する物質と考える。なお、サフランおよびクチナン果実抽出液からクロセチン (*t_R* 約 24 分) は検出されなかった。

ま と め

サフランからエタノールまたは 70 v/v% エタノールで抽出される色素成分は、HPLC の結果から主として 3 種類と考えられた。エタノールでは *t_R* 約 15 分の色素、ピーク (X₁) がクロシンのピークより高く、70 v/v% エタノールでは逆にクロシンのピークが高くな

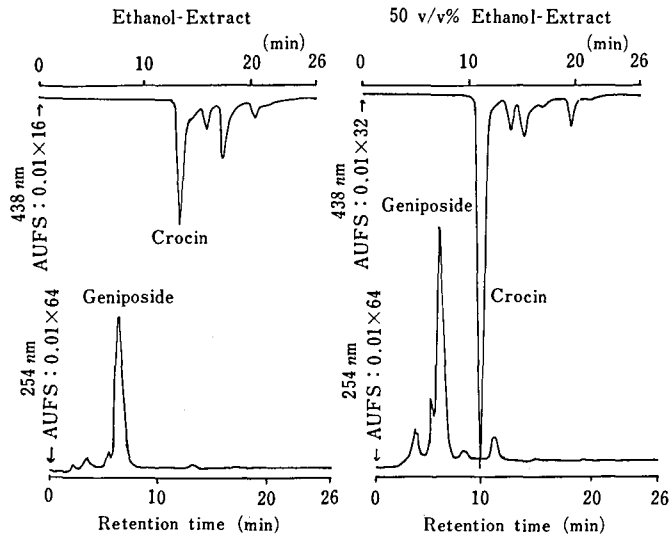


Fig. 5. High performance liquid chromatograms of ethanolic and 50 v/v% ethanolic extracts of gardenia fruit

Chromatographic condition: Refer to Fig. 2

る傾向が認められた。しかし、クチナシ果実の場合にはエタノール、50 v/v% エタノール抽出液の HPLC で、いずれもクロシンのピークが他の色素のそれよりも著しく高く、抽出液中の主色素成分はクロシンと考えられた。これらの結果から、サフラン抽出物またはサフラン粉末の抽出液とクチナシ果実抽出物については、HPLC のパターンから両者の判別が可能であると考えられる。なお、両抽出液からクロセチンは検出されなかった。

文 献

- 1) 日本公定書協会: 第10改正日本薬局方解説書 D347 (1981) 廣川書店
- 2) FAO Specifications for Identity and Purity of Food Additives Vol. II Food Colors, p. 51 (1963)
- 3) Code of Federal Regulations (1981) Title 21, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. sec. 73.500
- 4) 神蔵美枝子, 中里圭子: 食衛誌. 25, 524(1984); 26, 150 (1985)
- 5) 服部静夫: “植物色素” p. 58 (昭和11年) 岩波書店
- 6) 稲垣 勲: “植物化学” p. 220 (昭和47年) 医歯薬出版

規格基準設定のための市販のあん類、ソース類および乾燥食品の
細菌学的汚染調査結果について

河西 勉・鈴木 昭・高山澄江・萩原秀樹

Bacteriological Examination of Marketed Bean Jam "AN", Sauce-Type
Seasonings and Dehydrated Foods

Tsutomu KAWANISHI, Akira SUZUKI, Sumie TAKAYAMA and Hideki HAGIWARA

For the purpose of bacteriological standardization, bean jam "AN", sauce-type seasoning and dehydrated foods, including instant coffee, dehydrated miso soup, dehydrated soup and "KAYAKU" seasoning sold on the market were examined for standard plate counts (SPCs), Coliforms, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*, and the results obtained were as follows.

A total of 21 samples of bean jam showed SPCs ranging from 10^2 to 10^7 /g, while about 70% of the samples tested showed less than 5000/g in SPCs. Only 2 samples of them showed positive for Coliform. None of the other samples showed Coliform, *S. aureus* and *B. cereus*. All of samples of sauce-type seasoning and instant coffee contained less than 300/g in SPCs.

In 10 samples of dehydrated miso soup, 21 samples of dehydrated soup and 10 samples of "KAYAKU" seasoning, the SPCs ranged from 10^2 to 10^8 /g, from 10 to 10^5 /g and from 10^2 to 10^5 /g, respectively. None of these samples showed positive for Coliform and *S. aureus*, but some of these samples showed positive for *B. cereus*, with the bacteria counts ranging from 100 to 500/g.

The predominant bacterial species of the 206 isolates was *B. subtilis*, followed by *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, etc.

When the standards (less than 50000/g in SPCs and Coliform negative) were applied to the present results, 91% of the bean jam samples tested, 60% of the dehydrated miso soup, about 95% of the dehydrated soup and 70% of the "KAYAKU" seasoning were found to be acceptable limits as well as all sauce-type seasonings and instant coffees.

(Received May 31, 1985)

ま え が き

あん類は、古来、和生菓子やようかんなどの原料として不可欠なものとして使用されている。反面、品質的には腐敗・変敗しやすい食品とされている。特に無糖の原料あんでは著しい。

ソース類は、野菜・果実の煮汁や搾汁に食酢、食塩、砂糖、香辛料などを加え、加熱調製された比較的保存性の高い調味料である。

一方、今日の食生活の洋風化から、便利性と保存性のある調理済食品が好まれ、急増が目ざましく、インスタント乾燥・粉末食品がますます多様化のきざしにある。

これらの食品の安全性を確認する目的からすでに多くの実態調査の結果が報告されている^{4,5,6,7,8,9)}。

今回、あん類、ソース類および乾燥加工食品（粉末みそ汁、粉末スープ、かやく類）の微生物学的規格基

準設定のための基礎資料を得る目的で市販品について実態調査する機会を得たので、ここにその結果について報告する。

材料および方法

供試品は、Table 1 に示す6品目88検体で、これらはスーパーマーケットや一般店舗から購入した。

1. 試料

「あん類」は、原料あん、生あん、乾燥あんからなり、原料あんと生あんの違いは砂糖の含有の有無によるもので、前者は無糖で後者は含糖のものである。

原料あんは、2銘柄2検体（こしあんとさくらあん）、生あんは7銘柄12検体（小倉あん6検体、こしあん5検体、粒あん1検体）、さらに乾燥あんは2銘柄7検体（白あん、さらしあん各3検体、こしあん1検体）の合計21検体である。

「ソース類」は、ウスターソース4銘柄4検体、中

濃ソース4銘柄4検体および濃厚ソース7銘柄7検体の合計15検体である。

ウスターソースと中・濃厚ソースの違いは原料中に澱粉またはコンスターチなどが添加されているか否かによって区別(前者は不含)される以外はほとんど内容的には違わなかった。

「乾燥加工食品」は、インスタントコーヒーの7銘柄11検体(ドライフリーズタイプ3検体、その他のタイプは8検体)、粉末みそ汁の5銘柄10検体、粉末スープの6銘柄21検体(洋風タイプ9検体、中華風タイプ9検体、和風タイプ3検体)とかやく類の8銘柄10検体(みそ汁タイプ7検体、中華メンタイプ3検体)からなる合計52検体である。

2. 試験項目

食品の細菌汚染指標としては一般生菌数と大腸菌群、さらに食中毒原因菌としてはブドウ球菌とセレウス菌を対象とした。

3. 試験方法

一般生菌数、大腸菌群、ブドウ球菌の検査は常法¹⁾に従い、またセレウス菌についてはFDAの方法¹²⁾に従った。

水分活性(Aw)はコンウエイの微量拡散ユニットを用いる公定法³⁾に従った。

分離株の同定は、生菌数測定用培地に発育したコロニーから1平板5~10箇所を釣菌し、半流動培地に保存後、Cowan & Steelらの方法²⁾に従い同定した。

結 果

供試品の細菌試験成績をTable 1に示した。

1. 供試品の細菌汚染状況

① あん類

一般生菌数は、 $10^2/g$ のものが12検体(57%)と最も多く、ついで $10^3/g$ の5検体(24%)と $10^4/g$ の3検体(14%)が続き大部分は5000/g以下に属するものであった。品種別では、原料あんは他のものに比べ菌数が多く細菌汚染がひどく $10^7/g$ を認めるものもあった。大腸菌群陽性のものが2検体認められ、菌数は200~3000/gのレベルであったが大腸菌(*Escherichia coli*)は検出されなかった。

② ソース類

すべての供試品は、生菌数300/g以下(実測値<10/g)で、大腸菌群、ブドウ球菌およびセレウス菌は検出されず細菌学的には問題のないものであった。

③ 乾燥加工食品

i) インスタントコーヒーの9検体(92%)は生菌数は<10/gであったが、2検体に $10^3/g$ の生菌数が

認められた。しかし大腸菌群および食中毒菌は検出されなかった。

ii) 粉末みそ汁では、生菌数は $10^2\sim 10^8/g$ の範囲に検出された。そのうち $10^3/g$ を示すものが最も多く認められた。しかし全検体の約60%は50000/g以下に入るものであった。

iii) 粉末スープでは、生菌数は $10\sim 10^5/g$ に分布し、最も多いものは $10^3/g$ の10検体(48%)であった。しかし全検体の91%は5000/g以下に入るものであって予想以上に生菌数が少なかった。

iv) かやく類では、検体の80%は生菌数 $10^3\sim 10^4/g$ に集中し、全検体の70%は50000/g以下に入るものであった。

なお、粉末みそ汁、粉末スープ、かやく類からは大腸菌群およびブドウ球菌は検出されなかったが、セレウス菌は粉末みそ汁から6検体、粉末スープから3検体およびかやく類から5検体が検出され、菌数は100~500/gのレベルであった。

2. 供試品の水分活性(Aw)

供試品中、あん類、粉末みそ汁および粉末スープについて、Awを測定した。その結果(Table 1)、あん類では0.92~0.98で、原料あんは0.97~0.98と生あん、乾燥あんに比べてやや高く、露木ら⁴⁾の成績とよく一致した。粉末みそ汁では0.68~0.75、粉末スープでは0.69~0.71で乾燥食品特有の非常に低いAwであった。

3. 供試品の細菌叢

供試品から分離した206株の同定結果および供試品中の分布についての結果はTable 2にまとめた。

すなわち、グラム陽性の*Bacillus*、*Micrococcus*、*Coryneforms*、*Streptococcus*とグラム陰性の*Serratia*に同定できた。このうちの大部分は*Bacillus*と*Micrococcus*に属するものであった。これら同定株は、この種の食品から常時分離されるものである。

*Bacillus*属の121株は、8菌種に分類され*B. subtilis*は64株と最も多く、ついで*B. licheniformis*、*B. megaterium*、*B. cereus*が優勢で、この傾向は多くの報告例^{5,9,10)}とよく一致していた。

食中毒原因菌と注目されている*B. cereus*について生物型を調べたところ、すべての菌株は澱粉分解能を有し神保ら¹¹⁾の生物型I型に型別され、広く自然界に分布するタイプであった。

また、*Micrococcus*属の64株は、3菌種に分類され、大部分は*M. varians*と*M. luteus*で自然界に分布する非病原性のものであった。

あん類からは*Micrococcus*属の菌株が優勢に分離さ

Table 1. Results of Bacteriological Examination, pH and Water activity (Aw) of retail Foods tested

Foods	No. of Sample	Grade of Standard Plate Counts (SPCs)/g										pH Range	Aw value
		<10 (%)	10 (%)	10 ² (%)	10 ³ (%)	10 ⁴ (%)	10 ⁵ (%)	10 ⁶ (%)	10 ⁷ (%)	10 ⁸ (%)			
Bean Jam "AN"	2					1* (50.0)					1* (50.0)	6.6~6.7	0.97~0.98
Fresh	12			10 (83.3)		2 (16.7)						6.6~6.7	0.93~0.96
Dehydrated	7			2 (28.6)	5 (71.4)							6.2~6.3	0.92~0.97
Subtotal	21			12 (57.0)	5 (23.8)	3 (14.3)					1 (4.8)		
Sauces	15	15 (100)										3.8~4.2	NT
Instant Coffee	11	9 (81.8)		2 (18.2)								5.1~5.2	NT
Dehydrated Miso Soup	10			1 (10.0)	4** (40.0)	1** (10.0)	2 (20.0)	1 (10.0)			1** (10.0)	NT	0.68~0.75
Dehydrated Soup	9		3 (33.3)	3 (33.3)	3** (33.3)							NT	0.69~0.71
Chinese type	9		2 (22.2)	2** (22.2)	4 (44.4)		1 (11.1)					NT	0.69~0.70
Japanese type	3				3 (100)							NT	0.70~0.71
Subtotal	21		5 (23.8)	5 (23.8)	10 (47.6)		1 (4.8)						
Seasonings "kayaku"	10			1** (10.0)	4** (40.0)	4** (40.0)	1 (10.0)					NT	NT
Total	88	24 (27.2)	5 (5.7)	19 (21.6)	25 (28.4)	8 (9.0)	4 (4.5)	1 (1.1)	1 (1.1)	1 (1.1)			

NT; Not tested, *: Samples which was detected Coliforms, **: Samples which was detected *B. cereus*.

Table 2. Bacterial Species of the Isolates from Retail Foods Tested

Bacterial Species	Bean Jam "AN"	Dehydrate Miso Soup	Instant Coffee	Dehydrate Soup	Seasoning "kayaku"	Total
<i>Bacillus subtilis</i>	2	19	7	31	5	64
<i>B. licheniformis</i>	2		2	13	3	20
<i>B. Megaterium</i>		9	2	1	6	18
<i>B. cereus</i>		4		3	3	10
<i>B. coagulans</i>		3				3
<i>B. pumilus</i>		3				3
<i>B. firmus</i>		2				2
<i>B. circulens</i>				1		1
Total	4	40	11	49	17	121
<i>Micrococcus luteus</i>	15			13		28
<i>M. varians</i>	10			13	9	32
<i>M. roseus</i>				3	1	4
Total	25			29	10	64
<i>Serratia marcescens</i>					14	14
Coryneform	2			2		4
<i>Streptococcus</i> spp.					3	3

Table 3. Acceptance rate of Foods tested in case of Provisional Standard comprise Bacterial total plate counts and Coliforms

Foods	No. of Sample tested	Acceptance rate	
		< 50,000/g·Coliforms(-)	< 100,000/g·Coliforms(-)
		(%)	(%)
Bean Jam	21	19 (90.5)	19 (90.5)
Sauces	15	15 (100.)	15 (100.)
Dehydrated Miso Soup	10	6 (60.0)	6 (60.0)
Instant Coffee	11	11 (100.)	11 (100.)
Dehydrated Soup	21	20 (95.2)	20 (95.2)
Seasoning	10	7 (70.0)	9 (90.0)

れた、粉末みそ汁やインスタントコーヒーからは *Bacillus* 属の菌株のみが検出された。一方、粉末スープおよびかやく類からは *Bacillus*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Coryneforms* など、幅広い菌種が分離された。

考 察

以上、市販の6品目の食品を対象に細菌汚染の実態について調査した結果を要約し、従来一般食品に定められている細菌学的基準にどの程度適合するかについて検討し、まとめたものが Table 3 である。Table 3 では一般生菌数 50000/g 以下・大腸菌群陰性と 100000/g 以下・大腸菌群陰性の場合での合格率を示した。

ソース類やインスタントコーヒーでは、現行基準としては比較的厳しいと思われる一般生菌数 50000/g 以下・大腸菌群陰性の基準にも 100% 適合することがわかった。これは坂上ら⁸⁾の指摘するようにソース類はほとんど低 pH (3.5)、低 Aw (0.90)、高糖度および高塩分 (7%) という特性から保存料無添加でも長期保存が可能であるという成績や、宇田川ら⁶⁾の真菌試験において 100% 真菌非検出という成績などからみて、ソース類に関しては特に厳しい品質管理が必要とは思われない。またインスタントコーヒーについても金子ら⁹⁾の成績のように製品の特性から同様に、あえて微生物基準設定の必要性がないものと考えられる。

あん類では、この基準に約91%が適合されるが、露

木ら^{4,5)}の指摘によれば，あん類特に無糖のものは含水率は高く，更に Aw 0.98 と高いので腐敗が早く品質劣化が起こりやすい製品であるので，製品の微生物学的基準は勿論のこと，厳しい製造保存基準の導入が必要と思われる。

粉末みそ汁では，対象食品のうち最も合格率は低く60%の結果であったが，この種の製品に使用される原料のみその種類，熟成程度によって微生物フローラや菌数が異なるため，製品中の菌数のみをもって製品の評価をはかることは不都合が生ずる。例えば， $10^8/g$ の菌数を示した粉末みそ汁は納豆入りのもので，原料中の納豆菌 (*B. subtilis* var *natto*) が製品の主要菌叢を占め，有用菌を汚染菌として誤った判断に導くことにもなり，基準設定においてはこのような背景を十分ふまえて検討すべきであろう。

今回対象としたみそ汁，スープ，かやく類の乾燥食品 (14検体) から，近年食中毒起因菌として注目されているセレウス菌が検出されたことは品質的に問題であるが，菌数は 100~500/g と比較的少数であったこと，分離株の性状は食中毒原性の弱いタイプであったこと，またこれら食品は低い Aw を有する乾燥品で細菌の増殖には悪環境であることや，これら製品は熱湯をかけ短時間内に喫食し，長く放置しない点などから，特に本菌による食中毒発生の危険性は少ないように思われる。しかし乍ら金子ら⁹⁾の指摘のように乾燥食品では，乾燥前の衛生状態が製品まで影響を及ぼすため，原料の品質向上と品質管理は最も重要なこととして，軽視してはならないであろう。

ま と め

細菌学的規格基準設定のため，あん類，ソース類および乾燥食品など6品目88検体について細菌汚染調査を行ない，つぎのような成績を得た。

あん類 (21検体) の細菌数は $10^2\sim 10^7/g$ に分布し検体の70%は 5000/g 以下であった。2検体から大腸菌群のみが検出されたが，その他の検体からは大腸菌群，ブドウ球菌，セレウス菌は検出されなかった。ソース類 (15検体) の細菌数はすべてが 300/g 以下

で，勿論，大腸菌群，ブドウ球菌，セレウス菌は陰性であった。

乾燥食品中の粉末みそ汁 (10検体)，粉末スープ (21検体) インスタントコーヒー (11検体) およびかやく類 (10検体) の細菌数の分布は，それぞれ $10^2\sim 10^8/g$ ， $10\sim 10^5/g$ ， $<10\sim 10^3/g$ および $10^2\sim 10^5/g$ であった。これらの検体からは大腸菌群およびブドウ球菌は検出されなかった。しかしセレウス菌は14検体から，100~500/g の菌数レベルで検出された。

これら検体の構成菌種は *Bacillus*，*Micrococcus*，*Serratia*，*Coryneforms*，*Streptococcus* で，そのうち *Bacillus* 属は優勢でそのうち *B. subtilis* が優先菌種であった。

今回の調査成績に現行基準 (一般生菌数 50000/g 以下・大腸菌群陰性) を適応するとあん類では91%，ソース類では 100%，乾燥食品中の粉末みそ汁では60%，粉末スープでは95%，インスタントコーヒーでは 100%，かやく類では70%が適合した。

本調査研究は昭和58年度厚生省環境衛生局食品衛生調査費によって実施した。

文 献

- 1) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針〔1〕検査法別，p. 87 (1973)，日本食品衛生協会，東京
- 2) Cowan, S. T., K. J. Steel: *Manual for the identification of Medical Bacteria* (1967) Cambridge University Press, England
- 3) 厚生省食品保健課・乳肉衛生課・食品化学課共編：食品衛生関係法規集，p. 5646 (1974)，中央法規出版株式会社，東京
- 4) 露木英男ら：日大農獣医学部学術研究報告，33，379 (1976)
- 5) 露木英男ら：同上，33，389 (1976)
- 6) 宇田川俊一ら：衛生試報，102，144 (1984)
- 7) 宇田川俊一ら：同上，102，147 (1984)
- 8) 坂上正人ら：食品衛生研究，31，215 (1981)
- 9) 金子精一ら：Bull. of Azabu Vet. Coll., 24，103 (1972)
- 10) 潮田 弘ら：東京衛研年報，32-1，115 (1981)
- 11) 神保勝彦ら，東京衛研年報，34，69 (1983)
- 12) FDA: *Bacteriological Analytical Manual for Foods* (1976)

テヒドロ酢酸, ソルビン酸およびそれらの併用時の
急性経口毒性に関する研究

内田雄幸・内藤克司・安原加寿雄・大場 栄・佐藤千百合
下温湯シヅ・小林和雄・戸部満寿夫

Studies on the Acute Oral Toxicity of Dehydroacetic Acid, Sorbic Acid
and Their Combination Compound in Rats

Osayuki UCHIDA, Katsushi NAITO, Kazuo YASUHARA, Sakae OHBA, Chiyuri SATO,
Shizu SHIMONURI, Kazuo KOBAYASHI and Masuo TOBE

The acute oral toxicity of dehydroacetic acid (DHA), sorbic acid (SA) and their combination (in male; DHA 1: SA 8, in female; DHA 1: SA 6.2), used as food additives, was studied in male and female Slc: Wistar rats. LD₅₀ values were found to be 1.50 g/kg and 1.45 g/kg in DHA males and females, and 12.50 g/kg and 9.60 g/kg in SA males and females, respectively. Also the LD₅₀ value of the combination was 9.40 g/kg in males and 7.50 g/kg in females. The toxicity of the combination was evaluated by both GADDUM's diagram and FINNEY's mathematical model for additive joint toxicity. A simple additive effect was indicated in both cases.

(Received May 31, 1985)

緒 言

食品添加物の2剤あるいは多剤併用時の安全性に関する研究の一環として、ラットを用いてデヒドロ酢酸(以下DHA)およびソルビン酸(以下SA)の併用時の急性毒性試験を行った。

DHAは、主に乳製品(バター、チーズ発酵乳、乳酸菌飲料など)の保存料として、またSAは水産物、畜産物(肉類)および農産物などの保存料として使用されている。

SAは、FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会で1日の許容量が0~12.5 mg/kg、条件付の範囲では12.5~25 mg/kgとして設定されている¹⁾。一方、DHAは、わが国でのみ食品添加物として使用され、食品1 kg中に0.5 gを最高添加量とする使用基準が決められている²⁾。しかし、併用時の安全性については研究報告が見当たらない。

今回、ラットを用いてDHAとSAの併用時の急性経口毒性試験を行い、併用時の効果についてGADDUMの方法³⁾およびWHO⁴⁾が紹介しているFINNEYの数学的モデル式⁵⁾を用いて検討した。

実験材料および実験方法

実験の遂行のための手順としては、先ず使用する

DHAおよびSAの単味の毒性を把握するとともに、併用試験のための混合割合を決めるために、DHAおよびSAの急性毒性試験を行い、次いで併用試験を行った。

1. DHAおよびSAの急性毒性試験

1.1. 検体

DHAは、日本合成化学工業株式会社製(Lot. No. 81027)を、またSAは武田薬品工業株式会社製(Lot. No. FC-09-001)のもので、いずれも食品添加物用として市販されているものを使用した。

1.2. 動物

静岡県実験動物農業協同組合産の5週齢のSlc: Wistar (SPF) ラット雄雌を用いた。なお、検体投与に先立つ16時間前に除餌し、投与6時間後に給餌した。水は、投与直前まで自由に摂取させ、投与後6時間を経過した時点で再び与えた。

1.3. 検体の調製および群

検体の調製は、DHAおよびSAともに水に不溶のため、メノウ製ボールミルで磨砕し、5%アラビアゴム液で、DHA 20%懸濁液、SA 40%懸濁液に調製し、それぞれTable 1, 2に示すように、1群8匹の動物に投与用量ごとに金属製胃管を用いて1回強制経口投与した。また、対照群には検体投与群の最高投与容量と同じ量のアラビアゴム液を投与した。

Table 1. Dose and Mortality (DHA)

(Male)					
Dose (g/Kg)	No. of animals dead (days)				Mortality
	1	2	3	7	
0.00	0	0	0	0	0/8
0.68	0	0	0	0	0/8
0.92	0	0	0	0	0/8
1.24	1	1	0	1	3/8
1.67	5	2	0	0	7/8
2.25	6	0	1	0	7/8
3.04	8				8/8
4.10	8				8/8

(Female)					
Dose (g/kg)	No. of animals dead (days)				Mortality
	1	2	3	7	
0.00	0	0	0	0	0/8
0.68	0	0	0	0	0/8
0.92	0	0	0	0	0/8
1.24	1	0	0	0	1/8
1.67	6	1	0	0	7/8
2.25	8				8/8
3.04	8				8/8

1.4. 観察期間

投与後7日間観察を行い、その期間中に死亡した動物数を記録し、また死亡した動物と7日間生存した動物について、剖検した。

1.5. LD₅₀の計算および2剤の用量-反応直線の平行性の検定。

実験期間中に死亡した動物をもとに Litchfield-Wilcoxon 法⁶⁾に従って行った。

1.6. 2剤併用時の予想 LD₅₀ (predicted LD₅₀)

FINNEY の併用毒性の数学的モデル式

$$\frac{1}{Z} = \left(\frac{1}{Z_a}\right)\pi_1 + \left(\frac{1}{Z_b}\right)\pi_2$$

Z: 予測 LD₅₀

Z_a: 検体 a の LD₅₀

Z_b: 検体 b の LD₅₀

π₁, π₂: 検体 a, b の混合割合

(π₁+π₂=1 とする)

を用いた。

2. DHA と SA の併用時の急性毒性試験

2.1. 実験材料および方法

検体の調製および併用毒性の評価を除いては、DHA

および SA の単味の急性毒性試験の方法に準じて行った。

2.2. 検体の調製: 2剤の混合割合は、単味の急性毒性試験で LD₅₀ を算出した際に使用した用量-反応直線から、2剤のそれぞれの LD₂₅ を求め、それに対応する用量比を以って混合割合とした。すなわち、DHA および SA のそれぞれの LD₂₅ は、雄 1.20 g/kg および 9.60 g/kg、雌 1.35 g/kg および 8.40 g/kg であり、それぞれの比は雄 1:8、雌 1:6.2 であった。

混合検体は、メノウ製ボールミルで磨砕し、5%アラビアゴム液で40%懸濁液として Table 3 に示すように1群8匹からなる8段階の投与用量を設定し、それぞれ金属製胃管を用いて1回強制経口投与した。その他に対照群を設け、検体投与群の最高投与容量と同じ量の5%アラビアゴム液を投与した。

2.3. 併用毒性の評価

2剤併用時の作用については、GADDUM の図式 (Fig. 1) による評価および単味の急性毒性試験の結果を用いて FINNEY の数学的モデル (予測 LD₅₀ の算

Table 2. Dose and Mortality (SA)

(Male)					
Dose (g/Kg)	No. of animals dead (days)				Mortality
	1	2	3	7	
0.00	0	0	0	0	0/8
3.76	0	0	0	0	0/8
5.08	0	0	0	0	0/8
6.86	1	0	0	0	1/8
9.26	1	0	0	0	1/8
12.50	4	0	0	0	4/8
16.88	8				8/8

(Female)					
Dose (g/Kg)	No. of animals dead (days)				Mortality
	1	2	3	7	
0.00	0	0	0	0	0/8
3.76	0	0	0	0	0/8
5.08	0	0	0	0	0/8
6.86	1	0	0	0	1/8
9.26	1	1	0	0	2/8
12.50	7	0	0	0	7/8
16.88	8				8/8

出式)を利用した CARPENTER らの判定基準 (予想 LD₅₀/実測 LD₅₀, P/O) に従って評価した。

評価基準: antagonism addition potentiation
CARPENTER <0.5 0.5~2.0 >2.0

註: 数値は P/O

実験結果

1. DHA および SA の単味の急性実験

1.1. 一般状態

DHA を投与したものでは、雄雌の各群ともに、投与後25~30分頃から腹臥状態を呈し、流涙および流涎などが認められた。死亡の発現は、雄では早いもので投与後3時間目頃より、また雌では4時間目頃より見られ、多くの動物は24時間以内に死亡した。

一方、SA を投与した群では、雄雌ともに鎮静以外、特記すべき症状の発現は認められなかった。また、死亡の発現は、雄雌ともに投与後50分頃より認められ、DHA 投与群と同様に殆ど24時間以内に生死が決した。なお、7日間の観察期間中に死亡した動物は、Table 1 および 2 に示すとおりである。

1.2. 剖検所見

死亡動物: DHA および SA 投与群ともに全動物の胸腺、肝臓および肺に軽度ないし著明な充・鬱血、胃粘膜の点状出血および糜爛が認められた。また、DHA を4.10 g/kg 以上投与した雄で、精巣周囲の血管の怒張が著明に認められた。

殺処分した動物: DHA および SA の雄雌ともに変化はみられなかった。

1.3. LD₅₀ および平行性の検定

DHA および SA の LD₅₀ は、Table 4 に示すように DHA の雄 1.50 g/kg、雌 1.45 g/kg、また SA は雄 12.50 g/kg、雌 9.60 g/kg であった。

DHA および SA の用量-反応直線の平行性の検定の結果は、雄では平行性が認められたが、雌では DHA の slope function の値が小さいため検定はできなかった。

FINNEY の式を用いて DHA および SA 併用時の予測 LD₅₀ を計算したところ次のとおりであった。

Table 3. Dose and Mortality (combination)

(Male)					
Dose (g/Kg)	No. of animals dead (days)				Mortality
	1	2	3	7	
0.00	0	0	0	0	0/8
6.70	0	0	0	0	0/8
7.40	2	0	0	0	2/8
8.10	1	0	1	0	2/8
9.00	3	0	0	0	3/8
9.90	5	0	0	0	5/8
10.80	7	0	0	0	7/8
11.90	8				8/8
13.10	8				8/8

(Female)					
Dose (g/Kg)	No. of animals dead (days)				Mortality
	1	2	3	7	
0.00	0	0	0	0	0/8
5.90	0	0	0	0	0/8
6.50	2	0	0	0	2/8
7.20	4	0	0	0	4/8
7.90	7	1			8/8
8.70	6	1	0	0	7/8
9.60	8				8/8
10.50	8				8/8

雄： 予測 $LD_{50} = \frac{1}{\frac{0.107}{1.50} + \frac{0.893}{12.50}}$
 $= 7.00 \text{ g/kg}$

雌： 予測 $LD_{50} = \frac{1}{\frac{0.139}{1.45} + \frac{0.861}{9.60}}$
 $= 5.38 \text{ g/kg}$

2. DHA と SA の併用実験

2.1. 一般状態

雄：対照群および検体投与群ともに投与後まもなく動作が緩慢となり，10.80 g/kg 以上の群では，流涙および軟便の排泄がみられ，なかには強直性痙攣を来し死亡する例が認められた。死亡の発現は，投与後50分頃からみられ殆どの動物が24時間以内に死亡した。

雌：一般状態は，雄と同様に投与後まもなく動作が緩慢となり，9.60 g/kg 以上投与した群では強直性痙攣を示し死亡する例がみられた。死亡の発現は投与後

1時間目頃より24時間以内に認められた。なお，死亡経過および死亡動物数については Table 3 に示す。

2.2. 剖検所見

観察期間中死亡した動物を解剖したところ，各群の雄雌ともに胸腺，肺および肝臓に軽度の充・鬱血を，胃および小腸粘膜に軽度の点状出血ならびに漿膜面に血管の怒張が認められた。その他の臓器では，殆ど変化を認めなかった。

また，観察期間中生存した動物は，7日目の観察を終了した後に殺処分して肉眼的検査を行ったが，いずれの群の動物にも変化はみられなかった。

2.3. LD_{50}

7日間の観察期間中に死亡した動物数 (Table 3 参照) を用いて LD_{50} を求めたところ，雄では 9.40 g/kg (95%信頼限界 8.89~9.95 g/kg)，雌では 7.50 g/kg (95%信頼限界 6.82~8.23 g/kg) であった。

2.4. 併用毒性の評価

GADDUM の図式に基づいて DHA と SA の併用

Table 4. LD₅₀ of DHA, SA and their combination

Compound	Sex	LD ₅₀ (g/kg) (95% confidence limits)	Slope function (95% confidence limits)
DHA	male	1.50 (1.26~ 1.79)	1.35 (1.23~1.47)
	female	1.45 (1.28~ 1.64)	1.13
SA	male	12.50 (10.00~15.63)	1.42 (1.27~1.59)
	female	9.60 (7.70~11.90)	1.27 (1.17~1.54)

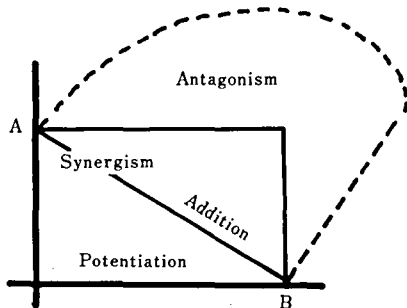
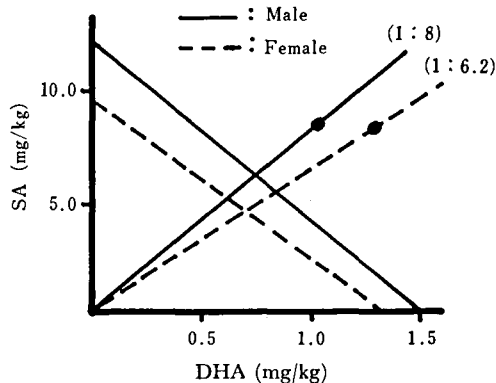


Fig. 1. Diagram of antagonism, addition and potentiation (proposed by GADDUM)

Fig. 2. LD₅₀ of the mixture (male; DHA 1: SA 8, female; DHA 1: SA 6.2) was plotted

時の効果をみると Fig. 2 に示すように、雄雌ともに相加線よりもやや上方にあり、その効果は相加作用を示すものであった。

また、FINNEY の式を使用した CARPENTER の評価基準に従って評価すると、P/O は次のとおりであった。

$$\text{雄: } 7.00/9.40=0.745$$

$$\text{雌: } 5.38/7.50=0.718$$

この値は、CARPENTER らの区分のうち相加を示す 0.5~2.0 の範囲にあり、相加作用を示すものであった。

考 察

食品添加物は、保存料、殺菌料、発色剤、漂白剤、甘味料、着色料および酸化防止剤など、使用目的によって約18種類に区分され、それぞれ使用基準が設定されている。しかし、これらの使用基準は、各添加物の単味の安全性試験の結果に基づいて設定されたものである。今日、食品添加物は1品目の食品中に数種類の併用使用が行われていることが多く、2種類あるいはそれ以上の多剤併用時の危険性が予測されるにもかかわらず、その安全性の確認が殆ど行われていない。このことは、未だに併用時の毒性試験法および評価法が確立されていないことも一つの要因となっているもの

と考える。

薬理的には、多剤併用時の作用を調べるために、一般に GADDUM の方法が用いられることが多い。今回は、GADDUM の関式と FINNEY の数学的モデルの式を用いて、DHA と SA の 2 剤併用時の作用について検討した。

DHA および SA 単味の急性経口毒性試験における LD₅₀ 値は、DHA; 雄 1.50 g/kg, 雌 1.45 g/kg, SA; 雄 12.5 g/kg, 雌 9.60 g/kg であった。これらの値は、文献値 (DHA の場合は DHA-Na を含む)⁹⁻¹³⁾ と略一致するものであった。

DHA および SA の併用時の急性毒性試験を行う際の DHA と SA の混合の割合は、それぞれの LD₂₅ 値に対応する量の比、すなわち雄で 1:8, 雌で 1:6.2 の割合とした。

2 剤の混合方法については、LD₅₀ 値同志を混合する方法^{7,8,14-16)} あるいは一つの検体の量を固定し他の一方の量を変える方法¹⁷⁾ などで行われている報告がある。

今回の実験では、LD₂₅ 値同志混合した実験であるが、2 剤の用量-反応直線の検定で雄では平行性が認められたことから、雌では理論的には LD₅₀ 値同志を

混合したものと同一であると考えられる。しかし、雌では今回使用した Litchfield-Wilcoxon 法による平行性の簡易検定では、DHA の slope function の値が小さく平行性の計算はできなかった。

GADDUM および FINNEY の方法を利用するためには、本来二直線は平行でなければならないとされている。SMYTH らは27種類の化学物質の併用毒性試験について報告しているが、平行性の検定を行わずに FINNEY の式を用いて評価している。そこで、今回の実験で平行性の検定ができなかった雌についても雄と同じように評価を試みた。

DHA と SA の併用時の LD₅₀ 値は、雄では 9.40 g/kg、雌では 7.50 g/kg であった。この値を用いて併用時の効果を評価すると、GADDUM の方法では雄雌共に相加作用の範囲に、また FINNEY の式で計算すると雄では 0.75、雌では 0.72 であり、CARPENTER の評価基準のうち相加に相当する 0.5~2.8 の範囲内にあることが明らかであった。

SMYTH らは、予測 LD₅₀/実測 LD₅₀ の値の評価について、27種類の化学物質 350 組について実験を行ったところ、殆どが 0.4~2.7 の範囲のものであり、0.4 以下および 2.7 以上のものは稀な出現であるとしている。2 剤併用時の毒性の評価については、研究者によってなお異論があり、確立された方法が提出されていない。今回の実験成績は、現在の代表的な併用効果の評価法とみなされている GADDUM および FINNEY の両方法共によく一致する成績を示し、両者の有用性を示唆するものと考えられ、従ってデヒドロ酢酸とソルビン酸の併用時の効果をみると、相加作用と見做されるものであると考える。

結 語

5 週齢の Slc:Wistar ラット雄雌を用いて、食品添加物の DHA と SA の単味およびこれらの併用時の急性経口毒性試験を行ったところ、次の結果が得られた。

DHA および SA の LD₅₀ は、雄で DHA; 1.50

g/kg, SA; 12.50 g/kg, 雌では DHA; 1.45 g/kg, SA; 9.60 g/kg であった。

DHA および SA の併用投与した時の LD₅₀ は、雄; 9.40 g/kg, 雌; 7.50 g/kg であった。また、GADDUM の図および FINNEY の数学的モデル式から、併用時の作用を評価すると、よく一致した成績が得られ、いずれの場合も相加作用と評価されるものであった。

文 献

- 1) FAO/WHO: FAO Nutr. Meetings Rep. Ser. No. 40 ABC WHO/ Food Add./ 67.29, (1967)
- 2) 食衛誌: 26 No. 1, p. 102 (1980)
- 3) J. H. Gaddum: Pharmacology, 5th edition, p. 504 (1959)
- 4) WHO: Environmental Health Criteria 6; Part 1, p. 29 (1978)
- 5) D. J. Finney: Probit analysis, 3rd edition, Cambridge University Press (1971)
- 6) J. T. Litchfield, Jr. and F. Wilcoxon: *J. Pharm. Exp. Therap.*, 99~113 (1949)
- 7) H. F. Smyth, Jr. et al.: *Toxi Toxicol. Appl. Pharm.*, 14, 340~347 (1969)
- 8) C. P. Carpenter et al.: *JAN.-FEB.*, 9, 1, 30~39 (1961)
- 9) H. C. Spencer et al.: *J. Pharm. Exp. Therap.*, 99, 57~68 (1950)
- 10) Y. Ikeda et al.: 未発表
- 11) 大沢京子, 鍋木瞭応: 日薬理誌, 48, No. 2, 109~110 (昭和27年)
- 12) 柴田鉄郎: 千葉大学腐敗研究所報告, 5, 5~17 (1952)
- 13) 相磯和嘉, 柳沢文徳: 千葉大学腐敗研究所研究, 7, 1~5 (1954)
- 14) K. P. Dubois: A.M.A. *Archives of Industrial Health*, 18, 488~496 (1970)
- 15) H. F. Smyth et al.: *Toxicol Appl. Pharm.*, 17, 498~503 (1970)
- 16) 平賀興吾ら: 東京衛研年報 22 別冊, 231~249 (1870)
- 17) 小林主一: 東邦医学雑誌, 25, No. 4, 635~649 (1978)

引用文献頻度からみた外国雑誌の利用状況
—1979～1983年の衛生試験所報告より—

竹中祐典・佐藤美恵子*

Pattern of Foreign Journal Utilization as seen from Frequency of Citations
—From the Bulletins of National Institute of Hygienic Sciences (1979～1983)—

Yusuke TAKENAKA and Mieko SATOH*

The pattern of the foreign journal utilization was studied from a study of the number of citations used as bibliographical references in various reports published in the Bulletin of NIHS during the last 5 years. From the viewpoint of the subject areas of the journals, more than half of the citation frequencies were covered by journals of biology and medical sciences. About 85% of the total citation frequencies were covered by a little less than half of all journals cited, but a little more than half of all journals cited were necessary to fill the rest of the 15% of total citation frequencies.

Highly cited journals included 31 which covered about 58% of the total citation frequencies, and the annual citation frequencies from them were relatively balanced. Correlation between the research fields in our institute and subject areas of the journals cited by these research fields was fairly good, and citations from all 5 subject areas of journals (biology, pharmacy and pharmacology, medical sciences, chemistry, and sciences: comprehensive works) were observed in reports in the research fields of biology and foods.

(Received May 31, 1985)

はじめに

研究機関の所蔵雑誌が、その機関の知的生産の最重要資源の一つであることは言を待たない。しかしながら、雑誌、特に外国雑誌、の価格の高騰、あるいは新雑誌の相継ぐ創刊は、限られた図書購入費の活用に難題を提供し、多くの機関が雑誌購入に関して何らかの対応を迫られているのが現状である。その対策として、引用文献の分析から雑誌の利用状況を把握する計量書誌学的手法の導入^{1,2)}、または配点による購入希望雑誌順位決定方式の設定³⁾、などが図書館学関連雑誌に散見される。

当所においても、昭和59年度図書委員会の下に外国雑誌利用調査ワーキンググループを設置し、所蔵外国雑誌の利用状況アンケートと購入希望外国雑誌アンケートを実施するとともに、前者については文献の引用頻度に基づく外国雑誌利用状況の調査、後者については簡略な配点方式の採用、を併せて行い所蔵外国雑誌の継続購入の可否と新規購入外国雑誌の選定の最終的な意志決定をした。

これらの調査作業は時間の不足もあり十分に画策されたものではないが、今後の検討の素材とするため、ここでは引用文献頻度の分析による当所の外国雑誌利用状況の一端を紹介する。

調査対象と方法

衛生試験所報告第97号(1979年)から第101号(1983年)の5年間分に掲載された総説、報文、ノート、資料および特別研究報告で外国雑誌から書誌事項が引用されているもの117篇を調査対象とし、その文献欄に引用されている外国雑誌からの文献の引用頻度を雑誌ごとに手作業で集計し、引用文献頻度に基づいて当所の試験研究業務における外国雑誌の主題分野別利用傾向、情報源としての外国雑誌の必要情報の集中と分散の度合い、引用文献頻度の高い外国雑誌についての年度別引用頻度ならびに雑誌の主題分野と当所の業務分野との相関関係などを調査した。

用いた外国雑誌略名は Serial Sources for the BIOSIS Data Base Vol. 1984 に、外国雑誌の主題分野別分類⁴⁾は ULRICH's International Periodicals Directory 15th Ed. 1973～1974 に準拠した。

* 日本公定書協会

Table 1. Numbers of journals cited and citation frequencies, classified by subject areas of journals

Degree of citation frequencies	Classification of journals by subject areas							Summation			
	B	M	P	C	S	E	Total	Numbers of journals		Citation frequencies	
	a (b)	a (b)	a (b)	a (b)	a (b)	a (b)	a (b)		Ratio		Ratio
More than 5	10(113)	7(81)	7(89)	4(59)	3(52)	0(0)	31(394)	31	15.1%	394	57.7%
4	6(24)	2(8)	1(4)	2(8)	1(4)	1(4)	13(52)	44	21.5	446	65.3
3	5(15)	8(24)	4(12)	1(3)	1(3)	1(3)	20(60)	64	31.2	506	74.1
2	13(26)	11(22)	5(10)	3(6)	1(2)	3(6)	36(72)	100	48.8	578	84.6
1	39(39)	31(31)	13(13)	17(17)	2(2)	3(3)	105(105)	205	100	683	100
Total	73(217)	59(166)	30(128)	27(93)	8(63)	8(16)	205(683)				
Ratio of citation frequencies, classified by subject areas	%(32)	(24)	(19)	(14)	(9)	(2)	(100)				

Subject areas of journals: B=Biology, C=Chemistry, E=Environmental Studies, M=Medical Sciences
 P=Pharmacy and Pharmacology, S=Sciences; Comprehensive Works
 a=Numbers of journals, (b)=Citation frequencies

調査結果と考察

1. 引用雑誌数と引用頻度

5年間に引用された外国雑誌総数は205誌、引用文献頻度は683である。

2. 雑誌の主題分野別引用頻度と情報源としての雑誌の情報の集中・分散の傾向

ULRICH の主題別分類により 205 誌を生物学 (B)、化学 (C)、環境 (E)、医学 (M)、薬学と薬理学 (P) および科学一般 (S) に分類し；それぞれの主題分野での引用雑誌数と引用頻度を集計すると Table 1 のようになる。

雑誌を主題分野別にまとめてみると、引用頻度の高低は Table 1 のとおり生物学系 (32%) > 医学系 (24%) > 薬学と薬理学系 (19%) > 化学系 (14%) > 科学一般 (9%) > 環境系 (2%) の順になる。生物学系と医学系の雑誌群の引用頻度比率を合せると56%で、当所の試験研究業務が生物医学系の情報を求める分野で優勢を占めることの一端を示している。

一方、引用頻度の順位の高い雑誌群から順に雑誌数と引用頻度を加算し、全雑誌数と全引用頻度に占める割合をそれぞれ%で示したのが Table 1 の累積数で、その累積数の比率からみると上位31誌 (15.1%) で全引用頻度の57.7%を占め、100誌 (48.8%) で84.6%を占めている。すなわち、全引用雑誌の半数弱で全引用頻度の8割5分を占めるのに対し、残る1割5分の引用を充すのにさらに半数強の雑誌を必要としている。この関係を図示すると Fig. 1 となる。

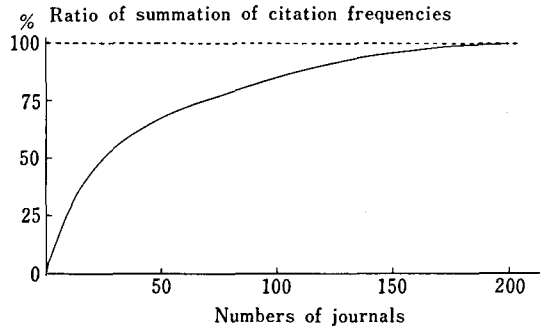


Fig. 1. Relation between ratio of summation of citation frequencies and numbers of journals cited

必要とする情報の雑誌別にみた集中と分散の度合い Fig. 1 のような曲線を描くのは経験的な法則とされている²⁾が、Fig. 1 を Table 1 と対比してみると、当所では必要情報が比較的集中している雑誌の主題分野は科学一般および薬学と薬理学系で、分散しているのは環境、医学、生物学および化学系となる。

3. 多引用頻度雑誌の利用状況

引用頻度が5回以上の雑誌は Table 1 のとおり31誌 (生物学系10誌、医学系7誌、薬学と薬理学系7誌、化学系4誌および科学一般3誌) で、全引用頻度の57.7%を占めている。この31誌を多引用頻度雑誌とし、その雑誌略名リストを引用頻度の高い順に、年度別引用頻度とともに Table 2 に示す。

年度により引用頻度にかんがりの変動のある雑誌も数種あるが、概して年度別の引用頻度は平均化している

Table 2. Detail of highly cited journals

Ranking	Abbreviated name of journals	Subject areas	Citation frequencies	Summation of citation frequencies	Ratio	Citation frequencies by year				
						1979	1980	1981	1982	1983
1	J. PHARM. SCI.	P	39	39	5.7%	11	1	3	5	19
2	MUTAT. RES.	B	36	75	11	3	18	11	6	1
3	NATURE (LOND.)	S	28	103	15.1	3	6	8	7	4
4	J. ASSOC. OFF. AGRIC. CHEM.	C	21	124	18.2	7	4	5	1	4
5	J. NAT. CANCER INST.	M	20	144	21.1	1	1	12	5	2
6	FOOD COSMET. TOXICOL.	M	18	162	23.7	1	1	8	7	1
7	ANAL. CHEM.	C	17	179	26.2	5	3	5	1	3
8	J. BIOL. CHEM.	B	17	196	28.7	4	5	3	2	3
9	SCIENCE (WASH. DC)	S	17	213	31.2	1	4	7	2	3
10	J. CHROMATOGR.	C	16	229	33.5	2	2	7	1	6
11	J. EXP. MED.	M	14	243	35.6	2	1	2	5	4
12	CANCER RES.	M	12	255	37.3		4	5	1	2
13	PROC. SOC. EXP. BIOL. MED.	B	12	267	39.1		2	2	8	
14	TOXICOL. APPL. PHARMACOL.	P	12	279	40.8		3	3	6	2
15	J. AGRIC. FOOD CHEM.	B	11	290	42.5		1	5	3	
16	ARZNEIM. FORSH.	P	10	300	43.9	1		6	3	
17	BIOCHEM. J.	B	9	309	45.2	2		3	4	
18	J. PHARM. PHARMACOL.	P	8	317	46.4	5			2	1
19	BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA	B	7	324	47.4	1	2		1	3
20	J. AM. PHARM. ASSOC. SCI. ED.	P	7	331	48.5	2	1	1	1	2
21	J. PHARMACOL. EXP. THER.	P	7	338	49.5	4	2			1
22	PROC. NAT. ACAD. SCI. U.S.A.	S	7	345	50.5		2	1		4
23	ARCH. INT. PHARMACODYN. THER.	P	6	351	51.4		2	2		2
24	J. HYG.	M	6	357	52.3	3	3			
25	LANCET	M	6	363	53.1	1	2	3		
26	STAIN TECHNOL.	B	6	369	54			2	2	2
27	APPL. ENVIRON. MICROBIOL.	B	5	374	54.8				5	
28	CHEM.-BIOL. INTERACT.	B	5	379	55.5	3	1	1		2
29	J. CHEM. SOC. (LOND.)	C	5	384	56.2			3		
30	TERATOLOGY	B	5	389	57		2	1	1	1
31	Z. KREBSFORSCH.	M	5	394	57.7			4	1	

× Journal not owned by National Institute of Hygienic Sciences
 Subject areas of journals: for B, C, M, P and S, see footnote of Table 1

Table 3. Relation between citation frequencies of journals classified by subject areas and research fields

Subject areas of journals	Research fields					Ratio
	Pharmaceuticals	Foods	Living environment	Biology	Total	
B	5 (4%)	17 (15%)	0	91 (81%)	113 (100%)	29%
P	41 (46%)	14 (16%)	0	34 (38%)	89 (100%)	23%
M	0	26 (32%)	0	55 (68%)	81 (100%)	20%
C	12 (20%)	35 (59%)	5 (9%)	7 (12%)	59 (100%)	15%
S	4 (8%)	12 (23%)	0	36 (69%)	52 (100%)	13%
Total	62	104	5	223	394	100%

Figures in the Table: without parentheses=Citation frequencies

in parentheses=Ratio of citation frequencies of each research field to total citation frequencies in each subject areas of journals

Subject areas of journals: for B, C, M, P and S, see footnote of Table 1

といえる。引用頻度の高い上位5種の雑誌がそれぞれ主題分野を異にしていること、および科学一般に属する雑誌 (NATURE) が第3位という上位を占めていることは興味ある点である。

次に、この31誌を主題分野別に分類し、それぞれの主題分野の雑誌からの引用頻度と当所の各業務分野とがどのような相関関係にあるかをみると、Table 3 および Fig. 2 のようになる。業務分野の分類は当所将来計画 (1979.4) の業務を構成する分野 (大阪支所を含む) による。

まず、この31誌の主題分野別分類による引用頻度の順位は生物学系 (29%) > 薬学と薬理学系 (23%) > 医学系 (20%) > 化学系 (15%) > 科学一般 (13%) で、2. に示した全引用雑誌 205 誌の主題分野別分類による引用頻度の順位からみると医学系雑誌群と薬学と薬理学系雑誌群とが入れ替っており、環境系雑誌群は落ちている。ここで薬学と薬理学系雑誌群と医学系雑誌群の順位が入れ替っているのは、2. でも述べたように薬学と薬理学系雑誌群では必要情報がかなり集中しているのに対し、医学系雑誌群では広く分散していることを意味している。

文献を引用する雑誌の主題分野と当所の業務分野との関連は、当然のことながら生物学系雑誌群の引用は生物系分野の業務で優勢を占め、薬学と薬理学系雑誌群は医薬品関連分野で、また医学系雑誌群は生物系分野で優勢を占めており、化学系雑誌群は食品関連分野で、また科学一般の雑誌群は生物系分野で優勢を占めている。生物系分野と食品関連分野の業務では5つの主題分野のすべてから広く引用しており、医薬品関連分野では医学系雑誌群からの引用がなく、また生活関

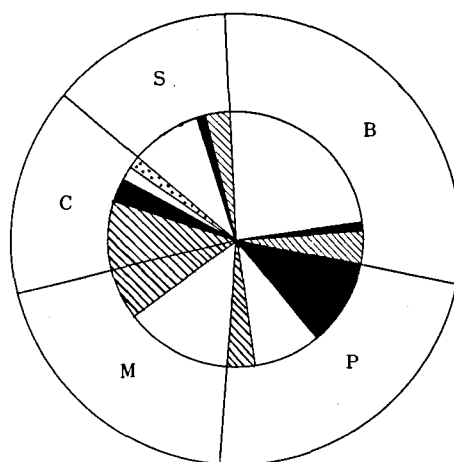


Fig. 2. Relation between citation frequencies of journals classified by subject areas and research fields.

Subject areas of journals: B=Biology, P=Pharmacy and pharmacology M=Medical sciences, C=Chemistry, S=Sciences: Comprehensive Works

Research fields □=Biology
 ■=Pharmaceuticals
 ▨=Foods
 ▩=Living environment

連分野では化学系雑誌群からの引用にとどまっている。

最後に、引用頻度中で同一文献の引用がどの程度かを、Table 2 中の当所の所蔵しない3誌のみについて調べてみた (Table 4)。

これらの3雑誌は何れも引用頻度6であるが、J. HYG. は3文献が2回、ARCH. INT. PHARMA-CODYN. THER. では2文献が3回、STAIN TE-

Table 4. Detail of citation frequencies of three journals

Abbreviated name of journal	Detail of citation by year														Total				
	1979			1980			1981			1982			1983						
	i)	ii)	iii)	i)	ii)	iii)	i)	ii)	iii)	i)	ii)	iii)	i)	ii)	iii)	i)	iv)	v)	
ARCH. INT. PHARMACODYN. THER.					152,277 (1964)	a		152,277 (1964)	b					152,277 (1964)	a		6	2	2
			2		111,409 (1957)	a	2	111,409 (1957)	b				2	111,409 (1957)	a				
J. HYG.	73,433 (1974)	c		73,433 (1974)	c														
	3	78,69 (1977)	c	3	78,69 (1977)	c										6	3	1	
		76,319 (1976)	c		76,319 (1976)	c													
STAIN TECHNOL.								1,123 (1926)	d	2	1,123 (1926)	e	2	1,123 (1926)	e		6	1	4
								1,123 (1926)	e		1,123 (1926)	f	2	1,123 (1926)	g				
Total	3			5			4			2			4			18	6	7	

i) = Citation frequencies, ii) = Bibliography of article cited, iii) = Code of author citing,
 iv) = Numbers of article cited, v) = Numbers of author citing
 a, b, c, d, e, f, g = Code of head author citing the article

CHNOL. に至っては1文献が6回引用されていた。これを引用者数からみると、J. HYG. は1人が3文献を2回、ARCH. INT. PHARMACODYN. THER. は1人が2文献を2回、他の1人が同じ2文献を1回、また STAIN TECHNOL. は1人が1文献を3回、他の3人が同じ1文献をそれぞれ1回引用している。このように、引用文献頻度から雑誌の利用状況を推定するには、被引用文献とその引用者の異同を確定しなければ実態を把握し得ないこともある。

おわりに

当所の試験研究結果は衛生試験所報告以外に多くの外部の諸雑誌に報告されているので、それらの報告での引用頻度までを調査対象としなければ引用文献頻度からの雑誌利用状況の推定は正確を期し得ない。また、文献の引用には至らない一般および専門的知識の獲得に多くの雑誌が利用されていることも事実である。

しかしながら、衛生試験所報告に掲載された報文だけでなく、広く総説、ノート、資料および特別研究報告に引用された文献を調査対象としているので、当所における日常の試験研究業務での外国雑誌の利用状況の趨勢は把握できたと考える。今後は、電算機を利用したより大規模かつ計量的な調査を実施し、当所における雑誌利用状況のより正確な把握を期したい。

文 献

- 1) 原田 勝: *Library and Information Science*, **12**, 104 (1974)
- 2) 木野内滋子, 佐多正子, 矢島秀夫: 薬学図書館, **28**, 105 (1983)
- 3) 大井 紘, 猪爪京子, 坂下和恵, 増田啓子: *Library and Information Science*, **21**, 121 (1983)
- 4) 山崎茂明, 裏田和夫: 日本生理学雑誌, **46**, 209 (1984)

市販の各種デキストリン中に含まれる還元糖（デキストロース・エキ バレント）の試験法について

伊阪 博・櫛谷真美・長谷川隆一・小室徹雄

Determination of Reducing Sugars (Dextrose Equivalent) contained in Various Commercial Dextrins

Hiroshi ISAKA, Mami KUSHIYA, Ryuichi HASEGAWA and Tetsuo KOMURO

The reducing sugar contents in various commercial "Dextrin" and reagent dextrin were compared by using the color reaction method with the iodine test solution, and the relationship between the color intensity and reducing sugar contents was studied. As the result, we propose that quantitative analysis in addition to the color reaction test should be carried out in determining the content of reducing sugars.

Furthermore, GPC/HPLC analysis showed that the high reducing activity in "Dextrin" was due to low molecular oligosaccharide concomitants.

(Received May 31, 1985)

日局「デキストリン」は医薬品添加剤として古くから繁用され、酵素法による製造法が普及するにつれて、還元糖高値の製品が多く流通するようになり、今日に及んでいる。

「デキストリン」には還元糖の試験法・規格がなく、二、三の試験法を検討し、市販品の還元糖値の測定を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料, 試薬, 試液

測定に用いた試料は「デキストリン」8種, JIS 特級デキストリン2種である。試薬・試液はそれぞれの項に記したほか、日局10の一般試験法にしたがって調製した。

2. 還元糖試験法（ウイルシュテッター・シューデル法）

本品を105°Cで4時間乾燥し、その約0.5gを精密に量り、水30mlを加えて加温し、よく振り混ぜる。冷後、0.1Nヨウ素液25mlを正確に加え、振り混ぜながら、0.1N水酸化ナトリウム液30mlを2~3分間で加え、よく振り混ぜた後、栓をして20分間室温で暗所に放置する。ついで希塩酸30mlを加え穏やかに振り混ぜ、0.1Nチオ硫酸ナトリウム液で滴定する（指示薬：デンプン試液3ml）。同様の方法で空試験を行う。還元糖を計算するとき、その量は18.0%以下（FCC III¹⁾の規定値）である。

0.1Nヨウ素液1ml=9.008mg C₆H₁₂O₆

3. その他の還元糖測定法

ベルトラン法は衛生試験法²⁾、フェーリング・レーマン・シヨール法はFCC IIIの方法を準用した。

4. GPC/HPLCによる分子量分布

試料の1%水溶液を試料溶液とした。マルトヘプタオース(C₇)、マルトヘキサオース(C₆)、マルトペンタオース(C₅)、マルトテトラオース(C₄)などオリゴ糖（シグマ社製）、デキストラン9000、17900など（シグマ社製）のそれぞれ1%水溶液を対照溶液として検量線を作成した。固定相はTSK gel G 6000 PW-G 3000 PW（それぞれ7.5mm I.D.×60cm）およびTSK gel G 2000 PW（7.5mm I.D.×60cm）を用いた。水を移動相として、注入量100μl、流量はそれぞれ0.5、1.0ml/min、常温でGPC/HPLCを行った。装置はWaters' M-3000ポンプ、TSK RI-8示差屈折計を用いた。

実験結果および考察

1. ヨウ素試液による確認試験の色調と還元糖の測定値

その色調判定と還元糖値および参考値として乾燥減量の値をTable 1に示した。試料3は淡黄褐色となり、不適品と判定せざるを得ない。その還元糖値はベルトラン法で17.2%、他の方法で20%以上を示した。還元糖値が低くなるにしたがって色調は赤紫色が濃くなり、還元糖量と色調は大略対応するように観察された。なおベルトラン法が低値を示すのはアルコール前

Table 1. Identification, loss on drying and reducing sugars of "Dextrin"

Sample Number	Identificaiton (Color by Iodine TS)	Loss on Drying (%)	Reducing Sugars%(as Glucose)		
			Bertrand	Willstätter- Schudel	Fehling-Lehmann- Schoorl
1	light red-purple	7.49	1.09	7.12	7.08
2	light purple-red	7.05	3.29	10.54	10.95
3	light yellow-brown	6.67	17.20	22.98	23.68
4	light red-brown	6.25	9.34	17.51	18.10
5	light red-purple	7.24	0.50	3.03	3.02
6	light purple-red	9.81	3.20	5.72	4.84
7	light red-purple	9.80	0.62	3.06	1.20
8	light red-brown	3.92	17.69*	17.80	18.74
9	light red-brown	3.77	15.06*	15.07	16.33
10	light red-purple	0.23	2.74*	5.14	3.19

* Without alcohol treatment

Table 2. Statement of identification of "Dextrin" in Pharmacopoeia of Japan

5th Edition	6th Edition	7th Edition	8-10th Edition
the solution iodine TS purple-vermilion	the solution(1:1000) 1 drop of iodine TS purple-red	the solution(1→1000) 1 drop of iodine TS light purple-red	0.1 g in 100 ml water 5 ml of the filtrate 1 drop of iodine TS light red-brown or light red-purple

Table 3. Comparison of reducing sugars test of "Dextrin" on various official publications

FCC III 1981 p 96	USP XXI. NF XVI 1985 p 1375 (Reagents)	Chin.P.(People's Republic) 1977 p 726	JIS K8646 1961 Special grade	1961 1st grade
Fehling-Lehmann- Schoorl	Bertrand	Bertrand	Bertrand	
less than 18.0 %	less than approx. 5 %	less than approx. 9 %	less than 5.0 %	less than 6.0 %

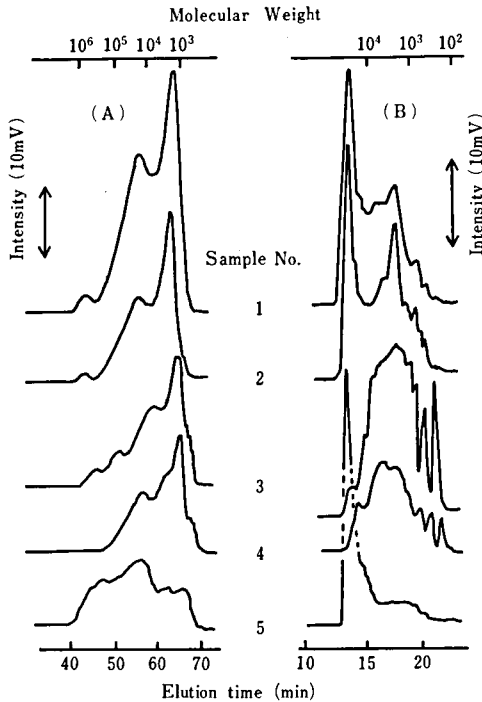


Fig. 1. Gel partition chromatograms of commercial dextrin for TSK gel G6000PW-G3000PW(A), or TSKgel G2000PW(B) column system.

Conditions: mobile phase, water (room temp.); flow rate, (A) 0.5 ml/min, (B) 1.0 ml/min; detector, RI-range 256, 100 mV; injection, 100 μ l of 1% of solution.

処置によるためである。

ウイルシユテッター・シューデル法は JAS の「結晶ぶどう糖」, 局外規の「水アメ」³⁾などに採用されている。ペルトラン法は「D-マンニトール」その他に採用されているが、「デキストリン」中に含まれる還元糖試験法としては操作が簡便なウイルシユテッター・シューデル法が妥当と考える。

Table 2 に日局の確認試験の色調判定の変遷をまとめた。この変遷はデキストリンの培焼製造法がアミラーゼによる酵素製造法へと移行し、酵素法が普及する途上で、医薬品添加剤を使用するユーザー側の「デキストリン」の色（白色または淡黄色）、分子量分布、還元糖量その他、物理化学的特性上の需要指向により、種々の製品が供給され、品質の幅の広がりをもたらした結果と考えられる。したがって Table 1 にみられるように、確認試験の色調判定が淡赤紫色から淡赤褐色となり、還元糖はウイルシユテッター・シューデル法で 3% から 18% の値を示した。「デキストリン」の還元糖の過量は必ずしも医薬品添加物としての有用

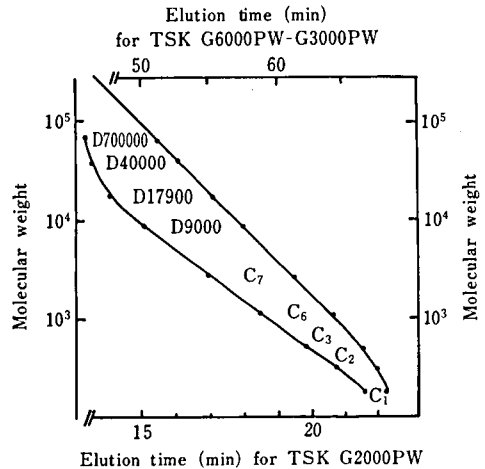


Fig. 2. Semi-logarithmic plots of molecular weight of maltosaccharides and dextrans versus elution time by TSK gel G6000PW-G3000PW, or TSK gel G2000PW column system. The conditions were the same as in Fig. 1.

C1,2~C7: glucose, maltose~maltoheptaose
D-9000~D-70000: dextran-9000~70000

性の向上に寄与するとは限らず⁴⁾, Table 3 の公定書にみられる還元糖の規定値が 5% 前後にあることは注目に値し、その分子量分布、粘度も重要な示性値と考えられる。また還元糖値 18.0% 以下 (FCC III の規定値) が妥当であるかどうか、今後の検討にまたねばならない。

2. 分子量分布

Fig. 1 に試料のクロマトグラム, Fig. 2 に分子量分布の検量線に示した。Fig. 1-A) は高分子量域のクロマトグラムで、試料 5 は推定分子量 10000 以上が主成分であることを示し、色調判定で赤紫色を呈した。低分子量域は Fig. 1-B) で示され、試料 3), 4) では C₂, C₃ のオリゴ糖を多量に検出した。これらは還元糖高値に寄与していることを示し、またその過量は色調が淡黄褐色になることを意味する。一般にデキストリンとはデンプンの分解物で、低級のオリゴ糖を除く分解中間段階生成物の総称で $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$ で表すとされている。オリゴ糖などの GPC については数多くの報告⁵⁾があり、Toyopearl HW40 による試料中のオリゴ糖の精密なクロマトグラムを得ることはできなかったが、TSK gel G 2000 PW により試料 3), 4) などから低級オリゴ糖を検出したことから、純度試験に還元糖を設定する必要性を認めた。

結 論

市販「デキストリン」および試薬デキストリンのヨ

ウ素試液による色調と還元糖値を測定し、その関連性を考察し、品質評価のための色調判定に加えて、還元糖測定による数値化判定の必要性を提案した。またGPC/HPLCにより、還元性を示す低級オリゴ糖を検出し、その理由付けを行った。

文 献

1) *Food Chemicals Codex, 3rd Ed.*, p. 96(1981), National

Academy Press

- 2) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, p. 169 (1980) 金原出版
- 3) 厚生省薬務局審査課監修: 日本薬局方外医薬品成分規格 1983追補, p. 285
- 4) 日本公定書協会: 第九改正日本薬局方解説書, p. D-697 (1976), 広川書店
- 5) T. Nakakuki K. Kainuma: *J. Jap. Soc. Starch Sci.*, **29**, 27 (1982)

業 務 報 告

Annual Reports of Divisions

昭和59年度業務概況

所長 鈴木郁生

行財政の改革が推進されている中、本年度も引き続き歳出予算の抑制（マイナスシーリング）、定員削減計画の実施、技能労務職員等の採用抑制等が行われたほか、昭和56年に法制化された公務員の定年制が本年度から施行され、当所においても年度末には最終的に4名の定年退職者があった。原則としてその後補充が認められない状況のもとで、法制化以来の関係者の協力による対応等により、結果的には定員削減計画分の減のみにとどめられたのは、極めて厳しい状況の中であって、幸いなことであった。

58年度後半以来行政改革推進のための具体的方策の一環として、全所員の協力を得て実施してきた当所の自主点検は、副所長をはじめ関係各委員等の精力的な努力により、本年度一杯をかけてその成案を得ることができた。

この結果、ますます発展、多様化していく国民生活に対応して、当所が保健衛生の維持向上のためその使命を果たしていくためには、一部業務の改廃・委譲、所内運営の効率化、増員、施設の増改築等や試験の省略化・自動化・コンピューターの一層の利用を含めた試験研究のレベル向上、めまぐるしい科学技術の進歩に対応できるよう所員の研修、優れた人材の確保等が必要であること、また医薬品、食品、生活関連、生物系等々それぞれの分野における今後の課題が具体的に明確になった。

これらの課題等の具体化には多くの困難を伴うことは容易に予想されるが、できるだけ早期の実現を念頭において努力していく必要がある。この場合、本年11月、科学技術会議が政府に行ったいわゆる11号答申（「今後10年間における科学技術政策の基本的方向を示す答申」）を受けてその対応についての議論が高まり、今後国立試験研究機関を取り巻く諸条件が大きく

変化していくことも予想されるので、当所においてもこの自主点検を土台として現行体制にこだわることなく組織体制の抜本的な検討を進めていく必要があると考える。

官民あげての「対がん10か年総合戦略」に基づき、前年度から準備を進めてきた細胞バンク事業は、（財）がん研究振興財団よりのレジデントも受け入れ、予定どおり10月から一部業務を始めた。予定された3号館の改修工事が若干遅れたため、現行体制での本格的な運営は60年1月からとなったが細胞株の収集等も予定どおり進めることができ、3月からは米国から研究者1名の参加を得るなど順調なスタートを切ることができた。60年度には組織増員の強化も予定されており、今後とも細胞バンク事業を含め、癌制圧に関する研究は恒久的な課題として取り組んでいく考えである。

当所の国際関係業務はますます増大する一方でであり、本年度も国際環境計画（UNEP）、WHOの国際化学物質安全性評価計画（IPCS）への積極的な協力を中心に数々の国際交流、技術協力等が推進された。

60年3月WHOからデ・コーニング、中村正久両博士が来訪され、UNEPがWHOと連携し行う新たな事業HEALs（Human Exposure Assessment Locations＝特定地域における有害物質の人体暴露評価計画）について説明が行われた。

これは、GEMS（世界環境監視システム）が実施している健康関連モニタリング計画の一部として、世界各地に約15地点（都市）をHEALsとして選定し、空気、食品、飲料水からどれ位環境汚染物質を人体が摂取しているかを定量して人体暴露量を把握するとともに人体組織および体液中の環境汚染物質を定量して蓄積量を明らかにしようとするもので、日本の参加が強く要請された。当所としても60年度以降本格的にかか

わらざるを得ないことも予想されるので、60年4日末にジュネーブで開催される HEALs の会議に参加し、状況を判断することになっている。

また、技術協力として当所が深くかかわってきたインドネシア共和国国立医薬品食品品質管理試験所の実験棟(4,000 m²)の建設が、60年3月に完成したことは同慶の至りである。今後はこの実験棟を活用し、忍耐強く技術協力を進める考えである。引き続きフィリピンにおいても FDA の建物および技術協力の要請があり、事前調査(JICA 担当)に斎藤行生部長、武田寧室長を60年1月末マニラへ派遣した。このほかインドネシア共和国の医薬品事情調査のため国際厚生事業団の依頼で山羽力部長が60年2月同国を訪問し調査を行っている。さらにスリランカでの製薬工場建設について JICA の依頼で原田正敏部長が60年3月はじめコロomboへ出張した。

施設の整備に関しては、細胞バンク施設整備のため3号館の改修、改装工事を行ったほか、資源有効活用の観点から処理水再利用設備工事を行い、更に大阪支所図書室の内外装工事等も実施した。

全国衛生化学技術協議会の第21回年会は9月27日、28日山口県衛生研究所の主催により山口県教育会館で開催された。特別講演としては「発癌プロモーターについて」(当所林裕造病理部長)および「ビタミン研究の思い出」(藤原元典京都府衛生公害研究所長)が行われ、また「衛生化学検査における精度管理」について内山充薬品部長から特別報告があり、多数の参加者を得て盛会裏に終わった。

最後に、当所の第17代所長(昭和45.11~昭和51.11)である川城巖先生が60年3月3日急逝された。

先生の御功績、御遺徳を偲び、謹んで御冥福をお祈り申し上げます。

総 務 部

部 長 池 上 忠 義
前部長 渡 邊 登

1. 組 織

昭和59年度は、新たな組織は認められなかったが、昭和60年度組織定員要求において、安全性生物試験研究センター変異原性部に細胞保存研究室(仮称)の新設(60年10月1日から)が認められた。

なお、59年度等級別定数改訂要求により研究職2等級から研究職1等級へ1名、切上が認められた。

2. 定 員

昭和58年度末の定員は300名であったが第6次定員削減計画に基づき行政職(一)1名、研究職3名、計4名の定員削減により、昭和59年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)49名、行政職(二)36名、研究職209名、計296名となった。

なお、昭和60年度は、さきに述べた、細胞保存研究室(仮称)の定員として研究職1名(6か月)の増員が認められている。

3. 予 算

昭和59年度予算総額は、2,769,383千円で前年度の2,596,115千円に比較して173,268千円の増額となった。

増額の内容は、「対がん10か年総合戦略事業」に基づく細胞バンク設置に係る研究用設備整備費164,159千円の新規予算額の計上、標準品製造費についてウロキナーゼ、カリジノゲナーゼ2品目の追加による1,589千円の増額、その他人件費等の増額が主な経費である。

移替予算については、148,941千円で前年度の187,760千円に比較して総額で38,819千円の減額となったが、新規テーマとしては国立機関原子力試験研究費において2課題(①標識化合物を用いた化粧品品の安全性試験法の開発研究5,309千円 ②放射滅菌による新医療用高分子材料の安定性に関する研究4,893千円)、国立機関公害防止等試験研究費において1課題(水域環境変異原物質の生物評価に関する研究9,481千円)が認められた。

なお、昭和59年度事項別予算は別表のとおりである。

4. 施設整備費

(1) 厚生本省試験研究所施設整備費

昭和59年度は処理水再利用設備整備工事(45,219千円)および「対がん10か年総合戦略事業」に基づく細胞バンク施設整備工事(43,272千円)を行った。

(2) 各所修繕費(特別修繕費)

大阪支所図書室模様替工事2か年計画(昭和58年度~59年度)の今年度分(2,287千円)として内装、建具および塗装工事を行った。

5. その他

昭和59年度における部長職以上の人事異動は次のとおりである。

(59.4.1付)

所 長	鈴木 郁生(副所長)
副 所 長	谷村 顕雄(食品添加物部長)
薬 品 部 長	内山 充(食品部長)
生物化学部長	山羽 力(医化学部長)

資料 昭和 59 年度 予算額

区 分	昭和58年度 (A)	昭和59年度 (B)	対前年度比 増△減額 (B)-(A)	備 考
	(千円)	(千円)	(千円)	
(組織)厚生本省試験研究機関	2,408,355	2,620,442	212,087	
(項)厚生本省試験研究所	2,210,795	2,380,770	169,975	
人 件 費	1,578,537	1,626,153	47,616	
人 当 経 費	7,654	7,587	△ 67	
一般事務経費	38,640	38,711	71	
研 究 費	223,090	222,884	△ 206	
特別研究費	16,247	16,247	0	1. 医薬品、食品添加物等安 全性評価のための新技術利 用と評価基準の確立に關す る研究 (7,110千円) 2. 遺伝子組換え等の新技術 により生産される高分子医 薬品の品質試験法の開発研 究 (9,137千円)
標準品製造費	6,770	8,359	1,589	
安全性生物試験研究センター運営費	215,292	215,292	0	
薬用植物栽培試験場運営費	104,151	104,133	△ 18	
情報活動運営費	13,831	13,466	△ 365	
施設管理事務経費	6,583	6,579	△ 4	
対がん10か年総合戦略経費	0	121,359	121,359	
(項)血清等製造および検定費	151,181	151,181	0	
一般事務経費	12,415	12,415	0	
事 業 費	138,766	138,766	0	
(項)厚生本省試験研究所施設費	46,379	88,491	42,112	1. 処理水再利用設備整備工 事 (45,219千円) 2. 対がん10か年総合戦略用 施設整備工事(43,272千円)
(移 替 予 算)				
(組織)厚生本省試験研究機関	187,760	148,941	△ 38,819	
(項)国立機関原子力試験研究費	58,199	53,745	△ 4,454	
(項)放射能調査研究費	6,493	5,789	△ 704	
(項)国立機関公害防止等試験研究費	123,068	89,407	△ 33,661	
合 計	2,596,115	2,769,383	173,268	

食 品 部 長	齋藤 行生(食品部食品第三室長)	種子島薬用植物栽培 試験場事務取扱解除	鈴木 郁生(所長)
医 化 学 部 長	田中 彰(医化学部医化学第一室長)	(59.12.1)	
大阪支所薬品部長	伊坂 博(大阪支所薬品部薬品第一室長)	療 品 部 長	中村 晃忠(療品部家庭用品第一室長)
種子島薬用植物栽培 試験場長	葵 一八(九州農業試験場)	大阪支所薬理微生物 部長	川崎浩之進(大阪支所薬理微生物部衛生微生物室長)
生物化学部併任解除 辞 職	山羽 力(医化学部部長) 下村 孟(所長)	筑波薬用植物栽培試験 場長	佐竹 元吉(筑波薬用植物栽培試験場育種生理研究室長)
薬品部長事務取扱解 除	鈴木 郁生(所長)	筑波薬用植物栽培試験 場長併任解除	原田 正敏(生薬部長)
食品添加物部長事務 取扱	谷村 顕雄(副所長)	辞 職	大場 琢磨(療品部長)
大阪支所薬品部長事 務取扱解除	加納晴三郎(大阪支所長)	大阪支所薬理微生物 部長事務取扱解除	加納晴三郎(大阪支所長)

(60.1.1)

環境衛生化学部長	武田 明治	(食品部食品第一室長)
食品添加物部長	義平 邦利	(環境衛生化学部長)
大阪支所食品部長	伊藤 啓志男	(大阪支所食品第一室長)
辞 職	倉田 浩	(衛生微生物部長)
辞 職	原田 基夫	(大阪支所食品部長)
衛生微生物部長事務取扱	谷村 顕雄	(副所長)
食品添加物部長事務取扱解除	谷村 顕雄	(副所長)

合成化学研究部

部長 神谷 庄造

概要

本年度は特に目立ったことはなかったが、過去数年間に本流を第一として進めてきたために、その間残してきた多くの新知見が報文としてまとまりだし、実り多い年となった。また、ホルムアルデヒド、パラジクロルベンゼン、多環芳香族ニトロ化合物、標識化合物の合成、抗腫瘍試験などに関する所内共同研究ならびに協力研究において当部の専門技術をもとにして実績をあげることができた。

ここ数年間に実施した各種抗腫瘍性ニトロ尿素誘導体の抗腫瘍性発現機構に関する化学的ならびに生物学的研究より次のことがいえる。ある生理活性物質の作用発現機構を知るためには、その化合物と各種の生体高分子のモデル化合物との化学反応となるべく生理条件に近い状態で試み、得られる複数の成績体の生成機構を検討すればその化合物の作用機構がかなり正確に推定できる。この際、実験上最も重要なことはモデル化合物の溶解性であり、適当なモデル化合物の選考はむづかしい。

研究業績

1. 生理活性物質の合成と化学反応に関する研究
抗腫瘍性ニトロ尿素誘導体の合成研究の過程で、 N^1 , N^3 モノならびにジ置換尿素誘導体のニトロ化における配向性に関して新知見が得られた。特に窒素複素環尿素誘導体のニトロ化においては、ニトロ化剤の種類による生成物の特異性が他の尿素誘導体のニトロ化に比べて大である。(→学会発表1)

当部で合成された多くのニトロ尿素誘導体の中で、特に1-ニトロソ-1-フェニル-3-(4-ピリジルメチル)尿素類が各種の試薬に対して多様な反応様式を示すこと

が分った。すなわち、室温でアルコール類と相当するカルバミン酸エステルを、またナトリウムアジドとはフェニルアジド誘導体をいずれも90%以上の収率で与え、本化合物群はフェニルアジドニウム類の発生源として合成に広く応用できる試薬であることを示した。次いで、これら1-ニトロソ-1-フェニル-3-(4-ピリジルメチル)尿素類の化学反応性と実験腫瘍 AH-13 に対する抗腫瘍活性が平行することを示した。(→学会発表2)

また、尿素誘導体のニトロソ化においてニトロソ化剤としてイソアミルナイトライトを用いると従来生成しないとされていたニトロソ尿素異性体が生成する。(→学会発表3)

3,3-ジアルキル-1-ニトロソ-1-(2-トリル)尿素類は室温で分解し3,3-ジアルキル-1-(2-トリル)トリアツェンとなり、またその4-トリル尿素体は相当するトリアツェンのほか3,3-ジアルキル(2-ニトロ-4-トリル)尿素を生成する。(→誌上発表1) また、このトリアツェンへの変換反応の反応機構を明らかにする目的で数種のトリ置換ニトロソ尿素類を合成し、種々の条件下での分解反応を試み新知見を得た。(→学会発表4)

2-ハイドロキシエチル尿素誘導体を亜硝酸ナトリウム+酸およびニトロシルクロリドの系でニトロソ化すると、閉環体のN-ニトロソ体である3-ニトロソ-2-オキサゾリジノン誘導体となる。本閉環反応の反応機構とその応用について報告した。(→誌上発表2) これらの3-ニトロソ-2-オキサゾリジノン誘導体の抗腫瘍性についてはすでに報告済みである。

汚染大気中に含まれるニトロ多環芳香族炭化水素類の化学的研究の一環として、多環芳香族炭化水素類のうち、3環系炭化水素類のニトロ化における配向性を検討した。含窒素3および4環系化合物のニトロ化においては、生成するニトロ化合物の酸化反応が同時に進むので、生成物の分離ならびに実際の気場の場での結果との比較・検討がむづかしい。

2. 生理活性物質の作用発現に関する化学的研究
「ホルムアルデヒドの毒性発現に関する化学的研究」のつづきとして、ジペプチドであるカルニシンとホルマリンの反応をさらに検討した。カルニシン1分子はホルムアルデヒド4分子と反応するが、4分子目のホルムアルデヒドの結合様式がわからないので検討中である。

毒性部の「昇華性化学物質の吸入毒性に関する研究」において、防虫剤「パラジクロルベンゼン」の化学的研究を分担している。今回、パラジクロルベンゼ

ンの生体内で予想される酸化反応を検討する目的で各種の酸化剤との反応を試み、予想される酸化成績体である2,5-ジクロルフェノールの生成の有無を調べた。用いた酸化剤は、過マンガン酸ナトリウム、過酸化水素-希水酸化ナトリウム (Dakin 酸化)、スーパーオキシド、コバルト(II)-テトラフェニルポルフィリン錯体-酸素、肝ホモジナイズまたは肝スライスなどである。このうち、より生体系に近いと考えられるスーパーオキシドによる酸化と肝スライスを用いた酸化ではわずかながら酸化成績体である2,5-ジクロルフェノールの生成が認められた。今後、活性中間体と考えられるエポキシド体の生成について検討しなければならない。(生活衛生局企画課へ報告)

当部で合成された多くの抗腫瘍性ニトロソ尿素誘導体を、そのAH-13およびL-1210に対する抗腫瘍性のパターンによって三種に分類し、それぞれの化合物群における化学活性種について検討した。また、特にすぐれた抗腫瘍性を示した1-(2-chloroethyl)-1-nitroso-3-(3-pyridyl-methyl) urea N-oxideについて、AH-13とL-1210細胞に対する殺細胞性およびDNAのsingle strand scissionやcross-linkを示すalkaline elution patternを確認し、その作用機作を推定した。(→学会発表5)

新合成物質の抗腫瘍性についてはすでに報文とした研究の合成部分について報告した。〔衛生試験, 101, 119(1983); 同, 102, 105(1984)〕

3. 筑波薬用植物栽培試験場のニチニチソウのRiプラスミド感染細胞におけるアルカロイドに関する研究でP388細胞によるバイオアッセイを担当した。

薬品部の研究に協力してN¹⁵ラベルイソニアジドを合成した。そのほか、他部より要請のあった各種の物理常数の計算、有害化学物質の分解・除毒法、各種スペクトルの測定と解析などについて協力した。

当部より2名が委員として日本薬局方、日本薬局方外医薬品成分規格、医薬品添加物規格(局外規第2部)、化粧品原料基準などの各種委員会に参加させられているが、それぞれの規格水準の差、同一品目異称、試薬・試液の不統一、一般試験法の違い、など多くの問題点があり、委員として困惑を感ずることが多い。最近、食品添加物公定書や化粧品原料基準の取載品が医薬品添加物として用いられるケースが多くなってきており、特に規格水準の差が問題である。

薬 品 部

部 長 内 山 充

概要

国家検定品目が一部改訂され、また一般薬の承認審査も段階的に地方に委譲されつつあるが、当部における医薬品の品質確保と新開発製剤の評価のための試験研究は、新剤型に由来する副作用や無許可あるいは偽和医薬品の出現という最近の状況にかんがみ、ますます効率化して諸般の要請に応えうるよう充実される必要がある。

60年3月に、緒方宏泰第一室長が明治薬科大学教授に転出した。

業務成績

1. 国家検定

ブドウ糖注射液496件、リンゲル液4件(うち1件はpH不適)、塩酸エタンブトールおよび同錠109件、プロチオナミド4件、および避妊薬32件、計645件であった。なお、本年をもって抗結核薬は国家検定品目から削除された。

2. 特別審査試験

新薬87件、かぜ薬・解熱鎮痛薬114件の計201件につき試験した。

3. 一斉取締試験

ビタミンEカプセル、同錠、ATP腸溶錠、サリチル酸メチル含有パップ剤およびアスピリン含有内服固形剤につき総計233件を試験した。パップ剤に25件中1件、アスピリン剤に143件中5件の不適が見出された。

4. 特別行政試験

あへんの試験は国産15件、輸入51件、けしのアルカロイド(モルヒネ、コデイン、テバイン)定量試験は延485件であった。瘦身効果を謳った健康食品からフロセミドの証明、「アスコンプ」に係る真贋判定試験、硫酸ビンクリスチンの定量試験などを行った。

5. その他

インドネシア医薬品品質管理およびフィリピン食品医薬品局強化のための技術協力に参加した。局方改正、局外規作成、国際薬局方検討、国家検定制度の検討、地方衛研技術講習会および当所の自主点検に協力した。

研究業績

1. 医薬品の規格および分析法に関する研究

i) 日本薬局方に関連した規格および試験法

エタノールおよびエタノールを含む製剤中の揮発性

混在物試験にヘッドスペース法を応用(薬務局安全課), グリセリン中の不純物の GC による分離(→学会発表19), 注射用蒸留水の酸, アルカリ, 蒸発残分, アンモニウム測定法および限度値の検討(薬務局安全課, →誌上発表21, 学会発表20), フィネトイン散の溶出試験法の検討(薬務局安全課), 腸溶性製剤の崩壊試験法, 試験 pH の検討(薬務局安全課), 麻薬およびその製剤の溶状試験(薬務局安全課)などを行った。

ii) 医薬品の分析化学的研究とその応用

フェノチアジン系精神安定薬の化学構造と HPLC 充填剤に対する親和性ととの相関を検討した(→誌上発表24, 学会発表26)。輸入熱帯病薬スラミン他8品目の定量法を改良し, 含量, 純度, 安定性試験を行った(厚生科学研究, 薬務局審査課)。かぜ薬・解熱鎮痛薬の試験法整備について検討(厚生科学研究, 薬務局審査課)シロップ剤の HPLC(→誌上発表114)につづいて酢酸トコフェロール製剤の迅速分析法を策定した(薬務局監視指導課)

2. 医薬品の物理的・化学的動態と安定性に関する研究

i) 固形医薬品の安定性

安定性に及ぼす湿度, 温度の影響について臭化プロバンテリン, セファレキシンなどを対象として検討し速度論的に考察した。(→学会発表23) アスピリンおよびバルビツール酸関連薬物の安定性に影響を与える配合成分を検索した。発がん実験用飼料中の医薬品の安定性検討を, エテンザミド, ケルセチンについて行った。(厚生省がん研究)

ii) 溶液状態の医薬品の動態と安定性

血液中における塩酸メクロフェノキサート, クロフイブラート, 臭化プロバンテリンの加水分解につき検討した(→学会発表22)。医薬品の溶液と直接包装剤との相互作用につき検討した。ゼオライトのカリウム吸着性とその特異性に関し類薬と比較検討した(→学会発表21)。

iii) リポソームの安定性

血漿によるリポソームの薬物透過性の変化およびエステル化合物とリポソームとの相互作用を検討した(→誌上発表22, 23)。

3. 医薬品の有効性, 安全性に関する薬剤学的研究

i) 経口固形薬剤の生体利用性の検討と溶出試験との相関

ナリジクス酸の生体利用率と溶出試験との相関(→誌上発表7, 8)。フェニトイン散の生体利用率と溶出速度との関連性(厚生科学研究, 薬務局監視指導課)

を検討した。生物学的同等性試験における吸収速度パラメータとしての mean residence time の検出力について考察した(→学会発表17)。メトロニダゾールの生体利用性を唾液中の濃度から解析を試みた(→学会発表13)。

ii) 生体利用性試験に用いる実験動物の検討

ナリジクス酸について血管痙ミニプタを用いて検討し(→誌上発表16), グリセオフルビン製剤およびアスピリン製剤についてビーグル犬や胃内容調整家兎を用いて吸収率などを追跡した(→誌上発表17)。実験動物とヒトとの胃内容排出速度を比較し評価を加えた(→学会発表16)。

iii) 固形薬剤の生体利用性を変動させる要因

胃液酸度簡易検査用剤「GA テスト」の有用性につき検討した(→誌上発表9)。シンナリジンカプセルの生体利用率の胃液酸性依存性(→学会発表11), およびメトロニダゾール糖衣錠の生体利用率の胃液酸度依存性(→誌上発表10, 11)を溶出試験との関連性において論じた。ナリジクス酸の吸収に及ぼす食事の影響について検討した(→誌上発表12)。経口投与後の薬物の非連続吸収のコンピュータ解析を行った(→誌上発表18, 学会発表14)。

iv) 坐薬の有効性, 安全性と放出試験

インドメタシンの水溶性基剤からの放出試験法を検討し, それと生体利用率との関連を解析した(厚生科学研究, 薬務局安全課)。

5. 単クローン抗体を用いた DDS の評価

細胞融合法により得たマウス肺がん細胞に対する単クローン抗体の体内分布と(→学会発表24)抗体-アルブミン小球体結合体の体内分布(→学会発表25)を調べた。

6. 麻薬, 大麻および習慣性薬物に関する研究

i) 覚せい剤およびその代謝物の分析

メタンフェタミンをサルに投与し毛への蓄積を経時的に追跡した(→誌上発表25)。ラテックス凝集阻止反応による尿中覚せい剤の検出と近縁物質による交叉反応性を検討した(厚生省委託研究, 薬務局麻薬課), 覚せい剤と類似のクロマトグラフピークあるいは代謝物を与える薬物を摂取したヒトの尿について, 覚せい剤事犯との鑑別分析法を検討した(厚生省委託研究, 薬務局麻薬課)。

ii) 向精神薬の微量分析

LSD と夾雑する iso-LSD の分離定量法など微量分析法を開発した。(→誌上発表26, 学会発表27)

iii) 向精神剤標準品製造に関する検討

フェニルシクロヘキシル-エチルアミンおよび-ピロ

リジンの合成法、精製法を検討した。

iv) 大麻、けしに関する研究

大麻種子の発芽防止法に高周波加熱を応用し成功した(厚生科学研究, 薬務局麻薬課)。けしのアルカロイド含量に基づく優良系統の選別育種研究に協力した。[衛生試報 102, 117(1984)]

7. その他

塩素系有害物の生化学的毒性学(→誌上発表3, 4, 5, 学会発表9), 発がん性汚染物摂取量の定量的解析(厚生省がん研究, →学会発表8), リスクアセスメントとVSDの推定(対がん10年研究), 加熱油脂とプロオキシダント(文部省科研, →誌上発表6), 新開発食品安全手評価(厚生科学研究, →誌上発表113, 学会発表7, 6)。

生物化学部

部長 山 羽 力

概要

昨年度末からの4号館動物舎のボイラー修理が長引いたため、インシュリンの国家検定の滞貨処理に6月一杯かかった。遺伝子組換え医薬品の実用化に向け各企業が動き出し、それへの対応が忙しくなる。また61年4月の11局改正に備えて副腎ステロイド薬、ビタミンD、Eなどの局方収載予定の標準品の準備・検討も始まる。インドネシアの国立医薬品食品品質管理試験所の設立・強化に伴う技術協力として、7月から3か月間木村室長が標準品製造の指導のためインドネシアに派遣された。また1月初旬より6ヵ月間、同試験所の Mr. Ktut がバイオアッセイの技術修得のため当部で研修を開始した。山羽部長は2月上旬から2週間、国際厚生事業団(JICWELS)の調査団長としてインドネシアの医薬品事情の調査のため訪伊した。人事面では、昭和59年8月1日付で、新見伸吾技官が新規採用され、生物化学第三室に配属された。また、昭和60年4月1日付で内田恵理子技官が新規採用され、生物化学第一室に配属された。

業務成績

1. 国家検定

インシュリン製剤103件および脳下垂体後葉関係製剤58件について検定を行ったが、全件合格であった。

2. 一斉取締試験

スピロラクトン製剤41件について試験を行い、その結果はいずれも合格品であった。

3. 特別審査試験

ホルモン製剤など26件について審査を行った。

4. 一般依頼試験

塩酸チアミン標準液の定量1件を行った。

5. 標準品製造

昭和59年度の標準品製造品目およびその出納状況については、巻末の表を参照されたい。

6. その他

日本薬局方第11改正に伴う業務(薬務局安全課)、医薬品原料規格整備に関する検討(厚生科学研究(神谷班)、薬務局審査課)、高分子膜分離の方法による注射用原料水の製造に関する研究(厚生科学研究(鈴木班)、薬務局経済課)、国家検定対象医薬品および検定規準の改善に関する研究(厚生科学研究(山羽班)、薬務局監視指導課)などに協力した。

研究業務

1. 医薬品の規格および試験法に関する研究

i) ステロイドホルモンの定量法に関する研究

ヒドロコルチゾンとピロールとによる呈色物質の分離・精製を試みた。(→誌上発表27)

ii) ジキタリス配糖体の定量法に関する研究

高速液体クロマトグラフ法によるジゴキシン製剤の定量法および含量均一性試験法を検討した。(委託研究, 日本公定書協会(滝谷班))(→誌上発表28)

iii) スピロラクトンの定量法に関する研究

高速液体クロマトグラフ法によるスピロクラトン製剤の定量法および含量均一性試験法について検討した。(→学会発表29)

iv) 医薬品製剤の迅速分析法作成に関する研究

カリジノゲナーゼ製剤(錠剤)の試験法を検討した。(委託研究, 薬務局監視指導課)(→学会発表33)

v) 生物活性試験等を必要とする医薬品の規格および試験法に関する研究

β -ガラクトンダーゼ、塩化リゾチームおよびカリジノゲナーゼ製剤の規格および試験法について検討した。(→誌上発表32, 33, 学会発表32)

vi) 遺伝子組換え等の新技術により生産される高分子医薬品の品質試験法の開発研究(特別研究)

① 遺伝子組換えにより生産されたヒトインシュリンと、混入が予想される類縁物質との同時分析法について検討した。(→学会発表31)

② 高速液体クロマトグラフ法を用いたヒト成長ホルモンの分析法について検討を加えた。

③ ヒト成長ホルモンの標的細胞としての肝細胞、白血球細胞について、培養条件、測定マーカーの検索を行った。

2. 医薬品の有効性および安定性に関する生化学的

研究

i) ペプチドおよび蛋白質製剤の純度に関する研究
高速液体クロマトグラフ法を用いて、酸性溶液中でのブタインシュリンの安定性および分解物を検討した。(→誌上発表29, 30)

ii) 多形核白血球機能の分子機構ならびに各種薬剤の有害作用発現に関する生化学的研究

モルモット腹腔内浸出多形白血球の食作用に伴う酸素代謝に及ぼす各種抗炎症剤の影響について検討した。

iii) バイオテクノロジーにより生産される医薬品の品質確保に関する研究

モノクローナル抗体製剤、ヒトまたは動物細胞法による製品の品質確保上留意すべき点を検討した。(厚生科学研究(野島班), 薬務局審査課)(→誌上発表115, 116, 117, 学会発表38)

iv) バイオテクノロジーにより生産される医薬品の試験の製造とその性状に関する研究

化学合成したヒト成長ホルモン遺伝子の発現蛋白質の部分精製とその生物活性について検討した。(→学会発表35)

v) 標識化合物の利用による医薬品等の生体免疫機能に及ぼす影響に関する研究

ヒトリンパ球の幼若化反応に及ぼす各種抗炎症剤等の影響について検討した。(→学会発表34)

3. 生体内活性物質の作用機序に関する研究

i) 糖尿病合併症の発症に関する酵素化学的研究

① ケトヘキソースキナーゼの活性測定法の確立を行った。

② 水晶体アルドース還元酵素阻害剤の合成と構造活性相関に関する研究

新たに合成した15種の誘導体の阻害効果から、C-4位にアルキル基を導入すると阻害活性が著しく増強されることが明らかとなった。(→誌上発表31)

③ ペプチドホルモンの作用機序に関する研究

ラット脂肪細胞の遊離条件等について検索した。

4. 標準品に関する研究

i) 化学分析用標準品の品質規格に関する研究

吉草酸ベタメタゾンおよびベタメタゾン標準品の品質規格を設定した。(厚生科学研究(木村班), 薬務局安全課)

ii) 生物活性等試験用標準品の設定に関する研究

各種基源のインシュリン国際標準品の生物活性について追加検討を行い、WHOへ報告した。〔衛生誌報103, 6(1985)〕

iii) シアノコバラミン, 塩酸チアミン, 含糖ペプシン, カリジノゲナーゼの各標準品の新ロットの更新を

行った。〔衛生誌報103, 121, 118, 114, 116(1985)〕

放射線化学部

部長 寺尾 允 男

概要

昭和59年度は主として放射性医薬品の品質試験法の開発および安全性に関する試験研究業務, 重金属, 特に鉛の解毒機構, 免疫の生化学およびモノクローナル抗体を用いた分析法等の研究を行った。

また, 米国留学中であつた, 永松国助, 鈴木和博の両氏も昭和59年7月および9月にそれぞれ帰国し, 当部の研究体制ももとにもどつた。

業務成績

1. 放射性医薬品の特別審査試験

体内適用および体外適用放射性医薬品について試験あるいは書類審査を行った。その結果, 17品目について表現等の問題が認められ, 再検討することが要求された。

審査対象となつた製品別品目数は次の通りである。

体内診断用放射性医薬品	1品目
体外診断用放射性医薬品	16品目

研究業務

1. 放射性医薬品に関する研究

i) 放射性医薬品の標的臓器の生化学的機能に及ぼす影響について検討した。昭和59年度は骨髄診断薬として人体に適用される塩化インジウム (^{111}In) の安全性を, 免疫担当細胞の前駆細胞としての骨髄細胞の重要性に鑑み, マウスを用い, 脾臓リンパ球等の免疫系細胞の諸機能に及ぼす影響の点から検討した。塩化インジウム (^{111}In) をマウスに常用量および常用量の50倍量投与し, 投与11日目の T, B 細胞のマイトジェンによる分裂促進活性およびヒツジ赤血球に対する一次免疫応答能につき調べたところ, いずれも対照群と比べて有意の差はみとめられなかった。(原子力試験研究成果報告書25集)

ii) 単クローン性抗体を用いるラジオイムノアッセイの臨床分析への応用研究の一環として, ヒト成長ホルモンおよび 11-デオキシコルチゾールに対する単クローン性抗体を調製し, それらの免疫化学的性質を明らかにするとともに, イムノアッセイ法について検討した。(→誌上発表35, 学会発表39, 40)

iii) 体内適用放射性医薬品の迅速品質試験法の開発を行う目的で, 我々はガラス繊維薄層プレート (TTLC) を用いた試験法を検討してきたが, 昭和59

年度では、この方法により、ジエチレントリアミン五酢酸テクネチウム (^{99m}Tc) 注射液、N-(2,6-ジメチルフェニルカルバモイルメチル) イミノ二酢酸テクネチウム (^{99m}Tc) 注射液、テクネチウム人血清アルブミン (^{99m}Tc) 注射液、N-(2,6-ジエチルフェニルカルバモイルメチル) イミノ二酢酸テクネチウム (^{99m}Tc) 注射液について検討し、分析条件を確立した。(原子力試験研究成果報告書25集)

2. 鉛中毒の発現機構に関する研究

i) 鉛チオネインの生成機序ならびにその生理的意義について研究した。鉛化合物の投与によりラット肝臓中で誘導合成される Pb-チオネインの化学的および免疫化学的性質を明らかにするとともに、鉛の胆汁排泄における Pb-チオネインの役割について検討した。(→学会発表43)

3. 衣類等に含まれる化学物質の生理学的研究

i) 2,4,6-トリ tert-ブチルフェノールの連続投与における吸収、分布、排泄について検討した。

4. 免疫担当細胞の機能に関する研究

i) 一次免疫応答後期における IL-2, LPS 等の効果につき検討した。

ii) 医薬品等の化学物質の免疫機能に及ぼす影響の研究の一環として、ラット好塩基培養細胞株 RBL-2H3 細胞からのセロトニン放出反応につき、カルモジュリンの阻害剤である Trifluoperazine, Ca^{2+} チャンネルの阻害剤である Verapamil およびプロテインキナーゼ C の阻害剤である 1-(5-isoquinoline sulfonyl) 2-methylpiperazine の効果を検討した。その結果、これらの薬物は μM 濃度で用量依存的にセロトニン放出を顕著に阻害し、脱顆粒反応には Ca^{2+} とともにプロテインキナーゼ C の関与が示唆された。また、マイクロフィラメントの阻害剤であるサイトカラシン類のセロトニン放出への関与についても検討した。(→学会発表41, 原子力試験研究成果報告書25集)

5. 生体膜の構造と機能に関する研究

i) Hg^{2+} および Cd^{2+} がヒト赤血球膜のタンパクリン酸化反応に異常をひき起こすことを明らかにした。(→誌上発表36)

ii) IL-2依存性 T リンパ球体を用いて、IL-2 レセプターに対する単クローン性抗体産生株の単離を試みている。

iii) 種々の界面活性剤を用いて、マウス脳のモルヒネレセプターの可溶化を行い、モルヒノンセファロースによるレセプターのアフィニティクロマトグラフィーによる単離を行った。

また、ラット脳および肝臓の fatty acyl (C24 and C

16)-CoA synthetase の比較および界面活性剤の効果について検討した。(→学会発表44, 45)

iv) RBL-2H3 細胞を用いて、IgE レセプターの β -サブユニットがプロテインキナーゼ C により特異的にリン酸化されることを明らかにし、さらに、この蛋白のリン酸化反応とセロトニン放出の関係について検討した。(→誌上発表37, 学会発表42)

6. 遺伝子組み換え等を利用して生産される医薬品に関する研究

i) ヒト成長ホルモンに対する単クローン性抗体産生ハイブリドーマを調製した。代表的クローン16株につき、各々の抗体の結合定数、特異性、抗体のイソタイプ等の性質を明らかにした。(→学会発表39)

ii) 細胞融合等の技術で生産される高分子医薬品の品質に関する問題点の文献調査等を行った。

生 薬 部

部 長 原 田 正 敏

概要

昨年度に引き続き、生薬、生薬製剤、薬用植物、天然有害物質の化学的および薬理的基礎研究を行い、また、検定検査として特別審査試験を行った。

業務成績

1. 特別審査 従来と同様、生薬からは漢方エキス剤を含む製剤(かぜ薬など102件)について審査を行った。かぜ薬基準の変更に伴う申請がようやく少なくなり、審査件数は平年なみにもどってきた。配合生薬成分の確認試験が大部設定されるようになったが、なお検討改善すべきものが多い。特に、添付の実験資料(薄層クロマトグラムの写真)が審査の参考にならないようなもの(確認スポットの指示、 R_f 値の記入などが無いもの)がしばしばみられた。また、定量法については、最新のしかも最適な分析法を採用せず、旧法によって申請してくるものが多い。あった。

研究業績

1. 生薬および生薬製剤の規格試験法の基礎研究

i) 生薬の規格試験法の研究

前年度に引き続き、蒼朮、白朮、呉茱萸、陳皮、大棗、酸棗仁、芍薬などの品質評価法について検討を行った。

ii) 漢方製剤の薬劑学的研究

桂皮の品質評価に役立つ指標物質の検索を行った。(厚生科学研究費、業務局へ報告) 漢方エキス剤の品質確保に関する研究の最終年度として、マウスの致

死活性を用いる麻黄湯の生物学的試験法を検討した。
(厚生科学研究費, 業務局へ報告)

2. 植物資源の医薬的利用に関する研究

i) 薬用植物の化学的品質評価

ハトムギとジュズダマの化学的評価をでんぷん組成差と脂質含有有差を利用して検討した。筑波試験場で栽培されたカノコソウの含有テルペン化合物の同定を行った。

ii) 東洋薬物の成分検索とその生物活性の研究

証, 経穴の科学的実証および生薬資源の確保に関する研究の最終年度の研究として, 川芎の筋弛緩作用を示す成分の川芎含有処方中における含有量を調べ, また, 芍薬の子宮収縮作用を示す成分の追求を行った。

(科学技術振興調整費, 研究調整局へ報告)

iii) 有用な薬理活性をもつ新たな植物の検索とその利用

本年度から開始されたパンドン工科大学との共同研究であって, 尾崎幸紘主任研究官が当大学へ出張し(3月10日~29日), 数種の薬用植物・生薬を集め, メタノールエキスを作成し, 次年度の試料として持ち返った。(科学技術振興調整費, 研究調整局へ報告)

3. 天然有害物質の化学的研究

i) マイコトキシンの検索・分離・同定・構造決定および生物活性の検討

Chaetoglobosin J と各種 cytochalasin 類を抽出, 精製し, それぞれアクチン-ミオシン系と好塩基球細胞脱顆粒に及ぼす作用を検討した。

ii) オゴノリ類海藻の中毒原因成分の研究

本研究の最終年度の研究として, 生オゴノリを食用的に加工し, この加工品と生オゴノリの薬理作用, 毒性, 成分変動を調べ, 加工の意義を検討した。(厚生科学研究費, 生活衛生局へ報告)

iii) 新開発食品の安全性評価に関する研究

生薬類の突然変異原性, 食品とビタミンの併用薬理効果, 発がん性アルカロイドやヒドラチン誘導体の定性・定量につき文献的検索を行った。(生活衛生局へ報告)

療 品 部

部 長 中 村 晃 忠

概要

昭和59年12月1日付で, 大場琢磨前療品部長が退職した。同日付で, 後任に家庭用品第一室長が就任した。また, 家庭用品第一室長には小嶋茂雄家庭用品第二室

長が配置換えとなった。昭和60年4月1日付で, 鹿庭正昭技官が家庭用品第二室長についた。また, 同日付で五十嵐良明技官が新しく採用された。

業務成績

1. 医療用具関係

ニッケル・クロムなどの歯科用合金が問題となった。

i) 一斉取締試験: 歯科用金銀パラジウム合金 53件(不適2件)

ii) 特別行政試験: 歯科鑄造用合金 7件(不適1件)

2. 家庭用品関係

昭和59年度には新しい基準作成は行われなかった。年度計画に従って, 燐酸エステル系防炎剤1品目, 加硫促進剤1品目, 塩素系溶剤1品目, 含臭素防炎剤1品目の分析法を検討した。また, 厚生科学研究「家庭用繊維製品に使用される抗菌・防臭加工剤の安全性に関する研究」(班長 岩原繁雄食品薬品安全センター副所長)に参加し, 安全性に関する自主基準の在り方について調査し報告した。(生活衛生局・家庭用品安全対策室へ報告)

3. 理化学試験室関係

FX-200型 NMR 装置は順調に稼働している。昭和58年度予算で購入した GC-MS (日本電子 DX-300) は斎藤食品部長を中心とする運営委員会によって順調に稼働, 運営されており, 多方面の業務に威力を発揮している。この導入に伴って, 既存の JMS-OISG 型質量分析計での低分解能マススペクトルの測定件数は減少した。現在は, 主に高分解能マススペクトル測定に利用されている。

現在, 管理している共通機器の中には, すでに共通機器としての役割がうすれたり, 旧式になったりして何年も利用されなかったものがあつたので, 共通機器室にある機器の見直しを研究委員会にお願いした。その結果, 日立二波長分光光度計(→大阪支所), 島津 D-40R 分光光度計(→放射線化学部), 低温灰化装置(→環境衛生化学部)の3機種はカッコ内の部へそれぞれ供用換えをすること; 赤外線顕微鏡, SD-92型デントメーター, 示差熱天秤, 原子吸光装置の4機種は廃棄することが了承された。今後, 古くて利用度の極めて低い機器を廃棄すると共に, 新しい有効な機器の充実をはかる必要がある。また, 共通機器の管理運営についても全所的に長期的視野で考慮されるべきである。

研究業績

1. 歯科用コンポジットレジンから溶出されるモノマーに関する研究

歯科材料の安全性評価に関する厚生科学研究の2年度目として、コンポジットレジンがとりあげられた。当部はコンポジットレジンの組成分析と硬化後のモノマーの溶出を分担した。11種の市販コンポジットレジンの組成を明らかにした上で、硬化後に各種溶媒に浸漬して溶出してきたモノマーをHPLCで定量した。モノマーの溶出挙動について有益な知見を得た。(厚生科学研究, 東京医歯大などと共同, 薬務局へ報告)

2. イオンクロマトによる血清成分の定量に関する研究

血清中のNa, K, Ca, Mgのイオンクロマトによる定量法を検討した。検出器としてはUV検出器と電気伝導度検出器を、前処理法として限外ろ過法を用いて、従来の血清カチオンの分析法である原子吸光法およびイオン電極法との得失を比較した。また、硫酸銅と硫酸コバルトの混液を移動相として用いることで、UV法における1個イオンの分離度と感度を向上させることができた。(一部は科学技術振興調整費による, 一誌上発表42, 43, 学会発表47, 48)

3. イオン交換樹脂混床による尿毒症成分の除去に関する研究

イオンバランスを保持しながら尿素を除去できることが分かったので、実用へのステップとして、この樹脂を生体適合性の良い高分子膜でコーティングした時の除去率について検討を開始した。(科学技術庁へ報告)

4. 血液回路の放射線滅菌による材質変化と生体適合性に関する研究

照射した塩化ビニル中のフタレートの変化とそれらの血清などへの溶出およびそのモノエステルやフタル酸への変化を検討するために、まず、血液バッグについて検討した。その結果、血液中のモノエステルやフタル酸はフタレートの不純物として含まれていたものではなく、血清中のエステラーゼによって分解されて生成したことが明らかとなった。(原子力研究, 一誌上発表44, 45, 学会発表49, 50, 51)

5. 家庭用品に含まれる化学物質の分析化学的研究
ゴム製品などによるアレルギー性接触皮膚炎の原因追求を継続しており、その成果をまとめた。(一誌上発表119) ゴムの老化防止剤の系統分析法を確立し市販ゴム手袋について調査し、同時に主な老化防止剤の感作率を皮膚科外来でのパッチテストで調べた。(東邦大医学部と共同, 一誌上発表46) 同様に、ジチオカーバメート系加硫促進剤の系統分析法を確立し市販ゴム手袋について調査した。(一学会発表52)

綿ネルの寝間着による色素沈着性の接触皮膚炎の事例がその後も続々と発見されたので、ナフトールAS

および類似構造を持つ色素の分析を継続した。共通の原因がナフトールASであることを再確認すると共に、量と発症の関係や構造類似のナフトール類との交差について若干の新知見が得られた。(名古屋大医学部, 東邦大医学部と共同, 一学会発表53, 54, 55, 56)

6. 機器分析に関する研究
消炎剤 tris (2,3-dibromopropyl) phosphate (TDBPP) の公定分析法で、蛍光増白剤 FBA-185 と dilauryl-disulfide (重合調整剤 laurylmercaptan の酸化体) が TDBPP と誤認されやすいことが分かったので、それらと TDBPP とを区別する方法を考案した。(一学会発表57, 58)

6. 機器分析に関する研究

プロトン NMR スペクトル・データベースをマイコンに移植すると共に、コンパイラによって検索時間の短縮化に成功した。(一学会発表59, 60) 所内で測定した新しいスペクトルを順次追加してローカルなデータベースとして有効に生かしたいので、ご協力をお願いしたい。

また、微量サンプル用の NMR 測定用キャピラリーサンプル管を試作し、市販の微量サンプル管を上回る性能のもの開発に成功した。(一学会発表61)

環境衛生化学部

部長 武田 明治

概要

昭和59年10月1日付けで環境衛生化学部第3室長佐谷戸安好および主任研究官中室克彦は退職し、同日付けで主任研究官、安藤正典が第3室長に就任した。昭和60年1月1日付けで環境衛生化学部長義平邦利が食品添加物部長へ移動し、同日付けで食品部食品第1室長武田明治が就任した。昭和60年4月1日付けで神野透人が採用された。

昨年度に引続き、環境汚染を反映して居住空間に存在する各種汚染物質の分析法の確立および個人暴露量調査、天然放射線核種の移動移行調査、水道原水中の特定化学汚染物質の実態調査、湖沼におけるアオコの発生と毒性に関する緊急調査などに関する基礎研究を行った。水道水のトリハロメタン対策の一環として水域環境変異原物質の生物評価に関する研究に着手した。一方、化粧品に関する研究の一環として、化粧品原料の経皮吸収に対する相互作用およびタール色素中の不純物に対する分析法の確立など基礎研究を行うと共に、口紅中のタール色素について昨年度から継続試験を実施した。

業務成績

1. 空気関係

前年度に引続き、東京都内3ヶ所の国設自動車排気ガス測定所で各種自動測定機器を用いて大気汚染物質の常時定点測定を実施した。現在、自動測定機器から得られたデータはコンピューターを用いて統計処理され、能率化が図られている。調査対象は次の12項目である。すなわち、炭酸ガス、一酸化窒素、二酸化窒素、窒素酸化物、二酸化硫黄、オゾン、アルデヒド類、浮遊粒子状物質、メタン、非メタン、全炭化水素および交通量である。(環境庁大気保全局へ報告)

2. 化粧品関係

化粧品原料基準の追加品目の規格作成に当り、内外の公定書などを調査すると共に、追加品目につき試験および規格の表現法の統一に関する業務を実施した。(薬務局審査Ⅱ課へ報告)

前年度に引続き一斉取締試験を実施し、1208件の口紅中のタール色素に関する調査を完了した。(薬務局監視指導課へ報告)

二浴式コールドパーマメント液中のシアンの有無を検討しJIS試験法の本品への妥当性につき検討した。(薬務局審査Ⅱ課へ中間報告)

3. 水関係

水道水質基準の追加、改定などの基準資料を得るため水道水中のスズ、ニッケルの分析法を検討した。(生活衛生局水道環境部水道整備課へ報告)

水道原水中の特定化学物質に関する検索調査に関して地方自治体試験研究機関および水道事業部と協力のもとに実態調査を実施した。(生活衛生局水道環境部水道整備課へ報告)

研究業務

1. 建築物内空気の衛生管理基準の設定に関する研究

1) 各種居住環境下に於ける家庭用品起源ホルムアルデヒドの個人暴露量に及ぼす室内環境条件の影響を検討した。(→誌上発表47, 学会発表62, 63)

2) 各種居住環境下に於ける二酸化窒素の個人暴露量の実態を明らかにすると共に、個人暴露量に及ぼす暖房器具および室内環境条件の影響を主婦を対象に検討した。(厚生科学研究, 生活衛生局家庭用品安全対策室へ報告)

2. 環境試料中の天然放射性物質の調査に関する研究

^{238}U および ^{234}U の分析法を検討し、中部日本の主要河川につきその存在量を明らかにした。(→学会発表64, 65)

3. 化粧品等の分析に関する研究

1) 高速液体クロマトグラフィーによる化粧品中のシノキサート、パラフェノールスルホン酸亜鉛、安息香酸、サリチル酸等の試験法を確立した。(→学会発表67, 68)

2) ローダミン色素(赤色213, 214, 215号)中の安全性に問題ありと考えられるジエチル-*m*-アミノフェノールの蛍光分析法を液体クロマトグラフィーにより確立した。(→学会発表66)

3) 化粧品中の *N*-ニトロソジエタノールアミンの分析法を検討した。(→誌上発表120, 121)

4) 化粧品等の安全性に関する衛生化学的研究

1) パッチテスト陽性の染毛剤原料の蛋白質への結合性について平衡型多検体透析セルを用いて検討した。(東邦大学医学部と共同研究)

2) 安息香酸評価の一環として、人切除皮膚を用いて界面活性剤共存下における安息香酸の皮膚透過性(東邦大学医学部と共同研究)およびアラキドン酸からのプロスタグランジン E_2 生成につき *in vitro* で検討した。

5. 化粧品の許可基準作成に関する研究

化粧品原料基準品目の分類表を作成し、シリーズ商品の色調あるいは香調を検討した。(厚生科学研究, 薬務局審査Ⅱ課へ報告)

6. 汚染物質の分析法に関する研究

カビ臭原因物質の測定法を確立した。(生活衛生局水道環境部水道整備課へ報告, →学会発表69)

7. 水道用薬品又は水道用品に関する研究

水道用品等規格設定に関する研究: 耐熱性硬質塩化ビニール管からの安定剤可塑剤などの溶出試験を実施した。(生活衛生局水道環境部水道整備課へ報告)

8. 水利用に関する衛生化学的研究

1) 水域環境変異原物質の生物評価に関する研究: オゾン処理水中の有機物質の濃縮法等につき検討した。(生活衛生局水道環境部水道整備課へ報告→学会発表70)

2) 潮沼に於けるアオコの発生と毒性に関する研究: 有毒アオコの浄水処理時の除去法につき検討した。(生活衛生局水道環境部水道整備課へ報告)

3) 水中フルオランテンの塩素処理時における挙動と変異原性について検討した。(→誌上発表48)

食 品 部

部長 齋藤 行生

概要

昭和59年5月～昭和60年4月における主なできごとは、突発的な輸入米の安全性検査と部内の人事の動きであった。

昨年度早々、わが国に韓国米が緊急に輸入されることとなりその安全性確保のため部員一体となって米中の農薬、有機塩素剤、有機リン剤、カーバメイト剤、水銀、カドミウム、鉛、臭素等の一斉分析を行った。この業務は11月末迄続いたが、無事終了し、食品衛生行政に大きな貢献をなすことができた。

人事面では以下のような動きがあった。

米国コネティカット大学に出張中の鈴木隆主任研究官(当時)は昭和59年9月14日無事帰国し、同年10月1日付で食品第3室長として発令された。

また、長年にわたり食品衛生に尽力された近藤龍雄第三室長が12月31日付をもって退職し、内山貞夫主任研究官が後任として発令された。

1月1日付で武田明治第一室長が環境衛生化学部長として転出し、後任に当部鈴木隆室長が第三室より配置換えとなった(1月1日付)。

また、大阪支所食品部豊田正武主任研究官が同日付で当部第三室長として着任した。

河村葉子技官は昭和59年7月1日環境汚染物質に関する研究のためスタンフォード大学に出張した。

斎藤はフィリピンに設立予定の食品薬品検定センター(仮称)に関する事前調査のためマニラに(昭和60年1月28日～2月6日)、また「特定地域における有害化学物質人体暴露評価委員会」に出席のためジュネーブに出張した(昭和60年4月26日～5月6日)。

業務成績

1. 輸入食品検査：プロセスチーズ1検体、中国産の人参蜂王漿1検体、韓国米35検体の分析を実施した。
2. 特別行政試験：EDB くん蒸インゲン14検体についてEDBの減衰を調査した。

研究業績

1. 食品中の人工汚染物
 - i) 分析および試験法
 - ① 食品中の除草剤—4農薬—の分析法を設定した。(生活衛生局へ報告)
 - ② 穀類、野菜、果実中の臭化メチルの分析精度向上に関する検討を行った。(継続中、生活衛生局)
 - ③ 魚網防腐剤、TBTOの安全性につき検討評価を行い、合せて分析法について文献学的検討を行った。(食品中のビストリブチルオキシド、TBTOの安全性評価検討委員会、和田班、生活衛生局へ報告)
 - ④ 臭化メチルクん蒸米中の臭素の残留分析法(二種の方法)の比較検討を行った(生活衛生局へ報告)

⑤ 食品中のクロロホルム類の分析法を確立した。(対癌10年戦略、鈴木武夫班)

ii) 代謝、動態および作用

① リン酸トリエステルの肝臓における代謝につき検討した。また標識(^{14}C)リン酸トリブチルエステルを用いて数種のラット生体内主代謝産物を同定し、代謝経路の推定を行った。(一誌上発表49, 50, 51)

② マウス経口投与によるカドミウムおよびカドミウム-トリウムの生体内分布、特にカドミウムの腎-肝における濃度比率を調べた。(一誌上発表52)またカドミウムを静脈内投与したときの分布と腎障害との関連を論じ、さらに腎中カドミウムの臨界濃度について検討した。(一学会発表71, 73)

2. 食品中の天然汚染物

i) 分析および試験法

① 綿実中に含まれるアフラトキシン類の高感度簡易分析法につき検討を加えた。(継続中、生活衛生局)

② 食用油中のアフラトキシン、穀類中のデオキシニバレノールおよびニバレノールの分析法につき検討を行った。(厚生科学研究、倉田班)

③ また、うずまき現象を利用する新しい異物検査法の開発を試みた。(継続中)

3. 食品成分の変質と安全性

i) クロロフィル関連化合物のHPLC法による分析法を確立し(一誌上発表53)、“健康食品”中に含まれるアルカリ分解物の検索を行った。

ii) 放射性医薬品の腎臓の機能に及ぼす影響につき、重金属の腎内挙動を指標にし、また、ESRを用いて検討した。(原子力試験研究、科学技術庁へ報告)

iii) 食品の取扱い中の変化を誘起毒性の面から論じた。(一誌上発表122)

4. 食品汚染物の検知、実態、人体暴露

i) 未検知汚染物の検知システム

イガイ、アサリ等海棲生物を用いる海域の環境汚染物の検知法につき検討を加え、コンピューターによる判定法を確立した。(国立機関公害防止総合研究)

ii) 食品汚染物の実態に関する研究

全国から集計されたモニタリングデータベースは総計85万件に達し、衛生行政のためのアウトプット、全国地研へのデータの提供を行った。又乳幼児食を含む日常食中の汚染物摂取量調査(total diet study)を行い、全国12機関のデータの解析も行った。

5. 食中毒の化学的解明

催吐性オゴノリ成分の人工胃液による変化を多波長分光計を用いて三次元表示、解析し、未知中毒原因成分の検索の一方法を示した。(生活衛生局、原田班)

食品添加物部

部長 義平 邦利

概要

昭和59年4月1日付で谷村顕雄前食品添加物部長は副所長に就任した。また、同日谷村副所長が食品添加物部長の併任となり、60年1月1日付で、その併任が解かれ、新たに、義平邦利環境衛生化学部長が食品添加物部長に発令された。

本年度の主な業務は恒常的な業務の他には、昨年度に引き続き昭和60年に公布が予定されている第5版食品添加物公定書の検討と発癌性の疑いのあるオルトフェニルフェノール(OPP)柑橘類中の残留の実態調査を行った。

業務報告

1. 製品検査

食用色素：検査件数 405, 合格 405, 不合格 0

2. 食品添加物について

i) オレンジ, レモン, グレープフルーツの果皮および果肉に含まれる OPP 含量の実態調査を行った。(食品化学課へ報告)〔衛生試験 103, 148 (1985)〕

ii) 食品中に含まれる亜鉛塩類の灰化, 原子吸光法による分析法を作成した。(厚生科学研究)

iii) 食品中の食品添加物分析法について食品中の二酸化チタンの分析法の検討および市販食品中の含有量を調査した。(厚生科学研究)

iv) 色素標準品の製造

アマランス標準品 498個

3. 食品用器具・容器包装について

i) メラミン樹脂製プラスチック製品からのホルムアルデヒドの溶出〔食品化学課へ報告〕(→学会発表74)

ii) ポリウレタン樹脂製品からのトルエンジイソシアネートの溶出試験法の検討〔食品化学課へ報告〕

iii) ゴム製乳首中のニトロサミンの溶出試験法の検討〔厚生科学研究〕

iv) 国際標準化機構法による食品用器具からの重金属等の溶出〔厚生科学研究〕,〔衛生試験, 103, 154 (1985)〕, (→誌上发表57)

研究業績

1. ニトロソ化合物に関する研究

i) 食品中のメチルグアニジン, アグマチンの分析法

メチルグアニジン, アグマチンをベンゾインと反応

させ蛍光検出高速液体クロマトグラフィーによる定量法を検討し, 食品中からメチルグアニジン, アグマチンを定量した。(→学会発表75)

ii) 生体試料のニトロソメチル尿素(NMU)の分析法について

生体試料中からの NMU の分析法について検討を行った。生体試料はけいそう土カラムおよびヘプタン-水分配によりクリーンアップし得られた水溶液について NMU の定量を行った。NMU はアルカリ性でジアゾメタンとし, ニトロチオフェノールと反応させて HPLC により定量した。回収率は, 胃および腸内容物中で95%, 血液中で80%, また定量限界は胃内容物中 0.5 nmol/g, 腸内容物および血液中 1 nmol/g だった。(→学会発表76)

iii) 野菜・果物のしぼり汁には, ニトロソアミンの生成を抑制する作用をもつもの, 促進する作用をもつもの, 生成にはほとんど影響を与えないものがあることを見出した。(→学会発表77)

iv) ゴム製乳首に含まれるニトロソ化合物前駆体の同定, 定量

市販のゴム製乳首中のジアルキルジチオカルバメートを定量した。ゴム中には第二アミンの他に, 酸水分解すると第二アミンを生じる物質が含まれていたが, ジオチカルバメートは後者の一部分を占めるだけだった。(→学会発表78)

2. 食品添加物等に関する研究

i) 食品添加物の1日総摂取量調査

食品添加物の1日総摂取量調査方式により, 10機関で調製した試料を対象として乳酸及びグルコン酸の摂取量を調査した。乳酸の1日総摂取量は平均値で1176 mg (天然由来を含む), グルコン酸は65.7 mg (天然由来を含む)であった。〔食品化学課, 誌上发表については大阪支所食品部の項参照のこと〕

ii) 畜水産食品中の残留物質の検査法に関する研究
水産用医薬品サルファ剤等につき HPLC による魚類別系統検査を検討した。(厚生科学研究)

iii) 天然添加物に関する研究

天然着色料につき, HPLC, TLC による色素成分ならびに混在成分の分析を行い, 市販品の実態を明らかにした(→誌上发表58)。また, 原料植物からの色素の抽出状態ならびにその組成および原料由来の色素以外の抽出物質について移行量を検討した。(→誌上发表59)

iv) 着色に関する研究

食用色素に含まれる中間体, 反応副生成物につき検討し, 製造工程で副生する物質の構造を明らかにし,

分析法を確立した。(→誌上発表60)

v) HPLC による分析法について

逆相型 HPLC による、アミノ酸の分離を試み、移動相にアスパルラーム・銅溶液を用いて良好な分離を得た。また、アスパルラームの簡便な分析法の開発の検討を行った。HPLC および GC によるエトキシキンの自動酸化、光照射分解物について検討、およびその酸化成績体(二量体)の構造を明確にした。(→誌上発表61)

衛生微生物部

部長 谷村 顕雄

概要

昭和59年12月31日付で倉田浩衛生微生物部長が退職、谷村顕雄副所長が兼務することになった。JICA のチュニジア国医薬品管理プロジェクトのため、昭和59年4月より4ヵ月間、松井道子主任研究官が同国に出張した。また、昭和59年7月より3ヵ月間、JICA のインドネシア国立医薬食品研究所援助プロジェクトのため、小沼博隆主任研究官が同国に出張した。一方、インドネシア側からは Basyuni Sudarta 氏が来所、昭和59年12月から研修を受けている。倉田前部長は UJNR 有毒微生物専門部会日米合同会議出席のため昭和59年10月、米国へ出張した。WHO フェローとして大韓民国 NIH の T.S. Lee 氏が来所、昭和59年10月、真菌室において研修を受けた。

昭和60年3月31日付で鈴木昭細菌第二室長、安藤カナ細菌第一室技官が退職された。また昭和60年4月1日付で第二室長の後任には一戸主任研究官が昇任した。

業務成績

1. 国家検定

ブドウ糖注射液、リンゲル注射液、インシュリン製剤、避妊薬など総計1183件(細菌試験 603 件、真菌試験 580 件)について無菌試験を行ったが、不適品はなかった。

2. 一斉取締試験

ディスプレイ注射筒および注射針 112 件(細菌、真菌ともに各56件)について無菌試験を行ったが、細菌試験で2件、真菌試験で1件の不適品があった。

3. 輸入食品検査

冷凍食品55件、冷凍魚介類23件、粉末清涼飲料10件、清涼飲料水5件、レトルト食品3件、その他4件、総計100件を検査し、10件の不適品があった。

4. 規格・基準試験, 行政試験など

衛生規範作成のため、豆腐、ゆでめんについて、細

菌・真菌試験を実施、基礎資料を提出した。

研究業績

1. 細菌の変異に関する研究

ストレプトマイシン依存性大腸菌による変異原検出試験法を検討した。また、テトラトキシン耐性R因子を感染させたストレプトマイシン依存性大腸菌の性状について追求した。使用株の保存の研究を実施した。(→学会発表80, 81)

2. 酵母の衛生・分類に関する研究

鮮魚介類由来の蛋白分解能を有する酵母を用い腐敗試験を行った。また、酵母と細菌の産生する揮発性アミンおよびアンモニアをガスクロマトグラフィーによって測定した。酵母分類に関する国際集会の内容を紹介した。(→誌上発表129)

3. 輸入食肉等のサルモネラ汚染研究

本年度に輸入し検査した食肉由来サルモネラは *Salmonella anatum*, *S. typhimurium* の2菌型であった。また、フィッシュミールのサルモネラ菌について製造工程での検査を行い、105点中24点に菌の検出をみた。分離した393株について血清型を調べた。(→学会発表83)

4. 食中毒菌、とくにセレウス菌の生態

食肉・食肉製品中の食中毒起因菌の汚染、分離株の性状、毒素産生性につき検索、セレウス菌の主汚染源は香辛料など副原料にあり、ブドウ球菌についてはと殺、加工時の汚染が主であることを明らかにした。鳥肉について微生物検査のための試料採取の検討および処理場から小売に至るまでの鶏肉の汚染指標菌、食中毒菌の挙動を調査した。(→学会発表84, 85, 86, 87, 90, 91, 92)

5. 食品の微生物規格、微生物試験の迅速・自動化に関する研究

食品の微生物規格を検討するとともに、同一試料を複数の検査機関で対象とし、従来法とスパイラル法との比較を精度・再現性に関して考察した。一般生菌数は高い相関を示したが、大腸菌群では相違がみられた。(厚生科学研究)(→誌上発表124, 学会発表88, 89)

6. 食品の安全性に関する微生物学的研究

ウサギ腸管内嫌気性ニトロソジメチルアミン (NDMA) 生成菌は *Bacterioides* 属に多数含まれる。通常飼育の盲腸内 NDMA は絶食2日目て約50%減少するのに対し、盲腸内ジメチルアミンは絶食前と変らぬ濃度維持が認められた。(→学会発表82)

7. 各種食品の微生物規格基準設定のための基礎資料の集積

ソース、あん、乾燥加工食品について市販流通中の

試料における微生物フロアの実態調査を実施した。〔衛生試験報, 102, 144, 147(1984)〕また、豆腐、ゆでめんについても実態調査を実施した。

8. 食品中の有害真菌に関する研究

輸入ナッツ類のアフラトキシン生産カビを実態調査中、*Aspergillus parasiticus* と同定された1菌株に O-メチルステリグマトシスチン生産能のあることが明らかになった。(→学会発表93) 肝癌多発住民の食品から分離したカビを HeLa 細胞によるアクチン作動マイコトキシン検索し、多核形成を示したカビから新規サイトカラシン関連化合物2種を同定した。(→学会発表94) 香辛料分離カビの1種 *Emericella striata* のマイコトキシンを検索、ステリグマトシスチンとともに新化合物エメストリンを分離、化学構造を明らかにした。(→学会発表95)

9. がん原性マイコトキシンの汚染研究

玄麦を汚染するニバレノール NIV, デオキシニバレノール DON の食品衛生上の問題について標準トリコセシン分析法を協力作成し、汚染実態を調査した。加工食品にも広範な汚染を認めた。(厚生科学研究) 赤カビ中毒の発生要因について、北海道における気象条件、赤カビ被害統計、DON 分析結果などから考察した。NIV, DON 生産菌 *Fusarium graminearum* の小麦病原性、T-2 トキシン生産菌 *F. acuminatum* の病原性を確認し、接種麦からトリコセシンを検出した。(→学会発表103, 106)

国産ピーナッツについて、アフラトキシンの汚染有無と分離 *Aspergillus flavus* についてアフラトキシン生産能を検索した。(→誌上発表64) 蛍光抗体法を用い *A. flavus* 菌体中のアフラトキシンの分布状態を明らかにした。(→学会発表104)

10. 真菌の分類、保存などに関する研究

土壌、動物排泄物、海泥、食品など生活環境分離カビについて分類・生理研究を行い、環境汚染に及ぼす影響を報告した。(→誌上発表125, 126, 127, 62, 学会発表96, 97, 99)

リグニンスルホン酸吸着能を有する *Penicillium* sp. などについて検索を行った。(→誌上発表63)

人体病原真菌として報告した *Dactylaria gallopava* について臨床株と自然環境由来株について各種抗真菌剤に対する感受性を調べた結果、臨床からの病原性株に強い薬剤耐性のあることが解明された。(→学会発表100) また、本邦初例とみられる病原性真菌、*Scytalidium* sp. および *Botryodiplodia theobromae* の症例報告を行った。(→誌上発表128, 学会発表101) 肺および皮膚アスペルギルス症としての3症例を報告した。(→

学会発表102, 105)

11. カーペット等の衛生および処理に関する調査研究

家屋塵埃のカビの主体が *Aspergillus restrictus* であること、この好乾性カビがチリダニとの共存により、アレルギーの1つになることを推定した。カーペット類のクリーニング処理基準作成の資料としてカビの除去を目標とした洗浄効果を調べた。(厚生科学研究)(→学会発表98)

12. その他

医薬品・化粧品防腐・殺菌剤、畜水産食品中の残留抗生物質、温泉の微生物汚染、液卵等の細菌学的規格基準につき研究を行った。

医 学 部

部長 田 中 彰

概要

米国ペンシルバニア州立大学ハーシーメディカルセンターに一年間留学していた森本和滋技官は、昭和60年3月26日に帰国した。

また田中は IPCS の Toxicokinetics Methodology に関する準備会議に出席のため昭和59年8月13日から21日までノルウェーの首府オスロに出張した。またこの会議の資料調整のため、昭和60年3月1日から9日までドイツ民主共和国(DDR)のイェナで開催された専門小委員会に出席した。

その間、日米毒性研究協力事業の一環として、昭和60年2月13日より25日まで米国に出張した。

一方業務としては、オルトフェニルフェノールナトリウムのラットの膀胱癌誘発、赤色3号による甲状腺腫の発生など、食品添加物の毒性に関連した緊急の代謝試験の要請が続いた年であった。

研究業績

1. 食品添加物の代謝に関する研究(生活衛生局行政研究)

i) チアベンダゾール(TBZ)の代謝

TBZ をオリーブ油懸濁液として妊娠マウスに投与すると、著明な四肢減形成奇形仔の発生が認められるが、この機序を明らかにするために研究を行った。マウス尿中の代謝物5-水酸化体はTBZと同様、*in vitro* でプロテオグリカンの生合成を強く抑制することが分かった。

また胎仔の肢芽のATP含量は、TBZのアラビアゴム懸濁液投与群では対照群と有意の差異を示さないが、

TBZ オリーブ油懸濁液では濃度に応じて ATP 含量が低下し、TBZ によるプロテオグリカン生合成阻害はエネルギー供給の不足が重要な機序の一つであることを示唆した。(→誌上発表65, 学会発表109)

ii) デヒドロ酢酸 (DHA) の代謝

DHA のウサギによる尿中代謝物について検討し、この代謝像をマウスの尿中代謝物と比較したが、かなりの類似性を認めた。

iii) オルトフェニルフェノール (OPP) およびオルトフェニルフェノールナトリウム (OPP-Na) の代謝

OPP および OPP-Na を 2% 含有する餌で飼育した F344 雄ラットの尿中代謝物を 380 日間にわたって追跡し、遊離型と抱合体の存在比の消長をしらべた。

iv) ソルビン酸 (SA) の代謝

高濃度の SA の長期間摂取はマウスに肝がんを誘発する。この事実に関連して 15% SA 添加飼料で 12 ヶ月間飼育したマウスの腸内容物を採取し、SA と嫌氣的に incubation 後、GC-head space 法で気化試料を分析した結果、変異原物質の生成を認めた。また腸管内には非極性の変異原物質が生成することも確めた。

v) 赤色 3 号の甲状腺機能に及ぼす影響

赤色 3 号 (エリスロシン) 含有飼料で飼育した S. D. 系雄ラットの血中 T_3 , T_4 , TSH および甲状腺ペルオキシダーゼに対する影響を、種々の濃度の色素に対し 2 週間連続投与の効果と比較し検討した。また赤色 3 号の特性が吸収率に与える影響を調べた。(→学会発表110)

vi) 毒性評価のための Assay 法の開発研究

TBZ 等の催奇形性物質をモデル化合物として、胚芽間葉細胞培養系を用いて、催奇形性の *in vitro* assay 法を検討した。TBZ では、マウス細胞よりもラット細胞の方が chondrogenesis 阻害が弱く、cell レベルで種差を認め、この結果は *in vivo* における結果とよい相関を示すことが分った。(→誌上発表66)

2. 家庭用品に含まれる化学物質の代謝に関する研究 (生活衛生局行政研究)

1) ゴム加硫促進剤の代謝

① 2-(morpholiniothio)-benzothiazole (MTBT) の代謝

MTBT 投与ラットの尿中代謝物のうちで、ベンゾチアジール-2-メルカプトール酸 (抱合体) の 2 位の硫黄原子は、生体内成分の SH-アミノ酸由来であることを証明した。(→学会発表108)

② MTBT および N-cyclohexyl-2-benzothiazole-sulfenamide (CBS) 等のベンゾチアゾール系加硫促進剤を ^{14}C あるいは ^{35}S で標識し、各合成法について考

察を行った。

ii) 可塑剤の代謝に関する研究

2-エチルヘキシルジフェニルホスフェート (EHDP) の ^{14}C -標識体を用いて、ラットの代謝を調べた結果、排泄は極めて早く、尿中主代謝物としてジフェニルホスフェートとモノフェニルホスフェートを確認した。また残留性の著しい臓器は認められなかった。(→学会発表107)

iii) ナフトール AS (N-AS) の代謝

N-AS の代謝研究に必要な ^{14}C -標識体の標識位置を決定するために、マウスを用いて尿、糞への排泄の予備実験を行った。

3. 既存化学物質の代謝に関する研究 (業務局行政研究)

i) 2-ニトロパラクレゾール (NPC) の代謝

NPC の雌性 S. D. 系ラットの尿中排泄とその代謝物について検討し、NPC のグルクロニドおよび硫酸抱合体の存在を確認した。

ii) 化学物質の安全性を予測する *in vitro* 試験法の研究

NPC 単独投与群と、NPC 投与後デオキシコール酸ナトリウム (DCA-Na) を投与した群の S. D. 系雄性ラットの肝シトゾール中のオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) 活性の消長を経時的に追跡した結果、前者では ODC 活性の亢進は認められなかったが、NPC と DCA-Na 投与群では 4, 6, 8 週目にわたり、有意の活性の上昇を認めた。

4. 医薬品、食品添加物等安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究 (特別研究)

腎毒性を示す物質 (Tris-(2,3-dibromopropyl) phosphate) を 7 日間ウィスター雄ラットに連続投与し、その尿の ^{13}C -NMR と腎の ^{13}C -NMR スペクトルの解析を行い、従来の生化学的検査に比べて、より分子レベルで腎の障害を観察できることが判明した。

5. 異物代謝における酵素化学的研究

i) エステル型化合物の酵素分解に関する研究

ジブチルフタレート (DBP) の位置異性体であるジブチルテレフタレートとジブチルイソフタレートを基質として、ラット臓器酵素による加水分解反応を DBP と比較し、これらの物質の生物活性と代謝との相関について検討した。(→学会発表112)

ii) 脂環族一級アミンの酸化的脱アミノ機構の研究

脂環族一級アミンのケトンへの変換に際し、代謝中間体であるケトンオキシムのケトンへの加水分解に関与する酵素の存在について、ウサギ肝の各分画を用いて *in vitro* でケトンの生成を比較した。また *in vivo*

でのケトン、アルコールへの変換割合を C₅, C₆, C₇ の環状ケトンオキシムについて検討した。(→学会発表111)

6. 発癌性、制癌性物質の生化学的研究

N-ニトロソ尿素のアルキル化とカルバモイル化がラット肝臓クロマチンの生物活性に及ぼす影響を9種のN-ニトロソ尿素およびシアン酸カリウム、アルキルイソシアネートを用いて検討し、DNAと核蛋白質の相互作用に及ぼすアルキル化とカルバモイル化の意義について論じた。(→誌上発表67, 68, 学会発表113)

化学物質情報部

部長 竹中祐典

概要

本年は厚生省および環境庁の主催する化学物質の安全性を検討する諸種の研究班に部員が参加を求められる機会が多かった。また、国際化学物質安全性計画(IPCS)への協力は、当所が試験方法の開発の一部(トキシコカインティクス)をも分担することになり、そのための文献調査、ドラフト修正などを行った。

中館情報第一室長はIPCSの優先評価物質の選択と環境保健基準フォーマットとを検討する会合(オクスフォード, 59年7月10日~13日)に委員として、竹中は第4回計画諮問委員会(ナイロビ, 59年10月1日~5日)にオブザーバーとして参加した。

業務成績

1. 国際有害化学物質登録制度(IRPTC)

IRPTCリーガルファイルにわが国の化学物質規制データを提供するとともに、24件におよぶ質問回答業務を行った。

昭和59年度IRPTC国内協力委員会を昭和60年2月28日に開きIRPTC関連業務の年次報告をするとともに、関連情報の流通促進について協議した。なお、禁止化学物質等暫定通報制度への協力要請を受け、限定条件で協力することとなった。

2. 国際化学物質安全性計画(IPCS)

環境保健基準「トリコテセン」の第1次ドラフトを完成しIPCS本部に送付するとともに、「合成ピレスロイド」の1部のプレリミナリドラフトの最終的修正を行い、また「フェニトロチオンと関連化合物」のジクロロボスについて日本人報文集約をまとめIPCS本部に提供した。

毒性試験法開発の一環として「トキシコカインティ

クス試験法の原則」の「排泄」の項のドラフト作成を分担した医化学部(田中部長)と薬理部(高橋室長, 大野技官)に協力した。

環境保健基準「リン酸エステル系難燃剤」のプレリミナリドラフトの作成を開始し、関連文献の検索と収集を行った。なお、このドラフト執筆責任者は中村療品部長とし、分担執筆者として所内から鈴木隆室長(食品部)、嶺岸室長、紅林技官(医化学部)、外部から白須泰彦(残留農薬研)、井上尚英(産業医大)、後藤幾生(九大医)、剣持堅志(岡山県環境保健センター)および沖慶雄(東洋製罐)の各氏が協力している。

外国機関が作成する環境保健基準第1次ドラフトに対して国内コメントを集約し、IPCS本部に送付した。

3. オンライン検索と情報誌作成

オンライン検索はJOISの利用が118件、DIALOGが212件、NIH/EPA/CISが20件であった。

衛術情報はNo.7を、情報室ニュースはNo.29からNo.36までを作成し配布した。

4. 図書係業務と衛生試験所報告の発行

i) 図書係業務

昭和59年度の図書購入は次のとおり。

()内は前年度分

外国図書	1,895千円	(1,783千円)
外国雑誌	14,169	(15,026)
国内図書	0	(20)
国内雑誌	1,015	(937)

合計 17,079 (17,946)

外来閲覧者は153名、外部からの文献複写依頼は57ヶ所から288件に達した。

3回におよぶ図書委員会の事務局を担当した。

薬図協研交集会(東京, 昭和59年11月8, 9日)に部員1名が、薬図協関東地区研究会(箱根, 昭和59年8月26日)に部員2名が参加した。

ii) 衛生試験所報告

衛生試験所報告編集委員会に協力し、同報告第102号を発行し、所員ならびに所外、外国の関連機関に配布した。

研究業績

1. バイオロジカルデータベース作成・検索システムの研究

i) プログラム基本設計をもとにプログラム詳細設計を行った。

ii) データ収集に関連するプログラムのコーディングとテストを行った。

iii) 構造活性相関検索システムの詳細設計とプログラム基本設計を行った。

iv) 約1700物質の化合物データを収集、入力するとともに、日本語化合物辞書ファイルに登録の手続きを行った。(科学技術庁科学技術振興調整費、変異原性部、薬理部、病理部と共同、科学技術庁振興局へ報告)(→学会発表114, 115)

2. 化学物質の評点法に関する調査研究

前年度の研究に引き続き、438物質について、5項目のデータを収集し、評点法の有効性を検証した。(委託事業研究、環境庁環境保健部保健調査室へ報告)

3. データベースの有効利用に関する調査研究

i) 毒性等データベースの有効利用法の検討

a) IRPTC および他の国内外の法規制情報検索システムの特徴を比較検討した。(→学会発表116)

b) 米国 NIOSH の RTECS による生殖毒性データ検索の有効性と限界を検討した。(→学会発表117)

c) 米国 NIOSH の RTECS オンラインファイルによる毒性情報検索上の問題点を総合的に検討した。(→誌上発表130)

ii) 毒性情報検索手法の改善に関する検討

a) 医薬品添加物の安全性評価に必要な毒性情報のオンライン検索手法を7種のデータベースを用いて検討した。(→学会発表118)

b) 小核試験のオンライン文献検索を、文献主題と物質名を中心に検討した。(→学会発表119, 120)

4. 既存化学物質の毒性評価と毒物劇物指定の整備に関する研究

i) 毒物劇物取締法指定物質について、諸種資料から急性毒性値を抽出し、参考資料を整備した。

ii) 諸種毒性データ集から毒物劇物相当物質を抽出し、毒物劇物指定令整備のための資料とした。(厚生科学研究費、東京歯大と共同、厚生省薬務局安全課へ報告)

安全性生物試験研究センター

センター長 大森 義仁

当センターの業務は年を追って増加する傾向にあり、研究員数の減少下でこれらの問題に対する対応処理の向上は、各部の能力の充実がもたらものである。本年度は一部に人員の増減があったが、一方対がん10カ年総合戦略の一環として当センター変異原性部に細胞バンクが設置され、さらに病理部もふくめてリサーチレジデントが配属されたことは、従来からの業績が評価された画期的な成果と考えるものである。停年制の実施に伴う研究員の漸減傾向の波は、当センターもそ

の例外とはなり得ないが、このような若手の第一線の研究者の獲得が今後も継続維持できることを期待する。

厚生省各局からの各種試験研究業務の実施については、とくに大きな変化はなく、国家検定においても、昨年に比べて処理件数に若干の減少をみたほかは、これら業務の今後の方向づけなどにも新たな動向はみられなかった。

科学技術庁、環境庁および文部省特別研究などのプロジェクトチームへの参加も各部が協力し夫々実績を挙げてきている。文部省科学研究費も今年度は多くの課題で補助が得られた。

医薬品の GLP の制定に伴う内外の各企業ならびに受託研究機関の査察業務を当センター部長ならびに室長が分担し実施する方式が定着し、さらに各種委員会や審議会への参加も増加しつつあり、今後とも日常の試験・研究業務遂行の能率化と併せて検討すべき問題となってきた。

日米毒性研究協力事業は開始後5年を経過したが、初期の目的である米国国立環境保健研究所(NIEHS)との研究員の交流、セミナーの開催、NTP(米国毒性計画)の情報や国内データの相互評価に予想以上の実績を挙げ得たと考えられた。

WHO/FAO 合同食品添加物評価専門家委員会その他の定例の国際委員会に当センター部長および室長が招聘される機会が多かった。とくに各種化学物質の安全性の評価に参加することが年々増加しつつあり、さらに今年度は IPCS, IARC 主催の各種委員会にも出席するとともに、変異原性試験の validation にも分担参加し成果を挙げた。

インドネシア国立薬品食品管理試験技術協力事業には当センター薬理・毒性部が計画の初期から協力し、今年度より技術指導のため長期出張が開始された。この計画に伴う連絡会議及び短期長期の研究員の参画は、今後とも増える見通しである。

国際学会集会への参加も年々増加傾向をたどり、国際薬理学会発表、国際製薬企業連合会議、ヨーロッパ先天異常学会での招待講演などへのセンター部長・室長の参加が行われた。

国外、国内の各研究・援助などの事業への参加協力業務の増加などの現状にかんがみ、当センターの更に活性化を図るために、組織人員全般にわたり改革増強を進める必要が痛感される。

毒 性 部

部 長 戸 部 満 寿 夫

概 要

昭和54年度より第1次および第2次の計6年間にわたって、医化学部、毒性部、薬理部、病理部、変異原性部の5部共同で実施して来た“医薬品、食品添加物等の安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究”(特別研究)が、59年度をもって終了した。

成果については、本号の特別研究報告を参照されたい。

インドネシア医薬品品質管理試験所の拡充計画の一環として、D. Sumantri, S. Widodo, S. Endreswariの3氏が来日され、Miss Endreswariは7~9月の3ヵ月間、他の2氏は各々9月の1ヵ月間を当部で研修された。また、この事業に関連して当方から会田技官が技術指導の目的をもって、滞在1ヵ年の予定で60年3月に出発した。

58年4月1日より実施に移されたGLP制度に伴う関連研究機関の査察が59年6月より始まり、当部からも部長・室長が参加した。

60年4月1日には、第4室に高木篤也君が着任し、暫らくぶりに歓迎の集りを持った。

研究業績

1. 医薬品

i) 注射剤の安全性に関する研究(厚生科学研究)

新しい試験法(案)を用いて、毒性部を含む11研究所間で4種の注射薬のグレードの一致性について検討した。(薬務局へ報告)

ii) 放射性医薬品の毒性試験(原子力試験研究)

副腎疾患診断薬¹³¹I-ヨウ化アドステロールのラットによる毒性試験を行った。(科学技術庁へ報告)

iii) 歯科材料の安全性評価法の確立に関する研究(厚生科学研究)

一般毒性試験法を検討する目的で、歯科用レジンをラットに投与し検討した。(薬務局へ報告)

iv) 駆瘀血剤の有用性に関する研究—駆瘀血剤の毒性学的研究

牡丹皮、甘草および柴胡のメタノールエキスを投与したラットについて毒性学的検討を行った。(科学技術庁研究調整局生活科学技術課へ報告)

2. 食品添加物

i) ブチルヒドロキシアニソール(BHA)の毒性に

関する研究

食品の酸化防止剤として使用されているブチルヒドロキシアニソール(BHA)を6ヵ月間連続投与した犬の病理組織学的検査を終了した。(生活衛生局食品化学課へ報告)

ii) *dl*- α -トコフェロールおよびエリソルビン酸ナトリウムの併用毒性に関する研究(生活衛生局委託研究)

ラットを用いて、*dl*- α -トコフェロール、エリソルビン酸ナトリウムの24ヵ月間併用毒性試験を開始した。

3. 家庭用品

i) ゴム添加剤のメルカプトベンゾチアゾール、ジフェニルグアニジン、メルカプトイミダゾリン、2-(モルホリノチオ)ベンゾチアゾールおよびN-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェニアミドのマウスによる慢性毒性試験を継続して実施した。

また、N,N'-ジエチルチオ尿素の光毒性および光感作性を前年度に引続き実施し、新たに2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェノール)の一次刺激および皮膚感作性の検討を行った。

ii) 防炎加工剤のトリス(2,3-ジクロロプロピル)ホスフェートのマウスによる経口及び経皮慢性毒性試験を継続して行った。

また、ヘキサプロモシクロドデカンの光毒性および光感作性の検討および経口発がん性試験を開始した。(一部の成績を家庭用品安全対策室へ報告)

iii) ジクロロメタンのラットによる慢性吸入毒性試験を開始した。

iv) 昇華性化学物質の吸入毒性に関する研究の一環として、パラジクロロベンゼンを取り上げ、ガス発生装置の検討を行うとともに短期間暴露の影響についてラットを用いて検討した。(家庭用品安全対策室へ報告、厚生科学研究)(合成化学研究部と共同)

v) ナフトールASの毒性に関する研究

衣類の染料として使用されているナフトールASのラットにおける急性毒性試験を行い、続いて亜急性毒性試験を開始した。

なお、別に皮膚の一次刺激および感作試験を開始した。(一部の成績を家庭用品安全対策室へ報告)

vi) 可塑剤

2-エチルヘキシルジフェニルホスフェイトの光毒性および光感作性の検討を前年度に引続いて行った。

vii) 溶剤

1,1,1-トリクロロエタンの光毒性および光感作性を前年度に引続き実施し、新たにジエチレングリコールモノブチルエーテルの一次刺激および皮膚感作性の検

討を行った。

4. 既存化学物質

ビス (2,3,3,3-テトラクロロプロピル) エーテル, パラ-sec-ブチルフェノール, 2,4,6-トリ-tert-ブチルフェノール, ペンタクロロエタン, および水素化トリフェニルのラットによる慢性毒性試験を継続して行った。

また, 新たにヘプタクロールの急性毒性試験をラットにより行った。

5. その他

i) 医薬品, 食品添加物等の安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究 (特別研究)

3 ヶ年にわたる第2次研究を終了した。

ii) オゴノリ類海藻による食中毒の解明に関する研究 (厚生科学研究)

オゴノリ類海藻の中毒原因成分を追求するため, サルにオゴノリを投与し生体への影響を検討した。(生活衛生局へ報告)

iii) 小型霊長類の実験動物化と特性に関する研究 (科学技術振興調整費)

マーモセットが安全性試験に利用出来るか否かについて検討した。(科学技術庁へ報告)

iv) 特別行政試験としてアスコブおよびその模倣製品の急性毒性試験を行った。

v) 小型ウサギ目動物の実験動物化とバイオメディカル研究分野における有用性の探索

—ナキウサギの有用性・薬物感受性について— (文部省科学研究)

vi) タール色素の毒性に関する研究

—赤色223号, 青色205号の急性毒性および皮膚刺激性について— (薬務局審査課へ報告)

vii) 農薬中毒の解毒剤に関する研究 (堀岡班) (厚生科学研究)

薬 理 部

部 長 高 仲 正

概要

昭和58年6月より「医薬品の安全性試験の実施に関する基準」(GLP)に則り, 査察が開始され, 当部からは延べ8名が8施設の査察に参加した。

今年度の短期海外出張は4件で高橋室長(7月1日～8日)スイス:IPCSの試験法作成計画会議, 大野技官(7月23日～8月7日)英国:国際薬理学会, 高仲(10月28日～11月2日)スイス:IFPMA 主催急性

毒性シンポジウム, (12月3日～8日)インドネシア:国立薬品食品品質管理試験所技術協力59年度連絡会議であった。

経常研究費による研究以外の研究として, 今年度は新たに3課題について着手すると共に, 単年度研究として2課題を行った。したがって継続分を含めると, 厚生省関係8, 科技庁関係5, 環境庁関係1, 文部省関係6および特別研究2課題について研究を行い, うち7課題が終了した。

業務成績

国家検定

昭和59年度はブドウ糖注射液423件, リンゲル液4件について発熱性物質試験を行い, すべて適と判定された。

研究業績

1. 医薬品等の薬理作用に関する研究

i) 駆お血剤の薬理学的研究

本年度で研究を終了した。(科学技術振興調整費, 科学技術庁へ報告)

ii) 環境汚染物質の生体機能障害性に関する研究 (国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁へ報告) (→誌上発表136)

iii) 放射性医薬品の生体解毒機能に及ぼす影響に関する研究 (原子力試験研究費, 科学技術庁へ報告)

iv) 医薬品等の中枢作用に関する基礎的研究

v) 病態中枢機能に対する化学物質の影響に関する研究 (文部省科学研究費, 文部省へ報告)

vi) 注射剤の溶血性に関する研究 (厚生科学研究費, 薬務局へ報告) (→学会発表131)

vii) ジチオカルバメート系化合物による赤血球障害に関する研究 (→学会発表138)

viii) 化学物質による血液凝固機能障害と肝機能障害との関連性 (→誌上発表75, 76, 77)

ix) 腎における薬物代謝活性を変動させる要因に関する研究 (→誌上発表79)

x) 芳香族アミン類の代謝および毒性発現の動物種族差に関する研究

xi) 腎単離細胞を用いた毒性試験法開発に関する研究

本年度より3年計画で研究を開始した。(文部省科学研究費, 文部省へ報告) (→誌上発表81)

xii) 肝単離細胞を用いた科学物質の毒性発現機構解明に関する研究 (文部省科学研究費, 文部省へ報告) (→誌上発表78, 学会発表133, 137)

xiii) 医薬品の *in vivo* におけるニトロソ化に関する研究 (がん研究助成金, 厚生省へ報告) (→誌上発表80)

xiv) ニトロソアミン類の臓器障害および毒性発現機序に関する研究(→誌上发表74, 82, 学会発表135)

xv) 海草(オゴノリ類)による原因不明の食中毒の解明に関する研究

本年度で研究を終了した。(厚生科学研究費, 厚生省へ報告)

xvi) 既存化学物質の毒性に関する研究(家庭用品等試験検査費)

2. 医薬品, 食品添加物等の後世代に及ぼす影響に関する研究

i) 化学物質の機能的発達過程に及ぼす影響に関する行動薬理学的研究

本年度で研究を終了した。(文部省科学研究費, 文部省へ報告)

ii) 各種化合物の神経系の発生・分化と発達に及ぼす影響に関する研究(→学会発表136, 163)

iii) 胎仔期を含む発生期の肝薬物代謝酵素の特性とその役割に関する研究

iv) 胎仔肝および疾病誘発臓器の薬物代謝酵素系の特性

本年度より3年計画で研究を開始した。(文部省科学研究費, 文部省へ報告)

v) ステロイドホルモン剤の男性化作用に関する研究

vi) 合成黄体ホルモンによる性分化異常の発現機構に関する研究

本年度で研究を終了した。(文部省科学研究費, 文部省へ報告)

vii) 食品添加物の次世代に及ぼす影響に関する研究(食品等試験検査費, 環境衛生局へ報告)

viii) 家庭用品に用いられる化学物質の次世代に及ぼす影響に関する研究(家庭用品等試験検査費)

ix) 既存化学物質の次世代に及ぼす影響に関する研究(家庭用品等試験検査費, 薬務局へ報告)

3. 安全性評価のための科学技術開発に関する研究

i) 遺伝子組換えの新技術により生産される高分子医薬品の品質試験法の開発研究

本年度で第一次計画を終了した。(特別研究)

ii) 医薬品, 食品添加物等の安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に介する研究

本年度で第二次3年計画を終了した。(特別研究)(→学会発表132)

iii) スンクスの特性と有用性に関する研究

本年度で研究を終了した。(科学技術振興調整費, 科技厅へ報告)(→学会発表129, 134)

iv) 標識化合物を用い, 各種添加物の安全性試験法

の開発研究

本年度より5年計画で食品添加物部, 環境衛生化学部と協力研究を開始した。(原子力試験研究費, 科技厅へ報告)

v) 化学物質(クロルデン)の体内動態に関する研究(→学会発表130)

病 理 部

部 長 林 裕 造

概要

人事移動として, 一般病理組織研究室小久保武技官は, 昭和59年12月をもって退官し, 千葉県鴨川市亀田総合病院病理検査部部長として着任された。

海外出張では, 林部長は, フランス, リヨン市の国際ガン研究機関(IARC)での発癌性評価会議に出席して, 特に食品添加物(過酸化)の安全性評価に関する討論に参加した(昭和59年6月17日~28日)。さらに翌年は, フランスでのGLPに関するOECDの会議およびイギリス, ハンチントン研究所のGLP査察に連続して出張した(昭和60年2月23日~3月7日)。黒川腫瘍病理研究室長は, フランス, リヨン市のIARC主催の水道水の安全性に関する会議に出席し, トリハロメタン等の毒性について討論を行った(昭和59年12月9日~16日)。前川病理組織診断室長は, フランスにおいて2ヵ所のGLP査察を行った(昭和59年12月9日~20日)。その他の研究業務においては特別の変化はなく順調に進行, 発展している。

研究業績

1) 環境化学物質の動物発癌試験に関する研究

i) ビペロニールブトキサイドの慢性毒性および癌原性の研究

ii) 酢酸レチノールの慢性毒性および癌原性の検索

iii) フェニトインの癌原性の研究

iv) 魚粉加熱分解物の癌原性の研究

v) トリエタノールアミンの慢性毒性および癌原性の研究

vi) ヒトがん第一次予防に関する基礎的・臨床的研究の一環としてイニシエーター, プロモーターによる発癌実験。

vii) アルコールと食塩の発癌プロモーター作用の研究, 脾発癌に及ぼす影響の検討

viii) 多重がん発生に関する研究

ix) OPPナトリウムの慢性毒性ならびに癌原性試験

x) 乳酸カルシウムの慢性毒性ならびに癌原性試験

- xi) ナリジクス酸の慢性毒性ならびに癌原性試験
- xii) 5FU の慢性毒性ならびに癌原性試験
- xiii) 6MP の慢性毒性ならびに癌原性試験
- xiv) アルコールと食塩のプロモーター作用に関する研究
(以上厚生省がん研究助成金)
- 2) 環境汚染物質の発癌促進作用の評価に関する研究
 - i) 皮膚2段階発癌システムの環境汚染物質の影響の検索
 - ii) 肝2段階発癌システムの環境汚染物質の影響の検索
 - iii) 胃2段階発癌システムの環境汚染物質の影響の検索
 - iv) 脾2段階発癌システムの環境汚染物質の影響の検索
 - v) 腎2段階発癌システムの環境汚染物質の影響
(以上環境庁国立機関公害防止等試験研究費)
- 3) がん研究の基礎資料としてのラット自然発生腫瘍の評価に関する研究
- 4) 異種の動物および遺伝的背景を異にする動物における複数癌因子の相互比較検討に関する研究
- 5) 食品の毒性評価に関する基礎的研究
- 6) 発癌プロモーターに対する抑制要因の検索
- 7) 胃癌プロモーターの解明とその機構に関する研究
- 8) N-ニトロソ化合物の標的臓器に関する実験病理学的研究
- 9) 皮膚2段階発癌システムによるアミノ酸加熱分解物のイニシエーター作用の検討
- 10) フェニールブタゾンの癌原性およびプロモーション作用に関する研究
- 11) パルピタールの癌原性に関する研究
(以上文部省がん特別研究費)
- 12) 塩化第二鉄の慢性毒性試験ならびに癌原性試験
- 13) 食用黄色4号の慢性毒性試験ならびに癌原性試験
- 14) 臭素酸カリウムの慢性毒性試験ならびに癌原性試験
- 15) コハク酸ナトリウムの慢性毒性試験ならびに癌原性試験
(以上食品添加物安全性再評価費)
- 16) 医薬品・食品添加物等安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究の一環として経胎盤発癌性試験法の検討(厚生省科学研究費特別研究

- 費)
- 17) ニトロソ化合物の経胎盤発癌に関する研究
- 18) 抗悪性腫瘍剤(アドリアマイシン)の安全性に関する研究
- 19) 動物発癌実験の評価に関する研究
- 20) 毒性試験法ガイドライン作製に関する研究
- 21) マスクキシロールの慢性毒性試験ならびに癌原性試験
(以上厚生省科学研究費)
- 22) 毒性試験法ガイドライン作製に関する研究(医薬品等調査研究委託費)
- 23) 無機および有機酸化剤の毒性および発癌性に関する研究(癌振興会)
- 24) 体内適用放射性医薬品の安全性に関する研究
骨診断薬としてインジウムの組織に与える影響に関する研究(科学技術庁原子力試験研究費)
- 25) アルコールの食道癌発癌プロモーターの研究
(中曽根癌10ヵ年対策)

変異原性部

部長 石 館 基

概要

前年度に引き続き、食品添加物、医薬品、環境汚染化学物質の変異原性に関する試験ならびにそれに伴う基礎研究を行った。また、国際協力事業の一環として、WHO/IPCS 計画に基づき、発がん性物質の短期試験法の開発に関する研究を分担した。

昭和59年10月より、対がん10ヵ年総合戦略に基づき細胞バンクが発足し、財団法人がん研究振興財団より2名の若手研究員(リサーチ・レジデント)が配属された。当細胞バンク施設は当所の3号館の一部を改修したものであるが、本年一月に工事が終了、1月30日には、所内外の関係者による見学会を開催した。

昭和60年4月、当部、微生物変異研究室長として、公衆衛生院より三瀬勝利技官を迎えた。また、当所衛生微生物部より松井道子主任研究官が当室へ配置がえとなった。さらに、渡辺雅彦技官が研究員として採用された。これらの異動に伴い、当部の要員は一層充実し、今後、各室間における研究協力体制を確立していく予定である。

昨年12月には、細胞変異研究室の林真技官が関西学院大学より理学博士の学位を授与された。また、微生物変異研究室の能美健彦技官は、東京薬科大学へ薬学博士の学位を申請中である。

研究業績

1. 食品添加物の変異原性に関する研究
 - i) 19種類の天然添加物について培養細胞を用いる染色体異常誘発試験を行った。
 - ii) 58年度試験において陽性の結果が得られたものの中3種についてマウス骨髄を用いる小核試験を行った。
 - iii) i), ii)いずれも厚生省環境衛生局食品化学課へ報告, (→誌上発表91, 152)
2. 放射性医薬品の突然変異原性に関する研究
 - iii) In-塩化インジュウム(骨髄診断薬)について, 微生物による変異原性試験ならびに哺乳動物細胞による染色体異常誘発試験を行った。(科学技術庁へ報告)
3. 医薬品, 食品添加物について種々の変異原性試験の結果を定量的に比較分析し, その安全性評価の基準について検討した。(→学会発表159)
4. 環境汚染化学物質の変異原性試験
 - i) ディーゼル排ガスに24ヵ月暴露されたラットの骨髄を用いて小核誘発性を検討した。
 - ii) ディーゼル排ガス中に含まれるニトロ化合物10種についてサルモネラ菌による変異原性試験を実施した。
 - iii) 上記検体の中, 2種について培養細胞による染色体異常誘発試験を実施した。(環境庁大気保全局へ報告)
 - iv) 水道水中における微量有機化合物および関連物質9種について, サルモネラ菌による変異原性試験および培養細胞を用いる染色体異常誘発試験を行った。(厚生省環境衛生局へ報告)
 - v) 数種の大気汚染物質(特にガス状, 揮発性物質)の培養細胞および生体における染色体異常誘発性を検索し, その有害性について定量的に評価した。(環境庁企画調整局へ報告)
5. 微生物を用いる変異原性試験の開発および改良に関する研究

ニトロ還元酵素欠損株(TA100NR, TA100/1 8-DNP), umu 試験, プラスミド突然変異試験を用い, フェニルヒドロキシルアミン類の変異原性について検討した。(→誌上発表93, 96)
6. 変異原物質の代謝活性化機構に関する研究

ラット肝由来の P-450 を用いてフェナセチンの代謝活性化機構について検討し, 高スピン型 P-448 が高いフェネチジン N-水酸化活性を持つことを明らかにした。(→学会発表163)
7. 培養細胞の染色体異常による発がん物質短期検索法の改善と評価

- 種々の生活関連物質について哺乳動物培養細胞を用いる染色体異常誘発試験と体細胞突然変異試験について定量的比較を行った。
8. マウスを用いる小核試験の開発に関する研究
 - i) 小核試験誘発機構に関する細胞遺伝学的な基礎的研究を行った。
 - ii) データ評価のための統計処理法について検討した。
 - iii) 小核試験のための予備実験法を検討した。(→誌上発表92, 95, 154, 学会発表119, 162)
9. 活性酸素の染色体異常誘発機構に関する研究

パラオートの染色体異常誘発性を吟味し, スーパーオキシドラジカルとの関連性を検討した。(→誌上発表94, 学会発表160)
10. 変異原物質の情報収集
 - i) バイオリジカルデータベースの詳細設計について検討した。
 - ii) 染色体異常誘発試験および小核試験のデータ集積のためのデータベースの利用法について検討した。(→学会発表119, 120)
11. WHO/IPCS 計画による変異原性試験の開発

発がん性物質を検出するため細菌を用いる復帰突然変異試験(Ames テスト)を補足する *in vitro* 短期スクリーニング法を検討した。(→誌上発表153, 155)
12. 細胞株の収集, 保存, 開発に関する研究
 - i) 当所に現在保存されている細胞株の調査, リスト作製を行うとともに, 細胞10株について品質検査を行い種細胞として保存した。
 - ii) ATCC (American Type Culture Collection) より34種の細胞株(255アンプル)を購入し, 保存した。
 - iii) 約20種の細胞株について, 蛍光色素 Hoechst 33258 によるマイコプラズマ検査を行ったところ, 3株に強度の汚染が検出された。(財団法人がん研究振興財団へ報告)

大阪支所

支所長 加納 晴三郎

大阪支所においては, 国家検定, 製品検査, 一斉取締試験, 輸入食品検査および特別行政試験などを行っているが輸入食品検査を除いてほぼ例年なみの件数を処理している。

これらの業務のほかに, 国立機関公害等防止試験研究, 特別研究, 厚生科学研究およびその他の研究について, 薬品部, 食品部および薬理微生物部に述べるよ

うな内容のものが採りあげられ、それぞれに成果を挙げている。

以下各部別に詳述する。

薬 品 部

部 長 伊 阪 博

概要

昭和59年10月8日より、1ヵ年間、小室徹雄薬品第一室長は「細菌内毒素リポ多糖の構造・活性相関の研究」のため、西ドイツ国 Max-Planck-Institute für Immunobiologie (Dr. Chris Galanos 研究室)へ出張した。昭和59年12月22日には中原裕技官が「ミセル可溶化系におけるリパーゼ触媒脂質分解反応に関する速度論的研究」により薬学博士(大阪大学)の学位を授与された。

業務成績

1. 国家検定

検体数はブドウ糖注射液が851件、リンゲル液は5件で、全品が合格であった。プロチオナミド1件、同錠8件ですべて合格した。なお、上記プロチオナミド関連検定品目は昭和59年12月13日から削除された。

2. 一斉取締試験

ジピリダモールを含有する内服固形剤78件につき試験を行い、その結果はいずれも合格品であった。

3. 特別行政試験

国内産収納あへん12件(和歌山県1件、岡山県6件、香川県4件、甲種研究栽培1件)について、モルヒネ含有量の定量試験を実施した。

4. その他

医薬品原料および添加物の規格整備に関する研究(厚生科学研究、審査課)が行われた。

研究業績

1. 医薬品の分析化学的研究

i) 局方デキストリンおよび試薬デキストリンについて、GPCによる分子量分布を検するとともに、日局10デキストリンの純度試験に還元糖(Dextrose equivalent)を設定するための共同提案(本所薬品部)を行った。

ii) 光学異性体のHPLC, GCによる分離法は引きつづき検討中である。被検体はアルカノールアミン誘導体を中心とし、アンフェタミン、メタンフェタミンについて試みた。一方、ピンドロールなどと血清蛋白あるいは α_1 -酸性糖蛋白との結合率を膜平衡透析法により測定したが、総じて所期の成果は得られていな

い。

2. 医薬品と高分子物質との相互作用

i) すでに芳香族第一級アミノ基をもつプロカイン、プロカインアミドなどの加水分解反応を報告(→誌上発表97, 98)したが、グルコース、2-デスオキシリボースなど糖類の存在下で、プロカインなどの残存率に特異的な変化が観察され、水溶液中での安定性を解明するための一知見を以下のように明らかにした。上記医薬品が水溶液中でN-グリコシドを形成することをHPLCにより検出し、別途合成して確認した。p-アミノ安息香酸のN-グリコシドの水溶液中での生成、解離速度定数および平衡定数のpHプロファイルを明らかにし、擬一次の可逆反応とみなし、一般酸触媒反応であることを示唆した。(→学会発表164)

ii) イムノアッセイ技術の応用研究は大腸菌由来の細菌内毒素(LPS)の抗体測定法の開発を試みた。LPS免疫マウスの抗血清は ^3H -LPSを用いる測定により、わずかに抗LPS抗体価の上昇が認められつつあり、追加免疫を継続中である。一方、本所生物化学部において、ペプチド合成基質を用いる酵素法、その他のカリジノゲナーゼ製剤試験法が検討されているが、当部で確立したカリジノゲナーゼのエンザイムイムノアッセイによる定量試験を実施した。種々の定量法の評価に対する有益な知見を提供し得たと考えた。

3. 環境汚染物質と細菌毒素との生体系における相互作用

i) 支所三部共同の特別研究の生化学的研究を当部分担として、四塩化炭素およびLPS同時投与マウスの血清および肝上清の β -グルクロニダーゼが著しく上昇することを認め、また肝過酸化脂質の量も増加した。これらの結果は肝リソソーム膜が著しく不安定となり酵素の遊離を促し、膜の不安定化による細胞障害が誘起され、毒性増強—急性致死の一因であると考察した。(→学会発表165, 環境庁へ報告)

ii) LPSによる異常薬物代謝研究の一環として、LPS投与ラットのサリチルアミドのグルクロン酸抱合体の尿中排泄量は対照に比して減少し、硫酸抱合体は有意に増加することを明らかにした。LPS投与ラットの肝グルクロン酸および硫酸抱合酵素の活性は変化せず、アニリン水酸化酵素活性は減少した。これらの結果から、肝以外の腎、肺、小腸などの各臓器の寄与も大きいものと推論した。(→学会発表166)

食 品 部

部 長 伊 藤 誓 志 男

概 要

原田基夫部長が昭和59年12月31日付で退職され、後任に伊藤誓志男、食品部第一室長が昇任した。

食品部第一室長には外海泰秀主任研究官が就任し、豊田正武主任研究官は、本所食品部第三室長に転出した。

本年4月1日付で、小林加代子技官が新しく採用された。

長い間、当部の実験室は狭隘であったが、別館2号館の機器室の一部が整備され、当部で使用可能とされたので、それに伴って各実験室も整備し体制を整えた。

業務成績

1. 製品検査

食用タール色素423検体について検査した。不合格はなかった。

2. 輸入食品検査

亜硝酸10件、水分活性6件、EDB(エチレンジブromaid)6件、ホウ酸4件、着色料3件、甘味料1件の化学検査を行った。

3. 残留農薬実態調査

外国産農作物(小麦10件)についてカーバメート系農薬(イソプロカブ、メオバル、ツマサイド、カルバリル、コスパン、オスバック、プロボキスル)、酸アミド系農薬(アラクロール、ブタクリール、ジフェンナミド、クロプロプロファミン、プロバニル、クロロピサミド)および尿素系農薬(ジクロン、リニユロン)の検査を行ったがいずれも検出しなかった。(食品化学課へ報告)

4. 研修について

国際協力事業団による昭和59年度輸出入食品検査コース(研修生7名)の研修を10月に、農薬利用コース(研修生8名)の研修を60年4月に行った。

また60年1月より3ヵ月間農林規格検査所から1名、港検疫所から2名の研修を行った。

研究業績

1. 食品・添加物等の安全性に関する研究

i) 食品中の添加物の分析法に関する研究

昭和58年追加指定の11品目の食品添加物の中で、クエン酸イソプロピルおよびEDTAを分担した。(厚生省:谷村班,一誌上発表,157)クエン酸イソプロピルについては標準品がないため、まずクエン酸のモノ、

ジおよびトリイソプロピルの標準品を合成単離した後、各々の極性を利用し、食品中より精製後、メチル誘導体としてGCにより定量する方法を作製した。(→学会発表174)

EDTAについては神戸市環境保健研究所の協力の下に、透析後、Baker 10SPE(N₄⁺ form) columnで遊離型および金属キレート型EDTAに分別後、Cu塩としてHPLCにて定量する方法を考案した。(→学会発表173)

被膜剤として用いられる、各種の天然ワックスの分析法の基礎研究を昨年より継続して行い(→誌上発表103)、チョコレート、チューインガム、キャンデーおよびかんきつ類からの分析方法について検討した。(→誌上発表104,学会発表170)

その他、小麦製品に漂白剤として用いられる過酸化ベンゾイルをシリカゲルカラムを用いて安息香酸と分別定量する方法(→誌上発表156)、欧米で防カビ剤としてチーズに用いられる抗生物質、ナタマイシンのHPLCによる分析法について検討した。

ii) 食品添加物の1日摂取量に関する調査研究

昨年(→誌上発表106,107)に引き続き、本所食品添加物部および地方衛研8機関と協力し、マーケットバスケット方式による調査研究を行った。

本年は加工食品中の糊料および乳化剤を分担し、各々の分析法を作製し(→誌上発表100,108,学会発表171,172)、これらの方法を用い定量後、日本人の1日平均摂取量を試算した。アルギン酸ナトリウム90.4mg、およびグリセリン脂肪酸エステル44.7mgであった。またプロピレングリコール、ソルビタンおよび蔗糖の脂肪酸エステル、ならびにアルギン酸プロピレングリコールはいずれも検出されなかった。(検出感度いずれも50ppm)(食品化学課へ報告)

iii) 食品中の残留農薬分析法に関する研究

農作物中のエテボンをアルカリ加水分解後、生成した無機リン酸に錯塩を形成さず分析法および含脂肪食品中のアルディカーブを直接FPDにより分析する方法を作製し報告した。(厚生省科学研究:田辺班)

iv) 化粧品成分の分析法に関する研究

口紅、チック、ポマード等の化粧品に多く使用される種々の天然ワックス(パラフィン系、トリグリセリド系、エステル系)および石油ワックスを上記化粧品より、クロマト分画し、GCにより定量する系統的分析法を考案した。(→学会発表167)

2. 食品中の有害作用物質に関する研究

i) 蛋白質、特に魚介類の腐敗に関する研究

食品中より単離した種々の酵母および細菌を種々の

魚介類に接種し、培養温度と上記の酵母、細菌の繁殖度および種々の揮発性アミン類の生成率の相関性について、本所衛生微生物部と共同研究を行っている。

ii) 食用油の劣化に関する研究

劣化フライ油の家兎溶血率と理化学的試験法との相関性を調べ(→誌上発表101)、さらに劣化フライ油での溶血促進物質の分離を行った。(→誌上発表102)

3. 環境汚染物質と細菌内毒素との生体系における相互作用に関する研究

支所三部協同による国立機関公害防止等試験研究で、当部では魚類について昨年度に引き続き分担研究を行っている。(環境庁報告)

i) 各種環境汚染物質の水温と毒性の関係

90種の各種環境汚染物のヒメダカに対する水温と、致死毒性の関係を調べたところ、水温による魚毒性の増減が認められないもの(1群、塩化水銀等)、中温での魚毒性が最も強いもの(2群、酢酸銅等)、水温の上昇に伴い魚毒性が低下するもの(3群、クロム塩)、水温の上昇に伴い魚毒性が強くなるもの(4群、メタノール等)の4群に区分され、細菌内毒素(LPS)は4群に属した。また、これらの現象は魚体内蓄積量に起因していることを証明した。(→学会発表168)

ii) 各種環境汚染物と細菌内毒素(LPS)の相互作用

90種の各種環境汚染物中、塩化第二水銀、セレン酸ナトリウム、塩化マンガンの無機塩、Span 60 および Tween 60 の乳化剤、メタノール、エタノール、*n*-プロパノール、*n*-ブタノールおよび *n*-アミルアルコールの低級アルコール類の10種に毒性増強作用が認められた。また塩化第二銅、硫酸銅、酢酸銅の銅塩および硝酸銀に著明な毒性緩和作用がある事が認められた。(→学会発表169)

薬理微生物部

部 長 川 崎 浩 之 進

概要

昭和59年12月1日付をもって加納晴三郎支所長の薬理微生物部長併任が解かれ、後任として川崎浩之進衛生微生物室長が昇任した。これに伴って同日付で小川義之主任研究官が衛生微生物室長に就任した。

60年4月1日付で坂本純技官(長崎大、薬学修士課程、衛生化学、昭和60年3月修了)が新たに採用された。また、59年11月には江馬眞技官が大阪府立大学に論文「Trypan blue の胎仔毒性に関する研究」を提出

し、農学博士の学位を授与された。

現在、部全体が活気を呈しつつあり後述のような成果をあげることができた。

業務成績

国家検定として、ブドウ糖およびリンゲル注射液856件の無菌試験および発熱性物質試験を行い、全件数合格した。

輸入食品の細菌試験は、冷凍うなぎ12件を処理したが、8件が不適であった。

研究業績

従前から一貫した当部のテーマである発熱物質に関する研究と胎生薬理学に関する研究の他に、微生物による変異原試験が前年に引き続いて行われ、さらに環境庁公害防止等試験研究(昭和58年~60年)が第2年目を迎えた。また厚生科学研究の一環として、坐剤の安全性評価に関する研究について、本所薬品部と協力して研究に着手した。

発熱物質に関する研究としては、内毒素による発熱機序について、当部が製剤化した標準内毒素を静注した家兎の脳脊髄液を用いて詳細な薬理的検討が行われ、発熱性は $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ 比の変動やモノアミンの関与によるものではなく、内毒素の中枢作用であろうことを示唆した。(→誌上発表109)さらに内毒素と結合する脳プロテオリピッド蛋白を分離、精製して、その詳細な物理化学的解析が行われている。また、カルボシアン色素と内毒素との反応性について化学量論的な検討が行われ、発熱性とリムラス活性の強さは、カルボシアン色素と内毒素との結合性の強さとよく対応することを明らかにした。(→誌上発表110)

このように発熱物質に関する研究においては、内毒素の分子生物学がますます発展しつつある。一方、溶連菌外毒素による内毒素の致死毒性の著しい増強作用について毒性学的解析が行われ、各種毒性のマーカーが致死毒性の高まるのに対応して増強されることを示した。(→学会発表175)これは将来川崎病のような難病の病因的解明につながるものとして、その発展が期待されている。

変異原性の研究においては、各種のフライ油の劣化油脂について Ames の各変異株による Ames テストや umu テストを行い、変異原性について検索したが、検体中に変異原を検出しえなかった。

胎生薬理学の研究においては、アスピリン(ASA)による胎仔毒性の内毒素による増強の機作について検討し、サリチル酸(SA)による急性毒性、母体毒性および胎仔毒性がいずれも ASA を等モル投与した時と同程度であり、その上内毒素を併用しても ASA の場

合と同程度の毒性増強が認められることから、ASA単独または内毒素併用時の毒性には、SAが重要な役割を果たしていることを明らかにした。(→誌上発表111) また前年度報告したように、トリバンブルー(TB)のラット胎仔に対する毒性は、TBの胚への移行に関連するものと考えられることから、TBの血清蛋白への結合性を吸収スペクトル法にて検討した。〔衛生試報 102, 99(1984)〕

特別研究「環境汚染物質と細菌毒素との生体系における相互作用に関する研究」においては、前年度のマウスによるスクリーニングの結果をふまえて、本年はラットに酢酸鉛、塩化メチル水銀、塩化カドミウムおよび硫酸銅を投与し、内毒素負荷による毒性の増強効果について、マウスとの動物種属差、長期間投与の影響等を中心に検討し、マウスとラットの間には環境汚染物質によっては種属差を示すものが存在し、内毒素負荷の方法如何によっては長期間投与したカドミウムと硫酸銅が、毒性の増強効果を示すことを報告した。(環境庁企画調整局)

さらに坐剤の安全性評価に関しては、解熱坐剤としてインドメサシンを用いて家兎における解熱効果の測定法についての基礎的検討と、解熱効果とその血中濃度との関係、さらに各種基剤の影響等について慎重に検討を重ね、報告した。(厚生科学研究, 内山班)

以上の研究実績の他に、本年度は家庭用品安全対策の一環として、ジエチレングリコール・モノブチルエーテルのラットに対する催奇形試験を行い、本物質の催奇形性は陰性であるという結果をえた。

北海道薬用植物栽培試験場

場長 畠山好雄

概要

今年は未曾有の高温多照、寡雨のため水稲は大豊作となり、畑作物も豊作であったが、薬用植物は各地で乾燥の被害を受け、当場の試験作物も枯死あるいは生育障害をこうむった。

研究業務は前年より継続の科学技術振興調整費による「実証および生薬資源の確保に関する特定総合研究」の一部、優良品種の選抜に関する研究の分担としてヤマト、ホッカイトウキの品種育成に取り組んでいるが、今年をもって本研究は終了となった。

麻薬課の委託試験として、ケンの系統保存および技術保存に関する研究も続行し、名寄において一般耕作が開始され、指導に当ることとなった。

業務成績

1. 種子交換

採種	217種	(筑波試験場へ送付)
受入	45件	343種
分譲	54件	163種

2. 薬用植物の栽培・自主調査

エゾウコギとげなし株の発見は困難と判り、多量の種子を採取し、その実生苗より選抜する方向に切換え、陸別、丸瀬布で多量採取した。

研究業績

1. トウキ(科学技術振興調整費)

3年生抽苔株より低温伸長性個体 HGR₃ を545株中30株、YY₃ を2696株中85株、早生系個体 HE₃ を545株中23株、YYE₃ を2696株中23株を選抜、採種した。

2. ケン

寒冷地春播き栽培における花芽分化および生育過程を2年間にわたって検鏡し、その概略を解明した。

また、春播き栽培では基肥ないし早期追肥が収量を確める傾向が見られた。(→学会発表176, 業務局麻薬課へ報告)

3. シャクヤク

育種目標としては3年間栽培の個体収量を400gに設定しており、11系統がそれに相当、前回の多収系統と一致したものが多い。成分含量については現在分析中である。

4. 野生薬用植物

チョセンゴミシの栽培に当たっては、苗の雌雄を早期に鑑別する必要がある、アイソザイムによる雌雄鑑別が可能か否か検討したが、今回は成功しなかった。

5. その他

優良系統の選抜、予備的栽培試験の目的でダイオウ、トリカブト、キバナオウギ、ゲンチアナ等を試作し、また、優良遺伝子導入のため国内外より材料を蒐集し、ダイオウについてはこれまで蒐集した分について、センノサイドの定量を行ったが、高含量系統は見出されなかった。(→学会発表177)

筑波薬用植物栽培試験場

場長 佐竹元吉

概要

昭和59年12月1日付けをもって、原田正敏場長の兼任が解除され、佐竹元吉育種生理研究室長が場長に昇任した。育種生理研究室長は生薬部の尾崎幸紘主任研

究官が併任することになった。また、昭和59年4月1日付けをもって、上原政一技官が退職し、北沢尚技官が採用された。

本年度の主な業務は業務成績および研究業務の項で述べるように、前年度からの継続が中心であるが、特に組織培養の研究を本格化的に推進したことと「科学万博つくば'85」の政府出展の準備を行ってきた。出展のテーマはエキスポセンターのワークショップ（5月8日～14日）では「漢方薬のサイエンス」、特別展示コーナー（8月7日～14日）では「薬用植物を探る」の2回である。

科学技術庁関係の諮問事項である「遺伝子資源としての生物の確保方策について」の研究会に佐竹室長が参画し、昭和59年6月26日に答申を出した。

昭和60年度予算で薬用植物遺伝資源貯蔵室設置工事が認められ、目下基本設計中である。

昭和60年3月19日、会場において、薬用植物栽培試験場業務打ち合せ会が開催され、所長、副所長、生薬部長および業務課長が列席し、意義ある論議が交された。

業務成績

1. 種子交換

種子の保管数	1,663種	(83年, 84年分)
入手種子数	195件	1,493種
分譲種子数	179件	3,711種
種子目録配布数	76ヵ国	409機関

2. 薬用植物の自生地及栽培地調査

茨城県高萩市のツクバトウキ、キハダ、ミツガシワ等の自生種を調査した。栽培地の調査および指導はトウキ（奈良）、オウレン（栃木）及びミシマサイコ（埼玉）について実施した。種子交換用の種子は茨城県内の7ヵ所で188種の野生種を採集した。

3. 種苗法に関する業務

とうきの新品種登録審査規準の作成について、厚生省より、佐竹場長および西場長が参画し、同規準案の策定に当たった。

研究業績

1. ミシマサイコ（科学技術振興調整費）

i) 優良系統の選抜、育成に関する研究

野生種、個体選抜された系統および組織培養で誘導された系統の生育特性は前年度、報告を行った。今年度はサポニン成分の含量を系統別に定量した。各系ともサイコサポニン a と d が多く、c は少ない傾向が見られる。野生種では平尾台系が最も高く総サポニン含量 3.4%、最低はえびの高原の 1.50% である。個体選抜系統では 2.82% から 0.63% と変異が大きく、根の重い

ものは低い傾向が見られる。同じ系統の未抽苔株は抽苔株より含量が高い。サイコサポニン a, d の含量はほぼ均しく、サイコサポニン c より多い。これらの性質が遺伝的なものかどうかを検討する必要がある。

ii) 受精様式に関する研究

受粉が虫媒か、風媒かを確認するため、シマハナアブを用いて、結実率を測定した。虫の効果は約 10%、対照区より高くなる結果を得た。

雌ずいの受精適期は雄ずい伸長後、6, 7 日目である。雌ずい、雄ずいの生長を走査電顕で検討している。

iii) 摘芯試験

摘芯が収量や品質向上に有効かどうかを検討したところ、密植区では有効であるが、粗植区では効果は見られない。根の形態的特性には両区とも差が認められない。（科学技術庁に報告）

2. ケン

一貫種 120 個体および外国導入 36 系統の成分含量を定量し、高含量系統の選抜を行った。モルヒネ含量は外国導入種で 32.76% (No. 2234)、コデイン含量では 10.81% (F-102)、これらの中でモルヒネ 20% 以上、コデイン 2% 以上の系統について継続的に選抜育種を行っている。（麻薬課に報告）

3. ハトムギ

タイ系統と筑波系統の交配雑種 F4 世代の選抜を行い、47 系統 94 種を採種した。大粒種は草丈が高くなるタイの系統が見られる。大粒で結実数の多い種も選抜されている。またファイトトロンで産地の異なる 6 系統の生育を観察したところ、25° 区と 30° 区で生育特性に差があることが判明した。これらの系統はパーオキシダーゼおよびアミラーゼの種類でも差が見い出された。（→学会発表 178）

4. 組織培養に関する研究

i) マオウ

カルス形成およびカルスの増殖の条件を Ep-13 系統のマオウを用いて行った。NAA-kinetin (10~0.5 mg/l) 添加区では明培養および暗培養ともに生育が良い。しかしこれらのカルスからはエフェドリン、ブノイドエフェドリンが検出されない。

ii) ズボイシヤ

アトロピン、スコポラミン高含量株 (M-II-8-6) のクローン増殖を行うため、培地条件を検討した。NAA-kinetin (0.05~3 mg/l) 添加区でマルチプルシュートの形成が見られる。また寒天に代えてゲルライトを用いると生長速度が顕著に早まる。（→学会発表 179）

iii) モウコオウギ

個体数が少ない種を迅速に増殖させる手段としてク

ローン増殖を試みた。IAA-kinetin(0.5~5 mg/l)添加区で1切片より、4個体の幼苗が得られる。発根はIAA(0.5 mg/l)添加区が良い。(一誌上発表161)

iv) ニチニチソウ

幼植物体を切傷し、細菌を感染させ、植物体から形質転換細胞を得た。この細胞を増殖させ、アルカロイドの生成を検討したところ、生産が認められた。

5. 薬用植物の品種保存に関する研究

保存しているカンゾウ属、マオウ属、イノコズチ属、ボタン属、カノコソウ属、オケラ属、コガネバナの成分含量を定量し、それぞれの品質を明らかにした。

(一一部誌上発表161)

伊豆薬用植物栽培試験場

場長 西 孝三郎

概要

昭和59年10月、江崎勝司技官が当場に所属換となり着任した。場内の施設整備としては倉庫の改修工事を行い、培養室・標本室(各 23.0 m²)が完成した。

業務成績

1. 種子交換

採種 85種(筑波試験場へ送付)
内訳 野生植物 31種
標本植物 31種
温室植物 23種

受入れ 18件 66種

分譲 15件 48種

2. 薬用植物の自生地調査

本年度は例年調査を行っている長者ヶ原、石廊崎、天子山および稲取のほか新たに芦ノ湖周辺を加え、ミシマサイコを中心に野生薬用植物の植生調査を行った。

3. 植物目録の作成

当場に植栽保存されている約800種の植物について種苗入手簿と照合し植物目録を作成して筑波試験場へ提出した。

研究業績

1. ミシマサイコ

均一な種苗を大量に確保するため茎頂培養による増殖方法について検討した。その結果MS培地の1/2濃度、カイネチン0.1 mg/l、ナフタレン酢酸0.5 mg/l pH 6.0で良好な生育を示した。

2. シナニッケイ (*Cinnamomum cassia*)

前年度に引続きさし木による増殖について検討を加えた。インドール酪酸、 α -ナフタレン酢酸の50, 100,

200 ppmの溶液に3時間浸漬した後さし木した。さし木後6ヵ月の調査結果は無処理区が37.5%であったのに対しインドール酪酸の50 ppmで100%, 100 ppm, 200 ppmではいずれも85.7%と高い発根率を示した。一方、 α -ナフタレン酢酸では50 ppmで87.5%, 100, 200 ppmでは25.0%と低い発根率であった。

3. ジオウ

根茎腐敗病の予防および防除法について検討した。

4. ケン

カルスの増殖条件について検討した。

和歌山薬用植物栽培試験場

場長 堀 越 司

概要

ケンは58年11月10日に播種し、発芽は良好であった。気温は最高、最低ともに低く例年のない寒さであり、その上降水量は平年よりも少なく、生育は著しく遅れた。開花も前年より7日遅れであったが、4月下旬より気温も平年並みとなり、生育も順調となった。アヘン採取期には気温も上昇し、降水量も少なく好条件に恵まれ、アヘン収量は平年並み以上であった。なお12月~4月の気温は低く、生育は遅れがちの方が、晩霜によるさく果の被害も少なく、好結果が得られたものと思われる。ケンの特性調査をはじめ、トウキ、ミシマサイコの科学技術振興調整費試験、ミシマサイコの個体選抜の播種、アマチャヅルの補植や生育、収量調査の他、標本園の木札の立て替えなど多忙さを極めた。なお畑地脇の公道の補修も行った。

業務成績

1. 薬用植物栽培文書応答 32件

2. 植物(種苗倉) 入手 34件 66種
配布 36件 83種

3. 植物調査 ミサオノキ、センブリ、アマチャヅル、カギカズラ、テンダイウヤク、コセリバオウレン、ヤクモソウ、アスタバ

4. 種子交換 120種を採種調製し筑波薬試に送付した。

5. 御坊市公民館「成人講座」(1984.6.9)、和歌山県農業大学「緑の学園」(1984.7.24)、山村における「林業教室」(1984.11.12)、東京農大校友会紀北農業自営者の会「研修会」(1985.2.16)、伊都農村青年経営者「研修会」(1985.3.15)にて講演の他、59年度特殊農産物新規導入事業(印南町、新宮市)、印南町薬草栽培研究会、中津村、美山村、竜神村薬草研究会、田

辺市、金屋町、薬草を食べる会発会式（川辺町サイクリングターミナル）などに対し指導協力した。来場者は前年よりも多く、1,429名であった。

研究業績

1. ケン 品種および系統保存並びに技術保存を目的に育成管理し、開花、特性調査、アヘン採取、モルヒネ、コデイン含量測定(薬品部麻薬室)、種子の保存などを行った。

i) 開花調査 開花初めの最も早いのは、インド8赤紫覆輪で4月17日であった。全区71系統の開花初めは4月17日～5月10日であり、最盛は4月22日～5月15日で開花終わりは、4月30日～5月25日であった。花色は一貫種系は白で、交配種は白、ピンク覆輪、外国種は赤紫、青紫、朱、白、ピンク覆輪と雑多であった。花卉はカーネーション咲を除きすべて一重であった。

ii) 特性調査 さく果の形状や種子の色は品種・系統によって相異している。インド、イラン、トルコ、中共などの外国種はさく果の形状に特異性が認められた。

iii) アヘン採取時期とモルヒネ、コデイン含量

南広3号、湯浅2号を用いた。系統により若干の差異は認められるが、傾向として通説どおりであった。即ちモルヒネ含量は第1回切傷かき取りが最も高く、順次減少しているのに反し、コデイン含量はむしろ第3回追ぶきかき取りが最も高く、順次増加の傾向を示した。

iv) モルヒネ、コデイン高含量系統の選抜

一貫種、交配種、外国種69系統を用いた。

モルヒネ含量は愛知白が29.18%で最も高く、平均19.70%であった。コデイン含量は交配種CXI 2-10が7.82%で最も高く、平均2.1%であった。

v) アヘン採取、早生系は5月17日より開始し、5月24日までに4回、中晩生系は5月28日より開始し、6月24日までに4回実施した。

2. トウキ(科学技術振興調整費) 種子の大小と採種農家による発芽、2年次における採種部位や種子の大小による葉柄色の出現分布などについて検討した。

i) 種子検定 種子の大きさについては、高野町のものでは、1.5 mm が多く、和薬試のものは1.5 mm 以下が多かった。高野町矢辻氏のものは、2.0 mm 以上が他に優っていた。

ii) 発芽、播種の遅れにより、発芽不良で種子の大きさ2.0 mm 以上の林阪氏の39.8%が最高で最低は同氏の1.5 mm 以下の11.6%であった。

iii) 葉柄色の出現分布 種子の大きさ2.0 mm で

は赤系が多く、1.5 mm, 1.0 mm では大差なく若干緑系の多い傾向が認められた。採種部位では主茎頂果は赤系が多く、第1次分枝頂果上部を除き、若干赤系の多い傾向が認められた。

iv) 採種部位と生育 種子の大きさ1.5 mm, 採種部位第2次分枝頂果その他が若干優る傾向を示した。

3. ミシマサイコ(科学技術振興調整費) 産地別(野生)の種子生産と発芽について検討した。

i) 種子生産 種子の大きさは、高知の中(野生)、和薬試の中(栽培)が比較的多く、両者とも1.5 mm 以上が多かった。

ii) 発芽 和薬試(栽培)が69.6%と最も高く、山口秋吉台(野生)は25.0%と最も低かった。種子の大きさでは、大きい種子は発芽率も高い傾向を示したが、和薬試(栽培)では、中、極小、小の順であった。その他畑地における2年次の生育、収量についても検討した。根の収量は種子の大きさ1.5 mm 以上が最も多く、1.25 mm 以下が最少であった。摘花の効果は認められなかった。

4. オウレン1980年11月に美山村串本地区より入手したセリバオウレン(丹波系)は杉林、柿畑にて目下試験続行中である。

5. キハダ、タイワンキハダの接木法(中心接、形成層接)、台木の大小、さし穂による相異などについて実施し一部活着し生育中である。

6. その他 シャクヤク、アマチャヅルの試作、ハブソウ、エビスグサ、ヒマワリ、トチュウニッケイなどの展示栽培も行った。

種子島薬用植物栽培試験場

場 長 葵 一 八

概要

昭和59年4月1日付で、場長として着任し、前年度からの継続研究課題を中心に実施しながら、場運営の進行・管理面の業務をも修得することに努めた。

とくに、当場の自然環境下における、薬用植物種の増殖・保存を図るためには、台風・潮風・干ばつその他、冬季の北西季節風を回避できるような、省資源的生産資材としての防風林造成が肝要である。一方、砂土である圃場の地力向上を図るためには、客土・有機物多施・輪作等による対策技術と、灌・排水施設を配慮した、「土地基盤整備」を基調に据えることを念頭においた、薬用植物種の導入・作付様式を策定することにした。

このため、当年の防風林造成としては、生育・伸長が最も早い、モクマオウとハマビワを二段防風林樹種として、それぞれ500本ずつ植栽した。

業務成績

1. 種子交換

採種 (76種: 筑植へ送付)

内訳 自生植物 (46種)

導入植物 (30種)

受入れ (24件) (56種)

分譲 (16件) (61種)

2. 薬用植物の自生地調査

前年に継続して種子島に自生している、ショウガ科の植物と、薬用樹木について自生地調査を行った。また、屋久島における三葉オウレンと五葉オウレンの自生地を調査した。

3. その他

年間の来場者は、昨年よりも多く、1116名程であり、薬用植物に対する社会情勢の動き等からみた、諸情報を提供し、生産技術上の啓蒙を図った。とくに、種子島々内における、ガジュツ栽培振興・交流会に参画して、生産力向上についての指導にもあたった。

研究成績

I 優良系統の選抜・育成に関する研究

1. ミシマサイコ

1) 産地別隔離栽培による採種

4産地(霧島系・平尾台系・山口系・高知系)のミシマサイコを隔離栽培し採種したが、平尾台系と高知系は、台風7号の影響により、採種不能、霧島系72.0g、山口系1.0gの採種量であった。一部保存種子とし、他は筑植へ育種母材用として送付した。

2) 受精様式について

当該在来種のミシマサイコを供試して、開花直前の株に、寒冷紗を被ふくし、2×2の二元配置(昆虫放飼の有無による処理の2水準に、1株・2株の2水準を組合せた)で実験を行った。

その結果、第1次分枝頂花の稔実率は、処理間・株数間とも、昆虫(ツマグロハナバエ)の放飼により、稔実率が高くなることを認めた。

2. ハトムギ

1) 産地別隔離栽培による採種

5産地(タイ産・北朝鮮A・B、中国産A・B)のハトムギを隔離栽培したが、台風7号の影響により、タイ産は採種不能。他の4産地ハトムギは、何れも1.0kg以上の採種量が確保できたので、育種母材用として筑植に送付した。

2) 系統(F₄: No. 48)の分離比調査

筑植で育成された、F₄(No. 48)系統について、雌ずい色の赤:白と、葉鞘基部色の赤:緑とのそれぞれの分離比を、登熟株数1075株について調査した。

その結果、葉鞘基部色が赤71.9%:緑28.1%の分離比は、雌ずい色の赤:白の分離比と同一であることを認めた。

II 栽培に関する研究

ミシマサイコの摘芯試験は、発芽初期に冠水害をうけ、試験区の生育が異常に攪乱されたことと、7月29日に発生した、台風7号(瞬間最大風速37m/s)の被害により、試験を中止した。

ウコン栽培における、種イモの大小が、根茎肥大(収量性)に及ぼす影響試験では、台風7号の被害が軽微であった、台湾産のみが種イモの大小間に有意差が認められ、種イモ重量としては、40g程度のものが適当であった。

和ニッケイについては、生育調査を行い、シナニッケイについては、取り木法による発根個体を、鉢上げして露地栽培についての試作を検討中である。

ハトムギの窒素感応試験は、台風7号の影響により、地上部の折損・倒伏がひどくて試験を中止した。

そのほか、ズボイシアの古枝梢が、台風7号により、裂傷・枯損の被害が著しかった。

特別研究報告

Report of Collaborative Study

医薬品、食品添加物等の安全性評価のための新技術利用と
評価基準の確立に関する研究（第2次）

（昭和57～59年）

世話人 戸部 満寿夫

一連の本研究が計画された昭和53年の時点は、毒性試験の規模が大型化しつつある最中にあつたと言える。結果の推計学的精度が高まる一方で、評価の基盤である観測の精度の低下、さらには多量のデータの総合的な解析の難しさが懸念された。

6年間の本研究が進行中に、安全性試験に係わる状況には、かなりの変動が生じ、国内では医薬品（59年2月）、農薬（60年1月）について毒性試験実施のためのガイドラインの変更が、また、飼料添加物（55年2月）について新たに試験法が示された。

一方、国外でも OECD（57年）が毒性試験に関する包括的なガイドラインの策定を行った。これらのガイドラインの策定はややもすれば奔放の感のあつた試験の拡大、無意味な重複に対する一種の求心力が働いたものとも解される。もちろん、この求心力が前述の如き純粋に試験の総合的な精度を高めるための動機に基づくものである限り問題はなく、むしろ推賞されて当然であるが、精度に係わりのない要因が入るとすれば、それは極めて危険である。

医化学部は、一般毒性における生化学的検索に新しい検査技術の導入を試みた。すなわち、実験的腎障害を起こした動物の尿および腎を試料として ^{13}C -NMR スペクトルを測定し、生体成分の変化と腎の形態的障害との関連性について検討し、良好な相関を示唆する結果を得た。殊に尿の ^{13}C -NMR スペクトルの測定に動物を屠殺せずに変化の経過を知ることができる極めて有用な手法と考えられた。また毒性部は腎の障害性に関する検索法として尿中酵素活性測定の有用性を、既知の腎障害性物質のピュエロマイシン、ビス-(2,3-ジプロモプロピル)ホスフェイトを用いて検討し、尿中酵素活性の経時的変動から腎の障害部位の予測が

なりの確に行えることを明らかにした。

薬理部は、生殖毒性における出生仔の障害性の検索に行動薬理学的指標を用い種々検討を行っており、その研究の一環として出生仔の学習能を指標とした one-way shuttle box を用いた条件回避反応試験の有用性について検討した。生殖試験では出生仔はすでに被験物質の影響を受けていることから、出生仔の学習能が一定のレベルに達するまでの経過を指標として検討し、刺激の強度と負荷時間および1回当たりの試行回数の3要因について試験条件を設定することが出来た。

病理部は、経胎盤試験法について既知の癌原性物質を用いて試験法の有用性について検討している。既知の癌原性物質として数種のニトロソ化合物を用いた実験で、経胎盤投与では癌の発生がみられない場合、あるいは経口投与とは異なった発癌部位を示す場合があり、経胎盤投与と経口投与との結果の不一致を明らかにした。また経胎盤発癌物質を用いた経胎盤小核試験の検討を行い、用いた既知の発癌性物質での小核の誘発について投与量と小核発生頻度との間に用量相関がみられることを確認した。

変異原生部は、化学物質の染色体異常誘発性を検索し得る小核試験についての技術的な問題点の検討および小核形成の機構に関する基礎的研究を行った。高感度の動物種としての MS マウスの感受性の検討、標本の染色手法の開発、統計処理法の改善など、小核試験の適正な試験条件の設定が計られた。また染色体異常と小核形成の関連性について、小核誘発の作用機序の異なる物質を用いて検討し、小核形成は骨髓細胞に生じた染色体異常に起因することを確かめた。

本研究の主旨は誠に時期的にも当を得たものであつたと思われ、成果の今後の利用が期待され、特に毒性指標の選択に役立つ一つの示唆を与えることができた

と考えられる。しかし、各部が行った検討はいずれも一部の問題点を取り上げているにすぎないので、今後継続して研究すべき点も多いと思われる。

最後に、終始御協力を惜しまれなかった分担各位と研究の機会を与えられた当局に対し深く御礼申し上げます。

機器を用いた生体成分の分析に関する研究

医化学部・毒性部

〔目的〕

医薬品、食品添加物等の安全性を評価する新技術利用および評価基準を確立する研究の一環として本実験を行った。従来の生化学的方法は、生体組織を切りとり、粉碎し、分離、抽出、精製等の操作を加えて、純粋な物質を取り出し、それらを同定し、生体成分の変化に関する情報を提出してきた。

最近、非観血的な生体計測法として、超音波断層法、X線コンピュータ断層法(CT法)およびNMR-CT法等画像診断法が臨床医学および生化学領域に広く利用されている。腎臓に障害を示す Tris (2,3-dibromopropyl)-phosphate (TDBPP) をウィスター系雄ラットに経口投与し、尿(生体成分および異物代謝物の排泄を含む)および腎臓の ^{13}C -NMR スペクトルを測定した。

また、この測定に供した尿は生化学的検査(蛋白質、ブドウ糖、および尿中諸酵素)に、また、腎臓は病理

組織学的検査に供し、尿および腎臓の ^{13}C -NMR と生化学的および病理組織学的検査結果との比較を行った。

〔実験方法〕

1群2匹のウィスター系雄ラット(体重250~260g)を用い、対照群(2群)およびTDBPP処置群(2群、200mg/kg、100mg/olive oil 1mlを7日間1日1回連続経口投与)を設け、各1群について採尿は24時間毎に行い、それぞれ ^{13}C -NMR を測定した。また、尿素、蛋白質、ブドウ糖、Na、K、および各種酵素の活性を測定した。腎臓のNMR測定および病理組織学的検査は7日目の投与後24時間経過した時点で動物を殺処分して行った。

尿の ^{13}C -NMR の測定は日本電子 JNM-FX 200 Fourier Transform NMR Spectrometer を用い27°C、200 MHz、外部ロック方式により、また、腎臓の ^{13}C -NMR の測定は等張液(内部基準として3-(Trimethylsilyl)-propionic acid- d_4 -Na を含有の1.15% KCl- D_2O 液)中、27°C、200 MHz 内部ロック方式によって、掃引幅12000 Hz、FID 16K の積算で測定した。尿の生化学的検査はパラメーターとして蛋白質、尿素、クレアチニン、尿酸、ブドウ糖、Na、K および ALP、GOT、GPT、 γ -GTP、LAP、LDH の酵素活性を測定した。

〔結果・考察〕

TDBPP の毒性(急性腎障害、細菌に対する変異原性、発癌性等)については数多くの文献があり、急性腎障害に関しては、近位尿細管の曲部および直部の上皮細胞に壊死を起し、多尿を生ずる事が報告されて

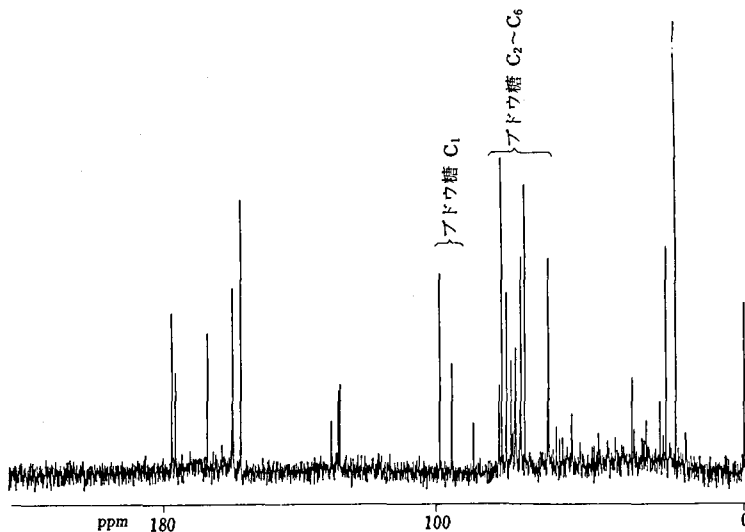


Fig. 1. 5日尿の ^{13}C -NMR スペクトル

Table 1. The Toxicity of Tris (2,3-Dibromopropyl) Phosphate

Parameter	Control	Olive oil	Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate						
			1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th
Urine protein ($\mu\text{g/h}$)	9.17	12.08	12.56	15.0	12.92	17.08	17.92	17.50	18.75
Urine urea (mg/h)	17.17	27.58	15.15	15.50	22.11	26.60	29.61	26.46	26.44
Urine creatinine (mg/h)	0.69	0.83	0.68	0.58	0.72	0.44	0.79	0.73	0.75
Urine uric acid (mg/h)	0.03	0.03	0.02	0.18	0.02	0.04	0.04	0.06	0.03
Urine glucose (mg/h)	0.09	0.02	9.91	0.43	23.58	21.03	26.75	10.80	9.30
Urine Na (meq/h)	0.18	0.20	0.18	0.19	0.24	0.20	0.24	0.15	0.15
Urine K (meq/h)	0.19	0.25	0.24	0.15	0.19	0.20	0.21	0.17	0.22
Urine ALP (mU/h)	13.77	13.21	73.83	46.81	5.58	3.34	9.96	13.14	4.59
Urine GOT (mU/h)	19.10	49.0	34.67	194.08	42.29	94.32	22.06	39.24	15.20
Urine GPT (mU/h)	51.0	60.17	72.17	159.29	18.37	151.90	9.20	37.80	14.88
Urine γ -GTP (mU/h)	166.67	254.17	1861.67	804.17	172.5	119.0	106.8	111.01	106.5
Urine LAP (mU/h)	13.98	23.04	114.62	50.44	11.85	8.53	8.23	6.95	6.36
Urine LDH (mU/h)	38.54	28.54	605.50	446.25	138.58	94.63	105.73	101.30	91.80

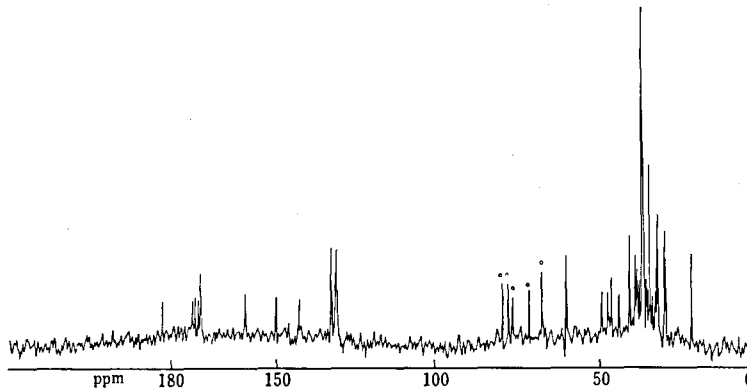


Fig. 2. 腎臓の ^{13}C -NMR 差スペクトル

いる。今回の実験では、3日、4日、5日の尿量はコントロールのそれぞれ1.6、1.7、1.3倍を、また6、7日の尿量は0.6倍を観察した。

尿の ^{13}C -NMR スペクトルは Fig. 1 に示すように、2日尿を除く1日から7日尿にブドウ糖のシグナルが認められ、尿量に比例して多く排泄されているようである。この傾向は尿の生化学的検査の結果 (Table 1) と一致する。また、Table 1 から蛋白質の排泄が日増しに増加している。

以上のことはブドウ糖および蛋白質の尿管からの再吸収に障害がおきたものと考えられるので、8日目に腎臓の重量、 ^{13}C -NMR スペクトルの測定および腎臓の病理組織学的検査を行った。薬物処置群の腎臓はコントロール群のものより2.3倍の腎重量を示す。また、その NMR スペクトル (Fig. 2) はコントロー

ルの腎臓のスペクトルを引いた差スペクトル法で得たものであり、mannitol および sorbitol 等の polyol およびこれの誘導体と思われるシグナルが観察された。

一方、NMR スペクトルを測定した腎臓の病理組織学的検査の結果は、近位尿管上皮細胞の壊死、脱落および石灰化、尿管の拡張および硝子様円柱が観察された。さらに尿管上皮細胞の再生および分裂像がみられるとともに核の肥大化が観察された。しかし、糸球体およびヘンレ係蹄には異常は認められなかった。腎臓内に Polyol およびその誘導体のシグナルが認められたことについては、高橋¹⁾は mannitol が胆汁へ排泄される時は胆汁と肝類洞の血管間の境界が高度に有孔性になったと説明、また mannitol や sorbitol が肝の細胞内水に侵入する時は肝実質細胞膜に大きな孔が存在すると説明しているので、腎重量の増加と考

合わすと、腎細胞内水の平衡性を保つために Polyol が侵入したものと考えられる。

〔結論〕

新技術利用に関して腎毒性を示す TDBPP を用いてラットの尿および腎の検索を行ったが、尿中代謝物と生体成分の排泄との関係および腎臓内の Polyol の出現等新しい現象が観察されたことより、この方法は尿中の常成分と代謝物の経時変化および臓器の非破壊的検査として極めて有用なものと思われる。

参 考 報 文

- 1) 高橋日出彦：くすりの毒性，p. 21～22，1973，南江堂

腎障害に関する基礎的研究

毒 性 部

〔目的〕

化学物質の安全性を評価する一つの手段として、通常、一般毒性試験が行われる。この試験から、化学物質を投与された動物の外観的な変化、体液の生化学的および組織の病理学的変化など様々な種類の生体情報が得られるが、これら検査値の相互関係、特に病理組織学的所見と臨床生化学的検査成績との関連性についての総合的判断の方法は確立されていない。そこで、前報¹⁾の実験的肝障害に引き続き、主たる障害部位を腎臓とする化学物質としてピュエロマイシン・アミノスクレオンド (PM) およびビス-(2,3-ジプロモプロピル) ホスフェート (Bis-BP) を選び、ラットの実験的腎障害について総合的に検討した。

〔実験方法および結果〕

1群5匹のフィッシャー系雄ラット(9週齢)に PM (100 mg/kg) および Bis-BP (100 mg/kg) を腹腔に1回投与し、それぞれ1, 3, 7および14日目に腎の病理組織学的検査ならびに血清および尿の生化学的検査を行い、腎臓の形態学的所見と生化学的所見の対応を試みた。

PM：体重増加の抑制が認められ、特に7日目以降に著しく体重が減少した。それに対し摂餌量は低くとも一定しており、また摂水量は9日目が最大であった。

腎の組織学的変化としては、尿細管が1～14日目を通して拡張し、また、7日目に糸球体上皮細胞の腫大およびボーマン囊壁との癒着が見られ、さらに14日目にはボーマン囊側壁の肥厚が認められた。尿細管の

再生像は7日目以降に見出されるが、その程度は軽度であった。

肝では肝細胞の白血球による浸潤が1～3日目に、また、有糸分裂像が1～14日目に観察された。

尿量は7日目に最大となり、尿蛋白は7～14日目に著しく増加し、同時に、血清成分で ALB の減少、BUN, PL, T-GLY, および T-CHO の増加を示し、脱水症状とも見られるが、血清蛋白は14日目に著しく増加し、また肝あるいは腎いずれの組織にも浮腫は認められなかった。

尿中酵素 ALD, ALP, AMY, CHE, GLDH, GOT, GPT, ICDH および LDH が著しく増加し、一方、腎内酵素 ALP, GLDH, GOT, GPT, γ -GTP, ICDH および LAP が著しく減少した。

14日目にボーマン囊の異常が顕微鏡的に認められ、尿中酵素 CHE, GLDH および LAP などの高分子蛋白(分子量：約20～41万)の7～14日目の持続的な尿中排出は、7日目以前から腎尿細管細胞膜および腎糸球体基底膜の透過性が亢進し、高分子蛋白の漏出が増大したと思われる。

肝内酵素の変動は小さく、また血清中酵素についても腎障害を予測させるとと思われる尿中酵素の増加、腎内酵素の減少および血清中酵素の減少のような現象を示す酵素は ALP 以外に認められなかった。

Bis-BP：体重増加の抑制は7日目まで続き、その後回復した。摂水量は3日目から5日目にかけて増大した。

組織学的には、腎の近位尿細管の上皮細胞の壊死が1日目に顕著に、次いで3日目には軽減すると同時に尿細管上皮細胞の再生像が認められ、7日目以降にはもはや壊死の痕跡も見出せなかった。

尿量および尿蛋白は1～3日目に多く、尿中酵素 ALD, ALP, GLDH, GOT, γ -GTP, ICDH, LAP および LDH が1日目に著しい増加を示したのに対して、同日の腎内酵素にはほとんど変化がなかった。腎内酵素は3日目以降に ALP, GPT, γ -GTP および LAP が著しく減少した。

この尿中酵素の一過性的変化は、尿 GLU の1～3日目および尿 UN の3日目の増加から近位尿細管の再吸収能の低下、ならびに腎局在酵素 ALP, γ -GTP および LAP の減少も尿細管上皮細胞の壊死により同一尿中酵素を減少させたものと思われる。

血清中酵素からは肝あるいは腎の障害を推測させる変化はなかった。

以上のことから、血清成分の変化では判別の困難な腎障害を、薬物投与後、尿成分を継続的に測定するこ

とにより、その変化から推測することができる。

PM の投与は7日目以降に持続的な尿中酵素の増加を、Bis-BP では投与1日目に一過性の尿中酵素の増加を認め、これらはそれぞれ腎の組織学的変化と一致するところから、前者は糸球体障害、および後者は近位尿細管を示唆する特徴のように思われる。

発表報文

- 1) 戸部満寿夫ら：衛生時報，99，156（1981）

出生仔の学習能試験における one-way shuttle box 法の応用に関する基礎的研究

薬理部

One-way shuttle box を用いた条件回避反応試験は、動物の学習能を測定するための行動薬理学的検査法の一つであるが、生殖毒性試験における出生仔の行動探索の一項目としても有用なものであると考える。

通常、この方法を薬理学的試験に用いる場合には、動物にあらかじめ条件回避反応を学習させ、一定レベルの回避反応率に達した動物を選別して実験に用いる。しかしながら、生殖毒性試験においては、母動物内で既に被検薬物の曝露を受けた出生仔について検査するため、上述のような選別は適切でなく、むしろ、回避率が一定レベルに達するまでの経過（学習曲線）を指標とした検索法が必要となる。

そこで本研究では、学習能の変化を検索するための、再現性のよい学習曲線を得る目的で、無条件刺激（電

撃）の強度と負荷時間、ならびに1日当たりの試行回数 の3要因について検討した。

〔実験方法〕

動物は7週齢の Wistar 系雄ラットを用い、無条件刺激 (US) の強度とその負荷時間および試行回数の組み合わせにより、Table 1 に示す12群を設けた。

One-way shuttle box は米国 Lafayette 社製4台を用いた。実験スケジュールは、①15~25秒間の休止時間の後、②10秒間の条件刺激提示（ブザー音および光）について③ US の提示を1試行とした。この間、条件刺激の提示中にラットがプラットホーム上に乗れば、US は負荷されず、回避反応として記録される。1日15、30または60試行の試験を5日間行い、次式により毎日の回避反応率 (AR) を求めてプロットした。

$$AR = \frac{\text{回避反応数}}{\text{試行回数}} \times 100$$

〔実験成績〕

1) US 強度について：US 強度 0.5 mA の場合、負荷時間および試行回数の如何にかかわらず、5日間を通じて AR はほとんど増加しなかった。一方、3 mA では、負荷時間3秒および0.5秒ともに、いずれの試行回数との組み合わせにおいても、AR は経日的に増加した。したがって、以下は、3 mA による成績について詳細に検討した。

2) US 負荷時間について：実験期間中の AR の推移には、US 負荷時間による差が認められ、またその差の程度は試行回数により異なることが示唆された。

3) 試行回数について：US 負荷時間0.5秒の条件下では、試行回数15回および30回の AR は経日的に漸

Table 1. Experimental Group

Group	US		Trial Number (Trials × Days)	Animal Number
	Intensity (mA)	Loading Time (sec)		
1	3	3	15 × 5	18
2	3	0.5	15 × 5	18
3	0.5	3	15 × 5	18
4	0.5	0.5	15 × 5	18
5	3	3	30 × 5	18
6	3	0.5	30 × 5	18
7	0.5	3	30 × 5	18
8	0.5	0.5	30 × 5	18
9	3	3	60 × 5	18
10	3	0.5	60 × 5	16
11	0.5	3	60 × 5	18
12	0.5	0.5	60 × 5	16

増し、1日目でそれぞれ約10%および約30%、5日目で約30%および55%であった。試行回数60回では1日目のARは約40%であったが、その後急激に増加し、2日目以降5日目まで約80%を維持していた。一方、負荷時間3秒の場合、15回のARは1日目の約40%から5日目の約70%まで漸増した。また30回では、1日目(約55%)から3日目(約80%)までに漸増し、以後は約80%のARが維持されていた。試行回数60回では、1日目ですでに約65%、3日目以降は約85%であった。

〔考察および結論〕

1) US強度0.5mAの条件下では、負荷時間および試行回数の如何にかかわらず、条件回避反応の獲得が認められなかった。したがって、0.5mAのUSは本研究の目的には不相当と考える。

2) US3mAの条件下の学習曲線は、US負荷時間と試行回数の組み合わせにより異なる推移を示すことがわかった。

3) US負荷時間0.5秒で、試行回数15または30回とした場合、5日間を通じてARが低いため、母体投与化学物質による学習能の低下の検出が困難と考えられる。また、負荷時間0.5秒および3秒ともに試行回数60回ではARが急激に増加するため、学習能の充進を検出し難いことが予測される。したがって、両者の中間的な学習曲線を示している負荷時間3秒の15または30回の条件が実用的と考えられる。さらに、個体間の学習曲線の再現性が比較的良好な30回の条件の方がより適切である。

発表報文

- 1) 長尾重之、川島邦夫、中浦慎介、小野田欽一、高仲正、大森義仁：第3回 Behavioral Teratology 懇話会(第24回日本先天異常学会学術集会)、東京(1984)

医薬品、食品添加物等の安全性評価のための経胎盤発癌試験法の検討

病 理 部

〔目的〕

先の特別研究(第一次)においては、化学構造が類似するが、成熟動物への経口投与でそれぞれ標的臓器の異なるニトロソ化合物(1-butyl-1-nitrosourea (BUN) および関連化合物)を用いて経胎盤発癌試験を行い、安全性評価のための経胎盤発癌試験法の有用

性を検討した。今回は先の実験をさらに継続すると共に、1)新たに合成した2つのニトロソ化合物の経胎盤発癌試験、2)二段階発癌試験における経胎盤法を応用し経胎盤イニシエーションの検討、および3)経胎盤発癌物質検索のためのラット経胎盤小核試験法の有用性を検討した。

〔実験方法、結果、考察〕

1) BNU および関連化合物の経胎盤試験

先回の報告で実験が進行中であったBNU, i-BNU および1,3-dibutyl-1-nitrosourea (D-BNU)のドンリュウラットでの経胎盤発癌試験を終了した。先に報告した様に、経胎盤投与でBNU¹⁾あるいはその前駆物質であるブチル尿素(BU)と亜硝酸との併用²⁾はACIラットに極めて高率に神経系腫瘍を発生させたが、ドンリュウラットでは予想に反し、BNUによる神経系腫瘍の発生は自然発生よりは高いものの、ACIラットに比べて極めて低かった。神経系腫瘍に関しては他の二つも同様で、BNU, i-BNU, およびD-BNUの間に明瞭な差は認められなかった。しかしこれら三群の雄で下垂体腫瘍の発生が著しく殊にBNU群で最も高かった。この事は、経胎盤発癌における癌原性、標的臓器においても、化学物質の違いに加え系統差もまた重要な因子である事を示唆している。

これに対し、N-butyl-N-nitrosourea (BNUR)は経胎盤投与でその仔にほとんど癌原性を示さなかった事は既に報告した³⁾。

2) ニトロソチオ尿素の経胎盤発癌

1-methyl-1-nitrosothiourea および1,3-dimethyl-1-nitrosothiourea を新たに合成し、ドンリュウラットを用いて経胎盤発癌試験を行った。実験は今までの経胎盤発癌試験と同様に妊娠15, 18および21日目の計3回母ラットに皮下投与する方法で行った。病理組織学的検索はまだ完了していないが、剖検所見からはこれらの化合物を投与された母ラットに、甲状腺腫瘍の発生はみえていないが、皮下腫瘍の高率な発生が認められており、この二つのニトロソチオ尿素はいずれも direct carcinogen である事がわかった。またこれらと化学構造が類似し、その強力な癌原性より陽性対照として用いた1-methyl-1-nitrosourea (MNU)を投与した群の仔には高率に神経系を中心とする腫瘍の発生をみている。しかしながらニトロソチオ尿素を投与したいずれの群の仔にも神経系はもちろん、如何なる腫瘍の有意な発生はみられなかった。

3) 経胎盤イニシエーションの検討

(i) 低濃度 1-Ethyl-1-nitrosourea (ENU)の癌原性：成熟ラットに対するENU低用量(10~0.3ppm)

の癌原性は既に報告したが⁴⁾、今回は 3 ppm および 0.3 ppm の ENU を胎生期より投与し、生後も引き続き投与を継続し、腫瘍発生を成熟動物におけるそれと比較検討した。今回用いた 3 ppm の用量は、成熟動物への二年間の投与でごくわずかに神経系および消化管の腫瘍を誘発させる量である。現在組織学的検索が進行中であるが、肉眼的観察からは低濃度 ENU を胎生期より投与する事で腫瘍発生が増強されるような結果は得られなかった。

(ロ) パルビタールの癌原性：疫学調査でパルビタール類は子供の脳腫瘍を増加させるとの報告がある⁵⁾。BNU あるいはパルビタールを妊娠ラットに投与し、生後その仔に引き続きパルビタールを経口投与し、神経系腫瘍の発生を中心に病理学的に検索した。この実験も病理組織学的検索がまだ完了していないが、剖検所見からはパルビタールのラット神経系腫瘍発生に対する作用はみられなかった。

4) 経胎盤発癌物質検出のためのラット経胎盤小核試験法の検討

近年 Cole らは経胎盤発癌物質の検出のためにマウスを用いての経胎盤小核試験の有用性を提唱している⁶⁾。これをラットに応用し、先に経胎盤発癌実験を行ったニトロソ化合物のうち、BNU および i-BNU を用いてラット経胎盤小核試験を行い、経胎盤発癌実験の結果と比較検討した。妊娠18日目のドンリュウラットに検体を投与し、経時的にラットを屠殺、胎仔肝および胎仔末梢血の塗抹標本作製し、アクリジノオレンジ蛍光染色法により小核を有する幼若赤血球の出現頻度を求めた。投与18時間目での比較では、20または 40 mg/kg の投与で BNU の方が i-BNU よりも強く小核を誘発したが、80 mg/kg では i-BNU においてもかなり強く小核の誘発がみられた。また小核の誘発には共に用量相関が認められた。この結果は経胎盤発癌試験の結果ともほぼ一致していた。

以上、第一次特別研究も含めた結果をまとめると、BNU 関連化合物やニトロソチオ尿素を用いた経胎盤発癌実験からは未知化学物質の癌原性検索に経胎盤法は必ずしも十分ではない事が示された。しかし医薬品、食品添加物の中には、特に妊娠中の婦人がそれに暴露される可能性のあるものも多く、経胎盤法は投与量が少なく済み、また投与期間が短いため実験も容易であり、かつ使用する動物も少なく済み経胎盤イニシエーションの問題も含め今後さらに検討されねばならない。また経胎盤発癌物質の検索にマウスと同様ラット経胎盤小核試験もまた有用である事が示唆された。

発表報文

- 1) Maekawa, A., Odashima, S.: *Gann*, **66**, 175 (1975)
- 2) Maekawa, A., Ishiwata, H., Odashima, S.: *Gann*, **68**, 81 (1977)
- 3) Maekawa, A., Onodera, H., Furuta, K., Odashima, S.: *Gann*, **71**, 811 (1980)
- 4) Maekawa, A., Ogiu, T., Matsuoka, C., Onodera, H., Furuta, K., Kurokawa, Y., Takahashi, M., Kokubo, T., Tanigawa, H., Hayashi, Y., Nakadate, M., Tanimura, A.: *Gann*, **75**, 117 (1985)
- 5) Gold, E., Gordis, L., Tonascia, J., Szklo, M.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **61**, 1031 (1978)
- 6) Cole, R. J., Taylor, N., Cole, J., Arlett, C. F.: *Mutat. Res.*, **80**, 141 (1981)

マウス小核試験法技術ならびに結果の評価に関する基礎的研究

変異原性部

近年、げっ歯類を用いる小核試験 (micronucleus test) は、種々の化学物質の染色体異常誘発性を間接的に検索し得る簡便な *in vivo* 法として広く用いられるようになった。本試験法は、最初スイスの Schmid ら¹⁾ によって開発されたものであり、動物に投与された検体が骨髓中の赤芽球の染色体に異常を誘発するか、あるいは、細胞の分裂に必要な紡錘体の機能を阻害すると、本来、核のない赤血球に小型の核が出現するという現象を利用したものである。

我々は、本試験法に関する技術的な問題、小核形成の機構に関する基礎的な研究、ならびに、種々の生活関連物質で得られた結果の評価等について検討を行ったので報告する。

1. 小核試験高感受性マウスについて

スイスの Aeschbacher らが開発した変異原高感受性マウス (MS) を輸入し、10種類の化合物に対する感受性について、国産 ddY マウスと比較検討した²⁾。その結果、Fig. 1 の例に示すごとく MS マウスは ddY マウスに比べてかなり感受性が高いこと、ならびに、無処理動物においても小核形成率が多少高いことがわかった。両系マウスの F₁ 雑種、戻し交配実験の結果、MS マウスの高感受性には複数の遺伝子が関与している可能性のあることが示唆された。

2. 小核試験標本のアクリジノオレンジ染色に関する研究

小核試験では、通常、骨髓塗抹標本をギームザ液で染色するが、特に、多染性赤血球と正染性赤血球との

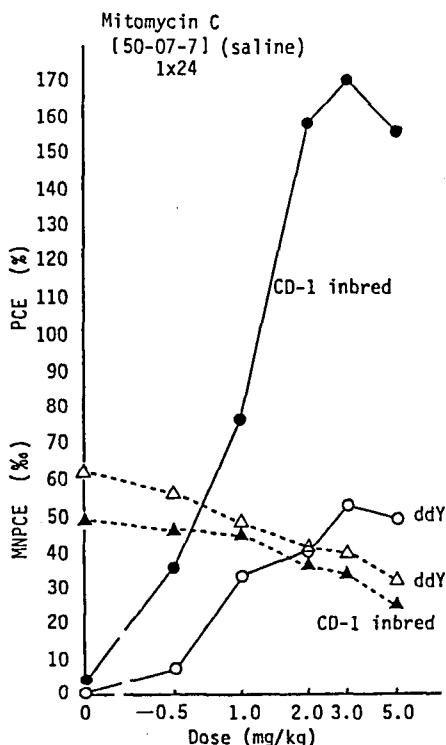


Fig. 1. 小核試験におけるマウス系統差—Mitomycin Cに対する感受性 (CD-1 inbred: MS系マウス)
 ○—○ 小核出現頻度
 ○……○ 多染性赤血球の比率

識別が困難なことがある。我々は、アクリジンオレンジによる蛍光染色法を適用することを考案した³⁾。本法によると両赤血球の見分けが容易となるばかりではなく、多染性赤血球中の小核を明確に識別することができる。また、ラットの骨髄では、肥満細胞の細胞内顆粒が多く、ギムザ標本上で小核を区別することが難しい。本法を適応することによって、その識別が容易となることがわかった。

3. 小核試験の予備試験法に関する研究

小核試験では、検体の用量ならびに標本作製時間の適切な選定が重要である。本試験を行う前に、1群2匹の動物に、4種類の用量の検体を投与し、5種類の標本作製時間を設ける。本簡便試験法によって、検体ごとの至適実験条件を選定することができる⁴⁾。上記、予備試験で条件が求められない場合は、毒性徴候を示さない最大耐用量を最高用量とし、24~30時間目に標本作製することが望ましい。

4. 染色体異常と小核形成との関連性に関する研究

小核は細胞分裂中に少数の染色体あるいは染色体の

切断によって形成されるものと解釈されている。しかしながら、実際、骨髄中に生じた染色体異常と小核の形成との相関について検討を行った報告はない。我々は、小核誘発作用機序の異なるマイトマイシンC (MMC), 6-メルカプトプリン (6-MP) および Ara-C を用いて、染色体異常の誘発性と、小核誘発性との経時変化を比較検討した。さらに、Ara-C を用いて誘発された染色体断片の相対的な長さの分布と、誘発された小核の相対的な DNA 量の分布とを比較した。これらの検索の結果、小核の形成は、理論的にも、実際的にも、骨髄細胞に生じた染色体異常に起因することが裏付けられた。

5. 小核試験結果の推計学的判定に関する研究

小核試験の結果を評価する際には、適切な統計学的手法を用いる必要がある。しかしながら、現在、そのための手法はまだ確立されていない。通常、実験群と対照群との間で小核出現頻度を比較し、2項分布に基づく、Kastenbaum & Bowman の数表⁵⁾によって有意差を検定している。しかしながら、陰性対照群に偶発的な変動があった場合には、その結果を正しく評価することは困難である。したがって、過去に蓄積された背景を取り入れた検定法を採用することが重要と思われる。当部で過去3年間に蓄積したデータを基に、実験値の有意性を評価するための安定した推計学的方法を検討した⁶⁾。

6. 各種化合物の小核試験成績

現在まで、当部では、Table 1 に示す化合物類についてマウス小核試験を行ってきた。既知発がん性物質は勿論のこと、これらの化合物は、Ames テスト、あるいは、*in vitro* 染色体異常試験いずれかで陽性となったものである。食品添加物類のうちで、本試験で陽性と考えられるものは、二酸化塩素、マルトール、臭素酸カリウム、亜塩素酸ナトリウム、デヒドロ酢酸ナトリウムなどであった⁷⁾。その他の添加物では、*in vitro* 系試験でたとえ陽性であっても、本試験では陰性に終わった。陽性物質については、さらに高次の試験系を用いてその安全性を検討する必要がある。また、陰性物質については *in vitro* および *in vivo* 法結果の違いを検体の薬物代謝経路あるいは標的組織の有無などの観点から比較検討する必要がある。

参考・発表論文

- 1) Schmid, W.: *Mutation Res.*, **31**, 9~15 (1975)
- 2) Hayashi, M. et al.: *Mutation Res.*, **105**, 253~256 (1982)
- 3) Hayashi, M. et al.: *Mutation Res.*, **120**, 241~247

Table 1. 当部で実施した小核試験成績 (盲検法による)

用途	化合物	動物	溶媒	経路	用量 (mg/kg)	回数	時間	判定	
農	FENITROTHION	MOUSE	OLIVE	IP	200 400 800	1	18	-	
	FENITROTHION	MOUSE	OLIVE	IP	150 300 600	4	24	-	
医薬品	DIETHYLSTILBESTROL	MOUSE	OLIVE	IP	12.5 25 50 100	1	18	-	
	METHOTREXATE	MOUSE	SALINE	IV	0.5 1 2 4	1	30	+	
	METHOTREXATE	MOUSE	SALINE	IP	4 8 16 32	1	30	+	
	MITOMYCIN C	MOUSE	SALINE	IP	0.0625 0.125 0.25 0.5 1 2 4	1	24	+	
	PHENACETINE	RAT	1% CMC	PO	38 75 150 300 600	1	30	+	
	POTASSIUM BROMIDE	MOUSE	WATER	IP	125 250 500 1000	1	24	-	
	POTASSIUM BROMIDE	MOUSE	WATER	IP	62.5 125 250 500	5	24	-	
	VINCRIStINE SULFATE	MOUSE	SALINE	IP	.008 .016 .031 .064 .125 .25	1	24	+	
	食品添加物	ACID RED	MOUSE	SALINE	IP	200 400 800 1600	1	24	-
		AMMONIUM CHLORIDE	MOUSE	SALINE	IP	62.5 125 250 500	1	24	-
AMMONIUM CHLORIDE		MOUSE	SALINE	IP	31.3 62.5 125 250	4	24	-	
BUTYL HYDROXY ANISOL		MOUSE	OLIVE	IP	62.5 125 250 500	1	24	-	
CHLORINE DIOXIDE [4%]		MOUSE	SALINE	IP	3.2 6.3 12.5 25	1	18	+	
CINNAMIC ALDEHYDE		MOUSE	OLIVE	IP	62.5 125 250 500	1	24	-	
CYSTEIN HYDROCHLORIDE, L-		MOUSE	SALINE	IP	125 250 500	1	24	-	
DISODIUM GLYCYRRIZINATE		MOUSE	SALINE	IP	17.5 35.0 70.0 140.0	1	24	-	
ERYTHORBIC ACID		MOUSE	WATER	IP	187.5 375 750 1500	1	24	-	
ETHYL ACETATE		MOUSE	.5% CMC	IP	100 200 400 800	1	24	-	
EUGENOL		MOUSE	OLIVE	IP	100 200 400 800	1	18	-	
FAST GREEN FCF		MOUSE	SALINE	IP	125 250 500 1000 2000	1	24	-	
MALTOL		MOUSE	OLIVE	IP	125 250 500 1000	1	24	+	
NEW COCCINE		MOUSE	SALINE	IP	300 600 1200 2400	1	24	-	
NICOTINIC ACID		MOUSE	.5% CMC	IP	62.5 125 250 500	1	24	-	
PERILLALDEHYDE, L-		MOUSE	OLIVE	IP	75 150 300 600	1	24	-	

Table 1. (つづき)

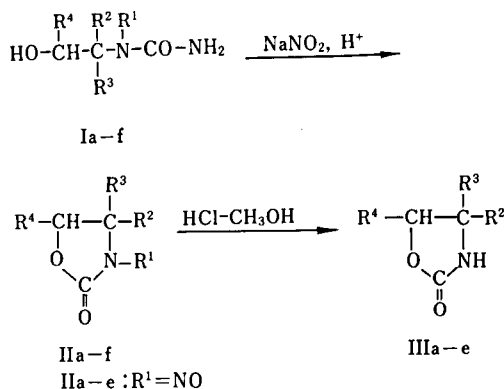
用途	化合物	動物	溶媒	経路	用量 (mg/kg)	回数	時間	判定	
食品添加物	POTASSIUM BROMATE	MOUSE	WATER	IP	25 50 100 200	1	24	+	
	POTASSIUM BROMATE	MOUSE	SALINE	IP	25 50 100 200 400	2	24	+	
	PROPYLENE GLYCOL	MOUSE	SALINE	IP	2500 5000 10000 15000 20000	1	24	-	
	PROPYLENE GLYCOL	MOUSE	SALINE	IP	2500 5000 10000	5	24	-	
	SODIUM CHLORIDE	MOUSE	WATER	IP	7.5 15 30 60	1	18	+	
	SODIUM CHLORIDE	MOUSE	WATER	PO	37.5 75 150 300	1	18	+	
	SODIUM DEHYDROACETATE	MOUSE	SALINE	IP	62.5 125 250 500 1000	1	30	+	
	SODIUM DEHYDROACETATE	MOUSE	WATER	PO	312.5 625 1250 2500 5000	1	30	+	
	SODIUM HYPOCHLORITE	MOUSE	SALINE	IP	312.5 625 1250 2500 5000	1	24	-	
	SODIUM NITRITE	MOUSE	SALINE	IP	12.5 50 100 200	1	24	-	
	SODIUM NITRITE	MOUSE	SALINE	PO	12.5 50 100 200 400	1	24	-	
	VITAMIN A FATTY ACID ESTER	MOUSE	OLIVE	IP	37.5 75 150 300	1	18	-	
	その他の化学物質	AAF, 2-	MOUSE	OLIVE	PO	55.8 111.5 223	1	24+	+
		AAF, 4-	MOUSE	OLIVE	PO	446 892 1784	1	24+	-
BENZO [A] PYRENE		MOUSE	OLIVE	PO	63 126 252	1	30+	+	
PYRENE		MOUSE	OLIVE	PO	202 404 808	1	30+	-	
QUERCETIN		MOUSE	DMSO	IP	125 250 500 1000	1	24	-	
QUINAGRINE DIHYDROCHLORIDE		MOUSE	SALINE	IP	30 60 120	1	24	-	
QUINAGRINE MUSTARD 2HCL		MOUSE	SALINE	IP	6.25 12.5 25 50	1	24	+	
SODIUM FLUORIDE		MOUSE	SALINE	IP	7.5 15 30	1	24	-	
SODIUM MONOFLUOROPHOSPHATE		MOUSE	SALINE	IP	20 40 80	1	30	-	
ACRYLAMIDE		MOUSE	SALINE	PO	20 40 80 160	1	24	-	
BROMODICHLOROMETHANE		MOUSE	OLIVE	IP	62.5 125 250 500	1	24	+	
BROMODICHLOROMETHANE		MOUSE	OLIVE	IP	25 50 100 200	4	24	-	
BROMODICHLOROMETHANE		RAT	OLIVE	IP	50 100 200 400	1	30	-	
DIBROMOCHLOROMETHANE		MOUSE	OLIVE	IP	62.5 125 250 500 1000	1	24	-	
DICHLOROETHYLENE, 1, 1-		MOUSE	OLIVE	PO	25 50 100 200	1	24	-	
DICHLOROETHYLENE, 1, 1-		MOUSE	OLIVE	PO	25 50 100	4	24	-	

-
- (1983)
- 4) Hayashi, M. *et al.*: *Mutation Res.*, **141**, 165~169 (1984)
- 5) Kastenbaum, M. A. and Bowman, K. O.: *Mutation Res.*, **9**, 527~549 (1970)
- 6) Hayashi, M. *et al.*: *Mutation Res.*, **127**, 129~137 (1984)
- 7) 石館 基ら: トキシコロジーフォーラム, 資料情報 (1980~1984)

1 **Cyclization of (2-Hydroxyethyl) urea Derivatives to give 3-Nitroso-2-oxazolidinones under Usual Nitrosation Conditions**

Makoto MIYAHARA, Masahiro NAKADATE and Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 497 (1985)

(2-ヒドロキシエチル) 尿素類 (HOCH₂CH₂NHCONH) (Ia-f) を NaNO₂ と酸, あるいはクロロホルム中 NOCl で処理する 3-とニトロソ-2-オキサゾリジノン類 (IIa-e) を10~70%の収率で与えた。IIa-e をメタノール中, 塩化水素ガスを作用させると脱ニトロソ化して相当する 2-オキサゾリジノン (IIIa-e) を与えた。また, N,N-二置換尿素である 1-(2-ヒドロキシエチル)-1-メチル尿素 (IIf) についても同様の条件下-3-メチル-2-オキサゾリジノンを与えた。



- a : R¹ = R² = R³ = R⁴ = H
 b : R¹ = R² = R³ = H, R⁴ = CH₃
 c : R¹ = R² = R³ = H, R⁴ = C₆H₅
 d : R¹ = H, R² = C₆H₅, R³ = R⁴ = H
 e : R¹ = H, R² = R³ = CH₃, R⁴ = H
 f : R¹ = CH₃, R² = R³ = R⁴ = H

2 **Preparation and Properties of Novel Trisubstituted N-Nitrosoureas which Decompose to Afford Triazines and Nitro Compounds under Mild Conditions**

Shoko SUEYOSHI and Masayuki TANNO: *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 488 (1985)

3,3-ジエチルおよび 3-メチル-3-(3-ピリジルメチル)-1-ニトロソ-1-トリルウレアを相当する尿素類から合成した。3,3-ジアルキル-1-(2-トリル) ニトロソ

尿素類は室温で分解して 3,3-ジアルキル-1-(2-トリル) トリアゼンを生ずる。一方, 4-トリル誘導体は極性溶媒中では主として相当するトリアゼン類を生ずるが, CHCl₃ や CCl₄ 中においては 3,3-ジアルキル-1-(2-ニトロ-4-トリル) 尿素と脱ニトロソ化した化合物を生成する。

3 **Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid on peroxisomal enzyme in rat liver**

Yoichi KAWASHIMA*, Haruyo KATO*, Setsuko NAKAJIMA*, Hiroshi KOZUKA* and Mitsuru UCHIYAMA: *Biochemical Pharmacology*, **33**, 241 (1984)

塩素系有害物の中では 2,4-D, 2,4,5-T はベルオキシゾームを増殖させる。2,4,5-T の方が作用が強かった。シアン不感性の脂肪酸酸化, カタラーゼ, カルニチンアセチルトランスフェラーゼなどが活性化され, 血中トリグリセライドは低下した。作用は質的にはクロフィブラートと類似する。構造類似性が反映されているように考えられる。

* 富山医科薬科大学

4 **Induction of rat hepatic long-chain acyl-CoA hydrolases by various peroxisome proliferators**

Haruyo KATO*, Setsuko NAKAJIMA*, Yoichi KAWASHIMA*, Hiroshi KOZUKA* and Mitsuru UCHIYAMA: *Biochemical Pharmacology*, **33**, 1081 (1984)

各種のベルオキシゾーム増殖剤, たとえばフタル酸ジエチルヘキシル, アジピン酸ジエチルヘキシル, 2,4,5-T, クロフィブラートなどによるラット肝上清中の長鎖脂肪酸 CoA ハイドロラーゼの誘導を検討した。ハイドロラーゼ I と II に対し, あるものは特異的に作用した。ハイドロラーゼ II の誘導剤は, ベルオキシゾームの誘導も同時に行う。構造活性相関についても考察した。

* 富山医科薬科大学

5 **一般毒性——生化学的考察**

有機塩素系化合物の環境動態並びに毒性に関する最近の知見

内山 充: 衛生化学, 31(1), 13 (1985)

有害物の生体影響とくに低濃度における作用強度をより定量的に知るために, 生化学的手法を毒性学に導いて作用を数値化する必要がある。酵素誘導, たん白結合, 膜機能への作用, 酵素阻害などを例にとって多くの塩素系有害物について考察した。

6 **Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats**

Yaeko IZAKI*, Shunichi YOSHIKAWA* and Mitsuru UCHIYAMA: *Lipids*, 19, 324 (1984)

実際に使用した揚げ油 (4段階の使用期間のもの) を脱脂餌に15%混入し13週間ラットを飼育し, 各種の生化学的指標とくに過酸化脂質関連脂標の変化を対照群 (新鮮油投与) と比較した。TBA 反応物質の増加と GSH の増加が肝組織で認められ, トコフェロール濃度の減少が肝と血清で著明であった。いずれも揚げ油の使用期間によく相関したが, 油の化学指標の中では, 極性の高い脂質画分の量の増加と非常によく相関を示した。

* 京都市衛生研究所

7 **Bioavailability of Nalidixic Acid from Uncoated Tablets in Humans-Part I: Correlation with Dissolution Rates of the Tablets**

Hiroyasu OGATA, Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA, Toshio SHIBAZAKI, Akira EJIMA, Norio TAKASUGI*, Eiichi MAFUNE*, Taizo HAYASHI* and Kaname SUWA*: *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 22(4), 175 (1984)

市販の nalidixic acid 錠3つ, および試作のもの2つの bioavailability 試験をヒトで行うとともに, 溶出速度を8種類の方法で測定した。これらの製剤間には bioavailability に有意の差が認められた。非常に崩壊性の悪い1つの製剤を除けば, 他の4つの製剤の bioavailability の順位と8種類のすべての溶出試験で得られた溶出速度の順位とは一致した。

* 第一製薬株式会社

8 **Bioavailability of Nalidixic Acid from Uncoated Tablets in Humans-Part II: Bioavailability in Beagles and Its Correlation with Bioavailability in Humans and Dissolution Rates**

Hiroyasu OGATA, Nobuo AOYAGI, Nahoko

KANIWA, Toshio SHIBAZAKI, Akira EJIMA, Norio TAKASUGI*, Eiichi MAFUNE*, Taizo HAYASHI* and Kaname SUWA*: *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 22(5), 240 (1984)

ヒト試験で用いたのと同一の nalidixic acid 製剤についてビーグル犬においても bioavailability 試験を行った。ビーグル犬試験の検出力はヒト試験に比較し低かった。両試験における最高血中濃度は有意の相関を示したが, 他のパラメータでは有意の相関は得られなかった。

* 第一製薬株式会社

9 **Development and Evaluation of a New Peroral Test Agent GA-TEST for Assessment of Gastric Acidity**

Hiroyasu OGATA, Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA, Akira EJIMA, Koichi SUSUKI*¹, Tadao ISHIOKA*², Masataka MORISHITA*³, Katsutoshi OHTA*³, Yasushi TAKAGISHI*⁴, Yoshio DOR*⁴ and Toshihiro OGURA*⁴: *J. Pharm. Dyn.*, 7, 656 (1984)

胃内にカテーテルを挿入する事なしに胃液酸度を測定できる, 新しい経口試験カプセル「GA-test」を開発した。同カプセルの中にはリボフラビンを含有した顆粒に胃溶性コーティング剤である AEA[®] を被覆した物が含まれ, 胃液酸度に依存して溶出したリボフラビンは速やかに尿中に排泄され, 蛍光法で定量できる。「GA-test」による胃液酸度の測定値は従来の「Gastrotest 錠[®]」による結果, および胃管法による結果と良く一致した。

*¹ 国立大蔵病院

*² 中野総合病院

*³ 東洋醸造株式会社

*⁴ 塩野義製薬株式会社

10 **Bioavailability of Metronidazole for Sugar-coated Tablets in Humans. I. Effect of Gastric Acidity and Correlation with in vitro Dissolution Rate**

Hiroyasu OGATA*, Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA, Toshio SHIBAZAKI, Akiraita, EJIMA*, Yasushi TAKAGISHI*, Toshihiro OGURA, Keizo TOMITA* Sonoko INOUE and Masami ZAIZEN: *Int. J. Pharm.*, 23, 277 (1985)

市販されている5銘柄の metronidazole 糖衣錠の溶出試験と生物学的同等性試験を行った。pH 5 または pH 7.2 において溶出速度の違い製剤の bioavailability

は胃液酸度の低い被験者では胃液酸度の高い被験者に比較し有意に悪かった。

* 塩野義製薬株式会社

- 11 **Bioavailability of Metronidazole from Sugar-coated Tablets in Humans. II. Evaluation of Beagle Dogs as an Animal Model**
Hiroyasu OGATA, Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA, Toshio SHIBAZAKI, Akira EJIMA, Yasushi TAKAGISHI*, Toshihiro OGURA*, Keizo TOMITA*, Sonoko INOUE* and Masami ZAIZEN:
Int. J. Pharm., **23**, 289 (1985)

胃内ヘカテーテルを挿入してビーグル犬の胃液のpHを測定したところ、pHの範囲は1.8-7.8であった。種々の溶出パターンを示す市販 metronidazole 糖衣錠の bioavailability 試験をビーグル犬で行った。胃液酸度の低いビーグル犬における metronidazole の吸収量は胃液酸度の低いヒトにおけるそれと良い相関性を示し、胃液酸度依存性の製剤の bioavailability 試験のモデル動物としてビーグル犬が使用できることが示唆された。

* 塩野義製薬株式会社

- 12 **Effect of Food on Bioavailability of Nalidixic Acid from Uncoated Tablets having Different Dissolution Rates**

Hiroyasu OGATA, Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA and Akira EJIMA: *J. Pharm. Dyn.*, **7**, 760 (1984)

市販および試作 nalidixic acid 錠を用いて食餌が薬物の bioavailability に及ぼす影響について検討した。食後投与においても溶出速度の最も速かった製剤は他の製剤よりも bioavailability が良かった。溶出速度の遅い2つの製剤では食前投与に比べ食後投与によって bioavailability が著しく上がった。その原因としては、食後服用では消化管内で製剤が食物とともによく攪拌され薬物の溶出速度が速くなることが考えられた。

- 13 **Kinetics of Urinary Excretion Rate from the Viewpoint of the Almost-one Parameter Hypothesis**

Motosaburo MASUYAMA*, Hiroyasu OGATA, Nahoko KANIWA: *TRU Mathematics*, **20** (2), 213 (1984)

身長伸びのような生命現象として基本的な過程は、その個体差は小さく、基準人の過程に対して個人の過

程を線形変換することができる(almost-one parameter hypothesis)。薬物の血中濃度や代謝速度定数の個体差について、同仮説が成り立つかどうか、アスピリン・アルミニウムおよびフロセミドの尿中排泄速度のデータで検討を試みた。個人の薬物排泄速度は平均薬物排泄速度に対し、線形変換が可能であり、排泄速度と、排泄速度の標準偏差との間には有意な負の相関が見られた。

* 東京理科大学

- 14 **Individuality of Metabolism from the Viewpoint of the Almost-one Parameter Hypothesis**

Motosaburo MASUYAMA*, Hiroyasu OGATA and Nobuo AOYAGI: *TRU Mathematics*, **20** (1), 7 (1984)

Griseofulvin の血中濃度について almost-one parameter hypothesis が成り立つか検討を試みたところ、同仮説は成立した。

* 東京理科大学

- 15 **Further Analysis of the Metabolic Data from the Viewpoint of the Almost-one Parameter Hypothesis**

Motosaburo MASUYAMA*, Hiroyasu OGATA, Nahoko KANIWA and Nobuo AOYAGI: *TRU Mathematics*, **20**(1), 11 (1984)

Indomethacin, nalidixic acid, metronidazole, fulfenamic acid, amikacin の血中濃度について almost-one parameter hypothesis が成り立つか検討を試みた。いずれの薬物についても同仮説は成立した。

* 東京理科大学

- 16 **Chronic Blood Vessel Catheterization in Göttingen Miniature Pigs and Application to a Preliminary Bioavailability Study of Nalidixic Acid**

Yoshikuni TANIOKA*, Yukio YASUDA*, Nobuo AOYAGI, Hiroyasu OGATA, Nahoko KANIWA and Akira EJIMA: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 2851 (1984)

最近、従来のミニブタより更に小型のゲッチンゲン種ミニブタ(ミニブタG)が開発され、その使用が可能になったが、そのミニブタについて繰り返し採血を行うためのカニューレーションの方法を紹介した。更に

カニューレーションを施したミニブタGに対し、ナリジックス酸の静脈投与、経口投与を行い、ミニブタGがバイオアベイラビリティ試験に有用であることを明らかとした。

* 実験動物中央研究所

17 Bioavailability of Griseofulvin Plain Tablets in Stomach-emptying Controlled Rabbits and the Correlation with Bioavailability in Humans

Nobuo AOYAGI, Hiroyasu OGATA, Nahoko KANIWA and Akira EJIMA: *J. Pharm. Dyn.*, **7**, 630 (1984)

胃内容排出調整家兎にグリセオフルビン錠4製剤を投与し、ヒトにおけるバイオアベイラビリティの結果と比較した。最高血中濃度、血中濃度下面積いずれのパラメータにおいても、ヒト-家兎間に良好な相関がみられたが、異なる製剤間のバイオアベイラビリティの差はヒトに比べ家兎で大きくなる傾向がみられた。投与時の水の量を変えてもバイオアベイラビリティにほとんど影響はみられなかったが、給餌によって製剤の崩壊が促進され、薬物の消化管通過速度が変化することが示唆された。

18 Use of PKM-MULTI Program for Fitting Discontinuous Absorption Profiles using a Microcomputer

Nahoko KANIWA, Nobuo AOYAGI and Hiroyasu OGATA: *J. Pharm. Dyn.*, **7**, 900 (1984)

非連続的吸収過程を含む pharmacokinetic model を解析するために、マイクロコンピュータ用のプログラム PKM-MULTI を開発した。既に文献に報告されている griseofulvin 等のデータを用いて同プログラムの計算結果と大型コンピュータで計算した結果と比較した。また、nalidixic acid のヒトにおける血中濃度を同プログラムにて解析した。

19 経口投与時における薬物の非連続吸収のコンピューターによる解析

鹿庭なほ子, 青柳伸男, 緒方宏泰: 臨床薬理, **16**(1), 215 (1985)

薬物が経口投与された時にはしばしば非連続的な吸収過程が観察される。数種の薬物について非連続的吸収過程を含む pharmacokinetic model の解析をマイクロコンピュータ用非線形最小二乗法プログラム

PKM-MULTI を使って行った。

20 Metronidazole の唾液中分泌

縮方宏泰, 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 遠藤真砂子: 臨床薬理, **16**(1), 123 (1985)

Metronidazole の唾液への分泌を健康人を対象にして検討し、分泌を決定する要因を明らかにした。また、唾液濃度と血中濃度とに位相のズレが認められた例について、コンパートメントモデルに基づく解析を試みた。

21 注射用蒸留水の純度試験 (第1報) 酸およびアルカリ

石橋無味雄, 吉岡澄江, 阿曾幸男, 柴崎利雄, 内山 充: 医薬品研究, **16**, 493 (1985)

日本薬局方 (JP10) 注射用蒸留水の純度試験は精製水の試験を準用することになっているが、その際、製造用 (Bulk) として使用される注射用蒸留水もアンブルおよびバイアル等に小分けされて販売されている注射用蒸留水も同一規格で試験することになっている。しかし小分けされている注射用蒸留水は容器あるいはゴム栓に接触する機会が多く、それらからの溶出物が予測されるので製造用と小分けされて販売される注射用蒸留水の規格が同一であることにはやや無理があり、問題になると考えられる規格値の項目は酸およびアルカリ、アンモニウムおよび蒸発残分である。今回はそのうち酸およびアルカリに関する試験法について検討を加え、試験法の改良を行った。

22 Plasma-induced Instability of Reverse-phase Evaporation Vesicles

Sumie YOSHIOKA, Mumio ISHIBASHI, Toshio SHIBAZAKI and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Parenteral Sci. Tech.*, **38**, 222 (1984)

ドラッグキャリアーとしてのリボソーム (reverse-phase evaporation vesicle) の安定性を人血漿中で検討した。リボソームの膜透過性は血漿との相互作用によって初期に著しく増大し、その後バリアー能の回復がみられた。この相互作用機構をリボソームと高密度リポたん白質とのリン脂質交換速度、濁度変化および蛍光偏光度等から考察した。

23 Chloride Leakage Measurement for the Evaluation of the Plasma-Induced Insta-

bility of Liposomal Membrane

Sumie YOSHIOKA: *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 308 (1985)

人血漿によって誘起されるリポソーム (reverse-phase evaporation vesicle) 膜の安定性を評価する方法として chloride の透過を指標とする方法を確立した。chloride の透過はイオン選択電極によって脂質やたん白質の共存下においても妨害なく測定することができた。リポソームの膜透過性は血漿およびアルブミンによって増大したがその両者の作用の相異を速度論的に解析した。

24 クロマトグラフ法による製剤の試験法 (第6報) フェノチアジン薬物の分析

松田りえ子, 立沢政義, 江島 昭: 医薬品研究, **16**, 136 (1985)

フェノチアジン誘導体の逆相系液体クロマトグラフィーにおける溶出挙動をイオン抑制法により検討した。この結果に基づき, フェノチアジン誘導体の1つであるメシル酸ジメトチアジン錠の HPLC-オートアナライザーによる定量法を確立した。製剤からのメシル酸ジメトチアジンの抽出および希釈には自動試料溶解サンプラーを用い, C_{18} カラムを固定相, アセトニトリル-pH 3 のリン酸緩衝液を移動相として分析を行った。

25 ガスクロマトグラフィーによる体液および毛髪中のメタンフェタミンおよびアンフェタミンの分析

高橋一徳: 日法医誌, **38**(3), 319 (1984)

投与したメタンフェタミン (MA) の体液や毛髪への移行を動物実験により, 明らかにし, MA 中毒者を理化学的に診断する方法の確立を目的として行った。

カニタイザルに MA·HCl を1回あるいは連続投与し, 各条件ごとに得た汗, 唾液, 尿, 体毛中の MA, アンフェタミン (A) の量を GC 法により測定した。

MA·HCl (3 mg/kg) を1回投与したとき, MA は汗で4日, 唾液で1日, 尿で5日目まで, A は MA より1~2日間長く検出された。さらに連続投与したとき, 汗へのAの排せつだけが延長された。体毛中の MA, A は投与回数増加に比例して増加し, 投与中止後, 13週経過後でも検出することができた。

中毒者の有無判定に用いる鑑定試料として, 汗や毛髪は, 従来用いられてきた尿に加え有用であることを本実験により明らかにすることができた。

26 向精神剤のマイクロクリスタルテスト III

高橋一徳, 島峯望彦, 角田健司*, 渡辺富雄*, 大野昌子: 日法医誌, **38**(5), 710 (1983)

TLC を併用し, ライネック塩試液を用いたマイクロクリスタルテストにより LSD を確認し, さらに蛍光検出器を用いた HPLC 法で含量を測定する簡易鑑別法について述べた。

* 昭和大学医学部

27 Determination of Glucocorticoids by Liquid Chromatography. III. Application to Ointments and a Cream Containing Cortisone Acetate, Dexamethasone Acetate, Fluorometholone, and Betamethasone Valerate

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA and Jiro KAWAMURA: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4012 (1984)

軟膏およびクリーム中の酢酸コルチゾン, 酢酸デキサメタゾン, フルオメソロン, および吉草酸ベタメタゾンを軟膏基剤および各種賦形剤と分離するため, シリカゲルカラムによる前処理法, 続いて, リクロソルブ RP-18 カラムによる高速液体クロマトグラフ法が検討された。前処理法を用いることにより, 市販製剤中の賦形剤, 基剤, グルココルチコイド以外の処方成分 (グリチルレチン酸を除く) をほぼ完全に除くことができ, 基剤等が液クロカラムの上部に吸着することにより発生するカラム効率の劣化および目づまりを避けることができた。市販製剤中のグルココルチコイドを定量したとき, その含量は, 95, 7~102, 5%であった。

28 マレイン酸エルゴメトリンの水溶液中での安定性

徳永裕司, 木村俊夫, 山羽 力: 医薬品研究, **16**, 130 (1985)

水溶液中のマレイン酸エルゴメトリン (EM) の安定性について高速液体クロマトグラフ法により検討した。EM を水溶液中で100°Cで5時間加熱したとき, 3個の分解産物のピークが観察された。それらの t_R は1.7, 4.61および8.82分であった。第三番目のピークはエルゴメトリンによるものであった。EM の70~100°C, 0~8時間の分解は擬一次反応式に従い, 活性化エネルギーは, 15.48 kcal mol⁻¹ K⁻¹であった。1%酒石酸中の EM を白熱燈 (10000~20000ルクス) で照射したとき, EM の分解は擬一次反応式に従い, 照度の

逆数と速度定数の間に直線関係が成立した。t_R 4.1分にある光分解物は熱分解物のどの化合物のピークとも異なっていた。白熱燈 (2000ルクス)、自然光 (2000~3000ルクス) を60分間照射したとき、EM の26.5および29.4%が減少した。EM の光分解を防ぐため、JPX での EM 錠の含量均一性試験および定量の際、褐色の遮光容器を使うことが提案された。

29 高速液体クロマトグラフィーによるインシュリンの分析 (第4報) 塩酸溶液中のインシュリンの安定性

太田美矢子, 徳永裕司, 木村俊夫, 山羽 力:
薬学雑誌, 104, 1309 (1984)

種々の濃度の塩酸性中での豚インシュリン (PI) の安定性について、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて検討した。HPLC による PI とその分解物の分離定量の条件は、リクロソルブ RP-18 のカラムを用い、カラム温度は30°Cとした。移動相はアセトニトリルと0.1 M リン酸緩衝液 (pH 5.0) (29:71) に50 mM 硫酸ナトリウムと0.2 mM 臭化セチルメチルアンモニウムを加えた。塩酸性中での PI の分解は、塩酸の濃度と温度に大きく影響され、擬一次反応式に従った。0.001 N と0.01 N 塩酸中では、PI は0°C, 28日間安定だが、30°Cと60°Cは速く分解するが、分解物はほとんど1個であった。0.1 N と0.3 N 塩酸では、0°CではPIは少し分解したが、30°Cでは分解が速く、多数の分解物を与えた。今回用いた HPLC 法は PI の分解物の分離定量には非常に有用であった。

30 Analysis of Insulin by High-Performance Liquid Chromatography. III. Determination of Insulins in Various Preparations

Miyako OHTA, Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA, Hiroshi SATOH and Jiro KAWAMURA:
Chem. Pharm. Bull., 32, 4641 (1984)

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、市販の牛と豚インシュリン混合剤中のインシュリンの定量を行った。HPLC の定量条件は、リクロソルブ RP-18 のカラムを用い、カラム温度は50°Cとした。移動相はアセトニトリルと5 mM 酒石酸緩衝液 (pH 3.0) (27:73) に0.15 M 硫酸ナトリウムを加えた。HPLC による定量値は、牛と豚インシュリンとそれらのデスアミドインシュリンの定量値の総和としてあらわした。市販剤の定量値は表示単位に対して、95~108.8%で、変動係数は1.03~3.14 (n=3) であっ

た。

31 家兎水晶体 Aldose Reductase II の基質特異性と種々の化合物による阻害

谷本 剛, 福田秀男, 川村次良: 薬学雑誌,
104, 631-934 (1984)

家兎水晶体のアルドース還元酵素 (AR) IIa および IIb の性質を検討し、AR-I と比較した。IIa と IIb は類似の基質特異性を示し、種々のアルドースやアルデヒドに作用した。補酵素としては NADPH を特異的に利用した。AR-I と AR-II は共通の基質に作用したが、AR-II の各基質に対する K_m 値は AR-I のそれより高かった。NADP⁺, 2',5'-ADP は AR-II を強く阻害し、K_i はそれぞれ 60 μM, 7 μM であった。この値は AR-I での値より小さかった。AR-II はケルセチンなどで強く阻害されたが、それらに対する感受性は AR-I より低かった。

32 Hydrolysis of O-Methylumbelliferyl Tetra-N-acetyl-β-chitotetraoside by Lysozyme and Its Inhibition by N,N',N''-Triacetylchitotriose

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Jiro KAWAMURA: *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 3607-3614 (1984)

リゾチームの *M. lysodeikticus* に対する作用はイオン強度に著しく影響されるが、4-methylumbelliferyl tetra-N-acetyl-β-chitotetraoside (4-MU-(GlcNAc)₄) への作用は影響されなかった。0.1 mM triacetylchitotriose ((GlcNAc)₃) は溶菌活性を阻害しなかったが、4-MU-(GlcNAc)₄ を基質にしたときの活性を40~60%阻害した。卵白およびヒト胎盤リゾチームの4-MU-(GlcNAc)₄ に対する K_s はそれぞれ 19.7 μM および 27.9 μM であり、V_{max} は 0.124 nmol/min/mg および 0.0833 nmol/min/mg であった。両酵素の k は非常に小さいが、これは基質分子中の切断されやすい結合部位と活性中心との配置が不相当であることを意味している。(GlcNAc)₃ の阻害形式は双曲的混合型阻害であり、両酵素の V_{max} を減少させた。しかし、K_s は卵白リゾチームで増加し、ヒト胎盤リゾチームで減少した。K_i は卵白およびヒト胎盤リゾチームでそれぞれ 29.6 μM および 106 μM であった。

33 4-Methylumbelliferyl Tetra-N-acetyl-β-chitotetraoside を基質にしたリゾチームの新活性測定法に関する基礎的検討

谷本 剛, 福田秀男, 川村次良: 医薬品研究,
15, 942~946 (1984)

4-Methylumbelliferyl tetra-N-acetyl- β -chitotetrao-
side (4-MU-(GlcNAc)₄) を基質にした卵白リゾチーム
の新蛍光活性測定を開発した。4-MU-(GlcNAc)₄ から遊離した 4-methylumbelliferone の蛍光強度からリ
ゾチーム活性を測定した。反応至適 pH は 5.2 で、反
応速度は温度が 10°C 上昇すると 2.7 倍増加した。35°C
での反応はリゾチーム 100 μ g あるいは 200 μ g で少く
とも 2 時間あるいは 1 時間直線的に進行した。活性は
30 μ M 以上の基質濃度でみかけ上低下した。K_m 値は
約 20 μ M であった。M. lysodeikticus を用いた溶菌法
はイオン強度に著しく影響されるが、4-MU-(Glc-
NAc)₄ を用いる方法はほとんど影響されなかった。
25 μ M の基質の存在下、35°C で 20 分間あるいは 40 分間
酵素反応を行ったとき、400 μ g あるいは 250 μ g まで
のリゾチーム量を定量することが可能であった。

34 Comparisxn of Antispasmodic Effect of Synthetic Lysolecithins with Various Fatty Acid Moieties on Guinea Pig Ileum

H. TSUKATANI*¹, J. YOSHIDA*², K. TAKAUCHI*³,
S. YAMADA*¹, A. TOKUMURA*¹, K. NANISHI*¹
nad T. HAYAKAWA: *J. Pharm. Dyn.*, 7, 400
(1984)

近年、生体内ケミカルメディエーターとしてのリン
脂質類の多彩な生理作用が注目されている。本報では、
血小板活性化因子 (PAF) の生理作用との関連で、脂
肪酸部分の異なる 8 種の合成リゾレンチン類 (LPC_n)
を用い、ヒスタミン (HT) あるいはアセチルコリン
(Ach) によるモルモット回腸の収縮に対する LPC_n
の抑制作用の構造-活性相関について検討した。いず
れの LPC_n も回腸とブリンキュベートするとき、
HT, Ach による腸管収縮に対し典型的な非拮抗的阻
害作用を示したが、阻害効果は飽和 C₁₆ 脂肪酸部分
を持つ LPC で最も強く、炭素数が増加 (C₁₈) または減
少 (C₁₄, C₁₂, C₁₀) するに従い、効果の程度も減弱化し
た。また、不飽和結合数の増加により、わずかながら
阻害効果の減弱化傾向がみられた。

LPC_n は、末梢血管拡張作用 (ウサギ耳介灌流法)
においても上記と類似した構造-活性相関を示した。

*¹ 徳島大薬

*² 徳島大医

35 An Enzyme Immunoassay Method with a Monoclonal Antibody for the Determina- tion of 11-Deoxycortisol

Hiroshi HOSODA*, Sakiko TAMURA*, Norihiro
KOBAYASHI*, Toshio NAMBARA*, Jun-ichi
SAWADA and Tadao TERAU: *Chem. Pharm. Bull.*,
33, 448 (1985)

4-(2-カルボキシエチルチオ)-11-デオキシコルチゾ
ールの N-サクシニミジルエステルにより β -ガラクト
シダーゼを処理し、ハプテン化酵素を得た。これと、
11-デオキシコルチゾールに対するモノクローナル抗
体を用いる酵素免疫定量法を検討した。この系では、
50 pg の 11-デオキシコルチゾールで 50% 阻害を示し、
充分な感度が得られた。

* 東北大学薬学部

36 Mercuric and Cadmium Ions Stimulated Phosphorylation of Band 4.2 Protein on Human Erythrocyte Membranes

Kazuhiro SUZUKI, Hodeharu IKEBUCHI and
Tadao TERAU: *J. Biol. Chem.*, 260, 4526 (1985)

ヒト赤血球膜において、Hg²⁺ および Cd²⁺ は蛋白
質リン酸化反応を促進すること、特に通常はリン酸化
されないバンド 4.2 蛋白 (分子量 72,000) のリン酸化
を著しく促進することを見出した。そのバンド 4.2
蛋白のリン酸化反応は、水銀系の SH 反応性有機化合
物 (PCMB や PCMBS) でも促進されたが、他の金属
イオンや NEM, DTNB, ヨード酢酸等の SH 修飾剤
では、そのような効果は認められなかった。この Hg²⁺
によるバンド 4.2 蛋白のリン酸化反応はマグネシウム
イオン要求性であり、カルシウムでは用量依存的に阻
害された。バンド 4.2 蛋白のリン酸化アミノ酸を高圧
電気泳動で分析した結果、リン酸化セリンが検出され
た。サイクリック AMP 依存性蛋白質リン酸化酵素の
特異的阻害蛋白は、このリン酸化反応を阻害した。ま
た ²⁰³Hg²⁺ を用いた実験から、バンド 4.2 蛋白は他の
赤血球膜蛋白より多くの Hg²⁺ 結合部位を有すること
が示された。一方、Hg²⁺ 処理した膜から得られた細
胞骨格蛋白複合体 (スペクトリン複合体) は未処理の
膜を用いた場合には見られない蛋白、バンド 4.2 蛋白
を含んでおり、更にそれをリン酸化する蛋白質リン酸
化酵素をも含んでいた。これらの結果から、Hg²⁺ は
バンド 4.2 蛋白等の SH 基に結合することにより、膜
における蛋白相互作用を組み替えてバンド 4.2 蛋白を
膜結合性のサイクリック AMP 依存性蛋白質リン酸化
酵素の基質になるようにするものと考えられる。

37 **Ca²⁺-dependent and Phorbol Ester Activating Phosphorylation of a 36K-dalton Protein of Rat Basophilic Leukemia Cell Membranes and Immunoprecipitation of the Phosphorylated Protein with IgE-anti IgE System**

Reiko TESHIMA, Hideharu IKEBUCHI and Tadao TERAO: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **125**, 867 (1984)

ラット好塩基球細胞 (RBL-2H3 細胞) の膜画分を単離し、蛋白質のリン酸化反応について検討したところ、数種の蛋白が、EGTA 存在下、そのリン酸化が抑えられ、Ca²⁺ 依存的にリン酸化されることが明らかとなった。このうち、分子量 36 KDa の蛋白は、免疫沈降の結果から、Immunoglobulin E 受容体のβ鎖であると思われる。次に、Ca²⁺ 依存性リン酸化反応に影響すると思われる数種の薬物の効果を検討したところ、protein kinase C の活性化剤である phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) が、36 KDa の蛋白質のリン酸化を顕著に増加させた。

38 **Über die Bestandteile der chinesischen Droge "Ti-ku-p'i" I. Isolierung und Konstitution von Lyciumamid, einem neuen Dipeptid**

Mamoru NOGUCHI, Kensyu MOCHIDA*¹, Teturo SHINGU*², Mutsuo KOZUKA*³ und Kazuyoshi FUJITANI: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3584~3587 (1984)

漢薬“地骨皮”(クコの根皮)より新しい酸アミドを単離し、各種スペクトルの解析、分解反応および合成により、その構造を N-benzoyl-L-phenylalanyl-L-phenylalaninol O-acetate と決定した。

*¹ 元大阪支所薬品部

*² 神戸学院大学薬学部

*³ 京都薬科大学

39 **Sugiol and 5α-Stigmastane-3,6-dione from the Chinese Drug "Ti-ku-p'i", (Lycii Radicis Cortes)**

Mamoru NOGUCHI, Kensyu MOCHIDA*¹, Teturo SHINGU*², Kazuyoshi FUJITANI*³ and Mutuo KOZUKA*³ *J. Natural Products*, **48**, 342~343 (1985)

漢薬“地骨皮”より Sugiol (I) 5α-Stigmastane-3,6-dione(II) を単離し、(II)については 5α-Stigmasterol

より標品を合成し、比較同定を行った。

*¹ 元大阪支所薬品部

*² 神戸学院大学薬学部

*³ 京都薬科大学

40 **Standard Compounds for Quantitative Determination of Principles of Crude Drugs I. Paeoniflorin, a Major Principle of Peony Root**

Hideyo SUZUKI: *Shoyakugaku Zasshi*, **38**, 144 (1984)

芍薬の主要成分の paeoniflorin の標準化について検討した。Paeoniflorin の単一性の証明は薄層クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーおよび ¹³C-NMR によって行った。その純度の決定は、一定量の検体をアルカリ加水分解し、生ずる安息香酸をガスクロマトグラフィーで定量して行った。Paeoniflorin のケン化反応は、10~40 mg の検体量の範囲で一定の高収率で進行した。20 mg の検体に適用したときは、96.2±1.7%の安息香酸が生成した。

41 **鑄造用ニッケルクロム合金の腐食と変色**

堀部 隆*, 岡本佳三*, 辻 楠雄, 菊池 寛: *歯科材料・器械*, **4**, 605 (1984)

歯科用ニッケルクロム合金の基準を作製する目的で、この合金から溶出するニッケル、クロム、銅の3種の金属イオンを、0.01 N 塩酸、1%乳酸、生理食塩液、ヒト唾液、0.1%硫化ナトリウムおよび0.1%硫化ナトリウムと1%乳酸混液中に3~21日間浸漬し、原子吸光法で定量を行い、併せて腐食減量、自然電極電位の測定を行った。また、口腔内でもニッケルクロム合金製ブリッジの試料表面の変色を測定した。これらの実験結果から、1%乳酸、0.01 N 塩酸中での腐食減量と溶出金属イオンの測定により、合金中のクロム含有量に関連することが判った。クロム含有量12%以上にする事で、腐食および変色がごく僅かとなる事が判明した。

* 福岡歯科大学

42 **血清中の陽イオンのイオンクロマトグラフィーによる定量**

新谷英晴, 辻 楠雄, 大場琢磨: *分析化学*, **33**, 347 (1984)

血清中の陽イオン成分の定量における血清前処理法について検討した。さらに、原子吸光法、比色法およびイオン選択電極法による定量値とイオンクロマトグ

ラフィーによる定量値とを比較した。その結果、血清前処理法としては血清の pH を 3.5 以下に下げ限外透過する方法が高回収率やカラムの劣化がない等の点で最適の前処理法であった。さらに、この方法を pH を下げずに行えば遊離型陽イオンの定量も可能であった。定量法間の比較では、イオン電極法は選択性に、比色法は煩雑さや低感度に、原子吸光法は定量値の信頼性にそれぞれ問題があった。イオンクロマトグラフィー法が選択性ならびに定量値の信頼性において優れていた。

43 Improvement of ion chromatography with ultraviolet photometric detection and comparison with conductivity detection for the determination of serum cations

Hideharu SHINTANI: *J. Chromatogr.*, **341**, 53 (1985)

従来イオンクロマトグラフィーの検出器として電気伝導度検出器 (CD) あるいは紫外 (UV) 検出器を用いた報告がなされている。著者は両検出法を用いた血清中の陽イオンを定量して両法比較した。さらに、陽イオン交換樹脂に対する選択係数と紫外部のモル吸光係数を考慮して種々の移動相条件を検討した。その結果、両法による血清中の陽イオン定量値に大きな差はなかったが、UV 法は CD 法に比べ感度が低く、しかも 1 価陽イオンのピークの分離が不十分で、かつ移動相として 24 mM 以上の硫酸銅を用いた時定量性がなく、移動相の濃度に制約を受けるなどの欠点を有していた。そこで硫酸銅と硫酸コバルト、硫酸ニッケル、硫酸亜鉛あるいは硫酸二アンモニウムコバルトとの混液を UV 法の移動相に用いたところ、高感度と良好な分離が得られた。

44 Determination of phthalic acid, mono-(2-ethylhexyl) phthalate and di-(2-ethylhexyl) phthalate in human plasma and in blood products

Hideharu SHINTANI: *J. Chromatogr.*, **337**, 279 (1985)

可塑剤ジ-2-エチルヘキシルフタレート (DEHP) を含むポリ塩化ビニルを用いて血液バッグなどの医療用具が作られている。DEHP は加水分解を受けてモノ-2-エチルヘキシルフタレート (MEHP) やフタル酸 (PA) になり、特に MEHP は DEHP より毒性が強いことが知られている。著者は人血漿中のこれらの化合物を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用い

て定量した。同時に人血清に添加したこれらの化合物の回収率の高い前処理法を検討した。さらに、確立した HPLC の定量条件と前処理法とを用いた血液バッグを用いて製造された血液製剤中のこれらの化合物を定量した。

45 フタル酸エステルの人血清及び血漿中の分解並びに血液製剤中の定量

新谷英晴, 辻 楠雄, 水町彰吾, 大場琢磨: 衛生化学, **30**, 356 (1984)

著者らは衛生化学の見地から血液バッグから血液製剤中へのジ-2-エチルヘキシルフタレート (DEHP), モノ-2-エチルヘキシルフタレート (MEHP) およびフタル酸 (PA) の溶出移行を検討する目的で高速液体クロマトグラフィーを用いて血液製剤中のこれらの化合物を定量した。さらに、血液バッグ中に含まれるこれらの化合物を定量し、人血漿中へ移行する割合を調べた。DEHP を含む人血漿を加温して MEHP および PA へ変化する割合と、エステラーゼおよびリパーゼあるいはこれらの阻害剤等を血漿に添加して DEHP の加水分解反応が酵素によるかどうかを調べた。その結果、DEHP の加水分解反応に及ぼすエステラーゼ作用の寄与の方が大であり、MEHP から PA への反応が律速段階であることが判った。

46 家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求(第2報):市販ゴム手袋中の老化防止剤の分析およびパッチテスト陽性率

鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 関東裕美*, 伊藤正俊*, 石原 勝*: 衛生化学, **30**(3), 126, (1984)

主に家庭用の市販ゴム手袋37ブランドについて老化防止剤の分析を行った。その結果、家庭用手袋には 2, 2'-methylene-bis (4-methyl-6-tert-butylphenol (M-BMBP)), styrenated phenol (SP), 2,2'-isobutylidene-bis (4,6-dimethylphenol (IBBDMP)), 4,4'-butylidene-bis (3-methyl-6-tert-butylphenol) (BBMBP) のうち、1~2種のフェノール系老化防止剤が含まれていた。また、含窒素系老化防止剤で、強い感作性を持つことが知られている、N-isopropyl-N-0henyl-p-phenylene-diamine (IPPD) が作業用手袋から検出された。

ゴムまたはポリ塩化ビニルの製品によりアレルギー性接触皮膚炎を起こした40名の患者に対してパッチテストを行い、種々の老化防止剤の陽性反応率についても検討した。その結果、パッチテストに用いたフェノール系老化防止剤はいずれも全く陽性反応を示さな

った。一方、IPPD はパッチテストを行なった患者のうち約3分の1が陽性反応を示した。

* 東邦大学

47 室内空気汚染に関する研究 (第4報) ホルムアルデヒドの個人暴露濃度について

松村年郎, 亀谷勝昭, 村松 学*¹, 義平邦利, 古田栄敬*², 山田久志*³: 日本公衆衛生雑誌, 32, 287 (1985)

シリカゲルにトリエタノールアミンを含浸させた捕集剤を作製し, これを用いて空気中の HCHO を捕集し, AHMT 法で定量を行う簡易分析法の検討を行なった。その結果, 本分析法は繰り返し測定で 1.9%, アセチルアセトン試薬を用いるインピンジャー法との同時測定を行っても ±2% 以内で一致し, 本分析法の実用性が確認された。本法を用いて各種居住環境における主婦の HCHO 個人暴露濃度の実態調査を行った。その結果, 家庭の主婦の場合, 1日当たり 0.009~0.259 ppm (3.73 mg/day) の HCHO に暴露されていた。また, 主婦の個人暴露濃度に及ぼす室内環境条件の影響について検討した結果, 個人暴露濃度と室内 HCHO 濃度, 外気 HCHO 濃度, 窓の開放時間との間に有意な相関が認められた。さらに, 上記の変数に室内温湿度を加えた 6 変数について重回帰分析を行った結果, 重相関係数は 0.826, 決定係数は 0.682 を示し, これらの変数によって個人暴露濃度の変動の約 70% を説明できることが明らかとなった。

*¹ 東京都衛生局

*² 厚生省生活衛生局

*³ 神奈川県立保土谷高校

48 水中フルオランテンの塩素処理時における挙動と変異原性

高橋淳子*¹, 木村栄作*¹, 岩原繁雄*¹, 安藤正典, 佐谷戸安好*²: 衛生化学, 30(5), 268 (1984)

発がん性を有する多環芳香族炭化水素 (PAH) と略す) は水中にも多く存在し, WHO は 1984 年飲料水中の PAH の許容基準を提案している。水道原水中の PAH の約 2~7 割がフルオランテンであると確認されている。そこで水道水中にフルオランテンの混入した場合の挙動を検討するため, フルオランテンの塩素処理による変化を, その消長, 化学構造および変異原性などについて検討した。その結果, フルオランテンは塩素処理により, 塩素化合物ならびにフルオランテン環の開裂したもので種々の化合物が生成することを

認めた。さらにこれら化合物は TA100 ならびに TA98 による Ames 試験の結果, フルオランテンの塩素化合物では, 強い変異原性を示すことを認めた。

*¹ 食品薬品安全センター秦野研究所

*² 摂南大学薬学部

49 Metabolism of Phosphoric Acid Triesters by Rat Liver Homogenate

Kumiko SASAKI, Takashi SUZUKI, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 33, 281 (1984)

4つのリン酸トリエステルのラット肝臓による *in vitro* の代謝について検討した。トリブチルホスフェートは mfo によって水酸化ブチル体に酸化された。トリス (1,3-ジクロロイソプロピル) ホスフェートは mfo によってビス体に分解する一方, 可溶性画分中では容易にグルタチオン抱合体へ代謝された。トリフェニルホスフェートは mfo およびアリアルエステラーゼによって代謝され, ジフェニルホスフェートを生成した。トリス (2-クロロエチルホス) フェートはラット肝臓による代謝をほとんど受けなかった。

50 Metabolism of Tributyl Phosphate in Male Rats

Takashi SUZUKI, Kumiko SASAKI, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Agric. Food Chem.*, 32, 603 (1984)

ラットに ¹⁴C 標識した tributyl phosphate (TBP) を 14 mg/kg 経口投与した時, 投与 1 日で投与量の 50% が尿, 10% が呼気にそして 6% が糞中に排泄された。代謝物を検討した結果, 11 の代謝物が確認, 同定された。主代謝物は dibutyl hydrogen phosphate, butyl dihydrogen phosphate および butyl bis (3-hydroxybutyl) phosphate であった。予想中間代謝物の dibutyl 3-oxobutyl phosphate を投与した結果, その代謝パターンは主たる代謝中間体と考えられる dibutyl 3-hydroxybutyl phosphate を投与した時のパターンに極めて良く類似していた。このことから TBP はいったん 3-hydroxybutyl phosphate に代謝されたのち dibutyl 3-oxobutyl phosphate を経て代謝される経路が考えられる。なお他のいくつかの代謝経路が推定された。

51 Some S-Containing Metabolites of Tributyl Phosphate in the Rat

Takashi SUZUKI, Kumiko SASAKI, Mitsuharu TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA; *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 1278 (1984)

ラットに tributyl phosphate (TBP) を腹腔内投与した時、いくつかの硫黄含有代謝物が尿中に見い出された。主代謝物は (3-oxobutyl) および (3-hydroxybutyl)-mercapturic acid でありその他に根跡量の (2-oxobutyl)-および (2-hydroxybutyl) mercapturic acid が確認された。他方 bromobutane の投与では butyl-(2-oxobutyl)-, (3-oxobutyl)-, (2-hydroxybutyl)- および (3-hydroxybutyl)-mercapturic acid が各々 3-oxo/2-oxo が 2.1, 3-hydroxy/2-hydroxy が 1.5 の比で得られた。このことは TBP は butylmercapturic acid を経て代謝されず、butyl 基がいったん酸化され 3-hydroxybutyl もしくは 3-oxobutyl となったのちアルキル基転位を受けることを意味する。dibutyl 3-oxobutyl phosphate を含め可能な代謝中間体の投与により生ずる (3-oxobutyl) mercapturic acid の (3-hydroxybutyl) mercapturic acid に対する比は一定であった。このことは 3-oxobutyl 体と 3-hydroxybutyl 体との間にアルキル基転位後に平衡が成立していることを意味する。

52 Distribution of Cadmium after Oral Administration of Cadmium-Thionein in Mice

Tamio MAITANI, Michael P. WAALKES* and Curtis D. KLAASSEN*: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 237 (1984)

下水処理から生ずる汚泥を農地に還元し再利用することが試みられているが、汚泥が Cd を含んでいる場合、最終的に Cd-チオネイン (Cd-Th) を含む肉を人が食べることが考えられる。その影響評価の一環として、CdCl₂ および Cd-Th を肝ホモジネートと混合してマウスに経口投与し、Cd の体内分布を調べた。肝ホモジネートの存在にかかわらず、Cd-Th 投与後の腎/肝 Cd 濃度比は CdCl₂ 投与後のそれに比べ数倍高かった。また同じ Cd-Th でも、肝ホモジネート中の Cd-Th の方が生理食塩水中 Cd-Th よりも高い Cd 腎濃度を示す傾向があった。肉は一般に熱処理後食する。そこで Cd-Th を含む肝臓を種々に熱処理して投与したが、腎 Cd 濃度は熱処理したものを投与した場合でも低下しなかった。

* University of Kansas Medical Center

53 High Performance Liquid Chromatography of Pheophorbide a and Porphyrin in salted vegetables and chlorella

Yuiko TAKEDA, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **26**, 56 (1985)

クロロフィルを多く含む野菜の漬物およびクロレラに検出される光過敏症原因物質、フェオホルバイド a、ピロフェオホルバイド a の高速液体クロマトグラフィーによる分析を試みた。試料より 85% アセトンで抽出し、エーテルで液-液分配した後、17% 塩酸で抽出、希釈後再びエーテル抽出した。μ-Bondapak-C-18 を用い、移動相はメタノール-2% リン酸溶液 (90:10 v/v) 混液で UV 波長 415 nm の条件で HPLC 測定した。本法を市販の漬物、クロレラに適用したところ、古漬高菜で 560 ppm のピロフェオホルバイド a が、クロレラでは最高 211 mg% のフェオホルバイド a が検出された。また薄層クロマトグラフィーによる分析との相関が見られた。

54 Acceleration of Nitrosamine Formation by Contaminant (s) in Sodium Chondroitin Sulfate Preparations

Takashi YAMADA, Miyako YAMAMOTO and Akio TANIMURA: *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 480 (1984)

コンドロイチン硫酸ナトリウム (SCS) の市販品によって第 2 アミンと亜硝酸塩からのニトロソアミンの生成が著しく促進された。ジメチルアミンのニトロソ化は、亜硝酸塩の濃度、およびその自乗いずれにも比例しなかった。ジメチルアミン、ジブチルアミン、ピロリジン、ピペリジン、モルホリンの中で、ジメチルアミンのニトロソ化が SCS によって最も促進された。ニトロソ化促進作用は、銅イオンおよび銀イオンにより阻害された。ニトロソ化促進能をもつ物質は透析膜を通過するのでコンドロイチン硫酸自体ではない。その促進の強さは、同重量の NaSCN や KI に比べて約 18 倍であった。

55 Intestinal Distribution, Absorption and Secretion of Dimethylamine and Its Biliary and Urinary Excretion in Rats

Hajumu ISHIWATA, Ryoichi IWATA and Akio TANIMURA: *Food Chem. Toxicol.*, **22**, 649 (1984)

オスのウイスターラット用をい、低ジメチルアミン (DMA) 含有飼料または市販飼料 (DMA 23.6 ppm を含む) を与え、消化管内の DMA 濃度をみたところ、

低 DMA 含有飼料区では小腸上部で、市販飼料区では胃内で最高値を示した。胆管カニューレションしたラットに DMA 250 μ g を静注したところ、胆汁中 DMA は投与前で 0.59 \pm 0.50 ppm であったが、投与 30分で 3.7 \pm 1.99ppm に増加した。DMA 静注後、血中 DMA は一次指数曲線を示して減少するが、このとき小腸内の DMA 濃度が一度増加し再び減少する。血中 DMA はこの時に再び増加した。尿中 DMA はその間すみやかに増加した。したがって、摂取された DMA は消化管で吸収され大部分は尿中に排泄されるものの、一部は腸管循環、腸液中への分泌があるものと考えられる。

56 Absorption, Secretion and Excretion of Dimethylamine in Rats

Hajimu ISHIWATA, Ryoichi IWATA and Akio TANIMURA: *N-Nitroso Compounds: Occurrence, Biological Effects and Relevance to Human Cancer, IARC 57*, 255 (1984)

オスのウィスターラットを用い、ジメチルアミン (DMA) の消化管での吸収、血中濃度変化および尿中排泄をみた。結紮した胃、小腸上部、小腸下部、盲腸、大腸内に投与した DMA は一次指数曲線を示して減少し、消失速度 ($t_{1/2}$) はそれぞれ 198, 8.3, 11.6, 31.6 および 11.0 分であった。結紮した上部小腸に 250 μ g の DMA を投与したときの血中 DMA 濃度は、投与前で 0.3 \pm 0.1 ppm, 投与 5 分で 3.0 \pm 1.0 ppm を示した。DMA 250 μ g を静注したときの血中 DMA の $t_{1/2}$ は 12.5 分であった。また、尿中 DMA は投与前で 17.3 \pm 9.4 ppm であったものが 30 分で 139 \pm 23 ppm に増加した。

57 食器からの鉛およびカドミウムの溶出に及ぼす各種溶出試験法の比較

石綿 肇, 井上たき子, 山田 隆, 谷村顕雄: 食衛誌, 25, 445 (1984)

市販のガラス製品および鉛またはカドミウムを含む顔料を内面に施釉して試作したほうろろ引きと陶磁器について、食品衛生法および ISO 法を用いて鉛およびカドミウムの溶出試験を行った。

一般に溶出温度が高いほど、また時間が長いほど溶出量は増加し、溶出試験を繰り返すに従って溶出量は減少した。ISO 法による溶出量は衛生法による値に比べ有意に高く ($p < 0.05$), ガラス製品で 1.1~1.6 倍、ほうろろ引きで 1.3~2.6 倍、陶磁器で 5.3~18 倍であった。

58 クチナン色素中の Geniposide の分離定量および市販品の実態*

神蔵美枝子, 中里圭子: 食衛誌, 25, 517 (1984)

クチナン果実に含まれる色素以外の成分として、生理活性のある geniposide の薄層クロマトグラフィー (TLC), 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分離定量法を確立した。TLC はシリカゲル薄層を用い、クロロホルム・メタノール (4:1) で展開し、*p*-アニスアルデヒド試液で発色し、二波長薄層クロマトスキャナによって測定波長 500 nm, 対照波長 700 nm で測定した (最小検出量 300 ng)。HPLC は Nucleosil 7 C₁₈ カラムを用い、溶離液としてメタノール・水混液 (0 \rightarrow 100%) で、測定波長 254 nm で測定した (最小検出量 10 ng)。各種溶媒によるクチナン果実 (1 g) から geniposide の溶出量は 53~102 mg であった。市販クチナン色素中の geniposide 含量は 0~35.90% であった。本法はクチナン色素中の geniposide の定量法として極めて有効であると考えられる。

* 天然着色料の品質に関する研究 (第 1 報)

59 クチナン果実から抽出された黄色天然色素の品質および市販品の実態—主として高速液体クロマトグラフィーによる分析*—

神蔵美枝子, 中里圭子: 食衛誌, 26, 150 (1985)

クチナン色素中のクロシン, クロセチン, geniposide は逆相型高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって同時分析することができた。クチナン果実の黄色色素は水よりもメタノール, 含水のメタノールおよびエタノールによって抽出されやすいが、抽出液からクロセチンはほとんど検出されなかった。市販クチナン色素の色素濃度はクロシンとして $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 値で表わすと 4.9~175, 色素成分クロシンをクロセチンに変えた製品もあるなどの実態を把握し得た。クチナン果実抽出液、市販クチナン色素の HPLC では R_t 約 20 分に常に現われる色素が検出されたが、この色素はクロセチンと分離できた。

* 天然着色料の品質に関する研究 (第 2 報)

60 食用赤色号の有機性不純物—レゾルシンとヨウ素との反応成績*—

神蔵美枝子: 食衛誌, 26, 243 (1985)

食用赤色 3 号の反応副生成物, triiodoresorcinol を合成し、ケイ酸カラムクロマトグラフィーを行って融点 130 $^{\circ}$ C の帯かっ紫色結晶および融点 90 $^{\circ}$ C の淡黄色結晶を単離した。NMR, IR スペクトルから、前者は

2,4,6-triiodoresorcinol, 後者は 2,4-diiodoresorcinol と考えられた. 4,6-diiodoresorcinol は Nicolet 法で合成し, 同様な方法で構造を確かめた.

Fluorescein のヨウ素化の条件に類する 50 w/v % 水酸化ナトリウム溶液中でレゾルシンとヨウ素を反応させ, 5種の成積体を得た. これらは TLC によって良好な分離を示した. TLC によって単離し, 2,4,6-tri-, 2,4-di-, 4,6-di-iodoresorcinol と同定し, 2-mono-, 4-mono-iodoresorcinol と推定した.

* 食用色素に含まれる有機性不純物に関する研究 (第1報)

61 Chromatographic Studies on the Autoxidation Product of Ethoxyquin and Its Photochemical Conversion

Saburo KATO and Kenzo KANOHTA: *J. Chromatogr.*, **324**, 462 (1984)

抗酸化剤エトキシキンをろ紙上に噴霧して4ヵ月放置した結果を GC および HPLC により分析した. 主生成物はダイマーであり, その化学構造を MS および NMR によって確認した. ダイマーの生成は FID-GC による面積比で 41.4~58% を占めた. 明所におけるよりも暗所における方がダイマーの生成は大であった. そこでダイマーについて光照射を行ったところ, ダイマーは速かに, より極性と思われる物質に変化することが観察された.

62 Materials for the fungus flora of Japan (36)

Tokio IWATSU* and Shun-ichi UDAGAWA: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, **25**, 389 (1984)

日本初産の不完全菌類として下記の3種を分離, 記載した.

Exophiala pisciphila McGinnis et Ajello 本種は千葉県内の腐朽木, 竹類から発見されたほか, 東京都品川区で市販野菜ツナサンドウィッチから汚染真菌として分離された. 外国では魚類の病原カビとして知られている.

Phialophora richardsiae (Nannf.) Conant 本種は東京都品川区において製めん所の衛生管理を調査した際に, 容器の拭き取り試験から分離された. 本種は人体の日和見感染菌として知られ, 最近わが国でもその初例が報告されている.

Phialophora olivacea W. Gams 本種は千葉市において培養株のコンタミナントとして分離された.

* 成田赤十字病院皮膚科

63 *Penicillium* sp. によるリグニンスルホン酸の除去現象と硫黄の利用性

藤井貴明*, 篠山浩文*, 本田 洋, 大久保純辰*, 矢吹 稔*, 宇田川俊一: 醸酵工学, **63**, 1 (1985)

リグニンスルホン酸を唯一の硫黄源として生育した *Penicillium* sp. の細胞表層には著しく粗いしわ状をした構造が観察された. この構造は菌体を希アルカリ性緩衝液で洗浄すると消失した. 培地に添加したリグニンスルホン酸と上記アルカリ性洗浄液に回収されたものと赤外線吸収スペクトルは, スルホン酸残基に基づく吸収を示す一部領域に差があった以外, ほとんど同一であった. これら両試料の硫黄含量は, それぞれ 4.96% と 2.35% であった. *Penicillium simplicissimum*, *P. lanthimum* もリグニンスルホン酸を硫黄源として生育し, これを液中より著量除去した.

* 千葉大学園芸学部農芸化学科

64 国産落花生の糸状菌分布とカビ毒

高橋治男*, 矢崎廣久*, 一戸正勝: 防菌防黴誌, **12**, 429 (1984)

1971年から1972年にかけて千葉県下の農家保有落花生69点につき, 糸状菌の検索を行ったところ, 優先菌として *Fusarium oxysporum*, *Penicillium funiculosum*, *Aspergillus versicolor*, *Eurotium* spp., *Cladosporium* spp. などを分離した.

Aspergillus flavus は5点より6菌株を得たがうち2菌株に微量ながらアフラトキシン B₁ 生産能が認められた. 化学検索ではいずれの試料もアフラトキシン陰性であった. 1977年~1981年にかけて国産落花生135点についてアフラトキシン化学検索を行った. 6点に痕跡量の汚染を認めたが10 ppb を超えるものはなかった. *A. flavus* は分離245株のうち33株に光培養法でアフラトキシン生産能を認めたが, 主として B₁, B₂ 産生株であった.

* 千葉県衛生研究所

65 In Vivo Inhibition of Adenosine Triphosphate (ATP) Synthesis Associated with Thiabendazole-Induced Teratogenesis in Mice and Rats

Toshie TSUCHIYA and Akira TANAKA: *Arch. Toxicol.*, **57**, 243 (1985)

我々は, Thiabendazole (TBZ) 投与により発生した四肢奇形発現の mechanism として, limb bud の ATP

level の減少が関与していることを認めた。妊娠 mice において、奇形が発生した TBZ の olive oil 懸濁液投与群 (TBZOIL) では TBZ 濃度に応じて ATP level の減少を認めた。一方、発生しなかった TBZ の gum arabic 懸濁液群では、TBZ 1300 mg/kg でも control の91~94%の ATP level を示した。

また、奇形発生が明確に報告されていない動物種である rats に 1000 mg/kg の TBZOIL を投与した時、胎仔 limb bud の ATP level は control の82%に留まり mice の様には著減しなかった。

以上の結果から、limb bud の ATP level 減少の推移と、mice や rats での四肢奇形発生とは密接な関係が認められることが判明した。

66 Effects of Thiabendazole on the Mouse Limb Bud-Organ and -Cell in Culture

Toshie TSUCHIYA and Akira TANAKA: *Toxicology Letters*, (1985)

妊娠マウスにチアベンダゾール (TBZ) を投与後、胎仔に生じた四肢奇形の原因を究明するために、limb bud の organ culture を行った。培養7日後に染色標本作製し、control のそれと比較したところ、TBZ は、limb bud の発育および分化を阻害した。TBZ 存在下で organ culture した fore limb の DNA 量は、たん白量に比べより減少していることが判明した。

更に、limb bud の cell culture を種々の濃度の TBZ 存在下で行ったところ、軟骨細胞から分泌される proteoglycan の生成が阻害されていることが判明した。

以上のことより、TBZ が直接 teratogen として胎仔の四肢奇形をひきおこしたことが明らかになった。更にその作用メカニズムについても議論した。

67 Interaction of Bis- and Mono-N-nitroso-ureas with Rat Liver Thromatin *in vitro*

Kazushige MORIMOTO and Tsutomu YAMADA *IARC Sci. Publ.*, 57, 709 (1984)

N-ニトロソ尿素の alkyl 化と carbamoyl 化がラット肝臓クロマチンの生物活性にどのような影響を与えるかを9種の N-ニトロソ尿素および KCNO, アルキルイソシアネートを用いて検討した。強い alkyl 化能を有する化合物はクロマチンの鋳型活性を阻害した。一方弱い alkyl 化能を示す化合物や KCNO およびアルキルイソシアネートは鋳型活性を上昇させた。クロマチンを EBNU で処理すると DNase I や *staphylococcal* nuclease に対する分解性の上昇が認められ、また Mg-Cl₂ や CaCl₂ 中での溶解性の上昇も認められた。これ

らの結果から DNA と核たん白質の相互作用に及ぼす alkyl 化と carbamoyl 化の意義について論じた。

68 Repair of O⁶-Propylguanine and O⁶-Butylguanine in DNA by O⁶-Alkylguanine-DNA Alkyltransferases from Rat Liver and *E. coli*

Kazushige MORIMOTO, M. Eilcen DOLAN*, David SCICCHITANO* and Anthony E. PEGG*: *Carcinogenesis*, 6, 1027 (1985)

大腸菌およびラット肝臓の O⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase (AGT) を用いて O⁶-propyl G および O⁶-butyl G の DNA よりの修復を調べた。AGT によって O⁶ 位の propyl 及び butyl 基は除去されたが、*n*-propyl や *n*-butyl のような直鎖の alkyl 基の修復が *iso*-propyl や *iso*-butyl のような枝分かれの alkyl 基に比して修復速度が高かった。大腸菌の AGT による O⁶ 位の修復の速度は methyl > ethyl > *n*-propyl > *n*-butyl > *iso*-propyl, *iso*-butyl の順であり、ラット肝臓のそれは methyl > ethyl, *n*-propyl > *n*-butyl > *iso*-propyl, *iso*-butyl > 2-hydroxyethyl の順であった。これら修復速度の差異と発がん性や突然変異原性との関連について論じた。

* 米国ペンシルベニア州立大学ハーシーメディカルセンター癌研究所

69 Stereospecific *in vivo* N-Methylation of Nicotine in the Guinea Pig

Kenneth C. CUNDY*, Michio SATO and Peter A. CROOKS*: *Drug Metab. Dispos.*, 13, 175 (1985)

モルモットに R-(+)-[³H-N'-CH₃] nicotine を腹腔内投与し、尿中代謝物として R-(+)-[³H-N'-CH₃] N-methyl nicotinium ion を同定した。同様な条件で、S-(-)-[³H-N'-CH₃] nicotine は、相当する N-メチル化体に変換されなかった。経時的に R-(+)-nicotine を腹腔内投与したモルモットの尿から、イオン交換カラムを用いた分析用および分取用高速液体クロマトグラフによって、R-(+)-N-methyl nicotinium salt を単離した。この代謝物の構造決定と立体化学的解析は、¹H-NMR および還元後の GC-MS スペクトルによって行った。この結果、モルモットにおいては、nicotine は、立体特異的に N-メチル化体へと変換されることが明らかになった。

* ケンタッキー大学薬学部

70 **Studies on the metabolism of unsaturated fatty acids. XIV. Purification and properties of NADPH-dependent trans-2-enoyl-CoA reductase of *Escherichia coli* K-12**

Tomoko NISHIMAKI, Hiroshi YAMANAKA*1 and Michinao MIZUGAKI*2: *J. Biochem.*, **95**, 1315 (1984)

大腸菌より、脂肪酸炭素鎖伸長反応に関与すると推定される NADPH 依存性 trans-2-enoyl-CoA reductase を精製し、電気泳動上単一の標品を得た。分子量は、ゲル濾過により 80,000, SDS-PAGE により 40,000 と算出され、沈降係数は 4.32×10^{-13} であった。本酵素は CoA エステルにのみ特異的に作用し、ACP エステルは基質としなかった。hexanoyl-CoA, octenoyl-CoA に最大活性を示し、長鎖の基質に対する活性は低かったが、Km 値は逆に、長鎖ほど小さかった。また、生成物の飽和アシル CoA により競合的阻害を受け、その Ki 値も長鎖ほど小さかった。pHMB や DTNB などの SH-阻害剤の作用を受けたが、NADPH とのプレインキュベーションにより保護されることから、本酵素は NADPH との結合に関与する SH 基を持つと推定された。

*1 東北大学薬学部

*2 東北大学医学部付属病院

71 **Metabolism and Disposition of the Flame Retardant Plasticizer, Tri-*p*-cresyl Phosphate, in the Rat**

Hideo KUREBAYASHI, Akira TANAKA and Tsutomu YAMAHA: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **77**, 345 (1985)

難燃性可塑剤 Tri-*p*-cresyl phosphate (TPCP) のラットによる代謝。[methyl-¹⁴C] TPCP をラットへ経口投与したとき、低投与群 (7.8 mg/kg) では、尿41%、糞44%、炭酸ガスとして呼吸へ18%排泄され、高投与群 (89.6 mg/kg) では、各々12%、77%、6%であり、生体内貯留濃度は、脂肪、肝臓が他臓器より高い値を示した。低投与群では胆汁排泄が24時間で28%となり、呼吸中の ¹⁴CO₂ はラットにネオマイシンを飲ませると顕著に抑制されることから、¹⁴CO₂ への分解過程に腸内細菌の関与が示唆された。

代謝物としては、尿中に *p*-hydroxybenzoic acid, di-*p*-cresyl phosphate, *p*-cresyl *p*-carboxyphenyl phosphate が、胆汁中や糞中に上記ジエステル体の他、メチル基がカルボン酸に酸化された2種のトリエステ

ル体が検出された。経口投与されたは TPCP は腸管から吸収されると脂肪組織へ分布し、メチル基の酸化やエステルの分解をうけながら尿、胆汁、糞、呼吸へ排泄されるという生体内運命をとる。

72 **GLP 基準/施設・機器・動物の飼育管理**

堀内茂友:防菌防微誌, **12**(10), 507 (1984)

日本防菌防微学会主催による、化学物質と GLP に関する講演会資料に、上記、各条項を逐条的に追加解説した。

73 **Changes of Bone Marrow Cell and Peripheral Blood Cell Counts in New-born Mice**

Kiyoshi MATSUMOTO: *Exp. Anim.*, **33**, 339(1984)

新生仔マウス (0~21日齢) の骨髄および末梢血を調べた。

1. 骨髄では、赤芽球系細胞が日齢に伴い増加したが、顆粒球系細胞の減少が認められ、G/E 比は0日齢の6.7から4日齢の0.5に変化した。

2. 末梢血では MCV が日齢に伴い減少し、このことは Price-Jones 曲線の変化とよく一致した。赤血球面積の測定結果より、新生仔マウスに見られる大型赤血球は、その面積が大きいくほど、早い時期に消失し、しかも血球の寿命が短いものと考えられた。

74 **Nature of N-Nitrosodimethylamine Demethylase in Hepatic Microsomes of Rats**

Toru KAWANISHI, Yasuo OHNO, Atsushi TAKAHASHI, Akira TAKANAKA, Yutaka KASUYA* and Yoshihito OMORI: *Arch. Toxicol.*, **56**, 7 (1984)

ラット肝ミクロソームによる N-ニトロジメチルアミン (NDMA) の脱メチル化反応を代謝酵素との関係を中心に検討した。その結果、この反応は基質濃度が mM レベル以下の時には通常のチトクローム P-450 依存性反応と異なった性質を示すものの、やはりチトクローム P-450 依存性の反応であり、アミノオキシダーゼ様酵素の関与はないという結論に達した。

* 東京大学薬学部

75 **化学物質の血液凝固障害と肝障害との関連の有無の検討**

亜硝酸ナトリウムと3級アミノ基を有する医薬品との併用による血液凝固機能障害と肝機能障害

中浦楨介, 川西 徹, 大野泰雄, 川島邦夫, 田中 悟, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: 東邦

医学会誌, 31, 118 (1984)

亜硝酸ナトリウム (SN) と 3 級アミノ基を有する医薬品類をラットに連続併用経口投与し血液凝固障害と肝障害の有無とそれらの関連性を検討した。

SN (1.0 mM/kg) とアミノピリン (AM 0.1, 0.2 および 0.4 mM/kg) 3 または 7 日併用群では Ca 再加凝固時間, プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間は有意に延長し, ヘパラスチンテスト, フィブリノゲン量および血小板数は減少した。血清 GOT, GPT, γ -GTP および酸性蛋白分解酵素 (cathepsin D) 活性, 肝 10,000 g 上清中の γ -GTP 活性, 肝可溶性分画中のグルコース-6-リン酸脱水素酵素活性は有意に上昇し, 肝ミクロソーム分画中のチトクローム P-450 量は有意に低下し, NADPH 脱水素酵素および NADPH チトクローム C 還元酵素活性も低下傾向を示した。SN (1.0 mM/kg) とオキシテトラサイクリン (0.4 mM/kg) またはミノサイクリン (0.4 mM/kg) 併用群では血液凝固機能, 血清および肝の酵素活性および薬物代謝酵素活性いずれも有意な変化はなかった。

以上の成績は, SN と AM 併用の血液凝固障害は胃内で生成された N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) に起因した肝障害により, SN とテトラサイクリンではこれが発生しないことを示している。

76 化学物質による血液凝固機能障害と肝機能障害との関連性(1)

N-ニトロソ化合物の血液凝固機能障害と肝機能障害

中浦楨介, 川西 徹, 大野泰雄, 川島邦夫, 田中 悟, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: 東邦医学会誌, 31, 131 (1984)

N-ニトロソ化合物, N-dialkylnitrosamine (DANA) 類と N-alkylnitrosourea (ANU) 類について, ラット血液凝固機能と肝機能との関連性を比較した。

N-ニトロソ化合物を 1 日 1 回, 3 日間経口投与すると, DANA 類は血液凝固機能の低下, 血清, 肝の諸酵素活性上昇, 肝の薬物代謝系活性低下を示し, 影響の程度は対称型 DANA 類では N-nitrosodimethylamine > N-nitrosodiethylamine > N-nitrosodi-n-propylamine > N-nitrosodi-n-butylamine, 非対称型 DANA 類では N-nitrosomethyl-n-butylamine \approx N-nitrosomethylbenzylamine > N-nitrosoethyl-n-butylamine であった。ANU 類では血液凝固機能障害作用および肝障害作用はともに DANA 類に比較して軽度で, N-methyl-N-nitrosourea > N-ethyl-N-nitrosourea > N-

n-butyl-N-nitrosourea > N-n-propyl-N-nitrosourea であった。DANA 類, ANU 類による血液凝固および肝障害はそれら化合物のアルキル基の長さが増すに従って減弱した。

以上, DANA 類および ANU 類は血液凝固機能の障害とともに肝機能障害を起し, DANA 類が強く, ANU 類は軽度で, N-ニトロソ化合物の血液凝固および肝障害は化学構造に関連すると考えられた。

77 化学物質による血液凝固機能障害と肝機能障害との関連性(2)

N-ニトロソジメチルアミンによるラットの血液凝固機能障害の発現機序

中浦楨介: 東邦医学会誌, 31, 145 (1984)

N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) の血液凝固機能障害の発現機序を血液凝固障害と血液凝固因子活性の変化および肝障害作用との関連性において調べ, 四塩化炭素 (CCl₄) およびジクマロール (DC) の血液凝固障害作用をラットで比較した。

NDMA 0.5 mM/kg p.o. 1 回では血液凝固時間遅延は 6 hr 後から始まり 2 日後に最大となり, 10 日後ではほぼ投与前のレベルに回復した。血液凝固因子活性の低下は 3~6 hr 後から始まり, 血液凝固時間とはほぼ同様な経時的推移を示した。肝機能障害の指標, 血清酵素活性上昇も血液凝固時間および血液凝固因子活性の変動と同様の経時的推移を示した。NDMA を 1 日 1 回, 3 日間連続経口投与時, 血液凝固機能障害量は 0.125 mM/kg であった。NDMA 投与ラットの血漿に多血小板血漿添加時, カルシウム再加凝固時間は明らかに回復した。NDMA は CCl₄ と同様に肝障害作用を示したが, 血液凝固機能に及ぼす作用は強く, CCl₄ と異なり, 血液凝固第 V, VIII 因子活性低下も有意であった。NDMA では血液凝固障害はビタミン K₂ 負荷によっても回復しなかった。

以上の成績から, NDMA の血液凝固障害発現機序は肝障害による肝での血液凝固因子の生成抑制あるいは阻害によることが主因で著明な血小板減少も大きな影響を及ぼしていることが明らかにされた。

78 N-Acetylcysteine and sodium 2-mercaptoethane sulfonate as sources of urinary thiol groups in the rat

Kari ORMSTAD and Yasuo OHNO: *Cancer Research*, 44, 3797 (1984)

Cyclophosphamide など phosphoramidate 系の抗癌剤の副作用として出血性膀胱炎がよく知られており,

それを防ぐためには尿中におけるフリーのSH基濃度を高めることが有効である。そこでN-acetylcysteine (NAC) と酸化型の2-mercaptoethane sulfonate (Dimesna) とについて、まるごと動物、灌流腎標本、また腎、肺、回腸および心臓より調製した単離細胞標本を用いて尿中SH基源としての性質を比較検討した。

ラット灌流腎からのフリーSH基の尿中排泄はDimesnaのほうがNACより約3倍多かった。一方、ラットに静脈注射した場合はDimesnaのほうがNACより約10倍多かった。また単離細胞中への蓄積はNACではいずれの細胞でも見られたが、Dimesnaの場合は実質的に腎と回腸のみ見られた。これらのことより、NACは投与後様々な組織へ分布し、様々な生成反応の基質として利用されるが、Dimesnaは比較的選択的に腎へ分布し、酸化型が腎で還元された後に尿中へと排泄されること、および尿中へのフリーのSH基排泄を増やすためにはDimesnaのほうがより望ましいことが知れた。

79 Renal aminopyrine demethylation in several species determined by a sensitive radiometric method

YASUO OHNO, Toru KAWANISHI, Atsushi TAKAHASHI, Akira TAKANAKA, Yutaka KASUYA and Yoshihito OMORI: *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 743 (1984)

腎ミクロゾーム分画における薬物代謝活性を測定するため、アイソトープで標識したアミノピリンを基質として用い、生成したホルムアルデヒドを2,4-dinitrophenylhydrazine でトラップする高感度なアミノピリン代謝活性測定法を開発し、いくつかの動物について腎における活性を測定した。

アミノピリン代謝活性はハムスターで最も高く、ウサギはこれの約20%、ラット、マウスおよびモルモットでは3~7%であり、従来の感度の低い比色法で測定された報告値とはかなり異なっていた。またアミノピリン代謝活性における種差はP450含量や、Cyt. c reductase 活性の種差とは対応しなかった。しかし腎皮質スライスでのアミノピリン代謝活性の種差とはよく対応していた。

80 Renal microsomal N-nitrosodimethylamine demethylase determined by a sensitive radiometric method

YASUO OHNO, Toru KAWANISHI, Atsushi TAKA-

HASHI, Akira TAKANAKA, Yutaka KASUYA and Yoshihito OMORI: *J. Pharm. Dyn.*, **7**, 872 (1984)

Nitrosodimethylamine (NDMA) の腎発癌作用には著しい種差があり、この理由を検討するために腎ミクロゾーム分画におけるNDMAの代謝活性を検討した。しかし、従来より肝で用いられていた方法では感度が低く測定出来ないため¹⁴C-NDMAを基質として用いる感度のよい方法を開発した。

NDMAの代謝活性はマウス、ラットおよびハムスターの内ではマウスで最も高く、マウスでは他の動物に比較しNDMAにより腎に癌ができやすいことと対応していた。またDDY系のマウスではDDN, BALB/c, C57BL系より活性が高かった。また腎ミクロゾーム分画におけるNDMAの代謝活性の生化学的な性質は肝のそれとはほぼ同様であったが、肝とは異なり腎ではこの活性がNADHでもかなり支持された。

81 Allyl alcohol toxicity in isolated renal epithelial cells; protective effects of low molecular weight thiols

YASUO OHNO, Thomas W. JONES and Kari ORMSTAD: *Chem. Biol. Interactions*, **52**, 289 (1985)

アリールアルコール(AA)の毒性をラットの腎単離細胞を用いて検討した。AAにより細胞内GSHやViabilityが低下した。また、この作用は雄よりも雌から調製した細胞標本で強くあらわれた。AAの作用はalcohol dehydrogenase (ALD) 抑制剤であるpyrazoleにより完全に抑制され、aldehyde dehydrogenaseの抑制剤であるdisulfiramにより増強された。また腎ホモジネート上清におけるALD活性は雌のほうが雄よりかなり高かった。したがって、AAはalcohol dehydrogenaseにより反応性の高いアクロレインに変えられ毒性を現すこと、また、このような性差は腎におけるALDの活性が雌のほうが雄よりも高いことと関係しているように思われた。一方、AAの毒性はGSHやGSH前駆物質投与により細胞内GSHを増やすと抑制され、またdiethylmaleateにより細胞内GSHを低下させると増強された。これらの結果から腎単離細胞は化学物質による腎細胞毒性の実験モデルとして有効であることがわかった。

82 Relation between Hepatic Microsomal Metabolism of N-Nitrosamines and Cytochrome P-450 Species

Toru KAWANISHI, Yasuo OHNO, Atsushi TAKAHASHI, Akira TAKANAKA, Yutaka KASUYA* and

Yoshihito OMORI: *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 919 (1985)

ラット肝ミクロソーム分画による、N-ニトロソジメチルアミン、N-ニトロソメチルブチルアミン、N-ニトロソメチルベンジルアミンの各脱アルキル化反応を比較検討した。その結果、各反応が薬物代謝誘導剤と阻害剤によって異なった影響をうけることがわかり、その原因は、複数の異なったチトクローム P-450 分子種がこれら脱アルキル化反応を触媒していることにあると考えられた。

* 東京大学薬学部

- 83 **NaCl induced ornithine decarboxylase and DNA synthesis in rat stomach mucosa**
Chie FURIHATA*, Yuko SATO*, Masaki HOSAKA*, Taijiro MATSUSHIMA*, Fumio FURUKAWA and Michihito TAKAHASHI: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **121**, 1027 (1984)

食塩が胃癌の発生においてプロモーター作用を示す可能性が示唆されているが、食塩による胃粘膜中のオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) の誘導と複製 DNA 合成の促進とを調べた。ラットに飽和食塩水を 1 ml 投与し、その後 3~16 時間で、胃底腺粘膜と幽門腺粘膜の ODC 活性が、著しく上昇し 24 時間で元に回復した。しかし前胃粘膜では上昇は見られなかった。また腺胃粘膜での複製 DNA 合成の促進も認められた。食塩に対する胃におけるこれらの反応は、皮膚癌の発癌プロモーターの皮膚における反応と類似する所見である。

* 東京大学医科研

- 84 **Effects of sodium chloride, saccharin, phenobarbital and aspirin on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine**
Michihito TAKAHASHI, Takeshi KOKUBO, Fumio FURUKAWA, Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI: *Gann*, **75**, 494 (1984)

種々の臓器での 2 段階発癌が示されているが、実験胃癌を用いて、プロモーター作用の検索を行った。検索対象物質は、10% 食塩、5% サッカリン、0.05% フェノバルビタール、1% アスピリンで、いずれも飼料に混じて 32 週間投与した。イニシエーション処置として N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine を飲料水に混じり、同時に 10% 食塩含有飼料を 8 週間投与した。その結果、食塩群では前癌病変である異型腺増生が有

意に増加していた。またサッカリンも腺癌が増加傾向にあった。フェノバルビタールやアスピリンでは増加はみられず、アスピリンではむしろ抑制傾向がみられた。

- 85 **Development of thymic lymphomas by oral administration of N-Nitroso-N-propylurea and establishment of transplantable lines of thymic lymphoma in F344 rats**

Yasufumi SAKURA, Toshiaki OGIU, Nobutaka IMAMURA*, Kyoko FURUTA, Chiaki MATSUOKA and Shigeyoshi ODASHIMA: *JNCI*, **73**, 757 (1984)

400 ppm の N-エチル-N-ニトロソ尿素 (ENU) を飲料水に混じり F344 ラットに連続的に投与することにより胸腺リンパ腫が高率に発生した。これら ENU 誘発胸腺リンパ腫を免疫蛍光抗体法を用いて検討したほか、同系ラットに腹腔内移植を繰返すことにより、22 系の可移植性腹水型胸腺リンパ腫を樹立した。

* 広島大学・原爆放射能医学研究所

- 86 **Spontaneous tumors of the nervous system and associated organs and/or tissues in rats**

Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA, Kyoko FURUTA, Michihito TAKAHASHI, Yuji KUROKAWA, Takeshi KOKUBO, Toshiaki OGIU, Osayuki UCHIDA, Kazuo KOBAYASHI and Yuzo HAYASHI: *Gann*, **75**, 784 (1984)

F344/DuCrj ラット (雄 346, 雌 346) および Slc: Wistar ラット (雄 200 および雌 177) の自然発生神経系腫瘍を病理学的に検索した。最も多くみられた神経系腫瘍は膠腫および神経鞘腫で、両系統のラットにみられた。7 例の膠腫のうち、6 例は大脳に、1 例は脊髄に、また 4 例の神経鞘腫のうち 2 例は三叉神経に、2 例は脊髄神経にみられた。その他の腫瘍として、2 例の大脳顆粒細胞腫、1 例の松果体腫、3 例の副腎神経節細胞腫、1 例の鼻腔未分化癌および 1 例の脊索腫がみとめられた。

- 87 **Malignant fibrous histiocytomas induced in rats by polymers (Short Communication)**

Akihiko MAEKAWA, Toshiaki OGIU*, Hiroshi ONODERA, Kyoko FURUTA, Chiaki MATSUOKA,

Yuko OHNO, Hiroyuki TANIGAWA, Gilda S. SALMO,* Mutsushi MATSUYAMA* and Yuzo HAYASHI: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **108**, 364 (1984)

5種類のポリマー(ポリビニルクロライド3種, ポリハイドロキシエチルメタクリレート1種およびジメチルシロキサン1種)をウイスター系ラットの皮下に埋没, 2年間経過観察を行った。いずれの群においても埋没局所に肉腫が発生したが, その発生頻度には検体によりかなり差がみられた。組織学のおよび電顕的検索では, これら皮下腫瘍のほとんどが悪性線維性組織球腫であった。

* 愛知県がんセンター研究所

88 Foreign-body tumorigenesis in rats by various kinds of plastics - Induction of malignant fibrous histiocytomas

Akihiko MAEKAWA, Toshiaki OGIU*, Hiroshi ONODERA, Kyoko FURUTA, Chiaki MATSUOKA, Yuko OHNO, Hiroyuki TANIGAWA, Gilda S. SALMO*, Mutsushi MATSUYAMA* and Yuzo HAYASHI: *J. Tox. Sci.*, **9**, 263 (1984)

5種類のプラスチックを雌雄ウイスター系ラットの皮下に埋没し, 2年間観察を行った。いずれの群においても埋没局所に肉腫の発生がみられ, その発生頻度には性差はみられなかったが, 検体により可成りの違いが認められた。誘発された皮下腫瘍の詳細な病理組織学的ならびに電顕的検索を行ったほか, 埋没3ヵ月後の局所における移植片周囲の結合織性被膜の厚さと腫瘍発生率を比較し, 異物発癌の組織発生に検討を加えた。

* 愛知県がんセンター研究所

89 Nutritional factors influencing the results of toxicology experiments in animals

Yuzo HAYASHI, Michihito TAKAHASHI and Takeshi KOKUBO: *J. Tox. Sci.*, **9**, 219 (1984)

薬物あるいは化学物質の毒性は種々の要因の影響を受けることが知られているが, 特に栄養条件の影響が毒性病理学的にどのように出現してくるのか, 基礎的なデータをうることは重要である。

実例として, 低カロリー食の投与によってモノクロタリンの毒性が減少する事実を示した。また, 高蛋白質の投与によって, F344 ラットに自然発生する慢性腎症が増強するデータや逆に制限食によって, SD ラットに起こる慢性腎症や心筋線維症の発生を抑制する

データを示した。

以上のように毒性発現における栄養状態の影響は無視できないものである。

90 Studies on the promoting and complete carcinogenic activities of some oxidizing chemicals in skin carcinogenesis

Yuji KUROKAWA, Naoko TAKAMURA, Yuko MATSUSHIMA, Takayoshi IMAZAWA and Yuzo HAYASHI: *Cancer Letters*, **24**, 299 (1984)

酸化作用を有する6種の食品添加物について, マウス皮膚2段階発癌実験により, 発癌性およびプロモーター作用について検討した。雌セネカーマウスを用い, プロモーター試験ではDMBAでイニシエートし, 発癌性試験では, イニシエーションなしに開始し, 検体を週2回, 51週間背部皮膚に塗布した。その結果, 過酸化ベンゾイルに強いプロモーター作用および弱い発癌性, 亜塩素酸ソーダに弱いプロモーター作用が認められた。一方, 臭素酸カリウム, 過硫酸アンモニウム, 過酸化水素, 次亜塩素酸ソーダでは, 両作用共陰性であった。

91 Primary Mutagenicity Screening of Food Additives Currently Used in Japan

Motoi ISHIDATE, Jr., Toshio SOFUNI, Kunie YOSHIKAWA, Makoto HAYASHI, Takehiko NOHMI, Minoru SAWADA and Atsuko MATSUOKA: *Fd Chem. Toxic.*, **22**, 623 (1984)

現在日本で使用されている食品添加物のうち合成添加物190種, 天然添加物52種について, Amesテストと*in vitro*の染色体異常試験を行った。Amesテストでは, 200検体中14検体が, 染色体異常試験では242検体中54検体が陽性となった。Amesテストでのみ陽性となったものが3検体, 染色体異常試験でのみ陽性となったものが43検体, 両試験で陽性となったものが11検体であった。このような一次スクリーニングテストの有用性と食品添加物の変異原性と発がん性の関係について考察がされている。

92 Kinetics of micronucleus formation in relation to chromosomal aberrations in mouse bone marrow

Makoto HAYASHI, Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, **127**, 129 (1984)

小核試験における, 小核形成と染色体異常の関係を検討した報告は非常に少ない。著者はこの問題を解決

するためにマイトマイシン C, 6-メルカプトプリン, アラビノフラノシルシトシンをモデル化合物として選び, 染色体異常と小核出現の時間的關係を単純なモデルに基づいたシミュレーションを行い, 小核が染色体異常に由来するものであることを示した. さらに, 小核の DNA 量を計測し, 小核を形成すると考えられる染色体断片の大きさと比較したところ, よく一致する結果を得た.

93 Mutations in *Salmonella typhimurium* and inactivation of *Bacillus subtilis* transforming DNA induced by phenylhydroxylamine derivatives

Takehiko NOHMI, Kunie YOSHIKAWA, Masahiro NAKADATE, Rumiko MIYATA and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, **136**, 159 (1984)

フェニルヒドロキシルアミン (PHA) とその誘導体 9 種について, 突然変異原性と形質転換 DNA 不活化能を調べた. PHA と 3,5-diMePHA 以外はすべて TA100 に対して突然変異原性を示した. また, 2,6-diMePHA 以外のすべての PHA 誘導体は, 枯草菌の形質転換 DNA の活性を大きく低下させた. 活性と誘導体の安定性との相互関係を調べた結果, 化学的に不安定な誘導体ほど突然変異原性や形質転換 DNA の不活化能が高いことがわかった. しかし, 2,6-diMePHA だけは例外であった.

94 Induction of chromosomal aberrations in cultured Chinese hamster cells in a superoxide-generating system

Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, **140**, 27 (1984)

キサントンオキシダーゼとハイポキサントンをを用いるスーパーオキシド産生系での染色体異常の誘発性について調べた. この系での染色体異常誘発は, チトクローム C の添加によって抑制された. このことは, スーパーオキシドの産生が染色体異常誘発の必須条件であることを示している. 一方, スーパーオキシドデスミクターゼは染色体異常出現頻度に何ら影響を及ぼさず, カタラーゼは出現頻度を低下させた. よって, スーパーオキシド産生系における染色体異常の誘発は, 自発的不均化反応によって生成された過酸化水素と関連していると考えられる.

95 A pilot experiment for the micronucleus test: The multi-sampling at multi-dose

levels method

Makoto HAYASHI, Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, **141**, 165 (1984)

マウス骨髄を用いる小核試験において, 被検物質の適切な投与量および標本作製時期を選定するための予備試験法を考案した. 1 群 2 匹の動物に致死量近くまで 4 段階の検体を投与し, 各投与量群について投与後 18~72 時間の間に 5 回骨髄細胞の塗抹標本を作製し, アクリジンオレンジ蛍光染色法を施して小核を有する多染色性赤血球の出現頻度を求めた. 投与量の決定は, 標本作製時期を込みにし, また標本作製時期は投与量を込みにして決定した. また, 1 群に雌雄 1 匹ずつの動物を用いることにより性差の検討が, また標本作製時期の代わりに投与回数を変えることにより連投効果の検討も可能である.

96 Mechanism of Species Difference in N-Hydroxy-phenacetin Mutagenicity: The Role of Deacetylation by Rat and Hamster Liver Microsomes

Takehiko NOHMI, Kunie YOSHIKAWA, Motoi ISHIDATE, Jr., Akira HIRATSUKA* and Tadashi WATABE*: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4525 (1984)

N-ハイドロキシフェナセチンの突然変異原性の種差の機構解明をサルモネラ/マイクロゾームテストと HPLC を用いておこなった. *S. typhimurium* TA100 に対する N-ハロドロキシフェナセチンの突然変異原性は, NADPH 産生系非存在化においてラットよりもハムスターの S9 を用いた方が約 10 倍高かった. ミクロゾーム中のアミダーゼ阻害剤であるパラオキシノンとフッ化ナトリウムは, N-ハイドロキシフェナセチンの突然変異原性を抑制するのみでなく, 脱アセチル化体である p-ニトロフェネトールの生成をも抑えた.

* 東京薬科大学

97 Kinetic Studies on Pancreatic Lipase Activity in Micellar Systems. III. Effect of Micellar Size

Hiroshi NAKAHARA, Satoshi OKADA, Hidenobu OHMORI* and Masaichiro MASUI:* *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3803 (1984)

5 種類の界面活性剤 (sodium taurodeoxycholate, octaoxyethylene dodecyl ether, 平均オキシエチレン鎖長が 10, 15, 30 の 3 種の polyoxyethylene nonylphenyl ether) ミセルに可溶化した脂肪酸ビニルエステルに対するリパーゼ活性を, 基質フリーのミセルを阻害剤と

する fully competitive inhibition mechanism に基づいて速度論的に解析した。

各ミセル系について得た Michaelis 定数 K_m と阻害剤定数 K の比 (K_m/K_i) はミセルサイズの増大とともに減少した。この K_m/K_i 値の変化は、基質を可溶化したミセルと酵素との複合体の、基質フリーのミセルと酵素との複合体に対する相対的な安定性における変化に対応していることが明らかとなった。また最大速度もミセルサイズの影響を受けたが、これは surface dilution 効果により説明できた。

* 大阪大学薬学部

98 **Partition Behavior of Procaine and p-Aminobenzoic Acid in Pentanol/Water and Ethyl Acetate/Water Systems**

Satoshi OKADA, Hiroshi NAKAHARA, Chikako YOMOTA, Kenshu MOCHIDA: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3287 (1984)

局所麻酔薬プロカインとその加水分解物 p-アミノ安息香酸 (PABA) のペンタノール/水、酢酸エチル/水系における分配挙動について検討した。分配の pH 依存性からプロカイン、PABA とも中性分子種のみが有機相中に分配することが明らかとなった。各溶質のそれぞれの分配系における真の分配係数 P^0 を求め、それらがノクタノール/水系において求められた P_{oct}^0 と直線的な関係にあることを示した。このことから、これらの分配系において第一義的に分配に関わる力 (solvation forces) は互いに類似したものであることを明らかにした。ただし、PABA の酢酸エチル/水系における分配においては異なる力の関与も予想された。

99 **The Molal Osmotic Coefficients and Counterion Activity Coefficients of Arabate with Various Counterions**

Chikako YOMOTO, Satoshi OKADA, Kensyu MOCHIDA, Masayuki NAKAGAKI*: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3793 (1984)

アラビアゴムは古くより、糊、乳化安定剤等として広く使用されているが、その物理化学的特性についてはあまり知られていない。本報では、その高分子電解質としての特性を調べるため、アラビアゴムの主成分であるアラビン酸を分離し、Na, Li, K, Ca, Mg, Ba 塩として、それらの水溶液の浸透圧係数 ϕ を測定した。また Na, Ca 塩については対イオンの活量係数 γ_+ も測定し比較した。アラビン酸塩の ϕ, γ_+ 値は同程度の

荷電密度を持つ直鎖状分子のものにくらべかなり小さかった。この原因は、アラビン酸塩が分岐構造を持つため、通常の直鎖状分子と異なり、鎖上の電荷間距離よりむしろ空間的な電荷間距離により ϕ, γ_+ 値が決定されているためではないかと推測した。

* 京都大学薬学部

100 **食品中の繊維素グリコール酸ナトリウムの分析法**

四方田千佳子, 豊田正武, 伊藤蒼志男, 原田基夫: *食衛誌*, **25**, 505 (1984)

食品中の繊維素グリコール酸ナトリウム (CMC) の定量を、食品衛生検査指針の銅沈殿法を基にして改良した。試料をアセトンで脱脂後、ペクチナーゼおよびプロテアーゼでそれぞれペクチン、蛋白質を分解し、硫酸銅溶液を加えて CMC を銅塩として選択的に沈殿させた。得られた沈殿はアンモニア水に溶かし、Toyopearl HW60 によるカラム精製でさらに低分子妨害物を除去後、ナフタレンジオール法およびアンソロン硫酸法で定量した。本法での 0.2% 添加時の回収率は 70% 以上であり、検出限界は 0.004% であった。市販食品の調査を行ったところ、乳飲料で 0.2%、粉末クリームで 0.003% の CMC が検出された。

101 **市販フライ食品からの抽出油脂における家兎赤血球の溶血量と理化学的指標との相関**

豊田正武, 伊藤蒼志男, 原田基夫: *食衛誌*, **25**, 272 (1984)

市販フライ食品 57 検体から抽出した油脂について、家兎赤血球を用い 50% 溶血に必要な油脂量 (C_{50} : mg) と AV, POV, COV および泡立ち性との関係を調査。抽出油脂の C_{50} は、さつま揚 0.77~4.00 mg (平均 2.24 mg), 油揚 0.96~7.45 mg (平均 3.89 mg), いか天ぷら 0.88~5.70 mg (平均 3.62 mg), その他のフライ食品 1.98~7.43 mg (平均 3.86 mg) で、さつま揚の C_{50} が低い。抽出油脂の C_{50} は、AV, COV および泡の高さと相関し、POV との相関は低い。

102 **フライ油中の家兎赤血球の溶血促進物質の分離**

豊田正武, 伊藤蒼志男, 原田基夫: *食衛誌*, **25**, 494 (1984)

劣化フライ油中の赤血球溶血促進物質について検討するため、66日間さつま揚をフライした菜種油をカラムクロマトグラフィーで分離した。ケイ酸カラムクロマトグラフィーにより最も溶血の高い画分は、エーテル溶出画分 (C_{50} : 1.30 mg) で、グリセリドダイマー

(GD) と脂肪酸を含有していた。さらにゲルろ過で分離した GD 画分の C_{50} は 1.70 mg であった。また脂肪酸画分の C_{50} は約 0.1 mg であった。以上の結果、フライ油の劣化による溶血活性の上昇は、劣化により生成される GD および遊離脂肪酸の増加がその原因の一部であると推察された。

103 ガスクロマトグラフィーによる食品中の天然ワックス分析法の基礎的検討

外海泰秀, 辻 澄子, 伊藤誉志男, 原田基夫:
食衛誌, 26, 160 (1985)

6種類の天然ワックスをベンゼンで還流抽出し、フロリジルカラムによりワックス成分を炭化水素, ワックスエステル, トリグリセドおよび遊離アルコール, モノおよびジグリセリド, 遊離脂肪酸の5つに分画した。

ワックスエステルおよびグリセリドはケン化し、生成したアルコール類ならびに脂肪酸類はそれぞれ TMS 化およびメチル化した後、ガスクロマトグラフィーで測定した。

各画分のピークパターンからワックスを定性し、ピーク面積の和から定量することにより、食品に添加された各種の天然ワックスを系統的に検出・定量できた。

104 各種食品中の天然ワックスの検出・定量

外海泰秀, 辻 澄子, 伊藤誉志男, 原田基夫:
食衛誌, 26, 195 (1985)

市販チューインガム, チョコレート, キャンデーおよびかんきつ類中の天然ワックスの検出および定量を著者の開発した方法を用いて行った。フロリジルカラムへの試料負荷量についてチョコレートは 0.1 g, チューインガムは 0.5 g までに制限する必要があった。

チューインガム中12検体よりパラフィンワックス (0.908~1.210%), 2検体よりミツロウ (0.840, 1.083%), チョコレート検体よりパラフィンワックス (0.09~0.13%), かんきつ類6検体よりライスワックス (3.2~41.3%) を検出し、キャンディー5検体からは検出しなかった。ガスクロマトグラフィーによるワックスの検出限界は、いずれのワックスについてもかんきつ類 0.1 ppm, キャンディー 10 ppm, チューインガム 20 ppm, チョコレート 100 ppm であった。

105 紫外吸光度 (UV) 法および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるナチュラルチーズ中の防かび剤ナタマイシンの分析

伊藤誉志男, 辻 沢広*1, 横山 剛*1, 佐藤勝也*2, 野田勝彦*3, 鈴木 忍*4, 慶田稚洋*5:
Japanese J. Dairy Food Sci., 34, A1 (1985)

試料にメタノールを加えてマグネチックスターラーにより抽出後、水を加え混和しマイクロフィルター型ガラスろ過器によりろ過し、そのろ液について317, 311および329 nmの吸光度を基に定量する UV 法, Lichrosorb RP8 カラムを用い、メタノール:水:酢:酸 (60:40:5) 溶剤により、303 nm の吸光度を測定する HPLC 法の2つの方法を作製した。20 ppm 添加のさいの回収率は UV 法で $92.0 \pm 1.4\%$, HPLC 法は $91.5 \pm 0.4\%$ であった。

*1 和歌山県衛生公害研究センター

*2 雪印乳業(株)分析センター

*3 明治乳業(株)中央研究所

*4 日本分析センター

*5 ネッスル(株)

106 マーケットバスケット方式による日本人のメチルセルロース, CMC, 縮合リン酸塩およびエリソルビン酸塩の1日摂取量の推定

豊田正武, 四方田千佳子, 伊藤誉志男, 一色賢司*1, 加藤文夫*2, 神蔵美枝子*3, 白石由美子*4, 西島基弘*5, 林 弘道*6, 深澤喜延*7, 横山 剛*8, 米田孟弘*9, 平山佳伸*10, 山本芳子*10, 市川和孝*10, 原田基夫: 日本栄養・食糧学会誌, 38, 33 (1985)

全国10機関で、1人1日喫食量に相当する試料を採取し、8食品群ごとに各添加物含量を分析し、1日摂取量を求めた。平均1日摂取量は、メチルセルロース 0 mg, CMC 7.47 mg, ピロリン酸塩 2.1 mg, トリポリリン酸塩 2.0 mg, ヘキサメタリン酸塩 5.2 mg, エリソルビン酸ナトリウム 1.57 mg であった。

*1 北九州市環境衛生研究所

*2 仙台市衛生試験所

*3 国立衛生試験所食品添加物部

*4 札幌市衛生試験所

*5 東京都立衛生研究所多摩支所

*6 長野県衛生公害研究所

*7 山梨県衛生公害研究所

*8 和歌山県衛生公害研究センター

*9 島根県衛生公害研究所

*10 厚生省生活衛生局食品化学課

107 マーケットバスケット方式による日本人の6種有機酸, 3種アミノ酸, 4種核酸, オルトリン酸などの1日摂取量について

豊田正武, 四方田千佳子, 伊藤誉志男, 一色賢

司*1, 加藤文夫*2, 神蔵美枝子*3, 白石申美子*4, 西島基弘*5, 林 弘道*6, 深澤喜延*7, 横山剛*8, 米田孟弘*9, 平山佳伸*10, 山本芳子*10, 市川和孝*10, 原田基夫: 日本栄養, 食糧学会誌, 38, 101 (1985)

全国10機関で, 1人1日喫食量に相当する試料を採取し, 8食品群ごとに酸味料であるクエン酸, コハク酸, 酒石酸, フマル酸, リンゴ酸, 酢酸, アミノ酸系調味料であるグルタミン酸, アスパラギン酸, グリシン, 核酸系調味料であるウリジル酸, グアニル酸, イノシン酸, シチジル酸, 抗酸化剤の α -トコフェロール, 甘味料のD-ソルビット, 強化剤のカルシウム, 着色料の β -カロチンおよびオルトリン酸について含量を分析し, 1日摂取量を求めた。

- *1 北九州市環境衛生研究所
- *2 仙台市衛生試験所
- *3 国立衛生試験所食品添加物部
- *4 札幌市衛生試験所
- *5 東京都立衛生研究所多摩支所
- *6 長野県衛生公害研究所
- *7 山梨県衛生公害研究所
- *8 和歌山県衛生公害センター
- *9 島根県衛生公害研究所
- *10 厚生省生活衛生局食品化学課

108 高速液体クロマトグラフィーによる食品中のアルギン酸ナトリウムの分析法

豊田正武, 四方田千佳子, 伊藤誉志男, 原田基夫: 食衛誌, 26, 189 (1985)

アルギン酸ナトリウムの食品からの分析法を開発した。アルギン酸ナトリウムを繊維素グリコール酸ナトリウムの改良定量法とはほぼ同様に銅塩として捕集精製し, 洗脱物をアンモニア水で溶解した後, ナフトレゾルシノール反応を行い, その呈色物を酢酸ブチルで抽出する。抽出物を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により定量した。HPLC条件はカラム Finepak SIL C₁₈, 移動相にアセトニトリル-水-酢酸ブチル(75:20:5)を用い波長565nmで検出した。本法での検出限界は0.001%と極めて低く, 回収率も0.1%添加で79~99%と良好であった。市販食品の調査では, 16検体中5検体よりアルギン酸ナトリウムが検出された。

109 Involvement of Central Action of Lipopolysaccharide in Pyrogen Fever

Yoshiyuki OGAWA and Seizaburo KANOH: *Japan. J. Pharmacol.*, 36, 389 (1984)

リポ多糖(LPS)による発熱機序を明らかにするため, LPSを静注して発熱させた家兎の脳脊髄液(CSF)についてその発熱性とリムルス活性を検討した。LPSを1, 10, 50 μ g/kg 静注2時間後に採取したCSFでは50 μ g/kg 投与の場合のみ発熱性が認められた。CSF中の蛋白およびNa⁺, K⁺, Ca²⁺含量は上記各種投与量のLPSにより差異がみられなかった。また, これらのCSFはいずれもリムルス活性を示さなかったが, LPS 500 μ g/kgの大量投与後採取したCSFはリムルス活性が陽性であった。LPSを正常のCSFに溶解するとリムルス活性が2オーダー低下したことからCSF中にはリムルス反応阻害因子の存在が示唆された。モノアミノオキシデース阻害剤で前処理後レセルピン投与により発熱させた家兎のCSFには発熱性が認められなかった。これらの結果より, パイロジェン発熱反応においてLPS中樞作用が示唆され, モノアミンの直接的な関与はないものと考えられる。

110 Enhancement of Endotoxicity and Reactivity with Carbocyanine Dye by Sonication of Lipopolysaccharide

Yoshiyuki OGAWA and Seizaburo KANOH: *Microbiol. Immunol.*, 28, 1313 (1984)

Carbocyanine dye (CD) 反応におけるLPSの反応特異性と, LPSの生物学的活性とCDの反応性の関係を化学量論的に検討した。CD反応における吸収極大波長は, 大腸菌と緑膿菌LPSおよび大腸菌由来リポD_Aが465nm, 赤痢菌LPSは460nm, サルモネラミネンタR595グリコリポDは470nm, 大腸菌LPSの多糖体画分は650nm, 酵母RNAは620nm, 溶連菌のM蛋白と発熱性外毒素は610nm, 各種の脂肪酸は445~450nmであった。LPSを1~3分間超音波照射すると465nmにおける吸光度が約3倍増大したが, これはLPS水溶液の濁度の減少度と対応していた。LPSを0.5~5分間超音波照射するとリムルス活性が10倍増強された。さらに長時間の超音波照射はLPSのリムルス活性を不活化させたが, 抗酸化剤として5mmolのL-ascorbic acidを添加することによりこの不活化作用は阻止された。LPSの発熱活性とリムルス活性はCD/LPSの混合比(w/w)が1.73以上で不活化された。LPSを超音波照射すると465nmにおける β 吸収帯の高さ(CD-LPS複合体)と510nmの α 吸収帯(freeのCD)の比が大きくなったことより超音波照射はLPSのCDに対する結合性を増加させることが示された。

111 薬物の胎仔毒性に関する薬理学的研究 (VII)
サリチル酸の胎仔毒性に対する発熱物質の増強
作用

伊丹孝文, 加納晴三郎: 日薬理誌, 84, 411
(1984)

前報でアスピリン (ASA) の急性毒性および胎仔毒性が細菌内毒素 (LPS) により著しく増強されたので、その機作を明らかにするため、代謝産物であるサリチル酸 (SA) について同様な実験を行った。SA の急性毒性、母体毒性 (母体体重増加の抑制)、胎仔毒性 (胎仔死亡、胎仔体重の低下、胎仔骨格の変異) はいずれも ASA を等モル投与した時観察されたものと同程度であった。また LPS を併用した時には、ASA の場合と同程度の毒性増強が認められた。SA または ASA を等モル投与した後の血中 SA 濃度はよく近似しており、その半減期は LPS の負荷により著しく延長された。以上の結果より、ASA 単独または LPS 併用時の毒性に代謝産物 SA が重要な役割を果していることが示唆された。

112 Screening of Antibacterial Constituents of
Crude Drugs and Plants

Masanori KUROYANAGI,* Tsuyoshi EBIHARA*,
Kuninobu TSUKAMOTO,* Seigo FUKUSHIMA*,
Chuichi ISHIZEKI and Motoyoshi SATAKE: *J.*
Pharm. Dyn., 8, 5~62 (1985)

320 種の生薬および植物のエキスを *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *Bacillus subtilis* IAM 1213, *Escherichia coli* U5/41 および *Pseudomonas aeruginosa* P2 の 4 種の菌に対して、抗菌スクリーニングを行った結果、グラム陰性菌に対して抗菌性を有するものは見つからなかったが、グラム陽性の 2 種の菌に対して抗菌性を有するものが 22 種、*Staphylococcus* だけに有効なもの 31 種が見られた。前者の抗菌物質は厚朴の magnolol, honokiol, 蒼朮の β -eudesmol, hinesol, サンゴジュの ursolic acid, 丁香の eugenol 等であった。

* 静岡薬科大学

113 安全性評価からみた「健康食品」

内山 充, 食品衛生研究, 34, 747 (1984)

健康食品と呼ばれているものの内含している安全性上の問題点を、人工有害物、天然有害物、変質生成物につき例をあげて示し、さらに、食物摂取の偏りと過剰を防止しにくいことが根本的欠陥であることを述べた。薬事法との関連、用法・用量、形態の問題点についても論じた。

114 医薬品迅速分析法—7~9— 解熱鎮痛薬, 抗ヒ
スタミン薬および鎮咳薬を配合したシロップ剤
の迅速分析法 (上, 中, 下)

武田 寧, 松田りえ子: 月刊薬事, 22, 315,
589, 725 (1985)

シロップ剤の分析には、従来比色法が用いられていたが、最近液体クロマトグラフ法が繁用されるようになり、薬事監視業務の効率化をはかるための迅速分析法にも採用されている。シロップ剤の迅速分析法として通知された液体クロマトグラフ法による標準分析法について、分析例を添えて解説した。

115 薬とバイオテクノロジー, 6 医薬品への応用
(2) 品質と試験

川村次良, 早川堯夫: ファルマシアレビュー,
15, 147 (1984)

組換え DMA 技術で生産されたヒトインシュリンを中心に、組換え製品が医薬品として登場するまでに開発段階で、品質および有効性・安全性に関しどのような試験を行う必要があるかについて述べた。

116 バイオテクノロジー製剤の安全性基準

早川堯夫: 臨床医, 11, 102 (1985)

組換え DMA 技術、細胞培養などのバイオテクノロジーにより生産される医薬品の安全性を確保する上で、製造方法、精製工程、菌体、培地等由来の微量混在物、本薬の性質、副生成物、分解物などに起因して生ずる問題点を挙げ、必要な試験、留意点ならびに安全性の考え方などについて解説した。

117 医薬部外品の安全性—バイオテクノロジー製品
の安全性について

義平邦利, 早川堯夫: フレグランスジャーナル,
71, 19 (1985)

バイオテクノロジーで生産される医薬部外品の安全性を確保する上で留意すべき点について、バイオ応用医薬品の例をひきながら解説した。

118 酵素研究法 —医療分野における酵素の応用的
研究—

谷本 剛: 化学と薬学の教室, 第88号, 52~61
(1985)

酵素の医療分野における応用的研究について、診断への応用と治療への応用とに分けてそれぞれの最近の研究成果を紹介し、また今後の展望について論述した。

119 接触化学物質による皮膚障害 6. ゴム製品など (パッチテストと分析結果の照合)

中村晃忠, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄: トキシコロジーフォーラム, 7, 128 (1984)

1979年以来, 著者らは主に東邦大学病院と協力してゴム製品などによる接触皮膚炎の原因物質の究明に当たってきた。従来, 接触皮膚炎は皮膚科医によってパッチテストを武器に研究が進められており, 化学者の参加した研究例は少ない。

ここでは, ゴム製品, 塩ビ製品, 皮製品について, 著者らが医師と協力して, パッチテストの結果と分析結果を照合せつつ原因物質を追究した具体例を述べ, こうした研究を進めていくためには医師と化学者の協力が大切であることを訴えた。こうした協力によって診断が正確となれば, 患者が原因物質に接触しないようにするのを助けることもできるし, 使用する物質をより低感作性のものに変えることによって接触皮膚炎を少なくすることもできよう。

120 化粧品中の N-ニトロソジエタノールアミン (NDEIA) に関する研究 (I)

NPD ガスクロマトグラフィーによる NDEIA の定量法

宝井辰紀*, 上条昌弥*, 桐ヶ谷忠司*, 日高利夫*, 木嶋敬二, 鈴木幸夫*, 河村太郎*: 日本化粧品科学誌, 9, 27 (1985)

MPD 付 GC 法を用い化粧品中の NDEIA を, 誘導体にすることなく測定する方法およびトリフルオロアセチル NDEIA として測定する方法を検討した。まず NDEIA の試料を塩基性陰イオン交換樹脂を用い前処理を行い, ついで, NDEIA を直接およびトリフルオロアセチル化後測定する GC 法 (前者はカラムに Thermon 3000, 後者は OV 101 を用いる) を開発した, この方法による回収率は良好で充分使用に耐える方法である。

* 横浜市衛生研究所

121 化粧品中の N-ニトロソジエタノールアミン (NDEIA) に関する研究 (II)

TEA (Thermal Energy Analyzer) ガスクロマトグラフィーによる NDEIA の定量法

木嶋敬二, 宝井辰紀*, 斉藤恵美子: 日本化粧品科学会誌, 9, 32 (1985)

化粧品中の NDEIA の分析法は, 種々なタイプの製品があるため前処理法が重要である。そこでアセトニトリルを用いる一般的な抽出法に加えて, シリカゲル

カラムを用いる方法を検討した。すなわち溶離液としてヘキサン:酢酸エチル, アセトン:酢酸エチル:アセトンを製品の種類によって組合せてまたは単独で使用すると良いことがわかった。また強アニオン交換樹脂を用いる方法についても詳細に検討した。これらの前処理法を利用してクリーム, シャンプー, クレンジングクリームに NDEIA を添加し, GC-TEA を用いて回収率を測定したところ, いずれも良好な結果が得られた。

* 横浜市衛生研究所

122 食品の取扱い中の誘起毒性

斎藤行生, 食の科学: 80, 41 (1984)

食品中の成分が様々な過程を経て変質し, 毒性が誘起される現象を身近な例をひいて論じた。

123 N-Nitrosamines in Squid Products

Prakai BORIBOON*, Tasana KLINTRIMAS*, Laddawan ROJANAPANTIP*, Sili SIWARAKSA Chaweewan HALILAMIAN* and Hajimu ISHIWATA: Promotion of Provincial Health Services Project Interim Report, 5, 87 (1984)

真空蒸留法-液・液分法によりニトロサミンを抽出したのち, GC-TEA によりイカ製品中のニトロサミンの定量を行なった。回収率はニトロソジメチルアミン (NDMA) 89.1%, ニトロソジエチルアミン 80.9%, ニトロソジブチルアミン (NDBA) 72.1%, ニトロソピロリジン (MPYR) 117% であった。モルホルン 10 μ g を添加したがアーティファクト生成はなかった。

本法をタイ国産スルメに応用したところ, NDMA 4.4 ppb, NDBA 1.5 ppb が認められた。これを焼くことによりそれぞれ 12.7 ppb, 0.6 ppb となり, さらに MPYR が 3.4 ppb 認められた。また, ビールでは 0.7 ppb の NDMA が認められた。

* Department of Medical Sciences, Thailand.

124 基本構想をふまえた微生物規格設定のためのフローチャートとその演習

小沼博隆, 徳丸雅一*: 食品と微生物, 1, 105 (1984)

食品の微生物規格を国際規格に対応させることを目的に, 日本の微生物規格の現状分析, 国際動向を調査した。調査結果から得られた問題点を補い, 国際的にも十分対応できると思われる, 科学的データに基づいた規格を設定するためのフローチャートを案出した。

この微生物規格設定のためのフローチャートに従って、いくつかの食品を実際に当てはめ、演習を試みたところ、最も危害度の高い食品は、「生食用魚介類」、「弁当」等であった。これらの食品は従来から食品衛生上問題であることが指摘され、各地方自治体では指導基準を設けて監視・指導を行ってきた経緯と一致した。

本構想が優れている点は、検査対象食品の選び方、対象微生物とその菌数限度について科学的データを基盤にして設定されているため、総てに根拠ある説明ができることである。また、規格設定に際し、食品安全性はもとより健全性、経済性および監視・指導を含めて合理的に対処しようとしていることである。

* 埼玉県衛生研究所

125 Some coprophilous Ascomycetes from Chile

Tetsuo Muroi* and Shun-ichi UDAGAWA:
Studies on Cryptogams in Southern Chile
(National Science Museum, Tokyo), 161 (1984)

本研究の試料は昭和56年度海外学術調査として国立科学博物館が行なった南米チリ産隠花植物調査に参加した滋賀大学横山和正隊員によって採集されたものである。供試糞試料は1981年11月1日～12月20日、Puerto Montt, Puerto Aisen, Punta Arenas 周辺などチリ南部の野外調査で得られた草食動物のもので、温室に室温培養し、下記のチリ産糞生子の菌類を検出、記載した。 *Arniium caballinum*, *A. imitans* を鹿糞から、*A. mendax*, *Bombardioidia stercoris* を兎糞から、それぞれチリ初産種として発見した。そのほか、11種の一般的な糞生子の菌類を追加記録した。

* 塩野義製薬(株)製造部

126 A new *Myrothecium* from Japan, a rhizonic acid producer

Shun-ichi UDAGAWA and Takeyoshi AWAO*:
Mycotaxon, 20, 381 (1984)

著者の1人である宇田川は、1980年に津田ら(星薬科大学)とともに静岡県下の土壌から分離された糸状菌の二次代謝物質として地衣成分の一部として知られるリゾン酸を得たことを報告した。今回はこのリゾン酸産生菌についての分類学的検討を行った結果、ミロセンウム属(不完全菌類)の1新種と同定し、報告した。新種 *Myrothecium penicilloides* は黄かっ色～橙かっ色で広角度に分岐した不稔菌糸によって囲まれた黄緑色の分生子座を形成し、複輪生状に分岐した分生子柄

と小型、卵形の分生子が特徴である。

* 味の素(株)中央研究所

127 *Sagenoma ryukyensis*, a new thermo-tolerant ascomycete

Seiichi UEDA* and Shun-ichi UDAGAWA: *Mycotoxan*, 20, 499 (1984)

日本各地の土壌について生息する子の菌類の調査を行った結果、沖縄県那覇市から採取された土壌から子の菌類不整子の菌綱マユハキタケ科に属するサゲノマ1属の新種が発見された。新種 *Sagenoma ryukyensis* (分生子時代: *Sagenomella*) は耐温性真菌で、生育最適温度は30～37°C, 生育の温度範囲は20～40°C, 45°Cでは生育せず、また20°Cでの生育は極めて悪かった。形態的特徴としては、深赤色の子のう果、菌糸性であるが付属器のない子のう果壁、黄橙色、刺状突起のある子のう胞子を形成する。また、サゲノメラ時代のアナモルフを生じ、その分生子は大型である点も特徴である。

* 長崎県衛生公害研究所

128 Miconazole 点滴静注が有効であった *Botryodiplodia theobromae* による角膜真菌症

石橋康久*, 一戸正勝: 真菌と真菌症, 25, 171 (1984)

54歳男性の左眼に認められた角膜真菌症に対し、当初 ketoconazole の内服を試みたが著効なかった。miconazole の点滴静注に変えたところ4日目頃より改善が認められ、18日間の投与(総量 16,400 mg)により視力改善し、角膜に淡い混濁を残して治癒した。投与中に血清のリン脂質、中性脂肪などが上昇したが投与中止後すみやかに正常化し、それ以外の重篤な副作用は認められなかった。本例の原因菌は *Botryodiplodia theobromae* と固定された(本邦初報告)。この菌は元来、熱帯、亜熱帯に広く分布する植物病原菌である。本菌による角膜真菌症は文献上、世界で8例報告されている。

* 筑波大学臨床医学系眼科

129 酵母の分類と同定に関する国際研修会および同ユニエスコプログラムに参加して

小島満子: 日菌報, 25, 319 (1984)

ポルトガルの Gulbenkian Institute of Science において、国際研修会が開催された。西独、ソ連など13ヶ国から各1名が参加した。酵母の分類学および生態学、

臨床材料由来酵母の迅速な同定法, 酵母細胞に存在する補酵素Qの特異的な構造による分類, DNAのGC含量の測定, 細胞隔壁構造の電顕観察などについて学び, 同時に実験も行った。

ユネスコプログラムでは, 食品衛生学的な観点から, リスボン市内で市販されている魚介類の酵母による汚染調査を行なった。酵母数は $10^1 \sim 10^5/\text{ml}$ であり, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Rhodotorula*などが主な汚染菌属であった。日本における調査結果と異なる点は, 有孢子酵母である *Debaryomyces* が高い検出率を示したことである。

130 RTECS のオンラインファイルによる毒性検索 加納直子, 関沢 純, 竹中祐典: 薬学図書館, 29, 131 (1984)

アメリカ労働安全衛生研究所 (NIOSH) による毒性データ集 RTECS による検索例をオンラインファイルについて検討した。条件設定により様々な毒性値が, また Toxic Effects Code により毒性症状→物質が検索可能である。

131 GLP その後の動向

堀内茂友, 岩崎英介*1, 野崎順久*2: トキシンコ
ロジーフォーラム, 7(4), 431 (1984)

医薬品の GLP が昭和58年4月1日より施行されてから, 約1年を経過した時点での, 国内, 国外の各種 GLP 制定の動向を概略的にまとめた。

国内 GLP の動向としては, 医薬品 GLP の査察および日米二国間協定について, また化審法に基づく化学物質 GLP ならびに農薬の GLP の動向をまとめた。

外国における GLP の動向については, 米国 FDA 再検討特別チーム報告書を中心に, OECD および各国の GLP 制定と FDA との相互協定の状況をまとめ, 最後に内外の GLP 実施対応を実際の立場から書いた。

*1 武田薬品工業(株)中央研究所

*2 山之内製薬(株)中央研究所

132 GLP 規制とその考え方

堀内茂友: 日本化粧品科学会誌, 7(3), 228
(1983)

各種の化学物質の安全性確保は, 国民の保健衛生上, 非常に重要な問題であり, 学問的ならびに行政的な方策として安全性評価に関する基準が制定され, 評価に必要な各種資料が求められている。これら資料のうち, 安全性に関する事項については特に信頼性の確保が必

要である。

そこで GLP 制定の経緯と, わが国 GLP の現状につき, 医薬品の安全性試験の実施に関する基準の概要を逐条的に記述した。

133 医薬品開発と動物実験—飼料成分と汚染物質および微生物の混入について—

堀内茂友: 実験医学, 2, 330 (1984)

医薬品の安全性試験の実施に関する基準 (GLP) の, 第5章第21条の動物飼育管理第12項規定「動物の飼料および水について, 試験に支障をきたす可能性があり, かつ, その存在が予期され得る混入物が試験計画書において設定されたレベル以上に存在しないことを確認するため, 定期的に分析されなければならない」ことに関連して, 栄養および化学的汚染物質などについて論説した。

134 わが国の GLP の動向と査察および安全性試験の現状

堀内茂友: 薬業事報, 8, 6697 (1985)

医薬品の GLP が施行されて1年余を過ぎて, 国内, 国外において各種の GLP 制定, および安全性評価のための毒性試験ガイドラインなどについて大きな動向が見られた。最も注目されることは, GLP 査察実施要領が公表されたことと, 昭和59年6月より GLP 査察がスタートしたことである。次いで, 医薬品の製造(輸入)承認申請に必要な毒性試験ガイドラインの通達, また化審法に基づく化学物質の GLP 基準の公表および化学物質の毒性試験ガイドライン(案)の策定が最終段階に至っていること。農薬についても, 農薬の毒性試験の適正実施に関する基準 (GLP) および農薬の安全性評価に関する基準が農林水産省より公表される段階までの最近の情報の概要を記述した。

135 医薬品の GLP 査察について—査察実施手順および査察結果の評価—

堀内茂友: 薬業事法, 6, 6626 (1984)

昭和59年6月1日付の薬発第400号「医薬品の安全性試験の実施に関する基準に基づく査察実施要領の制定」により, 医薬品の製造(輸入)承認申請に際し, 添付すべき資料の信頼性を確認するため, GLP が適用される試験を実施した内外の試験施設の査察がスタートした。

そこで実施の査察に際し, 標準的な GLP 査察の操作手順とその実施について説明し, さらに査察後の GLP 評価会議での査察結果の評価および適合状況の

評価区分を説明し、最後に DLP 査察を実施しての所感を述べた。

136 マウスにおいてクロルデコンで起こされた神経毒性における脳底神経節

ヘレン・ブネ, 藤森観之助, イン・カン・ホー
Neurotoxicology 6(1), 151 (1985)

マウスの脳底神経節に対するクロルデコンの神経毒性作用について、運動協調性、生体アミンレベル、カテコールアミンと GABA の取込み、線条体スライスをを用いたドパミンの遊離、線条体におけるドパミン代謝物、脳各部位における蛋白結合カルシウム、クロルデコンの脳内分布に関するデータをまとめた。

137 生殖毒性試験

田中 悟, 保 毓书*, 国外医学 (中華人民共和国), 衛生学分冊, 11(2), 71 (1984)

わが国およびアメリカなど諸外国の生殖毒性試験法について、歴史的変遷、方式、相違点を中心に総述した。わが国の農薬や食品添加物などを対象とした生殖毒性試験法(催奇形性試験および多世代生殖毒性試験)は EPA, OECD, FDA の試験法に比べて基本的な違いは認められなかった。しかし、医薬品を対象とした生殖毒性試験法(3 節生殖毒性試験)ではわが国と諸外国との間に基本的な違いが認められた。各国試験法とも学問的にはそれぞれ長所を有したものであるが、流通摩擦問題とも関連し、各国試験法の整合性に関する検討が必要であると考えられた。

* 中華人民共和国北京医学院

138 ホルモン剤の催奇形性一性ホルモン剤による男性化を中心にして一

川島邦夫: トキシコロジーホーラム, 7, 300 (1984)

近年、妊婦に投与されたホルモン剤による女兒の男性化症あるいは男児の女性化症をはじめ四肢、心血管系、中枢神経などにさまざまな奇形が報告されている。

本編はホルモン剤の催奇形性(臨床ならびに動物実験)とその評価法について、性ホルモン剤の投与により発現する男性化症を中心に概説した。

139 Initiation/promotion designs in carcinogenicity bioassays

Yuzo HAYASHI: *Toxicologic Pathology*, 11, 143 (1983)

発癌の過程が、インシエーションとプロモーションの2段階から成ることは、40年前に実験的に明らかにされているが、その重要性は現在においてますます増大しつつある。環境中に存在する物質が、弱い発癌性を有する場合には、そのイニシエーター作用のみならず、プロモーター作用も検討されねばならない。その作用を種々の臓器で検索する方法を、具体的に説明した。

140 化学物質の発癌性評価

林 裕造: *Oncologia*, 10, 113 (1984)

化学物質の発癌性評価に際しては、その作用機序、用量作用関係、生物学的意義についての精細な検討を加えて結論を下すべきである。本稿では特に、その作用機序を発癌性の面から、第一次発癌物質、第二次発癌物質およびプロモーターに分けて考えることを提唱している。さらに、これらに基づいて定性的評価よりも定量的評価が今後のあるべき方法として具体的に説明した。

141 化学物質の発がん性評価

林 裕造, 高橋道人, 青木繁伸: 食品衛生研究, 34, 1078 (1984)

化学物質の生体に及ぼすさまざまな作用を評価する際には、その作用機序、用量作用関係、医学・生物学的意義についての資料を十分に検討した上で、最終的な結論を下すのが通例である。発癌性評価においても、作用機序、活性の程度、種差についての検討を基礎にした評価がなされるべきである。

発癌性試験の評価方法のほか、発癌プロモーター作用の意義、数理統計解析の妥当性と問題点について解説を加えた。

142 II 癌化学療法(5) 抗癌剤の毒性評価

林 裕造, 高橋道人: 癌の化学療法, 47(1984)

毒性評価の基礎として、医薬品の薬効と毒性、局所作用と吸収作用、毒性の可逆性、非可逆性、進行性、個体毒性と生殖毒性、標的臓器の多様性、一次変化と二次変化についての考え方を述べた。また抗癌剤の毒性を臓器別に紹介した。抗癌剤はアルキル化剤が多いので、生体に及ぼす作用が放射線に似ており、種々の臓器で発癌性を現すことが示されているので、今後十分に注意を要することと思われる。化学療法を実施した場合、二次発癌の発生を考慮に入れた上での追跡調査がなされる必要がある。

143 がん原性試験法

高橋道人: *Fragrance Journal* 5, 290 (1984)

化粧品中の試験法の中の安全性試験法の一環として、がん原性試験法につき解説した。

がん原性試験の意義と目的、種類と方法、試験動物の選択、試験方法、がん原性予備試験、がん原性試験、データの解析と評価、化粧品への応用、人間への外挿につき述べた。

144 胃癌発生についての研究の動向

高橋道人: 消化器がん研究の展望, 25 (1984)

実験胃癌の研究は1967年に実験モデルが確立されて以来、わが国を中心にして急速に研究が進展した。組織学的に、電顕的にヒトの胃癌との類似性の追求がなされたほか、生化学的に生物学的特性が明らかにされた。一方、実験胃癌を用いた発癌研究では主に胃癌を高率かつ短期に発生させるための諸条件の検討がなされ、発癌物質と各種化学物質の複合作用や、胃粘膜の病的状態、動物の種差、系統差、性差など内的因子も発癌に大きく関わっていることが判明した。実験胃癌の臨床的応用として、犬の実験胃癌を用いた研究も数多くなされ、診断や治療への応用がなされている。

145 自然発生腫瘍を抑制する化合物

高橋道人: トキシコロジーフォーラム, 7, 607 (1984)

農薬チラムの癌原性試験の結果、自然発生の白血病をはじめいくつかの臓器の自然発生腫瘍を抑制する現象に遭遇し、このような自然発生腫瘍を抑制する種々の化合物について綜的に紹介し、考察した。

チラムの癌原性試験では、白血病のほか、甲状腺や下垂体の腫瘍発生も抑制されていた。チラムと化学構造が類似する disulfiram の癌原性試験は NCI の計画で実施されているが、下垂体腫瘍と甲状腺、乳腺腫瘍が抑制されたと報告されている。

自然発生腫瘍が抑制される機序については明らかではないが、多くの要因は種々の内因子の変動に起因するものと考えられる。

146 (医薬品開発と動物実験): 癌原性試験について

高橋道人: 実験医学, 2, 531 (1984)

医薬品開発における癌原性試験の実施の方法、考え方について、ガイドラインを中心に解説を試みた。

癌原性試験の目的は、本来人間に対して癌原性をもつ可能性のある物質をみつけ出すことにあり、すでに人間での癌原性が明らかにされている物質は30種以上

におよび、そのほとんどすべての物質では動物においても癌原性が証明されている。したがって動物に癌原性が証明された場合、人間にも癌原性がある可能性が考えられるので、その予知の方法として、癌原性試験が実施されている。

147 Three-dimensional morphological study of rat gastric lesions induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine Structural atypia in carcinoma and Non-carcinomatous lesions

Takeshi KOKUBO, Michibito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Yoshifumi MIYAKAWA and Yuzo HAYASHI: *Path. Res. Pract.*, 178, 477 (1984)

N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) によって発生するラットの腺胃腺癌を粘膜内病変、ポリープ状病変、下方増生病変、腺癌に分類し、各病変につき組織学的に計測を実施し、腺管構造の立体構築のパターンから良性病変、悪性病変の評価を実施した。その結果、腺管構造の非連続性が悪性化の指標となりうるという所見を示唆する結果が得られた。また腫瘍に随伴してみられるびらんは、腺管の局所的閉塞に起因する変化と考えられた。

148 Cytogenetic Screening for Environmental Mutagens and/or Carcinogens Using Chinese Hamster Cells in Culture

Motoi ISHIDATE, Jr.: *Genetics and Public Health, Bionature*, 3A, 25 (1983)

化学物質による染色体への影響を調べるために、次の3つの方法が広く用いられている 1) ヒトの末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験、2) チャイニーズ・ハムスター線維芽細胞を用いる姉妹染色分体交換試験、および3) 染色体異常試験。我々は、3)の方法を代謝活性化法も併用して過去10年間に700種の化学物質についてスクリーニングを行ってきた。代謝活性化法は何らかの改良が必要と考えられるが、染色体異常試験は環境中の様々な物質の一次スクリーニングの有用な方法として推奨でき、細菌の遺伝子突然変異法と相まって重要な短期試験法の一つとして再評価される方法である。

149 Preliminary Reanalysis of Radiation-induced Chromosome Aberrations in Relation to Past and Newly Revised Dose Estimates for Hiroshima and Nagasaki

A-Bomb Survivors

Akio A. AWA*, Toshio SOFUNI, Takeo HONDA*,
Howard B. HAMILTON* and Shoichiro FUJITA*:
Biological Dosimetry, 77 (1984)

原爆被爆者 408 名の末梢血リンパ球の染色体異常について、これまでの被爆推定線量 T65D と、今回新たに求められた推定線量、ORNL と LLNL を用いて再検討を行った。T65D によると、異常頻度は長崎より広島の方が高く、これは広島での中性子の比率が高いことによるものと推定された。ORNL と LLNL の推定線量では広島での中性子の比率が T65D より低められており、これらによると、両市での染色体異常頻度に明らかな差はみられていない。

* 放射線影響研究所

150 解熱鎮痛剤フェナセチン、ブセチンの代謝活性化機構

能美健彦, 石館 基, 渡部 烈*: 環境変異原研究, 6, 203 (1984)

フェナセチン、ブセチンの代謝活性化と変異原性について検討し、1) ラットとハムスター S9 の間にみられる種差が両者の脱アシル化能の差によること、2) 脱アシル化と N-水酸化によって生ずるフェネチジンの N-水酸化体とニトロソ体が、これら解熱鎮痛剤から生ずる直接作用性の変異原であることを明らかにした。

* 東京薬科大学

151 1,1-Dichloroethylene の染色体異常誘発性について

沢田 稔, 祖父尼俊雄, 石館 基: 環境変異原研究, 6, 149 (1984)

1,1-, *cis*-1,2-並びに *trans*-1,2-ジクロロエチレン (DCE) の細胞遺伝学的影響について検討した。このうち 1,1-DCE については、S9 mix 共存下で、チャイニーズ・ハムスター培養細胞に対し染色体異常誘発性が認められ、また姉妹染色分体交換 (SCE) の増加が観察された。1,1-DCE による異常の誘発は、メチラボンやグルタチオンの添加によって著しく抑制された。一方、*cis*-および *trans*-1,2-DCE はいずれも、S9 mix の有無にかかわらず染色体異常および SCE の誘発が認められなかった。1,1-DCE については、さらに生体内での作用を検討するためにマウスを用いる小核試験を実施したが、その結果は陰性であった。

152 食品添加物の変異原性試験成績(その5)—昭和58年度厚生省試験研究費による—

石館 基, 祖父尼俊雄, 吉川邦衛: トキシコロジーフォーラム, 7, 634 (1984)

昭和58年度には、合計22種類の合成食品添加物について Ames テストならびに染色体異常試験を行い、合計24種類の天然添加物について染色体異常試験のみを行った。さらに、6種類の合成添加物についてマウスの小核試験を行った。その結果、Ames テストでは2検体が、染色体異常試験では3検体(合成)および5検体(天然)が陽性と判定された。小核試験では、今回最終的に陽性と判定されたものは2検体であった。

153 1. 発癌性物質短期スクリーニング法に関する国際協力事業 (CSSTT/IPCS) 活動の現状

石館 基: トキシコロジーフォーラム, 8, 358 (1985)

WHO/IPCS (国際化学物質安全性計画) で企画された事業 CSSTT 活動の経過ならびに成果について紹介している。昭和58年10月、米国ジョージア州のセント・サイモンズ島で *in vitro* 試験法による研究成果が発表された。出席した研究者は、いずれも過去1年間で得られた実験成績を持参し、生データについて研究者相互で意見交換を行った。この結果は、本年3月にオランダの Elsevier 社から単行本として出版された。

154 小核試験結果の判定に関する背景データの利用

林 真, 山崎 実*, 菊池康基*, 石館 基: トキシコロジーフォーラム, 8, 48 (1985)

偶然変動に左右されない、蓄積された陰性対照群のデータを用いる検定法について検討した。国立衛生試験所で過去3年間に蓄積されたデータを基に、陰性対照群における小核を有する多染性赤血球の出現頻度分布を調査し、それを基盤とする抜き取り検査法の有用性について紹介する。

* 武田薬品工業(株)

155 The *in vitro* chromosomal aberration test using Chinese hamster lung (CHL) fibroblast cells in culture

Motoi ISHIDATE, Jr. and Toshio SOFUNI:
Progress in Mutation Research, vol. 5 (J. Ashby, F. J. de Serres *et al.* eds.) Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p. 427 (1985)

IPCS/CSSTT による Ames 試験を補足しうる試験系の開発計画に基づいて、8種の発がん物質と2種の

非発がん物質について、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験を行った。6種の発がん物質(hexamethylphosphoramide, *o*-toluidine, benzene, safrole, acrylonitrile, diethylstilbestrol) および2種の非発がん物質(caprolactam, benzoin) は陽性の結果が得られた。2種の発がん物質(diethylphthalate, phenobarbital) は陰性の結果を示した。

156 小麦粉および小麦製品中の残留過酸化ベンゾイルの定量

小川俊次郎*1, 鈴木英世*2, 豊田正武, 伊藤蒼志男, 慶田雅洋*3: 日食工誌, 31, 356 (1984)

小麦粉, うどん, パン, そうめんなどに小麦粉改良剤として使用されている過酸化ベンゾイル(BP)の上記食品中からの定量法について検討した。

小麦製品を中性下でエーテル抽出し, シリカゲルカラムクロマトグラフィーによりBPと安息香酸(BA)を分画する。ついでBP分画にヨウ化カリウムを加え, BPをBAに100%変換後, ガスクロマトグラフィーにより定量する方法を考案した。本誌でのBP 30 ppm添加のさいの回収率は約90%であり, 検出限界は0.5 ppmであった。

*1 京都薬科大学環境衛生

*2 国立衛生試験所生薬部

*3 ネッスル(株)

157 食品中の添加物分析法

伊藤蒼志男: 食品衛生研究, 34, 1061 (1984)

食品中の食品添加物分析法を作製したさいの特徴, 分析法の構成および原理を述べ, それらの分析法を使用するときの注意点について解説した。

次に厚生省食品化学課編「食品中の食品添加物分析法(1982年出版)」に関する, 地方衛研など各機関からの要望, 問題提示等について, それらを整理し各項目ごとに分画し説明すると同時に, それらの修正案および改良案を提示した。

最後に昭和58年8月付で, 厚生省より新しく許可された11種の食品添加物(アジピン酸, 二酸化ケイ素, 二酸化チタン, グルコン酸鉄, プロピオン酸, 銅塩類, 亜鉛塩類, アスパラテーム, クエン酸イソプロピル, EDTA, 2Na および EDTA Ca, 2Na)の食品中からの分析法について, これまでに報告されている各種の方法を紹介した。

158 有機窒素化合物の魚毒性—アニリン系化合物による魚の仮死現象—

外海泰秀, 伊藤蒼志男: 生態化学, 7, 17(1984)
約80種類の有機窒素化合物の魚毒性を調べるために, ヒメダカによる半数致死濃度LD₅₀および*n*-オクタノール・水間の分配係数を測定した。

これらの中で特に強い魚毒性を示し, LC₅₀と分配係数の間に良好な相関性を示したアニリン誘導体について, 静水系と流水系におけるLC₅₀の差異, 魚のへい死の判定方法など魚類試験実施上の問題点を指摘した。

またある種のアニリン誘導体に魚の仮死現象が観察されたので, これら化学物質の魚毒性と仮死現象との関係を明らかにする目的で, ヒメダカ, ワキンおよびコイについて, 化学物質の魚体内蓄積および排泄量について詳細に検討した。

159 Bacteriological Survey of Water and Ice for General Uses in Thailand

Masaaki TSUNO*1, Monkol THUNGCHAI,* Damrong BHANTHUMKOSOL*3, Yasuhide TONGAI, Chanchai JAENGSAWANG*4 and Amara KINGKATE:*4 *Food Microbiology*, 1, 123 (1984)

日・タイの共同プロジェクトにより, タイのチャンタブリにモデル地区を設け, 上水道, 共同井戸, 飲料用雨水および氷などについて微生物ならびに化学検査を行った。

微生物試験は生菌数, 大腸菌群数および病原性細菌について行い, 化学試験はアンモニア, 亜硝酸, 硝酸など10項目について行った。この調査はモデル地区に18の定点を定め, 月1回のサンプリングを1年間通して行い, 乾季ならびに雨季における汚染度を比較し, 疫学調査の資料とした。

*1 Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

*2 Provincial Chief Medical Office, Chanthaburi, Thailand

*3 Provincial Health Laboratory, Prapokklaro Hospital, Chanthaburi, Thailand

*4 Department of Medical Sciences, Bangkok, Thailand

160 食品中のオルトリン酸塩およびポリリン酸塩の迅速分離定量法

一色賢司*1, 豊田正武, 原田基夫: 日食工誌, 32, 216 (1985)

数種食品中のオルトリン酸, ビロリン酸, トリポリリン酸およびその他のポリリン酸の迅速分析法を開発した。均質化試料をエーテルにて脱脂後, 氷冷した20

%トリクロル酢酸溶液で振とう抽出し、ろ過後ろ液の一部を中和しエチレンジアミン四酢酸緩衝液にて希釈し、短いDowex 1×4の陰イオン交換カラムに加え、オルトー、ピロー、トリーおよび他のポリリン酸を分画した。りん酸はモリブデン試薬を加えた加熱後硫酸ヒドラジンで発色させ比色定量した。回収率は0.02~0.2%添加で69.3~104%であった。

* 北九州市環境衛生研究所

161 組織培養による生菜の生産

佐竹元吉：現代東洋医学，6(2)，92 (1985)

生菜の生産手段として、組織培養を考えると育種のための個体変異を起こさせる手段、同一形質を保持する手段および増殖のための苗作の手段が考えられる。これらをミシマサイコ、サドオケラ、マオウ、モウコオウギ、ハンリドコロ、ウスユキクチナングサの実例をあげて述べた。

1. 神谷庄造, 宮原 誠: 1-フェニル-7-ニトロソ-3-(4-ピリジルメチル)尿素類の反応性について
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)
 2. 宮原 誠, 神谷庄造: 1-フェニル-3-(3-ピリジルメチル)尿素のN-ニトロソ化—反応条件による位置選択性—
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 4)
 3. 宮原美知子, 末吉祥子, 神谷庄造: 1-(2-chloroethyl)-1-nitroso-3-(3-pyridylmethyl) urea N-oxideの抗腫瘍性の作用機作について
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)
 4. 末吉祥子, 丹野雅幸: 1-アシル-1-ニトロソ尿素類の緩和な条件下における分解反応 (1)
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)
 5. 丹野雅幸, 末吉祥子: 1-アシル-1-ニトロソ尿素類の緩和な条件下における分解反応 (2)
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)
 6. 内山 充: 健康食品の現状と将来
第32回日本食品工業学会 (1985. 3. 28)
 7. 内山 充: 健康食品について
第36回日本栄養食糧学会関東支部大会 (1985. 2. 23)
 8. Mitsuru UCHIYAMA: **Environmental toxicology issues in Japan**
98th Annual International Meeting of Association of Official Analytical Chemists (1984. 10. 30)
 9. 内山 充: 有機塩素系化合物の環境動態ならびに毒性に関する最近の知見: 一般毒性—生化学的考察—
第11回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム (1984. 10)
 10. 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 緒方宏泰: 剤皮を施した製剤の崩壊試験, 溶出試験法の考察
第21回全国衛生化学技術協議会年会 (1984. 9. 27)
 11. 緒方宏泰, 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 北浦敏行*1, 大木俊光*1, 北村浩一*1, 井上義政*2, 北村正孝*2, 関根伸夫*2: 市販シナリジンカプセルのバイオアベイラビリティの胃液酸度依存性, およびイヌ試験, 溶出速度との相関性
第16回薬物代謝と薬効, 毒性シンポジウム (1984. 11. 10)
- *1 藤沢薬品製剤研究所
*2 日本レダリー製薬製剤研究部
12. 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 緒方宏泰: 弱塩基性医薬品のバイオアベイラビリティに及ぼすヒト胃液酸度の影響
第1回薬物治療モニタリング研究会 (1985. 1. 20)
 13. 緒方宏泰, 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 遠藤真砂子: メトロニダゾール唾液中分注
第5回日本臨床薬理学会 (1984. 11. 28)
 14. 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 緒方宏泰: 経口投与時における薬物の非連続吸収のコンピューターによる解析
第5回日本臨床薬理学会 (1984. 11. 29)
 15. 緒方宏泰, 柴崎利雄, 内山 充, 池淵秀治: ブドウ糖水溶液における 5-HMF, フルフラールの生成, 分解の速度論
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 3)
 16. 青柳伸男, 緒方宏泰, 鹿庭なほ子, 内山 充: 実験動物, ヒトにおける固形製剤の胃内容排出速度
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 4)
 17. 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 緒方宏泰, 内山 充: 生物学的同等性試験における吸収速度のパラメータとしてのMRTに関する考察
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 4)
 18. Nobuo AOYAGI: **Bioavailability study as a quality control of drugs**
Korean Pharmacy Symposium on Drug Bioavailability, Seoul, Korea (1985. 4. 26)
 19. 柴崎利雄, 香取典子: 市販グリセリン中夾雑物の試験について
第21回全国衛生化学技術協議会 (1984. 9. 28)

20. 石橋無味雄, 阿曾幸男, 吉岡澄江: 注射用蒸留水について
第21回全国衛生化学技術協議会 (1984. 9. 28)
21. 石橋無味雄, 吉岡澄江, 柴崎利雄, 内山 充, 渡辺俊文*¹, 高井信治*², 黒松勇蔵*²: 経口投与カリウム吸着剤としてのゼオライトの基礎的検討
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
-
- *¹ 東大医科研
*² 東大生研
22. 吉岡澄江, 柴崎利雄, 内山 充: エステル系薬物の血中における安定性
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
23. 香取典子, 吉岡澄江, 柴崎利雄, 内山 充: セファレキシンの固体状態における安定性・分解生成物の単離および水溶液での分解との比較
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
24. 阿曾幸男, 緒方宏泰, 内山 充: Lewis 肺癌に対するモノクロナル抗体の調製
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
25. 赤坂安司*¹, 高山幸三*¹, 上田晴久*¹, 緒方宏泰, 阿曾幸男, 池淵秀治, 町田良治*¹, 永井恒司*¹: 抗体結合ウシ血清アルブミン小球体の調製と体内分布
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
-
- *¹ 星薬科大学
26. 松田りえ子, 立沢政義, 内山 充, 江島 昭: 逆相系充填剤に対するフェノチアジン誘導体の親和性と部分構造の関係について
第 5 回液体クロマトグラフィー討論会 (1984. 10. 29)
27. 大野昌子: LSD 乱用の推移と鑑定法
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
28. 徳永裕司, 木村俊夫, 山羽 力: 液体クロマトグラフ法による軟膏およびクリーム中の糖質コルチコイドの定量
第21回全国衛生化学技術協議会 (1984. 9. 28)
29. 徳永裕司, 木村俊夫, 山羽 力: 高速液体クロマトグラフ法によるスピロラクトン製剤の定量
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 5)
30. 太田美矢子, 木村俊夫, 山羽 力: 液体クロマトグラフ法による製剤中のインシュリンの定量
第21回全国衛生化学技術協議会 (1984. 9. 28)
31. 太田美矢子, 木村俊夫, 山羽 力: 高速液体クロマトグラフィーによるインシュリンの分析 (VI) ヒトインシュリンとその類縁物質との分離
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 5)
32. 谷本 剛, 福田秀男, 山羽 力: 合成基質を用いたリゾチームの新蛍光測定法
第21回全国衛生化学技術協議会 (1984. 9. 28)
33. 谷本 剛, 福田秀男, 山羽 力: カリジノゲナーゼ製剤の品質について
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
34. 押沢 正, 早川堯夫, 山村雅一*: ヒト T リンパ球の幼若化反応に及ぼす各種抗炎症剤の影響
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
-
- * 東海大医
35. 押沢 正, 佐藤 浩, 木村俊夫, 福田秀男, 谷本剛, 早川堯夫, 寺尾允男, 大塚栄子*¹, 池原森男*²: 化学合成ヒト成長ホルモン遺伝子の発現タンパク質の部分精製とその生物活性
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 4)
-
- *¹ 北大薬
*² 阪大薬
36. 鈴木澄子*¹, 早川堯夫, 鈴木和博, P. C. ANDREWS*², B. M. BRABIO*²: ヒト好中球の活性化におけるタンパク質リン酸化反応の役割について
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
-
- *¹ 公衆衛生院
*² タフツ・ニューイングランド メディカルセンター
37. B. M. BABIOR, T. HAYAKAWA, K. SUZUKI and S. SUZUKI: A Deficiency in Membrane Protein Phosphorylation in X-Linked Chronic Granulomatous Disease
National Meeting 1984: Clinical Research 32, 550A (1984)
-
- * Tufts-New England Medical Center

38. 山羽 力: 組換え DNA 技術を応用して製造される医薬品の現状について
第17回日本薬剤師学会学術大会 (1984. 11. 10)

39. 和田成仁*, 入江昌親*, 沢田純一, 寺尾允男: ヒト成長ホルモンに対するモノクローナル抗体の調製
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 3)

* 星薬科大学

40. 田村早樹子*, 三間瑞枝*, 小林典裕*, 細田 宏*, 南原利夫*, 沢田純一, 寺尾允男: モノクローナル抗ステロイド抗体 II. 抗 11-デオキシコルチゾール抗体の特異性
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)

* 東北大学薬学部

41. 手島玲子, 池淵秀治, 寺尾允男: 好塩基球細胞の抗原特異的脱顆粒に及ぼす各種サイトカリン類の効果
第56回日本生化学会大会 (1984. 10. 6)

42. 手島玲子, 池淵秀治, 寺尾允男: ラット好塩基球細胞膜蛋白のリン酸化反応の性質とフォルボルエステルによる活性化
第7回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (1984. 11. 12)

43. 池淵秀治, 手島玲子, 寺尾允男, 山根靖弘*: 鉛の胆汁排泄に及ぼす薬物の影響について
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 3)

* 千葉大学薬学部

44. Kunisuke NAGAMATSU and Yasuo KISHIMOTO*: **Comparison of fatty acyl (C24 and C16)-CoA synthetase activity in rat brain and liver.**
The 75th Annual Meeting American Society of Biological Chemists, St. Louis, Missouri, June 6, 1984

* Johns Hopkins University, School of Medicine.

45. Yasuo KISHIMOTO*1, Shinji SOEDA*2 and Kunisuke NAGAMATSU: **Substrate specificity of fatty acyl CoA synthetase: Effect of detergent.**
The 69th Annual Meeting of Federation of American Societies for Experimental Biology,

Anaheim, California, April 26, 1985

*1 Johns Hopkins University, School of Medicine.

*2 Fukuoka University, Faculty of Pharmaceutical Sciences.

46. 辻 楠雄, 菊池 寛, 堀部 隆*, 岡本佳三*: 鑄造用ニッケルクロム合金の腐食と変色
第4回日本歯科理工学会 (1984. 10. 13)

* 福岡歯科大学

47. 新谷英晴, 辻 楠雄, 大場琢磨: 血清成分のイオンクロマトグラフィーによる定量
第16回日本臨床検査自動化学会 (1984. 9. 1)

48. 新谷英晴, 辻 楠雄, 水町彰吾, 大場琢磨: 紫外および電気伝導度検出器を用いたイオンクロマトグラフィーによる血清中の陽イオンの定量—両者の比較および前者の改良—
日本薬学会第105回年会 (1985. 4. 4)

49. 新谷英晴, 辻 楠雄, 水町彰吾, 大場琢磨: フタル酸エステルの血清中の分解ならびに血液製剤中の定量
日本薬学会第105回年会 (1985. 4. 4)

50. 新谷英晴, 辻 楠雄, 大場琢磨: 人血清および血漿中の可塑剤の分析
第33回日本分析化学会 (1984. 10. 12)

51. 辻 楠雄, 新谷英晴, 菊池 寛, 大場琢磨, 和田義昌*: 医用材料の適合性に関する化学的研究(第3報) 改良された血液回路中の可塑剤の血液への移行について
第59回日本医科器械学会 (1984. 5. 30)

* 日本医療用プラスチック協会

52. 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠: 市販ゴム手袋中のジチオカルバメート系化合物の分析
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 4)

53. 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠: 綿ネルの寝間着による **Pigmented Contact Dermatitis** の原因物質について
第21回全国衛生化学技術協議会 (1984. 9. 28)

54. 小嶋茂雄, 中村晃忠, 鹿庭正昭: 綿ネルの寝間着に含まれるナフトール AS による黒皮症

- 日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 4)
55. 早川律子*¹, 松永佳世子*¹, 請井智香子*¹, 大岩久美子*², 岡田富雄*³, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠: ネルねまきによる **pigmented contact dermatitis**
第 9 回パッチテスト研究班総会 (1984. 12. 2)
-
- *¹ 名古屋大学
*² 保健衛生大学
*³ メナード生化学研究所
56. 早川律子*, 松永佳世子*, 有馬八重野*, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠: ネル布の抽出法によるパッチテスト反応の差
京滋皮膚科懇談会 (1985. 3. 30)
-
- * 名古屋大学
57. 中村晃忠, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄: ポリエステル製品で **TDBPP** と極めて近い GC ピークを示すケースについて
第 21 回全国衛生化学技術協議会 (1984. 9. 28)
58. 中村晃忠, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭: ビスおよびトリス (2,3-ジプロモプロピル) ホスフェートの公定分析法における二, 三の難点の克服
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 4)
59. 叶多謙蔵, 片桐 禪*, 箱田 理*: マイクロコンピュータによる大量プロトン NMR スペクトル検索システムの作成
日本分析化学会第 33 年会 (1984. 10. 13)
-
- * 三菱レイヨン
60. K. KANOHTA, Y. KATAGIRI*: **A Massive Proton NMR Spectra File Search by a Microcomputer**
The 1984 Intl. Chem. Congress Pacific Basin Soc. (1984. 12. 21)
-
- * 三菱レイヨン
61. 叶多謙蔵, 長谷川光夫*¹, 大原 誠*²: 高分解能 NMR スペクトル測定用キャピラリーサンプル管の考案
日本化学会第 50 年会 (1985. 4. 3)
-
- *¹ 東京化成
*² 日本精密
62. 松村年郎, 亀谷勝昭, 村松 学*: ホルムアルデヒドによる室内空気汚染について (第 5 報)
第 25 回大気汚染学会 (1984. 11. 9)
-
- * 東京都衛生局
63. 村松 学*, 松村年郎: 室内空気中のホルムアルデヒド濃度について
第 1 回都市工学会 (1984. 12. 1)
-
- * 東京都衛生局
64. 亀谷勝昭, 松村年郎: ²³⁸U および ²³⁴U 分析法について
第 21 回理工学における同位元素研究発表会 (1984. 7. 2)
65. 亀谷勝昭, 松村年郎: 河川水の ²³⁸U および ²³⁴U 濃度
第 26 回環境放射能調査研究発表会 (1984. 12. 5)
66. 木嶋敬二, 斎藤恵美子, 義平邦利: **HPLC** による化粧品用タール色素の分析 (IV) ローダミン系色素中の未反応中間体などの分離定量
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 4)
67. 原田裕文*, 木嶋敬二, 風間成孔*, 観 照雄*, 永山富雄*, 岩倉良平*, 澤村邦夫*, 西島 靖*, 平松 功*, 広田 博*, 藤山喜雄*: 化粧品試験法シノキサート
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
68. 原田裕文*, 木嶋敬二, 風間成孔*, 観 照雄*, 永山富雄*, 岩倉良平*, 澤村邦夫*, 西島 靖*, 平松 功*, 広田 博*, 藤山喜雄*: 化粧品試験法パラフェノールスルホン酸亜鉛
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 3)
-
- * 日本薬学会 衛生試験法部会 化粧品試験法ワーキンググループ
69. 安藤正典, 松田克子, 松井啓子, 義平邦利, 佐谷戸安好*: フミン酸のオゾン処理生成物について
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 4)
-
- * 摂南大学薬学部
70. 安藤正典, 梶野勝司*¹, 佐藤 孝*², 土屋悦輝*³: 水質試験法, 臭気物質

日本薬学会第105年会(1985.4.3)

*1 大阪市水道局

*2 千葉県水道局

*3 東京都立衛生研究所

71. 米谷民雄, 斎藤行生, 鈴木和夫*: カドミウム-
システムを静脈内投与した時のカドミウムの分
布と腎障害

日本薬学会第105年会(1985.4.3)

* 国立公害研究所

72. 内山貞夫, 田村行弘*1, 星野庸二*2, 土井佳代*3:
フェオホルバイド_aおよびピロフェオホルバイド
_a

日本薬学会第105年会(1985.4.3)

*1 東京都立衛生研究所

*2 埼玉県衛生研究所

*3 神奈川県衛生研究所

73. 米谷民雄, 綿引明美*, 鈴木和夫*: カドミウムを
システムと投与した時の急性腎障害における腎
中カドミウムの臨界濃度

第2回金属の関与する生体関連反応シンポジウム
(1984.6.1)

* 国立公害研究所

74. 井上たき子, 石綿 肇, 谷村顕雄: メラミンの衛
生化学的研究 I メラミン樹脂製食器からのメラ
ミンとホルムアルデヒドの溶出について

日本食品衛生学会第49回学術講演会(1985.5.17)

75. 川崎洋子, 山田 隆, 谷村顕雄: 食品中のメチル
ゲアニジン, アゲマチンの分析

日本食品衛生学会第48回学術講演会(1984.10.18)

76. 山本 都, 石綿 肇, 山田 隆, 谷村顕雄, 富田
勲*: 生体試料中のニトロソメチルウレアの分析
法について

日本食品衛生学会第48回学術講演会(1984.10.18)

* 静岡薬科大学

77. 尾張恭子, 山田 隆, 義平邦利, 谷村顕雄: ニト
ロソアミン生成に対する野菜, 果実汁の促進およ
び抑制作用について

日本食品衛生学会第49回学術講演会(1985.5.16)

78. 山崎 壮, 井上たき子, 山田 隆, 谷村顕雄, 義

平邦利: 乳首ゴム中のニトロソアミン前駆体の研
究—ゴム中の残存加硫促進剤の分析—

日本食品衛生学会第49回学術講演会(1985.5.17)

79. Hajimu ISHIWATA, Ryoichi IWATA, Akio TANI-
MURA: **Absorption, Secretion and Excretion
of Dimethylamine in Rats**

Eighth International Meeting on N-Nitroso
Compounds: Occurrence and Biological Effects,
Banff, Canada (1983.9.5)

80. 下平富子: ストレプトマイシン-依存性大腸菌に
よる変異原検出試験の諸条件について

日本環境変異原学会第13回大会(1984.10.13)

81. 下平富子: テトラサイクリン-耐性 R 因子を感染
させたストレプトマイシン-依存性大腸菌とその
親株との性状の差異について

第52回日本細菌学会関東支部総会(1984.11.16)

82. 児玉幸夫, 林 長男, 堀内茂友, 真木俊夫*1, 重
盛正彦*2: 実験用動物の市販固型飼料中のニトロ
ソジメチルアミン(第3報)

第31回日本実験動物学会総会(1984.10.4)

*1 東京都立衛生研究所

*2 三協ラボサービス

83. 佐伯和昭, 河西 勉*: 日本産フィッシュミール
のサルモネラ菌汚染とその防除に関する研究.

1. 汚染の実態

日本食品衛生学会第48回学術講演会(1984.10.18)

* 東京水産大学

84. 安形則雄*1, 品川邦汎*2, 小沼博隆, 倉田 浩:
食肉, 食肉製品および副原料中のセレウス菌汚染
と分離菌の性状, 毒素産生性

日本食品衛生学会第48回学術講演会(1984.10.18)

*1 名古屋市衛生研究所

*2 岩手大学

85. 武政二郎*1, 品川邦汎*2, 小沼博隆, 倉田 浩:
冬季および夏季における食肉および食肉製品中の
黄色ブドウ球菌の分布と分離菌株のエンテロトキ
シン産生

日本食品衛生学会第48回学術講演会(1984.10.18)

*1 日本油料検定協会総合分析センター

*2 岩手大学

86. 三瓶憲一*1, 尾上洋一*2, 今野純夫*3, 品川邦汎*4, 小沼博隆, 倉田 浩: 食肉および食肉製品から分離した黄色ブドウ球菌の ID テストにおける性状
食品衛生微生物研究会第 5 回学術講演会 (1984. 11. 8)
-
- *1 千葉県衛生研究所
*2 神奈川県衛生研究所
*3 仙台市衛生試験所
*4 岩手大学
87. 桑原祥浩*1, 上田成子*1, 品川邦汎*2, 小沼博隆, 倉田 浩: 食肉, 食肉製品および副原料中のセレウス菌汚染
食品衛生微生物研究会第 5 回学術講演会 (1984. 11. 8)
-
- *1 女子栄養大学
*2 岩手大学
88. 小沼博隆: シンポジウム「食品微生物検査における最近の進歩」, スパイラル法
日本食品衛生学会第49回学術講演会 (1985. 5. 15)
89. 和田正道*1, 斎藤文一*2, 武政二郎*3, 真野 覚*4, 水谷 宏*5, 五十嵐英夫*6, 小沼博隆: 食品衛生微生物検査における細菌数測定法としてのスパイラルプレーティング法の評価
日本食品衛生学会第49回学術講演会 (1985. 5. 15)
-
- *1 長野県衛生公害研究所
*2 日本食品分析センター大阪支所
*3 日本油料検定協会総合分析センター
*4 鹿光生物科学研究所
*5 キュービー株式会社
*7 東京都立衛生研究所
90. 小久保弥太郎*1, 松本昌雄*1, 寺田 厚*2, 斎藤真*3, 品川邦汎*4, 小沼博隆, 倉田 浩: 加熱食肉製品中の *Clostridium* 属汚染について
日本食品衛生学会第49回学術講演会 (1985. 5. 15)
-
- *1 東京都立衛生研究所
*2 日本獣医畜産大学
*3 愛知県衛生研究所
*4 岩手大学
91. 藤野訓男*1, 徳丸雅一*2, 三瓶憲一*3, 今野純夫*4, 品川邦汎*5, 小沼博隆, 倉田 浩: 食鳥肉に関する衛生微生物学的研究
第 1 報 食鳥処理場の汚染調査における試料採取法の比較
日本食品衛生学会第49回学術講演会 (1985. 5. 15)
-
- *1 岩手県衛生研究所
*2 埼玉県衛生研究所
*3 千葉県衛生研究所
*4 仙台市衛生試験所
*5 岩手大学
92. 徳丸雅一*1, 藤野訓男*2, 三瓶憲一*3, 今野純夫*4, 品川邦汎*5, 小沼博隆, 倉田 浩: 食鳥肉に関する衛生微生物学的研究
第 2 報 食鳥処理場および小売店から採取した食鳥肉の細菌汚染状況
日本食品衛生学会第49回学術講演会 (1985. 5. 15)
-
- *1 埼玉県衛生研究所
*2 岩手県衛生研究所
*3 千葉県衛生研究所
*4 仙台市衛生試験所
*5 岩手大学
93. 田中敏嗣*, 長谷川明彦*, 戸矢崎紀紘*, 松田良夫*, 松木幸夫*, 宇田川俊一: 日本国内で初めて確認された *O-Methylsterigmatocystin* 生産性 *Aspergillus flavus* について
第20回マイコトキシン研究会 (1984. 8. 25)
-
- * 神戸市環境保健研究所
94. 名取信策*1, 小山清隆*1, 富岡敬子*1, 的場正行*1, 西本春子*1, 梅田 誠*2, 倉田 浩, 宇田川俊一: *HeLa* 細胞による *actin* 作用マイコトキシンの検索
第21回マイコトキシン研究会 (1985. 1. 12)
-
- *1 明治薬科大学
*2 横浜市立大学木原生物研究所
95. 瀬谷秀之*, 仲嶋正一*, 河合賢一*, 宇田川俊一: *Emericella striata* の産生する新化合物 *striatin* の構造
日本薬学会第 105 年会 (1985. 4. 4)
-
- * 星薬科大学
96. 高田正樹*, 宇田川俊一: ヘテロタリックな *Neosartorya* 属 2 種について
日本菌学会第28回大会 (1984. 9. 23)
-
- * 東洋醸造(株)リサーチセンター
67. 岩津都希雄*, 宇田川俊一: 本邦初産と思われる *Exophiala* 菌 1 種と *Phialophora* 3 菌種につ

いて

日本菌学会第28回大会(1984.9.23)

* 成田赤十字病院皮膚科

98. 宇田川俊一: 家屋塵埃からのカビ分離とカーペット類のクリーニング効果について

日本菌学会第28回大会(1984.9.23)

99. 堀江義一*, Samir K. ABDULLAH*2, 山崎幹夫*1, 宇田川俊一: イラク産土壌より分離された子のう菌類および不完全菌類について

日本菌学会第28回大会(1984.9.23)

*1 千葉大学生物活性研究所

*2 University of Basrah, Iraq

100. 法月克弘*1, 能崎章輔*1, 宇田川俊一, 倉田 浩, 福代良一*2: 病原性黒色不完全菌 *Dactylaria (Ochroconis) gallopava* に対する抗真菌剤の薬剤感受性について

第28回日本医真菌学会総会(1984.10.28)

*1 東洋ビューティサプライ研究所

*2 金沢医科大学皮膚科

101. 竹谷源太郎*1, 富永 潔*1, 中村 敏*2, 福島和彦*2, 谷口稔明*2, 浜岡隆文*3, 佐藤静夫*3, 宇田川俊一: *Scytalidium* 属菌によると思われる牛の疾病の発生とその病変

日本獣医学会第99回大会(1985.4.8)

*1 山口県中部家畜保健衛生所

*2 山口県東部家畜保健衛生所

*3 農林水産省家畜衛生試験場

102. 猿田隆夫*1, 河野昭彦*1, 木田浩隆*2, 一戸正勝, 松崎 統*3: 皮膚アスペルギルス症の2例

第28回日本医真菌学会総会(1984.10.27)

*1 九州大学生医研皮膚科

*2 大分赤十字病院整形外科

*3 国立別府病院皮膚科

103. 一戸正勝, 上村 尚*: 赤かび中毒発生要因に関する一考察

第21回マイコトキシン研究会(1985.1.12)

* 東京都立衛生研究所

104. 一戸正勝, 上野郁子*: 蛍光抗体法による *Aspergillus flavus* 菌群の生菌中のアフラトキシン

B₁ の検出

第21回マイコトキシン研究会(1985.1.12)

* 東京大学医科学研究所

105. 秋山一男*, 安田敏男*, 近藤隆彦*, 滝沢 始*, 日高紀子*, 久富龍夫*, 小須田達夫*, 宮地純樹*, 一戸正勝: *Aspergillus oryzae* による気管支肺炎アスペルギルス症の一例

第65回日本胸部疾患学会関東地方会(1985.2.9)

* 関東中央病院内科

106. 一戸正勝, 上村 尚*1, 小泉信三*2, 加藤 肇*2: ムギ類由来 *Fusarium acuminatum* のトリコテセン生産性と病原性について

日本菌学会第29回大会(1985.5.19)

*1 東京都立衛生研究所

*2 農林水産省農業研究センター

107. 西巻知子, 嶺岸謙一郎, 田中 彰: 2-Ethylhexyl diphenyl phosphate のラットによる吸収, 分布, 代謝, 排泄

日本薬学会第105年会(1985.4.5)

108. 福岡正道, 田中 彰, 大野泰雄: ベンゾチアジルスルフェンアミド系加硫促進剤の代謝 III. Mercapturate の硫黄原子の由来について

日本薬学会第105年会(1985.4.5)

109. 土屋利江, 田中 彰: Thiabendazole (TBZ) および 5-hydroxy TBZ (5 Hy-TBZ) による proteoglycan 生成阻害の種差について

日本薬学会第105年会(1985.4.3)

110. 嶺岸謙一郎, 紅林秀雄, 佐藤道夫, 西巻知子, 福岡正道, 田中 彰: 赤色3号添加飼料によるラット甲状腺機能に対する影響について

日本薬学会第105年会(1985.4.5)

111. 紅林秀雄, 田中 彰: ウサギによる脂環族ケトンオキシムの代謝

日本薬学会第105年会(1985.4.3)

112. 高橋昭江, 田中 彰: Di-n-butyl phthalate isomers のラット臓器酵素による分解について

日本薬学会第105年会(1985.4.4)

113. M. Eileen DOLAN*, Kazushige MORIMOTO, Anthony E. PEGG*: Reduction of O⁶-Alkylgu-

- anine-DNA alkyltransferase Activity in HeLa Cells Exposed to O⁶-Alkylguanines**
76th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, Houston, Texas, U. S. A. (1985. 5. 23)
- * Cancer Research Center, The Milton S. Hershey Medical Center, The Pennsylvania State University, U. S. A.
114. 中館正弘, 林 真, 田中 悟, 前川昭彦, 橋場茂子, 和田忠男*¹, 長田孝治*², 竹中祐典: **バイオリジカル・データベース作成・検索システム**
第7回情報化学討論会 (1984. 11. 19)
- *¹ 三共株式会社 *² 日本総合技術研究所
115. 中館正弘, 林 真, 田中 悟, 前川昭彦, 橋場茂子, 和田忠男*¹, 長田孝治*², 竹中祐典: **特殊毒性試験に関するファクトデータベースの開発**
日本環境変異原学会第13回大会 (1984. 10. 12)
- *¹ 三共株式会社 *² 日本総合技術研究所
116. 関沢 純: **国内外の化学物質法規制情報の検索について**
第21回全国衛生化学技術協議会年会 (1984. 9. 28)
117. 関沢 純, 竹中祐典: **RTECS における生殖毒性データの検索**
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)
118. 橋場茂子, 中館正弘, 竹中祐典, 林 五郎*, 渡辺弘見*: **医薬品添加物の安全性に関するオンライン文献検索**
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)
- * 日本製薬工業協会
119. 林 真, 矢崎扶美子*, 中館正弘: **小核試験に関する文献情報—検索法および出力文献の解析**
日本環境変異原学会第13回大会 (1984. 10. 12)
- * 日本公定書協会
120. 矢崎扶美子*, 林 真, 中館正弘: **オンラインによる小核試験の文献検索 (第2報)**
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)
- * 日本公定書協会
121. 会田喜崇, 吉本浜子, 門馬純子, 高田幸一, 鈴木幸子, 小林和雄, 鈴木康雄, 戸部満寿夫: **牛黄の毒性に関する研究**
第11回日本毒科学会学術年会 (1984. 7. 2)
122. 鎌田栄一, 内田雄幸, 鈴木幸子, 池田康和, 小川幸男, 金子豊蔵, 戸部満寿夫: **化学物質の吸入による気道および肺の毒性学的研究 (第1報)**
第11回日本毒科学会学術年会 (1984. 7. 2)
123. 内田雄幸, 鎌田栄一, 斎藤 実, 池田康和, 小川幸男, 金子豊蔵, 戸部満寿夫: **ホルムアルデヒドの吸入毒性 (ラットの鼻腔発癌)**
第11回日本毒科学会学術年会 (1984. 7. 2)
124. 小林和雄, 戸部満寿夫, 内藤克司, 内田雄幸, 原加寿雄, 七戸和博*, 仲間一雅*, 竹内節弥: **WBN/Kob ラットの自然発症糖尿病様症状について (1), (2)**
第31回日本実験動物学会総会 (1984. 10. 5)
- * 日本医科大学
125. 児玉幸夫, 林 長男, 堀内茂友, 真木俊夫*¹, 重盛正彦*²: **実験動物の市販固型飼料中のニトロソジメチルアミン (第3報)**
第31回日本実験動物学会総会 (1984. 10. 5)
- *¹ 東京都立衛生研究所 *² 三協ラボ・サービス(株)
126. 落合敏秋, 白井章夫, 松本清司, 関田清司, 内藤克司, 川崎 清, 降矢 強, 戸部満寿夫: **緑青(塩基性炭酸銅)の毒性に関する研究 (第1報)**
日本食品衛生学会第48回学術講演会(1984. 10. 18)
127. 児玉幸夫, 堀内茂友, 重盛正彦*, 松田 繁*, 小川澄子*: **ウサギの固型飼料に対する嗜好性および拒食性について**
日本実験動物技術者協会第18回総会学術講演会 (1984. 5. 19)
- * 三協ラボ・サービス(株)
128. 児玉幸夫, 松本清司, 堀内茂友, 重盛正彦*, 杉浦彰彦*, 中西政一*: **同出生時ラットの体型別による成長過程に伴うバックグラウンドデータの検討 (第1報, 第2報)**
日本実験動物技術者協会第19回総会学術講演会 (1985. 5. 19)
- * 三協ラボ・サービス(株)

129. 藤森親之助, 溝上敬之助, 井上和秀, 簾内桃子, 高仲 正, 大森義仁: **新しく開発中の実験動物(スンクス)の薬物代謝酵素系について**
第70回日本薬理学会関東部会 (1984. 6. 10)
130. 大野泰雄, 川西 徹, 高橋 惇, 中浦慎介, 川島邦夫, 田中 悟, 高仲 正, 内山 充, 大森義仁: **γ -クロルデンのトキシコキネティクスに及ぼす投与量の影響**
第11回日本毒科学会学術年会 (1984. 7. 3)
131. 中浦慎介, 川島邦夫, 田中 悟, 高仲 正, 大森義仁: **薬物のウサギ筋肉内投与によるCPK血清活性に及ぼす影響**
第11回日本毒科学会学術年会 (1984. 7. 3)
132. 長尾重之, 川島邦夫, 中浦慎介, 小野田欽一, 田中 悟, 高仲 正, 大森義仁: **Shuttle-box Avoidance Test**
第24回日本先天異常学会学術集会 (1984. 7. 5)
133. Yasuo OHNO, Kari ORMSTAD*, David Ross*, Sten ORRENIUS: **Mechanism of Allyl Alcohol Toxicity and Protective Effects of Low Molecular Weight Thiols Studies with Isolated Rat Hepatocytes**
9th International Congress of Pharmacology (1984. 7. 30)
- * カロリンスカ研究所
134. 藤森親之助, 高仲 正, 大森義仁, 飯塚宏美: **スンクス(ジャコウネズミ)の薬物代謝酵素系について**
第31回日本実験動物学会総会 (1984. 10. 3)
135. 川西 徹, 大野泰雄, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: **ラット肝臓におけるニトロソジメチルアミンとニトロソメチルベンジルアミンの代謝の比較検討**
第16回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム(1984. 11. 10)
136. 藤森親之助, 井上和秀, 溝上敬之助, 簾内桃子, 高仲 正, 大森義仁: **発育期の小脳におけるニトロソウレア類の細胞毒性およびアミンならびにGABA含量に及ぼす影響**
第58回日本薬理学会総会 (1985. 3. 27)
137. 大野泰雄, 川西 徹, 高橋 惇, 高仲 正, 大森義仁: **単離肝細胞を用いたジスルフィラムの細胞毒性の研究**
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 4)
138. 中浦慎介, 川西 徹, 川島邦夫, 田中 悟, 高仲 正, 大森義仁, 松本清司: **ジチオカルバミン酸亜鉛系加硫促進剤の胎仔致死作用と赤血球系に及ぼす影響について**
日本薬学会第105年会 (1985. 4. 5)
139. Kari ORMSTAD* and Yasuo OHNO: **A comparison between Na-mercaptoethane sulfonate and N-acetylcysteine as sources of urinary thiols**
9th International Congress of Pharmacology, Satellite Symposium on Nephrotoxicity (1984. 8. 4)
- * カロリンスカ研究所
140. 小久保 武, 高橋道人, 古川文夫, 岸本嘉夫*, 宮川義史, 林 裕造: **アドリアマイシンによるラットのネフローゼ候群について**
第73回日本病理学会 (1984. 4. 3)
- * 塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ
141. 宮川義史, 高橋道人, 小久保 武, 岸本嘉夫, 林 裕造: **ラット慢性腎症の発生に及ぼす飼料蛋白質の影響**
第73回日本病理学会 (1984. 4. 3)
- * 塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ
142. 前川昭彦, 林 裕造: **ピペロニルブトキサイドによる回盲部潰瘍の発生について**
第73回日本病理学会 (1984. 4. 3)
143. 黒川雄二, 前川昭彦, 高橋道人, 小久保 武, 林 裕造: **酢酸レチノールのラットにおける癌原性試験について**
第43回日本癌学会総会 (1984. 10. 3)
144. 高橋道人, 古川文夫, 小久保 武, 宮川義史, 林 裕造: **胃癌の段階発癌モデルを用いたプロモーター作用の検索**
第43回日本癌学会総会 (1984. 10. 3)
145. 降旗千恵*, 佐藤裕子*, 松島泰次郎*, 古川文夫,

- 高橋道人：食塩によるラット胃粘膜中のオルニチン脱炭酸酵素と DNA 合成の誘導
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
-
- * 東京大学医科学研究所
146. 小野寺博志, 黒川雄二, 前川昭彦, 林 裕造：皮膚発癌モデル実験による各種酸化剤の発癌性およびプロモーター作用に関する実験
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
147. 宮川義史, 高橋道人, 古川文夫, 岸本嘉夫*, 小久保 武, 林 裕造：皮膚段階発癌モデルによる重金属塩のプロモーター作用の検討
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
-
- * 塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ
148. 林 裕造, 黒川雄二：臭素酸カリウムの毒性とグルタチオンおよび過酸化脂質に関する研究
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
149. 小久保 武, 高橋道人, 古川文夫, 岸本嘉夫*, 林 裕造：陽性病変と肝発癌との関係について
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
-
- * 塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ
150. 岸本嘉夫*, 高橋道人, 古川文夫, 宮川義史, 林裕造：実験肝癌モデルによる肝癌プロモーターの検索-エタノール, カフェイン, ニコチン, セレンについて
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
-
- * 塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ
151. 古川文夫, 高橋道人, 小久保武, 岸本嘉夫*, 林裕造：重金属塩による肝発癌プロモーター作用の検討
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
-
- * 塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ
152. 前川昭彦, 荻生俊昭*1, 小野寺博志, 谷川廣行*2, 古田京子：1-メチル-1-ニトロソ尿素によるラット神経系腫瘍の発生に及ぼす系統差の影響
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
-
- *1 愛知がんセンター *2 森下製薬株式会社
153. 古田京子, 荻生俊昭*, 前川昭彦：N-プロピル-N-ニトロソ尿素 (PNU) による5週齢 F344 ラットの胸腺リンパ腫発生過程に見られた組織の変化
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
-
- * 愛知がんセンター
154. 林 裕造：環境中の化学物質の発癌性の評価 (シンポ)
第43回日本癌学会総会（1984. 10. 3）
155. 谷川廣行*, 小野寺博志, 前川昭彦：F 344 ラットにおける自然発生中皮腫
第11回日本毒科学会学術年会（1984. 7. 2）
-
- * 森下製薬株式会社
156. 高橋道人：Modification of experimental gastric carcinogenesis
UICC (1984. 9. 30)
157. 林 裕造：Pulmonary Hypertension in Rats
ILSI (1984. 4. 10)
158. 林 裕造：Results of animal tests on environmental carcinogenesis
日米環境パネル（1984. 2. 5）
159. 沢田 稔, 松岡厚子, 能美健彦, 祖父尼俊雄, 石館 基：フェナセチン関連化合物の培養細胞における変異原性について
日本環境変異原学会第13回大会（1984. 10. 12）
160. 祖父尼俊雄, 畑中みどり, 石館 基：スーパーオキサイド発生系における染色体異常誘発 II
日本環境変異原学会第13回大会（1984. 10. 12）
161. 宮田ルミ子, 能美健彦, 中館正弘, 石館 基：フェニルヒドロキシルアミン類の突然変異誘発作用の解析
日本環境変異原学会第13回大会（1984. 10. 13）
161. 祖父尼俊雄, 林 真 (小核試験共同研究グループ)：小核試験における性差について
日本環境変異原学会第13回大会（1984. 10. 13）
163. 能美健彦, 溝上敬之助, 川野澄江*, 石館 基：フェナセチンの代謝活性化に関するチトクローム P-450 の分子種
日本環境変異原学会第13回大会（1984. 10. 13）
-
- * 東京都立衛生研究所

164. 長谷川隆一, 榊谷真美, 小室徹雄, 伊阪 博: 四塩化炭素と細菌内毒素のマウス肝における相互作用
日本薬学会第105年会(1985.4.4)
165. 伊阪 博, 小室徹雄, 榊谷真美, 長谷川隆一: Salicylamide の尿中排泄に対する細菌内毒素の効果
日本薬学会第105年会(1985.4.3)
166. 岡田敏史, 中原 裕, 宮嶋孝一郎*: 芳香族アミンを有する薬物と糖類の相互作用
日本薬学会第105年会(1985.4.3)
- * 京都大学薬学部
167. 辻 澄子, 外海泰秀, 伊藤蒼志男, 原田基夫: 化粧品中の天然ワックスの分析について
第16回日本化粧品技術者会研究討論会(1984.6.14)
168. 外海泰秀, 辻 澄子, 伊藤蒼志男, 原田基夫, 加納晴三郎: 各種環境汚染物のヒメダカに対する致死毒性に及ぼす飼育水温の影響
第11回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム(1984.10.16)
169. 辻 澄子, 外海泰秀, 小室徹雄, 伊藤蒼志男, 原田基夫, 加納晴三郎: 各種環境汚染物と細菌内毒素とのヒメダカに対する毒性増強および緩和作用について
第11回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム(1984.10.16)
170. 外海泰秀, 辻 澄子, 伊藤蒼志男, 原田基夫: 天然ワックス分析法の各種食品への応用
日本食品衛生学会第48回学術講演会(1984.10.19)
171. 豊田正武, 四方田千佳子, 伊藤蒼志男, 原田基夫: 高速液体クロマトグラフィーによるナフトレゾルシノール呈色物を用いたアルギン酸の分析
日本食品衛生学会第48回学術講演会(1984.10.19)
172. 四方田千佳子, 豊田正武, 伊藤蒼志男: 食品中の各種乳化剤の分析
日本食品衛生学会第49回学術講演会(1985.5.17)
173. 浜野 孝*, 三ツ橋幸正*, 田中喜作*, 松本幸夫*, 外海泰秀, 中村恵三, 伊藤蒼志男: カラムクロマト法による遊離型(EDTA・2Na)と重金属キレート型(EDTA・Caなど)EDTAの分別定量法
日本食品衛生学会第49回学術講演会(1985.5.17)
- * 神戸市環境保健研究所
174. 辻 澄子, 外海泰秀, 伊藤蒼志男: ガスクロマトグラフィーによる食品中のクエン酸モノ, ジおよびトリイソプロピルの分別定量
日本食品衛生学会第49回学術講演会(1985.5.17)
175. 村井敏美, 川崎浩之進, 加納晴三郎: Strep. Pyogenes の発熱性外毒素の精製と細菌内毒素(LPS)との相互作用について
第58回日本薬理学会総会(1985.3.28)
176. 畠山好雄, 熊谷健夫: 北海道におけるケシ栽培について
第8回生薬の栽培と品質に関する研究会(1985.3.9)
177. 熊谷健夫, 畠山好雄: キバナオウギの栽培研究(1) 耕深, 栽培密度の生育に及ぼす影響
日本生薬学会北海道支部第8回例会(1984.6.30)
178. 佐竹元吉, 飯田 修, 下村講一郎: ジュズダマ属生薬の研究(4)
日本薬学会第105年会(1985.4.3)
179. 下村講一郎, 宮崎幸男, 原田正敏, 佐竹元吉: Duboisia 属植物の研究
日本薬学会第105年会(1985.4.3)
180. 神田博史*¹, 布万里子*², 泉 宏昌*³, 磯田 進*⁴, 佐竹元吉: 国内の野生 Panax 属植物について
日本薬学会第105年会(1985.4.5)
- *¹ 広島大学 *² 帝京大学
*³ 東京薬科大学 *⁴ 昭和大学
181. 黒柳正典*, 海老原 毅*, 塚本国信*, 福島清吾*, 石関忠一, 佐竹元吉: 生薬, 植物中の抗菌物質のスクリーニング
第5回天然薬物の開発と応用シンポジウム(1984.7.31)
- * 静岡薬科大学

所員の研究、試験および検査に関する発表を主とする「衛試例会」は、昭和26年から原則として毎月第2火曜日、本所講堂において開催されているが、昭和59年に行った演題は次のとおりである。

第261回（昭和59年4月10日）

1. 血清中のカチオン成分のイオンクロマトグラフィーによる定量ならびに、他法による定量値との比較

療 品 部 新 谷 英 晴

2. 高速液体クロマトグラフ法によるマレイン酸エルゴメトリンおよびマレイン酸メチルエルゴメトリンの定量および水溶液中の安定性

生 物 化 学 部 徳 永 裕 司

3. シクランデレートカプセルの bioavailability

薬 品 部 鹿 庭 なほ子

4. 胎仔肝におけるヘム生合成と分解の特性について

薬 理 部 簾 内 桃 子

5. 赤カビ中毒とトリコセセン系マイトコトキシン

衛 生 微 生 物 部 一 戸 正 勝

第262回 昭和59年5月8日

1. 胃液酸度簡易検査用カプセル「GA-Test」の開発とその有用性の検討

薬 品 部 緒 方 宏 泰

2. ラット好塩基球細胞膜の Ca^{2+} 依存性タンパクリン酸化反応について

放 射 線 化 学 部 手 島 玲 子

3. ホルムアルデヒドの吸入毒性

—ラット鼻腔発癌—

毒 性 部 鎌 田 栄 一

“パネルディスカッション”

—医薬品の安全性評価のための新しいテストガイドライン—

病 理 部 林 裕 造

毒 性 部 戸 部 満 寿 夫

変 異 原 性 部 石 籠 基

薬 理 部 田 中 悟

司 会 薬 理 部 高 仲 正

第263回（昭和59年6月12日）

1. 2-Nitro-p-Cresol のラットによる吸収、排泄、分布及び代謝

医 化 学 部 紅 林 秀 雄

2. ラット肝ミクロソームによるニトロソアミン類の

脱アルキル化反応におよぼす各種阻害剤の影響

薬 理 部 川 西 徹

3. 化学物質の吸入による気道及び肺の毒性学的研究（第1報）

毒 性 部 鎌 田 栄 一

4. 化粧品用タール色素中の有機性不純物の分析(Ⅲ)

環 境 衛 生 化 学 部 木 嶋 敬 二

5. 窒素代謝物に対する経口投与吸着体としてのゼオライトの基礎的検討

薬 品 部 石 橋 無 味 雄

6. 高速液体クロマトグラフィーによるインシュリンの分析 (Ⅳ)

酸 性 溶 液 中 の イ ン シ ュ リ ン の 安 定 性

生 物 化 学 部 太 田 美 矢 子

第264回（昭和59年7月10日）

1. 人血清および人血漿中のフタル酸エステルの挙動

療 品 部 新 谷 英 晴

2. ニトロソ化条件下におけるヒドロキシエチル尿素類の閉環反応

合 成 化 学 研 究 部 宮 原 誠

3. 液体 spore rec assay の簡易判別法について

医 化 学 部 土 屋 利 江

4. 組換え DNA 技術を応用して製造される医薬品について

生 物 化 学 部 早 川 堯 夫

第265回（昭和59年9月11日）

1. 薬物のウサギ筋肉内投与による血清 CPK 活性に及ぼす影響

薬 理 部 中 浦 楨 介

2. 鉛投与により誘導される鉛結合たん白質の性質について

放 射 線 化 学 部 池 淵 秀 治

3. トリ置換 N-ニトロソ尿素類の分解反応

合 成 化 学 研 究 部 丹 野 雅 幸

4. シクランデレートのバイオアベイラビリティに及ぼす食餌の影響

薬 品 部 鹿 庭 なほ子

5. 重金属塩による肝発癌プロモーター作用の検討

病 理 部 古 川 文 夫

6. チアベンダゾールによる先天異常の原因追求のための in vitro assay について

—肢芽の器官および細胞培養—

医化学部 土屋利江

第266回(昭和59年10月9日)

1. 合成基質を用いたリゾチームの新蛍光測定法
生物化学部 谷本 剛
2. ニトロソ尿素誘導体の抗腫瘍活性発現における差異
合成化学研究部 宮原 美知子
3. シンナリジン製剤のバイオアベイラビリティと胃液酸度
薬品部 緒方宏泰
4. ピプロニルプトキサイドのF344ラットにおける癌原性試験
一回盲潰瘍の発生—
病理部 小野寺博志
5. ベンゾチアジルスルフェンアミド系加硫促進剤の代謝(その2)
チアゾール環の2位硫黄原子の由来について
医化学部 福岡正道
6. インドネシア薬用植物(Curcuma 属)含有精油成分の胆汁分泌作用
生薬部 尾崎幸紘

第267回(昭和59年11月13日)

1. 高速液体クロマトグラフィーによる食品中のグアニド化合物の分析
食品添加物部 川崎洋子
2. 駆瘀血生薬の薬理効果:川芎の中樞性筋弛緩作用について
生薬部 関田節子
3. 綿ネルの寝間着による Pigmented Contact Dermatitis の原因物質について
療品部 小嶋茂雄
4. 酢酸レチノールのラットにおける癌原性試験について
病理部 °黒川雄二
今沢孝喜
高村直子
松島裕子
林裕造
5. 初代培養肝細胞を用いた Tryptophan Oxygenase のホルモンによる調節機構の遺伝レベルにおける解析
生物化学部 新見伸吾

第268回(昭和59年12月11日)

1. 食品中の揮発性および不揮発性腐敗アミンの分別定量法
大阪支所食品部 °外海泰秀
伊藤 誉志男
原田基夫
2. パラコートの染色体異常誘発におけるスーパーオキシドラジカルの関与
変異原性部 祖父尼俊雄
3. 生殖毒性試験における one-way shuttle box 法の応用について
薬理部 長尾重之
4. 食品衛生における微生物制御の基本構想
衛生微生物部 倉田浩

第269回(昭和60年1月16日)

1. 溶連菌より得られた発熱性 Exotoxin-A の精製と生物活性について(I)
大阪支所薬理微生物部 °村井敏美
川崎浩之進
2. カドミウムをシステインと投与した時の急性腎障害における腎中カドミウムの臨界濃度
食品部 米谷民雄
3. 1-メチル-1-ニトロソ尿素によるラット神経系腫瘍の発生に及ぼす系統差の影響
病理部 °松岡千明
前川昭彦
荻生俊昭
小野寺博志
谷川広行
古田京子
4. 薬物担体としてのリポソームの血中における安定性
薬品部 吉岡澄江
5. IRPTC の活動, 特に法令データ整備における当所の協力の現状と今後の課題
化学物質情報部 °関沢純
加納直子

第270回(昭和60年3月12日)

1. 四塩化炭素と細菌内毒素(LPS)のマウス肝における相互作用について
大阪支所薬品部 長谷川隆一
2. グリセオフルビン製剤の生物学的同等性のヒト, 動物間の比較研究
薬品部 青柳伸男
3. 緑青(塩基性炭酸銅)の毒性に関する研究

毒 性 部 落 合 敏 秋
4. フェナセチンの代謝活性化および不活性化に関与
するチトクロム p-450 の分子種

変 異 原 性 部 能 美 健 彦
薬 理 部 溝 上 敬 之 助

5. 肝ミクロソーム脂質の NADPH 依存性過酸化の
機作に関する研究

食 品 部 鈴 木 隆

支 所 例 会

第 74 回 (昭和59年6月18日)

1. 高速液体クロマトグラフィーによるプロプラノロールの光学分割

薬 品 部 伊 阪 博

2. 化粧品中の天然ワックスの分析法について

食 品 部 辻 澄 子

第 75 回 (昭和59年7月31日)

1. Hexabromocyclododecane(HBCD) のラットにおける催奇形性試験について

薬 理 微 生 物 部 村 井 敏 美

2. プロカインの安定性におよぼす糖の影響

薬 品 部 岡 田 敏 史

3. 非水系クルクミン比色反応を用いた食品中のホウ酸の定量法

食 品 部 伊 藤 誉 志 男

第 76 回 (昭和59年10月25日)

1. ミセル系におけるリパーゼ活性に関する速度論的研究Ⅲ, ミセルサイズの影響

薬 品 部 中 原 裕

2. よわい分子間相互作用の検討

食 品 部 中 村 恵 三

第 77 回 (昭和59年12月19日)

1. Trypan blue によるラット胎仔の奇形について

薬 理 微 生 物 部 江 馬 真

2. 四塩化炭素と細菌内毒素のマウス肝における相互作用

薬 品 部 長 谷 川 隆 一

第 78 回 (昭和60年3月25日)

1. Salicylamide の尿中排泄に対する細菌内毒素の効果

薬 品 部 長 谷 川 隆 一

2. 食品中のカルボキシメチルセルロースおよびアルギン酸ナトリウムの定量

食 品 部 四 方 田 千 佳 子

3. 坐剤の安全性の評価に関する研究 (I)

インドメサチンの直腸内投与による解熱作用と血中濃度

薬 理 微 生 物 部 伊 丹 孝 文

特別講演会

- | | |
|--|--|
| <p>1. 昭和59年7月6日
毒性および薬理研究における統計的手法について
武田薬品株式会社
中央研究所薬剤安全研究所
主任研究員 山崎 実</p> <p>2. 昭和59年11月29日
最近の接触皮膚炎
東邦大学医学部
教授 石原 勝</p> | <p>3. 昭和60年2月26日
人白血病ウィルスによる癌化機構の研究
財団法人癌研究会癌研究所
ウィルス腫瘍部
部長 吉田 光昭</p> <p>4. 昭和60年3月26日
脳研究の進歩と心の分子模型について
江南女子短期大学
教授 大木 幸介</p> |
|--|--|

支所所内講演会

- | | |
|---|--|
| <p>1. 昭和59年6月18日
痛みと neuro peptide について
京 都 大 学
教 授 高 木 博 司</p> | <p>2. 昭和59年11月26日
日本薬局方の動向について
武庫川女子大学
教 授 宇 野 豊 三</p> |
|---|--|

特別研究 (厚生省)

1. 医薬品、食品添加物等安全性評価のための新技術利用と評価基準の確立に関する研究 (医化学, 毒性, 薬理, 病理, 変異原)
2. 遺伝子組換え等の新技術により生産される高分子医薬品の品質試験法の開発研究 (生物, 放射線, 薬理)

国立機関原子力試験研究費 (科学技術庁)

1. 放射性医薬品の品質試験法に関する研究 (放射線)
2. 体内適用放射性医薬品の安全性に関する研究
 - (1) 放射性医薬品の標的臓器の生化学的機能に及ぼす影響 (放射線, 食品)
 - (2) 放射性医薬品の毒性試験 (毒性)
 - (3) 放射性医薬品の各種臓器に及ぼす組織学的変化に関する研究 (病理)
 - (4) 放射性医薬品の突然変異原性に関する研究 (変異原)
 - (5) 放射性医薬品の生体解毒機能に及ぼす影響に関する研究 (薬理)
3. 標識化合物の利用による医薬品等の生体免疫機能に及ぼす影響に関する研究 (生物, 放射線)
4. 単クローン性抗体を用いるラジオイムノアッセイの臨床分析への応用に関する研究 (放射線)
5. 標識化合物を用いた化粧品安全性試験法の開発研究 (環境, 薬理, 放射線)
6. 放射線滅菌による新医療用高分子材料の安定性に関する研究 (療品)

放射能調査研究費 (科学技術庁)

環境試料中の天然放射性核種の調査に関する研究 (環境)

科学技術振興調整費 (科学技術庁)

1. ネットワーク共用による化合物情報等の利用高度化に関する研究

化合物総合データベースシステムの形成に関する研究

バイオロジカルデータベース作成・検索システム (情報, 薬理, 病理, 変異原)
2. 実験動物の開発等に関する研究

実験動物の開発に関する研究

実験動物の開発と品質管理に関する研究

小型霊長類等の実験動物化と特性に関する研究

マーマセットの特性に関する研究 (毒

性)

3. トガリネズミ科動物の特性および有用性に関する研究

スunksの特性と有用性に関する研究 (センター長, 薬理)
4. 証・経穴の科学的実証および生薬資源の確保に関する総合研究
 - (1) 漢方療法に関する研究

証に関する研究

駆瘀血剤の有用性に関する研究 (生薬, 毒性, 薬理)
 - (2) 生薬資源の確保に関する研究

薬用植物の品質評価に関する研究 (筑波)
5. 生体膜機能の解析・利用技術の開発に関する研究
 - (1) 特異的機能を持つ生体膜の解析・構成技術の開発

生体膜の精製技術の開発

界面活性剤の開発と使用条件の確立 (放射線, 合成)
 - (2) 生体膜の利用技術の開発
 - ① 反応物質等の吸収・輸送・蓄積技術の開発

生体膜の機能を利用して薬物を選択的に投与する技術の開発 (薬品)
 - ② 反応物質等の効率的な分離・濃縮技術の開発

生体膜機能を利用した生理活性物質の分離・精製技術等の開発 (療品, 放射線)
6. アセアン諸国との協力による新有用遺伝子資源の探索と活用に関する共同研究

新有用遺伝子資源としての熱帯性植物の探索と活用技術の開発

有用生理活性物質を生産する薬用植物の探索と活用

医薬活性植物の探索と活用 (生薬)

国立機関公害防止等試験研究費 (環境庁)

1. 水域環境変異原性物質の生物評価に関する研究 (環境)
2. 生物質を指示剤とする環境汚染物質の監視システムに関する研究 (食品)
3. 環境汚染物質の発癌促進作用の評価に関する研究 (病理)
4. 大気汚染物質の哺乳動物細胞に及ぼす細胞遺伝学的影響に関する研究 (変異)

5. 環境汚染物質の生体機能障害に関する研究（薬理）
 6. 環境汚染物質と細菌毒素との生体系における相互作用に関する研究（支所薬品，支所食品，支所薬微）
- 厚生科学研究費補助金（厚生省）
1. その他厚生行政の企画および効率的な推進に関する研究
 - (1) 食品中の一般生菌数測定方法の簡易化に関する研究（衛微）
 - (2) 照射食品の判別および国際動向等に関する研究（毒性）
 - (3) 表示すべき食品添加物の範囲等の見直しに関する研究（食添）
 - (4) 大麻種子の発芽不能処理方法の検討（薬品）
 2. 医薬品薬効分類体系の適正化に関する研究（薬理）
 3. 輸入熱帯病の治療薬に関する研究（薬品）
 4. フッ素化合物の変異原性について（変異原）
 5. 坐剤の安全性確保に関する研究（薬品，支所薬微）
 6. 注射剤の局所刺激性に関する研究（センター長，毒性，薬理）
 7. 標準品の製法およびその品質規格の設定に関する研究（生物）
 8. 溶出試験による内服固形剤の品質向上に関する研究（薬品）
 9. 局方生薬の規格設定に関する研究（生薬）
 10. かぜ薬および解熱鎮痛薬の試験法整備のための研究（薬品）
 11. 化粧品の許可基準作成に関する研究（環境）
 12. 医薬品原料および添加剤の規格整備のための研究（合成，薬品，生物，情報，センター長，支所薬品，毒性，薬理，変異原）
 13. 発がんリスクの評価に関する研究（薬品，病理）
 14. ヒトがん発生における重要な促進物質の研究（病理）
 15. 生活環境における発癌関連物質等による人体暴露とその総合評価に関する研究（食品）
 16. 器具の試験法に関する研究（食添）
 17. 食品中の各種汚染物質の実態に関する研究（食品）
 18. 新開発食品の安全性評価に関する研究（薬品，食品，生薬）
 19. 動物性食品中の残留医薬品等の検査法に関する調査研究（食添）
 20. 天然添加物の分析手法等に関する研究（食添，支所食品）
 21. 海藻（オゴノリ類）による原因不明の食中毒の解明に関する研究（生薬，食品，毒性，薬理）
 22. 食品化学物質の食品衛生上の有用性等に関する調査研究（センター長）
 23. 漢方エキス製剤の規格規準の作成に関する研究（生薬）
 24. 農薬中毒の解毒剤に関する研究（毒性）
 25. 歯科材料の安全性評価法の確立に関する研究（療品，毒性）
 26. バイオテクノロジーにより生産される医薬品の品質確保に関する研究（センター長，生物，放射線）
 27. 高分子膜分離の方法による注射用原料水の製造に関する研究（所長，支所長，生物）
 28. 国家検定対象医薬品および検定基準の改善に関する研究（薬品，生物）
 29. 建築物維持管理，資材の衛生安全性確保手法の策定に関する研究（環境）
 30. 昇華性化学物質の吸入毒性に関する研究（毒性合成）
 31. フサリウム属が産生するトリコテセン系カビ毒についての毒性学的作用等に関する研究（衛微，食品）
 32. 生活環境中における家庭用品から発生する化学物質の吸入暴露に関する研究（環境）
 33. 有害物質の健康リスク評価システムに関する研究（薬品，情報）
 34. 細胞資源保存に関する基礎的研究（変異原）
 35. 家庭用繊維製品に使用される抗菌・防臭加工剤の安全性試験に関する研究（療品）
 36. 食品添加物の変異原性に関する研究（変異原）
 37. 水道水中の微量有機化合物の変異原性に関する研究（変異原）
 38. 現場における食品等の簡易試験法に関する研究（支所長，支所食品）
 39. 食品添加物生産量，流通量，消費量の総合的把握に関する調査研究（支所食品）
- 科学研究費補助金（文部省）
1. 単離細胞を用いた薬毒性腎障害モデル作成に関する研究（薬理）
 2. ラット胎仔を用いた胎生期の薬物代謝系の特異性の解析（センター長，薬理）
 3. 合成黄体ホルモンによる性分化異常の発現機構に関する研究（薬理）

4. 化学物質の機能的発達過程に及ぼす影響に関する行動薬理学的研究 (薬理)
5. クローン神経細胞を用いたレセプターアッセイによる抗うつ剤作用機序の検討 (薬理)
6. フェナセチン・ブセチンの代謝活性化と変異原性 (変異原)
7. 単離肝細胞を用いたジスルフィラムの肝毒性発現機構の研究 (薬理)
8. 食品起源プロオキシダントの測定法の確立とその応用 (薬品)
9. 発癌プロモーターとその抑制要因に関する研究 (病理)
10. 複数癌原因子の相互作用 (病理)
11. N-ニトロソ化合物の構造, 代謝と標的臓器相関 (病理)
12. 胃癌の発生に関する研究 (病理)
13. 毒性発現機構に関する基礎的研究 (病理)
14. 微量元素の生体内動態と交互作用 (薬品)
15. 実験動物施設における滅菌, 消毒作業マニュアルの作成消毒剤の毒性に関する検討 (毒性)

がん研究助成金 (厚生省)

1. 国産穀類のマイコトキシン汚染実態と汚染原因菌の生態学的検討 (衛徴)
2. アルコールと食塩の発癌プロモーター作用の研究—膀胱癌発生に及ぼす影響— (病理)

3. ヒトの内因性ニトロソ発がん物質および食品中のニトロソ化される物質の研究 (センター長, 食添, 薬理)
4. 飲料水中および大気中の発癌物質汚染に関する研究 (薬品, 食品, 環境)
5. 食品中のニトロソ化合物生成阻止物質の研究 (食添)
6. 長期動物試験による環境化学物質の発がん評価に関する研究 (病理, 食添)

委託事業

1. 覚せい剤中毒者診断用簡易試験法開発研究 (薬品) 厚生省
2. 尿中の覚せい剤類似物質の鑑定法研究 (薬品) 厚生省
3. 生体膜の薬物に対する選択的吸収能の評価技術に関する研究 (薬品) 厚生省
4. ディーゼル排出ガス影響調査に関する研究 (変異原) 環境庁
5. がん細胞の開発等に関する研究 (変異原) がん研究振興財団

その他

1. 食肉製品におけるセレウス菌の制御について (衛徴) 伊藤記念財団
2. 医薬品の規格および試験法に関する研究 (薬品, 生物) 日本公定書協会

国家検定および検査等の処理状況

Survey of The Results of National Tests

昭和59年度における検定および検査等の処理状況は次のとおりである。

国家検定については、総件数で前年度に比べて17.4%(271件)の減少となった。

検定品目別では、ブドウ糖注射液が12.6%(161件)の減少となった。

次に、製品検査については前年度に比べて1.2%の増加、特別審査試験15.1%輸入食品試験63.7%特別行政試験11.0%の減少となった。

検定検査処理検体数は3,921件で前年度に比べて37.7%(1,477件)の減少となった。

昭和59年12月13日に抗結核薬5品目が削除となった。

区 分	昭 和 59 年 度 処 理 検 体 数		
	東 京	大 阪	合 計
国 家 検 定	691件	865件	1,556件
製 品 検 査	405	423	828
特 別 審 査 試 験	(339) 238	—	(339) 238
輸 入 食 品 検 査	(183) 92	(42) 32	(225) 124
一 斉 取 締 試 験	(446) 390	(78) 78	(524) 468
特 別 行 政 試 験	682	24	706
一 般 依 頼 試 験	1	—	1
計	(2,747) 2,499	(1,432) 1,422	(4,179) 3,921

() 内数字は試験件数

国家検定および検査等の処理実績(次頁以下に掲載)は次のとおりである。

- 昭和59年度国家検定品目別月別判定別件数実績表…………… 276頁
- 昭和59年度製品検査月別判定別件数実績表… 278頁
- 昭和59年度特別審査試験月別判定別件数実

績表…………… 278頁

- 昭和59年度輸入食品検査品目別月別判定別件数実績表…………… 280頁
- 昭和59年度特別行政試験実績表…………… 284頁
- 昭和59年度一斉取締試験判定別件数実績表… 285頁

昭和59年度国家検定品目別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月			
		合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	
プロチオナミド	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	1	—	1	—	—
プロチオナミド	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
プロチオナミド錠	大阪	—	—	—	2	—	2	1	—	1	2	—	2	—	—	—	—	—	—	—
塩酸エタンブトール	東京	2	—	2	4	—	4	5	—	5	2	—	2	3	—	3	—	—	—	
塩酸エタンブトール錠	東京	8	—	8	13	—	13	5	—	5	6	—	6	11	—	11	2	—	2	
避妊用ポリオキソエチレンノニルフェニルエーテルフィルム	東京	1	—	1	3	—	3	—	—	—	4	—	4	—	—	—	—	2	—	2
避妊用メンフェゴール錠	東京	—	—	—	—	—	—	4	—	4	4	—	4	—	—	—	—	—	—	
インシュリン注射液	東京	—	—	—	2	—	2	—	—	—	1	—	1	3	—	3	—	—	—	
イソフェンインシュリン水性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	2	—	2	1	—	1	5	—	5	3	—	3	
インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	3	—	3	7	—	7	5	—	5	2	—	2	8	—	8	2	—	2	
ブタ精製インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	—	—	—	1	—	1	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	
結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	1	—	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—	
無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	
中性インシュリン注射液	東京	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	
ブタ精製中性インシュリン注射液	東京	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	
二相性インシュリン水性懸濁注射液	東京	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	1	—	1
オキシトシン注射液	東京	2	—	2	6	—	6	4	—	4	2	—	2	5	—	5	2	—	2	
バソプレシン注射液	東京	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
フェリプレシン注射液 (塩酸プロピトカイン3%を含むもの)	東京	—	—	—	—	—	—	2	—	2	2	—	2	2	—	2	—	—	—	
ブドウ糖注射液	東京 大阪	12 80	—	12 80	81 112	—	81 112	33 85	—	33 85	39 68	—	39 68	40 73	—	40 73	26 56	—	26 56	

月別判定別件数実績表 (No.1)

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3
1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
3	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	8
5	-	5	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	-	24
9	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	54	-	54
-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	1	-	-	-	1	-	1	13	-	13
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	8
-	-	-	3	-	3	1	-	1	-	-	1	-	1	1	-	1	12	-	12	
2	-	2	2	-	2	-	-	-	1	-	1	2	-	2	1	-	1	19	-	19
5	-	5	3	-	3	1	-	1	3	-	3	2	-	2	3	-	3	44	-	44
-	-	-	1	-	1	1	-	1	-	-	-	2	-	2	-	-	-	7	-	7
-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	4	-	4
1	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	4	-	4
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	3	-	3
1	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	4
-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1	5	-	5
5	-	5	3	-	3	6	-	6	-	-	-	5	-	5	3	-	3	43	-	43
1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2
2	-	2	-	-	-	4	-	4	-	-	-	-	-	-	2	-	2	14	-	14
46 75	-	46 75	35 59	-	35 59	35 66	-	35 66	29 47	-	29 47	25 69	-	25 69	22 61	-	22 61	423 851	-	423 851

昭和59年度国家検定品目別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月			
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	
内訳	容量100 ml未満	東京 大阪	7 42	— —	7 42	47 67	— —	47 67	14 47	— —	14 38	22 45	— —	22 45	19 49	— —	19 49	14 36	— —	14 36
	容量100 ml以上	東京 大阪	5 38	— —	5 38	34 45	— —	34 45	19 38	— —	19 47	17 23	— —	17 23	21 24	— —	21 24	12 20	— —	12 20
リングル液		東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	1 —	— —	1 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
内訳	容量100 ml未満	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
	容量100 ml以上	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
タンニン酸パソプレシン油性懸濁注射液		東京	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
計		東京 大阪	29 80	— —	29 80	119 114	— —	119 114	64 86	— —	64 86	68 70	— —	68 70	81 74	— —	81 74	38 59	— —	38 59
合 計			109	—	109	233	—	233	150	—	150	138	—	138	155	—	155	97	—	97

昭和59年度製品検査月別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東	京	50	—	50	6	—	6	49	—	49	3	—	3	45	—	45	53	—	53
大	阪	54	—	54	29	—	29	39	—	39	36	—	36	29	—	29	54	—	54
計		104	—	104	35	—	35	88	—	88	39	—	39	74	—	74	107	—	107

昭和59年度特別審査試験月別

区 分		4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
		合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東	京	5	—	5	36	4	40	16	—	16	23	—	23	9	—	9	16	—	16
試験件数		5			61			20			38			10			28		

月別判定別件数実績表 (No.2)

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計			
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	
23	—	23	17	—	17	19	—	19	11	—	11	8	—	8	5	—	5	206	—	206	
45	—	45	37	—	37	39	—	39	33	—	33	36	—	36	36	—	36	512	—	512	
23	—	23	18	—	18	16	—	16	18	—	18	17	—	17	17	—	17	217	—	217	
30	—	30	22	—	22	27	—	27	14	—	14	33	—	33	25	—	25	339	—	339	
—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	3	
—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	5	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	3	
—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	—	5	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
77	—	77	53	—	53	51	—	51	36	—	36	39	—	39	35	—	35	690	—	690	
79	—	79	60	—	60	66	—	66	47	—	47	69	—	69	61	—	61	865	—	865	
156	—	156	113	—	113	117	—	117	83	—	83	108	—	108	96	—	96	1,555	—	1,555	

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
—	—	—	53	—	53	7	—	7	45	—	45	37	—	37	57	—	57	405	—	405
31	—	31	34	—	34	36	—	36	22	—	22	46	—	46	13	—	13	423	—	423
31	—	31	87	—	87	43	—	43	67	—	67	83	—	83	70	—	70	828	—	828

判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
27	—	27	37	—	37	19	—	19	18	—	18	11	—	11	17	—	17	234	4	238
35			43			43			19			11			26			339		

昭和59年度輸入食品試

区 分	4 月				5 月				6 月				7 月				8 月				9 月				
	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	合格	不合格	要注意	計	
上記いずれにも属さないもの	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13	1	—	14	
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
計	東京	0	0	0	0	0	0	0	0	15	2	0	(1) 17	10	0	0	10	13	8	0	21	13	1	0	14
	大阪	0	0	0	0	0	1	0	1	8	8	0	16	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	計	0	0	0	0	0	1	0	1	23	10	0	(1) 33	12	0	0	12	13	8	0	21	13	1	0	14

験月別判定一覧表(No.2)

10 月				11 月				12 月				1 月				2 月				3 月				合 計									
合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計	合 格	不 合 格	要 注 意	計						
—	—	—	—	21	—	—	21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	34	1	—	35	試験 件数	
3	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	3		
3	0	0	3	21	0	0	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	6	0	0	0	0	0	0	0	75	17	0	(1) 92		183
3	0	0	3	5	3	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	20	12	0	32	0	32	42		
6	0	0	6	26	3	0	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	6	2	0	0	2	95	29	0	(1) 124	0	124	225		

() 内数字は無判定

昭和59年度特別行政試験実績表

1. 一般試験検査

局(部)課(室)	品(項)目	件数	担 当 部
薬務局	監視指導課	医薬品の収去試験について	3 薬品部
	"	医療用具の収去	1 療品部
	麻薬課	1. 国内産収納あへのモルヒネ含有試験	27 {薬品部(15) [大阪支所薬品部(12)}
		2. 輸入あへん(インド産)のモルヒネ含有率試験	51 薬品部
	計	82 {東京 70 [大阪 12}	

2. 特殊試験検査

局(部)課(室)	項(品)目	件数	担 当 部	
薬務局	審査課	1. 化粧品原料規格作成	27 環境衛生化学部	
		2. 医療用具の品質確保に関する試験	1 療品部	
		3. コールドパーマメントウェーブ用剤の試験	5 環境衛生化学部	
	安全課	1. 既存化学物質の毒性試験 4品目	12 {薬理部(4) [病理部(4) [毒性部(4)}	
		急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性, 特殊毒性, 生体内運命に関する試験		
	監視指導課	1. 無承認無許可医薬品の収去試験	9 薬品部	
		2. 医薬品の検定基準, 検定手数料および試験品の数量の改正案の作成 (二相性インシュリン水性懸濁注射液)	2 {生物化学部 [衛生微生物部	
		3. 医薬品「アスコンプ」に係る試験	4 薬品部	
	麻薬課	1. けし栽培試験等の実施について	4 {筑波薬用植物栽培試験場 [北海道 [伊豆 [和歌山	
			2. 向精神剤標準品の製造	2 薬品部
			3. 栽培試験によるケンのアヘンアルカロイドの定量	163 筑波薬用植物栽培試験場
		"	83 和歌山薬用植物栽培試験場	
	生活衛生局	家庭用品 安全対策室	有害物質を含有する家庭用品の試験	5 療品部
家庭用品に使用される化学物質の試験検査 急性毒性, 慢性毒性, 皮膚刺激, アレルギー, 経皮発がん性, 代謝, 催奇形成, 分析, 吸入毒性			26 {毒性部(19) [医化学部(1) [薬理部(1) [療品部(4) [大阪支所(1)}	
食品保健課		食品の規格基準の設定等に係る試験検査 規格基準, 新形態食品, 衛生規範, 食品汚染有害物質	14 {食品部(6) [食品添加物部(1) [微生物部(7)}	
食品化学課		食品汚染物質調査に伴う検査	150 食品部	
		1. 食品添加物規格基準の設定に関する試験 (食品添加物一日摂取量調査)	1 大阪支所食品部	
	2. 食品添加物慢性毒性試験	1 食品部		
	3. 食品添加物代謝試験	2 病理部		
	53年産米のくん蒸剤残留に関する検査	1 医化学部		
		10 食品部		

局(部) 課(室)	項(品) 目	件数	担 当 部
生活衛生局 食品化学課	4. 食品添加物変異原性試験	49	変異原性部
	5. 食品残留農薬 (EDB, 53年産米)	2	{食品部 {食品添加物部
	6. 容器包装等分析法の開発	2	食品添加物部
	7. 食品添加物安全性慢性毒性	1	病理部
	" 催奇形性	1	薬理部
	" 相乗毒性	3	毒性部
	8. 食品残留農薬臭化メチル分析法	2	食品部
	9. 食品中の残留臭素分析法	1	食品部
	10. サヤインゲン中の残留 EDB 分析	13	食品部
	11. 外国産農産物等の実態調査	11	{食品部(1) {大阪支所食品部(10)
	水道環境部 計画課	水質試験検査等の実施	
毒性試験		4	毒性部
標準試験		2	環境衛生化学部
溶出試験		1	"
	特定化学物質試験	10	変異原性部
	計	624	{東京 612 {大阪 12

総件数 706 件 (東京 682 件, 大阪 24 件)

昭和59年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分	合 格	不 合 格	計	試 験 件 数
東 京	377	13	390	446
大 阪	78	0	78	78
計	455	13	468	524

国立衛生試験所において製造し、交付している標準品は別表のとおりである。

別表

日本薬局方標準品

(昭和60年4月1日現在)

	標準品名	包装単位	価 格	使 用 目 的
1	アスコルビン酸	1g入 1本	15,500 ^円	アスコルビン酸散, 同注射液, 注射用コルチコトロピン, 持続性コルチコトロピン注射液の定量法
2	安息香酸エストラジオール	50mg入 1本	12,000	安息香酸エストラジオールの純度試験, 同注射液, 同水性懸濁注射液の確認試験および定量法
3	インシュリン	20mg入 1本	22,900	インシュリン, インシュリン注射液, インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, 結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, 無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液, プロタミンインシュリン亜鉛水性懸濁注射液, イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の定量法, イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
4	塩酸チアミン	1g入 1本	14,700	塩酸チアミン, 同散, 同注射液, 硝酸チアミン, 乾燥酵母の定量法
5	塩酸ピリドキシン	200mg入 1本	18,400	塩酸ピリドキシン注射液の定量法
6	含糖ペプシン	5g入 1本	14,900	含糖ペプシンのたん白消化力試験
7	ジゴキシン	20mg入 1本	11,900	ジゴキシン, 同錠, 同注射液の純度試験
8	血清性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	28,400	血清性性腺刺激ホルモン, 注射用血清性性腺刺激ホルモンの定量法
9	酢酸コルチゾン	100mg入 1本	11,500	酢酸コルチゾンの確認試験および純度試験, 同水性懸濁注射液の確認試験, 酢酸プレドニゾロンの純度試験
10	酢酸ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	12,500	酢酸ヒドロコルチゾンの確認試験および純度試験, 同水性懸濁注射液の確認試験, 酢酸プレドニゾロンの純度試験
11	酢酸プレドニゾン	100mg入 1本	12,300	酢酸プレドニゾロンの確認試験
12	シアノコバラミン	200mg入 1本	11,800	シアノコバラミン, 同注射液の定量法, 酢酸ヒドロキシコバラミンの純度試験および定量法
13	ジギタリス	1g入 3本	12,100	ジギタリス, 同末の定量法
14	ジゴキシン	50mg入 1本	11,800	ジゴキシンの確認試験および定量法, 同錠の純度試験, 溶出試験, 含量均一性試験および定量法
15	ジゴキシン	50mg入 1本	11,600	ジゴキシンの確認試験および定量法, 同錠の溶出試験, 含量均一性試験および定量法, 同注射液の定量法
16	酒石酸水素エピネフリン	50mg入 1本	10,200	エピネフリン, ノルエピネフリン, 同注射液の純度試験
17	酒石酸水素ノルエピネフリン	50mg入 1本	11,400	エピネフリン, ノルエピネフリンの純度試験, 同注射液の純度試験および定量法
18	G-ストロファンチン	100mg入 1本	12,500	G-ストロファンチンの定量法, 同注射液の確認試験および定量法

日本薬局方標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
19	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	26,800 ^円	胎盤性性腺刺激ホルモン、注射用胎盤性性腺刺激ホルモンの定量法
20	チロジン	500mg入 1本	10,100	パンクレアチンのたん白消化力試験
21	デスラノシド	100mg入 1本	12,900	デスラノシドの純度試験および定量法、同注射液の確認試験および定量法
22	トロピン	500単位入 2本	29,500	トロピンの定量法
23	ニコチン酸	500mg入 1本	12,200	ニコチン酸注射液の定量法
24	ニコチン酸アミド	500mg入 1本	13,000	ニコチン酸アミド注射液の定量法
25	脳下垂体後葉	20mg入 2本	11,300	オキシトシン注射液、バソプレシン注射液の純度試験および定量法
26	薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	10,000単位入 10カプセル	3,400	酢酸レチノールおよびバルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
27	薄層クロマトグラフ用バルミチン酸レチノール	10,000単位入 10カプセル	3,300	酢酸レチノールおよびバルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
28	パラアミノベンゾイルグルタミン酸	500mg入 1本	20,400	葉酸の純度試験
29	ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	12,300	ヒドロコルチゾンの確認試験および純度試験
30	フルオシノロンアセトニド	50mg入 1本	11,900	フルオシノロンアセトニドの定量法
31	ブレドニゾロン	100mg入 1本	11,900	ブレドニゾロンの確認試験、同錠の確認試験、溶出試験および含量均一性試験
32	プロゲステロン	50mg入 1本	11,700	プロゲステロンの確認試験
33	ヘパリンナトリウム	1,200単位入 1本	20,300	ヘパリンナトリウム、同注射液の定量法、硫酸プロタミン、同注射液の抗ヘパリン試験
34	マレイン酸エルゴメトリン	50mg入 1本	13,000	マレイン酸エルゴメトリンの純度試験および定量法、同錠の含量均一性試験および定量法、同注射液の定量法、マレイン酸メチルエルゴメトリンの定量法、同錠の含量均一性試験および定量法
35	メトトレキサート	200mg入 1本	18,500	メトトレキサートの確認試験および定量法
36	葉酸	500mg入 1本	13,600	葉酸、同錠、同注射液の定量法
37	ラナトシドC	100mg入 1本	12,200	ラナトシドCの純度試験および定量法、同錠の確認試験、含量均一性試験および定量法
38	リボフラビン	200mg入 1本	15,400	リボフラビン、同散、リン酸リボフラビンナトリウム、同注射液の定量法
39	硫酸プロタミン	100mg入 1本	20,000	イソフェンインシュリン水性懸濁注射液の純度試験
40	リン酸ヒスタミン	50mg入 1本	9,600	注射用コルチコトロピン、持続性コルチコトロピン注射液の純度試験
41	レセルピン	50mg入 1本	21,800	レセルピン、同散、同錠、同注射液の定量法、同錠の含量均一性試験

国立衛生試験所標準品

(昭和60年4月1日現在)

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	ウロキナーゼ	1,000単位入1本	15,400	ウロキナーゼ原液およびその製剤の定量法
2	エストラジオール	50mg入 1本	12,000	エストラジオール製品の純度試験
3	エストロン	50mg入 1本	12,000	エストロン製品の確認試験および定量法
4	塩酸チアミン液	1mg入 10本	8,500	チアミン製品の定量法
5	カリジノゲナーゼ	100単位入 1本	13,500	カリジノゲナーゼおよびその製剤の生物活性試験並びに定量法
6	吉草酸ベタメタゾン	100mg入 1本	14,400	吉草酸ベタメタゾンの確認試験および定量試験
7	コハク酸ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	14,400	コハク酸ヒドロコルチゾンの確認試験および定量試験
8	デキサメタゾン	100mg入 1本	12,300	デキサメタゾンの確認試験および定量試験
9	トリアムシノロン	100mg入 1本	12,300	トリアムシノロンの確認試験および定量試験
10	トリアムシノロンアセトニド	100mg入 1本	12,300	トリアムシノロンアセトニドの確認試験および定量試験
11	ヒアルロニダーゼ	500mg入 1本	14,300	注射用ヒアルロニダーゼの定量法
12	プロピオン酸テストステロン	50mg入 1本	11,500	プロピオン酸テストステロン製品の定量法
13	ベタメタゾン	100mg入 1本	12,300	ベタメタゾンの確認試験および定量試験
14	融点測定用 アセトアニリド, アセトフェネチジン, カフェイン, スルファニルアミド, スルファピリジン, ワニリン	各1g入 6本	35,700	融点測定用温度計, 同装置の補正
15	リゾチーム	500mg入 1本	19,500	リゾチーム製品の定量法
16	ルチン	500mg入 1本	11,100	ルチン製品の定量法
17	アシッドバイオレット6B	1g入 1本	2,900	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のアシッドバイオレット6Bの確認試験
18	アシッドレッド	1g入 1本	3,100	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のアシッドレッドの確認試験
19	アゾルビンエキストラ	1g入 1本	2,700	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のアゾルビンエキストラの確認試験
20	アマランス	1g入 1本	2,600	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のアマランスの確認試験
21	インジゴ	1g入 1本	2,800	外用医薬品, 化粧品および製剤中のインジゴの確認試験
22	インジゴカルミン	1g入 1本	2,600	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のインジゴカルミンの確認試験
23	エオシン	1g入 1本	2,700	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のエオシンの確認試験
24	エリスロシン	1g入 1本	2,800	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のエリスロシンの確認試験
25	オイルエロー AB	1g入 1本	2,500	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオイルエロー ABの確認試験
26	オイルエロー OB	1g入 1本	2,500	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオイルエロー OBの確認試験
27	オイルオレンジ SS	1g入 1本	2,500	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオイルオレンジ SSの確認試験

国立衛生試験所標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
28	オイルレッド XO	1g入 1本	2,400	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオイルレッドXOの確認試験
29	オレンジ I	1g入 1本	2,600	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のオレンジIの確認試験
30	オレンジ II	1g入 1本	2,600	外用医薬品, 化粧品および製剤中のオレンジIIの確認試験
31	ギネアグリーン B	1g入 1本	2,900	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のギネアグリーンBの確認試験
32	サンセットエロー FCF	1g入 1本	2,600	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のサンセットエローFCFの確認試験
33	タートラジン	1g入 1本	2,600	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のタートラジンの確認試験
34	テトラクロルテトラブromフルオレセイン	1g入 1本	2,700	外用医薬品, 化粧品および製剤中のテトラクロルテトラブromフルオレセインの確認試験
35	テトラブromフルオレセイン	1g入 1本	2,900	外用医薬品, 化粧品および製剤中のテトラブromフルオレセインの確認試験
36	トルイジンレッド	1g入 1本	2,400	外用医薬品, 化粧品および製剤中のトルイジンレッドの確認試験
37	ナフトールエロー S	1g入 1本	2,700	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のナフトールエローの確認試験
38	ニューコクシン	1g入 1本	2,600	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のニューコクシンの確認試験
39	パーマメントオレンジ	1g入 1本	2,400	外用医薬品, 化粧品および製剤中のパーマメントオレンジの確認試験
40	ハンサエロー	1g入 1本	2,400	外用医薬品, 化粧品および製剤中のハンサエローの確認試験
41	ファストグリーン FCF	1g入 1本	3,700	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のファストグリーンFCFの確認試験
42	ファストレッド S	1g入 1本	3,100	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のファストレッドSの確認試験
43	ブリリアントブルー FCF	1g入 1本	2,800	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のブリリアントブルーFCFの確認試験
44	フルオレセイン	1g入 1本	2,700	外用医薬品, 化粧品および製剤中のフルオレセインの確認試験
45	フロキシシン	1g入 1本	2,700	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のフロキシシンの確認試験
46	ボンソー R	1g入 1本	2,700	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のボンソーRの確認試験
47	ボンソー SX	1g入 1本	2,700	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のボンソーSXの確認試験
48	ボンソー 3R	1g入 1本	2,800	粘膜以外医薬品, 化粧品および製剤中のボンソー3Rの確認試験
49	リソールルピン BCA	1g入 1本	2,800	外用医薬品, 化粧品および製剤中のリソールルピンBCAの確認試験
50	レーキレッド C	1g入 1本	2,800	外用医薬品, 化粧品および製剤中のレーキレッドCの確認試験
51	レーキレッド CBA	1g入 1本	2,900	外用医薬品, 化粧品および製剤中のレーキレッドCBAの確認試験
52	レーキレッド DBA	1g入 1本	2,900	外用医薬品, 化粧品および製剤中のレーキレッドDBAの確認試験
53	ローズベンガル	1g入 1本	2,700	食品, 医薬品, 化粧品および製剤中のローズベンガルの確認試験

昭和59年度国立衛生試験所標準品出納状況

(医薬品等試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アスコルビン酸	56	200	155	0	101	
安息香酸エストラジオール	6	50	5	1	50	
インシュリン	70	0	66	0	4	
ウロキナーゼ	127	0	119	0	8	
エストラジオール	30	0	5	0	25	
エストロン	41	0	0	0	41	
塩酸チアミン	172	125	215	0	82	
塩酸チアミン液	16	67	21	9	53	
塩酸ピリドキシン	134	150	135	0	149	
カリジノゲナーゼ	30	140	153	15	2	
含糖ペプシン	13	50	20	0	43	
ギトキシン	55	0	16	0	39	
血清性腺刺激ホルモン	44	50	54	0	40	
酢酸コルチゾン	30	0	3	2	25	
酢酸ヒドロコルチゾン	8	50	25	0	33	
酢酸ブレドニゾロン	57	0	16	2	39	
シアノコバラミン	94	238	243	2	87	
ジギタリス	18	0	0	0	18	
ジギトキシン	46	0	13	1	32	
ジゴキシン	84	0	45	1	38	
酒石酸水素エピネフリン	36	0	4	0	32	
酒石酸水素ノルエピネフリン	30	0	1	0	29	
G-ストロファンチン	31	0	1	0	30	
胎盤性腺刺激ホルモン	56	103	84	0	75	
チロジン	35	222	160	0	97	
デスラノシド	34	0	12	0	22	
トロンピン	18	99	79	1	37	
ニコチン酸	22	60	20	3	59	
ニコチン酸アミド	25	170	93	0	102	
脳下垂体後葉	41	20	44	2	15	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	14	98	11	0	101	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	38	100	14	2	122	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	25	0	5	0	20	
パレイショデンブン	0	0	0	0	0	
ヒアルロニダーゼ	31	0	0	0	31	
ビタミンA油 (ビタミンA検定用)	0	0	0	0	0	
ヒドロコルチゾン	17	70	21	0	66	
フルオシノロンアセトニド	75	0	14	1	60	
ブレドニゾロン	50	0	19	2	29	
プロゲステロン	49	0	5	0	44	
プロビオン酸テストステロン	30	0	0	0	30	
ヘパリンナトリウム	86	0	50	0	36	

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
マレイン酸エルゴメトリン	102	0	53	1	48	
メトトレキサート	37	0	0	0	37	
融点測定用 (アセトアニリド, アセトフ エネチジン, カフェイン, スルファニルアミド, スル ファビリジン, ワニリン)	17	20	16	0	21	
葉酸	71	50	69	1	51	
ラナトシドC	25	0	10	1	14	
リゾチーム	45	302	300	0	47	
リボフラビン	166	150	312	0	4	
硫酸プロタミン	13	0	1	0	12	
リン酸ヒスタミン	11	54	34	0	31	
ルチン	6	50	19	0	37	
レセルピン	33	72	32	3	70	
計	2,400	2,760	2,792	50	2,318	

(色素試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アシッドバイオレット6B	82	0	1	2	79	
アシッドレッド	3	0	0	2	1	
アズルビンエキストラ	91	0	0	2	89	
アマランス	0	498	6	0	492	
インジゴ	142	0	1	2	139	
インジゴカルミン	0	0	0	0	0	
エオシン	126	0	4	2	120	
エリスロシン	1	0	1	0	0	
オイルエローAB	225	0	1	1	223	
オイルエローOB	235	0	1	1	233	
オイルオレンジSS	232	0	1	1	230	
オイルレッドXO	215	0	5	0	210	
オレンジI	282	0	1	2	279	
オレンジII	160	0	0	2	158	
ギネアグリーンB	74	0	0	1	73	
サンセットエローFCF	0	0	0	0	0	
タートラジン	0	0	0	0	0	
テトラクロルテトラブROMフルオレセイン	160	0	0	2	158	
テトラブROMフルオレセイン	121	0	1	1	119	
トルイジンレッド	85	0	1	2	82	
ナフトールエローS	157	0	3	2	152	
ニューコクシン	0	0	0	0	0	
パーマネントオレンジ	38	0	0	2	36	
ハンサエロー	84	0	1	2	81	
ファストグリーンFCF	44	0	4	2	38	
ファストレッドS	207	0	0	2	205	
ブリリアントブルーFCF	0	0	0	0	0	
フルオレセイン	198	0	0	2	196	
フロキシン	373	0	4	4	365	
ボンソーR	268	0	16	2	250	
ボンソーSX	158	0	2	2	154	
ボンソー3R	208	0	45	2	161	
リソールルビンBCA	370	0	3	2	365	
レーキレッドC	394	0	0	2	392	
レーキレッドCBA	126	0	0	1	125	
レーキレッドDBA	167	0	0	1	166	
ローズベンガル	2	0	0	2	0	
計	5,028	498	102	53	5,371	

衛生試験所報告への投稿について

投 稿 規 定

1. 投稿資格：国立衛生試験所所員とする（共著者はこの限りでない）。
2. 内 容：原稿は報文、ノート、資料とする。そのほか誌上発表、学会発表、業務報告、総説などを収載する。
 - 報 文：独創性に富み、新知見を含むまとまった研究業績。
 - ノ ー ト：断片的な研究業績で、独創性や新知見が認められるもの。
 - 資 料：試験、製造または調査などで、記録しておく必要のあるもの。
 - 誌上発表：衛生試験所報告以外の専門誌に発表したもの。
 - 学会発表：学会で講演したもの。
 - 業務報告：所長、各部長（支所も含む）および各薬用植物栽培試験場の長が過去1年間（前年度）の業務成績、研究業績をまとめた報告。
 - 総 説：所員の調査または研究を中心とした総説で、図書委員会が執筆を依頼したもの。
3. 用紙および枚数の制限：衛生試験所所定の原稿用紙を用い、原則として下記の規定に従う。
 - 報 文：図表を含めて20枚以内。
 - ノートおよび資料：図表を含めて15枚以内。
 - 誌上発表：1題目について1枚程度。
 - 業務報告：各部および各薬用植物栽培試験場について8枚以内。
 - 総 説：原稿を依頼するとき別に定める。
4. 原稿の提出：原稿は表紙（第1ページとする）、英文要旨、本文、文献、英文要旨の和文（参考）、最後に図表を入れた封筒の順に左上をひもでとじ、表紙右上に報文、ノート、資料のうち希望する分類を朱書き、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿切期日までに図書館宛に提出する。
5. 原稿の審査：図書委員会は提出された原稿の採否および分類を決定する。また、必要ならば字句や表現の部分的な訂正、図表の書き直しなどを求める。

執 筆 規 定

1. 文 体：現代かなづかい、新送りがな、ひらがなまじり口語文とし、簡潔で理解しやすい表現にする。原稿の語句の統一を計るため、原則的に「日本薬局方記載の手引」に従う。止むを得ぬ学術用語以外は当用漢字を用いる。必要ならば全文を外国語で書いてもよい。
 なお、外国文はタイプライター（ダブルスペース）で打つこと。
 また、原稿は楷書ペン書きにする。
2. 学 術 用 語：学会の慣例に従う。文中では物質はその名称を記し、化学式は用いない。例えば塩酸と書き、HCl としない。また、化学名を英語で書く場合、文中では原則として小文字で始める。
3. 略記、略語、記号：次の例示のほかは学会の慣例に従う。また、物質名あるいは分析法などを略記するときは、和文、英文とも最初は正式な名称とともに示す。例えば、イソニコチン酸(INA)、示差熱分析法—ガスクロマトグラフィー (DTA-GC) と書き、(以下 INA と略す) などとしない。

3・1 単位のべき指数表記には、次の記号を用いる。

テ	ラ (tera)	10^{12}	T	ミ	リ (milli)	10^{-3}	m
ギ	ガ (giga)	10^9	G	マイ	クロ (micro)	10^{-6}	μ
メ	ガ (mega)	10^6	M	ナ	ノ (nano)	10^{-9}	n
キ	ロ (kilo)	10^3	k	ピ	コ (pico)	10^{-12}	p
デ	シ (deci)	10^{-1}	d	フェ	ムト (femto)	10^{-15}	f
セ	ンチ (centi)	10^{-2}	c	ア	ト (atto)	10^{-18}	a

3・2 物理量, 化学量, 物性などの単位および定数の記号または略号は, 次に掲げるものを用いる.

メートル	m	度(セルシウス)	°C	parts per billion	ppb
マイクロメートル	μm	ケルビン度	K	モル濃度	M
ナノメートル	nm	キュリー	Ci	規定濃度	N
(mμ を用いない)		カウント毎分	cpm	旋光度	α
オングストローム	Å	(cps は用いない)		吸光度	A
平方メートル	m ²	ラド	rad	水素イオン指数	pH
アール	a.	レム	rem	pK 値	pK
リットル	l	レントゲン	R	ミハエリス定数	K _m
(L を用いない)		サイクル	cycle	R _f 値	R _f
ミリリットル	ml	回毎分	rpm	保持時間	t _R
(cc を用いない)		ヘルツ	Hz	50%致死量	LD ₅₀
マイクロリットル	μl	キャンデラ	cd	50%有効量	ED ₅₀
(λ を用いない)		ルクス	lx	経口投与	p. o.
立方メートル	m ³	ダイン	dyn	静脈投与	i. v.
グラム	g	気圧	atm	腹腔投与	i. p.
マイクログラム	μg	トル	Torr	皮下投与	s. c.
(γ を用いない)		水銀柱ミリメートル	mmHg	筋肉投与	i. m.
時	hr	毎センチメートル	cm ⁻¹	標準偏差	S. D.
分	min	(カイザー)		標準誤差	S. E.
秒	sec	融点	mp		
(時間は複数でも s をつけない)		分解点	mp(dec.)		
アンペア	A	沸点	bp	紫外吸収	UV
ボルト	V	凝固点	fp	赤外吸収	IR
オーム	Ω	比重	d	核磁気共鳴	NMR
ガウス	G	屈折率	n	電子スピン共鳴	ESR
エルステッド	Oe	重量パーセント	%	旋光分散	ORD
ジュール	J	容量/重量パーセント	v/w%	円偏光二色性	CD
カロリー	cal	parts per million	ppm	マススペクトル	MS

4. 句読点: , . を用い, 、。としない.

5. 数字: アラビア数字を用いる. 千の単位にコンマをつけない. ただし, 成語となっている数字は漢字とする.

6. 字体の指定: 黒鉛筆で次のように記す.

ゴシック体~~~~	例: 見出しなど	<u>試薬</u>
イタリック体——	例: 学名など	<i>Papaver somniferum</i> L.
スモールキャピタル——	例: 著者名など	Masato <u>ASAHI</u> NA

7. 報文, ノート, 資料の記載要領:

7・1 記載順序: 7・2~7・5 の順に書く.

7・2 題名, 著者名: 次の例に従い, 表紙(用紙1枚全部)をこれに当てる.

例: 医薬品の確認試験法に関する研究(第2報)

鎮痛剤のクロマトグラフィー

用賀 衛・世田一郎・東京子

Studies on the Identification of Drugs II

Chromatographic Methods for the Analgesics

Mamoru YOGA, Ichirō SETA and Kyōko AZUMA

7・3 英文要旨: 論文の内容を簡潔にまとめ, タイプライターで打つ. 参考のため別紙に書いた和文を文献の次に添える.

7・4 本文: 新しいページから書き始める. 本文のスタイルは特に規定しないが, 内容の重複を避ける. 凸版にする図, または原稿用紙に書き切れない表がある場合, それらのそう入位置に若干の余白を設け, 図表の番号を明記する.

7・5 文献: 本文の引用箇所の上肩に^{3), 2), 1-4)}のように記し, 終わりに文献として引用順に書く.

雑誌名は Chemical Abstracts 及び日本化学総覧の略記法による. 外国雑誌名はイタリ

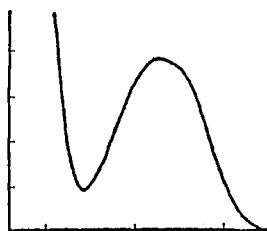
ック体で表し、単行本は書名を省略しない。

- 例：1) 神蔵美枝子，谷村顯雄：衛生試報，88，112 (1970)
 2) 菅野三郎ら：衛生化学，17，19 (1971)
 3) M. D. Hollenberg, D. B. Hope: *Biochem. J.*, 106, 557 (1968)
 4) A. White *et al.*: *Principles of Biochemistry*, 4th Ed., p. 937 (1968), McGraw-Hill Inc., New York
 5) 佐々木慎一：マスペクトル解説，p.61 (1967) 広川書店
 6) USP XVIII, p.321 7) JIS K 1234 (1970)

7・6 図 表：図または複雑な構造式など、凸版にする必要のあるものは厚手白色紙か青色方眼紙（黒、茶色の方眼紙は使用しない）に黒インクまたはすみで書き、図中の数字、記号または説明などの文字は入れない（原図）。別に原図のコピーをとり、図中の数字、記号または説明などの文字はタイプで打ち、原図と共に提出する。ただし、説明が多い場合は別紙にタイプしても良い。

また、図の大きさは原則として原稿用紙1/2枚とする。表の画線はできるだけ少なくし、左右両端の縦線を省く。簡単な表はなるべく本文中に書き、図はすべて本文中に書かない。

(例)



(原図)

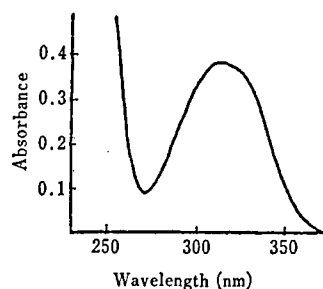


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard" (20 µg/ml) (コピーにタイプ)

図の番号は Fig. 1, Fig. 2., ……とし、表題、説明はともに図の下に、表の番号は Table 1., Table 2., ……とし、表題は表の上に、説明は表の下に記す。なお、表題、説明は原則として英語で書き（資料の場合はこの限りでない）、表題は大文字で始め、最後に . をつけない。

例：Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive sugar production

Table 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone as a function of time

図および別紙に書いた表は、その裏に題名、著者名、本文中のそう入ページを記す。提出するときは一括して封筒に入れ、そのおもてに論文題名、著者名、ならびに図、表のそれぞれの枚数を記し、原稿の最後にとじる。

8. 誌上発表の記載要領：題名の次に改行して著者名、雑誌名、巻数、ページ数、年号の順に記す。さらに改行して論文の要旨のみに記す。外国語の論文の要旨は、日本語で原稿用紙1枚程度にまとめる。ただし、題名、著者名、雑誌名は外国語。
9. 学会発表の記載要領：演者名に続いて演題名を記す。改行して学会名、日付け〔例：(1972.4.5)〕を記す。各演題ごとに余白2行を設ける。

校 正

初校は著者が行う。人名、化学名、数値、文献などは特に綿密に校正する。内容の追加、行数の増加は認めない。

国立衛生試験所図書委員会

昭和60年度図書編集委員

谷村 顕雄	田中 彰	竹中 祐典
丹野 雅幸	吉岡 澄江	谷本 剛
手島 玲子	鈴木 英世	鹿庭 正昭
木嶋 敬二	豊田 正武	神蔵 美枝子
坂部 フミ	小林 和雄	川島 邦夫
黒川 雄二	松岡 厚子	江馬 真
飯田 修	大野 清	笹子 久美子

衛生試験所報告 第103号

昭和60年11月15日印刷
昭和60年11月20日発行

発行所 国立衛生試験所化学物質情報部
東京都世田谷区上用賀1丁目18番1号

印刷所 サンコー印刷株式会社
東京都文京区小石川2-25-12-903