

# 衛生試験所報告

第 105 号

昭和 62 年

---

**BULLETIN**  
**OF**  
**NATIONAL INSTITUTE OF**  
**HYGIENIC SCIENCES**

No. 105 1987

---

国立衛生試験所

衛生試験報  
Eisei Shikenjo Hokoku

# 衛生試験所報告

第 105 号

昭和 62 年

---

**BULLETIN**  
**OF**  
**NATIONAL INSTITUTE OF**  
**HYGIENIC SCIENCES**

No. 105 1987

Published by  
National Institute of Hygienic Sciences  
Tokyo, Japan

---

国立衛生試験所

## 目 次

## 報 文

ジメチルプロバミンを投与したサル尿中の代謝物の検出 …高橋一徳・石上暁子・島峯望彦・内山 充・落合敏秋・関田清司・川崎 靖・降矢 強・戸部満寿夫……	1
五苓散の品質評価を目的としたケイヒ指標成分の検討……鈴木英世・野口 衛・原田正敏……	7
医療用具の放射線滅菌に関する研究(第10報)ポリサルフォン中空糸型血漿分離器のγ線照射に よる安定性について……菊池 寛・辻 楠雄・水町彰吾・叶多謙蔵・小嶋茂雄・中村晃忠……	13
塩化ベンザルコニウム投与の妊娠マウスに及ぼす影響 ……門馬純子・高田幸一・会田善崇・高木篤也・吉本浜子・中路幸男・黒川雄二・戸部満寿夫……	20
ラットにおける2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェノール)の臓器分布 …高木篤也・門馬純子・会田善崇・吉本浜子・鹿庭正昭・鈴木康雄・中路幸男・黒川雄二・戸部満寿夫……	26
トリクロサンのラット胎仔発生に及ぼす影響 ……川島邦夫・中浦慎介・山口 恵・田中 悟・高仲 正……	28
ヘプタクロルのラット胎仔発生に及ぼす影響……山口 恵・田中 悟・川島邦夫・中浦慎介・高仲 正……	33
肝部分切除による肝再生の経時的变化:組織学的,超微形態学的検索 ……今沢孝善・豊田和弘・下地尚史・佐藤秀隆・古川文夫・古田京子・長谷川良平・林 裕造……	37
B6C3F1 マウスにおける dicofol の亜慢性毒性試験 ……佐藤秀隆・豊田和弘・古川文夫・長谷川良平・高橋道人・林 裕造……	42
粗製トリプシンインヒビターの膵臓に与える影響および種差 病理組織学および免疫組織 化学的検索……古川文夫・豊田和弘・阿部 弘・長谷川良平・佐藤秀隆・高橋道人・林 裕造……	46
高血圧自然発症ラット(SHR)における食塩の臓器障害促進作用 ……豊田和弘・古川文夫・佐藤秀隆・岡宮英明・高橋道人・林 裕造……	51
フロー法によるニトラゼパム非コーティング錠の溶出試験に関する考察 ……小室徹雄・長谷川隆一・伊阪 博……	56

## ノ ー ト

向精神剤の鑑定法(第5報)ジメチルプロバミン及びその代謝物の分析 ……島峯望彦・高橋一徳・石上暁子・大野昌子・内山 充……	60
高速液体クロマトグラフィーによるシアノコバラミンの分析……太田美矢子・木村俊夫・田中 彰……	65
国立衛生試験所標準品(色素標準品)ニューコクシン標準品の結晶水ならびに三塩化チタン 滴定係数について……神蔵美枝子……	68
ラット血漿中のラセミ体ピンドロールの分割定量とその応用 ……長谷川隆一・柳谷真美・小室徹雄・伊阪 博……	71
有機汚染物質と細菌内毒素(LPS)の Maus 肝に対する協同作用に関する研究(I) 四塩化炭素,リン酸トリス(2-クロロエチル)あるいはポリ塩化ビフェニール と LPS との同時投与について……長谷川隆一・柳谷真美・小室徹雄・伊阪 博……	74
有機汚染物質と細菌内毒素(LPS)の Maus 肝に対する協同作用に関する研究(II) 四塩化炭素と LPS の同時投与により生じる肝リソソームの不安定化について ……長谷川隆一・柳谷真美・小室徹雄・伊阪 博……	78

## 資 料

国立衛生試験所葉酸標準品(Control 861)……太田美矢子・福岡正道・田中 彰……	82
国立衛生試験所シアノコバラミン標準品(Control 861)……太田美矢子・木村俊夫・田中 彰……	84
日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモン標準品(第10回,Control 861)について ……福田秀男・押沢 正・横田椅江・木村俊夫・田中 彰……	87

日局“インスリン標準品(854)”について	
.....押沢 正・内田恵理子・横田椅江・福田秀男・佐藤 浩・太田美矢子・木村俊夫・田中 彰	89
国立衛生試験所ジギトキシン標準品(Control 831)	91
.....徳永裕司・木村俊夫・福岡正道・田中 彰	
マイコトキシンの化学分析に関する研究(第18報) Aflatoxin B <sub>1</sub> の Enzyme Immunoassay	
による分析	93
.....五十畑悦子・豊田正武・斎藤行生	
Salmonella typhimurium TA 株によるテトラメチルサクシノニトリルの変異原性試験	
.....石綿 肇・井上たき子・義平邦利・能美健彦・石館 基	100
プラスチック製食器からのホルムアルデヒドの溶出試験と検出限界	101
.....井上たき子・石綿 肇・義平邦利	
厚生省告示の方法による 2-メルカプトイミダゾリンの検出限界	103
.....石綿 肇・井上たき子・義平邦利	
日本薬局方ハチミツの嫌気性有芽胞菌汚染について	105
.....高山澄江・児玉幸夫・林 長男	
環境保健基準(EHC)作成のための文献検索ならびに同基準引用文献についての考察	
—合成ビレスロイドの例—	108
.....橋場茂子	
業務報告	113
誌上発表	146
学会発表	189
衛試例会	203
昭和61年度に行った主な研究課題	208
国家検定および検査等の処理状況	213
国立衛生試験所標準品	225

## CONTENTS

## Originals

Kazuniro TAKAHASHI, Akio ISHIGAMI, Mochihiko SHIMAMINE, Mitsuru UCHIYAMA, Toshiaki OCHIAI, Kiyoshi SEKITA, Yasushi KAWASAKI, Tsuyoshi FURUYA and Masuo TOBE: Detection of Dimethylpropamine and Its Metabolites in the Urine of Monkeys Treated with Dimethylpropamine .....	1
Hideyo SUZUKI, Mamoru NOGUCHI and Masatoshi HARADA: Search for a Marker Substance of Cinnamomi Cortex Leading to Quality Evaluation of a Chinese Medicinal Formulation "Gorei-san"...	7
Hiroshi KIKUCHI, Kusuo TSUJI, Shogo MIZUMACHI, Kenzo KANOHTA, Shigeo MAJIMA and Akitada NAKAMURA: Radiosterilization of Medical Devices X Effects of Gamma-Radiation on Chemical and Physical Properties of Polysulfone Capillary Plasma-separator .....	13
Junko MOMMA, Koichi TAKADA, Yoshitaka AIDA, Atsuya TAKAGI, Hamako YOSHIMOTO, Yukio NAKAJI, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE: Effects of Benzalkonium Chloride on Pregnant Mice .....	20
Atsuya TAKAGI, Junko MOMMA, Yoshitaka AIDA, Hamako YOSHIMOTO, Masaaki KANIWA, Yukio NAKAJI, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE: Distribution of 2,2'-Methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) in Rat Tissues .....	26
Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Megumi YAMAGUCHI, Satoru TANAKA and Akira TAKANAKA: Effects of Triclosan on Fetal Developments of Rats .....	28
Megumi YAMAGUCHI, Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA and Akira TAKANAKA: Effects of Heptachlor on Fetal Developments of Rats .....	33
Takayoshi IMAZAWA, Kazuhiro TOYODA, Naoshi SHIMOJI, Hidetaka SATO, Fumio FURUKAWA, Kyoko FURUTA, Ryohei HASEGAWA and Yuzo HAYASHI: Sequential Changes in the Liver after Partial Hepatectomy in the Rat: Histological and Ultrastructural Examination .....	37
Hidetaka SATO, Kazuhiro TOYODA, Fumio FURUKAWA, Ryohei HASEGAWA, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: Subchronic Oral Toxicity Test of Dicofol (1,1-bis( <i>p</i> -chlorophenyl)-2,2,2-trichloro-ethanol) as the Basis for the Design of a Long-term Carcinogenicity Study in B6C3F1 Mice .....	42
Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hiroshi ABE, Ryohei HASEGAWA, Hidetaka SATO, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: Short-term Effects of Feeding Crude Soybean Trypsin Inhibiter on Pancreas of Rat, Hamster and Mouse .....	46
Kazuhiro TOYODA, Fumio FURUKAWA, Hidetaka SATO, Hideaki OKAMIYA, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: Enhancing Effects of High Dietary Salt on the Development of Organ Damages in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) .....	51
Tetsuo KOMURO, Ryuichi HASEGAWA and Hiroshi ISAKA: Investigation on the Dissolution Test of Nitrazepam Uncoated Tablets by the Flow-through Method .....	56

## Notes

Mochihiko SHIMAMINE, Kazunori TAKAHASHI, Akiko ISHIGAMI, Masako ONO and Mitsuru UCHIYAMA: Identification of Psychotropic Drugs V Analysis of Dimethylpropamine and Its Metabolites .....	60
Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Akira TANAKA: Analysis of Cyanocobalamin by High-Performance Liquid Chromatography .....	65
Mieko KAMKURA: On Crystal Water of New Coccine Standard and Its Factor for Titanium Trichloride Titration .....	68
Ryuichi HASEGAWA, Mami KUSHIYA, Tetsuo KOMURO and Hiroshi ISAKA: Stereoselective Determination of Racemic Pindolol in Rat Plasma and Its Application .....	71
Ryuichi HASEGAWA, Mami KUSHIYA, Tetsuo KOMURO and Hiroshi ISAKA: Studies on the co-operative Effects of Organic Pollutants and Bacterial Endotoxin (LPS) on Mouse Liver (I). On the Simultaneous Administration of Carbon Tetrachloride, tris(2-chloroethyl)phosphate or Polychlorinated Biphenyls with LPS .....	74
Ryuichi HASEGAWA, Mami KUSHIYA, Tetsuo KOMURO and Hiroshi ISAKA: Studies on the Co-operative Effects of Organic Pollutants and Bacterial Endotoxin (LPS) on Mouse Liver (II). On the Hepatic Lysosomal Labilization Induced by Co-administration of Carbon Tetrachloride and LPS .....	78

---

<b>Technical Data</b>	
Miyako OHTA, Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA: Folic Acid Reference Standard (Control 861) of National Institute of Hygienic Sciences .....	82
Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Akira TANAKA: Cyanocobalamin Reference Standard (Control 861) of National Institute of Hygienic Sciences .....	84
Hideo FUKUDA, Tadashi OSHIZAWA, Isue YOKOTA, Toshio KIMURA and Akira TANAKA: On the Japanese Pharmacopoeia Standard Human Chorionic Gonadotropin (10th, Control 861) .....	87
Tadashi OSHIZAWA, Eriko UCHIDA, Isue YOKOTA, Hideo FUKUDA, Hiroshi SATOH, Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Akira TANAKA: On the Japanese Pharmacopoeia Standard "Insulin Standard (854)" .....	89
Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA, Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA: Digitoxin Reference Standard (Control 831) .....	91
Etsuko ISOHATA, Masataka TOYODA and Yukio SAITO: Studies on Chemical Analysis of Mycotoxin (XVIII) .....	93
Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE, Kunitoshi YOSHIHIRA, Takehiko NOHMI and Motoi ISHIDATE, Jr.: Lack of Mutagenicity of Tetramethylsuccinonitrile in Salmonella typhimurium TA Strains .....	100
Takiko INOUE, Hajimu ISHIWATA and Kunitoshi YOSHIHIRA: Migration Test of Formaldehyde from Plastic Cups and the Detection Limit of the Test .....	101
Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE and Kunitoshi YOSHIHIRA: Detection Limit of Ethylenethiourea by the Method of the Food Sanitation Law .....	103
Sumie TAKAYAMA, Yukio KODAMA and Nagao HAYASHI: On Contamination of Anaerobic Spore-Forming Bacteria in Honey under the Japanese Pharmacopoeia .....	105
Shigeko HASHIBA: Some Considerations on the Literature Retrieval for the Preparation of the Environmental Health Criteria (EHC) and on the Literatures Cited in EHC—The Case of the Draft EHC Synthetic Pyrethroids— .....	108
<b>Annual Reports of Divisions</b> .....	113
<b>Summaries of Papers Published in Other Journals</b> .....	146
<b>Titles of Speeches at Scientific Meetings</b> .....	189
<b>Seminars</b> .....	203
<b>Main Research Projects Carried Out in 1986</b> .....	208
<b>Survey of the Results of National Tests</b> .....	213
<b>Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences</b> .....	225

## ジメチルプロパミンを投与したサル尿中の代謝物の検出

高橋一徳・石上暁子・島峯望彦・内山 充・落合敏秋  
 関田清司・川崎 靖・降矢 強・戸部満寿夫

Detection of Dimethylpropamine and Its Metabolites in the Urine of  
 Monkeys Treated with Dimethylpropamine

Kazunori TAKAHASHI, Akiko ISHIGAMI, Mochihiko SHIMAMINE,  
 Mitsuru UCHIYAMA, Toshiaki OCHIAI, Kiyoshi SEKITA,  
 Yasushi KAWASAKI, Tsuyoshi FURUYA and Masuo TOBE

It is said the metabolic pathway of methamphetamine (MA) in the monkey is similar to that in human beings. Thus, our study was carried out using the monkey as the test animal.

The low dose of 0.2 mg/kg of dimethylpropamine (DMP) hydrochloride was administered subcutaneously to four monkeys (*Macaca irus*), and DMP and its metabolites excreted into the urine were determined. A method for the analysis of these compounds in the urine was developed by using solid extraction and capillary gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Simple and rapid extraction was performed successfully from the urine by using Bond Elut column (C18 and SCX) and acidified methanol solution as the eluent. The GC-MS procedure was used for the confirmation of DMP and its metabolites in the urine. DMP was detected in the urine within 24 hours after administration. Even after the disappearance of DMP, prolonged excretion of MA and amphetamine (A) was found in all cases.

As a result, it was suggested that DMP and *p*-hydroxydimethylpropamine (HODMP) in urine seemed to be the best marker for the discrimination between MA- and DMP-intake. However, the faster disappearance of DMP and HODMP than MA and A should be taken into consideration.

(Received May 30, 1987)

現在、覚せい剤の不正使用による種々の社会悪が注目されている。覚せい剤不正使用の鑑定は覚せい剤施用者の尿から、メタンフェタミン (MA) あるいはアンフェタミン (A) の検出を主な手段として行われているが、尿中から MA や A が検出された場合、それらが覚せい剤に由来するものなのか、あるいは体内においてほかの物質から変化して尿中に排せつされたものなのかを明確に断定できるようにすることは裁判化学上急務である。

最近になって、化学構造上 MA と非常に類似した覚せい剤原料であるジメチルプロパミン (DMP) が国内で押収されたという報告は注目に値するものである。DMP は過去において医薬品として用いられたことがなく、不正使用に関する例も見当らず、情報も乏しい。DMP およびその代謝物の分析に関しては井上らの報告<sup>1)</sup>があるが、その報告では DMP およびその代謝物の尿中への排せつ様態については述べていない。そのため覚せい剤施用者の尿を分析するのにあたって、そ

れらの尿試料中には DMP 施用者の尿も含まれている可能性があるので、DMP およびその代謝物の尿中への排せつ様態を明らかにしておく必要がある。

そこでわれわれは、ヒトとその代謝経路が類似していると云われているサルを用いて、動物実験を行い、DMP 投与後の尿中への代謝物の排せつ様態について検討した。サルへの投与量はヒトの MA の常用量にはほぼ対応する低用量を用い、尿からの代謝物の抽出には簡便な固相抽出法、測定にはガスクロマトグラフィー・マススペクトルメトリー (GC-MS) を用いて検討した結果を報告する。

## 実験方法

### 1. 試薬

塩酸ジメチルプロパミン (自製品)、塩酸メタンフェタミン (局方品)、硫酸アンフェタミン (自製品)、塩酸パラヒドロキシジメチルプロパミン (自製品)、塩酸パラヒドロキシメタンフェタミン (自製品)、塩

### 酸パラヒドロキシアンフェタミン (自製品)

合成品の確認およびそれらの純度は融点、薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー、GC-MS、核磁気共鳴スペクトル、赤外吸収スペクトルによった。

#### 2. 実験動物

カンクイザル (*Macaca irus*) 雄, 4頭

体重: M1 5.2 kg

M2 6.5 kg

M3 4.3 kg

M4 5.6 kg

#### 3. 塩酸ジメチルプロバミンの投与および尿の採取条件

投与量および投与方法: 0.2 mg/kg を1回, それぞれ皮下に投与する。

採取方法: 塩酸ジメチルプロバミンを投与されたサルは保定せず, 代謝ケージ内で飼育し, 10%硫酸 1 ml を入れた容器に尿を採取する。

動物室の室温は 25±1°C, 湿度は 55±5% とした。

採取期間: 塩酸ジメチルプロバミン投与後 0~6, 6~12, 12~24, 24~48, 48~72時間, さらに6日後の尿を採取した。なお投与前の尿を採取して対照尿とした。

#### 4. 試料溶液の調製法

(1) 尿から DMP およびその代謝物の抽出

抽出カラム BOND ELUT C18 (500 mg) および SCX (100 mg) は常法にしたがってメタノールで湿潤させたのち蒸留水で置換したものをを使用した。

サルの尿 (1~10 ml) に 1/10 量の塩酸を加え, 沸騰水浴中で30分間, 加熱し, 加水分解した。冷後, 20% 炭酸ナトリウム液で中和後, C18 カラムに注入した。カラムは蒸留水 2 ml ずつで5回洗浄したのち, 1N 塩酸・メタノール 2 ml ずつで2回溶出した。溶出液は減圧で蒸発乾固したのち, 得られた残留物を少量の蒸留水に溶かし, SCX カラムに注入した。カラムは蒸留水 2 ml ずつで5回, ついでメタノール 2 ml ずつで2回洗浄したのち, 1N 塩酸・メタノール 1 ml ずつで2回溶出した。溶出液は減圧で蒸発乾固した。

(2) GC-MS 試料の調製

1) ヘプタフルオロ酪酸 (HFB) 誘導体化

(1) で得られた残留物に酢酸エチル 0.2 ml および無水ヘプタフルオロ酪酸 0.05 ml を加え, 密栓して 60°C の水浴中で30分間, 加温した。冷後, 室温で窒素気流中で乾燥した。得られた残留物を内標準溶液 0.5 ml に溶かし GC-MS の試料とした。

2) トリメチルシリル (TMS) 誘導体化

(1) で得られた残留物にビストリメチルシリアセトアミド 0.1 ml を加え, 90°C の水浴中で20分間加熱する。冷後, 内標準溶液 0.4 ml を加え, GC-MS の試料とした。

(3) 標準溶液の調製

塩酸ジメチルプロバミン, 塩酸メタンフェタミン, 硫酸アンフェタミン, 塩酸パラヒドロキシジメチルプロバミン, 塩酸パラヒドロキシメタンフェタミン, 塩酸パラヒドロキシアンフェタミンをそれぞれメタノールに溶かし, 0.5, 1.0, 5, 10 µg/ml の溶液を調製し, 標準溶液とする。

(4) 内標準溶液

ジフェニルメタンを酢酸エチルに溶かし, 5 µg/ml の溶液を調製する。

#### 5. GC-MS

測定条件

Apparatus: Yokogawa Hewlett Packard 5890A

Automatic Sampler: HP 7673A

Detector: HP MSD 5970

Column: Fused Silica W.C.O.T. Methyl Silicone

Film Thickness 0.33 µm, I.D. 0.2 mm, L. 12.5 m

Column Temp: 60°C (0.5 min)~20°C/min~150°C

~10°C/min~250°C

$\bar{\mu}$  (He) = 5 p.s.i.

Splitless injection

Temp.: Injection port 200°C

Transfer line 250°C

#### 6. 検量線の作成

(1) MA, A, パラヒドロキシメタンフェタミン (HOMA), パラヒドロキシアンフェタミン (HOA) の検量線 MA, A, HOMA, HOA のそれぞれの標準溶液をとり, (2)-1) にしたがって HFB 化して得た試料溶液 1 µl ずつをとり, 前記5の条件で GC-MS を行い, たて軸にインテグレーターを用いて得られたピーク面積比を, 横軸に MA, A, HOMA, HOA の量をとり検量線を作成する。

(2) DMP, パラヒドロキシジメチルプロバミン (HODMP) の検量線 DMP, HODMP のそれぞれの標準溶液をとり, (2)-2) にしたがって TMS 化して得た試料溶液 1 µl ずつをとり, 前記5の条件で GC-MS を行い, たて軸にインテグレーターを用いて得られたピーク面積比を, 横軸に DMP, HODMP の量をとり検量線を作成する。



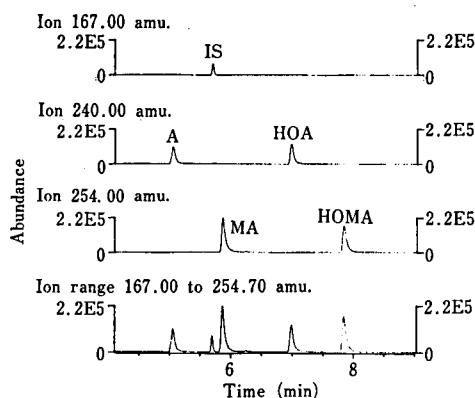


Fig. 1. Mass chromatogram of heptafluorobutryl derivatives of methamphetamine, amphetamine, *p*-hydroxymethamphetamine and *p*-hydroxyamphetamine

MA: methamphetamine, A: amphetamine, HOMA: *p*-hydroxymethamphetamine, HOA: *p*-hydroxyamphetamine, IS: diphenylmethane

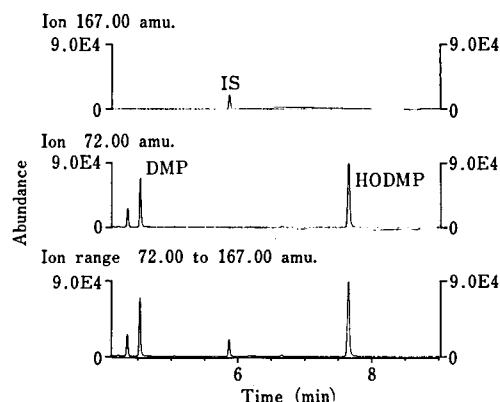


Fig. 2. Mass chromatogram of dimethylpropamine and trimethylsilyl derivative of *p*-hydroxydimethylpropamine

DMP: dimethylpropamine, HODMP: *p*-hydroxydimethylpropamine, IS: diphenylmethane

## 結果および考察

### 1. 尿の採取

塩酸ジメチルプロパミン投与後、サルを代謝ケージ内に入れ、平常の飼育状態で尿の採取を行った。そのためサルに与えられた飼料、水、糞などが尿に混入するおそれがあるので、飼料、糞などの混入を防止するため、フィルターを通して尿を採取したので、尿には固形物などの混入は認められなかった。しかし今回の実験のために使用した代謝ケージでは飲料水の混入を防止することができなかったので、採取した尿に水が混入していることがあるものと思われる。

### 2. 試料の HFB 化および TMS 化について

DMP およびその代謝物である MA, A, HODMP, HOMA, HOA の 6 種類の化合物を同時に分離、定量するために、分離カラムとして Fused silica Methyl silicone (12.5m) を用いて、実験方法 5 に示した GC-MS の条件で分離を試みたところ、DMP, MA, A はテーリングをしたピークとなり、また HODMP, HOMA, HOA はピークを確認することはできなかった。そこでこれらを検出、確認するために HFB 化を試みた。MA, A, HOMA, HOA は実験方法 (2) - 1) の条件により、いずれも定量的に HFB 化され、単一のピークを示し、かつ互いに分離し、感度も上がり、テーリングも認められなかった。しかしこの HFB 化では DMP, HODMP のピークを確認することはできなかった。そこでさらにこれら 6 種類の化合物を同時

に検出、確認するために TMS 化を試みた。HODMP は実験方法 (2) - 2) の条件により、定量的に TMS 化され、単一のシャープなピークを示した。また DMP は、その構造上 TMS 化されないにもかかわらず、この TMS 化処理をしたところ、HODMP と同様に単一のシャープなピークを示した。しかし MA, A, HOMA, HOA はこの TMS 化の条件で定量的に TMS 化されず、いずれも 2 本のピークを示した。このため DMP, HODMP は TMS 化による方法で処理し、また MA, A, HOMA, HOA は HFB 化による方法で処理して、これらを分離、定量することとした。

### 3. MA, A, HOMA, HOA の HFB 誘導体のマスキングクロマトグラム (MC)

MA, A, HOMA, HOA を MC によって定量するために、MA, HOMA の HFB 誘導体の MS から  $m/z$  254 を、A, HOA の HFB 誘導体の MS から  $m/z$  240 を、そして内標準物質ジフェニルメタンの MS から  $m/z$  167 を選択して MC を測定したところ、Fig. 1 に示したように互いに良好に分離した。そしてそれぞれの  $t_R$  値は MA-HFB 5.9, A-HFB 5.1, HOMA-HFB 7.8, HOA-HFB 7.0 であった。

### 4. HODMP の TMS 誘導体および DMP の MC

DMP, HODMP を MC によって定量するために、DMP, HODMP-TMS 誘導体の MS から  $m/z$  72 を、内標準物質ジフェニルメタンの MS から  $m/z$  167 を選択して MC を測定したところ、Fig. 2 に示したように互いに良好に分離した。そしてそれらの  $t_R$  値は DMP 4.5, HODMP-TMS 7.6 であった。

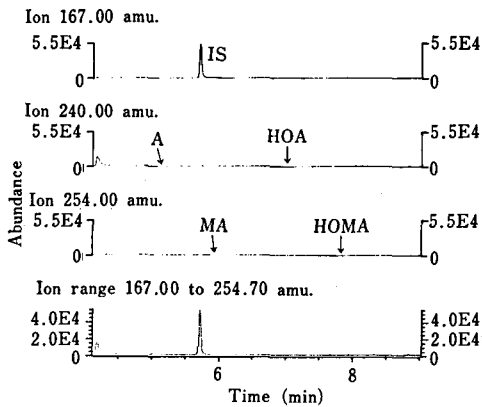


Fig. 3. Mass chromatogram of heptafluorobutyrylated urine extract

Arrows show retention times of heptafluorobutyryl derivatives of methamphetamine (MA), amphetamine (A), *p*-hydroxymethamphetamine (HOMA), *p*-hydroxyamphetamine (HOA).

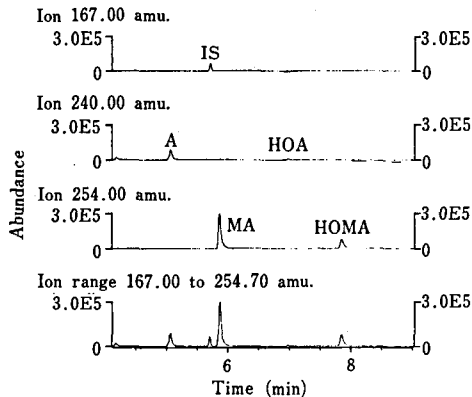


Fig. 5. Mass chromatogram of heptafluorobutyrylated urine extract after administration of dimethylpropamine-HCl (M3, 0~6 hour urine)

MA: methamphetamine, A: amphetamine, HOMA: *p*-hydroxymethamphetamine, HOA: *p*-hydroxyamphetamine, IS: diphenylmethane

### 5. 検量線

DMP, MA, A, HODMP, HOMA, HOA のそれぞれの標準溶液をとり、減圧で蒸発乾固したのち、HFB 化あるいは TMS 化したのち、MC を測定し、それぞれの検量線を作成したところ、それらはいずれも 10 µg/ml の範囲で原点を通る直線性を示した。

### 6. 抽出法の検討

抽出カラム C18 を常法にしたがって調整し、DMP, MA, A, HODMP, HOMA, HOA の水溶液を抽出カラムに注入し、固定相に保持させたのち、メタノー

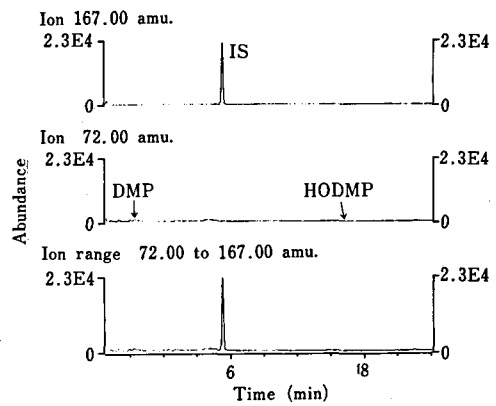


Fig. 4. Mass chromatogram of trimethylsilylated urine extract

Arrows show retention times of dimethylpropamine (DMP) and trimethylsilyl derivative of *p*-hydroxydimethylpropamine (HODMP).

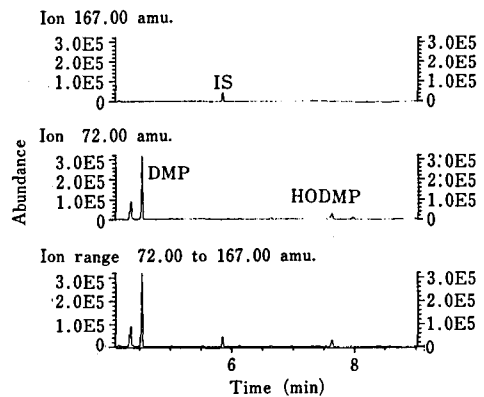


Fig. 6. Mass chromatogram of trimethylsilylated urine extract after administration of dimethylpropamine-HCl (M3, 0~6 hour urine)

DMP: dimethylpropamine, HODMP: *p*-hydroxydimethylpropamine, IS: diphenylmethane

ルを用いて、溶出を試みたところ、メタノール液にはそれらは溶出してこなかった。一方塩酸加水分解後、中和した尿試料を注入して同様に処理したところ、溶出液に尿の色素などは殆んど溶出してきた。そこでこの性質を利用して、それらを含む尿を抽出カラム C18 を用いて処理すれば、尿の色素等とそれらを分離することが可能であると考え、尿にそれらを添加して、同様に処理したところ、溶出液に尿の色素とともにそれらも溶出してきたため、分離することはできなかった。そこでイオン交換型の抽出カラム SCX を用いて、

Table 1. Doses and Collected Urine Volumes

Subject	Dose (mg as DMP)	Urine Volume (ml)					
		0~6 h	6~12 h	12~24 h	24~48 h	48~72 h	6 d
M1	0.838	8.5	40	56	135	160	50
M2	1.078	34	20	48	65	49	41
M3	0.760	77	45	134	399		79
M4	0.940	69	39	81	249		24

DMP: dimethylpropamine

Table 2. Urinary excretion of dimethylpropamine metabolites in monkey

Metabolites		Excretion ( $\mu\text{g}$ )						
		Periods of urine collection						
		0~6 h	6~12 h	12~24 h	24~48 h	48~72 h	6 d	total (as DMP)
A	M1	13.45	16.00	27.54	7.93	19.38	1.64	85.94(103.73)
	M2	5.74	4.96	14.01	26.01	8.63	0.60	59.95( 72.36)
	M3	30.10	12.97	16.76	18.14		ND	77.97( 94.11)
	M4	55.19	3.17	16.06	5.48		ND	79.90( 96.44)
MA	M1	10.89	7.87	4.27	3.24	2.57	0.80	29.64( 32.43)
	M2	8.54	3.84	3.42	0.72	0.02	ND	16.54( 18.10)
	M3	53.08	8.49	7.86	5.15		ND	74.58( 81.59)
	M4	59.74	3.06	7.41	2.00		ND	72.21( 79.00)
DMP	M1	9.42	3.64	0.18	ND	ND	ND	13.24
	M2	42.22	2.89	1.58	0.68	ND	ND	47.38
	M3	5.94	0.20	0.29	ND		ND	6.43
	M4	16.08	0.09	0.39	ND		ND	16.54
HOA	M1	10.29	19.02	15.35	20.12	9.67	1.61	76.06( 82.07)
	M2	ND	0.04	0.10	0.03	ND	ND	0.17( 0.18)
	M3	2.62	1.50	1.53	TR		ND	5.65( 6.10)
	M4	1.53	TR	ND	ND		ND	1.53( 1.65)
HOMA	M1	9.89	21.46	6.65	4.46	2.67	0.82	45.95( 45.40)
	M2	ND	0.78	1.47	1.00	0.80	ND	4.05( 4.00)
	M3	21.88	30.18	4.24	1.68		ND	57.98( 57.28)
	M4	9.62	1.10	TR	ND		ND	10.72( 10.59)
HODMP	M1	2.95	0.81	ND	ND	ND	ND	3.76( 3.43)
	M2	3.45	0.28	0.52	ND	ND	ND	4.25( 3.87)
	M3	0.39	0.05	0.06	ND		ND	0.50( 0.46)
	M4	0.39	0.03	0.02	ND		ND	0.44( 0.40)
Recovery (as DMP)		M1(0~72 h)	32.80%	M2(0~72 h)	13.47%	M3(0~48 h)	32.37%	
		M4(0~48 h)	21.78%					

A : amphetamine, MA : methamphetamine, DMP : dimethylpropamine,

HOA : *p*-hydroxyamphetamine, HOMA : *p*-hydroxymethamphetamine,HODMP : *p*-hydroxydimethylpropamine

ND : not detect

TR : trace

C18と同様に処理したところ、水溶液についてはC18と同様に良好な結果が得られたが、加水分解後、中和した尿では多量に存在する陽イオンが競合して保持されるため、カートリッジ内のSCXの化合物保持能力の限界を越え、それらの一部が保持されずに流出した。以上の結果から尿の色素等を除去するために、抽出カラムとしてC18およびSCXの2本を使用したところ成功した。DMP投与前に採取したサル尿1mlを実験方法4-(1)にしたがって操作して得た尿の抽出物をそれぞれHFB化、TMS化してMCを行い、それらの検出に影響を与えるピークを有するかどうかについて検討したが、Fig. 3, Fig. 4に示したように、MC上にはいずれもそれらの検出を妨げるピークを示さなかった。

DMP投与後、0~6時間に採取した尿試料(M3)を実験方法4-(1)にしたがって操作して得た尿の抽出物をHFB化あるいはTMS化したものについてはそれぞれFig. 5, Fig. 6に示すクロマトグラムが得られた。

#### 7. 添加回収率

DMP投与前に採取したサル尿1mlにDMP, MA, A, HODMP, HOMA, HOAをそれぞれ2.5 $\mu$ gずつ添加して、実験方法4-(1)にしたがって操作して得た尿の抽出物をそれぞれHFB化、あるいはTMS化してMCを行いそれぞれの回収率を求めたところ、DMPは90.3 $\pm$ 7.0%、MAは101.2 $\pm$ 0.9%、Aは100.2 $\pm$ 1.0%、HODMPは81.9 $\pm$ 7.3%、HOMAは100.7 $\pm$ 1.0%、HOAは102.0 $\pm$ 0.7%(平均値 $\pm$ 標準偏差、n=3)であった。

#### 8. 尿中代謝物の定量

4頭のサルへのDMPの投与量および経時的に採取した尿量をTable 1に示す。

得られた尿のうち、M2, M4の6~12時間に採取した尿は量が少ないにもかかわらず、色調がうすく、透明であることから、かなりの量の水が混入しているように思われた。

DMP投与サル尿の尿中代謝物の定量結果をTable 2

に示す。

使用した4頭のサルのうち、M2はほかの3頭と異なり、未変化体のDMPを多く尿中に排せつした。DMP投与後、DMPおよびその代謝物の尿中排せつ量を24時間単位で経時的に追跡してみると、0~24時間のあいだに採取した尿では量的に差があるものの、DMP, MA, A, HODMP, HOMA, HOAを検出できた。24~48時間のあいだに採取した尿ではMA, A, HOMA, HOAを検出できたが、DMP, HODMPは殆んど検出できなかった。そして6日後に採取したM1の尿から、MA, A, HOMA, HOAを検出できた。このことからDMP投与後、24時間までに採取した尿を分析すれば、DMP投与尿かMA投与尿かを識別することが可能と考えられた。

## 結 論

ヒトのMAの常用量に対応する低用量のDMPをサルに投与し、その尿中代謝物の推移を検討し、以下の成績を収めた。

1. DMPおよびその代謝物をHFB誘導体あるいはTMS誘導体として、GC-MSで測定し、得られたMCから、いずれも明らかに分離、確認、定量することができた。

2. 尿からの抽出法として用いた固相抽出法は、従来の液-液抽出における煩雑な操作の必要もなく、尿中に存在するDMPおよびその代謝物以外の妨害物質を簡単にしかも短時間で除去できた。

3. DMP投与後、サル尿中にはDMP, MA, A, HODMP, HOMA, HOAが排せつされたが、DMP, HODMPの排せつ時間は24時間前後と短かく、MA, A, HOMA, HOAに比較して、消失は速やかであった。

## 文 献

- 1) 井上堯子, 鈴木真一, 科警研報告, 39, 228 (1986)

## 五苓散の品質評価を目的としたケイヒ指標成分の検討

鈴木英世・野口 衛・原田正敏

## Search for a Marker Substance of Cinnamomi Cortex Leading to Quality Evaluation of a Chinese-Medicinal Formulation "Gorei-san"

Hideyo SUZUKI, Mamoru NOGUCHI and Masatoshi HARADA

The quality evaluation of Chinese-medicinal preparations was studied from the standpoint of chemical analysis in which a marker substance, which characterizes the crude drug, was used. First of all, Cinnamomi Cortex, which is often used in Chinese-medicinal formulations, was selected as a marker drug and subjected to HPLC analysis. Then, *t*-cinnamic acid was found to be the most stable among cinnamon extracts after drying and condensation.

The result was applied to the evaluation of Gorei-san (Wu-Ling-San), and the decoction was compared with the dry extract. Thus, *t*-cinnamic acid was confirmed to be a marker substance.

(Received May 30, 1987)

## はじめに

漢方製剤は医薬品であるので、一定の薬効が期待できないと治療上不都合である。そこで医療用漢方エキス製剤について、その品質の均一化をはかるために、昭和60年5月31日厚生省から同製剤の工程管理を主たる目的とした通知がなされた(薬審2第120号)。本通知では医療用の漢方製剤を製造申請する場合に、標準湯剤と中間エキスおよび最終製品との同等性を比較するデータの提出を義務づけている。すなわち各メーカーは、処方生薬中の2つ以上の指標成分を選び、標準湯剤と中間エキスおよび最終製品の1日量中の指標成分については規格および試験法の欄に含量規格を設定しなければならない。

しかし、現状ではこのようなデータ作成に必要な情報が十分整理されているとは言い難い。そこで昭和60年度より厚生科学研究班〔漢方エキス製剤の品質確保の指針となる湯剤に関する研究(主任研究者 原田正敏)〕が組織され、専門誌等で既に報告された文献を収集するとともに、さらに規格の設定が困難な処方について、指標成分の選定ならびに試験法の開発などを行っている。

指標成分としての選択基準として、1) 定量が容易であること、2) 生薬から煎剤への溶解性が良いこと、3) 製剤化工程で揮散や分解がないこと、4) 純度の保証された定量用標品が得られること、などが考えられる。

著者らは、ケイヒがしばしば漢方処方用に使われる

ので、この指標成分の設定について検討した。つぎにこれを指標とした処方への適用例として、五苓散をとりに上げた。

## 実 験

## 1. 生薬と使用試薬

ケイヒ、タクシャ、チョレイ、ブクリョウ、ビャクジュツ——いずれも市場品を入手し、5mm以下に細切または粉砕して用いた。

クリーン・アップ用カートリッジ——Sep-pak C-18 (Water Associates) を使用前にまずアセトニトリル 2ml、ついで水 5ml を流してコンディショニングをした。

*t*-ケイヒ酸——東京化成工業(株)、純度; アルカリ滴定で99%以上。

薄層クロマトグラフィー (TLC) 用プレート——Precoated silica gel TLC プレート (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>; E. Merck, Darmstadt)。

カラムクロマトグラフィー用担体——Kieselgel 60 (70-230メッシュ), E. Merck 製。

他の試薬は特級のものをを用いた。

## 2. 使用機器と操作条件

(1) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)——装置: 島津(株)製 LC-3A型に記録計 Chromatopac C-R1A と紫外線(UV)検出器 SPD-2A を接続して用いた。カラム: LiChrosorb Rp-18 (4.6mmφ×25cm), E. Merck 製。移動相: 30%アセトニトリル・酢酸(100:1)、流速: 0.8ml/min。注入量: 20μl。検

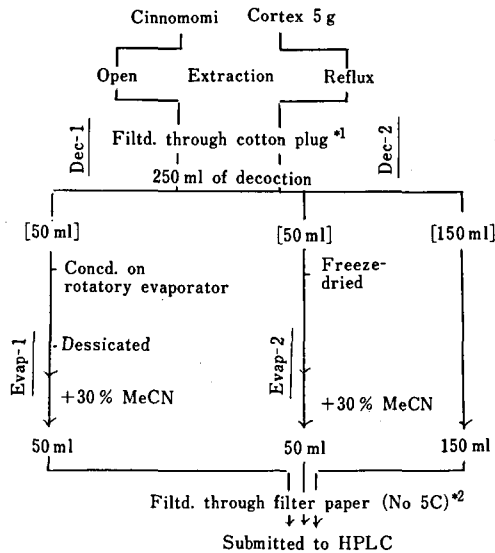


Fig. 1. Preparation of test solutions of Cinnamomi Cortex

When Gorei-san was extd, \*) Centrifugator was used and \*) Sep-pak cartridge was used.

出：感度設定を 0.04 AU/FS とし、波長 UV 254 nm にてピーク面積を測定した。

(2) 3次元 HPLC—装置：島津 (株) 製 LC-6A に分光光度計 SPD-M1A を接続した。測定条件は上述の HPLC 条件に準ずる。

(3) 凍結乾燥器—ED-14-54-UF 型, FTS System, Inc.

### 3. ケイヒ成分の単離と精製

ケイヒを70%メタノールで抽出し、その濃縮エキスをシリカゲルカラムに吸着させ、クロロホルム-メタノール系溶媒で順次極性を上げて溶出させた。さらに精製のため各画分は TLC 分離 (展開溶媒：ジクロロメタン; 検出：UV 254 nm) を行い、油状のケイヒアルデヒドを除く他の成分はメタノールから再結晶した。

### 4. ケイヒの徹底抽出と成分の定量

ケイヒ 1.0 g をアセトニトリル 10 ml で、30 min 水浴上で還流抽出した。その抽出液をろ紙 (No. 5C) ろ過し、残渣をアセトニトリルで洗い、ろ液の全量を 50 ml とした。さらに同様な操作を2度行い、ろ液を合わせ、減圧濃縮をして、液量を正確に 50 ml とした。

### 5. ケイヒの水抽出ならびに乾燥エキス化

Fig. 1 に示すように、2種類の方法で抽出し、またそれぞれの抽出液を2種類の方法で濃縮・乾燥した。

#### 抽出第1法 (Dec-1)

ケイヒ 5.0 g と水 500 ml を 11 の三角フラスコ中

にとり、これをガスレンジ上に敷いた鉄板 (厚さ約 6 mm) にのせ、水量が約半量よりやや少なくなるまで加熱した (約 1.5 hr)。抽出液が温かいうちに綿栓ろ過をして、ろ液を集めた。さらに残渣は水で洗い、ろ液の全量を合わせ正確に 250 ml とした。

#### 抽出第2法 (Dec-2)

ケイヒ 5.0 g と水 250 ml を 11 の丸底フラスコに入れ、1.5 hr マントルヒーターで加熱し、還流抽出した。以下第1法と同様に処理し、250 ml のろ液を得た。

これら2つの方法で得た各抽出液は、50, 50, 150 ml の3画分にして下記の処理を行った。

#### 乾燥第1法 (Evap-1)

Dec-1 又は Dec-2 の抽出液 50 ml をロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮した。抽出液がほぼなくなったところで濃縮をやめ、この濃縮液の入ったフラスコはデシケーター中 (塩化カルシウム入り) で、12 hr 減圧乾燥をした。

#### 乾燥第2法 (Evap-2)

Dec-1 又は Dec-2 の抽出液 50 ml を凍結乾燥して恒量とした。

これら4種類の乾燥エキスを30%アセトニトリルに溶かし、正確に 50 ml とした。

なお水抽出液の3画分のうち残った2種類の 150 ml 溶液は次の実験に供した。

### 6. ケイヒ成分の利用率の測定

利用率の2測定のケイヒの種類抽出液とそれらの乾燥エキス由来の4種類の30%アセトニトリル溶液について HPLC 分析 (注入直前に試験溶液をろ紙ろ過をした) を行い、各種成分の量をケイヒの徹底抽出による量と比較して利用率を求めた。

### 7. 五苓散の煎出と乾燥エキス化

五苓散の1日処方として、ケイヒ 2.5 g, タクシャ 5.0 g, チョレイ 3.0 g, ブクリョウ 3.0 g, ビャクジュツ 3.0 g とした。これをケイヒ抽出の場合と同様に、2種類の抽出法 (Dec-1 ならびに Dec-2) および2種類の濃縮・乾燥 (Evap-1 ならびに Evap-2) を行って、2種類の煎剤ならびに4種類の乾燥エキス由来の30%アセトニトリル溶液を得た。ただし五苓散の抽出の場合、沈殿の生成が多かったため、綿栓ろ過の代わりに遠心分離 (10,000 rpm, 10 min) をして沈殿物を除いた。また HPLC 用試験溶液の調製は次に述べる方法によって行った。

### 8. 五苓散煎剤と乾燥エキスの HPLC 用試験溶液の調製

五苓散の煎剤 (画分 150 ml) と各乾燥エキス全量を

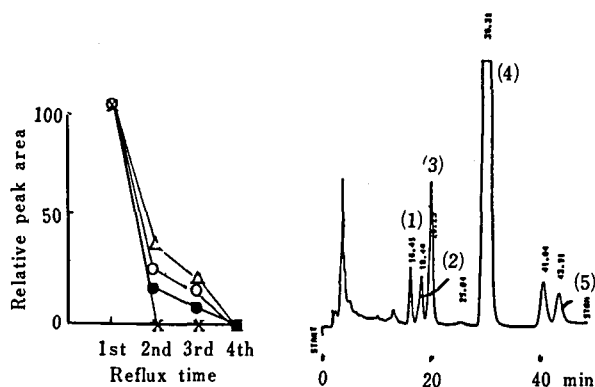


Fig. 2. Extraction of cinnamon constituents

One g of Cinnam. Cort. was extd. with 10 ml of acetonitrile for 30 min repeatedly and each soln. was submitted to HPLC. 1) Coumarin (x), 2) *t*-Cinnamyl alcohol (Δ), 3) *t*-Cinnamic acid (○), 4) *t*-Cinnamaldehyde (●), 5) *o*-Methoxycinnamaldehyde

水 50 ml に溶かし直した溶液から 5 ml をとり酢酸 0.5 ml を混和して, Sep-pak カートリッジに負荷させ, 10%アセトニトリル 10 ml で洗浄後, 50%アセトニトリル 5 ml で溶出した画分を HPLC 用試験溶液とした。

## 結果と考察

### 1. 成分の分析法

ケイヒ成分の分析には従来ガスクロマトグラフィーが用いられているが<sup>1-3)</sup>, 漢方エキスのように水によく溶ける場合は HPLC が最適である。今回, オクタデシルシリル化 (ODS) シリカゲルの LiChrosorb Rp-18 カラムならびに酢酸を添加したアセトニトリル水溶液を溶媒として HPLC をしたところ, 良好なクロマトグラムを与えた (Fig. 2, 3, 6, 8 参照)。

### 2. ケイヒの主成分の同定ならびに定量

ケイヒの 70%メタノールエキスより単離した成分を核磁気共鳴スペクトル分析, マススペクトル分析, TLC, 融点測定などの手段により, それらはクマリン, *t*-ケイヒアルコール, *t*-ケイヒ酸, *t*-ケイヒアルデヒド, *o*-メトキシケイヒアルデヒド (TLC の *R<sub>f</sub>* 値の順) と同定された。

ケイヒの主成分ケイヒアルデヒドの分析では酸化やヒドレーションを考慮しなければならないが, 石田らのグループはケイヒの抽出にアセトニトリルを用いて, ケイヒアルデヒドを正確に定量する方法を報告している<sup>4)</sup>。われわれもそれに倣い, ケイヒの徹底抽出に同溶媒を使用した。Fig. 2 に示すように, クマリン

は 1 度の抽出で充分であったが, 先の他の成分は 3 回の抽出が必要であった。

### 3. ケイヒ成分の利用率

単味生薬が配合され, 煎剤やエキス剤に調製された時, それぞれの含有成分は抽出性や揮散性が違うため移行率は異なってくる。そこで野口は, 生薬から個々の成分が製剤化によりどの程度移行しているかを示す指標として“利用率”という用語を提案している<sup>5)</sup>。

漢方処方抽出は通例水で行われ, 煎剤の量が最初の半分になるまで加熱される<sup>6)</sup>。本報でもこれにならったオープン抽出 (Dec-1) を検討した。また参考までに還流抽出 (Dec-2) でどの程度, 成分の揮散が抑えられるかを調べた。製剤工程で行われる煎剤の濃縮・乾燥は減圧濃縮や凍結乾燥などが利用される。そこでこの 2 つの乾燥法による利用率に与える影響を調べた。

ケイヒの場合, それ自身に含まれる各種成分量が, 2 種類の抽出法 (Dec-1, Dec-2) ならびにそれら抽出液の 2 種類の乾燥法 (Evap-1, Evap-2) によりどのように変化するかを, 利用率としてグラフで示した (Fig. 3)。またこれらの実例をクロマトグラムとして示した (Fig. 4)。

オープン抽出の Dec-1 の場合はケイヒアルデヒドはほとんど気化して煎剤中に残存しない。クマリンやケイヒアルコールは一部揮散していることがわかる。一方, 還流抽出の Dec-2 ではそれらの減少は少なくなっていた。いずれの抽出でもケイヒ酸の利用率は良好であった。

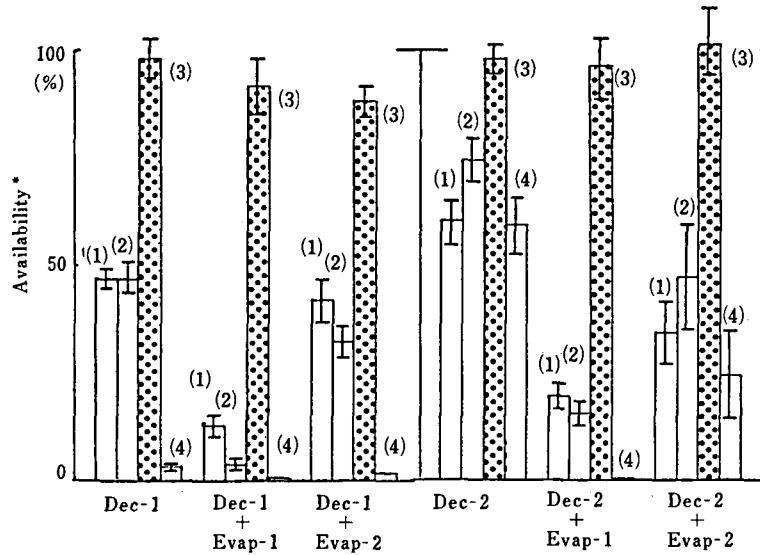


Fig. 3. Availabilities of cinnamon constituents depending on preparations

$$* \text{Availability} = \frac{\text{Content of constituent transferred from drug}}{\text{Content of constituent in drug}} \times 100(\%)$$

Mean  $\pm$  S.D. N=6

The numbers, (1)~(4), are the same as used in Fig. 2.

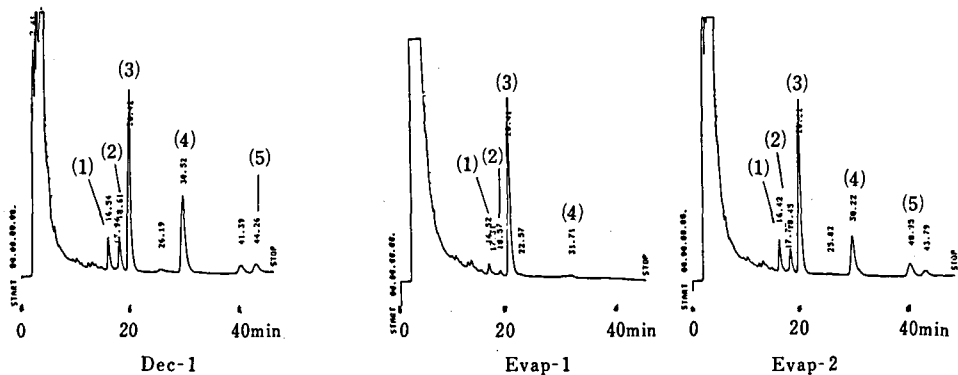


Fig. 4. Chromatogram of cinnamon extract

The decoction by Dec-1 and the extracts by Evap-1 and Evap-2 were analyzed by HPLC. Column: LiChrosorb Rp-18, Detect.: 254 nm Solvent: 30% MeCN·AcOH (100:1) The numbers of the peaks are the same as used in Fig. 2.

抽出液の乾燥法においても、緩和な Evap-2 は Evap-1 に較べて全般に利用率はよかった。またどの乾燥法を採用してもケイヒ酸の利用率は90%以上であり満足するものであった。

#### 4. 各種ケイヒ中のケイヒ酸量

12種類のケイヒについて Dec-1 で抽出し、その抽出液を分析してケイヒ酸量を求めた (Table 1)。その結果、ケイヒ中の含量は0.026~0.173%であり、最も

含量の高いものはベトナム産のものであった。生薬中の成分量については、厚生科学研究<sup>2)</sup>などでいろいろな幅があることがわかっているが、この度のケイヒ酸の含量幅はそれらの変動幅以内にあるように思われた。

#### 5. 五苓散エキス中のケイヒ酸定量的ためのクリーン・アップ

五苓散エキスは水に溶かしたとき、析出物が出やすく、特にここで用いた HPLC 溶媒のように酸性条件



ではその傾向が強く、カラム劣化の原因になりやすい。そこで Sep-pak C-18 カートリッジを用いてクリーン・アップをはかった。その条件設定のための実験を以下に行った。

Dec-1 で得た五苓散煎剤 5 ml に酢酸 0.5 ml を混ぜ、これをカートリッジに負荷させて、次に 10, 10, 30, 50, 60%アセトニトリル溶液各 5 ml を順に流し、各溶出液を分画した。このとき、Fig. 5 に示すようにケイヒ酸は 30~50%アセトニトリル溶出画分に集中し

た。

したがってクリーン・アップ法は、カートリッジに五苓散水溶液 5 ml と酢酸 0.5 ml の混液を負荷させ、10%アセトニトリル 10 ml で洗浄後、50%アセトニトリル 5 ml で溶出した画分を集めた。

6. 五苓散エキス調製に伴う成分利用率の変化

五苓散中の UV 吸収成分の主要なものは、ケイヒ由来の各種成分であって、それらの調製にともなう成分の利用率変化は、Table 2 に示すように、先のケイ

Table 1. Content of *t*-Cinnamic Acid in the Water Extract of Cinnamomi Cortex

Product Place	Ext. amount	Product place	Ext. amount
China	0.26*	China	0.35
China	0.64	China	0.46
China	0.81	Java	0.46
China	0.99	Viet' Nam	1.73
China	0.50	—	0.65
China	0.63	—	0.97

\* mg/1.0 g/100 ml (the acid wt./drug wt./ water soln. vol.)

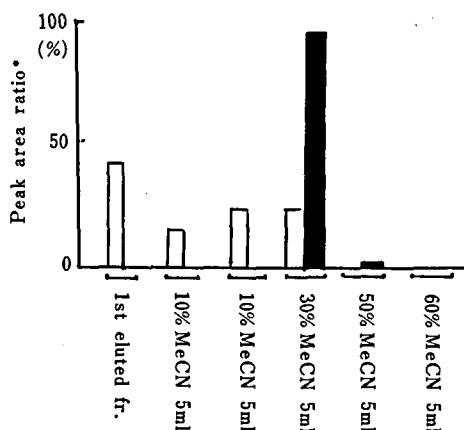


Fig. 5. Clean-up of *t*-cinnamic acid by Sep-pak cartridge

■; with AcOH, □; without AcOH

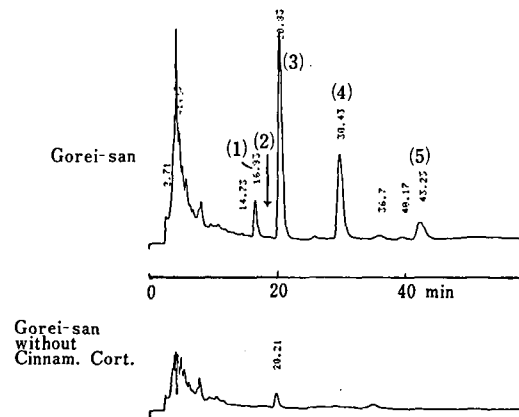


Fig. 6. Chromatogram of Corei-san extract

1) Coumarin, 2) *t*-Cinnamyl alcohol, 3) *t*-Cinnamic acid, 4) *t*-Cinnamaldehyde, 5) *o*-Methoxycinnamaldehyde

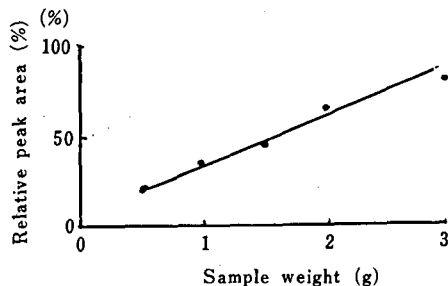


Fig. 7. Extraction of *t*-cinnamic acid from various amounts of Cinnamomi Cortex

Extraction was carried out in the same manner as Dec-1.

Table 2. Availabilities of *t*-Cinnamic Acid in Gorei-san depending on the Preparations

Extraction	Evaporation and drying
Open → Dec-1 96.3 ± 9.2*	Evap-1 96.3 ± 7.6 Evap-2 94.8 ± 6.1
Reflux → Dec-2 96.3 ± 7.7	Evap-2 88.7 ± 6.1 Evap-2 97.9 ± 10.7

\* %, Mean ± S.D. N=6

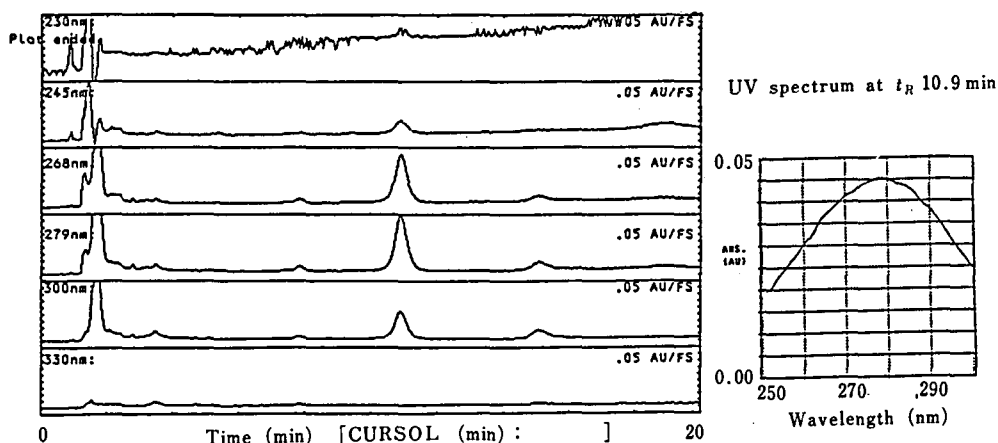


Fig. 8. Analysis of Gorei-san by 3-dimensional HPLC

Preparation of Gorei-san was extd. with acetonitrile and the test soln. was submitted to HPLC.

ヒの場合と同様であって、ここでもケイヒ酸が安定した利用率を示していた。

なお品質を別の観点から見る事ができるエキス収量は、Dec-1+Evap-2 処理のものは  $22.4 \pm 0.9\%$  (5 試料) であり、Dec-2+Evap-2 処理のものは  $20.9 \pm 2.0\%$  (6 試料) であった。

#### 7. ケイヒ抜き五苓散中のケイヒ酸定量

ケイヒ以外の五苓散の構成生薬中にもケイヒ酸が存在するかを知るために本実験を行った。

この時 HPLC の検出は、ケイヒ酸の最大吸収波長で行った。その結果、Fig. 6 で見るとケイヒ酸の保持時間の位置に小さなピークを認めた。このピークは定量には無視できるほどであって五苓散中のケイヒ酸は大部分ケイヒ由来と考えてよいと思われた。

#### 8. ケイヒ酸の生成と分解

ケイヒ酸が製剤化工程で他成分から化学変化で生じたり、またはそれ自身が分解したのでは指標成分としては不適當である。そこでそのことについても検討した。

水 500 ml にケイヒアルデヒド 1.0 g を分散させ、Dec-1 に準じて抽出操作を行って、HPLC を行ったが、ケイヒ酸に相当するピークは認めなかった。

さらに 0.5~3.0 g のケイヒを Dec-2 の方法にしたがって抽出したが、その抽出液中のケイヒ酸量は、Fig. 7 に見るようにケイヒ量に比例していた。

以上ケイヒの抽出操作では本来含まれていたケイヒ酸がそのまま抽出されていると考えられた。

次に五苓散処方にケイヒ酸を添加して抽出する場合について検討した。長時間ロータリーエバポレーター乾燥を行い、完全にケイヒアルデヒドを除去した 1 日

量の五苓散エキスを再び水 250 ml に溶かし、ケイヒ酸 250  $\mu$ g を添加して、Dec-2 に準じて還流抽出をしたとき、ケイヒ酸は 95.4% (3 回試行の平均) 回収された。したがって、ケイヒ酸はこのような抽出過程では分解しないことがわかった。

#### 9. 3次元 HPLC による市販五苓散の分析

市販の五苓散をアセトニトリル抽出をしてその抽出液を 3次元 HPLC を行ったところ、Fig. 8 に示すようにケイヒ酸のピークが認められた。そのピークがケイヒ酸であることは、同装置でピークの UV スペクトルを測定することにより容易にわかった。

ただし市販のエキス剤のように各社で賦形剤の種類が異なるため、今回は製品についての詳しい分析法の検討はしなかった。

## 結 語

ケイヒと五苓散の水抽出液ならびに乾燥エキスを HPLC を用い、各種調製後のケイヒ成分の利用率を求めた。その結果、ケイヒ配合の漢方エキス剤の品質管理用指標成分としてケイヒ酸が候補にできることが明らかになった。

本研究は昭和60、62年度厚生科学研究費の助成を受けた。記して謝意を表する。

## 文 献

- 1) Y. Asakawa, T. Komatsu, S. Hayashi, T. Matsuura: *Flavour Ind.*, **2**, 114 (1971)
- 2) R. ter Heide: *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 749 (1972)
- 3) U. M. Senanayake, T. H. Lee, R. B. H. Wills: *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 822 (1978)
- 4) 石田智恵美, 掛見和郎: 昭和59年度厚生科学研究

- (局方生薬の規格設定に関する研究) 中間報告  
5) 野口 衛：月刊薬事, 25, 2283 (1983)  
6) 原田正敏：日本薬剤師会雑誌, 39, 225 (1987)

- 7) 昭和59~61年度厚生科学研究(局方生薬の規格設定に関する研究)の各報告参照

## 医療用具の放射線滅菌に関する研究(第10報)

ポリサルフォン中空糸型血漿分離器の $\gamma$ 線照射による安定性について

菊池 寛・辻 楠雄・水町彰吾・叶多謙蔵・小嶋茂雄・中村晃忠

### Radiosterilization of Medical Devices X

#### Effects of gamma-Radiation on Chemical and Physical Properties of Polysulfone Capillary Plasma-separator

Hiroshi KIKUCHI, Kusuo TSUJI, Shogo MIZUMACHI, Kenzo KANOHTA,  
Shigeo KOJIMA and Akitada NAKAMURA

Gamma-ray of 1.5, 2.5, 5.0 and 10 Mrad were irradiated on two types of polysulfone capillary plasma-separator, one filled with reverse osmosis water (wet type) and the other without (dry type) and various chemical and physical characteristics were tested.

In reverse osmosis (RO) water irradiated, nonvolatile residue and UV absorption at 220~350 nm increased, whereas pH and the concentrations of ethanol and methanol used in the wetting procedure of the hydrophobic membrane decreased with increasing radiation strength. Potassium permanganate-reducing substances in RO water was most abundant when irradiated at 1.5 Mrad.

In the water extracts of irradiated capillaries, which is extracted at 121°C for 60 min, UV absorption and potassium permanganate-reducing substances increased up to 2.5 Mrad, then decreased at 5 Mrad, and increased again at 10 Mrad. The amount of permanganate-reducing substances and UV absorption in the wet type were significantly larger than those in the dry type at every radiation strength.

Tensile strength and elongation percentage of capillaries decreased with increasing radiation strength, while the magnitude of decrease in the wet type was significantly larger than that in the dry type.

No changes on NMR and IR spectra of polysulfone membrane due to irradiation were observed.

(Received May 30, 1987)

## ま え が き

自己免疫疾患, 血液疾患, 癌など非常に多岐にわたる疾患の治療手段として, 近年, 血液交換療法が注目されている。この療法は, 患者血漿中に存在する有害物質を除去, 浄化することを目的としているものである。患者の血液の中から病因となる高分子量タンパク質を含む血漿を分離・廃棄する。そうすると廃棄血漿中に含まれる種々の有用成分(アルブミン, 補体, 抗凝固因子など)も廃棄されてしまうので, それを補うために, 健康人の新鮮凍結血漿やアルブミン製剤を患者血球と共に患者に返すものである。このような療法に用いるのが膜型血漿分離器である。

通常の膜型血漿分離器は中空糸型であって, 膜素材としてはアセテート, ポリビニルアルコール, ポリ(メチルメタクリレート), ポリプロピレン, ポリエチレ

ン等が用いられている。また, 滅菌法としてはエチレンオキシド(EO)滅菌が一般的である。

他方, 最近になってEOガスの毒性, 特に発癌性が問題<sup>1)</sup>になってきた。そのためにEO滅菌を避け, 放射線滅菌に変換しようとする傾向が出始めている。放射線照射による高分子材料の劣化は大なり小なり避けがたいものであり, 特に圧力のかかる膜型血漿分離器や, 膜型血漿成分分離器については, 慎重に放射線の影響を検討すべきである。

最近, 新たにポリサルフォンを膜素材とした膜型血漿分離器が開発された。この膜型血漿分離器はFig. 1のような形をしており, ケーシングと中空糸の間に逆浸透(RO)水が充填された上, 2.5 Mradの放射線を照射して滅菌されているものである。従来から, ポリサルフォンは放射線に強い素材<sup>2)</sup>とされているが, 水の共存下での放射線の影響は検討されていない。そ

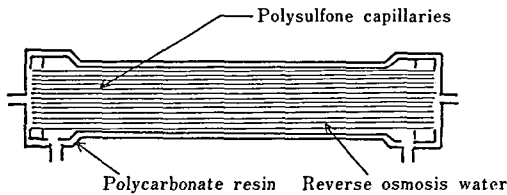


Fig. 1. Polysulfone capillary plasma-separator

ここで水共存下でのポリサルフォンプラスマ分離器の放射線に対する安定性を明らかにする目的で本研究を行った。

## 実験の部

### 1. 試料

ポリサルフォンプラスマ分離器は、長さ 20.5 cm、内径約 3.1 cm のポリカーボネート製のケーシングの内部にポリサルフォンプラスマ分離器 3200 本を収容し、両端をポリウレタン樹脂で固定し、ケーシング内に RO 水を充填したもの（ウエットタイプ、W）である。なお、水と放射線の相乗効果を確認するために、上述の製品の外に、RO 水を充填していないドライタイプのもの（D）およびポリサルフォンプラスマ分離器そのもの（F）についても実験を行い比較した。

試料数は各線量毎に、RO 水充填の製品については 8 本、ドライタイプについては 6 本、ポリサルフォンプラスマ分離器そのものについては 2 束ずつとした。

### 2. 照射線量

試料の照射線量は、既に報告した研究結果<sup>3)</sup>より、一般の医療用具として十分な品質と機能ならびに滅菌効果などが十分に確保されている 2.5 Mrad と低線量の 1.5 Mrad ならびに過酷な線量として 5.0 Mrad および 10 Mrad の 4 段階を選定した。

### 3. 実験方法

#### 3.1. 充填水

$\gamma$ 線照射後のポリサルフォンプラスマ分離器から充填水 100 ml を採取し、日局 XI 輸液用プラスチック容器試験法の溶出物試験法を準拠して次の試験項目を行った。なお、血漿分離器中には約 170 ml の RO 水が充填されていた。

3.1.1. pH、過マンガン酸カリウム還元性物質、紫外外部吸収スペクトル、蒸発残留物質

(1) pH  $\gamma$ 線照射後の充填水をそれぞれ 10 ml をとり、pH を測定した。

(2) 過マンガン酸カリウム還元性物質 (1) と同様にそれぞれ試験溶液 10 ml をとり、0.01N 過マンガン酸カリウム消費量を測定した。

(3) 紫外外部吸収スペクトル (1) と同様に得た各々

の試験溶液 10 ml をとり、220, 240, および 350 nm の吸光度を測定した。

(4) 蒸発残留物 (1) と同様にして得た各々の試験液 100 ml を蒸発皿に取り、日局 XI にしたがって蒸発残留物を測定した。

#### 3.1.2. エタノール、メタノールの定量

ポリサルフォンプラスマ分離器はその親水化プロセス中にエタノール処理を行っているため、充填水中にエタノールが存在する。その  $\gamma$ 線照射による変化を検討するために、ガスクロマトグラフィー (GLC) でエタノールの定量を行った。

また、充填水中にメタノールの存在が認められたのでメタノールについても定量を行った。

GLC の分析条件は次の通りである。

カラム; Tenax GC (60-80メッシュ)

3 mm i.d. x 1 m

カラム温度; 70°C (エタノール), 65°C (メタノール)

検出器; FID

検出器, 注入口温度; 140°C

キャリアーガス; 窒素 (20 ml/min)

#### 3.1.3. ホルムアルデヒドの定量

充填水中にメタノールが認められたので、 $\gamma$ 線の照射によりホルムアルデヒドの生成も考えられるので、アセチルアセトン法<sup>4)</sup>によりホルムアルデヒドの定量を行った。

#### 3.1.4. 充填水中のビスフェノール A の分析

$\gamma$ 線の照射によりポリサルフォンプラスマ分離器からビスフェノール A の生成も推定されるので、充填水中のビスフェノール A を高速液体クロマトグラフィーによって分析を行った。分析条件は次の通りであった。

カラム; Nucleosil 5C-18, 4.6 mm i.d. x 25 cm

液相; 70%アセトニトリル (1 ml/min)

検出器; UV 254 nm

### 3.2. ポリサルフォンプラスマ分離器

RO 水の充填されている血漿分離器は、RO 水を十分に流出させたのち、血漿分離器両端を切断し湿潤している中空糸を 60°C の温風乾燥器で完全に乾燥させ (W)、また、充填水を含まない血漿分離器は、その両端を切断し、内部の中空糸を取り出した (D)。血漿分離器に入っていない中空糸はそのままの状態を試料とした (F)。

この中空糸は、見かけ比重が軽いので、サンプリング量を 1.0 g とした。

3 種の中空糸を各照射線量毎に約 1 cm の長さに切り取り、その 1.0 g を正確に秤り水 100 ml のはいている 200 ml の三角フラスコに加え、オートクレー

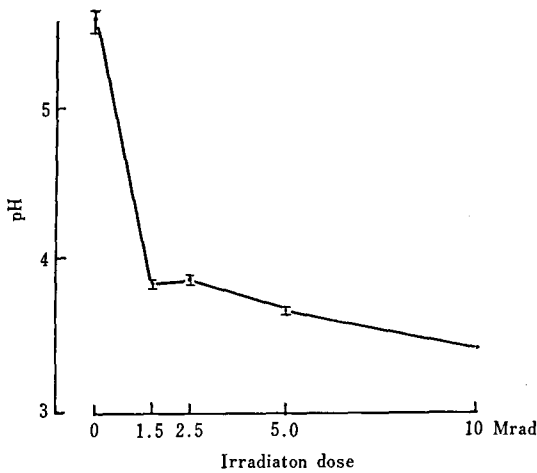


Fig. 2. Relation between irradiation dose and pH of the reverse osmosis water filled in the separator

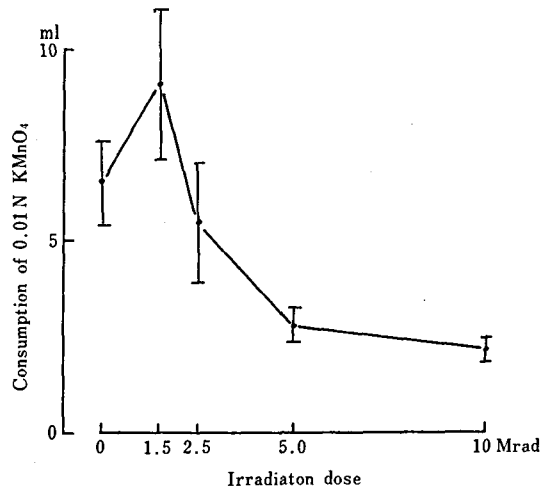


Fig. 3. Relation between irradiation dose and potassium permanganate reducing substances in the reverse osmosis water filled in the separator

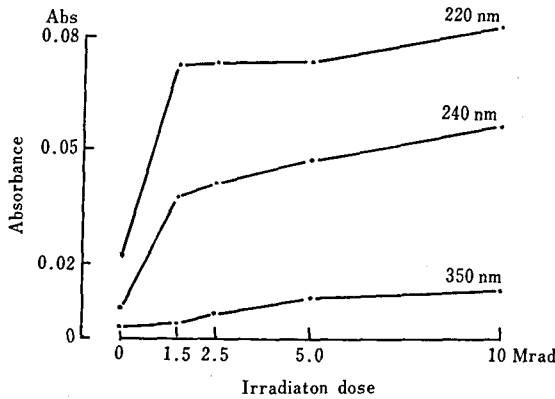


Fig. 4. Relation between irradiation dose and UV absorbance of the reverse osmosis water filled in the separator

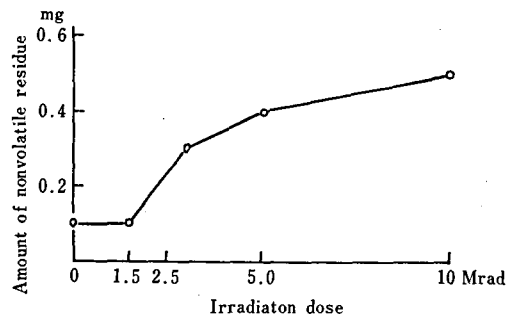


Fig. 5. Relation between irradiation dose and amount of nonvolatile residue in the reverse osmosis water filled in the separator

ブ中で 121°C 60分間加熱する。室温にて冷却後、ろ紙を用いてろ過し、ろ液を試験液とした。

試験法は、日局XI輸液用プラスチック容器試験法の溶出物試験法を準用した。

### 3.2.1. 溶出物試験

(1) pH, W, D, F, の3種の溶出液を照射線量毎にそれぞれ 10 ml とり、 $\gamma$ 線照射による液性の変化を見るために pH を測定した。

(2) 過マンガン酸カリウム還元性物質 (1) と同様に各々の試験液 10 ml をとり、 $\gamma$ 線照射による過マンガン酸カリウム消費量の変化を定量した。

(3) 紫外外部吸収スペクトル (1) の方法で、それぞれ試験液 10 ml をとり、 $\gamma$ 線照射による紫外外部吸収ス

ペクトルの変化を 220, 240 および 350 nm で測定した。

(4) 蒸発残留物 (1) の方法で、各々の試験液 100 ml をとり $\gamma$ 線照射による試験液中の蒸発残留物を測定した。

### 3.2.2. $\gamma$ 線照射後の中空糸の引張り強さ、伸び

実験に用いた中空糸は 3.2 と同様の操作により採取した。試料本数は 1 血漿分離器につき 10 本とし、各線量毎に RO 水が充填されているものについては 8 血漿分離器、ドライタイプのものについては 6 血漿分離器とした。

試験用中空糸は、表面に傷のない中空糸を選び、長さ 10 cm に切り取り、標点距離を 5 cm として、20

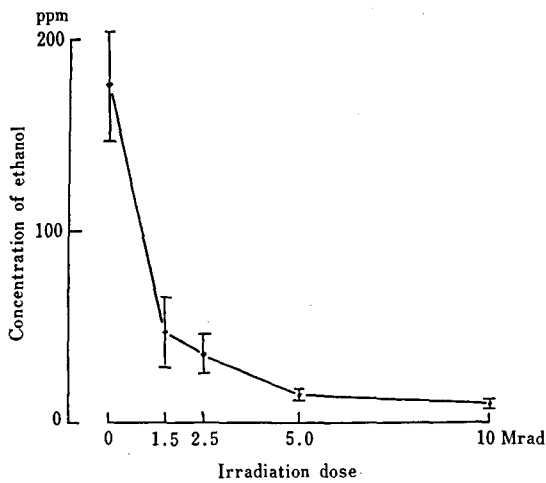


Fig. 6. Relation between irradiation dose and concentration of ethanol in the reverse osmosis water filled in the separator

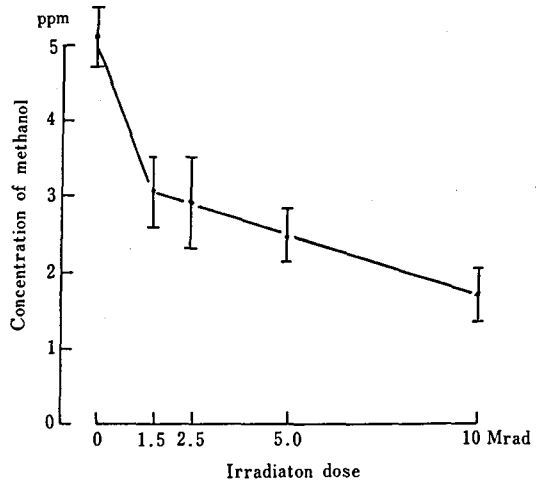


Fig. 7. Relation between irradiation dose and concentration of methanol in the reverse osmosis water filled in the separator

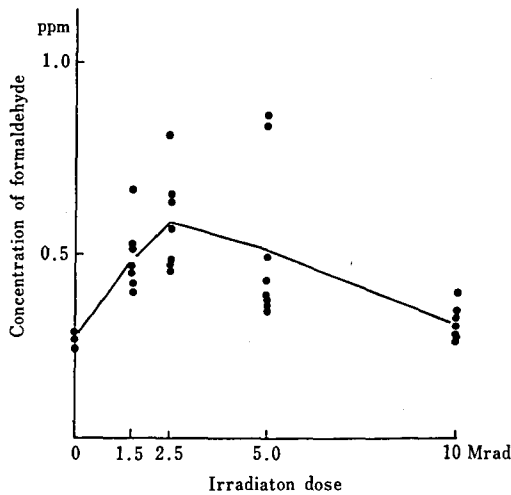


Fig. 8. Relation between irradiation dose and concentration of formaldehyde produced from alcohols in the reverse osmosis water filled in the separator

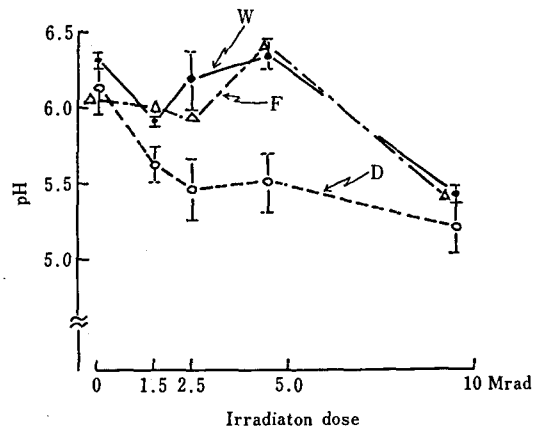


Fig. 9. Relation between irradiation dose and pH of the aqueous extract from polysulfone capillaries

W: cut out from the separator filled with RO water  
D: cut out from the separator without RO water  
F: capillaries sampled before assembling

mm/min の速さで引張り強さと伸びを測定した。

### 3.2.3. $\gamma$ 線照射による中空糸の色彩の変化

高分子材料は一般に $\gamma$ 線照射により、架橋あるいは分解などともなって色彩に変化を生じることが知られている。今回は、 $\gamma$ 線照射の中空糸そのもの(F)の色差を測定した。

### 3.2.4. $\gamma$ 線照射後の中空糸の核磁気共鳴スペクトル

中空糸を重水素化クロロホルムに溶かし、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルおよび $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルを測定した。

### 3.2.5. $\gamma$ 線照射後の赤外吸収スペクトル

中空糸をクロロホルムに溶かし、岩塩板上に滴下してクロロホルムを揮散させてフィルムを作り、IRスペクトルを測定した。

## 4. 実験結果

### 4.1. 充填水

$\gamma$ 線照射後、血漿分離器から採取した充填水の溶出物試験の結果は、次の通りである。

4.1.1. pH, 過マンガン酸カリウム消費量, 紫外外部吸収スペクトル, 蒸発残留物。

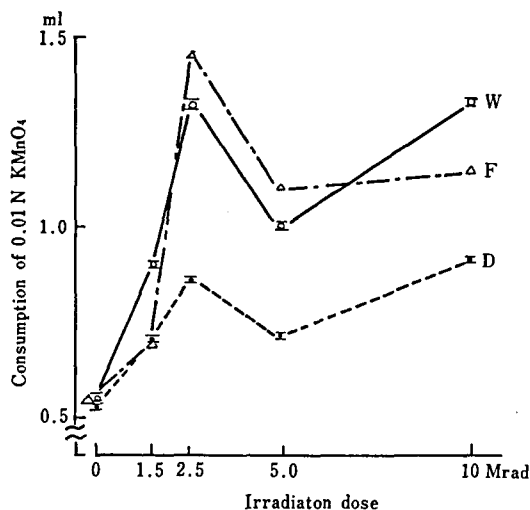


Fig. 10. Relation between irradiation dose and potassium permanganate reducing substances in the aqueous from polysulfone capillaries

W: cut out from the separator filled with RO water  
 D: cut out from the separator without RO water  
 F: capillaries sampled before assembling

(1) pH 充填水の pH は、未照射に比べ線量の増加に伴い pH は低下し、特に 1.5 Mrad で急激に酸性を示し、それ以上の線量では緩やかな pH の低下を示した (Fig. 2).

(2) 過マンガン酸カリウム消費量  $\gamma$ 線の照射線量の増加にともない、過マンガン酸カリウム消費量も減少の傾向にあったが、1.5 Mrad のみは増加が認められた (Fig. 3).

(3) 紫外外部吸収スペクトル  $\gamma$ 線照射後の充填水の紫外外部吸収スペクトルは、1.5 Mrad の照射で、吸収が大きく変わるがそれ以上の線量では、わずかな増加であった (Fig. 4).

(4) 蒸発残留物  $\gamma$ 線照射後の充填水の蒸発残留物は、未照射、1.5 Mrad までは変化がみられなかったが、線量の増加に伴い、蒸発残留物も増加を示した (Fig. 5).

#### 4.1.2. エタノール・メタノールの定量

充填水中に溶出したエタノールは約 180 ppm 程度であったが、1.5 Mrad の照射で急激に減少し、それ以上の線量では、徐々に減少していった (Fig. 6).

また、充填水中のメタノールはエタノールに比べて、その濃度は低い、やはり 1.5 Mrad の照射で急激に減少し、それ以上の線量では、緩やかな減少であった (Fig. 7).

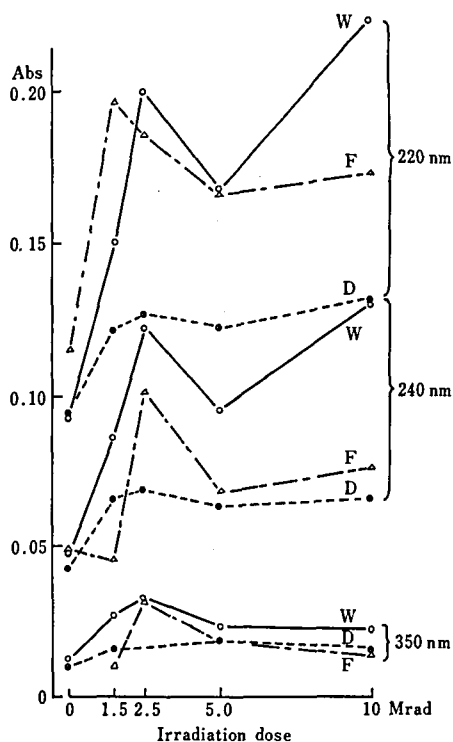


Fig. 11. Relation between irradiation dose and UV absorbance of the aqueous extract from polysulfone capillaries

W: cut out from the separator filled with RO water  
 D: cut out from the separator without RO water  
 F: capillaries sampled before assembling

#### 4.1.3. ホルムアルデヒドの定量

$\gamma$ 線照射後の充填水中のホルムアルデヒドの生成は、2.5 Mrad の照射で最高濃度を示し、さらに高線量になると減少した。未照射と 10 Mrad では、ほぼ同濃度であった (Fig. 8).

#### 4.1.4. ビスフェノール A

いずれの照射線量においてもビスフェノール A の生成は認められなかった。

### 4.2. ポリサルフォン中空糸

#### 4.2.1. 溶出物試験

(1) pH, W, D, F の 3 種の種の中空糸の  $\gamma$ 線照射による pH の変動は少なく、10 Mrad の照射でわずかに酸性側によっていった (Fig. 9).

(2) 過マンガン酸カリウム還元性物質。乾燥状態にあった D, F の中空糸と充填水に充滿していた W の中空糸では、過マンガン酸カリウム消費量に差異が認められ、充填水のあった場合の方が、その消費量が多かった。 $\gamma$ 線の照射量を変えると、ドライでもウエット

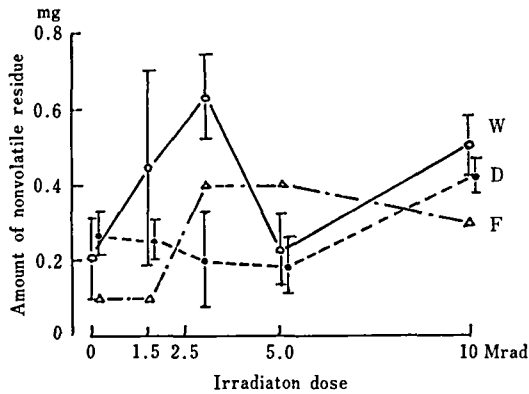


Fig. 12. Relation between irradiation dose and amount of nonvolatile residue in the aqueous extract from polysulfone capillaries

W: cut out from the separator filled with RO water  
 D: cut out from the separator without RO water  
 F: capillaries sampled before assembling

でも 2.5 Mrad で減少し、10 Mrad で増加という同じ傾向を示した (Fig. 10).

(3) 紫外外部吸収スペクトル W, D, F の中空糸溶出液の 220, 240, 350 nm の紫外外部吸収スペクトルは、その吸光度は短波長ほど大きく、3 種の中空糸溶出液では、W がいずれも大であり、また、何れも 1.5 あるいは 2.5 Mrad に最大吸光度を示した (Fig. 11).

(4) 蒸発残留物 W, D, F の中空糸溶出液 100 ml 中の蒸発残留物は、充填水中にあった W の中空糸溶出液が D に比べて多く、また、W, F では 2.5 Mrad で最高値を示した (Fig. 12).

#### 4.2.2. $\gamma$ 線照射後の中空糸の引張り強さと伸び

$\gamma$ 線照射後の中空糸の引張り強度ならびに伸びは、照射線量の増加に伴っていずれも減少して行くことが認められたが、D と W では充填水に浸漬されていたためか、W の方が強度は弱く伸びも少ないことが明らかになった (Fig. 13, 14).

#### 4.2.3. $\gamma$ 線照射後の中空糸の色彩の変化

中空糸 (F) に  $\gamma$ 線を照射した場合の色彩の変化は Table I の通りである。L\* は、照射線量にほとんど無関係であるが、a\* は 1.5 Mrad 以上では青方向に移動し、b\* では照射量の増加に伴い黄色方向に移動している。しかし、2.5 Mrad については変則的で、未照射よりも白色の方向によっているのが特異的であった。

#### 4.2.4. $\gamma$ 線照射後の中空糸の核磁気共鳴スペクトル

$^1\text{H}$ -NMR および  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルには  $\gamma$ 線照

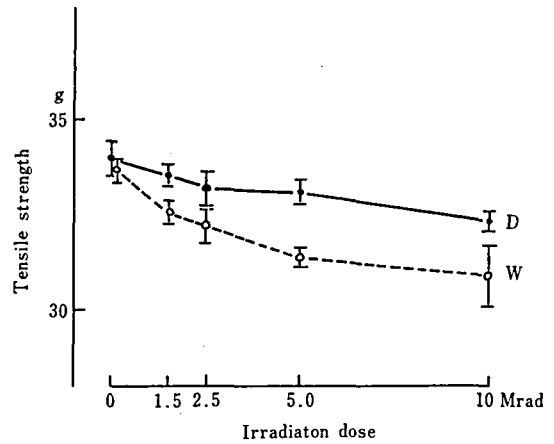


Fig. 13. Relation between irradiation dose and tensile strength of polysulfone capillaries

test speed: 20 mm/min length of capillary: 80 mm, R.H.: 60%

W: cut out from the separator filled with RO water  
 D: cut out from the separator without RO water

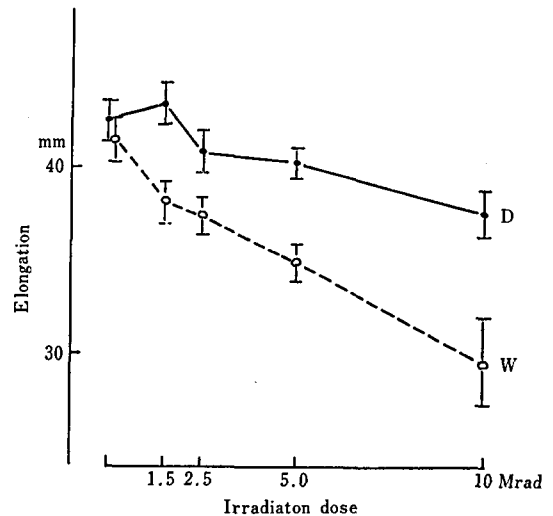


Fig. 14. Relation between irradiation dose and elongation of the polysulfone capillaries

test speed: 20 mm/min length of capillaries: 80 mm, R.H.: 60%

W: cut out from the separator filled with RO water  
 D: cut out from the separator without RO water

射による変化はなかった。

#### 4.2.5. $\gamma$ 線照射後の中空糸の赤外スペクトル

IR スペクトルにも  $\gamma$ 線照射による変化はなかった。



Table 1. Relation between irradiation dose and color difference of polysulfone capillaries

Color difference	Irradiation dose Mrad				
	0	1.5	2.5	5.0	10
L*	96.02	95.3	95.62	95.2	95.57
a*	-0.04	-0.03	-0.03	-0.11	-0.24
b*	+0.05	+0.11	+0.01	+0.52	+0.85

## 結 語

医療用具の放射線滅菌は通常 2.5 Mrad 照射されている。この線量は滅菌が充分確保される量であるが、高分子材料によっては、その影響を免れる事が出来ないこともある。今回のポリサルフォン中空糸についても、2.5 Mrad の $\gamma$ 線照射により、一部にその影響がみられた。特に、溶出物試験では、従来の高分子材料では試料 15g に対し水 150 ml を溶出条件としているが、このポリサルフォン中空糸は見かけ比重が軽いので、試料 1g に精製水 100 ml で溶出を行っているため、通常の方法よりも約 1/10 のサンプリング量でしか実験を行わざるを得なかった。

この結果、例えば過マンガン酸カリウム消費量についても、もし規定の方法が可能ならばその数値はもっと増大して行くことが推定される。よって、この溶出物試験法の結果をもって、従来の高分子材料の実験結果と直接比較することは当を得ないものと思う。また、 $\gamma$ 線の照射によってポリサルフォン中空糸を収容しているポリカーボネートは、照射線量の増加に伴い、その着色は著しかった。

ポリサルフォン中空糸を用いた血漿分離器に $\gamma$ 線を未照射と 1.5, 2.5, 5.0, 10 Mrad 照射したものについて検討したところ、次のような結果を得た。

(1) 血漿分離器中の充填水の pH は、照射線量の増加に伴い 1.5 Mrad で急激に酸性側に移行し、それ以上の線量では、pH の低下は緩やかであった。この事は、1.5 Mrad の照射時のエタノールおよびメタノール濃度の急激な低下と符合する。また、それに伴ってホルムアルデヒドの増加が認められたが、ホルムアルデヒドの生成は、2.5 Mrad で最高濃度を示し、それ以上の線量では、分解などにより減少していった。すなわち、充填水の pH の減少は主にエタノールなどのアルコールの分解によって生じた酸に起因するものと

思われる。

また、紫外外部吸収スペクトル、蒸発残留物は照射線量にともなう、いずれも漸増の傾向にあった。

(2) ポリサルフォン中空糸 3 種 (D, W, F) の溶出液では、pH の照射線量による差異はわずかであったが、過マンガン酸カリウム消費量、紫外外部吸収スペクトル、蒸発残留物について、何れも 2.5 Mrad でピークが認められた。

(3)  $\gamma$ 線照射による中空糸の色彩変化は、線量の増加にともない青方向、黄色方向に移動して行くが、2.5 Mrad のみは変則的に白方向に寄っていった。

(4) 充填水中にあった中空糸と乾燥状態の中空糸の溶出液では、照射線量における pH の差異は認められなかったが、過マンガン酸カリウム消費量、蒸発残留物とも充填水中にあった中空糸の方が多く、紫外外部吸収スペクトルの吸光度も大であった。

(5) 中空糸の引張り強度、伸びについては、充填水中にあった中空糸は、乾燥状態の中空糸に比べて、強度、伸びとも有意に減少し、その減少は照射線量に依存していた。本研究は、昭和60年度国立機関原子力試験研究費によった。

終わりに、本研究にご協力を頂いた鐘淵化学工業株式会社に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) Christer Hogstedt *et al.*: Epidemiologic Support for Ethylen oxide as a Cancer-Causing Agent, *J.A.M.A.*, **255**, 1575 (1986)
- 2) 化学工業日報社：エンジニアリングプラスチック, p. 229 (1983)
- 3) 辻 楠雄ら： $\gamma$ 線照射による PHEMA コーティングした活性炭の化学的、物理的性質の変化ならびに滅菌効果について；衛生試験, **100**, 48 (1982)
- 4) 昭和49年 9月26日厚生省令第34号（有害物質を含む家庭用品の規制に関する法律施行規則）別表第 1

## 塩化ベンザルコニウム投与の妊娠マウスに及ぼす影響

門馬純子・高田幸一・会田喜崇・高木篤也・吉本浜子  
鈴木康雄・中路幸男・黒川雄二・戸部満寿夫

## Effects of Benzalkonium Chloride on Pregnant Mice

Junko MOMMA, Koichi TAKADA, Yoshitaka AIDA, Atsuya TAKAGI, Hamako YOSHIMOTO,  
Yasuo SUZUKI, Yukio NAKAJI, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE

Benzalkonium chloride (BK-Cl), which is known as one of the cationic surfactants, was examined for its effects on both dams and fetuses of mice.

In the first experiment, relatively high doses of BK-Cl (3, 10 and 30 mg/kg) were given by gavage daily at an early stage of pregnancy (0-6 days). Animals were sacrificed on the 13th day. Significant changes were not found in body weight, food consumption and general appearance in dams. Also the number of implantations, number of live fetuses, sex ratio and body weight in fetuses were not significantly changed. However, there was a tendency toward a slight decrease in the pregnancy rate of dams in the groups treated with 10 and 30 mg/kg and a slight increase in the number of dead or resorbed fetuses in the group treated with 30 mg/kg.

In the second experiment, groups of animals were treated with BK-Cl at the lower doses (1, 50 and 100  $\mu$ g/kg) during pregnancy (0-6 days), while other groups were treated with 1 and 50  $\mu$ g/kg throughout the entire pregnant period (0-18 days). Significant changes were not observed in both treated groups when compared with controls for dams and fetuses.

These results indicate that BK-Cl can cause implantation disturbance and/or abortion at a relatively high dose (30 mg/kg) but that it has no effect on reproductive functions at lower dose levels (less than 100  $\mu$ g/kg).

(Received May 30, 1987)

## 緒言

界面活性剤は、洗剤を始め繊維、金属、皮革、医薬品、塗料、写真、食品、などに広く利用されており、その種類も少なくない。

我々は、殺菌、消毒剤として用いられている第4級アンモニウム塩の陽イオン界面活性剤（逆性石鹸）である Benzalkonium Chloride（塩化ベンザルコニウム；以下 BK-Cl と略す）の安全性を調べる目的で、マウスを用い、妊娠に及ぼす影響について検索した。

## 実験方法

## 1. 被験物質

BK-Cl は日本薬局方 50% 塩化ベンザルコニウム液（市販サニゾール C, KAO-ATLAS 社製, Lot. No. 1343）を使用した。投与に際し、精製水で設定濃度に希釈して投与した（1  $\mu$ g~30 mg/kg/20 ml/day）。構造式を Fig. 1 に示す。

## 2. 使用動物および飼育条件

動物は7週齢の ICR/JCL 系 SPF マウス（静岡実

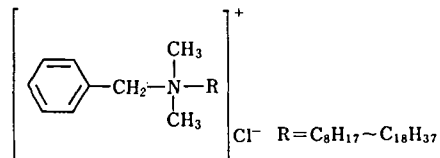


Fig. 1. Chemical structure of benzalkonium chloride

験動物農業協同組合）雌（27~29 g）および雄（30~32 g）を使用した。雌雄とも2週間の予備飼育を行った後実験に供した。

動物は室温  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度  $55 \pm 5\%$ 、午前5時から午後5時まで、12時間の人工照明下に制御された飼育室内で、マウス飼育用固型飼料（船橋農場製 MM-1）と水道水を自由に摂取させて飼育した。

## 3. 交配方法

妊娠母体を得るために8週齢の未経産雌と雄（2:1）を一夜（約16時間）同居させて交配し、翌朝腔栓形成の認められたものを妊娠母体とみなし、マウス用プラスチック製ケージにて個別飼育した。なお、この腔栓形成の認められた日を妊娠0日として起算した。

#### 4. 統計処理

実験成績は母体を評価の単位として、母マウスの妊娠率には  $\chi^2$  検定<sup>1)</sup>、母マウスの体重、摂餌量、着床数、生存胎仔数および生存胎仔体重は、等分散を Bartlett<sup>2)</sup> の方法で検定し、等分散の場合は一元配置の分散分析<sup>3)</sup> を行い、等分散でない場合は、Kruskal-Wallis<sup>3)</sup> の方法によって順位と検定を行った。群間に有意性が認められた場合の多重比較は、例数が揃っている場合は Dunnett 型<sup>4,5)</sup> で、不揃いの場合は Scheffé 型<sup>6)</sup> で、それぞれ対照群と各処置群との有意差検定を行った。さらに、胎仔の死亡率（死亡吸収胚数）には順位和検定<sup>7)</sup> を用いた。

#### 実験 I. 高濃度における影響

##### 妊娠初期投与の母体および胎仔に及ぼす影響

###### a. 薬物の投与濃度および投与方法

BK-Cl の投与濃度は、マウスでの経口 LD<sub>50</sub> 値が 340 mg/kg と報告<sup>8)</sup> されていること、また、我々が行った予備実験で、50 mg/kg 投与群に死亡および不妊動物が認められたことなどを参考にし、LD<sub>50</sub> 値の 1/10 量を最高濃度とし、3、10 および 30 mg/kg の 3 用量とした。対照群には精製水を投与した。投与は 1 群 9～12 匹の妊娠マウスに対し、妊娠 0 日から 6 日目までの 7 日間、1 日 1 回胃ゾンデを用いて強制経口投与を行った。

###### b. 観察ならびに検査項目

母体については、各群とも妊娠 13 日目まで毎日、一般状態の観察、体重および摂餌量の測定を行った。また、各群の全妊娠母体は妊娠 13 日目にエーテル麻酔下で開腹し、主要臓器を肉眼的に観察した後、子宮を摘出し、重量を測定後直ちに切開して、着床数、生存胎仔数ならびに死亡吸収胚数とその状態を観察した。なお、生存胎仔については、個別に体重を測定し、さらに、外形異常の有無を調べた。

#### 実験 II. 低濃度における影響

##### 1. 妊娠初期投与の母体および胎仔に及ぼす影響

###### a. 薬物の投与濃度および投与方法

BK-Cl の投与濃度は、日本薬局方（第 10 改正）に掲載されていた最低適用濃度（0.0025～0.005%）を参考にし、0、1、50 および 100  $\mu$ g/kg とした。対照群には精製水を投与した。投与方法および投与期間については、実験 I の a と同様に行った。なお、1 群 5～7 匹の妊娠マウスを用いた。

###### b. 観察ならびに検査項目

母体の観察および胎仔の観察については実験 I の b

と同様に行った。

#### 2. 妊娠全期間投与の母体および胎仔に及ぼす影響

##### a. 薬物の投与濃度および投与方法

BK-Cl の投与濃度は、0、1 および 50  $\mu$ g/kg とし、対照群には精製水を投与した。投与方法は、実験 I の a と同様に行った。なお、投与は各群 20 匹の妊娠マウスに対し、妊娠 0 日から 18 日目までの妊娠全期間にわたって行った。

##### b. 観察ならびに検査項目

母体については、各群とも妊娠全期間を通して、一般状態の観察、体重および摂餌量の測定を行った。また、各群の全妊娠母体は分娩予定日の前日（妊娠 18 日目）にエーテル麻酔下で開腹し、主要臓器および胎仔の観察を実験 I の b（性別の判定が加わる）と同様に行った。

## 実験結果

#### 実験 I. 高濃度における影響

##### 妊娠初期投与の母体および胎仔に及ぼす影響

###### 1. 母体に及ぼす影響

###### a. 一般状態ならびに死亡

対照群および各処置群とも一般状態に著変は認められず、また、死亡例も認められなかった。

###### b. 体重の推移

Fig. 2 に各群の母体平均体重の推移を示した。各処置群においても対照群同様、順調な体重増加を示し、各群間に差は認められなかった。

###### c. 摂餌量の推移

対照群および各処置群とも 5～8 g の摂餌量を示し、差は認められなかった。

###### d. 妊娠率

Table 1 に示すように、膣栓 (plug) が認められたマウスで、その後妊娠を確認できた母体は、対照群では 91.7%、3 mg/kg 群では 100% であった。一方、10 mg/kg 群では 70.0%、30 mg/kg 群では 60.0% と

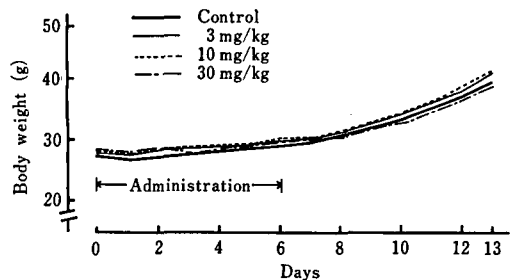


Fig. 2. Effects of benzalkonium chloride on body weight of pregnant mice

Table 1. Effects of benzalkonium chloride at high doses on the fetuses and dams of pregnant mice

Dose (mg/kg)	0	3	10	30
No. of females with vaginal plug	12	9	10	10
No. of dams confirmed implantation (rates of pregnancy)	11 (91.7)	9 (100)	7 (70.0)	6 (60.0)
No. of implantations (mean±S.D)	152 (13.82±1.66)	125 (13.89±2.32)	106 (15.14±1.68)	87 (14.50±1.97)
No. of live fetuses (mean±S.D)	136 (12.36±2.01)	119 (13.22±2.59)	100 (14.29±2.29)	72 (12.00±5.29)
Body weight of fetuses (mean±S.D) (mg)	(156.4±16.3)	(156.7±15.0)	(177.1±46.8)	(183.3±67.7)
No. of dead or resorbed fetuses (%)*	16 (10.5)	6(4.8)	6(5.7)	15 (17.2)
early death	15	5	6	14
late death	1	1	0	1

\*: (%) indicates the ratio to total implantations.

減少を示したがいずれも統計学的に有意の差を認めなかった。

#### e. 剖検所見および子宮重量

各群において主要臓器に異常は認められなかった。また、胎子を含む子宮重量にも差を認めなかった。

#### 2. 胎子に及ぼす影響

Table 1 に示すように、着床数および生存胎子数については、対照群と各処置群との間に有意な差を認めなかったが、生存胎子平均体重では 10 および 30 mg/kg 群においてむしろ増加傾向を示した。また、死亡吸収胚数については 30 mg/kg 群で増加傾向がみられたが、対照群と比較して有意な差は認められなかった。なお、外形異常はいずれの群にも全く認められなかった。

### 実験 II. 低濃度における影響

#### II-1. 妊娠初期投与の母体および胎子に及ぼす影響

##### 1. 母体に及ぼす影響

###### a. 一般状態ならびに死亡

対照群および処置群とも一般状態に著変は認められず、また、死亡例も認められなかった。

###### b. 体重の推移

Fig. 3 に各群の母体平均体重の推移を示した。各処置群においても、対照群同様、順調な体重増加を示し、各群間に差は認められなかった。

###### c. 摂餌量の推移

対照群および各処置群とも 5~8g の摂餌量を示し、差は認められなかった。

###### d. 妊娠率

Table 2 に示すように、妊娠を確認できた母体は、

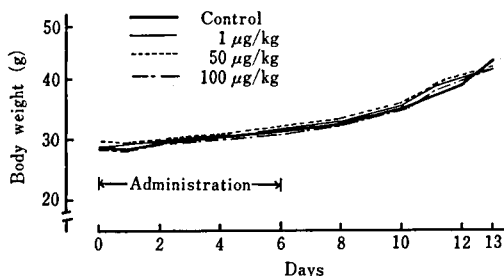


Fig. 3. Effects of benzalkonium chloride on body weight of pregnant mice

対照群で 71.4%、1 および 100 µg/kg 群で 80.0%、50 µg/kg 群では 100% であり、対照群と各処置群との間に有意差は認められなかった。

#### e. 剖検所見および子宮重量

各群において主要臓器に異常を認めなかった。また、胎子を含む子宮重量においても差を認めなかった。

#### 2. 胎子に及ぼす影響

Table 2 に示すように、着床数、生存胎子数、生存胎子平均体重および死亡吸収胚数は対照群と各処置群との間に有意な差を認めなかった。また、外形異常も認められなかった。

#### II-2. 妊娠全期間投与による母体および胎子に及ぼす影響

##### 1. 母体に及ぼす影響

###### a. 一般状態ならびに死亡

対照群および処置群とも一般状態に著変は認められず、また、死亡例も認められなかった。

###### b. 体重の推移

Fig. 4 に各群の母体平均体重の推移を示したが、各

Table 2. Effects of benzalkonium chloride at low doses on the fetuses and dams of pregnant mice

Dose ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	0	1	50	100
No. of females with vaginal plug	7	5	5	5
No. of dams confirmed implantation (rates of pregnancy)	5 (71.4)	4 (80.0)	5 (100)	4 (80.0)
No. of implantations (mean $\pm$ S.D)	72 (14.40 $\pm$ 3.13)	63 (15.75 $\pm$ 2.06)	79 (15.80 $\pm$ 1.48)	60 (15.00 $\pm$ 1.41)
No. of live fetuses (mean $\pm$ S.D)	66 (13.20 $\pm$ 3.27)	56 (14.00 $\pm$ 2.45)	75 (15.00 $\pm$ 3.02)	55 (13.75 $\pm$ 1.26)
Body weight of fetuses (mean $\pm$ S.D) (mg)	(161.2 $\pm$ 9.31)	(155.3 $\pm$ 10.8)	(163.0 $\pm$ 12.0)	(169.0 $\pm$ 18.4)
No. of dead or resorbed fetuses (%)	6 (8.3)	7 (11.1)	4 (5.1)	5 (8.3)
early death	5	7	4	3
late death	1	0	0	2

\*: (%) indicates the ratio to total implantations.

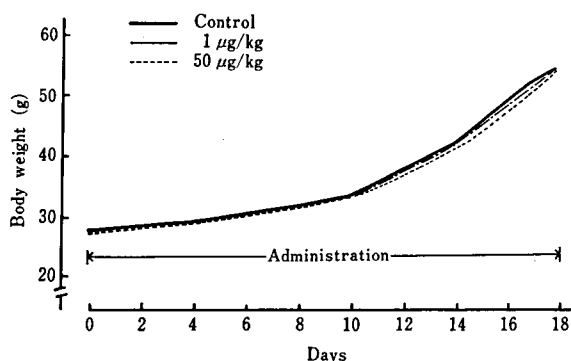


Fig. 4. Effects of benzalkonium chloride on body weight of pregnant mice

処置群は対照群と同様な体重増加を示し、各群間に差は認められなかった。

#### c. 摂餌量の推移

対照群および各処置群とも 5~8g の摂餌量を示し、差は認められなかった。

#### d. 妊娠率

Table 3 に示すように、対照群85.0%に対し、1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群では75.0%と減少がみられたが、50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群では90.0%であり、各処置群と対照群との間に有意の差は認められなかった。

#### e. 剖検所見および子宮重量

各群において主要臓器に異常を認めなかった。また、胎子を含む子宮重量においても差を認めなかった。

#### 2. 胎子に及ぼす影響

Table 3 に示すとおり、着床数、生存胎子数、生存胎子体重および死亡吸収胚数は各処置群とも対照群との間に差は認められなかった。なお、外形異常として、

対照群および 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群に眼瞼開離が各々 1 例ずつに認められたがその出現率は我々の研究室におけるバックグラウンドデータの範囲内であった。

### 考 察

BK-Cl の毒性に関しては、急性毒性、亜急性毒性ならびに慢性毒性について多くの報告がみられるが、生殖機能に対する毒性についての報告は見当たらない。BK-Cl の経口急性毒性は、LD<sub>50</sub> 値がマウスでは 340 mg/kg<sup>8)</sup>、ラットでは 400 mg/kg<sup>9)</sup> とされている。いずれの動物においても急性および亜急性毒性の一般状態として摂餌量の低下、下痢などがみられており、また、死亡動物の剖検所見においては、胃や腸の粘膜に対し刺激性が認められている。ラットの慢性毒性においても同様に胃、腸粘膜に対し刺激性を現わすが、0.25%以下の量では体重減少や胃腸障害は認められないとの報告がある<sup>10)</sup>。

今回実施した BK-Cl の高濃度における影響の実験では、LD<sub>50</sub> 値の 1/10 量を最高濃度とし、各々、3、10 および 30 mg/kg を設定した。なお、50 および 100 mg/kg を妊娠マウスに投与した我々の予備実験で、50 mg/kg の投与では 3 匹中 1 例、100 mg/kg 投与では 3 匹中 2 例が死亡し、さらに、残りの動物では腔栓が認められたにもかかわらず、子宮内に胎子および付属物の痕跡もなく、また、子宮壁に着床痕跡も認められなかった。

BK-Cl は消化管粘膜以外に対しても刺激性のあることが知られており、ウサギを用いた試験ではその閾値が皮下で 0.0833%、眼粘膜で 0.0208% と報告されている<sup>11)</sup>。しかし、ヒトでは 0.01% でも障害があること

Table 3. Effects of benzalkonium chloride at low doses on the fetuses and dams of pregnant mice

Dose ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	0	1	50
No. of females with vaginal plug	20	20	20
No. of dams confirmed implantation (rates of pregnancy)	17 (85.0)	15 (75.0)	18 (90.0)
No. of implantations (mean $\pm$ S.D)	226 (13.29 $\pm$ 3.62)	215 (14.33 $\pm$ 2.16)	236 (13.11 $\pm$ 3.14)
No. of live fetuses (mean $\pm$ S.D)	207 (12.18 $\pm$ 4.03)	189 (12.60 $\pm$ 2.38)	214 (11.89 $\pm$ 3.03)
Sex ratio (male/female)	96/111	95/94	113/101
Body weight of fetuses (mean $\pm$ S.D) (g)	(1.40 $\pm$ 0.09)	(1.39 $\pm$ 0.10)	(1.38 $\pm$ 0.12)
No. of dead or resorbed fetuses (%) early death late death	19 (8.4) 13 6	26 (12.1) 15 11	22 (9.3) 12 10
No. of fetuses with malformation (%)	** a) 1 (0.5)	0	a) 1 (0.5)

\*: (%) indicates the ratio to total implantations.  
 \*\*: (%) indicates the ratio to total live fetuses.  
 a): open eyelids

が報告されている<sup>12)</sup>。日本薬局方によれば腔、膀胱および尿道の洗浄には0.0025~0.005%液を使用するとして掲載されている<sup>13)</sup>。本実験における低濃度の影響の評価に際しては、ヒトに暴露される時のリスクアセスメントの立場から、臨床での使用経験を参考にし、1, 50 および 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  を設定したが、これらは各々0.00001%, 0.0005%, 0.001%に相当する。

種々の界面活性剤投与による着床阻害および流産に関する報告はいくつかかなされている。野村らは<sup>14)</sup>、2%および20%のナトリウムアルキルサルフェートを妊娠2日目から18日目まで毎日背部皮膚に塗布し、20%群で妊娠率の低下を認めている。また、20%塗布群を妊娠7日目に屠殺し、子宮内を観察した結果、着床痕は認められなかったとしている。しかし、同用量を妊娠13日目から18日目まで塗布した場合には、妊娠率の低下は認められていない。このことから妊娠初期に皮膚塗布すると着床阻害を起こす可能性が強いと報告している。また、西村ら<sup>15)</sup>も4, 20および40%の高級アルコールエステルサルフェート(AES)洗剤をマウスの妊娠0日目から18日目まで、あるいは、妊娠8日目から15日目まで背部皮膚に塗布し、前者の40%群に着床阻害を認めたが、後者にはその作用がなかったことを報告している。これらの報告でわかるように、界面活性剤の妊娠に対する影響は、妊娠初期における薬物の動態に問題があると思われる。今回の実験においては、このような観点から妊娠初期での投与を必須とし

て実験を行った。また、低濃度での影響をみる実験では、ヒトへのリスクアセスメントを考慮し、これに加え妊娠全期間にわたる投与を追加した。

今回実施した妊娠初期および全期間投与実験で、腔栓を認めたにもかかわらず妊娠しない。いわゆる不妊動物が対照群を含む各群に数例ずつ認められた。妊娠率においては、いずれの実験でも対照群と各処置群との間に有意の差は認められなかったが、高濃度における実験で、対照群の91.7%に対し、10 mg/kg 群で70.0%、30 mg/kg 群では60.0%と高用量になるにつれて減少傾向を示した。また、30 mg/kg 群では、死亡吸収胚数の増加傾向が認められた。妊娠率の低下および死亡吸収胚数の増加傾向の理由として、全く受胎しなかったのか、あるいは強制経口投与などによる物理的影響なのか、または、BK-Clによる子宮粘膜での胚の着床阻害によるものなのか明らかではなかった。Palmer ら<sup>16)</sup>は、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩(LAS)およびアルコール硫酸塩(AS)を、ラットおよびマウスでは妊娠6日目~15日目まで、また、ウサギでは妊娠6日目~18日目まで、それぞれの動物の器官形成期に強制経口投与したところ、マウスでは、LASを300および600 mg/kg 投与した群にそれぞれ妊娠母体の死亡や流産(または全吸収胚)が認められたと報告している。また、野村ら<sup>14)</sup>も20%のナトリウムアルキルサルフェートをマウスの妊娠初期に皮膚塗布した結果、明らかな着床阻害を認めたことを報告し

ている。さらに、Isomaaら<sup>17)</sup>は10.5および35.0 mg/kgの陽イオン系界面活性剤 (CTAB) をマウスに8日目から14日目まで隔日に腹腔内に投与し、35 mg/kg 群で吸収胚数の増加を認めたと報告している。以上のことから、今回の我々の実験成績にみられた妊娠率の低下および死亡吸収胚数の増加傾向は、妊娠初期にBK-Clを大量投与した結果、着床阻害および流産を引き起こした可能性を示唆するものと思われるが、その発現機序については被験物質のもつ非特異的な刺激作用が関与している可能性も考慮すべきものと思われる。

### ま と め

陽イオン界面活性剤の1つである塩化ベンザルコニウム (BK-Cl) の妊娠マウスの母体および胎仔に及ぼす影響について検索した。

実験Iでは、高濃度のBK-Clの、3, 10および30 mg/kgを妊娠初期0日目から6日目まで毎日1回強制経口投与し、妊娠13日目に屠殺した。その結果、母体の体重、摂餌量および一般状態に影響は認められなかった。また、着床数、生存胎仔数、性比および生存胎仔体重にも変化は認められなかった。しかしながら、10および30 mg/kg 処置群では妊娠率の低下傾向が、また、30 mg/kg 処置群では死亡吸収胚の増加傾向がみられた。実験IIは2つの実験群よりなり、1つの群には低濃度のBK-Clの1, 50および100  $\mu$ g/kgを妊娠0日目から6日目までの妊娠初期に投与した。また、もう1つの群には1および50  $\mu$ g/kgを妊娠0日目から18日目までの妊娠全期間にわたり投与した。いずれの実験群でも対照群と各処置群との間に有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、BK-Clは高濃度の30 mg/kg群において着床阻害あるいは流産を引き起こす可能性が示

唆されたものの、100  $\mu$ g/kg以下の低濃度においては、生殖機能に対して何ら影響を及ぼさないものと考えられた。

### 文 献

- 1) 佐久間昭：生物検定，p. 234 (1975)，東大出版
- 2) 畑村又好ら：統計的方法，p. 282 (1980)，岩波書店
- 3) W. H. Kraskal, W. A. Wallis: *J. Am. Statist. Assoc.*, **47**, 583 (1952)
- 4) C. W. Dunnett: *J. Am. Statist. Assoc.*, **50**, 1096 (1955)
- 5) C. W. Dunnett: *Biometrics*, **20**, 482 (1964)
- 6) H. Scheffé: *Biometrics*, **40**, 87 (1964)
- 7) 佐久間昭：簡便統計手法，p. 5 (1965)，日本レダリー
- 8) H. E. Cristensen: "Registry of Toxic Effects of Chemical Substances," (1976), NIOSH, USA
- 9) L. M. Cummins, E. T. Kimura: *Toxicol. Appl. Pharm.*, **20**, 89 (1971)
- 10) B. V. Alfredson *et al.*: *J. Am. Pharm. Ass.*, **40**, 263 (1951)
- 11) L. J. Casarett, Doull *et al.*: "Casarett and Doull's Toxicology," 2nd ed., p. 539 (1980), Macmillan Publishing Co., Inc., New York
- 12) R. H. Riddell: "Pathology of Drug-induced and Toxic Diseases". p. 403 (1982), Churchill Livingstone Inc., New York
- 13) 朝比奈正人ら：“第10改正 日本薬局方解説書”，P. C-347 (1981)，広川書店
- 14) 野村大成：厚生省食品化学レポートシリーズ，**7**, 48 (1981)
- 15) 西村秀雄ら：合成洗剤に関する研究成果報告書 (科学技術庁研究調整局)，p. 114 (1978)
- 16) A. K. Palmer *et al.*: *Toxicology*, **3**, 91 (1975)
- 17) B. Isomaa, K. Ekman: *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **13**, 331 (1975)

ラットにおける 2,2'-メチレンビス (4-エチル-6-tert-  
ブチルフェノール) の臓器分布

高木篤也・門馬純子・会田喜崇・吉本浜子・鹿庭正昭  
鈴木康雄・中路幸男・黒川雄二・戸部満寿夫

Distribution of 2,2'-Methylenebis (4-ethyl-6-tert-butylphenol) in Rat Tissues

Atsuya TAKAGI, Junko MOMMA, Yoshitaka AIDA, Hamako YOSHIMOTO, Masaaki KANIWA,  
Yasuo SUZUKI, Yukio NAKAJI, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE

Distribution of 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) (MBEBP) in rat tissues was studied. The rats were fed diets containing 0.2, 1.0 and 5.0% MBEBP for 27 days. The recovery rate of MBEBP from the tissues was more than 90%. MBEBP was distributed to all tissues with especially large amounts of MBEBP distributed in the fat and the intestinal tract. The distribution of MBEBP in the fat was higher in the 1.0% group than in the 5.0% group. The recovery rate of MBEBP in the diet was 90%, and it was confirmed that the MBEBP concentrations were 1701, 9175 and 44330 ppm in the 0.2, 1.0 and 5.0% diets, respectively.

(Received May 30, 1987)

はじめに

2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) (MBEBP) は、ゴム、プラスチックに使用されるアルキルフェノール系抗酸化剤である。したがって、家庭用品などから溶出した MBEBP をヒトが摂取する可能性がある。その臓器分布については、オリーブ油に懸濁してラットに27日間連続強制経口投与 (500 mg/kg/day) すると、ほとんどの臓器に分布し、特に、脂肪、肺、脾臓、肝臓および精巣に多いが、血漿中にはほとんど検出できなかったという報告がある<sup>1)</sup>。

本実験では MBEBP の投与方法の違い、すなわち、強制経口投与と混餌投与の違いにより臓器分布に差が生じるか否かを明らかにすること、および、投与量と臓器分布量との関係を明らかにすることを目的として MBEBP を飼料に混入して27日間ラットに投与し、その臓器分布について検討し、また、添加飼料中の MBEBP の分析も行ったので報告する。

実験方法

1. 薬物

MBEBP は大内新興化学工業(株)製 (Lot No. 506002) のものを使用し、ガスクロマトグラフィー (GC) および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析では、それぞれ1ピークであり、不純物を含まないこ

とを確認した。

2. 実験動物

Slc: Wistarラット (静岡実験動物農業共同組合生産) の5週齢の雄を用い、1群4匹として4群に分けた。

3. 投与方法および投与期間

MBEBP はそれぞれ0, 0.2, 1.0および5.0%の割合でラット飼育用粉末飼料 (F-2, 船橋農場製) に混合し、成型、乾燥 (60°C, 3hrs.) して添加飼料とし、3カ月間室温暗所に保存したものをラットに投与した。飼料および水 (水道水) は自由に摂取させ、投与期間は27日間とした。なお、予備試験で、検体摂取をラットが忌避する傾向が認められたため、1.0%群は投与開始から3日間は0.2%添加飼料を与え、5.0%群では、投与開始から3日間は0.2%添加飼料を、次の3日間は1.0%添加飼料を与えた後、それぞれ所定の用量にした。

4. 定量法

MBEBP の定量は郡ら<sup>2)</sup>の方法に準じて行った。

1) 高速液体クロマトグラフィーの条件

装置は島津 LC-4A 型を使用した。測定は、カラム: Zorbax ODS, 250 mm × 4.6 mm i.d., 55°C; 移動相: 0.025Mリン酸-カリウム水溶液-メタノール (1:9); 流速: 0.6 ml/min; 測定: 波長 280 nm の条件下で行った。カラム注入量は 10 μl とし、MBEBP をメタノールに溶かして標準溶液とし、ピーク高さから絶



対検量線法により試料中の含量を算出した。

## 2) ガスクロマトグラフィーの条件

装置は島津 GC-4CM 型を使用した。測定は、カラム：3% Silicone OV-1 Gaschrom Q (80~100 mesh), 1.5 m × 3 mm i.d.; 検出器：FID; カラム温度：180~260°C (10°C/min 昇温); 注入部および検出部温度 280°C; キャリアーガス：窒素 (35 ml/min) の条件下で行った。カラム注入量は 2 μl とし、MBEBP を酢酸エチルに溶解して標準溶液とし、ピーク高さから、絶対検量線法により試料中の含量を算出した。

## 3) 試料溶液の調製法

ラットをエーテル麻酔下で放血致死させた後、肝臓、脾臓、腎臓、肺、精巣、大腸 (結腸)、小腸 (幽門部より 10 cm の位置から 20 cm を使用)、脂肪 (腎臓の周辺) を採取し、生理的食塩水で洗浄し、-20°C で保存した。脂肪組織は 0.5 g 当たりヘキサン 5 ml を加え、攪拌分散器 (西独ヤンケ&クンケル社製ウルトラトラックス T-18) でホモジネート後、20 分間振盪し、1500 × g で 10 分間遠心分離し、ヘキサン層を採取し、窒素気流中で蒸発させた。この残渣をメタノール 1 ml に溶解し、さらに、臓器により臓器中の推定含量に応じて適当にメタノールを加えて希釈 (×1~×1000) して一定量とし、HPLC 用試料溶液とした。脂肪以外の臓器は、臓器 1 g 当たり 2 ml の水でホモジネートした後、ヘキサンを加え振盪し、以下脂肪組織と同様に操作して HPLC 用試料溶液とした。また、Control 群の各臓器 1 g 当り検体 10 μg (脂肪組織は 100 μg) を添加し、回収率を調べた。検量線は MBEBP 0.01~0.1 μg 間で作製した。

MBEBP 添加飼料の分析は、まず飼料を乳鉢で粉砕し、飼料 0.5 g 当たり 10 ml の酢酸エチルを加えて、20 分間振盪し、抽出を 2 回行い、酢酸エチル層を採取し、濾紙で濾過し、減圧濃縮乾固し、この残渣に 0.2, 1.0 および 5.0% 添加飼料に対して、それぞれ酢酸エチルを 10, 50 および 100 ml 加えて溶解し、GC 用試料とした。

## 結果および考察

### 1. MBEBP の臓器分布

MBEBP は測定したすべての臓器から高率に回収された (90%)。MBEBP の臓器分布は、とくに脂肪組織 (567~2053 μg/g)、小腸 (26.1~201.8 μg/g)、大腸 (20.1~196.9 μg/g) に多く、次に肺 (8.71~27.2 μg/g)、脾臓 (3.52~31.2 μg/g) に多く、肝臓、腎臓および精巣では約 3 μg/g 以下であった (Table 1)。

これらの結果は郡らの報告とほぼ同様である。脂肪組織に多く分布しているのは、検体が脂溶性であるためと思われる。また大腸および小腸に多く分布しているのは消化管粘膜上皮に検体が存在しているためと考えられるが、どの程度の量が上皮内に吸収されて存在するのかわからない。本実験での投与量 0.2, 1.0 および 5.0% を摂餌量および体重から mg/kg/day に換算すると、それぞれ約 220, 930 および 4080 mg/kg/day であった。郡らの実験での投与量は 500 mg/kg/day であるので、本実験に当てはめると、およそ、0.2% と 1.0% 群の間に相当すると思われる。郡らは MBEBP は脂肪、肺および脾臓に多く、次に精巣、肝臓に多く分布することを報告している (脂肪; 約 1700 μg/g、肺; 約 550 μg/g、脾臓; 約 170 μg/g、精巣; 約 20 μg/g、肝臓; 約 16 μg/g)。本実験では、脂肪に 0.2% 群で 567 μg/g、1.0% 群で 2053 μg/g であるので、脂肪組織には郡らとほぼ同じ量の MBEBP を認めたとはいえる。しかし、肺および脾臓では、MBEBP は 0.2% および 1.0% 群とも郡らより、はるかに少ない量であった。また、精巣および肝臓でも MBEBP は少ない量であった。この原因について考察すると、脾臓では、脾臓を摘出する際に脂肪組織との完全な分離がかなり困難であること、また、肺では、強制経口投与の際での気管内への誤投与が起こりうるなどの操作上の問題が考えられる。あるいは、同じ投与量でも 1 日 1 回の強制経口投与では、血中薬物濃度の増加および消失は速く、混餌投与では、遅く、持続的であると考えられ

Table 1. Distribution of MBEBP to Tissues in Rats (μg/g)

Tissues	Doses of MBEBP		
	0.2%	1.0%	5.0%
Fat	567 ± 58	2053 ± 476	1231 ± 101
Small Intestine	27.2 ± 21.0	26.1 ± 5.3	201.8 ± 130.3
Large Intestine	20.1 ± 11.6	48.2 ± 20.8	196.9 ± 196.3
Lung	27.2 ± 12.8	14.0 ± 8.1	8.71 ± 6.7
Pancreas	5.55 ± 3.43	3.52 ± 1.86	31.2 ± 20.1
Liver	1.27 ± 0.29	2.33 ± 0.48	1.79 ± 0.13
Kidney	1.26 ± 0.14	3.06 ± 0.42	3.22 ± 1.04
Testis	1.03 ± 0.33	2.03 ± 0.76	1.93 ± 0.74

Values represent mean ± S.D.

Table 2. MBEBP Concentration in Diet

Group	MBEBP (ppm)
0.2%	1701
1.0%	9175
5.0%	44330

ること、強制経口投与ではMBEBPを懸濁させているオリーブ油の影響があることなどが考えられ、今後さらに検討する必要があると思われる。

腸管では用量に依存した分布が見られたが、脂肪組織では5.0%群より1.0%群のほうが多く移行していた。高用量ではMBEBPの吸収が阻害されていることが考えられる。消化管粘膜の細胞膜は脂質に富んでいる。脂溶性物質の透過速度は、一般に膜両側の薬物濃度勾配と脂質と水に対する分配係数により決まり、薬物濃度勾配は薬物の解離定数と消化管内のpHおよび細胞内のpHにより決まることが知られている<sup>2,3)</sup>。したがってMBEBPには消化管内のpHあるいは細胞内のpHを変化させる物理化学的あるいは生化学的作用があり、高濃度では膜の内外のpHが変化して濃度勾配が変わり、吸収が阻害された可能性も考えられる。

一方、体重はControl, 0.2%, 1.0%および5%群でそれぞれ226, 227, 163および202gであり5.0%群より1.0%群の方が低く、体脂肪の量も1%群の方が5%群より少なかった。したがって、脂肪中のMBEBPが脂肪量の減少につれて濃縮されたことも考えられ、さらに検討する必要があると思われる。

肝臓、腎臓および精巣では0.2%群よりは1.0%群の方が多くMBEBPは存在しており、この投与量間ではMBEBPは用量に依存した分布が見られた。

## 2. 飼料中のMBEBP含量

添加飼料中のMBEBPの量をTable 2に示した。回収率が90%であることから、添加飼料製造過程、および保存中に分解あるいは消失はほとんど認められず、投与期間を通して所定の検体含量を保持していたと思われる。

## 文 献

- 1) 郡 修徳ら：薬剤学, 46, 240 (1986)
- 2) Hogen *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 125, 275 (1959)
- 3) Schanker *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 123, 81 (1958)

## トリクロサンのラット胎仔発生に及ぼす影響

川島邦夫・中浦慎介・山口 恵・田中 悟・高仲 正

### Effects of Triclosan on Fetal Developments of Rats

Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Megumi YAMAGUCHI,  
Satoru TANAKA and Akira TAKANAKA

Triclosan was given to pregnant rats by oral intubation during days 7 to 17 of gestation at the dose levels of 0, 100, 200 and 400 mg/kg, and its teratogenic effect was examined in the fetuses.

At the dose level of 400 mg/kg, suppressions in maternal food consumption, toxic signs (piloerection, lacrimation, incontinence and diarrhea) and increases in fetal death were observed. However, there was no evidence of an increase in malformations attributable to the treatment with triclosan in any of the treated groups.

It is concluded that triclosan has no teratogenic effect in rats, though toxic signs were observed in treated dams of the 400 mg/kg group.

(Received May 30, 1987)

我々は、家庭用品に用いられている化学物質の安全性評価に関する研究の一環として、催奇形性について検討している。これまでに繊維製品の防炎加工剤 [Tris (2, 3-dibromopropyl) phosphate<sup>1)</sup>, Tris (1, 3-dichloroisopropyl) phosphate<sup>2)</sup>, Tris (2-chloroethyl)

phosphate<sup>3)</sup>], およびゴム類の加硫促進剤 [Zinc diethylthiocarbamate<sup>4)</sup>] の成績をそれぞれ報告した。

今回は防腐・殺菌剤として用いられているトリクロサン (2, 4, 4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether) を妊娠ラットに投与し、胎仔発生に及ぼす影響について

検索したので、その成績を報告する。

トリクロサンは広い抗菌スペクトルを持つ殺菌・消毒剤で、薬用石鹸、制汗・防臭スプレー、シャンプーに使用されている<sup>5)</sup>。トリクロサンはアレルギー性接触皮膚炎を惹起する可能性が示唆されているが<sup>5,6)</sup>、催奇形性は認められていない<sup>7)</sup>。

## 実験方法

動物はウィスター系ラット（日本ラット、12～13週齢）を用いた。妊娠ラットを得るために未経産雌を雄と終夜同居させ、翌朝膈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。動物室は温度 25±2℃，相対湿度 55±5%，換気回数 15/hr，明暗交代12時間（明期 6：00～18：00）とした。

トリクロサン（2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether）は CIBA-GEIGY 社製の Irgasan DP 300（E 81444, 46）を用い、投与にあたってはオリーブ油で4%溶液を調製した。投与量は急性毒性試験の成績（ラット，経口，LD<sub>50</sub>，4 g/kg）<sup>7)</sup>，亜急性毒性試験の成績（雌ラット，経口，400 mg/kg で摂餌量の低下および体重増加抑制）<sup>8)</sup>を参考にして，0，100，200，400 mg/kg 用量とし，各群20匹の妊娠ラットに胎仔の器官形成期を含む妊娠7～17日の間毎日1回胃ゾンデを用いて強制経口投与した。

妊娠ラットについては一般状態を毎日観察し，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帝王切開して子宮を摘出し，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査を行い，性別を調べ体重を測定した。各母体について生存胎仔数の約1/3はブアン液で約2週間固定したのち，ウィルソンの粗大切片方法<sup>9)</sup>にしたがって内部器官の異常の検査を行った。残り約2/3の胎仔は90%エタノール液で固定し，アリザリン赤染色骨格標本<sup>10)</sup>を作製して骨格系の異常を拡大鏡下で調べた。実験成績は母体を評価の単位として， $\chi^2$ 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，胎仔数，胎仔体重）および順位和検定（胎仔の死亡率，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

100 および 200 mg/kg 群では，全観察期間をとおして一般症状に変化は認められなかった。400 mg/kg 群では立毛，流涙，失禁および下痢が9例に認められたが，死亡例は観察されず，投与終了後全例回復した。

#### 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。100 および 200 mg/kg 群は対照群と特に大きな差を示さなかった。400 mg/kg 群では投与期間をとおして摂餌量の低下が認められた。

#### 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。各トリクロサン投与群とも全投与期間を通して体重増加に変化は認められなかった。

#### 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トリクロサン投与群との間に有意な差は認められなかった（Table 1）。

### II 胎仔に及ぼす影響

#### 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仔数，性比および胎仔体重とも対照群とトリクロサン投与群との間に有意差は認められなかった。しかし，有意に高い胎仔死亡率が400 mg/kg 群に認められた。

#### 2) 外表検査成績

対照群を含め異常例は1例も観察されなかった（Table 2）。

#### 3) 内部器官検査成績

胎仔の内部器官の検査成績を Table 3 に示した。

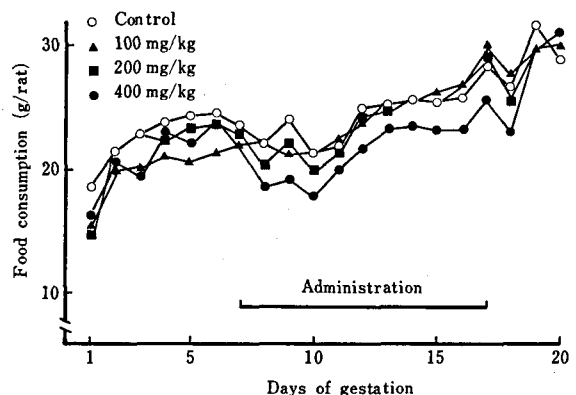


Fig. 1. Effect of oral administration of triclosan on food consumption of pregnant rats

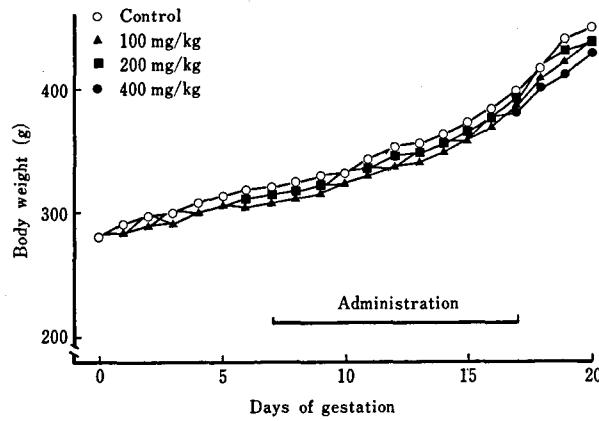


Fig. 2. Effect of oral administration of triclosan on body weight of pregnant rats

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

Dose(mg/kg)	0	100	200	400
No. of dams	20	20	20	20
No. of dead dams	0	0	0	0
Mortality(%)	0	0	0	0
No. of dams with live fetuses	20	20	20	20
No. of corpora lutea (mean±S.D.)	298 (14.9±1.8)	296 (14.8±2.5)	286 (14.3±2.0)	289 (14.4±4.4)
No. of implants (mean±S.D.)	251 (12.5±3.1)	251 (12.5±2.0)	241 (12.0±3.4)	241 (12.0±3.1)
Implantation ratio(%)	84.62	86.07	84.28	84.80

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

Dose(mg/kg)	0	100	200	400
No. of dams	20	20	20	20
No. of implants	251	251	241	241
No. of live fetuses (mean±S.D.)	247 (12.3±3.1)	245 (12.2±2.3)	227 (11.3±3.4)	224 (11.2±3.6)
Sex ratio (male/female)	82.96 (112/135)	82.83 (111/134)	99.12 (113/114)	94.78 (109/115)
Body weight(g)				
Male(mean±S.D.)	3.8±0.3	3.7±0.3	3.8±0.2	3.8±0.3
Female(mean±S.D.)	3.5±0.3	3.5±0.2	3.5±0.2	3.5±0.3
No. of dead implants	4	6	14	17
Early death	4	6	14	16
late death	0	0	0	1
Mortality(%)	1.51	2.97	5.97	8.13*
No. of fetuses with malformation	0	0	0	0

\*: P<0.05

Table 3. Effect of oral administration of triclosan to pregnant rat on internal organ development of the fetuses

doses (mg/kg)	0	100	200	400
No. of dams	19	20	19	20
No. of fetuses examined	91	93	84	84
Pyelectasis	0	0	1(1.25)	1(1.00)

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

Table 4. Effect of oral administration of triclosan to pregnant rat on skeletal development of the fetuses

doses (mg/kg)	0	100	200	400
No. of dams	20	20	20	20
No. of fetuses examined	154 <sup>a)</sup>	152	143	140
No. of fetuses with malformation				
25-pre-sacral vertebrae	0	0	1(0.71)	0
27-pre-sacral vertebrae	1(0.63)	0	0	0
wavy ribs	1(0.63)	0	2(1.43)	0
No. of fetuses with variation				
Cervical ribs	0	1(0.63)	1(0.56)	1(0.50)
Varied thoracic centra	4(2.57)	2(1.34)	2(1.27)	0
Varied sternbrae	78(48.01)	62(42.43)	62(43.67)	69(61.17)
varied lumbar centra	1(0.83)	0	0	0
Lumbar ribs	81(49.29)	87(57.09)	89(60.98)	85(61.80)
rudimentary	80(48.66)	84(55.21)	87(59.17)	84(61.17)
extra	1(0.63)	3(1.88)	2(1.81)	1(0.63)
Ossification state(average number)				
Metacarpi	7.81	7.75	7.76	7.84
Metatarsi	8.00	8.00	8.00	8.00
Sacro-caudal vertebrae	7.52	7.51	7.71	7.70

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

<sup>a)</sup>: Technical error(two fetuses)

腎盂の拡張が200および400 mg/kg 群に1.0~1.2% 観察されたが、発生率に有意差は認められなかった。

#### 4) 骨格検査成績

骨格検査成績を Table 4 にまとめて示した。

##### a) 骨格奇形

骨格奇形としての仙椎前の椎骨が25個の胎仔が200 mg/kg 群に1例、仙椎前の椎骨が27個の胎仔が対照群に1例、波状肋骨を有する胎仔が対照群に1例および200 mg/kg 群に2例観察された。しかし、これら骨格奇形の発生率に有意差は認められなかった。

##### b) 骨格変異

骨格変異と考えられる種々の異常が認められた。それらの種類と発生率は次の通りであった。頸肋が各トリクロサン投与群に0.5~0.6%、胸椎体の異常(分離)

が対照群を含む各群に1.2~2.5%、胸骨核の異常(変形、分離、欠損)が対照群を含む各群に42.4~61.1%、腰椎体の異常が対照群に0.8% 観察された。しかし、対照群に比べて、これら骨格異常の発生率に有意差は認められなかった。腰肋(痕跡状を含む)が対照群を含む各群に49.2~61.8% 観察されたが、群間に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トリクロサン投与群との間に有意差は認められなかった。

## 考 察

妊娠ラットにトリクロサンを経口投与した場合、400 mg/kg 群では摂餌量の減少が認められ立毛、流涙、失禁および下痢が認められた。これらの成績から 400 mg/kg 用量は妊娠ラットに対して中毒量であることが明らかにされた。

400 mg/kg 群において胎仔死亡率の有意な上昇が認められた。この成績から高用量のトリクロサンは胚・胎仔致死作用を有するものと考えられた。

トリクロサンを投与した妊娠ラットから得られた生存胎仔に外表異常は1例も観察されなかった。LD<sub>50</sub> (4g/kg) の1/1000~1/50量のトリクロサンを妊娠6~15日間ラットに、あるいは6~10日の間ハムスターに経口投与した場合、奇形発生は認められないことが報告されている<sup>7)</sup>。

内部器官の異常として腎盂の拡張が200および400 mg/kg 群に観察されたが、対照群との間に有意差は認められず、トリクロサン投与の影響とは考えられない。

骨格奇形として仙椎前の椎骨が25個あるいは27個の胎仔、および波状肋骨を有した胎仔が観察されたが、いずれの発生率も対照群との間に有意差は認められなかった。骨格異常として、頸肋、胸椎体の異常、胸骨核の異常、腰椎体の異常が観察されたが、いずれの変異の発生率も対照群との間に有意差は認められなかった。一方サルチル酸などの催奇形因子を妊娠ラットに投与した場合、腰肋の発生頻度が増加することが報告されている<sup>11,12)</sup>。本実験では腰肋の発生頻度がトリクロサンにおいて特に高くなるという成績は得られなかった。

## ま と め

トリクロサンの100, 200および400 mg/kg を妊娠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、妊娠の維持および胎仔発生に及ぼす影響を検索した。

1) 妊娠母体について、400 mg/kg 用量では摂餌量の減少、立毛、流涙、失禁および下痢などの中毒症状が観察された。

2) 妊娠20日目の胎仔について、400 mg/kg 用量において胎仔死亡率の有意な上昇が認められた。外表奇形の発現は認められず、内部器官および骨格の検査においてもトリクロサン投与によると考えられる異常例は観察されなかった。

以上、本実験条件下では、トリクロサンが催奇形性物質であるとの結論は得られなかった。

本研究は厚生省生活衛生局、家庭用品等試験検査費により行った。

## 文 献

- 1) 川島邦夫ら：衛生誌報，98，50 (1980)
- 2) 田中 悟ら：衛生誌報，99，50 (1981)
- 3) 川島邦夫ら：衛生誌報，101，55 (1983)
- 4) 中浦慎介ら：衛生誌報，102，55 (1984)
- 5) 斉藤文雄：皮膚病診療，4，625 (1982)
- 6) 松岡一忠ら：病院薬学，6，144 (1980)
- 7) H. Piekacz: *Roczn. Pzh.*, 29, 469 (1978)
- 8) 富沢撰夫ら：加商レポート，p. 13 (1970), CIBA-GEIGY
- 9) J. G. Wilson: "Teratology-Principles and techniques," edited by J. G. Wilson and J. Warkany, p. 262 (1965), The University of Chicago Press, Chicago and London
- 10) A. B. Dawson: *Stain Technol.*, 1, 123 (1926)
- 11) 安田峰生，前田広由：先天異常，13，25 (1973)
- 12) S. Tanaka et al.: *Cong. Anom.*, 13, 73 (1973)

## ヘプタクロルのラット胎仔発生に及ぼす影響

山口 恵・田中 悟・川島邦夫・中浦慎介・高仲 正

## Effects of Heptachlor on Fetal Developments of Rats

Megumi YAMAGUCHI, Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA,  
Shinsuke NAKAURA and Akira TAKANAKA

Heptachlor was administered orally to pregnant rats at dose levels of 5, 10 and 20 mg/kg during days 7 to 17 of gestation, and the effects of the compound on fetal developments were examined.

At the highest dose level of 20 mg/kg, maternal body weight gains were suppressed. However, there was no evidence of increases in fetal mortality and of malformation attributable to the treatment with heptachlor.

It is concluded that heptachlor has no teratogenic effect in rats, though the highest dose of 20 mg/kg caused a suppression of maternal body weight gains.

(Received May 30, 1987)

ヘプタクロルは有機塩素系農薬の一つである。わが国では1970年頃まで殺虫剤として使用されていたが、残留性や蓄積性が高く、食品や母乳などへの汚染が明らかとなり、使用禁止等の規制がとられ、現在では使用されていない。

しかし近年、ヘプタクロルが土壌や井戸水中から検出され、その毒性が問題となっている。

一方、ヘプタクロルが農薬として使用されていた1970年前後、わが国に生息しているニホンザルに四肢の奇形が多発したが、その原因解明に関する研究班の報告において<sup>1)</sup>、ヘプタクロルの催奇形作用が注目されている。すなわち、死亡したニホンザルの体内のヘプタクロル・エポキシドの濃度を測定した結果、奇形の個体では正常な個体に比べて明らかに高濃度のヘプタクロル・エポキシドが認められている。また、正常な雌個体でも奇形仔を出産した雌個体のヘプタクロル・エポキシドの体内濃度が高い。

今回われわれは、ヘプタクロルの安全性評価に関する研究の一環として、ヘプタクロルの胎仔発生に及ぼす影響についてラットを用いて検索したので、その成績を報告する。

## 実験方法

ヘプタクロル（ペルシコール、純度73.9%）はオリーブ油（日本薬局方）に溶解して用いた。投与量は、予備試験の成績に基づいて、5 mg/1.25 ml/kg, 10 mg/2.5 ml/kg および 20 mg/5 ml/kg とし、各群20匹の妊娠ラットに、胎子の器官形成期を含む、妊娠7日から

17日まで毎日1回胃ゾンデを用いて経口投与した。なお、対照群の妊娠ラットにはオリーブ油 5 ml/kg を同様に経口投与した。

動物はウィスター系ラット（日本ラット、雄14週齢、雌12～13週齢）を用いた。妊娠ラットを得るために、未経産雌を雄と一夜同居させた。翌朝陰垢中に精子が認められた雌ラットを妊娠したものとして実験に供し、この日を妊娠0日とした。

妊娠ラットはアルミ製妊娠ケージ（夏目製作所）に一匹ずつ収容し、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。動物室は温度25±2°C，相対湿度55±5%，換気回数15回/hr.，明暗交代12時間（明期6:00～18:00）とした。

妊娠ラットについては一般状態を毎日観察し、体重および摂餌量を測定した。

すべての妊娠ラットは妊娠20日目にエーテル麻酔下で帝王切開して子宮を摘出し、黄体数、着床数、死亡胎仔数、生存胎仔数を調べた。生存胎仔については外表異常の検査を行い、性比を調べ、体重を測定した。各母体当たり約1/3の生存胎仔についてはブアン液で約2週間固定したのち、Wilsonの方法<sup>2)</sup>に準じて粗大切片標本を作製して内部器官の異常の検査を行った。残り約2/3の生存胎仔については90%エタノール液で固定したのち、Dawsonの方法<sup>3)</sup>にしたがってアリザリン赤染色骨格標本を作製して骨格系の異常の検査を行った。

実験成績は母体を評価の単位として、 $\chi^2$ -検定（着床率）、*t*-検定（母ラットの体重、摂餌量、黄体数、着床

Table 1. Effects of oral administration of heptachlor on maternal food consumptions and body weight gains

Dose(mg/kg)	0		5		10		20	
No. of dams	20		20		20		20	
Days of preg.	F.C. (g) <sup>1)</sup>	B.W. (g) <sup>2)</sup>	F.C. (g)	B.W. (g)	F.C. (g)	B.W. (g)	F.C. (g)	B.W. (g)
0	—	250.0±16.3	—	252.7±12.5	—	252.7±15.2	—	251.1±11.6
7	24.8±2.7	289.5±20.8	24.2±1.9	290.3±14.7	23.7±2.0	287.8±15.6	24.0±2.4	286.9±13.8
10	24.1±3.1	307.5±23.7	22.9±3.0	305.6±16.3	21.4±3.0	303.0±15.8	19.2±2.8 **	300.1±15.5
14	24.4±3.3	336.4±18.7	24.8±2.1	333.6±18.7	23.6±2.1	329.5±17.7	18.3±6.0 **	319.3±23.9*
17	25.9±3.3	376.5±29.8	27.2±2.5	371.2±20.0	24.8±2.1	365.1±21.3	19.5±6.3 **	345.2±30.0**
20	26.6±4.2	422.9±35.2	27.1±1.9	417.1±24.2	25.8±4.1	407.0±27.0	21.5±5.8 **	380.5±39.9**

1) Food consumption. 2) Body weight. \*: P < 0.05, \*\*: P < 0.01  
Results are expressed as mean ± S.D.

Table 2. Effects of oral administration of heptachlor to pregnant rats on the reproductive parameters

Dose(mg/kg)	0		5		10		20	
No. of dams	20		20		20		20	
No. of corpora lutea (mean ± S.D.)	292 (14.6 ± 2.1)	321 (16.0 ± 2.7)	266 (13.3 ± 1.8)	295 (14.7 ± 3.8)				
No. of implants (mean ± S.D.)	276 (13.8 ± 1.5)	275 (13.7 ± 2.3)	239 (11.9 ± 1.9)	254 (12.7 ± 2.2)				
Implantation rate(%)	95.1	86.4	90.2	88.3				

Implantation rate(%) is expressed as the average of the incidence in each litter.

数, 胎仔数, 胎仔体重) および順位と検定 (胎仔の死亡率, 性比, 異常発生率, 骨化数) を用いて, 危険率 5% および 1% の水準で対照群と比較した。

### 実験成績および考察

#### 1) 妊娠母体に及ぼす影響

各群とも妊娠ラットの一般状態にヘプタクロル投与によると考えられる異常は認められず, また死亡例もなかった。

妊娠 0 日, 7 日 (投与開始), 10 日, 14 日, 17 日 (投与終了) および 20 日 (帝王切開) における妊娠ラットの摂餌量および体重を Table 1 に示した。5 mg/kg 群では, 摂餌量および体重とも対照群と同様な推移を示し, ヘプタクロルの影響は認められなかった。10 mg/kg 群では, 妊娠 10 日目以後, 摂餌量および体重とも対照群に比べて低い値を示したが, 有意差は認められず, ヘプタクロルの影響は極めて弱いと考えられた。20 mg/kg 群では, 摂餌量が妊娠 10 日目以後および体重が妊娠 14 日目以後とも有意に低い値を示し, ヘプタクロルの 20 mg/kg 用量は妊娠ラットに対する毒性

影響量であることが明らかにされた。

妊娠ラットの帝王切開の成績を Table 2 に示した。黄体数, 着床数および着床率において対照群とヘプタクロル各群との間に有意差はなく, ヘプタクロルの影響は認められなかった。

#### 2) 胎仔発生に及ぼす影響

Table 3 に示すとおり, 生存胎仔数, 性比, 胎仔体重, 胎仔死亡率のいずれにおいても対照群とヘプタクロル各群との間に有意差はなく, ヘプタクロルの影響は認められなかった。また, 生存胎仔の外表検査においても奇形例は 1 匹も認められなかった。なお, 胎仔の死亡はすべて初期死亡であった。

胎仔の内部器官検査の成績を Table 4 に示した。腎盂の拡張が対照群を含む各群に 1 例ずつ観察されたが, 対照群とヘプタクロル各群との間に有意差は認められなかった。

胎仔の骨格検査の成績を Table 5 に示した。骨格奇形は全群をとって 1 例も認められなかった。骨格変異が対照群を含む各群に認められた。すなわち, 頸椎肋骨を有する胎仔が各群に 3~10 例観察された。胸



Table 3. Effects of oral administration of heptachlor to pregnant rats on fetal developments

Dose (mg/kg)	0	5	10	20
No. of dams	20	20	20	20
No. of implants	276	275	239	254
No. of live fetuses (mean $\pm$ S.D.)	276 (13.8 $\pm$ 1.5)	260 (13.0 $\pm$ 3.3)	229 (11.4 $\pm$ 2.4)	248 (14.7 $\pm$ 2.4)
Sex ratio (male/female)	1.15	1.04	0.99	1.13
Body weight (g)				
male (mean $\pm$ S.D.)	3.8 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.3
female (mean $\pm$ S.D.)	3.6 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.3
No. of dead fetuses	0	15	10	6
mortality (%)	0	5.2	3.9	2.3
No. of fetuse with external malformations	0	0	0	0

Fetal mortality is expressed as the average of the incidence in each litter.

Table 4. Effects of oral administration of heptachlor to pregnant rats on internal organ developments of fetuses

Dose (mg/kg)	0	5	10	20
No. of dams	20	20	20	20
No. of fetuses examined	115	106	91	101
No. of fetuses with anomalies				
Dilatation of renal pelvis	1 (1.3%)	1 (1.7%)	1 (1.3%)	1 (0.7%)

Occurrence rate (%) in parenthesis is expressed as the average of the incidence in each litter.

椎椎体の変形（痕跡状，二連球状）を有する胎仔が対照群および 10 mg/kg 群にそれぞれ 1 例観察された。胸骨核の異常（変形，分離，癒合，欠損）を有する胎仔が対照群に 99 例，5 mg/kg 群に 99 例，10 mg/kg 群に 79 例および 20 mg/kg 群に 100 例それぞれ観察された。第 13 肋骨短小の胎仔が 20 mg/kg 群に 1 例観察された。腰椎肋骨を有する胎仔が対照群に 38 例，5 mg/kg 群に 35 例，10 mg/kg 群に 33 例および 20 mg/kg 群に 49 例それぞれ観察された。しかしながら，これらの骨格変異の発生頻度は対照群とヘプタクロル各群との間に有意差を示さず，ヘプタクロルの影響は認められなかった。なお，サリチル酸などの催奇形性物質を妊娠ラットに投与した場合，腰肋の発生頻度が増加することから<sup>4,5)</sup>，腰肋は催奇形性の一つの指標になると考えられているが，本実験のヘプタクロル群において腰肋

の発生頻度が特に高くなるという成績は得られなかった。

骨化状態については，仙・尾椎骨，中手骨，中足骨数を調べて判定した。いずれの骨数においても対照群とヘプタクロル各群との間に有意差は認められなかった。

以上の成績から，ヘプタクロルはラット胎仔の発生に対して胎仔死亡や奇形発生などの悪影響を及ぼさないと結論された。

#### ま と め

ヘプタクロルの 5，10 および 20 mg/kg を妊娠ラットに妊娠 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発生に及ぼす影響を検索した。

1) 妊娠母体について，5 および 10 mg/kg 用量で

Table 5. Effects of oral administration of heptachlor to pregnant rats on skeletal developments of fetuses

Dose (mg/kg)	0	5	10	20
No. of dams	20	20	20	20
No. of fetuses examined	161	154	138	148
No. of fetuses with malformations	0	0	0	0
No. of fetuses with variations				
Cervical ribs	3(2.6%)	7(3.9%)	4(2.6%)	10(7.0%)
Varied thoracic centra	1(0.7%)	0	1(0.6%)	0
Varied sternbrae	99(61.1%)	99(61.9%)	79(57.0%)	100(66.0%)
Shortened 13th rib	0	0	0	1(0.6%)
Lumbar ribs	38(24.0%)	35(23.0%)	33(23.5%)	49(33.5%)
Ossification state(average number)				
Sacro-caudal vertebrae	7.9	7.8	7.7	7.8
Metacarpus	7.9	7.8	7.9	7.9
Metatarsus	8.0	8.0	8.0	8.0

Occurrence rate(%) in parenthesis is expressed as the average of the incidence in each litter.

は一般症状、摂餌量および体重増加に特に変化は認められなかった。20 mg/kg 用量では摂餌量の低下および体重増加の抑制が認められた。

2) 胎仔について、いずれのヘプタクロル投与群とも生存胎仔数、性比、胎仔体重および胎仔死亡率に有意な変化は認められなかった。外表、内部器官および骨格の検査においてもヘプタクロル投与によると考えられる異常例は観察されなかった。

以上、ヘプタクロルの 20 mg/kg 用量は妊娠ラットに対して毒性影響量であったが、胎仔致死作用および催奇形作用は認められなかった。

本研究は厚生省薬務局、既存化学物質毒性試験調査費によって行った。

## 文 献

- 1) 四手井綱英：文部省科学研究費補助金・総合研究(A)研究成果報告書，課題番号56390021 (1984)
- 2) J. G. Wilson: "Teratology-Principles and Techniques," edited by J. G. Wilson and J. Warkany, p. 262 (1965), The University of Chicago Press, Chicago and London
- 3) A. B. Dawson: *Stain Technol.*, **1**, 123 (1926)
- 4) 安田峰生, 前田広由: 先天異常, **13**, 25 (1973)
- 5) S. Tanaka *et al.*: *Cong. Anom.*, **13**, 73 (1973)

## 肝部分切除による肝再生の経時的变化 —組織学的，超微形態学的検索—

今沢孝喜・豊田和弘・下地尚史・佐藤秀隆・古川文夫  
古田京子・長谷川良平・林 裕造

### Sequential Changes in the Liver After Partial Hepatectomy in the Rat: Histological and Ultrastructural Examination

Takayoshi IMAZAWA, Kazuhiro TOYADA, Naoshi SHIMOJI, Hidetaka SATO,  
Fumio FURUKAWA, Kyoko FURUTA, Ryohei HASEGAWA and Yuzo HAYASHI

Sequential changes of the liver after partial hepatectomy were examined histopathologically and ultrastructurally. Five-week-old male F-344 rats were subjected to 2/3 partial hepatectomy and sacrificed at 6, 12, 24, 48, 96, 192 and 288 hours following surgery. The liver weight began to increase between 12 and 24 hours after surgery and was restored to normal size in approximately 8 days. The highest activity of DNA synthesis was observed after 24 hours in hepatocytes and after 48 hours in mesenchymal cells. Morphometric analysis revealed that the compensatory restoration of the liver was due mostly to growth in size and not an increase in the number of the hepatic acini. During the growth of the hepatic acini, some differences were observed in histologic and ultrastructural appearance between the periportal and central areas of the acini. A marked decrease in the amount of glycogen granules and a slight decrease in rough endoplasmic reticulum and mitochondria were most apparent in the periportal area. After 6 hours, a number of PAS positive droplets of varying sizes appeared in the hepatocytes and remained visible for 24 hours.

(Received May 30, 1987)

## はじめに

肝細胞は極めて多様な種々の特異機能を発現する分化細胞であり，同時に旺盛な増殖能をも備えた細胞である。肝は定常状態では極めて安定な臓器で細胞分裂はほとんど認められないが，ラットなどの実験動物を用いて約3分の2の部分切除を行った場合，肝は活発な再生活動を示し短期間ではほぼ正常な重量にまで回復する。このモデルは再生現象と細胞増殖の研究において早くから注目され，生理学，生化学，酵素化学，分子生物学，その他の各分野において多くの研究がなされてきた。中でも興味深いのは再生の開始と終了に関する調節機構の解明<sup>1,2)</sup>と，再生に伴う肝機能や小葉単位の構造の経時的変動<sup>3,4)</sup>である。これらの興味は化学発癌研究で認められている肝部分切除の発癌増幅作用，さらには発癌機構の解明に通ずるものであり重要な研究課題の1つとなっている<sup>5,6)</sup>。今回はラットを用いて，肝部分切除後の肝再生に伴う小葉単位の構造の変動と増殖の関係について組織学および超微形態学的に検索した。

## 実験材料および方法

### 1. 動物および処置

5週齢の雄 F344 ラット（静岡県実験動物農業協同組合より購入）27匹を用い20匹を処置群，7匹を対照群とした。動物をエーテル麻酔下にて腹部正中切開し，処置群については定法に従い3分の2肝部分切除を行い，対照群の動物については肝に軽く触れた後閉腹し偽手術とした。動物は手術後6，12，24，48，96，192，288時間にて処置群3匹（288時間後は2匹），対照群1匹をそれぞれ屠殺剖検した。DNA合成の検索のため全動物を対象に屠殺1時間前に bromodeoxyuridine (BrdU; Sigma 社製) を 40 mg/kg 体重量の割合で腹腔内投与した。肝については重量を測定後ホルマリン固定（2～3日間）し，通常の方法でパラフィン包埋後，薄切し，hematoxylin-eosin (HE) 染色等の組織標本あるいは BrdU 免疫組織化学的標本を作成した。また肝の1部は透過型電子顕微鏡による観察のためにグルタルアルデヒドおよび四酸化オスミウムで固定し，エポキシ樹脂包埋後，超薄切片標本を作成した。

## 2. DNA合成標識細胞および細胞分裂像

DNA合成標識細胞の観察は抗BrdU抗体(Becton Dickinson Immunocytometry Systems社製)を用いたABC法による免疫組織化学的染色標本を作成して、肝実質細胞と間葉系細胞のそれぞれについて検索した。細胞分裂像についてはHE染色標本下で実質細胞についてのみ検索した。DNA合成の標識率(LI)と細胞分裂率(MI)は高倍率( $\times 400$ )下で1標本当たり無作為に30視野を選んで実施し、細胞100個当たりの数として表した。

## 3. 肝小葉の経時的変動

肝小葉の動態については以下の方法で検索した。

a) 小葉の大きさの変化: 染HE色標本下にて任意の肝中心静脈(ただし断面が極端な長円形を示すものは除外した)から最短距離にある門脈域(Glisson鞘)までの長さを1検体につき20カ所計測し、各群毎の平均を求め、この値を肝小葉の大きさの指標とした。

b) 小葉の数の変化: 小葉の数として門脈域の数を測定し、肝組織切片の面積の増大と単位面積当りの門脈領域の数から再生に伴う門脈枝の増減、すなわち小葉数の増減について検討した。なお、肝部分切除後まだ細胞分裂が始まっていない6時間後の値に対する比として各増加率を算出した。

$t$ 時間後の肝組織標本の面積増加率( $A_t$ )は

$$A_t = (V_t/V_0)^{2/3}$$

ただし  $V_t$ :  $t$ 時間後の肝の容積

で表される。 $V_0$ は、

$$V_0 = W_0 \times \gamma_0$$

ただし  $\gamma_0$ :  $t$ 時間後の肝の比重

$$W_0: t時間後の肝の重量$$

の式から求められるが、ここで  $\gamma_0 = \gamma_t$  と仮定すると

$$A_t = (W_t/W_0)^{2/3}$$

となり、面積の増加率を肝重量の関数として表すことができる。

$t$ 時間後の単位面積当たりの門脈領域の数を  $\rho_t$  とすると  $\rho_t/\rho_0$  は単位面積当たりの門脈数の増加率を表し、これに面積の増加率( $A_t$ )を乗じた値は再生に伴う断面積の増大と門脈数の増加の相互関係を表す。これを門脈領域指数とし、 $R_t$  とすると以下のようになる。

$$R_t = A_t \times (\rho_t/\rho_0)$$

ただし、 $R_t$ :  $t$ 時間後の門脈領域指数

$$A_t: t時間後の面積増加率$$

$$\rho_t: t時間後の肝切片単位面積当たりの門脈領域の数$$

$R_t = 1$  であれば、術後  $t$  時間において肝再生による肝

の増大には門脈域の数の増加、すなわち小葉の数の増加を伴っていないことを、 $R_t < 1$  ならば小葉数の減少、 $R_t > 1$  ならば小葉数の増加を意味する。なお標本切片の面積は画像解析装置(TAS-PLUS; ライツ社製)にて測定した。

## 4. 電子顕微鏡による観察

透過型電子顕微鏡(JEM-100CXS, 日本電子)による観察は中心静脈域と門脈域に分けて実施し、超微形態学的な変化を検索した。

5. その他、病理組織学的な変化についてHE, PAS, Azan, 渡銀法の各染色標本下にて検討した。

## 結 果

### 1. 体重および肝重量

動物の屠殺時の体重および肝重量を Table 1 に示す。手術時の平均体重は  $153.3 \pm 6.3$  g であった。体重は肝部分切除群で術後48時間までは増加抑制傾向がみられたが、その後徐々に増加傾向を示し、術後196時間(8日)には対照群の値まで回復した。偽手術群においても術後しばらくは体重増加抑制がみられた。肝重量は部分切除によって約3分の1に減少したが、術後12~24時間目より急激な増加傾向を示し196時間後にはほぼ正常の値に回復した。

### 2. BrdU 標識率および細胞分裂

BrdU 取り込みによる LI および MI を Fig. 1 に示す。肝実質細胞のDNA合成は術後24時間に、また細胞分裂は24~48時間後にピークに達した。間葉系細胞のDNA合成は48時間後にピークがみられた。各屠殺時期における肝実質細胞のBrdU標識細胞および分裂細胞の小葉内分布について24時間後には特記すべき所見は認められなかったが、次第に小葉中心部の標識率は低下し、また間葉系の標識細胞は門脈域近縁に多い傾向がみられた。

### 3. 肝小葉構造の組織学的変動

肝の中心静脈と門脈域との距離の経時的変化を Fig. 2 に示す。偽手術群においても動物の成長に伴って小葉が大きくなる傾向がみられたが、処置群においては対照群に比べ、より明らかな経時的増加を示した。この距離の経時変化は時期的に肝重量の増加曲線に一致していた。このような小葉面積の拡大が小葉数の変動を伴っているのか否かを検討するために算出した肝の門脈領域指数( $R_t$ )を Table 1 に示す。 $R_t$  は各時期においてほぼ1であり、各時期の間に有意差は認められなかった。このことにより再生中の肝において小葉の数に変動のみられないことが明らかとなった。小葉内の肝細胞の大きさは、部分切除初期において軽度

増加する傾向がみられたが最終的には対照群と差異はみられず，小葉内の肝細胞の数の増加が明らかであった。

4. 小葉内の各領域における超微形態学的変動

偽手術群の肝細胞においては経時的な超微形態学的変化は明らかではなかったが，門脈域では中心静脈域に比してミトコンドリア/滑面小胞体(SER)の比率が大きい傾向にあった。各領域における経時的変動を以下に述べる。

a) 門脈領域における変化：肝部分切除6時間後にはグリコーゲンおよびSERの著明な減少と脂肪様滴状物の増加が観察された。この滴状物は組織学的にPAS陽性物として認められたものと考えられるが，なかには細胞小器官の崩壊物と思われる物質を含んでいるものもみられた。またミトコンドリアの多数の崩壊像がみられた。粗面小胞体(RER)はミトコンドリアを取り巻くように認められ，軽度に腫大していた。

また大小さまざまな種々の電子密度の脂肪滴が多くみられた。12時間以降，グリコーゲンは徐々に増加し96時間ではほぼ正常に回復した。その他の所見も96時間以降正常のものとはほぼ変わりはなかったが，時として核内に脂肪様滴状物が，また胞体内にcoated vesicleが多数みられることもあった (Fig. 3, 4)。

b) 中心静脈域における変化：6時間では門脈域にみられた変化と同様な所見であったが，グリコーゲンの量は比較的短時間に正常に復した。その他の所見も門脈領域より早期に正常に回復していたが，48および96時間後においてもミトコンドリアの崩壊像はみられた。また96時間後には核内に脂肪様滴状物および空胞が認められるものもあった (Fig. 5, 6)。

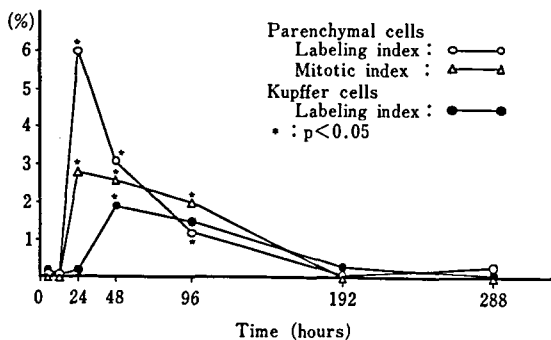


Fig. 1. Labeling index for DNA synthesis and mitotic index in the liver after partial hepatectomy

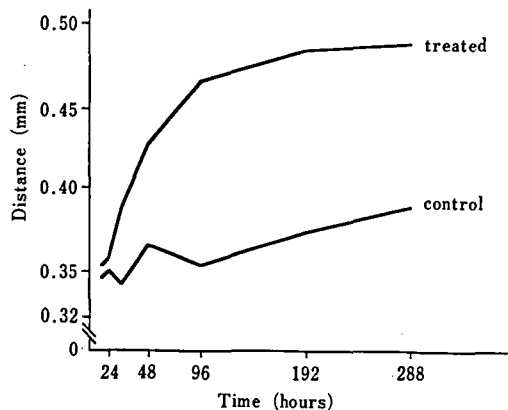


Fig. 2. Sequential change of distance between the central vein and the edge of Glisson's capsule

Table 1. Body and liver weight of rats

Hours	No. of rats	Body (g)	Liver (g)	Liver/Body (%)	Rt
6	3	143 ± 5.6	1.99 ± 0.08	1.39 ± 0.01	1.00
12	3	144 ± 9.8	2.16 ± 0.28	1.50 ± 0.09	1.07
24(1d)	3	133 ± 3.4	2.63 ± 0.12	1.98 ± 0.09	0.93
48(2d)	3	137 ± 2.1	3.48 ± 0.10	2.55 ± 0.11	0.98
96(4d)	3	158 ± 5.2	5.88 ± 0.23	3.72 ± 0.14	1.02
192(8d)	3	178 ± 16.4	6.77 ± 0.91	3.80 ± 0.17	0.95
288(12d)	2	199 ± 7.1	7.33 ± 0.98	3.68 ± 0.36	1.02
Control	7			3.88 ± 0.09	

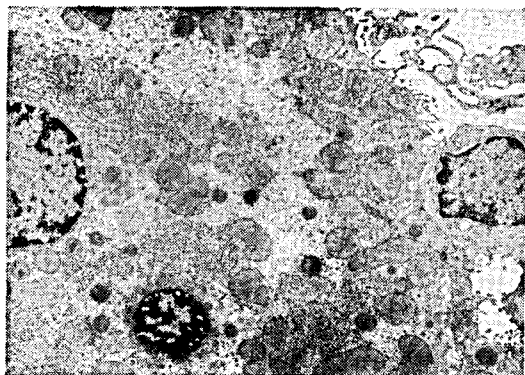


Fig. 3. Electron micrograph of normal hepatocyte. There are a large number of glycogen granules, mitochondria and RER in the cytoplasm, portal area (zone 1), control,  $\times 4, 100$ .

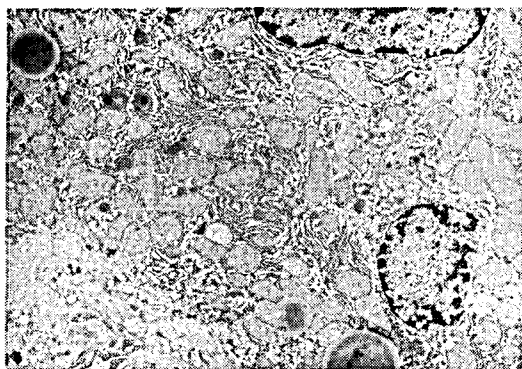


Fig. 4. Slightly dilated RER surrounding mitochondria are observed, portal area (zone 1), 12 hrs. after PH,  $\times 4, 100$ .

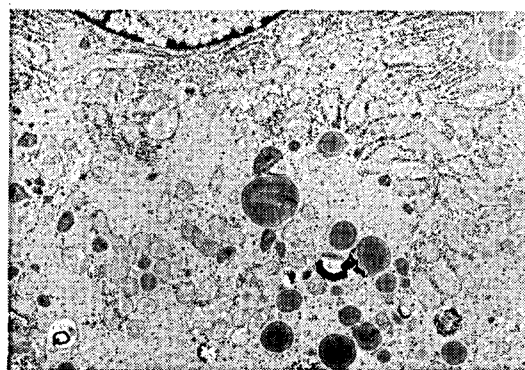


Fig. 5. Decrease of glycogen granules, increase of free ribosomes and numerous mid-dense substances are apparent, central area (zone 3), 12 hrs. after PH,  $\times 4, 100$ .

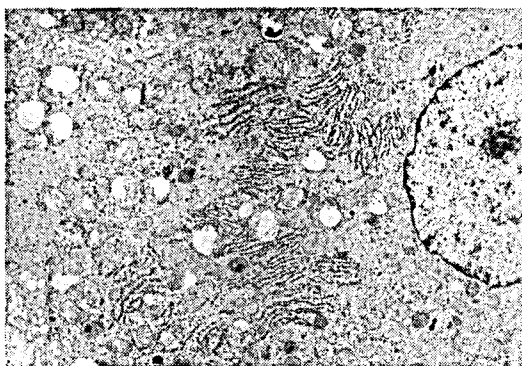


Fig. 6. Sparse glycogen granules and vacuoles in mitochondria are observed, central area (zone 3), 48 hrs. after PH,  $\times 4, 100$ .

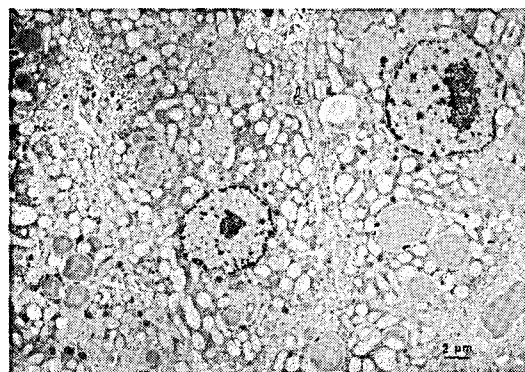


Fig. 7. There are observed a number of lipid droplets, which seem to be changing to vacuoles or to contain myelin-like materials, portal area (zone 1), 12 hrs. after PH,  $\times 1, 700$ .

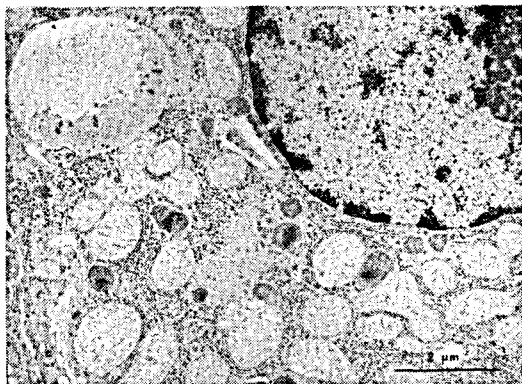


Fig. 8. Many mitochondria are crumbling and most vacuoles seem to be changing darker in electron density. higher magnification of Fig. 7,  $\times 6, 820$ .

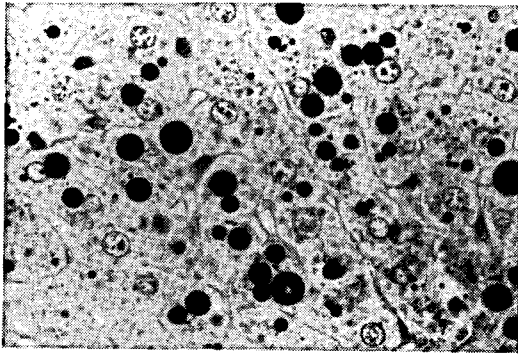


Fig. 9. Numerous PAS positive droplets with varying size are observed in hepatocytes. 6 hrs. after PH,  $\times 120$ .

### 5. その他の変化

肝部分切除6時間後に肝細胞内に多数の大小不同の弱好酸性小滴が出現した。これは電顕的に脂肪様滴状物として認められ、一部はミエリン様構造物を入れていた (Fig. 7, 8)。PAS 染色では陽性であった (Fig. 9)。また Kupffer 細胞が微小滴を取り込んでいる像も認められた。この小滴は24時間後には肝全域からほぼ消失した。

PAS 染色では術後6時間にはグリコーゲンが肝全域でほぼ完全に消失し、12時間以降門脈域より徐々に蓄積されていった (Fig. 10)。細胞分裂中の細胞は通常グリコーゲンに乏しかった (Fig. 11)。間質における膠原線維の増殖などの変化は認められなかった。

## 考 察

今回は肝再生における肝の容積増大が小葉数や門脈枝の増加などの構築の変動を伴っているのか、または小葉自体の増大によるものなのかについて、さらに再生に伴う肝細胞の形態変化が小葉内の部位によって異なるか否かに焦点を合わせて検索を行った。

第一の点については、門脈領域と中心静脈の距離の測定および肝組織の断面積の増加率と各時期の単位面積当たりの門脈領域の数より算定した門脈領域指数を用いることにより、肝再生における臓器の増大は、小葉数の増加ではなく小葉サイズの増大に依存していることが明らかとなった。肝部分切除後の初期には肝細胞の腫大 (hypertrophy) も観察されたが長期間にわたっては確認されず、肝小葉単位の肝細胞数の増加 (hyperplasia) が肝再生の主体であった。

第二の点については、門脈領域と中心静脈領域に組織学的、電顕的に僅かながら再生過程に差異が認められた。このことは再生における各領域の機能的差異を

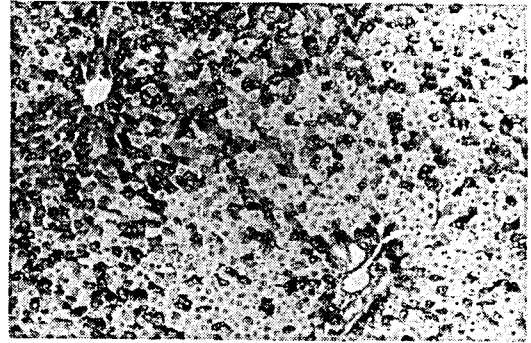


Fig. 10. PAS positive droplets have disappeared. Glycogen-rich cells are mainly observed around central vein. 24 hrs. after PH, PAS stain,  $\times 60$ .

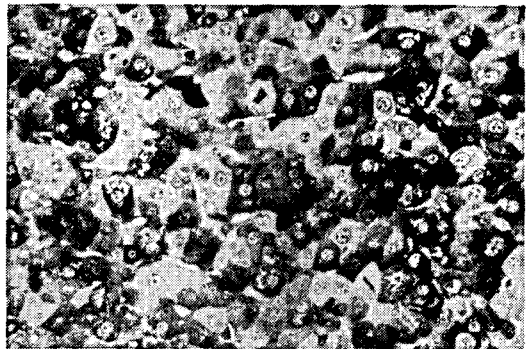


Fig. 11. Dividing cells contain small amount of glycogen, 96 hrs. after PH, PAS stain,  $\times 240$ .

反映しているものと考えられる。

今回認められた再生時の肝細胞の超微形態学的変化は既に報告されている肝再生時の電顕所見<sup>7,8)</sup> とほぼ一致していた。これらの変化に関しては、小葉内の部位による差異はあまり認められなかったが、変化の経過および程度に違いが認められた。すなわち中心静脈域における変化は門脈域におけるそれに比べて軽度であり、早期に正常に回復した。Grisham ら<sup>9)</sup> は肝の再生が小葉の周辺部から中心部へ進行すると報告しているが、今回の BrdU 標識率、光顕および電顕的観察の結果から、肝小葉中心部では分裂増殖よりも中断していた肝機能の回復に重点がおかれていることが示唆される。

光顕下において PAS 陽性の弱好酸性物質として認められた小滴は電顕下においては脂肪様滴状物として認められた。この小滴は、これまでに自家食胞あるいは脂肪滴として報告されているが<sup>3,10)</sup>、その詳細については不明な点が多い。この滴状物には acid phospho-

phatase 活性が認められており lysosome 由来の自家食胞とされているが, Mori ら<sup>11)</sup>は lysosome が滴状物に接している像を示し, 滴状物は pinocytosis によるものであり, それが lysosome より acid phosphatase 活性を獲得するようになると述べている. また, 部分切除後早期にみられる下大静脈庄および門脈庄の上昇に伴って血漿成分が細胞内へ移動することによるという説もある<sup>12)</sup>. 今回の検索では小器官の崩壊像が認められ, また滴状物内に小器官の崩壊物と考えられる像がみられたことから, これらは自家食胞であり, 肝細胞が通常の肝機能を一次中断して細胞分裂を一斉に開始するために不用となった細胞内小器官や酵素類を DNA 合成材料に利用するものと考えられる.

### 結 語

肝部分切除後にみられる肝の増大は小葉数が増加するのではなく, 小葉の増大により起こることが示され

た. また小葉辺縁部と中心部では再生過程に差異のみられることが示された.

### 文 献

- 1) 中村ら: 実験医学; **5**, 13 (1987)
- 2) J. Sobczak *et al.*: *Biochimie*, **68**, 957 (1986)
- 3) P. L. Iversen *et al.*: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **78**, 10 (1985)
- 4) E. Roberts *et al.*: *Cancer Res.*, **43**, 28 (1983)
- 5) J. W. Grisham *et al.*: *Surv. Synth. Pathol. Res.*, **1**, 49 (1983)
- 6) 長谷川ら: 名市大医誌; **32**, 310 (1981)
- 7) F. F. Becker *et al.*: *Amer. J. Pathol.*, **47**, 783 (1965)
- 8) K. Ogawa *et al.*: *Lab. Invest.*, **41**, 22 (1979)
- 9) J. W. Grisham *et al.*: *Cancer Res.*, **22**, 842 (1962)
- 10) U. Pfeifer: *Virchows Arch.* [Cell Pathol.], **30**, 313 (1979)
- 11) M. Mori and A. B. Novikoff: *J. Cell Biol.*, **72**, 695 (1977)
- 12) 矢原宮吉: 大阪医大誌, **45**, 108 (1986)

## B6C3F<sub>1</sub> マウスにおける dicofol の亜慢性毒性試験

佐藤秀隆・豊田和弘・古川文夫・長谷川良平  
高橋道人・林 裕造

### Subchronic Oral Toxicity Test of Dicofol (1,1-bis(*p*-chlorophenyl)-2,2,2-trichloroethanol) as the Basis for the Design of a Long-term Carcinogenicity Study in B6C3F<sub>1</sub> Mice

Hidetaka SATO, Kazuhiro TOYODA, Fumio FURUKAWA, Ryohei HASEGAWA,  
Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI

A 13-week dose-range examination of dicofol was carried out in B6C3F<sub>1</sub> mice at the dose levels of 750, 500, 250 and 0 ppm in the diet to estimate a maximum tolerable dose in a long-term carcinogenicity study. Each of the 4 groups of mice used in the study consisted of 10 males. By the end of the test, one mouse in the highest dose group was dead but causation was unclear. Decreases in body weight gain were observed in mice given 750 and 500 ppm dicofol, and a dose-related decrease was observed with increase in dicofol in the diet. On pathological examination, hepatomegaly/hepatocytomegaly was a major finding in all dicofol-treated groups.

Based on these findings, a concentration of 500 ppm in the diet was determined to be the maximum tolerable dose of dicofol for use in mice in the long-term carcinogenicity study.

(Received May 30, 1987)

### はじめに

1,1-ビス-(*p*-クロロフェニル)-2,2,2-トリクロロエタノール (dicofol) は DDT に類似した化学構造をもつ有機塩素系殺虫剤で, 夏みかん, ナシ, ブドウ, モモ等の殺ダニ剤として用いられている. Dicofol の変

異原性試験では, Ames 試験, 染色体異常誘発試験, 小核試験で陰性の結果が報告されている<sup>1,2)</sup>. 発癌性試験はマウス, ラットとも実施されており (NCI-NTP)<sup>3)</sup>, 平均 528 mg/kg の投与により雄マウス (B6C3F<sub>1</sub>) における肝腫瘍の発生を有意に増加させることが報告されている. その発生メカニズムについては明らかでな



いが、類似化合物の DDT が dicofol 同様マウスに肝腫瘍を発生させ<sup>4,5)</sup>、二段階発癌試験においてプロモーター作用を示すことが知られていること<sup>6,7)</sup>、dicofol 投与による肝腫瘍の発生率の増加は雄マウスにおいてのみ認められ雌マウスやラットでは認められないこと<sup>3)</sup>、雄マウスでは比較的高率に肝臓に自然発生腫瘍が認められ、この肝腫瘍の発生率は肝プロモーター物質により増加することが報告されている<sup>8)</sup> ことなどから、dicofol 投与によりマウス肝臓の自然発生腫瘍が促進的に増加したものと考えられる。

我々は肝腫瘍の発生を指標として dicofol の長期投与における生体への影響および実質安全量 (VSD) の検討を計画している。今回は慢性試験に先立ち B6C3F<sub>1</sub> 雄マウス40匹を用い、dicofol 添加飼料の亜慢性経口毒性試験を行った。

### 実験材料および方法

雄性の6週齢 B6C3F<sub>1</sub> (SPF) マウス40匹を日本チャールズリバー社より購入し、1週間の馴化期間後、各群10匹の4群に分けた。動物の飼育はバリエーションシステムの飼育室にて行い、室内の環境条件は温度 24±1°C、湿度 55±5%、換気回数 18/hr (オールフレッシュ)、12時間の蛍光灯照明、12時間の消灯とした。動物は、プラスチックケージ内に5匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス株式会社のソフトチップを用い、週2回交換を行った。検体として ROHM & HASS 社製の dicofol (1,1-bis(*p*-chlorophenyl)-2,2,2-(trichloroethanol) を用いた。本物質は純度95%以上、融点77~78°Cで水に難溶、油性溶媒に易溶で暗褐色のやや柔らかいゼリー状の物質である。dicofol をチャールズリバー社製粉末飼料 (CRF-1) に 750, 500, 250ppm の割合で混入し、各群の動物に13週間自由に摂取させた。第4群は対照群として基本飼料である CRF-1 粉末飼料を与えた。飲料水は水道水を用い自由に摂取させた。投与開始後、全動物について一般状態を連日観察し、週1回体重測定を行った。摂餌量は週1回各ケージ毎に測定した。検体投与の最終日の夕刻から動物を一晩絶食させ、翌日にエーテル麻酔下で放血屠殺後、剖検した。

諸臓器は肉眼的に観察してから摘出し、唾液腺、胸腺、心臓、肺、腎臓、脾臓、肝臓、辜丸については重量測定を行った。上記臓器のほか、脳、脊髄、下垂体、副腎、胸骨、大腿骨、胃、腸、膵臓、膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節、副鼻腔、気管支、食道、甲状腺、舌、精囊、前立腺を10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。組織は通常の方法によりパラフィン包埋して薄切

片を作製し、hematoxylin-eosin (HE) 染色を施し、病理組織学的に検索を行った。

統計学的検索は、分散分析法によった。

## 結 果

### 1. 一般状態、体重、摂餌量

試験全期間を通じて、最高用量群 (750 ppm) で摂餌量の減少が認められ、また同群において途中死亡が1例認められた以外、dicofol 投与群、対照群のいずれにも一般状態の異常は認められなかった。各群の平均体重と摂餌量の推移を Fig. 1, 2 に、総摂餌量および dicofol 総摂取量を Table 1 に示した。対照群に比べて 750, 500 ppm 群では dicofol 投与開始時より体重の増加抑制が認められ、その推移は試験終了時まで飼料摂取量と同一の傾向を示した。250 ppm 群は対照群と同様の体重および摂餌量の推移を示した。摂餌量の推移についてみると、投与開始第1週目に著しい低下が認められ翌週には平均レベルまで回復した。各群の総摂餌量は Table 1 に示したごとく、対照群の各々 97.5, 90.8, 82.4% であり、dicofol 摂取量も添加

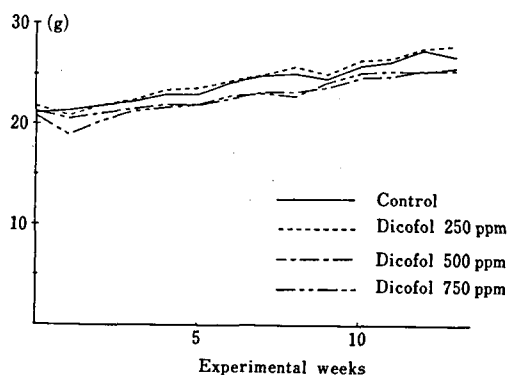


Fig. 1. Growth curve of male B6C3F<sub>1</sub> mice in subchronic cute test

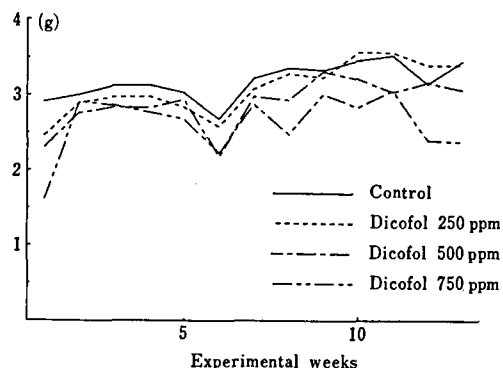


Fig. 2. Feed intake of male B6C3F<sub>1</sub> mice in subchronic test

Table 1. Total intake and average daily intake of feed or dicofol in mice

Group	Feed		Dicofol	
	Total Intake (g) (%)	Average Daily Intake (g/mice/day)	Total Intake (mg)	Average Daily Intake (mg/mice/day)
Control	289.6 (100)	3.18		
250 ppm	281.1 (97.5)	3.09	70.26	0.772
500 ppm	262.9 (90.8)	2.89	131.5	1.445
750 ppm	238.6 (82.4)	2.62	178.82	1.965

Table 2. Absolute organ weight (gram) in subchronic test

Groups Organ	Dicofol 750ppm	Dicofol 500ppm	Dicofol 250ppm	control
SALIVARY GLAND	0.231±0.024	0.225±0.044	0.244±0.019	0.226±0.031
THYMUS	0.043±0.016	0.039±0.012	0.042±0.011	0.041±0.019
LUNG (R)	0.115±0.022	0.107±0.018	0.115±0.023	0.116±0.015
LUNG (L)	0.067±0.021	0.054±0.007	0.052±0.007	0.058±0.011
HEART	0.123±0.012**	0.129±0.011**	0.143±0.014	0.148±0.012
SPLEEN	0.062±0.012	0.063±0.010	0.070±0.013	0.066±0.015
LIVER	1.617±0.111**	1.34 ±0.137	1.372±0.147	1.104±0.362
KIDNEY (R)	0.181±0.028	0.178±0.022	0.203±0.016	0.212±0.025
KIDNEY (L)	0.179±0.030	0.166±0.011	0.189±0.021	0.199±0.021
TESTIS (R)	0.105±0.011	0.107±0.011	0.114±0.009	0.113±0.017
TESTIS (L)	0.105±0.009	0.103±0.011	0.113±0.010	0.114±0.019

\*\* p&lt;0.01

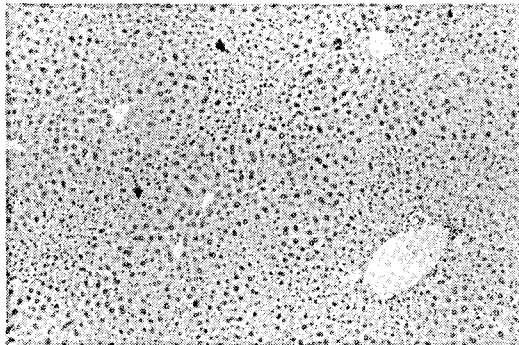


Fig. 3. Hepatic centrilobular hypertrophy in the mouse treated with 750 ppm dicofol for 13 weeks.

濃度に比例して用量相関が認められ、各々 0.772, 1.445, 1.965 mg/mouse/day の値を示した。

## 2. 臓器の絶対重量

Table 2 に各群の主要臓器の平均重量を示した。

dicofol 投与群の肝重量は対照群に比べて高値を示し、750 ppm 群では統計学的に有意差 ( $p<0.01$ ) を認めた。一方、750 ppm, 500 ppm 群では心臓重量の減少が認められた ( $p<0.01$ )。他の臓器においては体重の軽い 750 ppm, 500 ppm 群で対照群に比べてやや軽い傾向を示したが、有意差は認められなかった。

## 3. 病理組織学的所見

肝臓：対照群の肝細胞は比較的均一で類洞は明瞭であり、細胞質はグリコーゲンを含むためやや明るい。dicofol 投与群では中心静脈域の肝細胞が腫大して大小不同を示し、細胞質の好酸性が増して胞体全域が硝子様を呈するとともに細胞境界は不明瞭となり、一部では多核の細胞も認められた (Fig. 3)。この変化は 750 ppm 群で特に強く、小葉全体が硝子様を呈した例もみられた。しかし全例を通じて壊死は認められずクッパー星細胞、小葉間胆管に変化は認められなかった。

その他の臓器においては特記すべき変化を認めなかった。

## 考 察

摂餌量の推移では、投与開始第1週目に著しい低下が認められ翌週には平均レベルまで回復しているが、これは添加飼料に対する一時的な摂餌忌避行動によるものと考えられた。また、最高用量群で途中死亡が1例認められたが、著明な体重減少以外に肉眼的、病理組織学的な変化を認めず、その死亡原因を解明し得なかった。

今回の実験における 250, 500, 750 ppm 群の総摂餌量は、各々対照群の97.5, 90.8, 82.4%であった。一方平均体重は 750, 500 ppm 群で約90%であったが、250 ppm 群では対照群と差を認めなかった。NTP の報告<sup>9)</sup>によれば、dicofol を 316 ppm の濃度で飼料に混じて B6C3F<sub>1</sub> マウスに投与し28%の体重増加抑制が認められたとしている。しかし NTP において試験に用いた dicofol の純度は40~60%と低かったことから、このような結果が必ずしも dicofol 自身の毒性を示しているとは限らず、不純物の影響は無視できない。dicofol には、その製造過程において類似化合物や分解物である DDT, DDD, DDE, dichlorobenzophenone などの混入がみられることが多い<sup>9,10)</sup> ことから、dicofol の毒性を評価する際にはそれらに関する情報も考慮する必要がある。

今回の実験において dicofol 投与により肝重量の増加と中心静脈域での肝細胞の腫大を認めた。しかし、肝細胞には細胞質の硝子様変化が認められたが壊死はなかった。これらの変化には用量相関がみられ、dicofol 投与との関連性を示唆するものであった。このような肝細胞の変化は、形態学的に肝ミクロゾーム酵素誘導剤の投与によって生ずる変化<sup>11)</sup>と類似していた。dicofol やその類似体である DDT により肝ミクロゾーム系酵素が誘導されることは既に報告されており<sup>12)</sup>、今回の実験における肝細胞の所見は、dicofol が肝ミクロゾーム系酵素を誘導した結果の形態学的変化と考えられる。

一方、心臓重量の低下が dicofol 投与全群において認められたが、組織学的な変化は認められずその原因については明らかにできなかった。類似化合物の

DDT においては、イヌ、ネコ、サル、ウサギなどに心房細動を引き起こし、死亡させることが知られている<sup>9)</sup> が、今回の実験において認められた心臓重量との関連については不明である。また DDT にはエストロゲン様作用があり、dicofol についても同様の作用を有する可能性が考えられたが、下垂体、副腎には組織学的に変化は認められず、この程度の投与量では影響がないものと判断された。

750 ppm では摂餌量が対照群に比べて82%程度と低く、慢性試験を行った場合に対照群との体重差を10%以内に抑えきれないが、500 ppm の摂餌量は対照群の90%程度を確保でき、体重差を10%以内にとどめることが可能であると判断された。しかも 500 ppm は dicofol の肝臓に対する影響を認めることのできる濃度であり、それ以下の低用量においては対照群と同様の発育が保証されると判断される。以上の結果より、慢性試験における最高濃度を 500 ppm とし、300, 200, 100, 50 ppm の5段階を試験用量とすることに決定した。

## 文 献

- 1) IARC Monographs: *On the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man*, **30**, 87 (1983)
- 2) Kawachi, T. et al.: *IARC Scientific publication*, No. 27, 323 (1980)
- 3) National Cancer Institute: *Bioassay of dicofol for possible carcinogenicity* (NCI-CG-TR-90; DHEW Publ. No. (NIH) 78-1340), Bethesda, MD
- 4) IARC Monographs: *On the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man*, **5**, 83 (1974)
- 5) Environmental Health Criteria 9 (WHO): *DDT and its Derivatives*, 88 (1979)
- 6) Kitagawa, T. et al.: *Carcinogenesis*, **5**, 1653 (1984)
- 7) Peraino, C. et al.: *Cancer Res.*, **35**, 2884 (1975)
- 8) Peraino, C. et al.: *JNCL*, **51**, 1349 (1973)
- 9) Baum, H. et al.: *J. Assoc. off. anal. Chem.*, **59**, 1109 (1976)
- 10) Rothman, A. M.: *J. Assoc. off. anal. Chem.*, **63**, 1296 (1980)
- 11) Ishak, K. G.: *The liver In R. H. Riddell (ed), "Pathology of drug-induced and toxic diseases"*, Churchill Livingstone, 457 (1982)
- 12) Den Tonkelaar, E. M. & Van Esch, G. J.: *Toxicology*, **2**, 371 (1974)

粗製トリプシンインヒビターの膵臓に与える影響および種差  
一病理組織学および免疫組織化学的検索一

古川文夫・豊田和弘・阿部 弘・長谷川良平  
佐藤秀隆・高橋道人・林 裕造

Short-term Effects of Feeding Crude Soybean Trypsin Inhibitor on  
Pancreas of Rat, Hamster and Mouse

Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hiroshi ABE, Ryohei HASEGAWA,  
Hidetaka SATO, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI

The effects of crude soybean trypsin inhibitor (SBTI) on the pancreas of the three animal species, the rat, hamster and mouse were compared histopathologically and immunohistochemically. Feeding 10% SBTI diet for 4 weeks in rats resulted in a significant increase of pancreatic volume in association with enlargement of acini, hypertrophy of acinar cells and increase of intracellular Zymogen granules. Such changes were not observed in hamsters and mice after feeding of the same SBTI-diet. In untreated animals of these three species, CCK (cholecystokinin) positive cells were commonly found immunohistochemically in the upper parts of the small intestine. After feeding of the SBTI-diet, CCK positive cells were observed to have markedly decreased in rats but not in mice and hamsters. Feeding of SBTI-diet in rats also decreased the number of somatostatin-positive cells in the islet whereas glucagon and insulin-positive cells were not affected. These immunohistochemical findings suggest that the reactivity of CCK positive cells to SBTI is responsible for the species difference among rats, hamsters and mice as regard to the morphological alteration of the exocrine pancreas after SBTI treatment and that CCK regulates, either primarily or secondarily, the endocrine function of islet cells.

(Received May 30, 1987)

はじめに

大豆には trypsin の酵素活性を阻害する因子 (trypsin inhibitor) (TI) が存在することが知られている<sup>1)</sup>. TI は安定なグロブリンたん白で、ほぼ同量の結晶 trypsin と結びつき複合体を形成し酵素活性を阻害するが、TI をラットやニワトリに与えると膵臓の腺房細胞が著しく腫大し、チモーゲン顆粒、DNA 量、RNA 量、たん白質が増加することが知られている<sup>2,3)</sup>. McGuinness らの報告によれば TI をラットに長期間投与すると膵の腫大とともに腺房細胞由来の過形成や癌が発生する<sup>4)</sup>. また、腺房細胞癌を発生させる azaserine を投与し、その後 TI を投与することにより腺房細胞由来の腫瘍性病変の発生が促進され、TI には膵に対する発癌性と共にプロモーション作用のあることが示された<sup>5,6)</sup>.

我々は、ラットにおける粗製 TI の用量反応関係を確認するとともに種差を検討する目的でラット、ハムスター、マウスを用い TI の膵臓に与える影響を病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検討した。

実験材料および方法

実験 1.

5週齢の雄 SD ラット (三協ラボサービス社より購入) を4群に分け40%、20%群は各3匹、10%および無処置対照群は各2匹とした。粗製 TI は、40%、20%、10%の割合でM粉末飼料 (オリエンタル酵母) に混じり4週間自由に摂取させた。粗製 TI は、不二製油 (株) より入手した。製法は、脱脂大豆抽出液 (豆乳) を遠沈し、この上清を限外濾過した後中和し乾燥させたものである。一般組成は、粗たん白質57.6%、灰分10.2%、水分3.3%である。この粗製 TI の活性は388/U/g (BAPA 法による) であり、Sigma 社製の市販 TI の活性の約5分の1に相当する。

実験 2.

5週齢の雄 SD ラット、雄 C57BL マウス、雄シリアンゴールドンハムスター (三協ラボサービス社) を各10匹ずつ用い、各動物種5匹ずつに10%粗製 TI 添加飼料を、他の5匹には対照群として粉末飼料を自由に摂取させた。4週間後、bromo-2'-deoxyuridine

Table 1. Body weight for rats, hamsters and mice fed 10% crude soybean trypsin inhibitor

Animals	initial	final (4W)
rat	185±38	274±22
hamster	90±12	84±18
mouse	23± 1	22± 1

mean±S.D.

Table 2. Histological changes of pancreas and upper small intestine in rat, hamster and mouse exocrine pancreas duodenum and jejunum

	degree of enlargement	distribution of CCK-positive cells	
		basal diet	SBTI
rat	+++	many	few
hamster	+	few	few
mouse	+	few	few

+: mild ++: moderate +++: severe  
SBTI: crude soybean trypsin inhibitor

(BrdU) (Sigma 社製) 4 mg を 10  $\mu$ l dimethylsulfoxide (DMSO) に溶解し生理食塩水を 0.2 ml を加えて、これを 100 g 体重当たりの投与液とし、屠殺 1 時間前に上記の各種動物のすべてに体重 100 g 当たり 0.2 ml の割合で腹腔内投与した。その後屠殺、剖検して病理組織学的に検討した。

膵臓は十二指腸と空腸とともに摘出し 10% 中性緩衝ホルマリンで 1 日固定し、70% エタノールで再固定した後、通常の方法にて脱水、パラフィン包埋、薄切し、ヘマトキシリン-エオジン染色、および Azan 染色を五十嵐らの方法により実施し病理組織学的に検索した<sup>6)</sup>。さらに抗ヒト glucagon、抗ヒト insulin、抗ヒト somatostatin (以上の抗体は DAKO 社) 抗ヒト cholecystokinin (CCK) (CRB 社)、抗 BrdU 抗体 (Becton Dickinson 社) を用い、avidin-biotin-peroxidase complex キット (ABC) 法 (Vector 社) で免疫組織化学的に染色した<sup>7)</sup>。

## 結 果

### 実験 1.

実験開始時のラットの平均体重は 185 g であったが実験終了時では 20% 群で 210 g; 10% 群で 260 g; 無処置対照群, 261 g であり、用量に相関して体重増加

の抑制が認められた。実験は投与開始より 4 週間で終了し生存動物を屠殺、標的臓器である膵臓を摘出した。しかし、40% 投与群では体重増加抑制が顕著であったため実験 2 週間目で屠殺した。肉眼的には投与群の膵臓は高濃度になるにしたがって著しい体積の増加が認められた。

組織学的には、正常の膵臓 (無処置ラット) の腺房細胞の核は一般に球形で胞体の中心よりやや基底側に寄って位置し、周囲は好塩基性に染まる線条構造が認められた (Fig. 1)。腺房細胞の内腔には好酸性に染色されたチモーゲン顆粒が認められるが、チモーゲン顆粒を持たない腺房細胞 (暗調細胞) も多数存在する。Azan 染色では腺管の上皮、細胞核、チモーゲン顆粒は赤色に、膠原線維と細網線維、粘液は鮮やかな青色、赤血球は黄色に染色された (Fig. 2)。

40, 20, 10% 粗製 TI 含有飼料を摂取したラットでは膵臓の腺房細胞のチモーゲン顆粒が豊富で、細胞基底部の好塩基性に染まる部分は減少しており、線条構造が不明瞭となり、暗調細胞の数の減少がみられた。核はやや小型化し円形で核小体はややエオジン好染性であった (Fig. 3)。Azan 染色でチモーゲン顆粒を染色すると均一の細顆粒状を示し細胞の約 2/3 を占めており、このような変化は各濃度の粗製 TI 投与群に共通

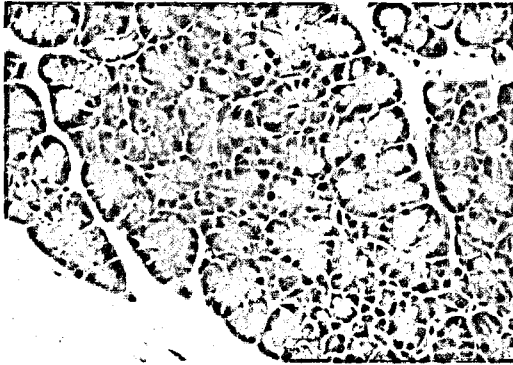


Fig. 1. Light micrograph of rat pancreas after feeding of basal diet.  $\times 100$  (H&E)

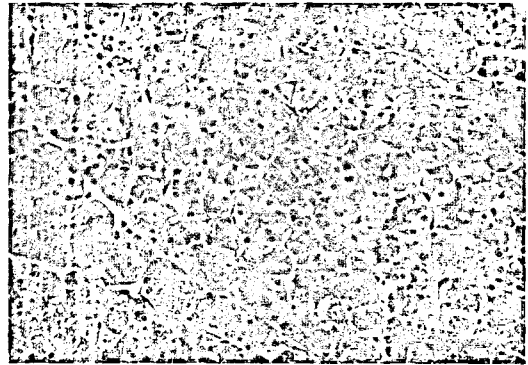


Fig. 2. Higher magnification of pancreas after feeding of basal diet feeding. (Azan stain)  $\times 100$

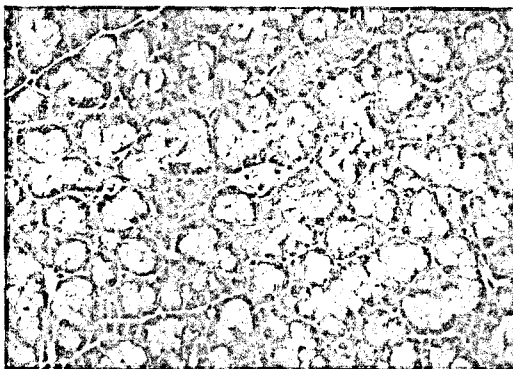


Fig. 3. Light micrograph of rat pancreas after feeding of 10% SBTI diet. Zymogen granules occupy apical portion of the cytoplasm.  $\times 100$  (H&E)

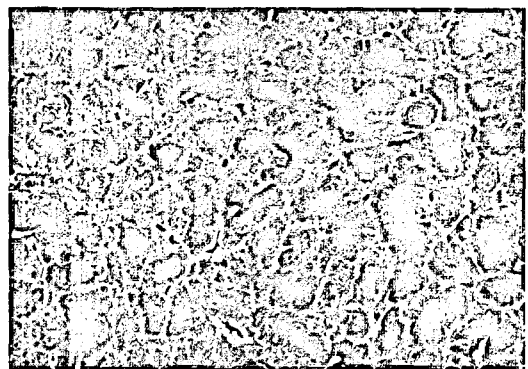


Fig. 4. Higher magnification of pancreas after feeding of 10% SBTI diet. (Azan stain)  $\times 100$

して認められた (Fig. 4). しかし、用量による差は明確ではなかった。

40% TI 投与群でのラ氏島は小型のものが散見され、ラ氏島を構成する細胞数の減少が認められた。免疫組織化学的検索によるとラ氏島の内分泌細胞では、somatostatin 陽性細胞数の減少が認められたが glucagon, insulin 陽性細胞数にはほとんど変化はなかった。膵管においては特記すべき変化は認められなかった。

#### 実験 2.

Table 1 に示すように処置群のラットは体重の増加傾向がみられたがマウス、ハムスターにおいてはむしろ体重の増加抑制傾向が顕著であった。

粗製 TI を投与したラットの膵臓はやや白色で表面は概して平坦で全体に著しい腫大が認められた。一方、マウスとハムスターの膵臓は灰白色でむしろ小さかった。組織学的には正常の膵臓においてはラット、ハムスター、マウスの間に差はみとめないが、粗製 TI を投与したラットの膵臓では Table 2 に示すように

腺房細胞の著しい腫大が示された。しかしハムスター、マウスの膵臓では腺房細胞の腫大は軽度であった。その他、膵における限局性の腺房細胞壊死がラットに1例、ハムスター雄2例、マウス3例に認められた。

抗ヒト CCK 抗体を用いて腸管を検索すると、CCK 陽性細胞は十二指腸から空腸の粘膜固有層内に存在し、腸管腔に開口するものと開口しないものの2つのタイプが確認できた。しかし、Table 2 で明らかなように CCK 陽性細胞はラットにおいてハムスターやマウスに比べて多く存在し、TI を投与するとラットの CCK 陽性細胞は著しく減少するが、ハムスターやマウスにおいては変動はみられず同様の分布を示していた (Fig. 5, 6)。

ラットではラ氏島の多くは小型化し構成細胞数の減少が顕著であり、免疫組織化学的検索によるラ氏島の内分泌細胞の構成比は glucagon, insulin においては変わらなかったが somatostatin では減少していた (Fig. 7, 8)。しかしながらマウス、ハムスターではラ

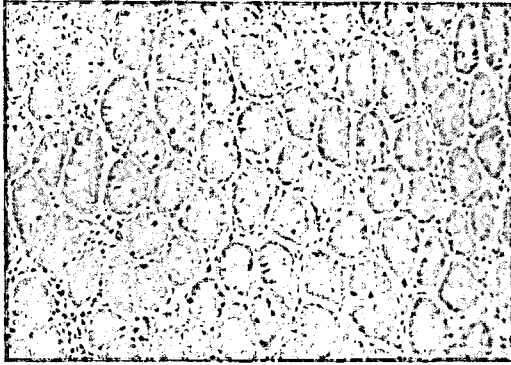


Fig. 5. Immunohistochemical demonstration of CCK positive cells in normal rat duodenum.  $\times 80$

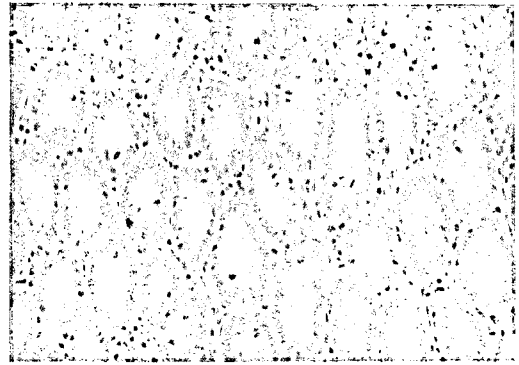


Fig. 6. Immunohistochemical demonstration of CCK positive cells in duodenum of rat fed 10% SBTI diet.  $\times 80$



Fig. 7. Somatostatin-positive cells (D cell) in the islet of rat fed basal diet.  $\times 100$

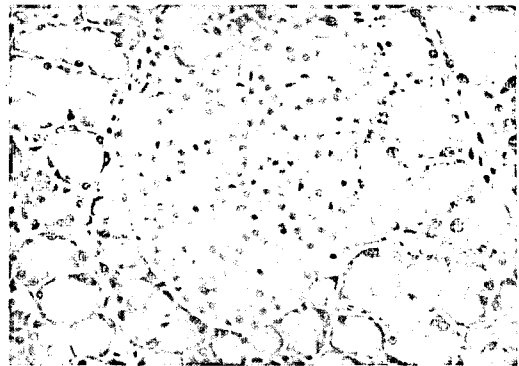


Fig. 8. Somatostatin-positive cells (D cell) in the islet of rat fed 10% SBTI diet.  $\times 100$

ットでみられたラ氏島の小型化の所見はなく、内分泌細胞比においてもほとんど変化を認めなかった。

BrdU による細胞動態の検索によれば、正常の各種動物で腺房細胞やラ氏島における標識率はほとんど変わらなかった。しかしラットに10% TI を投与すると小葉間膵管の上皮でやや標識率が高い傾向が認められたが、腺房細胞やラ氏島においては上昇はなかった。

## 考 察

組織学的にラット、ハムスター、マウスの膵臓の腺房細胞は methylene blue 染色で基底部は好塩基性に好染され、線条構造の存在が明瞭となる。電顕的にこれを観察すると、よく発達した粗面小胞体と多量の ribosome (リボ核蛋白) よりなっており、ergastoplasm と呼ばれている<sup>9)</sup>。粗製 TI を投与すると腺房細胞内のチモゲン顆粒は著しく増加し、その結果 ergastoplasm は圧迫され不明瞭となる。このように外分泌腺を刺激する作用をもつ物質には TI のほか CCK、

secretin, gastrin, caerulein などや insulin, hydrocortisone, estrogen などのホルモンがある<sup>9)</sup>。

ラットの、上部小腸内では trypsin 活性が低下すると小腸壁の CCK 産生細胞から CCK が血中に放出され、それが腺房細胞に作用し膵外分泌を亢進させるが、このようなメカニズムを negative feedback 機構とよぶ<sup>3,10)</sup>。TI は上部小腸内で trypsin と複合体を形成するために trypsin 活性が低下するため negative feedback 機構が働き、その結果 CCK が放出されて外分泌機能が亢進状態となり腺房細胞の腫大が起こるものと考えられている<sup>11)</sup>。CCK 分泌細胞は十二指腸および空腸の粘膜に存在するが、無処置のラットにおいては多くみられたのに対し無処置ハムスターやマウスでは少なかったことが今回の検索により示された。CCK 分泌細胞数の分布の違いは TI に対する腺房細胞の反応において種差を生じた一因であろうと考えられる。TI の投与ラットでは無処置ラットに比べ CCK 陽性細胞の数が減る現象が認められた。これは CCK

産生細胞がCCKを血中に過剰に放出したため、CCKの細胞内貯留量の著しい涸渇状態となり、免疫組織学的検索においてCCK陽性細胞として検出できなかった可能性も考えられる。また、CCKの基質となり得る物質(分子量1000以上)が存在し、この物質は小腸内でプロテアーゼにより分解され不活性化されるが、プロテアーゼ活性の減少によりCCKの放出を促進すると考えられ、CCKの放出に直接関与し膵房細胞の腫大に関わっている可能性も考慮すべきである。

Romanら<sup>12)</sup>によればTIを投与したラットの膵臓組織ではtrypsin, chymotrypsinの酵素活性が増加しており、insulinは軽度の増加を示すがglucagon, somatostatinは対照群と変わらなかったとしている。また、Fujitaら<sup>13)</sup>もTIをラットに投与することによりラ氏島内の $\beta$ 細胞の増殖を報告している。今回のTIを投与したラットには小型のラ氏島が出現し、構成する細胞は免疫組織化学的検索によりinsulin陽性細胞が主体を成していた。しかし、中型や大型のラ氏島の構成細胞はglucagon, insulin陽性細胞は変わらないがsomatostatin陽性細胞数はむしろ減少していた。小型化したラ氏島は慢性膵臓炎の線維化巣内においても認められ、小型でinsulin陽性細胞が主体をなすのが特徴で、細い膵管から再生した $\beta$ 細胞からなる小型のラ氏島と考えられている<sup>14)</sup>。TIの投与によってみられる小型のラ氏島も、このような機序によって生じた変化と考えることもできる。

細胞動態の検索ではTI投与によってBrdUによる標識細胞は膵管上皮(小葉間膵管)に多く認められた。Oatesら<sup>15)</sup>はraw soya flourを投与したラットについて<sup>3</sup>H-thymidineを用いたautoradiographyで一年間経時的に検索した結果、投与初期に膵管上皮の標

識率は11~18倍に増加したが、膵房細胞は2~12週目までは2倍の標識率を示したにすぎず、それ以後は急速に減少し対照群と同程度の標識率を示したとしている。また、Hasdaiら<sup>16)</sup>は膵管由来の腫瘍を発生させるN-nitrosobis(oxopropyl)amine(BOP)とTIをハムスターに投与することにより膵管癌の発生が促進されたことを報告しており、TIが膵管上皮にも影響を与える結果を裏づけている。このように、TIは明らかに膵房細胞に対して外分泌機能を亢進状態にさせているが、さらに、ラ氏島や膵管上皮細胞に対しても二次的な影響を与えていることが示唆された。

## 文 献

- 1) 堀井正次ら：食品総合研究所研究報告，28，52(1973)
- 2) R. Leonard *et al.*: *Cancer*, **47**, 1640 (1981)
- 3) E. E. McGuinness *et al.*: *Environmental Health Perspectives*, **56**, 205 (1984)
- 4) E. E. McGuinness *et al.*: *Scand. J. Gastroent.*, **15**, 497 (1980)
- 5) Z. Nitsan *et al.*: *Drug-Nutrient Interactions*, **3**, 223 (1985)
- 6) 林 裕造ら：実験動物の病理組織，p. 99 (1980)
- 7) 古川文夫ら：衛生試験所報告，**104**，77 (1986)
- 8) 内藤聖二：膵臓の研究，p. 182 (1983)
- 9) 渡辺伸一郎：胆と膵，**8**，271 (1987)
- 10) 宮坂京子：胆と膵，**8**，279 (1987)
- 11) G. M. Green *et al.*: *Gastroenterology*, **79**, 695 (1980)
- 12) S. Roman *et al.*: *J. Nutr.*, **114**, 1083 (1984)
- 13) T. Fujita *et al.*: *Endocrine Gut and Pancreas*, p. 347 (1975), Elsevier Scientific Publishing Company, New York
- 14) 小沼一郎：順天堂医学，**29**，550 (1983)
- 15) P. S. Oates *et al.*: *Am. J. Pathol.*, **108**，217 (1982)
- 16) A. Hasdai *et al.*: *Drug-Nutrient Interactions*, **3**, 173 (1985)



## 高血圧自然発症ラット (SHR) における食塩の臓器障害促進作用

豊田和弘・古川文夫・佐藤秀隆・岡宮英明・高橋道人・林 裕造

## Enhancing Effects of High Dietary Salt on the Development of Organ Damages in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR)

Kazuhiro TOYODA, Fumio FURUKAWA, Hidetaka SATO, Hideaki OKAMIYA,  
Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI

Effects of high salt diet on the development of hypertension and damages to internal organs were investigated in male spontaneously hypertensive rats (SHR). Starting at 6 weeks old, 23 SHR were fed a high salt (10%) diet for 20 weeks, and as the control, 15 SHR were fed a basal diet for the same period. The following results were observed in the salt-treated group; retardation in body weight gain, shortened survival period, earlier development of hypertension, higher level of blood pressure and increased weight of heart and adrenal gland. On histopathological examination, hemorrhage of the brain (21.7%), nephrosclerosis (91.3%) and arteriolosclerosis (95.7%) were observed in the salt-treated group, while no marked changes was detected in the non-treated group. These results indicate that a high salt diet enhances the development of hypertension and severe organ damages.

(Received May 30, 1987)

## はじめに

高血圧発症と食塩摂取との関係は、疫学的にも臨床的にも数多くの報告がみられる<sup>1,2,3)</sup>。また高血圧自然発症ラット (SHR) に食塩を摂取させると、高血圧発症の発生時期が早まり、早期に死に至ることも知られている。このように食塩が高血圧発症における危険因子であることは明白であるが、遺伝的に高血圧発症素因を有する場合、過剰の食塩を摂取すると、いかなる臓器にどのような影響を与えるかについて検討された報告は少ない。

今回我々は、高血圧発症の動物モデルである SHR に高食塩食を与え、経時的に病理組織学的検索を行い、病変の発現部位、程度について解析を試みた。

## 実験材料および方法

## 1. 動物および飼育

5週齢の雄の高血圧自然発症ラット (SHR) (星野試験動物飼育所, 埼玉) を購入し、温度  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$  に空調管理された動物室にて飼育した。動物は透明なプラスチックケージに5匹ずつ入れ、床敷はソフトチップ (三協ラボサービス, 東京) を使用した。1週間馴化した後、2群に分け、6週齢にて実験を開始した。

## 2. 実験方法

実験群 (23匹) には10%食塩含有固型飼料を、対照群 (15匹) には基礎固型飼料 (オリエンタル MF) を自由に摂取させた。また飲料水として水道水を自由に摂取させた。実験期間は20週とし、2週ごとに体重測定を行った。

血圧 (収縮期血圧) の測定は、非観血的ラット用尾動脈圧測定装置 (KN-209 型, 夏目製作所, 東京) を使い、0, 5, 9, 10, 11, 13, 15, 17, 19, 20週目に各群より任意に選んだ5匹について行った。

また10週目 (各3匹) と20週目 (各5匹) には、採尿用代謝ケージを用いて24時間尿を採取し、尿量の測定と屈折計 (エルマ, 東京) による尿蛋白の測定を行った。

動物は実験開始時に、対照群の5匹、10週目に両群より各3匹を任意に選び中途解剖し、残りは全て20週目に屠殺した。なお、実験期間中に衰弱あるいは死亡した動物については、速やかに解剖を行った。

動物は、エーテル麻酔下に瀉血し、屠殺を行い解剖に付した。直ちに、脳、下垂体、心臓、大動脈、肺、気管、甲状腺、食道、胃、小腸、大腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、脾臓、腸間膜、精巣、大腿筋等を摘出し、主な臓器の重量を測定後、10%緩衝ホルマリン液にて固定した。

各臓器・組織は、組織標本用に約 3 mm の厚さに

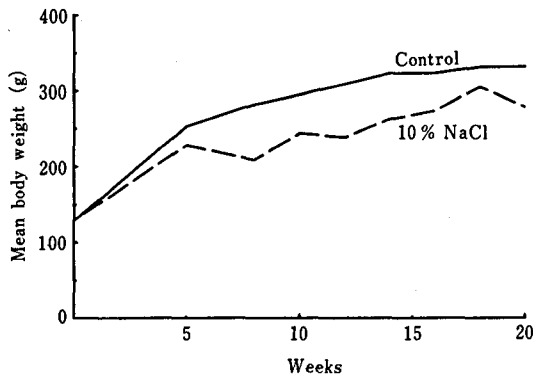


Fig. 1. Growth curves of salt-treated SHR and untreated SHR

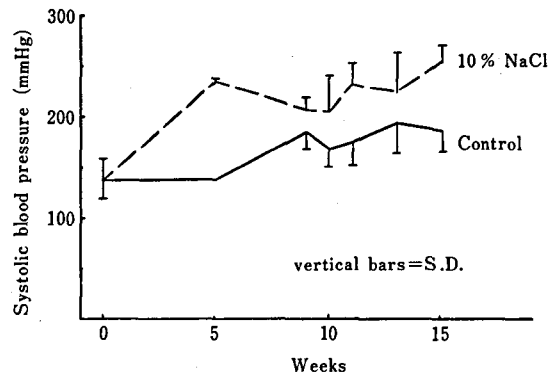


Fig. 2. Systolic blood pressure of salt-treated SHR and untreated SHR

Table 1. Volume and protein concentration of the urine collected from salt-treated and untreated SHR

Group		10th week	20th week
10% NaCl	Volume (ml)	3.4 ± 2.0	29.7 ± 22.2
	Protein (g/dl)	8.4 ± 1.2	2.5 ± 0.5
Control	Volume (ml)	5.5 ± 4.9	5.0 ± 2.6
	Protein (g/dl)	8.7 ± 2.4	12.8 ± 3.5

Three rats at 10th week and 5 rats at 20th week were randomly selected for urinalysis in each group

切り出し、水洗、脱水、パラフィン包埋後、薄切して約 3 μm の切片を得た。

組織切片は、ヘマトキシリン・エオジン (H&E) 染色のほか、必要に応じて、ワイゲルトの線維素染色を施し、病理組織学的に検索を行った。

また、データの統計処理には、Student's t test を用いた。

## 結 果

実験開始後、6週目頃より食塩投与群では貧血を伴って衰弱あるいは死亡する動物が目立ち、10週目までに6匹、10~20週目の間に9匹が死亡した。また、対照群においては、6週目および9週目に各1匹が死亡した。

### 1. 体重の変化

食塩投与群では、5週目頃より体重の増加抑制が目立ち始め、対照群に比し、20%程度の抑制が認められ

た (Fig. 1)。

### 2. 血圧の変動

実験期間中の血圧 (収縮期血圧) の変動を Fig. 2 に示した。血圧は測定した動物5匹の平均値で示したが、個体差があり、標準偏差が大きくなっている。なお、今回用いた血圧測定装置では、250 mmHg 以上の値は検出限界を超えており、17週目以後の測定は不能であった。

対照群での血圧の推移をみると、5週目以後、除々に上昇を示したが、15週目までは 200 mmHg を超えることはなかった。一方、食塩投与群では、5週目において既に 235 mmHg と高値を示し、9、10週目ではやや低下したものの、以後徐々に上昇し、全期間を通して常に 200 mmHg 以上の高値を示した。

### 3. 尿の変化

実験期間中、食塩投与群で尿量の増加が認められ、多尿のため床敷の汚れがひどく、ケージ交換を毎日行

Table 2. Absolute (g) and relative (%) organ weight of salt treated and untreated SHR

Group	0 week (5)a	10th week (3)	20th week (5)
		243.4 ± 39.5**	278.4 ± 78.1**
		1.380± 0.1585 0.57 ± 0.06*	1.675± 0.3156* 0.60 ± 0.11**
10% NaCl	ADRENAL	0.025± 0.0011 0.011± 0.001*	0.033± 0.0028 0.012± 0.001**
	KIDNEY	1.009± 0.1505 0.41 ± 0.06	1.229± 0.2927 0.44 ± 0.11
-----			
	BODY	128.5 ± 16.7	294.5 ± 27.1
	HEART	0.800± 0.105 0.62 ± 0.08	1.206± 0.0699 0.41 ± 0.02
Control	ADRENAL	0.025± 0.004 0.019± 0.003	0.025± 0.0015 0.008± 0.001
	KIDNEY	0.766± 0.102 0.60 ± 0.08	0.990± 0.0145 0.34 ± 0.01

Results are mean ± S.D., \*\*: P<0.01, \*: P<0.05

Upper: Absolute weight, Lower: Relative weight

a) Numbers in parentheses indicate numbers of rats examined.

Table 3. Histopathological findings of salt-treated and untreated SHR

Group	Effective No. of Animal	Hemorrhage in Brain (%)	Nephrosclerosis			Arteriolo- sclerosis (%)
			mild	severe	total (%)	
10% NaCl	23	5 (21.7)	6	15	21 (91.3)	22 (95.7)
Control	15	0	0	0	0	0

Table 4. Distribution of arteriosclerosis on salt-treated SHR

Organ	Total No. of Examined tissue	No. of rats with lesions	Incidence (%)
Kidney	23	22	95.7
Mesentery	16	12	75.0
Pancreas	21	13	61.9
Testis	21	12	57.1
Adrenal	23	12	52.2
Stomach	21	8	38.1
Peritracheal tissue	12	4	33.1
Small intestine	19	3	15.8
Large intestine	19	3	15.8
Liver	22	3	13.6
Heart	23	3	13.0

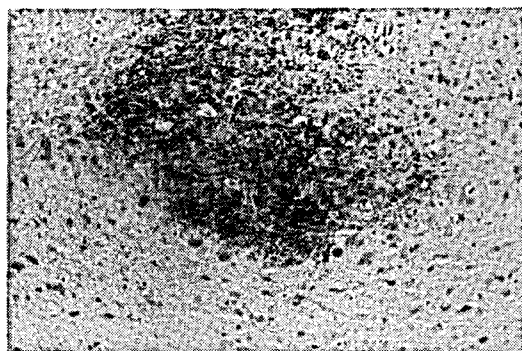


Fig. 3. Hemorrhage in the brain (salt-treated group); H&E stain  $\times 50$



Fig. 4. Arteriosclerotic nephrosclerosis (salt-treated group); H&E stain  $\times 40$

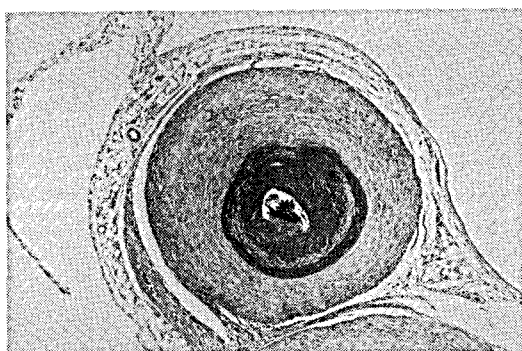


Fig. 5. Arteriosclerosis of the mesentery (salt-treated group); H&E stain  $\times 13.2$

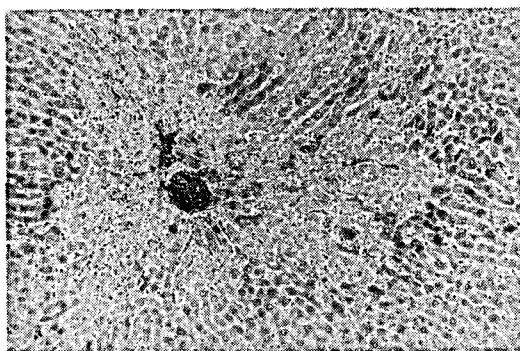


Fig. 6. Necrosis in the central zone of the hepatic lobule (salt-treated group); H&E stain  $\times 50$

う必要が生じた程度であった。

24時間着尿による尿量と尿蛋白の測定結果を Table 1 に示した。10週目で尿量、尿蛋白ともに両群に大差はみられなかったが、20週目においては、食塩投与群で尿量は対照群の約6倍に増加し、尿蛋白は約1/5に低下していた。

#### 4. 病理学的検索

##### <臓器重量および臓器/体重比>

実験開始時、10週目および20週目に解剖した動物の体重、臓器重量(心臓、副腎、腎臓)および各臓器の体重比については Table 2 に示した。

食塩投与群において、10週目、20週目ともに体重は有意な減少( $p < 0.01$ )を示し、臓器重量では、20週目において心臓重量が有意な増加( $p < 0.05$ )を示した。また、臓器重量の体重比においては、10週目、20週目ともに心臓、副腎が有意な増加を示した。腎臓重量については統計的に有意差は認められなかったが、20週目において増加傾向が示された。

その他の臓器の重量については、対照群との間に有意な差は認められなかった。

##### <肉眼的所見>

食塩投与群において、13週以降に解剖した動物では、数珠状の腸間膜動脈の結節性腫大(米粒大)がほぼ全例に認められた。また、同群において腎臓表面の微細顆粒状変化および心臓、副腎が軽度に肥大している所見が比較的多く観察された。

一方、対照群においては、特記すべき所見は認められなかった。

##### <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を Table 3 に要約した。

食塩投与群において、5例(21.7%)に大脳および小脳実質中に炎症反応を伴わない小出血巣が認められた(Fig. 3)。

また同群において、21例(91.3%)に細小動脈硬化性の腎硬化症が認められた(Fig. 4)。その主な組織所見としては、細小動脈の内膜および中膜の硝子化、内膜から外膜に至る線維性の層状肥厚、またそれに伴う血管腔の狭窄、塞栓あるいは血栓形成等が認められた。糸球体においても硝子化、線維化、瘢痕化等がみ

られ、尿細管の萎縮、尿円柱の形成、間質の線維化、リンパ球の浸潤等も認められた。このような変化が局所的にみられたものを 'mild'、広汎性にみられたものを 'severe' として表に示した。

その他、種々の臓器および組織中の細小動脈の硬化症が食塩投与群で22例 (95.7%) に認められた (Fig. 5)。主な所見としては、内膜および中膜の硝子化、内膜から外膜に至る線維の増生、血管腔の狭窄、血栓形成等がみられた。また血管周囲に炎症性細胞の浸潤を伴う動脈周囲炎様変化や、炎症が血管全層におよぶ汎動脈炎様変化等も認められた。

血管病変として内膜および中膜にみられた硝子化巣は、ワイゲルトの線維素染色で陽性を示し、赤紫色に染め出された。

Table 4 には、このような血管病変の認められた臓器および組織を、病変の出現頻度順に示した。腎臓、腸間膜、脾臓、精巣、副腎等で特に発生率が高く、また病変の程度もこの順位と一致していた。

その他の変化として、食塩投与群の中途死亡例において、肝臓のうっ血を伴った小葉中心性の肝細胞壊死および変性が認められた (Fig. 6)。

また、以上に示したような病変は、食塩投与群において、10週目に計画的に解剖した動物よりも、それ以前に死亡した動物の方が強くみられ、病変の出現時期にかなり個体差のあることが示された。

対照群においては、中途死亡例の肺にうっ血、浮腫、気管支炎等がみられた以外に、特記すべき所見は認められなかった。

## 考 察

ヒトでの高血圧症とは、一般に収縮期血圧が 150 mmHg 以上の場合を指す。SHR の血圧の推移については、SHR の正常血圧対照である Wistar-Kyoto ラット (WKY) と共に30週齢まで経時的に血圧測定を行った結果の報告をみると、WKY の血圧は 130 mmHg 前後に保たれ 150 mmHg を越えないのに対し、SHR では10週齢前後で既にヒトの高血圧症のレベルに達してしまう。その後、徐々に上昇を示すが、200 mmHg を越えることは無いようである<sup>4,5)</sup>。

今回の実験においても、対照群の SHR では10週齢頃より血圧の上昇が認められ、観察期間を通して 200 mmHg 以内のレベルに保たれていた。しかしながら、食塩投与群では、対照群よりかなり早い時期に血圧の上昇がみられ、200 mmHg を超すレベルにまで達しており、ヒトでは悪性高血圧症とも呼ぶべきレベルに至る。このように、SHR に高食塩食を与えると、高血

圧症の発生の時期および程度が著しく促進されることが確認された。

高血圧症の合併症としての臓器障害には、血管系の障害が重要視されており、今回認められた心肥大、脳出血、腎硬化症、細小動脈硬化症等も、ヒトの高血圧症に随伴する病変である<sup>6)</sup>。

全身の諸臓器および組織中に存在する細小動脈は、血管壁の中膜平滑筋の収縮によって末梢血管抵抗を決定する重要な役割を果し、血圧上昇に大きな影響を与えている<sup>7)</sup>。

細小動脈の硬化は、高血圧による中膜平滑筋の反応性肥大および内膜変性における透過性の亢進によって起こると考えられている。今回、血管壁においてワイゲルト染色で染め出された硝子化巣は、内膜透過性の亢進によるフィブリンの沈着とみなすこともできる。

また、各臓器および組織での細小動脈硬化症の出現率の違いは、血圧の上昇に対する反応性が異なることで説明されるが、今回得られた細小動脈硬化症の発生部位および出現率については、従来からヒトの高血圧症で報告されている所見とはほぼ一致していた。

腎硬化症は、腎臓内の細小動脈の硬化による血管腔の狭窄、血栓形成等による虚血などによって引き起こされると考えられている。この病変の進行は、高血圧を助長し、腎不全を招来するなど、生命の予後に重要なかわりを持つとされている。

また、脳出血は脳での小動脈の変性、壊死による破綻が原因と考えられているが、今回みられた出血巣では、いづれも炎症性の反応は認められていないことから、比較的新しい病変であると思われ、直接死因に結びつくものかもしれない。

心肥大については、血圧の上昇、特に末梢血管の抵抗性の増大に起因する心臓での負荷の増大によるものと考えられている。また、中途死亡例の肝にみられた小葉中心性の肝細胞壊死は、うっ血による酸素不足が原因とみなされるが、これには心不全の関与も考慮すべきであろう。

食塩投与群で副腎の肥大がみられたが、食塩負荷によるナトリウム-水代謝の亢進によって、副腎機能が亢進したためと考えられ、副腎皮質ホルモンの分泌増加を示唆している<sup>8)</sup>。

20週目に、食塩投与群では著しい尿量の増加がみられたが、食塩投与によって生じた多飲が原因と思われ、尿蛋白の減少は尿量増加に伴う尿の希釈によるものと考えられる。

また、対照群のラットでは、高血圧に起因して引き起こされたと思われる変化は全く認められていない。

従って食塩投与群で中途死亡例が続出した原因は、急激な血圧上昇に伴い、諸臓器における血管系の障害が急速に進行したためと考えられる。また、病変の出現時期および動物の死亡時期にバラツキがみられたのは、血圧の上昇にかなり個体差があったためと思われる。

## 文 献

- 1) 佐々木直亮, 菊地亮也: 食塩と栄養, 40 (1980) 第一出版

- 2) K. Liu, J. Stamler: *Ann. Clin. Res.*, **16**, 49 (1984)  
 3) 藤田敏郎: 医学のあゆみ, **130**, 880 (1984)  
 4) 川島紘一郎: 実験医学, **4**, 53 (1986)  
 5) 川俣順一, 松下 宏: 疾患モデル動物ハンドブック No. 2, p. 104 (1982) 医歯薬出版  
 6) 上田英雄, 武内重五郎: 内科学 (第2版), p. 279 (1980)  
 7) 権藤晋一郎: 医工学, p. 53 (1984)  
 8) 山村雄一, 吉利 和: 新医化学大系 第6巻B 体内環境と調節機構II, p. 265 (1984)

## フロー法によるニトラゼパム非コーティング錠 の溶出試験に関する考察

小室徹雄・長谷川隆一・伊阪 博

### Investigation on the Dissolution Test of Nitrazepam Uncoated Tablets by the Flow-through Method

Tetsuo KOMURO, Ryuichi HASEGAWA and Hiroshi ISAKA

Dissolution behaviors of nitrazepam uncoated tablets obtained from 8 commercial brands were investigated using the paddle method (JP XI) and the flow-through method where a continuous flow, column type dissolution apparatus was used.

In the case of the paddle method, every product had a similarly rapid dissolution rate with no difference among the brands ( $T_{50\%} < 3$  min), but in the case of the flow-through method, different drug dissolution profiles were observed among the brands. The values of  $T_{50\%}$  varied from 5.9 to 28.3 min.

These results suggested an advantage of the flow-through method over the paddle method in carrying out dissolution tests.

(Received May 30, 1987)

## はじめに

錠剤, カプセル剤などの溶出試験は、一般には内用固形製剤からの主薬の溶出を評価するために行われる理化学的な *in vitro* の試験であり、さらには *in vivo* での製剤からの溶出挙動に関するなんらかの情報を与える試験であることが期待される。

溶出試験法自体は、可能な限り単純でかつ再現性のあるものでなければならないことは言うまでもなく、また各々の製剤が本来具備している主薬の溶出特性を検出し得るものでなければならないだろう。

今回、固形製剤としては単純な剤形である非コーティング剤を用いて難溶性薬物、ニトラゼパムの溶出挙動をパドル法(日局11)およびフロー法(Flow-Through Method)を用いて検討した。

## 実験方法

### 試料および試薬

試験製剤としてのニトラゼパム錠は市販品(8銘柄)の製剤、1錠中にニトラゼパムとして5mgを含有)を用いた。試薬はすべて市販の試薬特級を用いた。

### 溶出試験

溶出試験はパドル法およびフロー法により行った。パドル法は日局11に準じ、試験液として崩壊試験法第一液(pH 1.2)を用いて行った。すなわち、試験液900ml, 液温  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , パドル回転数 50 rpm で行った。ニトラゼパムの溶出量は、溶出試験システム(富山産業・島津製作所共同開発のセルポジショナーフローシステム)を用いて280nmにおける吸光度を経時的に測定することにより算出した。

フロー法(flow-through method)は、プラスチック

ク製円筒（内径 16 mm, 高さ 50 mm に錠剤が保持できるようにしている）を用い、試験液をローラポンプ（古江サイエンス㈱, RP-V）を用いて一定流量（5 ml/min）で流し一定時間ごとに試験液を全量採取しその容積を計ると共に、溶出したニトラゼパムの量を 280 nm における吸光度を測定することにより算出した。フロー法で用いた試験液、溶出装置は 37 ± 0.1 °C に保った。フロー法による溶出装置の概略を Fig. 1 に示した。

### 実験結果

パドル法によるニトラゼパム錠の pH 1.2 試験液における溶出挙動を Fig. 2 に示した。また主薬の 50% を溶出するに要する時間、 $T_{50\%}$  を Table 1 に掲げた。試験した 8 銘柄のニトラゼパム錠（A-H）の  $T_{50\%}$  はいずれも 3 分以内（1.8~2.5分）と極めて短く、また

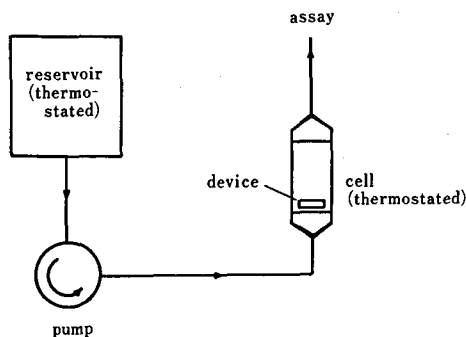


Fig. 1. Schematic diagram of the flow-through dissolution apparatus

90%以上の溶出率はいずれの製剤も 9 分以内（A, B, C, E, F は 6 分以内）に認められた。

フロー法によるニトラゼパム錠の pH 1.2 試験液による溶出挙動を Fig. 3 に示した。また  $T_{50\%}$  並びに 10分, 20分, 30分後の溶出率を Table 2 に掲げた。パドル法で得られた溶出挙動とは明らかに異なり、 $T_{50\%}$  は 5.9 分（製剤 F）から 28.3 分（製剤 C）と銘柄間に大きな差異が認められた。また Table 2 から明らかかなように製剤 B, C は 50 分後でも溶出率が 90% 以下という結果を得た。

$T_{50\%}$  のパドル法とフロー法における相関々係を

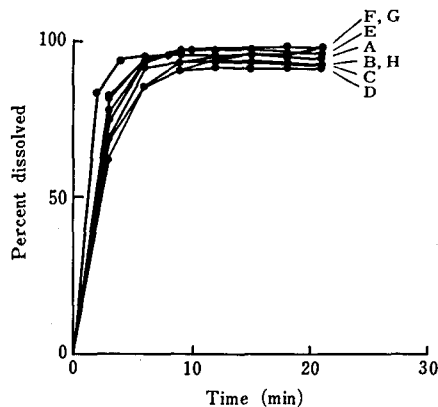


Fig. 2. Dissolution profiles of the nitrazepam uncoated tablets by the paddle method.

Each point is the mean of three experiments. Standard deviation of each point is omitted to avoid complicated figures.

Table 1. Dissolution data of nitrazepam uncoated tablets by the paddle method

products	$T_{50\%}$ (min)	% dissolved at		
		3min	6min	9min
A	1.8 ± 0.10	83.5 ± 4.48	94.2 ± 4.82	95.6 ± 5.24
B	1.9 ± 0.08	77.4 ± 3.04	93.3 ± 1.63	96.5 ± 0.36
C	2.1 ± 0.03	70.1 ± 1.15	91.4 ± 0.79	93.7 ± 1.52
D	2.2 ± 0.15	67.4 ± 4.62	85.6 ± 1.39	90.2 ± 1.71
E	1.8 ± 0.04	82.8 ± 1.94	94.4 ± 2.92	96.7 ± 2.84
F	2.0 ± 0.05	74.0 ± 1.99	92.7 ± 0.00	96.8 ± 0.60
G	2.3 ± 0.27	66.9 ± 7.93	84.2 ± 9.71	90.4 ± 9.56
H	2.5 ± 0.46	61.8 ± 12.76	85.3 ± 8.63	93.1 ± 2.89

$T_{50\%}$  : Time required for 50% of the drug to dissolve  
Each value is a mean ± S.D. of three experiments.

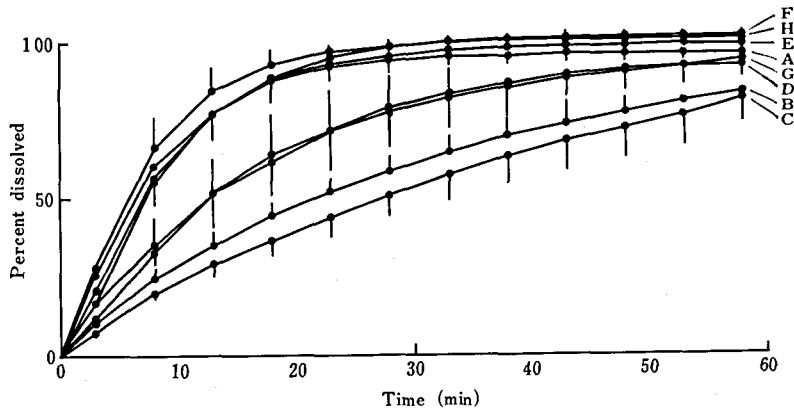


Fig. 3. Dissolution profiles of the nitrazepam uncoated tablets by the flow-through method

Each point with bar is the mean  $\pm$  S.D. of four experiments.  
Some points have no S.D. to avoid complicated figures.

Table 2. Dissolution data of nitrazepam uncoated tablets by the flow-through method

products	$T_{50\%}$ (min)	% dissolved at		
		10min	20min	30min
A	7.1 $\pm$ 0.8	64.4 $\pm$ 6.14	94.5 $\pm$ 5.41	95.9 $\pm$ 5.94
B	22.1 $\pm$ 3.21	29.1 $\pm$ 4.01	60.7 $\pm$ 5.61	78.5 $\pm$ 8.92
C	28.3 $\pm$ 4.78	23.5 $\pm$ 2.75	53.3 $\pm$ 8.06	73.5 $\pm$ 10.4
D	13.5 $\pm$ 4.25	41.6 $\pm$ 10.3	80.1 $\pm$ 12.65	91.0 $\pm$ 12.52
E	6.5 $\pm$ 0.73	66.9 $\pm$ 4.92	95.9 $\pm$ 5.45	98.6 $\pm$ 4.01
F	7.5 $\pm$ 1.06	63.1 $\pm$ 7.85	98.2 $\pm$ 1.89	100.7 $\pm$ 2.03
G	12.8 $\pm$ 1.04	40.3 $\pm$ 3.20	78.8 $\pm$ 5.73	90.5 $\pm$ 6.48
H	5.9 $\pm$ 1.07	73.4 $\pm$ 8.54	98.4 $\pm$ 1.34	99.7 $\pm$ 1.83

$T_{50\%}$  : Time required for 50% of the drug to dissolve

Each value is a mean  $\pm$  S.D. of four experiments

Fig. 4 に示した. 両者間に相関々係は認められなかった.

## 考 察

内用固形製剤の溶出挙動を測定する方法は種々知られている<sup>1-8)</sup>. そのうちでもパドル法, 回転バスケット法は繁用されている溶出試験法で日局11, USP XXI に採用されている. しかしこれらの方法には, 再現性において劣ること<sup>9)</sup>, 溶出液の均一な攪拌が困難であること<sup>10)</sup>などの問題点が指摘されている. 一方, フロー法は試験液の交換が簡単で再現性に優れているなどの長所を有している<sup>11)</sup>. パドル法では, Fig. 1 に示

したように主薬は極めて速やかに溶出し銚柄間にはほとんど差のない結果を得たが, フロー法 (Fig. 3) ではその溶出挙動に顕著な差を認めた. パドル法では装置の攪拌強度つまり製剤に与える物理的破壊強度がコロ法よりも大きく, その結果として溶出速度が速まったものと考えることが出来る. もちろん, パドルの回転数を 50 rpm 以下に下げると溶出率もそれに伴って下がり, 溶出曲線は滑らかな上昇カーブを描き, フロー法で見られるようなパターンに近づくが, 攪拌の低下に伴って薬物が容器の底に溜り再現性がさらに悪くなるという結果を得ている. このことは, 回転数が 50 rpm 以上の場合, 変異係数はたかだか10%であるが,



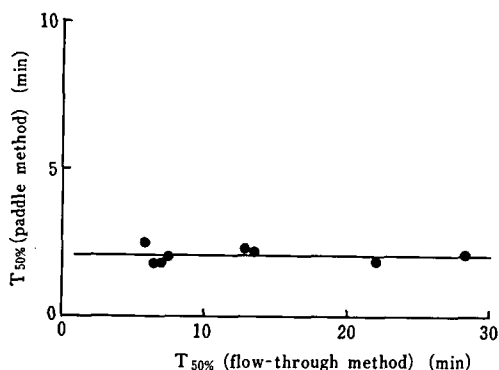


Fig. 4. Plots of  $T_{50\%}$  of nitrazepam uncoated tablets by the paddle method against that by the flow-through method

$T_{50\%}$ : Time required for 50% of the drug to dissolve  
There is no significant correlation between the two values.

それより遅い回転数の場合には、30~40%にもなる製剤があったことから理解し得る。また、900 ml の液量を均一に攪拌できなくなり、これ以下に回転数を落としての試験は好ましくない。

一方フロー法の場合、主薬の溶出に及ぼす因子（溶出液の流速および容器の断面積など）が少なく単純な系であり<sup>7)</sup>、また溶出は緩やかな条件下で行われているためパドル法に比べてその溶出速度が大幅に低下したものと考えられる。しかし今回フロー法で認められた銘柄間の溶出挙動の差は、フロー法が穏やかな条件下での溶出試験法であるために表現できたものと考えられる。溶出試験がバラツキの少ない、*in vitro* の系において均質な製剤であることを保証するための一つの試験であるとすれば、今回の実験結果はパドル法では把握することのできない銘柄間の差を溶出挙動の差として検出することができたことから、フロー法の有する種々の利点<sup>1,3,7,11)</sup>の一つが示されたものとする。

固形製剤の溶出試験は、製剤からの主薬の溶出特性の評価および製剤のバイオアベイラビリティの予測の

2点から考慮されるべきものであろう<sup>1,12)</sup>、前者に関して言えば、主薬の溶解性（溶解度、溶解速度）、粒子形、結晶多形等の主薬原末の物性、また添加剤（賦形剤）の種類や量による製剤特性などが結果として溶出挙動に表現されているので、比較的緩やかな条件下でかつ条件設定（試験液の pH、流速、温度など）が容易なフロー法を併用することは、溶出試験法の一つとして製剤からの主薬の溶出特性評価に有用なものと考ええる。

## ま と め

パドル法（日局11）とフロー法（flow-through method）を用いてニトラゼパム非コーティング錠からの主薬の溶出挙動を比較検討した結果、パドル法では銘柄間に差異を見い出せなかったが（ $T_{50\%} < 3$ 分）、フロー法では溶出が遅れ（ $T_{50\%} = 5.9 \sim 28.3$ 分）、かつ溶出挙動に銘柄間の差異を検出し得たことから、フロー法の溶出試験における活用が期待される。

## 文 献

- 1) The section for Control Laboratories and the Section of Industrial Pharmacists of the F.I.P.: *Pharm. Ind.*, **43**, 334 (1981)
- 2) S. Lin *et al.*: *J. Pharm. Sci.*, **59**, 989 (1970)
- 3) E. Cantor: *Pharm. Ind.*, **45**, 617 (1983)
- 4) M. Pernarowski *et al.*: *J. Pharm. Sci.*, **57**, 1419 (1968)
- 5) A. C. Shah: *J. Pharm. Sci.*, **62**, 671 (1973)
- 6) A. C. Shah and J. F. Ochs: *J. Pharm. Sci.*, **63**, 110 (1974)
- 7) F. Langenbucher: *J. Pharm. Sci.*, **58**, 1265 (1969)
- 8) J. E. Tingstad and S. Riegelman: *J. Pharm. Sci.*, **59**, 692 (1970)
- 9) R. J. Withey: *J. Pharm. Pharmacol.*, **23**, 573 (1971)
- 10) R. J. Withey and A. J. Bowker: *J. Pharm. Pharmacol.*, **24**, 345 (1971)
- 11) P. L. Gould: *Brit. Polymer J.*, **15**, 172 (1983)
- 12) H. Ogata: *Pharm. Tech. Japan*, **3**, 347 (1987)

## 向精神剤の鑑定法 (第5報)

## ジメチルプロパミンおよびその代謝物の分析

島峯望彦・高橋一徳・石上暁子・大野昌子・内山 充

## Identification of Psychotropic Drugs. V

## Analysis of Dimethylpropamine and Its Metabolites

Mochihiko SHIMAMINE, Kazunori TAKAHASHI, Akiko ISHIGAMI,

Masako ŌNO and Mitsuru UCHIYAMA

For the detection and identification of dimethylpropamine and its metabolites (methamphetamine, amphetamine, *p*-hydroxydimethylpropamine, *p*-hydroxymethamphetamine, and *p*-hydroxyamphetamine), thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, gas chromatography/mass spectrography, measurements of UV spectra and IR spectra, and microcrystal test were carried out on very small amounts of these compounds.

TLC, HPLC, GC/MS, IR and microcrystal test proved useful for the purpose, but the UV spectra of these compounds were divided into two related groups (dimethylpropamine, methamphetamine, amphetamine; *p*-hydroxy compounds).

The data obtained by these tests are shown in Table 1 to 5 and Figs 1 to 2.

(Received May 30, 1987)

近年覚せい剤原料であるジメチルプロパミン (DMP) が国内で押収されたという報告があり、その不正使用に関する詳細はわからないが、もし不正使用された場合、尿中覚せい剤検査において覚せい剤使用の有無の判定手段になるメタンフェタミン (MA)、アンフェタミン (A) およびそれらの代謝物が検出されないかどうかは非常に重要なことである。著者らはサルを用いて DMP 投与後の尿中代謝物のガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) を行い<sup>1)</sup>、DMP, MA, A, パラヒドロキシメチルプロパミン (HODMP), パラヒドロキシメタンフェタミン (HDMA), およびパラヒドロキシアンフェタミン (HOA) の6種の化合物を確認した。そこでこれら化合物の標品について薄層クロマトグラフィー (TLC), 紫外吸収スペクトル (UV), 高速液体クロマトグラフィー (HPLC), 赤外吸収スペクトル (IR), GC/MS およびマイクロクリスタルテストを行い分離同定法を検討した。

## 実 験 の 部

## 試 料

- 1) 塩酸ジメチルプロパミン (自製品)
- 2) 塩酸メタンフェタミン (局方品)

- 3) 硫酸アンフェタミン (自製品)
- 4) 塩酸パラヒドロキシジメチルプロパミン (自製品)
- 5) 塩酸パラヒドロキシメタンフェタミン (自製品)
- 6) 塩酸パラヒドロキシアンフェタミン (自製品)

## 試験方法

## I. 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 60 F<sub>254</sub> (precoated), Merck
- 3) 展開溶媒
  - i) メタノール: 28%アンモニア水=100:1.5
  - ii) クロロホルム: メタノール: 28%アンモニア水=27:3:0.1
  - iii) クロロホルム: アセトン: メタノール: 28%アンモニア水=15:12:3:0.1
- 4) 発色剤
  - i) 塩化白金ヨウ化カリウム溶液: 4%ヨウ化カリウム溶液 25 ml に 1%塩化白金酸溶液 1 ml および水を混和し 50 ml とする。
  - ii) Echtblausalz B 溶液: Echtblausalz B 4 mg を 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液 5 ml に溶かす。

## II. UV

1) 試料溶液：各試料の 0.1 N 塩酸溶液 (1→1000) を適宜の濃度に 0.1 N 塩酸でうすめて使用する。

2) 装置：Shimadzu UV-260

### III. HPLC

1) 試料溶液：各試料の水溶液 (1→1000)

2) 測定条件

Apparatus: YOKOGAWA Hewlett Packard 1040A

Column: Inertsil (ODS), 5  $\mu$ m

I.D. 4.6 mm, L. 150 mm, 40°C

Eluent: i) M/8 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: CH<sub>3</sub>CN=4:1

ii) M/9 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: CH<sub>3</sub>CN=9:1

Flow rate: 1 ml/min

Detector wave length: 220 nm, 257 nm, 275 nm

### IV. GC/MS

1) 試料溶液の調製：各試料のメタノール溶液 (1→1000) を適宜の濃度にメタノールでうすめて使用する。ヘプタフルオロ酪酸 (HFB) およびトリメチルシリル (TMS) 誘導体化についてはそれらメタノール溶液を減圧で蒸発乾固し、その残留物を誘導体化した。

i) HFB 誘導体化：上記で得られた残留物に酢酸エチル 0.2 ml および無水ヘプタフルオロ酪酸 0.05 ml を加え、密栓して 60°C の水浴中で 30 分間加熱する。冷後室温で窒素气流中で乾燥し、酢酸エチル 0.5 ml に溶かし試料溶液とする。

ii) TMS 誘導体化：上記で得られた残留物にビストリメチルシリルアセトアミド 0.1 ml を加え、90°C の水浴中で 20 分間加熱する。冷後酢酸エチル 0.4 ml を加え試料溶液とする。

2) 測定条件

Apparatus: YOKOGAWA Hewlett Packard 5890A

Detector: MSD 5970

Column: Fused Silica W. C. O. T. Methyl silicone,

Film Thickness 0.33  $\mu$ m, I.D. 0.20 mm, L. 12.5 m

Column Temp.: 60°C (0.5 min)~20°C/min~150°C

~10°C/min~250°C  $\bar{\mu}$ (He) : 5 p.s.i.

Splitless injection

Temp.: Injection port 200°C Transfer line 250°C

### V. IR

1) KBr 錠：各試料 1 mg を用いて調製する。

2) 装置：Shimadzu IR-460 Spectrophotometer

### VI. マイクロクリスタルテスト

1) 試液

i) ライネッケ塩試液：グリセリン 0.5 ml と水 2 ml との混液にライネッケ塩を飽和する (用時調製)

ii) 臭化金試液：塩化金酸 1 g を臭化水素酸 (40%) 1.5 ml および水 1 ml の混液に溶かし、うすめた硫酸

Table 1. Thin layer chromatographic data of the drugs tested\*

Compound	Rf × 100			Sens. by location reagent	
	i	ii	iii	i	ii
DMP	48	31	28	1 $\mu$ g	
MA	39	25	18	5 $\mu$ g	
A	46	29	43	5 $\mu$ g	
HODMP	45	25	16	5 $\mu$ g	1 $\mu$ g
HOMA	35	15	11	>5 $\mu$ g	1 $\mu$ g
HOA	45	15	27	>5 $\mu$ g	1 $\mu$ g

\* Conditions are described in the text.

Table 2. UV data of the drugs

Compound	$\lambda_{0.1\text{NHC1}}^{\text{min}}$		$\lambda_{0.1\text{NHC1}}^{\text{max}}$	
	nm	E <sub>1cm</sub> <sup>1%</sup>	nm	E <sub>1cm</sub> <sup>1%</sup>
DMP·HCl	228	0.8	235*	1.6
			240*	2.8
			247*	4.9
			252	6.8
			254	6.5
			257	8.4
			261	6.1
MA·HCl	228	0.8	235*	1.9
			241*	3.4
			247*	5.1
			252	6.9
			254	6.6
			257	8.4
			262	6.2
A·H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	227	1.0	235*	2.0
			241*	3.5
			247*	5.3
			252	7.2
			254	6.9
			257	8.8
			262	6.4
HODMP·HCl	243	8.3	222	340
			275	72
			282*	60
HOMA·HCl	243	12.6	221	362
			275	81
HOA·HCl	243	15.5	282*	68
			220	371
			275	90
			282*	75

\* inflexion

Table 3. Retention times (min) of the drugs by HPLC

Compound	Eluent	
	i	ii
DMP	4.4	11.7
MA	3.9	9.9
A	3.4	8.0
HODMP	2.4	4.0
HOMA	2.4	3.7
HOA	2.2	3.4

Table 4. Retention times (min) of the drugs by GC/MS

Compound	Base	HFB derivative	TMS derivative
DMP	4.4		
MA	3.7	5.9	5.4
A	3.3	5.1	4.9
HODMP	—	—	6.9
HOMA	—	7.8	6.4, 7.6
HOA	—	7.0	6.1, 7.1

—: no peak

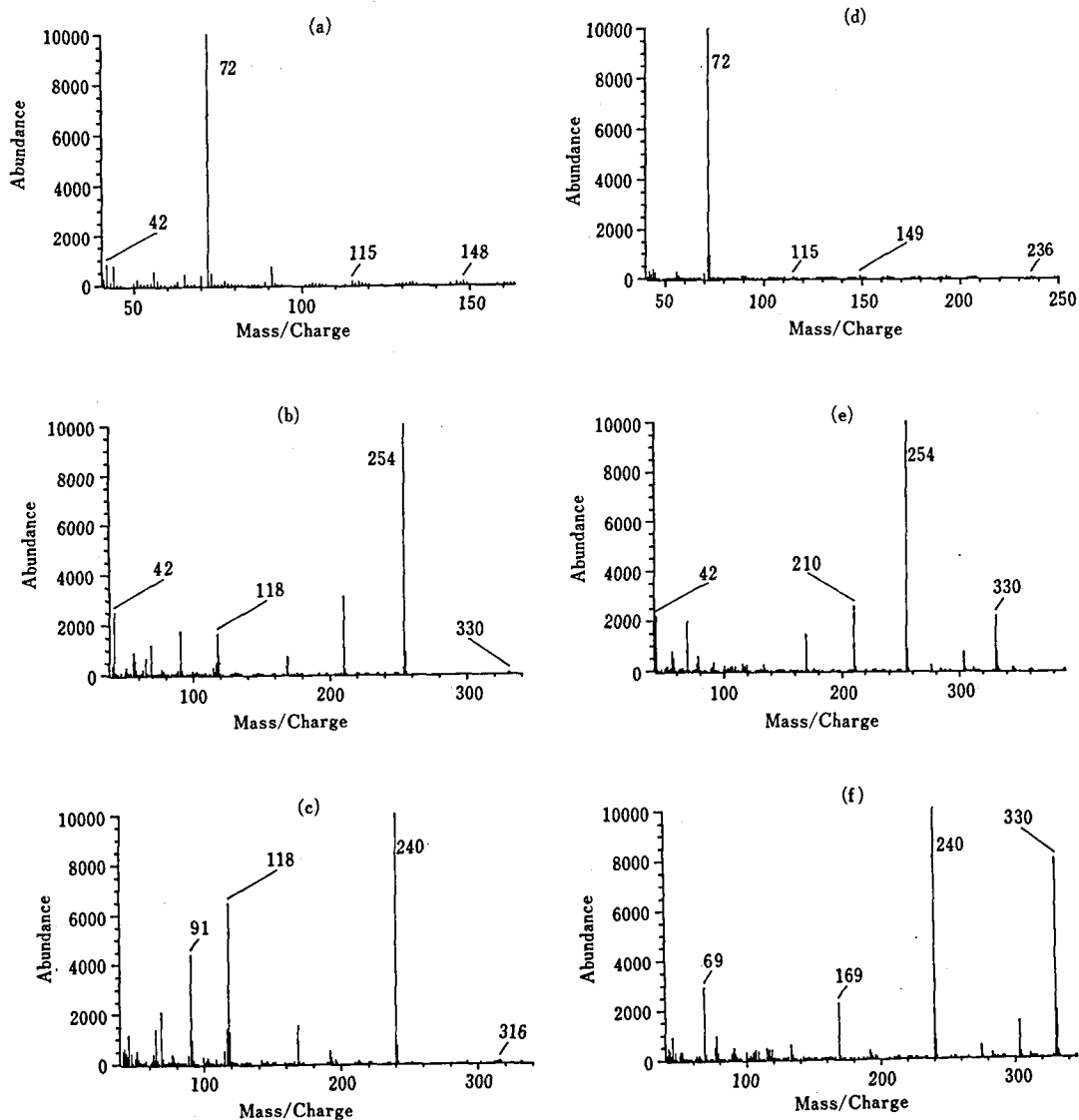


Fig. 1. Mass spectra (EI) of DMT (a), HFB derivatives of MA (b) and A (c), TMS derivative of HODMP (d), and HFB derivatives of HOMA (e) and HOA (f)

(2→5) を加えて 30 ml とした液をとり、1/3 容量の酢酸と混和する。

iii) 臭化金-リン酸試液：塩化金酸 1g を臭化水素酸 (40%) 1.5 ml および水 1 ml の混液に溶かし、これにリン酸を加えて 20 ml とする。

### 実験結果および考察

#### I. TLC

各試料の TLC の結果は Table 1 に示すとおりである。

る。

各試料は 3 種類の展開溶媒および 2 種類の発色剤を組合せ用いることにより相互に明らかに区別できた。

#### II. UV

各試料の 0.1 N 塩酸溶液による  $\lambda_{\min}$ ,  $\lambda_{\max}$  および  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  値についての測定結果は Table 2 のとおりであった。

各試料はフェノール性水酸基の有無で 2 つのグループに分けられ、そのグループ同志では UV 吸収曲線

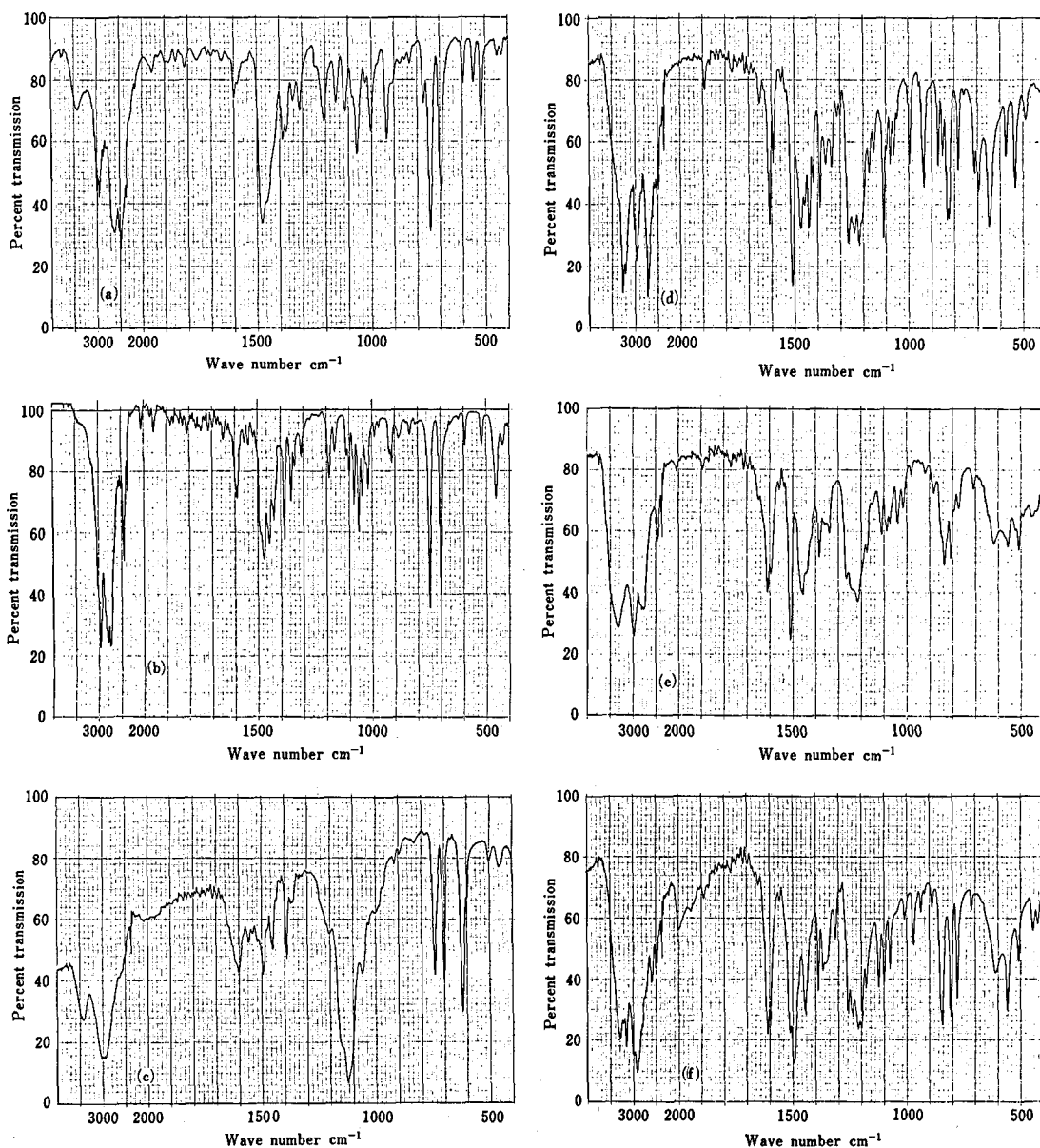


Fig. 2. Infrared spectra of DMP.HCl (a), MA.HCl (b), A.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (c), HODMP.HCl (d), HOMA.HCl (e) and HOA (f); KBr disk

からはっきりと区別がつかず、グループ内ではそれぞれが非常に類似しているため区別できなかった。

### III. HPLC

結果を Table 3 に示す。

溶離液 i) における HODMP と HOMA を除けばほかはよく分離した。なお Table 2 に示したように DMP, MA および A は  $E_{1cm}^{1\%}$  値が比較的強く検出には最低 10  $\mu$ g を必要とするが、パラ水酸化体は逆に  $E_{1cm}^{1\%}$  値が高くずっと感度は良い。また使用した機器 YHP1040A はクロマトグラム上に検出したピークの UV スペクトルを同時に画くので薬物同定には非常に便利である。

### IV. GC/MS

各試料溶液について行った GC/MS の結果より IR について Table 4 に示す。

前記 GC/MS 条件における各試料の HFB 誘導体のうち HODMP-HFB は通常の注入量 (10~100 ng, TIC) ではピークを示さなかった。もっと多量に注入するとブロードのピークを示すという報告<sup>2)</sup>がある。また TMS 誘導体では HODMP-TMS は良好な単一ピークを示すが、MA-TMS および A-TMS は TMS

化されない MA および A のピークも現われるし、HOMA-TMS および HOA-TMS は TMS が 1 個と 2 個入るピークを示すため定性的には良いが定量を行うには不都合であった。現在著者らが定量<sup>3)</sup>に用いている DMP, MA-HFB, A-HFB, HODMP-TMS, HOMA-HFB および HOA-HFB のマススペクトルを Fig. 1 に示す。

### V. IR

各試料の IR スペクトルを Fig. 2 に示す。試料はいずれも IR スペクトルによって相互に明らかに区別できた。なお GC/FTIR を利用すればもっと高感度な確実な同定が可能になるであろう。

### VI. マイクロクリスタルテスト

得られた結果を Table 5 に示す。

各試料についてはライネッケ塩試液が相互の区別に最も有用であり、2種の臭化金試液による試験を加えることにより、より一層区別が確実になった。

覚せい剤ではない DMP (覚せい剤原料) の人での使用で尿中より MA 等が検出される<sup>3)</sup>ので、DMP 使用と覚せい剤使用の鑑別法としては DMP および HODMP を検出することが大切である。

Table 5. Forms and characteristics of the crystals of the drugs by microcrystal test

Compound	Reagent		
	Reineckate	Auric bromide	Auric bromide-phosphoric acid
DMP	crossed & irregular plates, whitish CP, positive elong. RP	dichroic skelton & blades, greenish CP, positive elong. RP; red square-cut crystals, red, biref. CP, positive elong. RP	needles, bluish CP positive elong. RP
MA	dimorphic, clusters of plates & complex of hexagonal plates & diamonds, large whitish CP, positive elong. RP	nail & square-cut crystals, red biref. CP, no elong. RP	skelton, compass type crystals, green-yellow biref. CP, no elong. RP
A	dimorphic, rosettes, whitish CP, negative elong. RP; square & hexagonal plates, bluish CP, negative elong. RP	nocrystal	clusters of plates, whitish CP, positive elong. RP
HODMP	plates & rosettes of needles, whitish CP, negative elong. RP	no crystal	needles, whitish CP, positive elong. RP
HOMA	irregular plates & clusters of blades, whitish CP, negative elong. RP	curved dendrites, orange-green CP, positive elong. RP; straight needles, orange-green CP, negative elong. RP	no crystal
HOA	hexagonal plates, whitish CP, positive elong. RP	no crystal	no crystal

CP: Polarizers crossed, RP: Red plate, inserted

本報に述べた各種の分析法を用いることにより、DMP, MA, A, HODMP, HOMA, HOA の鑑別が可能である。

## 文 献

- 1) 高橋一徳ら：衛生試験報, 105, 1 (1987).
- 2) 井上堯子, 鈴木真一：科警研報告, 39, 228(1986).
- 3) P. Jenner: *Xenobiotica*, 1, 399 (1971).

## 高速液体クロマトグラフィーによるシアノコバラミンの分析

太田美矢子・木村俊夫・田中 彰

### Analysis of Cyanocobalamin by High-Performance Liquid Chromatography

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Akira TANAKA

A high-performance liquid chromatography (HPLC) was used for the determination of cyanocobalamin in standard substances and commercial samples. An aliquot of a sample solution containing p-hydroxybenzoic acid as a internal standard, was chromatographed on a  $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub> column with a mixture of acetonitrile and 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) (12:88) as the mobile phase. The results in both standard substances and samples were very close to that obtained by the current official JP method.

Satisfactory separation between cyanocobalamin and impurities in both standard substances and samples was achieved with the following mobile phase: the acetonitrile concentration in the mobile phase was 11% for the first eight minutes, then linearly changed from 11% to 60% for twenty-seven minutes and a 60% acetonitrile level was maintained. More than eleven kinds of impurities were detected on chromatograms in both standard substances and commercial samples.

(Received May 30, 1987)

シアノコバラミンは悪性貧血の治療剤として有用な水溶性ビタミン剤である。第十一改正日本薬局方の定量法は、試料の水溶液の極大吸収 361 nm の吸収を測定している<sup>1)</sup>。そこで、不純物などの分離定量の可能な高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を検討した。

## 実 験 方 法

### 1. 試料・試薬および溶液

日本薬局方標準品は Control 771, 801, 821, 841 および 861 の 5 種類を用い、シアノコバラミンは東京化成(株)および和光純薬工業(株)より購入した。アセトニトリルは和光純薬工業(株)製 HPLC 用、パラヒドロキシ安息香酸は和光純薬工業(株)製を用い、リン酸一カリウム、リン酸その他の試薬は試薬特級品を用いた。

内部標準溶液 (IS) はパラヒドロキシ安息香酸 90 mg を水に溶かし、2000 ml とした。

### 2. HPLC の条件

装置は日立 634-41 型波長可変 UV モニターおよび日立プロセサー 655-60 付きの日立高速液体クロマトグラフ 655 型を用いた。カラムはマイクロボンダパック C<sub>18</sub>(ウォーターズ社, 粒径 5  $\mu$ m, 150 mm  $\times$  4.6

mm i.d.), カラム温度は 40°C, 流量は 1 ml/min, 検出は定量のときは 278 nm, 純度試験のときは 361 nm で感度は 0.16 O.D. 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 3.0) の混液を用いた。移動相 A はアセトニトリル-0.1 M リン酸緩衝液 (12:88), 移動相 B は 0 から 8 分まではアセトニトリル 11%, 10 分から 35 分までは 11% から 60% まで直線的に増加させ、その後 60% で溶出した。

### 3. 試験方法

純度試験：乾燥物に換算して 2 mg 相当の試料に、水 0.5 ml を加えて溶かし、その 25  $\mu$ l (100  $\mu$ g) を HPLC に注入した。

定量方法：試料 13 mg を内部標準溶液に溶かして 50 ml とし、この 20  $\mu$ l を注入した。

## 結果および考察

シアノコバラミンの試料としては、ここ十年間に配布した日本薬局方標準品の 5 ロットおよび市販の試料 A および B を用いた。

### 1. HPLC の条件の検討

前報<sup>2)</sup> ではケムコソルブ 5 ODS-H を用いて、移動

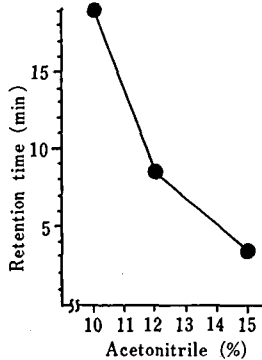


Fig. 1. Effect of the acetonitrile concentration on the retention times of cyanocobalamin

Conditions: column,  $\mu$ Bondapak  $C_{18}$  (5  $\mu$ m, 150  $\times$  4.6 mm i.d.); column temp., 40°C; flow rate, 1 ml/min; mobile phase, a mixture of acetonitrile and 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0); detection, 361 nm.

相を種々検討したが、良い分離が得られず、シアノコバラミンの分析には不適であった。そこで今回はマイクロボンドパック  $C_{18}$  を用いたところ、不純物の分離に満足すべき結果を与えた。移動相のアセトニトリル濃度を変えたときのシアノコバラミンの保持時間の変化を Fig. 1 に示す。アセトニトリルの濃度が少し増加するとシアノコバラミンの保持時間は急激に減少した。定量には12%アセトニトリル濃度を用いた。純度試験の時はシアノコバラミンのピークのかかなり後方に、不純物のピークが多数見られることから、グラディエント溶出法を用いた (移動相B)。

## 2. IS の選定

シアノコバラミンは非常に水に溶けやすい物質であること、最大の吸収極大波長が 361 nm であることなどから、内部標準物質の選定が困難であった。水溶性で吸収波長類似の物質にリボフラビンがあるが、保持時間は同一時間であった。種々検討の結果、HPLC による定量にはシアノコバラミンの 278 nm 付近の吸収極大<sup>3)</sup> を使用することとし、内部標準物質としてパラヒドロキシ安息香酸を用いた。

## 3. 純度試験

最も不純物質量および数にも多い試料Aの検出波長 361 nm におけるクロマトグラムを Fig. 2a に示す。標準品に関しては、Control 861 および 841 のクロマトグラムを著者らの報告<sup>3)</sup> に示した。他の標準品も類似したクロマトグラムであった。このときの各試料のシアノコバラミンと不純物の含量を Table 1 に示す。これは Fig. 2a で溶出したシアノコバラミンと不純物のピーク面積の総和 (100%) に対する各ピークの含量

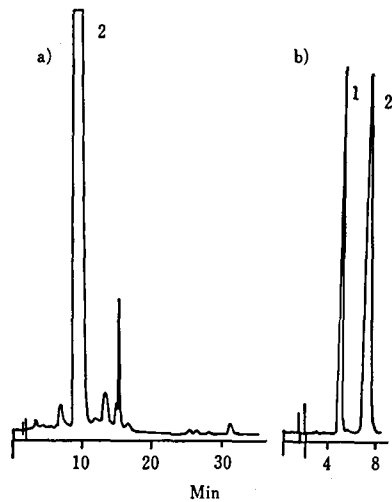


Fig. 2. Chromatograms of commercial sample A

a) Acetonitrile concentrations in the mobile phase was 11% for the first eight minutes, and then linearly changed from 11% to 60% for twenty-seven minutes, and 60% acetonitrile level was maintained. One hundred  $\mu$ g of sample A was injected.

b) Acetonitrile concentration was 12%. This sample was prepared according to the HPLC assay and 20  $\mu$ l of it were injected and detected at 278 nm. Analytical conditions are the same as in Fig. 1.

\*1) *p*-hydroxybenzoic acid (internal standard),

\*2) cyanocobalamin.

を面積百分率で表した。標準品および試料の不純物数は11~14個と多く、この面積百分率法での不純物の含量は、外部標準法 (試料溶液の濃度の1%溶液のピーク面積により不純物の含量を定量する)<sup>4)</sup> により計算した不純物の含量とはほぼ一致した。それぞれの純度は標準品で97.78~98.41%、試料で97.12~97.82%であった。

## 4. 検量線および定量結果

純度試験で最も不純物質量の少ない Control 841 を用いて検量線を作成するとき、0.05~0.35 mg/ml の間で原点を通る直線が得られた。HPLC 法で定量したときのクロマトグラムを Fig. 2b, 実験結果を Table 2 に示す。各試料のシアノコバラミン含量を、Control 841 を標準として、HPLC 法および JPXI 法により定量した。HPLC 法では各標準品および試薬は、それぞれ99.2~101.1%および96.1~98.6%、JPXI 法ではそれぞれ99.8~100.1%および96.7~97.9%であり、両者共によく一致した。

シアノコバラミン標準品を原末で配布しているのは日本薬局方しかない。WHO および BP の標準品はな



Table 1. Assay results of cyanocobalamin and its impurities in various Japanese Pharmacopoeia Reference Standards and two kinds of commercial cyanocobalamin by HP LC\*1)

No	Retention time (min)	Japanese Pharmacopoeia Reference Standard					Commercial	
		Control number					A	B
		861	841	821	801	771		
1	3.5	0.11	0.04	0.05	0.02	0.04	0.06	0.05
2	4.0						0.03	
3	5.6	0.09	0.04	0.05	0.06	0.06	0.03	0.05
4	6.6		0.07					
5	7.0			0.77			0.41	
6	7.4	0.44	0.25		0.55	0.35		0.85
7	9.5*2)	98.20	98.41	97.98	97.78	98.41	97.12	97.82
8	12.4	0.03	0.04				0.12	
9	13.3		0.01	0.10	0.03	0.03	0.66	0.17
10	14.1			0.07	0.04	0.03	0.01	
11	14.6	0.28	0.26	0.18	0.22	0.18	0.12	0.50
12	15.2	0.51	0.51	0.50	0.83	0.54	1.09	0.18
13	16.4	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02		0.03
14	16.8	0.04	0.07	0.06	0.08	0.07	0.08	0.09
15	25.7	0.07	0.07	0.06	0.09	0.07	0.07	0.06
16	26.7	0.07	0.07	0.07	0.09	0.07	0.07	0.07
17	28.5		0.01		0.03		0.02	
18	31.5	0.15	0.13	0.10	0.16	0.12	0.12	0.13

\*1; Figures show percent contaminants of each component to the total peak area (100%) of cyanocobalamin and the impurities.

\*2; cyanocobalamin

Table 2. Comparison of assay results of cyanocobalamin in various samples by HPLC and JP XI method

Sample	Loss on drying (%)	HPLC method			JP XI method			
		%	n	c.v.	%	n	c.v.	
Control	841	9.98	100.0	4	0.65	100.0	4	0.71
	861	10.83	100.1	4	0.63	99.9	4	0.65
	821	11.27	100.5	4	0.13	100.1	4	0.56
	801	7.61	99.2	4	1.37	100.0	4	0.48
	771	10.31	101.1	4	0.57	99.8	4	0.97
commercial	A	5.18	96.1	3	1.14	96.7	4	1.89
	B	5.62	98.6	4	0.75	97.9	4	0.95

n; number of test

c.v.; coefficient of variation(%)

JP XI method; The absorbance of the sample solution was measured at 361 nm.

く、USP標準品はシアノコバラミンをマンニトールで希釈し7.8 µg/mgの粉末で配布している。そのため他国の標準品と比較検討はできなかった。

シアノコバラミンの標準品を大量注入した5種類の各ロットのクロマトグラムのパターンはほぼ同じで多数の不純物を含んでいた。面積百分率によるこれらの標準品の純度は97.78~98.41%と各ロット間で大きな差はなく、過去10年間同程度の純度のシアノコバラミン標準品を供給できた。HPLC法およびJPXI法による定量値はControl 841と比較したので、両者共に一致し100%に近い値を与えた。しかし純度試験では約98%程度で低いものであることから市販試料について検討してみた。しかし今回検討した試料は純度試験でも不純物が多く、定量法でもHPLC法で96.1~98.6%、JPXI法で96.7~97.9%と低かった。

日本薬局方の定量法は吸光度法であり、現在までの標準品で充分であるが、今後より高純度の原料を入手し、標準品の品質を向上させたいと考えている。

### 結 論

1. 今回確立したHPLCによる定量方法は、内部

標準物質の選定のため、361 nmを使用できず、278 nmを使用した。定量結果はJPXI法とも良く一致し、シアノコバラミンの分離定量法としては充分な方法であった。

2. 今回確立した純度試験のためのHPLC法は、製剤中の不純物を検出するためには、大変良好な方法であった。

3. 標準品の純度の問題に関しては、今後も配布中および今後配布する標準品に対して、今回のようなことが起ると思われるので、日本薬局方に適合するということだけでなく、出来得る限り高純度の原料を入手するという方向で考えたい。

### 文 献

- 1) 第十一改正日本薬局方, 578 (1986) 厚生省
- 2) 太田美矢子, 木村俊夫, 山羽 力: 衛生試験, 103, 121 (1985)
- 3) 太田美矢子, 木村俊夫, 田中 彰: 衛生試験, 105, 84 (1987)
- 4) 木村俊夫, 網川延孝, 中守律夫: 医薬品研究, 17, 143 (1986)

## 国立衛生試験所標準品 (色素標準品)

### ニューコクシン標準品の結晶水ならびに三塩化チタン 滴定係数について

神 蔵 美枝子

#### On Crystal Water of New Coccine Standard and Its Factor for Titanium Trichloride Titration

Micko KAMIKURA

The water content of dried sample of New Coccine Standard (C.I. 16255) was determined by the Kirl Fischer method. The results showed that 1.5 molecules of H<sub>2</sub>O are present in this standard color as crystal water. Therefore, 15.787 mg C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>10</sub>S<sub>3</sub>·1.5 H<sub>2</sub>O is considered to be more suitable as the factor for TiCl<sub>3</sub> titration than the present factor 15.112 mg C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>10</sub>S<sub>3</sub>. The color content of New Coccine (Food Red No. 102) using this new factor would be about 4% higher than that using the present factor.

(Received May 30, 1987)

ニューコクシン標準品 (C.I. 16255<sup>1)</sup>) は、食品、医薬品、化粧品および製剤中の同色素の確認又は定量試験のための標準品として用いられている<sup>2)</sup>。本標準品の三塩化チタン滴定法による含量は94.5%であった。また、食用色素としてのニューコクシン (食用赤色

102号) の含量規定は、82.0%以上となっており、この規制値は他の食用色素のそれよりも若干低い値である。食用赤色102号は含量、水不溶物、塩化物および硫酸塩、乾燥減量の合計値が100%に満たないため永らく疑問がもたれてきた。その原因として本色素が結

晶水を含有することが考えられるが、結晶水に関する報告は未だない。本研究ではニューコクシン標準品を用い本色素の結晶水の存在を明らかにするとともに、(結晶水を考慮して)新たに定めた三塩化チタン滴定係数を食用赤色 102 号の含量計算に適用した。

## 実験方法

### 1. 試料

ニューコクシン国立衛生試験所標準品

食用赤色 102 号：市販製品 A～F の 6 試料

### 2. 試薬

カールフィシャー試薬：三菱化成工業(株)

### 3. 装置

第 4 版食品添加物公定書解説書中、12. 水分定量法(カールフィシャー法)で規定する電気滴定装置を用いた<sup>2)</sup>。

### 4. 試験方法

食品添加物公定書中食用赤色 102 号、12. 水分定量法(カールフィシャー法)、(2)逆滴定に準じて行った<sup>2)</sup>。なお、 $f$ ：カールフィシャー試液の 1 ml に対応する水 ( $H_2O$ ) の mg 数は 2.883 mg、 $f'$ ：水・メタノール標準液 1 ml 中の水 ( $H_2O$ ) の mg 数は 5.217 mg であった。

## 実験結果および考察

### 1. ニューコクシン標準品の分析結果

本標準品につき、食品添加物公定書中食用赤色 102 号に準じて試験を行った結果を Table 1 に示す。含量は硫酸デシケーター (15 mmHg) 中で 24 時間乾燥後の試料についての値で、水不溶物、塩化ナトリウムおよび硫酸ナトリウムの値を合計すると 94.9% となった。

### 2. 水分含量について

硫酸デシケーター中での乾燥減量は、条件を種々変えて検討した結果、試料の量、乾燥時間、減圧の状態に関係なく、ほぼ一定の値が得られ、それらの平均値 3.55% は、乾燥条件を 135°C、6 時間とした場合の値 3.3% に近い値であり、付着水は完全に除去されたと考えられる。そこで、硫酸デシケーター中で乾燥後の試料を用い、カールフィシャー法により水分の定量を行った。その結果、乾燥後の試料中に含まれる水分量は平均値で 4.18% でありこの値は結晶水に起因すると考えられた (Table 2)。

### 3. 結晶水含有量と滴定係数について

結晶水を 0～2 分子含むときのニューコクシンの水分理論値と、そのときの三塩化チタン滴定係数の計算値を Table 3 に示す。カールフィシャー法により得られたニューコクシン標準品の水分含有量平均値は 4.18% で、結晶水 1.5 分子の水分理論値に相当する。これより本標準品は 1.5 分子の結晶水を含有すると考えられる。このときニューコクシンの三塩化チタン滴

Table 1. Analytical Results of New Coccine Standard

Item	Content (%)
Total color	94.5*
Water soluble substance	0.0
Sodium chloride	0.0
Sodium sulfate	0.4
Loss on drying (at 135°C)	3.3

\* It is determined by the titration method with titanium trichloride solution after drying for 24 hr in desiccator ( $H_2SO_4$ ) under vacuum (15 mmHg).

Table 2. Loss on Drying and Water Content of New Coccine Standard

No.	New coccine standard (g)	Loss on drying, desiccator ( $H_2SO_4$ ) (A)			Kirl fischer method*1 (B)		Total (A)+(B) (%)
		mm Hg	hr	%	New coccine standard g*2	Water content %	
1	0.5039	0.8	24	3.37			
2	1.0533	2	24	3.64	0.4114	4.02	7.66
3	1.0278	2	24	3.66	0.2471	4.23	7.89
4	1.7641	2	24	3.40			
5	1.3373	2	30	3.57	0.3870	4.59	8.16
6	1.0949	2	48	3.43			
7	1.0278	2	72	3.76	0.4735	3.86	7.62
	Average			3.55		4.18	7.83

\*1 Back titration method

\*2 Color was weighed after drying in desiccator ( $H_2SO_4$ ) under vacuum.

Table 3. Crystal Water and  $\text{TiCl}_3$  Titration Factor of New Coccine

New coccine	MW	Crystal water		Factor mg color/ml 0.1 N $\text{TiCl}_3$
		molecule	Water content theoretically (%)	
$\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{10}\text{S}_3$	604.48	0	0	15.112
$\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{10}\text{S}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	622.49	1	2.89	15.562
$\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{10}\text{S}_3 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$	631.49	1.5	4.28	15.787
$\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{10}\text{S}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	640.50	2	5.63	16.013

Table 4. Analytical Results of Commercial New Coccine (Food Red No. 102)

No.	New Coccine	Total color content Factor		Sodium chloride (%)	Sodium sulfate (%)	Loss on drying (%)	Total (%)
		15.112*	15.787*				
1	A	84.6		6.5	0	5.5	96.6
			88.4	6.5	0	5.5	100.4
2	B	86.7		6.0	0	3.9	96.6
			90.6	6.0	0	3.9	100.5
3	C	85.5		6.5	0	4.5	96.5
			89.3	6.5	0	4.5	100.3
4	D	87.0		4.5	0	4.9	96.4
			90.9	4.5	0	4.9	100.3
5	E	88.3		3.5	0	5.1	96.9
			92.3	3.5	0	5.1	100.9
6	F	89.5		2.0	0	6.2	97.7
			93.5	2.0	0	6.2	101.7

\* mg color/ml 0.1 N  $\text{TiCl}_3$ 

定係数は、0.1N標準溶液 1mlにつき 15.787 mg となった。食品添加物公定書中の同係数 15.112 mg を用いて求めたニューコクシン標準品の含量は94.5%、新しい係数のそれは98.8%であった。後者は前者より4.3% 高くなり、硫酸ナトリウム等との合計値は99.2%であった。

#### 4. 食用赤色 102 号市販製品の含量計算に新滴定係数を適用した場合

食用赤色 102 号市販製品の含量は現在、84.6~89.5%の製品が多く、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウムおよび乾燥減量の合計値は96.4~97.7%である。これらの製品の含量を新滴定係数により計算すると88.4~93.5%となり、上記合計値は100.3~101.7%で、現行の滴定係数を用いた場合より+3.8~4%となり、100%に近い値が得られた (Table 4)。

食用色素で結晶水を含有する品目は、現在食用赤色 3号のみである。食用赤色 102号は FAO/WHO ではボンソー 4R として収載されているが、現在の含量規定は80%以上、0.1N 三塩化チタン溶液 1ml に対応

する色素量は 15.11 mg が採用されている<sup>4)</sup>。

結晶水の含有量は熱重量測定法ならびにカールフィシャー法によって求められる。本研究では後者の方法によって測定した。

## 結 論

ニューコクシン標準品の結晶水含有量をカールフィシャー法により求めた結果、本標準品は 1.5 分子の結晶水を含有することが示唆された。これらの結果から、ニューコキシンの 0.1N 三塩化チタン溶液 1ml に対応する色素量を求めると 15.787 mg となり、現在用いられている 15.112 mg を用いて計算された含量より、4%程度高い値として得られる。

## 文 献

- 1) "Colour Index" 3rd Ed., Society of Dyers and Colourists and American Association of Textile Chemists and Colorists (1971)
- 2) 厚生省：食品添加物公定書 第4版(1978)；厚生

省令第30号、医薬品等に使用することができるタール色素を定める省令、昭和41年8月31日、官報号外第109号  
3) 石館守三監修：第4版食品添加物公定書解説書、

C39~42 (1979)、広川書店  
4) FAO: "Specifications for Identity and Purity," *Food and Nutrition Paper*, 19, 175 (1981), 31/1, 115 (1984)

## ラット血漿中のラセミ体ピンドロールの分割定量とその応用

長谷川隆一・櫛谷真美・小室徹雄・伊阪 博

### Stereoselective Determination of Racemic Pindolol in Rat Plasma and Its Application

Ryuichi HASEGAWA, Mami KUSHIYA, Tetsuo KOMURO and Hiroshi ISAKA

Plasma concentrations of racemic pindolol, after intravenous injection (5 mg/kg) to 24 hr-fasted rats, were stereoselectively determined on HPLC by diastereometric derivatization with 2,3,4,6-tetra-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl isothiocyanate. The biological half life and apparent volume of distribution for R(+)- and S(-)-pindolol were 19.3 min, 3.39 l/kg and 24.5 min 8.33 l/kg, respectively.

The apparent volumes of distribution for R(+)- and S(-)-pindolol were decreased to approximately half of the control by pretreatment with bacterial lipopolysaccharide (LPS) (10  $\mu$ g/kg i.v.) 24 hr before racemic pindolol injection, but in both instances the biological half lives were changed only slightly. From the dose-dependent curve, the half effective doses of LPS for R(+)- and S(-)-pindolol were found to be 0.01 and 0.1  $\mu$ g/kg i.v., respectively.

(Received May 30, 1987)

本態性高血圧や不整脈治療に用いられている  $\beta$ -ブロッカーはラセミ体として市販投与されているため、それぞれの異性体の体内挙動を把握する必要がある、そのためには高感度で簡便な分割定量法が必要であった。

著者らは前報<sup>1)</sup>でラセミ体ピンドロールおよびプロプラノロールを 2,3,4,6-tetra-*O*-アセチル- $\beta$ -D-グルコピラノシルイソチオシアネート (GITC) 試薬を用いてジアステレオマーに誘導することによって、液体クロマトグラフィーにより分割定量できることを報告した。本報ではその方法を用いてラットに静注したラセミ体ピンドロールの血漿中 R(+), S(-) 体濃度の時間的推移について検討するとともに、病態モデルでの血中挙動についても検討を加えた。病態モデルとしては従来著者らが興味を持ってきたグラム陰性菌細胞壁成分のひとつであるリポ多糖 (LPS) を投与したラットを用いた<sup>2)</sup>。LPS は肝薬物代謝酵素活性を低下させることが知られており<sup>3)</sup>、ピンドロールの代謝速度の減少による総消失速度の低下が推定された。しかし、本実験によると LPS はむしろラセミ体、R(+), S(-) 体の見かけの分布容積を約半分に減少させた。

## 実験材料および実験方法

### 実験材料

ラセミ体ピンドロールは日本サンド薬品(株)より供与されたものを用いた。ネブタール注射液はダイナポット(株)より、リムラステスト用プレゲルは生化学工業(株)より購入した。LPS は *E. coli* UKT-B 株より Westphal らの方法<sup>4)</sup>で抽出し、さらに超遠心により精製したものを用いた。また、ほかの試薬は市販特級品又は液体クロマトグラフ用を用いた。

### 実験方法

実験動物は Wistar 系雄性ラット (体重約 200 g) (静岡実験動物農業協同組合) を用いた。一群 4 匹のラットに注射用生理食塩水に溶かした LPS (10  $\mu$ g/kg) を尾静脈より投与した。次いで、24 時間絶食後ネブタール (35 mg/kg i.p.) 麻酔下、ラセミ体ピンドロール (5 mg/kg) を股静脈より投与した。投与後 5, 15, 30, 60, 90 および 120 分後に腹部下行大動脈より採血しサンプルとした。LPS の投与量依存性の実験では LPS を注射用生理食塩水に溶解後 10 倍単位で希釈し、リムラステストで LPS 量を確認して静注した。24 時間絶食後、ラセミ体ピンドロール (5 mg/kg) を同様に静注し、5 分後に採血した。

血漿中のラセミ体ピンドロールの測定は Pacha の蛍光法<sup>5)</sup>で行った。R(+ ) 体および S(- ) 体の分割定量は前報<sup>1)</sup>を一部変更して行った。すなわち血漿 2 ml に 5N 水酸化ナトリウム 200  $\mu$ l およびエーテル 7 ml を加え、15分間振とうし、遠心 (3000 rpm, 10分間) 後エーテル層 6 ml を取り、0.1N 塩酸 2 ml を加え15分間振とうした。遠心後エーテル層を捨て、塩酸層 1.8 ml を取りそれに 1N 水酸化ナトリウム約 200  $\mu$ l を加えて弱アルカリ性とし、エーテル 7 ml を加え

て15分間振とうした。遠心後エーテル層 6 ml を取り窒素気流下で蒸発乾固させた。GITC 誘導体化は内部標準として 1-ニトロナフタレンを含む 0.2% GITC 50  $\mu$ l (アセトニトリル溶液) を添加し、室温で20分間反応させ、0.2% 抱水ヒドラジン 10  $\mu$ l を添加した。液体クロマトグラフは島津 LC-6A を、カラムは東洋曹達 TSK-120T (4 $\times$ 300 mm) を用いた。移動相はアセトニトリル:10 mM リン酸緩衝液 (pH 3.4) (1:1)。流速は 0.9 ml/min, 注入量は 20  $\mu$ l, 検出波長は 258 nm で行った。

### 結果および考察

静注したラセミ体ピンドロールの血漿中の濃度は LPS (10  $\mu$ g/kg) の前処置によって対照群の約2倍となった (Fig. 1)。しかし、総消失速度定数は対照群 1.66 hr<sup>-1</sup> に対して LPS 処置群で 1.83 hr<sup>-1</sup> となり、生物学的半減期 ( $t_{1/2}$ ) は23.9分から20.9分とわずかに減少した。見かけの分布容積は対照群 4.35 l/kg に対し、LPS 処置群で 2.17 l/kg と半分以下に減少した。

血漿中に含まれるラセミ体ピンドロールを分割定量した結果を Fig. 2 に示した。対照群では R(+ ) 体および S(- ) 体の生物学的半減期はそれぞれ19.7分および24.5分であった。また見かけの分布容積はそれぞれ 3.39 l/kg および 8.33 l/kg となり著しい差異が認められた。一方、LPS 処置によって、R(+ ) 体の生物学的半減期は 18.2分と短くなったが、S(- ) 体は27.7分と逆に長くなった。また見かけの分布容積は R(+ ) 体 1.44 l/kg, S(- ) 体 4.46 l/kg とそれぞれ対照群の約半分に減少した。

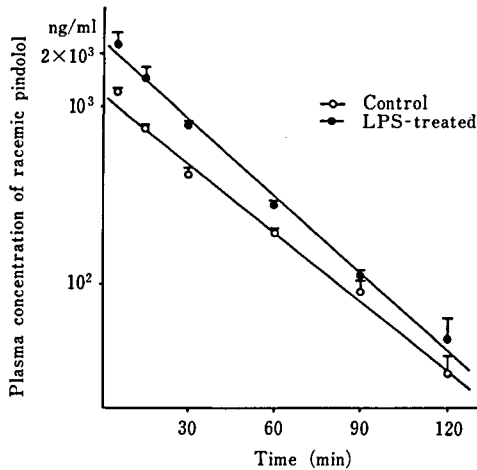


Fig. 1. Time course of plasma concentration of racemic pindolol after its intravenous injection (5 mg/kg) and the effect of pretreatment with LPS (10  $\mu$ g/kg i.v.). Racemic pindolol was determined by fluorometric Method. Each point indicates the average of four animals with S.D.

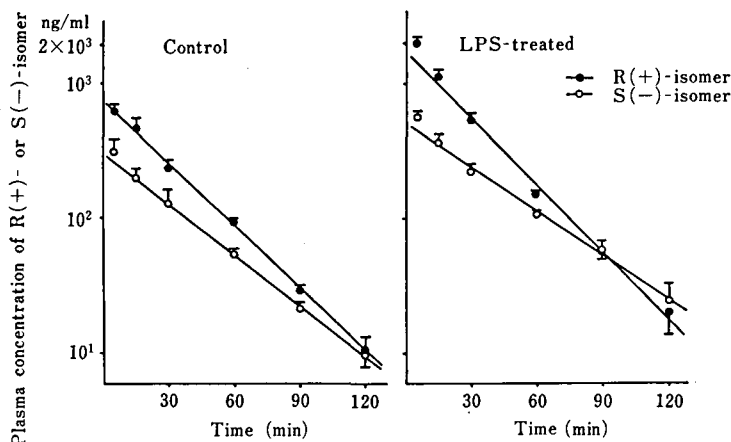


Fig. 2. Time course of plasma concentration of enantiomers after racemic pindolol injection (5 mg/kg i.v.) and the effect of pretreatment with LPS (10  $\mu$ g/kg i.v.). Samples were the same as in Fig. 1. Each point indicates the average of four animals with S.D.

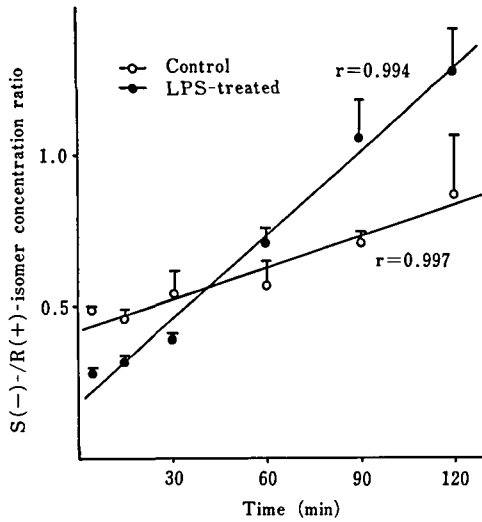


Fig. 3. Ratio of plasma enantiomers against time after racemic pindolol injection (5 mg/kg i.v.) and the effect of LPS (10 µg/kg i.v.) Values from Fig. 2 plotted against time. Each point indicates the average of four with S.D.

これらの S/R 比の時間的推移を Fig. 3 に示した。対照, LPS 処置群ともに良好な直線関係を示し, 外挿法による 0 時間の値は対照群 0.42 に対して LPS 処置群で 0.19 であった。

このように LPS の前処置によってラセミ体の血漿中での挙動ならびに S/R 比に著しい差異が認められたので, 次に LPS の投与量依存性について検討した。その結果 LPS は R(+) 体に対して 0.01 µg/kg, S(-) 体に対して 0.1 µg/kg の投与量以上で有意な作用を示しともに 10 µg/kg で定常状態に達した (Fig. 4)。

以上のように, ラットに静注したラセミ体ピンドロールの血漿中の濃度は GITC 誘導体とすることによって液体クロマトグラフィーにより容易に分割定量できた。本実験の対照群で得られたピンドロールの R(+) 体, S(-) 体の生物学的半減期はプロプラノロールの実験で報告されている結果に比べ短かったが, 血中挙動は類似していた<sup>6,7)</sup>。一方, LPS 処置によってラセミ体ピンドロールおよび R(+) 体, S(-) 体の見かけの分布容積が約半分減少した。しかし, 総

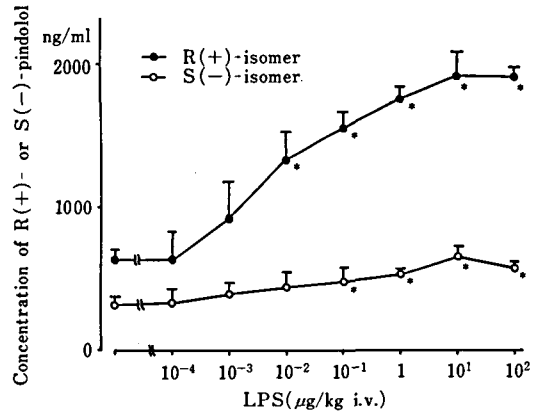


Fig. 4. Dose-dependency of LPS on plasma concentration of enantiomers at 5 min after racemic pindolol injection (5 mg/kg i.v.) Each point indicates the average of four animals with S.D. Asterisks indicate significant difference against control ( $p < 0.01$ ).

消失速度には顕著な変化の見られなかったことからこの減少はピンドロールの代謝抑制のためではないと思われる。これは LPS の投与量依存性の実験で得られた作用有効量が肝薬物代謝酵素活性を抑制する量 (数 mg/kg i.v. or i.p.) よりも十分低かったことから推測される。したがって, LPS によるピンドロールの見かけの分布容積の減少は肝あるいはほかの組織での取り込みの抑制または血中での蛋白結合の増加などによるものと考えられる。

## 文 献

- 1) 榎谷真美ら: 衛生試験, 104, 103 (1986)
- 2) M. Kushiya *et al.*: *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 416 (1987)
- 3) K. Sasaki *et al.*: *Oyo Yakuri*, 24, 717 (1982)
- 4) O. Westphal *et al.*: *Z. Naturforsch. Band 76*, 3, 148 (1952)
- 5) W. L. Pacha: *Experimenta*, 25, 802 (1969)
- 6) K. Kawashima *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 196, 517 (1976)
- 7) S. Caccia *et al.*: *J. Chromatogr.*, 172, 457 (1979)

有機汚染物質と細菌内毒素 (LPS) のマウス肝に対する  
協同作用に関する研究

[1] 四塩化炭素, リン酸トリス (2-クロロエチル) あるいは  
ポリ塩化ビフェニールとLPSとの同時投与について

長谷川隆一・楠谷真美・小室徹雄・伊阪 博

Studies on the Co-operative Effects of Organic Pollutants and Bacterial  
Endotoxin (LPS) on Mouse Liver

[1] On the Simultaneous Administration of Carbon Tetrachloride,  
Tris (2-chloroethyl) Phosphate or Polychlorinated Biphenyls with LPS

Ryuichi HASEGAWA, Mami KUSHIYA, Tetsuo KOMURO and Hiroshi ISAKA

The co-operative effects of three organic pollutants and lipopolysaccharide (LPS) on lysosomal enzyme, lipid peroxide and drug metabolizing enzymes in blood or liver were examined by simultaneous administration to mice.

The elevation of serum  $\beta$ -glucuronidase activity induced by carbon tetrachloride ( $\text{CCl}_4$ ) or tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP) was further enhanced by the simultaneous administration of LPS. The activity of the hepatic  $\beta$ -glucuronidase was also affected by the simultaneous administration of  $\text{CCl}_4$  or TCEP with LPS. The ratio of  $\beta$ -glucuronidase activity in the hepatic supernatant to the total activity was significantly increased by the simultaneous administration of  $\text{CCl}_4$  and LPS in comparison with administration of  $\text{CCl}_4$  or LPS alone, which suggests hepatic lysosomal labilization. The hepatic accumulation of thiobarbituric acid-reactive materials induced by LPS was strongly enhanced by the simultaneous administration of  $\text{CCl}_4$ , TCEP or polychlorinated biphenyls. A co-operative effect of pollutants and LPS on hepatic aniline hydroxylase and UDP-glucuronyl transferase activities was not observed.

(Received May 30, 1987)

グラム陰性菌細胞壁成分の一つであるリポ多糖 (LPS) は多くの生物活性を有していることが知られている。また、ある種の細菌や薬物投与下で LPS を投与すると LPS に対する感受性が数倍から数千倍も上昇するという<sup>1)</sup>。さらに、ある種の環境汚染物質と LPS をマウスに同時投与すると、単独投与に比べ有意に致死率の増加が認められている<sup>2)</sup>。そこで本実験ではそれらの汚染物質の中から、肝に作用することが知られている塩素系有機物である四塩化炭素 ( $\text{CCl}_4$ )、リン酸トリス (2-クロロエチル) (TCEP)、ポリ塩化ビフェニール (PCB) を選び、LPS との協同作用を  $\beta$ -グルクロニダーゼの挙動、過酸化脂質の蓄積ならびに肝薬物代謝酵素活性の変動を指標として検討した。

リソソーム系酵素の一つである  $\beta$ -グルクロニダーゼは基質特異性が高いこと、酵素活性が比較的安定であること、等からリソソームの安定性を評価するために用いられている。また、過酸化脂質の蓄積は細胞毒

性の指標として、また薬物代謝酵素は肝機能の指標の一つとして有効である。これらの指標はいずれも LPS によって変動することから、本実験で取り上げた汚染物質もそれらになんらかの影響をおよぼすものと推測される。今回は、LPS、汚染物質ともに致死毒性増強効果の実験系で用いられている量<sup>2)</sup> ( $\text{LD}_{50}$  の 1/3 量) を用いた。

#### 実験材料および実験方法

LPS は *E. coli* UKT-B 株から三塩化酢酸法によって抽出した<sup>3)</sup>。その  $\text{LD}_{50}$  は雄性マウス (体重約 30 g) に腹腔内注射した時 15  $\mu\text{g/g}$  であった。 $\text{CCl}_4$ , TCEP, 2-チオバルビツール酸 (TBA), アニリンは和光純薬 (株) より、*p*-ニトロフェニール- $\beta$ -D-グルクロニド, UDP-グルクロン酸ナトリウムは Sigma Chemical Company より購入した。PCB (KC-1000) はカネミ化学 (株) より供与された。

実験動物は ICR 雄性マウス (ケアリ (株)) (体重 25 g)



を用いた。LPS は注射用生理食塩水に溶解し、汚染物質はオリーブ油に溶解して使用した。実験是一群5匹とし、LPS あるいは生理食塩水を腹腔内注射し、同時に汚染物質 (CCl<sub>4</sub> 2.6 μl/g, TCEP 1 mg/g, PCB 1 mg/g) あるいはオリーブ油を経口投与した。また、対照群には生理食塩水とオリーブ油を投与した。マウスには水と固形飼料を自由に摂取させた。

マウスは薬物投与4時間あるいは24時間後に眼底動脈より採血後、脊髄脱臼して殺した。肝は10倍量の0.25 M ショ糖, 10 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.4) でホモジネイトし, 12,000×g, 20分間冷却遠心した。血清, 肝上清, 肝ホモジネイトのβ-グルクロニダーゼ活性は Kato らの方法により測定した。なお, 肝ホモジネイトの場合は, 測定前に Triton X-100 を0.1% になるように添加した。血液または肝ホモジネ

イトの TBA 反応性物質の測定は Yagi<sup>5)</sup> および Ohkawa らの方法で行った。また, 肝上清のアニリン水酸化活性<sup>7)</sup> および UDP-グルクロン酸抱合活性<sup>8)</sup> も測定した。

有意差検定は Student's-t テストを用いた。

## 実験結果および考察

### 1. 血清 β-グルクロニダーゼ活性 (Fig. 1)

CCl<sub>4</sub> と LPS を同時に投与すると, 血清 β-グルクロニダーゼ活性は4時間後で薬物無処置対照群の約2倍に上昇し, 24時間後には無処置対照群の約10倍, CCl<sub>4</sub> 単独投与群の約3倍に上昇した。TCEP と LPS の同時投与の場合には, TCEP 単独投与4時間後の値を約2倍に上昇させたが, 24時間値には影響は認められなかった。この TCEP による血清の β-グルクロニ

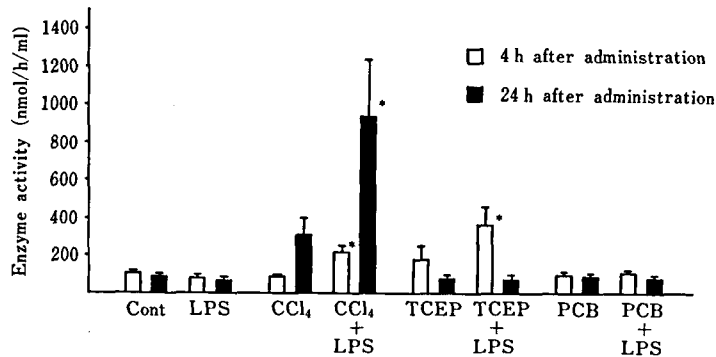


Fig. 1. Serum β-glucuronidase activities after the administration of pollutants with or without lipopolysaccharide. Mice received CCl<sub>4</sub>, TCEP or PCB with or without LPS simultaneously as described in Materials and Methods. Activity of serum β-glucuronidase was assayed at 4 and 24 hr after the administration. Each value represents mean ± S.D. from 5 mice. \* Significant from pollutant alone at the same time (p<0.05).

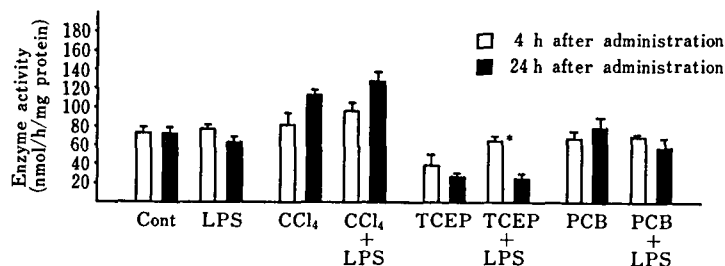


Fig. 2. β-Glucuronidase activity in the hepatic supernatant after the administration of pollutants with or without lipopolysaccharide. Mice were treated as Fig. 1. The hepatic supernatant was prepared by the centrifugation of homogenate at 12,000×g for 20 min. Activity of β-glucuronidase was assayed in the supernatant. Each value represents mean ± S.D. from 5 mice. \* Significant from pollutant alone at the same time (p<0.05).

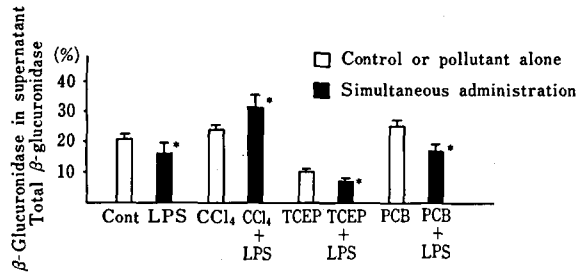


Fig. 3. The existent ratio of  $\beta$ -glucuronidase in the hepatic supernatant to the whole liver at 24 hr after the administration. The existent ratio of  $\beta$ -glucuronidase in the liver was calculated from Fig. 2. Each value represents mean  $\pm$  S.D. from 5 mice. \* Significant from pollutant alone ( $p < 0.05$ ).

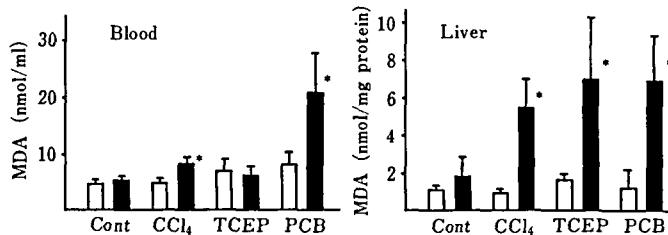


Fig. 4. Thiobarbituric acid-reactive materials in blood and liver homogenate at 24 hr after the administration of pollutants with or without lipopolysaccharide. TBA-reactive materials were represented as malondialdehyde. Open column indicates pollutant alone and closed column indicates pollutant and LPS. Each value represents mean  $\pm$  S.D. from 5 mice. \* Significant from pollutant alone ( $p < 0.05$ ).

ダーゼ活性の増加は、肝小胞体中の  $\beta$ -グルクロニダーゼが血中に遊離したものと推定されているが、LPSはこの効果を有意に促進した。PCBとLPSの同時投与では無処置対照群に比べ酵素活性に変化は認められなかった。

## 2. 肝 $\beta$ -グルクロニダーゼ活性

LPSとの同時投与によるこれらの血清  $\beta$ -グルクロニダーゼ活性上昇の促進効果は肝での協同作用に由来するものと推定されたので、投与4および24時間後の肝のホモジネイトおよび上清の  $\beta$ -グルクロニダーゼ活性を測定した。肝ホモジネイトすなわち総  $\beta$ -グルクロニダーゼ活性はTCEP単独あるいはTCEPとLPSの同時投与24時間後においてのみ無処置対照群に対して有意な減少を示したが、その他の群では有意な変化は認められなかった。

一方、Fig. 2に示すように肝上清の  $\beta$ -グルクロニダーゼ活性はCCl<sub>4</sub>とLPSの同時投与によって、CCl<sub>4</sub>単独投与に比べて4時間および24時間後にも増加する傾向が認められた。また、TCEPとLPSの同時投与ではTCEP単独投与4時間値を有意に上

昇させた。

そこで投与24時間後に  $\beta$ -グルクロニダーゼの総活性に対する上清活性比を算出したところ (Fig. 3), LPS投与により無処置対照群に対して有意な減少が認められた。この傾向はTCEPとLPSおよびPCBとLPSを同時に投与した場合も同様であった。CCl<sub>4</sub>とLPSの同時投与によってはCCl<sub>4</sub>単独投与に比べ有意な増加が認められ、これは肝リソソームが不安定になったためと推定した。

## 3. 血中および肝過酸化脂質 (Fig. 4)

近年、過酸化脂質の蓄積は細胞毒性との関連で考察されるようになってきている。そこで、本実験では、投与24時間後の血液および肝ホモジネイトのTBA反応性物質を測定した。血液中のTBA反応性物質はCCl<sub>4</sub>とLPSおよびPCBとLPSの同時投与によって単独投与に比べ有意な増加が認められた。また、肝ホモジネイトのTBA反応性物質はLPS単独で約40%増加し、さらにCCl<sub>4</sub>、TCEP、PCBとLPSの同時投与により汚染物質単独投与の4~6倍の蓄積が認められ、LPSとの協同効果が認められた。

Table 1. Aniline hydroxylase and UDP-glucuronyl transferase activities in hepatic supernatant

	Aniline hydroxylase nmol/mg protein/hr	UDP-glucuronyl transferase nmol/mg protein/hr
Control	9.11 ± 0.87	56.1 ± 9.8
LPS	6.73 ± 0.91 *	87.5 ± 15.0 *
CCl <sub>4</sub>	0.386 ± 0.052	51.8 ± 3.2
CCl <sub>4</sub> +LPS	0.236 ± 0.069 *	53.7 ± 8.6
TCEP	7.94 ± 1.41	48.2 ± 6.9
TCEP+LPS	5.26 ± 0.64 *	57.9 ± 8.1
PCB	8.56 ± 1.04	39.8 ± 8.3
PCB+LPS	5.82 ± 1.49 *	54.5 ± 12.0

Each value represents mean ± S.D. from 5 mice.

\* Significant from control or pollutant only (p<0.05).

#### 4. 肝薬物代謝酵素活性 (Table 1)

チトクローム P-450 系酵素の一つであるアニリン水酸化活性は LPS 投与により約25%減少したが、この傾向はそれぞれの汚染物質と LPS との同時投与によっても同様に認められた。

抱合反応酵素の一つである UDP-グルクロン酸抱合活性は LPS 投与により有意に増加したが、汚染物質単独投与によっては有意な変化は認められなかった。また、汚染物質と LPS との同時投与では LPS による活性の有意な増加は認められなかったが、TCEP と LPS および PCB と LPS との同時投与の場合は増加傾向が認められた。

以上まとめると、(1) CCl<sub>4</sub> と LPS の同時投与により肝リソソームが著しく不安定となる、(2) 3種の汚染物質と LPS との同時投与によって共通して肝過

酸化脂質が増加する、(3) 肝薬物代謝酵素活性に対しては特に協同作用は見られないことを明らかにした。

#### 文 献

- 1) 本間 遜：内毒素, 149 (1983), 医歯薬出版
- 2) 川崎浩之進ら：第12回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム, 71 (1985)
- 3) A. M. Staub: *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 5, 92 (1985), Academic Press, New York
- 4) K. Kato *et al.*: *Chem. Pharm. Bull.*, 8, 239 (1960)
- 5) K. Yagi: *Biochem. Med.*, 15, 212 (1976)
- 6) H. Ohkawa *et al.*: *Anal. Biochem.*, 95, 351 (1979)
- 7) C. M. Williams, Jr., H. Kamin: *J. Biol. Chem.*, 237, 587 (1962)
- 8) J. P. Gorski, C. B. Kasper: *J. Biol. Chem.*, 252, 1336 (1977)

有機汚染物質と細菌内毒素 (LPS) のマウス肝に対する  
協同作用に関する研究

[2] 四塩化炭素と LPS の同時投与により生じる  
肝リソソームの不安定化について

長谷川隆一・櫛谷真美・小室徹雄・伊阪 博

Studies on the Co-operative Effects of Organic Pollutants and Bacterial  
Endotoxin (LPS) on Mouse Liver

[2] On the Hepatic Lysosomal Labilization Induced by Co-administration  
of Carbon Tetrachloride and LPS

Ryuichi HASEGAWA, Mami KUSHIYA, Tetsuo KOMURO and Hiroshi ISAKA

To elucidate the hepatic lysosomal labilization induced by co-administration of carbon tetrachloride ( $\text{CCl}_4$ ) and lipopolysaccharide (LPS) to mice, direct effects of  $\text{CCl}_4$  and/or two kinds of lipid peroxide-generating systems on the hepatic lysosome *in vitro* were examined.

$\beta$ -Glucuronidase was released during the incubation of the hepatic lysosome with  $\text{CCl}_4$ , dose-dependently. The addition of ascorbate-ADP- $\text{Fe}^{3+}$  or NADPH-microsome system to the above system also induced the release of  $\beta$ -glucuronidase accompanying the increment of thiobarbituric acid-reactive materials. However, the co-operative effects of  $\text{CCl}_4$  and the lipid peroxide-generating systems on the hepatic lysosomal labilization were not observed under these experimental conditions. On the other hand, co-administration of  $\text{CCl}_4$  and LPS produced a lower  $\text{CCl}_4$  liver-content value and a longer retention time in the liver as compared with the administration of  $\text{CCl}_4$  alone.

(Received May 30, 1987)

前報<sup>1)</sup>において四塩化炭素 ( $\text{CCl}_4$ ) と細菌内毒素、即ちグラム陰性菌由来のリポ多糖 (LPS) をマウスに同時投与すると肝  $\beta$ -グルクロニダーゼの上清画分の含量比が増加することから肝リソソームが不安定となることを推定した。本報ではこのリソソームの不安定化の機構について検討するため健常マウス肝よりリソソーム画分を調製し、リソソームの安定性に対する  $\text{CCl}_4$  および過酸化脂質産生系との協同作用について検討した。

### 実験材料と実験方法

$\beta$ -NADPH, ADP はオリエンタル酵母(株)より、アスコルビン酸ナトリウムは和光純薬(株)より購入した。他の試薬は前報<sup>1)</sup>と同様のものを用いた。

マウスは前報<sup>1)</sup>と同様に  $\text{CCl}_4$  (2.6  $\mu\text{l/g}$  体重) を経口投与し、同時に LPS (5  $\mu\text{g/g}$  体重) を腹腔内投与した。

肝リソソーム画分の調製は健常マウスを脊髄脱臼によって殺し、門脈に 3 ml の冷ショ糖緩衝液 (0.25 M ショ糖, 10 mM トリス-塩酸 pH 7.4) を注入して肝

灌流後肝を摘出し、4倍量のショ糖緩衝液でホモジネイトし、800~12,000 $\times$ g 画分 (予備試験によって最も多くのリソソームを含むことを確認) をとり、一度同緩衝液で洗浄したのち、最終的に約 4 mg たん白/ml となるように同緩衝液に懸濁することにより行った。リソソームの安定性試験は、37 $^{\circ}\text{C}$  で30分間振とうし、上清中に遊離した  $\beta$ -グルクロニダーゼ活性を測定、同時に反応液のチオバルビツール酸反応性物質 (TBA 値) を測定することにより行った。なお  $\text{CCl}_4$  はメタノール 30  $\mu\text{l}$  に溶解して添加した。

肝および血中の  $\text{CCl}_4$  濃度は薬物投与 2, 4, 7, 17, 24時間後に眼底動脈より採血し、さらに脊髄脱臼後肝を摘出して、Recknagel and Litteria の方法<sup>2)</sup> で測定した。

肝薬物代謝酵素活性の測定においては、薬物投与 24 時間後に脊髄脱臼して殺し、門脈に 3 ml の冷 1.15% 塩化カリウムを注入して灌流後肝を摘出し、4倍量の 1.15% 塩化カリウムでホモジネイト後 12,000 $\times$ g 上清およびミクロソーム画分を調製した。チトクローム P-450 含量<sup>3)</sup>, NADPH-チトクローム C 還元酵素活

性<sup>4)</sup>、アニン水酸化活性<sup>1)</sup>、アミノピリン-N-脱メチル化活性<sup>5)</sup> およびグルタチオンペーオキシダーゼ活性<sup>6)</sup> を測定した。

たん白量は Lowry らの方法<sup>7)</sup> で測定した。有意差検定は Student's t-テストによって行った。

## 実験結果および考察

### 1. 肝リソソームに対する CCl<sub>4</sub> と過酸化脂質産生系の影響

健常マウス肝よりリソソーム画分を調製し、CCl<sub>4</sub> の

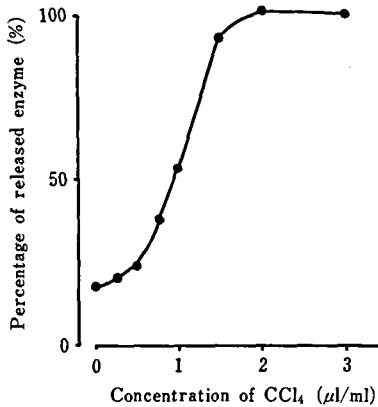


Fig. 1. The effect of carbon tetrachloride on the hepatic lysosome *in vitro*. 1 ml of lysosome-rich fraction (containing 4 mg protein) prepared from normal mouse liver was incubated with CCl<sub>4</sub> (0.25~3.0 μl) at 37°C for 30 min under constant shaking. At the end of the incubation, 50 μl of the suspension was removed to measure the TBA-reactive materials, then, the suspension was centrifuged at 12,000 × g for 20 min and the β-glucuronidase activity in the supernatant was assayed.

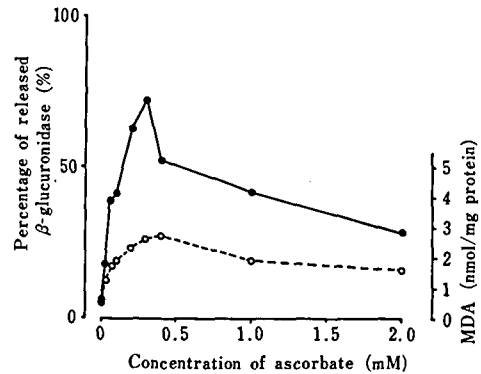


Fig. 2. The hepatic lysosomal stability in the presence of ascorbate-ADP-Fe<sup>3+</sup> and the lipid peroxidation. Experimental conditions were the same as Fig. 1, except the addition of sodium ascorbate (0.03~2.0 mM), ADP (1 mM) and FeCl<sub>3</sub> (0.1 mM) instead of CCl<sub>4</sub>. The β-glucuronidase activity and the TBA reactive materials were measured as the same of Fig. 1. Closed circles indicate the percentage of released β-glucuronidase from the lysosome and open circles indicate TBA reactive materials in the incubation mixture.

Table 1. Effect of carbon tetrachloride and ascorbate-ADP-Fe<sup>3+</sup> system on lysosomal stability and lipid peroxidation

Ascorbate	CCl <sub>4</sub>	Released β-glucuronidase (percentage)	Malondialdehyde (nmol/mg protein)
0	0	6.45	7.29
0	0.5 μl/ml	14.9	7.50
0	1.0 μl/ml	40.1	8.54
0.04 mM	0	21.6	15.7
0.04 mM	0.5 μl/ml	31.6	16.2
0.04 mM	1.0 μl/ml	48.9	16.1
0.08 mM	0	36.4	23.1
0.08 mM	0.5 μl/ml	37.9	21.4
0.08 mM	1.0 μl/ml	49.6	22.1

Experimental conditions were the same as Fig. 1 except the simultaneous addition of ascorbate-ADP-Fe<sup>3+</sup> system.

添加および LPS の添加によるリソソームの安定性を検討した。CCl<sub>4</sub> をメタノールに溶解して直接添加すると、0.25 μl/ml の濃度以上で β-グルクロニダーゼが遊離することが認められ、2 μl/ml でリソソームは完全に崩壊したが、TBA 値の増加は全く認められなかった (Fig. 1)。したがって、*in vivo* でも肝に存在する CCl<sub>4</sub> がリソソームに直接作用をおよぼす可能性が示された。

LPS はリソソームに対して直接作用を示さなかったため、過酸化脂質産生を介してリソソームに作用す

ると推定される。そこで、過酸化脂質産生とリソソームの安定性の関連を検討するため、肝リソソーム画分にアスコルビン酸-ADP-Fe<sup>3+</sup> を添加してインキュベイトしたところ、TBA 値の増加と平行して β-グルクロニダーゼの遊離が認められた (Fig. 2)。しかし、CCl<sub>4</sub> とアスコルビン酸-ADP-Fe<sup>3+</sup> との同時添加では特にそれらによる協同作用は認められなかった (Table 1)。さらに CCl<sub>4</sub> は P-450 によって CCl<sub>3</sub> ラジカルを生じることが良く知られているので<sup>8)</sup>、リソソーム画分に CCl<sub>4</sub> と NADPH-ミクロソームを添加してそ

Table 2. Effect of carbon tetrachloride and NADPH-ADP-Fe<sup>3+</sup> in presence of microsome on lysosomal stability and lipid peroxidation

Effectors				Released β-glucuronidase (percentage)	Malondialdehyde (nmol/mg protein)
NADPH(mM)	ADP(mM)	Fe <sup>3+</sup> (mM)	CCl <sub>4</sub> (μl/ml)		
0	0	0	0	7.5	2.04
0	0	0	0.1	7.6	1.91
0	0	0	0.5	11.7	2.13
0	0	0	1.0	17.9	2.08
0.4	0	0	0	7.1	1.96
0.4	0	0	0.1	6.7	2.07
0.4	0	0	0.5	11.3	2.01
0.4	0	0	1.0	18.1	2.26
0.4	1	0.1	0	54.6	23.9
0.4	1	0.1	0.1	56.5	24.1
0.4	1	0.1	0.5	63.0	23.6

Experimental conditions were the same of Fig.1 except the addition of the hepatic microsome(0.1 mg protein/ml) in all incubation tubes.

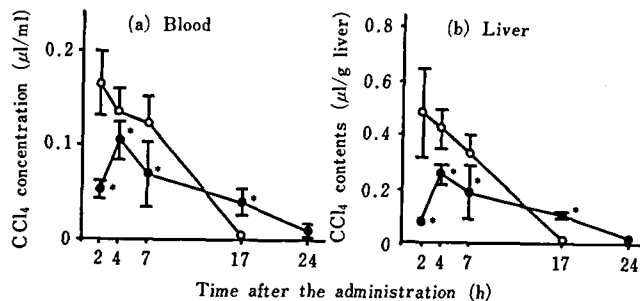


Fig. 3. The effect of lipopolysaccharide administration on carbon tetrachloride contents in blood and liver. Mice were received saline i.p. and CCl<sub>4</sub> (2.6 μl/g B.W.) p.o.; —○—, or LPS (5 μg/g B.W.) i.p. and CCl<sub>4</sub> (2.6 μl/g B.W.) p.o.; —●— simultaneously. The contents of CCl<sub>4</sub> were corrected by efficiency of the extraction. Each value represents mean ± S.D. from 5 mice. \* Significant from CCl<sub>4</sub>-administered mice (p<0.05).

Table 3. Cytochrome P-450 content and activities of drug metabolizing enzymes in liver at 24 hr after administration of carbon tetrachloride and/or lipopolysaccharide

	Experimental groups			
	Control	LPS	CCl <sub>4</sub>	CCl <sub>4</sub> +LPS
P-450 (nmol/mg protein)	0.734 ± 0.022	0.300 ± 0.122	0.093 ± 0.044	0.047 ± 0.007
NADPH Cyt C reductase (nmol/min/mg protein)	12.02 ± 1.65	5.30 ± 0.47	5.44 ± 1.30	4.66 ± 0.48
Aniline hydroxylase (nmol/hr/mg protein)	9.11 ± 0.87	6.73 ± 0.91	0.39 ± 0.05	0.24 ± 0.07
Aminopyrine demethylase (nmol/hr/mg protein)	4.90 ± 0.87	1.94 ± 0.95	trace	trace
Glutathione peroxidase (nmol/min/mg protein)	880 ± 63	886 ± 50	923 ± 32	740 ± 20

Each value represents mean ± S.D. from 5 mice.

の効果を検討したが、β-グルクロニダーゼ遊離および TBA 値の増加に対する協同作用は認められず、本実験条件下では CCl<sub>4</sub> からのラジカルは生じないものと推定された (Table 2)。

## 2. 肝および血中の CCl<sub>4</sub> 含量 (Fig. 3)

*in vivo* においても CCl<sub>4</sub> の肝リソソームに対する直接効果が推察されたので、CCl<sub>4</sub> の肝および血中での変動と LPS を同時投与した場合の効果を検討した。CCl<sub>4</sub> 単独投与では肝 CCl<sub>4</sub> 濃度は 2 時間値が 0.49 μl/g で、その後減少し 17 時間後にはほとんど消失した。一方、LPS との同時投与では、2 時間値は 0.06 μl/g と有意に低く、4 時間値が 0.25 μl/g と最大値となり、17 時間後も 0.1 μl/g を検出した。血中の CCl<sub>4</sub> 濃度は肝とはほぼ同様のパターンを示した。したがって、CCl<sub>4</sub> は LPS との同時投与により吸収が遅延して肝臓中の濃度は低くなるが、長時間にわたって肝に存在するものと考えられる。また、肝細胞内の CCl<sub>4</sub> 濃度も直接作用をする濃度に達していると推定された。しかし、投与 2~7 時間後の肝臓中 CCl<sub>4</sub> 濃度はむしろ LPS との同時投与によって低値を示すことから、肝過酸化脂質の増加の方がより肝リソソーム膜不安定化に関与している可能性が考えられる。本実験条件下では *in vitro* において CCl<sub>4</sub> と過酸化脂質産生系との相互作用は観察されなかったが、*in vivo* では CCl<sub>4</sub> から産生されるラジカルが LPS による過酸化脂質産生を強く促進している可能性が考えられるため、さらに詳

細な検討が必要である。

## 3. 肝薬物代謝酵素活性

CCl<sub>4</sub> の肝濃度および滞留時間が LPS 同時投与によって変化することが認められたので、薬物投与 24 時間後における各種肝薬物代謝系酵素活性について検討した。Table 3 に示すように、P-450、アニリン水酸化反応、アミノピリン脱メチル化反応は CCl<sub>4</sub> により強力に抑制されたが、LPS との同時投与によって、さらに相加的な抑制が認められた。一方、チトクローム C 還元酵素活性に対しては相加的な抑制は認められず、またグルタチオンペーオキシダーゼ活性に対しては CCl<sub>4</sub> によってのみ抑制され、LPS の同時投与による効果は認められなかった。

## 文 献

- 1) 長谷川隆一ら：衛生試報, 105, 74 (1987)
- 2) R. O. Recknagel, M. Litteria: *Am. J. Pathol.*, 36, 521 (1960)
- 3) T. Omura, R. Sato: *J. Biol. Chem.*, 239, 2370 (1964)
- 4) C. H. Williams, Jr., H. Kamin: *J. Biol. Chem.*, 237, 587 (1962)
- 5) 北川晴雄ら：薬誌, 88, 954 (1968)
- 6) J. Blum, I. Fridovich: *Acta Biophys. Biochem.*, 240, 500 (1985)
- 7) O. H. Lowry et al.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
- 8) T. F. Slater: *Biochem. J.*, 222, 1 (1984)

国立衛生試験所葉酸標準品 (Control 861)

太田美矢子・福岡正道・田中 彰

Folic Acid Reference Standard (Control 861) of National Institute of Hygienic Sciences

Miyako OHTA, Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA

Folic Acid Reference Standard (control 861) for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained: water content, 7.8%; free amines, 0.11%; free pteridines, 0.03%; infrared spectrum, same as that of the Japanese Pharmacopoeia Standard (control 741); nitrogen, 22.23%; thin-layer chromatography, one contaminant; assay, 99.7% by JP XI method, and 100.2% by UV method (256 nm). On the basis of those results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (control 861).

(Received May 30, 1987)

第11改正日本薬局方 (JP XI) 葉酸, 同錠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) “葉酸標準品” (Control 861) を製造したので報告する。

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

参照物質としては, 日本薬局方標準品 (Control 741, JPRS), BP 標準品 (Batch No. 632A, BP), 国際化学参照物質 (Control No. 167019, WHO), USP 標準品 (Control F, USP) を用い, 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ドシリカゲル 60 F 254 (厚さ 0.5 mm, 20×20 cm) を用いた。

3. 装置

日立 557 型二波長分光光度計, 堀場 SEPA-200 型高速旋光光度計, 日立 270-30 型赤外分光光度計, 柳本 MT-3 型 C・H・N コーダー, 平沼 AQ-1 型デジタル微量水分測定装置, 日立 MPF-2A 型分光けい光光度計を用いた。

4. 試験方法

特に記するものほかは, JP XI の一般試験法および医薬品各条の葉酸の試験法を準用した。ただし遊離プテリジン, 硫酸呈色物および薄層クロマトグラフ法については太田らの方法を準用した<sup>1,2)</sup>。

吸光度法: JPRS-M および JPRS を乾燥後約 50 mg を精密に量り, 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液加えて溶かし正確に 100 ml とする。この液 3 ml ずつを正確に量り, 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液で 100 ml

とし, 256 nm における吸光度を測定し定量した。また 256 nm および 365 nm における吸光比も測定した。

5. 試験成績

- 1) 性状: 黄色の結晶性粉末で, においはない。
- 2) 溶状: JPRS-M 0.2 g を希水酸化ナトリウム試液 10 ml に溶かすとき, 黄色澄明であった。
- 3) 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, 両者の吸収は同一波数のところで認められ, それらの吸収強度は等しかった。
- 4) 紫外吸収スペクトル: JPRS-M の紫外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す, 極大波長は 256 nm, 284 nm および 365 nm であり, 256 nm および 365 nm の吸光度をおのおの  $A_1$  および  $A_2$  とするとき,  $A_1/A_2$  は 2.85 ( $n=4$ ) であった。
- 5) 水分: 7.80% ( $n=4$ , 変動係数 1.25%), なお JPRS は 7.80% ( $n=2$ ), WHO は 8.20% ( $n=2$ ), BP は 8.22% ( $n=2$ ), USP は 8.65% ( $n=2$ ) であった。
- 6) 元素分析: 水素は 4.18% (理論値: 4.34%), 炭素は 51.41% (理論値 51.70%) および窒素は 22.23% (理論値 22.22%) であった。
- 7) 硫酸呈色物: 確認されなかった。
- 8) 遊離アミン: 0.11% ( $n=4$ ), なお JPRS は 0.14% ( $n=2$ ), BP は 0.14% ( $n=2$ ), WHO は 0.38% ( $n=2$ ) および USP は 1.12% ( $n=2$ ) であった。



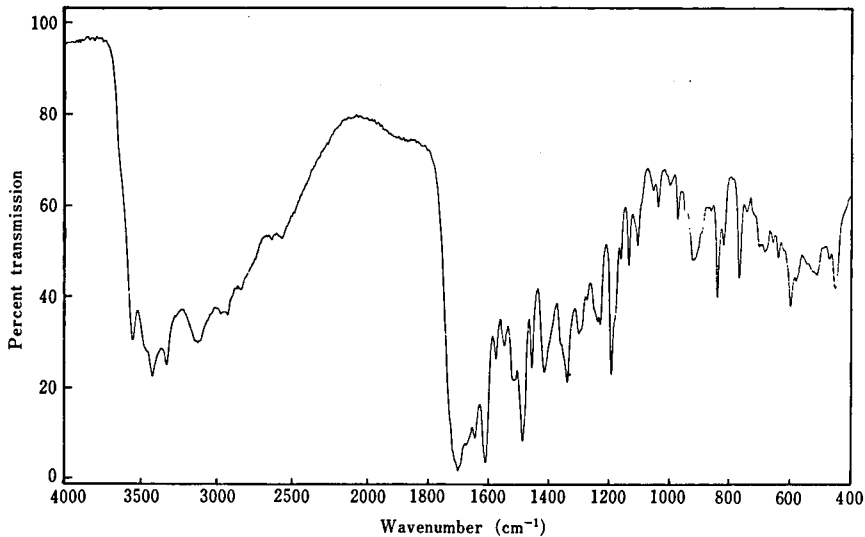


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Folic Acid Reference Standard (Control 861)

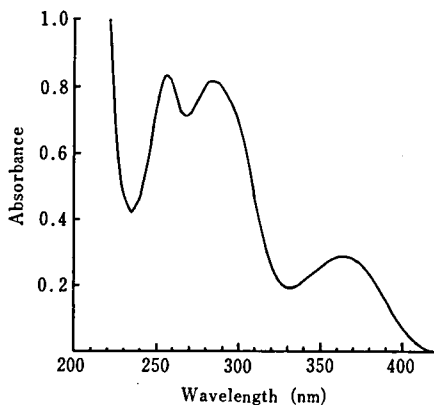


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Folic Acid Reference Standard (Control 861)

9) 遊離ブリテンジンは0.03% (n=4), なお JPRS は0.07% (n=2), BP は0.07% (n=2), WHO は0.51% (n=2) および USP は1.55% (n=2) であった。

10) 薄層クロマトグラフ法: JPRS-M, JPRS, BP, WHO および USP を200 µg ずつ塗布したときのクロマトグラムを Fig. 3 に示す。不純物の数は JPRS-M は1個のみであったが, JPRS, BP, WHO, および USP はそれぞれ2個, 3個, 5個および8個も認め, 今回の JPRS-M が非常に純度の高いものであることがわかった。

11) 定量: JPRS-M は JP XI 法 (津田試薬で発色させ 500 nm の吸光度を測定する) および吸光度法に

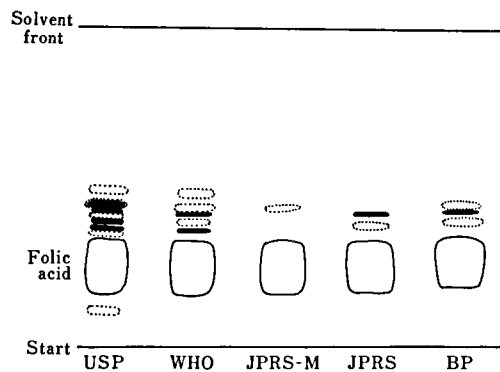


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of various reference standards for folic acid

Conditions: TLC plate: silicagel 60 F<sub>254</sub> (Merck, pre-coated, thickness 0.5 mm); solvent system: *n*-propanol-10% ammonia (70:30); detection: UV light (Darkened spots are black at 254 nm, and light spots shown with dotted lines are fluorescent at 366 nm). Two hundred µg of all reference standards was applied.

より JPRS と比較するとき, それぞれ99.7% (n=4, 変動係数 0.49%) および 100.2% (n=4, 変動係数 0.25%) であった。

## 結 論

標準品原料として入手した葉酸を日本薬局方標準品 (Control 741), BP 標準品, 国際化学参照物質および USP 標準品と比較検討した。その結果, 薄層クロマトグラフ法では原料中に不純物は1個のみ認められたが,

他の標準品よりも不純物の数が少なく、遊離アミンおよびブテリジン定量値はいずれも最小であった。その定量値は標準品と良く一致し、その他の測定結果も良好であった。これらの結果より、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、Control 861 として配布を開始した。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。

## 文 献

- 1) 太田美矢子, 川村次良: 衛生試験, 90, 93 (1968)
- 2) 太田美矢子, 木村次良: 衛生試験, 100, 177 (1982)

## 国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 861)

太田美矢子・木村俊夫・田中 彰

### Cyanocobalamin Reference Standard (Control 861) of National Institute of Hygienic Sciences

Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Akira TANAKA

Cyanocobalamin Reference Standard (control 861) for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained: loss on drying, 10.1%; infrared spectrum, same as that of the Japanese Pharmacopoeia Standard (control 841), thin-layer chromatography, one contaminant; high-performance liquid chromatographic (HPLC) method, eleven contaminants; assay, 99.8% by JP XI method and 100.1% by HPLC method. On the basis of those results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (control 861).

(Received May 30, 1987)

第11改正日本薬局方 (JP XI) 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 861) を製造したので報告する<sup>1)</sup>。

#### 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

日本薬局標準品 (Control 841, JPRS), 試薬は試薬特級品を用いた。

#### 3. 装置

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, JP XI の一般試験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: メルクブレコーテッドシリカゲル 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: 乾燥物に換算したとき 5 mg に相当する量の未乾燥 JPRS-M および JPRS を 1 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: カラムはマイクロボンダパック C<sub>18</sub> (ウォーターズ社, 粒径 5 μm, 150 mm×4.6 mm i.d.), カラム温度は 40°C, 流量は 1 ml/min, 検出は定量のときは 278 nm, 純度試験のときは 361 nm で感度は 0.16 O.D. とした。移動相 A はアセトニトリルと 0.1M リン酸緩衝液 (pH 3.0) (12:88)。移動相 B は 0 から 8 分まではアセトニトリル 11%, 10 分から 35 分までは 11% から 60% まで直線的に増加させ, その後 60% に維持した<sup>2)</sup>。

HPLC による定量法: JPRS および JPRS-M 13 mg を内部標準溶液に溶かして 50 ml とし, この液 20 μl を注入した。ただし, 内部標準溶液はパラヒドロキシ安息香酸 90 mg を水に溶かし, 2000 ml とした。

#### 5. 試験成績

- 1) 性状: 暗赤色結晶性の粉末で, においはない。
- 2) 赤外吸収スペクトル: 臭化カリウム錠剤法で測

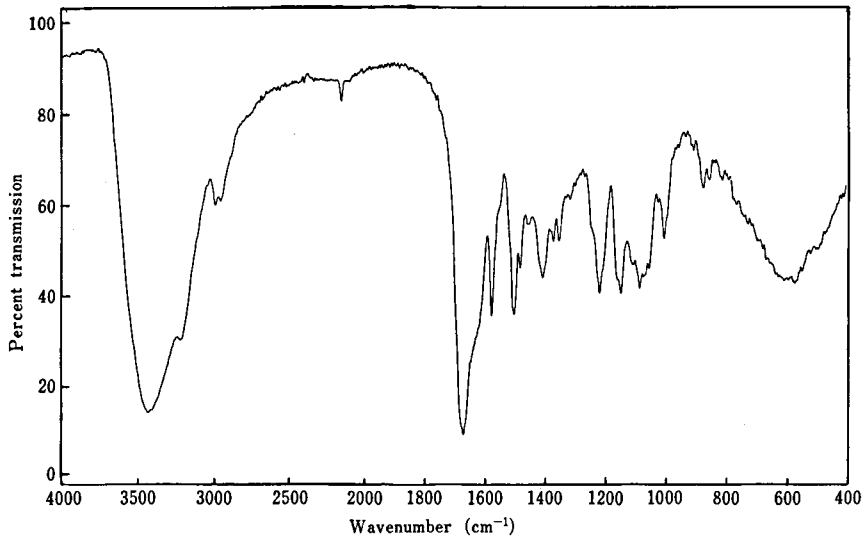


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Cyanocobalamin Reference Standard (Control 861)

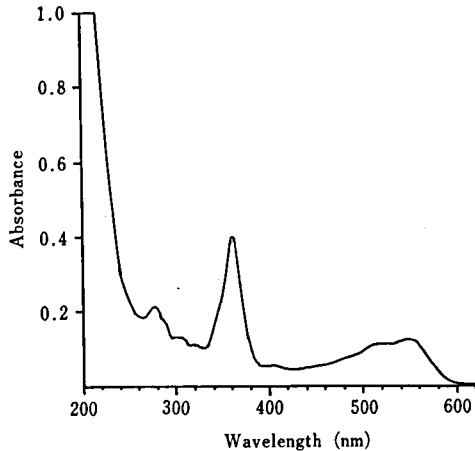


Fig. 2. Ultraviolet and visible spectrum of the material for Cyanocobalamin Reference Standard (Control 861)

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。

3) 紫外および可視吸収スペクトル：JPRS-M 20.11 mg (乾燥物換算量 18.11 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 0.31 ( $n=4$ ) であった。

4) 乾燥減量：10.1% (0.05 g, 減圧, 5 mmHg 以下, 五酸化リン, 100°C, 4時間)

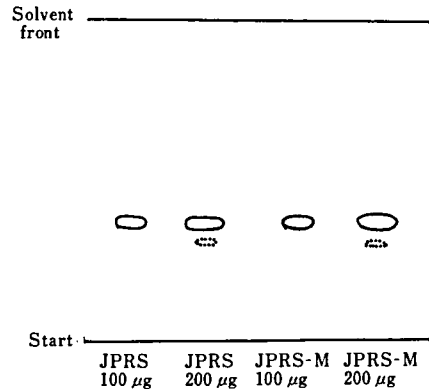


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of reference standards for cyanocobalamin

Conditions: TLC plate: silicagel 60 (Merck, pre-coated, thickness 0.25 mm); solvent system: *n*-propanol-water-10% ammonia (7:2:1). JPRS: Japanese pharmacopoeia reference standard (control 841) JPRS-M: Material for cyanocobalamin reference standard.

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知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 2 mg 相当に水 0.5 ml を加えて溶かし、その 25 µl (100 µg) 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

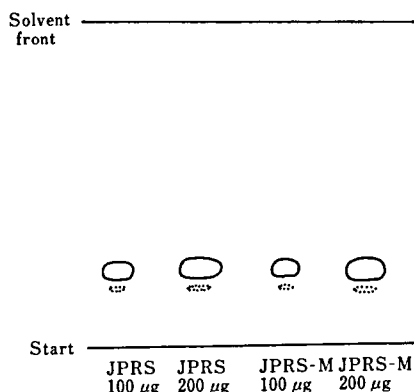


Fig. 4. Thin-layer chromatogram of reference standards for cyanocobalamin

solvent system: 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 in Fig. 3.

び b) に示す。不純物ピークは JPRS-M で11個, JPRS で14個認められた。全ピーク面積の総和を100%としたとき, JPRS-M および JPRS のシアノコバラミン含量はそれぞれ98.2% および98.4%であった<sup>3)</sup>。

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% ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  206.5,  $n=4$ , 変動係数 0.65%) および 100.1% ( $n=4$ , 変動係数 0.63%) であった。HPLC 法による純度試験および定量は著者らの報告に詳述した<sup>3)</sup>。

## 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 841) と比較検討した。その結果 JP XI で採用している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。しかし, HPLC による純度試験では JPRS および JPRS-M はそれぞれ14個および11個の不純物ピーク持ち, 面積百分率法では98.4% および98.2% で少し低かったが, 定量では

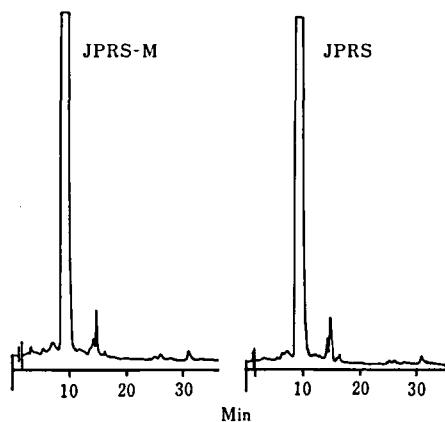


Fig. 5. Chromatograms of reference standards for cyanocobalamin

Conditions: column,  $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub> (5  $\mu$ g, 150  $\times$  4.6 mm I.D.); column Temp., 40°C; flow rate, 1 ml/min; detection, 361 nm; mobile phase, A mixture of acetonitrile and 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) was used. An acetonitrile concentration in the mobile phase was 11% for the first eight minutes, and then linearly changed from 11% to 60% for twenty-seven minutes, and 60% acetonitrile level was maintained.

JPRS と比較するので 100.1% であった。これらの試験結果により今回入手した標準品原料は, 機器分析に対しては少し問題はあるが, JP XI の試験結果は良好であることから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 861 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)
- 2) 太田美矢子, 木村俊夫, 山羽 力: 衛生試報, **103**, 121 (1985)
- 3) 太田美矢子, 木村俊夫, 田中 彰: 衛生試報, **105**, 65 (1987)

日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモン標準品  
（第10回，Control 861）について

福田秀男・押沢 正・横田椅江・木村俊夫・田中 彰

On the Japanese Pharmacopoeia Standard Human Chorionic  
Gonadotrophin (10th, Control 861)

Hideo FUKUDA, Tadashi OSHIZAWA, Isue YOKOTA,  
Toshio KIMURA and Akira TANAKA

The Japanese Pharmacopoeia Standard Human Chorionic Gonadotrophin (10th, Control 861) was prepared and assayed against the 2nd International Standard by the rat ovarian weight method. The potency of the new standard was defined as 1050 international units per ampoule as the result of 22 assays in four collaborative laboratories.

(Received May 30, 1987)

胎盤性性腺刺激ホルモン(HCG)の生物検定用標準品は、昭和50年5月に第9回目の更新が行われ、力価11.0単位/mg(Control 741)として配布されてきた<sup>1)</sup>が、今回これを更新するため、新たに第10回標準品(Control 861)を三共ゾーキ株式会社、帝国臓器製薬株式会社および持田製薬株式会社の協力を得て製造した。

第9回までの標準品はmg当たりの単位数で表示し、アンプルの内容物を秤量して使用するものであったが、今回はアンプルの内容物全量を一度に溶解して用いる形態とし、1管中の総単位数(単位/アンプル)で表示した。

新標準品は、上記3社および国立衛生試験所生物化学部の4機関で得られた検定結果に基づいて、その力価を1050単位/アンプルと定め、昭和62年3月より配布を開始している。なお、本品の希釈剤は従来のもと同様にHCGの安定性が確認されている乳糖を使用している。

### 試験方法および結果

#### 1. 標準品原料

三共ゾーキ株式会社より入手した比活性約3,500単位/mg(Lot No. 610925)を用いた。

#### 2. 標準品のアンプル充填

持田製薬株式会社に依頼した。その方法の概略はつぎのとおりである。

標準品原料425mgに乳糖約13.5gを加え、これに注射用蒸留水を加えて溶かし全量を2030mlとし

た。この液を無菌ろ過したのち、充填機(TPFS 10)を用いて5ml用のアンプルに1本当たり1.5mlずつ充填し、内容を凍結乾燥したのちにアンプルを融封した。なお、充填液量の分注精度は、溶液を充填したアンプル16本について重量法により調べたところ、平均重量1503.4mg、標準偏差3.24mgで、変動係数は0.216%であった。

#### 3. 力価の検定

調製された標準品のアンプル当りに含まれるHCGの単位数を測定するため、昭和61年11月から昭和62年1月にかけて前記3社および当衛生試験所において計22回の検定を行った。方法は第11改正日本薬局方胎盤性性腺刺激ホルモンの定量法を準用した幼若雌ラットの卵巣重量増加法による。ただし、標準溶液および試料溶液の調製には、HCGのガラス壁その他への吸着を防止する目的で、ウシ血清アルブミンを0.1%含む生理食塩液を用いた。また、検定結果の集計を容易にするため1群の試験動物匹数を10匹と定めた。ラットはウィスター系とSD系が用いられ、対照とした標準品は第2回国際標準品(5300単位/アンプル)<sup>2)</sup>を用い、標準品高用量群のラット当りの総投与単位数は、ウィスター系を用いた機関では25単位、SD系を用いた機関では20単位あるいは50単位で、低用量群との用量比はいずれも2であった。

#### 4. 検定結果の集計

4機関で得られた計22回の試験結果については分散の均一性が5%の危険率で否定されなかった。これらの結果の加重平均力価をUSPの方法<sup>3,4)</sup>にしたがっ

Table 1. Results of Collaborative Assay for HCG Standard Preparation (Control 861)

Lab. code	f	n	n'	Potency (u/amp)	Log unit (M)	L	$w$ ( $4t^2/L^2$ )
C	10	36	32	867	2.9380	0.1924	445.19
C	10	36	32	917	2.9624	0.1346	909.63
D	10	36	32	921	2.9643	0.4321	88.27
C	10	36	32	937	2.9717	0.1890	461.35
A	10	36	32	953	2.9791	0.2779	213.39
C	10	36	32	993	2.9969	0.1259	1039.69
A	10	36	32	1005	3.0022	0.2520	259.51
D	10	36	32	1016	3.0069	0.2959	188.22
B	10	36	32	1018	3.0077	0.1239	1073.53
B	10	36	32	1023	3.0099	0.1780	520.14
D	10	36	32	1036	3.0154	0.3799	114.19
D	10	36	32	1036	3.0154	0.3148	166.30
C	10	36	32	1046	3.0195	0.1553	683.30
D	10	36	32	1073	3.0306	0.2282	316.47
D	10	36	32	1091	3.0378	0.2423	280.71
A	10	36	32	1098	3.0406	0.3190	161.95
B	10	36	32	1099	3.0410	0.1059	1469.49
B	10	36	32	1139	3.0565	0.1459	774.19
B	10	36	32	1147	3.0596	0.1746	540.59
A	10	36	32	1218	3.0856	0.3258	155.26
C	10	36	32	1251	3.0973	0.1923	445.65
C	10	36	32	1306	3.1159	0.1605	639.75

Approximate  $\chi^2m$ :  $20.50 < 32.7$  ( $p=0.05$ , d.f.=21)

Weighted mean of M: 3.0220

Combined potency: 1052.0 units/ampoule

Lc: 0.0397

Table 2. Weighted means obtained by different four laboratories of the potency of HCG Standard Preparation (Control 861)

Lab. code	Number of experiment	Weighted means of the potency (units/amp.)	Lc
A	4	1047.7	0.2304
B	5	1081.9	0.0676
C	7	1026.7	0.0656
D	6	1046.5	0.1713

て算出したところ、Table 1 に示したように総平均力価として 1052.0 単位/アンプル となり、その 95% 信頼限界は 95.5~104.8% (1005~1101 単位/アンプル、Lc=0.0397) であった。この結果に基づいて、日本薬局方標準品胎盤性性腺刺激ホルモン標準品 (第10回) の力価を 1050 単位/アンプル と決定した。なお、各機関で得られた検定結果の加重平均力価を参考までに Table 2 に示した。また、これらの試験に用いられた

Table 3. Comparison of the coefficient of variation in ovarian weight observed in different rat strains

Rat strain	SD			
	Wistar	B	C	D
Lab. code				
c.v.(%)	10.41	12.70	14.32	14.32
	10.52	13.45	16.47	16.47
	7.89	14.77	17.24	17.24
	12.23	15.14	14.72	14.72
	9.59	11.02	12.26	12.26
		11.08	12.17	12.17
		13.17		
Mean	10.13	13.16*	14.53*	14.53*

\* significantly different ( $p < 0.001$ ) from the mean obtained by Lab. B

ウィスター系と SD 系との間に卵巣重量のパラッキに偏りがあるか否かを調べるために、この試験に慣れて

いる3社の実験データから各試験ごとの標準品の高用量および低用量を投与して得た卵巣重量の群内変動から変動係数を算出し (Table 3), これらの値が正規分布すると仮定して各機関ごとに平均値を求め, その間の有意差の有無を検定した. その結果, ウィスター系とSD系の間で有意に差のあることが認められた. なお, SD系間では有意差は認められなかった. したがって, HCG投与により得られる卵巣の重量におけるバラツキはSD系に比べてウィスター系の方が小さい可能性が示唆されたが, これについては各動物のより詳細な系統や購入先の飼育条件など多くの影響因子が考えられるので, このことの実在性を示すにはさらに多くのデータの積上げが必要となろう.

終りに, 本標準品の製造のために御協力戴いた三共ゾーキ株式会社, 帝国臓器製薬株式会社および持田製薬株式会社 (五十音順) に対し深く感謝いたします. また, 国際標準品を分与されたWHOに感謝いたします.

## 文 献

- 1) 川村次良ら: 衛生試験, **94**, 88 (1976)
- 2) D. R. Bangham and B. Grab: *Bull. Wld. Hlth. Org.*, **31**, 111 (1964)
- 3) USP XXI, p. 1169, "Design and analysis of biological assays"
- 4) C. I. Bliss: *Drug Standard*, **24**, 33 (1956)

## 日局“インスリン標準品(854)”について

押沢 正・内田恵理子・横田椅江・福田秀男  
佐藤 浩・太田美矢子・木村俊夫・田中 彰

### On the Japanese Pharmacopoeia Standard "Insulin Standard (854)"

Tadashi OSHIZAWA, Eriko UCHIDA, Isue YOKOTA, Hideo FUKUDA,  
Hiroshi SATOH, Miyako OHTA, Toshio KIMURA and Akira TANAKA

The Japanese Pharmacopoeia Standard, "Insulin Standard (854)", was established. The biological potency was determined by the bioassay according to J.P.XI, compared with the Fifth International Standard for Insulin Porcine.

Data of the standard is as follows:

Biological potency: 26.0 units per mg  
Nitrogen: 14.96%  
Zinc: 0.31%  
Loss on drying: 8.40%

(Received May 30, 1987)

インスリン製剤の定量法 (Bioassay) に用いられる日局インスリン標準品を製造したので, その試験結果を報告する.

#### 1. 原 料

ブタインスリンをノボ薬品株式会社より購入した.

#### 2. 試 薬

インスリン (ブタ) の国際標準品 (WHO, 第5次).

#### 3. 試験方法

生物活性, 窒素量, 亜鉛含量, 乾燥減量については, 第11改正日本薬局方の方法によった. HPLCによる純度試験および定量は太田らの方法<sup>1)</sup>を準用した. ディスク電気泳動はインスリン製剤の国家検定基準に準

じて行った.

#### 4. 試験成績

1) 力価: 1 mg 当たり 26.0 単位 (Table 1)

2) 窒素量: 14.96%

3) 亜鉛含量: 0.31%

4) 乾燥減量: 8.40%

5) HPLCによる純度試験: 国際標準品と日局標準品原料の純度試験条件でのクロマトグラムを Fig. 1, Fig. 2 に示す. 両者は, ほぼ同じクロマトグラムを示し, 不純物ピークも同位置に3個認められた. 全ピークの面積の総和を100%とすると各ピーク的面積百分率は, 国際標準品ではインスリン98.8%, ピーク1が0.7%,

Table 1. Data from Bioassay of the Insulin Standard (854)

Exp. No.	Potency (u/mg)	Weight
1	26.04	1077
2	26.08	5532
3	26.07	4068

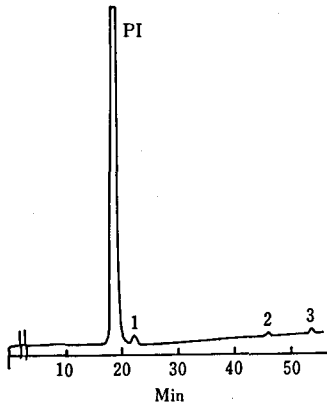


Fig. 1. Chromatogram of International Standard for Highly Purified Porcine Insulin

Conditions: column, LiChrosorb RP-18 (5  $\mu$ m, 250  $\times$  4.6 mm ID), column temp., 40°C; flow rate, 1 ml/min; UV monitor at 210 nm; Mobile phase was a mixture of acetonitrile and 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0). Acetonitrile concentration in the mobile phase was 27% for the first twenty minutes, and then linearly changed from 27% to 30% for thirty minutes, and 30% acetonitrile level was maintained.

PI, porcine insulin; 1, porcine monodesamido-insulin.

ピーク2が0.2%およびピーク3が0.3%となり、一方、日局標準品原料はそれぞれ99.1%, 0.5%, 0.2%および0.2%であった。なおピーク1はデスアミドインスリンであった。

6) HPLCによる定量: Fig. 3に定量条件でのクロマトグラムを示す。国際標準品を100%としたときの、日局標準品原料の定量値は100.4%であった。

#### 7) ディスク電気泳動

一管当たり0.5  $\mu$ gから300  $\mu$ gをアプライした(Fig. 4)。インスリン以外のバンドは認められなかった。

以上の試験成績から、この原料が日本薬局方標準品として適すると判定し、日局インスリン標準品(854)とした。

終わりに、標準品の製造にあたり協力いただいたノボ薬品株式会社に感謝いたします。

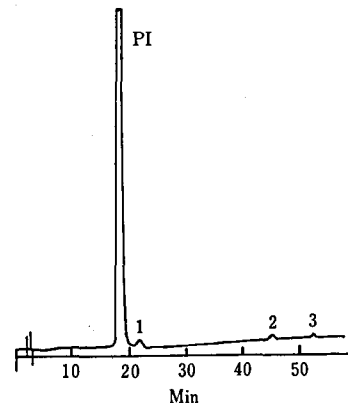
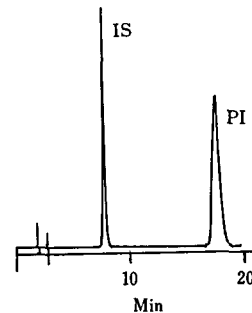


Fig. 2. Chromatogram of the material for Insulin Reference Standard (Control 854)

Analytical conditions and compounds are the same as in Fig. 1.

Fig. 3. Chromatogram of methyl *p*-hydroxy benzoate (IS) and porcine insulin (PI)

Analytical conditions are the same as in Fig. 1. Acetonitrile concentration in mobile phase was 27%.

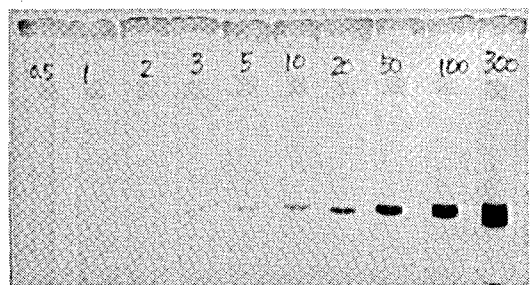


Fig. 4. Disc electrophoresis of the material for Insulin Reference Standard

0.5–300  $\mu$ g samples were layered on the top of the spacer gels.

## 文 献

- 1) 太田美矢子, 木村俊夫, 山羽 力: 衛生試験, 103, 6 (1985)



## 国立衛生試験所ジギトキシン標準品 (Control 831)

徳永裕司・木村俊夫・福岡正道・田中 彰

## Digitoxin Reference Standard (Control 831)

Hiroshi TOKUNAGA, Toshio KIMURA, Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA

Digitoxin was tested for the preparation of a "Digitoxin Reference Standard." Analytical data were as follows: loss on drying, 0.51%; optical rotation,  $[\alpha]_D^{20} = +17.1^\circ$ ; melting point, 221.1° (decomposition); infrared spectrum, same as Digitoxin International Chemical Reference Standard; thin-layer chromatography, contaminants were not detected; impurity test by high-performance liquid chromatography, 0.39%; assay, 105.2%.

This material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard.

(Received May 30, 1987)

第十一改正日本薬局方 (JP XI) ジギトキシンの純度試験, 定量法, 同錠の溶出試験, 含量均一性試験, および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) "ジギトキシン標準品 (Control 831)" を製造したので報告する。

### 1. 原料

サンド薬品株式会社より購入した。

### 2. 参照物質および試薬

国際化学参照物質 (Control 277010), 日本薬局方標準品 (Control 745), 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板ジリカゲル 60 (20×20 cm, 厚さ 0.25 mm), 液体クロマトグラフ法には, 充てん剤として, Unisil C<sub>18</sub> (5 μm) を用いた。

### 3. 装置

日立 270-30 型赤外分光光度計, 日立 655 型液体クロマトグラフ装置, 日立 638-41 型波長可変 UV モニター, 日立 655A-40 型オートサンプラー, 島津 C-R1B 型クロマトバック, Büchi 製 510 型融点測定装置を用いた。

### 4. 試験方法

特に記するものほかは, JP XI の一般試験法および医薬品各条 "ジギトキシン" の試験法を準用した。

i) 薄層クロマトグラフ法: 原料, 国立衛生試験所標準品 (JP), および国際化学参照物質 (ICRS) を乾燥し, その約 5 mg を精密に量り, メタノール 1.0 ml に溶解する。各溶液 20 μl ずつを薄層板に 1 cm の幅にスポットした後, 風乾する。ジクロロメタン・メタノール・水混液 (84:15:1) を展開溶媒として, 約 10 cm 展開した後, 薄層板を風乾する。10%硫酸溶液

を薄層板に均等に噴霧した後, 105°C で 10 分間加熱する。長波長紫外線 (366 nm) を薄層板に照射し, 生じる蛍光スポットを観察する。

ii) 液体クロマトグラフ法による類縁物質試験: 原料, JP, および ICRS を乾燥し, その約 25 mg を精密に量り, メタノールを加えて溶かし, 正確に 50 ml とする。この液 20 μl につき, 次の条件で液体クロマトグラフ法を行う。

#### 操作条件

検出器: 紫外吸光度計 (測定波長: 220 nm)

カラム: 内径 4 mm, 長さ 15 cm のステンレス管に 5 μm の Unisil C<sub>18</sub> を充てんする。

移動相: メタノール・水混液 (7:3)

流量: 1 ml/min

カラム温度: 室温

検出感度<sup>1)</sup>: 試料溶液注入量の 1/100 に相当する量を注入し, 得られた主ピークの高さが記録紙の Full scale の約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。さらに, この条件で, 試料溶液注入量の 1/2000 に相当する量を注入した時, 得られらピークの面積が必ず検出されるように Analytical parameter を設定する。

### 5. 試験結果

i) 性状: 白色の粉末で, においはない。

ii) 乾燥減量: 0.51% (0.25 g, 減圧, 100°C, 2 時間)。

iii) 旋光度:  $[\alpha]_D^{20} = +17.1^\circ$  (乾燥後, 0.25 g, クロロホルム, 10 ml, 100 ml)

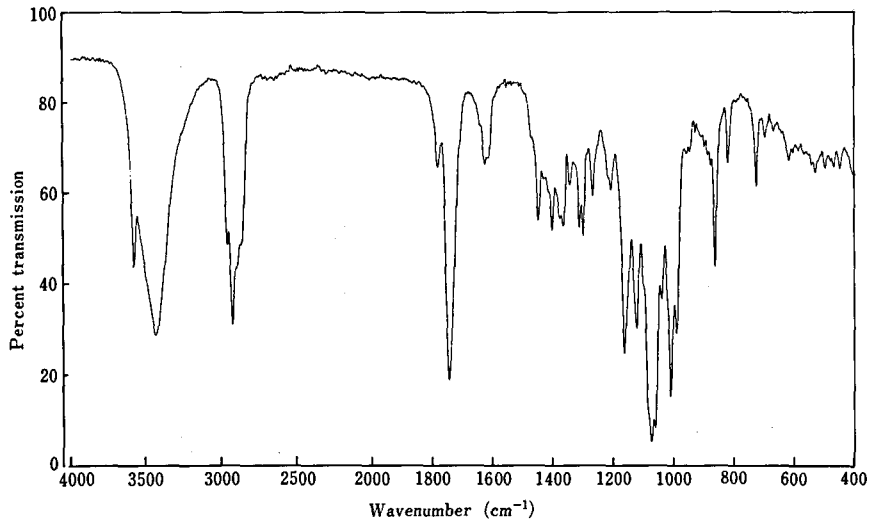


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Digitoxin Reference Standard

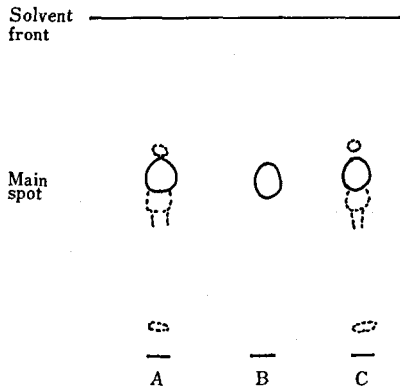


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of digitoxin

A: International Chemical Reference Standard 100  $\mu\text{g}$ , B: material 100  $\mu\text{g}$ , C: Japanese Pharmacopoeia Reference Standard 100  $\mu\text{g}$

iv) 融点: 221.1°C (分解).

v) 赤外吸収スペクトル: Fig. 1 に示す.

ICRS と同一の吸収スペクトルを示す.

vi) 薄層クロマトグラフ法: Fig. 2 に示す.

ICRS および JP には数個の不純物に由来するけい光性スポットが観察されたが、原料では認められなかった.

vii) 液体クロマトグラフ法による純度試験: 原料, ICRS および JP の各溶液を注入し, 不純物の検出を行った. Fig. 3 および 4 に, 原料および ICRS から得られたクロマトグラムを示す.

観察されるピークは, メタノール 20  $\mu\text{l}$  を注入した

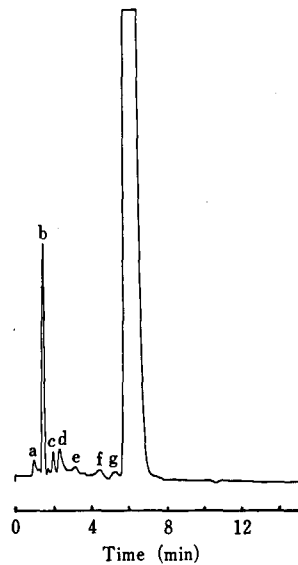


Fig. 3. High-performance liquid chromatogram for digitoxin material

High-performance liquid chromatographic conditions: column, Unisil  $\text{C}_{18}$  (5  $\mu\text{m}$ ), 4  $\times$  150 mm; mobile phase, mixture of methanol and water (7:3), flow rate, 1 ml/min; detection wavelength, 220 nm; sensitivity, 0.04 AUFS.

b,c,d: peaks caused by methanol, a,e,f,g: peaks caused by impurities in digitoxin material.

ときに認められるメタノールに由来するピーク (Fig. 3 および 4 の b, c, d) 以外に, 原料では 4 個 (Fig. 3 の a, e, f, g), ICRS では 5 個 (Fig. 4 の a, e, f,

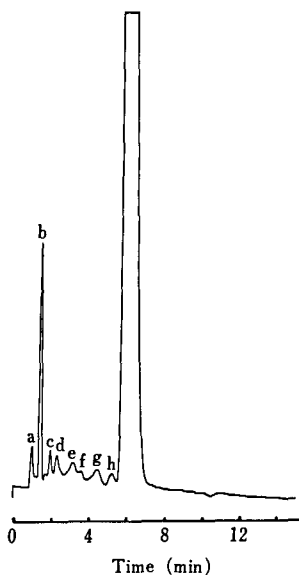


Fig. 4. High-performance liquid chromatogram for Digitoxin International Chemical Reference Standard

High-performance liquid chromatographic conditions were the same as Fig. 3.

b,c,d: peaks caused by methanol, a,e,f,g,h: peaks caused by impurities in digitoxin International Chemical Reference Standard.

g, h), および JP では5個の不純物に由来するピークが認められた。この方法による原料, ICRS, および JP の純度は, それぞれ, 99.61%, 98.49%, および 96.64% であった。

viii) 定量: ICRS の含量を 100.0% とした時, 今回の原料の含量は, 105.2% であった。

## 結 論

標準品原料として入手したジギトキシンを国際化学参照物質と比較検討した。薄層クロマトグラフ法により, 原料中には, 不純物が検出されなかった。液体クロマトグラフ法による純度試験で0.39%の不純物が検出された。液体クロマトグラフ法での定量試験では, ICRS の含量を 100.0% とした時, 原料の含量は, 105.2% であった。

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。

終わりに, 標準品の製造にあたり協力いただいたサンド薬品株式会社に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 木村俊夫, 網川延孝, 中守律夫: 医薬品研究, 17, 143 (1986)

## マイコトキシンの化学分析に関する研究 (第18報) Aflatoxin B<sub>1</sub> の Enzyme Immunoassay による分析

五十畑悦子・豊田正武・斎藤行生

### Studies on Chemical Analysis of Mycotoxin (XVIII)

Etsuko ISOHATA, Masatake TOYODA and Yukio SAITO

Aflatoxin B<sub>1</sub> enzyme immunoassay (EIA) test kits using Aflatoxin B<sub>1</sub> monoclonal antibodies-coated plate, affinity column and florisil tip, and aflatoxin polyclonal antibodies-coated card were evaluated by testing the recovery of aflatoxin B<sub>1</sub> spiked to several kinds of foods. Simple and rapid methods for the analysis of aflatoxin B<sub>1</sub> were found to be test kits using an affinity column and card. The elimination of the chemical clean-up step where many solvents and glassware are required under the conventional chemical method as well as a reduction in the volume of aflatoxin B<sub>1</sub> detoxication reagents used were found to be the advantage of the EIA test kits.

(Received May 30, 1987)

Aflatoxin (Af) は B<sub>1</sub> の他に B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> 等の誘導体があるがなかでも Af B<sub>1</sub> の毒性は 1g で, アヒル約10万羽を殺す能力がある。一方穀類, 豆

類等の汚染は世界的問題として注視されている。したがってこれらの食品の実態調査を行うには多数検体を迅速に, しかも超微量に分析できる方法が必要であ

る。そこで分析法として特異性、感度、簡易性に優れた方法として Enzyme Immunoassay (EIA) による方法<sup>1,2,3,4,5)</sup>の利用が要望される。近年米国、英国で EIA 用のキットが開発され市販されている。また西日本地区に発生した赤かび病に罹患した麦に産生するフザリウム属の真菌が生産するマイコトキシンで食中毒等ヒトおよび家畜に被害を与えるトリコテセン系のかび毒の一つである T-2 toxin (T-2) については、最近日本国内でバイオテクノロジー (生命工学) の技術により、モノクローナル抗体の量産が可能になっている。今回これらの EIA 用のキットによるマイコトキシン分析について検討する機会を得たので本方法を利用する Af の分析についてのみ 2, 3 の知見を報告する。現在マイコトキシン分析用 EIA キットは Af B<sub>1</sub>, Af M<sub>1</sub>, T-2 toxin, Zearalenone, Ochratoxin A が市販されている。

## 実験方法

### 1. 実験材料

厚生省から入手した Glanded Cotton seed, 川崎市中央卸売市場で購入した Peanut, 用賀町周辺で購入した青豆, ボンゴ豆, カッシューナッツ, ポップコーン, Wheat, Corn, Malt, Soybean, Rice および FAO/WHO から送付されてあった International Mycotoxin Check Sample の Yellow corn (Maize)

#### (A)

Sample 1g (in a test tube with glass stopper)  
 | add 0.6ml of water and 6.0ml of CHCl<sub>3</sub>  
 | sonicate for 20mins  
 | centrifuge at 3000 rpm for 20mins  
 CHCl<sub>3</sub> layer 4.0ml  
 | add 6.0ml of 25% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
 | vigorously shake  
 | centrifuge at 3000 rpm for 20mins  
 CHCl<sub>3</sub> layer 3.0ml  
 | evaporate under reduced pressure  
 Residue  
 | rinse tube with 0.5ml of CHCl<sub>3</sub>  
 | -hexane(3:7)  
 | charge the rinsed solution on  
 | sep pak silica cartridge  
 | store for 30mins  
 | at room temp  
 | wash with 10ml of hexane, 10ml of benzene-  
 | acetic acid(94.5:5.5), 10ml of ether-hexane  
 | (6:4)  
 | Elute with 15ml of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-acetone (9:1)  
 Eluate  
 | evaporate under reduced pressure  
 Residue

## 2. 試薬

2.1. 試薬および有機溶媒類は市販の試薬特級品、純水は超純水製造装置により精製されたものを使用。

### 2.2. EIA 用キット

- ① Af 用: 医化学研究所 (上野技官試供)
- ② Af 用: Neogen Corporation
- ③ Af 用: Biotech Research Laboratory
- ④ Af 用: May & Baker Diagnostic Limited  
(Rhône-Poulenc Japan)
- ⑤ Af 用: May & Baker Diagnostic Limited  
(Rhône-Poulenc Japan)
- ⑥ Af 用: Environmental Diagnostic INC  
(Dragon Enterprise Co., LTD)

## 3. 装置

- 3.1. 超純水製造装置: オルガノ(株)ピュリック・S
- 3.2. プレートリーダー: コロナ(株)マイクロプレートリーダー MTP-100, シグマ精機バイオリーダー F-S-340, 大日本製薬(株)タイターテックマルチスキャン MCC
- 3.3. プレート洗浄器: Biotec mini washer E-200, NW-1 型 (手動式)
- 3.4. 高速液体クロマトグラフ装置: 日立 655 型 (ポンプ, 検出器), D-2000 Chromato-Integrator
- 3.5. クロマトスキャナー: 島津 Dual Wavelength

#### (B)

Microtitration Plate(96 Flat bottom well)

- 1 BSA-0.02M Na-P(PH 7.4)70 μl
- 2 anti Af B<sub>1</sub> IgG in 0.1%BSA-0.02M Na-P 20 μl
- 3 Sample in MeOH or buffer  
 | store for 1 hr at room temp.
- 4 Af B<sub>1</sub>-POD 50 μl  
 | store for 1 hr
- 5 goat anti rabbit IgG beads 100 μl  
 | store for 1 hr
- 6 aspirate
- 7 wash with 0.05% tween 20-PBS(-)
- 8 OPD reagent 100 μl  
 | store for 10 min at room temp.
- 9 5N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100 μl  
 | transfer to another plate
- 10 Read at 500nm

Fig. 1. A: Extraction and clean-up of Aflatoxin B<sub>1</sub>  
 B: Enzyme immunoassay procedure for the determination of Aflatoxin B<sub>1</sub>

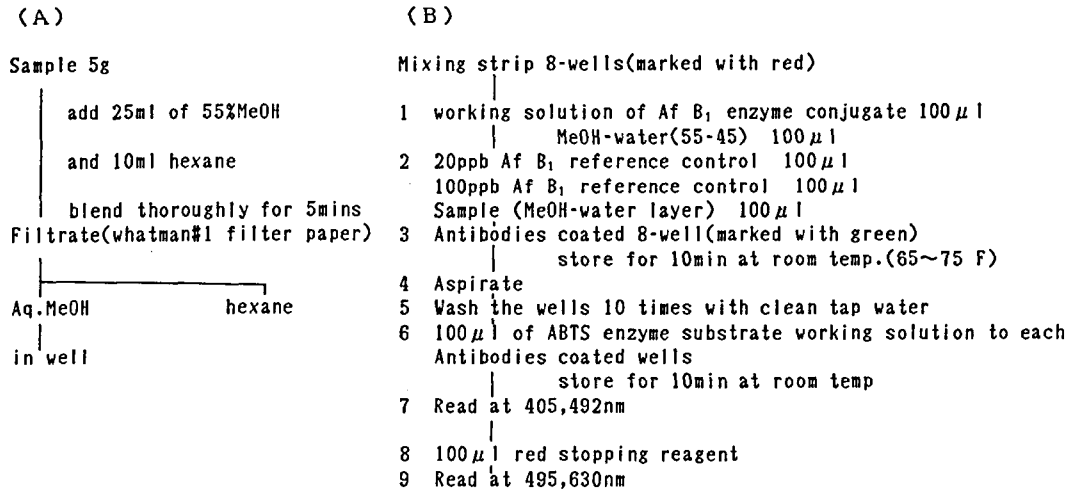


Fig. 2. A: Extraction and clean-up of Aflatoxin B<sub>1</sub>  
B: Enzyme immunoassay procedure for the determination of Aflatoxin B<sub>1</sub>

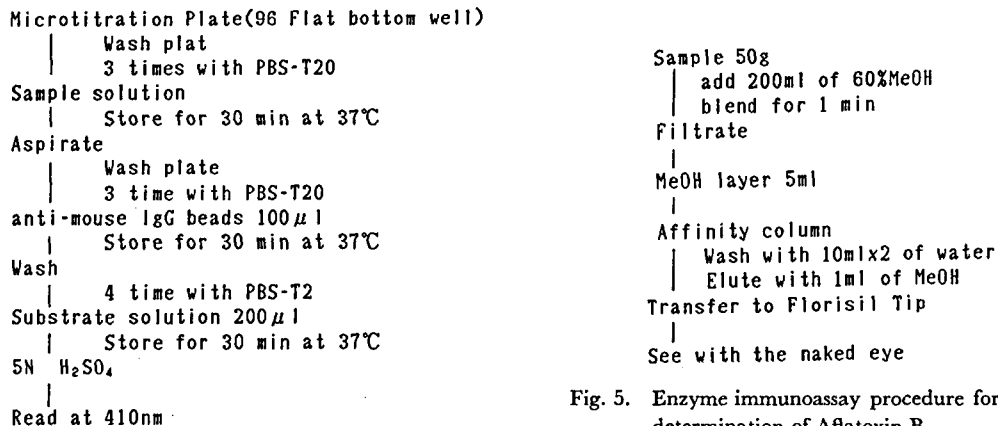


Fig. 3. Enzyme immunoassay procedure for the determination of Aflatoxin B<sub>1</sub>

Fig. 5. Enzyme immunoassay procedure for the determination of Aflatoxin B<sub>1</sub>

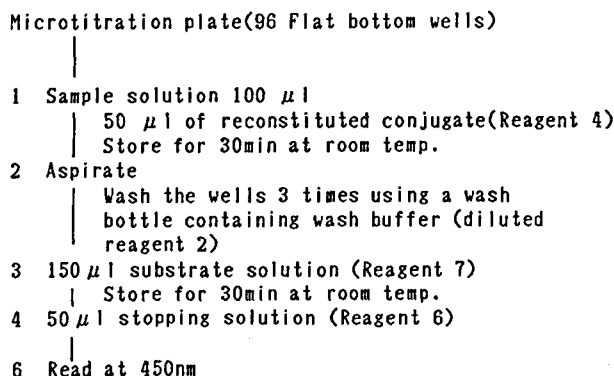


Fig. 4. Enzyme immunoassay procedure for the determination of Aflatoxin B<sub>1</sub>

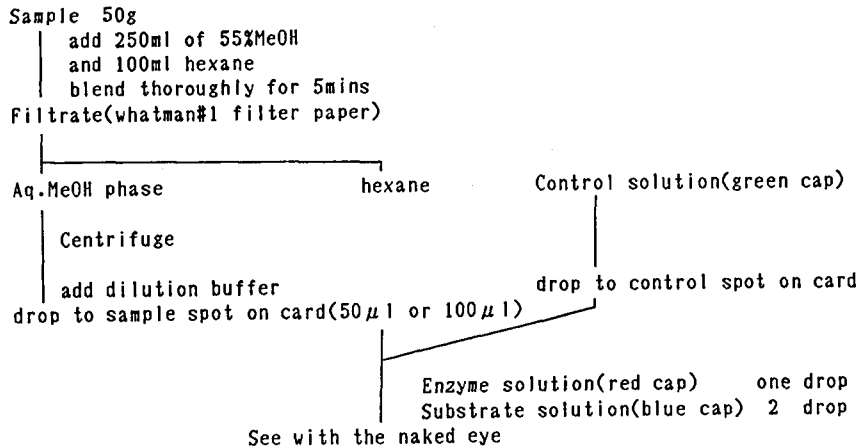


Fig. 6. Enzyme immunoassay procedure for the determination of Aflatoxin B<sub>1</sub>

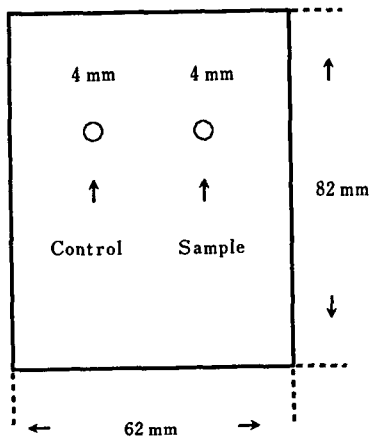


Fig. 7. Card for Screening test of Aflatoxin

TLC Scanner CS-930

#### 4. 実験操作

##### 4.1. 試料の調整と EIA 分析

Fig. 1~6 に 2.2 の ①~⑥ の EIA 用キットに使用する試料の調整方法と EIA 用キットの使用方を示した。Fig. 3, 4 の試料の調整は厚生省通達128号法に準じる。Fig. 1, 2, 3, 4 は EIA 終了後、Substrate solution で発色させた後、プレートリーダーでそれぞれの波長の吸光度を測定する。同様の方法で処理して得られた Af 標準液の吸光度と濃度の対数により検量線を作成して Sample 中の Af を定量する。Fig. 5 は紫外線灯下で Florisil Tip に吸着した Af の蛍光を、Af 標準液を同様に操作して得られた Florisil Tip の蛍光と比較して Af を定性する。

Fig. 6 は Fig. 7 に示す Card 中の 1 個の Spot に Control 溶液、他の 1 個の Spot に Sample 溶液を滴加し、EIA 終了後、Substrate solution を滴加して発

色させた 2 個の Spot の示す色調で Af の定性をする。本方法は目的とする検出限界毎に試料を次のように調整する。

目的とする検出限界が 5 ppb の場合、試料は希釈しない。20 ppb を検出限界とする場合は試料 100 µl に希釈バッファー 200 µl を加え、50 ppb を検出限界とする場合は試料 100 µl に希釈バッファー 650 µl、100 ppb を検出限界とする場合は試料 50 µl に希釈バッファー 700 µl を加えて希釈した試料にする。以上の要領で希釈した試料を Card の Sample Spot に 50 µl 滴加し、さらに同じ Spot に Enzyme solution, Substrate solution を順次滴加する。10 ppb を検出限界とする場合は 20 ppb 用の試料 50 µl を 2 滴、Sample Spot に滴加する。分析結果の判定は Control spot が灰青色で Sample spot が白色の場合、それぞれ 5 ppb, 10 ppb, 20 ppb, 50 ppb, 100 ppb 以上と判定する。

#### 結果と考察

##### 1. EIA キット①

###### 1.1. 検量線

Af 標準液 1, 3.3, 10, 33, 100 ppb の検量線を Fig. 8 に示す。

###### 1.2. 添加回収

Af 標準液を 0.4 ppb, 1 ppb, 2 ppb 添加した Corn, Malt, Wheat の EIA 分析による Af の回収率は Table 1 に示す結果であった。Corn に 1 と 2 ppb, Malt に 2 ppb 添加した Af は 93~102% 回収されるが Wheat 中の Af 分析はできない。

##### 2. EIA キット②

###### 2.1. 検量線

本キットは肉眼で Af の存在を定性する方法であり、

Table 1. Recoveries of Aflatoxin added to Cereals (by EIA kit①)

Recovery of Aflatoxin B <sub>1</sub> (%)											
Corn				Malt				Wheat			
Addition level(ppb)				Addition level(ppb)				Addition level(ppb)			
0	0.4	1.0	2.0	0	0.4	1.0	2.0	0	0.4	1.0	2.0
n.d	132	102	100	n.d	*	200	93	n.d	*	200	5.8

\* Obstruct the detection of the Aflatoxin

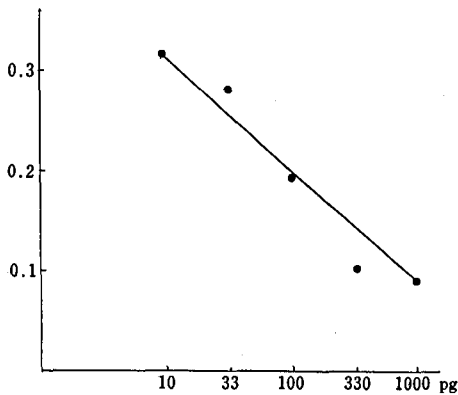


Fig. 8. Calibration curve for Aflatoxin B<sub>1</sub> by EIA kit ①

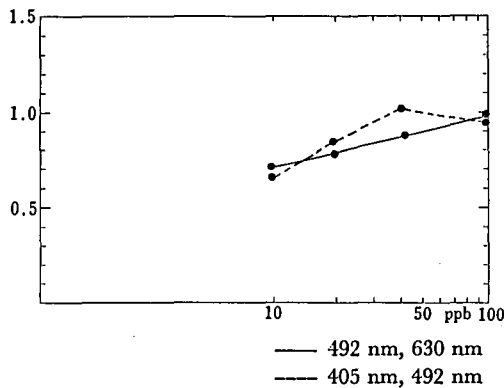


Fig. 9. Calibration curve for Aflatoxin B<sub>1</sub> by EIA kit ②

検量線を必要としないが、EIA 終了後 Substrate solution で青色 (405 と 492 nm) に発色した溶液と Stopping solution でピンク色 (492 nm と 630 nm) に変化した溶液の吸光度により検量線を作成した (Fig. 9).

Table 2. Results of the experiment on the effect of Aflatoxin B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> (by EIA kit ②)

Recovery (%)			
Aflatoxin Standard solution			
B <sub>1</sub>		B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>
20ppb	100ppb	Each 20ppb	Each 20ppb
65	13~18	60	10

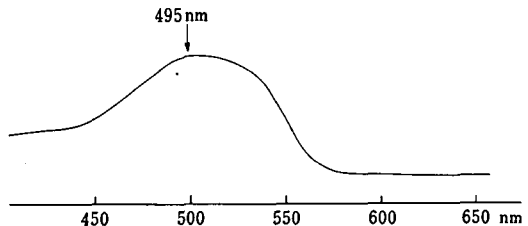


Fig. 10. Ultraviolet spectrum of Aflatoxin after EIA

## 2.2. Af B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> 共存の影響

本方法は Af B<sub>2</sub> の存在は、実験結果に影響しなかったが、G群はわずかに影響した (Table 2).

## 2.3. Af 標準液

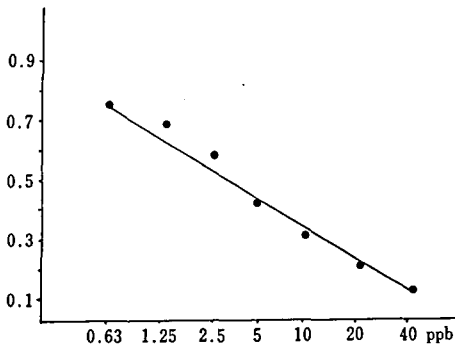
Af 標準液はキットの標準液と自家製の標準液を使用する場合は異なった値を示す。Peanut に自家製の標準液 20 ppb を添加し分析した結果、Af はキットの標準液では60%、自家製標準液では92.5%回収した。Af 標準液の溶媒の違いが、Peanut からの Af 抽出過程および EIA 過程に影響を及ぼすものと考えられる。

## 2.4. 安定性

EIA 終了後 Substrate solution で発色した青色溶液の最大吸収は Fig. 10 に示す様に 495 nm 付近であるので、492 と 620 nm の吸光度の差を20分間隔で測定し Af 濃度を定量したところ、20 ppb 溶液は 17 ppb,

Table 3. Recoveries of Aflatoxin added to Peanut (by EIA kit ②)

	Aflatoxin ppb	Recovery (%)	
		E I A	T L C
Aflatoxin B <sub>1</sub> standard sol.	5	*	70
	10	130	100
	20	86	100
	50	94	98
	100	86	100
Aflatoxin B <sub>1</sub> added to Peanut	20	90	96
	40	86	94
	100	70	100

Fig. 11. Calibration curve for Aflatoxin B<sub>1</sub> by EIA kit ③

15 ppb, 13 ppb と減少し, 100 ppb 溶液も 53 ppb, 38 ppb, 28 ppb と減少した。

Stopping reagent を入れない溶液は不安定で1時間後 Af 濃度 20 ppb は35%, 100 ppb は72%減少した。

### 2.5. 添加回収率 (TLC と EIA の比較)

Af B<sub>1</sub> 10, 20, 40, 100 ppb を添加した Peanut の回収率を Table 3 に示す。

TLC 条件: 順相-シリカゲル 60, CHCl<sub>3</sub>-Acetone-hexane (85-15-20)

逆相-RP 18, MeOH-Water (9-1)

### 3. EIA キット③

#### 3.1. 検量線

Af B<sub>1</sub> 標準液 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 40 ppb による検量線を Fig. 11 に示す。

### 4. EIA キット④

#### 4.1. 検量線

各キット毎に検量線が作られて添付されている。

#### 4.2. 添加回収

青豆, ポンゴ豆, 木の实, ポップコーンに Af B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> 標準液をそれぞれ 10, 2.8, 8.57, 2.86 ppb 添加して EIA と TLC を行った結果を Table 4 に示す。

Table 4. Recoveries of Aflatoxin added to Food

	Recovery (%)				
	E I A (kit ④)		T L C		
	Aflatoxin				
aomame	150	*	*	*	*
bongomame	240	*	95	*	95
		(45	50	95	40)
kinomi	100	56	139	57	83
popcorn	150	93	57	62	*

\* Obstruct the detection of the Aflatoxin  
( ) Two dimensional technique

### 5. EIA キット⑤

本方法のシステムは Affinity column にモノクローナル抗体を結合したもので Column において Af のみを特異的に分離し, Column を洗浄後, Affinity column の下端に Florisil Tip を装着し, Column から溶出させた Af を Tip に取り込み, Tip の Af の蛍光を Af 標準液を同様に処理して得られた蛍光と, 紫外線灯下で比較して肉眼で判定する。

#### 5.1. 回収率

Af B<sub>1</sub> 10 ppb, B<sub>2</sub> 2.86 ppb, G<sub>1</sub> 8.57 ppb, G<sub>2</sub> 2.86 ppb の混合標準液について Affinity Chromatography を行い得られた最終の MeOH 溶液 200 μl 中の一定量を Florisil Tip に吸着させ, 残りの一定量について薄層クロマトグラフィー (TLC) (逆相および順相クロマトグラフィー) により Af を定量したところおよそ 20 ppb と判定した。

#### 5.2. 応用例

Af B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> 標準液をそれぞれ 8, 6.4, 8, 6.4 ppb 添加した Glanded Cotton seed は, Af 標準液 10 ppb を同様に処理して得られた蛍光と一致した。

### 6. EIA キット⑥

本法はフィルター状に抗体を吸着し, Plastic card に



挟んだ Card 上で assay を行う方法である。細切均一化した Peanut に Af B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> をそれぞれ 15, 1, 3, 1.25 ppb 添加し Fig. 6 にしたがって、検出限界の 20 ppb 要領で試料を調整した。また Af を添加しない Peanut は検出限界 5 ppb の要領で試料の調整をして assay を行ったところ Af を添加した試料は 20 ppb 以上、無添加の試料は 5 ppb 以下でありキット中のスケールによる判定では 3 ppb であった。本方法は全行程が15~20分で終了し使用器具、廃液が最も少ない方法であった。Card は 2~8℃で保存したものは3カ月は使用可能であった。

### ま と め

今回扱ったキットのほとんどはモノクローナル抗体を利用しているものであったが、Card による方法はポリクローナル抗体によるものであった。

EIA 法は次の3種類の方法を検討した。

1. プレート中ですべての EIA 分析を終了する方法 (プレートは 96, 12 と 8 Well のもの)。
2. Affinity column と Florisil Tip を利用する方法
3. Card による方法

今回検討した EIA の Assay はサンドイッチ法あるいは競合結合法が利用されていた。また EIA 終了後の発色手段としての Substrate solution は各社それぞれ各様のものが使われており、測定時の試料の色調を安定化する目的に使用する Stopping solution も各社各様であった。食品中の Af の EIA 分析は、ほとんどの食品について、試料の調整方法が検討されていない。今後この部分の検討の紹介が待たれる現状である。

われわれはマイコトキシン類の分析に、これまで TLC, HPLC, GC 等による高感度、微量分析の方法を開発し一応の成果を挙げてきたが、食品中のマイコトキシン類は試料の採取箇所および採取量が、トキシンの正しい調査を欠く原因になることがある。この問

題の解決手段として、より多くの箇所から採取した試料についての分析が要求されている。またマイコトキシンの仲間には強力な発癌性のある Af 以外にもヒト、家畜へ被害を与える物質等があるために、分析終了後は使用した器具類および廃液の解毒処理に多くの時間が費やされる (マイコトキシン類は通常次亜塩素酸ソーダで分解する)。これまでいかに優れた分析法が開発されてもこの部分の問題が残されている。今回検討した EIA によるマイコトキシンの分析方法は次の長所を持つ分析法であった。

1. 使用器具が極端に少なく、廃液量も僅小量でありこれまで問題であった短所を十分解消することができる。特に EIA キット⑤と⑥は優れていた。
2. 急激なプレートリーダーの改良で、EIA 終了後のプレート (96 Wells) 1枚を1~1.5分で測定できる。またパーソナルコンピューターに接続するためのインターフェースが内蔵された器種も市販されているので、これらの接続により、吸光度の測定値を対数グラフにプロットして検量線を作る手間が省け、的確な数値が速やかに得られ、膨大な試料調査に偉力を発揮することができる。
3. 分析方法として特異性、高感度、簡易性に優れている。
4. EIA キット②, ⑤, ⑥は肉眼で定性分析が可能であり、現場分析に適している。

### 文 献

- 1) 石川栄治, 加藤兼男: 臨床化学, 3, 374 (1975)
- 2) 城戸靖雄: 衛生化学, 21, 239 (1975)
- 3) 辻 章夫, 前田昌子: ぶんせき, 8, 528 (1976)
- 4) 城戸靖雄: ぶんせき, 2, 97 (1977)
- 5) J. D. Groopman, L. J. Jrudel, P. R. Donahue, G. N. Wogan: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 81, 16 (1984)

## Lack of Mutagenicity of Tetramethylsuccinonitrile in *Salmonella typhimurium* TA Strains

Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE, Kunitoshi YOSHIHIRA,  
Takehiko NOHMI and Motoi ISHIDATE, Jr.

Tetramethylsuccinonitrile (TMSN), which may be detected in plastic products used for food packaging, was examined for its mutagenicity using *Salmonella typhimurium* TA 100, TA 98, TA 97 and TA 102 by a pre-incubation method with and without the S9 mix. No killing effect nor mutagenicity of TMSN was observed in any of the strains tested even at the highest concentration of 5,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  in both systems with or without the S9 mix.

(Received May 30, 1987)

Tetramethylsuccinonitrile (TMSN, CAS No. 3333-52-6) is a major decomposition product of 2,2'-azobisisobutyronitrile, which is used as a polymerization initiator for vinyl compounds. The decomposition product, TMSN, is known to remain in polystyrene<sup>1)</sup> and polyvinyl chloride products<sup>2)</sup> in contact with food. The present study is to evaluate the mutagenic action of TMSN in *Salmonella typhimurium* TA strains.

### Experimental Methods

Test compound: TMSN (98% pure) was purchased from Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., Japan. It was dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO).

Mutagenicity test: *Salmonella*/microsome assays (Ames Test) was carried out using four strains, TA 100, TA 98, TA 97 and TA 102, by a pre-incubation method with S9 mix for 20 min at 37°. The S9 mix was prepared from the liver homogenate of PCB-pretreated Fischer rats.<sup>4,5)</sup> 2-Aminoanthracene (2-AA), AF-2, ICR-191 and mitomycin C (MMC) were used as positive control substances. Results were showed as an average of revertant colonies of two plates.

### Results and Discussion

The mutagenicity of TMSN in *S. typhimurium* strains TA 100, TA 98, TA 97 and TA 102 is

Table 1. Mutagenicity test on tetramethylsuccinonitrile with *Salmonella typhimurium*

Material	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	His <sup>+</sup> revertant/plate (average of 2 plates)							
		TA 100		TA 98		TA 97		TA 102	
		-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
TMSN	100	98	120	30	27	324	341	431	365
	250	100	118	22	32	371	301	410	330
	500	84	108	30	41	302	276	417	325
	1000	114	109	27	22	299	310	415	366
	2500	115	112	28	55	369	309	412	331
	5000	78	120	22	27	373	295	376	305
2-AA	10		6290		9664		7500		7227
AF-2	0.02	1068							
	0.05			536					
ICR-191	0.1					3106			
MMC	0.01							1543	
DMSO	0.1 (ml)	106	139	19	37	343	459	385	462

shown in Table 1. TMSN showed no killing effect nor mutagenicity in any strains tested. at concentrations up to 5,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  with or without the S9 mix, although a little elevation was observed in the solvent control in the strain TA 97. The acute toxicity of aliphatic nitriles seems to be attributed to the metabolic release of free cyanide.<sup>6,7)</sup> Doherty *et al.*,<sup>8)</sup> however, assumed that TMSN showed a direct effect on the nervous system in mice because of little increase in its metabolite, cyanide, in the blood. The present study suggests that any metabolites which may be mutagenic could not be induced by an addition of rat-S9 mix in the mutation assay of TMSN.

## References

- 1) L. Mandik and A. Culkova: *Plasty Kauc.*, **19**, 149 (1982)
- 2) H. Ishiwata *et al.*: *J. Chromatogr.*, **370**, 275 (1986)
- 3) T. Matsushima *et al.*: In: Short-term test systems for detecting carcinogens, Ed. by K. H. Norpoth & R. C. Garner, p.273, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1980)
- 4) D. M. Maron and B. N. Ames: *Mutation Res.*, **113**, 173 (1983)
- 5) T. Nohmi *et al.*: *Mutation Res.*, **136**, 159 (1984)
- 6) P. V. Kaplita and R. P. Smith: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **84**, 533 (1986)
- 7) H. Tanii and K. Hashimoto: *Arch. Toxicol.*, **55**, 47 (1984)
- 8) P. A. Doherty *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **223**, 635 (1982)

## プラスチック製食器からのホルムアルデヒドの溶出試験と検出限界

井上たき子・石綿 肇・義平邦利

### Migration Test of Formaldehyde from Plastic Cups and the Detection Limit of the Test

Takiko INOUE, Hajimu ISHIWATA and Kunitoshi YOSHIHARA

An official inspection of the release of formaldehyde from imported plastic cups was carried out. The migration amount of formaldehyde conformed to the Japanese Food Sanitation Law. The detection limit of formaldehyde was also studied because rejection or approval is determined by visual observation in the acetylacetone method. The detection ratio of 0.05 ppm of formaldehyde in the test solution was 22.7% and that of 0.2 ppm corresponding to 4 ppm in the migration solution was 91.7%.

(Received May 30, 1987)

ホルムアルデヒドを原料とする合成樹脂製の食器については、食品衛生法により、ホルムアルデヒドの溶出について基準が定められている<sup>1)</sup>。したがって、これらの食器については、製造、販売あるいは輸入時にホルムアルデヒドの溶出について試験を行わなければならない。

今回、成田空港検疫所において、積み戻し品のプラスチック製品からのホルムアルデヒドの溶出について疑義が生じたため、その試験を行った。食品衛生法によれば、ホルムアルデヒドの溶出の有無は視覚による観察によって判定される。そこで、発色液の観察による判定と吸光度との相関性についても検討を行った。

## 実験方法

### 1. 試料

成田空港検疫所より送付されたプラスチック製食器

- a) 試料1 茶碗むし用メラミン樹脂製カップ、上部内径 77 mm, 深さ 56 mm, 内表面積 129 cm<sup>2</sup>。
- b) 試料2 樹脂成分不明、形状はカップ状、上部内径 80 mm, 深さ 60 mm, 内表面積 161 cm<sup>2</sup>。

### 2. 装置

島津分光光度計 UV-240

### 3. 試薬、試液、標準液

試薬：すべて特級を用いた。ホルムアルデヒド標準液：ヘキサメチレンテトラミン 62.2 mg を水に溶かして 1 L とした。これを、水で一定量に希釈してホルムアルデヒド標準液とした。アセチルアセトン試液：酢酸アンモニウム 150 g を水に溶かし、氷酢酸 3 ml およびアセチルアセトン 2 ml を加え、水で 1 L とした。

### 4. ホルムアルデヒドの試験<sup>1)</sup>

試料を水でよく洗い、浸出用液としてあらかじめ 60

℃に加熱した水を試料の上端から5mm下の所まで満たし、60℃の水浴中で放置した。この時の液量は、試料1で170ml、試料2では230mlであった。30分後、液を速やかに共栓三角フラスコに移した。試料の内表面積1cm<sup>2</sup>当たり浸出用液2mlとなる様にこの液を水で希釈して溶出液とした。溶出液10mlを採り、20%リン酸1mlを加えた後、200mlのメスリンダーに水5~10mlを入れ、冷却器のアダプターが水に浸る様にして水蒸気蒸留を行った。留液が約190mlになったとき水蒸気蒸留をやめ、冷却器を少量の水で洗い、留液に合せ、水で200mlとし、試験溶液とした。試験溶液5mlを内径約15mmの試験管にとり、アセチルアセトン試液5mlを加え、混和し、沸騰水浴中で10分間加熱した。別に、水5mlを試験管に採り、試験溶液と同様に処理して対照液とした。両液を白色を背景として側方から観察し、色の濃さを比較した。

#### 4. 色の濃さの判定方法

食品添加物部で実験に携わっている者12名に判定を依頼した。対照液よりも濃いと判定した場合は1点、対照液と同じと判定した場合は0点、濃いかわりか判定しがたい場合は0.5点とし、点数を合計し、観察者数で除して検出率(%)を求めた。観察終了後、水を対照として両液の吸光度を波長415nmで測定し、観察結果と比較した。

判定時には、コントロールとして、一定濃度のホルムアルデヒド標準液5mlについて試験溶液と同様に処理したものを同時に混在させて判定を依頼した。

実験はすべて3回繰り返して行い、結果は平均値±標準偏差で示した。

### 結果および考察

#### 1. 回収率について

ホルムアルデヒド4ppmおよび20ppm標準液10

mlについて溶出液と同様に処理して回収率を求めたところ、前者で101.3±4.0%、後者で100.3±1.2%であった。

#### 2. 標準液および試験溶液の観察による判定と吸光度との関係

ホルムアルデヒド0, 0.05, 0.2および0.4ppm標準液あるいは試験溶液を発色させた液の観察による色の濃さの判定と吸光度との関係をFig.1およびTable1に示す。標準液の吸光度は0~0.4ppmの間で直線性を示した。一方、観察による判定では、0.4ppmおよび0.2ppmでは90%以上の検出率を示し、0.05ppmでは22.7%に低下した。しかしながら、0ppmでも9.7%の検出率を示した。この時の吸光度を水を対照として測定した時、対照液およびホルムアルデヒド

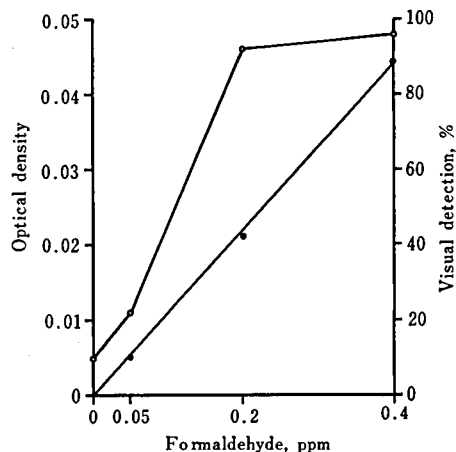


Fig. 1. Relation with the optical density and the visual detection ratio of the reaction mixture of formaldehyde

●—●: Optical density

○—○: Visual detection ratio

Detection ratio was obtained by the comparison with the blank test.

Table 1. Visual detection of formaldehyde in the sample solution prepared from plastic cups

Solution	Optical density*1	Visual detection ratio (%)*2
Formaldehyde 0ppm	0.014 ± 0.001	9.7
Sample 1	0.014 ± 0.001	13.9
2	0.014 ± 0.000	9.7

\*1 Compared with water, mean + S.D.

\*2 Compared with a blank test

0 ppm 標準液 (すなわち対照液と同一組成のもの) はそれぞれ  $0.014 \pm 0.001$ ,  $0.014 \pm 0.000$  であった。これに対し、試験溶液では試料 1 で検出率は 13.9%, 試料 2 では 9.7% であった。試料 2 の検出率は対照液の検出率と同一であり、また、試料 1 についても有意に高いとは思われない。この時の吸光度は水を対照として測定した時、試料 1, 2 はそれぞれ  $0.014 \pm 0.001$ ,  $0.014 \pm 0.000$  であり、対照液との吸光度の差はまったくなかった。

食品衛生法の方法によるホルムアルデヒドの検出限界は溶出液 (2 ml/cm<sup>2</sup>) 中の濃度として 4 ppm とされている<sup>2)</sup>。この濃度は、試験溶液中の濃度に換算して 0.2 ppm である。ホルムアルデヒド 0.2 ppm 標準

液の吸光度 (対照液の吸光度を差し引いた値) は、 $0.021 \pm 0.001$ , 観察判定による検出率は 91.7% であった。

これらの結果から、溶出液中のホルムアルデヒドの視覚による観察の検出限界、4 ppm, は妥当な濃度と考えられ、また、試料からのホルムアルデヒドの溶出は、検出限界以下であった。

## 文 献

- 1) 厚生省：告示 20 号、昭和 57 年 2 月 16 日
- 2) 厚生省環境衛生局食品化学課編：食品用プラスチック衛生学、266 (1980)、講談社

## 厚生省告示の方法による 2-メルカプトイミダゾリンの検出限界

石綿 肇・井上たき子・義平邦利

### Detection Limit of Ethylenethiourea by the Method of the Food Sanitation Law

Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE and Kunitoshi YOSHIIHRA

The Notice No. 85, the specification of rubber products which come in contact with food noticed on April 1st, 1986 by the Ministry of Health and Welfare, provided that a spot corresponding to a spot of 2-mercaptoimidazole (ethylenethiourea, ETU) by thin-layer chromatography (TLC) must not be observed, but the detection limit of ETU on the plate was not provided. The detection limit of ETU on the TLC plate based on observation by 12 chemists working in the Division of Food Additives was 10~20 ppm when standard solutions of ETU were applied to the TLC provided in the Notice No. 85 and its modified solvent system.

(Received May 30, 1987)

## 方 法

### 1. 試 薬

- a) ETU：化学用、純度 95.0% 以上 (和光純薬)
- b) 2,6-ジクロルキノクロロイミド：試薬特級 (和光純薬)
- c) TLC プレート：20 cm × 20 cm のガラス板上にシリカゲルを厚さ 0.25 mm に塗布したもの (Merck 社製 Kieselgel 60)。使用前に 120°C で 1 時間乾燥した。
- d) その他の試薬：JIS 特級を用いた。
- e) 展開溶媒 I：酢酸エチル、ベンゼン (5 : 1, v/v)
- f) 展開溶媒 II：酢酸エチル、メチルアルコール、アンモニア水、水 (30 : 2 : 1 : 1, v/v)
- g) 展開溶媒 III：酢酸エチル、メチルアルコール、

アンモニア、水 (30 : 3 : 1 : 1, v/v)

### 2. 操作 法

ETU 標準液 (20 ppm メタノール溶液) を順次希釈して一定濃度の希釈標準液を作製し試験溶液とした。TLC は告示第 85 号の方法を一部変更して行った。すなわち、TLC プレートに ETU 標準液および希釈標準液を 10 μl ずつ塗布し、展開溶媒 I 又は III を用いて TLC を行った。展開溶媒の先端が、原線より約 10 cm の高さに上昇したとき展開をやめ、風乾したのち、2,6-ジクロルキノクロロイミドアルコール溶液 (100 mg/10 ml) を噴霧し、120°C で 10 分間加熱して斑点の有無を観察した。観察者は食品添加物部で実験に携わっている者 11~12 名とし、自然光下で、白色紙を背景としてプレート上部より観察した。

スポットの観察の判定は、陽性を 1 点、疑陽性を 0.5

Table 1. Detection of Ethylenethiourea on TLC plate

Solvent	n	Ethylenethiourea (ppm)									
		20	10	8	7	6	5	4	3	2	1
		Percent of detection									
I	1	100	100	100	71	0	0	0	0	0	0
	2	100	100	71	17	0	0	0	0	0	0
	3	100	100	100	96	79	21	0	8	0	4
	4	100	100	100	75	29	0	0	0	0	4
	Mean	100	100	93	65	27	5	0	2	0	2
III	1	100	96	21	0	0	0	0	0	0	0
	2	100	96	29	8	0	0	0	0	0	0
	3	100	100	95	32	27	14	0	0	0	27
	4	100	100	100	77	50	59	0	9	0	14
	Mean	100	98	61	29	19	18	0	2	0	10

TLC plate: Kieselgel 60, 0.25 x 200 x 200 mm

Solvent I: Ethylacetate, Benzene (5 : 1)

Solvent III: Ethylacetate, Methanol, Ammonia water, Water (30 : 3 : 1 : 1)

点, 陰性を0点とし, 各観察者の判定を加算し, 判定者数で除して, パーセントで示した. 実験は4回繰り返し, 結果は平均値で示した.

### 結果および考察

1. 告示に記載されている展開溶媒 I および II のうち後者は15°C以下では二層に分離するため, メタノール含有比を高め, 酢酸エチル, メタノール, アンモニア水, 水 (30 : 3 : 1 : 1) とし, 展開溶媒 III として用いた.

2. TLCプレート上のスポットの観察結果を Table 1 に示した.

本法による ETU の  $R_f$  値は展開溶媒 I で 0.18, 展開溶媒 III では 0.39 であった. TLC プレートは 2,6-ジクロロキノロンクロロイミドのスプレーあるいは加熱の条件により背景が淡褐色にやや着色する傾向があり, ETU の発色物と同系色である事から, プレート毎に検出の限界が多少上下した. また, スプレーのむらにより, 不検出以下の濃度でも陽性に判定される場合もあった. しかし, 平均値では 10 ppm で, 展開溶

媒 I では 100%, 展開溶媒 III では 98% の検出率であり, 20 ppm では両者ともに 100% の検出率を示した. 検出率が50%未満となる点は, 展開溶媒 I で 6 ppm, 展開溶媒 III では 7 ppm であった. 展開溶媒 III で検出限界がやや高い理由として, 発色後のプレートがやや着色しやすい事,  $R_f$  値が大であるためのスポットの拡散等が考えられる.

以上の結果から, 告示第85号による方法での ETU の TLC 上における検出限界は TLC 用試験溶液中の濃度として 10 ppm~20 ppm と考えられる. 成田<sup>3)</sup> は本法における ETU の検出限界を 20 ppm としており, 本実験結果からみてはばり妥当な濃度と思われる. なお今回は, 標準液のみを用いており, ゴム製品からの抽出液を用いた場合の共存物質の影響については検討していない.

### 文 献

- 1) 厚生省告示第85号: 昭和61年4月1日
- 2) 日本工業規格: JIS T 9010-1982
- 3) 成田昌稔: 食品衛生研究, 36(7), 7 (1986)

## 日本薬局方ハチミツの嫌気性有芽胞菌汚染について

高山澄江・児玉幸夫・林 長男

On Contamination of Anaerobic Spore-Forming Bacteria in  
Honey under the Japanese Pharmacopoeia

Sumic TAKAYAMA, Yukio KODAMA and Nagao HAYASHI

Nine samples of J.P. Honey were examined for the presence of spores of *Clostridium botulinum* using the modified method of Midura *et al.*

*C. botulinum* could not be detected in any of the honey samples examined. However, *C. perfringens* was detected in four samples and other anaerobic spore-formers were also detected in all samples.

(Received May 30, 1987)

乳児ボツリヌス症は、生後3週間から8カ月までの乳児がボツリヌス菌芽胞を経口的に摂取し、この芽胞が腸管内で発芽し、増殖し、産生した毒素を吸収することによって発症する疾患で、1976年、アメリカでの発見以来、現在までに約600例が報告されている。

また、この症例では、とりわけハチミツを介して乳児への感染が重視<sup>1)</sup>され、ハチミツ中のボツリヌス菌の検索も各国で行われている<sup>2-5)</sup>が、我が国での症例報告はこれまでなかった。ところが、1986年5月、日令83日の男児が本邦における「乳児ボツリヌス症」第一例と診断され、その感染源はA型ボツリヌス菌を検出したハチミツにあると報告<sup>6)</sup>がなされた。これを重視した厚生省は、乳児ボツリヌス症の原因食品に関する調査研究班(主任研究者 阪口玄二 大阪府立大農学部教授)を設置するとともに、汚染実態究明の一環として当衛生微生物部においても日本薬局方ハチミツ(局方ハチミツ)9検体の検査を担当した。本論文では、これらの結果について報告する。

## 実験方法

## 1. 試料

検査を行った試料9検体は、次に示す製薬会社の局方ハチミツである。

No. 1	A社(株)	大阪	500 g × 1
No. 2	M社(株)	大阪	500 g × 1
No. 3	T社(株)	大阪	500 g × 1
No. 4	T社(株)	大阪	1 kg × 1
No. 5	Y社(株)	大阪	500 g × 1
No. 6	S社(株)	大阪	500 g × 1
No. 7	K社(株)	大阪	500 g × 1

No. 8 O社(株) 大阪 500 g × 1

No. 9 H社(株) 大阪 500 g × 1

## 2. ボツリヌス菌検出法

阪口によるMiduraら<sup>3)</sup>の方法の改良法にしたがった。詳細は以下のとおりである。

1) 蜂蜜検体を37℃(結晶蜂蜜の場合は52~53℃)に加温し、充分攪伴後、20gを滅菌フラスコ(200ml容)に秤取し、37℃に加温した滅菌蒸留水(以下蒸留水)100mlを加え、充分攪拌する。

2) 滅菌遠心管(70ml容2本)を用いて10000rpm(約8000×g)30分間遠心分離する。

3) 傾斜して上清を捨て、沈殿を蒸留水1mlに懸濁する(懸濁液は1.5ml~2mlになる)。

4) 懸濁液0.2mlを蒸留水で10倍、100倍に段階希釈する。

5) 残りの懸濁液を二分して、2本のクックドミート培地(10ml)(ブドウ糖0.3%、可溶性澱粉0.5%を加えたDifcoクックドミート培地)に接種し、10倍、100倍希釈液は0.9mlを各々2本のクックドミート培地に接種する。各濃度の懸濁液を接種したクックドミート培地の1本は80℃、15分間加熱処理し、他の1本はそのままとする。

6) 各検体を接種した6本のクックドミート培地は、嫌気瓶を使用し、30℃で培養する。

7) 培養7日目に、菌の増殖(濁り)の見られた試験管から約1.5mlの検体を取り、遠心分離(10000rpm、15分間)して上清をゼラチン希釈液(pH6.2)で5倍希釈し、2匹のマウスの腹腔内に各々0.5ml注射し、4日間特異症状、生死を観察する。可能なら培養5、10日目に2回、あるいは、4、7、10日目に3回毒素

Table 1. Grouping of *Clostridium* spp. obtained from honey under the Japanese Pharmacopoeia

Sample No.	No. of isolated strains	Spores				Species with special growth requirement G-V
		subterminal		terminal		
		Gelatin liquefaction				
		-	+	-	+	
		G-I	G-II	G-III	G-IV	
1	6	●*1 ○○ ○○			●*5	n.d.
2	5	●*1 ○		●*4 ●*5	○	n.d.
3	7	○○ ○○	●*3	●*4 ●*5		n.d.
4	9	●*1 ○○○○ ○○○		●*4		n.d.
5	8	○○○○ ○○○	●*3			n.d.
6	4	●*2	●*3 ○○			n.d.
7	2	○			○	n.d.
8	4	●*1 ○○		●*4		n.d.
9	4	○○○	●*3			n.d.
Total	49	34	6	7	2	

○: *Clostridium* sp. G-I ●\*1: *C. butyricum* ●\*2: *C. sphenoides* G-II ●\*3: *C. perfringens*  
G-III ●\*4: *C. tertium* ●\*5: *C. ramosum* n.d.: not detected

の試験を行うこととする。

8) ボツリヌス菌の疑いのある菌株については、5%卵黄加ガム寒天平板培地、A、B、F型のタンパク分解性1群菌を分離するには、さらに卵黄寒天にサイクロセリン 250 µg/ml, スルファメトキサゾール 76 µg/ml, トリメトプリム 4 µg/ml を加えた CBI 培地を用い塗抹して、リパーゼ陽性の集落を分離する。リパーゼ産生は、卵黄寒天上の集落周囲のパーリー・レイヤーで判定する。G型菌はリパーゼ陰性であり、最近リパーゼ陰性集落を形成するE型菌が報告されている。

### 3. 実験動物ならびにその収容方法

ボツリヌス菌の検出用動物には SPF, ICR マウス(静岡農協) 4週令を使用した。ボツリヌス毒素取り扱いのバイオハザード基準は P2b である。そこで隔離室に FRP 微生物制御飼育装置(日本クレア(株))を設置し、この中に、4日分のマウス市販固形飼料と飲料水をセッしたトツパン簡易型マウスケージ(凸版印刷(株))を置き、1ケージ4匹一群のマウスを収容して、装置の外側から動物の挙動について観察を行った。

### 4. 嫌気性有芽胞菌の分離ならびに生化学的性状検査

嫌気性有芽胞菌の分離は、上述の蜂蜜中のボツリヌス菌検出法に示したクックドミート培地に発育したすべての試験管から行った。また、生化学的性状検査は、

嫌気性有芽胞菌であることを確認した菌株についてのみゼラチン液化(チオゲルメディウム)、溶血反応(15%兔脱繊維血液加ツアイスラー寒天平板)、レンチナーゼとリパーゼ反応(5%卵黄加ガム寒天平板)ならびに BBL ミニテック同定システムを使用した。

## 結果ならびに考察

### 1. ボツリヌス菌の検査

試料9検体それぞれを6本のクックドミート培地に接種した試験管54本のうち、52本に細菌の増殖が認められた。上述のボツリヌス菌検出法にしたがって、これら試験管の上清希釈液をマウス腹腔内に注射し、4日間にわたって観察を続けたが、ボツリヌス毒素の特異症状である腹壁の陥凹を伴う呼吸困難、けいれんなどの臨床所見ならびに斃死例は認められなかった。

以上の成績から局方ハチミツの試料9検体はいずれもボツリヌス菌陰性と判定した。

### 2. 嫌気性有芽胞菌の分類ならびに同定

増殖が認められた52本のクックドミート培地より、一白金耳量を血液寒天平板上に塗抹、嫌気的条件下に37°Cで48時間培養し、平板上に形成されたコロニーのうち、形態、色調などの異なるコロニーを釣菌した。9検体それぞれの試料から嫌気性有芽胞菌と確認されたこれらの分離菌株を、Bergey's manual<sup>2)</sup>にしたが



い、芽胞の位置、ゼラチン液化能で Group I から V (G-I~V) までに群別し、さらに VPI manual<sup>9)</sup>、BBL ミニテック数値同定表にしたがい菌種までの同定を試みた。その成績を Table 1 に示す。

分離された嫌気性有芽胞菌49菌株の群別は、G-I が 34菌株、G-II 6菌株、G-III 7菌株、G-IV 2菌株で、G-V に属するものは見い出されなかった。このうち、BBL ミニテック数値同定表(同定表)と Bergey's manual ならびに VPI manual に示される生化学的性状とがほぼ一致したと思われる分離菌株は、G-I では *Clostridium* (*C.*) *butyricum*, *C. sphenoides*, G-II では *C. perfringens*, G-III では *C. ramosum*, *C. tertium* の5菌種のみであった。

一方、生化学的性状が一致せず、同定できなかった菌株には、次のようなものがあった。すなわち、同定表では *C. perfringens* と同定されるにもかかわらず Bergey's manual ならびに VPI manual に示されるこの菌種同定の主要項目であるゼラチン液化、溶血性、レンチナーゼ産生がいずれも陰性を示す菌株、あるいは、*C. botulinum* B, E, F 型と同定されるにもかかわらず、その主要項目である溶血性、レンチナーゼ産生が陽性、リパーゼ産生が陰性の性状を示す菌株などが多数検出され、特に G-I では、分離した34菌株中同定された菌株は5菌株で、残りの29菌株はいずれも同定できなかった。さらに VPI manual では、分離された *Clostridium* のうち、5~10%が既知の菌種と一致せず、またこれらのものは非病原性であろうと思われる。

著者らが検索した局方ハチミツ9検体すべての試料から、偏在性芽胞を有し、ゼラチン液化能陰性、すなわち G-I に分類されるが同定できない *Clostridium* が数多く分離された。これらのクックドミート培地にお

ける培養上清液が動物実験ではマウスに何らの異常も観察されず、VPI manual で述べられたように、これらの分離菌株はいずれも非病原性の菌種と考察される。しかし、食中毒原因菌である *C. perfringens* ならびに臨床材料からしばしば検出される *C. sphenoides*, *C. ramosum* の各菌種が6検体から分離されたことは、食品衛生学的見地からみて、ハチミツ摂食においては乳幼児のみならず成人の食生活でも留意すべきであると思われる。

## ま と め

厚生省依頼の日本薬局方ハチミツ9検体についてボツリヌス菌検索を行った。

- 1) ボツリヌス菌は陰性であった。
- 2) 嫌気性有芽胞菌はすべての検体から検出された。
- 3) 嫌気性有芽胞菌中 *C. perfringens* が4検体より検出された。

## 文 献

- 1) 阪口玄二：モダンメディア, 26, 254 (1980)
- 2) 小久保弥太郎ら：東京衛研年報, 35, 192 (1984)
- 3) T. F. Midura et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 9, 282 (1979)
- 4) H. Sugiyama et al.: *J. Food Prot.*, 41, 848 (1978)
- 5) R. Flemmigund, V. Stojanowic: *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 31, 179 (1980)
- 6) 野田弘昌ら：第35回日本感染症学会，東日本地方総会講演要旨，p. 80 (1986)
- 7) R. E. Buchanan, N. E. Gibbons: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Ed., p. 529 (1974), Williams and Wilkins, Baltimore
- 8) L. V. Holdeman et al.: *Anaerobe Laboratory Manual*, 4th Ed., p. 79 (1977), Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia

環境保健基準 (EHC) 作成のための文献検索ならびに  
同基準引用文献についての考察  
—合成ピレスロイドの例—

橋場茂子

Some Considerations on Literature Retrieval for Preparation of Environmental  
Health Criteria (EHC) and on literatures Cited in EHC  
—The Case of the Draft EHC Synthetic Pyrethroids—

Shigeko HASHIBA

Analysis of the literatures retrieved using available on-line bibliographic databases for the preparation of the draft Environmental Health Criteria (EHC) on synthetic pyrethroids, which was entrusted to our Institute by the International Programme on Chemical Safety, revealed that 70% of the literatures cited by drafters in the draft EHC were those retrieved by on-line literature search, but that this was only 8% of the total literatures retrieved.

The efficiency of the TOXLINE file for the preparation of this kind of chemical safety document was recognized except for some weak point such as inability of retrospective search, exclusion of patent information and high cost.

Some specialized files such as PESTAB, which is now abolished, were also found to be efficient.

Because of the many citations found in the draft EHC from internationally evaluated documents, the need to make a thoroughgoing study of the retrieval and evaluation of these types of documents was deeply felt.

(Received May 30, 1987)

WHO, UNEP, ILO の共同事業である国際化学物質安全性計画 (IPCS) は、化学物質の人の健康と環境へのリスクの評価とその情報の伝達とを目標として、環境保健基準 (Environmental Health Criteria: EHC) を作成し、配布することを主要な業務の一つとしている。EHC は環境中の化学物質の人および環境への有害な影響について、これまでに得られた関連する重要不可欠とみなされる知見を専門科学者が総括し、一つの文書に要約することにより、今後の国際的および各国における化学物質安全行政や関連研究の推進に役立てようとするものである。EHC の作成は、加盟各国が公開文献をもとに原案を作成し、各国の行政および専門家による国際会議により最終的な評価文書が完成し出版される。1978年から現在までに64の化学物質、毒性試験法に関する EHC が発行されている。

当時は、IPCS のリード機関として1980年に本計画に参画し、家庭用化学品、農薬、天然毒物等についての EHC 原案の作成を行っている。

ここでは1981年より着手した8品目の合成ピレスロ

イドの EHC 原案に関連し、その際行った文献検索の結果と、EHC 原案に採録された文献の性格、引用の状況等について若干の考察を行ったので報告する。

## 調査対象と方法

### 1. 調査対象とした EHC 原案の品目

合成ピレスロイドとして総括される次の8品目である。

物質名	ケミカルアブストラクト 登録番号
1) Allethrin	RN= 584-79-2
2) Cypermethrin	RN=52315-07-8
3) Deltamethrin	RN=52918-63-5
4) d-Phenothrin	RN=26002-80-2
5) Fenvalerate	RN=51630-58-1
6) Permethrin	RN=52645-53-1
7) Resmethrin	RN=10453-86-8
8) Tetramethrin	RN= 7696-12-0

### 2. EHC の内容の構成

IPCS の EHC 作成方針に従って作成した合成ピレ

Table 1. Composition of TOXLINE subfiles

Code of subfiles	Institution of file construction	Corresponding secondary sources
CA (CBAC)	CAS	Chemical Abstracts, Chemical-Biological Activities
TOXBIB	NLM	Index Medicus
BIOSIS (HEEP)	BIOSIS	Abstracts on Health Effects of Environmental Pollutants
PESTAB	EPA	Pesticides Abstracts
IPA	ASHP	International Pharmaceutical Abstracts
EMIC, ETIC	ORNL	Chemical Abstracts, Biological Abstracts, Bio Research Index, Genetic Abstracts, Carcinogenesis Abstracts, Cancer Chemotherapy Abstracts, Teratology Lookout
TD3 (NTIS)	NTIS	Toxicology Document and Data Depository
SSIE	SSIE	Toxicology Research Project Directory, Epidemiology Research Project Directory

Table 2. Number of literatures retrieved from each pertinent file

Name of file	Coverage of file	Number of literatures	
		1st retrieval (1981. 09)	2nd retrieval (1983. 01)
TOXLINE	1977. 01~1981. 09	1283	
	1981. 10~1982. 11		631
CAS	1972~1976	317	
	1967~1971	99	
BIOSIS	1969~1976	219	
JICST	1981. 04~1983. 02		252
Total		1527	883

スロイドの原案は次のような章で構成されている。

- 1章 要約と提案
- 2章 同定, 物理化学的性質と分析法
- 3章 環境汚染源と環境濃度
- 4章 環境中での移動, 分布, 変換
- 5章 生体内動態と代謝
- 6章 動物実験と *in vitro* 試験  
急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性および癌原性等特殊毒性
- 7章 人への影響
- 8章 環境への影響

### 3. オンライン文献検索

オンライン文献検索はデータベースとして TOXLINE, CAS, BIOSIS および JICST を用いて行った。まず1981年9月に TOXLINE を用いて検索を行い、その後 TOXLINE でカバーできない1977年以前の文献検索について、BIOSIS および CAS を用いて検索

した。また二度目の検索を1983年1月に TOXLINE を使って行い、第一回検索時以降の文献を出力した。

TOXLINE および CAS での検索は、各品目の名称と CAS Registry No. (RN) の両方を用い、重複を省きながら検索した。

因みに、TOXLINE は米国国立医学図書館が作成、提供するファイルで Table 1 に示す9種のサブファイルで構成されており、CAS, BIOSIS 等夫々の作成機関が独自に作成しているファイルから毒性およびその周辺領域に関する文献情報をとり出して再編成したものである。

### 4. EHC 原案の採録文献

合成ピレスロイド各品目原案の引用文献欄にある引用文献を8品目について全部集め、重複文献を除き、著者のアルファベット順に並べ変えた。このようにして得られた全文献数は285件であった。

Table 3. Number of literatures cited in each draft Environmental Health Criteria (EHC) of different synthetic pyrethroids

Section of draft EHC	Code of each pyrethroids								Total
	A	C	D	d-	F	P	R	T	
2	10	14	9	10	23	31	11	6	114
3	3	8	6	3	6	7	3	2	38
4	8	8	5	3	10	16	2	1	53
5	3	12	5	6	6	10	5	6	53
6	22	5	18	6	7	10	14	8	90
7	0	2	2	1	1	1	0	0	7
8	9	8	10	2	19	33	7	1	89
Total	55	57	55	31	72	108	42	24	444

A=Allethrin, C=Cypermethrin, D=Deltamethrin, d-=d-Phenothrin, F=Fenvalerate, R=Resmethrin, T=Tetramethrin

Section 2: identity, physical and chemical properties, analytical methods

Section 3: Sources of human and environmental levels

Section 4: Environmental transport, distribution and transformation

Section 5: Kinetics and metabolism

Section 6: Effects on experimental animals and *in vitro* test systems

Section 7: Effects on man

Section 8: Effects on organisms in the environment

Table 4. Journal or books from which literatures are highly cited in each section of EHC

Ranking	Journals or books	Citation frequency	Section of draft EHC (number of literat cited)
1	J. Agric. Food Chem.	34	4(15), 5(12), 2(6), 6(1), 8(1)
2	Bull. Environ. Contam. Toxicol.	17	2(11), 8(7), 4(2)
3	Pestic. Biochem. Physiol.	16	6(9), 5(7), 4(2)
4	FAO/WHO Pesticide residues in food	15	3(6), 6(5), 2(3), 7(3), 8(3)
5	J. Pestic. Sci.	15	4(8), 5(5), 2(1), 8(1)
6	The Pesticide Manual	15	2(15)
7	Pestic. Sci.	13	2(4), 4(4), 6(3), 5(2)
8	Agr. Biol. Chem.	8	2(6), 4(1), 5(1)
9	Farm. Chem. Handbook	8	2(8)
10	J. AOAC	7	2(7)
11	Environ. Entomol.	6	8(6)
12	J. Econ. Entomol.	6	8(4), 2(1), 4(1)
13	Mosquito News	4	8(4)
14	Toxicol. Appl. Pharmacol.	3	8(3), 6(1)
15	Xenobiotica	3	5(3)
16	Nature	3	2(3), 4(1), 5(1)

## 調査結果と考察

### 1. 各データベースにより検索された文献数

オンライン文献検索の結果は Table 2 に示す通りである。安全性評価すなわち毒性評価が目的である EHC 原案作成のための文献検索はデータベースと

して第一に TOXLINE を選択した。TOXLINE のサブファイル (Table 1) の中では EMIC, ETIC 以外は古い文献の入力がなく、農薬の検索に重要な PE-STAB は 1982 年 1 月で入力中止となっている。SSIE もほぼ同じ時期に中止されたが、これは文献情報ファイルではないので用いなかった。その他パテント情報、

Table 5. Number of literatures cited in draft EHC, and retrieved/not retrieved from each pertinent file

TOXLINE	CA (CAS)	HEEP (BIOSIS)	PESTAB (EPA)	EMIC (ORNL)		Total
	87	24	52	1		164
CAS	27					27
BIOSIS		8				8
JICST					3	3
Not retrieved						83
Total	114	32	52	1	3	285

各サブファイルからの重複文献を除いた。遡及検索のために用いた CAS と BIOSIS の出力重複文献を除くと1527件となった。2回目の検索では、TOXLINE による出力総件数は631件であり、JICST による検索では用語シソーラスの上位語、合成ピレトリンで検索し、252件を出力した。

## 2. EHC 原案の引用文献

合成ピレスロイド8品目の引用文献欄に記載された文献数は Table 3 に示す通りである。同一文献が2種以上の品目に引用されている場合には、両者の数とし、同一品目の評価文献でも複数の章にわたるものは夫々の章の数とした。8品目中 permethrin (108件) が最も引用文献が多く、次いで fenvalerate (72件) であった。また文献数の多い章は2章“同定、物理化学的性質と分析法”(114件)で、3章“環境汚染源と環境濃度”(38件)は反対に文献数が少く、この中には検索で出力された文献は1件も採録されていなかった。その文献の半数は国際機関発行の評価文書であり、その他要覧、情報誌等であった。さらに少ないのは7章“人への影響”(7件)で、ここでは検索による出力文献2件が採録されていた。品目間の重複、章間の重複を除いた全引用文献数は285件になる。この285件の情報源はほとんど雑誌で若干の特殊資料も含むが、その総数は92で、この中で引用頻度の高い雑誌または書名を Table 4 に示した。引用された回数と章およびその章に引用された回数も付記した。複数章に引用された場合は両者の数とした。引用される回数が群を抜いて多かったのは、J. Agric. Food Chem. であり、4章“環境中での移動、分布、変換”および5章“生体内動態”に引用される頻度が多い。

FAO/WHO の農薬評価資料が引用頻度で第4位と上位のため、また2, 3, 6, 7および8章と広く引用されていることは、この種の国際的な評価文書の重要性を実証していると思われる。

Table 6. Keywords for retrieval of the literatures relevant to each section of draft EHC

Section* of draft EHC	Keywords	Covered (%)
2	determination, analysis chromatography residue (s)	75
3		
4	degradation (photodegradation) photodecomposition, soil photostable, metabolism	25
5	metabolism excret (&), distribution	90
6	toxicity poison, hazard carcinogen (&), mutagen (&) nerv (&)	40
7	toxicity, occupational	
8	toxicity hazards, exposure	80

(&): truncation

\*: see Table 3

## 3. EHC 原案に採用されたオンライン検索文献数

EHC 原案の引用文献285件の内オンライン検索によって出力された文献の状況を Table 5 に示した。TOXLINE のサブファイル CA の出力件数が一番多く、次いで農薬を扱う PESTAB からの出力が多かった。

TOXLINE の CA および遡及検索に用いた CAS から出力された文献114件の内、CA セクション4の toxicology が付与されているもの55件、CA セクション5の agrochemicals は39件あり、これを合せると約83%を占めている。

BIOSIS のコンセプトコードは包括的な検索には適している。今回の検索でも pyrethroid (s) その他の名称で検索した件数の 85% に toxicology のコード番号 2250 が付与されていた。BIOSIS から検索した 8 件にはすべてに、このコードの付与があった。

TOXLINE には統一したシソーラスはなく、サブファイルによって TOXBIB, ETIC, EMIC にはキーワードの付与はあるが、CAS と HEEP はタイトル、抄録中からの切り出し語がキーワードとなっている。その他ケミカルアブストラクト登録番号 (CAS RN) は TOXBIB (1980 年以降付与)、SSIE, NTIS を除く他のサブファイルには付与されている。

的確な文献の検索を行う一つの方法としてタイトル中に pyrethroid (s) あるいは個々の名称がある文献を検索する方法があり、今回も約 85% がこの例に入るが残る 15% はこれらに代って insecticide (s), pesticide あるいは chemical (s), 異性体の側鎖を表す化学名などがタイトル中にみられた。

#### 4. EHC 原案の各章におけるキーワード

原案の各章に適合するキーワードを文献のタイトルと抄録の中から選択し Table 6 に示した。農業特有のキーワードもあり、普遍的なものではない。

### ま と め

IPCS の合成ピレスロイド 8 品目の EHC 原案作成

のためのオンライン検索を行ったが、執筆者が評価対象として用いた文献集の中の約 70% が検索によって出力した文献であった。ただし、この件数はオンライン検索によって出力された全件数の平均約 8% に過ぎなかった。今回は名称と CAS RN のみを用いた検索であり、効率よい検索のためのキーワードを検討したが、好結果は得られなかった。

オンライン文献検索に用いたデータベースは主として TOXLINE であるが、安全性評価の文書作成のための検索用としては有用であった。欠点としては遡及検索が出来ないこと、パテント情報が除けないこと、コストが高いこと等があげられるが、包括的な検索には適している。なお、農業の専門ファイルである PESTAB の有効性も確認されたが、現在このファイルは廃止されたため、この種の代替ファイルについて今後検討する必要がある。

合成ピレスロイドの EHC 原案作成にオンライン検索では検索されない国際機関発行の評価文書が非常に有効に使われていた。今後、化学物質の安全性評価資料の作成に際して、このような評価文書を網羅的に検索できる手段を検討する必要がある。

### 文 献

- 1) 森川夏子：情報管理, 23, 451 (1980)

# 業 務 報 告

## Annual Reports of Divisions

### 昭和 61 年度 業務 概況

所 長 谷 村 顕 雄

閣議決定に基づく「国立試験研究機関の整理合理化の実施について」等を受けて、昨年来検討を進めてきた当所組織の見直しについては、本年度も将来計画検討委員会を中心として精力的に検討が進められ、大阪支所の在り方、薬用植物栽培試験場の整理統合等を含め、具体的に検討されている。当所が社会的要請により適切に responding していくためにも、できるだけ早い機会にその見直しを完了する必要があるため、引き続き関係委員をはじめ全職員の協力を期待している。

本年度で終了する第6次定員削減計画に引き続き、第7次定員削減計画が実施されることとなり、当所においても62年から66年度までの5年間で18名の定員削減が課せられている。増大する業務量を考慮した場合、極めて深刻な事態であるが、全職員の努力をもって克服していかなければならない問題である。

官民共同研究の促進等を目的として、本年5月、研究交流促進法が制定され11月から施行された。これにより外国人研究者の登用や国有研究施設設備の民間への開放等が可能となったほか、特筆すべきは国研研究者にとって従来と全く不自由であった学会、研究集会等への参加について新しい道が開けたことである。すなわち、従来は国の研究にとって真に有益なものであっても、予算的措置のあるもの等極く限られた範囲のものを除いては、休暇により個人的に参加していたが、本法の制定により一定条件に該当し業務に支障のない場合には、その参加期間について職務専念義務が免除される方法で参加できることとなったものであり、これが活用により、より研究の充実、促進が図られていくものと期待できる。

昨年、厚生省が策定した厚生科学技術研究の総合的

な振興方策に基づき、①官民共同プロジェクト研究（生体防御機構の解明、医用材料およびバイオテクノロジーの研究）、②プロジェクト支援事業（国内外の流動研究員の活用および国際共同研究の促進等）、③国立試験研究機関における民間からの受託研究事業の受入れを柱とした長寿関連基礎科学研究が本年度から発足し、これに伴って（財）ヒューマンサイエンス振興財団も設立された。

当所においては、20テーマ（56,555千円）の受託研究と5名の流動研究員を受入れたほか、2つの国際共同研究テーマに参画したが、今後もこれらの研究が継続されることにより、その成果が期待されている。

国際関係業務については、年々拡大する傾向にあり、一部は通常業務化した感がある。本年も国際協力関係では、国際環境計画（UNEP）、WHOの国際化学物質安全性評価計画（IPCS）、特定地域における有害物質の人体曝露評価計画（HEAL）、国際食糧農業機関/世界保健機関（FAO/WHO）合同食品・飼料汚染物モニタリング計画等への積極的な協力のほか、技術援助関係では、当所の指導のもとに昨年開所したインドネシアの医薬品食品管理試験所へのその後の技術指導をはじめ、中国、東南アジア等からの技術指導要請や研修員の受入れ要請等に応じてきた。

施設整備関係では、4号館・10号館の動物舎をGLP適応施設とするため、老朽化した16号館の建替えのほか、これに関連する汚水処理等環境面での改善整備を図った。

全国衛生化学技術協議会の第23回年会は10月2日、3日長崎県衛生公害研究所の主催により、長崎市で開催された。当所から「精度管理について」の特別報告

が行われたほか、多数の発表が行われた。

第十一改正日本薬局方は、本年4月1日に公布されたところであるが、本年は、明治19年に初版日本薬局方が公布されて以来、100年を迎えることから、これを記念して、厚生省は10月31日に「日本薬局方公布100周年記念式典」を挙行了した。式典は多数の関係者が列席し盛大に行われたが、局方作製に功績のあった個人として、当所関係では石館守三、下村孟両名誉所長が表彰された。

## 総 務 部

部長 志 多 良 介  
前部長 池 上 忠 義

### 1. 組 織

昭和61年度等級別定数の改訂により、研究職新2等級へ3名の切上げが認められた。

### 2. 定 員

昭和60年度末の定員は293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、行政職(二)1名、研究職2名、計4名の定員削減により、昭和61年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)48名、行政職(二)32名、研究職207名、計289名となった。

なお、昭和62年度は、先端技術応用医薬品等の品質確保業務を強化させるため、研究職(主任研究官)1名(6月)の増員が認められている。

### 3. 予 算

昭和61年度の予算総額は、2,902,934千円で前年度の2,740,838千円に比較して162,096千円の増額となった。

増額の主な内容としては、①昇給原資等による人件費の増額76,813千円、②一般事務経費の自動車交換差金等の増額1,408千円、③標準品製造費の酢酸トコフェロール他6品目の追加による増額934千円、④対がん10か年総合戦略経費の運営費等の増額23,007千円、⑤施設整備に必要な経費の増額2,962千円である。

また、新規予算としては、受託研究費56,555千円(①高分子材料を利用した薬剤および医用高分子材料の安全性、有効性の評価技術の開発24,237千円、②生体微量物質(酵素、ホルモン等)の分離技術の開発およびそれらの遺伝子に関する研究24,212千円、③バイオテクノロジーを用いて開発された食品添加物の化学的安全性評価に関する研究8,106千円)が認められた。

移替予算については、昭和61年度予算は138,272千円で前年度の138,236千円に比較して36千円の増額と

なっている。

新規課題としては、国立機関原子力試験研究費において2課題(①標識化合物を利用する食品汚染物質の分析法の開発に関する研究13,994千円、②柑橘類等のγ線照射の有無判別法および健全性に関する研究22,872千円)、国立機関公害防止等試験研究費において1課題(公共用水域の保全に係る高分子凝集剤の評価に関する研究1,668千円)が認められた。

なお、昭和61年度事項別予算額は別表のとおりである。

### 4. 施設整備費等

#### (1) 厚生本省試験研究所施設整備費

昭和61年度は、GLP対応動物舎等改修工事(49,134千円)および2号館給水管改修工事(29,854千円)を行った。

#### (2) 各所修繕費(特別修繕費)

本所 RI 廃液貯留槽ライニング工事(2,933千円)を行った。

### 5. その他

昭和61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。

#### (61.4.1付)

生物化学部長 田中 彰(医化学部長)

医化学部長 高橋 惇  
(安全性生物試験研究センター薬理部生化学薬理研究室長)

衛生微生物部長 三瀬 勝利  
(安全性生物試験研究センター変異原性部微生物変異研究室長)

衛生微生物部長事務取扱解除 谷村 頭雄(副所長)

大阪所長事務代理 伊阪 博(大阪支所薬品部長)

#### (61.7.1付)

大阪支所長 伊阪 博(大阪支所薬品部長)

大阪支所薬品部長事務取扱 伊阪 博(大阪支所長)

大阪支所長事務代理解除 伊阪 博(大阪支所長)

#### (62.1.1付)

辞 職 堀越 司(和歌山薬用植物栽培試験場長)

和歌山薬用植物栽培試験場長 野口 衛(生薬部生薬第二室長)

#### (62.3.31付)

辞 職 鈴木 郁生(所長)

辞 職 大森 義仁(安全性生物試験研究センター長)



## 資料 昭和 61 年度 予算 額

事 項	昭和60年度 (A)	昭和61年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
	(千円)	(千円)	(千円)	
(組織)厚生本省試験研究機関	2,602,602	2,764,662	162,060	
(項)厚生本省試験研究所	2,361,709	2,520,807	159,098	
国立衛生試験所運営費	2,361,709	2,520,807	159,098	
人 件 費	1,649,754	1,726,567	76,813	
人 当 経 費	7,521	7,463	△ 58	
一般事務経費	38,640	40,048	1,408	
研 究 費	222,280	222,470	190	
特別研究費	16,386	16,078	△ 308	1. 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) 2. 生活関連諸物質に含まれる微量有害成分の体内動態ならびに毒性発現機構に関する研究 (6,941千円)
標準品製造費	10,437	11,371	934	
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	104,544	393	
情報活動運営費	13,139	13,139	0	
施設管理事務経費	17,117	17,281	164	
対がん10か年総合戦略経費	66,992	89,999	23,007	
受託研究費	—	56,555	56,555	1. 高分子材料を利用した薬剤および医用高分子材料の安全性有効性の評価技術の開発 (24,237千円) 2. 生体微量物質(酵素, ホルモン等)の分離技術の開発及びそれらの遺伝子に関する研究 (24,212千円) 3. バイオテクノロジーを用いて開発された食品ならびに食品添加物の化学的安全性評価に関する研究 (8,106千円)
(項)血清等製造及び検定費	164,867	164,867	0	
医薬品等の国家検定及び検査費	164,867	164,867	0	
一般事務経費	12,415	12,415	0	
事 業 費	152,452	152,452	0	
(項)厚生本省試験研究所施設費	76,026	78,988	2,962	
国立衛生試験所施設整備費	76,026	78,988	2,962	1. GLP 対応動物舎等改修工事 (49,134千円) 2. 2号館給水配管改修工事 (29,854千円)
(組織)厚生本省試験研究機関	138,236	138,272	36	
(項)国立機関原子力試験研究費	64,538	88,408	23,870	
(項)放射能調査研究費	1,593	1,593	0	
(項)国立機関公害防止等研究費	72,105	48,271	△ 23,834	
計	2,740,838	2,902,934	162,096	

## 合成化学研究部

部長 神谷 庄造

## 概要

当部の研究業務は、昨年度に引き続き、一般的に順調に進展した。本年度は特に、生物系三部との共同研究のウェイトが大きくなったが、当所をとりまく情勢の変化に対応して、今後、他部との共同研究をさらに進める態勢にある。また、従来通り、当部の長年にわたる経験と知識を生かして、業務行政にかかわる各種の委員会、調査会に参画し、貢献した。

## 研究業績

本年度は、継続のものとしては、ホルムアルデヒド、ニトロ多環芳香族炭化水素などの環境汚染物質の毒性発現機構に関する化学的研究、抗腫瘍性物質の作用発現機構に関する化学的研究、BHA・BHT(食品添加物)などの安全性にかかわる化学的検討、標識化合物やモデル化合物の合成などを行った。

また、調査研究としては、高分子医薬品添加物の構造特性と安全性に関する調査(薬務局審査第二課)、繁用されている医薬品添加物の調査・整理、食品添加物および製剤工程で使用されるパラフィン類中に含有される多環芳香族化合物の定量法の検討、などであった。以下、各項目について簡単に述べる。

## 1. 生理活性物質の作用発現に関する化学的研究

i) carbon one unit であるホルムアルデヒドは、環境汚染物質の一つである。また、その発癌性が知られている。当部ではホルムアルデヒドの発癌機構について検討しているが、本年度は、 $\alpha$ アミノ酸12箇よりなるペプチドとホルマリンの反応を行い、反応成績体の構造を調べた。その結果、ペプチド分子中に複雑なメチレン橋を形成すること、このメチレン橋の形成はペプチドの開裂を容易にすることなどを明らかにし、さらに、二、三の分解物の構造を決定した。

ii) 当部でここ数年来実施してきた抗腫瘍性化合物の合成研究のなかで、280種の新化合物を合成し、その抗腫瘍性をスクリーニングした。見出された有望な化合物群のスクリーニング結果、腫瘍細胞レベルにおける活性化学種の生成ならびに作用発現機構について、新規な化学反応を含め衛生試験所報告第104号に総説として発表した。また、本総説とは別に、これらの研究のまとめを「反応と合成の進歩-ライフサイエンスを志向した理論、反応および合成-シンポジウムに」において発表した。

## 2. 生理活性物質の合成と化学反応に関する研究

i) 汚染大気中に含有される  $\text{NO}_x$  と多環芳香族炭化水素類との反応により、強力な発癌性ニトロ多環芳香族化合物が生成することが知られている。本年度は、benzo[a]pyrene [BaP] が  $\text{NO}_x$  によりニトロ化されて生成すると考えられる 1,6-dinitro BaP および 3,6-dinitro BaP を合成し、その変異原性と化学反応を検討し、さらに、変異原性の発現機作を考察した。

ii) 抗腫瘍性ニトロソ尿素誘導体の反応性に関する研究

昨年に続いて、合成研究の過程で得られた次のような新規反応について、さらにくわしく検討し、報告した。a. ニトロソ基の 1,3 転位、b. トリアツェン誘導体への変換、c. カルバミン酸ジアゾエテスルへの変換、d. 環化反応など。また、これらの化合物の生体内分解反応様式についての基礎的な知見を得る目的で、これらの化合物の分解にかかわる立体化学的要素を検討し、さらに、速度論的にも検討した。

iii) 抗酸化剤として繁用されている *t*-ブチルヒドロキシアニソール (BHA) および 2,6-ジ-*t*-ブチル-*p*-クレゾール (BHT) の安全性評価のため、BHA・BHT およびこれらの代謝物の化学的反応性を調べることにより毒性発現の可能性を検討している。(生活衛生局食品化学課) これらの化合物の生体内酸化反応を予測するために、先ず酸化剤としてオキセン様酸化剤として多用される *m*-クロロ過安息香酸およびチトクロム P-450 酸化に類似している 2-ヨウソ-*m*-キシレンを用いて酸化反応を検討した。その結果、後者による酸化反応により、BHA は *t*-ブチルキノンに酸化されること、また、この *t*-ブチルキノンは蛋白質など生体高分子のモデル化合物としての *N*-アセチルシステインと反応し、付加体を生成することを確認した。

iv) 赤色 105 号化合物の安全性を調べるにあたり、製造の過程で生成すると考えられる副生物の合成を検討した。4,5,6,7-テトラクロロフルオレセインをヨウソ化し、モノヨウソおよびジヨウソ化体を合成し、サンプルとして提供した。

v) 薬用植物の優良品種の選抜法の開発に関する研究は、昨年度に引き続きノル(-)-スコボラミン-*N*- $\beta$ -プロピオン酸を合成し、蛋白複合体の原料として提供した。さらにエフェドリン誘導体の合成についても検討中である。

(3) 当部より3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、化粧品原料基準などの公定規格書の作成に参画している。本年度は、第一部(医薬品原料、581品目)および第二部(医薬品添加物、

66品目)よりなる「日本薬局方外医薬品成分規格1986」を発行した。(薬務局安全課, 審査第二課)また, 医薬品の試験規格の作成についての研究法を発表した。

## 薬 品 部

部 長 武 田 寧

### 概要

昭和62年4月1日付けで, 内山 充前薬品部長は副所長に昇任し, その後任に武田 寧薬品第一室長が発令された。昭和62年3月31日付けで柴崎利雄薬品第二室長が定年退官した。同4月1日付けで, 薬品第一室長に青柳伸男主任研究官が, 薬品第二室長に吉岡澄江主任研究官が, また昨年来空席であった麻薬室長に中原雄二警察庁科学警察研究所主任研究官が, それぞれ任命された。

昭和61年度も前年度に引続き, 生物薬剤学的評価法の確立, 医薬品の安定性予測法の検討, 新しい医薬品試験方法の開発, 麻薬・覚醒剤の鑑定法の検討などを実施した。なお, 生物薬剤学的試験の技術指導のため, 青柳伸男主任研究官(昭和61年8月8日~9月22日)および鹿庭なほ子技官(昭和61年11月8日~62年1月3日)がインドネシアへ出張した。

### 業務成績

#### 1. 国家検定

ブドウ糖注射液 410 件を試験した。

#### 2. 国家検査

リングル液 1 件を試験した。

#### 3. 特別審査試験

新薬116件およびかぜ薬・解熱鎮痛薬45件, 合計161件につき試験した。

#### 4. 一斉取締試験

レセルピンを含有する内服固型剤(16品目), 塩酸ピロカルピンを含有する点眼薬(9品目), フェノバルビタールを含有する内服剤(28品目), 臭化ブチルスコポラミンを含有する内服固型剤(23品目)について試験した。

#### 5. 特別行政試験

あへんの試験78件(国産あへん27件, 輸入あへん51件), およびけしのアルカロイド定量試験300件(モルヒネ150件, コデイン150件)を実施した。

#### 6. 標準品の製造

向精神薬 MDA (Methylenedioxyamphetamine) 20 g, および DOB (2,5-Dimethoxy-4-bromoamphetamine hydrochloride) 20 g を合成し, 行政当局に供給

した。

#### 7. 国際協力

国際協力事業団による技術協力, インドネシア国立薬品食品品質管理試験所プロジェクトおよびフィリピン食品薬品検定センタープロジェクトに協力した。国際厚生事業団の事業にも協力した。

#### 8. その他

日本薬局方外医薬品成分規格作成, 国連麻薬委員会専門家会議, 地方衛研技術者講習会, 麻薬覚醒剤に関する技術情報収集, 第十一改正日本薬局方英訳などに協力した。

### 研究業績

#### 1. 医薬品の規格および分析法に関する研究

##### i) 日本薬局方の規格および試験方法に関する研究

日本薬局方収載固形製剤の溶出試験を行い, 日本薬局方溶出試験法の設定基準と試験条件に関し検討した(厚生科学研究費, 薬務局安全課)。含量均一性試験の判定基準を統計学的に評価した。乳酸ブレンラミン錠の液体クロマトグラフ法による定量法を検討した。リン酸コデインおよびリン酸ジヒドロコデインの薄層クロマトグラフ法による純度試験を検討した。

##### ii) 医薬品の分析化学的研究とその応用

アクリノールガーゼ中のアクリノール定量法について検討した(公定書協会)。パップ剤中のサリチル酸メチルの水蒸気蒸留法による定量法を検討した。動物飼料に添加したケルセチンを分析した(厚生省がん研究費国立がんセンター運営部)。生薬を含有する製剤の統一試験法を作成するため生薬エキス剤の高速液体クロマトグラフィーについて検討した。注射用水の製造に関するバリデーションについて検討した(厚生科学研究費, 薬務局監視指導課)。フェノチアジン骨格を有する医薬品の迅速分析法を開発した(薬務局監視指導課)。ラボラトリーロボットを用いたレセルピン製剤の自動分析システムを確立した。ラボラトリーロボットを用いて呈色反応条件を最適化するシステムを確立した。Kalmann filter による信号処理を液体クロマトグラフ法による医薬品分析のデータ解析に応用した。

#### 2. 医薬品の物理・化学的安定性に関する研究

固体状態における医薬品の分解性に関し, フェニルブタゾンの酸化分解について基礎的な検討を行った。医薬品の光学異性体の分解性に関し, オキサゼパムのラセミ化について速度論的に検討した。医薬品の安定性予測試験法に関し, ビタミンK錠およびビタミンA滴剤について等温法により検討した。低角度レーザー光散乱計を生分解性高分子の分解性試験に適用するた

めの基礎的検討を行った(HS財団受託研究費)。

### 3. 医薬品の有効性,安全性に関する薬剤学的研究

Population pharmacokineticsの生物学的利用性評価における有用性をプログラムNONMEMを用いて検討した。インドメタシン坐剤について,バイオアベイラビリティの変動と直腸膜透過性との関連について検討した。徐放性製剤(経口投与剤形)の評価指針案を作成した(厚生科学研究費,薬務局審査第一課)。徐放性製剤の設計および評価技術の確立に関し,顆粒製剤の胃内容物排出速度について検討するとともに,溶出試験の各種判定基準を統計学的に評価した(HS財団受託研究費)。放出調節剤の評価技術の開発について,評価基準の整合に関し米国FDAと打ち合わせるとともに,評価試験法につき検討した(HS財団国際共同研究)。医薬品添加物と薬物との相互作用による生物学的利用性の変化を検出する試験法に用いる指標物質として塩酸クロルプロマジンを検討した(原子力研究費,科学技術庁原子力局)。

### 4. 麻薬および習性薬物に関する研究

#### i) 尿中覚醒剤類似物質の鑑定に関する研究

尿中覚醒剤およびその代謝物の分析について,コンウェイ微量拡散法の応用等の前処理法およびキャピラリーGC/MSによる分析法を確立し,サルにおけるメタンフェタミン,ジメチルプロパミン,デプレニルの尿中代謝物の経時動態を検討し,さらに塩酸エフェドリン,塩酸メチルエフェドリンの尿中代謝物について,ヒトおよびサルを比較検討した(厚生科学研究費,薬務局麻薬課)。

#### ii) 向精神薬の微量分析法に関する研究

DOBおよびMDAにつき,各種スペクトルデータを測定するとともに,鑑定法を確立した。

#### iii) けし,大麻およびコカ葉に関する研究

筑波,和歌山の各栽培試験場で採取された多系統のあへん中のモルヒネおよびコデインの含量を測定し,前年度と比較検討した。

## 生物化学部

部長 田中 彰

### 概要

昭和62年4月1日付けで木村俊夫標準品製造室長が大坂支所薬品部長へ転出し,後任に福岡正道医化学部第一室長が就任した。JICAの依頼により福田第一室長は61年5月10日から8月10日まで,木村標準品製造室長は11月8日から12月24日まで,徳永技官は62年1

月15日から4月14日までいずれもインドネシア国立薬品食品品質管理試験所へ技術指導のための出張した。また谷本第二室長は61年9月10日から一年間の予定で米国NIHの国立眼研究所へ出張中であり,早川第三室長は62年4月11日から16日まで先端技術による医療用ペプチドおよびタンパク質の評価に関する国際シンポジウムに参加のため米国へ出張した。

昭和61年11月20日付けでHS財団の流動研究員として小島尚氏が当部に配属された。

### 業務成績

#### 1. 国家検定および検査

インシュリン製剤58件,脳下垂体後葉製剤(オキントシン注射液46件,パソプレシン注射液2件)計48件について検定を行い,全件合格であった。

#### 2. 一斉取締試験

ブロメラインを含有する内服固形剤10件について試験を行い,そのうち8件が含有規格に適合した。

#### 3. 特別審査試験

酵素製剤など33件について審査を行った。

#### 4. 標準品製造

昭和61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。

#### 5. その他

日本薬局方第12改正に伴う業務(薬務局安全課,組換えDNA応用医薬品および医薬部外品等の製造指針に関する業務と研究(厚生科学研究費,薬務局審査第一課および第二課),宇宙ライフサイエンス予備実験計画のうち,無重力環境下を利用した新材料の創製,生体系試料の分離,精製,調整技術に関する研究推進に関する協力(科学技術庁研究開発局,宇宙開発事業団),医薬品原料および添加物の規格整備に関する検討(厚生科学研究費,薬務局審査第二課)などを行った。

また第12改正薬局方収載医薬品の試験法,生理活性物質製剤の規格および試験法,組換えDNA技術を利用して生産される医薬品の品質確保に関する啓蒙活動への協力(日本薬剤師会,日本公定書協会,薬理学懇談会)を行うと共にバイオテクノロジー医薬品の前臨床安全性試験に関する国際交流集会などへも参加した。

### 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

デオキシコルチコステロンおよびコルチゾンを用いて,ピロールによる呈色物質の構造検索および呈色機構の検討を行った。

ii) オキシトシン, レセルピ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り, 製剤中の上記化合物の純度試験および定量法について検討した。

iii) 塩化リゾチームの定量法に関する研究

新合成基質 (PNP-(glcNAc)<sub>5</sub>) を用いて塩化リゾチームの定量条件を検討し, この方法の塩化リゾチーム製剤 (風邪薬を含む) への適応性を検討した。また塩化リゾチームに混在する微量成分の分離精製とその酵素科学的性質の検討を行った。

iv) 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, 厚生省) ヒト成長ホルモンに対する *in vitro* bioassay 系の開発を目指して, マウス肝細胞, マウス皮膚線維芽細胞について, 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全性に関する生化学的研究

i) 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

白血球の食作用に伴う水酸ラジカルの生成量に対する SH 化合物の影響について検討した。

ii) 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

各種細胞培養法を利用して生産される医薬品の承認審査のための基礎的研究を行った。(厚生科学研究費, 野島班, 薬務局審査第一課)

iii) バイオテクノロジーにより生産される医薬品の試験的製造とその性状に関する研究

化学合成遺伝子を用いて大腸菌で産生されたヒト成長ホルモンの生物活性および免疫化学的反応性について検討した。

iv) 標識化合物と細胞工学的手法の利用による医薬品, 生活関連物質等のアレルギー感作性およびその安全性評価法の確立に関する研究

IgE 親和性細胞を利用した抗原特異的 IgE 抗体の測定法について検討した。

3. 生体内活性物質の作用機序に関する研究

i) 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

糖尿病性の白内障の予防, 治療に有効なアルドース還元酵素阻害剤の合成に関する文献調査と基本的合成原料の製造を行った。

ii) リゾチームの化学修飾に関する研究

リゾチームを活性化ポリエチレングリコールで修飾し, リゾチームの抗原性の低下, および活性の変化の検討を行った。

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

新たに配布する予定のコルチコイド標準品の中で, フルオロメトロン, フルドロキシコルチド, プロピオン酸ベクロメタゾン, 酪酸ヒドロコルチゾン, 酪酸デキサメサゾンの5種類の品質規格の設定を行った。

ii) ジギトキシン, シアノコバラミン, 葉酸, 塩酸チアシン液, 胎盤性性腺刺激ホルモン, リゾチームの各標準品の新ロットへの更新を行った。

iii) 生物活性等試験用標準品の設定に関する研究

インシュリン, オキシトシンの標準品につき, 生物活性と同時に化学的試験にも適用するための品質規格の検討を行った。

## 放射線化学部

部長 寺尾 允 男

### 概要

昭和61年度は試験業務として放射能汚染輸入食品の検査を, 食品部および環境衛生化学部と協同で行った。研究業務としては前年度に引き続き, 1) 放射性医薬品に関する研究, 2) 重金属, 特に鉛の生体内動態に関する研究, 3) 免疫担当細胞の機能に関する研究, 4) 生体膜の機能と構造に関する研究, 5) 遺伝子組換え等を利用して生産される医薬品に関する研究, 6) イムノアッセイ等を用いる超微量検出法の開発, 7) 依存性薬物の研究, を行った。さらに, 昭和61年度から新たに HS 財団の受託研究として, 生体微量物質の分離技術の開発研究を行った。

昭和60年12月から昭和61年3月まで, コロンボ計画による研修生として, タイ国の Noppavan Janjai 氏が滞在した。

### 業務成績

1. 放射能汚染輸入食品検査

食品部および環境衛生化学部と協同して, 放射能汚染輸入食品の検査を行った結果, ナッツ類, 香辛料など9品目中の <sup>137</sup>Cs と <sup>134</sup>Cs の和が暫定基準値を越えていることが判明した。

### 研究業務

1. 放射性医薬品に関する研究

i) モノクローナル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, 17- $\alpha$ -ヒドロキシprogesterone に対するモノクローナル抗体を調製し, アッセイ法を確立した (国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局)。

ii) 放射性医薬品の運搬に関する自主基準、包装等について検討した(厚生科学研究費, 業務局監視指導課)。

## 2. 重金属, 特に鉛の生体内動態に関する研究

i) 鉛チオネインの誘導合成について検討し, 鉛の胆汁排泄機構を明らかとした。

## 3. 免疫担当細胞の機能に関する研究

前年度まで研究してきた, 好塩基細胞を用いる即時型アレルギー反応を *in vitro* で解析する系につき, 脱顆粒反応の機構を分子レベルで調べた。また, 抗体産生系に対する化学物質の影響を簡便かつ短時間で検討する目的で, 免疫後3日目の脾細胞の *in vitro* 培養法を用いる系を確立した(科学技術振興調整費, 科学技術庁振興局)。

## 4. 生体膜の構造と機能に関する研究

i) 好塩基球細胞を用いて, 脱顆粒反応とタンパクリン酸化反応の関連について検討し, 膜結合性36Kタンパクと18Kのミオシン軽鎖のリン酸化が脱顆粒反応に必須であることを示した(科学技術振興調整費, 科学技術庁振興局, 文部省科研費, 文部省)

ii) リンパ球培養細胞株 IM9 の細胞膜に存在するヒト成長ホルモン受容体の単離同定を行った(文部省科研費, 文部省)。

## 5. 遺伝子組換えを利用して生産される医薬品に関する研究

i) イムノアッセイによる発熱性物質の超微量分析法の開発を検討した。(特別研究, 厚生省)

## 6. イムノアッセイ等を用いる超微量検出法の開発

i) 優良生薬品種の選抜を目的として, 生薬成分のイムノアッセイ法を開発を行っているが, 昭和61年度はスコポラミンおよびジゴキシンに対するモノクローナル抗体を調製し, 超微量分析への応用を検討した(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局)。

ii) 食品汚染物質の超微量分析法の開発を目的として, ニパレノールに対するイムノアッセイ法を開発した(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局)。

## 7. 依存性薬物の研究

i) マウス脳のモルヒネ受容体をアフィニティークロマトグラフィーにより単離同定し, その性質を調べた。(科学技術振興調整費, 科学技術庁振興局)。

## 8. 生体微量物質の分離技術の開発

i) モノクローナル抗体を用いるヒト成長ホルモンのイムノアッセイ系の開発のための基礎研究を行った(HS 財団受託研究費)。

ii) 海洋微生物成分で抗アレルギー活性を持つ物質の検索を進めた(HS 財団受託研究費)。

iii) ヒビ内在症レトロウィルスの遺伝子がコードするタンパクに対するモノクローナル抗体調製を開始した(HS 財団受託研究費)。

## 生薬部

部長 原田 正 敏

### 概要

昨年度に引き続き, 生薬・生薬製剤の規格・試験法の基礎的研究および生薬, 薬用植物, 天然有害物質の化学的・薬理的研究を行った。また, 検定検査として, 特別審査を行った。

生薬, 漢方エキス製剤, 食品としても用いられる生薬, 組織培養生成物の規格をめぐる諸問題の検討は行政上, および民間の要望の下に密度を濃くしている現状である。

昭和62年1月1日付けをもって, 野口 衛第二室長が和歌山薬用植物栽培試験場長に, 鈴木英世主任研究官が第二室長にそれぞれ発令された。

厚生省国際課からの依頼による中国からの WHO フェロー, 于樹仁, 周遠鵬両氏(中国医学科学院薬用植物資源開発研究所)が昭和61年9月16日~10月15日にわたり, 当部で研修を行った。

原田部長は昭和61年10月13日~10月19日にわたり, 鈴木前所長とともに中国医学科学院の招聘をうけて北京へ出張し, 関係部局で学術交流に関する交歓を行った。

### 業務成績

1. 特別審査 従来と同様, 生薬または漢方エキス剤を含む製剤(かぜ薬24件)について審査を行った。

### 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, 茯苓, 澤瀉, 地黄, 山茱萸, 山薬, 防己, 生姜など局方生薬の品質評価法について検討を行った。

##### ii) 漢方製剤の薬理学的研究

甘草エキスおよびグリチルリチンの消化管吸収を研究するため, 血中グリチルリチンの高速液体クロマトグラフ法による定量法を検討し, ラットを用い, グリチルリチン経口投与後の血中濃度を経時的に測定することができた(特別研究, 厚生省)。

#### 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

カノコソウ属植物の優良系統選抜を目的とし, その

有効成分に関する分析的検討を続行した (HS 財団受託研究費, 国際共同研究事業)。

ii) 有用な薬理活性を持つ新たな植物の検索とその利用

昨年度に引き続き, インドネシア, バンドン工科大学と共同研究を行った。メース(ニクズクの仮種皮)の抗炎症作用の活性成分としてミリスチシンを単離・同定した。また, キツネノマゴ科植物エキスに抗炎症活性が認められ, 活性画分より新規化合物を含む3種のフラボン配糖体を単離し, 構造決定を行った。この研究の一環として, バンドン工科大学生物学部の Drs. Kartolo S. Wulangi が当部で薬理試験を担当し (昭和62年2月8日~3月24日), また, 尾崎幸紘主任研究官が同大学薬学部へ出張し, 共同研究の打合せ, 研究材料の収集を行った (昭和62年3月1日~3月10日) (科学技術振興調整費, 科学技術庁振興局)。

コショウ科植物の26種の真菌に対する作用を調べ, そのエーテルエキスが9種の真菌に対し生育抑制することを認めた。

iii) 繁用生薬の成分検索とその生物活性の研究

北海道産芍薬のラット生体位子宮と摘出子宮に対する作用を調べ, 亢進作用を認めた。また, 川芎の含有成分8種と関連合成化合物2種について, 培養血管平滑筋細胞の増殖に対する作用を検討した。

iv) バイオテクノロジーによる薬用植物生成物の安全性評価試験法の開発

組織培養生成物と天然由来の生薬との同好性, 相異点を検討し, 母体の代替として培養生成物を安全に使用し得るかを調べるために, 紫根と黄蓮について文献上の基礎調査を行った (HS 財団受託研究費)。

v) 薬用資源植物のデータベース開発研究

薬用植物と生薬の確保・開発・利用を目的とし, 二つのデータベースの共同開発を行った。第一として, 各称, 成分, 薬効, 形態, 栽培管理の整理, 第二として, 現在保有している植物や生薬の学名や導入番号の整理である。これらのうち, 成分と薬効について, 分類分けと具体例の生薬の配置を行った (HS 財団受託研究費, 国際共同研究事業)。

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

*in vitro* での催奇形性試験法開発のため, *sterigmato-cystin* およびその誘導体を作製し, 試験に提供した (特別研究, 厚生省)。

*chaetoglobosin J* のアクチンフィラメントへの作用を検討し, アクチンフィラメントとミオシン相互作用

におよぼす影響を考察した。

インドネシア *Jamu* 植物, 香辛料84検体につき, 真菌系統株の検索を行った。

ii) オゴノリ類海藻の生物活性成分の研究

チリー産オゴノリから新規な構造を持つセラミドを単離した。

iii) 食品中有害物質の検索に関する研究

食品中の有害物質のデータベース化のためのプログラムを作成し, 具体例を入力して試動させた (厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課)。

照射食品の突然変異試験のため, グレープフルーツジュースより試料エキスを作製し, 試験に提供した (変異原性部との協同研究)。

## 療 品 部

部 長 中 村 晃 忠

### 部内消息

新谷英晴技官は1年余の米国出張を終え, 本年2月末, 無事帰国した。

五十嵐良明技官は昭和61年10月, 遅延性アレルギーの *in vitro* 試験法に関する技術の習得のために大阪府立公衆衛生研究所へ出張した。

本年はヒューマンサイエンス振興財団の官民共同プロジェクト研究が始まり, その企画, 委託企業との折衝等に忙殺された。本研究を意義あらしめるためにさらなる努力が必要である。当部の関係する課題は, “生体埋入高分子材料の安全性評価法に関する研究 (生体組織反応の *in vivo* および *in vitro* 試験法の開発)” である。

### 業務成績

1. 医療用具関係

腸線縫合糸11検体の一斉取締試験を行った (不適1)。また, 某社製デイスポーザブル注射筒に関する病院からのクレームに伴って, 当該製品の取去品についての特別行政試験を実施した。

2. 家庭用品関係

年度計画に従って, テトラプロモビスフェノールA, 2,4,4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル, メタクリル酸ラウリルの分析試験法を作成した。また, 家庭用有機溶剤中のベンゼンの規制基準の準備のために, 種々の家庭用品中のベンゼンの定量法を作成し, 市販製品の分析調査を地方衛研と共同で行った。

3. 理化学試験室関係

NMR 装置の利用の過密は相変わらずである。DX-

300 質量分析計の稼働状況は、2時間以上使用した日数(249);保守修理日数(39);使用部数(12),であった。なお、共通大型機器の運営を円滑にするために共通機器ニュースを3回発行し、GC/MS 運営委員会を4回開催した。また、FAB-マスマスペクトルの測定が可能となった。

所内のスペクトルデータベース構築の準備を開始し、その一環として JICST 質量スペクトルデータシステムの端末による使用が可能となった(共通機器室に設置)。

依頼測定件数は、NMR:50件;MASS:20件であった。

### 研究業績

#### 1. 歯科材料の安全性に関する研究

昭和60年度までの研究結果を基にして、歯科材料の安全性に関するガイドライン試案を検討した(厚生科学研究費、東京医歯大など共同、事務局審査二課)。また、コンポジットレジンの歯質への移行について研究を続けている。

#### 2. 赤眼症候群原因物質の構造研究

赤眼症候群(衛試報告102号)の原因がアセテート透析膜からの溶出物にあることは既に明らかとされているが、その詳細な構造は未検討のままであった。その構造決定研究を再開した。(科学技術振興調整費、科学技術庁振興局)

#### 3. ポリウレタン・フィルムへの埋入組織反応に関する研究

埋入材料の組織反応と安全性評価試験法に関する文献調査を行った。また、従来の埋入毒性試験においては、使用した材料の組成・性状があいまいなままに実験が行われているきらいがあるので、構造、分子量、の明らかで添加剤のないポリウレタンを合成し、そのフィルムを作成し、予備的な生物試験を行った(HS財団受託研究費、合成化学研究部、毒性部、変異原性部、民生科学協会と共同)。

#### 4. 眼内レンズ(IOL)中の残留エチレンオキシド(EO)に関する研究

IOL中の残留とEO手術後の前房蓄膿性虹彩炎との関連が問題となっているので、IOL1個(約10mg)に残留する数ppm程度のEOを定量する方法を開発した(HS財団受託研究費、眼内レンズ協会と共同)。

#### 5. 新材料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

ポリウレタン・フィルムに $\gamma$ 線を照射し、その分子量分布、溶出物、強度、接触角などの変化を測定した(国立機関原子力試験研究費、科学技術庁原子力局)。

#### 6. 家庭用品中の有害物質の分析化学的研究

防カビ剤、 $\alpha$ -プロモシナムアルデヒドの強変異原性を明らかにし、その家庭用品中の分析法を作り、市販製品の調査を行った。

#### 7. 家庭用品による接触皮膚炎の原因究明研究

1) ゴム製品による接触皮膚炎について:手術用ゴム手袋でカブレた医師・看護婦に各種の市販手術用ゴム手袋の切れ端と加硫促進剤をパッチテストし、一方、手袋中のジチオカーバメートを分析し、その結果を総合した結果、ジメチル体の寄与が最も大きいことが分った(社会保険中央病院と共同)。また、電動ミシンの膝当てパッドによる集団的カブレ事故の原因(老化防止剤、IPPDなど)を明らかにし、製品の改善を指導した。

2) ナフトールASによる色素沈着型接触皮膚炎について:構造活性相関(交差反応性)を検討し、抗原決定構造を推定した(名古屋大・医学部と共同)。

3) その他:塩ビによる接触皮膚炎の原因として、樹脂の重合開始剤、フタル酸モノエステル等を疑って検討したが、思わしい進展はなかった。また、スパンデックスによるカブレが増える傾向があり、その原因究明を開始した。

#### 8. スペクトル・データベースの構築研究

John-Wiley社のマスマスペクトル・データ(テープベース、約12万件)を購入し、所内用データベースの構築作業を開始する。

#### 9. 有害物質の健康リスク評価システムのフィジビリティに関する研究

リスクアセスメントの対象化学物質の優先順位付け作業のパイロット・スタディーを行った(厚生科学研究費、生活衛生局生活化学安全対策室)。

## 環境衛生化学部

部長 武田 明治

### 概要

本年度の主要業務のうち、環境関連分野として前年度からの継続として居住空間に存在する各種ガス状汚染物分析法の確立、個人曝露量調査に関する基礎研究および天然核種の環境調査、水質評価に関する試料収集のための微量化学物質ブライオリティリストの作成および資料の収集、水道原水中の特定化学物質調査のための基礎研究、塩素処理低減化に係わる送配水系水質制御のための適正施設に関する調査研究などを実施した。



化粧品関連分野ではアクションプログラムの一環として化粧品の包括許可制度の導入に伴う原料基準と使用基準作成作業への協力、新規化粧品原料基準追加品目の規格作成のための基礎調査、化粧品製剤の成分試験法確立など行うと共に、化粧品の監視および不許可成分の試験を実施した。

なお、チェルノブイリ原子力発電所事故に起因した放射性元素による汚染輸入食品の監視を放射線化学部、食品部と協力して実施した。

人事面では関田 寛主任研究官が昭和61年8月5日付けで食品部より環境衛生化学部へ配置換えとなった。

## 業務成績

### 1. 空気関係

前年度に引き続き東京都内3カ所の国設自動車排ガス測定所で各種自動測定機器を用いて大気汚染物質（一酸化炭素、一酸化窒素、二酸化窒素、窒素酸化物、二酸化硫黄、オゾン、ホルムアルデヒド、メタン、非メタンおよび全炭化水素、浮遊粒子状物質）ならびに交通量の常時測定を実施した（環境庁大気保全局自動車公害課）

### 2. 化粧品関係

化粧品種別許可制度移行に伴い、許可基準作成のために成分リストおよび規格の基礎調査、規格作成上の問題点のリストアップならびに国内外公定書との係わりの上における規格の統一を図った。化粧品種別許可基準は昭和61年7月29日に第1次が告示された（薬務局審査第二課）。

化粧品原料基準追加品目の規格作成に当たり、国内外の公定書を調査し、アクリル酸エチル・アクリル酸ブチル共重合体液など40品目の化粧品原料の規格を作成した（薬務局審査第二課）

パラオキシ安息香酸エステルを含有するアイライナーを対象に一斉取締試験を実施し、本年分として95検体につき試験した（薬務局監視指導課）

化粧品中の不許可ホルモン剤（副腎皮質ホルモン）の試験方法の検討およびその試験を実施した（薬務局監視指導課）

### 3. 水質関係

水道原水中特定化学物質の調査を地方自治体試験研究機関および水道事業体との協力のもとに実施した（生活衛生局環境水道部水道整備課）

水質評価に関する基礎資料を得るための水中微量化学物質のプライオリティーリストの作成およびこれに基づいた資料の収集を行った（生活衛生局水道環境部水道整備課）

水道水用殺菌剤としての塩素処理量低減化を目的とした送配水系水質制御のための適正施設に関する調査を実施した（生活衛生局水道環境部水道整備課）

## 研究業務

1. 建築物内空気質の衛生管理基準の設定に関する研究

1) 呼吸器疾患の代表的な原因物質の一つである空気中の二酸化硫黄の簡易定量法を確立し、個人曝露量調査への適用性を検討した。

2) 空気中の低沸点有機塩素系化合物の簡易定量法を確立し、個人曝露量調査への適用性を検討した。

3) AHMT 試薬（4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1,2,4-トリアゾール）を用いた空気中のホルムアルデヒド自動計測器の開発を行った。

2. 環境試料中の天然放射性物質の調査に関する研究

河川水中の  $^{234}\text{U}$ 、 $^{238}\text{U}$  の調査および大気中の  $^{7}\text{Be}$ 、 $^{210}\text{Pb}$ 、 $^{212}\text{Pb}$  の季節的変動の調査を行った（放射能調査研究、科学技術庁）。

3. 化粧品等の分析および安全性に関する研究

1) 化粧品製剤分析法確立の一環として高速液体クロマトグラフィーによるクリームおよびサンオイル中の紫外線吸収剤の分析法を確立し、併せてクリーム、アイライナー中の水銀化合物および口紅中のタール色素の分析法の評価を行った（厚生科学研究費、薬務局監視指導課）。また、乳液、ハミガキを対象とした防腐剤の系統分析法についても検討した。

2) 酸化染毛剤の安全性確保に関する研究に関連して、多波長検出器付き高速液体クロマトグラフィーによる製剤分析法を開発した。（厚生科学研究費（塚田班）、薬務局審査第二課）

3) ホルムアルデヒドを遊離する防腐剤 2-ブロモ-2-ニトロ-1,3-プロパンジオールなどの化粧品（シャンプー、化粧水）分析法を薄層クロマトグラフィーおよび液体クロマトグラフィーにより検討した（特別研究、厚生省）

5) 生体アミンの遊離を指標とした皮膚刺激性評価法の基礎研究の一環として、ODS系カラム・高速液体クロマトグラフィーによるヒスタミンの定量法を検討した。

4. 化粧品許可基準作成に関する研究

医薬部外品の承認基準作成のために染毛剤原料配合料の実態調査、薬用化粧品類の有効成分配合量調査、化粧品種別許可基準集載有効成分の配合上限調査、医療用外皮用剤における有効成分の効能・効果および用法・用量調査などの基礎的研究を行った（厚生科学研

究費(松本班), 業務局審査第二課)

5. 水道用薬品または水道用品に関する研究

1) 水中アスベストの概要と毒性を文献調査し, 若干の検討を加えた(生活衛生局水道環境部水道整備課)

2) エポキシ樹脂塗料の毒性を文献調査し, 若干の検討を加えた(生活衛生局水道環境部水道整備課)

6. 汚染物質の分析法に関する研究

水中アスベストの簡易測定方法を検討した(生活衛生局水道環境部水道整備課)

7. 水利用に関する衛生科学的研究

1) 水域環境変異原物質の生物評価に関する研究: オゾン処理水の変異原性の変化を検討した(国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁企画調整局研究調整課)

2) アオコが生成する毒性物質に関する研究: アオコ中に含有する毒性物質5種を分離精製し, アミノ酸組成を決定した(厚生科学研究費, 生活衛生局環境水道部水道整備課)

3) 公共用水域の保全に係る高分子凝集剤の評価に関する研究: 高分子凝集剤中に含まれるアクリルアミドの毒性を調査し, それに基づいて若干の毒性評価を行った。(国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁企画調整局研究調整課)

4) 水中ベンゾ(a)ピレンの塩素処理時における変異原性物質: ベンゾ(a)ピレンの塩素処理生成物中の代謝活性化変異原性物質の同定と, 直接変異原性物質の分離精製を行った(厚生省がん研究費(松下班)国立がんセンター運営部)。

## 食 品 部

部長 齋藤 行生

### 概要

昭和61年4月26日, ソ連のチェルノヴィル原子力発電所事故はヨーロッパはいうに及ばず, 世界的な規模で大気, 水系, および食品に甚大な影響を及ぼした。

我が国では食品関連の安全性確保のために, 厚生省に対策専門家委員会が設置され, 食品中の放射性物質の暫定基準値が設定された。

当所においては, 放射線化学部, および環境衛生化学部との密接な連係により, 輸入食品の検査が行われ, 現在(5月30日)に到る迄すでに千数百検体の食品が検査された。この検査業務は現在さらに続行中である。

人事面では, 昭和61年6月1日付で, 東京大学薬

学部より, 豊岡利正技官が食品部第二室に着任し, 昭和61年8月5日付で関田 寛技官が環境衛生化学部に配置換えとなった。また長年, 主として異物検査関連業務を担当していた光楽昭雄主任研究官は, 昭和62年3月31日定年退官した。

齋藤は, HEAL プロジェクト委員会に出席のため米国テネシー州(昭和61年7月11日~7月24日), およびスウェーデン, ストックホルム(昭和61年10月11日~10月19日)に, また, フィリピン国食品医薬品検定センタープロジェクト機材供与計画策定会議(昭和61年11月4日~11月12日)のためフィリピンに出張した。

さらに, EC主催の原子力発電事故による食品汚染と食品基準に関する科学セミナー参加(ルクセンブルク)および食品基準等の実態調査(英国)のため出張した(昭和62年4月24日~5月3日)。

### 業務成績

1. 輸入食品検査: 主としてヨーロッパより輸入される食品の放射能検査, 続行中(昭和62年5月30日現在)。

生鮮パパイヤ17検体, 卵8検体, グレープフルーツ4検体中の残留農薬およびチョコレート5検体中の違反食品添加物の分析を実施した(生活衛生局食品保健課および食品化学課)。

2. 特別行政試験: ①の食品汚染物質調査の一環としてマーガリン(14検体), ショートニング(10検体)の酸価および過酸化値の測定を行った。さらに小麦, トウモロコシおよびポップコーン中のニパレノール(61検体), デオキシニパレノール(61検体)ならびにアルコール飲料中のウレタン(10検体)の分析を実施した。(生活衛生局食品保健課) 陰膳食品(74食分)中のクロロホルムの分析を実施した(生活衛生局食品保健課)。

②残留農薬実態調査の一環として, 12食品中の6農薬について分析調査を行った(生活衛生局食品化学課)。

### 研究業績

1. 食品中の有害物質の分析法

① 食品中の6農薬の分析法の設定(生活衛生局食品化学課)

② 果実中のEDB分析法の検討(生活衛生局食品化学課)

③ 魚類中の有機スズ化合物の分析法の確立(生活衛生局食品化学課)

④ チオール・ジスルフィドの高感度分析法の確立

⑤ 高速液体クロマトグラフ法による蛋白アミノ酸の高感度分析法の確立

⑥ 酵素免疫測定法によるマイコトキシン分析法の

## 確立

⑦ ガスクロマトグラフィーによるアルコール飲料中のウレタンの分析法の確立(生活衛生局食品保健課)

⑧ エクストレルトを用いるワイン中のジエチレングリコールの分析法の確立(生活衛生局食品保健課)

⑨ 高速液体クロマトグラフィー  $A_2H_3$  発生器連結型検出器を用いる化学形別ヒ素化合物の分析法の確立

⑩ ガスクロマトグラフィーによる農作物中のトリクロロフォン分析法の確立(生活衛生局食品化学課)

⑪ ステリグマトシスチンおよび 5-メトキシステリグマトシスチンのボルタンメトリー検出器を利用する高速液体クロマトグラフィー分析法の検討

⑫ 脂溶性環境汚染物質に関するヒューマンモニタリング手法の開発とその応用(国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁企画調整局研究調整課)

⑬ 環境汚染物質の摂取総量に対する経路別寄与率の評価手法確立に関する研究(国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁企画調整局研究調整課)

⑭ FAO/WHO 合同食品汚染監視計画(食品汚染物質に関する精度管理, WHO)

## 2. 食品中の有害物質の代謝・動態

① ベンズピレン吸収に及ぼす食品の影響を十数種類の食品について検討し, 食品による吸収差および排泄に有意の差があらわれることを明かにし, 吸収率の推定も行った。

② Cd の毒性の一つである精巣障害を必須元素の組織内レベルの変化から調べたところ, Cd レベルが対照群と比較して最大 270 倍にも達することが明らかとなった。また, 精巣上液中には Cd によるメタロチオネインの誘導は観察されなかった。

③ Cd による毒性の発現と, 肝, 腎, 精巣中の必須金属 (Na, Mg, K, Cd, Fe, Zn) および Cd 濃度の変化としてとらえる目的で, 5 系統の近交マウスを用いて調べたところ, マウス系統差に基く各金属の濃度および Cd, Zn チオネインの誘導量に違いを生ずることが明らかとなった。

④ 魚網や船底塗料などに用いられている有機スズ化合物の代謝, 分布等についてラットを用いて検討を行っている。

⑤ 化学形の異なる 4 種のヒ素化合物の肝, 亜鉛チオネイン誘導能とチオネイン誘導に関する Sc の影響について検討した。

⑥  $U-^{14}C$ -アラキドン酸のラット肝ミクロゾームにおける酸化機構につき検討を加え, この酸化が NADPH に依存はするが,  $P_{450}$  には無関係らしいことを明かにした。

⑦ 無機水銀による急性腎障害時の腎中 Hg レベルと Cd による腎障害時の腎中 Cd レベルとの比較を行った。

## 3. 照射食品

① 我が国では, ジャガイモの発芽防止にのみ 0.015 Mrad 以下の  $\gamma$  線照射が認められているが, 国際的には厳しい管理のもとに殺虫, 殺菌等の目的にも  $\gamma$  線照射を認める方向に動いている。そこで食品に  $\gamma$  線を照射した場合の食品成分の変化について検討を加えることが必要となりグレープフルーツを用いて検討を行った(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局, 生活衛生局食品保健課)。

## 4. 天然有害物質

① 食品中のプロオキシダントの検出法について検討を行った。

② フェオフォルバイドからピロフェオフォルバイドが生成する機構についてアロビの中腸腺を使って検討を加えた。

③ バイオテクノロジー食品と従来の食品との成分上の異同と数種類の食品について検討を加えた(HS 財団受託研究費)。

④ 食品中の有害成分の検索法について検討した(生活衛生局食品保健課)。

## 5. 食品汚染物質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 958,368 件に達し, 衛生行政のためにピックアップし作表したデータを全国地研へ提供した。また, 日常食中の汚染物質摂取量調査を行い全国 10 機関のデータ解析を行った。

## 食品添加物部

部長 義平 邦利

## 概要

昭和62年4月1日付けで, 当部の非常勤職員であった佐藤恭子技官が新規採用された。昭和62年3月31日付けで加藤三郎技官が定年退職した。

新たに精度管理のデータ処理などの業務に携わるため小池紀子非常勤職員が採用された。また, 長寿関連基礎学研究について, ヒューマンサイエンス振興団より昭和61年11月1日付けで, 奥山恵美流動研究員が派遣された。石綿 肇技官は昭和61年9月14日から20日まで重点基礎研究の一貫として, 第100回 Assoc. Offic. Anal. Chem. 国際学会(米国)へ出張した。

本年度の主な業務は恒常的な業務のほか, 社会的

に注目を浴びている天然添加物について化学的安全性評価の研究と先端技術の一つであるバイオテクノロジーによって生産された食品添加物の研究を一部開始した。長年、検討を行ってきた食品添加物公定書第5版が昭和61年11月20日に公布された。

### 業務成績

#### 1. 製品検査

食用色素：検査件数 297 合格 297 不合格 0

#### 2. 輸入食品検査

チョコレート (タール色素) 5 検体 (生活衛生局食品保健課)

たまご (飼料添加物) 8 検体の分析を実施した。(生活衛生局畜産保健課)

#### 3. 食品添加物について

i) 食品添加物規格基準設定のための食品添加物 1 日総摂取量調査

春、夏期に購入した生鮮食料品を用いて調製した試料を対象として酢酸、乳酸、グルコン酸の摂取量を調査した。本調査では季節別による値に著しい差は認められなかった。(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)

ii) 色素複合剤の分析法

リン酸塩製剤処理によるサツマイモ表皮の赤味増強について原因を明らかにした。(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)

iii) 食用色素と工業用色素の識別法につき検討した。(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)

iv) アルミニウム製鍋からの食品疑似溶媒への重金属ならびに食品中へのアルミニウムの溶出について検討した。(生活衛生局食品保健課)

v) 輸入食品用器具, 容器包装からのホルムアルデヒドの溶出検査を行った。(成田空港検疫所)

vi) 家庭用浄水器からの銀の溶出試験法を検討した。(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)

### 研究業務

#### 1. 食品添加物等に関する研究

##### (1) 着色料に関する研究

i) 食料赤色 105 号に含まれる主な付随色素 2 種を単離して構造を明らかにし, HPLC による分離定量法を確立し, 製品中の付随色素を定量した。

ii) ニューコクシン標準品を用いて食用赤色 102 号の結晶水の存在を明らかにし,  $TiCl_3$  滴定係数と色素含量との関係を検討した。

iii) 従来のタール色素の製品検査の地方等への委譲を考慮し, 精度管理のデータ処理方法を検討した。(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)

iv) 市販の天然着色料 21 品目について, ウサギ腎ミクロソーム画分でのプロスタグランジン  $E_2$  生合成系に対する阻害作用を検討した。コウリヤン色素, ウコン色素, 紅麴色素の商品に, 見かけ上強い阻害活性を示すものがあつた。(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局)

v) アラキドン酸カスケードのうちリポキシングナーゼ反応に対する着色料の影響を検討するために, ジャガイモのリポキシングナーゼを利用する系を検討した。(原子力試験研究, 科学技術庁原子力局)

vi) 天然着色料の, 多形核白血球におよぼす, 安全性評価を行ったところ黄色色素カロブジャムに強い活性があることがわかつた。(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)

vii) 天然添加物の安全性に関する研究: クロロフィル分解物の安全性検討のため各種分解物の単離, 精製を行い, 生体影響について検討した。

viii) 先端技術を用いた食品添加物の安全性評価に関する基礎研究: 西洋アカネ, 日本アカネの成分研究を行い 13 の成分を明らかにした。(科学技術振興調整費, 科学技術庁振興局重点基礎研究)

ix) 天然添加物紅花色素の長期毒性試験における飼料中の添加色素の検出法を検討し, HPLO 法で検出できることがわかつた。(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)

x) 天然着色料 13 種類につき原料植物の成分調査を行った。(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)

xi) 天然添加物の変異原性成分の究明等の試験を行ないアカネ配糖体成分について検討を行った。(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)

xii) 精度管理 (タール色素およびその製剤, カンソイ) に関する検討を行った。(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)

(2) 高等植物のバイオテクノロジーを利用して生産される食品添加物, 食品素材の安全性に関する研究

i) 組織培養培地に添加された植物ホルモン 2, 4-D のカルス (ニンジン) への取り込み量を調べた。(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局)

ii) 組織培養法等による生産物の安全性評価法の開発に関する研究: 組織培養培地中の微量成分金属のカルス (ニンジン, アカネ) への取り込み量を調べた。培地組成と比べて, 特に銅が高率に取り込まれていた。(HS 財団受託研究費)

#### 2. 食品用容器包装に関する研究

合成樹脂成分の分析: ほホルムアルデヒドとテトラメチルサクシニトリルの分析法について検討した。

(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)

### 3. ニトロソ化合物に関する研究

i) コンドロイチン硫酸ナトリウム中の不純物が、ニトロソアミンの生成を著しく促進するので、HPLCを用いてその精製を試みた。また、その生成促進物質は亜硝酸と反応して失活する。分子量 500 以下の物質であることを見いだした。(厚生省がん研究費, 国立がんセンター運営部)

ii) *N*-ニトロソアミドの生成に影響を与える食品関連物質の影響: 食品添加物および食品成分がメチルウレアのニトロソ化反応に与える影響について検討を行った。その結果、ポリフェノール類, SH 化合物, アルコール類, 酸化防止剤, ソルビン酸などにより反応が抑制され、クエン酸, 酒石酸などの有機酸により促進された。また、クエン酸はグアニジン化合物, アミド化合物, カーバメイト化合物などからニトロソアミドの生成反応についても促進効果を示した。(厚生省がん研究費, 国立がんセンター運営部)

## 衛生微生物部

部長 三 瀬 勝 利

### 概要

当部は、従来の応用衛生微生物学に加えて、生化学や遺伝学の方法論を取り入れた基礎的研究にも、力をそそぎたいと考えている。なお、長年にわたって当部の発展に尽力された栗栖弘光主任研究官が退職され、東京大学医科学研究所助手棚元憲一氏を主任研究官として迎えた(昭和61年4月1日付け)。当部が重要なパートナーを受け持っているインドネシア国立医薬品研究所との研究協力では、Miss. Maria と Dr. Amalia をそれぞれ、3カ月と6カ月間、当部で迎え入れた。また小沼博隆主任研究官は、インドネシアの同研究所での1年間の微生物学指導を終えて、昭和61年10月無事帰国した。

### 業務成績

#### 1. 国家検定

ブドウ糖注射液, ホルモン製剤, インシュリン製剤など総計 972 件(細菌試験, 真菌試験ともに 486 件)について無菌試験を行なったが、不適品は見い出されなかった。

#### 2. 国家検査

インシュリン製剤 8 件(細菌試験, 真菌試験ともに 4 件)について無菌試験を行なったが、不適品はなかった。

#### 3. 一斉取締試験

ビタミン B<sub>6</sub> を含有する注射剤総計 42 件(細菌試験, 真菌試験ともに 21 件)について無菌試験を行ったが、不適品はなかった。またパラオキシン安息香酸エステルを含有する化粧品(アイライナー製品) 83 件の細菌試験として、一般細菌数測定, 大腸菌群, 緑膿菌, ならびに黄色ブドウ球菌の検出試験を行ったが、細菌数については、いずれも  $1.0 \times 10^3$  以下の基準限度内であった。また、上記の特定 3 菌種については、いずれも陰性であった。

#### 4. 輸入食品検査

冷凍食品 41 件と清涼飲料水 3 件の一般細菌数と大腸菌群の検査をした。前者に 5 件の不合格品が見い出された。

#### 5. 規格・基準試験, 行政試験など

乳幼児ボツリヌス症とのからみで、9 検体の薬局方ハチミツのボツリヌス菌検査を行ったが、いずれも陰性であった(生活衛生局監視指導課)。また、畜水産食品中の抗生物質の個別検査(生活衛生局乳肉衛生課)、食品の品質保存期間設定のための基礎研究(生活衛生局食品保健課)およびガス置換包装食品の細菌検査(生活衛生局食品保健課)を行なった。

### 研究業績

#### 1. 細菌に関する研究

##### i) 応用細菌学的研究

注射用水をはじめとする医療用水の基準にかかわる微生物学的研究が行なわれた。また、魚介類の腐敗に関係する微生物の分離同定研究や、食肉汚染菌(特に黄色ブドウ球菌やセレウス菌)の実態が詳細に調査された。局方ハチミツ中の嫌気性菌の調査も詳細に行われ、複数の検体が *C. perfringens* に汚染されている事が証明された。

##### ii) 遺伝生化学的研究

培養細胞を用いた 2 段階発がんモデル形質転換実験に対する食品関連物質の作用に関する実験や、ストレプトマイシン依存性菌を用いた変異原検出実験にかかわる研究が行なわれた。また、*Salmonella infantis* と *Yersinia enterocolitica* から複数の制限酵素が見い出され、これらの菌の追求に、制限酵素産生性が利用できる事が示された。

#### 2. 真菌に関する研究

##### i) 真菌の分離・同定

アレルギー性気管支肺アスペルギルス症のヒトから、*Aspergillus oryzae* が検出された。また、免疫力の低下したヒトから、病原真菌として、*Ochroconis gallopavum* が分離された。去年に引き続き、日本やイラ

クから、種々の新型の真菌が分離・同定された。

## ii) 真菌の代謝産物に関する研究

Apergillus から環状の pentapeptide が分離された。Penicillium から、 $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和ラクトンが分離された。また、1983年の北海道産コムギからトリコテニンが検出された。これは、穀類におけるトリコテニン自然汚染例として、最初のものである。

## 医 化 学 部

部 長 高 橋 惇

### 概要

前年度に引き続き、食品添加物、既存化学物質、家庭用品に含まれる化学物質等の代謝に関する試験ならびにそれに伴う基礎研究を行った。

人事面では昭和61年4月1日付けで土屋利枝技官が主任研究官に昇任し、61年6月1日付けで佐藤道夫技官が療品部理化学試験室へ配置換えとなった。また、62年4月1日付けで福岡正道医化学部第一室長が生物化学部標準品製造室長として転出し、医化学部第一室長には森本和滋主任研究官が就任した。

短期海外出張では日米毒性研究協力事業の一環として、高橋が昭和62年3月1日より12日まで、米国のNIEHS, NIH など6カ所を訪れ、意見を交換した。

### 研究業績

1. 食品添加物の安全性に関する生化学的研究 (食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)

1) オルトフェニルフェノール (OPP) およびそのナトリウム塩 (OPP-Na) に関する研究

前年度に引き続き、OPP を含む餌で飼育したラットの尿中代謝物の分離・定量を経日的に行った。また、OPP-Na 投与ラットの膀胱上皮細胞のDNA損傷をアルカリ溶出法で調べ、さらにOPPおよびその代謝物の膀胱上皮細胞DNAの損傷についても検討した。

2) チアベンダゾール (TBZ) に関する研究

TBZ を投与した妊娠マウスの胎仔肢芽においてプロテオグリカン合成に関与する活性硫酸量の低下を認めた。

3) 赤色3号および105号に関する研究

これら色素の甲状腺ペルオキシダーゼ活性に及ぼす影響等を調べた。

4) ブチルヒドロキシアニソール (BHA) に関する研究

催奇形性の *in vitro* 試験法である human embryonic growth assay および embryonic cell differentiation

assay において、BHA の代謝物であるキノン体に強い阻害作用を認めた。

5) 安息香酸に関する研究

Na, K 塩の吸収・排泄の差を検討中である。

2. 家庭用品の安全性に関する生化学的研究 (家庭用品等試験検査費, 生活衛生局生活化学安全対策室)

1) 2-エチルヘキシルジフェニルホスフェイト (EHDPP) に関する研究

EHDPP を経口投与したラットの尿中代謝物の検索を行い、昨年度までに未同定の尿中代謝物について、標品を合成し、GC-MS で同定した。

2) ナフトール AS に関する研究

ナフトール AS をマウスに皮下投与した場合の尿・糞への排泄パターンを経日的に検討した。

4) テトラプロモビスフェノールに関する研究

標識化合物の合成を行った。

3. 既存化学物質の安全性に関する生化学的研究 (生活衛生局生活化学安全対策室)

1) 2-ニトロ-p-クレゾール (NPC) に関する研究

NPC 代謝における腸・肝循環の役割を検討した。

2) ムスクキシレン (MX) に関する研究

ラットにおけるMXの尿中代謝物の同定を行った。また、単離したMXの糞・尿中の代謝物のうち2-アミノ-MX, 4-アミノ-MX, 2-N-モノアセチル-MX および2-アミノ-3-ヒドロキシ-MXを合成した。さらに微量の代謝物を分離する目的でMXの標識化を検討し、 $^3\text{H}$ -標識MX ( $0.127 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ ) を合成した。

3) 水素化トリフェニールに関する研究

$^3\text{H}$ -水素化トリフェニールを合成し、ラットにおける吸収・排泄体内分布を調べた。

4) ヘプタクロールの代謝試験に関する文献調査を行った。

4. 生活関連諸物質に含まれる微量有害成分の体内動態ならびに毒性発現機構に関する研究 (特別研究, 厚生省)

1) 催奇形性物質の *in vitro* 試験法に関する研究

Human embryonic cell の growth assay 法への代謝的活性化系の導入を検討した。

2) ステリグマトシスチンに関する研究

口蓋裂発生の重要な指標と考えられる human embryonic cell growth assay でステリグマトシスチンは増殖阻害作用を示し、また、代謝的活性化系の存在下でその作用が強まることを認めた。

5. 異物代謝に関与する酵素等の研究

1) 脂環族一級アミンの酸化的脱アミノ機構に関する研究

1-および 2-アミノインダン, 1-および 2-アミノテトラリンについての脱アミノ活性をウサギおよびラット肝ミクロゾームで比較した。

2) ソルビン酸の代謝機構とその酵素系に関する研究。

マウスにソルビン酸を投与すると, 4-ペンタン酸の活性化に関与する肝の dienoyl reductase 経路が誘導されることが判明した。

3) リン酸トリエステル類の代謝に関する研究

tri-*p*-cresyl phosphate 等のラット肝の各細胞分画での分解反応を調べた。また Tris-2,3-dibromopropyl phosphate を投与したラットの生化学的指標を調べ、腎毒性との関連性を検討した。

6. 遺伝子の損傷とその修復機構に関する生化学的研究

1) *in vivo* における DNA 付加物形成に関する研究  
雄性 F344 ラットに <sup>3</sup>H-プロピルニトロソ尿素 (PNU) を投与し、発ガン標的臓器、胸腺 DNA における付加物形成について調べた。

2) 遺伝子損傷の修復に関する分子機構の研究

F344 ラット胸腺における O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase の活性測定について基礎実験を行った。また、OPP の代謝物によってひきおこされる膀胱 DNA 損傷の修復の有無について調べた。

7. 標識化合物と細胞工学的手法の利用による医薬品、生活関連物質等のアレルギー感受性および安全性評価法の確立に関する基礎的研究 (国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局)

1) 皮膚アレルギーの *in vitro* assay 法の開発に関する研究

マクロファージ遊走阻止反応について基礎的検討を行った。

8. 脂溶性環境汚染物質に関するヒューマンモニタリング手法の開発とその応用 (国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁企画調整局研究調整課)

1) 皮脂中の皮脂成分に関する生化学的研究

サルをヒトのモデルにし得るかどうか, サル皮膚表脂質の成分および構造を調べ, 体内脂質およびヒト皮膚との比較を行った。

## 化学物質情報部

部長 竹中祐典

### 概要

国際化学物質安全性計画 (IPCS) への協力は、合成

ピレスロイドとして当部がまとめた7品目の第1次ドラフトが加盟国に回覧される段階に至った。コメント回収後3回に分けてタスクグループを開くことが予定されている。

バイオロジカルデータベース作成・検索システムの研究は、予定期限を終え昭和62年2月に関連諸種データベースの接続による一般公開実験をおこなった。引き続きその高度利用を意図した「化学物質設計等支援のための知識ベースの研究」に着手した。

図書係今野佳恵事務官は昭和62年3月31日付で退職し、後任に西村規章事務官が大阪支所より転任した。竹中は国際化学物質安全性カード作成の会議出席のため昭和61年7月5日から17日までフランスに出張した。

### 業務成績

#### 1. IRPTC

IRPTC リーガルファイルのデータについて52件、525物質のデータの訂正と更新を行った。

照会-回答サービスとして当所から12件、IRPTC から18件、計30件の質問回答業務を行った。また、入手資料を関連機関に配布し、その活用を計った。

昭和61年度 IRPTC 国内協力委員会を昭和62年2月27日に開き IRPTC 関連業務の年次報告と、関連する情報活動の紹介を行った。

#### 2. IPCS

「アセトニトリル」の環境保健基準作成に着手し、その文献調査ならびに執筆者の選定を行い、橋本和夫 (金沢大学医学部)、池田正之 (東北大学医学部) および山内文雄 (三菱化成安全科学研究所) の各原案検討委員に執筆を依頼した。

また、合成ピレスロイド系農薬として当部がまとめ IPCS 本部に送付した7品目「アレスリン」、「デルタメスリン」、「フェンバレレート」、「ベルメトリン」、「*d*-フェノスリン」、「レスメスリン」および「テトラメスリン」のうち「アレスリン」、「ベルメトリン」および「レスメスリン」は IPCS 本部から各国のコメントを求めると回覧されている。

#### 3. オンライン検索と情報誌発行

オンライン検索は DIALOG が 181 件、JOIS が 57 件、GIS が 5 件で、総利用件数は昨年度よりやや減っているが、1回の検索で複数のデータベースを利用する傾向は昨年度以上に増大している。DIALOG の利用増加はその機能向上により一層有効に利用できるようになったことによる。また、生物医学系データベースの利用は全体の52%を、予備検索のための化合物辞書ファイルの利用は全体の13%を占めている。

情報室ニュースは No. 44 から No. 47 までを作成

し所内に、また衛試情報は No. 8 (1986. 12) を作成し所内外に配布した。

#### 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61年度の図書購入状況は次のとおりであった。

( ) 内は前年度分

外国雑誌 16,606千円 (14,802千円)

国内雑誌 1,479 (1,046 )

内外図書 1,624 (1,410 )

製本費 939 (104 )

合計 20,648 (17,362 )

外来閲覧者は142名、また外部からの文献複写依頼は61カ所から406件と昨年度より3割強増大している。

4回におよぶ図書委員会の事務局を担当した。

##### ii) 衛生試験所報告編集業務

衛生試験所報告編集委員会に協力し、同報告第104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

プログラムの結合テスト、システムテスト、総合評価試験、テストデータの作成ならびに構造活性相関を実施するシステムのプログラムテストを行い、一応予定研究期間を終え、昭和62年2月18日および19日に「異機種コンピュータの接続による化合物総合データベースシステムの一般公開実験」の一環としてその機能を一般に公開した(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)。

##### 2. 化学物質設計等支援のための知識ベースシステムに関する研究

昨年度の調査を踏まえ、「毒性予測知識ベースシステムの開発」の3年計画の初年度として、化学物質による生体障害作用(変異原性、発癌性など)の有無を予測するための知識ベースシステムの構築に必要な調査ならびにシステムの基本設計を行った(科学技術振興調整費、科学技術庁振興局)。

##### 3. 小規模データベースの開発

###### i) 農薬の安全性評価データベース

国際機関(FAO/WHO, IPCS, IARC)で安全性について評価した農薬および我が国で登録されている農薬について、評価および規制状況の情報をデータベースとして完成させた。

ii) 医薬品国際一般名検索用データベース LAN-FILE 3 を利用して構築したデータベースと、WHO 国際一般名磁気テープとの結合による有効利用を検討

した。

##### 4. 化学物質の安全性に関する調査研究

###### i) 食品添加物のアレルギー性に関する調査研究

昨年度に引き続き、FAO/WHO A (1) リストに記載されている食品添加物15品目および亜硫酸ナトリウムについて安全性に関する文献要約集を作成した(厚生科学研究費、食品部、食品添加物部、毒性部と共同、生活衛生局食品化学課)。

###### ii) 化学物質の急性毒性評価のための簡易スクリーニング法等に関する研究

昨年度に引き続き、経皮、吸入による急性毒性の簡易スクリーニング法を開発するための基礎データを整備し、農薬についての各種経皮致死量データ間の関連性を統計的に解析した(厚生科学研究費、東京歯科大学と共同、薬務局安全課)。

###### iii) 食品中の有害物質の検索に関する研究

食品中の有害物質についての簡便な検索システム構築のためのプログラム作成に必要な調査研究を行った(厚生科学研究費、食品部と共同、生活衛生局食品保健課)。

###### iv) 環境化学物質の安全性調査研究

a) 化学物質の環境調査 b) 化学物質の優先的評価に必要な情報の検討と優先物質の選定 c) 化学物質のリスクアセスメント手法の検討(以上環境庁企画調整局保健部保健調査室) d) 化学物質による水質および土壌汚染の未然防止に関する基本的検討 e) 海洋汚染防止に係る液体物質に関する検討(以上環境庁水質保全局企画課)を分担した。

##### 5. データベースの有効利用に関する調査研究

「透析器による眼障害」の文献情報を例にとり、各種オンライン文献情報検索システムの特徴、問題点などを検討した。

#### 安全性生物試験研究センター

センター長 戸部 満寿夫

昭和62年3月31日付けでセンター長大森義仁先生が退官された。53年7月、池田良雄先生のあとを受け継がれてからおよそ9年間、まさに創設期のセンターを率いられ、センター内はもとより所内各部の協調を推進されると共に、海外との協力関係でも、殊に日米毒性研究および IPCS 関連の諸事を効果的に処理されるなど、要の役を果たされると共に多くの業績をあげられた。またこの間、国際薬理学会(昭和56年)および国際毒科学会(昭和61年)では共に主催者側の主要



メンバーとして、またさらに60年の日本毒科学会総会では会長として、学会活動にも鮮麗な足跡を残された。長年の御苦勞を慰勞申し上げ、数々の御教導にあらためて深甚の謝意を捧げます。定年退職とは申せ、心身両面でお若者を凌駕する先生の、第2段のご活躍を祈念します。

業務は全般的に順調に遂行された。センター内はもとより所内各部および国内研究機関との協力体制が益々拡大し、また、海外協力では、インドネシア国立薬品食品管理試験技術協力事業は引き続き着実に進展し、インドネシアから2名の研修員が来日し、また当方から2名の短期指導と1名の長期指導が行われた。また61年12月にはジャカルタで開催されたジョイント・コミッティーに鈴木所長、大森センター長、高仲および三瀬両部長らが出席し、62年2月には POM 所長の Dr. Siregar が特別研修員として来所した。

日米毒性研究協力では、年度内に米国側からの来訪はなかったが、当方から2名が訪米し、情報交換等を行った。

IPCS および IARC 主催の国連関係の各種委員会への参加も例年のごとく活発に行われ、抗酸剤 BHA の毒性実験、酸化剤による化学発光について研究成果の報告も行われた。

医薬品 GLP では引き続き国内外の機関およそ20カ所の査察と、化学物質関連の GLP 査察に各部部长および室長の協力が得られた。

## 毒 性 部

部 長 黒 川 雄 二

### 概要

業務は全般的に順調に遂行され、医薬品 GLP 関連の査察にも各室長の積極的な協力が得られた。

インドネシア薬品食品管理試験所技術協力関連では、Mr. Sukirno が6カ月にわたる毒性学、特に病理学の研修を終え、9月3日に帰国した。当方から出張していた鈴木幸子、内藤克司技官は3カ月、関田清司技官は1年間の技術指導を終え、無事帰国した。また、韓国国立保健院の趙 貞植さんが動物管理室で飼育管理・運営について3カ月の研修を終了して11月に帰国した。

昭和62年1月15日付けで白井章夫技術補助員、また3月31日付けで関根ゆき技術補助員が退職し、堀野光君が技術補助員に採用された。

毒性部誕生から苦楽を共にした鈴木康雄室長（62年

1月31日付け）、小林和雄室長、国兼ミツイ技官（62年3月31日付け）が退官された。退官された大森センター長の後任に戸部満寿夫毒性部長が、毒性部長には病理部黒川腫瘍病理室長が昇任した。また、第一室長に内藤克司主任研究官、第四室長に中路幸男機器室長、機器室長に吉本浜子主任研究官がそれぞれ就任した。鈴木幸子主任研究官は機器室より、第三室に配置換えとなり、機器室に佐井江江技官が採用された（いずれも62年4月1日付け）。

会田喜崇、門馬純子、鎌田栄一技官が62年4月1日付けで主任研究官に昇任した。

川崎靖主任研究官と門馬純子技官は62年2月東邦大学医学部より医学博士の学位を受けた。

### 研究業績

#### 1. 医薬品

##### i) 注射剤の安全性に関する研究

静脈注射のあと静脈炎を起こす例のあることが知られているが、その発現条件の詳細は知られていない。ヒトで比較的報告例の多い薬剤をウサギに与え、用量あるいは投与速度等と炎症発現の関係を検討した（厚生科学研究費、薬務局安全課）

#### 2. 食品・食品添加物等

##### i) *dl*- $\alpha$ -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

ラットを用いて、*dl*- $\alpha$ -トコフェロール、エリソルビン酸ナトリウムの24か月間併用毒性試験を実施した（食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課）。

##### ii) 健康食品の安全性に関する研究

食用経験が乏しく、安全性の不明な健康食品の安全性を検討するため、本年度は無機物（鉱物）性健康食品である硫酸第一鉄とフライアッシュ（火力発電所での石炭燃焼後副産物）の混合物の急性毒性について検討した（生活衛生局食品保健課、健康食品対策室）。

#### 3. 家庭用品

i) ゴム添加剤の2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェノール)の亜急性経口毒性試験を行った。

ii) 防災加工剤テトラプロモビスフェノールAの急性毒性試験を行った。

iii) ジクロロメタンのラットによる慢性吸入毒性試験を引き続き実施した。

iv) 防虫剤 *P*-ジクロロベンゼンの吸入と経口投与による生体内動態と毒性発現の差に関する研究を行った。また、これに引き続き、慢性の吸入毒性試験を開始した。

##### v) ナフトール AS の毒性に関する研究

ラットによる慢性毒性試験を継続して行った(薬務局安全課)

#### 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-ブチルフェノールおよび水素化トリフェニルの慢性毒性試験を継続して実施した。ヘプタクロールの亜急性毒性試験を終了した。

クロールピリホス, トリプロピルイソシアヌレート, ホキシム, テトラクロールピリホスの4物質について, 28日間の亜急性毒性試験を開始した(薬務局安全課)。

ジソプロピルベンゼンのラットによる慢性毒性試験を開始した(薬務局安全課)

#### 5. 照射食品の安全性に関する研究

照射グレープフルーツのマウスおよびラットにおける慢性毒性試験を開始した(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局)。

#### 6. その他

i) 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, 科学技術庁振興局)。

ii) 脂溶性環境汚染物質に関するヒューマンモニタリング手法の開発とその応用(国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁企画調整局研究調整課)。

iii) 覚せい剤およびその代謝物の分析に関する研究

iv) トリコテセン系かび毒のニパレノールについて, 亜急性経口毒性試験を継続して行った(厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課)。

v) 化学物質の急性毒性評価のための簡易スクリーニング法等に関する研究(厚生科学研究費(西村班), 薬務局安全課)

vi) 医薬品毒性試験ガイドラインに関する研究(厚生科学研究費(大森班), 薬務局審査第一課)

vii) ラットの組織内酵素の分布に関する研究

viii) 肝臓および尿保存時の成分の安定性の研究

ix) タール色素の毒性に関する研究

赤色104号および404号の急性毒性および皮膚刺激性について(薬務局審査第二課)

## 薬 理 部

部 長 高 仲 正

### 概要

末梢薬理研究室溝上敬之助技官は昭和53年1月に入所以来, 主として薬物代謝酵素系に関する研究に従事し, ナトクローム P-450 分子種の精製とその役割等

について多くの業績をあげて来たが, 昭和61年7月1日付けで一身上の都合により退官した(在職期間8年6月)。末梢薬理研究室井上和秀技官は科学技術庁の長期在外研究員としての出張期間を終え, 8月11日帰国した。同技官は米国における研究成果が認められ, N. I. H. の基金により昭和61年9月1日より1年間の予定で, 再度米国 FDA, 医薬品生物製剤センター細菌製剤部細胞整理研究室 J. G. Kenimer 博士のもとへ出張し, 培養神経細胞の電気生理学および薬理学的研究を継続することとなった。短期海外出張は, 川西技官: 第9回ニトロソ化合物国際会議(オーストリア, 8月31日~9月5日), 高仲: 残留農薬 FAO/WHO 合同会議(イタリア, 9月27日~10月10日), IPCS Task group 会議(Dichlorvos, Cypermethrine)(スイス, 11月29日~12月7日), 国立薬品食品品質管理試験所技術協力第5回合同会議(インドネシア, 12月13日~21日), 医薬品 GLP 査察(デンマーク, 昭和62年3月25日~4月4日)の延5件であった。また, 国内 GLP の査察には延6名が参加した。

外国よりの研修生としては, Drs. Sudjaswadi(インドネシア, 7月29日~3月4日)が解熱, 鎮痛, 抗炎症作用に関する試験法修得のため中樞薬理研究室において, 呉恒禄氏(韓国, 11月1日~1月31日)が中枢作用に関する試験法修得のため中樞薬理研究室において, 曹大鉉氏(韓国, 11月1日~4月9日)が催奇形性試験法修得のために後世代影響研究室において, それぞれ研修を行った。

今年度は2課題について研究を終了し, 新たに4課題について研究を開始した。なお, 経常研究費以外の研究として, 今年度は厚生省関係8, 環境庁関係8, 科学技術庁関係2, 文部省関係3, ヒューマンサイエンス財団2および特別研究1課題について研究を行った。

### 業務成績

昭和61年度はブドウ糖注射液410件について発熱物質試験を行い, 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) 繁用生薬の薬理学的研究

ii) 注射剤の溶血性に関する研究(厚生科学研究費, 薬務局安全課)

iii) ジチオカーバメート系化合物による赤血球障害に関する研究

iv) 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

v) 単離細胞を用いた薬物性腎障害モデル作成に関

する研究 (文部省科学研究費, 文部省)

vi) 肝単離細胞を用いた化学物質の毒性発現機構解明に関する研究

vii) ジチオカーバメート系化合物の赤血球障害に関する研究

viii) 食品中に含まれる N-ニトロソ化合物に関する研究 (厚生省がん研究費, 国立がんセンター運営部)

ix) アフラトキシン B<sub>1</sub> を代謝活性化する チトクローム P-450 と肝癌との関連性 (文部省科学研究費, 文部省)

本年度より 2 年計画で研究に着手した。

x) 医薬品等の培養系を用いた有効性および安全性検索法の確立に関する研究 (HS 財団受託研究費)

本年度より 3 年計画で研究に着手した。

xi) 生薬薬用植物の品質確保に関する研究 (HS 財団受託研究費)

本年度より 3 年計画で研究に着手した。

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) ラットを用いた胎生期の薬物代謝酵素系の特性の解析 (文部省科学研究費, 文部省)

本年度で研究を終了した。

ii) 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, 生活衛生局食品化学課)

iii) 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, 生活衛生局生活化学安全対策室)

iv) 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, 薬務局安全課)

v) Behavioral teratology に関する研究

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术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 (特別研究費, 厚生省)

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, 環境庁企画調整局研究調整課)

本年度で研究を終了した。

iii) 薬物代謝酵素系における種差の研究

iv) 注射用水の品質バリデーションに関する研究 (厚生科学研究費, 薬務局監視指導課)

本年度より 2 年計画で研究に着手した。

## 病 理 部

部 長 林 裕 造

### 概要

業務は全般的に順調に遂行された。人事移動として、昭和62年4月1日付けで黒川雄二腫瘍病理研究室長が毒性部長として転出し、その後任として長谷川良平一般病理研究室研究員が昇任した。対がん10年総合戦略プロジェクトのリサーチレジデントとして病理部で研究していた菅野 純博士が昭和61年7月31日付けでレジデントを終了し東京医科歯科大学病理学教室に帰任した。なお同博士は昭和62年3月1日より研究生として同病理部で研究を継続している。昭和61年3月2日より、同プロジェクトの外国人招へい研究者として病理部で研究していた韓国、原子力病院の張子俊博士が、昭和62年3月1日に研究を終了し帰国した。

本年度、林裕造部長は以下のように海外に出張した。アメリカ・ワシントンで開かれた「抗酸化剤の安全性評価会議」に出席し「BHA のイヌ毒性試験」について発表した (昭和61年4月20日～26日)。イタリア・ローマで開かれた「食品添加物に関する FAD/WHO 合同専門家会議」に出席し意見を交換した (昭和61年5月31日～6月14日)。ハンガリー・ブダペストで開かれた第14回国際癌学会に参加し、「発癌物質の定量的リスク評価の方法」について発表した (昭和61年8月22日～29日)。フランス、リヨンの IARC 本部で開かれた「化学物質の安全性評価に関するワークショップ」に出席し、発癌性評価基準の作成に参画した (昭和61年9月27日～10月4日)。スイス・ジュネーブで開かれた「食品添加物に関する FAO/WHO 合同専門家会議」に出席した (昭和62年2月15日～27日)。アメリカ・ホノルルで開かれた日米がん研究協力事業セミナーに出席し、「化学物質の発癌リスク評価法」について討議した (昭和62年3月11日～14日)。

黒川腫瘍病理室長は、イギリス・ギルフォードで開かれた非変異原性発癌物質に関する会議に出席し「酸化剤による化学発光」について発表した (昭和61年8月27日～29日)。また同室長はスイス・ジュネーブの WHO 本部で開かれた「経口避妊薬の安全性」に関する会議に出席し、その後オランダにおいて GLP 査察を行った (昭和62年1月31日～2月15日)。

### 研究事業

1. 厚生省がん研究助成金関係 (国立がんセンター運営部企画課)

a. 長期動物試験による環境化学物質の発がん性評価に関する研究

- 1) 総括ならびに癌原性評価に関する研究
- 2) 5FU の慢性毒性ならびに癌原性試験
- 3) フェニトインの慢性毒性ならびに癌原性試験
- 4) 乳酸カルシウムの慢性毒性ならびに癌原性試験
- 5) ナリジクス酸の慢性毒性ならびに癌原性試験
- 6) 6MP の慢性毒性ならびに癌原性試験

b. ヒトがん発生に関する基礎的・臨床的研究

- 1) 発がんに関する物質の強度に関する研究
- 2) 発がん率を変化させる物質の研究
- 3) 粗製トリプシンインヒビターの膵臓に対する作用

4) 発がんに影響する生体側の諸要因の研究

c. ヒト多重がんの実態と要因に関する研究

- 1) 多重がん発生に関する実験的研究

d. 日常食品成分の発がんプロモーター作用研究

- 1) 総括およびエタノールの効果
- 2) 胃がん発生におけるグリオキサール、メチルグリオキサールの効果

2. 厚生科学研究費・対がん戦略研究事業関係(国立がんセンター企画部会計課)

a. 発がんリスクの評価に関する研究

- 1) ヒトがん発生に対するリスクの評価を目的とした動物実験

2) 甲状腺発がんのプロモーターに関する研究

b. ヒトがん発生における重要な促進物質の研究

- 1) アルコールの食道癌プロモーター作用の研究
- 2) 食塩の胃発癌プロモーター作用とその用量相関
3. 文部省がん特別研究費関係

a. 化学発がん過程における細胞形質発現の推移とその安定化

- 1) 実験腫瘍の発生過程における形質発現の特異性
- 2) 非発がん物質による発癌とその過程の解析

4. 食品添加物安全性再評価費関係(厚生省生活衛生局食品化学課)

- 1) コハク酸ナトリウムの慢性毒性ならびに癌原性試験

2) 食用黄色4号の慢性毒性ならびに癌原性試験

- 3) OPP ナトリウムの癌原性試験ならびに用量相関

4) 塩化第2鉄の慢性毒性ならびに癌原性試験

- 5) ピロリン酸カリウムの慢性毒性ならびに癌原性試験

5. 医薬品等調査研究委託費関係(厚生省薬務局安全課)

a. 既存化学物質毒性試験ならびに調査

- 1) ジエチルジフェニールの急性ならびに亜急性毒性試験

2) N-フェニル1-ナフチルアミンの毒性調査

- 3) 1,1-ビスパラクロルフェニル-2,2-トリクロロエタノール(ディコフォル)の癌原性試験ならびにその用量相関

6. がん研究振興財団 がん研究助成金関係

- 1) 酸化剤の発癌性:プロモーター作用および毒性に関する実験病理学的研究

7. 日米医学協力研究会突然変異・癌原専門部会事業費関係

- 1) 環境化学物質の発がん性評価に関する研究

8. その他

- 1) 抗悪性腫瘍剤(アドリアマイシン)の安全性に関する研究

- 2) 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

- 3) 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原因子の相互比較検討に関する研究

- 4) 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

- 5) 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

- 6) 各種化学物質の甲状腺発癌促進作用に関する研究

7) バルビタールの癌原性に関する研究

- 8) 臭素酸カリウムの慢性毒性試験ならびに癌原性試験

- 9) アセトアミノフェンの発癌イニシエーション作用に関する研究

- 10) OPP-ナトリウム代謝産物の癌原性に関する研究

## 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、医薬品そのほかの生活関連諸物質の安全性評価の一環として、変異原性試験および試験に伴う基礎研究を行った。天然食品添加物の変異原性試験に関しては、食品化学課の要請により、国内数カ所の研究機関の協力を得て進められている。また、所内においては、食品添加物部および生薬部の協力を得て、それぞれ、ステビオールおよび照

射食品の変異原性について検討を進めている。このほか、既存化学物質、環境汚染物質の変異原性について *in vitro* および *in vivo* 両面からの検索を行っている。

昭和62年1月より、対がん10カ年戦略に基づき、フィンランドの環境衛生研究所よりノボ博士を1年間の契約で招へいた。同年2月には、当部細胞バンク事業のため2年間滞在されたハルノイ博士が帰国された。また当部微生物変異研究室の能美健彦技官は、1年間の契約でポストのMIT研究所（ウォーカー教授）のもとへ留学中である。

同年4月より発足したヒューマン・サイエンス受託研究業務の一環として、変異原性試験に用いられるテスト菌の改良を試み、ニトロアレン類に高感受性を示す細菌を分離同定し得たこと、また、過酸化水素に対し、耐性を獲得した培養細胞を分離することができたことは、特記すべきことである。

国際的な面では、米国NTPで行われている一連のハロゲン化合物の変異原性に関する研究を分担している。部長は、昨年12月、フランス・リオンに赴き、約200種類の化学物質の短期試験結果に関するモノグラフ作成に協力してきた。また、その帰途ジャカルタに立寄り、変異原性試験の現状に関する講演を行った。本年秋頃より当地の国立医薬品品質管理試験所より、若い研究者を当部で迎える予定である。また、部長は1月に開催された米国EPAの主催する短期試験法と発がん性との関連に関するシンポジウムに出席した。

当部所属の細胞バンク業務は3年目を迎えている。細胞株の供給も年々増加し、国内のがん研究者の支援に大きな役割を演じていることは喜ばしいことである。

### 研究業績

#### 1. 食品添加物の変異原性に関する研究

i) 10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（生活衛生局食品化学課）。

ii) 60年度試験において陽性の結果が得られたものの中6種についてマウス骨髄を用いる小核試験を行った（生活衛生局食品化学課）。

#### 2. $\gamma$ 線照射した柑橘類等の変異原性に関する研究

$\gamma$ 線照射したグレープフルーツ濃縮画分の変異原性について微生物を用いる突然変異試験を行った（原子力試験研究費、科学技術庁原子力局）。

#### 3. 環境汚染化学物質の変異原性試験

i) 水道中における微量有機化学物および関連物質10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（生活衛生局水道環境部水道整備課）。

ii) 低濃度レベルにおける環境汚染物質の作用を検出するためにフローサイトメーターによる小核赤血球の測定法の改良を行い、既知小核誘発物質について長時間投与による小核誘発性を検討した（国立機関公害防止等試験研究費、環境庁企画調整局研究調整課）。

iii) ニトロビレン、ニトロフルオレンの哺乳類培養細胞に対する染色体異常誘発性について検討した。

iv) 米国のNational Toxicology Program (NTP) 事業に協力して、一連の化学物質について染色体異常誘発性を検討した。

v) 染色体異常試験に用いる数種の培養細胞について感受性を比較した（労働省化学物質情報課）。

#### 4. 高分子医用材料の安全評価法に関する研究

高分子医用材料の哺乳類培養細胞を用いる安全性評価法について文献調査を行った。

#### 5. 動物細胞を用いる変異原性試験の開発に関する研究

発癌物質その他の環境汚染物質の変異原性に対し、哺乳動物培養細胞を用いる試験系の有用性について検討した。

#### 6. マウスを用いる小核試験法に関する研究

i) 小核誘発におけるマウス系統差について検討を行った。

ii) 末梢血の小核試験法についてフローサイトメーターによる測定法の基礎的検討を行った。

iii) 小核試験結果の統計学的解析法について検討した。

#### 7. 活性酸素の染色体異常誘発機構に関する研究

i) ソフトX線照射による染色体異常誘発性における活性酸素の関連性を検討した。

ii) 化学物質による活性酸素発生系における染色体異常誘発機構について検討した。

#### 8. 変異原物質の代謝活性化機構に関する研究

再構成ミクロゾーム系を使用して、アフラトキシンB<sub>1</sub>に対し高い活性化能を有するチトクロームP-450を検索した。

#### 9. 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

*Salmonella typhimurium* TA1538の染色体DNAから、ニトロ還元酵素、アセチル転移酵素の遺伝子をクローニングし、ニトロアレン類に高感受性な *Salmonella typhimurium* 株を作製した。

#### 10. 天然添加物の突然変異誘発作用に関する研究

天然甘味料ステビオサイドとそのアグリコンであるステビオールの微生物に対する突然変異試験 (Ames test, forward mutation assay, rec-assay, umu test),

培養細胞を用いる染色体異常試験と突然変異試験ならびにマウスの骨髄を用いる小核試験を行った。

#### 11. 変異原の情報収集

i) バイオロジカルデータベースのテストデータの作成を継続し、プログラムの結合テスト、システムテストを行った。

ii) 染色体異常試験および小核試験のデータの集積を行った。

#### 12. 化学物質設計等支援のための知識ベースシステムに関する研究

変異原性予測知識ベースシステム開発のための基本設計を行った。

#### 13. 突然変異の誘発機構の基礎的研究

シャトルベクタープラスミッド系を用いて、環境変異原によって誘発される突然変異を DNA 塩基配列レベルで検索し、微生物中と動物細胞中での突然変異を比較検討した。

#### 14. 細胞株の収集、保存、供給に関する研究

i) 昨年度に引き続き、国内外よりがん研究に利用される細胞株を収集し、品質検査を実施後、保存および供給用アンプルを多数作製した。

ii) 細胞株の保存、供給のために開発したプログラムの改良を行い、細胞株データベースを確立した。

#### 15. 細胞株の品質検査法の開発に関する研究

i) 昨年度に引き続き DNA プローブを用いたマイクロプラズマ検出法の検討を行った。

ii) 昨年度に引き続き細胞株の動物種同定法を検討した。アイソザイム分析法に加えて、DNA サザンブロット法、免疫化学的方法を導入し、より精度の高い同定法を確立した。

#### 16. 細胞の開発に関する研究

オンコジーン、ras を導入した BALB/3T3 細胞株を用い、形態・DNA 合成を指標とし、発がんプロモーターの影響を調べた。

## 大阪支所

支所長 伊 阪 博

昭和61年7月1日付けにて、支所薬品部長伊阪博が大阪支所長に、同日付けで支所薬品部長事務取扱を命ぜられた。

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は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、特別研究、国立機関原子力

試験研究および各種の厚生科学研究を行っている。また、昭和61年度から、ヒューマンサイエンス振興財団の長寿関連基礎科学研究が推進され、受託研究を行った。薬品部、食品部および薬理微生物部の各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 木 村 俊 夫

### 概要

昭和61年7月1日、支所長が事務取扱いとなったが、昭和62年4月1日付けで生物化学部標準品製造室木村俊夫室長が薬品部長に就任した。昭和62年3月1日付けで当部柴田 正主任研究官が大阪支所食品部食品第二室長に、支所食品部四方田千佳子技官が当部にそれぞれ配置換えとなった。

### 業務成績

#### 1. 国家検定

検体数はブドウ糖注射液が693件で、全品合格であった。

#### 2. 一斉取締試験

ニトラゼパムを含有する内服固形製剤42件につき定量試験を行い、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(厚生科学研究費、薬務局審査第一課)、日本薬局方固形剤製の溶出試験法の設定基準と試験条件に関する研究(厚生科学研究費、薬務局安全課)、医薬品の規格および試験法に関する研究(日本公定書協会)、注射用水の製造に関するバリデーション(薬務局経済課、安全課、監視指導課)を行った。

### 研究業績

#### 1. 医薬品の分析化学的研究

i) 医薬品の規格および試験法作成に関する研究

i-1) 高速液体クロマトグラフ法によるピンドロール光学異性体分離法を応用し、ピンドロールを静注したラットの血中濃度の変化を測定すると共に、細菌内毒素をラットに投与した病態モデルでのR(+)体およびS(-)体の生物学的半減期および見かけの分布容積

について検討を加えた。特に分布容積がいずれの異性体とも半減し、総消失速度には著しい変化が認められないことから、代謝抑制ではなく、他の要因があることを明らかにした。

i-2) ベアードイオンクロマトグラフ法による日本薬局方の複方ビタミンB散中の硝酸チアミンをはじめとする4種の水溶性ビタミンの同時定量法を確立した。移動相の緩衝液 pH と溶媒混合比、緩衝液濃度とイオン強度、ベアードイオン試薬のアルキル鎖長と濃度などの各ビタミンに対する影響を検討し、最適条件を設定すると共に、抽出溶媒、温度、時間などの抽出条件を確立した。

#### ii) 医薬品製剤の溶出試験法に関する研究

ii-1) 徐放性製剤からの主薬の放出を評価する考え方あるいは方法を開発するために、日局インドメタシンカプセルおよび徐放性インドメタシンカプセルについてフロー法による溶出試験を行った。溶出試験後の流速、pH、温度などの変化による溶出率の変動を検討し、日局溶出試験法による結果と対比した。製剤方法、製剤材料および製剤の物性との関連性を検討した (HS 財団受託研究費)

ii-2) 市販ニトラゼパム錠をモデル製剤として日局溶出試験の準用およびフロー法による溶出試験の結果を対比し、速崩性錠剤についても、製剤間の溶出挙動の差異がフロー法によって検出できることを見出した。

ii-3) 塩酸エチレフリン錠の溶出試験規格および試験条件設定のため、市販エチレフリン錠について試験液の種類、pH などの検討を行った (厚生科学研究費、薬務局安全課)

#### 2. 医薬品と高分子物質の相互作用

i) 医薬品の生体利用率などに及ぼす製剤材料の影響判定に用いる標準標識化合物の作成とその評価

先に種々のフェノチアジン誘導体およびアクリノール (乳酸エタクリジン) の結晶セルロースへの吸着が Freundlich 型であることを示し、Langmuir 型吸着とは異なることを明らかにした。その機構を負荷電性表面に対するイオン交換的吸着と推定する一方、結晶セルロース相とバルク相の二相間分配平衡の観点から検討し、クロルプロマジンとの相互作用は固定荷電を有する相への Donnan 平衡によっても説明できることを明らかにした。しかしエタクリジンについては正確な予測ができなかった (国立機関原子力試験研究費、科学技術庁原子力局)。

ii) 高分子膜分離の方法による超ろ過水の安全性評価法の開発に関する研究

医薬品製造用高分子膜の性能評価、特に除去性能の異常を的確に検出しようとする無害な低分子有機化合物を見出すためのスクリーニングを行った。逆浸透膜 (平膜およびモジュール) について、塩化ナトリウムを基準物質とし、各種アミノ酸、単糖類をはじめフタル酸エステルなど約20種について比較検討した。また、次亜塩素酸ナトリウム液中に平膜を浸漬して劣化モデルを作製し、これに対する種々の有機化合物の透過性の変化を測定した。その結果、ヒスタジンが一指標物質となり得ることを見出した。(HS 財団受託研究費)

iii) 細菌内毒素 (LPS) の生物化学・薬剤学的研究  
四塩化炭素と LPS の同時投与時に観察される肝リソソームの不安化機構を *in vitro* で四塩化炭素あるいは過酸化脂質産生と LPS との共同作用の面から検討した。

## 食 品 部

部 長 伊 藤 啓 志 男

#### 概要

昭和61年6月1日付けで、中村優美子技官が国立栄養研究所応用食品部から当部に着任した。

昭和62年3月1日付けで、中村恵三第二室長が本所療品部主任研究官、厚生省薬務局審査第二課専門官併任として、四方田千佳子技官が支所薬品部へ、各々配置換えとなり、支所薬品部の柴田 正主任研究官が当部第二室長に就任した。

昭和62年3月31日付けで、松野まゆみ研究補助員が退職、昭和62年4月1日付けで、長谷川ゆかり技官および稲森一美研究補助員が新規採用された。

昭和62年3月1日から4月1日までの1ヵ月間で当部第二室の職員が転、退職した事により、昭和62年4月1日より当部人員構成の変更を行った。

昭和62年3月、四方田千佳子技官が京都大学より「アラビン酸と無機カチオンならびにカチオン界面活性剤との相互作用に関する物理化学研究」で薬学博士の学位を授与された。

#### 業務成績

##### 1. 製品検査

食用タール色素 404 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

マンゴー中の EDB 21 件、パパイヤ中の EDB 45 件、濃縮ジュース中のエステルガム 6 件、雑豆中の EDTA 1 件、ケーキ中の不許可色素 8 件、即席ラーメン中の

ポリソルベート2件, ワイン中のジエチレングリコール1件, 食品容器中の樹脂規格試験3件, カニミそ中の安息香酸1件, 梅干し菓子中のサッカリン・ナトリウム1件, およびココア粉末中の亜硫酸1件の合計90件の化学検査を行った。

### 3. 特別行政試験

ビタミンC含有の清涼飲料水および健康ドリンク中の過酸化水素の定量法を作製した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)。

輸入即席ラーメンの味袋中のポリソルベートの定性・定量法を作製した(生活衛生局食品化学課)。

関西地区の市販輸入果実中のEDB含有量の実態調査を継続して測定中である(厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課)。

### 4. 研修について

国際協力事業団による昭和61年度, 輸出入食品検査コース(研修生8名)の研修を11月に, 農薬利用コース(研修生8名)の研修を62年4月に行った。

また61年5月より3カ月間神戸農林規格試験所より1名, 昭和62年2月より2カ月間大阪港, 神戸港および大阪空港検疫所からの3名に対する研修を行った。

### 研究業績

#### 1. 食品・添加物など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

① 食品中の合成添加物の多成分分析法: 液体食品中11種食用タール色素の微量4級アミンおよびテトラフェニルほう酸ナトリウムを用いる系統的迅速分析法を考案した(厚生科学研究費・義平班, 生活衛生局食品化学課)。

② 輸入食品検査に関する簡易分析法: 食品中の微量亜硫酸(10ppm以下)の通気蒸溜・パラオザニン比色定量法を作製した。発色条件を種々検討し, 再現性の良い迅速な行政試験用の定量法とした。また欧米で許可, 我が国で不許可の食用赤色40号のアンバーライトLA-2を用いる定性・定量法を作製した(厚生科学研究費・田辺班, 生活衛生局食品保健課)。

##### ii) 食品添加物の1日摂取量に関する研究

① 調査研究: 昨年に引続き, 本所食品添加物部および地方衛研10機関(和歌山県が退班し, 新しく今年より名古屋, 大阪市, 香川県が加わった)。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。

昨年はB群食品添加物(有機酸, ビタミン, ミネラル, 安息香酸のように天然にも存在するもの)145品目の自然含有量(back ground)を調べる目的で, 生鮮食品を対象に秋期の調査を行ったので, 今年は春期の調査を行った。

当部で担当した安息香酸, グリセリン脂肪酸エステルおよびアルギン酸の自然含有量の日本人の1人1日摂取量は各々, 0.535mg, 6.53mg および210mgであった。

また昭和51年より開始した本研究の10年間のまとめを行い, 国民栄養調査に基づく方式, 陰膳方式および食品添加物測定用マーケットバスケット方式の3種の方式での調査結果を比較した。食品添加物測定用マーケットバスケット方式での日本人の1人1日摂取量は, A群食品添加物(サッカリン, タール色素のような天然に存在しないもの)49品目の総量は0.099g, B群食品添加物ミネラル, アミノ酸, ビタミンのような同形のものが天然に存在するもの145品目の食品添加物として用いられたものの総量は1.62gであった(厚生科学研究費・城班, 生活衛生局食品化学課)。

② 分析法: 安息香酸の高速液体クロマトグラフ法を用いる高感度, 迅速定量法を作製した。

③ 食品由来成分(back ground)の含有量調査研究: B群食品添加物の各種食品のback ground値調査を行った。今年は当部で開発した分析法(酸素電極装置を用いる方法)により, 加工食品および生鮮食品中の過酸化水素含有量を測定した。加工食品で10ppm以上のものとしては, コーヒー, ココア, ほうじ茶, ウーロン茶, 紅茶, 麦茶等の茶類があり, 生鮮食品では10ppm以上のものはなく, 1ppm以上のものとしては, 落花生, かれい, ぼたて貝, いかおよびかきがかった。総数千数百種について調査した。またレバー, 生肉, 生魚等のようにカタラーゼを含有する食品中からの過酸化水素の定量法を開発した(食品等試験検査費・義平班, 生活衛生局食品化学課)。

##### iii) 食品・食品添加物の代謝研究および物性研究

① 代謝研究:  $C^{14}$ でラベルしたクエン酸およびそのNa塩, K塩, Ca塩でのシロネズミでの代謝を比較した。いずれの場合も24時間以内に $C^{14}$ の76.7~88.9%が呼気に, 3.8~11.2%が尿中に, 0~2.8%が糞中に排泄された。血中, 各臓器分布濃度等から, いずれも類似した代謝をおこなうが, その速度はクエン酸, そのK塩, Na塩, Ca塩の順となることを明らかにした(厚生科学研究費・田中班→高橋班, 生活衛生局食品化学課)。

健康食品の一種である深海ザメエキスの主成分であるスクアレンのシロネズミにおける代謝実験をおこなった。シロネズミに, スクアレン0.1ml, 0.5mlおよび1.0mlを1日1回経口投与し, 4週間の血清, 肝臓中のスクアレン, コレステロール, ビタミンA含有量および中性ステロイド, 胆汁酸の排泄量を調べた。



0.5 ml 以上の投与群では、投与2日後にすでに、セボリア症状が出現した。0.1 ml 投与群では、対照に比し胆汁酸含有量に著明な変動が認められた（厚生科学研究費・内山班，生活衛生局食品保健課）。

② 物性研究：アラビン酸およびコンドロイチン硫酸に対するカチオン界面活性剤（*n*-ドデシルトリメチルアンモニウムイオン）の結合性を測定した。両者の電荷間距離はほぼ等しいにもかかわらず、前者の結合定数は後者の1/30~1/10となり、その原因は分岐構造に起因した立体障害であることを明らかにした。

#### iv) 食品中の残留農薬分析法に関する研究

カルバメート系 (Sweep, Chloroprotham, Propoxur, Isoprocarb, BPMC, XMC, MTMC, MPMC) 尿素系 (Diuron, Linuron) および酸アミド系 (Propanil, Propyzamide) の合計12種の農薬の米およびオレンジからの系統的分析法を作製した。米はアセトニトリル、オレンジはアセトンで抽出濃縮後、食塩水を加え、ジクロロメタンで再抽出し、Sep-Pak フロジルカラムで精製後、ガスクロマトグラフ (FTD または ECD) 法で直接定量し、メチル化または TFA 化して再確認する方法である（厚生科学研究費・斎藤班，生活衛生局食品化学課）。

#### v) 化粧品成分の分析法に関する研究

化粧品に用いられる種々の天然ガムと陽イオン界面活性剤（臭化トリメチルアンモニウム）との相互作用を導電率、Na イオン活量係数および沈澱形成反応により検討した。これらの相互作用には、糖鎖の構造が大きく関与していることを明らかにした。また各種天然ガムは陽イオン界面活性剤と反応し種々の異なったゲル化現象を生じることを見出し、この現象を利用した天然ガムの種類の判別法を考案した。

## 薬理微生物部

部長 川崎 浩之進

### 概要

昭和61年9月30日、ニューヨーク州立大ダウンステート医学センターに留学中であった江馬 真主任研究官が帰国した。かわって昭和61年11月3日より1年間の予定で伊丹孝文主任研究官がテキサス大サンアントニオ健康科学センターへ留学中である。さらに昭和62年5月22日、23日の両日小川義之衛生微生物室長がアムステルダム、International Conference Endotoxins において「Binding of Endotoxin to Proteolipid Apoprotein Extracted from Cerebrum」と題してポスター

発表を行った。また昭和62年1月31日付けで井上和美技官が退職し、さらに昭和62年4月1日付けで坂本純技官が厚生省業務局安全課再審係へ出向となった。生物学的な試験および研究が益々重要視される今日、当部研究員の2名減は大きな痛手であり、日常業務の整理と研究業務の再編を行いつつあるが、業務遂行と組織の活性化のために研究員の補強は必須の要件であろう。

### 業務成績

国家検定としてブドー糖注射液 693 件の無菌試験および発熱性物質試験を行い、全品合格であった。

### 研究業績

#### 1. 発熱物質に関する研究

i) 細菌性発熱物質 (LPS) の構造と作用機序に関する研究

LPS の発熱機序を明らかにするため発熱活性の信頼できる指標の確立と、構造一括性相関の検討を行い、発熱活性の指標として最高発熱度に基づく用量一反応曲線が統計的に信頼度が高く、Lipid A の立体構造上の差異は LPS による発熱に支配的要因となる可能性を示した。また LPS 分子の多糖体部位も発熱に重要な改善を担っていることを示唆した。

ii) LPS と脳プロテオリピドの相互作用に関する研究

水溶性で LPS 結合性のアポプロテインは、解離溶出液として生理食塩水・リン酸緩衝液に SDS を 2% 溶解したものをを用いてセファローズ 4B のアフィニティクロマトで分離できた。ウサギプロテオリピドの LPS 結合性アポプロテインのうち最も重要なものの分子量は 15,000 ダルトンであることを明らかにした。これらの結果はミエリン鞘およびグリア膜のプロテオリピドアポプロテインが LPS の脳内への移行機構において重要な役割を担っていることを示唆している。

iii) 発熱性外毒素による LPS の毒性増強の作用機序に関する研究

溶連菌発熱性外毒素による LPS ・毒性増強機序について、血糖値の変動等基礎生理学的見地から検討を加え、さらに外毒素が LPS の血中からのクリアランスに及ぼす影響についても検討した。

#### 2. Limulus test に関する研究

注射用水の品質バリデーションに関する研究の一環でもあり、当部で精製し、Working Reference Endotoxin (Lot. 01) として用いられているエンドトキシンを国内標準品として規格化するため、本所薬理部および国立予防衛生研究所生物製剤管理部と協力して発熱活性の測定を行い、その PD<sub>50</sub> 値を確定した（厚生科

学研究費, 薬務局安全課)。

### 3. 農薬・食品添加物等の毒性に関する研究

#### i) 胎仔毒性に関する研究

胎仔毒性の一つの指標となる  $\alpha$ -フェトプロテインを精製する方法を検討した。 $\alpha$ -フェトプロテインは金属に親和性があることを利用し,  $\text{Cu}^{2+}$  キレートカラムで簡単に精製が行える方法を開発し, この方法によれば  $\alpha$ -フェトプロテインの分子種の分画も可能であることを示した。さらに LPS によってラット肝においてメタロチオネインが誘導されることを明らかにした。

ii) 微小循環技術を用いた各種薬物の脈管系に対する影響に関する研究

エタノールによる脳血管収縮に対するマグネシウム塩の抑制効果をラット脳表面の細動静脈を用いて *in situ* で検討した。マグネシウム塩は脳微小血管を拡張させ, エタノールの血管収縮作用を抑制することが明らかとなり, マグネシウムはアルコールによる脳血管障害を防御することを示唆した。

#### 4. 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

インスリンと LPS が混在する場合遠心管式限外濾過器を用いて両者の分離が可能であり, この方法によりインスリン中の LPS の検出はリムラス試験や発熱試験で可能であることを示した。また組換え技術を利用して大腸菌より得られたヒトインスリン試料 (Lot 615-3UD-260) 中の LPS 量を測定したところ, 混在する LPS は 0.001% 以下であり, インスリンショックを引起す大量投与によっても発熱を起す LPS 量に達しないことを確認した (特別研究, 厚生省)。

#### 5. メタクリル酸ラウリルのラットに対する催奇形性に関する研究

61年度家庭用品に使用される化学物質の安全対策の一環として検討を行い, 試験の範囲内ではラットに対して催奇形性を示さないことを明らかにした (家庭用品等試験検査費・生活衛生局生活化学安全対策室)。

#### 6. リムラステストの標準化とそれらの応用による高分子膜およびその材質等の安全性評価に関する研究

HS 財団からの受託研究として第1年度の研究を行い, リムラステストの標準化のため先に述べた Working Reference Endotoxin Lot. (Lot. 01) を用いて市販の各種リムラス試薬でリムラステストを行った。その結果, Lot. 01 エンドトキシンの活性と各種リムラステストの評価と共に, さらに他の市販エンドトキシンとの活性の対比が出来た。また, Lot. 01 エンドトキシンを用いて, 高分子膜透過水の品質評価とエンドトキシンおよび各種細菌の除去能についても検討ができ

た (HS 財団受託研究費)。

## 北海道薬用植物栽培試験場

場長 島山好雄

### 概要

研究業務は前年と同じく寒地型薬用植物の栽培と育種, 野菜薬用植物の栽培研究に当たったほか, 標本園の研究的・社会的意義を増すため, 標本植物用の予備圃を新たに設け, 予備圃において特性・調査・選抜した優良系統を標本園に移植・保存・提供することとした。

ケンの講習会も例年通り実施し, また, 生薬学会・東洋医学会・薬剤師会の各北海道支部合同の見学・講習会が当場で実施された。

機器については, 水耕実験装置を購入した。

### 業務成績

#### 1. 種子交換

採種 197種 (筑波薬送付)

受入 35件 127種

分譲 37件 90種

2. 薬用植物の栽培・自生調査・東北地方における薬用植物の作付が増加しているため, 岩手県の栽培状況を調査し, あわせて栽培法・調整法の指導に当たった。作付されていた作物は次の通りである。シャクヤク・カラスビジャク・ヤマトトウキ・イカリソウ・ハマボウフウ・ゲンチアナ。

道内の指導・調査はダイオウ (名寄), シャクヤク (訓子府・滝の上), ケン (下川・名寄) 等である。

### 研究業績

#### 1. シャクヤク

3年生生株の乾物収量を 10a 当たり, 1,200 kg, 一株当たり 400 g に設定, 54系統中 400 g 以上の多収11系統, それにごく近い収量も含めると18系統見出された。また, 5年生株の一株収量を 700 g に設定したところ, それを上回るものは10系統見出された。3年生, 5年生とも高収量を示す系統は7系統であった。

#### 2. ダイオウ

耐暑性系統を育成するためビニールハウス内にて幼苗選抜を行った。前期1500, 後期1500, 計3000個体を供試し, 高温・過湿・水分ストレス耐性をもつと推定される前期216, 後期132, 計348個体を選抜した。また, 形態的あるいは生態的変異, 特に耐暑性が染色体の異数性と関連するか否かを検討するため選抜に供試したと同じ全系統の染色体数および核型を調べたが, いずれも染色体数  $2n=22$  を示し, 核型については明

確な結論を出し得なかった。

### 3. 野性薬用植物

トロパンアルカロイド含有植物の中、ハシリドコロを含むスコボリア属10系統・アトロバ属5系統・ダツラ属21系統の生育・形態・成分含量について調査を行った。

ハシリドコロについては4年株の堀上げを行い、収量は3年生とはほぼ同程度であることを確認した。成分については、ロートコンのスコボラミン・アトロピンは道内産が少なく、ソ連・北朝鮮・韓国産のものが高かった。ダツラ葉の成分含量も0.15~0.29%と低かったが、一系統だけスコボラミンを主成分とする珍しい系統が見出された。

カラスビジャクについては連作が不利なこと、多収穫をはかるには大球の比率を高める必要があることを確認した。調整法についても試験を行い、石灰・芒硝・明ばんを使うと灰分が多くなり局方値を上回ること、加熱すると澱粉が糊化し、粉白質に仕上がらないこと、水酸ナトリウムと稀塩酸溶液に浸泡すると、乾燥早く粉白質に仕上がることが判明した。

## 筑波薬用植物栽培試験場

場 長 佐 竹 元 吉

### 概要

昭和61年11月1日付けで栽培研究室に江崎勝司技官(伊豆薬用植物栽培試験場)が配置換えにより着任し、昭和62年4月1日付けで栽培研究室長に飯田 修技官が、また育種生理研究室長に下村講一郎技官が昇任した。

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、前年度からの継続に加え、長寿関連基礎科学研究(財団法人ヒューマンサイエンス振興財団)で、民間企業4社等との共同研究、および国際共同研究事業として、中国との共同研究「薬用資源植物の確保、開発および利用」を実施した。

中国医学科学院薬用植物資源開発研究所 張蔭麟氏が1年間の研修を終え、昭和61年12月12日に帰国した。また、昭和61年度科学技術振興調整費による重点基礎研究外国人招へい者として、中国医学科学院薬用植物資源開発研究所標本館 林寿全氏が昭和62年1月16日に来日、「薬用植物の成分多生産系統の開発等に関する研究」に関して、50日間の滞在期間中多大の成果をあげ帰国した。

昭和62年3月3日、当场において、薬用植物栽培試

験場業務打合わせ会が開催され、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。

海外出張は、佐竹が、ペルー(7月18日~8月1日)へ制がん性天然薬物の調査研究、および中国(昭和62年3月5日~3月12日)へ長寿関連基礎科学研究・国際共同研究事業に係わる研究のため出張した。下村講一郎技官は、科学技術庁国際研究集会派遣者として、第二回国際植物組織細胞培養学会(アメリカ合衆国・ミネアポリス、昭和61年8月3日~8日)において発表した。

### 業務成績

#### 1. 種子交換

種子の保管数	1,792種	(’86年, ’87年分)
入手種子数	177件	946種
分譲種子数	172件	3,720種
種子目録配布数	76カ国	411機関

### 研究業務

#### 1. ミンマサイコ

##### i) 優良系統の選抜に関する研究

前年度、特性を明らかにした55系統から収量性およびサポニン含量の高い27系統を選抜し、第3代目の特性を明らかにした。今年度、第4代目の選抜を行う。

##### ii) 生育と成分の季節変化

育種および栽培方法を改善することを目的として、生長量、サイコサポニンおよび希エタノールエキス含有量の季節変化を明らかにするため、1年生株および2年生株について調査を行った。

サイコサポニン(aとcとd)の含量は7月に上昇し(2.33%)、以後11月まで低下し(0.73%)、12月より再び上昇し、5月に再び含量の増大(1.32%)が見られた。サイコサポニンa, dは含量が高く、サポニン含量変化の主因であるが、サイコサポニンcは含量が低く、わずかに7月に高い値を示した。エキス含量はサポニン含量とは逆に冬期に高い値を示した。

#### 2. ケン

一貫種および外国導入種より第3代目の選抜を行い、アヘンの中のモルヒネ含量18%以上の15系統およびコデイン含量4%以上の3系統を選抜し、継続栽培をしている。保存系統の高い外国導入71種の栽培も行っている。

水耕栽培の試験を開始し、ファイトトロン条件下、予備試験でケンの開花結実が見られた。

#### 3. ハトムギ

タイ系統と筑波系統の交雑種F<sub>7</sub>世代の選抜育種を行っている。F<sub>6</sub>で18系統96種を選抜採種した。この中で収量性の高く、草丈が低く、果実の硬度の小さい

8系統, 18種を選抜した。

#### 4. ムラサキ

異なる温度条件下での生育の差異を明らかにした。15°, 20°, 25°, 30°Cの4区のファイトトロン自然光室で5月から8カ月間栽培した。30°C区が生育が早く, 15°C区は緩慢であった。また, 30°C区は他の3区の株の生育が停止した(7月~9月)以後も生長開花が見られた。根部の肥大の程度は25°C区が良く, 20°, 15°, 30°Cの順に低下の傾向が見られた。

#### 5. 組織培養に関する研究

##### i) Riプラスミドによる形質転換細胞の研究

##### a) ペラドンナ毛状根由来の再分化個体

親植物と比較すると毛状根由来の再分化個体は葉が波打ち, 幅広く, 節間がつまり, 不定根の分化が顕著であった。自家受粉による後代の分離化は正常個体: 形質転換個体 1:1.4 がであった。薬培養で得られた植物体は 1:1 であったが, 半数体と二倍体の植物が混在していた。遺伝的分離比はタバコでの値とやや異っていた。

アルカロイド含量は根および葉は正常個体に比較して低い値を示した。半数体の毛状根はアトロピン, スコポラミンの含量は二倍体の毛状根とはほぼ同等であった。

b) 大量培養によるアルカロイドの生産 *Datura innoxia* の毛状根をホルモン無添加 MS 液体培地で, 25°C, 暗黒下, 3週間培養すると新鮮重量 100 mg のものが 74 g に増殖した。毛状根のアトロピンは 0.273%, スコポラミンは 0.025% であった。培養液中にアルカロイドが分泌されることも明らかになった。

##### ii) トコンの研究

##### a) クローン増殖

無菌茎葉の作出に成功し, 節切片より NAA-BA (0.013~5 mg/l) 培地で B5 平均 5.4 本の茎葉が得られた。

茎葉の発根は IAA1 mg/l 添加 B5 培地が良好であった。NAA を添加するとカルスが形成される。土壌栽培 7カ月の個体のアルカロイド含量は親植物と同程度であった。

##### b) カルスおよび不定根のアルカロイドの生産

トコンの茎頂培養個体より誘導したカルスおよび不定根のエメチンおよびセファエリンを定量した。カルス化は, 2.4 D-Kin (1~3.0~0.1 mg/l), 不定根形成は IAA (3 mg/l), NAA (1 mg/l) が良好であった。カルスからはセファエリンのみがわずかに生産されたが, 不定根では両成分が生産され, 液体培養では NAA (1 mg/l) が生育良好であるが, IAA (1~3 mg/l) がア

ルカロイド生産には適している。

#### 6. 薬用植物のデータベース化

薬用植物および生薬の品質評価や鑑定に必要な情報を辞典的役割に開発した Medicinal Plant Vision および薬用植物および生薬種子貯蔵, 脂葉標本等の戸籍簿の役割を果たす Medicinal Plant Address を開発し, 薬用植物栽培試験場の目録を作成した。

## 伊豆薬用植物栽培試験場

場長 西 孝三郎

### 概要

昭和61年12月15日付けで江崎勝司技官が筑波薬用植物栽培試験場へ所属換えとなり離任した。

また, 西場長はスリランカの特用作物栽培開発計画調査のため昭和62年2月17日~3月2日, インド・スリランカへ出張した。

### 業務成績

#### 1. 種子交換

採種 110種 (筑波試験場へ送付)

内訳 野生植物 50種

標本植物 46種

温室植物 14種

受入れ 16件 140種

分譲 25件 165種

#### 2. 薬用植物の自生地調査

例年と同様伊豆半島各地と箱根地区の野生薬用植物の植生調査を行ったほか, 本年度は自衛隊の富士演習場内のミンマサイコについて調査を行った。

### 研究業績

#### 1. ミンマサイコ

##### i) 茎頂培養

前年度に引続き茎頂培養による増殖法の検討を行った。その結果, 最も良好な培地条件は MS 培地 1/2 濃度, IBA 0.25 mg/l, カイネチン 0.01 mg/l および 0.1 mg/l の添加培地であり, 温度は地上部が 25°C, 根は 20°C で良く伸長した。

##### ii) 培養株からの採種

昭和59年度, 1株から茎頂培養により増殖した 200 株を隔離栽培は場で栽培し, 昭和61年10月~12月に約 2 kg の種子を採取した。

#### 2. ミラクルフルーツ

さし木増殖による方法を確立するため, 市販されている発根剤を用い, 処理濃度, 処理時間等について検討した。その結果, 発根剤は  $\alpha$ -ナフトレン酢酸, オ

キシペロン ( $\beta$ -インドール酪酸), ルートン ( $\alpha$ -ナフチルアセトアミド) の3種類のうち, オキシペロンが最も良く, その濃度は 100 mg/l, 時間は24時間で94%の発根率を示した. またさし木の時期は5月が最も良く, 当年枝と2年枝では後者のさし穂が良かった.

## 和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 野 口 衛

### 概要

昭和62年1月1日付けで堀越 司前場長が退任, 野口 衛 (前本所生薬部第二室長) が昇任した.

施設設備に関しては, 場長室の整備, 農具倉屋根の葺替え, 発芽試験チャンパー2基の導入, 化学実験室の改装を行った. また, 実験台, 高速液体クロマトグラフ, 化学天秤, 蒸留水製造装置を新設したため, 分析化学的な研究が可能になった. 次年度はケンを栽培せず, 代替えに根類生薬の起源植物の栽培を行うこととし, 水田跡のは場 2,500m<sup>2</sup> に暗渠排水管を敷設, 床土の破壊と天地返しをするなど, 土壌改良を施した.

### 業務成績

#### 1. 種子交換

採種 112種 (筑波試験場へ送付)

受入 51件 80種

分譲 28件 68種

#### 2. 指導業務

和歌山県薬用植物普及研究会に参加し, 県の施策について協議した. 印南町, 中津村, 海南地区, 有田群その他の地域の薬用植物栽培農家の指導, 日高町, 古座川町, 中津村その他の婦人団体の見学, 指導にあたった.

### 研究業績

#### 1. ケン

昨年度に引続き, 開花調査, 特性調査を行った. また, さく果20個を直接抽出し, 高速液体クロマトグラフ法を用いてモルヒネ, コデイン含有量を測定した. アルカロイド量は一さく果当たり 21.5~68.2 mg (平均 36.85 mg), さく果重量が大きいものではアルカロイド含量は高い値を示した. ただし, モルヒネ収量は, 生アヘンより採取した場合とあまり大きな相違はない.

#### 2. ミシマサイコ

##### 1) 種子検定

ミシマサイコの種子の植物当りの収量は, 系統にもよるが300~500個で, 主茎頂花由来のもの10%以下, 第一次分枝頂花由来のもの35~53%, 残りはそれ以外

となった.

鉢植えした場合の発芽率は, 系統によって異なるが, 主茎頂花より得たものは27~53%, 第一次分枝頂花より得たもの, 第二次分枝頂花より得たものはその3分の2程度となった. また, 産地別の種子の大きさは, 宮崎産は直径 1.5 mm 以上のものが約70%と最も大きく, ついで十津川 (奈良) 産32%, 茨城産27%, 鹿児島産12%の順に低い値を示した.

実験室内発芽試験では, 発芽率は 15°C で最も高く (平均35%), 20°C (25%), 25°C (9.5%) の順に低くなった. また, 産地別 (15°C) では, 宮崎52.1%, 鹿児島40.7%, 茨城23.4%となり, 宮崎産のみは 20°C 区でも49.7%と高い値を示した. なお, 第二次以下の花より得た種子の発芽率は, 主茎, 第一次分枝頂花から得たものに比べて低い値を示し, 種子の大きさは発芽率にはあまり影響を及ぼさない.

##### 2) 堀上げ調査

同一系統では, 種子の大きいものは, 二年生根の重量はやや大きい傾向が認められた (1.5 mm 以上; 乾燥重約 8 g, 1.25 mm 以下; 同約 6 g). 一年生に関しては, 主茎頂花, 第一次, 第二次分枝頂花より得た種子を用いた場合の根の風乾重は, は場, 鉢植えいずれにおいても一本 1.3 g 程度であった.

##### 3. セネガ

2年生 (60年4月は種), 1年生 (61年4月は種) 根について堀上げ調査を行ったところ, 1年生乾燥根重, 0.5~1.5 g, 2年生同; 0.5~3.5 g であった.

##### 4. キキョウ

種子を春まきして得た1年生根の育成収量を検討したところ, 白花株は生根重量 15.4~69.6 g (平均 35.56 g), 紫花株 4.8~37.2 g (平均 13.56 g), 草丈の大きい株は根の重量も大きい, 地上部重量と根の収量には相関関係は認められなかった.

##### 5. トウキの種子検定と発芽試験

系統別に栽培したトウキより得た種子 (第一次分枝より得たもの) の1000粒重は, 大和 1.95 g, 岐阜 3.49 g, 奈良 (福田) 3.77 g であった.

実験室内発芽試験において, 大和産のみは, 15, 20, 25°C でそれぞれ 15.3, 13.3, 4.0%発芽したが, それ以外のものはほとんど発芽しなかった.

高野町におけるトウキの栽培, 収穫, 調製, 出荷に要する作業時間を調査した.

##### 6. その他

シャクヤク, アマチャヅル, カンゾウ, 印南町の杉林, 柿畑で栽培されたオウレンの堀上げ調査を行った. また, サフランのめしべ採取, サジオモダカ, エビス

グサ、ハトムギ、ハブソウ、ヒマワリなどの展示栽培を行った。

その他、サイコ、トチュウ、キハダ、モロヘイアなどを用いて土壌改良剤の試験を行った。

## 種子島薬用植物栽培試験場

場長 葵 一八

### 概要

建築から10数年を経過した庁舎は、台風・北西季節風による強風雨害で、庁舎内外面の損傷がひどくなり、室内には雨滴の浸出を見る惨状であった。そのため建設省九州地方建設局鹿児島管轄工事事務所に、庁舎補修を懇願したところ、厚意的に対処していただき、建設省の特別補修工事費により、昭和61年10月1日～同62年2月15日までの工期で、庁舎の全面改修が施工され、新築同然の新装になった。また、旧宿舎を庁舎に移用して、収納乾燥庫としての模様替え施工をしたほか、20数年を経過した、鉄骨ビニールハウス2棟(106.2m×2)212.4m<sup>2</sup>は、鉄骨腐蝕のため倒壊したので、本年度の予算で建替えた。

場構内の環境整備・管理として、西側の無立木地が、台風および季節風の侵入風道になっていたので、防風林帯(モクマオウ樹・アカギ樹)を造成して、耐風策を講じた。前年造成した防風林地ならびに休閑地には、カバークロープとして、冬季にルービン、夏季にプロタラリヤ等、マメ科緑肥作物を導入して、地力保全に努め薬用植物種の草勢強化を図った。

### 業務成績

#### 1. 種子交換

採種(151種: 筑植へ送付)

内訳 自生植物(122種)

導入植物(29種)

受入れ(6件)(10種)

分譲(6件)(31種)

#### 2. 薬用植物の自生地調査

前年に継続して種子島(ウコン・ニッケイ等)・屋久島(五葉オウレン)における自生地の植生調査と、沖縄本島・石垣島・西表島における、薬用植物の自生種(ウコン類)、ならびに導入植物種のシナニッケイ・クミスクチンの、栽培地における生育状況について、聴取り・観察を行なった。

#### 3. その他

「ガジュツ栽培に関する現地研修会資料」を作成して、西之表市および南種子町のそれぞれの振興会にお

いて、講演ならびに生産現地での、立毛検討会を実施して、ガジュツの生産性向上のための技術習得を深めた。

年間の来場者は、前年よりも多く、1200名余であったが、参観内容はその場限りの見学から、当地域における農業の経営安定化につながる、諸技術ならびに将来方策等についての、情報交換を求める来場者が多くなり、農業情勢の厳しさに対応しようとする、農家サイドの意欲の強さを痛感した。

### 研究成績

#### 1. ウコンの多収性に関する研究

##### 1) 植付け時期試験

種子島産およびインドネシア産の両種を供試して、3月・4月および5月植についての植付け適期を検討した。その結果、両種共、根茎収量(生および風乾物)では、植付け時期間には、有意差は認められなかった。つまり、短年度の結果ではあるが、両種共、植付け適期幅の広いことを示している。

##### 2) 栽植密度試験

種子島産およびインドネシア産の両種を供試して、密植区(80cm×20cm)・標準区(80cm×30cm)と疎植区(80cm×40cm)の3処理による適正栽植密度を検討した。その結果、種子島産・インドネシア産とも、1株当たり総根茎収量および主根茎収量の生・風乾物とも疎植区>標準区>密植区の順であって、株間競合が強まるにつれ、当然のことながら、収量は低減するが、逆に単位面積当たりの総根茎収量および主根茎収量の生・風乾物は、栽植株数の多い、密植区>標準区>疎植区の順で密植多収の傾向を認めた。

したがって、単位面積当たりの根茎収量からみれば、主根茎肥大に悪影響をおよぼさない程度の、密植(80cm×20cm)であれば、機械利用による肥培管理作業の精度、および省力化の面からみて、適正な栽植密度であると思料した。

##### 3) 堆きゅう肥施用試験

種子島産およびインドネシア産の両種を供試して、標準肥料区・慣行肥料区と慣行施肥(化学肥料)に堆きゅう肥をa当たり0.2t・0.4tおよび0.6tのそれぞれを加用した、5肥料処理によって、適正な堆きゅう肥施用量を検討した。その結果、種子島産およびインドネシア産の両種における、総根茎収量および主根茎収量の生・風乾物とも、堆きゅう肥の増施にともなう、多収の傾向を認めたので、さらに最多収を得るための適正なる堆きゅう肥施用量を究明する。

#### 2. ガジュツの栽培に関する研究

##### 1) ガジュツの連作障害防止に関する研究

主区に線虫無防除区と線虫防除区とを設け、それぞれの副区として、無肥料区・標肥区および標肥+有機物加用区を配置し、線虫防除の有無と、施肥量の組合せとが、ガジュツの生育・収量に及ぼす影響を検討した。その結果、線虫を防除することによって、各根茎収量とも、20~40%の増収効果を認めた。

また、線虫無防除区内の無肥料区100に比べて、標肥区が130~150、標肥+有機物加用区で、195~240の顕著な増収効果を認めた。線虫防除区内の無肥料区100に比べて標肥区130~140、標肥+有機物加用区140~190の顕著増収効果を示した。したがって、ガジュツ栽培では、連作を避け、有機物多施が増収につながる事が判明した。

### 2) 堆きゅう肥施用量試験

無肥料区・標肥区・慣行区および慣行(化学肥料)+堆きゅう肥をa当たり0.2t・0.4t・0.6tを、それぞれ加用した計6施肥処理区を設けて、ガジュツに対する堆きゅう肥の適正施用量を検討した。その結果、総根茎収量および主根茎収量の生・風乾物収量とも、有機物を加用した標肥区と、慣行+堆きゅう肥加用区が、無肥料区に比較して、著るしく増収することを認めた。堆きゅう肥施用量は、アール当たり0.4tで最高に達し、0.6t区では、0.2t区よりも低収であった。したがって、堆きゅう肥の質および腐熟度のちがいによっても、若干、肥効は異なるであろうが、本試験の成果から推定すれば、アール当たり0.4tが適正であると思つた。

### 3) 栽植密度試験

密植区(80cm×20cm)・標肥区(80cm×30cm)と疎植区(80cm×40cm)の3処理区を設け、各処理区共種ガジュツの1個重量70g程度のものを供試して、適正なる栽植密度を検討した。その結果、70g程度の種ガジュツによる、栽植密度は80cm×20cmが経済性から評価して、適正なる栽植密度であると思つた。

した。

## 3. クミスクチンの栽培に関する研究

### 1) 植付け時期試験

4月5日植区・5月2日植区と6月1日植区の3処理区を設けて、植付け適期を検討した。その結果、開花率が85%に達するなどの所要日数は、植付け時期がおそくなるにつれて、短縮される傾向にあった。地上部収量は、5月2日植区が最高収量で、4月5日植区と6月1日植区とは、同水準の低収量であった。すなわち、4月5日植区は、北西季節風による寒害をうけ易く、一方6月1日植区は栄養生長量の低下が、低収の主因であると考えられる。したがって、5月2日植区は多収であるばかりでなく、気象条件等の点からみても、安定した植付け適期であると思つた。

### 2) 3要素肥料感応性試験

O区、N区、P区、K区、NK区、NP区、PK区およびNPK区の8処理区を設けて、クミスクチンに対する肥料感応性を検討した。その結果、地上部収量の生・風乾物とも、NPK>N>NP≒NKの順に多収で、N感応性の高いことを認めた。また、風乾物収量の推移からみると、N単用よりも、PおよびKとの加用効果が多収をもたらすことを知つた。

### 4. 日照量の制限が薬用植物の生育・収量に及ぼす影響

ショクヨウカンナ・ガジュツ・ウコン(種子島産・インドネシア産)の計4種を供試して、対象区(裸地)、日照量50%制限処理区および日照量75%処理区の3処理を設けて、前記薬用植物種について、生長量と日照量との関係を検討した。その結果、根茎の収量は、日照量の制限が強度になるにつれて、各種とも低収の傾向を示した。概して日照量50%制限処理区では、地上部の生長量は、対象区(裸地)と大差ない生育を示すので、適正なる施肥管理条件によっては、実用的栽培が可能であると思つた。

「日本薬局方外医薬品成分規格」の概要および試験規格の作成

神谷庄造：月刊薬事，29，53（1987）

わが国で使用されているすべての医薬品の品質の確保・向上ならびに行政の簡素化をはかるなかで，日本薬局方，日本薬局方外医薬品成分規格，日本薬局方外生薬規格集，放射性医薬品基準，臨床診断用医薬品原料規格，日本抗生物質医薬品基準，生物学的製剤基準などの公定規格書の役割と相互の関係を述べた。さらに，これらの公定規格書に記載される医薬品および医薬品添加物の試験規格の作成についての研究法を述べた。

**Studies on the Conformation of 1-Aryl-1-nitrosoureas and Related Compounds**

Masayuki TANNO and Shoko SUEYOSHI: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1353 (1987)

1-Aryl-3,3-dialkyl-1-nitrosourea 類と関連化合物の  $^{13}\text{C}$ -NMR を  $-40^\circ\text{C}$  で測定し，これらの化合物の chemical shift を帰属した。1-Aryl-1-nitrosoureido 基を持つ N-ニトロソ化合物の立体配座は N-alkyl-N-nitrosoaniline 類の立体配座との比較で決定した。また，これらの立体配座を基に 1-aryl-3,3-dialkyl-1-nitrosourea 類の分解のメカニズムを議論した。

**Preparation and Properties of 3-Alkyl-1-aryl-nitrosoureas and Related Compounds**

Masayuki TANNO and Shoko SUEYOSHI: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1360 (1987)

3-Alkyl-1-aryllurea 類のニトロソ化反応をぎ酸-亜硝酸ナトリウムを用いる系とクロロホルム中で亜硝酸イソアミルを用いる系とで比較した。3-Alkyl-1-aryl-1-nitrosourea 類の合成は酸の存在しない後者の方法が優れている。それは酸の触媒により 1-nitroso 体が 3-nitroso 体へ異性化するためである。また，これらのニトロソ化合物の  $^{13}\text{C}$ -NMR および IR スペクトル上の性状と構造を論じた。3-Alkyl-1-aryl-1-nitrosourea 類が四塩化炭素中で alkyl isocyanate や 3-alkyl-1-(2-nitroaryl) urea 類に分解することを明らかにした。このニトロソ化合物は四塩化炭素中でニトロソ基の 1,3-転位反応およびほかの尿素に対してトランスニトロソ化反応を起こすことを見いだした。

**Substituent Effects on Nitrosation of 1,3-Dia-**

**rylureas with Nitrosyl Chloride, Dinitrogen Trioxide, and Dinitrogen Tetroxide**

Makoto MIYAHARA: *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1950 (1986)

28個のバラ置換 1,3-diaryllurea 類と 11個のオルト置換体を合成した。それらの  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルを測定し，バラ置換体のウレイドプロトンの酸性度を見積り，オルト置換体のコンフォメーションを推定した。そのバラ置換体のケミカルシフトとその酸性度に対する置換基の効果は加成的であった。16個のバラ置換 diaryllurea 類をガス状のニトロソ化剤 (dinitrogen trioxide, dinitrogen tetroxide, nitrosyl chloride) でニトロソ化すると，1,3-diaryl-1-nitrosourea 類 [ $\text{R}^1\text{-C}_6\text{H}_4\text{-N}(\text{NO})\text{-CO-NH-C}_6\text{H}_4\text{-R}^2$ ] と 1,3-diaryl-3-nitrosourea 類 [ $\text{R}^1\text{-C}_6\text{H}_4\text{-NH-CO-N}(\text{NO})\text{-C}_6\text{H}_4\text{-R}^2$ ] の異性体混合物を与える。それぞれの異性体の生成比は  $d[\text{NH}]$  (原料尿体系素にある二つのウレイドプロトンのケミカルシフト差) と関連づけることができた。しかし，この原理を dinitrogen tetroxide にまで拡張することはできなかつた。5種類のオルト置換 1,3-diaryllurea 類の  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルを測定しコンフォメーションの解析を行った。バラ置換体と異なるコンフォメーションをしていると推測された。11のオルト置換体を nitrosyl chloride dinitrogen tetroxide を用いてニトロソ化を試みた。より立体的に障害の少ないウレイド窒素原子にニトロソ化がおき，1-と 3-ニトロソ体の混合物を与えた。

**Total Synthesis of ( $\pm$ )-Isocyclocelabenzine**

Hideo IIDA\*, Kiyoshi FUKUHARA, Yoshiaki MURAYAMA\*, Mitsuo MACHIBA\*: *J. Org. Chem.*, **51**, 4701 (1986)

*Maytenus mossambicensis* から単離構造決定された isocyclocelabenzine は，13員環ラクタムに isoquinolone 骨格の融合した構造を有する双環性ラクタムアルカロイドである。そこで著者等は，celabenzine の合成で確立した13員環ラクタムの新規合成法により，isocyclocelabenzine を isoquinolone 誘導体とアミノ酸誘導体の2つのシントンのから合成アプローチを行い，その全合成に成功した。

\* 東京薬科大学

**Studies on the Oxidation of N-Substituted-dibenz[b,f]azepines. II. Syntheses and Reactions**



**of 5 H-Dibenz[b, f]azepine 10, 11 Oxides**

Tomio OHTA\*, Naoki MIYATA and Masaaki HIROBE\*: *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3857 (1984)

N-置換ジベンズ [b, f] アゼピン類の酸化反応を検討した。酸化剤としてメタクロロ過安息香酸を用いた酸化反応により、10位置換 N-ベンジルジベンズ [b, f] アゼピンからは、環縮小反応を経由する N-ベンジル-9-ホルミルアクリジン誘導体が生成した。一方、10, 11位二置換体からは、非常に化学反応性に富む、10, 11位がエポキシ化したジベンズ [b, f] アゼピン誘導体が生成した。これらの酸化反応について、酸化反応機構を考察するとともに、10, 11位エポキシ体については、種々の求核試薬との反応等についても検討を加えた。

\* 東京大学薬学部

**Studies on the Oxidation of 5H-N-Substituted Dibenz [b, f] azepines. III. Oxidative Metabolism by Rat Liver Microsomes**

Tomio OHTA\*, Naoki MIYATA and Masaaki HIROBE\*: *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2494 (1986)

N-置換ジベンズ [b, f] アゼピン類の酸化的代謝反応をラット肝ミクロゾーム系を用いて検討した。N-アシル誘導体は、10, 11-エポキシドおよび10, 11-ジヒドロジオール誘導体に代謝されるのに対し、N-アルキル誘導体は、アクリドン誘導体に代謝されることが明らかになった。これらの代謝反応は、チトクロム P-450 による10, 11-位エポキシ化を経由して進行する。化学的性質に基づき代謝反応機構を考察した。

\* 東京大学薬学部

**発癌性多環芳香族炭化水素の究極活性物質 (ジオールエポキシド) に関する最近の話題**

宮田直樹: トキシコロジーフォーラム, **10**, 97 (1987)

ベンツ [a] パイレン等の発癌性多環芳香族炭化水素の究極活性物質 (ジオールエポキシド) に関する“ベイ領域説”の最近の進展を総的に紹介し、考察した。ジオールエポキシドの発癌性の強さは、その立体構造、化学反応性と密接に相関していることが明らかになった。今後は、DNA との共有結合体の構造、化学的性質と発癌性との相関の解明が必要と考えられる。

**Population Pharmacokinetic Approach to Bioavailability Evaluation for Penytoin Powders**

Hiroyasu OGATA\*<sup>1</sup>, Mika ISHII\*<sup>1</sup>, Harumi TAKA-

HASHI\*<sup>1</sup>, Naomi YOSHIMURA\*<sup>1</sup>, Nahoko KANIWA, Nobuo AOYAGI, Mitsuru UCHIYAMA, Toru UOI\*<sup>2</sup>, Kunihiko HAYASHI\*<sup>2</sup> and Shigeru AMINO\*<sup>3</sup>: *J. Pharmacobio-Dyn.*, **10**, s-93 (1987)

健康成人を対象として三種類のフェニトイン散剤の生物学的同等性試験を行った。結果を、従来の分散分析、非線形最小自乗法、およびプログラム NONMEM を用いた population pharmacokinetics の手法によって解析し、population pharmacokinetics の有用性について検討した。三種類の製剤のバイオアベイラビリティは、いずれの手法によってもほぼ一致した値が得られた。また、population pharmacokinetic による解析では、サンプリング・ポイントの数を40%に減らしても pharmacokinetics parameters を求めることができた。一人当たりのサンプリング・ポイントが少なく、従来の pharmacokinetics の方法では解析不能であった臨床データを生物学的同等性試験に適用できる可能性が示唆された。

\*<sup>1</sup> 明治薬科大学

\*<sup>2</sup> 山之内製薬(株)

\*<sup>3</sup> 国立療養所刀根山病院

**Effect of Food on Bioavailability of Metronidazole from Sugar-Coated Tablets Having Different Dissolution Rates in Subjects with Low Gastric Acidity**

Hiroyasu OGATA\*, Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA and Akira EJIMA: *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **24**, 279 (1986)

pH 依存性の溶出を示す市販メトロニダゾール糖衣錠のバイオアベイラビリティを、胃液酸度が低い被験者を対象とし、絶食、食後の両投与条件下で比較検討した。その結果、pH 5~7 で溶出の遅い製剤のバイオアベイラビリティは溶出の速やかな製剤に比べて有意に劣ること、しかし、それは食餌摂取によって改善されることが明らかとなった。食餌は消化管内の攪拌力を昂進させ、製剤の崩壊、薬物の溶出を速めたものと思われる。

\* 明治薬科大学

**Study on Some Factors Affecting the Precision of Luminescence Analyses**

Akiyoshi TANIGUCHI\*, Yuzuru HAYASHI and Hidetaka YUKI\*: *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 3475 (1986)

試薬注入型の化学発光測定装置は、一般に再現性が良くない。我々は、注入する試薬の容量、測定するサ

ンプルの容量,そして,測定用試験管の形が再現性に与える影響を調べた.さらに,いくつかのデータ解析法の比較も行った.測定したいサンプルの容量によって,試薬の注入量とサンプル容器の大きさを適当に選ばなければ,データの良い再現性は得られないことが結論された.そして,フーリエ変換を用いたピータ高さ測定は,適当な注入様式を選べば,有効な方法であることも結論された.

\* 東邦大学薬学部

#### Determination of Cholesterol with a Laboratory-Built Chemiluminescence System

Akiyoshi TANIGUCHI\*, Yuzuru HAYASHI and Hidetaka YUKI: *Analytica Chimica Acta*, **188**, 95 (1986)

我々がすでに開発した化学発光測定装置とコンピュータシステムを用いて,血中のコレステロールの定量を行った.コレステロールエステルゼとオキシダーゼにより生成した過酸化水素を, horseradish peroxidase-luminol 系 (pH 0.5) を用いて測定した.発光データは,フーリエ変換を用いて解析した.定量に必要な血清の量は  $0.2 \mu\text{l}$  であり,測定時間は  $0.5\text{s}$  であった.

\* 東邦大学薬学部

#### Kinetics of Hydrolysis of Meclofenoxate Hydrochloride in Human Plasma

Sumie YOSHIOKA, Yukio Aso and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Pharm. Pharmacol.*, **39**, 215 (1987)

塩酸メクロフェノキサートの生体内挙動の解析を目的として,人血漿中における加水分解を,クロフィプレートと比較して速度論的に検討した.分画化した人血漿中での加水分解速度を測定し,エステルゼ阻害剤(テトラエチルピロリン酸)の影響を考察した.クロフィプレートはエステルゼによってのみ加水分解をうけ,その分解は蛋白結合によって阻害された.一方,メクロフェノキサートはエステルゼによる分解に加えて spontaneous な速い分解をも示し,後者の分解はエステルゼ画分に存在する成分によって阻害されることが示された.

#### Nonlinear Estimation of Kinetic Parameters for Solid-State Hydrolysis of Water-Soluble Drugs

Sumie YOSHIOKA and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Pharm. Sci.*, **75**, 459 (1986)

塩酸メクロフェノキサートおよび臭化プロバンテリ

ンの固体状態における加水分解について,その速度論パラメータの推定に非線形回帰分析を適用した.分解初期における分解率  $x$  は式:  $x = kt^n$  ( $n$  および  $k$  は定数) で表わされ, Prout-Tompkin S式よりもよいフィットを示した.分解速度の温度 ( $T$ ) および水蒸気圧 ( $P$ ) への依存性を示すパラメータを次式にしたがって非線形回帰法で推定した.

$$x = x_0 \exp [(E_a/R)(1/298 - 1/T)] (P/18.167)^S (t/50)^n$$

ここで  $x_0$  は  $t = 50\text{d}$ ,  $T = 298\text{K}$ ,  $P = 18.167\text{mmHg}$  における分解率であり,  $E_a$  は活性化エネルギー,  $S$  および  $n$  は定数である.臨界湿度 (CRH) 以上の高湿度領域における加水分解では,統計学的に有意な  $E_a$ ,  $S$ ,  $x_0$  および  $n$  の推定値が得られ,それぞれ定数とみなせることが示された.一方,CRH 以下の低湿度領域における加水分解では,非線形回帰分析でパラメータの収束がみられず,  $E_a$  あるいは  $S$  が一定でないことが示された.

#### Stability of Pilocarpine Ophthalmic Formulations

Sumie YOSHIOKA, Yukio Aso, Toshio SHIBAZAKI and Mitsuru UCHIYAMA: *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 4280 (1986)

市販されているピロカルピン製剤の安定性を種々の剤形について検討した.点眼液では,加水分解が主分解経路であり,その安定性は pH と一般塩基濃度に大きく依存した.非線形回帰法によってピロカルピン酸への可逆的加水分解およびイソピロカルピンへの可逆的エピマー化反応の速度定数を算出した.一方,眼軟膏製剤は安定であるが,眼結膜囊挿入製剤はエピマー化および加水分解をうけやすいことが示された.ピロカルピン製剤の安定性に影響を与える要因の考察を行った.

#### 注射用蒸留水の純度試験(第3報)

石橋無味雄,松田りえ子,柴田 正,柳谷真美,伊藤 博,内山 充: *医薬品研究*, **17**, 1228 (1986)

注射用水の製造工程管理に TOC 試験を利用することの有用性の検討および市販注射用蒸留水製剤中の TOC の測定を目的として実験を行った.実験の結果, TOC 試験は注射用水の製造工程管理に非常に有用な方法であると考えられ,また,注射用蒸留水の試験方法として簡便で,迅速な方法であるとの結論を得た.

#### 医薬品迅速分析法-10-内用酢酸トコフェロール製剤(上)

松田りえ子: *月刊薬事*, **28**, 825 (1986)

薬務局通知「内用酢酸トコフェロール製剤の迅速分析法」について解説した。

#### 医薬品迅速分析法-11-内用酢酸トコフェロール製剤(下)

松田りえ子：月刊薬事，28，1015 (1986)

薬務局通知「内用酢酸トコフェロール製剤の迅速分析法」について解説し，分析の実例を示した。

#### Synthetic Hydrated Aluminum Silicates as Oral Adsorbents of Potassium Ion

Mumio ISHIBASHI, Sumie YOSHIOKA, Junko MONMA, Yasuo SUZUKI, Mitsuru UCHIYAMA, Toshifumi WATANABE\*<sup>1</sup> and Shinji TAKAI\*<sup>2</sup>: *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2973 (1986)

ゼオライトを経口投与カリウムイオン吸着剤として用い，高カリウム血症治療薬として用いるための基礎的検討を *in vitro* および *in vivo* で行った。用いたゼオライトのうち，ZPC10A が，現在市販されているカリウム吸着剤 (Kayexalate および Kalimate) と比較してイオン選択性および吸着量に良い値を示し，また，*in vivo* (犬) においても血中カリウムイオン濃度を有意に低下させた。

\*<sup>1</sup> 東京大学医科学研究所

\*<sup>2</sup> 東京大学生産技術研究所

#### Oxygenation of Biphenyl by the Reagent System $\text{Fe}(\text{MeCN})_6^{2+}-\text{H}_2\text{O}_2-\text{Ac}_2\text{O}$ : An Implication to the Mechanism in Mammalian Metabolism

Eiichi KOTANI\*, Atsushi MIDORIKAWA\*, Akira TANAKA and Seisho TOBINAGA\*: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 916 (1987)

哺乳動物の P-450 モデル反応として，我々が新たに開発した  $\text{Fe}(\text{MeCN})_6^{2+}-\text{H}_2\text{O}_2-\text{Ac}_2\text{O}$  の有機試薬を用いて，モノオキシゲナーゼの酵素モデル反応を試みた。基質としてビフェニルを使い種々の反応条件で水酸化を行い，ビフェニル： $\text{Fe}^{2+}$ ： $\text{H}_2\text{O}_2$  (1：1：1.5) の条件下で 2-および 4-位の水酸化体を各，34.6%，13.7% の収率で合成した。

2-ヒドロキシビフェニルはラットに膀胱癌を誘発し，生化学的に興味ある化合物であるがその合成法はかなり繁雑である。しかし本法を利用することにより一段階反応で目的を達し本試薬の有用性を示すことができた。またこの反応を使って <sup>14</sup>C-標識体の合成にも成功した。

\* 昭和薬科大学

#### Enzyme Levels in Rat Testes Damaged Experimentally with Dibutyl Phthalate (DBP)

Makoto TANINO\*, Isao IKEMOTO\* and Akira TANAKA: *Jikeikai Medical Journal*, **34**, 245 (1987)

フタル酸ジブチルは実験的に雄ラットの精巣に障害を与えることが分っているが，今回ウィスター系ラットに DBP を一週間経口投与して，その後精巣障害が開腹するにしたがって，オルニチン脱炭酸酵素 (ODC)，乳酸脱水素酵素 (LDH-X) (DH) などの消長を追跡し，ODC の活性は精巣障害が完全に回復する以前に著明に上昇し，回復のプレマーカー酵素として有用な指標になりうることを明らかにし，さらに LDH-X は精巣内の精子形成能 (spermatogenesis) の良いマーカーになることを示した。

\* 東京慈恵会医科大学

#### Inhibitory Effect of Benzyl Oxazolecarbamate Analogues on Aldose Reductase

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA, Tsutomu YAHAMA, Yoshirou OHMOMO\*, Masumi NAKAO\* and Chiaki TANAKA\*: *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2501 (1986)

白内症，網膜症，神経障害などの糖尿病合併症の発現に重要な役割を演じているアルドース還元酵素に対する阻害効果を benzyl oxazolecarbamate 誘導体 12 種について，*in vitro* 法で検討した。oxazole 骨格の，2，4 あるいは 5 位に benzylcarbamate 基を持つ同族体では，2 位置換が阻害効果に不可欠で，4 および 5 位置換は効果に関与しないことが知れた。benzyl 5-phenyl-2-oxazolecarbamate (A) の 4 位にアルキル基を導入すると阻害効果は増強され，特に 4-isopropyl 誘導体が強力な阻害効果を示した。benzyl 4-isopropyl 5-phenyl-2-oxazolecarbamate (B) の 50% 阻害濃度は約  $3.5 \times 10^{-7} \text{M}$  であるのに対し，A では約  $1.5 \times 10^{-5} \text{M}$  であった。B の阻害作用は DL-グリセルアルデヒドを基質とした場合には非拮抗的阻害であった。B は他の酵素類に対してほとんど阻害効果を示さないことから，ウサギレンズアルドース還元酵素に対して特異性の高い阻害剤といえよう。

\* 大阪薬科大学

#### Reaction and Inhibition Mechanisms of Aldose Reductase from Rabbit Lens

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA, Tsutomu YAHAMA and Chiaki TANAKA\*: *Chem. Pharm. Bull.*,

34, 4183 (1986)

ウサギレンズのアルドース還元酵素の反応および阻害のカイネティックスを調べた。この酵素の反応機序は ordered BiBi 反応機序と一致し、NADPH がまず酵素と結合した後にグリセルアルデヒドが結合し、最後に NADP<sup>+</sup> が遊離する。NADPH とグリセルアルデヒドに対する K<sub>m</sub> 値はそれぞれ  $1.7 \times 10^{-5} \text{ M}$  および  $8.9 \times 10^{-5} \text{ M}$  であり、NADPH の解離定数は  $7.5 \times 10^{-6} \text{ M}$  であった。生成物である NADP<sup>+</sup> の阻害定数は  $1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$  であった。アルドース還元酵素の強力な阻害剤である benzyl 4-isopropyl-5-phenyl-2-oxazolocarbamate (A) は NADPH に関して不拮抗的阻害を示し、グリセルアルデヒドに関しては非拮抗的阻害を示した。A は遊離の酵素とは結合せず、酵素-NADPH 複合体と結合することが示唆された。NADPH およびグリセルアルデヒドに対するこの阻害剤の阻害定数はそれぞれ  $4.3 \times 10^{-7} \text{ M}$  および  $3.6 \times 10^{-7} \text{ M}$  であった。A のアルドース還元酵素に対する阻害効果は、pyridoxal 5-phosphate 酵素をで処理すると弱くなることから、この阻害剤が酵素のリジン残基の一つに作用することが推察される。

\* 大阪薬科大学

### An Efficient Synthesis of Bicyclic $\beta$ -Lactams through Palladium Catalysed *ene*-Halogenocyclization

Miwako MORI\*<sup>1</sup>, Nana KANDA and Yoshio BAN\*<sup>2</sup>:  
*J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1375 (1986)

Pd 触媒による *ene*-halogenocyclization を鍵反応として、双環性  $\beta$ -lactam 系抗生物質の基本骨格合成法

を開発した。

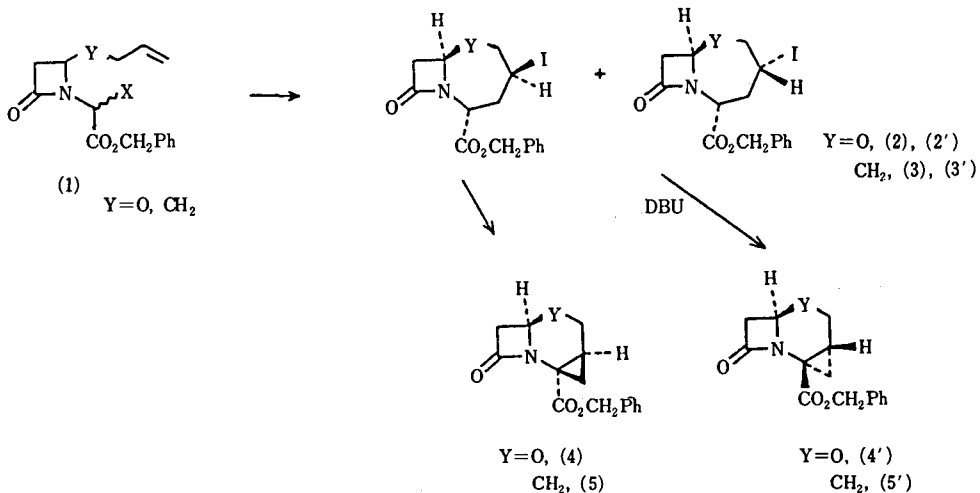
触媒量の Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> 存在下、基質として分子内にオレフィンを有する  $\alpha$ -haloester (1) を用い、*ene*-halogenocyclization を行うと環化成績体 oxahomocepham (2), あるいは carbahomocepham (3) が得られた。さらに、これらの成績体を、1,8-diazabicyclo [5, 4, 0] undec-7-ene (DBU) と反応させたところ、1,3 脱離反応が進行し、Oxacepham (4), Carbacepham (5) 化合物が得られた。

\*<sup>1</sup> 北海道大学薬学部\*<sup>2</sup> 北海道大学

### A Possible Role for Protein Phosphorylation in the Activation of the Respiratory Burst in Human Neutrophils. Evidence from Studies with Cells from Patients with Chronic Granulomatous Disease

Takao HAYAKAWA, Kazuhiro SUZUKI, Sumiko SUZUKI\*<sup>1</sup>, Patricia C. ANDREWS\*<sup>2</sup>, and Bernard M. BABIOR\*<sup>2</sup>: *J. Biol. Chem.*, 261, 9109 (1986)

ヒト好中球の活性化過程におけるタンパク質リン酸化の役割について検討した。3種の代表的刺激剤でヒト好中球をそれぞれ活性化させると、いずれの場合にも、膜分画および可溶性分画に分布する約 48 kDa の一群のタンパク質のリン酸化が共通して観察された。一方、先天的にスーパーオキシド産生能を欠いている慢性肉芽腫症患者由来の細胞を刺激しても、これら 48 kDa のタンパク質のリン酸化の程度に変化はみられなかった。以上の結果より、ヒト好中球のスーパーオキシド産生機構の活性化過程には 48 kDa のタンパ



ク質リン酸化が関与していることが示唆された。

\*1 国立公衆衛生院

\*2 タフツニューイングランドメディカルセンター

**Some Aspects of the Preclinical Safety of Drugs Produced by Recombinant DNA Technology: Japanese Government Regulatory Position In Preclinical Saety of Biotechnology Products intended for Human Use (C. E. GRAHAM, ed.)**

Takao HAYAKAWA: *Progress in Clinical and Biological Research*, **235**, 15 (1987)

バイオテクノロジーにより生産された医薬品の前臨床安全性評価の考え方について日本の現状を解説した。

**組換え DNA 技術を応用して製造される医薬品の品質確保 (その 1)**

早川堯夫: *Pharm. Tech. Japan*, **2**, 685 (1986)

組換え DNA 技術を応用して製造される医薬品の品質評価を行うにあたっての基本的考え方を述べ、さらに構造遺伝子の入手方法、宿主・ベクター系、培地の組成および精製の方法などの製造方法の変更に伴い品質確保上留意すべき点について詳述した。

**組換え DNA 技術を応用して製造される医薬品の品質確保 (その 2)**

早川堯夫: *Pharm. Tech. Japan*, **2**, 799 (1986)

組換え医薬品の品質の恒常性を保持する上で製造方法を一定にすることの重要性について述べた。組換え体の作製、宿主・ベクター系の諸性質、培養、精製の各段階で製造者が提供することが必要と思われる情報の内容について詳細な解説を行った。

**組換え DNA 技術を応用して生産される医薬品の品質確保 (その 3)**

早川堯夫: *Pharm. Tech. Japan*, **2**, 1211 (1986)

組換え医薬品の構造・組成、物理的・化学的性質、免疫化学的性質、生物学的性質、規格および試験方法、安定性を検討する上での留意点について詳細に解説した。

**組換え DNA 技術を応用して生産される医薬品の品質確保 (その 4)**

早川堯夫: *Pharm. Tech. Japan*, **3**, 127 (1987)

組換え医薬品における毒性試験、薬理試験、吸収、分布、代謝および排泄試験、臨床試験を行うにあつ

ての一般的留意点について解説した。さらに今後の毒性試験、吸・排試験のあり方に関して、より組換え医薬品の特性に基づいた適切な試験法、項目の設定が必要になるであろうとの点について言及した。

**Multihormonal Regulation of Transcription of the Tryptophan 2,3-Dioxygenase Gene in Primary Cultures of Adult Rat Hepatocytes with Special Reference to the Presence of a Transcriptional Protein Mediating the Action of Glucocorticoids**

Toshikazu NAKAMURA\*1, Shingo NIIMI, Katsuhiko NAWA\*1, Chiseko NODA\*1, Akira ICHIHARA\*1, Yasuyuki TAKAGI\*2, Motoaki ANAI\*3 and Yoshiyuki SAKAKI\*4: *J. Biol. Chem.*, **262**, 727 (1987)

Tryptophan 2, 3-dioxygenase (TO) 遺伝子発現のホルモンによる調節機構を調べるため、TO mRNA に相補的な塩基配列を含む DNA クローン (TO cDNA) を調製した。そして、この TO cDNA を用いて、dexamethasone (Dex) で処理した成熟ラット肝細胞における TO mRNA をドットプロットハイブリダイゼンション法により測定した。その結果 Dex は TO mRNA を 7 倍上昇させた。一方、Dex+glucagon の処理により TO mRNA は 18 倍上昇した。この両者による TO mRNA の上昇は insulin あるいは epinephrine により抑制された。さらに単離核を用いて転写速度を調べた結果、これらホルモンは TO 遺伝子の転写速度を変えることにより TO mRNA レベルを調節していることがわかった。

このような Dex による TO 遺伝子の転写促進作用は、20 時間培養した細胞を用いると長時間かかり、6~8 時間後に最高速度に達する。この時間の遅れは Dex 無しの培養時間に依存し、短時間の培養では短くなる。この結果より培養している間に、glucocorticoids の作用を仲介する転写因子が消失してしまうことが示唆された。さらに実験を行い、cycloheximide と puromycin を 20 時間培養後に添加すると Dex による TO 遺伝子の転写の上昇はほとんど完璧に抑制されるが、2 時間培養後の添加では抑制が起らないという先の考え方を支持する結果を得た。以上の結果から Glucocorticoids によっても調節される short-live な転写蛋白が、TO 遺伝子の発現におけるこれらホルモンの効果を仲介することがわかった。

\*1 徳島大学医学部

\*2 藤田学園保健衛生大学医学部

\*3 九州大学医療技術短期大学

## \*4 九州大学医学部遺伝情報実験施設

**Nephrotoxic Effect of Tris (2,3-Dibromopropyl) Phosphate on Rat Urinary Metabolites**  
Masamichi FUKUOKA, Katsushi NAITO, Yukio NAKAJI, Terue TAKAHASHI, Kazuo KOBAYASHI, Akira TANAKA, Masuo TOBE and Tsutomu YAMAHA: *Toxicology Letters*, **31S**, 243 (1986)

Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate (Tris-BP) を 50, 100, 200 mg/kg/day の割合で雄ラットに一回経口投与および連続7日間経口投与して、腎臓の病理変化とブドウ糖、乳酸、クエン酸および酵素等の尿中への排泄との相関性について検討した。その結果、200 mg/kg 投与群には両投与方法で病理的にも生化学的にも異常が認められた。

**Quantitative Analysis of Oxtocin in Pharmaceutical Preparations by High-Performance Liquid Chromatography**

Miyako OHTA, Hideo FUKUDA, Toshio KIMURA and Akira TANAKA: *J. Chromatogr.*, **402**, 392 (1987)

市販オキシトシン製剤を逆相高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を用い定量し、ニワトリ血圧降下法による生物検定と比較検討した。カラムはゾルパックス TMS, 移動相はアセトニトル-50mM リン酸緩衝液 (pH 5.0) (18:82), 検出は 210 nm で行った。定量方法はオキシトシン10単位に相当する製剤を水で 2 ml とし、内部標準溶液 (p-ヒドロキシン安息香酸エチル 13 mg を水で溶かし 1000 ml とする)。標準には第4回国際標準品を用いた。製剤を HPLC に大量に注入するとき、多くの製剤は多数の不純物ピークを与えたので、純度が非常に低いと考えられた。しかし、定量結果は表示値に対して HPLC では 96.5~121.1%, 生物検定では 93.8~117.9% であり、相関係数も 0.93 と良好で、HPLC は充分生物検定に変わりうる方法であることが分った。

**Determination of Corticoids Using Pyrrole. V. Studies on the Colored Products**

Hiroshi TOKUNAGA, Masayuki TANNO and Toshio KIMURA: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1118 (1987)

ピロールによるコルチゾン (1a) およびデオキシコルチコステロン (2a) の呈色反応の機構および呈色物質の構造検索を行った。酢酸銅の存在下で、1a および 2a はステロイド骨格の17位がグリオキザール側鎖となった酸化体 (1b および 2b) に変換された。コル

チコイドの呈色物質の化学構造の解明のため、グリオキザール側鎖を有するフェニールグリオキザール (3a) が使われた。塩酸中で 3a はピロールと反応し、反応中間体である di(2-pyrrolyl) benzoylmethane (3b) が産生された。さらに、3b は酢酸銅と塩酸の存在下でピロールと反応し、[5-(2-pyrrolyl)-2(2H)-pyrrolylidene](2-pyrrolyl)benzoylmethane (3d) に変換された。ジクロロメタン中で、3d は 480 nm に吸収極大を持っていた。1b および 2b は、酢酸銅および塩酸の存在下で反応し、呈色物質 21-[5-(2-pyrrolyl)-2(2H)-pyrrolylidene]-21-(2-pyrrolyl)-4-pregnene-3, 11, 20-trione (1e) および 21-[5-(2-pyrrolyl)-2(2H)-pyrrolylidene]-21-(2-pyrrolyl)-4-pregnene-3, 20-dione (2e) を産生した。1e および 2e は、ジクロロメタン中で、510 および 480 nm に吸収極大を示した。また、1e は励起極大波長 598 nm, けい光極大波長 620 nm にけい光を有した。

**液体クロマトグラフ法によるジギタリス配糖体の定量 (第2報) Deslanoside 含有注射液への応用**  
徳永裕司, 木村俊夫, 山羽 力: 医薬品研究, **18**, 138, (1987)

デスラノシド (DL) を高速液体クロマトグラフ法により定量する方法を検討した。測定条件として、Unisil C<sub>18</sub> (5 μm) カラム (150×4 mm i. d.), 移動相、メタノール・アセトニトリル・水混液 (10:25:65), 流量, 1 ml/min, 検出波長, 219 nm, およびカラム温度, 30°C を用いた。アセトニトリルおよびメタノールの添加により、DL および内標準物質の α-オキシ安息香酸エチル (HE) の保持期間 (t<sub>r</sub>) は著しく短縮された。カラム温度の上昇により、DL の t<sub>r</sub> はわずかに増加した。DL の 0.02~0.1 mg/ml の範囲で濃度とピーク面積比の間に直線性が成立し、その直線は原点を通過した。市販の注射液二種類について、今回確立した方法と従来法である比色定量法で分析した結果を比較したところ、一種類の製剤において、比色定量法で得られた値に比べて低い値を与えた。DL 中の不純物が比色定量法では正の妨害を与えることが示唆された。

**Structure-Activity Relationship of Lipid A: Composition of Biological Activities of Natural and Synthetic Lipid A's with Different Fatty Acid Compositions**

Shiro KANEGASAKI\*1, Ken-ichi TANAMOTO, Tatsuji YASUDA\*1, J. Yusuru HOMMA\*2, Motohiro MATSU-

URA\*<sup>2</sup>, Mitsunobu NAKATSUKA\*<sup>2</sup>, Yoshio KUMAZAWA\*<sup>3</sup>, Akihiro YAMAMOTO\*<sup>4</sup>, Tetsuo SHIBA\*<sup>5</sup>, Shoichi KUSUMOTO\*<sup>5</sup>, Masahiro IMOTO\*<sup>5</sup>, Hiroyuki YOSHIMURA\*<sup>5</sup>, Tetsuo SHIMAMOTO\*<sup>5</sup>: *J. Biochem.*, **99**, 1203 (1986)

細菌内毒素リピドAの構造と活性との相関性を調べる一環として、天然および脂肪酸組成の異なる種々化学合成リピドAを用いて、各種内毒素活性を比較した。化学合成 LA-15-PP は大腸菌型のリピドAでシグロコサミン骨格の2,3-位に3ヒドロキシミリスチン酸、2',3'-位に3-アソキシミリスチン酸を持つ物質で、これは調べた合成リピドA類緑体中最も強い活性をもち、それは天然の大腸菌、サルモネラ菌由来のリピドAに匹敵した。それに対し脂肪酸がもう一分子2位の水酸基とエステル結合したサルモネラリピドAの構成成分の1つである LA-16-PP は活性は減弱した。一方脂肪酸組成がミリスチン酸のみからなる LA-17-PP ではマイトジェン活性 TNF 誘発活性等は強く発現され、逆に発熱性は極度に低かった。エステル結合の脂肪酸としてミリスチン酸、アミド結合の脂肪酸として3-ヒドロキシミリスチン酸をもつ LA-18-PP は LA-17-PP より活性は全体に低かった。

以上の結果、脂肪酸の数およびその種類が内毒素活性に大きな影響を与えることが明らかになった。

\*<sup>1</sup> 東京大学医科学研究所

\*<sup>2</sup> 北里研究所

\*<sup>3</sup> 北里大学薬学部

\*<sup>4</sup> 中外製薬(株)

\*<sup>5</sup> 大阪大学理学部

#### Phosphorylation of Rat Basophilic Leukemia (RBL-2H3) Cell Cell Membrane Proteins in Response to Various Stimuli

Reiko TESHIMA, Kazuhiro SUZUKI, Hideharu IKEBUCHI and Tadao TERAO: *J. Pharmacobio-Dyn.*, **9**, s-126 (1986)

ラット好塩基球細胞からの脱顆粒反応は、protein kinase C 活性化剤と、calcium ionophore が共存すると、相乗的に促進されること、およびその際に、主に2つの膜蛋白質(36 kDa および 18 kDa 蛋白質)のリン酸化の促進が観察されそれら蛋白質のリン酸化は、異なった Ca<sup>2+</sup> 依存性蛋白質リン酸化酵素により制御をうけていることが示された。

#### Morphine Metabolism in Isolated Rat Hepatocytes and Its Implications for Hepatotoxicity

Kunisuke NAGAMATSU, Yasuo OHNO, Hideharu IKEBUCHI, Atsushi TAKAHASHI, Tadao TERAO and Akira TAKANAKA: *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 3543 (1986)

ラット単離肝細胞を用いてモルヒネの代謝について検討した。代謝物としてモルヒネのグルクロナイド抱合体、ノルモルヒネ、モルヒノン-グルタチオン抱合体、およびモルヒノンを検出した。単離肝細胞にモルヒネを加えると細胞内グルタチオン濃度が減少し、その結果肝細胞の死が認められた。また細胞内グルタチオンの減少量と生成したモルヒノン-グルタチオン抱合体の量は、ほぼ等量であった。

#### Change of Substrate Specificity of Rat Liver Microsomal Fatty Acyl-CoA Synthetase Activity by Triton X-100

Kunisuke NAGAMATSU, Shinji SOEDA\*<sup>1</sup> and Yasuo KISHIMOTO\*<sup>2</sup>: *Lipids*, **21**, 328 (1986)

ラット肝ミクロソームから可溶化し部分的に精製したアシル-CoA 合成酵素の見かけの分子量と酵素活性におよぼすトリトン X-100 の影響について検討した。トリトン X-100 の存在下ではリグノセロイル-CoA 合成酵素の活性は低下するが、トリトン X-100 を除くと活性は回復した。一方パルミトイル-CoA 合成酵素活性はトリトン X-100 の影響はあまり受けなかった。

\*<sup>1</sup> 福岡大学薬学部

\*<sup>2</sup> ジョーンズ・ホプキンス大学

#### Comparison of Methods for Freezing Interleukin-Dependent Murine Cell Lines

Jun-ichi SAWADA and Tadao TERAO: *J. Immunol. Methods*, **95**, 203 (1986)

インターロイキン2およびインターロイキン3に依存性のマウス細胞株を用いて、細胞凍結法の比較、DMSO およびフィコールの保護効果の検討などを行った。

#### An Enzyme Immunoassay System with a Monoclonal Antibody for the Determination of 11-Deoxycortisol

Hiroshi HOSODA\*, Sakiko TAMURA\*, Reiko TSUKAMOTO\*, Horihito KOBAYASHI\*, Jun-ichi SAWADA, Tadao TERAO and Toshio NAMBARA\*: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1497 (1986)

すでに報告済の 11-デオキシコルチゾールに対する

モノクローナル抗体 (S. CET. M8) を用いて、エンゼイムイムノアッセイの条件を詳しく検討し、その系を確立した。

\* 東北大学薬学部

### 環境化学物質の免疫毒性

澤田純一：トキシコロジージャーラム, 9, 570 (1986)

環境化学物質の免疫毒性に関する研究の現状を概略・紹介した。

### 生体膜にあるレセプター

寺尾允男：フェルマシア, 22, 1385 (1986)

生体膜に存在するホルモンなどのレセプターの構造および機能について解説した。

### 生活環境物質とアレルギー

寺尾允男：トキシコロジージャーラム, 9, 590 (1986)

環境中の人工および天然物質で、アレルギーの原因物質となることが知られているものについて解説した。

### オゴノリの各種調製加工による生物活性と化学成分の変化

鈴木英世, 関田節子, 尾崎幸紘, 原田正敏：食衛誌, 27, 387 (1986)

オゴノリ類によると考えられる食中毒が、山形県と愛媛県で発生し、この原因解明のため、その生物活性を検討した。投与検体は、オゴノリを3種類の溶媒で順次極性を上げて抽出して作成した。それらのエキスをモルモットまたはマウスへ各種の投与方法により投与し、耳血管拡張、下痢、正向反射の消失および中枢興奮などの急性症状の発現と毒性を観察した。しかし、これらの諸作用は極めて高用量の検体投与量で初めて得られたものであって、オゴノリがヒトの急性症状に関係するという可能性は肯定できなかった。

### オゴノリの生物活性

鈴木英世, 尾崎幸紘, 関田節子, 原田正敏：食衛誌, 27, 393 (1986)

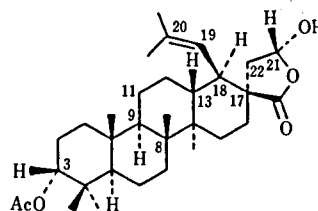
オゴノリの加工処理の意義を検討した。まず海藻を3つに分け、1つは未処理のままとし、他を水浸漬と石灰水浸漬処理をした。以上3種類のオゴノリからメタノールエキスを調製し、それらをモルモットの腹腔内へ投与し、現われる急性の毒性と症状を観察した。そしてエキス間の化学成分の違いについても検討した。

その結果、これら処理により生物活性の消失または軽減と成分量の減少が認められ、市販オゴノリの加工時行われる調製法の妥当性が明らかにされた。

### Structure and Stereochemistry of Radermasinin, a Novel Cytotoxic Triterpene Lactone from *Radermachia sinica* X-Ray Crystal Structure of Radermasinin Monohydrate

Gregory K. RICE\*<sup>1</sup>, Toshio YOKOI\*<sup>1</sup>, Toshimitsu HAYASHI\*<sup>1</sup>, Hideyo SUZUKI, Kuo-Hsiung LEE\*<sup>1</sup>, and Andrew T. McPHAIL\*<sup>2</sup>: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1397 (1986)

台湾植物 *Radermachia sinica* (ノウゼンカズラ科) から新規トリテルペンラクトン, Radermasinin を単離し、X線結晶解析の結果、立体化学を含め下記のように構造が決定された。また本物質は、*in vitro* の KB 培養細胞に対して毒性 ( $ED_{50}=3.3\mu\text{g/ml}$ ) が認められた。



\*<sup>1</sup> University of North Carolina

\*<sup>2</sup> Duke University

### Effects of Chaetoglobosin J on the G-F Transformation of Actin

Koscak MARUYAMA\*<sup>1</sup>, Masatake OOSAWA\*<sup>1</sup>, Atsushi TASHIRO\*<sup>1</sup>, Tsuneo SUZUKI\*<sup>1</sup>, Michiko TANIKAWA\*<sup>1</sup>, Masako KIKUCHI\*<sup>2</sup>, Setsuko SEKITA and Shinsaku NATORI\*<sup>3</sup>: *Biochim. Biophys. Acta*, 874, 137 (1986)

アクチンフィラメントに、化学量論に相当する濃度の chaetoglobosin J を添加した時の G-F 平衡の片より、沈降速度、ミオシン ATP-ase 活性度を測定した。またアクチンモノマーに添加した際にその蛍光強度を変化させたこと、 $0.5\mu\text{m}$  に調整したアクチンフィラメントがミオシンの ATP-ase 活性を維持していたことから、chaetoglobosin J によるアクチンフィラメントとミオシン相互作用の減弱は、従来考えられていたフィラメント長さの変化によるものではなく、フィラメント構造上の変化に起因する親和力の低下によるものであることを示唆した。



\*1 千葉大学理学部

\*2 東京大学理学部

\*3 明治薬科大学

### 茯苓・澤瀉の品質

西本和光：現代東洋医学，7，(2)，77 (1986)

漢薬の利水剤であるこれらの生薬について生薬材料学的な解説を行い，茯苓には破片や粉を固めて造形した劣品があることを述べた。

### 地黄・山茱萸・山薬の品質

西本和光：現代東洋医学，7(3)，63 (1986)

八味地黄丸の主要なこれらの生薬について生薬材料学的な解説を行い，地黄については生地黄，乾地黄，熟地黄の3種があるので，漢方処方例をあげてこれらを使い分けるべきことを述べた。

### 防己の品質

西本和光：現代東洋医学，7，(4)，61 (1986)

現市場の防己はオオツラフジを基原とするものであり，江戸時代の本草書を考察しても古くから同じものが用いられていた。一方，中国産防己は数種あるといわれ，香港市場品を取りよせて調べたところ，ツラフジ科のものではなくウマノスズクサ科のアルカロイドを含まないものであった。

### 生姜・乾姜の品質

西本和光：現代東洋医学，8，(1)，62 (1987)

漢方でいう生姜類には生姜，乾生姜，乾姜の3種類あることを述べ，乾燥した乾生姜乾生は辛味が強いこと，なまの生姜は芳香が強いことが特徴であり，漢方処方例をあげてこれらを使い分けるべきことを述べた。

### 医薬品としての生薬とその薬理学的研究をめぐって

原田正敏：生薬学雑誌，41，1 (1987)

生薬を天然物-生薬-医薬品という流れに沿って以下の項目で解説した。

生薬と食品との相互区分，生薬と生薬製剤の種類，生薬と生薬製剤の規格，生薬と漢方処方の薬理的薬効分類と薬効解析，物質の生物活性と有効性，薬理実験モデルの種類，薬理実験遂行時の考慮事項。

葛根，芍薬，当帰，山胞子におけるユリン作動性効果，釣藤における神経節遮断作用，桂皮における中枢作用とカテコールアミン遊離作用，山胞子における薬理活性成分の体内動態，葛根における多成分による薬理的多面作用，麻黄における薬理活性による品質評価。

### 漢方製剤の基礎知識

原田正敏：日本薬剤師会雑誌，39，225 (1987)

漢方製剤について以下のような項目であらましを述べ，医薬品の中の位置づけを考察した。

伝統的な漢方製剤（煎剤，丸・散剤）と科学技術を利用した製剤（エキス製剤），漢方製剤の行政上の分類，原料生薬と漢方製剤の品質，漢方製剤の有効性の伝統的基盤と薬理的基盤，漢方処方の薬理的薬効分類，副作用（好ましくない作用），各種剤形間の有用性の比較，漢方製剤の用い方，現代医薬品との併用の仕方。

### 第十一改正日本薬局方改正の要点・生薬について

原田正敏：医薬品研究，資料12，35 (1986)

第十一改正日本薬局方の生薬関連項目の改正点について解説した。その項目は，生薬総則，生薬関係各条医薬品の規格および試験法，製剤総則中生薬関係4製剤（エキス剤，浸・煎剤，チンキ剤，流エキス剤），一般試験法中生薬試験法および油脂試験法である。

### 第十一改正日本薬局方の改正点・生薬（総則・試験法）について

原田正敏：薬局，37，587 (1986)

記載内容は別項記事（医薬品研究）とおおむね同じである。

### 生薬——天産物が医薬品であるための条件

原田正敏：現代東洋医学，7(3)，103 (1986)

天然物のうち，ヒトが経口的に摂取するものは食品と生薬（医薬品）である。この両者はそれぞれ固有な物性上と薬効上の性質をもつ。本稿では食品と生薬の固有の性質，具備すべき性質を述べ，両者をどのように行政的に取り扱っているかを解説した。

### 生薬の規格——品質を調べるために

原田正敏：現代東洋医学，7(4)，92 (1986)

生薬は医薬品であるから一定の品質規格に適合する。この規格はどのようなものであるか，また，それをどのように制定するのかを局方に基礎をおいて解説した。

### 製剤の種類と製法——医薬品の最終的な形

原田正敏：現代東洋医学，8(1)，92 (1987)

生薬は製剤の形で服用される。この製剤には伝統的な煎剤，丸剤，散剤のほかに，最近の製剤技術から産まれたエキス製剤がある。本稿ではこれらの各種製剤の造り方を解説した。

### Gradient Anion Chromatography with Hydroxide and Carbonate Eluents Using Simultaneous Conductivity and pH Detection

Hideharu SHINTANI and Purnendu K. DASGUPTA\*: *Anal. Chem.*, **59**, 802 (1987)

高交換容量の膜型サブレッサーを用いることによりグラジエント溶出によるアニオン成分の分析が可能となり、同時にバックグラウンド除去法を併用して数十マイクロモルの検出限界で一般的なアニオン成分が分析可能となった。水酸根溶液で、従来の伝導度検出に加え pH 検出を可能にした。この pH 検出は従来の伝導度検出法より少し低感度ながらイオンクロマトグラフィーにおける不変的な検出法となろう。炭酸溶離液使用に際し、サブレッサー溶離後の炭酸除去、すなわちバックグラウンド伝導度除去の目的で多孔性ポリプロピレン製の膜型チューブ、さらにそれにシリコン塗布したもの（これらの外側をアルカリが流れている）を炭酸除去のためサブレッサーと伝導度検出器の間に設置したところバックグラウンドが除去されて高感度検出が可能となった。

\* Texas Tech. University

### 家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求 (第3報)：市販ゴム手袋中のジチオカーバメート系加硫促進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*, **32**, 197 (1986)

家庭用の市販ゴム手袋37ブランドについて加硫促進剤の分析を行った。その結果、家庭用ゴム手袋には Zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC), Zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC), Zinc dibutyldithiocarbamate (ZDBC), Zinc ethylphenyldithiocarbamate (ZEPC), Zinc pentamethylenedithiocarbamate (ZPC) のうち、2~3種のジチオカルバメート (DTC) 系化合物が含まれていた。ゴムまたはポリ塩化ビニル製の製品によりアレルギー性接触皮膚炎に起こした40名の患者に対して、パッチテストを行った結果、検討した DTC 系化合物はいずれも陽性反応を示した。

\* 東邦大学医学部付属病院

### 高速液体クロマトグラフィーによる綿ネルの寝間着中のナフトール AS および関連色素の定量

小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠, 高木篤也, 石橋正博\*: *衛生化学*, **32**, 350 (1986)

綿ネルの寝間着による色素沈着性接触皮膚炎の原因化学物質であるナフトール AS の定量法を確立した。

綿ネルをメタノールにより抽出し、シリカゲルカラムにより精製した後、ジアゾメタンでメチル化してカラムに注入した。カラムは順相系の Nucleosil 50-5、溶離溶媒はヘキサン-クロロホルム (12:5)、測定波長は 254 nm を用いた。本法により事故品の綿ネルの寝間着を分析したところ、いずれからも多量のナフトール AS が検出され、ナフトール AS が今回の接触皮膚炎の原因物質であることを裏付ける結果が得られた。

\* 北九州市環境衛生研究所

### 家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求 (第5報)：綿ネルの寝間着中のナフトール AS による Pigmented Contact Dermatitis

小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠, 早川律子\*, 松永佳世子\*: *衛生化学*, **32**, 359 (1986)

厚生省が全国の6病院の皮膚科を対象に行っている「家庭用品による健康被害の病院モニター制度」において、綿ネルの寝間着を着用したため色素沈着性の接触皮膚炎を起こした症例が最近相次いで報告された。そこで、著者らは患者に対するパッチテストの結果と化学分析の結果を結び付けながら検討を行った結果、綿ネルの染色に用いられたナフトール AS が原因化学物質であることを明らかにすることができた。

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

皮膚科医と化学者の協力の必要性—綿ネルの寝間着による色素沈着性接触皮膚炎の原因追及を中心に—  
小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 中村晃忠: *皮膚*, **28**, 増21 (1986)

ある化学物質が染色皮膚炎の原因化学物質であると判定するには、少なくとも、

- 1) 患者が当該製品のパッチテストに陽性を示す
- 2) その製品にその化学物質が含まれている
- 3) 患者がその化学物質のパッチテストに陽性である

といった条件を満たす必要がある。しかし、通常は専門の違う者間の協力の難しさのために1~3の条件すら満たされずに終わることが多い。皮膚科の臨床医と化学者のあいだの協力関係を作り上げることがこうした仕事を発展させる上で是非とも必要であり、そうした方向での著者らの経験を述べた。

### ネルの寝間着による Pigmented Contact Dermatitis —ナフトール AS 類の化学構造とパッチテスト反応の関係について—

有馬八重野\*, 松永佳世子\*, 早川律子\*, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠: *皮膚*, **28**, 増246 (1986)

著者らはすでにナフトール AS が綿ネルの寝間着による色素沈着性の接触皮膚炎の原因化学物質であることを明らかにしているが、今回新しく経験した2症例について、種々のナフトール AS 類似体のパッチテストを行い、これらの化合物の化学構造と患者のパッチテストに対する反応とを比較検討して、ナフトール AS による遅延型アレルギーの構造活性相関について検討を行った。

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

**チオシアン酸第二水銀を含有する玩具花火の安全性**  
五十嵐良明, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭: 衛生化学, 32, 397 (1986)

お尻の小さな穴にチオシアン酸第二水銀でできた棒を差込んで火を着けると茶-灰色の燃えかすがうんちのように伸び出すというおもちゃが「うんち坊や」として若者に人気を博したことがある。しかしながら、水銀化合物はそれ自信毒性が強い上に、熱分解する際には水銀蒸気なども発生すると考えられ、このおもちゃが狭い室内で使われたりすると使用者に危害をおよぼす恐れがある。著者らは、こうした観点からチオシアン酸第二水銀の熱分解によって水銀蒸気、二酸化イオウ、ならびにシアンガスがどの程度発生しうるものかを検討した。その結果、作業環境の許容レベルを上回る水銀蒸気が発生するなどの知見が得られた。

#### データベース構築とその維持の問題点

中村晃忠, 林 真, 小嶋茂雄, 食衛誌, 27, 438 (1986)

データベースとは、情報を個人だけのものとせず、共有することで、多くの人に様々な発想を生み出させるためのものである。ここでは、そうした観点から実験室レベルの小規模データベースの例として国立衛生試験所・療品部において作成し、実用に供している英文文献整理のためのデータベース、ならびに公衆回線利用の大型データベースの例として国立衛生試験所・化学物質情報部が中心となって開発中のバイオリジカルデータベースについて、そのシステム構築と維持の問題点について述べた。

**空気中の二酸化窒素およびホルムアルデヒドの簡易同時測定法の開発—二酸化窒素の個人曝露濃度の測定結果を中心に—**

松村年郎, 亀谷勝昭, 武田浩昭\*<sup>1</sup>, 村松 学\*<sup>2</sup>, 武田明治, 長沢千尋, 中植忠義\*<sup>2</sup>: 日本公衆衛生雑誌, 33, 754 (1986)

呼吸器疾患および発癌性が懸念されている空気中・NO<sub>2</sub>とHCHOの簡易同時測定法を開発した。本法を生活行動パターンの異なる種々の階層(主婦, オフィス勤務者, 大学生, 学童等)の個人曝露量調査に適用し, 複数汚染物質の個人曝露量の一旦を明らかにした。

\*<sup>1</sup> 日本大学理工学部

\*<sup>2</sup> 埼玉医科大学

#### 大気浮遊じん中の微量ヨウ素定量法

亀谷勝昭, 松村年郎, 桜井正明\*: 分析化学, 35, 622 (1986)

ヨウ化物イオン/ヨウ素酸/ヨウ素系の化学増幅反応と生成させたヨウ素によるロイコクリスタルバイオレットの酸化反応を詳細に研究し, 大気浮遊じん中の微量ヨウ素の定量法を確立した。

\* 和光純薬工業(株)

#### 都市大気中のヨウ素含量について

亀谷勝昭, 松村年郎, 田中政尚\*<sup>1</sup>, 桜井正明\*<sup>2</sup>: 保健物理, 22, 63 (1987)

都市大気中のヨウ素の存在状態を検討し, ヨウ素が大気浮遊じんとともに存在することを明らかとした。また大気中の金属とヨウ素含量の相関からヨウ素の発生源が化石燃料に由来するのではないかと推定した。

\*<sup>1</sup> 日本大学理工学部

\*<sup>2</sup> 和光純薬工業(株)

#### 新しい人工甘味料と食生活

斉藤行生: 日本薬剤師会雑誌, 38, 1033 (1986)

新しい人工甘味料であるアスパルテーム砂糖を比較しつつ, アスパルテームの生化学的, 感能的(甘味性)性質について説明し, 正しい甘味料使用の指針とした。

#### Oxidation of Esterified Arachidonate Rat Liver Microsomes

Harold W. DAVIS\*, Takashi SUZUKI and John B. SCHENKMAN\*: Arch. Biochem. Biophys., 252, 218 (1987)

ラット肝ミクロソームに [U-<sup>14</sup>C] アラキドン酸を取り込ませたのち, NADPH-依存性鉄-ピロリン酸系で脂質過酸化を行い, マロンジアルデヒド(MDA)生成およびアラキドン酸の消失を指標として脂質過酸化反応を調べた。MDA 生産と上清の放射活性は良く比例した。ペレットを過剰のホスホリパーゼ A<sub>2</sub> で処理, 遠心し, その上清およびペレットから抽出した物質に

ついてヒドラゾンを生合成させ、その反応物について HPLC により調べた。その結果、ペレットおよび上清のいずれからも反応生成物が見出されたが、2分、15分の反応時間の相違により反応生成物には定量的に差が見られず、脂質過酸化反応は反応液中の NADPH の減少と共に急速にその速度を減ずることが判明した。またこれらの物質の生成は CO 存在により影響されず、かつ鉄の存在しない場合には反応が進行しないことから P<sub>450</sub> はこの反応に関与していないものと考えられる。

\* コネチカット大学ヘルスセンター

#### ガスクロマトグラフィーによる農作物中のトリクロロホルムの分析法

石坂 孝, 関田 寛, 鈴木 隆, 斉藤行生: 食衛誌, 27, 288 (1986)

農作物中のトリクロロホルム (DEP) の残留分析法を検討した。試料から DEP をアセトンで抽出し、アセトン留去後エーテルに再抽出して、得られた抽出物をシリカゲルカートリッジカラムで精製し、ガスクロマトグラフィーで定量した。充てんカラムを用いたとき、DEP はジメチルホスファイトに熱分解されるので、そのピークを測定し DEP を定量した。検量線作製には DEP の熱分解を同一条件で行うため、試料抽出液を添加した DEP 標準液を用いた。一方フューズドシリカキャピラリーカラムを用いると、DEP は熱分解されず、DEP のピークを測定し定量することが可能であった。シリカゲルカートリッジカラムの使用は試料精製操作の省力化に役立つものと考えられた。

#### Determination of Diethylene Glycol in Wine by Use of an Extrelut Column

Sadao UCHIYAMA, Yoko KAWAMURA, Tamio MAITANI, Takashi SUZUKI, Takashi ISHIZAKA and Yukio SAITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 27, 283 (1986)

輸入ワイン中に不法に添加され妨ジエチレングリコール (DEG) の定量法を検討した。珪藻土を充てんしたエキストレルー 520 カラムは妨害物質や水を除去することができ、これをクリーンアップに用いるとガスクロマトグラフィー (GLC) におけるカラムを損傷することなく多くの試料を分析したり、キャピラリーカラムを使用する GC/MS を測定することができた。このクリーンアップ法と 20% PEG 20M カラムおよび 50% phenyl methyl silicon で塗布された wide bore キャピラリーカラムの GLC による DEG の検出限界はワイン中 5ppm であった。本法はまたブドウジュ-

スのような清涼飲料中の DEG 分析にも有効であった。

#### 照射食品の健全性に関する国際的評価

内山貞夫, 土田雅子\*1, 宝月大輔\*2: *New Food Industry*, 28, 5 (1986)

照射食品の健全性に関する国際的な試験研究の結果と評価について、一般毒性、変異原性、化学的成分変化、栄養学的、微生物学的面から述べた。今日まで照射食品の健全性に関して問題となった食品のあることは事実であるが、各種の毒性試験や変異原性試験を繰り返し安全性の再評価を行うなど、広範多岐にわたって検討されている。また放射線化学の面から照射による生成物を詳しく研究するとともに、加熱処理など食品加工処理法による生成物との比較を行うなど、照射生成物に対する理論的評価方法を確立した。これらを踏まえた FAO/IAEA/WHO 照射食品の健全性に関する合同専門家委員会 (JECFI) (1980年) の報告は一応の方向性を与え、各国の照射食品の健全性評価に大きな影響を与えている。

\*1 国立予防衛生研究所

\*2 東京都立アイソトープ総合研究所

#### Essential Metal Contents and Metallothionein-like Protein in Testes of Mice after Cadmium Administration

Tamio MAITANI and Kazuo T. SUZUKI\*: *Toxicology*, 40, 1 (1986)

Cd による精巣障害を必須元素レベルの変化から調べる目的で、マウスに CdCl<sub>2</sub> を皮下投与し、6週間にわたり、精巣中の Na, Mg, P, K, Ca, Fe, Zn, Cd 含量を測定した。最大の変化は Ca レベルの上昇で、4週間目で対照群の 270 倍に達した。精巣上清中に存在するメタロチオネイン様 Zn 結合蛋白質を、高速液クロマトグラフィーを用いて調べたところ、対照群においてより高濃度に検出され、Cd による新たな誘導の証拠は見いだせなかった。

\* 国立公害研究所

#### Hydride Generation-Flame Atomic-Absorption Spectrometry as an Arsenic Detector for High-Performance Liquid Chromatography

Tamio MAITANI, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: *J. Chromatogr.*, 391, 161 (1987)

高速液クロの連続的ヒ素検出器として、水素化物変換 (還元気化) フレーム原子吸光が使えるかを調べるために、両機器の直結を試みた。4種のヒ素化合物

(arsenite, arsenate, methylarsonate, dimethylarsinate)の混合液を陰イオン交換カラムを装着した高速液クロにかけたところ、分離したピークが感度よく検出された。このシステムを使い、ヒジキ抽出液中のヒ素化合物について調べたところ、無機5価ヒ素が主ヒ素化合物として検出された。

#### Effect of Cadmium on Essential Metal Concentrations in Testis, Liver and Kidney of Five Inbred Strains of Mice

Tamio MAITANI and Kazuo T. SUZUKI\*: *Toxicology*, 42, 121 (1986)

Cd 投与後の臓器障害を臓器中必須金属濃度の変化から調べる目的で、CdCl<sub>2</sub>を5系統の近交系マウスに皮下投与し、6, 24, 48時間後の肝、腎、精巣中 Na, Mg, K, Ca, Fe, Zn 濃度を測定した。投与後6時間での精巣中 Cd 濃度は DBA と CBA で他の3系統 (C3H, BALB, C57BL) より有意に高く、それに伴い Na, Ca, Fe 濃度の増加と K, Mg 濃度の減少が認められた。一方、後者の3系統では全般的に肝中必須金属濃度の変化が前者より大きかった。しかし Zn 濃度だけは例外であり、DBA, CBA の方が大きな上昇を示した。すなわち、DBA と CBA では肝中 Cd, Zn-チオネインの誘導量が多く、この事がそれらの肝の Cd に対する抵抗性の原因と考えられた。

\* 国立公害研究所

#### Sterigmatocystin および 5-methoxysterigmatocystin のボルタンメトリー検出器を利用する高速液体クロマトグラフィーについて

五十畑悦子, 豊田正武, 齊藤行生, 内山 充: エル・エス・ティ学会誌, 1, 90 (1986)

Sterigmatocystin (Stg) と 5-methoxysterigmatocystin (5-methoxystg) の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による微量分析を検討し、両トキシンの生体試料分析を可能にした。応用例として Rat の肝臓と腎臓に添加した Stg と Stg を強制経口投与した Rat の 3, 6, 24, 30時間後の消化器系臓器中の Stg を分析しこれらの生体試料の分析に十分対応できることを述べた。HPLC の手段には作用電極1個の三極式と作用電極2個の四極式の2種類のボルタンメトリー検出器について検討し両ボルタンメトリー検出器の HPLC を紹介した。

ボルタンメトリー検出器利用における電位は 1.0v 以下が望ましい。三極式における Stg 測定電位は 1.34 v, 5-methoxystg · 1.16~1.34 v であり Stg は

ボルタンメトリーにおいては至適電位内では測定できないが移動相を検討することでバックグラウンド電流値が下げられることが判り Stg 分析が可能になった。四極式ボルタンメトリー検出器は予め 0.9v の電位をかけることで 1.0v の電位に Stg のピークが得られた。Stg の最高検出感度は 1.3v であるがこの場合のバックグラウンド電流値は 0.9v では 16A, 1.3v は 20 A と低く安定した Stg のクロマトグラムが得られる。

#### 輸入穀類及びそれらの加工食品中の二臭化エチレン (EDB) の残留実態とその経時的減衰

関田 寛, 佐々木久美子, 河村葉子, 鈴木 隆, 齊藤行生, 武田明治, 内山 充: 食衛誌, 28, 42(1987)

1984~1986年にわたり、小麦およびとうもろこしなどの輸入穀類およびそれらの加工食品中の EDB の残留実態並びにそれらの経時的減衰を検討した。輸入小麦穀粒中の EDB 残留はアメリカ産のものから最高約 200 ppb 検出されたが、カナダ産およびオーストラリア産のものからはまったく検出されなかった。EDB が検出された小麦穀粒から加工された小麦粉中の EDB 残留は激減し、さらにその小麦粉から加工された食パン中の EDB は痕跡程度もしくは不検出であった。1984年当初に調査した市販のポップコーン用とうもろこし粒から比較的高濃度の EDB が検出されたが、1985年に調査した同様の試料からは、EDB はまったく検出されなかった。

#### Rapid Determination of Hydrocarbons in Edible Oil as an Index of Lipid Peroxidation and Its Application to Determination of the Effect of Chlorophyll Derivatives on Light-Induced Hydrocarbon Formation in Edible Oil

Yuiko TAKEDA, Masatake TOYODA and Yukio SAITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 27, 635 (1986)

クロロフィル (Chl) 分解物であるフェオホルバイド (Pheo) や、ピロフェオホルバイド (Pyro) による光過敏症発現は脂質の過酸化と関連があると言われているため、それらの影響を定量的に解析するため、脂質中の hydroperoxide から β-分解により生成する炭化水素を指標として利用する方法を検討した。Chl, Pheo, Pyro を添加した食用油脂を光照射し、油脂中に生じた hydroperoxide を 0.1 mM 硫酸銅とアスコルビン酸 (30 mM) と 37°C で30分間反応後、その headspace に集めた炭化水素の GC により簡単に微量分析が可能となった。また分解物等の添加油脂は Control 群にくらべ明らかに生成量が高く、6時間光照射までは三

者に顕著な差は認められないが、8時間で Pyro (0.1  $\mu\text{mole/g}$ ), が他より peroxidant 影響力が高かった。

#### Gas Chromatographic Determination of Tetramethylsuccinonitrile in Poly (Vinyl Chloride) Products in Contact with Food

Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE and Kunitoshi YOSHIHARA: *J. Chromatogr.*, **370**, 275 (1986)

ポリ塩化ビニル (PVC) 製食品用品中に残留するテトラメチルサクシンノニトリル (TMSN) の分析法について検討した。ジクロルメタン (DCM) 中で PVC を磨細し、メタノールを加えてポリマー部分を除いた。抽出物を水蒸気蒸留し、留液中の TMSN を再び DCM で抽出しガスクロマトグラフィーで定量した。カラムは5%サーモン 1000+0.5% リン酸 (1.5 m) を用い検出器は NPD を用いた。検量線は 0.5~12.5 ppm の間で直線性を示し、PVC 1 g 当たり 0.5~12.5  $\mu\text{g}$  添加した TMSN の回収率は 98.0~100.6% であった。6種類の PVC 製食品用品中の TMSN 濃度は検出限界 (0.05 ppm) 以下から 13.9 ppm の範囲であった。一部の試料については GC-MS で TMSN を確認した。

#### Migration of Copper and Some Other Metals from Copper Tableware

Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE and Kunitoshi YOSHIHARA: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **37**, 638 (1986)

銅製の食品用品からの銅およびその他の重金属の溶出について検討した。試料としてスズメッキを施したコップおよび銅地金のコースターを用いた。溶出用液として水または4%酢酸を用い、溶出条件は60°C, 30分, 21°C, 24時間または煮沸2時間とした。4%酢酸を用いた場合、メッキ製品からは約20 ppbの銅, 50~140 ppbの鉛, 3~10 ppmのスズの移行が認められ、地金製品からは20~100 ppmの銅の移行が認められた。カドミウムはいずれの製品からも認められなかった。水を用いた場合、地金製品から1 ppm前後の銅の移行が認められたほかは、メッキ、地金製品ともに重金属類の移は認められなかった。

#### ブドウ球菌 Toxic Shock Syndrome Toxin-1 (エンテロトキシン F) の精製と抗毒素血清の作製

品川邦汎\*, 鈴木美奈子\*, 棚林 清\*, 小沼博隆, 松坂尚典\*, 岩手大学農学部報告, **18**, 47 (1986)  
黄色ブドウ球菌感染症として注目されている Toxic

Shock Syndrome (TSS) は、本菌の産生する菌体外毒素, TSST-1 によって起こると考えられている。本疾病を確実に診断するためには高純度な TSST-1 と抗 TSST-1 血清が必須である。そこで、TSST-1 は、SP-Sephadex (C-25), DEAE-Sephadex (A-25) クロマトグラフィーおよび Sephadex G-75 (Superfine) ゲル濾過によって精製することができた。また、精製 TSST-1 (総量 98  $\mu\text{g}/1$  羽) をウサギに注射して作製した抗毒素血清は、エンテロトキシン A~E とは全く反応を示さず、精製 TSST-1 および Dr. Bergdoll から分与された reference TSST-1 のみと反応した。以上の結果から、本抗 TSST-1 血清は TSST-1 の検出、同定に有効であると考えられる。

\* 岩手大学農学部

#### Incidence of Clostridia in Cooked Meat Products in Japan

Yatarou KOKUBO\*<sup>1</sup>, Masao MATSUMOTO\*<sup>2</sup>, Atsushi TERADA\*<sup>3</sup>, Kunihiro SHINAGAWA\*<sup>4</sup>, Hirota KONOUMA and Hiroshi KURATA\*<sup>5</sup>: *J. Food Protect.*, **49**, 864 (1986)

食肉および食肉製品中の微生物制御について、各都府県衛生研究所、大学および民間の各試験、研究機関によるグループ研究を進めてきている。今回、都内で採取した食肉製品 469 検体を対象に、 $\text{H}_2\text{S}$  産生を指標とする MPN 法により Clostridia の汚染実態を調べた。Clostridia は、469 検体中 154 検体 (32.8%) に検出され、中でもソーセージ類は高い検出率を示した。しかし汚染菌数は g 当たり 10 個以下であった。分離菌は 15 species に同定され、*C. bifermentans*, *C. perfringens* の検出率が高かった。また、*C. botulinum* は検出されなかった。分離菌株 (220 株) の芽胞は 65°C, 30 分間の加熱では、167 株 (75.9%) が生残した。また、5°C では大部分の菌種が発育しなかったが、10°C では発育を示す菌種が多く、タンパク分解能も大半の菌株に認められた。以上の成績から、食肉製品特にソーセージ類の衛生学的品質評価の対象として Clostridia の存在は無視できないことが示唆された。

\*<sup>1</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>2</sup> 日本獣医畜産大学

\*<sup>3</sup> 愛知県衛生研究所

\*<sup>4</sup> 岩手大学農学部

\*<sup>5</sup> 北里大学医学部

#### 食肉および食肉製品中の黄色ブドウ球菌とセレウス菌の汚染状況

小沼博隆, 品川邦汎\*: 肉の科学, **26**, 104 (1986)

食肉および食肉製品中の微生物制御について、各都道府県衛生研究所、大学および民間等の各試験、研究機関によるグループ研究を進めてきている。今回、黄色ブドウ球菌およびセレウス菌について、本食品中の汚染実態調査を試み、分離菌株の性状、型別および食中毒原性（エンテロトキシン産生性）を検討し、さらに汚染源、汚染経路を把握することにより食中毒予防対策を行う上での基礎データの作製を試みた。実行した調査研究は以下の通りである。

1. 食肉および食肉製品中の黄色ブドウ球菌およびセレウス菌の検出、定量法
2. 食肉および食肉製品中の黄色ブドウ球菌汚染実態
3. 食肉および食肉製品中のセレウス菌汚染実態
4. 黄色ブドウ球菌の性状、型別およびエンテロトキシン産生性
5. セレウス菌の性状、型別および食中毒原性

\* 岩手大学農学部

#### DNA Sequences in Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells that Specify Susceptibility to Tumor Promoter-induced Neoplastic Transformation

Michael I. LERMAN\*, Ayako SAKAI, Yao KAITAI\* and Nancy H. COLBURN\*: *Carcinogenesis*, **8**, 121 (1987)

発癌プロモーターによる悪性形質転換の促進に対する感受性を運ぶ遺伝子として最近発見されたマウス *pro* 遺伝子のホモログを、ヒト鼻咽腔癌 (NPC) 細胞系の遺伝子ライブラリーからクローニングした。マウスの *pro* 遺伝子をプローブとして用いてこの遺伝子ライブラリーを検索することによって、*pro-1* と *pro-2* の両方のホモログが同定されたが、*pro-1* のホモログだけが TPA 誘導性の形質転換に対する感受性を賦与する能力をもっていることが、TPA 誘導性形質転換に非感受性の JB6 細胞へのトランスフェクションによって明らかになった。このことは、*pro-1* 遺伝子がヒト NPC の病因に何らかの関係があることを示唆するものである。

\* 米国国立癌研究所

#### Occurrence of Trichothecium in Wheat

Kenji ISHII\*, Jun KOBAYASHI\*, Yoshio UENO\* and Masakatsu ICHINOE: *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 331 (1986)

1983年度、北海道産コムギ試料に *Trichothecium ro-*

*seum* が異常に高頻度に検出され、感染率は 10~96% であった。*T. roseum* の有毒代謝産物のトリコテシン (12, 13-epoxytrichothecene 系の化合物) を13点中3点のコムギ試料から 560, 290, 270 ng/g 検出した。分離 *T. roseum* のコムギ培養により、3.7~32.1 μg/g のトリコテシンの生産を確認した。

本報告は穀物類におけるトリコテシン自然汚染例として第1例にあたる。

\* 東京理科大学薬学部

#### Opportunistic Fungus Infection —真菌学領域—

—戸正勝：真菌と真菌症，27，94（1986）

日本医真菌学会シンポジウム Opportunistic Fungus Infections の一環として、真菌学の立場から、筆者の同定した臨床材料由来真菌による症例を中心に、臨床背景、真菌症原因菌の生態について総説的に論及した。植物病原菌の *Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae*, *Glomerella cingulata* などによる日和見感染としての角膜真菌症、*Paecilomyces lilacinus* による眼科、皮膚科、内科の各領域における症例の集計を行うとともに、各真菌の生態について述べた。また、醸造業において種コウジとして広く用いられる *Aspergillus oryzae* によるアレルギー性気管支肺アスペルギルス症につき自験例を含めて概要を示した。

#### Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis due to *Aspergillus oryzae*

Kazuo AKIYAMA\*<sup>1</sup>, Hajime TAKIZAWA\*<sup>1</sup>, Masaru SUZUKI\*<sup>1</sup>, Sumiki MIYACHI\*<sup>1</sup>, Masakatsu ICHINOE and Yukiyo YANAGIHARA\*<sup>2</sup>: *Chest*, **91**, 285 (1987)

*Aspergillus oryzae* によるアレルギー性気管支肺アスペルギルス症につき報告した。患者は19才女性、家業は味噌、醤油製造業者、左中下肺野にX線異常影あり、造影で中枢性気管支拡張が認められた。喀痰培養で陰性であったが気管支洗滌液より純培養的に *A. oryzae* を検出、塗抹標本で菌糸体の存在を確認した。血清中 IgE 値は 2600 と高値。*A. oryzae* 培養抗原で即時型皮内反応、RAST 沈降反応、ヒスタミン遊離試験いずれも陽性で診断確定した。治療はアンホテリシン B 投与で軽快した。

\*<sup>1</sup> 関東中央病院

\*<sup>2</sup> 国立相模原病院

#### 酵母および細菌菌株単独接種による魚介類の腐敗度の比較

小島満子，外海泰秀，小林加代子，伊藤晋志男：食

衛誌, 28, 19 (1987)

魚介類から分離した酵母 *C. sake*, *C. lipolytica*, *Cr. laurentii*, *Tr. cutaneum*, *Tr. pullulans* と細菌 *Alcaligenes* sp., *B. subtilis*, *P. fluorescens*, *S. epidermidis* を滅菌サバ, エビ, イの各々に単独接種し, 5°, 15°, 25°C・2週間培養した場合の腐敗過程を観察し, pH および揮発性塩基窒素を測定した。

供試酵母菌株の中では *C. lipolytica* による腐敗作用が最も強く, 25°C 培養では2日目から軟化し始め, 7日目にはアンモニア臭とネトが発生した。pH は著しく上昇し, VBN も極めて高い値を示した。他の4菌株の酵母にも程度の差があったが, 供試細菌菌株と同様な腐敗現象が認められた。*C. lipolytica* と *P. fluorescens* の腐敗力は類似していた。

#### 腐敗魚介類から分離した細菌のタンパク質および脂肪分解能

小島満子, 外海泰秀, 伊藤啓志男: 食衛誌, 28, 30 (1987)

腐敗魚介類から主要な腐敗細菌を分離し, *Alcaligenes* sp., *B. subtilis*, *P. fluorescens*, *S. epidermidis* と同定した。これらの細菌の 5°, 15°, 25°C 培養におけるタンパク質および脂肪分解を調べ, 前報で得られた酵母の成績と比較した。その結果, 細菌 *S. epidermidis* と酵母 *Tr. cutaneum* 2菌株間の, また細菌 *P. fluorescens* と酵母 *C. lipolytica* 2種間の各培養温度におけるタンパク質・脂肪分解能はほぼ類似していた。*B. subtilis* の脂肪分解能は *C. lipolytica* のそれより弱く, *Tr. cutaneum* のそれより強かった。また *Alcaligenes* sp. のタンパク質・脂肪分解能は酵母のそれらより弱かった。細菌と酵母のプロテアーゼ活性, リパーゼ活性は各菌株によって異なっていることが明らかとなった。

#### Production of Restriction Endonucleases Using Multicopy Hsd Plasmids Occurring Naturally in Pathogenic *Escherichia coli* and *Shigella boydii*

Katsutoshi MISE, Katsuhisa NAKAJIMA\*<sup>1</sup>, Nobuyuki TERAKADO\*<sup>2</sup> and Motoi ISHIDATE Jr.: *Gene*, 44, 165 (1986)

大腸菌や赤痢菌から, 簡単に制限酵素産生菌を見出す方法を考察した。この方法による *Sbo* 13 と *Eco* T22 とよばれる組み換え DNA 技術に利用可能な制限酵素を発見した。前者は *Nru* I の, 後者は *Ava* III のアイソソマーであるが, *Sbo* 13 と *Eco* T22 の遺伝子は小型プラスミド上にあり, 大腸菌 K-12 で制限

酵素を作らせる事ができるという利点がある。いずれの酵素も安定で収量も高い

\*<sup>1</sup> 東京大学医学研究所

\*<sup>2</sup> 農林水産省家畜衛生試験場

#### ミネラルウォーター類の微生物制御

三瀬勝利, 一戸正勝, 河西 勉, 高山澄江: 食品衛生研究, 36, 7 (1986)

未殺菌ミネラルウォーターを中心に, ミネラルウォーター類の微生物制御の実際について解説した。

#### A New Species of *Oidiodendron*

Shun-ichi UDAGAWA and Noritsuna TOYAZAKI: *Mycotaxon*, 28, 233 (1987)

室内環境の健康におよぼす影響を公衆衛生学的に調査している過程で, 神戸市内で採取した家屋塵埃から *oidiodendron* と同定される一不完全菌が得られ, 新種として記載・報告した。

本菌の特徴は暗灰褐色, 小型の集落となり, 暗褐色の分生子柄上部にアーム状の分岐が2~4本生じ, 最先端部はベニシリ状の頭部となって最後は分節型分生子に変じる点である。とくにアーム状分岐は既知種にみられない特性で, 本種の発見から属の概念を検討する必要を生じ, 本種を *O. setiferum* と命名し, *Oidiodendron* 属の記載を改訂した。

\* 神戸市環境保健研究所

#### Studies on Fungal Products. XII. Structure of Aurantiomestrin from *Emericella striata*

Ken-ichi KAWAI\*, Koheji NOZAWA\*, Hideyuki SEYA\*, Nobuo KAWAHARA\*, Shoichi NAKAJIMA\* and Shun-ichi UDAGAWA: *Heterocycles*, 26, 475 (1987)

子囊菌類 *Emericella striata* から菌類二次代謝産物 emestrin 関連物質について探索中, 培養液を塩化メチルで抽出しエキスから dethiosecoemestrin とともに, mp 118~120°C, オレンジ色の結晶が得られ, aurantiomestrin と命名し, その化学構造を研究した。本物質は新規の菌類代謝物質で,  $C_{27}H_{20}N_2O_9S$  からなる dioxopiperazinethione である。<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR スペクトルなどによる化学的解析に基づき化学構造を確定した。Aurantiomestrin は emestrin から dethiosecoemestrin への生合成経路での中間代謝産物であると考えられる。

\* 星薬科大学



### Studies on Fungal Products. IX. Dethiosecoemestrin, a New Metabolite Related to Emestrin, from *Emericella striata*

Hideyuki SEYA\*, Koohei NOZAWA\*, Shun-ichi UDAGAWA, Shoichi NAKAJIMA\*, and Ken-ichi KAWAI\*: *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2411 (1986)

子囊菌類 *Emericella striata* から菌類二次代謝産物 emestrin 関連物質について探索中、培養ろ液を塩化メチルで抽出しエキスを新規代謝産物 dethiosecoemestrin を単離した。また菌体エキスからは、けいれん生マイコトキシンとして既知の paxilline が得られた。Dethiosecoemestrin は mp 136°C, C<sub>27</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub> の分子式からなる trioxopiperazine 誘導体で、淡黄色の結晶、その科学構造は <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR スペクトルなどによる化学的解析に基づき確定した。Dethiosecoemestrin は emestrin から生合成され、分解して violaceic acid となるものと思われる。

\* 星薬科大学

### 輸入香辛料の真菌、とくに子囊菌類について

宇田川俊一：食品と微生物, **3**, 46 (1986)

輸入香辛料の真菌数と真菌汚染の実態、数種の香辛料が示す抗菌活性、香辛料のマイコトキシン汚染（とくにアフラトキシン、ステリグマトシステン）について述べた。さらに香辛料の汚染真菌中子囊菌類、主として *Eurotium*, *Emericella*, *Chaetomium* などをマイコトキシンの生産性の面からまとめた。最後に香辛料の真菌汚染対策についても言及した。

### *Fusarium oxysporum* in Red Sea Bream (*Pagrus* sp.)

Kishio HATAI\*<sup>1</sup>, Sabrouh S. KUBOTA\*<sup>1</sup>, Norihiro KIDA\*<sup>2</sup>, and Shun-ichi UDAGAWA: *J. Wildlife Dis.*, **22**, 570 (1986)

近年、東南アジアから日本産種より成長が早いという特徴をもったマダイの一種 (*Pagrus* sp.) が輸入され始めたが、それに伴って種々の疾病が発生している。本報では香港より1984年に輸入され、三重県において養殖されているマダイに発生した *Fusarium oxysporum* を病原体とする疾病について述べた。病原菌は患部である腎臓から純粋分離され、サブロー寒天培地上で特徴的な大分生子、小分生子を形成、形態的性質から *F. oxysporum* と同定した。真菌学的研究のほか組織病理像についても記載した。

\*<sup>1</sup> 日本獣医畜産大学

\*<sup>2</sup> 協和薬品(株)

### *Coniochaetidium mirabile*, a New Ascomycete Isolated from Salted Food

Shun-ichi UDAGAWA and Haruo TSUBOUCHI\*: *Mycotoxin*, **27**, 63 (1986)

名古屋市で市販食品の検査を行った際、オニギリの素（サケおよびワカメの乾燥末と食塩）から汚染真菌が分離された。本菌はその1つで子囊菌類に所属する。通常の培地でピンク色の集落となり、分生子ならびに黒色の閉子囊殻を形成する。子囊胞子は黒色、円盤状で発芽スリットが認められた。分生子は *Cladobotryum* に属するものとみなされた。本菌を新種と認め、*Coniochaetidium mirabile* と命名、記載した。また、本菌の成育に対する水分活性を調査の結果、食塩15%添加PDA培地 (a<sub>w</sub> 0.906) まで十分成育し、食塩5~10%添加時での成育がもっとも良好であることを明らかにした。

\* 名古屋市立衛生研究所

### *Aspergillus flavus/parasiticus* 寒天培地の再検討

鈴木明子, 成田紀子, 宇田川俊一, 法月克弘\*: マイコトキシン研究報, **23**, 64 (1986)

アフラトキシン生産菌を選択的に分離する目的で開発された *Aspergillus flavus/parasiticus* 寒天培地 (AFPA) の再検討を行った。供試菌として *Aspergillus flavus* group の90株、その他の *Aspergillus* および *Penicillium* の菌種6株を使用し、培養試験の結果、わが国の輸入食品から分離された *A. flavus* と *A. parasiticus* について42時間あるいは120時間後の集落が橙黄色に発色と他の菌種との判別はきわめて精度がよいものと認められた。したがって、AFPAは食品中のアフラトキシン生産菌をじんぞくに分離・同定する目的に適しているものと考えられた。

\* 東洋ビューティサプライ(株)

### 好温性真菌とその周辺

宇田川俊一：真菌と真菌症, **27**, 5 (1986)

好温菌の定義についてまとめ、高温菌は18~50°C (または50°C以上)、耐温菌は45°Cまでの範囲で生育し得るものとした。すなわち、好温菌は人や温血動物の体温でよく生育し種々の日和見感染症の病因となる素質もっているため、病原性好温菌のみならず腐生的好温菌についても注目する必要があることを強調した。また、耐温菌 *Neosartorya* に関して最近発見されたヘテロタリックな菌種 *N. spathulata*, *N. fennelliae* を用いて *N. fischeri*, *Aspergillus fumigatus* との異種間交

配試験を行った。そして *N. fennelliae* A 株に対して臨床材料等から分離された *A. fumigatus* の多数の菌株が子嚢果形成刺激を与えたことから *A. fumigatus* が a 因子を潜在的に備えていることを見出した。

#### Effect of Roasting on Ochratoxin A Level in Green Coffee Beans Inoculated with *Aspergillus ochraceus*

Haruo TSUBOUCHI\*, Katsuhiko YAMAMOTO\*, Kazuo HISADA\*, Yoshio SAKABE\* and Shun-ichi UDAGAWA: *Mycopathologia*, **97**, 111 (1987)

オクラトキシン生産性 *Aspergillus ochraceus* を接種し、25°C、5~12日間培養した生コーヒー豆におけるオクラトキシンAの熱安定性について研究を行った。乾燥した生コーヒー豆そのままを200°C、10分間または20分間加熱処理(焙焼)した場合のオクラトキシンA減少率はわずかに0~12%にすぎなかった。焙焼した豆を挽いて、熱水で抽出した場合、オクラトキシンAのほとんど全量がコーヒー液中に浸出した。以上のことから、このような条件での焙焼によって汚染生コーヒー豆中のオクラトキシンAを除去することは効果がないものと思われる。

\* 名古屋市立衛生研究所

#### Studies on Fungal Products. XI. Isolation and Structures of Novel Cyclic Pentapeptides from *Aspergillus* sp. NE-45

Reiji KOBAYASHI\*, Yuji SAMEJIMA\*, Shoichi NAKAJIMA\*, Ken-ichi KAWAI\*, and Shun-ichi UDAGAWA: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 1347 (1987)

*Aspergillus* sp. NE-45 株の菌類二次代謝産物として培養菌体のクロロホルム抽出物から、cycloaspeptides A, B, C の3種の新規化合物ならびにエルゴステロールを単離した。Cycloaspeptides A, B, C の科学構造について <sup>1</sup>H-NMR <sup>13</sup>C-NMR などを用いた機器分析ならびに化学的研究を行い、アントラニル酸残基と2つのN-メチルアミノ酸残基を含む新規環状 pentapeptides であることを明らかにした。

\* 星薬科大学

#### *Penicillium paraherquei* IFO 6243 によって菌体外に生産される 280 nm に強い吸収をもつ不飽和ラクトン

藤井貴明\*, 高橋ひろ子\*, 吉川恵美子\*, 篠山浩文\*, 安藤昭一\*, 矢吹 稔\*, 宇田川俊一: 千葉大学園芸学部学報, **39**, 29 (1987)

*Penicillium paraherquei* IFO 6243 は 280 nm 付近(最大吸収 274 nm) に吸収を示す物質 (P<sub>280</sub>) を菌体外に生産した。P<sub>280</sub> の生産は、本菌と同種異菌株や異種近縁株にはみられなかった。IFO 株の培養液 800 ml より約 100 mg の淡黄色の精製 P<sub>280</sub> 標品を得た。このものは、高速液体クロマトグラフィーにおいて98%以上の純度を示した。精製標品の GC-MS, NMR, IR, UV 各スペクトルの分析結果より、P<sub>280</sub> は分子式 C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub> を示す α, β-不飽和ラクトンであると推定した。

\* 千葉大学園芸学部

#### Structure of Neovasinone, a New α-Pyrone Plant Growth Regulator Produced by the Fungus, *Neocosmospora vasinfecta* E. F. SMITH

Hiromitsu NAKAJIMA\*<sup>1</sup>, Kaoru NISHIMURA\*<sup>1</sup>, Takashi HAMASAKI\*<sup>1</sup>, Yasuo KIMURA\*<sup>1</sup>, Takao YOKOTA\*<sup>2</sup>, and Shun-ichi UDAGAWA: *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1221 (1987)

植物病原菌 *Neocosmospora vasinfecta* var. *africana* の培養液中に、レタス幼植物の根の伸長を促進する物質の存在を認め、活性本体の一つを単離して neovasinone と命名、その構造を主として <sup>1</sup>H- と <sup>13</sup>C-NMR を用いて解明した。Neovasinone は mp 193~195°C の無色板状結晶で、C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub> の α-ピロン環と6員環ラクトンが縮合した構造の化合物であった。また、レタス幼植物の根の伸長を 10 mg/l でコントロールの140%、100 mg/l で170%に催促したが、その濃度で胚軸にはほとんど影響を示さなかった。

\*<sup>1</sup> 鳥取大学農学部

\*<sup>2</sup> 東京大学農学部

#### *Neosartorya fennelliae* の分離と *N. fennelliae* および *N. spathulata* と *Aspergillus fumigatus* との異種間交配試験

高田正樹\*<sup>1</sup>, 宇田川俊一, 法月克弘\*<sup>2</sup>: 日菌報, **27**, 415 (1986)

ヘテロタリックな *Neosartorya*, *N. fennelliae* を日本新産種として静岡県富士市の海泥から分離した。本菌の A および a 系統、および既報のヘテロタリック種 *N. spathulata* の A および a 系統を用いて *Aspergillus fumigatus* 保存菌 43 株との異種間交配試験を行った。その結果、*N. fennelliae* の A 系統は供試した *A. fumigatus* 36 菌株 (84%) の性刺激反応によって無色、不稔性の子嚢果様構造を形成した。一方、*N. fennelliae* の a 系統

および *N. spathulata* の A, a 両系統では性的反応がみられなかった。以上から *A. fumigatus* は潜在的に型の性因子を備えているものと推定された。

\*1 東洋醸造(株)

\*2 東洋ビューティサプライ(株)

### *Thermophymatospora*, a New Thermotolerant Genus of Basidiomycetous Hyphomycetes

Shun-ichi UDAGAWA, Takeyoshi AWAO\*1, and Samir K. ABDULLAH\*2: *Mycotaxon*, **27**, 99 (1986)

イラク国バスラ市のナツメヤン栽培地土壌から分離された耐温性不完全菌について菌字の研究を行った。本菌は生育速やかで生育適温は 35~40°C, 褐色, 粉状の集落となり, 分生子は球形, 大型, その表面は網目状の隆起といぼ状の突起が覆っているのが特徴である。外見的には病原真菌 *Histoplasma capsulatum* あるいはケラチン分解菌 *Myceliophthora* に類似するが, これらの菌のテレオモルフが子囊菌類であるのに対し, 本菌の菌糸隔壁にはクランプ構造がみられ, 担子菌系の不完全菌であることが示された。形態的性質を検討し, 本菌が新属であるとの判断から, *Thermophymatospora fibuligera* と命名, 記載した。

\*1 味の素(株)中央研究所

\*2 Department of Biology, College of Science, University of Basrah, Iraq

### New or Interesting Aero-Aquatic Conidial Fungi from Japan

Samir K. ABDULLAH\*1, Yoshikazu HORIE\*2 and Shun-ichi UDAGAWA: *Nova Hedwigia*, **43**, 507 (1986)

日本各地の水圏から採集した植物の落葉・落枝について腐生不完全菌類の分離培養を行い, その中で以下の4種の空中——淡水産分生子形成菌を記載・報告した。

*Spirosphaera verruculosa* (新種) 千葉県津田沼において採集した腐葉から分離。

*Spirosphaera beverwijkiana* HENNEBERT (日本未記録種) 長野県白田演習林において採集したカン腐葉から分離。

*Peyronelina glomerulata* FISHER *et al.* (日本未記録種) 長野県白田演習林において採集したカン腐葉から分離。

*Pseudaegerita* sp. (*Hyaloscypha lignicola* のアナモルフ, 日本未記録種) 千葉市において採集した落枝から分離。いずれも 0.1% 麦芽寒天培地上で純培養に成功した。

\*1 Department of Biology, College of Science, University of Basrah, Iraq

\*2 千葉大学生物活性研究所

### Subcutaneous Abscesses caused by *Ochroconis gallopavum*

Ryoichi FUKUSHIRO\*1, Shun-ichi UDAGAWA, Yasuo KAWASHIMA\*2, and Yoichi KAWAMURA\*2: *J. Med. Vet. Mycol.*, **24**, 175 (1986)

1982年9月石川県立病院に急性白血病で入院中の58才の患者に皮下膿瘍が発症した。患部は背面で, その生検材料を用いて原因菌の分離を行ったところ, サブロー培地上に黒色集落を形成する不完全菌が得られた。さらに同定用培地に接種, 25°C および 37°C で培養した結果, その形態的性状から *Ochroconis gallopavum* と同定, ATCC からの標準菌株と比較し確認した。本種は U. S. A. において, 七面鳥およびニワトリの流行性脳炎起因菌として最初に報告された菌で, ヒトの病原真菌としては本症例が初めてである。日本ではこれまで本種の存在も知られていなかった。本菌は耐温性が特徴である。

\*1 金沢医科大学

\*2 石川県立病院

### Notes on Some Japanese Ascomycetes XVII

Shun-ichi UDAGAWA, Takeyoshi AWAO\*1, and Noritsuna TOYAZAKI\*2: *Trans. Mycol. Soc. Japan*, **27**, 303 (1986)

日本産子囊菌類として次の3種を記載した。

*Myxotrichum deflexum* BERK. (日本新産種) 吹田市で採集した家屋塵埃から分離, 緑色の集落を生じ, 裸生子囊果にはのぼらの棘状の付属器を形成, 子囊胞子は楕円形~紡錘形, 縦に筋がみられる。

*Xeromyces bisporus* FRASER (アナモルフ *Basipetospora*, 日本新産種) 蜂蜜から分離。白色~淡オレンジ色の集落を生じ, 閉子囊果は球形, 子囊胞子は半月形, 無色, 子囊中に2個内生する。*Rosellinia limoniispora* ELLIS *et Ev.* (日本新産種) 吹田市で採集した家屋塵埃から分離。白色の集落に暗色の子実体形成菌糸層が発達, その中に黒色の子座が生じる。子囊殻は大型, 子囊は円筒形, 8胞子を単列に形成。子囊胞子は暗褐色, 楕円形, 両端は尖がり, 発芽スリットがみられる。

\*1 味の素(株)中央研究所

\*2 神戸市環境保健研究所

### A Case Report on the High Level Contamination of Aflatoxin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in Domestic Peanuts

Toshitsugu TANAKA\*1, Akihiko HASEGAWA\*1, Noritsuna TOYAZAKI\*1, Yukio MATSUKI\*1, Yoshio MA-

TSUDA\*<sup>1</sup>, Susumu YAMAMOTO\*<sup>1</sup>, Shun-ichi UDAGAWA, and Yoshio UENO\*<sup>2</sup>: *Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol.*, **23**, 47 (1986)

1985年神戸市内で発見されたアフラトキシン(AF)汚染国内産落花生について化学的ならびに菌学的研究を行った。汚染粒は試料200g中の1粒に発見され、化学分析の結果AF B<sub>1</sub> 5.9 mg/kg, AF B<sub>2</sub> 0.3 mg/kgの汚染が認められた。AF B<sub>1</sub>はマススペクトルで確認した。菌学試験は汚染粒からの直接分離および同一試料の残りの粒からの分離を行い、得られた *Aspergillus flavus* 17株についてAF産生性を認めた。国内産落花生でのAF汚染事例は珍らしく、本報の場合は静岡産であったが、今後全国的な調査が必要と考えられる。

\*<sup>1</sup> 神戸市環境保健研究所

\*<sup>2</sup> 東京理科大学薬学部

#### Metabolism of Thiabendazole and the Teratogenic Potentials of Its Metabolites

Toshie TSUCHIYA, Akira TANAKA, Masamichi FUKUOKA, Michio SATO and Tsutomu YAMAHA: *Toxicol. Lett.*, **31**, 218 (1986)

妊娠マウスに Thiabendazole (TBZ) をオリーブ油に懸濁して投与し、代謝物として5-hydroxy TBZ (5-OH TBZ) およびその sulfate と glucuronide 抱合体を尿中より分離同定した。また新しい代謝物として N-methyl TBZ を認めた。TBZ およびその代謝物について、Teratogenic potentials を limb bud cell の chondrocyte への differentiation assay system を用いて検討した。TBZ および 5 OH-TBZ がほかの代謝物より、低濃度で limb bud cell の分化を直接阻害することが判明した。したがって、TBZ および 5-OH-TBZ が四肢奇形誘発物質であることが明らかとなった。

#### Metabolism of Thiabendazole and Teratogenic Potential of Its Metabolites in Pregnant Mice

Toshie TSUCHIYA, Akira TANAKA, Masamichi FUKUOKA, Michio SATO and Tsutomu YAMAHA: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 2985 (1987)

小懸らはオリーブ油に懸濁した Thiabendazole (TBZ) を妊娠マウスに経口投与した時、四肢奇形仔の発生を認めたが、アラビアゴム溶液に懸濁した場合、奇形仔の発生を認めなかった。その対照的な発生の差の原因を究明するために、両懸濁剤での <sup>14</sup>C-TBZ の体内動態を比較した。最高血中濃度および血中濃度-時間曲線下面積は、Total radioactivity で比較すると、

オリーブ油の方が高く、アラビアゴム溶液よりも吸収が速いことは判明した。一方、血中濃度と臓器分布との関係について回帰式を求めた結果、アラビアゴム溶液の場合には、血中レベルの上昇と共に、臓器中のレベルも上昇したが、オリーブ油の場合には、血中レベルに関係なく、臓器中に一定のレベルを維持する傾向が認められた。<sup>14</sup>C-TBZ の体内動態は、両懸濁剤において差異を認め、著者らが明らかにした四肢奇形誘発物質 (TBZ および 5 位の水酸化体) の濃度差に帰因することが明らかになった。

#### 発癌に関連する DNA の修飾とその修復機構 -O<sup>6</sup>-alkylguanine を中心として

森本和滋: トキシコロジーフォーラム, **10**, 41 (1987)  
癌原生アルキル化剤による DNA の修飾, O<sup>6</sup>-alkyl G の発癌における意義, O<sup>6</sup>-alkyl G-DNA alkyltransferase の役割, 動物種差および臓器差, アダプティブレスポンス基質特異性およびヒト培養細胞における本修復酵素について解説し, O<sup>6</sup>-alkyl G によって生成する miscoding と癌遺伝子の活性化の最近の研究についても紹介した。

#### O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase の活性測定法

森本和滋: トキシコロジーフォーラム, **10**, 200 (1987)

O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase (AGT) の活性測定原理, 実験材料, 酵素の調整法について述べ、大腸菌, ラット肝臓, HeLa 細胞 AGT の分析法を具体的に紹介した。分析法は O<sup>6</sup>-alkyl G の変化を調べる方法としては HPLC 法, ラジオイミュノアッセイ法, 簡易分析法を解説し次にタンパク質へ転位した。alkyl 基の量を測定する方法について述べた。さらに最近の O<sup>6</sup>-methyl G を含む self-complementary oligodeoxynucleotides を用いた <sup>32</sup>P 標識化合物による高感度分析法についても紹介した。

#### 化学物質の安全性研究—その国際的側面—

中館正弘: ファルマシア, **22**, 756 (1986)

化学物質へ安全性評価についての国際的な作業の一例として, WHO/UNEP/ILO が共同で行っている国際化学物質安全性計画 (IPCS) の活動を紹介した。健康影響評価文書の作製, 毒性試験法や安全性評価に必要な試験法, 手法の開発, 安全性評価に係る人材の養成および化学物質による緊急事故対策等, その事業内容を詳述した。

### 変異原性に関する情報 —米国 GENE-TOX Program を中心に—

中館正弘：トキシコロジーフォーラム，10，320 (1987)

現在，毒性情報を得るには，各々の目的に応じて，学術雑誌，データ集など冊子体，オンライン文献データベースあるいはファクトデータベースが利用されている。米国 EPA が行っている変異原性試験データの表価作業 (GENE-TOX Program) は，現在までに公評されている文献をもとに，36試験法，約15,000物質のデータを，試験法毎に整理したもので，その内容は，上記3種の利用法が可能のように，各々形式は異なるが Mutation Research 誌，文献データベース TOXLINE (EMIC File)，ファクトデータベース CIS (Gene-Tox File) として提供されており，情報提供の理想に近い例として，その内容を紹介した。

### マイクロカプセルを用いた揮発性物質の経口投与方法 会田喜崇，高田幸一，門馬純子：トキシコロジーフォーラム，9，94 (1986)

低沸点性化合物であるプロモジクロロメタン (BDCM) を，ゼラチンと粉アメを壁剤とするマイクロカプセルに封入し，下記の各項目について検討した。

1) BDCM のカプセル中および飼料に混合した場合の安定性。2) マイクロカプセル化 BDCM と BDCM のオリーブ油溶液一回強制経口投与後の BDCM 血中濃度の経時変化の比較。3) マイクロカプセル化 BDCM の混餌投与と BDCM のオリーブ油溶液の強制投与との毒性発現の比較。

以上の結果，カプセルに封入された BDCM は，このカプセルが室温に放置され少なくとも3カ月間は安定であり，さらに粉末飼料に混合した場合は9カ月間安定である事がわかった。さらに1カ月間の亜急性毒性試験の結果，オリーブ油溶液投与に比べ，マイクロカプセルの混餌投与でやや強い毒性発現が見られた。しかし，このマイクロカプセルは粒径のばらつきが大きく，カプセル中の被験物質の濃度もその粒径に左右される。したがって，調整されたマイクロカプセルの70パーセントぐらいしか実際に使用できない，また，ゼラチンと粉アメを壁材料として使用しているため熱，あるいは圧力などに比較的弱く固形飼料として使用することは困難である。しかしながら，これら幾つかの制約はあるが，低沸点あるいは不安定な薬物の長期投与には有用である。

### Effect of Feed Restriction on Peripheral Blood

### and Bone Marrow Cell Counts of Wistar Rats Yukio OGAWA, Kiyoshi MATSUMOTO, Eiichi KAMATA, Yasukazu IKEDA and Toyozo KANEKO: *Exp. Anim.*, 34, 407 (1985)

33%と66%の制限食を与えたラットについて，体重，臓器重量，血液および骨髓細胞の検査を行った。体重の増加は制限量により抑制され，66%制限群は増加を認めなかった。肝臓および胸線重量の明らかな減少が実および比重量ともに認められた。末梢血液では，好中球およびリンパ球に減少が見られ，網状赤血球数は66%制限群で1カ月目に対照群の1/4に減少したが，その後漸次回復が見られた。骨髓では有核細胞数が66%制限群で対照群の1/3に減少した。以上の様に制限食による末梢血細胞への影響は，網状赤血球を除き比較的弱い，骨髓では著明な変化が認められた。また雌雄の間には著明な差を認めなかった。

### Biological Features of the Skin of the Pika, *Ochotona rufescens rufescens*: Histological Structure and Enzymatic Histochemical Reactivity

Takeo SAKAI\*1, Shunji YAMADA\*1, Yuzo TANIGUCHI\*2, Yukio KODAMA, Shigetomo HORIUCHI and Tatsuji NOMURA\*3 *Exp. Anim.* 36, 125 (1987)

ナキウサギ *Ochotona rufescens rufescens* が新しい皮膚刺激性試験動物として供試可能か否かを検討するため，皮膚の組織構造および酵素組織化学反応を調べた。ナキウサギは，ウサギと同様にヘアサイクルを有していた。ナキウサギの体幹部の皮膚および表皮の厚さは，各々平均 1.16 mm および 29.5 μm であり，いずれも背部で最も厚く，ついで肩甲間部で，逆に腹部は最も薄かった。

ナキウサギの表皮の角質層，果粒層，有棘細胞層，基底層は比較的明瞭に区別され，基底層の細胞配列はウサギに比べて緻密であった。皮膚肥満細胞の分布は，ウサギおよびモルモットと異なりナキウサギでは表皮直下の真皮乳頭層であった。ナキウサギの肥満細胞の TEM 像は，果粒の電子密度が低く，微繊維様突起およびミトコンドリアが比較的大きかった。毛囊および皮脂腺での SDH, MDH, LDH, HBDH, αGPDH, ALD, G6PDH および GPR の各酵素活性は，ナキウサギとウサギの間で大差は見られなかった。

\*1 日本大学農獣医学部獣医学衛生学教室

\*2 奈良県立医科大学第二病理教室

\*3 (財)実験動物中央研究所

### Six-month Toxicity Study of Butylated Hydroxyanisole in Beagle Dogs

Masuo TOBE, Tuyoshi FURUYA, Yasushi KAWASAKI, Katsushi NAITO, Kiyoshi SEKITA, Kiyoshi MATSUMOTO, Toshiaki OCHIAI, Akio USUI, Takeshi KOKUBO, Jun KANNO and Yuzo HAYASHI: *Fd. Chem. Toxic.*, **24**, 1223 (1986)

F344 ラットの前胃に対して発癌性を有することが報告されたブチルヒドロキシアニソール (BHA) を、雌雄ビーグル犬に0, 0.25, 0.5および1.0%の割合で飼料に添加して6カ月間にわたって投与した。

投与期間中、用量に応じた体重増加の抑制が認められ、投与開始1, 3, 6カ月目に血清総タンパク、アルブミン量の減少、A/G比の低下およびA1-P,  $\gamma$ -GTP, LAP活性の上昇が見られた。投与終了時に食道、胃、十二指腸を、粘膜上皮の厚さおよびMitotic indexを含め組織学的に精査したが、BHA投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。肝臓の重量が増加した。しかし、肝臓重量の増加に結び付くような組織学的な変化は見られなかった。

以上のことより今回の実験条件下では、BHAはビーグル犬の食道、胃、十二指腸および肝臓に対して影響を及ぼさないと考えられる。

### ポリ臭素化ビフェニール (NBB) とポリ塩素化ビフェニール (PCB) の癌原性ならびに慢性毒性の異同

門馬純子: 薬理と治療, **14**, 11 (1986)

ポリ臭素化ビフェニールの一種 Nonabromobiphenyl を主成分とする防炎剤 BROMOKAL 80-9D (NBB) の急性毒性、癌原性、慢性毒性ならびに薬物代謝に及ぼす影響を B6C3F1 マウスを用いて調べ、類似化合物である Polychlorinated biphenyl (PCB) との異同点を考察した。

PCB と異なる所見として、NBB では肝芽腫の発生と血清 Triglyceride および Non-esterified fatty acid の減少が認められた。

PCB と同傾向な所見としては、急性毒性が弱い (LD<sub>50</sub> 値: 15g/kg (p.o.) 以上) にもかかわらず、投与14日後において肝重量の増加が認められた。また、投与13カ月目に行ったベントバルビタール投与による睡眠時間の測定で、短縮が認められたが、これは、薬物代謝酵素の誘導を示唆する所見であった。投与18カ月目では、肝の腫瘍性結節および肝細胞癌が多数認められた。さらに、甲状腺肥大が雌の300ppm群で全例に認められた。

### 漂白剤に使用されている化学物質の急性経口毒性および眼刺激に関する研究

門馬純子, 高田幸一, 鈴木康雄\*, 戸部満寿夫: 食衛誌, **27**, 553 (1986)

過炭酸ナトリウム、過ホウ酸ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウム溶液の急性経口毒性 (マウス) および眼粘膜刺激性 (ウサギ) について検討を行った。

過炭酸ナトリウムの LD<sub>50</sub> 値は、雄で2050 mg/kg、雌で2200 mg/kg、過ホウ酸ナトリウムでは、雄で3600 mg/kg、雌で3250 mg/kg、また、次亜塩素酸ナトリウム溶液では、雄で6.8 ml/kg、雌で5.8 ml/kgであった。毒性所見としては、3物質ともに胃、腸管の刺激による変化が主であった。

眼粘膜刺激性では、3物質ともに非洗浄群で持続性のある強度な眼粘膜障害が認められ、特に、過炭酸ナトリウムでの眼粘膜障害は重篤であった。洗眼効果は、過炭酸ナトリウムおよび過ホウ酸ナトリウムで著明であったが、次亜塩素酸ナトリウム溶液では早期の洗眼のみ効果が認められた。

\* 薬効開発研究会東松山研究所

### Short-term Toxicity Study of 4-Dimethylaminoazobenzene in Marmosets

Kiyoshi MATSUMOTO, Toshiaki OCHIAI, Kiyoshi SEKITA, Yasushi KAWASAKI, Katsushi NAITO, Yukio NAKAJI, Tsuyoshi FURUYA nad Masuo TOBE: *J. Toxicol. Sci.*, **11**, 335 (1986)

小型霊長類の一種であるコモンマーモセットを15日間の短期毒性試験に用いた。56 mg/kg/day の4-dimethylaminoazobenzene を強制経口投与すると、末梢血では大球性貧血、骨髄では貧血に対応する赤芽球の増加が認められた。血清生化学的検査でも、肝および腎機能を反映する項目の変化が見られたが、組織学的には、肝の変化は弱く、甲状腺C細胞の増殖が認められた。マーモセットで見られた変化は、ラットにおける結果とはほぼ同一方向を示すものであり、一部の検査項目はラットに比べ、鋭敏に反応することが解った。

### Long-term Toxicity Study of Methylmercury Chloride in Monkeys

Yasushi KAWAAKI, Yoshio IKEDA, Tatsuya YAMAMOTO and Kazuhiko IKEDA: 食衛誌, **27**, 528 (1986)

サルに塩化メチル水銀の0 (C), 0.01 (L1), 0.03 (L2), 0.1 (H1) および0.3 (H2) mg/kg/day (Hgとして) を52カ月間摂取させた。H2 およびH1群は平均62および181日で神経症状の発現を認め、その間に

摂取した水銀量は 15.9 および 15.3 mg/kg であった。一方 L2 および L1 群は神経症状の発現を認めず、52 カ月間の水銀摂取量は 39.6 および 13.2 mg/kg であった。毛中および血中水銀量は両 H 群で神経症状発現時に高値を示し、両 L 群では 30~36 カ月で最高値に達した後、減少傾向を示した。臓器中の水銀量は両 H 群の大脳で高値を示し、組織学的には大脳と腎臓に顕著な障害を認めた、この結果は、サルにおける塩化メチル水銀の神経作用の無作用量が L2 と H1 の非常に狭い範囲にあることを示唆した。この無作用量は我が国の魚介類中の「暫定的規制値」および WHO における「一日摂取許容量」の決定に利用された。

\* 東京大学医学部

### 生薬エキスの生体影響に関する毒性学的研究 (第 2 報) 牡丹皮, 甘草および紫胡

田中 悟, 高橋 惇, 小野田欽一, 川島邦夫, 中浦 慎介, 長尾重之, 大野泰雄, 川西 徹, 中路幸男, 小林和雄, 鈴木幸子, 内藤克司, 内田雄幸, 安原加寿雄, 高田幸一, 齊藤 実, 関田節子, 尾崎幸紘, 鈴木英世, 高仲 正, 戸部満寿夫, 原田正敏: 薬誌, 106, 671 (1986)

生薬の生体影響に関する毒性学的特性を明らかにする目的で、牡丹皮, 甘草および紫胡のエキスをラットおよびマウスに経口投与して多角的な毒性研究を行った。

牡丹皮: 赤血球数, ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少, 血清ビリルビン量の増加, 脾臓のヘモジデリン沈着が認められた。しかし, 赤血球形態や赤血球脆弱性に変化は認められず, 赤血球系に対する影響は弱いものと考えられた。肝臓の ALP, GPDAP および LAP の増加ないし増加経口が認められ, 肝臓に対する軽度な影響が示唆された。

甘草: 赤血球数およびヘマトクリット値の減少が認められたが, 赤血球形態や赤血球脆弱性に変化はなかった。腎重量の増加, 尿中蛋白量の増加および腎薬物代謝酵素系の誘導が認められ, 軽度ではあるが腎臓に対する影響が示唆された。

紫胡: 赤血球数が減少した。肝重量の増加および血清  $\gamma$ -GPT の上昇が認められた。

**In Vivo and In Vitro Synthesis, Release, and Uptake of  $^3\text{H}$ -Dopamine in Mouse Striatal Slices After In Vitro Exposure to Chlordecone**  
Kannosuke FUJIMORI, Helen BUNET\*, Harihara M. MEHENDALE\* and Ing K. HO\*: *J. Biochem. Toxicol.*, 1, 1 (1986)

多塩素系殺菌剤 (非許可) Chlordecone (25 mg/kg) をマウスに連続投与した。 $^3\text{H}$ -ドパミンを用いて検討すると, Chlordecone 8 日間投与群で, 線条体スライスにおけるドパミンの取込みおよび  $\text{K}^+$  刺激による遊離は有意に減少していた。また線条体スライスにおける  $^3\text{H}$ -チロシンから *in vitro* ドパミンへの合成も有意に低下していた。これらの影響は 5 日間投与群で認められなかった。

\* University of Mississippi Medical Center, U. S. A.

### Comparison of the Toxicokinetic Parameters in Rats Determined for Low and High Dose of $\gamma$ -Chlordane

Yasuo OHNO, Toru KAWANISHI, Atsushi TAKAHASHI, Shinsuke NAKAURA, Kunio KAWASHIMA, Satoru TANAKA, Akira TAKANAKA, Toshihito OMORI, Hiroshi SEKITA, Mitsuru UCHIYAMA: *J. Toxicol. Sci.*, 11, 111 (1986)

アイソトープでラベルした  $\gamma$ -chlordane を用い, その吸収, 分布, 代謝および排泄について多角的に検討し, その結果を薬動力学的に解析した。その結果, 高用量 (10 mg/kg) を用いた場合と低用量 (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) を用いた場合とでそのパラメーターに大きな差が無いことが示された。また,  $\gamma$ -chlordane は主に oxychlordane として脂肪中に蓄積しており, 脂肪中での  $\gamma$ -chlordane 当量の半減期は 8~9 日であった。

### 薬物代謝実験におけるマイクロゾーム分画の調製法および保存法

大野泰雄: *J. Toxicol. Sci.*, 11, 411 (1986)

主に薬物代謝実験に用いるためのマイクロゾーム分画を調製する方法と, その保存法について解説するとともに, 生理的因子 (絶食, 栄養, 生体リズム) の影響についてまとめた。

### Morphine Metabolism in Isolated Rat Hepatocytes and Its Implications for Hepatotoxicity

Kunisuke NAGAMATSU, Yasuo OHNO, Hideharu IKEBUCHI, Atsushi TAKAHASHI, Tadao TERAO, Akira TAKANAKA: *Biochim. Pharmacol.*, 35, 3543 (1986)

ラット肝遊離細胞を用いてモルヒネの代謝と毒性について検討し, モルヒネの代謝によりノルモルヒネ, モルヒノン, グルクロン酸抱合体を分離するとともに, *in vivo* の実験では認められなかったグルタチオン抱合体を分離した。このグルタチオン抱合体の生成は細胞内グルタチオンの低下と対応していた。また, モルヒ

ネは遊離肝細胞の viability を低下させた。これはモルヒネ拮抗物質であるナロキソンにより抑制された。ノルモルヒネやジドロモルヒネにはこのような作用はないが、モルヒネは強い細胞毒性を現した。以上よりモルヒネはモルヒネを介して、肝細胞への毒性を現すことが推定された。

#### 化学物質の安全管理, 化学物質の毒性試験方法

大野泰雄: 水質汚濁研究, 9, 2 (1986)

化学物質の毒性試験法一般について OECD のガイドラインを中心に解説するとともに、現在の毒性試験の抱える問題点をいくつか指摘した。

#### Cytogenetic Analysis of Dominant Lethal Effects of Mitomycin C and Ethyl Methanesulfonate

Takao HASHIMOTO, Kouichi TAKEUCHI, Setsuko OHNO, Setsuko KOMATSU, Yasuo OHNO: *J. Toxicol. Sci.* 12, 33 (1987)

雄ラットを mitomycin C (MMC) と ethylmethanesulfonate (EMS) で処理し、骨髄および雄性生殖細胞の染色体異常、およびこれと交配した正常雌ラットより得た受精卵の雄前核の染色体異常について比較検討することにより優性致死の機構について考察した。

MMC は主に生殖細胞を殺し、精子の数を減少させることにより未受精卵を増加させるが、形態的には検出できないような異常を介した優性致死も起こることが示された。一方、EMS は post-meiotic germ cell に作用し、卵の染色体異常を引き起こし優性致死に繋がるものと考えられた。

#### 肝および腎遊離細胞を用いる毒性試験法

大野泰雄: トキシコロジーフォーラム, 10, 144 (1987)

肝および腎より遊離細胞を調製する方法、および得られた細胞の性質について薬物代謝活性を中心に解説するとともに、その毒性学的研究への応用例を挙げ、その長所・短所について論じた。

#### Long-term *in vivo* Carcinogenesis Tests of Potassium Bromate, Sodium Hypochlorite and Sodium Chloride Conducted in Japan

Yuji KUROKAWA, Shozo TAKAYAMA\*<sup>1</sup>, Yoichi KONISHI\*<sup>2</sup>, Yoshio HIASA\*<sup>3</sup>, Shogo ASAHINA\*<sup>4</sup>, Michihito TAKAHASHI, Akihiko MAEKAWA and Yuzo HAYASHI: *Env. Health Perspect.*, 69, 221 (1986)

臭素酸カリウム、次亜塩素酸および亜塩素酸ナトリウムの癌原性試験が1977~1985年の間に我が国において行われた。これらの試験は雌雄核群 50匹の F344 または B6C3F1 マウスを用い、2用量を飲料水として投与方法でなされた。

臭素酸カリウムの癌原性は 500 および 250 ppm を 110週間投与する事により検索された。対照群に比べ、雌雄投与群の腎細胞腫瘍および雄の腹膜中皮腫の有意の増加がみられた。

1000 または 500 ppm の臭素酸カリウムを 78週間雌性マウスに投与した結果では、投与群における有意な腫瘍の増加はみられなかった。次亜塩素酸ナトリウムは雄には 1000 および 500 ppm を、雌には 2000 および 1000 ppm を 104 週間ラットに投与、またマウスでは 1000 または 500 ppm を 103週間投与する事でその癌原性を検索したが、いずれの動物種、性においても癌原性を認めなかった。

亜塩素酸ナトリウムはラットに 500 および 300 ppm を 85週間投与した投与群における有意な腫瘍の増加はみられなかった。一方、マウスにおいては 500 および 250 ppm が投与され、雄低用量群で肝腫瘍が、高用量群で肺腫瘍が対照群に比べ有意な増加がみられたが ( $p < 0.05$ )、これら腫瘍の発生率はいずれも Historical control の発生率の範囲内であった。

以上の結果、臭素酸カリウムは雌雄ラットに癌原性がみられたが、次亜塩素酸はこの実験条件下ではラットおよびマウスに癌原性を示さないと結論された。また亜塩素酸はラットでは癌原性がみられなかったが、マウスにおいてははっきりと結論できなかった。

\*1 国立がんセンター研究所

\*2 奈良医大がんセンター腫瘍病理

\*3 奈良医大, 病理

\*4 福島医大, 病理

#### Long-term *in vivo* Carcinogenicity Study of Nalidixic Acid in CDF<sub>1</sub> Mice

Yuji KUROKAWA, Yuko MATSUSHIMA, Takayoshi IMAZAWA, Naoko TAKAMURA, Akihiko MAEKAWA, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: *Fd. Chem. Toxic.*, 24, 319 (1986)

ナリジクス酸を 0 (対照群), 0.08 および 0.16% の割合で飼料に混じり CDF<sub>1</sub> マウスに 76 週間投与する事により、その癌原性の有無を検索した。動物は 76 週間の検体投与後引き続き 9 週間の経過観察を行い、実験開始後 85 週目に全生存動物を屠殺、実験を終了した。対照群に比べ、雄低用量群および雌雄高用量群の体重に軽度



の増加抑制がみられた。対照群を含む全群で、雌雄ともに小腸、肺、造血器系の腫瘍、雄の肝およびハーダー氏腺の腫瘍および雌の子宮腫瘍の比較的高い発生がみられたが、いずれの腫瘍においても対照群に比べ有意の増加はみられなかった。

以上の結果より、この実験条件下ではナリジクス酸は CDF<sub>1</sub> マウスに癌原性を示さないと結論された。

#### **Dose-response Studies on the Carcinogenicity of Potassium Bromate in F344 Rats after Long-term Oral Administration**

Yuji KUROKAWA, Shigenobu AOKI\*, Yuko MATSUSHIMA, Naoko TAKAMURA, Takayoshi IMAZAWA and Yuzo HAYASHI: *JNCL*, **77**, 977 (1986)

F344 ラットを用いて臭素酸カリウムの発癌性の用量相関について検討した。実験は7群よりなり臭素酸カリウムを、500, 250, 125, 60, 30, 15, および 0 ppm の濃度で飲料水に混じり104週間にわたって投与した。その結果、腎の腺癌および腺種の発生は、500, 250, 125 ppm で用量相関的に発生が増加していた。Probit 法による VSD 値は 0.950 ppm であった。異型病変の発生は 30 ppm 以上の濃度で有意の増加を示した。

\* 群馬大学医学部公衆衛生学教室

#### **Lack of Carcinogenicity of Potassium Bromate after Subcutaneous Injection to Newborn Mice and Newborn Rats**

Yuko MATSUSHIMA, Naoko TAKAMURA, Takayoshi IMAZAWA, Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI: *Sci. Rep. Tohoku Univ. Series-C*, **33**, 22 (1986)

食品添加物である臭素酸カリウム(臭力)を新生児マウス、ラットに皮下投与してその発癌性を検討した。臭力は総量 800~12.5 mg/kg を単回または週1回で4回投与した。その結果、マウスにおいて腎異型細胞巢の出現を少数例で認めたものの、有意差はなくラット、マウス共に臭力皮下投与による発癌性は認められなかった。

#### **Regional Problem Relating to Health Hazards from Drinking-water in Japan**

Yuji KUROKAWA: In: *Evaluation of Methods for Assessing Human Health Hazards from Drinking Water*, R. F. Packham (ed.), p. 37, IARC Internal Technical Report, No. 86/001, IARC, Lyon (1986)

日本における飲料水に関連した問題点について解説

した。1984年からWHO提出された。飲料水の基準に関するガイドラインに比較し、我が国では、カドミウム、シアン化合物、フッ化物、鉛について厳しいガイドラインを設定している。有機化合物については基準が緩和されている。また本論文では上水道の消毒剤として使用されている塩素化合物について詳細に言及し、国別、地域別の飲料水の特性との関連について考察した。

#### **Conference on Non-mutagenic Carcinogen に出席して**

黒川雄二：トキシコロジーフォーラム, 9, 660(1986)  
英国で開かれた non-mutagenic carcinogens に関するシンポジウムに出席した筆者が学会報告の形で今後発癌研究の分野で重要となるであろうトピックスについて紹介した。

#### **病理組織診断をめぐって(その2)肝の基本病変**

林 裕造, 藤原公策: *J. Toxicol. Sci.*, **11**, 461 (1986)  
シンポジウム(第13回日本毒科学会学術年会)の序説として、肝の基本病変の項を紹介している。

肝臓は、外来性化学物質に最も影響を受けやすく、毒性研究において最も重視されるべき臓器である。本ワークショップでは、安全性試験において通常認められる各種の肝病変を腫瘍性病変、非腫瘍性病変およびその境界性病変に分け、それらの組織学的特徴および毒性試験における意義について解説。非腫瘍性病変については、基本的な病像の供覧のみならず、正常像および生理的な適応性変化と毒性病変との鑑別にも重点を置いた。腫瘍性病変については、化学発癌研究に従事しているわが国の病理学者によって提案されている実験小動物における肝病変の組織学的分類を基に、前癌病変や境界性病変を含め肝腫瘍性病変の組織学的特徴および診断基準について述べた。

\* 東京大学農学部家畜病理

#### **ラット肝の腫瘍性病変について**

長谷川良平, 菅野 純: *J. Toxicol. Sci.*, **11**, 462 (1986)

第13回日本毒科学会学術年会で発表した内容をまとめた。毒性試験において出現する肝の腫瘍性病変の組織学的特徴と分類方法について数多くの組織写真を用いて紹介した。とくに発癌早期に出現してくる前癌病変や肝細胞癌以外の悪性腫瘍について解説を加えた。

#### **発癌性試験の評価**

高橋直人: 食品衛生研究, **37**, 7 (1986)

発癌性試験の評価の仕方について概説した。試験の評価にあたっては、実験の評価、結果の評価、総合的な評価に大別できる。実験の評価では 1. 被験物質、2. 実験動物、3. 飼料あるいは栄養、4. 実験方法、5. 解剖と組織標本検索などにつき評価する。結果の評価では 1. 背景病変、自然発生腫瘍、2. 陽性所見の評価、3. 発がん性試験を修飾する要因、4. マウスの肝腫瘍などにつき評価する。総合評価では 1. 人間への外挿に際しての評価の仕方を解説した。

### トキシコロジー、主題の解説と雑誌の評価

林 裕造：薬学図書館，31，123 (1986)

トキシコロジーについての歴史的背景、方法論、評価について解説し、毒性分野の雑誌、専門誌を紹介した。

1. トキシコロジーについて
  - 1.1. トキシコロジーとは
  - 1.2. トキシコロジー研究における二つの立場
  - 1.3. リスクアセスメントとトキシコロジー
  - 1.4. トキシコロジーの方法
  - 1.5. 毒性試験の種類
  - 1.6. 毒性試験とガイドライン
  - 1.7. 毒性試験の問題点
  - 1.8. 超科学としてのトキシコロジー
  - 1.9. まとめ
2. 雑誌の評価
  - 2.1. 毒性情報検索の要領
  - 2.2. 毒性専門誌
  - 2.3. 関連分野の専門誌
  - 2.4. その他
3. おわりに

### Strategy of Long-term Animal Testing for Quantitative Evaluation of Chemical Carcinogenicity

Yuzo HAYASHI, Yuji KUROKAWA, Akihiko MAEKAWA and Michihito TAKAHASHI: *In. New Concepts and Developments in Toxicology* (eds. P. L. CHAMBERS, P. GEHRING and F. SAKAI), p. 383, Elsevier Science Publications, Amsterdam (1986)

化学物質の発癌性試験の量的評価法について概説した。量的評価法として2つの方法が用いられており、ADIの値から安全因子を求める方法および動物実験のデータからTD<sub>50</sub>やVSDのような相対的な発癌性の強さを概算する方法である。VSDの評価法の例としてN-エチル-N-ニトロソウレアの0, 0.3, 1.0,

3.0, 10.0 ppmのデータおよび臭素酸カリウムの0, 15, 30, 60, 125, 250, 500 ppmのデータを紹介した。またTD<sub>50</sub>とVSDの比較を行い、それぞれの問題点を明らかにした。

### Enhancing Effects of Dietary Salt on Both Initiation and Promotion Stages of Rat Gastric Carcinogenesis

Michihito TAKAHASHI and Ryohei HASEGAWA: *In, "Diet, Nutrition and Cancer,"* (Yuzo HAYASHI et al. eds.), p. 169, Japan Sci. Soc. Press Tokyo (1986)

食塩がヒト胃癌の発生に関連していることが疫学的に認められている。我々は、ラットを用いた実験胃発癌モデルにより、高濃度(飼料中に10%)の食塩摂取がイニシエーションの段階にもプロモーションの段階にも促進的に作用することを示した。この促進作用は、食塩の胃粘膜傷害作用と関係のあることを粘液組織化学、ペプシンの免疫組織化学、走査型、透過型電顕を用いて明らかにした。

### Risk Evaluation of Tumor-inducing Substances in Foods

Yuzo HAYASHI, Yuji KUROKAWA and Akihiko MAEKAWA: *In, "Diet, Nutrition and Cancer,"* (Yuzo HAYASHI, et al. eds.), p. 295, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo (1986)

食品中における発癌性化学物質の危険性評価の問題について、Virtually Safe Dose (VSD)を中心に議論した。VSDの評価に関しては、適切な数学モデルを選択する原則を確立する事が重要であり、このため代表的な発癌物質である二つの物質、即ちENU(N-ethyl-N-nitrosourea)および臭素酸カリウムを選び動物実験における用量-反応データを基としてVSDを検討し、ヒトにおける発癌性化学物質の危険性評価に関して、評価されたVSDの生物学的な意義について述べた。

### 3-Amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]-indole Initiates Two-stage Carcinogenesis in Mouse Skin but is not a Complete Carcinogen

Mihichito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Yoshifumi MIYAKAWA, Hidetaka SATO, Ryohei HASEGAWA and Yuzo HAYASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 77, 509 (1986)

本研究はマウス皮膚2段階発癌モデルを用いて3-アミノ-1-メチル-5H-ピリド[4,3-b]インドール(Trp-P-2)の発癌性を検索したもので2つの異なった実験

より成る。CD-1 雌マウスの背部に Trp-P-2 を週 2 回 5 週間塗布しその後 TPA を週 2 回 47 週間投与し。その結果、腫瘍の発生数は 16~30% に認められた。しかしながら Trp-P-2 を週 2 回 52 週間塗布した場合には腫瘍の発生はなく、TPA のみを塗布した場合にも腫瘍発生がなかった。以上の結果から Trp-P-2 はマウス皮膚においてイニシエーター作用を有するけれども、そのみでは発癌性を有さず、完全型発癌物質ではないことが示唆された。

\* 日本たばこ生物実験センター

### 消化器発癌に対する食塩の影響

高橋道人：癌の臨床 '32, 667 (1986)

胃癌の発生率は世界的な傾向として下がりつつあるが、わが国を始めいくつかの国では、依然として多くの発生がみられる。その原因としてライフスタイル、特に食習慣の関与が重要な要因と考えられている。その第一の影響因子として指摘されているのが食塩である。

1. 発癌イニシエーターの修飾因子としての食塩
2. 二段階発癌における食塩のプロモーター作用
3. 食塩の胃粘膜に対する作用、  
につき実験的なデータに基づき解説した。

### The Effect of Long-term Administration of Aspirin and Sodium Saccharin on the Rat Kidney

Sonny L. JOHNSON\*<sup>1</sup>, Takao SAKATA\*<sup>1</sup>, Ryohei HASEGAWA, Terry V. ZENSER\*<sup>2</sup>, Bernald B. DAVIS\*<sup>2</sup> and Samuel M. COHEN\*<sup>1</sup>: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **86**, 80 (1996)

ラットにアスピリンとサッカリンナトリウムを同時に 68 週間投与したところ、サッカリンによる膀胱粘膜の増殖性病変は抑制されたが、腎盂粘膜の増殖性病変は促進され、また腎乳頭部の壊死や石灰化が高頻度に出現した。2 種類の化合物を同時あるいは時期を変えて投与した場合の腎病変について考察した。

\*<sup>1</sup> University of Nebraska Medical Center, Omaha, U. S. A.

\*<sup>2</sup> Veterans Administration Hospital, St. Louis, U. S. A.

### Aberrant Colonic Epithelium in the Bladder: Report of a Case

Ryohei HASEGAWA, Shoji FUKUSHIMA\*, Fumio FURUKAWA, Michihito TAKAHASHI and Nobuyuki Iro\*:

*J. Urology*, **136**, 901 (1986)

在胎 38 週で出生した女児 (出産後 35 時間にて死亡) の膀胱粘膜に大腸型粘膜が認められた。この異所性大腸粘膜の意味するところを、発生学的に考察し、膀胱に稀に発生する腺癌との関連について言及した。

\* 名古屋市立大学医学部

### Effect of Timing of Partial Hepatectomy on the Induction of Preneoplastic Liver Foci in Rats Given Hepatocarcinogens

Ryohei HASEGAWA, Hiroyuki TSUDA\*, Tomoyuki SHIRAI\*, Yasushi KURATA\*, Atsuko MASUDA\* and Nobuyuki Iro\*: *Cancer Lett.*, **32**, 15 (1986)

肝 2 段階発癌モデルにおいて 2/3 肝部分切除がイニシエーションおよびプロモーションの各段階において促進効果を有することが認められている。本研究では、ラットに diethylnitrosomine を投与した後、種々の化学物質を飼料に混じて 6 週間投与し、時期を変えて肝部分切除を施行した。この結果、肝発癌の前癌病変と考えられる酵素偏倚細胞巢の出現は化学物質や肝部分切除の時期に大きく影響され、肝毒性の強い肝発癌物質である 2-acetylaminofluorene では、その投与開始 2~3 週間後に手術を行うとより大きな病巣が出現し数が減少することが明らかとなった。

\* 名古屋市立大学医学部

### Effect of Dose on the Induction of Urothelial Proliferation by N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide and Its Relationship to Bladder Carcinogenesis in the Rat

Ryohei HASEGAWA, Samuel M. COHEN\*, Margaret St. JOHN\*, Martin CANO\* and Leon B. ELLWEIN: *Carcinogenesis*, **7**, 633 (1986)

膀胱発癌物質である N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide (FANFT) を雄ラットに 4 または 10 週間飼料に混じて投与し、膀胱粘膜の増殖性病変に及ぼす用量作用効果について検索した。これは既に実施されている長期癌原性試験の結果と合わせて、発癌過程における細胞増殖と発癌効果の関連について我々が試みているコンピューターモデルの有用性について検討するために利用された。実験の結果、FANFT には用量に相関して膀胱粘膜の DNA 合成を高め、発癌性と明らかに関連性があり、コンピューターモデルの計算とも極めて一致するデータが得られる。

\* University of Nebraska Medical Center, Omaha, U. S. A.

### The Effects of Different Salts of Saccharin on the Rat Urinary Bladder

Ryohei HASEGAWA and Samuel M. COHEN\*: *Cancer Lett.*, **30**, 261 (1986)

サッカリンが実験膀胱発癌においてプロモーション作用や発癌性を有することが指摘されているが、それらの実験ではナトリウム塩のカッサリンを使用している。最近、膀胱発癌において尿の pH やナトリウムイオン濃度が重要であるとされている。本実験では、雄 F344 ラットを用いサッカリンのナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩と酸性体を 5% の割合で飼料に混じり 10 週間投与後、膀胱粘膜の増殖性病変および尿の性状と尿中サッカリン濃度を検索した。その結果、粘膜の増殖性病変はナトリウム塩で最も強く、次いでカリウム塩であった。また、これらの病変は、尿中サッカリン濃度とは無関係であり pH やナトリウムとカルシウムイオン濃度と相関することが明らかとなった。

\* University of Nebraska Medical Center, Omaha, U. S. A.

### Urinary Bladder Carcinogenesis by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine in an Analbumic Congenic Strain of Rats with an ACI Genetic Background

Sumi NAGASE\*<sup>1</sup>, Seigo SHUMIYA\*<sup>2</sup>, Masakazu TAKAHASHI\*<sup>1</sup>, Akihiko MAEKAWA and Yuzo HAYASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **77**, 1198 (1986)

無アルブミンラット (ACI-alb) を用い、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine による膀胱発癌を検索したところ、正常ラット (ACI) に比較して高い感受性を示した。

\*<sup>1</sup> 佐々木研究所

\*<sup>2</sup> 都立老人研究所

### Carcinogenicity Study of Sodium Hypochlorite in F344 Rats

Ryohei HASEGAWA, Michihito TAKAHASHI, Takeshi KOKUBO, Fumio FURUKAWA, Hidetaka SATO, Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI: *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1295 (1986)

上水道の消毒剤として使用されている sodium hypochlorite の癌原性試験を実施した。検体はその毒性の性差により雄ラットには 0.1% と 0.05% 雌ラットには 0.2% と 0.1% を飲料水に混じて 104 週間自由に摂取させた。投与中止 8 週間後に全生存動物を屠殺剖検した。その結果、sodium hypochlorite には癌原性が認

められなかった。

### Induction of Sertoli Cell Tumors in the Rat Ovary by N-Alkyl-N-nitrosourea

Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA\*, Kyoko FURUTA and Yuzo HAYASHI: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **111**, 173 (1986)

ENU (N-ethyl-N-nitrosourea) を 400 ppm の濃度に飲料水に溶解し 4 週間経口投与または PNUCN-propyl-N-nitrosourea をオリーブ油に溶かし 200 mg/kg を胃ゾンデで 1 回胃内に強制投与する事により雌性 Donryu ラットに高率 (約 50%) に卵巣セルトリ細胞腫の発生をみた。典型的なセルトリ細胞腫は、高円柱状の豊富な好酸性に乏しく、度々空胞状の胞体と、基底側に存在する核を有する細胞が腺様構造を呈していた。セルトリ細胞腫の一部は顆粒膜細胞腫と混在していた。

\* 森下製薬・薬理研

### High Susceptibility of Analbumic Rats to Gastric Tumor Induction by N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine

Kenji SUGIYAMA\*, Sumi NAGASE\*, Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA and Yuzo HAYASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **77**, 219, (1986)

無アルブミンラットは MNNG N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine を約 67~83 µg/ml の濃度に溶解し飲料水として 32 週間経口投与する事により、MNNG による胃癌発生に対しきわめて感受性が高い事が判った。実験開始 44 週目に全生存動物を屠殺、胃癌発生の有無を中心に検索した結果、無アルブミンラットでは胃癌発生は 12/17 (70%) であったのに対し、正常ラット (SD ラット) は 8/21 (38%) であった。腸の腫瘍発生には差異がなく、無アルブミンラット 7/17 (41%) に対し、正常ラット 9/21 (42%) であった。

\* 佐々木研・化学

### Inhibition by Aspirin of N-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide Initiation and Sodium Saccharin Promotion of Urinary Bladder Carcinogenesis in Male F344 Rats

Takao SAKATA\*<sup>1</sup>, Ryohei HASEGAWA, Sonny L. JOHANSSON\*<sup>1</sup>, Terry V. ZENSER\*<sup>2</sup> and Samuel M. COHEN: *Cancer Res.*, **46**, 3903 (1986)

膀胱発癌物質である N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide (FANFT) とプロモーターであ

るサッカリン・ナトリウムを用いた2段階ラット膀胱発癌モデルにおいて、プロスタグランジン合成阻害作用を有する解熱鎮痛剤アスピリンはFANFTのイニシエーション作用およびサッカリンのプロモーション作用を抑制した。このアスピリンの抑制作用の発現機序はそれぞれの段階で異なることが想像される。

\*1 University of Nebraska Medical Center, Omaha, U. S. A.

\*1 Veterans Administration Hospital, St. Louis, U. S. A.

#### Effect of Sodium Selenite upon Bromobenzene Toxicity in Rats I. Hepatotoxicity

B. Alex MERRICK\*, Mark H. DAVIES\*, Ryohei HASEGAWA, Margaret K. St. JOHN\*, Samuel M. COHEN\* and Craig SCHNELL\*: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **83**, 271 (1986)

bromobenzene によるラット肝毒性に対する sodium selenite の影響を検索した。bromobenzene (7.5 mg/mol/kg i.p.) の72時間前に腹腔内投与した sodium selenite (12.5 または 30  $\mu$ mol/kg) は、肝逸脱酵素の血中濃度の上昇や肝の組織学的変化を軽減した。この selenite の作用は、肝内酵素の変動によるものではなく、selenite 前投与により bromobenzene 投与時の解毒酵素系の誘導が速やかに起こるためと考えられる。

\* University of Nebraska Medical Center, Omaha, U. S. A.

#### Inhibitory Effect of Dibutyltin Dichloride on Pancreatic Adenocarcinoma Development by N-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine in the Syrian Hamster

Ja June JANG, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Ryohei HASEGAWA, Hidetaka SATO and Yuzo HAYASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **77**, 1091 (1986)

dibutyltin dichloride (DT) を投与すると胆膵共通管の十二指腸開口部に壊死が生ずる。その結果、胆汁うっ滞や膵液の流出障害を引き起こすが、このような病的状態が膵癌の発生にいかなる影響を与えるのかを実験的に検索した。ハムスターに週1回BOPを皮下に投与し、その前あるいは後1週目にDTを1回投与した。25週間の実験期間の後、膵癌の発生率を検討した。その結果、BOP投与前にDTを投与した時に、発生率の明らかな低下が認められた。しかし、BOPの投与後にDTを投与した場合には影響がみられなかった。DTによる胆膵共通管の障害は膵癌発生のイ

ニシエーションの段階で影響を与え抑制的に働くことが示唆された。

#### Pneumotoxicity of Butylated Hydroxytoluene Applied Dermally to CD-1 Mice

Yoshifumi MIYAKAWA\*, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO, and Yuzo HAYASHI: *Toxicol. Lett.*, **34**, 99 (1986)

ブチルヒドロキシトルエン(BHT)をCD-1マウスの皮膚に投与した時の肺毒性の発現を類似抗酸差異ブチルヒドロキシアニソール(BHA)と比較して検討した。雌雄各10匹からなる6群に対し、0, 5, 10, 20, 30 mgのBHTを含む0.1 ml DMSO溶液および30 mgのBHAを含む溶液を週3回4週間にわたり皮膚に投与した。4日目から8日目にかけてBHTを投与したマウスは用量相関性をもって呼吸困難を来した。死亡動物の剖検では肺のうっ血、腫大がみられた。組織学的には肺胞の閉塞あるいは拡張がみられ、I型肺胞上皮の壊死が著明であった。BHTの致死作用は雄よりも雌に顕著であった。一方、BHAにはそのような作用は全くみられなかった。

\* 日本たばこ生物実験センター

#### F344 ラットにおける Phenytoin の癌原性試験実施にあたっての亜慢性毒性試験

豊田和弘, 佐藤秀隆, 古川文夫, 長谷川良平, 高橋道人, 林裕造: 医薬品研究, **17**, 1219 (1986)

フェニトインの2年間の癌原性試験を実施するにあたっての用量設定をする目的でF344ラットを用いて亜慢性毒性試験を行った。用量は0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.012, および0%の割合で飼料中に混じて投与した。各用量群は雄10匹, 雌10匹から成り, 13週間にわたって投与した。途中死亡した動物はなかったが, 体重増加の抑制が0.2%群の雌雄で認められた。この最高用量群では血液生化学的所見においても異常を示すものがあつた。病理組織学的検索では肝腫大および肝細胞腫大がみられた。以上の結果から癌原性試験におけるフェニトインの最大耐量は0.05%と考えられた。

#### Scanning Electron Microscopic Study of Precancerous and Cancerous Pancreatic Lesions Induced by N-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine in Syrian Golden Hamsters

Zenya NAITO\*, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Ryohei HASEGAWA and Yuzo HAYASHI: *Acta Pathol. Jpn.*, **36**, 1359

(1986)

N-ニトロソビス(2-オキシプロピル)アミン(BOP)をハムスターの皮下に投与すると膵管由来の膵臓癌が発生する。BOPを週1回10週間投与し、膵管上皮における膵癌の発生過程を経時的に走査型電顕を用いて検索した。その結果初期病変として、胆膵共通管の銹型像での限局的粗糙性、上皮の肥厚、線毛構造の消失、著明な finger-like 病変の形成が認められ、しばしば異型性や杯細胞の増加がみられた。前癌病変としての dysplastic lesion の特性を走査型電顕を用いて明らかにしたものとする。

\* 日本医科大学第2病理学

#### Effects of Sodium Chloride and Alcohol on Experimental Esophageal Carcinogenesis Induced by N-Nitrosopiperidine in Rats

Noboru KONISHI\*, Yoshiteru KITAHORI\*, Tateo SHIMOYAMA\*, Michihito TAKAHASHI and Yoshio HIASA\*: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **77**, 446 (1986)

F344 ラットを用い、N-ニトロソピペリジン(NNP)による食道癌発生に際し、食塩やアルコールによってどのような影響を受けるのかを実験的に検索した。その結果、NNP投与後、10%食塩食を投与すると食道癌の発生が促進した。また、10%エタノール投与では、NNPとの同時投与およびNNP投与後に与えた場合に軽度の増加がみられた。食道を上中下3分割、および各部位3切片(計9切片)に分けて検索したが、特に好発部位としての特徴は示されなかった。

\* 奈良県立医科大学第一病理

#### Effects of Four Antioxidants on N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine Initiated Gastric Tumor Development in Rats

Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO, Ryohei HASEGAWA and Yuzo HAYASHI: *Cancer Lett.*, **30**, 161 (1986)

ウィスター系雄ラットに対し、MNNGと高食塩食を週間与え、イニシエーションとした後、4つの抗酸化剤、すなわち2% BHA、1% BHA、1% エトキシキン、1% DL- $\alpha$ -トコフェロールを飼料中に混じて32週間投与し、プロモーションの段階での作用を実験胃癌モデルを用いて検索した。その結果、エトキシキンでは腺胃腫瘍の明らかな発生増加がみられたが、その他の物質では増加は認めなかった。しかし、2% BHA群と1% BHA群では前胃腫瘍の発生および促進がみられた。さらに、MNNG処置後エトキシキンを投与し

た群の動物では腎盂に結石形成がみられた。

#### Effects of Ethanol, Potassium Metabisulfite, Formaldehyde and Hydrogen Peroxide on Gastric Carcinogenesis in Rats after Initiation with N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

Michihito TAKAHASHI, Ryohei HASEGAWA, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO and Yuzo HAYASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **77**, 118 (1986)

実験胃癌においてMNNG投与に際し、高食塩食を与えるとイニシエーションの期間を短縮できる。この実験胃癌の2段階発癌モデルを用い、各種胃粘膜障害物質のプロモーション作用を検討した。実験は7週齢のウィスター系雄ラットを用い、MNNGと高食塩食で8週間処置し、イニシエーションとした。その後、10%エタノール、1%メタ重亜硫酸カリウム、0.5%ホルムアルデヒド、1%過酸化水素を飲料水に混じて与え、32週間投与した。投与終了後、屠殺剖検し、胃を中心に検索した。その結果、メタ重亜硫酸カリウムとホルムアルデヒドでは胃癌の発生に増加がみられた。

#### Carcinogenicity of N-Alkyl-N-(1-hydroperoxyalkyl) nitrosamines after Intravenous Injections in F344 Rats

Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA\*<sup>1</sup>, Kyoko FURUTA, Jun KANNO, Masataka MOCHIZUKI\*<sup>2</sup>, Kei TAKEDA\*<sup>2</sup> and Masashi OKADA\*<sup>2</sup>: *Carcinogenesis*, **7**, 1313 (1986)

$\alpha$ -ハイドロキシニトロサミンのモデル化合物として、4つの $\alpha$ -ハイドロペルオキシニトロサミンをF344ラットに静注することによりその癌原性を検索し、化学構造と癌原性の強さおよび標的臓器との相関を検討した。検索に用いた化合物はMHPMN [N-methyl-N-(hydroperoxymethyl) nitrosamine], EHPEN [N-ethyl-N-(1-hydroperoxyethyl) nitrosamine], PHPPN [N-propyl-N-(1-hydroperoxypropyl) nitrosamine], BHPBN [N-butyl-N-(1-hydroperoxybutyl) nitrosamine], である。雌雄とも何れの投与群においても肺腫瘍の発生がみられ、その頻度は何れも100%であった。甲状腺腫瘍もBHPBN群を除く全投与群に比較的高率にみられた。これら腫瘍の組織学的検査の結果、癌原性の強さはアルキル基の長さに逆相関すると共に、これら化合物の臓器特異性はそれらの mother compounds とは異なっていた。

\*1 森下製薬・薬理研

\*2 東京生化学研

**Spontaneous Neoplastic and Non-neoplastic Lesions in Aging Donryu Rats**Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA\*1, Kyoko FURUTA, Chiaki MATSUOKA, Jun KANNO, Toshiaki OGIU\*2 and Yuzo HAYASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **77**, 882 (1986)

Donryu ラットの自然発生腫瘍および非腫瘍性病変について検索した。自然発生腫瘍の発生率は雄73.3%, 雌88.5%であった。雄では下垂体腺腫が最も多く、次いで副腎褐色細胞腫および睪ラ氏島腺腫であった。これに対し、雌では子宮腺癌、乳腺線維腺腫、下垂体腺腫が多かった。そのほか少数例ながら副腎皮質腺腫、造血器系の組織球性肉腫および脳の顆粒細胞腫がみられた。

Donryu ラットにおけるこれら自然発生腫瘍の組織型および発生頻度は他の系統のラット、例えば ACI, Wistar F344 や Sprague-Dawley ラットのそれとは異なっていた。非腫瘍性病変の中で特徴的なものは末梢神経系の変性を伴ういわゆる radiculoneuropathy であった。

\*1 森下製薬・薬理研

\*2 愛知県がんセンター研究所・超微形態

**Lack of Carcinogenicity of Triethanolamine in F344 Rats**Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA\*1, Kyoko FURUTA, Jun KANNO, Chiaki MATSUOKA, Toshiaki OGIU\*2 and Yuzo HAYASHI: *J. Toxic. Env. Health*, **19**, 345 (1986)

トリエタノールアミン (TEA) の癌原性を F344 ラットを用いて検索した。TEA は蒸留水に 0 (対照群), 1 および 2 % の濃度に溶解し、各群雌雄 50 匹よりなる F344 ラットに飲料水として 2 年間毎日投与した。対照群を含む雌雄各群に種々の腫瘍が認められたが、これら腫瘍はすべて組織学的にこの系統のラットに自然発生する腫瘍と同じであった。雌雄共いずれの投与群においても、対照群と比べ X<sup>2</sup> 検定で有意の増加を示した腫瘍はみられなかった。Peto 等により提唱された統計法による検定の結果、雄の肝腫瘍、雌の子宮内膜肉腫および腎腫瘍に関し Positive trend (P < 0.05) が認められたが、これら腫瘍の Positive trend は TEA 投与に起因するものではなく、自然発生の変動内であると結論された。なお、投与群、特に雌高用量群には

腎障害の所見が見られた。以上の結果より、この実験条件下では、TEA は F344 ラットの腎に毒性を示すが癌原性はないと結論された。

\*1 森下製薬・薬理研

\*2 愛知県がんセンター研究所・超微形態

**Experimental Gastric Carcinogenesis**Michihito TAKAHASHI: *Gann Monograph on Cancer Research*, **31**, 35 (1986)

実験胃癌の二段階発癌モデルを用いて、食塩のイニシエーター作用増強およびプロモーター作用について概説した。同じ実験モデルでのほかの化学物質、すなわち 5% サッカリン, 0.05% フェノバルビタール, 1% アスピリン, 10% エタノール, 1% メタ重亜硫酸カリウム, 0.5% ホルマリン, 1% 過酸化水素などをプロモーションの段階で、餌または飲料水に混じて投与し、プロモーションの強さを比較した。その結果、食塩のほか、メタ重亜硫酸カリウム、ホルマリンでプロモーション作用が認められた。胃癌発生において、食生活での食塩の役割を実験的に示したものである。

**ニトロフルオレン類の変異原性と代謝活性化**渡辺雅彦, 能美健彦, 石館 基: 環境変異原研究, **8**, 65 (1986)

*Salmonella typhimurium* TA100, TA98 およびそのニトロ還元酵素欠損株 (NR 株), アセチル転移酵素欠損株 (1,8-DNP 株) を用いて、ニトロ基の位置の異なるニトロフルオレン、ニトロフルオレノン (計 8 種) の Ames 試験を行った。1-および 4-ニトロフルオレンを除くフルオレン (2-および 3-ニトロ) と、すべてのフルオレノン (1-, 2-, 3-および 4-ニトロ) は、NR 株および 1,8-DNP 株に対する変異原性が親株より弱く、これら化合物はニトロ還元酵素、アセチル転位酵素によって代謝活性化されることが示唆された。

**Electrophoretic Heterogeneity and Age-related Change of Serine Proteinase from *Aspergillus sojae***Eiji ICHISHIMA\*1, Satoshi HANZAWA\*2, Masahiko WATANABE and Michio TAKEUCHI\*3: *Curr. Microbiol.*, **13**, 231 (1986)

超遠心的、ならびに濾紙電気泳動的に均一な *Aspergillus sojae* セリンプロテイナーゼを材料として、電気泳動移動度の異なる 5 種のセリンプロテイナーゼが分離された。この多様な分子種について解析したところ、分子種の多様化は一方向の分子転換によって起こるこ

と、多様な分子種の触媒効率は次第に増加し最高に達した後、急減して最低の分子種にいたることが推定された。この多様な分子種は酵素タンパク質の分子レベルにおける加齢のモデルとしてとらえることができる。

\*1 東北大学農学部

\*2 東洋曹達工業株式会社

\*3 東京農工大学農学部

### Cytogenetic Studies on 1,1-Dichloroethylene and Its Two Isomers in Mammalian Cells In Vitro and In Vivo

Minoru SAWADA, Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDA, Jr.: *Mutation Res.*, **187**, 157 (1987)

1,1-dichloroethylene (1,1-DCE) およびその異性体 *cis*-1,2-DCE, *trans*-1,2-DCE について、チャイニーズ・ハムスター培養細胞 (CHL 株) を用い、染色体異常 (CA) ならびに姉妹染色分体交換 (SCE) の誘発性を検討した。その結果、1,1-DCE のみ、ラット肝から調製した S9 mix 共存下で CA を誘発し、また弱いながら SCE の頻度を増大させた。1,1-DCE の生体内での中間代謝産物と考えられているもののうち、chloroacetyl chloride および chloroacetic acid についても検討したが、CA と SCE のいずれに関しても陰性であった。1,1-DCE についてはさらに生体内での CA 誘発性について検討するために、マウスに投与して骨髄中の赤血球を観察する小核試験、および、妊娠マウスに投与して胎仔の赤血球を観察する小核試験を行ったが、いずれも陰性であった。

### 環境変異原と染色体異常

祖父尼俊雄：小児科診療, **50**, 789 (1987)

生活関連物質や環境汚染物質の中から見出された染色体異常誘発物質の代表的なものについて、発癌物質、医薬品、農薬・染料そのほかの工業関連化合物、食品添加物の4つのグループに大別して、定量的に比較検討した結果を紹介した。

### 毒性試験における対照群の意義とその取扱について ——特にマウス骨髄を用いる小核試験の場合

林 真：医薬品安全性研究, **23**, 20 (1987)

毒性試験の結果を判定するための基準としての対照群について考察を加えた。背景データ有効に用いることにより、同時対照群の偶然変動による判定の誤りを少なくすることを可能にできること等背景データの有効性について検討した。同時対照群の意義とその取扱いについても考察を加え、同時対照群のデータは結

果の判定に用いず、当該実験が成立しているかどうかの判定、および背景データの蓄積の目的にのみ用いることを提案した。

### Sex Difference in the Micronucleus Test: The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test *Mutat. Res.*, **172**, 151 (1986)

小核試験における実験動物の性差について検討した。本研究は日本環境変異原学会・哺乳動物試験系分科会・小核試験共同研究グループによる共同研究として行われた。20機関の参加のもとに20化学物質について検討した結果以下のような結果を得た。

- 1) 全化学物質はすべて両性のマウスにおいて小核を誘発した。
- 2) 2-AAF, B(a)P, 7,12-DMBA は雄により高頻度に小核を誘発した。
- 3) EMS は雌に雄より高頻度に小核を誘発した。
- 4) 他の化学物質においては小核誘発頻度における性差は観察されなかった。

以上の結果より小核試験においては雄動物を用いれば充分であることが判明した。

### 変異原性の強さとその評価—生活関連物質の面から 石館 基：環境変異研究, **8**, 21 (1986)

変異原性試験結果は、単に陰性あるいは陽性という定性的な表現で評価されやすい。しかしながら、変異原としての活性の強さは物質によって  $10^6$  倍以上の開きがあるといわれている。本論文では、変異原性の定量的な評価の試みについて解説を加えたものである。

### 食品添加物の変異原性試験成績 (その7) —昭和60 年度厚生省試験研究費による—

石館 基, 滝澤行雄\*1, 坂部美雄\*2, 石崎陸雄\*3, 伊藤和敏\*4, 館 正知\*5: トキシコロジーフォーラム, **9**, 628 (1986)

厚生省食品化学課により、日本食品添加物協会を通じて配布された天然添加物22種類について Rec-assay, Ames テスト, 染色体異常試験および小核試験を行った。その結果、カカオ色素が Ames テスト, Rec-assay および染色体異常試験でいずれも陽性となった。タンニン酸 (局方) は、Rec-assay および染色体異常試験で陽性であるが、Ames テストでは陰性であった。小核試験は12種類の天然添加物について行ったが、いずれも陰性の結果に終わった。

\*1 秋田大学医学部

\*4 神奈川県衛生研究所

\*2 名古屋市衛生研究所

\*5 中央労働災害防止協会



\*3 茨城県衛生研究所 労働衛生検査センター

**環境変異原物質、環境発癌物質へのヒト暴露をモニタリングするためのドシメーター: DNA 付加物に関する会議の報告**

能美健彦, 森本和滋, 石館 基: トキシコロジーフォーラム, 9, 412 (1986)

本稿は, *Mutation Res.*, 147, 59~63 (1985) に掲載された W. Sheridan および F. J. de Serres らの論文を翻訳したものである。本論文は 1984 年 9 月に NIEHS で行われた化学物質の DNA アダクトに関するシンポジウムの要約である。化学物質のヒトへの暴露量をモニタリングするために本法は有用な手段となる。本会議は口頭発表 6 セクション (22 題) およびポスターセッション (25 題) から成り, 200 名近い参加者があった。

**Clastogenicity *in vitro* of the Na, K, Ca and Mg Salts of Saccharin; and of Magnesium Chloride; Consideration of Significance**

John ASHBY\* and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Research*, 163, 63 (1986)

*In vitro* 系による変異原性試験で陽性となったとしても, *in vivo* 系試験で陰性となる場合は多い。本論文では, チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いて, サッカリンおよびその塩類について染色体異常試験を行ったものである。サッカリン自身は陰性であるが, Na, K, Mg 塩は, かなり高濃度を作用して初めて陽性となる。培地中のイオンのバランス, あるいは浸透圧の変化による影響によって疑陽性となる危険性を指摘した。

\* Imperial Chemical Industries PLC, Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Cheshire (Great Britain)

**厚生省細胞バンクの設立と品質管理の現状**

水沢 博, 石館 基: 凍結及び乾燥研究会会誌, 32, 8 (1986)

JCRB 細胞バンクにおける品質管理のなかで特に細胞の保存法に関する手順, 方法を紹介した。通常の実験室でおこなわれている簡便な細胞凍結法とプログラムフリーザーを使用した精密な凍結法について比較検討した結果も紹介した。

**JCRB 細胞バンクにおける品質管理**

水川 博, 川瀬雅子, 佐々木澄志, Marion Harnoi, 石館 基: 蛋白質核酸酵素, 31, 1470 (1986)

JCRB 細胞バンクにおける細胞株の収集から供給にいたる業務の全般を紹介した。特に品質管理について, マイコプラズマによる汚染の検出と防御に関する方法と, 細胞株の種の同定法について詳細に解説した。またデータ管理についても紹介した。

**細胞バンクにおける品質管理の原則と実情**

水沢 博, 石館 基: 組織培養, 12, 424 (1986)

米国における代表的細胞バンクにおける指導的役割をはたしてきた研究者の品質管理に対する考えかたと, JCRB 細胞バンクの到達点を紹介した。現状ではその間の差は大きい, 今後我国の細胞バンクが国際的な評価を得るためにはいかにこの差を埋めるかが重要である。

**培養細胞におけるマイコプラズマの検出法**

川瀬雅子, 水沢 博, 佐々木澄志, 吉田東歩, \*1, 竹内昌男\*2, 原沢 亮\*2, 石館 基: 組織培養, 12, 298 (1986)

細胞バンクにおける培養細胞株の品質管理として, マイコプラズマによる汚染の検査法を比較検討した。直接培養法は液体培地と固形培地を用いる方法に分けられるが後者はコロニー形成を観察する方法で確実である。しかし種によってはコロニーを形成しない。指標細胞を用いる蛍光染色法は DNA を蛍光試薬で特異的に染色する方法で感度が比較的高く, かつ簡単に速やかに結果を得ることができる。しかし間接法であり必ずしもマイコプラズマを検出しているとは言えず, 判定にかなりの経験を要する。ハイブリダイゼーション法は rRNA 遺伝子 DNA をプローブとして使用し RNA-DNA ハイブリッドを形成させる方法であり短時間に検出できるが, 現時点での単価は比較的高い。そこで当細胞バンクでは直接法と指標細胞を用いる蛍光染色法の両者を併用している。それでもなお判定が困難な場合ハイブリダイゼーション法は有効な手段である。

\*1 (財)発酵研究所

\*2 宮崎大学農学部

**A Reliable and Sensitive Method for Detecting Mycoplasmas in Cell Culture**

Ryo HARASAWA\*1, Hiroshi MIZUSAWA and Kaoru KOSHIMIZU\*2: *Microbiol. Immunol.*, 30, 919 (1986)

DNA-DNA ハイブリダイゼーション法を汚染マイコプラズマの検出に応用するための検討を加えた。プローブ DNA は *M. capricolum* の 16S rRNA 遺伝子を

[<sup>3</sup>H]dCTP でラベルしたものをを用いた。検体は非感染 Vero または BHK21 細胞をコントロールとし *M. arginini*, *M. orale*, *M. salivarium*, *M. hominis* の4種のマイコプラズマを独立に感染させた後、培養上清から DNA 画分を抽出して使用した。プローブ DNA をこれらの検体と混合した後 Cot 値100でハイブリダイゼーションを行い、ハイブリッド DNA 分子を hydroxyapatite column にて分取し、この分画中の放射活性を測定した。マイコプラズマ非感染細胞では添加プローブの5%がハイブリット分子を形成したにすぎなかったが、感染細胞では80%以上が雑種分子を形成した。この結果から DNA-DNA ハイブリダイゼーション法は汚染マイコプラズマ検出に有効な方法でより細部に渡る検討を加える必要があると結論された。

\*1 宮崎大学農学部

\*2 東京大学医学部

#### Activation of Protein Kinase C and Specific Phosphorylation of a $M_r$ 90,000 Membrane Protein of Promotable BALB/3T3 and C3H/10T<sup>1/2</sup> Cells by Tumor Promoters

Kazuhiro CHIDA, Hiroki HASHIBA\*, Kiyoshi SASAKI and Toshio KUROKI\*: *Cancer Res.*, **46**, 1055 (1986)

発癌プロモーター形質転換の促進が観察される BALB/3T3 および C3H/10T<sup>1/2</sup> 細胞に注目し、種々のプロモーターを用い、プロテインキナーゼCの活性化、およびタンパク質のリン酸化を検討した。

1) TPA 処理により、15分でプロテインキナーゼC活性は細胞質画分から消失し、膜画分へ移動した。2) 分子量 90K, P14-44 の膜タンパク質が特異的にリン酸化された。3) 90K タンパク質のリン酸化は、ほかのプロモーターであるメゼライン、ディヒドロテレオニンB, および増殖因子の PDGF, FGF でも誘導された。

\* 東京大学医学部

#### Enhancement by 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> of Chemically Induced Transformation of BALB 3T3 Cells without Induction of Ornithine Decarboxylase or Activation of Protein Kinase C<sup>1</sup>

Kiyoshi SASAKI, Kazuhiro CHIDA\*<sup>1</sup>, Hiroki HASHIDA\*<sup>1</sup>, Nobuyuki KAMATA\*<sup>1</sup>, Etsuko ABE\*<sup>2</sup>, Tatsuo SUDA\*<sup>2</sup> and Toshio KUROKI: *Cancer Res.*, **46**, 604 (1986)

1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の発癌プロモーターとして働く可

能性を BALB3T3 細胞を用いて検討した。

2) メチルコラントレン処理した細胞に 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> を添加すると形質転換集の出現が促進された。2) 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は、飽和密度に達した BALB3T3 細胞の DNA 合成を促進した。3) しかし、TPA とは異なり、ODC を誘導せず、また、EGF POBu の結合に干渉しなかった。さらに、プロテインキナーゼC活性化しなかった。4) BALB3T3 および、形質転換細胞には、1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> に対する特異的レセプターが存在した。5) 他のビタミン D<sub>3</sub> 誘導体にも上記の作用が認められたが、200倍以上の量を必要とした。

\*1 東京大学医学部

\*2 昭和大学歯学部

#### Metabolic Activation of Phenacetin and Phenetidine by Several Forms of Cytochrome P-450 Purified from Liver Microsomes of Rats and Hamsters

Takehiko NOHMI, Keinosuke MIZOKAMI, Sumie KAWANO\*<sup>1</sup>, Morio FUKUHARA\*<sup>2</sup> and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **78**, 153 (1987)

Wistar ラットおよび Syrian ハムスター肝ミクロソームから、5種のチトクローム P-450 を精製し、その再構成系におけるフェナセチンおよびフェネチジンの活性化能を調べた。3-メチルコラントレン処理したラットおよびハムスターから精製された高スピン型 P-450 (MC-P-448-H, P-448 ham II) は、同じ動物またはフェノバルビタール処理したラットからの3種の低スピン型 P-450 よりも高いフェネチジン N-水酸化活性を示した。チトクローム b<sub>5</sub> の存在は、活性をさらに高めた。しかしながら、いずれの P-450 もフェナセチンの N-水酸化活性を示さなかった。Salmonella typhimurium TA100 に対するフェナセチン、フェネチジンの変異原性は、活性化酵素として MC-P-448-H または P-448 ham II を含む再構成系を用いることにより生じた。以上より、高スピン型 P-450 (MC-P-448-H, P-448 ham II) はフェナセチンが直接変異原物質へ代謝活性化される過程において重要な働きをしていることが示唆された。

\*1 東京都衛生研究所

\*2 国立公衆衛生院

#### インドメタシン坐剤の放出試験

中原 裕, 岡田敏史, 伊阪 博: *薬剤学*, **46**, 276 (1986)

市販インドメタシン油脂性坐剤を用いて、村西法と

トーマス変法の2つの放出試験法について検討した。

村西法では、セル内放出量、人工膜孔径および温度の薬物放出に及ぼす影響について検討した結果、薬物放出量はセル内放出量の増加および孔径の減少(0.8~0.22  $\mu\text{m}$ )に伴って減少したが、温度の影響は37~39°Cの範囲で認められなかった。放出量の影響は基剤の展延性(または分散性)と密接に関係しているものと考えられた。一方孔径の影響は、用いた人工膜の孔容積率を反映したもので、見かけの効果であると考えられた。

トーマス変法では、村西法とは異なり、温度の上昇に伴って薬物放出量が増大し、3製剤の薬物放出量の順序が村西法とは異なる結果が得られた。

#### 直線回帰グラフ作成ツール LIRA 2

中原 裕, 柴田 正, 岡田敏史, 伊阪 博: 化学PC研究会会報, 8, 89 (1986)

ドットマトリックスプリンタを用いて高品位なグラフを作成するためのプログラムを開発した。本プログラムは NEC PC-9800 シリーズ用に N88-BASIC(86) で記述されており、10種類の線形関数の回帰グラフのほか折れ線グラフの作成も可能である。作図機能は強力でかつ柔軟性にとみ、スクリーンでグラフを確認しながら設定を行うことができる。グラフの重ね描き、保存ファイルの修正なども可能である。また、データ入力部の操作性も良好であり、効率良くグラフ作成を行うことができる。

#### Analysis of Salmonella Lipopolysaccharides by Sodium Deoxycholate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

Tetsuo KOMURO and Chris GALANOS\*: *J. Immun. Immunopharmacol.*, 6, 147 (1986)

グラム陰性菌から得られるリポ多糖(LPS)は、形態学的に不均一と考えられる。この不均一性を証明するためにこれ迄ゲル濾過法、薄層クロマトグラフィー、特に最近ではゲル中のLPSを高感度に検出できる銀染色法の開発に伴ってSDS-PAGEも用いられるようになった。しかしこの方法は、SDSの解離能力が必ずしも高くなく、また異常な電気泳動像が得られるなど、問題点が多い。今回、著者らはSDSより解離能力が大きく、かつLPSをsubunitに迄解離することの知られているデオキシコール酸ナトリウムを用いてLPSの不均一性を証明し得る電気泳動法を開発した。

\* 西ドイツ・マックスプランク研究所

#### Estimation of Cation Binding of Arabate by Conductivity Measurement

Chikako YOMOTA and Masayuki NAKAGAKI\*: *Chem. Pharm. Bull.*, 53, 933 (1987)

アラビン酸に対する無機カチオン結合性を導電率測定により検討した。アラビン酸のテトラブチルアンモニウム(TBA)塩水溶液に種々の塩を添加し、導電率変化を測定することにより、カチオン結合量を求めた。アラビン酸アニオンの当量導電率  $\Lambda_p$  は、アラビン酸のTBA-OHによる導電率滴定曲線より約6 ( $\Omega^{-1}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{eq}^{-1}$ )と見積もった。アラビン酸に対する無機カチオンの結合曲線はラングミュア型の飽和吸着曲線となり、飽和吸着量  $X_m$  は、同価数のカチオン間ではほぼ等しく、価数が大きくなると増加した。 $X_m$  値と、既報の  $r_+$ ,  $\phi$  および  $f$  値とを比較すると、 $X_m$  は  $f$  と近似し、本測定法は高分子電解質の電場下における対イオン結合量を求めるのに簡便な方法であると考えられた。

\* 京都大学薬学部

#### アラビン酸の電場下での対イオン結合性

四方田千佳子, 岡田敏史, 中垣正幸\*: 薬学雑誌, 106, 653 (1986)

アラビアゴムの主成分であるアラビン酸と対イオンの相互作用を、導電率および輸率の測定により電場下で検討した。輸率はWallらの方法を改良して測定した。これらの測定値より、電場下での対イオンの解離度  $f$  は計算により求められる。アラビン酸Naの  $f$  値は濃度とともにやや増加したが、アラビン酸Caの  $f$  値には濃度依存性は見られなかった。アラビン酸Naおよびアラビン酸Caの無限希釈における  $f$  値はそれぞれ0.70, 0.34で、これらの値は、Manningの棒状分子に対する理論で、電荷間距離  $b$  を6.64 Åとした場合の値とよく一致した。Manning理論は、 $b$  を空間的電荷間距離を反映するパラメーターと見なすことにより、アラビン酸のような分岐を有する高分子電解質にも適用できると結論した。

\* 京都大学薬学部

#### Size Heterogeneity in Salmonella Lipopolysaccharide Analyzed by the Sodium Deoxycholate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis

Tetsuo KOMURO and Chris GALANOS\*: *Toxicol. Lett.*, 31, 193 (1986)

最近SDS-PAGEが、LPSのO抗原の繰返し単位の数の相違などによる分子サイズの不均一性を証明

するために用いられるようになった。しかし再現性に欠けるという欠点があるため LPS の構造上の不均一性を正確に証明するには至っていない。今回著者らが開発したデオキシコール酸ナトリウム-ポリアクリルアミド電気泳動法により一連の *Salmonella* chemotype LPS を用いてその証明を試みた。S. abortus equi (S-form) は繰り返し単位に見合った 35 本のバンドを呈し、また S. typh SR form S. minnesota R-mutant は、SDS-PAGE が示すようなテーリングを示さずそれぞれの分子サイズに対応した特徴的な泳動像を示したことから LPS の科学構造に基づいた不均一性を証明することができた。

\* 西ドイツ・マックスプランク研究所

#### Adsorption of Drugs on Microcrystalline Cellulose Suspended in Aqueous Solutions

Satoshi OKADA, Hiroshi NAKAHARA and Hiroshi ISAKA: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 761 (1987)

水溶液中に懸濁させた結晶セルロース (MCC) に対する種々の薬物の吸着性について検討を行った。diphenhydramine, chlorpheniramine isoniazid *p*-aminobenzoic acid の吸着はごくわずか、無視できる程度であったのに対し、phenothiazine 誘導体 (PTZs) の吸着はかなり大きく、また acrinol の吸着性は著しく強かった。これらの薬物の MCC に対する吸着等温線はすべて Freundlich 型であった。 Freundlich 定数  $k$  および  $1/n$  から MCC に対する吸着性の序列は acrinol > chlorpromazine > trifluorpromazine > promazine の順であった。

吸着に及ぼす pH, イオン強度、さらに薬物の添加に伴う MCC 懸濁液の pH 変化から吸着機構についての検討も行った。

#### 高分子膜分離装置により精製した水の品質評価 有機機量を中心として

梶谷真美, 柴田 正, 伊阪 博, 加納晴三郎, 松田りえ子, 石橋無味雄, 内山 充: 医薬品研究, **17**, 1232 (1986)

蒸留水や膜透過水のような高純度水中の有機物検出法として、過マンガン酸カリウム ( $\text{KMnO}_4$ ) 消費量、紫外部 (UV) 吸光度、有機体炭素 (TOC) の三測定法を選び、その比較検討を行った。その結果、TOC が最も感度よく、迅速かつ簡便な方法であった。また再現性もよく、測定限界は約 40 ppb であった。原料水の測定値は 2052 ppb であったが、限外ろ過膜透過水は 80.9 ppb, 逆浸透膜透過水は 89.0 ppb となり、

現行の注射用蒸留水よりも低い値であった。TOC は、膜透過水製造工程における有機物の除去過程もしくは混入の把握にも利用できると考えられる。一方、 $\text{KMnO}_4$  消費量は感度が低く、また UV 吸光度は操作が煩雑であるため、有効な方法ではなかった。

#### Depression of Salicylamide Glucuronidation by Bacterial Lipopolysaccharide

Mami KUSHIYA, Ryuichi HASEGAWA, Tetsuo KOMURO and Hiroshi ISAKA: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 416 (1987)

グラム陰性菌の細胞壁成分であるリポ多糖 (LPS) (0.5 mg/kg) をラットに腹腔内投与し、24時間後にサリチルアミド (SAM) を 10 mg/head 経口投与して、4時間までの SAM およびその代謝物の尿中排泄量を液体クロマトグラフィーにより分析した。その結果、LPS 前処置によって、尿中の累積 SAM-酸抱合体は 40~70% 減少し、SAM-硫酸抱合体は 5~15% 増加した。また、SAM の水酸化代謝物であるゲンチサミドの抱合体も約 70% 減少した。一方、LPS の前処置により、肝のアニン水酸化活性および肝、肺、腎のグルクロン酸抱合活性は有意に減少した。しかし、肝の硫酸抱合活性の変化は認められなかった。

#### 輸液の不溶性微粒子に関する新清浄度評価法

辻 澄子, 伊阪 博: 薬誌, **107**, 238 (1987)

超清浄水中の微粒子を測定し、輸液と同様の粒度分布式が適用されることを示した。そこで、超清浄水の多点基準を提案し、それを基にした清浄度因子 ( $C_{4.2}$  値および  $C_{0.1}$  値) を考案し、基準値 (各々、0.301 および 1.0) を定めた。調製した超清浄水は基準値以下であった。ブドウ糖輸液中の微粒子については、新しい清浄度因子、他の清浄度因子、累積微粒子数 (2  $\mu\text{m}$ ) および粒度分布パラメーターと比較検討し、 $C_{4.2}$  値による清浄度評価の優位性を論じ、 $C_{4.2}$  値が品質管理の有用な手段になることを示した。

#### Separation and Identification of Amine-Carbohydrate Reaction Product in Aqueous Solution

Satoshi OKADA, Hiroshi NAKAHARA, Hiroshi ISAKA, Tooru TAGA\* and Koichiro MIYAJIMA\*: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 2495 (1987)

Procaine, procainamide, *p*-aminobenzoic acid (PABA) など芳香族一級アミンをもつ薬物は種々の還元糖と反応する。その反応生成物を HPLC 法により

分離するとともに、生成と解離の動的挙動を HPLC および UV 法により追跡し、可逆一次反応であることを確認した。ここで検出された反応生成物は会合錯体ではなく化学反応生成物であり、メタノール中でのアミン糖縮合物との比較から glycosylamines または N-glycosides と推定された。別に、PABA と 2-deoxy-ribose の縮合物 2-deoxy-N-p-carboxyphenyl-D-ribosylamine の X 線結晶解析からその構造が確認された。

\* 京都大学薬学部

#### マーケットバスケット方式による日本人の乳酸、グルコン酸、グリセリン、マンニト、アンモニア、銅クロロフィリンナトリウム、水溶性アナトー、2 種糊料、4 種乳化剤の 1 日摂取量の推定

四方田千佳子, 豊田正武, 一色賢司\*1, 加藤丈夫\*2, 神蔵美枝子, 白石由美子\*3, 西島基弘\*4, 林 弘道\*5, 深澤喜延\*6, 横山 剛\*7, 米田孟弘\*8, 平山佳伸\*9, 山本芳子\*9, 市川和孝\*9, 吉野秀一郎\*10, 伊藤蒼志男: 日本栄養・食糧学会誌, 39, 281 (1986)

全国10機関で、1 人日喫食量に相当する加工食品を採取後、8 食品群に分類し、各食品添加物を分析して 1 日摂取量を求めた。平均 1 日摂取量は、乳酸 1176.0 mg, グルコン酸 65.7 mg, グリセリン 1266.4 mg, マンニト 308.9 mg, アンモニア 173.3 mg, 銅クロロフィリンナトリウム 0 mg, 水溶性アナトー 0 mg, アルギン酸ナトリウム 90.4 mg, アルギン酸プロピレングリコール 0 mg, グリセリンモノステアレート 46.0 mg, プロピレングリコールモノステアレート 0 mg, ソルビタンモノステアレート 0 mg, ショ糖モノステアレート 1.0 mg であった。

\*1 北九州市環境衛生研究所

\*2 仙台市衛生研究所

\*3 札幌市衛生試験所

\*4 東京都立衛生研究所多摩支所

\*5 長野県衛生公害研究所

\*6 山梨県衛生公害研究所

\*7 和歌山県衛生公害研究センター

\*8 島根県衛生公害研究所

\*9 厚生省生活衛生局食品化学課

\*10 日本添加物協会

#### 食品中 BHT および BHA の簡易、分別比色定量法

小林加代子, 辻 澄子, 外海泰秀, 伊藤蒼志男, 田辺弘也\*: 食工誌, 33, 720 (1986)

食品中 BHT および BHA の簡易、分別比色定量法を開発した。試料をメタノールと振り混ぜることにより、食品成分である脂肪、蛋白、無機塩等と分離して

BHT および BHA を定量的に抽出した。

BHT を *O*-ジアニシジン, BHA を 2,6-ジクロロキノクロロイミドとそれぞれ反応させ比色するための至適条件を検討し、分別比色定量法を確立した。

BHT および BHA を試料に 50 および 200 ppm 添加したときの本法による回収率は、それぞれ 72.5 および 92.6% 以上であった。また試料中の検出限界はいずれも 2~4 ppm であった。

\* 相模女子大学

#### クエン酸モノ、ジおよびトリイソプロピルの合成ならびにそれらの異性体の <sup>1</sup>H-および <sup>13</sup>C-NMR スペクトルによる構造解析

辻 澄子, 外海泰秀, 伊藤蒼志男, 福岡正道: 衛生化学, 32, 185 (1986)

食品添加物の標準品として、クエン酸モノ、ジおよびトリイソプロピルを得るために、それらの合成法を検討した。硫酸存在下で無水クエン酸(I)とイソプロパノールを還流することにより、モノエテル(II<sub>a</sub>, II<sub>b</sub>), ジエテル(III<sub>a</sub> と III<sub>b</sub>) およびトリエテル(V)の 5 種類が得られ、II<sub>b</sub>, III<sub>b</sub> および IV が単離できた。一方、IV のアルカリ分解により、I, II<sub>a</sub>, III<sub>a</sub> が得られ、II<sub>a</sub>, III<sub>a</sub> が単離できた。<sup>1</sup>H-および <sup>13</sup>C-NMR スペクトルの測定により、II<sub>a</sub>, II<sub>b</sub>, III<sub>a</sub>, III<sub>b</sub> はそれぞれ、2-モノイソプロピル、1-モノイソプロピル、1,2-ジイソプロピル、1,3-ジイソプロピルエステルであることが判明した。合成した各標準品を 100 mg/l 食用油に添加し、著者らの作製した分析法により測定した結果、それらの回収率はいずれも 96% 以上であった。

#### 各種環境汚染物質のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する致死毒性に及ぼす細菌内毒素の影響

辻 澄子, 外海泰秀, 伊藤蒼志男, 小室徹雄, 加納晴三郎, 衛生化学, 32, 191 (1986)

細菌内毒素は比較的高温 (30°C) 下でヒメダカに対して致死毒性を示すことが明らかとなった。各種環境汚染物のヒメダカに対する致死毒性に及ぼす細菌内毒素の影響について 30°C で検討した。

水難溶性環境汚染物の溶解剤について、30°C, 細菌内毒素の有無下での安全量を測定し、10% エーテル・ジメチルスルホキシド溶液が一番安全であった。

約 90 種の環境汚染物のうち、HgCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Mn Cl<sub>2</sub>, メタノール, エタノール, プロパノール, ブタノール, ペンタノール, Span 60, Tween 60, エチレングリコール, プロピレングリコール, メチルセルソルブのヒメダカに対する致死毒性を細菌内毒素は増強し、

$\text{CuCl}_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  のヒメダカに対する致死毒性を細菌内毒素は緩和した。

#### マーケットバスケット方式による日本人の8種ビタミン, 9種アミノ酸, 3種ミネラルの1日摂取量の推定

四方田千佳子, 豊田正武, 一色賢司<sup>\*1</sup>, 加藤丈夫<sup>\*2</sup>, 神蔵美枝子, 白石由美子<sup>\*3</sup>, 西島基弘<sup>\*4</sup>, 林 弘道<sup>\*5</sup>, 深澤喜延<sup>\*6</sup>, 横山 剛<sup>\*7</sup>, 米田孟弘<sup>\*8</sup>, 平山佳伸<sup>\*9</sup>, 山本芳子<sup>\*9</sup>, 市川和孝<sup>\*9</sup>, 吉野秀一郎<sup>\*10</sup>, 伊藤善志男: 日本栄養・食糧学会誌, 39, 273 (1986)  
 全国10機関で, 1人1日喫食量に相当する加工食品を採取後, 8食品群に分類して各食品添加物を分析し, 1日摂取量を求めた。平均1日摂取量は, レチノール 0.074 mg, チアミン 0.36 mg, リボフラビン 0.433 mg, アスコルビン酸 16.50 mg, ニコチン酸 1.48 mg, ニコチン酸アミド 0.65 mg, パントテン酸 2.823 mg, 総トコフェロール 14.98 mg, スレオニン 166.6 mg, アラニン 344.1 mg, バリン 230.9 mg, メチオニン 80.6 mg, イソロイシン 187.6 mg, フェニルアラニン 247.8 mg, リジン 260.3 mg, ヒスチジン 145.5 mg, アルギニン 285.1 mg, 鉄 5.69 mg, マグネシウム 147.0 mg, アルミニウム 3.41 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 札幌市衛生試験所

\*4 東京都立衛生研究所多摩支所

\*5 長野県衛生公害研究所

\*6 山梨県衛生公害研究所

\*7 和歌山県衛生公害研究センター

\*8 鳥根県衛生公害研究所

\*9 厚生省生活衛生局食品化学課

\*10 日本添加物協会

#### HPLC による液体食品中のサッカリン, 安息香酸, ソルビン酸および6種のパラオキシ安息香酸エステル類の迅速一斉分析法

小林加代子, 辻 澄子, 外海泰秀, 伊藤善志男: 食工誌, 33, 514 (1986)

等濃度溶出 HPLC 法による液体食品中のサッカリン, 安息香酸, ソルビン酸および6種のパラオキシ安息香酸エステル類の迅速一斉分析法を開発した。液体食品試料は酸性条件下で Sep-pak  $\text{C}_{18}$  カートリッジに負荷し, 水洗した後メタノールで溶出し同溶媒で 10 ml の定溶として試験溶液とした。サッカリン, 安息香酸およびソルビン酸(グループA)は Zorbax  $\text{C}_8$  カラム-メタノール・リン酸緩衝液(1+3)混液で, 一方,

6種のパラオキシ安息香酸エステル類(グループB)は同じ試験溶液について Zorbax ODS カラム-エタノール・リン酸緩衝液(2+3)混液でそれぞれ一斉に定量した。

#### マウスの糞中ステロイド排泄量ならびに胆汁酸プールサイズに及ぼす食餌性タウリンの影響

山中優美子, 辻 啓介<sup>\*1</sup>, 市川富夫<sup>\*1</sup>, 中川靖枝<sup>\*2</sup>, 河村雅子<sup>\*2</sup>: 栄養学雑誌, 44, 87 (1986)

ICR 系雄性マウスに, コレステロール (Chol) 0.5%, コール酸ナトリウム 0.25% を含む半合成飼料や, これにタウリンを 5% 添加した飼料を 5 週間摂取させることによって, マウスの Chol 胆石形勢, 結成脂質, 糞中ステロイド排泄量, 胆汁酸プールサイズに対する影響を調べた。タウリンは, マウスの Chol 胆石形成および食餌性 Chol による血清 Chol 値上昇を抑制した。一方, 血清トリグリセリド値は上昇した。タウリンによって, 胆汁酸プールサイズの拡大や中性ステロイドの糞中排泄量の増加はみられなかったが, 糞中胆汁酸排泄量は増大した。その胆汁酸組成についてみると, ケノデオキシコール酸 (CDCA) が増加していた。以上のことから, タウリンには肝臓における Chol の胆汁酸への異化を促進する働きのあることが推定され, マウスの Chol 胆石形勢抑制作用と何らかの関連のあることが推定された。

\*1 国立栄養研究所

\*2 実践女子大学

#### Stimulation of Chenodeoxycholic Acid Excretion in Hypercholesterolemic Mice by Dietary Taurine

Yumiko YAMANAKA, Keisuke Tsuji\* and Tomio ICHIKAWA\*: J. Nutr. Sci. Vitaminol., 32, 287 (1986)

4 週令の Jcl: ICR 系雄性マウスに, コレステロール 0.5%, コール酸ナトリウム 0.25% を含む半合成飼料およびこれにタウリン 5% を添加した飼料を 5 週間摂取させ, 糞中ステロイド排泄量と胆汁酸プールに及ぼす食餌性タウリンの影響を調べた。タウリンによって, 胆汁酸プールサイズには変化がなかったが, 糞中胆汁酸排泄量は増加した。一方, 中性ステロイド排泄量はあまり増加しなかった。また, 胆汁酸プール, 糞中胆汁酸にしめるケノデオキシコール酸 (CDCA) 系胆汁酸の割合が増加した。以上のことより, 食餌性タウリンは, 肝臓コレステロールの胆汁酸, とくに CDCA 系胆汁酸への異化を促進させることが推定された。このことは, タウリンによるコレステロール胆

石形成抑制作用と関連があると思われた。

\* 国立栄養研究所応用食品部

#### 天然ガムと陽イオン界面活性剤との相互作用

四方田千佳子, 中村恵三, 伊藤善志男: 日本化粧品技術者会誌, 20, 2 (1986)

天然ガムと陽イオン界面活性剤すなわち臭化トリメチルアンモニウムとの相互作用を, 導電率, Na イオンの活量係数および沈殿形成反応により検討した。導電率および Na イオン活量の測定より, 陽イオン界面活性剤は天然ガムに対し, 無機カチオンよりはるかに強い相互作用を有することが示された。また, 沈殿反応では, 分岐を有するアラビアゴムはほかの直鎖状多糖より高濃度の活性剤を必要とした。沈殿に続くゲル化では, 直鎖状の多糖は器壁に強固なゲルを形成するが, アラビアゴムでは容易に分散する透明ゲルとなった。これらの結果より, 天然ガムと陽イオン界面活性剤との相互作用には, 糖鎖の構造が大きく関与していることを明らかにした。

#### Determination of Dibromochloropropane and Related Fumigants in Citrus Fruit

Yasuhide TONOGAI, Yoshio ITO, Shunjiro OGAWA\*<sup>1</sup> and Masahiro IWAIDA\*<sup>2</sup>: *J. Food Protection*, 49, 909 (1986)

1, 2-Dibromo-3-chloropropane (DBCP), 1, 3-dichloropropane (DCP), chlorobutol (TCB) および 7 種の類縁化合物の迅速, 系統分析法を確立した。これらの化合物はいずれも高い揮発性を持つので, 精油定量用蒸留装置を用い, シクロヘキサンに捕集した。蒸留液はフロリジルカウムで精製し, TCB を除く化合物は *n*-ヘキサン・エーテル (93:7) 混液で, TCB はエーテルでそれぞれ溶出した。溶出液は直接 ECD-GC で測定した。これら化合物 0.01~1 ppm のレモン, オレンジおよびグレープフルーツからの回収率は 91.5~98.6%であった。

\*<sup>1</sup> 京都薬科大学

\*<sup>2</sup> ネッスル㈱

#### Interaction of Cationic Surfactant with Arabinoside and Chondroitin Sulfate

Chikako YOMOTA, Yoshio ITO and Masayuki NAKAGAKI\*: *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 798 (1987)

分岐を有する高分子のアラビン酸および棒状高分子のコンドロイチン硫酸に対するカチオン界面活性剤の結合曲線を, カチオン界面活性剤選択性電極を用いて

測定した。*n*-ドデシルトリメチルアンモニウムイオン (DOTMA<sup>+</sup>) のアラビン酸との結合定数 *K* はコンドロイチン硫酸の 1/10~1/30, また協同性パラメーター *u* は約 1/10 といずれも非常に小さな値となった。アラビン酸とコンドロイチン硫酸の電荷間距離がほぼ等しいにもかかわらず, アラビン酸への DOTMA<sup>+</sup> の結合性が小さいのは, その分岐構造に起因していること, すなわち, 分子サイズの大きな DOTMA<sup>+</sup> との結合が立体的要因により障害され, かつ結合した DOTMA<sup>+</sup> 分子間の疎水的相互作用も起こりにくいためであることを明らかにした。

\* 京都大学薬学部

#### Rapid Determination of Mono-, Di- and Tri-isopropyl Citrate in Foods by Gas Chromatography

Sumiko TSUJI, Yasuhide TONOGAI and Yoshio ITO: *J. Food Protection*, 49, 914 (1986)

食品中のクエン酸モノ-, ジ-およびトリイソプロピルの簡易定量法を開発した。食用油はヘキサンに溶かし, バターまたは粉乳は酸性条件下でクエン酸イソプロピルを酢酸エチルで抽出した。クエン酸イソプロピルを含む有機層をヘキサンに換えて, クエン酸イソプロピルをアセトニトリルに移行させた。溶媒を留去後, ジアゾメタンでメチル化し, ガスクロマトグラフィーにより定量した。クエン酸モノ-, ジ-およびトリイソプロピルの回収率はそれぞれ 92.9%, 95.7% および 94.0%であった。検出限界は試料に対して 1μg/g であった。

#### Characterization of the Pyrogenicity of Two Different Lipopolysaccharides and Their Lipid A-Bovine Serum Albumin Complexes

Yoshiyuki OGAWA, Toshimi MURAI and Seizaburo KANOH: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 9, 722 (1986)

細菌性発熱物質 (LPS) の発熱機序を明らかにするため, まず発熱活性の信頼できる指標の確立を試みた。さらに LPS の構造-活性相関の検討として, Lipid A 構造中の 3-hydroxy-myristic acid および LPS 多糖体部位の発熱活性に担う役割について検索した。その結果, 発熱活性の指標として最高発熱度に基づく用量-反応曲線は発熱曲線下面積を表わす Fever-Index に基づくよりも統計的に信頼度が高いことが明らかとなった。構造-活性相関については 3-hydroxymyristic acid の欠如等, Lipid A 構造のある種の差異は LPS による発熱に支配的要因となる可能性が示された。ま

た LPS 分子の多糖体部位も発熱に重要な役割を担っていることが示唆された。

### 芍薬の化学的研究(第5報)系統別芍薬中の配糖体およびガロタンニン含量

西沢 信, 林 隆章, 山岸 喬, 堀越 司, 島山好雄, 本間尚治郎: 生薬, 40, 413 (1986)

シャクヤクを栄養繁殖した場合には配糖体やガロタンニン含量は世代間ではほとんど変化がなく, 一度選抜すれば, 成分含量の安定した系統を維持できる。

供試材料53系統のペオニフロリン含量は1.50~4.84%, アルビフロリンは0~2.18%, ガロタンニンは0.17~1.08%を示し, これら成分含量と外部形態との間には特定の関連は見出されなかった。

### *Agrobacterium rhizogenes* による毛根病発病機構と毛状根の特性

鎌田 博\*, 濱本 宏\*, 下村講一郎: 日本農芸化学会誌, 61, 372 (1987)

グラム陰性の土壌細菌である *A. rhizogenes* が植物に感染すると毛状根と呼ばれる特徴的な性質を持つ不定根を誘起する。

このミニレビューでは, Ri プラスミドによって誘起される毛根病の発病機構と毛状根の特性について最近の話題を中心に解説した。

感染の初期過程, 病徴の出現および毛状根の特性と有用二次代謝物の合成について述べた。

\* 筑波大学遺伝子実験センター

### Alkaloid Production by Hairy Root Cultures in *Atropa belladonna*

Hiroshi KAMADA\*<sup>1</sup>, Nobuyuki OKAMURA\*<sup>2</sup>, Motoyoshi SATAKE, Hiroshi HARADA\*<sup>3</sup> and Koichiro SHIMOMURA: *Plant Cell Reports*, 5, 239 (1986)

ベラドンナの無菌植物個体に *Agrobacterium rhizogenes* を感染させ, 誘起した毛状根 (Hairy root, 形質転換細胞) を得た。毛状根はホルモン無添加培地で毛状根特有の増殖を示し, 増殖率は1ヶ月当り約60倍であった。アトロピンおよびスコポラミンの生産について TLC, GLC および HPLC により分析を行った。その結果, 毛状根中のアルカロイド含量 (アトロピン 0.37%, スコポラミン 0.024% 乾燥重量当たり) は, 圃場栽培株の根の値と同等か若干高い値を示した。

\*<sup>1</sup> 筑波大学遺伝子実験センター

\*<sup>2</sup> 福山大学薬学部

\*<sup>3</sup> 筑波大学生物系

### Characteristics of *Bupleurum falcatum* Plants Propagated through Somatic Embryogenesis of Callus Culture

Noboru HIRAOKA\*<sup>1</sup>, Tomoko KODAMA\*<sup>1</sup>, Miho OYANAGI\*<sup>1</sup>, Shihoko NAKANO\*<sup>1</sup>, Yutaka TOMITA\*<sup>1</sup>, Nobuyuki YAMADA,\*<sup>2</sup> Osamu IIDA and Motoyoshi SATAKE: *Plant Cell Reports*, 5, 319 (1986)

ミンマサイコは形態適な変異およびサポニン含量に変異があることが知られている。

不定胚から得られた個体と種子から得られた個体の差異を検討した。不定胚から得られた個体は種子繁殖の個体に比べて地上部の特性は均一であったが, 地下部が小型であった。サポニン含量はわずかな差が認められた。サイコサポニン c と d の量は種子繁殖個体より不定胚個体のほうが高い値を示した。

\*<sup>1</sup> 新潟薬科大学

\*<sup>2</sup> 京都大学

### 富士山麓産の直根型 *Panax* について

Hiroshi KOHDA\*<sup>1</sup>, Hiromasa IZUMI\*<sup>2</sup>, Mariko NUNO\*<sup>3</sup>, Shigeki KATSUKI\*<sup>4</sup>, Susumu ISODA\*<sup>5</sup>, Katsumi GOTO\*<sup>6</sup> and Motoyoshi SATAKE: 植物研究雑誌, 61, 249 (1986)

国内に野生している *Panax* 属植物はトチパニンジン (*Panax japonicum*) の1種類であるが, 形態および成分より, 富士山麓産のものはオタネニンジン (*Panax ginseng*) と同種と思われるものが発見された。同一場所にチクセツニンジンも成育しているが直根の有無で容易に識別出来る。この種が野生か, 栽培品の逸出したものかは不明である。

\*<sup>1</sup> 広島大学

\*<sup>4</sup> 北里大学

\*<sup>2</sup> 東京薬科大学

\*<sup>5</sup> 昭和大学

\*<sup>3</sup> 帝京大学

\*<sup>6</sup> 京都薬科大学

### 薬用植物の利用と遺伝資源

佐竹元吉: 遺伝, 40, 50 (1986)

薬用植物の利用されている種類を日本薬局方収載品目について初版からの変遷を述べ, 個々の薬用植物がバイオテクノロジーの進展に伴い, 保存の重要性が増してきていることを述べている。

### 3-Cyanopropyltrichlorosilane 処理薄層クロマトグラフィー用プレートの評価. シャクヤク中のペオニフロリン分析への応用

岡本光美\*, 野口 衛: 薬学雑誌, 106, 837 (1986)  
市販シリカゲルプレートに 3-Cyanopropyltrichloro-



silane トルエン溶液を処理して逆相プレートとし、市販シヤクヤク中のペオニフロリンを分離し（展開溶媒、メタノール-水 10.90 v/v）、島津二波長クロマトスキャナーを用いて定量した（ $\lambda_s$  233 nm,  $\lambda_r$  350 nm）。定量値は 2.89, 4.28, 4.35%, それぞれの変動係数は 2.36, 2.73, 3.35% で、標準品の添加回収率は 94.4~98.5% である。

\* 岐阜県立多治見病院

#### 麻黄アルカロイドの順相高速液体クロマトグラフィ

—

野口 衛, 細田勝子\*, 鈴木英世: 薬学雑誌, 107,

372 (1987)

順相 HPLC を用いるエフェドリン, プソイドエフェドリン, メチルエフェドリンの分析法を確立した。装置は島津 LC-6A, 多波長同時検出器 SPDM1A, 分析条件は, カラム: LiChrosorb Si-60 (5 $\mu$ m), 展開溶媒: ヘキサン-エタノール-アンモニア水 (125:75:1), 測定波長 220 nm である。

本法を産地の異なる麻黄 4 検体の熱水抽出物の分析に応用し, 各アルカロイドの組成比はかなり相違するが, 総アルカロイド量は近似することを明らかにした。

\* 東京医科大病院薬剤部

鈴木郁生監修 鈴木郁生, 義平邦利, 福田秀雄, 末吉祥子, 谷本 剛, 香取典子編集: 医薬品情報インデックス

廣川書店 (1987)

鈴木郁生ほか著: 第11改正日本薬局方準拠 日本薬局方試験法—医薬品の分析—

廣川書店 (1987)

谷村顕雄ほか監修: 鈴木郁生, 石綿肇, 戸部満寿夫, 義平邦利ほか編集, 執筆者略: 食品添加物公定書解説書第5版

廣川書店 (1987)

内山 充, 豊田正武ほか著: 食品衛生学

同文書院 (1987)

内山 充著: 新薬学シリーズ 衛生化学

朝倉書店 (1986)

原田正敏ほか著: 漢方薬の薬理, p. 785~793, 薬物学 (縮刷版) 高木敬次郎・小澤 光編著

南山堂 (1987)

原田正敏ほか著: 生理化学—生命現象への化学的アプローチ—第3版

廣川書店 (1987)

原田正敏ほか著: 東洋医学の科学的実証 経穴の科学的実証および生薬資源の確保に関する研究,

科学技術庁研究開発局編 (株)薬業時報社 (1986)

石橋無味雄, 武田 寧ほか著: かぜ薬・解熱鎮痛薬の試験方法

薬業時報社 (1986)

Jun SEKIZAWA: Effects on organisms in the Environment p. 51-55, **Environmental Health Criteria 63—Organophosphorus Insecticides: A General Introduction,**

World Health Organization (1986)

Jun SEKIZAWA: Effects on organisms in the Environment 7.2 Aquatic Organisms p. 49-54 **Environmen-**

**tal Health Criteria 64—Carbamate pesticides: A General Introduction**

World Health Organization (1986)

田中 悟: 生殖に及ぼす影響に関する試験 (生殖毒性試験) p. 567~582

石館 基: 変異原性試験, p. 591~606, 高橋道人: ガン原性試験, p. 606~614. 新医薬品開発要覧—非臨床編 伊藤隆太ほか編

R & D プランニング (1986)

Kanosuke FUJIMORI, A. TAKAHASHI, H. NUMATA and A. TAKANAKA: Drug Metabolizing Enzyme System of Gottingen Miniature Pig p. 533~548, **SWINE IN BIOMEDICAL RESEARCH, Vol. 1,** Ed. M. E. Tumbleson Plenum Publishing Corporation (1986)

高橋道人著: 大腸癌・実験モデル p. 127~137, 図説臨床「癌」シリーズ2, 山村雄一, 杉村 隆監修 メジカルビュー社 (1986)

長谷川良平ほか著: 膀胱癌 発生と進展—1 ラット p. 117~127, 図説臨床「癌」シリーズ4, 山村雄一・杉村 隆

メジカルビュー社 (1986)

石館 基著: 染色体異常誘発試験 p. 62~65, 田中 悟: 「医・歯科用バイオマテリアルの安全性評価法」 p. 179~183, 発熱性物質試験, 佐藤温重・桜井靖久編集 サイエンスフォーラム (1987)

石館 基: 厚生省細胞バンク計画, p. 64~67, 水沢 博: 厚生省細胞バンクにおける品質管理, p. 67~72. 祖父尼俊雄: ATCC の紹介, p. 271~294, 凍結保存—動物・植物・微生物—, 酒井 昭編 朝倉書店 (1987)

岡田敏史: 界面活性剤, p. 223~241, 物性物理化学, 中垣正幸編集 南江堂 (1986)

野口 衛, 関沢 純ほか著: 社会薬学入門, 野口 衛編 南江堂 (1987)

- 福原 潔, 宮田直樹, 松井道子, 松井恵子, 石館 基, 神谷庄造: **Dinitrobenzo[a]pyrene** の合成および変異原性の解析  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)
- 丹野雅幸, 末吉祥子, 神谷庄造: 温和な条件下でラジカル分解する N-ニトロソ尿素化合物の転位反応  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)
- 宮原 誠, 宮田直樹, 神谷庄造: 1,3-ジアリル-1-ニトロソ尿素類の水溶液中および有機溶媒中での分解反応  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)
- 神谷庄造, 宮原美知子, 宮原 誠: 抗腫瘍性ニトロソ尿素誘導体の合成と作用発現機構に関する化学的研究反応と合成の進歩—ライフサイエンスを志向した理論, 反応および合成—シンポジウム (1986. 11. 6)
- 香取典子, 松田りえ子, 武田 寧: 定量分析における試料前処理およびデータ処理の自動化  
第23回全国衛生化学技術協議会年会 (1986. 10. 2)
- 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 緒方宏泰\*, 武田 寧: 難溶性薬物の溶出試験法に関する検討—グリセオフルビン製剤  
第23回全国衛生化学技術協議会年会 (1986. 10. 2)
- \* 明治薬科大学
- 緒方宏泰\*1, 石井美佳\*1, 高橋晴美\*1, 義村尚美\*1, 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 内山 充, 魚井 徹\*2, 林 邦彦\*2, 網野重雄\*3: フェニトイン製剤のバイオアベイラビリティ評価における **population pharmacokinetics** の適用  
第18回薬物代謝と薬効毒性シンポジウム (1986. 10. 20)
- \*1 明治薬科大学  
\*2 山之内製薬㈱  
\*3 国立療養所刀根山病院
- 青柳伸男, 武田 寧, 内山 充: インドメタシン油脂性坐剤の放出試験に関する研究  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 4)
- 鹿庭なほ子, 香取典子, 青柳伸男, 武田 寧, 内山 充: 糖衣錠の溶出試験法に関する研究—クロルプロマジン製剤等の溶出速度に及ぼす pH の影響  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)
- 吉岡澄江, 阿曾幸男, 柴崎利雄, 内山 充: 非等温法による安定性予測の統計学的考察  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 2)
- 阿曾幸男, 吉岡澄江, 柴崎利雄, 内山 充: オキサゼパムのラセミ化反応の速度論的考察  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 2)
- 吉岡澄江, 阿曾幸男, 柴崎利雄: 製剤の安定性試験法に関する考察—ビタミン K<sub>1</sub> 錠について—  
第23回全国衛生化学技術協議会 (1986. 10. 3)
- 林 譲, 柴崎利雄, 阿曾幸男, 松田りえ子, 内山 充: カルヌン・フィルターによる液体クロマトグラフィーのピーク分離  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)
- 石橋無味雄, 松田りえ子: 注射用蒸水の純度試験としての過マンガン酸カリウム消費量, 紫外部吸収および全有機炭素分析  
第23回全国衛生化学技術協議会 (1986. 10. 3)
- 松田りえ子, 石橋無味雄: リンタングステン酸を用いたフェノチアジン系薬物の試験方法  
第23回全国衛生化学技術協議会 (1986. 10. 3)
- 大野昌子\*, 高橋一徳, 島峯望彦, 角田健司\*, 渡辺富雄\*: 向精神剤のマイクロクリスタルテスト V  
第71次日本法医学会総会 (1987. 4. 9)
- \* 昭和大学医学部
- 石上暁子, 高橋一徳, 島峯望彦, 内山 充: Conway 微量拡散法を用いた尿中メタンフェタミン及びアンフェタミンの分析について  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 4)
- 緑川 淳\*, 小谷栄一\*, 飛永精照\*, 田中 彰: モノオキシゲネースモデル,  $\text{Fe}(\text{MeCN})_6^{2+} \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{Ac}_2\text{O}$  によるピフェニール及び多環芳香化合物の酸素化反応  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)
- \* 昭和薬科大学
- 池本 庸\*, 町田豊平\*, 小寺重行\*, 御厨裕治\*, 白井

尚\*, 三谷比呂志\*, 田中 彰: **実験的精巣障害における LH-RH アナログの効果**

日本泌尿器科学会・東京地方会第 443 回 (1986. 7. 10)

\* 東京慈恵会医科大学

池本 庸\*, 町田豊平\*, 小寺重行\*, 御厨裕治\*, 白井尚\*, 田中 彰: **精巣障害における尿クレアチンの変動に関する基礎的検討**

日本泌尿器科学会・東京地方会第 445 回 (1986. 12. 4)

\* 東京慈恵会医科大学

池本 庸\*, 町田豊平\*, 小寺重行\*, 御厨裕治\*, 白井尚\*, 三谷比呂志\*, 田中 彰: **塩化カドミウムによるラット精巣障害における血中 LDH-X の発現**

日本泌尿器科学会・東京地方会第 448 回 (1987. 3. 19)

\* 東京慈恵会医科大学

池本 庸\*, 町田豊平\*, 小寺重行\*, 御厨裕治\*, 三谷比呂志\*, 白井 尚\*, 田中 彰: **フタル酸エステルによるラット精巣障害と精巣内オルニチン脱炭酸酵素活性の変動**

第 5 回日本アンドロロジー学会 (1986. 6. 13)

\* 東京慈恵会医科大学

池本 庸\*, 町田豊平\*, 小寺重行\*, 御厨裕治\*, 白井尚\*, 三谷比呂志\*, 田中 彰: **フタル酸エステルによるラット精巣障害における精巣内酵素の変動**

第31回日本不妊学会 (1986. 10. 17)

\* 東京慈恵会医科大学

早川暁夫: **生理活性物質製剤の規格及び試験方法について**

第23回薬剤学懇談会研究討論会 (1986. 7. 2)

Takao HAYAKAWA: **Some Aspects of the Preclinical Safety of Drugs Produced by Recombinant DNA Technology: Japanese Government Regulatory Position**

Preclinical Safety of Biotechnology Products Intended for Human Use: Satellite Symposium to IV International Congress of Toxicology (1986.7.26)

早川暁夫: **組換え DNA 技術を利用して生産される医薬品の品質確保**

第19回日本薬剤師会学術大会 (1986. 9. 13)

藤本貞毅\*, 中野恵子\*, 石光 進\*, 小原 晃\*, 早川暁夫: **白血球による phenylalanine の非酵素的酸化反応—Glutathione の促進作用—**

日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 2)

\* 京都薬科大学

Takao HAYAKAWA: **Quality Control of Biotechnological Therapeutic Agents Intended for Human Use in Japan**

Cold Spring Harbor Symposium on Therapeutic Peptides and Proteins: Assessing the New Technologies (1987.4.15)

新見伸吾, 内田恵理子, 押沢 正, 早川暁夫, 山羽力, 森川 実\*<sup>1</sup>, 大塚栄子\*<sup>2</sup>, 池原森男\*<sup>3</sup>: **化学合成ヒト成長ホルモン遺伝子の発現蛋白質の免疫化学的及び生物学的活性の検討**

第59回日本生化学会 (1986. 9. 21)

\*<sup>1</sup> ニッカウイスキー生産技術研究所

\*<sup>2</sup> 北海道大学薬学部

\*<sup>3</sup> 大阪大学薬学部

太田美矢子, 木村俊夫, 田中 彰: **高速液体クロマトグラフィーによるレセルピン製剤の分析**

第23回全国衛生化学技術協議会年会 (1986. 10. 3)

徳永裕司, 木村俊夫, 田中 彰: **液体クロマトグラフ法によるジギタリス配糖体の定量, II. デスラノシド含有注射液への応用**

第23回全国衛生化学技術協議会年会 (1986. 10. 3)

棚元憲一: **内毒素活性を担うリポド A 構造の解明と今後の問題点**

第56回日本細菌学会関東支部総会 (1986. 10. 16)

棚元憲一, 金ヶ崎士朗\*: **エンドトキシンの化学的微量定量法の開発**

第60回日本細菌学会総会 (1987. 3. 30)

\* 東京大学医科学研究所

福田一郎\*, 棚元憲一, 金ヶ崎士朗\*: **培養肝実質細胞における LPS の取り込みと代謝について**

第60回日本細菌学会総会 (1987. 3. 30)

\* 東京大学医科学研究所

福田一郎\*, 棚元憲一, 金ヶ崎士朗\*: **培養肝実質細胞**

におけるエンドトキシンの取り込みと代謝についての検討

第9回臨床エンドトキシン研究会 (1986. 11. 15)

\* 東京大学医科学研究所

Ichiro FUKUDA\*, Ken-ichi TANAMOTO and Shiro KANEKAWA\*: **Uptake and Degradation of Bacterial Lipopolysaccharide in Cultured Rat Hepatocytes**  
International Conference on Endotoxins Amsterdam II Academic Medical Center, Amsterdam (1987.5.20)

\* 東京大学医科学研究所

倉内洋文\*<sup>1</sup>, 町田豊平\*<sup>1</sup>, 大石幸彦\*<sup>1</sup>, 柳沢宗利\*<sup>1</sup>, 田中 彰, 島田 作\*<sup>1</sup>, 村田 啓\*<sup>2</sup>: **新しい腎イメージング剤 <sup>99m</sup>Tc-dimercaptopropionic acid (DMP) の臨床的評価**

第26回日本核医学回総会 (1986. 11. 20)

\*<sup>1</sup> 東京慈恵会医科大学

\*<sup>2</sup> 虎の門病院

Masamichi FUKUOKA, Katsushi NAITO, Yukio NAKAJI, Terue TAKAHASHI, Kazuo KOBAYASHI, Akira TANAKA, Masuo TOBE and Tsutomu YAMAHA\*: **Nephrotoxic Effect of Tris (2,3-Dibromopropyl) Phosphate on Rat Urinary Metabolites**  
IV International Congress of Toxicology, Tokyo (1986.7.25)

\* ヒューマンサイエンス振興財団

手島玲子, 鈴木和博, 池淵秀治, 寺尾允男: **ラット好塩基球細胞からのセロトニン遊離機構の解析**  
第59回日本生化学会大会 (1986. 9. 23)

加藤晃一, 中西 守\*, 荒田洋治\*, 手島玲子, 寺尾允男: **好塩基球細胞における認識応答の初期過程**  
昭和61年度日本生物物理学会年会 (1986. 10. 21)

\* 東京大学薬学部

加藤晃一\*<sup>1</sup>, 中西 守\*<sup>1</sup>, 荒田洋治\*<sup>1</sup>, 手島玲子, 寺尾允男, 宮本 宏\*<sup>2</sup>: **ラット好塩基球細胞株における刺激応答の初期過程**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 2)

\*<sup>1</sup> 東京大学薬学部

\*<sup>2</sup> 新技術開発事業団

鈴木和博, 手島玲子, 松永国助, 沢田純一, 池淵秀治,

寺尾允男: **ヒト成長ホルモン受容体について**  
第59回日本生化学会大会 (1986. 9. 23)

伊藤俊一\*<sup>1</sup>, 前田昌子\*<sup>1</sup>, 辻 章夫\*<sup>1</sup>, 沢田純一, 寺尾允男, 細田 宏\*<sup>2</sup>, 南原利夫\*<sup>2</sup>: **抗 17-Hydroxyprogesterone モノクローナル抗体を用いる 17-Hydroxyprogesterone の ELISA 法**  
第26回日本臨床化学会 (1986. 11. 22)

\*<sup>1</sup> 昭和大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東北大学薬学部

内藤守啓\*, 黒沢良和\*, 沢田純一, 寺尾允男: **マウス抗ステロイドモノクローン抗体遺伝子の解析**  
第58回日本遺伝学会第9回日本分子生物学会合同年会 (1986. 12. 5)

\* 藤田保健衛生大学医学部

内藤守啓\*, 黒沢良和\*, 沢田純一: **マウス抗ステロイドモノクローン抗体遺伝子の解析**  
第16回日本免疫学会総会・学術集会 (1986. 12. 17)

\* 藤田保健衛生大学医学部

菊地 裕\*, 和田成仁\*, 入江昌親\*, 沢田純一, 池淵秀治, 寺尾允男: **メタロチオネインに対するモノクローナル抗体の調製および性質**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 3)

\* 星薬科大学

細田 宏\*, 田村早樹子\*, 塚本玲子\*, 小林典裕\*, 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 III. 11-デオキシコルチゾールの酵素イムノアッセイ系**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 3)

\* 東北大学薬学部

伊藤俊一\*<sup>1</sup>, 前田昌子\*<sup>1</sup>, 辻 章夫\*<sup>1</sup>, 細田 宏\*<sup>2</sup>, 南原利夫\*<sup>2</sup>, 沢田純一, 寺尾允男: **17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロンの酵素イムノアッセイにおける抗体の比較**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 3)

\*<sup>1</sup> 昭和大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東北大学薬学部

池淵秀治, 手島玲子, 寺尾允男, 山根靖弘\*: **ラットにおける鉛の生体内動態に及ぼす誘導蛋白質の役割について**

第13回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウ

ム (1986. 10. 24)

\* 千葉大学薬学部

尾崎幸紘, Seokeni SOEDIGDO\*, Joke R. WATTIMENA\*,  
Asep Gana SUGANDA\*: インドネシア薬用植物の薬理  
作用研究—抗炎症作用の検討—

日本生薬学会第33回年会 (1986. 10. 24)

\* バンドン工科大学

原田正敏: 漢方処方薬の薬理的薬効分類

日中天然薬物シンポジウム (1986. 11. 6)

Maastoshi HARADA: **On the 11th Edition of the  
Pharmacopoeia of Japan (JP XI)**

11th Asian Congress of Pharmaceutical Sciences, Bang-  
kok, Thailand (1986.12.2)

尾崎幸紘, Soekeni SOEDIGDO\*, Joke R. WATTIMENA\*,  
Asep Gana SUGANDA\*: メースの抗炎症効果とその活  
性成分

第60回日本薬理学会総会 (1987. 3. 29)

\* バンドン工科大学

関田節子, 尾崎幸紘, 原田正敏, S. SOEDIGDO\*, J. R.  
WATTIMENA\*: インドネシア産薬理用植物の研究 (第  
1報)

日本薬学会第107年会 (1987. 4. 2)

\* バンドン工科大学

木村正康\*1, 鈴木 潤\*1, 能登谷浩平\*1, 三村泰彦\*1,  
名取信栄, 関田節子, 田中 治\*2: 四物湯構成生薬に  
よる肉芽新生血管および血管平滑筋細胞の増殖抑制作  
用

日本薬学会第107年会 (1987. 4. 2)

\*1 富山医科薬科大学薬学部

\*2 広島大学薬学部

Hideharu SHINTANI and Purnendu K. DASGUPTA\*:  
**Gradient anion chromatography with hydroxide  
and carbonate eluents using simultaneous con-  
ductivity and pH detection**

The Pittsburgh Conference & Exposition (1986.3.10)

\* Texas Tech. University, Dept. of Chemistry

中村晃忠, 林 真, 小嶋茂雄: データベース構築とそ  
の維持の問題点

日本食品衛生学会第51回学術講演会 (1986. 5. 14)

小嶋茂雄: 文献情報整理のためのパーソナルデータベ  
ース作成の経験から —実験室の情報を共有するため  
に—

第23回全国衛生化学技術協議会年会 (1986. 10. 2)

有馬八重野\*, 松永佳世子\*, 早川律子\*, 小嶋茂雄,  
鹿庭正昭, 中村晃忠, 五十嵐良明: ネル寝間着布によ  
る **Pigmented Contact Dermatitis** —ナフトール  
A S類の化学構造とパッチテスト反応について—

第11回パッチテスト研究班総会 (1986. 12. 7)

\* 名古屋大学付属病院分院

小嶋茂雄, 宮田ルミ子, 能美健彦, 鹿庭正昭, 五十嵐  
良明, 中村晃忠: 防かび剤  $\alpha$ -プロモシナムアルデ  
ヒドの突然変異誘発性ならびに市販防かび製品の分析

日本薬学会第107年会 (1987. 4. 3)

五十嵐良明, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠: 高速液  
体クロマトグラフィーによるポリ塩化ビニル製品中の  
無水フタル酸の定量

日本薬学会第107年会 (1987. 4. 4)

鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 中村晃忠: 外科用  
ゴム手袋による接触皮膚炎の原因化学物質の究明

日本薬学会第107年会 (1987. 4. 4)

村松年郎, 亀谷勝昭, 武田明治, 村松 学\*: **HCHO,**  
**NO<sub>2</sub> および SO<sub>2</sub> の個人曝露濃度の同時測定法につい  
て**

第27回大気汚染学会 (1986. 11. 18)

\* 埼玉医科大学

松村年郎, 亀谷勝昭, 武田明治, 野口忠彦\*: **SO<sub>2</sub> の  
個人曝露濃度の測定法について**

第57回日本衛生学会総会 (1987. 4. 7)

\* 日本大学理工学部

亀谷勝昭, 松村年郎: 地表大気中の放射性核種  
第28回環境放射能調査研究成果発表会 (1986. 12. 4)

木嶋敬二, 斉藤恵美子, 武田明治, 日野誠二\*1, 剣持  
堅志\*1, 今中雅章\*1, 松永和義\*1, 石田立夫\*1, 山本政  
利\*2, 石川雅章\*2, 増井俊夫\*2, 高橋哲夫\*3, 小川 廣\*3,  
中野道晴\*3, 金島弘恭\*3: 化粧品中ホルモン剤の分析

## について

第23回全国衛生化学技術協議会年会 (1986. 10. 3)

- \*1 岡山県環境保健センター
- \*2 静岡県衛生環境センター
- \*3 北海道衛生研究所

木嶋敬二, 斉藤恵美子, 武田明治, 椎橋恵津子\*: 染毛剤の分析 (IV) 多波長検出器—HPLC による方法

日本薬学会第 107 年会

- \* 北里大学衛生学部

神野透人, 鈴木淳子, 岩原繁雄, 松井啓子, 安藤正典, 武田明治: 水中 B(a)P の塩素処理生成物について

日本環境変異原学会第15回大会 (1986. 10. 2)

- \* 食品薬品安全センター・秦野研

高橋淳子\*, 岩原繁雄\*, 安藤正典, 神野透人, 松田克子, 松井啓子, 武田明治: フミン酸と硝酸性窒素との反応生成物の変異原活性について

第13回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム (1986. 10. 24)

- \* 食品薬品安全センター

神野透人, 松田克子, 松井啓子, 安藤正典, 武田明治: *Microcystis* 中の生物活性物質の分離・精製について

日本薬学会第 107 年会

安藤正典, 松田克子, 神野透人, 松井啓子, 武田明治: 水中ベンゾ(a)ピレンの塩素処理時における変異原性物質について

日本薬学会第 107 年会

宮崎元一\*1, 安藤正典, 梶野勝司\*2, 山本親男\*3, 土屋悦輝\*4: 無機陰イオン

日本薬学会第 107 年会

- \*1 金沢大学
- \*2 大阪市水道局
- \*3 横浜市衛研
- \*4 東京都衛研

鈴木 隆, 石坂 孝, 斉藤行生: 雄ラットによるブチルスズ化合物の尿水 S 含有代謝物について

日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 4)

鈴木 隆, 石坂 孝, 佐々木久美子, 斉藤行生: EDB 分析上の 2, 3 の問題点について

本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 14)

佐々木久美子, 石坂 孝, 鈴木 隆, 斉藤行生: 魚類中の有機スズ化合物の分析

日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 14)

石坂 孝, 鈴木 隆, 斉藤行生: ジブチルスズのラットによる代謝

日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 4)

内山貞夫, 長島きみよ\*, 河村葉子, 豊岡利正, 斉藤行生: グレープフルーツの $\gamma$ 線照射による影響 (I),  $\beta$ -ピネン量の変化と発芽に与える影響

日本食品衛生学会第52回学術講演会 (1986. 11. 21)

- \* 共立薬科大学

内山貞夫, 今野聖子\*, 豊岡利正, 斉藤行生: 発芽を指標とする照射グレープフルーツの検知法の基礎研究

日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)

- \* 共立薬科大学

米谷民雄, 鈴木和夫\*: カドミウム投与後の精巢および他臓器中必須金属レベル変化のマウス系統差

第3回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (1986. 6. 5)

- \* 国立公害研究所

米谷民雄, 斉藤信子, 阿部真弓, 内山貞夫, 斉藤行生: 4種のヒ素化学種投与による肝亜鉛-チオネイン誘導と同時投与したセレンの影響

日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 4)

米谷民雄, 中山美奈子, 内山貞夫, 斉藤行生: 無機水銀投与による急性腎障害出現時の腎中水銀濃度—カドミウムとの比較において—

第57回日本衛生学会総会 (1987. 4. 7)

米谷民雄: 食品中の Cd および As の吸収と代謝

日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 14)

河村葉子, 金子豊蔵, 内山貞夫, 斉藤行生: Benzo(a)pyrene の吸収におよぼす食品成分の影響

日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)

河村葉子: ベンズピレンの吸収および生体内挙動に及ぼす食品成分の影響

日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 14)

豊岡利正, 内山貞夫, 斉藤行生: グレープフルーツの

γ線照射による影響(II) —チオール化合物の変化—  
日本食品衛生学会第52回学術講演会(1986. 11. 20)

豊岡利正, 内山貞夫, 斉藤行生, 今井一洋\*: チオール・ジスルフィドの高感度同時分析  
日本薬学会第107年会(1987. 4. 2)

\* 東京大学医学部付属病院分院

Toshimasa TOYO'OKA, Sadao UCHIYAMA, Yukio SAITO, Kazuhiro IMAI: **Simultaneous Determination of Thiol and Disulfide by HPLC with Fluorescence Detection**

IUPAC Conference: II nd International Symposium on Quantitative Luminescence Spectrometry in Biomedical Sciences, Ghent, Belgium (1987.5.11)

\* 東京大学医学部付属病院分院

Kazuhiro IMAI\*<sup>1</sup>, Eiji UEDA\*<sup>2</sup>, Toshimasa TOYO'OKA: **HPLC-Fluorometric Detection of Tryptophan Using 4-Fluoro-7-nitrobenzo-2-oxa-1, 3-diazole (NBD-F): Total Protein Amino Acid Analysis**

IUPAC Conference: II nd International Symposium on Quantitative Luminescence Spectrometry in Biomedical Sciences, Ghent, Belgium (1987.5.11)

\*<sup>1</sup> 東京大学医学部付属病院分院

\*<sup>2</sup> 東京大学薬学部

五十畑悦子: 酵素免疫測定法によるマイコトキシンの分析  
第13回かび毒研究連絡会(1986. 9. 5)

五十畑悦子, 豊田正武, 斉藤行生: イムノアッセイ法によるアフラトキシンの分析  
第23回全国衛生化学技術協議会(1986. 10. 3)

小林加代子, 豊田正武, 斉藤行生: ガスクロマトグラフィーによるアルコール飲料中ウレタンの分析法について  
日本食品衛生学会第53回学術講演会(1987. 5. 14)

関田 寛, 佐々木久美子, 河村葉子, 鈴木 隆, 斉藤行生, 武田明治, 内山 充: 輸入穀類およびその加工食品中の EDB の残留実態とその経時的減衰  
日本農薬学会第10回農薬残留分析研究会(1986. 11. 6)

石綿 肇, 井上たき子, 義平邦利: 食品用品の材質と移行に関する研究 I. ポリ塩化ビニール製プラスチック中のテトラメチルサクシノニトリル

日本食品衛生学会第52回学術講演会(1986. 11. 20)

井上たき子, 石綿 肇, 義平邦利: メラミンの衛生化学的研究 III. メラミン樹脂の表面劣化に関する化学的, 物理的および微生物学的指標について  
日本食品衛生学会第53回学術講演会(1987. 5. 14)

神蔵美枝子, 合田幸広, 義平邦利: 食用赤色 105 号の付随色素の単離, 構造と高速液体クロマトグラフィーによる分離定量に関する研究  
日本食品衛生学会第53回学術講演会(1987. 5. 15)

川崎洋子, 合田幸広, 山崎 壮, 義平邦利, 金 天浩\*<sup>1</sup>, 奥山恵美\*<sup>2</sup>: 天然色素の研究 I アカネ色素原料植物の構成成分について  
日本食品衛生学会第53回学術講演会(1987. 5. 15)

\*<sup>1</sup> 漢陽女子専門学校

\*<sup>2</sup> (財) ヒューマンサイエンス振興財団

山本 都, 山田 隆, 義平邦利, 谷村頭雄, 富田 勲\*<sup>1</sup>: 食品添加物等のニトロソアミド生成に与える影響について  
日本薬学会第107年会(1987. 4. 4)

\* 静岡薬科大学

合田幸広, 川崎洋子, 山崎 壮, 義平邦利, 広瀬良男\*<sup>1</sup>, 渋谷雅明\*<sup>2</sup>, 三川 潮: 西洋アカネ色素成分プロスタグランジン生合成阻害について  
日本生薬学会第33回年会(1986. 10. 24)

\*<sup>1</sup> 熊本大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東京大学薬学部

三瓶憲一\*<sup>1</sup>, 藤野訓男\*<sup>2</sup>, 徳丸雅一\*<sup>3</sup>, 小沼博隆, 品川邦汎\*<sup>4</sup>: 食鳥肉に関する衛生微生物学的研究—食鳥処理場における処理工程(と体解体法および中抜き解体法)の比較  
食品衛生微生物研究会第7回学術講演会(1986. 11. 13)

\*<sup>1</sup> 千葉県衛生研究所

\*<sup>2</sup> 岩手県衛生研究所

\*<sup>3</sup> 埼玉県衛生研究所

\*<sup>4</sup> 岩手大学農学部

品川邦汎\*<sup>1</sup>, 小沼博隆, 桑原祥浩\*<sup>2</sup>, 上田成子\*<sup>2</sup>, 今野純夫\*<sup>3</sup>, 徳丸雅一\*<sup>4</sup>, 安形則雄\*<sup>5</sup>, 梅迫誠一\*<sup>6</sup>, 栗生武良\*<sup>7</sup>, 三輪治文\*<sup>7</sup>: 迅速酵素法による大腸菌群検査の改良法



日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 13)

- \*1 岩手大学農学部
- \*2 女子栄養大学
- \*3 仙台市衛生研究所
- \*4 埼玉県衛生研究所
- \*5 名古屋市衛生研究所
- \*6 奈良県衛生研究所
- \*7 味の素中央研究所

宮原美知子, 神谷庄造: 各種ニトロソ尿素誘導体の構造・抗腫瘍活性相関とその作用機作について  
第14回構造活性相関シンポジウム (1986. 10. 18)

宮原美知子, 三瀬勝利, 和気 朗, 丸山 務, 小岩井健司, 石館 基: *Yersinia* 属菌の産生する制限酵素の特徴  
第60回日本細菌学会総会 (1987. 3. 28)

宮原美知子, 三瀬勝利: *Yersinia* 属菌の産生する制限酵素  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 4)

宮原美知子, 三瀬勝利: *Salmonella infantis* から産生される Sin II の精製  
日本食品衛生学会第51回学術講演会 (1987. 5. 13)

宮原美知子, 三瀬勝利, 松井道子, 石館 基: 食中毒起因細菌が産生する制限酵素  
第15回薬剤耐性菌シンポジウム (1986. 8. 29)

三瀬勝利: 腸内細菌の制限酵素  
第56回日本細菌学会関東支部総会 (1986. 10. 16)

酒井綾子, 佐々木澄志: イニシエーション作用を主とする食品関連物質の検査に対する BALB3T3 を用いた2段階発癌モデルトランスフォーメーション実験系の適用  
日本薬学会第 107 年会 (1987. 4. 3)

酒井綾子, 佐々木澄志: 培養細胞を用いた2段階発癌モデル形質転換に対するケルセチンの作用  
日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 13)

Masakatsu ICHINOE, Hisashi KAMIMURA\*<sup>1</sup> and Kenji ISHII\*<sup>2</sup> Simultaneous occurrence of Fusarium-toxins and trichothecins in scabby wheat  
21th Meeting of the Joint US-Japan Toxic Microorganisms, UJNR, Scientific Session, US Horticultural

Research Lab., Orlando, Florida (1987.2.3)

- \*1 東京都立衛生研究所
- \*2 東京理科大学薬学部

宇田川俊一, 法月克弘\*<sup>1</sup>, 戸矢崎紀紘\*<sup>2</sup>, 岩津都希雄\*<sup>3</sup>: 室内生活環境から分離された菌類の分類研究  
日本菌学会第30回大会 (1986. 6. 1)

- \*1 東洋ビューティサブライ(株)
- \*2 神戸市環境保健研究所
- \*3 千葉大学生物活性研究所

岩津都希雄\*, 宇田川俊一, 坂部フミ, 鈴木明子, 成田紀子: 豆腐の汚染カビフロラ, とくに黒色不完全菌について  
日本菌学会第30回大会 (1986. 6. 1)

- \* 千葉大学生物活性研究所

高鳥浩介\*<sup>1</sup>, 坂本京子\*<sup>1</sup>, 鈴木文子\*<sup>1</sup>, 一条 茂\*<sup>2</sup>, 宇田川俊一: 動物飼育環境にみる真菌の研究—乾草の真菌について  
日本菌学会第30回大会 (1986. 6. 1)

- \*1 食品薬品安全センター-秦野研究所
- \*2 帯広畜産大学

畑井喜司雄\*<sup>1</sup>, 古谷航平\*<sup>2</sup>, 宇田川俊一, 藤井建夫\*<sup>3</sup>: ズワイガニの真菌症の原因菌, *Trichomaritis invadens*  
日本菌学会第30回大会 (1986. 6. 1)

- \*1 日本獣医畜産大学
- \*2 三共特醸酵研究所
- \*3 農林水産省東海区水産研究所

鍛冶友昭\*<sup>1</sup>, 稲沖 真\*<sup>1</sup>, 三輪淳夫\*<sup>1</sup>, 福代良一\*<sup>2</sup>, 宇田川俊一: ヒストプラズマ症—皮膚病変が見られた例—  
日本医真菌学会第30回総会 (1986. 9. 19)

- \*1 富山県立中央病院
- \*2 東医王病院

高鳥浩介\*<sup>1</sup>, 宇田川俊一, 一条 茂\*<sup>2</sup>, 信太隆夫\*<sup>3</sup>: 農夫肺発生農家の乾草にみられる真菌について  
日本医真菌学会第30回総会 (1986. 9. 19)

- \*1 食品薬品安全センター-秦野研究所
- \*2 帯広畜産大学
- \*3 国立相模原病院

岩津都希雄\*<sup>1</sup>, 宇田川俊一, 戸矢崎紀紘\*<sup>2</sup>: 室内塵か

ら分離されたヒト病原性暗色糸状菌の3菌種について  
日本医真菌学会第30回総会(1986.9.19)

\*1 千葉大学生物活性研究所

\*2 神戸市環境保健研究所

法月克弘\*1, 能崎章輔\*1, 宇田川俊一, 河合賢一\*2,  
野沢幸平\*2: 新規糸状菌代謝産物 *Emestrin* の *in vitro* での抗病原真菌活性について  
日本医真菌学会第30回総会(1986.9.20)

\*1 東洋ビューティサプライ(株)

\*2 星薬科大学

野沢幸平\*, 仲嶋正一\*, 河合賢一\*, 宇田川俊一:  
*Emericella desertorum* の代謝産物の研究 II 新イ  
ンドールジテルペン化合物 H8H5C の構造  
日本薬学会第107年会(1987.4.3)

\* 星薬科大学

中島広光\*1, 西村 薫\*1, 浜崎 敬\*1, 木村靖夫\*1, 横  
田孝雄\*2, 宇田川俊一: 植物病原菌 *Neocosmospora*  
*vasinfecta* の生産する植物生長調整物質  
日本農芸化学会昭和62年度大会(1987.4.4)

\*1 鳥取大学農学部

\*2 東京大学農学部

坪内春夫\*, 坂部美雄\*, 宇田川俊一: プリンより分離  
した *Arthrinium phaeospermum* について  
日本食品衛生学会第52回学術講演会(1986.11.21)

\* 名古屋市衛生研究所

下平富子, 萩原秀樹: *Sd-E. coli* の復帰型(感受性  
と耐性)に及ぼす TC-プラスミドの効果  
第60回日本細菌学会総会(1987.3.28)

Toshie TSUCHIYA, Akira TANAKA, Masamichi FUKUOKA,  
Michio SATO and Tsutomu YAMAHARA: Metabolism of  
*thiabendazole* and the teratogenic potentials of  
its metabolites

Fourth International Congress of Toxicology Tokyo,  
Japan(1986.7.25)

土屋利江, 松岡厚子, 高橋 淳, 石館 基: 催奇形性  
の *in vitro* assay に関する研究 (I) Human  
embryonic palatal mesenchymal (HEPM) cell  
growth assay の検討  
日本薬学会第107年会(1987.4.3)

A. E. PEGG\*, D. SCICCHITANO\*, Kazushige MORIMOTO  
and M. E. DOLAN\*: Specificity of O<sup>6</sup>-alkylguanine-  
DNA-alkyltransferase

Ninth International Meeting on N-nitroso Compo-  
unds: Relevance to Human Cancer, Baden, Austria  
(1986.9.1)

\* Cancer Research Center, The Pennsylvania State  
University, U.S.A.

森本和滋, 田中 彰, 山羽 力, 高橋 淳: 1-*n*-  
Propyl-1-nitrosourea (PNU) 投与 F344 ラットに  
おける胸腺 DNA の修飾  
第45回日本癌学会総会(1986.10.21)

森本和滋, 福岡正道, 田中 彰, 長谷川良平, 林 裕  
造, 高橋 淳: ラット膀胱上皮細胞における DNA 損  
傷とその修復 (II) OPP および代謝物について  
日本薬学会第107年会(1987.4.3)

最上(西巻)知子, 嶺岸謙一郎, 高橋 淳, 田中 彰,  
川崎 靖, 落合敏秋, 関田清司, 戸部満寿夫, 内山  
充: サル皮脂の組成  
日本薬学会第107年会(1987.4.2)

紅林秀雄, 最上(西巻)知子, 嶺岸謙一郎, 福岡正道,  
田中 彰: 食用色素赤色105号によるマウス甲状腺機  
能に対する影響  
第59回日本生化学会(1986.9.23)

紅林秀雄, 福岡正道, 田中 彰, 高橋 淳: 2-Nitro-  
p-cresol の代謝に関する研究(4) 尿中代謝物の経時  
的变化  
日本薬学会第107年会(1987.4.3)

南原精一, 福岡正道, 田中 彰, 嶺岸謙一郎, 最上知  
子, 高橋 淳: ムスクキシレン (MX) の代謝に関す  
る研究(3) MX の標識化と代謝物の合成について  
日本薬学会第107年会(1987.4.3)

嶺岸謙一郎, 南原精一, 福岡正道, 田中 彰, 最上知  
子, 高橋 淳: ムスクキシレン (MX) の代謝に関す  
る研究(2) ラット尿, 糞, 胆汁中の代謝物の検索  
日本薬学会第107年会(1987.4.4)

高橋昭江, 福岡正道, 田中 彰, 高橋 淳: Tris-2,  
3-dibromopropyl phosphate (Tris-BP) および  
Bis-2,3-dibromopropyl phosphate (Bis-BP) によ

## 腎障害の生化学的指標に関する研究

日本薬学会第107年会 (1987. 4. 4)

杉浦彰彦\*, 松本清司, 隆矢 強, 児玉幸夫, 堀内茂友: **SD, Wistar および F-344 雄ラットの週齢および体重差の血液形態学的検討**

日本実験動物学会第33回 (1986. 5. 28)

\* 三協ラボサービス

八田 清\*, 杉浦彰彦\*, 中西政一\*, 重盛正彦\*, 児玉幸夫, 松本清司, 堀内茂友: **同出生時のラットの体型別による成長過程に伴うバックグランドデータの検討 (第3報)**

日本実験動物技術者協会第20回総会 (1986. 5. 17)

\* 三協ラボサービス

児玉幸夫, 堀内茂友, 重盛正彦, 岡野 満\*: **実験動物の遺伝的統御の相異による毒性発現 (1) 急性毒性を指評としたマウスでの F1 同腹産仔交雑群と近交系, 多元交雑動物等の比較検討**

日本実験動物学会第33回総会 (1986. 5. 27)

\* 三協ラボサービス

堀内茂友: **医学, 歯学, 薬学教育における実験動物教育のあり方**

医科系大学における実験動物教育シンポジウム (昭和61年度・文部省) (1987. 1. 23)

小林和雄, 高田幸一, 内藤克司, 内田雄幸, 安原加寿雄, 戸部満寿夫: **Bis-BP·Mg 投与によるラット消化器系及び泌尿器系の組織学的変化について**

第3回毒性病理研究会 (1987. 2. 6)

藤森観之助, 山本勝弘\*: **脳内アセチルコリンおよびコリンの簡便な固定化酵素カラム—高速液体クロマトグラフィー法**

日本薬学会第106年会 (1986. 4. 3)

\* ビーエーエス(株)

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: **Methylazoxymethanol 妊娠期投与ラットの出生仔における one-way avoidance 試験**

日本先天異常学会 Behavioral Teratology 談話会第3回共同研究発表会 (1986. 7. 10)

大野泰雄: **検体採取をめぐる—薬物代謝実験におけるマイクロゾーム分画の調製法および保存法**

第13回日本毒科学会学術年会, ワークショップ I (1986. 7. 23)

Yasuo OHNO, Kunisuke NAGAMATSU, Toru KAWANISHI, Hideharu IKEBUCHI, Atsushi TAKAHASHI, Tadao TERAO, Akira TAKANAKA, Yoshihito OMORI: **Mechanism of morphine induced hepatotoxicity—relationship to cyt. P-450 linked drugmetabolism**

The 4th International Congress of Toxicology (1986. 7. 23)

Toru KAWANISHI, Emiko TESHIMA, Yasuo OHNO, Atsushi TAKAHASHI, Akira TAKANAKA and Yoshihito OMORI: **Selective induction of hepatic N-nitrosodimethylamine (NDMA) demethylase by pyrazole and ethanol**

The 4th International Congress of Toxicology (1986. 7. 23)

Kanosuke FUJIMORI, Teiji MIYAOKA\*1, Keinosuke MIZOKAMI, Kazuhide INOUE, Momoko SUNOUCHI, Akira TAKANAKA, Yoshihito OMORI and Ing K. Ho\*2: **A New Method for Acetylcholine Assay and the Levels of CNS Acetylcholine, Catecholamine and GABA in the Mouse Treated with Neurotoxic Insecticides**

Satellite Symposium in the 4th International Congress of Toxicology on Application of Microwave Fixation to Neurotoxicology (1986. 7. 26)

\*1 Institute of Environmental Toxicology, Tokyo

\*2 University of Mississippi Medical Center, U.S.A.

Toru KAWANISHI, Yasuo OHNO, Atsushi TAKAHASHI, Akira TAKANAKA and Yoshihito OMORI: **Different effects of chemicals metabolism of N-nitrosoamines in rat liver**

第9回国際ニトロソ学会 (1986. 9. 1)

籾内桃子, 石見幸男\*1, 溝上敬之助, 福原守雄\*2, 高仲 正, 花岡文雄\*1, 山田正篤\*1: **Aflatoxin B<sub>1</sub> に対するモノクローナル抗体の作製**

第9回日本生化学会大会 (1986. 9. 20)

\*1 東京大学薬学部

\*2 国立公衆衛生院

大野泰雄：肝および腎遊離細胞を用いた毒性試験法  
第8回日本学会講毒科学研連シンポジウム(1986.  
11.7)

大野泰雄, 西山憲子, 川西 徹, 高仲 正, 大森義仁：  
腎遊離細胞への 1-anilino-3-naphthalene sulfona-  
te の取り込み機構に関する研究  
日本薬学会第107年会(1987.4.4)

黒川雄二, 菅野 純, 林 裕造：臭素酸カリウム(臭  
力)投与による腎腫瘍発生における種差について  
第75回日本病理学会総会(1986.4.8)

高橋道人, 長谷川良平, 林 裕造：エトキシンにより  
促進された腎乳頭部石灰化病変  
第75回日本病理学会総会(1986.4.8)

前川昭彦, 菅野 純, 林 裕造：長期飼育 Donryu  
ラットに自然発生する腫瘍性および非腫瘍性病変につ  
いて  
第75回日本病理学会総会(1986.4.8)

菅野 純, 前川昭彦, 林 裕造：ラット自然発生間細  
胞腫に合併してみられた腺腫様病変について  
第75回日本病理学会総会(1986.4.8)

長谷川良平, 福島昭治\*, 玉野静光\*, 津田洋幸\*, 高  
橋道人, 伊東信行\*：膀胱癌の病理; ヒト膀胱癌および  
関連病変における大腸型粘液の出現  
第75回日本病理学会総会(1986.4.8)

\* 名古屋市大医学部

Yuzo HAYASHI, Yuji KUROKAWA, Akihiko MAEKAWA  
and Michihito TAKAHASHI: **Strategy of long-term  
animal testing for quantitative evaluation of  
chemical carcinogenicity**  
4th International Congress of Toxicology, Tokyo  
(1986.7.22)

Akihiko MAEKAWA and Yuzo HAYASHI: **Organotro-  
pic carcinogenic activities of N-nitrosoureas  
and N-nitrosomethanes in rats**  
4th International Congress of Toxicology, Tokyo  
(1986.7.22)

長谷川良平：ラット肝の前癌病変および境界性病変に  
ついて

第13回日本毒科学会学術年会(1986.7.23)

菅野 純：ラット肝の腫瘍性病変について  
第13回日本毒科学会学術年会(1986.7.23)

Yuzo HAYASHI: **Quantitative risk evaluation of  
environmental carcinogens**  
14th International Congress of Cancer Research,  
Budapest(1986.8.25)

前川昭彦, 小野寺博志, 古田京子, 菅野 純, 林 裕  
造：フェニルブタゾンのドンリュウラットにおける癌  
原性およびプロモーション作用について  
第45回日本癌学会総会(1986.10.21)

林 裕造, 黒川雄二, 松島裕子, 菅野 純：ラットに  
おける臭素酸カリウムの投与時期と腎細胞癌発生率と  
の関係  
第45回日本癌学会総会(1986.10.21)

高橋道人, 古川文夫, 長谷川良平, 佐藤秀隆, 張 子  
俊, 林 裕造：胃2段階発癌モデルにおけるグリオキ  
サル, メチルグリオキサールのプロモーター作用の  
検討  
第45回日本癌学会総会(1986.10.21)

菅野 純, 古田京子, 小野寺博志, 前川昭彦, 林 裕  
造：甲状腺機能を修飾する各種化合物のラット甲状腺  
発癌プロモーター作用について  
第45回日本癌学会総会(1986.10.21)

黒川雄二, 松島裕子, 菅野 純, 林 裕造：臭素酸カ  
リウムによるラット腎細胞癌の発生と用量作用関係  
第45回日本癌学会総会(1986.10.21)

長谷川良平, 高橋道人, 古川文夫, 張 子俊, 佐藤秀  
隆, 林 裕造：ラットの BHA 前胃発癌における酢酸  
レチノールの促進作用  
第45回日本癌学会総会(1986.10.21)

宮川義史\*, 西 義介\*, 滝沢春雄\*, 乾 直道\*, 高橋  
道人, 林 裕造：皮膚2段階発癌モデルを用いた熱分  
解生成物並びにチアゾリジンのイニシエーション作用  
第45回日本癌学会総会(1986.10.21)

\* 日本たばこ生物センター

古川文夫, 高橋道人, 長谷川良平, 内藤善哉\*, 佐藤秀  
隆, 張 子俊, 林 裕造：MNU 腹腔内投与によるハ

## ムスターの膀胱癌発生

第45回日本癌学会総会 (1986. 10. 21)

\* 日本医科大学

高橋正一\*<sup>1</sup>, 朱宮正剛\*<sup>2</sup>, 前川昭彦, 林 裕造, 長瀬  
すみ\*<sup>1</sup>: **BBN による無アルブミン congenic 系統ラ**  
**ット (F344-alb) における膀胱癌**

第45回日本癌学会総会 (1986. 10. 21)

\*<sup>1</sup> 佐々木研究所\*<sup>2</sup> 都立老人研究所張 子俊, 高橋道人, 古川文夫, 佐藤秀隆, 長谷川良  
平, 宮川義史\*, 林 裕造: **アドリアマイシンによる**  
**ラット乳腺および腎腫瘍の発生**

第45回日本癌学会総会 (1986. 10. 21)

\* 日本たばこ生物センター

内藤善哉\*, 高橋道人, 長谷川良平, 古川文夫, 佐藤  
秀隆, 張 子俊, 林 裕造: **BOP によるハムスター**  
**実験膀胱癌発生におけるエチオニンの抑制効果**

第45回日本癌学会総会 (1986. 10. 21)

\* 日本医科大学

福島昭治\*, 増井恒夫\*, 宮田幸忠\*, 長谷川良平, 井  
上忠志\*, 北折正好\*: **Na 塩とタバコ煙中成分のラッ**  
**ト膀胱癌発生に対する修飾作用の早期検出**

第45回日本癌学会総会 (1986. 10. 21)

\* 名古屋市大医学部

長谷川良平, 古川文夫, 豊田和弘, 佐藤秀隆, 張 子  
俊, 高橋道人: **腎乳頭部石灰化病変の形成と促進要因**  
**第3回毒性病理研究会 (1987. 2. 6)**小野寺博志, 前川昭彦: **ACI, F344, Wistar および**  
**Donryu 系各ラットにおける自然発生腫瘍性および非**  
**腫瘍性病変の比較**

第3回毒性病理研究会 (1987. 2. 6)

張 子俊, 長谷川良平, 古川文夫, 豊田和弘, 佐藤秀  
隆, 高橋道人: **F344 ラットにおけるフェニトインの**  
**癌原性試験**

第3回毒性病理研究会 (1987. 2. 6)

古川文夫, 豊田和弘, 長谷川良平, 佐藤秀隆, 張 子  
俊, 高橋道人: **ハムスター膀胱における内分泌細胞の免**  
**疫組織化学的特性とその分布**

第3回毒性病理研究会 (1987. 2. 6)

前川昭彦: **実験腫瘍の組織発生 (シンポジウム); 脳**  
**第3回毒性病理研究会 (1987. 2. 6)**高橋道人: **実験腫瘍の組織発生 (シンポジウム); 膀胱**  
**第3回毒性病理研究会 (1987. 2. 6)**吉田東歩\*, 竹内昌男\*, 川瀬雅子, 佐々木澄志, 水沢  
博: **動物細胞におけるマイコプラズマ汚染検査—**  
**DNA 染色法, 直接培養法および細胞障害法による検**  
**査感度の比較検討**

第13回日本マイコプラズマ学会 (1986. 5. 24)

\* 財団法人発酵研究所

川瀬雅子, マリオン・ハルノイ, 鈴木かおり, 水沢  
博, 石館 基: **マイコプラズマおよびアコレプラズマ**  
**汚染細胞株に由来するアイソザイムパターンの分析**  
**第59回日本組織培養学会 (1986. 7. 13)**マリオン・ハルノイ, 鈴木かおり, 水沢 博, 佐々木  
澄志, 石館 基: **複数のアイソザイムシステムを利用**  
**した培養細胞株の同定**

第59回日本組織培養学会 (1986. 7. 13)

祖父尼俊雄, 石館 基: **ディーゼル・エンジン排出物**  
**の細胞遺伝学的影響について**ディーゼル排出ガスによる健康影響に関するフォーラ  
ム (1986. 7. 4)祖父尼俊雄, 林 真, 松岡厚子, 沢田 稔, M. C.  
HARNOIS, 石館 基: **In vitro 染色体異常試験のデー**  
**タベース 951化合物についての解析**

日本環境変異原学会第15回大会 (1986. 10. 2)

松岡厚子, 祖父尼俊雄, 佐藤茂秋\*, 宮田直樹, 石館  
基: **ニトロピレン, ニトロフルオレン類の in vitro**  
**染色体異常誘発性**

日本環境変異原学会第15回大会 (1986. 10. 2)

\* 国立癌センター研究所

林 真: **In vivo 小核試験法の基礎と応用に関する**  
**研究**

日本環境変異原学会第15回大会 (1986. 10. 2)

渡辺雅彦, 能美健彦, 石館 基: **ニトロアレン類の細**  
**胞内代謝活性化に関する Salmonella typhimurium**  
**酵素遺伝子の分子クローニング**

日本環境変異原学会第15回大会 (1986. 10. 2)

松井道子, 松井恵子, 川崎洋子, 沢田 稔, 能美健彦, 祖父尼俊雄, 義平邦利, 石館 基: 天然甘味料ステビオサイドとそのアグリコンであるステビオールの突然変異誘発作用に関する研究

日本環境変異原学会第15回大会(1986. 10. 2)

林 真: マウス小核試験

日本環境変異原学会第15回大会(1986. 10. 3)

林 真他25名: 小核試験における系統差

日本環境変異原学会第15回大会(1986. 10. 3)

沢田 稔, 祖父尼俊雄, 畑中みどり, 石館 基: 活性酸素発生系における染色体異常の誘発 IV.  $H_2O_2$  抵抗性細胞による検討(その2)

日本環境変異原学会第15回大会(1986. 10. 3)

水沢 博, 川瀬雅子, 佐々木澄志, マリオン・ハルノイ, 鈴木かおり, 石館 基: 厚生省細胞バンクにおける品質管理について

第45回日本癌学会(1986. 10. 21)

佐々木澄志, 水沢 博, 石館 基: H-ras 遺伝子導入 BALB3T3 細胞の TPA による形質転換誘導

第45回癌学会(1986. 10. 21)

半沢 敏\*1, 渡辺雅彦, 竹内道雄\*2, 一島英治\*3: セリンプロテイナーゼの老化と死

第35回アミノ酸・核酸シンポジウム(1986. 10. 23)

\*1 東洋曹達工業株式会社

\*2 東京農工大学農学部

\*3 東北大学農学部

祖父尼俊雄: 動物培養細胞における化学物質の安全評価

第4回植物保護とバイオテクノロジー(1986. 10. 31)

松井道子, 三瀬勝利, 石館 基: サルモネラの制限酵素の特徴

日本食品衛生学会第52回学術講演会(1986. 11. 20)

松井道子, 谷村顕雄, 石館 基, 尾崎 明\*1, 辨野義己\*1, 光岡知足\*2: 腸内菌によるサイクラミン酸塩の代謝

第7回理研腸内フローラシンポジウム(1986. 12. 4)

\*1 理化学研究所

\*2 東京大学農学部

Tetsuo KOMURO and Chris GALANOS\*: Size heterogeneity in Salmonella lipopolysaccharide analyzed by the sodium deoxycholate-polyacrylamide gel electrophoresis

Fourth International Congress of Toxicology, Tokyo, Japan(1986.7.24)

\* Max-Planck Institute für Immunbiologie (F.R. Germany)

小室徹雄, Chris GALANOS\*: デオキシコール酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分析したサルモネラリポ多糖の化学的不均一性

第33回毒素シンポジウム(1986. 9. 18)

\* Max-Planck Institute für Immunbiologie (F.R. Germany)

岡田敏史, 中原 裕, 伊阪 博: 結晶セルロースへの薬物の吸着

第23回全国衛生化学技術協議会年会(1986. 10. 3)

榎谷真美, 柴田 正, 伊阪 博, 松田りえ子, 石橋無味雄, 内山 充: 高分子膜分離装置により製造した水の品質評価-有機物量を中心として

第36回日本薬学会近畿支部大会(1986. 11. 1)

小室徹雄, 長谷川隆一, 伊阪 博: ニトラゼパム錠からの主薬の溶出挙動

日本薬学会第107年会(1987. 4. 3)

四方田千佳子, 中村恵三, 伊藤誉志男: 天然ガムと陽イオン界面活性剤との相互作用

第20回日本化粧品技術者会研究討論会(1986. 6. 18)

辻 澄子, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 津村明宏\*: メタリン酸前処理による食品中の過酸化水素の酸素電極法での定量

日本食品衛生学会第52回学術講演会(1986. 11. 20)

\* 神戸農林規格検査所

安藤 徹\*1, 津村明宏\*2, 外海泰秀, 伊藤誉志男: ガスクロマトグラフィーによる果汁飲料中エステルガムの検出・定量法

日本食品衛生学会第52回学術講演会(1986. 11. 20)

\*1 大阪空港検疫所

\*2 神戸農林規格検査所

中村優美子, 辻 澄子, 外海泰秀, 伊藤誉志男: クエ

## ン酸及びその塩類のラットにおける代謝

日本食品衛生学会第52回学術講演会 (1986. 11. 21)

Yasuhide TONOGAI, Michiko KOBATAKE, Yoshio ITO:  
**Comparison of the Spoilage Pattern of Seafoods  
Singly Inoculated with Yeasts or Bacteria**11th Asian Congress of Pharmaceutical Sciences,  
Bangkok (1986.12.4)辻 澄子, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 石田  
浩平\*, 江川 宏\*: アスコルビン酸を含有する清涼飲  
料水中の過酸化水素の分析法およびその測定値につ  
いて

日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 15)

\* 日本缶詰検査協会神戸検査所

外海泰秀, 中村優美子, 辻 澄子, 伊藤誉志男, 廣瀬  
英昭\*: 食品中のポリソルベートの検出, 定量法  
日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 15)

\* 大阪空港検疫所

浜野 孝\*<sup>1</sup>, 三ツ橋幸正\*<sup>1</sup>, 長谷川明彦\*<sup>1</sup>, 山本 進\*<sup>1</sup>,  
松木幸夫\*<sup>1</sup>, 泉 哲男\*<sup>2</sup>, 小原一雄\*<sup>3</sup>, 三浦和生\*<sup>4</sup>, 手  
塚義博\*<sup>5</sup>, 小池 誠\*<sup>6</sup>, 慶田雅洋\*<sup>6</sup>, 柴田由美子, 伊藤  
誉志男: 亜硫酸の微量比色定量法

日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 15)

\*<sup>1</sup> 神戸市環境保健研究所\*<sup>2</sup> サントリー分析センター\*<sup>3</sup> 日本食品分析センター大阪支所\*<sup>4</sup> 日本缶詰検査協会\*<sup>5</sup> 日本冷凍食品検査協会\*<sup>6</sup> ネッスル井上雅美, 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤誉志男, 塚本郁  
夫\*<sup>1</sup>, 山本幸夫\*<sup>2</sup>: 食品中の食用タール色素の多成分  
分析法

日本食品衛生学会第53回学術講演会 (1987. 5. 15)

\*<sup>1</sup> 神戸検疫所\*<sup>2</sup> 大阪検疫所井上和美, 小川義之, 村井敏美, 川崎浩之進: インシ  
ュリンと細菌内毒素の相互作用

第69回日本薬理学会近畿部会 (1986. 6. 13)

Makoto EMA, A. GEBREWOLD\* B. T. ALTURA and B.  
M. ALTURA\*: **Magnesium Sulfate and Magnesium  
Aspartate HCl Prevents Cerebrovasospasms****Induced by Ethanol and Barium: An in situ  
Study on the Rat Brain Microcirculation**International Symposium on Magnesium and its  
Relationship to Immunology, Oncology and Gastroe-  
nterology (Second Annual Meeting of the American  
Society for Magnesium Research). Arlington, Virginia,  
U.S.A. (1986.9.11-14)\* State University of New York, Health Science  
Center at BrooklynMakoto EMA, A. GEBREWOLD\*, B. T. ALTURA\* and B.  
M. ALTURA\*: **Magnesium aspartate HCl and  
magnesium sulfate prevent cerebrovasospasms  
induced by ethanol and barium in the rat brain  
microcirculation**Federation of American Societies for Experimental  
Biology 71st Annual Meeting, Washington, D.C.  
(1987.3.31)\* Dept. of Physiology, SUNY Health Science  
Center at BrooklynYoshiyuki OGAWA, Hironoshin KAWASAKI and Seiza-  
buro KANOH\*: **Binding of Endotoxin to Proteoli-  
pid Apoprotein Extracted from Cerebrum**International Conference on Endotoxins Amsterdam  
II, Amsterdam, The Netherlands (1987.5.21-23)\* Department of Legal Medicine, Wakayama  
Medical College熊谷健夫, 畠山好雄: 作物としての薬用植物の現状と  
改良点

第10回生薬の栽培と品質に関する研究会 (1987. 3. 7)

姉帯正樹, 山岸 喬, 畠山好雄: 北海道産生薬の品質  
について

第10回生薬の栽培と品質に関する研究会 (1987. 3. 7)

飯田 修, 佐竹元吉: ミシマサイコの育種に関する研  
究Ⅱ, 生育と成分について

日本生薬学会第33回年会 (1986. 10. 25)

佐藤 誠\*, 黒柳正典\*, 上野 明\*, 下村謙一郎, 佐  
竹元吉: ショウガ科の植物の組織培養とその成分-ウ  
コンについて

日本生薬学会第33回年会 (1986. 10. 25)

\* 静岡薬科大学

下村講一郎, 佐竹元吉, 岡村信幸\*, 八木 晟\*: **ツボ  
イシカルスによるトロパンアルカロイドの生産**  
日本生薬学会第33回年会 (1986. 10. 25)

\* 福山大学薬学部

下村講一郎, 佐竹元吉, 須藤 浩\*, 鎌田 博\*: **ペラ  
ドンナ毛状根由来の再分化個体及びその後代における  
形態特性とアルカロイド**  
日本生薬学会第33回年会 (1986. 10. 25)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

張 蔭麟\*, 下村講一郎, 佐竹元吉: **中国産延胡索カ  
ルスの物質生産と個体再分化**  
日本生薬学会第33回年会 (1986. 10. 25)

\* 薬用植物開発研究所 (中国)

下村講一郎, 池田嘉代, 佐竹元吉, 手嶋大輔\*, 青山  
敏信\*, 堀岡正義\*: **トコンの組織培養に関する研究**  
**1. クローン増殖法について**  
日本生薬学会第33回年会 (1986. 10. 25)

\* 九州大学付属病院薬剤部

手嶋大輔\*<sup>1</sup>, 青山敏信\*<sup>1</sup>, 堀岡正義\*<sup>1</sup>, 西岡五夫\*<sup>2</sup>, 下  
村講一郎, 池田嘉代, 佐竹元吉: **トコンの組織培養に  
関する研究 2. カルス及び不定根培養によるアルカロ  
イド生産**  
日本生薬学会第33回年会 (1986. 10. 25)

\*<sup>1</sup> 九州大学付属病院薬剤部

\*<sup>2</sup> 九州大学薬学部

安田一郎\*<sup>1</sup>, 秋山和幸\*<sup>1</sup>, 糸川秀治\*<sup>2</sup>, 竹谷孝一\*<sup>2</sup>, 佐  
竹元吉, M. MOCHIDOME\*<sup>3</sup>, G. HASHIMOTO\*<sup>4</sup>: **南米産  
生薬スクーバの成分研究**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 3)

\*<sup>1</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>2</sup> 東京薬科大学

\*<sup>3</sup> サンパウロ大学

\*<sup>4</sup> サンパウロ自然史研究センター

黒柳正典\*, 上野 明\*, 佐竹元吉: **クサスギカズラ根  
茎のサポニン**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 4)

\* 静岡薬科大学

河合秀晃\*, 黒柳正典\*, 上野 明\*, 佐竹元吉: **スイ  
カズラの成分研究—その2—**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 4)

\* 静岡薬科大学

池田嘉代, 下村講一郎, 北沢 尚, 佐竹元吉, 鎌田  
博\*<sup>1</sup>, 丸茂晋吾\*<sup>2</sup>, 片山正人\*<sup>2</sup>, 秦野利基\*<sup>2</sup>: **Duboisia  
root culture におけるアルカロイド生産に対する種  
々 auxin の効果**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 3)

\*<sup>1</sup> 筑波大学遺伝子実験センター

\*<sup>2</sup> 名古屋大学農学部

下村講一郎, 池田嘉代, 北沢 尚, 佐竹元吉, 須藤  
浩\*, 鎌田 博\*: **種々薬用植物における毛状根の誘導  
とその特性**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 3)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

佐竹元吉: **薬用資源植物の栽培と育種**  
第22回日本医学会総会 東洋医学サテライトシンポジ  
ウム (1987. 4. 2)

佐竹元吉: **薬用植物栽培の動向**  
日中天然薬物シンポジウム (1986. 11. 4)

Koichi SHIMOMURA, Motokichi SATAKE and Hiroshi  
KAMADA\*: **Production of Useful Secondary Meta-  
bolites by Hairy Roots Transformed with Ri  
Plasmid**

Sixth International Congress of Plant Tissue and Cell  
Culture, U.S.A. (1986.8.6)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

野口 衛: **生薬試験法をめぐる最近の動き —とくに  
十一局を中心に—**  
第15回生薬分析討論会 (1986. 7. 23)

野口 衛, 鈴木英世, 細田勝子: **順相高速液体クロマ  
トグラフィーを用いる麻黄アルカロイドの分析**  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 2)



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、第一会議室において開催されているが、昭和61年に行った演題は次のとおりである。

#### 第282回（昭和61年4月8日）

1. 単離細胞を用いたモルヒネの代謝と肝毒性の関連性について

放射線化学部 ○松永国助  
薬理部 大野泰雄

2. ラット好塩基球細胞からのセロトニン遊離における膜蛋白リン酸反応の関係

放射線化学部 手島玲子

3. GC-MS およびデータ処理システムを用いた地下水の汚染調査

食品部 河村葉子

4. 人腫瘍細胞 CNE<sub>2</sub> の DNA からの腫瘍プロモーション遺伝子 (pro 遺伝子) のクローニングとその特性

食品添加物部 酒井綾子

#### 第283回（昭和61年5月13日）

1. 持効性抗精神病薬エナント酸フルフェナジン母体投与によるラット出生仔行動に及ぼす影響

薬理部 長尾重之

2. 環境汚染物質と細菌内毒素のヒメダカにおける相互作用に関する研究

大阪支所食品部 外海泰秀

3. 2-Nitro-p-cresol のマウスにおける吸収、分布、代謝、排泄

医化学部 紅林秀雄

4. 固形剤の安定性に及ぼす温湿度の影響

薬品部 吉岡澄江

5. 高速液体クロマトグラフィー・固定化酵素カラムを用いた簡便かつ高感度のアセチルコリン定量法

薬理部 藤林観之助

#### 第284回（昭和61年6月10日）

1. ピロールによるコルチコイドの定量（その5）  
—呈色物質の検索—

生物化学部 徳永裕司

2. ラット抹消血および骨髄に及ぼす繰返し採血の影響

毒性部 松本清司

3. 天然着色料の突然変異原性試験およびプロスタグ

ランدين合成酵素阻害試験

食品添加物部 ○川崎洋子

合田幸広

山崎 壮

変異原性部 能美健彦

4. モルモットの胃内におけるニトロソメチルウレアの生成

食品添加物部 山本 都

5. 発癌性多環芳香族炭化水素の究極活性物質（ジオールエポキシド）に関する最近の話題

—N.I.H., Jerina 研での研究—

合成化学研究部 宮田直樹

#### 第285回（昭和61年7月8日）

1. 高速液体クロマトグラフィーによるオキシトシンの分析

生物化学部 太田美矢子

2. マウスによるソルビン酸の代謝  
—代謝活性化の可能性とペルオキシゾーム増殖—

医化学部 最上知子

3. 膵臓癌発生過程における内分泌細胞の動態について

病理部 ○古川文夫

豊田和弘

佐藤秀隆

長谷川良平

高橋道人

4. 老齢 Donryu ラットにおける腫瘍性および非腫瘍性変化について

病理部 ○小野寺博志

前川昭彦

5. ネル寝巻中のナルトールASによる接触皮膚炎（第2報）事故品のネル中のナフトールAS量並びにナフトールAS誘導体の交叉反応性

療品部 小嶋茂雄

6. ニトロソアレン類の細胞内代謝活性化に関する *Salmonella typhimurium* 酵素遺伝子の分子クローニング

変異原性部 ○渡辺雅彦

能美健彦

石館 基

#### 第286回（昭和61年9月9日）

1. Spermidine 骨格を有するアルカロイドの合成研

究

- 合成化学研究部 福原 潔
2. デオキシコール酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動により分析したサルモネラリポ多糖の化学的不均一性  
大阪支所薬品部 小室 徹 雄
  3. 酵素阻害を指標とした駆瘀血生薬中の生物活性成分の検索  
食品添加物部 合田 幸 広
  4. 発癌遺伝子 ras を有する細胞株 (Balb 3T3) の樹立とその性質  
変異原性部 佐々木 澄 志  
水 沢 博  
石 館 基

## 第287回 (昭和61年10月14日)

1. 置換尿素類のN-ニトロソ化による閉環反応—3—  
合成化学研究部 宮原 誠
2. 細菌性発熱物質 (LPS) 検出に及ぼすインシュリンの影響について  
大阪支所・薬理微生物部 井上 和 美
3. Kalman filter の分析化学への応用  
薬品部 林 謙 讓
4. ステロイドに対するモノクローナル抗体の調製および性質  
放射線化学部 沢田 純 一

## 第288回 (昭和61年11月11日)

1. Tris (2,3-dichloropropyl) phosphate のマウスにおける毒性学的研究  
毒性部 鎌田 栄 一
2. 2-Mercaptoimidazoline の毒性に関する研究 (第4報) 慢性毒性試験  
毒性部 安原 加寿雄
3. 毒性試験における眼病変検索の意義—白内障モデルによる検討—  
病理部 豊田 和 弘
4. ラット膀胱上皮細胞における DNA 損傷とその修復 (その1) 測定法の基礎的条件の検討  
医化学部 ○森本 和 滋  
福岡 正道  
病理部 長谷川 良 平
5. フローサイトメータを用いる小核試験  
変異原性部 林 真  
祖父尼 俊 雄  
石 館 基

## 第289回 (昭和61年12月9日)

1. HPLC による化粧品用タールの色素の分析 (VI)  
環境衛生化学部 木 嶋 敬 二  
斉 藤 恵美子  
武 田 明 治
2. アラビン酸の物性研究  
大阪支所食品部 四方田 千佳子
3. ヒト成長ホルモン受容体について  
放射線化学部 鈴木 和 博
4. ナキウサギ皮膚の組織構造と酵素組織化学反応  
毒性部 児 玉 幸 夫
5. 催奇形性の *in vitro* assay 法について  
医化学部 土屋 利 江

## 第290回 (昭和62年1月13日)

1. チオール基に特異的な発蛍光試薬の開発と応用  
食品部 豊岡 利 正
2. ラット脳微小循環におけるマグネシウム塩のエタノールによる血管収縮に対する抑制効果  
薬理微生物部 江馬 真
3. 食用色素赤色 105 号によるマウス甲状腺機能に対する影響  
医化学部 ○紅林 秀 雄  
最上 知 子  
嶺岸 謙一郎  
福岡 正道
4. ニトロソアミン類の代謝への各種化学物質の影響  
薬理部 川西 徹
5. アフラトキシン B<sub>1</sub> の代謝に関与するハムスター肝チトクローム P-450 に対するモノクローナル抗体の調製と性質  
薬理部 簾内 桃子
6. アドリアマイシンのラットにおける遅延毒性  
病理部 ○張 子 俊  
古川 文 夫  
豊田 和 弘  
長谷川 良 平  
佐藤 秀 隆  
高橋 直 人

## 第291回 (昭和62年2月10日)

1. 免疫のしくみ—免疫系細胞群と免疫機序  
放射線化学部 沢田 純 一
2. 食細胞機能に及ぼす各種医薬品の影響について  
生物化学部 押 澤 正
3. 家庭用品による接触皮膚炎の原因究明の経験から

- 療 品 部 小 嶋 茂 雄
4. 化粧品原料物質による皮膚刺激およびアレルギー性皮膚炎について  
環境衛生化学部 木 嶋 敬 二
  5. 免疫と骨髄  
毒 性 部 松 本 清 司
  6. 特別講演「免疫毒性の発現機序」  
帝京大薬学部 大 沢 基 保

第 292 回 (昭和62年 3 月10日)

1. 西洋アカネ (*Rubia tinctorum*) の色素成分について  
食品添加物部 ○合 田 幸 広  
川 崎 洋 子  
義 平 邦 利
2. クエン酸およびその塩類のラットにおける代謝  
大阪支所食品部 中 村 優 美 子
3. エルシニアからの制限酵素の精製およびその性質

- 衛生微生物部 宮 原 美 知 子
4. 低体重ラットの血液形態学的検査値  
毒 性 部 松 本 清 司
  5. ニトロピレン, ニトロフルオレン類の *in vitro* 染色体異常誘発性  
変異原性部 ○松 岡 厚 子  
宮 田 直 樹  
祖父尼 俊 雄  
石 館 基
  6. 皮膚 2 段階発癌モデルにおける Opp-Na のプロモーション作用  
病 理 部 ○佐 藤 秀 隆  
古 川 文 夫  
豊 田 和 弘  
宮 川 義 史  
長谷川 良 平  
高 橋 道 人

## 支 所 例 会

## 第84回 (昭和61年5月28日)

1. 細菌性発熱物質 (LPS) 検出に及ぼすインシュリンの影響について

薬理微生物部 井上和美

2. 結晶セルロースへの薬物の吸着

薬品部 岡田敏史

3. アラビアゴムと陽イオン界面活性剤の相互作用

食品部 四方田千佳子

## 第85回 (昭和61年9月29日)

1. 高分子膜分離装置により製造した水の品質評価：有機物量を中心として

薬品部 楠谷真美

2. 高速液体クロマトグラフィーによる食用許可色素中の主色素の定量法の検討

食品部 中村恵三

## 第86回 (昭和61年11月10日)

1. Lauryl Methacrylate (LMA) のラットにおける催奇形性試験について

薬理微生物部 坂本純

2. 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 (ヒメダカについて)

食品部 伊藤 普志男

## 第87回 (昭和62年12月19日)

1. 酵母および細菌を単独接種した魚介類の腐敗パターンと比較

食品部 外海 泰秀

2. ラット脳微小循環におけるマグネシウム塩のエタノールによる血管収縮に対する抑制効果

薬理微生物部 江馬 真

## 第88回 (昭和62年2月24日)

1. クエン酸およびそのナトリウム塩, カルシウム塩, カリウム塩のラットにおける代謝

食品部 中村 優美子

2. 過マンガン酸カリウム還元性物質と TOC について

薬品部 柴田 正

3. 高分子膜分離装置により製造した水の品質評価：バイロジェンおよび細菌リークを指標にして

薬理微生物部 小川 義之

---

**特別講演会**


---

昭和61年9月17日

毒性試験における統計的手法の問題点

名古屋大学工学部助教授 吉 村 功

昭和62年2月10日

免疫毒性の発現機序

帝京大学薬学部助教授 大 沢 基 保

昭和61年10月30日

薬物代謝酵素の下垂体ホルモンによる調節

慶応大学医学部助教授 山 添 康

昭和62年2月5日

免疫における認識

—タンパク質の高次構造の視点から—

東京大学薬学部教授 荒 田 洋 治

昭和61年12月4日

加熱変異原・発がん物質による DNA およびヘモグロビンの修飾

国立がんセンター 佐 藤 茂 秋

---

**支所所内講演会**


---

昭和61年11月25日

医用材料と人工臓器

国立循環器病センター人工臓器部

松 田 武 久

---

**支所学術映画会**


---

第1回（昭和61年2月13日）

- (1) 大腸菌の遺伝子
- (2) THE BONE
- (3) 免疫を探る

第2回（昭和61年12月19日：支所例会開催日）

- (1) インスリンの構造と機能
- (2) 血液凝固第12因子と創傷治ゆ

## 特別研究（厚生省）

1. 生活関連諸物質に含まれる微量有害成分の体内動態ならびに毒性発現機構に関する研究（合成、生薬、環境、食品、衛微、医化学、変異原、支所食品）
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、支所薬微）

## 国立機関原子力試験研究費（科学技術庁）

1. 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）
2. 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（環境、薬理、放射線）
3. 薬用植物の優良品種の選抜法に関する研究（筑波）
4. 標識化合物と細胞工学的手法の利用による医薬品、生活関連物質のアレルギー感作およびその安全性評価法の確立に関する基礎的研究（生物、医化学、療品）
5. 医薬品の生体利用率等におよぼす製剤材料の影響判定に用いる標準標識化合物の作成とその評価（薬品、支所薬品）
6. 柑橘類等の $\gamma$ 線照射判別法に関する研究（食品）
7.  $\gamma$ 線照射した柑橘類等の毒性に関する研究（毒性）
8.  $\gamma$ 線照射した柑橘類等の変異原性に関する研究（変異原）
9. 新医用高分子材料の放射線滅菌による血液適合性の変化に関する研究（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. 生体膜の利用技術の開発  
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）
2. 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  
バイオロジノデータベース作成・検索システム（情報、薬理、病理、変異原）
3. 化学物質設計等支援のための知識ベースシステムに関する研究  
毒性予測知識ベースシステムの開発（情報、

変異原、病理）

4. 実験動物の開発等に関する研究  
実験生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  
マーモセットの特性に関する研究（毒性）
5. 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  
医薬活性用植物の探索と活用（生薬）
6. 先端技術を用いた食品添加物の生産技術と安全性試験の確立に係る基礎研究（食添、食品、衛微、医化学、合成）

## 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. 環境汚染物質の生体機能障害に関する研究（薬理）
3. 環境汚染物質の複合曝露による臓器障害の評価法に関する研究（病理）
4. 環境汚染物質の低濃度レベルにおける生体内変異原活性検出法の開発に関する研究（変異原）
5. 脂溶性環境汚染物質に関するヒューマンモニタリング手法の開発とその応用に関する研究（薬品、環境、医化学、食品）
6. 環境汚染物質の摂取総量に対する経路別寄与率の評価手法確立に関する研究（食品）
7. 公共用水域の安全に係る高分子凝集剤の評価に関する研究（環境、毒性）

## 厚生科学研究費補助金（厚生省）

1. 局方生薬の規格設定に関する研究（生薬）
2. 化粧品の許可基準作成に関する研究（環境）
3. 食品中の各種汚染物質の実態に関する研究（食品）
4. 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）
5. 細胞資源保存に関する基礎的研究（変異原）
6. 食品添加物の変異原性に関する研究（変異原）
7. 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)
8. 残留農薬多成分分析法の作製 (支所食品)
  9. 環境発がん物質の実質安全濃度の検討 (薬品)
  10. 医療施設内における医療用の水の基準に関する研究 (衛徴)
  11. 化学物質の環境経由の毒性評価に関する研究 (薬品)
  12. 新食品の安全性評価手法に関する調査研究 (薬品)
  13. 化粧品配合成分の簡易迅速分析試験法の確立に関する研究 (環境)
  14. アオコが生成する毒性物質の同定に関する研究 (環境)
  15. 医薬品毒性試験ガイドラインに関する研究 (放射線, 毒性, 病理, 薬理)
  16. 一般用医薬品の評価方法に関する研究 (薬品, 生薬, 毒性)
  17. 化学物質のための急性毒性評価のための簡易スクリーニング法等に関する研究 (毒性, 情報)
  18. 植物細胞培養を応用して生産された医薬品確保に関する確立 (生薬, 毒性, 変異原, 筑波)
  19. 注射用水の品質バリデーションに関する研究 (薬品, 衛徴, 薬理, 支所薬品, 支所薬微)
  20. 放射線医薬品の輸送等に関する研究 (放射線)
  21. 治験計画の評価基準に関する研究 (センター長)
  22. 日本薬局方溶出試験法の設定基準と試験条件に関する研究 (薬品)
  23. 製剤設計の評価方法に関する研究 (薬品)
  24. 染毛剤の安全性に関する研究 (環境)
  25. 医薬部外品の承認基準作成のための基礎研究 (環境, 薬理)
  26. 受託試験施設で行われる医薬品の安全性試験の適正化に関する研究 (毒性)
  27. 医薬品による重篤な副作用の防止に関する研究 (薬品, 毒性)
  28. 日本薬局方外生薬の品質確保に関する研究 (生薬, 筑波)
  29. 食品中の有害物質の検索に関する研究 (食品, 生薬, 情報, 変異原)
  30. 経口避妊薬の医学的評価に関する研究 (センター長)
  31. 食品添加物のアレルギーに関する調査研究 (情報, 食品, 食添, 毒性)
  32. 日米科学技術協力に係る研究: 毒物学研究 (センター長)
  33. 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)
  34. 漢方エキス製剤の品質確保の指針となる湯剤に関する研究 (生薬)
  35. 医薬品原料および添加物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)
  36. 食品の品質保持期間の指標に関する研究 (衛徴)
  37. 畜水産食品中の残留医薬品等の検査法に関する調査研究 (衛徴)
  38. 有害物質の健康リスク評価システムのフィジビリティに関する研究 (療品)
  39. 器具の衛生確保に関する調査研究 (食添, 衛徴)
  40. 天然添加物の分析手法等に関する研究 (食添, 支所食品)
  41. 飼料添加物中の天然色素の調査研究 (食添)
  42. 医療における日本薬局法医薬品の役割に関する研究 (薬品, 生物)
  43. 日本人の食品添加物の1人1日摂取量調査研究 (支所食品, 食添)
  44. 輸入食品の簡易分析法の開発 (支所食品)
  45. 食品由来成分の含有量実態調査研究 (食添, 支所食品)
  46. 注射剤の局所刺激性に関する研究 (毒性, 薬理)
  47. 食品添加物のナトリウム塩と他の塩との代謝比較研究 (医化, 支所食品)
  48. 細菌性食中毒発生防止に関する基礎的調査研究 (衛徴)
  49. 食品添加物の安全性評価に関する研究 (病理)
  50. 既存化学物質の毒性試験ならびに調査 (病理)
- 科学研究費補助金 (文部省)**
1. 遺伝子資源としての本邦保有微生物株の収集, 同定と情報整備に関する研究 (衛徴)
  2. 単離細胞を用いた薬物性腎障害モデル作成に関する研究 (薬理)
  3. 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)
  4. 赤痢菌及びサルモネラの制限酵素産性ミニプラスミドに関する研究 (衛徴)
  5. 好塩基球細胞の脱顆粒反応における膜タンパクリン酸化機構の関与に関する研究 (放射線)
  6. アフラトキシン B<sub>1</sub> を代謝活性化するチトクローム P-450 と肝癌との関連性 (薬理)
  7. ヒト成長ホルモン受容体の精製と性状分析 (放射線)
  8. 化学発癌過程における細胞形質発現の推移とその安定性 (病理)

## がん研究助成金(厚生省)

1. 食品中のニトロソ化合物生成阻止物質の研究(食添)
2. 日常食品成分の発がんプロモーター作用の研究(病理)
3. 膀胱癌発生におけるプロモーター因子の研究(病理)
4. 蛍光抗体法による環境中のかび毒およびかび毒産生菌の検出に関する研究(衛微)
5. 総括ならびに癌原性評価に関する研究(病理)
6. 長期動物試験による環境化学物質の発癌性評価に関する研究(病理)
7. 発がん率を変化させる物質に関する研究(病理)
8. 多重がん発生条件に関する実験的研究(病理)
9. 経口摂取による発がん物質の定量的解析の研究(食品)
10. 内因性ニトロソ発がん物質の研究(センター長)
11. 食品中のニトロソ化される物質の研究(副所長)
12. 発がんに関与する物質の強度の検討(病理)
13. 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(食添)
14. 食品中の変異原, 変異原前駆物質の生成と抑制(食添)

## 委託事業

1. 尿中の覚せい剤類似物質の鑑定法研究(薬品) 厚生省
2. タール色素毒性研究(毒性) 厚生省
3. 住環境害虫, 殺菌・殺カビ剤等安全対策調査研究(衛微) 厚生省

## その他

1. 医薬品の規格および試験法に関する研究(薬品, 生物, 支所薬品) 日本公定書協会
2. 活性酸素による生体障害を指標とした環境化学物質の安全性評価に関する研究(病理) 上原記念生命科学財団
3. 酸化物の発癌性—プロモーター作用および毒性に関する実験病理学的研究(病理) がん研究振興財団
4. 環境化学物質の発がん性評価に関する研究(病理) 日米医学協力研究会
5. i 生活環境に於ける発ガン関連物質への暴露実態の総合的把握と評価に関する研究(食品部) 対がん十カ年総合戦略  
ii ヒトがん発生に対するリスクの評価を目的とした動物実験(病理)  
iii ヒトがん発生における重要な促進物質の研

## 究(病理)

## ヒューマンサイエンス振興財団共同プロジェクト研究(長寿関連基礎科学研究事業)

## 第I分野 ライフサイエンスの基盤としてのバイオテクノロジー開発

1. 生体微量物質(遺伝子・酵素・ホルモン等)の分離技術の開発
  - (1) 微量生理活性物質の探索, 分離精製技術の開発
    - A. 組換え DNA 技術を応用して生産される蛋白性医薬品の活性型の効率的分離, 精製技術の開発(生物)
    - B. 医薬品等生理活性物質の探索分離技術の研究(モノクローナル抗体を利用する技術の開発)(放射線)
    - C. 腸内細菌からの制限酵素を含む遺伝子操作関連試薬の開発(衛微)
    - D. 生理活性物質を生産する有用真菌の探索・分離・培養(衛微)
    - E. 海洋微生物等からの生理活性物質の探索分離技術の研究(放射線)
    - F. レトロウイルスの RNA 構造の決定とその各種モノクローナル抗体の開発(放射線)
3. 動植物細胞を用いた宿主・ベクター系の開発
  - (1) 形質転換薬用植物細胞による有用物質の生産の研究(筑波)
4. 医薬品等の高感度・高性能安全性等評価試験方法の開発
  - (1) 医薬品等化学物質の in vitro 系を中心とした有効性・安全性検索法の確立に関する研究
    - A. 医薬品等の培養系を用いた有効性および安全性検索法の確立に関する研究(薬理)
    - B. バイオテクノロジーによる薬用植物生成物の安全性評価試験法の開発(生薬)
    - C. バイオテクノロジーによる高感簡易試験法の開発(変異原)
  - (2) バイオテクノロジーにより生産される同種同効薬品の薬効試験法の標準化に関する研究(生物)
5. 新開発食品の精製と安全性評価技術の開発
  - (1) 食品並びに食品添加物におけるバイオテクノロジーの利用と生産物の化学的安全性評価法の開発に関する研究
    - A. 組織培養法等による生産物の安全性評価



## 法の開発 (食添)

- B. 天然食品とバイオテクノロジー食品との成分上の異同識別に関する研究 (食品)

## 第II分野 医療・福祉サービスの基盤としての医用材料の評価・改良・開発技術の研究

1. 高分子材料と薬理活性をもつ物質との総合技術の開発

## (1) 高分子製剤材料の開発と評価の研究

- A. 生分解性高分子製剤における高分子の分解性および内包薬物の放出性に関する速度論的研究 (薬品, 支所薬品)
- B. 徐放性製剤の設計および評価技術の確立に関する生物薬剤学的研究 (薬品, 支所薬品)

2. 高分子材料の有効性・安全性評価の指標となる試験法の研究

(1) 生体埋入高分子材料の安全性評価法に関する研究 (生体組織反応の *in vivo* および *in vitro* 試験法の開発) (療品, 毒性, 変異原, 合成)

(3) リムラステストの標準化とそれらの応用による高分子膜およびその材質等の安全性評価に関する研究 (支所薬品, 支所薬微)

## ヒューマンサイエンス振興財団国際共同研究事業

1. 放出調節製剤 (Controlled Release Dosage Forms) の評価試験技術の開発 (薬品)
2. 薬用資源植物の確保, 開発および利用 (生薬, 薬理, 筑波)

## 国家検定および検査等の処理状況

## Survey of The Results of National Tests

昭和61年度の検定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、4月1日削除となった14品目120件（前年度に比べて、総件数の9.46%）の減少とヒトインシュリン関係4品目の28件（186.67%、総件数の2.19%）およびブドウ糖注射液24件（2.22%、総件数の1.88%）の増加があり、前年度に比べて、総件数で74件（5.79%）の減少であった。

国家検査は、4月1日に検定品目より削除されたもののうち、インシュリン製剤と輸液について、検査命令の対象となり、本年度は4件の検査があった。

次に、製品検査については、前年度に比べて107件（13.24%）の減少となり、以下特別審査試験44件（5.16%）、特別行政試験92件（21.75%）、一斉取締試験22件（7.33%）の減少であった。

輸入食品検査については、農産物の残留農薬検査およびソ連原発事故の影響を受けて放射能検査が増加したため、前年度に比べて442件（920.83%）の増加であった。

検定検査等の総処理件数は3,192件で、前年度に比べて105件（3.40%）の増加であった。

区 分	昭和61年度の処理件数		
	東 京	大 阪	合 計
国 家 検 定	( 512) 512件	( 693) 693件	(1,205) 1,205件
国 家 検 査	( 4) 4	( 0) 0	( 4) 4
製 品 検 査	( 297) 297	( 404) 404	( 701) 701
特 別 審 査 試 験	( 228) 183	( 0) 0	( 228) 183
特 別 行 政 試 験	( 331) 331	( 0) 0	( 331) 331
一 斉 取 締 試 験	( 236) 236	( 42) 42	( 278) 278
輸 入 食 品 検 査	( 501) 400	( 90) 90	( 591) 490
一 般 依 頼 試 験	( 0) 0	( 0) 0	( 0) 0
合 計	(2,109) 1,963	(1,229) 1,229	(3,338) 3,192

( ) 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61年度国家検定品目別月別判定別件数実績表…………… 214頁
- 昭和61年度国家検査品目別月別判定別件数実績表…………… 216頁
- 昭和61年度製品検査月別判定別件数実績表…………… 216頁

- 昭和61年度特別審査試験月別判定別件数実績表…………… 216頁
- 昭和61年度輸入食品検査月別判定別件数実績表…………… 218頁
- 昭和61年度特別行政試験実績表…………… 222頁
- 昭和61年度一斉取締試験判定別件数実績表…………… 222頁

## 昭和61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	
避妊用ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテルフィルム	東京	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
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	—	—	—	—	
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	3	—	3	6	—	6	6	—	6	5	—	5	—	—	4	—	4	—	
バソプレシン注射液	東京	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ブドウ糖注射液	東京 大阪	28 56	— —	28 56	55 60	— —	55 60	28 60	— —	28 60	31 68	— —	31 68	37 56	— —	37 56	48 64	— —	48 64	
内訳	容量100 ml 未満	東京 大阪	13 37	— —	13 37	27 31	— —	27 31	9 33	— —	9 33	13 52	— —	13 52	18 32	— —	18 32	27 34	— —	27 34
	容量100 ml 以上	東京 大阪	15 19	— —	15 19	28 29	— —	28 29	19 27	— —	19 27	18 16	— —	18 16	19 24	— —	19 24	21 30	— —	21 30
ヒトインシュリン注射液	東京	2	—	2	1	—	1	3	—	3	3	—	3	1	—	1	1	—	1	
ヒトソフエンインシュリン水性懸濁注射液	東京	3	—	3	1	—	1	1	—	1	5	—	5	1	—	1	1	—	1	
半合成ヒト中性インシュリン注射液	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	
半合成ヒトインシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	2	—	2	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	
合 計		97	—	97	124	—	124	101	—	101	113	—	113	97	—	97	119	—	119	

月別判定別件数実績表

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
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3
-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3
-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	4
4	-	4	4	-	4	5	-	5	1	-	1	6	-	6	2	-	2	46	-	46
1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2
54	-	54	17	-	17	35	-	35	32	-	32	19	-	19	26	-	26	410	-	410
58	-	58	51	-	51	74	-	74	26	-	26	55	-	55	65	-	65	693	-	693
28	-	28	6	-	6	18	-	18	21	-	21	9	-	9	15	-	15	204	-	204
31	-	31	33	-	33	43	-	43	16	-	16	33	-	33	35	-	35	410	-	410
26	-	26	11	-	11	17	-	17	11	-	11	10	-	10	11	-	11	206	-	206
27	-	27	18	-	18	31	-	31	10	-	10	22	-	22	30	-	30	283	-	283
-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	3	-	3	15	-	15
1	-	1	2	-	2	2	-	2	-	-	-	-	-	-	3	-	3	20	-	20
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	2	-	2
-	-	-	1	-	1	1	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	6	-	6
119	-	119	75	-	75	120	-	120	59	-	59	82	-	82	99	-	99	1,205	-	1,205

## 昭和61年度国家検査品目別

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
結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—
無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
リンゲル液	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
計	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	—	1

## 昭和61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	23	—	23	25	—	25	22	—	22	33	—	33	39	—	39	2	—	2
大 阪	19	—	19	27	—	27	44	—	44	28	—	28	44	—	44	30	—	30
計	42	—	42	52	—	52	66	—	66	61	—	61	83	—	83	32	—	32

## 昭和61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	20	—	20	—	—	—	7	—	7	29	—	29	20	—	20	2	—	2
試 験 件 数	41	—	41	—	—	—	8	—	8	29	—	29	31	—	31	4	—	4

月別判定別件数実績表

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
—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	—	—	—	1	—	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—	4	—	4

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
31	—	31	5	—	5	35	—	35	22	—	22	29	—	29	31	—	31	297	—	297
32	—	32	31	—	31	65	—	65	22	—	22	44	—	44	18	—	18	404	—	404
63	—	63	36	—	36	100	—	100	44	—	44	73	—	73	49	—	49	701	—	701

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
8	—	8	29	—	29	2	—	2	27	—	27	10	—	10	29	—	29	183	—	183
8	—	8	29	—	29	2	—	2	34	—	34	11	—	11	31	—	31	228	—	228



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			試験 件数					
合 格	不 合 格	無 判 定 計	合 格	不 合 格	無 判 定 計	合 格	不 合 格	無 判 定 計	合 格	不 合 格	無 判 定 計	合 格	不 合 格	無 判 定 計	合 格	不 合 格	無 判 定 計	合 格	不 合 格	無 判 定 計						
-	-	-	4	-	-	4	1	-	1	27	10	37	92	11	20	123	57	8	9	74	182	29	29	240	293	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	4	-	9	18	5	-	23	12	2	-	14	50	25	-	75	75
5	-	-	5	-	-	-	-	-	-	2	-	2	10	-	-	10	16	-	-	16	33	-	-	33	38	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	
-	-	-	4	-	-	4	3	-	3	2	-	2	42	2	-	44	22	-	-	22	73	2	-	75	82	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-	2	2	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	1	-	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	2	4	-	-	4	4	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	2	2	-	-	2	2	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	3	3	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3	-	-	-	-	-	3	-	-	3	3	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	2	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	3	2	1	-	3	3	



## 昭和61年度輸入食品検査

区 分	4 月				5 月				6 月				7 月				8 月				9 月				
	合格	不合格	無判定	計	合格	不合格	無判定	計	合格	不合格	無判定	計	合格	不合格	無判定	計	合格	不合格	無判定	計	合格	不合格	無判定	計	
上記いずれにも属さないもの	東京	—	—	—	—	—	—	—	17	—	—	17	10	—	—	10	4	5	—	9	—	—	—	—	
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	
計	東京	0	0	0	0	3	0	0	3	17	0	0	17	10	0	0	10	6	5	0	11	1	0	0	1
	大阪	0	1	0	1	8	2	0	10	7	10	0	17	0	1	0	1	0	2	0	2	0	0	0	0
	計	0	1	0	1	11	2	0	13	24	10	0	34	10	1	0	11	6	7	0	13	1	0	0	1

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				試験 件数				
合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計					
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	31	5	—	36	72
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	8	—	9	—	—	—	—	—	—	—	—	1	9	—	10	10
5	0	0	5	9	0	0	9	5	0	0	5	31	10	0	41	149	13	20	182	99	8	9	116	335	36	29	400	501				
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	4	0	9	19	14	0	33	14	3	0	17	53	37	0	90	90				
5	0	0	5	9	0	0	9	5	0	0	5	36	14	0	50	168	27	20	215	113	11	9	133	388	73	29	490	591				

## 昭和61年度特別行政試験実績表

局(部) 課(室)	品(項) 目	件数	担 当 部
薬務局 審査第二課	1. ホルマリンを含有する疑いのある化粧品 の試験	7	環境衛生化学部
	2. コールドパーマネットウェーブ用剤の 試験	5	環境衛生化学部
監視指導課	1. いわゆる健康食品に係る試験	10	〔薬品部 生物化学部
	2. 医薬品の収去試験	9	衛生微生物部
麻薬課	1. 輸入生あへんのモルヒネ含有率試験	51	薬品部
	2. 栽培試験によるケシのアヘンアルカロ イドの定量	249	薬品部
合 計		331	〔東京 331件 大阪 0件

## 昭和61年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分	合 格	不 合 格	無 判 定	計
東 京	126	3	107	236
大 阪	42	0	0	42
合 計	168	3	107	278

## 国立衛生試験所標準品

Reference Standards Prepared by National  
Institute of Hygienic Sciences

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62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	アスコルビン酸散、同注射液の定量法
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	インスリン	20mg入 1本	22,900	インスリン、インスリン注射液、インスリン亜鉛水性懸濁注射液、結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液、無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液、プロタミンインスリン亜鉛水性懸濁注射液、イソフェンインスリン水性懸濁注射液および中性インスリン注射液の定量法、イソフェンインスリン水性懸濁注射液の純度試験
4	エルゴカルシフェロール	100mg入 1本	14,100	エルゴカルシフェロールの確認試験および定量法
5	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
6	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
7	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
8	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法
9	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
10	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
11	コハク酸トコフェロール	150mg入 1本	12,900	コハク酸トコフェロールカルシウムの定量法、同ナトリウムの定量法
12	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法
13	コレカルシフェロール	100mg入 1本	14,100	コレカルシフェロールの確認試験および定量法
14	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定量法 同水性懸濁注射液の確認試験
15	酢酸トコフェロール	150mg入 1本	12,900	酢酸トコフェロールの確認試験および定量法
16	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定量法、同水性懸濁注射液の確認試験および定量法
17	酢酸プレドニゾン	100mg入 1本	12,300	酢酸プレドニゾンの確認試験および定量法
18	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
19	ジギタリス	1g入 3本	12,100	ジギタリス、同末の定量法
20	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、同錠の溶出試験、含量均一性試験および定量法
21	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
22	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
23	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
24	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
			円	
25	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	26,800	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
26	チロシン	500mg入 1本	10,100	バンクレアチンのたん白消化力試験
27	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法
28	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
29	トコフェロール	150mg入 1本	12,900	トコフェロールの確認試験および定量法、コハク酸トコフェロールカルシウムおよび酢酸トコフェロールの純度試験
30	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法
31	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法
32	トロンビン	500単位入 2本	29,500	トロンビンの定量法
33	ニコチン酸	500mg入 1本	12,200	ニコチン酸注射液の定量法
34	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
35	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
36	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
37	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
38	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
39	ヒドロクロロチアジド	100mg入 1本	11,300	ヒドロクロロチアジドの定量法
40	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定量法、プレドニゾロンの純度試験
41	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
42	プレドニゾン	100mg入 1本	11,900	プ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
43	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
44	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法
45	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
46	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
47	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
48	葉酸	500mg入 1本	13,600	葉酸、同錠、同注射液の定量法
49	酪酸ヒドロコルチゾン	100mg入 1本	15,600	酪酸ヒドロコルチゾンの定量法、純度試験
50	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、溶出試験、含量均一性試験および定量法
51	リポフラビン	200mg入 1本	15,400	リポフラビン、同散、リン酸リポフラビンナトリウム、同注射液の定量法
52	硫酸プロタミン	100mg入 1本	20,000	イソフェンインスリン水性懸濁注射液の純度試験
53	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、同錠の溶出試験および含量均一性試験

## 国立衛生試験所標準品

(昭和62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 <sup>円</sup>	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	酢酸デキサメタゾン	100mg入 1本	15,600	酢酸デキサメタゾンの定量法, 純度試験
7	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
8	フルオシノニド	100mg入 1本	14,400	フルオシノニドの確認試験および定量法
9	フルオロメトロン	100mg入 1本	15,600	フルオロメトロンの定量法, 純度試験, 確認試験
10	フルドキシコルチド	100mg入 1本	15,600	フルドキシコルチドの定量法, 純度試験
11	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
12	プロピオン酸ベクロメタゾン	100mg入 1本	15,600	プロピオン酸ベクロメタゾンの定量法, 純度試験, 確認試験
13	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
14	リゾチーム	500mg入 1本	19,500	リゾチーム製品の定量法
15	リン酸ヒスタミン	50mg入 1本	9,600	ヒスタミン試験
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

国 立 衛 生 試 験 所 標 準 品

	標 準 品 名	包装単位		価 格	使 用 目 的
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
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	リソールルビン 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ビン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61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	81	110	145	0	46	
安息香酸エストラジオール	43	0	17	0	26	
インシュリン	7	180	78	6	103	
ウロキナーゼ	13	137	140	0	10	
エストラジオール	59	0	14	0	45	
エストロン	39	0	0	0	39	
エルゴカルシフェロール	0	147	67	0	80	
塩酸チアミン	73	200	209	0	64	
塩酸チアミン液	30	97	19	23	85	
塩酸ピリドキシン	29	300	191	0	138	
カリジノゲナーゼ	43	97	106	0	34	
含糖ベプシン	27	70	30	0	67	
吉草酸ベタメタゾン	45	0	16	0	29	
ギトキシソ	28	0	7	0	21	
血清性性腺刺激ホルモン	85	0	59	0	26	
コハク酸トコフェロール	0	100	46	0	54	
コハク酸ヒドロコルチゾン	47	0	2	0	45	
コレカルシフェロール	0	153	55	0	98	
酢酸コルチゾン	21	0	5	0	16	
酢酸ヒドロコルチゾン	55	50	59	17	29	
酢酸ブレドニゾロン	35	0	15	0	20	
酢酸トコフェロール	0	391	250	0	141	
シアノコバラミン	53	250	237	0	66	
ジギタリス	17	0	0	0	17	
ジギトキシソ	20	0	16	0	4	
ジゴキシソ	43	0	30	0	13	
酒石酸水素エピネフリン	29	0	6	0	23	
酒石酸水素ノルエピネフリン	26	0	2	0	24	
G-ストロファンチソ	27	0	1	0	26	
胎盤性性腺刺激ホルモン	78	150	133	0	95	
チロジソ	79	100	143	0	36	
デキサメタゾン	47	50	42	0	55	
デスラノシド	12	91	22	0	81	
トコフェロール	0	147	100	0	47	
トリアムシソロン	47	0	1	0	46	
トリアムシソロンアセトニド	47	0	11	0	36	
トロンピン	48	75	69	0	54	
ニコチン酸	32	60	37	0	55	
ニコチン酸アミド	84	100	131	0	53	
脳下垂体後葉	37	0	24	0	13	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	83	0	9	0	74	
薄層クロマトグラフ用バルミチン酸レチノール	84	0	22	0	62	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	13	50	7	0	56	



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	
ヒアルロニダーゼ	30	0	1	0	29	
ヒドロコルチゾン	103	0	37	55	11	
ヒドロクロロチアジド	0	50	5	0	45	
フルオシノニド	0	50	8	2	40	
フルオシノロンアセトニド	38	0	9	0	29	
ブレドニゾロン	4	100	63	0	41	
プロゲステロン	41	0	5	0	36	
プロピオン酸テストステロン	26	0	0	0	26	
ベタメタゾン	47	0	22	0	25	
ヘパリンナトリウム	46	100	57	2	87	
マレイン酸エルゴメトリン	46	0	22	0	24	
メトトレキサート	35	0	0	0	35	
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 ファビリジン, ワニリン)	16	20	26	0	10	
葉酸	64	0	59	0	5	
ラナトシドC	5	89	11	0	83	
リゾチーム	129	174	273	0	30	
リボフラビン	107	402	307	0	202	
硫酸プロタミン	12	0	3	0	9	
リン酸ヒスタミン	24	53	43	0	34	
ルチン	18	0	11	0	7	
レセルピン	57	0	20	1	36	
計	2,514	4,143	3,555	106	2,996	

## (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	78	0	3	0	75	
アシッドレッド	0	0	0	0	0	
アズルビンエキストラ	88	0	3	0	85	
アマランス	485	0	9	0	476	
インジゴ	134	0	2	0	132	
インジゴカルミン	0	0	0	0	0	
エオシン	119	0	2	0	117	
エリスロシン	0	0	0	0	0	
オイルエローAB	220	0	2	0	218	
オイルエローOB	230	0	2	0	228	
オイルオレンジSS	227	0	2	0	225	
オイルレッドXO	205	0	1	0	204	
オレンジI	276	0	1	0	275	
オレンジII	157	0	1	0	156	
ギネアグリーンB	70	0	2	0	68	
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	154	0	4	0	150	
テトラブROMフルオレセイン	114	0	2	0	112	
トルイジンレッド	80	0	3	0	77	
ナフトールエローS	150	0	3	0	147	
ニューコクシン	0	0	0	0	0	
パーマネントオレンジ	33	0	3	0	30	
ハンサエロー	78	0	3	0	75	
ファストグリーンFCF	32	0	6	3	23	
ファストレッドS	200	0	3	0	197	
ブリリアントブルーFCF	0	0	0	0	0	
フルオレセイン	190	0	2	0	188	
フロキシソ	358	0	6	0	352	
ボンソーR	248	0	0	0	248	
ボンソーSX	150	0	1	0	149	
ボンソー3R	158	0	1	0	157	
リソールルビンBCA	363	0	2	0	361	
レーキレッドC	387	0	2	0	385	
レーキレッドCBA	123	0	2	0	121	
レーキレッドDBA	163	0	2	0	161	
ローズベンガル	0	0	0	0	0	
計	5,270	0	75	3	5,192	

# 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あるいは、ワープロ用紙（B5、20×20）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し、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿〆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。ただし用語例に関しては「衛生試験所報告記載の手引」による。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およびワードプロセッサ書きにする。
  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 <sup>12</sup>	T	ミ	リ (milli)	10 <sup>-3</sup>	m
ギ	ガ (giga)	10 <sup>9</sup>	G	マイ	ク ロ (micro)	10 <sup>-6</sup>	μ
メ	ガ (mega)	10 <sup>6</sup>	M	ナ	ノ (nano)	10 <sup>-9</sup>	n
キ	ロ (kilo)	10 <sup>3</sup>	k	ピ	コ (pico)	10 <sup>-12</sup>	p
デ	シ (deci)	10 <sup>-1</sup>	d	フェ	ム ト (femto)	10 <sup>-15</sup>	f
セ	ン チ (centi)	10 <sup>-2</sup>	c	ア	ト (atto)	10 <sup>-18</sup>	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 <sup>2</sup>	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 <sub>m</sub>
(L を用いない)		サイクル	cycle	R <sub>f</sub> 値	R <sub>f</sub>
ミリリットル	ml	回毎分	rpm	保持時間	t <sub>R</sub>
(cc を用いない)		ヘルツ	Hz	50%致死量	LD <sub>50</sub>
マイクロリットル	μl	キャンドラ	cd	50%有効量	ED <sub>50</sub>
(λ を用いない)		ルクス	lx	経口投与	p. o.
立方メートル	m <sup>3</sup>	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 <sup>-1</sup>	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	試薬
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>ASAHINA</u>

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: 本文の引用箇所の右肩に<sup>3)</sup>,<sup>2,5)</sup>,<sup>1-4)</sup>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

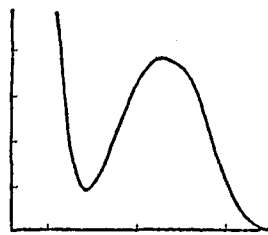
ック体で表し、単行本は書名を省略しない。

- 例：1) 神蔵美枝子，谷村顕雄：衛生試験，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)

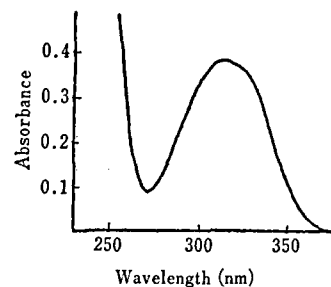


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard" (20 μg/ml) (コピーにタイプ)

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。

昭和 62 年度 図書 編集 委員

内 山 充	武 田 明 治	竹 中 祐 典
丹 野 雅 幸	鹿 庭 なほ子	内 田 恵理子
永 松 国 助	尾 崎 幸 紘	新 谷 英 晴
佐々木 久美子	川 崎 洋 子	宇田川 俊 一
高 橋 照 江	内 藤 克 司	小野田 欽 一
長谷川 良 平	松 井 道 子	長谷川 隆 一
下 村 講一郎	大 野 清	西 村 規 章

衛 生 試 験 所 報 告 第 105 号

昭和 62 年 10 月 25 日 印 刷  
昭和 62 年 10 月 31 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