

ISSN 0077-4715  
CODEN: ESKHA 5

# 衛生試験所報告

第 106 号

昭和 63 年

---

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

No. 106 1988

---

国立衛生試験所

衛生試験所  
Eisei Shikenjo Hokoku

# 衛生試験所報告

第 106 号

昭和 63 年

---

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

No. 106 1988

Published by  
National Institute of Hygienic Sciences  
Tokyo, Japan

---

国立衛生試験所

## 目 次

## 総 説

免疫毒性に関する国際共同研究 International Collaborative Immunotoxicity Programme

を中心として……………寺尾允男…… 1

## 報 文

電気化学検出・高速液体クロマトグラフィーを用いた押収大麻の識別に関する研究

……………中原雄二・田中 謙……11

インドネシアの伝承生薬の微生物汚染……………戸正勝・小沼博隆・Amalia Kartastisna・佐竹元吉……18

インドネシア産生薬由来の *Aspergillus flavus* のアフラトキシン生産性

……………戸正勝・Amalia Kartastisna・平井和人・手島玲子・池淵秀治……25

アルカリ溶出法によるラット膀胱上皮細胞 DNA 損傷の検出

……………森本和滋・福岡正道・田中 彰・長谷川良平・林 裕造……29

ラットによる bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether の亜急性毒性試験

……………関田清司・川崎 靖・松本清司・落合敏秋・

中路幸男・小林和雄・降矢 強・黒川雄二・戸部満寿夫……33

防菌・防微剤パラクロルメタキシレノール (PCMX) の雌マウスにおける経皮発癌性試験

(慢性毒性試験を含む)……………門馬純子・高田幸一・会田喜崇・吉本浜子・

内藤克司・中路幸男・鈴木康雄・黒川雄二・戸部満寿夫……39

クロルピリフォスのラットによる28日間反復投与毒性試験について

……………小川幸男・鈴木幸子・内田雄幸・鎌田栄一・斉藤 実・

梅村隆志・若菜雅美・金子豊蔵・黒川雄二・戸部満寿夫……48

デヒドロ酢酸ナトリウムのラットにおける催奇形成に関する研究

……………田中 悟・川島邦夫・中浦慎介・S. Djajalaksana・高仲 正……54

ジベンジルトルエンの胎仔発生に及ぼす影響

……………黒崎美保・川島邦夫・中浦慎介・田中 悟・S. Djajalaksana・高仲 正……61

F344 ラットにおける potassium pyrophosphate の亜慢性毒性試験

……………下地尚史・松島裕子・今井田克己・長谷川良平・黒川雄二・林 裕造……66

タルクに含まれるアスベスト検出のためのX線分析型走査電子顕微鏡の利用

……………今沢孝善・下地尚史・篠田和俊・今井田克己・高橋道人・林 裕造……73

新生仔ハムスターの臍における内分泌細胞の免疫組織化学的特性

……………古川文夫・豊田和弘・佐藤秀隆・岡宮英明・阿部 弘・高橋道人・林 裕造……78

分析型走査電子顕微鏡を用いたラット膀胱結石の解析並びにその信頼性

……………岡宮英明・今沢孝善・佐藤秀隆・古川文夫・豊田和弘・小野寺博志・高橋道人・林 裕造……82

フロー法 (Flow-through method) による徐放性インドメタシンカプセル製剤の *in vitro* 溶出挙動

……………小室徹雄・四方田千佳子・長谷川隆一・伊阪 博・木村俊夫……87

## ノ ー ト

Determination of Prenylamine Lactate Tablets by High Performance Liquid Chromatography

……………范 积芬・松田りえ子・石橋無味雄・武田 寧……91

2-Nitro-*p*-cresol および sodium deoxycholate 投与によるラット肝オルニチン脱炭酸酵素の誘導

……………南原精一・紅林秀雄・田中 彰……95

高速液体クロマトグラフィーによるアイライナー中のパラオキシン安息香酸エステル類の定量

……………斉藤恵美子・木嶋敬二・武田明治……97

高速液体クロマトグラフィーによる、ベニバナ黄色素 (*Carthamus tinctorius* L. 抽出エキス)

および市販ベニバナ黄色素中のサフロミンA, Bの分析について ……合田幸広・鈴木淳子・義平邦利… 101

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) の脂肪組織への分布	高木篤也	105
新しい融点測定機の使用経験	岡田敏史・木村俊夫	107
<b>資 料</b>		
乱用薬物の現場検査キットの評価と改良	中原雄二	111
Production of Monoclonal Antibodies to Sheep Erythrocyte Antigens	沢田純一・寺尾允男	115
マイコキシンの化学分析に関する研究 (第19報) T-2 toxin の Enzyme Immunoassay		
による分析	五十畑悦子・豊田正武・斉藤行生	117
家庭用浄水器の衛生性に関する基礎的検討	杉田たき子・石綿 肇・高山澄江・一戸正勝	120
アルミニウム製なべからの食品擬似溶媒中への重金属の溶出	杉田たき子・石綿 肇・義平邦利	124
家庭用ボンコーン製造器の合成樹脂製部品からの溶出液の蒸発残留物試験		
	石綿 肇・杉田たき子・山本 都・山田 隆・義平邦利	126
食品添加物用タルクの抽出液の液性について	石綿 肇・杉田たき子・義平邦利	128
グリチルリチン酸の摂取量に関する研究 (第1法)	神蔵美枝子・中里圭子・谷村顕雄	130
規格基準設定のための冷凍野菜・果実類の真菌試験	成田紀子・鈴木明子・坂部フミ・宇田川俊一	136
国立衛生試験所リポフラビン標準品 (Control 871)	徳永裕司・福岡正道・田中 彰	139
国立衛生試験所アスコルビン酸標準品 (Control 861)	徳永裕司・福岡正道・田中 彰	141
業務報告		143
特別研究報告		180
誌上发表		204
行政報告		248
学会発表		255
衛試例会		271
昭和62年度に行った主な研究課題		277
国家検定および検査等の処理状況		285
国立衛生試験所標準品		295

## CONTENTS

## Review

Tadao TERAO: International Collaboration in Studying Immunotoxicity of Chemicals.....	1
---------------------------------------------------------------------------------------	---

## Originals

Yuji NAKAHARA and Ken TANAKA: Studies on Discrimination of Confiscated Cannabis Products by High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detector.....	11
Masakatsu ICHINOE, Hirotaka KONUMA, Amalia KARTASTISNA and Motoyoshi SATAKE: Microbial Contamination of Traditional Herbal Drugs in Indonesia.....	18
Masakatsu ICHINOE, Amalia KARTASTISNA, Kazuto HIRAI, Reiko TESHIMA and Hideharu IKEBUCHI: Aflatoxin Production of <i>Aspergillus flavus</i> Isolated from Indonesian Crude Herbal Drugs .....	25
Kazushige MORIMOTO, Masamichi FUKUOKA, Akira TANAKA, Ryohei HASEGAWA and Yuzo HAYASHI: Measurement of DNA Damage in Urinary Bladder Epithelium by Alkaline Elution Assay.....	29
Kiyoshi SEKITA, Yasushi KAWASAKI, Kiyoshi MATSUMOTO, Toshiaki OCHIAI, Yukio NAKAJI, Kazuo KOBAYASHI, Tuyoshi FURUYA, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE: Subacute Toxicity Study for Bis (2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether .....	33
Junko MOMMA, Koichi TAKADA, Yoshitaka AIDA, Hamako YOSHIMOTO, Katsushi NAITO, Yasuo SUZUKI, Yukio NAKAJI, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE: Combined Long-term Toxicity and Carcinogenicity Test of <i>p</i> -chloro- <i>m</i> -xylene (PCMX) Applied to Female Mouse Skin .....	39
Yukio OGAWA, Sachiko SUZUKI, Osayuki UCHIDA, Eiichi KAMATA, Minoru SAITO, Takashi UMEMURA, Masami WAKANA, Toyozo KANEKO, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE: 28-day Repeated Dose Toxicity Test for Clorpyrifos in Wister Rat.....	48
Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Srikandi DJAJALAKSANA and Akira TAKANAKA: Studies on the Teratogenic Potential of Sodium Dehydroacetate in Rats .....	54
Tomiyasu KUROSAKI, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Satoru TANAKA, Srikandi DJAJALAKSANA and Akira TAKANAKA: Effects of dibenzyltoluene on fetal developments of rats.....	61
Naoshi SHIMOJI, Yuko MATSUSHIMA, Katsumi IMAIDA, Ryohei HASEGAWA, Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI: Subchronic Oral Toxicity Study of Potassium Pyrophosphate as a Preliminary to Long-term Carcinogenicity Studies in F344 Rats .....	66
Takayoshi IMAZAWA, Naoshi SHIMOJI, Kazutoshi SHINODA, Katsumi IMAIDA, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: Application of X-Ray Analytical Scanning Electron Microscopy to the Detection of Asbestos in Talc .....	73
Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO, Hideaki OKAMIYA, Hiroshi ABE, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: Immunohistochemical Characterization of Pancreatic Endocrine Cells in the Newborn Hamster.....	78
Hideaki OKAMIYA, Takayoshi IMAZAWA, Hidetaka SATO, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hiroshi ONODERA, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: Application and Significance of X-Ray Analytical Scanning Electron Microscopy in Investigation of Rat Urinary Bladder Stones .....	82
Tetsuo KOMURO, Chikako YOMOTA, Ryuichi HASEGAWA, Hiroshi ISAKA and Toshio KIMURA: Studies on the Dissolution Behaviors of Indomethacin Extended-Release Capsules by the Flow-through Method .....	87

## Notes

Fan Ji-FEN, Rieko MATSUDA, Mumio ISHIBASHI and Yasushi TAKEDA: Determination of Prenylamine Lactate Tablets by High Performance Liquid Chromatography .....	91
Seiichi NAMBARA, Hideo KUREBAYASHI and Akira TANAKA: Hepatic ornithine decarboxylase	

activity of rats induced by administration of 2-nitro- <i>p</i> -cresol and sodium deoxycholate .....	95
Emiko SAITO, Keiji KIJIMA and Mitsuharu TAKEDA: Determination of Six Esters of <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid in Eye liner by High Speed Liquid Chromatography .....	97
Yukihiko GODA, Junko SUZUKI and Kunitoshi YOSHIHIRA: Studies on High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Sfllomin A and B in Safflower Yellow (the Extract of <i>Carthamus tinctorius</i> L.) and Commercial Safflower Yellows .....	101
Atsuya TAKAGI: Distribution of 2,2'-Methylenebis (4-ethyl-6- <i>tert</i> -butylphenol) in Rat Fat .....	105
Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Experience on Using a New Equipment for Measuring Melting Point .....	107
<b>Technical Data</b>	
Yuji NAKAHARA: Evaluation and Improvement of Field Test Kits for Identification of Abused Drugs .....	111
Jun-ichi SAWADA and Tadao TERAO: Production of Monoclonal Antibodies to Sheep Erythrocyte Antigens .....	115
Etsuko ISOHATA, Masatake TOYODA and Yukio SAITO: Studies on Chemical Analysis of Mycotoxin (XIX) Enzyme Immunoassay of T-2 toxin in Foods .....	117
Takiko SUGITA, Hajimu ISHIWATA, Sumie TAKAYAMA and Masakatu ICHINOE: Chemical and Microbiological Examinations of Home-Water Purifiers .....	120
Takiko SUGITA, Hajimu ISHIWATA and Kunitoshi YOSHIHIRA: Migration of Heavy Metals into Food-Simulating Solvents from Aluminum Pans .....	124
Hajimu ISHIWATA, Takiko SUGITA, Miyako YAMAMOTO, Takashi YAMADA and Kunitoshi YOSHIHIRA: Residue on Evaporation of the Migration Solution of the Plastic Part of Corn Poppers .....	126
Hajimu ISHIWATA, Takiko SUGITA and Kunitoshi YOSHIHIRA: pH of the Aqueous Extracts from Talc Prepared for the Food Additive .....	128
Mieko KAMIKURA, Keiko NAKAZATO and Akio TANIMURA: Estimation of Daily Intake of Glycyrrhizic Acid According to the Market Basket Studies in Japan (I) .....	130
Noriko NARITA, Meiko SUZUKI, Fumi SAKABE and Shun-ichi UDAGAWA: Mycological Survey of Frozen Vegetables and Fruits Products for Standardization Purpose .....	136
Hiroshi TOKUNAGA, Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA: Riboflavin Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hgzienic Sciences .....	139
Hiroshi TOKUNAGA, Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA: Ascorbic Acid Reference Standard (Control 861) of National Institute of Hygienic Sciences .....	141
<b>Annual Reports of Divisions</b> .....	143
<b>Reports of Collaborative Study</b> .....	180
<b>Summaries of Papers Published in Other Journals</b> .....	204
<b>Scientific Reports to Governmental Agencies</b> .....	248
<b>Titles of Speeches at Scientific Meetings</b> .....	255
<b>Seminars</b> .....	271
<b>Main Research Projects Carried Out in Fiscal year 1987</b> .....	277
<b>Survey of the Results of National Tests</b> .....	285
<b>Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences</b> .....	295

## 免疫毒性に関する国際共同研究

International Collaborative Immunotoxicity Programme を中心として

寺 尾 允 男

International Collaboration in Studying Immunotoxicity of Chemicals

Tadao TERAO

There are lines of evidence that the human immune system is influenced by exposure to a number of environmental pollutants and industrial chemicals.

In 1986 and 1988, technical review meetings were held in London as one of the activities of International Programme on Chemical Safety to develop predictive testing methods for the determination of immunotoxic potential of chemicals by international collaborative studies.

In this article, principle and toxicological and immunological methods discussed in these meetings to determine the immunotoxicity of chemicals are reviewed.

(Received May 31, 1988)

## はじめに

これまでに、免疫システムに効果を示す種々の医薬品が開発され、有効に利用されてきている。このことは、当然のことながら、医薬品以外の化学物質にも免疫システムに作用するものが存在する可能性を示すものである。この作用が生体にとって好ましくない場合には、その化学物質は免疫毒性を持つということになる。

免疫毒性の発現には化学物質が、1) 免疫システムに作用して、その機能を抑制または亢進する場合、2) 免疫システムの持つ特異的認識機構に認識され、アレルギーに代表される免疫応答反応が起こる場合、が考えられる。生体防御機構としての免疫システムの役割を考えると、毒性試験における一指標としての免疫毒性の重要性は明白である。

今日、免疫システムが関与しておこる生体反応の種類、あるいは免疫反応成立過程の輪郭の大部分は明らかにされている。免疫システムには多くの器官および細胞系が関与し、また、これらの器官や細胞間の情報伝達、あるいは機能調節に関与する因子も多く知られるようになってきた。さらに、免疫反応は動物種あるいはそれらの遺伝的要因、栄養やホルモン、神経系、生活環境などの内的、外的要因にも大きく左右されることも知られている。したがって、化学物質の示す免疫毒性は動物種、系統、投与量、測定法、選択する反

応指標など、必要な条件を一定にして試験を行わないと、正しい評価が困難となる。

国際化学物質安全性計画 (International Programme on Chemical Safety, IPCS) では、各国において行われる免疫毒性試験に資するため、どのような試験条件で、どのような指標について調べたら、免疫毒性を正確に評価できるか研究を行うため、1986年および1988年ロンドンにおいて専門家会議を開催し議論を進めてきたが、1988年から国際共同研究を実施することとなった。この計画は International Collaborative Immunotoxicity Programme (ICIP) と呼ばれている。これらの会議に関連して、まず1984年にルクセンブルグにおいて免疫毒性に関するセミナーが開催されているが、これについては帝京大学の沢保氏により内容が紹介されている<sup>1)</sup>。

本稿においては、上述のロンドンでの会議でどのようなことの討議がなされ、どのような内容の国際共同研究が実施されるかについて述べることにする。

## 免疫反応成立のしくみ

免疫反応成立のしくみは、最近のどのような免疫学の教科書にも述べられているので詳しいことはここではとり上げない。免疫毒性の観点から述べられた総説も書かれている<sup>2)</sup>。

ここでは全体像を参考のために簡単に Fig. 1 に示した。免疫反応に関与する細胞は大別するとリンパ球

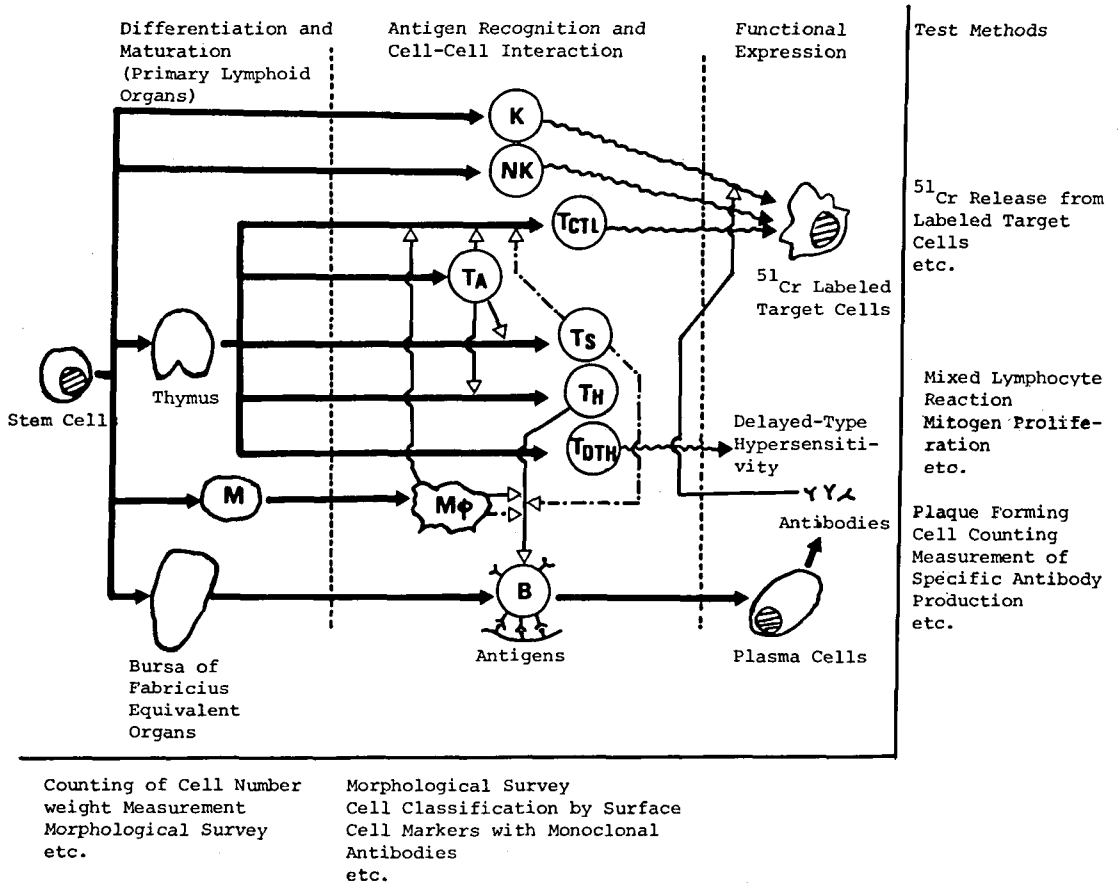


Fig. 1. Organization of the immune system

M; monocyte, M; macrophage, K; killer cell, NK; natural killer cell, TCTL; cytotoxic T cell (killer T cell), Ts; suppressor T cell, TH; helper T cell, TA; amplifier T cell, B; B cell  
 —▷; stimulation, .....▷; supprssion

とマクロファージである。胎生期には、これらの細胞の幹細胞は卵黄嚢と肝に含まれているが、發育するにしたがって骨髓への移行が起り、生後は骨髓が幹細胞の供給場所となる。骨髓からの幹細胞は胸腺に移行して、分化、増殖し、機能の異なるTリンパ球(T細胞)に成熟する。幹細胞からBリンパ球(B細胞)への分化増殖は、鳥類ではファブリキウス嚢で起こることが知られているが、哺乳動物では鳥類のように特定の器官は持っていないと考えられている。なお、パイエル板、孤在リンパ濾胞、虫垂リンパ濾胞などの腸管リンパ装置はBリンパ球が分泌型IgA産生細胞へ分化するうえで重要である。

このように骨髓由来の幹細胞は、それぞれの分化増殖器(第一次リンパ球器官)において分化成熟し、免疫担当細胞としての機能を持つようになる。このような細胞には、Fig. 1に示したようにT細胞、B細胞、

マクロファージ、K細胞、NK細胞など、それぞれ特有の機能をもつ細胞が知られている。T細胞は明確に機能および性質の異なるヘルパーT細胞(TH)、サブレッサーT細胞(Ts)、アンプリファイヤーT細胞(TA)、遅延型過敏症誘起T細胞(TDTH)、キラーT細胞(TCTL)などに分類される。体内に侵入したウィルスや微生物、発生した腫瘍細胞、あるいは時には移植された臓器片は、これらの免疫担当細胞により異物と認識され、それらの共同作業により排除される。この過程が我々に免疫現象としてとらえられるものであり、反応としては抗体産生、遅延型過敏症あるいは細胞障害性反応が知られている。

免疫反応のうち、抗体産生の際は脾臓、リンパ節および粘膜固有層である。抗体産生は血液中に入ってきた抗原では主として脾臓において行われ、リンパ管に入った抗原では、主としてリンパ管で行われる。



また、呼吸器、消化管あるいは乳腺など全身の粘膜固有層には、Bリンパ球から分化した分泌型IgA産生細胞も存在し、これらの細胞の産生するIgA抗体が粘膜感染防御を行っている。

化学物質による免疫毒性を評価する上では、免疫担当細胞の供給および分化成熟過程に関与する第一次リンパ器官さらに免疫反応の場としての第二次リンパ性器官に対する影響と、免疫担当細胞の量的あるいは質的变化にともなう免疫機能に対する影響についても検討する必要がある。前者はこれまで行われてきた毒性試験あるいはそれを多少拡大した試験で行うことができる。後者はこれまでの毒性試験で行われている病理検査を多少拡大することによっても情報が得られるが、さらに免疫機能試験を行う必要がある。

### 免疫毒性を有する化学物質にはどのようなものがあるか

1973年、米国ミシガン州において乳牛の飼料に酸化マグネシウムのつもりで、あやまって polybrominated biphenyls (PBB's) を配合してしまったことに起因する中毒事件が発生した。このための34,000頭以上の牛および150万羽以上のニワトリが被害を受けたといわれている。この間、肉や乳製品を介して附近の住民もPBB'sを三カ月から四年間にわたって摂取した。これらの人々および同様な生活環境に居住していたが、PBB'sの曝露を受けなかった人々の免疫機能を調査した結果が報告されている<sup>3)</sup>。PBB'sの曝露を受けた人々の中には、マイトージェンおよび混合リンパ球反応によるリンパ球の活性化反応試験において、T細胞およびB細胞の応答性が悪くなっている人が見出されている。この他、リンパ球の細胞表面マーカーによるリンパ球サブポピュレーション検査でもPBB's曝露グループでは異常が見られたと報告されている。これらの事実はPBB'sはヒトにおいても免疫機能に影響を与えることを示唆するものである。

1971年、米国ミズリー州では2,3,7,8 tetrachlorodibenzo *p*-dioxine (TCDD) を含んだスラッジを知らずに廃油と混ぜて道路にまいてしまったという事件があった。その後、TCDDは実験動物において免疫機能を強く抑制することが明らかにされてきたため、散布場所に居住しており、TCDD曝露が疑われた人々の免疫機能が詳細に調べられた<sup>4)</sup>。幸いなことに、曝露を受けたグループと受けていないグループの間では、T細胞のサブセットの間に統計的には有意とは思えない程度のわずかの差しか見られなかったが、TCDD長期にわたる曝露によって、遅延型過敏症に対して何

らかの影響があるかも知れないという疑いが持たれている。

Table 1にこれまでに主として実験動物を用いて調べられ、免疫システムに作用するものが明らかにされた代表的な化学物質のうち、医薬品を除いたものを掲げた。これらのあるものはヒトの免疫システムに対しても明らかとなっているものもある。

免疫毒性を示す化学物質では免疫抑制性を示すものが圧倒的に多いが、このような物質の曝露によって感染症や腫瘍の発生が高まると考えられる。一方、免疫亢進を示す化学物質の曝露によっては自己免疫の発症などの可能性が高まる。

一般に、免疫毒性を示す化学物質でも免疫システムにだけ特異的に作用するものはきわめて少ない。ジブチルスズ化合物に代表される有機スズ化合物はゲツ歯類動物において、かなり特異的に胸腺を標的臓器としてその萎縮をひき起こすことが知られている。

それではどのような試験法を用いたら、免疫システムへの障害を予知できだろうか。通常行われる化学物質の毒性試験では、標的臓器に対する毒性を試験している。もし通常の毒性試験において、免疫システムに関与する器官に対して特異的、非特異的を問わず何らかの障害を示す化学物質があったとすれば、その物質は免疫毒性を示す可能性が疑われる。したがって、適切な毒性指標を選択すれば、通常の毒性試験あるいはそれを多少拡大した試験により、比較的容易に免疫毒性をとらえることが可能であるかも知れない。

### ICIPにおける免疫毒性の基本的考え方

1986年ロンドンにおいて開催されたIPCSとCEC共催の免疫毒性試験法に関する専門家会議において、免疫毒性試験を如何に行うべきかについての討議がなされた。討議の内容および結論はその報告書<sup>5)</sup>に述べられているが、ここではその基本的考え方について述べる。

各国とも、化学物質の毒性は通常、急性、亜急性および慢性毒性にわけて試験されており、また、投与量も高、中、低の三種の用量で行われている。そこで専門家会議においても、基本的にはこれら通常の毒性試験により、まず化学物質の免疫システムへの影響の一次スクリーニングを実施し、必要な場合には特異的免疫機能試験を行うのが現実的であると考えている。もちろん、免疫システムの持つ複雑さを考慮すると、通常の毒性試験およびそれを拡大した試験だけでは、免疫毒性は完全には捉えられず、はじめから免疫毒性試

Table 1. Typical Chemicals Which Disturb Immune Functions of Rodents and Human

Chemical Class	Chemicals	Immune Disturbance		Targets (mode of action)
		rodents	man	
polyhalogenated aromatic hydrocarbons	TCDD <sup>4)</sup> , PCB <sup>6)</sup>	+	+	lymphocytes, macrophages, etc. (Ah receptor mediated)
	PBB <sup>3)</sup> , DDT <sup>7)</sup>			
	HCB <sup>8)</sup>			
	chlordecone (kepone)	+	NK	bone marrow cells, lymphocytes, macrophages, etc. (estrogen-like activity)
heavy metals <sup>10)</sup>	Pb, Cd, CH <sub>3</sub> HgCl	+	+	lymphocytes, macrophage etc.
polycyclic aromatic hydrocarbon <sup>11)</sup>	MC	+	+	lymphocytes, macrophages etc. (Ah receptor mediated)
	DMBA, B(a)P	+	NK	
organotins <sup>12)</sup>	DOTC, DBTC	+	NK	lymphocytes (T cell)
oxidant gases <sup>13)</sup> (air pollutants)	NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> , SO <sub>3</sub>	+	+	(nonspecific)
aromatic hydrocarbons	benzene <sup>14,15)</sup>	+	+	bone marrow etc.
others	asbestos <sup>16)</sup>	+	+	macrophages
	DES <sup>17)</sup>	+	+	bone marrow, lymphocytes, macrophages etc. (estrogen-like activity)
	zearalenone <sup>18)</sup>	+	NK	

NK; not known

TCDD; 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxine, PCB; polychlorinated biphenyls, PBB; polybrominated biphenyls, DDT; dichlorodiphenyltrichloroethane, HCB, hexachlorobenzene, MC; methylcholanthrene, DMBA; 7,12-dimethylbenz(a)anthracene, B(a)P; benzo(a)pyrene, DOTC, di-*n*-octyltin dichloride, DBTC; di-*n*-butyltin dichloride, DES; diethylstilbestrol

験の導入も必要であるとする意見もある。いずれにせよ、免疫毒性試験法を国際的に統一する場合、各国の試験機関でその方法にしたがって試験をしたとき、結果の再現性にすぐれ、信頼性の高いものでなければならない。ICIPの目的はこの点を明確にし、各国に受け入れられる試験法を設定することにある。

それではどのような指標が免疫毒性試験法に考えられるかについて考えてみる。

#### 1. 標的器官と免疫機能

通常、毒性試験はラットを用いて行われることが多いので、免疫毒性試験もラットを用いるのが他の毒性

試験結果との比較においても有利である。通常の毒性試験の範囲で観測されるもののうち、体重、白血球数およびヘモグロビン量、肝臓、胸腺、脾臓重量などは免疫毒性の指標となりうるものである。さらに、肝臓、胸腺、脾臓および下顎リンパ節などの組織学的所見も重要である。

もし、これらの検査結果から、少しでも疑いがもたれた場合には、必要に応じてさらに詳細に検査する必要がある。この場合必要となる検査項目を Table 2 に示してある。

これらの指標のいずれかに異常が見られた場合には、

Table 2. Immune system-related parameters evaluated in repeat-dose studies of 28 days or 90 days duration (Table 3 in Ref. 5 was slightly modified)

Haematology	Relative and absolute differential white blood cell counts (lymphocytes, monocytes, granulocytes, abnormal cells) c) Bone marrow cellularity a)
Blood Chemistry	Albumin/globulin ratio c) Immunoglobulin classes a)
Organ Weights	Thymus b) Spleen b) Lymph nodes (local and distant to the application site. a) brain (as a control)
Histopathology	Thymus c) Spleen c) Lymph nodes (local and distant to the application site) c) Bone marrow c) Peyer's patches a)

a) Methods not yet standardized and validated

b) Relevant parameter not yet included in most guidelines

c) Relevant parameter already included in most guidelines

その作用が化学物質の直接作用によるものか、あるいは間接作用によるものか検討する必要がある。間接作用によってこれらの指標に異常をひき起す原因としては次のものが考えられる。

- i) 栄養条件の低下による体重あるいは血清タンパク量の減少
- ii) タンパク合成阻害による血清タンパク量の減少あるいは酵素活性の低下
- iii) ストレスなどの原因によるステロイドあるいは他のホルモンの異常による生体機能の変調
- iv) 壊死や感染による炎症にともなう白血球の異常、マクロファージの活性化、リンパ節やパイエル板の形態学的異常
- v) 減形成あるいは溶血性貧血による赤血球数の減少、ヘモグロビン量の減少、骨髄あるいは脾臓の形態学的異常など。

もし、高用量投与群においても、上記試験データから免疫器官への特異的障害が疑われない場合には、それ以上の免疫毒性検査を行う必要がないと考えられる。しかし、これらの試験結果から、免疫システムに対する毒性が疑われる場合には、より詳細な検査が必要となる。これらの試験として免疫組織病理学試験 (immunohistopathological test) と免疫機能試験 (immunofunctional test) が必要である。

免疫組織病理学試験によっては、リンパ系細胞の数、サブポピュレーションおよび分布を知ることができる。手法としてはリンパ系細胞表面抗原に対するモノクローナル抗体を利用する方法あるいはフローサイトメトリーが用いられる。

免疫機能試験を実施するか否かの判断基準としては次の三条件が考えられる。

- i) 既に述べたように、亜急性毒性試験において、

Table 3. Functional methods available or requiring development in rats to assess immunotoxicity

Cell-Mediated Immunity	
Mixed lymphocyte reaction	a
Mitogen proliferation	b
Delayed hypersensitivity response	b,c
Cytotoxic T-lymphocyte	a
Antibody Mediated Immunity	
Antibody plaque forming cell response	a
Serum antibody titre to specific antigen	b,c
Natural Resistance	
Natural killer cell cytotoxicity	b
Macrophage phagocytosis and intracellular killing	b,a
Polymorphonuclear leucocyte function	a
Host Resistance Assessment Models	
Influenza virus	a
Listeria monocytogenes	b,c
Tumours	b (MADBI06)
Plasmodium	a
Trichinella	b,c

a) Further development required

b) Method(s) currently available, but not standardized or validated

c) Preferred method(s)

免疫毒性を持つことが疑われたもの。

ii) 免疫毒性を持つことが知られている化学物質と構造が類似し、この点から免疫毒性が疑われるもの

iii) ヒトの健康に対する影響が特に懸念される化学物質

Table 3 に免疫機能試験をラットを用いて行う場合可能な試験項目が示してある。これらのうちからどの試験を選択するかは、どのような免疫機能を試験するかによるが、いずれの試験法も標準化され、方法として妥当性が検討されたものであることが望ましい。

先に、免疫毒性はラットを用いて行うのが適当であることを述べたが、Table 3 から明らかのようにこ

こで問題となるのは、これまでの免疫学は実験動物として主としてマウスを用いて行われてきており、ラットを用いた研究は比較的少なく、これから解決しなければならない点も多いことである。リンパ球表面特異抗原に対するモノクローナル抗体も、マウスでは種々のものが市販されており、これらを用いて形態学的には区別のつかないリンパ球でも区別することができるが、ラットでは残念ながらこのようなモノクローナル抗体はまだ充分に開発されていない。今後、ラットを用いる免疫学的試験法の開発が強く望まれる。

## 2. 過敏症 (hypersensitivity)

1. では免疫システムに作用して正常の免疫反応に影響を与える化学物質を通常の毒性試験あるいはそれ

をもう少し拡大することにより、如何に検査するかについて述べた。この場合には、免疫反応から見ると化学物質は主役とはいえない。

しかし、化学物質によって引き起こされる過敏症の場合には、この物質が反応の主役となる。1. で述べた試験方法では過敏症を予測することは困難であり、別の試験法を用いる必要がある。

ヒトにおける過敏症を簡単に確実に予測できるよい実験系はない\*。わずかに、接触感作試験、免疫複合体の沈着によって起きる過敏症が臨床免疫のおよび組織病理学試験によって調べられるのみである。リンパ系器官を調べたり、IgEなどの量を測定することによってもある程度の予測はつくかも知れないが、確実というわけには行かない。赤血球などの非リンパ系細胞や糸球体基底膜などで損傷を受けた部位に免疫グロブリンが存在すれば過敏症の可能性が疑われる。

低分子物質が過敏症をひき起こすためには、タンパクなどの生体高分子物質と共有結合する必要がある。したがって、化学物質あるいはその代謝物が化学的に反応性に富み、生体高分子と結合し得る場合には、その物質は過敏症をひき起こす可能性が高い。よく知られた例がペニシリンである。

IPCS の免疫毒性専門家会議では、以上にのべた点を考慮に入れ、過敏症は 1. で述べた通常の免疫毒性試験法の流れの中で試験することは困難であると判断している。

### 3. 自己免疫 (autoimmunity)

免疫応答は機能の異なる免疫担当細胞の作用のバランスが保たれることによって成り立っている。T細胞サブセットのうち、サブレッサーT細胞は免疫応答が過剰に起こることを調節し、生体にとって好ましい範囲での免疫反応が起こるための役目をはたしている。

化学物質によってプレッサーT細胞の機能や免疫寛容 (tolerance) 機構が破壊されると、自己免疫の発症の可能性が高まる。

自己免疫では抗核抗体や細胞表面抗原に対する自己抗体の生成が知られている。これらの自己抗体は疾病の原因なのか、結果なのか必ずしも明らかではないが、自己抗体は *in vitro* 試験でも知ることができるし、毒性病理試験を詳しく行うことによっても検査することは可能である。

以上のような一般的議論をふまえて、1986年のIPCS 免疫毒性専門家会議における結論は次のような

ものであった。これまで述べてきたことと一部重複する点があるが簡単にのべる。

1) 異物 (xenobiotics) による曝露により免疫システムが障害を受けると、状況次第では感染症が起きやすくなったり、発癌あるいは皮膚や気道における過敏症発症の危険性が高まること、以前にも増して明らかとなってきている。

2) 免疫システムは複雑なものであるため、化学物質のもつ免疫毒性は単純に固定した一つの試験法では評価できないであろう。このためには、個々の状況に応じた組織だった研究方法が必要であるが、これには毒性学者と免疫学者との共同研究が必要である。

3) 免疫毒性には過敏症の例が一番多いと思われるが、皮膚感作試験を除いては、現在のところよい試験法がない。一方、その他の免疫毒性を試験する良い方法は数多く知られているので、これらの方法を系統的に検討して、かつて変異原性を Ames テストで試験することを決めた際行ったと同様に、国際的なバリデーションを行うことが望ましい。

4) 従来行われている急性、亜急性および慢性毒性試験の範囲内で免疫毒性も評価する方法を開発することが可能と思われる。免疫毒性を示す場合には通常の毒性試験で得られる結果によって、まずその徴候が得られるであろうし、その場合には毒性試験をさらに拡大して行うことが必要となる。

この試験によって免疫毒性ありとされたものは、さらに特異性の高い試験を行うことになる。この試験は問題の化学物質がどのような異常を示したか、あるいはどのような使用のされ方をするかによって決るべきものである。

5) この場合には有用性が確認されている特異試験法を採用する必要がある。通常、毒性試験はラットが用いられているので、特異試験もまずラットにおいて開発されることが望ましいし、また、これらの試験は免疫機能試験であることが望まれる。

6) 免疫学のトレーニングを受けた毒性学者や病理学者が少ないことが、免疫毒性学分野の進歩の妨げになっていることは明白である。このためのトレーニング計画を早急に作成することが望まれる。

7) 化学物質が免疫機能を損うことを、臨床医にもっと注意を喚起する必要がある。免疫毒性をもつ化学物質に曝露されることによって起こる疾患を明らかにし診断するためには、臨床医と研究者はもっと共同研究を進める必要がある。この分野に必要な教育計画を常に立案して行くことが急務である。

8) 過敏症や自己免疫疾患の原因となる物質の前臨

\* 最近、我国において抗原性試験のガイドライン案が作成されている。

床の標準評価法の開発のためには、基礎および臨床研究をもっと行う必要がある。

9) 免疫試験法の多くは技術的にデリケートであること、およびこれらの試験法の開発は国際的にも関心が高いことから、特にバリデーションの研究では、実験設備あるいは品質についての保証といった問題に関して、国際的に共通なクライテリアを設定する必要がある。

10) 結論として、免疫毒性を研究するうえで最も重要で現実的な第一歩は、免疫組織を詳細に組織病理学的試験により検討することによって、免疫システムに対する化学物質の毒性障害をはっきりととらえることができるかどうか検討することであろう。そこで、数機関程度の小数の研究機関において、小数の免疫毒性物質を用いて比較実験を行うための研究計画を立案することを強く推奨する。

#### 国際共同研究の具体的内容

上に述べてきた1986年の専門家会議での結論をうけて、1988年に具体的研究内容を検討する専門家会議が開かれた。この会議に参加した研究機関は、ここで決定されたプロトコールおよび項目に忠実に従い研究を行い、1989年にデータを持ち寄り、比較検討を行い、試験法のバリデーションを行うこととなっている。参加国は日本、米国、英国、カナダ、ソ連、フランス、西ドイツ、オランダ、ルクセンブルグ、スイス、イスラエル、チェコ、ハンガリー、インド、イタリア、デンマークの16ヶ国である。同一国から複数の研究機関が参加していることもあるので、研究への参加機関は国数より多くなる見込みである。我国では国立衛生試験所がこの研究に参加している。この研究計画は International Collaborative Immunotoxicity Programme (ICIP) と呼ばれている。

ICIP の目的は、これまでに述べてきた1986年の IPCS 免疫毒性専門家会議で結論された研究目的と本質的に同じである。即ち、化学物質によって免疫システムに引き起こされる障害を、毒性検査において行われている通常の病理試験 (conventional pathology test)、これを拡大した病理試験 (enhanced pathology test) およびいくつかの免疫機能試験によって、ラットを用いてどの程度有効に確認できるかを参加研究機関で調べ、用いる試験法のバリデーションを行うことである。このため、試験項目および方法の統一がなされた。以下、この会議において討議された内容および決定事項についてのべる。

#### 1. 対象化合物

研究に用いる化学物質の選択にあたっては次のいくつかの条件が設定された。即ち、免疫毒性を有すること、入手が容易であること、化学的に安定であること、飼料に混ぜて経口的に投与できること、発癌性その他の毒性が強くないこと、研究に従事する人に危険を与えないこと、などである。これにより、シクロホスファミド (cyclophosphamide)、コルチゾン (cortisone)、トリブチルスズオキシド (tributyltin oxide)、アザチオプリン (azathioprine)、ベノミール (benomyl)、ジエチルスチルベステロール (diethylstilbestrol)、ヘキサクロロベンゼン (hexachlorobenzene) などが候補にあげられたが、ベノミールおよびヘキサクロロベンゼンはヒトに対する免疫毒性作用がはっきりしないこと、コルチゾンは細胞毒性が強くと本研究の目的には適当でないこと、化学的な取り扱い易さを考慮して、対象物質としてアザチオプリンを用いることとした。アザチオプリンは英国 ICI 社が各国に同一ロットのものを配布することとなっている。

#### 2. 実験動物

通常行われている毒性試験のなかで可能なかぎり免疫毒性を評価していこうという考え方にに基づき、実験動物としてラットを用いることとした。免疫システムは遺伝的要因に左右されることが知られているので、ラットの系統を統一することが望まれる。そこで本研究では雄の F344 を用いることになっている。しかし、研究機関によっては F344 は使用できないところもあるので、この場合には Wistar などの使用も認められている。

アザチオプリンと同様、動物も特定の機関から供給されたものを使用するのが理想的であるが、これには多大な困難が伴ない現実的でない。そこで動物の入手先は各機関にまかせられないでいる。

#### 3. 投与方法および投与量

投与は経口投与とする。投与日数は 5 day/week とするか 7 days/week にする議論された。労働環境での現実的な曝露条件、および研究室で実際に動物に投与する人の労働条件を考えると 5 days/week がよいという意見が出されたが、化学物質による曝露は労働環境ばかりによるものではないこと、および科学的厳密さから考えた場合には 7 days/week とする方がよいと判断され、4 週連続投与と決定された。

投与量は最大耐量 (MTD) から決めることとする。ラットの飼育条件あるいは飼料によって MTD には多少の差が出ることが考えられるので、まず各研究機関は対象化学物質の MTD を決める必要がある。

MTD は化学物質を28日間連続投与したとき、体重増加に10%の遅れを生ずる量と定義される。詳細は OECD のガイドラインにしたがって行うこととした。

MTD が決定したら、MTD, 1/3 MTD, 1/10 MTD の3用量を投与し、他に賦型剤のみを与えたものをブランクとする。

#### 4. 通常病理試験 (conventional pathology test)

28日間の連続投与後、CO<sub>2</sub> 麻酔したラットを屠殺し、体重、血液中の白血球数およびヘモグロビン量を測定する。また、肝臓と脾臓の重量を測定するとともに、これらの臓器および下顎リンパ節の組織学的研究を行う。その他、必要に応じて他の検査も行う。

#### 5. 拡大病理試験 (enhanced pathology test)

赤血球数、ヘモグロビン量およびこれらに関連する指標の測定を行う。また、白血球数および200個の白血球につきその種類を調べ、形態についても検査する。

体重、肝臓、脾臓、胸腺、脳、下顎リンパ節および膝窩リンパ節の重量を測定する。脳重量は重量変化の少ない臓器の代表として測定する。

大腿骨髄細胞数 (1 mm<sup>3</sup> 当りの有核細胞数)、胸腺、脾臓、骨髄、リンパ節(下顎、腸間膜、膝窩など)、固有層、およびパイエル板 (jejunum および ileum からの)、肺、結腸中位の組織病理試験。

以上の検査に加えて、もし可能なら次の点についても検査する。

末梢血、胸腺、脾臓およびリンパ節の T, B 細胞およびマクロファージの特異的染色および計数。脾臓およびリンパ節の T および B 細胞支配領域の検査。

#### 6. 免疫機能試験 (immunofunctional test)

表3に免疫機能に関連する試験法、およびラットでの試験法としての現況について述べてある。これらのうちから、体液性免疫、細胞性免疫および自然抵抗機能についての試験法が検討された。

体液性免疫機能試験ではヒツジ赤血球を抗原として、特異抗体の産生を ELISA 法により測定する方法と、ブランク形成細胞 (PFC) の測定方法について検討した。ELISA 法による特異抗体の測定は、試薬の入手などに問題があるので PFC 測定を実施することとなった。

細胞性免疫機能試験ではマイトージョンによるリンパ球幼若化試験および混合リンパ球反応 (mixed lymphocyte reaction) が検討された。後者の方が特異性にすぐれているので、これを行うこととした。

自己防御機構に関連する自然抵抗機能に対する化学物質の影響を調べるにはナチュラルキラー細胞 (NK 細胞) の活性を測定し評価することとした。<sup>51</sup>Cr で標

識した YAC-1 を標的細胞として、脾臓細胞中の NK 細胞による <sup>51</sup>Cr の遊離を測定する。

Table 3 にはこの他まだ多くの免疫機能試験法が示されているが、これらは今後の検討対象として残してある。

#### おわりに

以上が1988年4月ロンドンで開催された ICIP の会議で決められた内容である。ここでとり決められた試験法に基づいて得られる結果は、定量的なものもあれば定性的なものもある。各研究機関で得られる定量的研究結果は直接比較検討することが可能である。一方、定性的な結果しか出しにくい試験による結果は、直接比較が困難である。第1回目の研究結果の検討会議が1989年に開かれる予定であるので、この点に関する判定基準もこの時点に明確にされると思われる。

おわりに、この国際共同研究は、我国では衛生試験所が担当することとなっており、二種の病理試験および免疫機能試験としては PFC と NK 活性の試験を行うこととなっている。

なお、国際共同研究の具体的試験内容および参加機関は多少変更があるかも知れない。

#### 文 献

- 1) 大沢基保：トキシコロジーフォーラム，8，609 (1985)
- 2) 大沢基保：トキシコロジーフォーラム，9，546 (1986)
- 3) H. A. Anderson *et al.*: *Science*, 199, 1207 (1978)
- 4) R. E. Hoffman *et al.*: *JAMA*, 255, 2031 (1986)
- 5) Immunotoxicology: Development of Predictive Testing for Determining the Immunotoxic Potential of Chemicals, Report of a Technical Review Meeting, London 3-5 November 1986
- 6) K. J. Chang *et al.*: *Environ. Res.*, 28, 329 (1982)
- 7) R. P. Sherma, M. G. Zeeman: *J. Immunopharmacol.*, 2, 285 (1980)
- 8) P. T. Thomas, R. E. Faith: "Immunotoxicology and Immunopharmacology" ed. by J. H. Dean, M. I. Luster, A. E. Munson, H. Amos, p. 305 (1985), Raven Press
- 9) M. I. Luster *et al.*: "Immunotoxicology and Immunopharmacology" ed. by J. H. Dean, M. I. Luster, A. E. Munson, H. Amos, p. 316 (1985), Raven Press
- 10) 大沢基保：医学のあゆみ，136，89 (1986)
- 11) P. E. Bigazzi: "Immunotoxicology and Immunopharmacology" ed. by J. H. Dean, M. I. Luster, A. E. Munson, H. Amos, p. 316 (1985), Raven Press
- 12) J. D. Vos *et al.*, "Immunopharmacology" ed. by

- J. H. Dean, M. I. Luster, A. E. Munson, H. Amos, p. 277(1985), Raven Press
- 13) J. A. Graham, D. E. Gardner: "Immunotoxicology and Immunopharmacology" ed. by J. H. Dean, M. I. Luster, A. E. Munson, H. Amos, p. 367(1985) Raven Press
- 14) A. Lange *et al.*, *Int. Arch. Arbeitsmed.*, 31, 37 (1973)
- 15) W. Denkhaus *et al.*, *Int. Arch. Occup. Environ. Hlth.*, 57, 109(1986)
- 16) F. Lew *et al.*, *J. Clin. Immunol.*, 6, 225(1986)
- 17) T. Kalland: "Immunotoxicology and Immunopharmacology" ed. by J. H. Dean, M. I. Luster, A. E. Munson, H. Amos, p. 407 (1985), Raven Press
- 18) M. I. Luster *et al.*, *Int. J. Immunopharmacol.*, 6, 287(1984)



## 電気化学検出・高速液体クロマトグラフィーを用いた押収大麻の 識別に関する研究

中原雄二・田中 謙\*<sup>1</sup>

### Studies on Discrimination of Confiscated Cannabis Products by High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detector

Yuji NAKAHARA and Ken TANAKA\*<sup>1</sup>

Discrimination of confiscated cannabis products was studied with a high performance liquid chromatography (HPLC) with electrochemical detector (ECD). Comparisons and chemotaxonomical differentiation of 11 samples were done on the basis of HPLC-cannabinoid profiles. As a result, cannabis products grown in three districts of Japan, Columbia, Philippine and Nepal were apparently discriminated from each other. The stability of cannabinoids in cannabis products at room temperature, 4°C and -20°C was also examined. After 16 months, it was found that 90% of original tetrahydrocannabinol (THC) still remained at -20°C, 50% and 28% of original THC had decomposed at room temperature and 4°C, respectively. Almost all of the decomposed THC had changed to cannabinol by air oxidation.

(Received May 31, 1988)

#### はじめに

大麻は、世界的に乱用されており、乱用薬物の中で最も乱用者が多く、2億人を超えると言われている。我が国でも大麻事犯が急増しており、様々な産地の大麻が海外から入って来ている。そのため、密輸ルートの解明や国内での流通ルートの解明に、押収大麻の識別が必要となっている。

大麻草 (*Cannabis sativa* L.) は、世界各地において生育しており、気候、風土、気温、等により、大麻特有の成分であるカンナビノイドの含有量、比率や組成が著しく異なることが知られている<sup>1,2)</sup>。さらに、大麻草の採取時期<sup>3,4)</sup>や保存状態や保存期間<sup>5,6)</sup>によっても、成分の含有率や含有量が異なることも報告されている。Al-Hakawati ら<sup>7)</sup> は、主成分の THC, CBN および CBD の含有比率により、ドラッグ型、中間型および繊維型に分ける分類法を報告しているが、その分類法だけでは多種多様な押収大麻を識別することは困難である。

大麻試料の分析法は、TLC<sup>8)</sup>、GC<sup>9,10)</sup>、GC/MS<sup>11)</sup>、HPLC<sup>12,13)</sup> など多くの方法が報告されているが、識

別に関しては数種のカンナビノイドを比較しているに過ぎない。著者らは先に電気化学検出 (ECD) を用いる HPLC 法により15種類以上のカンナビノイドおよびカンナビノイド酸を同時に定量する方法を報告<sup>14)</sup>している。この方法を用いて、大麻の産地、起源、由来の化学的識別のための基礎データを得ることを目的として研究を行ったところ興味ある結果を得たので報告する。また、保存状態による成分の経時変化もあわせて報告する。

#### 実験方法

##### 1. 実験材料と試葉

大麻およびハッシシは、警察で押収されたものの内、下記に示すように、主に産地が判明したものをを用いた。

- ① 北海道産：北海道産大麻の葉部
- ② 北海道産：北海道産大麻の雄花
- ③ 北海道産：北海道産大麻の雌花
- ④ 栃木産：栃木産大麻の葉部
- ⑤ 東京産：東京で密栽培されていた大麻の葉部
- ⑥ とちぎしろ：CBDA 種大麻の葉部
- ⑦ コロンビア産：コロンビア産大麻で採取後数年経過したもの

\*<sup>1</sup> 科学警察研究所

- ⑧ フィリピン産：フィリピン産大麻の葉部
- ⑨ 産地不明大麻の葉部1
- ⑩ 産地不明大麻の葉部2
- ⑪ ネパール産ハッシン

試薬，溶媒は，市販の特級試薬を用いた。

用いた大麻成分（テトラヒドロカンナビノール：

THC，カンナビノール：CBN，カンナビジオール：CBD，カンナビクロメン：CBC，テトラヒドロカンナビリン：THCV，カンナビゲロールモノメチルエーテル：CBGM，とそれらのカンナビノイド酸）は，一部を除き米国国立薬物乱用研究所を通じリサーチトライアングル研究所より贈与されたものを用いた。

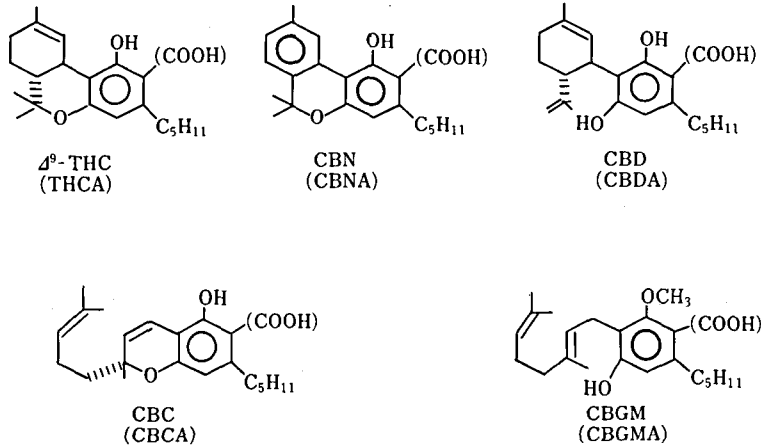


Fig. 1. Structures of major cannabinoids in *Cannabis sativa* L.

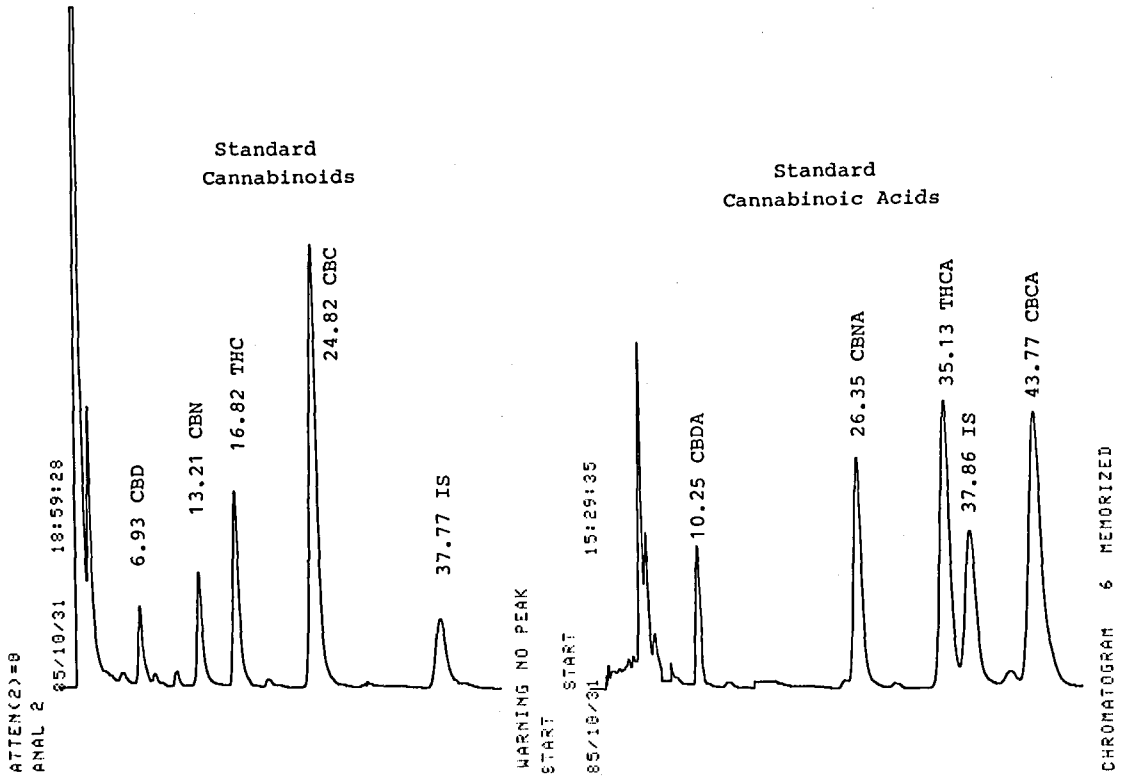


Fig. 2. Standard HPLC chromatograms of cannabinoids and cannabinoic acids

Fig. 1 に主なカンナビノイドの構造を示す。

2. 検量線

各カンナビノイドの 1 mg/ml メタノール溶液を調整する。別に、内部標準としてドデシル- $\alpha$ -ヒドロキシ安息香酸 0.13 mg/ml を含むメタノール：水(9：1)溶液を作り、1~500  $\mu$ g/ml の範囲の検量線を作製した。

3. 分析機器と測定条件

用いた分析機器と測定条件を下記に示す。

装置：島津 LC-6A 高速液体クロマトグラフ

カラム：Waters NOVA pak C18, 15 cm  $\times$  3.9 mm

i. d.

Detector: Irica E-502 電気化学検出器, 設定電圧 +1.0 V (vs. Ag/AgCl)

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN : methanol : 0.02N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5 : 4 : 3), 1.8 ml/min.

この条件で測定した標準試料のクロマトグラムを Fig. 2 に示す。

4. 抽出(試料調整)

大麻草を約 10 mg, ハッシンを約 1 mg とり、10 ml の共栓付き試験管に入れ、IS を含むメタノール：水(9：1) 1 ml を加え、2 分間ボルテックスミキサーにて振とう抽出した後、1 分間遠心してその上澄液 5  $\mu$ l を HPLC に注入する。

5. 分析精度と再現性

本法による分析精度を見るために、①北海道産と⑥コロンビア産を各 10 mg それぞれ 10 試料取り、各成分を定量し、標準偏差と変動係数を求めた。

6. 産地の識別

11種類の大麻試料のカンナビノイド成分の乾燥重量に対する含有率を求め、主に THC, THCA, CBN, CBNA, CBD, CBDA, CBC, CBCA の成分比を図形化して比較し、さらに特徴的な成分をもとに識別可能かどうか調べた。

7. 保存状態の違いによる大麻成分の経時変化

栃木産大麻の葉部を乾燥後、室温、冷蔵庫(4 $^{\circ}$ C)、冷凍庫(-20 $^{\circ}$ C)の3条件で16ヵ月保存し、最初の6ヵ月は1ヵ月毎、その後は2ヵ月毎に成分の変化を調べた。

結果と考察

1. 分析精度と再現性

本法における分析精度と再現性を北海道産とコロンビア産について調べた結果を Table 1 に示す。成分により CV 値(3.79~16.5%)に大きな違いが見られるが、おおむね10%以下であった。

2. 11種類の大麻試料の測定結果

本法を用いて11種類の大麻試料を分析した結果を Table 2 に、代表的な HPLC クロマトグラムを Fig. 3~5 に示す。

Fig. 3 は北海道産の雄花と雌花のクロマトグラムである。雌花の方が THCA の含有量が多いのが特徴的である。

Fig. 4 は栃木産の大麻(THCA 種)と THC をほとんど含有しない“とちぎしろ”(CBDA 種)のクロマトグラムである。栃木産は CBC が比較的多く、

Table 1. Reproducibility of HPLC-ECD analysis for cannabinoids in plants

	Hokkaido			Columbia		
	Av	$\pm$ SD	CV(%)	Av	$\pm$ SD	CV(%)
THC	1.31	0.07	5.34	0.30	0.02	6.67
CBN	0.49	0.05	10.20	2.26	0.19	8.41
CBC	0.29	0.02	6.90	0.23	0.02	8.70
CBD	0.12	0.01	8.33	0.19	0.02	10.53
THCA	0.68	0.05	7.35	0.55	0.05	9.09
CBNA	0.16	0.005	3.12	0.67	0.05	7.46
CBCA	0.19	0.01	5.26	0.09	0.007	7.78
CBDA	0.11	0.01	9.09	0.32	0.02	6.25

Table 2. Cannabinoid contents (% dry weight) of eleven cannabis products

Sample	THC	THCA	CBN	CBNA	CBD	CBDA	CBC	CBCA	others
Hokkaido* <sup>1</sup>	1.31	0.68	0.49	0.16	0.12	0.11	0.29	0.19	
male fl* <sup>2</sup>	0.64	0.73	0.22	0.26	0.16	0.41	0.09	0.20	
female fl* <sup>2</sup>	0.58	1.59	0.42	0.73	0.16	0.47	0.06	0.30	
Tochigi* <sup>1</sup>	0.95	0.39	0.65	--	0.07	0.23	0.61	0.54	CBGM, CBGMA
Tokyo* <sup>1</sup>	1.15	0.83	0.10	0.08	0.13	0.13	0.10	0.22	
Tochigishiro* <sup>1</sup>	t	t	t	--	0.13	0.04	t	--	
Columbia(old)* <sup>1</sup>	0.30	0.55	2.62	0.67	0.19	0.31	0.23	0.09	
Philippine* <sup>1</sup>	0.89	0.23	0.81	0.19	0.24	0.16	0.23	0.05	
Unknown-1* <sup>1</sup>	0.17	0.86	1.83	0.96	0.07	0.08	0.11	0.05	
Unknown-2* <sup>1</sup>	1.03	0.31	1.52	0.35	0.28	0.15	0.33	0.15	
Nepal hash* <sup>3</sup>	8.17	0.95	0.59	0.12	2.78	0.77	0.51	0.34	THCV, CBDV

\*<sup>1</sup>:leaves, \*<sup>2</sup>:flower, \*<sup>3</sup>:hashish

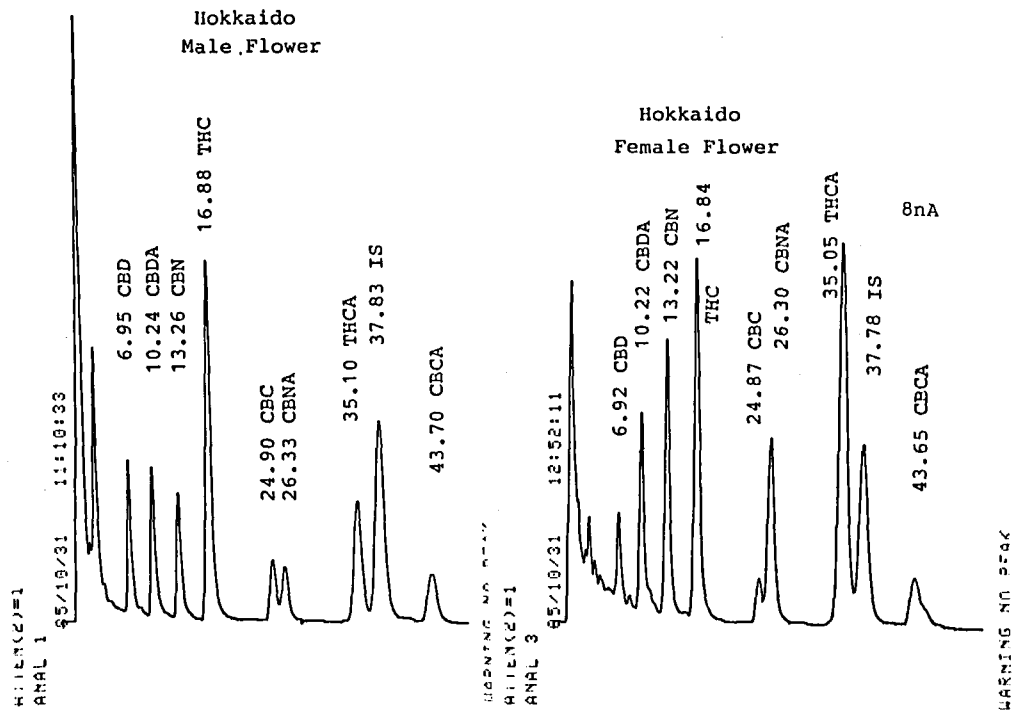


Fig. 3. HPLC chromatograms of extracts from male and female flower of cannabis in Hokkaido

CBGM および CBGMA の含有が特徴的であるが、“とちぎしろ”は THC をわずかながら含んでいるにすぎなく、主成分は CBD であることが判る。また、とちぎしろは相対的にカンナビノイド含量が少ない。

Fig. 5 はネパール産のハッシュシのクロマトグラムであるが、THCV および CBDV などのプロピル同族

体を含有するのが特徴で、圧倒的に THC を多く含むとともに CBD を多く含んでいる。

### 3. 識別のための図形化

Fig. 6 は日本の3ヵ所で生育した大麻中のカンナビノイド含量の図形化による比較である。栃木産は他のものと比べ CBC, CBCA が多く、さらに CBGM の

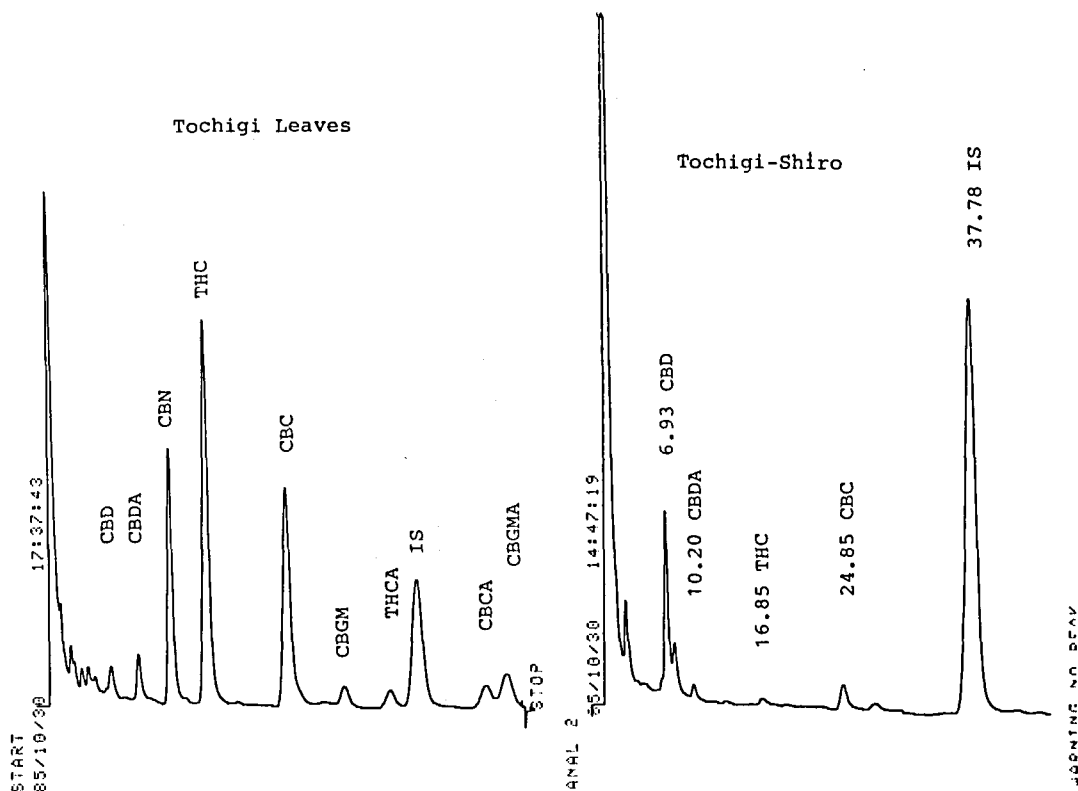


Fig. 4. HPLC chromatograms of extracts from tochigi cannabis leaves and tochigishiro leaves

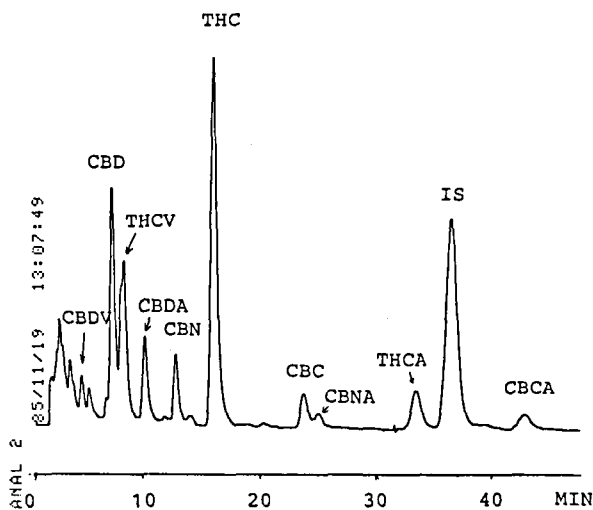


Fig. 5. HPLC chromatograms of extract from nepal hashish

存在が特徴的である。東京産は特に若草であるため、THCA の含有率が高い。北海道産も他の2つのものとの違いが判るが、葉部、雄花、雌花も図形化すると識別しやすくなる。

Fig. 7 は外国産と産地不明の大麻製品の図形化による比較を示す。フィリピン産は THC と CBN を、ネパール産ハッシュは THC と CBD を主体に含有し、後者はさらに THCV と CBDV を含む。産地不

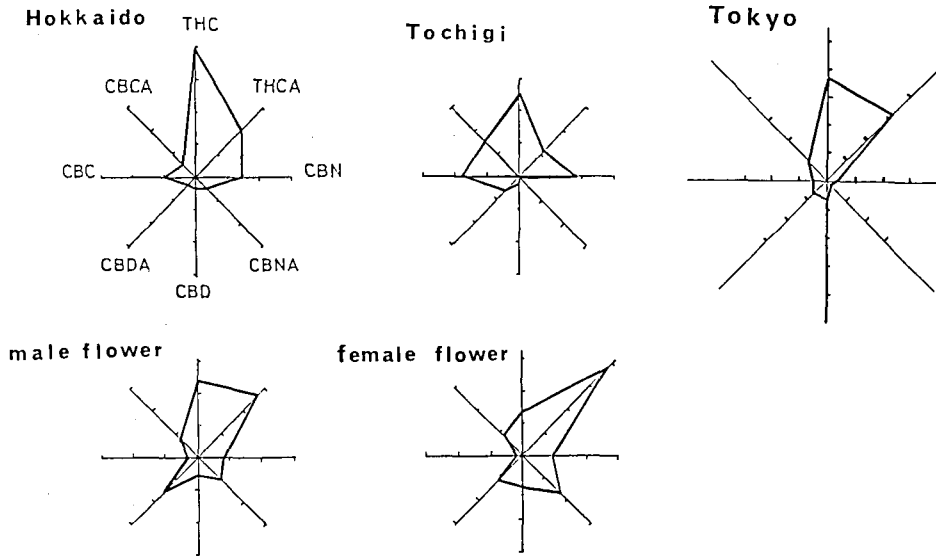


Fig. 6. Diagrams based on HPLC cannabinoids profiles of cannabis grown in japan

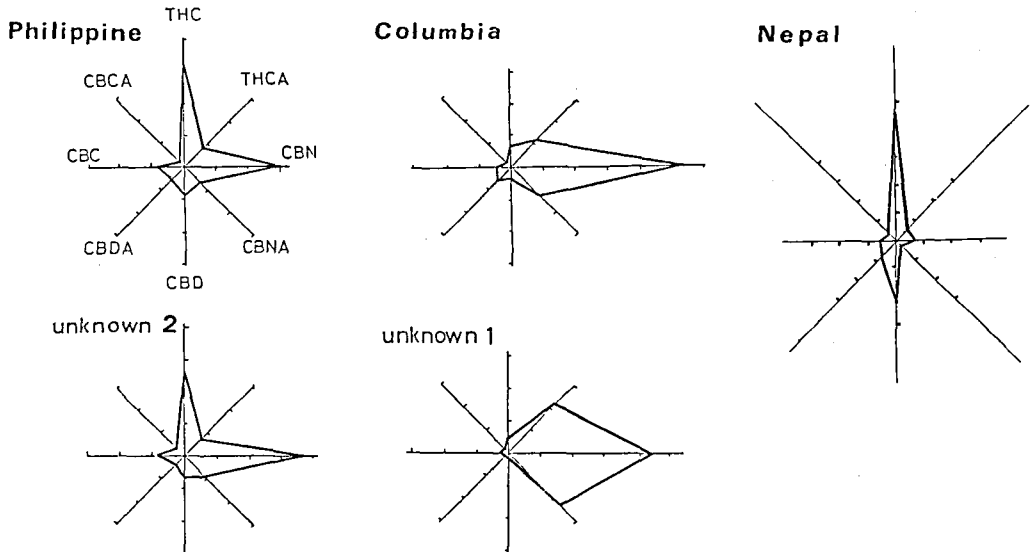


Fig. 7. Diagrams based on HPLC profiles of foreign cannabis

明の1はコロンビア産に類似し、2はフィリピン産に類似している。

#### 4. 保存状態による成分の変化

Fig. 8は大麻草を室温で放置した時の経時変化をHPLCクロマトグラムで示したものである。時間の経過とともに、THCが減少し、反対にCBNが増加することが判る。

Table 3は、室温、4℃、-20℃で保存した時のTHC含有量の変化を初期の量を100%として示した

ものである。-20℃の保存の場合、16ヵ月後でも初期のTHCの90%以上が残っているが、4℃では、5ヵ月経過後初期のTHCの90%以下となり、16ヵ月後には初期の72%となった。

室温放置では、変化が最も著しく、3ヵ月後で初期の90%を下回り、16ヵ月後では初期のTHC量の50%になった。

Table 4は、CBNの変化を調べたもので、CBNは時間の経過と共に増加していき、16ヵ月後には初期値

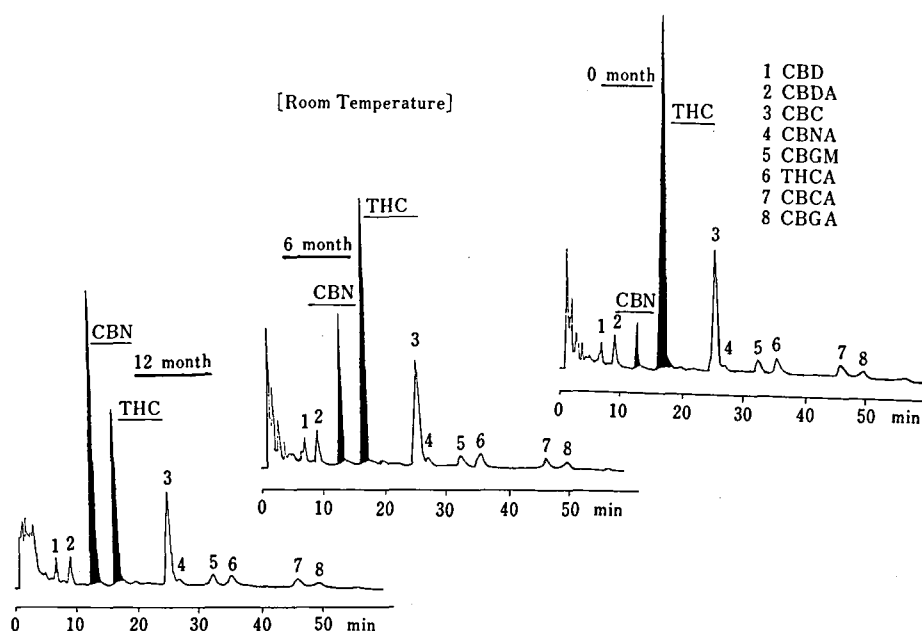


Fig. 8. Change of cannabinoid contents on room temperature storage

Table 3. Time course of THC-content in various storage conditions (original CBN=100%)

Mo.	room temp	4 °C	-20 °C
0	100	100	100
1	98	99.4	100
2	96	97.5	100
3	92	95	99.5
4	87	93	99
5	82	91	98
6	77	88	97
8	69	82	96.5
10	62	78	94
12	57	75	92
14	53	73	91
16	50	72	91

Table 4. Time course of CBN content in various storage conditions (original CBN=100%)

Mo.	room temp	4 °C	-20 °C
0	100	100	100
1	102	100	100
2	104	102	100
3	108	105	100
4	112	107	101
5	116	108	102
6	120	111	103
8	128	116	103
10	134	120	105
12	139	123	107
14	141	124	108
16	143	125	109

の140%以上となり、THCの減少と表裏一体の関係を示した。THCが空気酸化を受けてCBNに変化することはすでに知られており<sup>15)</sup>、THCとCBNの比が大麻試料の採取後の期間を推定するための目安となるものと考えられる。

## 結 語

- 15種類以上の大麻成分を単純で迅速な前処理で一斉に分析することが可能となった。
- 11種類の大麻試料の分析の結果、産地により、成分の量や組成に違いが認められ、それぞれを識別す

ることが可能であった。

3. 主な成分の含有率の図形化により、類似点や相違点の比較が容易になった。

4. 保存状態により、THC や CBN の含有量に著しい変化をもたらすことを16ヵ月間の調査により、明らかにした。

## 文 献

- 1) B. J. Taylor *et al.*, *Bull. Narc.*, **37**, 75(1985).
- 2) G. Cortis *et al.*, *Bull. Narc.*, **37**, 67(1985).
- 3) G. Fournier, J. P. Mathieu and M. Paris, *Ann Verget. Exper. Chim.*, **76**, 263(1983).
- 4) B. Comparini, *Forensic Sci. Inter.*, **24**, 37(1984).
- 5) Y. M. El Kheir *et al.*, *Fitoterapia*, **57**, 235(1986).
- 6) M. A. ElSohly *et al.*, *J. Forensic Sci.*, **29**, 500(1984).
- 7) I. Al-Hakawati, F. Braut-Boucher and M. Paris, *Actua. Chim. Ther.*, **10**, A19(1983).
- 8) P. Oroszlan *et al.*, *J. Chromatogr.*, **388**, 217(1987).
- 9) P. B. Baker *et al.*, *Bull. Narc.*, **34**, 101(1982).
- 10) J. C. Turner *et al.*, *J. Chromatogr.*, **283**, 165(1984).
- 11) D. J. Harvey *et al.*, *Marijuana* '84, 43(1985).
- 12) D. Debruyne *et al.*, *Bull. Narc.*, **33**, 49(1981).
- 13) C. I. Barni *et al.*, *Forensic Sci. Int.*, **21**, 129(1983).
- 14) Y. Nakahara, H. Sekine, *J. Anal. Toxicol.*, **9**, 121(1985).
- 15) J. Levine, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1868(1944).

## インドネシアの伝承生薬の微生物汚染

一戸正勝・小沼博隆・Amalia KARTASTISNA\*・佐竹元吉

### Microbial Contamination of Traditional Herbal Drugs in Indonesia

Masakatsu ICHINOE, Hirotaka KONUMA, Amalia KARTASTISNA\*  
and Motoyoshi SATAKE

Crude herbal drugs, as medicinal plant materials, are the subject to microbial spoilage under improper handling, processing or preservation. Microbiological investigation of traditional crude herbal drugs from Indonesia resulted in the isolation of pathogenic or toxigenic organisms including *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* and *Aspergillus flavus*.

For bacterial isolation, sporeformers were predominated, while coliforms and clostridia were detected on half of the 24 samples examined. The most common fungus isolated were *Aspergillus glaucus* group. The occurrence of *A. flavus* was confirmed in 10 samples. Clove and cinnamon were the only crude herbal drugs found to be free of fungal contamination.

(Received May 31, 1988)

生薬は主としてアジア諸国において伝統的に用いられてきた医薬品素材であり、それぞれの文化圏における重要な資源である。しかしながら、生薬が元来、加工度の低い、主に植物質起源の医薬品原料であるために各種の有害微生物の汚染を受けていることが多く、製剤化された製品まで微生物生菌数が高くなっていることは否めない事実である<sup>1)</sup>。

生薬汚染微生物は細菌でいえば *Escherichia coli*, Coliform, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* などが問題となることが多く<sup>2,3)</sup>、熱帯、

亜熱帯の産物では真菌である *Aspergillus flavus* によるアフラトキシン汚染の可能性が懸念され、輸入生薬、香辛料などで注目されている<sup>4)</sup>。

インドネシアでは伝承薬と呼ばれるジャムウ (Jamu) が生薬を原料として散剤などいろいろな剤型に調製され、合成医薬品とともに薬局で市販されているほか、日用雑貨店、タバコ屋などで販売され、広く普及している<sup>5)</sup>。

筆者らは国際協力事業団のインドネシア共和国の医薬品品質管理プロジェクトの一環として、同国ジャカルタ市の国立薬品食品品質管理試験所へ技術指導員として派遣され、また国立衛生試験所で同国の研修員を

\* National Quality Control Laboratory of Drug and Food, Jakarta, Indonesia



受け入れてきた。その間、インドネシア各地の市場で収集した生薬を対象に、伝承医薬品の品質管理の基礎資料を作成する目的と現地職員の教育実習を目的として、生薬 (Jamu simplesia) の微生物学的検討を行った。

### 材料および方法

#### 被験材料

対象とした生薬は1986年2月にジャワ島のボゴール、スカブミ、ソロなどの各地の生薬店より、筆者らの現地調査の際に購入したものである。今回はそれらのうち、予備試験の目的から、植物体の使用部位別および市販の製剤などへの配合頻度の高いものなどを考慮して選択した24点の生薬試料を用いた。Table 1 に供試した生薬の試料番号、植物名、インドネシアにおける名称、使用部位を示した。

#### 微生物数の測定と分離同定

(1) 試料原液の調製：よく混和した生薬試料約30g をとり、ケミカル粉砕器 (日本理化学器械, R-8) の滅

菌したコップカッターに入れて粉末化した後、10g を秤量して滅菌生理食塩水または0.05%寒天水 90 ml を加え、ストマッカー処理で分散させ試料原液とした。

(2) 一般細菌数測定：原液 1 ml を適宜10倍段階希釈して標準寒天培地 (栄研化学) を用い、混釈し、35°C、48時間培養後、集落数を測定した。

(3) 大腸菌群数測定：原液 1 ml をデソキシコーレート寒天培地 (栄研化学) を用い、混釈後、35°C、24時間培養後の赤色集落を測定した。

(4) 大腸菌数測定：原液 1 ml, 0.1 ml, 0.01 ml を各希釈段階ごとに5本の BGLB 培地 (栄研化学) 10 ml に投入し、35°C、48時間培養し、MPN 法で菌数を推定した。培養後、ガス産生の認められたものについてはその 1 ml を EC 培地 (栄研化学) 9 ml に接種し、44.5°C、48時間培養した。培養後ガス産生の認められたものについてのみ EMB 寒天 (栄研化学) 平板に画線し、35°C、24時間培養後、典型的な集落の 2 集落以上を釣菌し、普通寒天 (日本製薬) 斜面培地に接種、保存株とした。保存株はグラム染色および

Table 1. List of samples of Indonesian crude herbal drugs

No.	Plant name	Indonesian drug name	Organ used
S-1	<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.	Temu lawak	rhizome
S-2	<i>Curcuma domestica</i> Vahl.	Kunyit	rhizome
S-3	<i>Zingiber aromaticum</i> Vahl.	Lampuyang	rhizome
S-4	<i>Andrographis paniculata</i> Ness	Sambiloto	leaf & stem
S-5	<i>Amomum compactum</i> Sol. ex Mat.	Kapol	fruit
S-6	<i>Caesalpinia sappan</i> L.	Secang	wood
S-7	<i>Orthosiphon aristatus</i> (Bl.) Mig.	Kumis kucing	leaf
S-8	<i>Strychnos liqustrina</i> Zipp	Bidara laut	wood
S-9	<i>Alyxia reinwardti</i> Bl.	Pula-sali	bark
S-10	<i>Cinnamomum sintok</i> Bl.	Kayu sintok	bark
S-11	<i>Paramellia leavigata</i> Jun.	Kayu rapet	bark
S-12	<i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.	Rimpang temu hitam	rhizome
S-13	<i>Kaempferia angustifolia</i> Ros.	Kunci pepet	rhizome
S-14	<i>Blumea balsamiferae</i> DC.	Sumbung	leaf
S-15	<i>Plantago major</i> L.	Sang kobak	leaf & stem
S-16	<i>Gautheria fragrantissima</i> L.	Gondapura	leaf
S-17	<i>Foeniculum vulgare</i> L.	Buah adas	fruit
S-18	<i>Coriandrum sativum</i> L.	Tumber	fruit
S-19	<i>Abelmoschus moscathus</i> Med.	Ganda pura	seed
S-20	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Kembang pala	aril
S-21	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	Kembang herah	flower
S-22	<i>Woodfordia fruticosa</i> (L.) Kur	Kembang sedaway	flower & leaf
S-23	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) M. et P. ( <i>Eugenia caryophyllata</i> )	Cengkeh	flower
S-24	<i>Nyctanthes arbor-tristis</i> L.	Sringading	flower

IMViC システムにより大腸菌 *Escherichia coli* と同定した。

(5) *Bacillus* 属の測定：原液 1 ml を適宜10倍段階希釈し、それぞれの 0.1 ml を普通寒天培地平板に塗抹して、35°C、24時間培養した。各希釈段階ごとの平板培地に発育した集落を色調、形、大きさなど形態的な差異から群分けする光岡<sup>6)</sup>の方法にしたがって測定した。それぞれの代表的集落を釣菌、普通寒天斜面培地に接種、保存株とした後、神保ら<sup>7)</sup>の方法に準拠して同定を行った。

(6) ウエルシュ菌の測定：原液 1 ml を適宜10倍段階希釈し、それぞれの希釈液 0.1 ml を抗生物質不含有の卵黄加 CW 寒天培地（日水製薬）平板に塗抹し、35°C、24時間嫌気培養した。卵黄反応陽性の黄色集落を測定、釣菌し GAM 半流動寒天培地（日水製薬）の高層に接種、保存株とした。保存株は2枚の卵黄加 CW 寒天培地平板に画線し、好気および嫌気条件下で 35°C、24時間培養後、嫌気性培養でのみ発育した

卵黄反応陽性株を善養寺ら<sup>8)</sup>の方法にしたがってウエルシュ菌 *Clostridium perfringens* と同定した。

(7) 真菌の分離同定：原液～10<sup>-4</sup> 希釈液 0.5 ml ずつを2枚のジャガイモ・ブドウ糖寒天培地（栄研化学）に細菌発育阻止用にクロラムフェニコール 100 mg/l を加えた平板培地に塗抹した。25°C で培養し、3～7日間観察して培地上に出現した真菌集落を測定するとともにジャガイモ・ブドウ糖寒天斜面培地に分離して保存株とした。保存株はそれぞれの同定用基準培地上での集落の性状および顕微鏡下の形態を観察して同定した。*Aspergillus* 属の同定についてはモノグラフ<sup>9)</sup>に準拠した。

## 結 果

### (1) インドネシア産生薬の細菌試験

一般細菌は Table 2 に示すように標準寒天平板法において全試料で陽性であったが、主要検出菌は *Bacillus* に属する土壌生息性の芽胞形成菌であり、細

Table 2. Bacterial contamination of Indonesian crude herbal drugs

Sample code no.	SPC*	Bacterial counts per gram		
		Coliform	<i>Bacillus</i>	<i>Clostridium</i>
S-1	1.0×10 <sup>2</sup>	<10	1.0×10 <sup>2</sup>	<10
S-2	4.8×10 <sup>6</sup>	<10	4.8×10 <sup>6</sup>	6.8×10 <sup>2</sup>
S-3	3.4×10 <sup>6</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>	3.4×10 <sup>6</sup>	6.8×10 <sup>2</sup>
S-4	2.0×10 <sup>4</sup>	<10	2.0×10 <sup>4</sup>	<10
S-5	1.6×10 <sup>7</sup>	<10	1.6×10 <sup>7</sup>	4.0×10 <sup>2</sup>
S-6	6.1×10 <sup>4</sup>	<10	6.1×10 <sup>4</sup>	6.8×10 <sup>2</sup>
S-7	6.4×10 <sup>3</sup>	<10	6.4×10 <sup>3</sup>	<10
S-8	4.9×10 <sup>4</sup>	<10	4.9×10 <sup>4</sup>	6.1×10 <sup>2</sup>
S-9	5.8×10 <sup>3</sup>	<10	5.8×10 <sup>3</sup>	<10
S-10	3.4×10 <sup>4</sup>	<10	3.4×10 <sup>4</sup>	<10
S-11	1.3×10 <sup>4</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>	1.3×10 <sup>4</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>
S-12	1.0×10 <sup>6</sup>	<10	1.0×10 <sup>6</sup>	1.8×10 <sup>2</sup>
S-13	6.4×10 <sup>4</sup>	<10	6.4×10 <sup>4</sup>	<10
S-14	2.4×10 <sup>5</sup>	2.1×10 <sup>3</sup>	2.4×10 <sup>5</sup>	<10
S-15	1.8×10 <sup>5</sup>	2.1×10 <sup>3</sup>	1.8×10 <sup>5</sup>	<10
S-16	8.7×10 <sup>3</sup>	9.2×10 <sup>2</sup>	6.9×10 <sup>3</sup>	7.8×10 <sup>2</sup>
S-17	1.2×10 <sup>4</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>	1.2×10 <sup>4</sup>	7.8×10 <sup>2</sup>
S-18	2.8×10 <sup>5</sup>	2.1×10 <sup>3</sup>	2.8×10 <sup>5</sup>	2.8×10 <sup>4</sup>
S-19	6.6×10 <sup>4</sup>	2.1×10 <sup>3</sup>	6.4×10 <sup>4</sup>	2.8×10 <sup>4</sup>
S-20	4.0×10 <sup>2</sup>	1.8×10 <sup>2</sup>	4.0×10 <sup>2</sup>	<10
S-21	7.6×10 <sup>4</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>	7.6×10 <sup>4</sup>	<10
S-22	2.4×10 <sup>4</sup>	1.8×10 <sup>2</sup>	2.4×10 <sup>4</sup>	<10
S-23	8.0×10 <sup>2</sup>	<10	8.0×10 <sup>2</sup>	<10
S-24	5.3×10 <sup>4</sup>	2.0×10 <sup>2</sup>	5.3×10 <sup>4</sup>	1.8×10 <sup>2</sup>

\* SPC: Standard plate counts

菌数の大部分を占めた。細菌数を生薬の使用部位ごとの区分でみると、根茎および根部由来の生薬原料では  $1.0 \times 10^2 \sim 4.8 \times 10^6$  (平均  $1.9 \times 10^6$ ) cfu(colony forming unit)/g で、木部および樹皮由来では  $5.8 \times 10^3 \sim 4.9 \times 10^4$  (平均  $3.3 \times 10^4$ ) cfu/g、全草および葉部由来で  $6.4 \times 10^3 \sim 2.4 \times 10^5$  (平均  $9.1 \times 10^4$ ) cfu/g、種子および果実由来で  $4.0 \times 10^2 \sim 1.6 \times 10^7$  (平均  $3.3 \times 10^6$ ) cfu/g、花部由来では  $8.0 \times 10^2 \sim 7.6 \times 10^4$  (平均  $3.9 \times 10^4$ ) cfu/g となり、用部位別には根茎部および根部由来の試料と、種子および果実由来の試料に細菌検出量が高かった。

大腸菌群は約半数の試料で陽性であり、検出量は  $1.8 \times 10^2 \sim 2.1 \times 10^3$  cfu/g であったが、用部位別には全草および葉部由来の生薬原料と種子および果実部由来の生薬原料に陽性試料が多くみられた。

*Clostridium* 属菌も半数の試料から検出したが陽性試料は必ずしも大腸菌群陽性試料とは一致しなかった。用部位別には全草、葉部、花部由来の試料では陽性例が少なかった。

検出頻度の高いものおよび衛生学的に問題となる細菌の汚染状況について Fig.1 に示した。大腸菌群陽性試料のうち、大腸菌が検出されたのは *Gautheria fragrantissima*(S-16)の葉部と *Foeniculum vulgare*(S-17) ウイキョウの種子の2点で、検出量はいずれも  $10^3$ /g レベルであった。

*Clostridium* では食中毒菌となり得る *C. perfringens* が12点から検出されており、特にコリアンダー(*Coriandrum sativum*)の種子、*Abelmoschus moschatus*の種子に  $10^4$ /g レベルで検出された。

細菌数の大部分を占めた *Bacillus* については *B. pumilis*, *B. megaterium*, *B. subtilis* の3種が主要検出菌であったが、それぞれ19点、17点、10点の試料から検出されている。*B. cereus* は3点の試料にみられ、*Plantago major*の全草部に  $10^4$ /g、*Caesalpinia sappan*の木部およびコリアンダーの種子に  $10^3$ /g 検出している。*Bacillus* 属では生薬の用部位別には差がみられていない。

(2) インドネシア産生薬の真菌試験

真菌は Table 3 に示すごとく、供試24点の生薬試料中の22点から真菌を検出したが、ケイヒの一種の *Cinnamomum sintok*(S-10) およびチョウジの *Syzygium aromaticum*(S-23) からは真菌が検出されなかった。用部位別の区分でみると根茎および根部で  $8.0 \times 10^1 \sim 4.3 \times 10^2$  (平均  $2.8 \times 10^2$ ) cfu/g、木部および樹皮で不検出から  $1.4 \times 10^3$  (平均  $4.3 \times 10^2$ ) cfu/g、全草および葉部で  $4.0 \sim 10^3 \sim 2.9 \times 10^5$  (平均  $7.2 \times 10^4$ ) cfu/g、種子および果実部で  $3.4 \times 10^2 \sim 2.9 \times 10^5$  (平均  $8.0 \times 10^4$ ) cfu/g、花部では不検出から  $4.6 \times 10^3$  (平均  $1.3 \times 10^3$ ) cfu/g となり、全草および葉部、種子および果実部で高い検出菌数がみられた。

主要出現菌は *Aspergillus* であり、その他の主な真菌の検出状況は *Penicillium* のほか、*Mucor*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum* などのケカビ目であった。*Aspergillus* 属については使用部位別に区分して Table 4 および Table 5 にまとめた。

一般的にみて、*Aspergillus* 属では好乾性菌類の *A. glaucus* group(*Eurotium* spp.) が最も広く分布し、24点中16点より分離され、各試料において優占菌とな

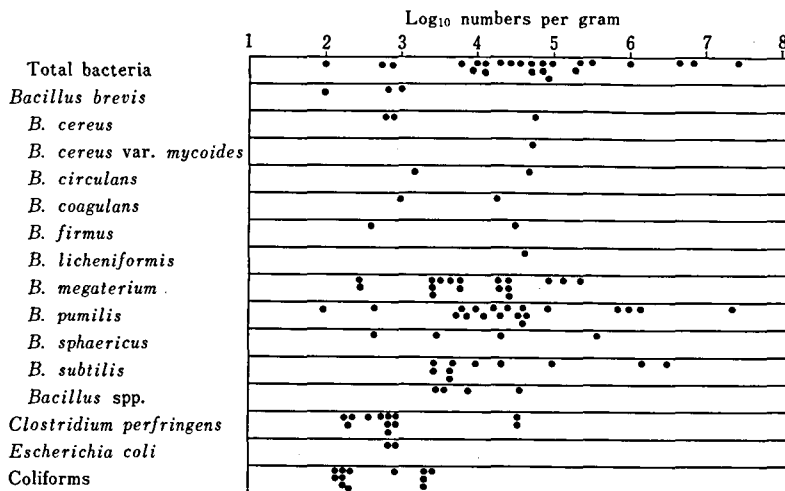


Fig.1. Bacterial flora of 24 samples of Indonesian crude herbal drugs  
black dot: positive sample(●: Numbers of Bacteria)

Table 3. Fungal contamination of Indonesian crude herbal drugs

Sample code no.	Total counts	Fungal counts per gram			
		<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	Mucorales	Yeasts
S-1	39×10	4×10			35×10
S-2	22×10	11×10	2×10	3×10	
S-3	43×10	10×10			32×10
S-4	55×10 <sup>2</sup>	49×10 <sup>2</sup>			
S-5	29×10 <sup>4</sup>	19×10 <sup>4</sup>	10×10 <sup>4</sup>		
S-6	48×10	37×10	4×10	2×10	2×10
S-7	21×10 <sup>3</sup>	18×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>3</sup>		
S-8	141×10	79×10	20×10		
S-9	3×10		1×10		
S-10	ND*				
S-11	26×10	16×10	5×10	2×10	
S-12	27×10	27×10			
S-13	8×10	4×10	3×10		
S-14	40×10 <sup>2</sup>	17×10 <sup>2</sup>		23×10 <sup>2</sup>	
S-15	38×10 <sup>3</sup>	32×10 <sup>3</sup>	5×10 <sup>3</sup>	1×10 <sup>3</sup>	
S-16	29×10 <sup>4</sup>	25×10 <sup>4</sup>	4×10 <sup>4</sup>		
S-17	34×10	30×10			
S-18	53×10 <sup>2</sup>	37×10 <sup>2</sup>	1×10 <sup>2</sup>	15×10 <sup>2</sup>	
S-19	84×10 <sup>3</sup>	83×10 <sup>3</sup>		1×10 <sup>3</sup>	
S-20	19×10 <sup>3</sup>	13×10 <sup>3</sup>	5×10 <sup>3</sup>	1×10 <sup>3</sup>	
S-21	22×10	18×10			
S-22	46×10 <sup>2</sup>	44×10 <sup>2</sup>			
S-23	ND*				
S-24	21×10	9×10		3×10	1×10

ND\*: not detected

Table 4. Occurrence of *Aspergillus* species in Indonesian crude herbal drugs (I)

Fungi	Rhizomes and roots					Wood and barks					Flower			
	S-1	S-2	S-3	S-12	S-13	S-6	S-8	S-9	S-10	S-11	S-21	S-22	S-23	S-24
<i>A. flavus</i>				80		10	10				30			
<i>A. fumigatus</i>				10										
<i>A. glaucus</i> G.	20	50	70	120	20	240	390			70	20	4×10 <sup>2</sup>		50
<i>A. nidulans</i>				20						20	20			10
<i>A. niger</i>	20		10	30		70	80			50	110			
<i>A. restrictus</i>						30	250					39×10 <sup>2</sup>		
<i>A. tamarii</i>				10	20	10	20							30
<i>A. terreus</i>							40							
<i>A. versicolor</i>		60	20			10				20		1×10 <sup>2</sup>		

っている例が9点認められた。同じく好乾性菌類とされる *A. restrictus* は5点の試料にみられ、うち3点では優占菌とみなされるものであった。ちなみに、上記2種の菌とともに好乾性菌類と呼ばれる *Wallemia*

*sebi* は *Strychnos liqustrina* (S-8) の樹皮より 4×10<sup>2</sup>cfu/g 分離されているにすぎなかった。次いで広く分布したのは *A. niger* で14点の試料から分離され、S-5, S-15, S-20, S-21 などで優占した。

Table 5. Occurrence of *Aspergillus* species in Indonesian crude herbal drugs (II)

Fungi	Herbs and leaves					Seeds and fruits				
	S-4	S-7	S-14	S-15	S-16	S-5	S-17	S-18	S-19	S-20
<i>A. flavus</i>	8×10 <sup>2</sup>		2×10 <sup>2</sup>	5×10 <sup>3</sup>		3×10 <sup>4</sup>		7×10 <sup>2</sup>	66×10 <sup>3</sup>	
<i>A. glaucus</i> G.	22×10 <sup>2</sup>	15×10 <sup>3</sup>				4×10 <sup>4</sup>	170	2×10 <sup>2</sup>		
<i>A. nidulans</i>			2×10 <sup>3</sup>					28×10 <sup>2</sup>		
<i>A. niger</i>	11×10 <sup>2</sup>		4×10 <sup>2</sup>	20×10 <sup>3</sup>		12×10 <sup>4</sup>	50		6×10 <sup>3</sup>	13×10 <sup>3</sup>
<i>A. restrictus</i>		3×10 <sup>2</sup>			21×10 <sup>4</sup>					
<i>A. tamarii</i>	2×10 <sup>2</sup>		6×10 <sup>2</sup>	4×10 <sup>3</sup>	2×10 <sup>4</sup>				11×10 <sup>3</sup>	
<i>A. terreus</i>	6×10 <sup>2</sup>									
<i>A. versicolor</i>			5×10 <sup>2</sup>		2×10 <sup>4</sup>		80			
<i>A. ochraceus</i>				1×10 <sup>3</sup>						

*A. flavus* は24点中10点の試料から検出されたが、クスリウコンの一種 *Curcuma aeruginosa* (S-12) の根茎部, *Andrographis paniculata* (S-4), *Blumea balsamifera* (S-14), *Plantago major* (S-15) などの全草部, および *Amomum compactum* (S-5), *Coriandrum sativum* (S-18) *Abelmoschus moscathus* (S-19) などの種実類に多く, 特に *Abelmoschus moscathus* では最優占菌であった。

*A. flavus* と近縁菌の *A. tamarii* は10点の試料より検出されたが, *A. flavus* と同時に分離される例が多く, 優占菌となることはなかった。

### 考 察

インドネシアの伝承薬ジャムウは生薬を主原料とし, 通常4~10種類の生薬を配合して散剤, 丸剤, 錠剤としている。散剤は温湯に懸濁させたり, 用時調製のジャムウドリンクとして飲用される<sup>3)</sup>。いずれも比較的加工度が低く, 原料生薬の微生物相が直接的に製品にまで影響を及ぼす可能性が高いと考えられる。

したがって伝承薬の微生物学的品質管理の面から市販生薬に混入する有害微生物の評価は基本的課題といえる。

今回は起原植物の同定がなされている生薬試料につき, 用部位別に根茎部 (rhizome), 根部 (root), 木部 (wood), 樹皮 (bark), 全草 (herb), 葉部 (leaf), 種子 (seed), 果実 (fruit) および花部 (flower) に区分して, それぞれの細菌, 真菌の微生物相を調査した。いずれも調査点数が少ないので速断はできないが, 全草, 葉部, 種実などでは *E. coli*, *B. cereus*, *C. perfringens* などによる汚染試料があり, 真菌においてもやはりこれらの用部位の生薬に *A. flavus* が多く検出される傾向が認められた。

検出微生物の面からは細菌相の主要構成菌が *Baci-*

*llus* 属であったので11種を同定したが, 広く分布する *B. pumilis*, *B. megaterium*, *B. subtilis* などのほか, *B. cereus* が 10<sup>3</sup>~10<sup>4</sup>/g と多量に検出されるものがあったことは注目すべきことである。この *Bacillus* 属について香辛料, 生薬に少なからず検出されることは多くの研究者の指摘するところである<sup>10-12)</sup>。近年でも Baxter and Holzapfel<sup>13)</sup> による南アフリカでの香辛料の調査によるとマジョラム, コリアンダー, オールスパイスなどで *B. cereus* 汚染を 10<sup>3</sup>~10<sup>5</sup>/g のレベルで認めているほか, *B. licheniformis*, *B. firmus* などを検出している。Pafume<sup>3)</sup> による東南アジア産の生薬, 香辛料などの調査でも *B. cereus* が少量ずつながら広範囲の試料にみられ, 特に黒コショウ, クミン種子などで 1.0×10<sup>5</sup>/g に達するものがあると報告している。本菌は生薬における重要な食中毒関連菌として調査対象とすべきである。

また, いわゆる衛生指標菌としての大腸菌群は今回の調査試料の半数近くから検出され, うち2点に 10<sup>3</sup>/g のレベルで *E. coli* を検出したことは Krishnaswamy ら<sup>14)</sup>, Pafume<sup>3)</sup> の指摘するごとく, ある種の香辛料, 生薬にとって, 大腸菌群は通常の微生物相であるとの見解を支持するものであった。しかしながら糞便性汚染の可能性のある *E. coli*, *Salmonella* の検出は衛生学的な意義が大きいものと考えられる。

同様に食中毒菌の一種である *C. perfringens* についても今回の調査試料より少なからず検出しており, 2点の試料で 10<sup>5</sup>/g レベルの汚染をみたことは Pafume<sup>3)</sup> の報告と一致しており, 注目すべき結果である。

真菌については供試試料の多くが十分に乾燥したものであったので, 好乾性菌類の *Aspergillus glaucus* group (*Eurotium* spp.), *A. restrictus* が主な検出菌であったが, アフラトキシン生産が懸念される *A.*

*flavus* が全草部、種実部を用部位とする試料より  $8 \times 10^2 \sim 7 \times 10^4$  cfu/g 検出されている。このことはインドネシア産香辛料のナツメグ (*Myristica fragrans*) にアフラトキシン汚染があるとする報告<sup>15)</sup>や、同国産の落花生にアフラトキシン汚染の頻度が高いことを<sup>16)</sup>考慮すると分離菌株のアフラトキシンの生産の有無を検索する必要性を示唆するものである。

一方、わが国で流通あるいは製剤原料として用いられている生薬の真菌汚染調査とマイコトキシン生産菌の検索を行った報告でも山崎ら<sup>17)</sup>は *A. flavus* の15株中4株、堀江ら<sup>18)</sup>は41株中4株にアフラトキシンの生産を認めている。

今回の調査試料のうちで、ケイヒの一種である *Cinnamomum sintok*, チョウジ *Syzygium aromaticum* より真菌が検出されなかったことは、これらの生薬に含まれる cinnamic aldehyde, eugenol などの抗真菌性成分の影響と推察された<sup>19-20)</sup>。

しかし、抗菌成分を含有する香辛料でも有効成分含量は種類、産地などによってバラツキがあり、安定性にも問題があり、ケイヒなどでは *B. cereus* の高度汚染がみられたという報告<sup>10)</sup>もある。今回の結果でも相当数の *Bacillus* 検出が認められた。

## 結 論

インドネシア各地で流通している伝承生薬の微生物汚染について調査したところ、細菌では  $1.0 \times 10^2 \sim 1.6 \times 10^7$  cfu/g の菌量で *Bacillus* 属が優占し、真菌では  $3.0 \times 10 \sim 2.9 \times 10^5$  cfu/g の菌量で *Aspergillus* 属が優占した。生薬の品質管理上問題となる微生物として *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Clostridium*

*perfringens* [および *Aspergillus flavus* があげられる。

## 文 献

- 1) 倉田 浩ら：衛生試報，96，1 (1978)
- 2) R. M. Julseth, R. H. Deibel: *J. Milk Food Technol.*, 37, 414 (1974)
- 3) J. Pafume: *J. Food Prot.*, 49, 958 (1986)
- 4) 宇田川俊一ら：マイコトキシン，3/4，35 (1976)
- 5) 新田あや：医薬品研究，18，768 (1987)
- 6) 光岡知足：モダダンメディア，16，171 (1970)
- 7) 神保勝彦，小久保弥太郎：都衛研年報，34，69 (1983)
- 8) 善養寺浩，坂井千三：腸管系病原菌の検査法，p. 224 (1974) 医学書院
- 9) K. B. Raper, D. I. Fennell: *The genus Aspergillus*, p. 686 (1965), Williams & Wilkins, Baltimore
- 10) E. M. Powers et al.: *J. Milk Food Technol.*, 39, 668 (1976)
- 11) M. Sennappa, A. G. Kempton: *J. Appl. Bacteriol.*, 50, 225 (1981)
- 12) 小久保弥太郎ら，都衛研年報，33，155 (1982)
- 13) R. Baxter, W. H. Holzapfel: *J. Food Sci.*, 47, 570 (1982)
- 14) M. A. Krishnaswamy et al.: *J. Food Sci. Technol.*, 8(4), 191 (1971)
- 15) 田端節子ら：食衛誌，28，395 (1987)
- 16) 前田協一：微生物，2 (3)，9 (1986)
- 17) 山崎幹夫ら：薬誌，100，61 (1980)
- 18) 堀江義一ら：日菌報，23，435 (1982)
- 19) L. B. Bullerman et al.: *J. Food Sci.*, 42, 1107 (1977)
- 20) G. G. Llewellyn et al.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 64, 955 (1981)

インドネシア産生薬由来の *Aspergillus flavus* のアフラトキシン生産性一戸正勝・Amalia KARTASTISNA\*<sup>1</sup>・平井和人\*<sup>2</sup>

手島玲子・池淵秀治

Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* Isolated from Indonesian Crude Herbal DrugsMasakatsu ICHINOE, Amalia KARTASTISNA\*<sup>1</sup>, Kazuto HIRAI\*<sup>2</sup>,  
Reiko TESHIMA and Hideharu IKEBUCHI

Aflatoxin production of isolates of *Aspergillus flavus* from Indonesian crude herbal drugs in yeast extract-sucrose medium was analyzed by a convenient thin-layer chromatographic screening method, and the results were confirmed by aflatoxin B<sub>1</sub> enzyme-immuno assay.

The productivity of aflatoxins was detected in 24 out of tested 50 strains of *A. flavus*. Most of the aflatoxin producing strains were isolated from herb (leaf and stem)-type and seed-type crude drugs.

(Received May 31, 1988)

*Aspergillus flavus* の有毒代謝産物のアフラトキシン類は世界各地の落花生、穀類、香辛料などの農作物に広く汚染をもたらしている天然汚染物質である。特に香辛料は原産国が熱帯、亜熱帯に属することが多いので、アフラトキシンの自然汚染を受けやすい。

生薬類は元来、起源植物が香辛料と共通するものが少なくないので同様にアフラトキシン汚染が懸念される場所である。

著者らはさきにインドネシア産生薬につき微生物学的検討を行い、*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* などの食中毒性細菌類のほか、*A. flavus* を全草、葉部、種実などから多数分離した<sup>1)</sup>。そこで前報に引き続き、インドネシア産生薬の微生物学的品質管理のための基礎資料を得る目的で、*A. flavus* 分離株におけるアフラトキシン生産性をスクリーニングするために薄層クロマトグラフィーによる簡易な定性試験法と酵素免疫学的試験法 (EIA) を用い検索したので報告する。

## 実験材料および実験方法

供試菌株：前報<sup>1)</sup> でインドネシア産生薬より希釈分散法で分離した *A. flavus* 菌株に加えて、表面滅菌した試料片を平板培地上に並置して分離する直接分離法で検出した *A. flavus* についてジャガイモ・ブドウ糖

寒天培地の斜面培養とした保存株50菌株と、対照菌株としてアメリカ産小粒落花生より分離した *A. flavus* 6菌株を供試菌とした。

アフラトキシン生産能の簡易試験法<sup>2)</sup>：純培養した供試菌株を2%酵母エキス (Difco), 15%ショ糖よりなる YES ブロス (Yeast Extract-Sucrose broth) 10 ml ずつを分注して高圧滅菌した綿栓試験管に接種して、斜面の状態で25°C, 1週間培養した。培養終了後、試験管ごとに121°C, 15分間高圧滅菌した後、ろ過して培養ろ液を得た。共栓試験管に培養ろ液 5 ml をとり、等量のクロロホルムを加えて、30分間振とう抽出してからクロロホルム層を分取し、少量の無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した後、減圧下で溶媒留去して粗クロロホルム抽出画分とした。薄層クロマトグラフィ (TLC) は活性化したプレコート TLC プレート (E. Merck, Art. 5721) を用い、供試培養ろ液 10  $\mu$ l を直接ディスク毛细管でスポットして、標準アフラトキシン混液 (Sigma Chem., A-1022) とともに展開溶媒のクロロホルム-アセトン-*n*ヘキサン (85:15:20) で展開した後、紫外線灯下 (365 nm) で観察してアフラトキシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> の生産を定性的に検索した。

酵素免疫法 (EIA) によるアフラトキシンの定量：EIA titration curve および Indirect competitive curve を得るための基本操作は以下のとおりである。1.25~10  $\mu$ g/ml のアフラトキシン-オキシム-オパールミンをコーティング溶液 (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1.5 g; NaHCO<sub>3</sub>,

\*<sup>1</sup> National Quality Control Laboratory of Drug and Food, Jakarta, Indonesia

\*<sup>2</sup> 日本医科大学

## INDIRECT COMPETITIVE EIA

Coated 50  $\mu$ l AFB<sub>1</sub>-oxime OVA(2.5 $\mu$ g/ml in coating buffer)  
 Incubated at 4°C over night  
 wash 4 times with PBS-Tween  
 Blocked 200  $\mu$ l 0.1% OVA in 10mM PBS  
 Incubated at room temp.  
 wash 4 times with 10mM PBS-Tween  
 Added 50  $\mu$ l diluted AFB<sub>1</sub>(0.1 pg-10ng/ml) in 10%EtOH-10mM PBS  
 Added 50  $\mu$ l anti-AFB<sub>1</sub> monoclonal antibody diluted 1 : 10<sup>4</sup> in PBS  
 Incubated at 4°C over night  
 wash 4 times with PBS-Tween  
 Added 50  $\mu$ l of  $\beta$ -Gal-R $\alpha$ MIG (10<sup>-3</sup> dilution)  
 Incubated at room temp. for 1 hr.  
 wash 8 times with PBS-Tween  
 Added 100  $\mu$ l substrate solution (4-MUG)  
 Incubated at 37°C for 1.5 hr.  
 Read by Fluoroskan

Fig. 1. Procedure of indirect competitive enzyme-immuno assay for aflatoxin B<sub>1</sub>

2.93 g; NaNO<sub>3</sub>, 0.2 g/l) に溶解したものを96ウェル EIA 用プレート (Coster, #3590) に分注し, 4°C で一夜, あるいは室温で2時間静置した後, リン酸緩衝液-Tween 混液 (PBS-tween) で4回洗浄した. 各ウェルを0.1%オバルミン PBS 溶解液 200  $\mu$ l を加えて, 室温で30分間ブロックし, PBS-tween で4回洗浄した. 次にアフラトキシン B<sub>1</sub>(Makor Chem.) 溶液あるいは試料溶液 50  $\mu$ l と抗アフラトキシン B<sub>1</sub> モノクローナル抗体 (東京理科大学薬学部上野芳夫教授提供, 現在宇部興産より市販<sup>3)</sup>) を0.1%オバルミン-PBS で 10<sup>-4</sup> に希釈した溶液 50  $\mu$ l を加え, 4°C で1夜反応したのち, 4回 PBS-tween で洗浄した.

さらに二次抗体として  $\beta$ -Gal-R $\alpha$  MIG( $\beta$ -Galactosidase linked F(ab')<sub>2</sub> fragment Anti mouse IgG, Amersham, #N. A. 8310) の 10<sup>-3</sup> 希釈液を 50  $\mu$ l ずつ入れて, 室温で1時間反応した後, PBS-tween で4回洗浄した. 基質溶液として 0.1 mM 4-MUG(0.1 mM 4-methyl-umbelliferyl- $\beta$ -D-galactoside, Sigma Chem., #12F-5022)-0.1 M PB-Mg<sup>++</sup> 液 100  $\mu$ l を加え, 37°C で90分間, インキュベーションした後, 反応停止液 1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 25  $\mu$ l を加えて測定用液とした. 蛍光発色による測定は Fluoroskan(Titertek) により行った.

アフラトキシン標準曲線の作成: 試料中のアフラトキシン定量に用いる検量標準曲線は標準としてアフラトキシン B<sub>1</sub> 結晶 (Makor chem.) を用い, アフラトキシン B<sub>1</sub> 量として 0.1 pg/ml~10 ng/ml までの10%

エタノール-PBS による段階希釈液を作成し, オバルミン-アフラトキシン-B<sub>1</sub> conjugate をコート量として 1.25, 2.5, 5, 10, 20  $\mu$ l/ml につきそれぞれ検討した. 測定量標準操作として Fig.1 に示したような操作法を確立して, conjugate の量を 2.5  $\mu$ l/ml としたときのアフラトキシン B<sub>1</sub> の検量線にのる測定範囲を 10 pg/ml~10 ng/ml と定めた.

またオバルミン-アフラトキシン B<sub>1</sub> conjugate と市販の BSA-アフラトキシン B<sub>1</sub> conjugate (Sigma chem.) を適用したときの検量線は Fig.2 に示すとおりで, BSA-アフラトキシン B<sub>1</sub> conjugate の場合にも, B<sub>1</sub> に対するの阻害効果が認められたので, オバルミン conjugate と同様にアッセイ用抗原としての利用が期待されるが, さらに詳細な検討を必要とする.

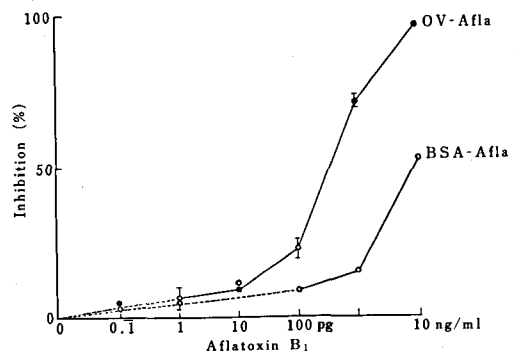


Fig. 2. Indirect competitive EIA inhibition curve



結 果 供試した50菌株のうちでアフラトキシン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> を生産するもの13菌株, B<sub>1</sub> のみの生産株7株, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> を生産するもの4株の合計24株と約半数の菌株が陽性株であった。

*A. flavus* の YES 培養物の TLC によるアフラトキシンの定性的分析結果を Table 1 に示した。

Table 1. Aflatoxin-producing ability of *Aspergillus flavus* isolated from crude herbal drugs in Indonesia

Plant name (Examined organ)	No. of examined strains	No. of strains positive	TLC assay (Aflatoxins)
S-1 <i>Curcuma xanthorrhiza</i> (R)	4*	1	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>
S-2 <i>Curcuma domestica</i> (R)	2*	1	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>
S-3 <i>Zingiber aromaticum</i> (R)	2*	0	
S-4 <i>Andrographis paniculata</i> (H)	7	3	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub>
		1	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>
		1	B <sub>1</sub>
S-5 <i>Amomum compactum</i> (FR)	4	0	
S-6 <i>Caesalpinia sappan</i> (W)	2	1	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>
S-8 <i>Strychnos lioustrina</i> (W)	2	1	B <sub>1</sub>
S-12 <i>Curcuma aeruginosa</i> (R)	6	0	
S-14 <i>Blumea balsamiferae</i> (L)	2	1	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub>
		1	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>
S-15 <i>Plantago major</i> (H)	3	1	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>
S-18 <i>Coriandrum sativum</i> (FR)	5	5	B <sub>1</sub>
S-19 <i>Abelmoschus moscathus</i> (S)	8	5	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>
S-21 <i>Carthamus tinctorius</i> (FL)	3	2	B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>

In parenthesis: R, Rhizome; H, Herb; FR, Fruit; W, Wood; L, Leaf; S, Seed; FL, Flower

\* The strains were isolated by direct plating method.

Table 2. Preliminary examination on aflatoxin production of isolates of *Aspergillus flavus* from crude herbal drugs and imported peanuts, detected by TLC and competitive indirect EIA methods

Strain no.	TLC assay, AFs				EIA assay, AF-B <sub>1</sub> (μg/ml)	
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	Chloroform ext.	Culture filtrate
*1 S-1-1	-	-	-	-	0.024	0.028
S-1-2	++	+	-	-	60	50
S-4-1	++	+	++	-	153	175
S-4-3	++	-	-	-	19.6	17.7
S-4-4	++	+	-	-	260	360
S-8-1	+	-	-	-	5.7	14.2
S-8-2	-	-	-	-	0.031	0.038
Control						
*2 P-5830-1	++	+	-	-	275	820
P-5830-2	+	-	-	-	14	12
P-6019-1	++	+	++	-	40	94
P-6126-1	+	-	-	-	24	40
P-6126-3	+	-	++	-	5.8	4.2
P-6126-8	-	-	-	-	0.002	0.013

\*1 S: Isolates from crude herbal drugs

\*2 P: Isolates from imported peanuts

用部位別には根茎部より分離した菌株にはアフラトキシン生産菌が少なく、全草、葉部および種実類に陽性株が多く認められる傾向にあった。前報における微生物試験において *A. flavus* の高度汚染を認めた *Andrographis paniculata*, *Plantago major*, *Coriandrum sativum*, *Abelmoschus moscathus* などの試料より得た菌株に生産菌が多くみられた点が注目された。

一方、同様に *A. flavus* を多量に分離検出した *Amomum compactum* の果実に由来する菌株にはアフラトキシン生産菌が得られていないので、菌学検査のみで評価することの難しさを示唆するものであった。

EIA により個々の分離菌株のアフラトキシン生産量を簡便に測定する方法の検討に当たり、予備試験として、生薬由来の7菌株および輸入落花生由来の6菌株、合計13菌株の *A. flavus* について、培養ろ液よりクロロホルム抽出した粗抽出物と無処置の培養ろ液を用いて10%エタノール-PBS に一定量を溶解した液に EIA を適用した結果を Table 2 に示す。表にみられるごとく、アフラトキシン B<sub>1</sub> は生薬由来、落花生由来のいずれの菌株でもクロロホルム抽出物で得た数値と培養ろ液での数値とがほぼ一致した結果を示したので、クロロホルム抽出操作はスクリーニング法として省略できることが明らかになった。

しかしながら、TLC 法で検知できなかった試験液に EIA 法で 0.002~0.03 µg/ml と極めて微量ながらアフラトキシン B<sub>1</sub> が存在するという値が得られたことは問題となる点で今後の詳細な検討を必要とした。

TLC 法で陽性となった菌株など35菌株の YES プロスの培養ろ液につき EIA 法を適用した結果を Table 3 に示す。本試験では全菌株を同時に培養したもので、多数の菌株を迅速に処理できる簡易試験法が確立されたことになる。

用部位別には全草 (S-4, S-15) 由来株、葉部 (S-14) 由来株、種子 (S-19) 由来株に 100 µg/ml 以上の高いアフラトキシン B<sub>1</sub> の生産量を示す菌株が多く認められた。また、先の予備試験の際に供試した菌株でも、スクリーニング試験とほぼ同程度のアフラトキシン生産量が得られているので、再現性としても満足すべき結果であったが、TLC 陰性株に反応する点も同様であった。

## 考 察

植物性生薬におけるマイコトキシン汚染の可能性についてはかねて医薬品原料の微生物管理の一環とし

Table 3. Detection of aflatoxin B<sub>1</sub> by EIA method in culture filtrate of *Aspergillus flavus*, comparing with TLC assay

Strain no.	EIA assay	TLC assay, AFs			
	AF-B <sub>1</sub> (µg/ml)	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
S-1-1	0.006	—	—	—	—
S-1-2	63	++	+	—	—
S-2-1	0.006	—	—	—	—
S-2-2	40	++	+	—	—
S-4-1	135	++	+	++	+
S-4-2	80	++	+	++	+
S-4-3	32	++	—	—	—
S-4-4	220	++	+	—	—
S-4-5	0.004	—	—	—	—
S-4-6	0.006	—	—	—	—
S-4-7	135	++	+	++	+
S-6-1	600	++	+	—	—
S-6-2	0.02	—	—	—	—
S-8-1	2.6	+	—	—	—
S-8-2	0.08	—	—	—	—
S-14-1	900	++	+	++	+
S-14-2	1000	++	+	—	—
S-15-1	0.04	—	—	—	—
S-15-2	230	++	+	—	—
S-18-1	0.46	+	—	—	—
S-18-2	3.9	+	—	—	—
S-18-3	8.1	+	—	—	—
S-18-4	5.3	+	—	—	—
S-18-5	13.5	+	—	—	—
S-19-1	860	++	+	—	—
S-19-2	0.014	—	—	—	—
S-19-3	0.01	—	—	—	—
S-19-4	0.006	—	—	—	—
S-19-5	770	++	+	—	—
S-19-6	440	++	+	—	—
S-19-7	400	++	+	—	—
S-19-8	400	++	+	—	—
S-21-1	820	++	+	—	—
S-21-2	570	++	+	—	—
S-21-3	0.005	—	—	—	—

て懸念が指摘されているところであるが<sup>6,5)</sup>、国内流通中の生薬の真菌汚染調査とマイコトキシン生産菌の検索を行った研究報告では分離 *A. flavus* のうちのアフラトキシン生産菌の占める割合は低いとされている<sup>6,7)</sup>。

しかしながら、今回調査したインドネシア産生薬類より分離した *A. flavus* では供試50菌株中24菌株と半数近くにアフラトキシン類の生産を確認していることは問題としなければならない。ごく最近のインドでの研究報告<sup>8)</sup>によれば植物性生薬におけるアフラトキシン汚染とアフラトキシン生産菌の検出頻度との間に相

関があることが示されている。

一方、生薬類や、起源植物が共通することの多い香辛料などでは成分として、抗菌、静菌作用を有するものが知られているので、生薬がアフラトキシン生産基質となり得るか否かも重要な観点であり、すでに我が国でも岡村ら<sup>9,10)</sup>によって日本薬局方生薬を用いてアフラトキシン生産菌を接種する試験が報告されているところである。

## 文 献

1) 一戸正勝ら：衛生試験報，106，000 (1988)

- 2) S. Murakoshi *et al.*: *Appl. Ent. Zool.*, **12**, 255 (1977)
- 3) Y. Itoh *et al.*: *Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol.*, **26**, 31 (1987)
- 4) 倉田 浩，石関忠一，宇田川俊一：衛生試験報，**96**，1 (1978)
- 5) 宇田川俊一：マイコトキシン，**26**，23 (1987)
- 6) 山崎幹夫ら：薬誌，**100**，61 (1980)
- 7) 堀江義一ら：日菌報，**23**，435 (1982)
- 8) A. K. Roy *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 842 (1988)
- 9) 岡村俊男ら：大阪府立公衛研所報，**15**，39 (1983)
- 10) 岡村俊男ら：大阪府立公衛研所報，**17**，25 (1985)

## アルカリ溶出法によるラット膀胱上皮細胞 DNA 損傷の検出

森本和滋・福岡正道・田中 彰・長谷川良平・林 裕造

### Measurement of DNA Damage in Urinary Bladder Epithelium by Alkaline Elution Assay

Kazushige MORIMOTO, Masamichi FUKUOKA, Akira TANAKA,  
Ryohei HASEGAWA and Yuzo HAYASHI

The alkaline elution assay was applied for assessing DNA damage in rat urinary bladder epithelium. The bladder was everted and inflated with cold 0.024 M EDTA-0.075 M NaCl (pH 7.5), and the epithelium was collected by scraping gently with the edge of a cover glass. The content of DNA in the epithelium collected from male F344 rats weighing 120-160 was about 2500 ng. Because DNA damage was observed in the DNA from frozen epithelium, the collected epithelium was quickly assayed.

Slight damage was observed after intravesical injection of N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine, a bladder carcinogen.

(Received May 31, 1988)

## はじめに

ラットを用いた膀胱発癌においてもイニシエーションとプロモーションの二段階説が成立することが報告されている<sup>1)</sup>。

*in vivo* において、イニシエーション段階での癌原性物質の作用を調べる方法としては DNA 付加物 (DNA adducts) 量を測定する方法と DNA 損傷 (DNA damage) を測定する方法がある。後者にはアルカリシロ糖密度勾配遠心法 (Alkaline sucrose gradient sedimentation, ASG 法)、アルカリ溶出法 (Alkaline elution) や不定期 DNA 合成法 (Unscheduled DNA synthesis, UDS 法) がある。これらは IARC や IPCS の発癌物質の短期検出法として広く

用いられている<sup>2)</sup>。

膀胱における DNA 損傷の検出については N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN)<sup>3)</sup>、N-butyl-N-(3-carboxypropyl) nitrosamine<sup>4)</sup> や N-methyl-N-nitrosourea<sup>5)</sup> の ASG 法による報告がある。また Sodium o-phenylphenate (OPP-Na) の膀胱発癌機構の解明のためにラット初代培養肝細胞を用いた UDS 法の研究が Reitz ら<sup>6)</sup> によってなされている。

DNA 損傷の検出は、アルカリ溶出法の方が ASG 法に比して検出感度が高いことが Kohn ら<sup>7)</sup> によって報告されているが、アルカリ溶出法を膀胱上皮細胞 DNA 損傷の検出法として用いている報告はない。また、一本鎖切断の測定結果と UDS 法の結果は必ずしも一致しないため<sup>8)</sup>、endpoint が DNA の一本鎖切

断であるアルカリ溶出法の方が UDS 法に比してより直接的に DNA 損傷を追跡できる利点がある。

そこで著者らは、少量の DNA しか採取できない膀胱上皮組織でのアルカリ溶出法の開発は、OPP-Na<sup>8)</sup> や OPP<sup>9)</sup> の膀胱発癌機構を解明する上でも有効な手段となりうると考え、基礎的条件を検討し、その方法を確立した。

## 実験方法

### 1. 膀胱上皮細胞の採取

実験動物は雄性 F344/DuCrj ラット (チャールズリバー) を用い、ネブタール麻酔下膀胱を摘出し、反転後 0.4~0.5 ml の氷冷 0.024 M EDTA-0.075 M NaCl (pH 7.5) で膨張後、カバーグラスにて上皮細胞を集めた。剝離後の膀胱組織は中性緩衝ホルマリン液にて固定した。

### 2. 上皮細胞の凍結保存実験

体重 300 g のラットを用いて上皮細胞を集め、0.024 M EDTA-0.075 M NaCl (pH 7.5) 中にサスペンドして等分し、一方は直ちにアルカリ溶出法を行い、他方は -20°C にて一方時間凍結後速かに融解しアルカリ溶出法を行って比較した。

### 3. BBN 処理実験

6~7週令 (体重 120~160 g) のラットにネブタール麻酔下、生理食塩水に溶解した BBN (泉化学研究所、横浜) を膀胱に注入し、5 min 後排尿させ、2 hr 後に膀胱を摘出し、上皮細胞を集めた。

### 4. アルカリ溶出法

Sina ら<sup>10)</sup> の方法に準じて行った。即ち上皮細胞を採取後、遮光下速やかにポリカーボネートフィルター (スクレオポアー、2 µm, 25 mmφ) カラムに細胞サスペンションを滴下し、細胞をフィルター上に捕集後、1.5 ml の溶解液 (50 mM Tris-HCl, 50 mM glycine, 25 mM EDTA, 2% SDS, pH 9.6) 中で proteinase K (メルク社) (0.5 mg/ml) を用事調製し、添加後室温にて 30 min インキュベートした。フィルターを SDS を含まない溶解液 1 ml で洗滌後、15 ml のアルカリ液 (0.2% SDS, 20 mM EDTA, tetrapropyl ammonium hydroxide, pH 12.1) を加え、アルカリ溶出を行った。流速は 0.034 ml/min で 1 hr 毎に分画した。ポンプはベリスタルティックポンプ P-1 (ファルマシア) を、フラクションコレクターは FRAC-100 (ファルマシア) を使用した。分画後、フィルター上に残存する DNA をアルカリ液で振とう抽出 (5 ml×2, 各 45 min) した。

### 5. DNA 分析

各分画 1 ml に bovine serum albumin (2 mg/ml) 0.1 ml, 100% (w/v) TCA 0.1 ml を加え、氷冷下 45 min 放置後、1,500×g 30 min 冷却遠心分離を行った。各ペレットに 80% ethanol 水溶液 1 ml と 20% (w/v) sodium acetate 0.1 ml を加え、フリーザー (-20°C) に 12 hr 以上放置した。次に 1,500×g, 30 min 冷却遠心分離後ペレットを完全に風乾 (60°C, 3 hr) し DNA 分析のサンプルとした。DNA の分析は 3,5-diaminobenzoic acid dihydrochloride を用いるケイ光法 (励起波長 420 nm, ケイ光波長 520 nm) にて日立分光ケイ光光度計 (MPF-4) で測定した。仔牛胸腺 DNA を用いた検量線より 25~1,000 ng まで良好な直線性が認められた。

## 結果と考察

### 1. 膀胱上皮細胞採取法について

膀胱を摘出し、反転、膨張後カバーグラスにて静かに上皮細胞をかき取った。採取後の膀胱を組織学的に検索した結果、Fig. 1 に示すごとく上皮細胞のみが剝離し、粘膜下組織が最上層に存在していることが確認された。したがってカバーグラスを用いて上皮細胞をかき取れば効率よく上皮細胞のみが採取できることがわかった。

### 2. 膀胱上皮細胞中の DNA 含量

膀胱上皮細胞を採取し、細胞溶解後 DNA 含量を分析すると、体重 120~160 g のラットでは DNA 量として約 2.5 µg 得られることがわかった (Table 1)。また体重が 330~400 g では約 1.8 倍の DNA 量が得られた。アルカリ溶出法では肝臓、腎臓、肺臓、脳では 6 µg 程度の DNA を用いているため<sup>11)</sup>、体重 120

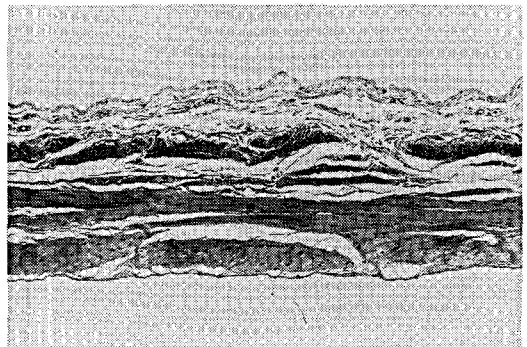


Fig. 1. Histological view of the rat urinary bladder after scraping the epithelium

The epithelium appears to be almost completely removed, and the subjacent tissue is directly exposed to the lumen.

HE staining, ×50.

Table 1. DNA contents of urinary bladder epithelium of F344 rats

Body weight(g)	Number of animals	DNA contents(ng/rat)
120-160	10	2480 ± 560
330-400	6	4380 ± 1210

Epithelium was collected by scraping gently with the edge of a cover glass.

～160gのラットを用いて実験するには2匹分の膀胱より上皮細胞を集めてアルカリ溶出法を行う必要があることがわかった。

### 3. 膀胱上皮細胞 DNA に対する凍結保存の影響

DNA 付加物の分析には解剖して得られた組織をいったん凍結保存し、適宜 DNA の抽出を行っている<sup>12)</sup>。そこで膀胱上皮細胞 DNA に凍結保存が影響を及ぼすか否かを検討した。Fig. 2 に示したように、 $-20^{\circ}\text{C}$  の凍結および融解の過程で DNA がかなり強く損傷を受けることがわかった。Alur と Grecz<sup>13)</sup> は *E. coli* B/r を  $-20^{\circ}\text{C}$  で保存し、融解したところアルカリシヨ糖密度勾配遠心法にて DNA の一本鎖切断が生じることを明らかにしている。この DNA 切断は細胞の生存率と平行しており、二次的な DNA 障害と考察している。したがって DNA 損傷の検出を伴うアルカリ溶出法においてはサンプルの凍結保存は不可能であることがわかった。

### 4. BBN 処理ラットにおける膀胱上皮細胞 DNA の損傷

Tsuda ら<sup>3)</sup> が BBN を雌性 Wistar ラットの膀胱に注入し DNA 損傷を ASG 法にて測定しているため、BBN を膀胱に注入したラットを用いて検討した。Fig. 3 に示したように DNA 損傷は 6% BBN でも弱かった。3% と 6% BBN 処理ラットの膀胱組織は粘膜下の出血が認められ組織の損傷が著明であった。

### 5. アルカリ溶出速度の比較

5 時間目迄のアルカリ溶出のパターンから溶出速度定数 ( $K$ : elution rate constant,  $\text{ml}^{-1}$ ) を算出して Table 2 に示した。無処理ラット膀胱 DNA の  $K$  値は 0.012 と低かった。上皮細胞を凍結保存すると  $K$  値は 0.072～0.085 と高い値を示した。BBN については濃度に依存して  $K$  値は増加して行く傾向は認められたが、6% BBN でもコントロール群の 2 倍強であった。Tsuda ら<sup>3)</sup> は BBN を 100 mg/kg 投与しているが、今回の実験において 1.1% BBN (23 mg/kg) でも DNA 損傷が認められ、本法の方が検出感度は ASG 法より高いものと考えられる。BBN 処理による DNA

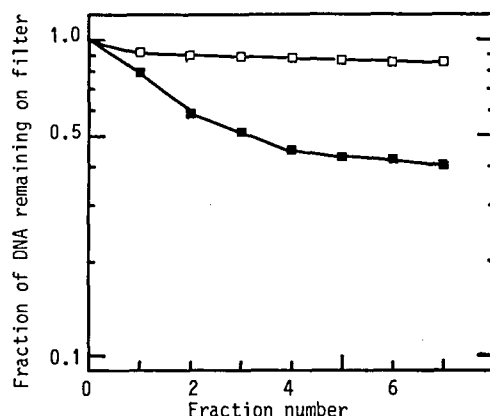


Fig. 2. Alkaline elution patterns of DNA from frozen and unfrozen urinary bladder epithelium from F344 rats

Epithelium was frozen ( $-20^{\circ}\text{C}$ , 24 hr) and immediately thawed. frozen (■), unfrozen (□).

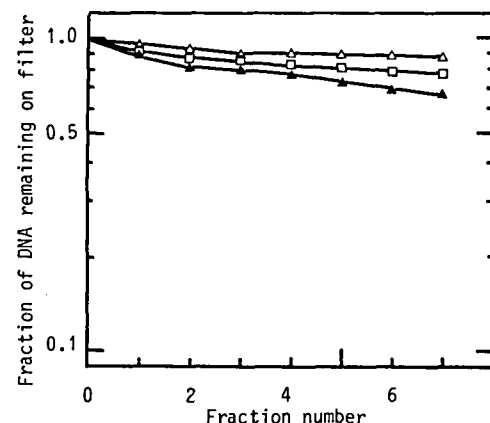


Fig. 3. Alkaline elution patterns of DNA of urinary bladder epithelium from F344 rats treated with BBN

BBN solution was injected into bladder intravesically through the bladder wall. The exposure time was 5 min. Rats were killed 2 hr after the exposure.

0% (Δ), 1.1% (□), 6.0% (▲).

Table 2. Alkaline elution rates of DNA in urinary bladder epithelium of F344 rats

Treatment	Number of experiments	Elution rate <sup>*1</sup> K(ml <sup>-1</sup> )×10 <sup>2</sup>
(A) Freezing study <sup>*2</sup>		
unfrozen control	3(6) <sup>*3</sup>	1.24 ± 0.05
frozen(-20°C, 12hr)	1(2)	7.22
frozen(-20°C, 24hr)	1(2)	8.45
(B) BBN study <sup>*4</sup>		
control(saline)	2(4)	1.26
0.05% BBN	2(4)	1.51
1.1% BBN	2(4)	1.88
3.0% BBN	2(4)	2.16
6.0% BBN	1(2)	2.87

\*1 Data show mean values ± SD.

\*2 Epithelium was frozen in 0.024M EDTA-0.075M NaCl(pH 7.5) and immediately thawed.

\*3 Number of animals.

\*4 BBN solution was injected into the bladder intravesically through the bladder wall. The exposure time was 5 min. Rats were killed 2 hr after the exposure.

損傷が小さいのはアルキル化に伴う二次的な鎖切断のためと思われる。さらに本法を応用して、OPP-Naの代謝物を雌性 F344 ラットに膀胱注入したところ、尿中代謝物の1つである2-phenyl-1,4-benzoquinoneがかなり高い DNA 損傷(K値: 0.048~0.091)を示すことがわかった<sup>14)</sup>。本法は X 線などの放射線やラジカル経由の DNA 損傷の検出に有効と考えられる。

### ま と め

1. カバーグラスにて膀胱上皮細胞を採取すると、上皮細胞のみが剥離することがわかった。
2. 採取された膀胱上皮細胞量を DNA 量で測定するとその量は体重に依存し、体重 120~160 g では平均 2.5 µg, 体重 330~400 g では約 1.8 倍の含量を示した。
3. 膀胱上皮細胞を凍結保存すると強い DNA 損傷が生じた。したがって DNA 損傷を測定するには細胞採取後速やかにアルカリ溶出法を実施する必要があることがわかった。
4. BBN を膀胱に注入したラットの DNA 量を測定すると添加濃度に依存して弱いながら DNA 損傷が認められた。

### 文 献

- 1) Cohen, S. M. *et al.*: *Environ. Health Perspect.*, **50**, 51(1983)
- 2) Williams, G. M. *et al.*: *Progress in Mutation Res.*, **5**, 59(1985)
- 3) Tsuda, H. *et al.*: *Gann*, **68**, 781(1977)
- 4) Miyata, Y. *et al.*: *Chem-Biol. Interact.*, **29**, 291(1980)
- 5) Cox, R. and Irving, C. C.: *Cancer Res.*, **36**, 4114(1976)
- 6) Reitz, R. H. *et al.*: *Chem-Biol. Interact.*, **43**, 99(1983)
- 7) Kohn, K. W. *et al.*: *Biochemistry*, **13**, 4134(1974)
- 8) Hiraga, K. *et al.*: *Food Cosmet. Toxicol.*, **19**, 303(1981)
- 9) Hiraga, K. *et al.*: *Food Chem. Toxicol.*, **22**, 865(1984)
- 10) Sina, J. F. *et al.*: *Mutation Res.*, **113**, 357(1983)
- 11) Parodi, S. *et al.*: *Mutation Res.*, **54**, 39(1978)
- 12) Montesano, R. *et al.*: *Cancer Res.*, **39**, 1798(1979)
- 13) Alur, M. D. and Grecz, N.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **62**, 308(1975)
- 14) Morimoto, K. *et al.*: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* **78**, 1027(1987)

ラットによる bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether の亜急性毒性試験

岡田清司・川崎 靖・松本清司・落合敏秋・中路幸男  
小林和雄・降矢 強・黒川雄二・戸部満寿夫

Subacute Toxicity Study for Bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether

Kiyoshi SEKITA, Yasushi KAWASAKI, Kiyoshi MATSUMOTO,  
Toshiaki OCHIAI, Yukio NAKAJI, Kazuo KOBAYASHI,  
Tuyoshi FURUYA, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE

A three-month subacute toxicity study of bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether was performed on male and female Wistar rats. The test substance was given ad lib. at dose levels of 0 (control), 600, 3000 and 15000 ppm in the diet.

All animals in the 15000 ppm group of both sexes became emaciated and died within 30 days of treatment. Slight depression of body weight gain was also observed in the 600 and 3000 ppm groups of the males. The MCV value was slightly decreased in the 600 ppm group of the females and in the 3000 ppm group of both sexes. Increases in phospholipids and total cholesterol in the serum were noted in the 3000 ppm group of both sexes. Triglycerides were also significantly increased in the females. Similar findings were observed in the 600 ppm group of both sexes. Increase in liver weight was observed in the 3000 ppm group of both sexes. A slight increase in liver and kidney weights were also noted in the 600 ppm and 3000 ppm groups. Hepatocellular necrosis or swelling was seen in the 15000 ppm group (dead animals) of both sexes. Slight hepatocellular vacuolization and swelling were also observed in both males and females of the 3000 ppm group. The results suggest that the liver is the target organ for toxicity of bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether.

(Received May 31, 1988)

Bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether は一般家庭で  
繁用されているピレスロイド系殺虫剤の効果を増強する  
共力剤<sup>1)</sup>として殺虫剤に多量に添加されている。

一方、これらの殺虫剤の使用に起因すると考えられる  
bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether の家屋内および  
母乳中の汚染が明らかとなり、その汚染動向と安全  
性が問題となっている<sup>2-4)</sup>。

著者らは、bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether  
の長期摂取による生体への影響を検討する目的で、慢  
性毒性試験の実施に先がけて、ラットによる亜急性毒  
性試験を行ったのでその結果について報告する。

実験方法

1. 動物

Slc-Wistar 系ラット(静岡実験動物農業協同組合)  
雄、雌を4週齢で購入し、1週間動物室の環境(温度  
23±1℃, 湿度55±5%, 12時間照明・12時間暗)に馴  
化した後、健康と思われる動物を1群雄雌各々20匹か  
らなる4群に分け、実験を開始した。実験期間中は個  
別飼育し、検体飼料をおよび水(公共水道水)を自由

に摂取させた。

2. 検体および投与方法

(株)三共化成工業より供与された bis(2,3,3,3-tetra-  
chloropropyl) ether をラット飼育用粉末飼料 F-2  
(船橋農場製)に0(C群), 600(L群), 3000(M群)  
および15000 ppm(H群)の濃度で添加し、固形飼料  
を製造して検体飼料とした。

3. 検査項目

一般状態、体重および摂餌量：一般状態の観察は毎  
日、体重測定は週1回行った。また、摂餌量について  
は1週間分の摂餌量を週1回測定し、計算により1日  
分を求めた。

血液形態学的検査：1および3ヵ月目に、各群雄雌  
それぞれ7匹の動物について、眼窩静脈叢より採取し  
た血液を用いて Table 1 に示す項目を自動血球計数  
装置(Coulter SP, Coulter 社)で測定した。また、  
ライト染色血液塗抹標本を作成し、白血球の分別を自  
動血液像分類装置(MICROX, 立石電気)で検査した。

血清生化学的検査：血液形態学的検査を行った1週

Table 1. Hematological and biochemical examinations

Items of measurement	Abbreviation	Kit
<b>Hematology</b>		
Red blood cell count	RBC	
Hemoglobin	HGB	
Packed cell volume	PCV	
Mean corpuscular volume	MCV	
Mean corpuscular hemoglobin	MCH	
Mean corpuscular hemoglobin concentration	MCHC	
White blood cell count	WBC	
Blood platelet count	PLT	
<b>Biochemistry</b>		
Total protein	T-PRO	WAKO
Albumin	ALB	WAKO
Albumin-globulin ratio	A/G	Calculation
Blood urea nitrogen	BUN	SHINOTEST
Creatinine	CRN	BMJ
Uric acid	UA	BMJ
Glucose	GLU	BMJ
Non-esterified fatty acids	NEFA	EIKEN
Phospholipids	PL	WAKO
Triglycerides	T-GLY	BMJ
Total cholesterol	T-CHO	BMJ
Alkaline phosphatase	ALP	WAKO
Cholinesterase	CHE	BMJ
Creatine kinase	CK	BMJ
Aspartate aminotransferase	GOT	EIKEN
Alanine aminotransferase	GPT	EIKEN
$\alpha$ -Hydroxybutyrate dehydrogenase	HBDH	BMJ
Isocitrate dehydrogenase	ICDH	MBJ
Laccine aminopeptidase	LAP	WAKO
Lactate dehydrogenase	LDH-P	SHINOTEST
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	G6PDH	BMJ
Glutamate dehydrogenase	GLDH	BMJ
Calcium	Ca	WAKO
Phosphorus, inorganic	Pi	WAKO
Sodium	Na	DAIICHI
Potassium	K	DAIICHI
Chlorine	Cl	DAIICHI
Magnesium	Mg	WAKO

BMJ:Boehringer Mannheim Yamanouchi, EIKEN:Eiken Kagaku Co.,Lat.  
DAIICHI:Daiichi Pure Chemicals Co.,Lat. SHINOTEST:Shinoteste  
Laboratory, WAKO:Wako Pure Chemical Industries.

間後、同じ動物について検査した。血清は、採血前約17時間除餌を行った動物よりエーテル麻酔下で採取した、眼窩静脈血を遠心分離して得た。測定項目はTable 1に示す。測定は電解質(Na, K, Cl)を電解質自動測定装置(日立702型)で、それ以外の項目は血液自動分析装置(Gemsaec IV, Electro Nuclenics社)を用いて行った。

臓器重量:動物は血清生化学検査用の血液を採取後、エーテル麻酔下で頸動脈を切断し、放血致死させた。測定は剖検所見を記録後、脳、脳下垂体、甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓および精巣あるいは卵巣の各臓器について行った。さらに計算により相対重量を求めた。なお実験終了時の3ヵ月目には、血清生化学的検査を実施しなかった生存動物についても同様の方法で屠殺し、臓器重量の測定を行った。

病理組織学的検査:検査の対象とした動物は、1ヵ月目では解剖した動物(各群、雄雌各7例)のうち、各群、雄雌それぞれ、5例について、3ヵ月目には生存していたすべての動物について、また、途中死亡動物(H群)例は半数の動物を対象動物として検査した。

検査した臓器および組織は、重量測定した臓器のほか、顎下腺、胸腺、精巣上部、子宮、胃、小腸、大腸、脊髄、坐骨神経、大腿骨および大腿筋である。これらの臓器および組織は摘出後、可及的速やかに10%等張ホルマリン液で固定し、その後常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作成し、鏡検した。

有意差検定:血液形態学的検査値、生化学的検査値および臓器重量について山崎ら<sup>5)</sup>の手順に従いDunnnett法およびScheffé法により、C群と処置群の値を多重比較した。



実験結果および考察

1. 一般状態および死亡動物

C, L および M 群では、雄雌とも特異な症状の発現は認められなかった。しかし、H 群では雄雌とも、実験開始後 3~4 日目より消瘦が認められた。また、1 週間後には鼻出血が疑われる顔面の汚れおよび尿による尿道口周囲の汚れが一部の動物に見られた。

死亡動物は H 群の雄雌に見られた。雄では、12 日目に最初の死亡が認められ、18~23 日目に全動物数の 60% が死亡あるいは瀕死動物として剖検された。そして 29 日目までにすべての動物が死亡した。雌も、雄と同様に 12 日目より死亡が起こり、15~19 日に全体の 85% の動物が死亡動物として剖検された。そして、19 日目までにすべてが死亡した。

2. 体重および摂餌量

L および M 群では、雄で軽度の体重抑制が認められた。その抑制程度は、C 群の体重を 100 とすると、1 ヶ月目の L 群で約 96.5, M 群で 96.0, そして 3 ヶ月目ではそれぞれ 96.5, 95.0 であった。摂餌量では、変化は認められなかった。H 群では、雄雌とも実験開始後より、著しく体重が減少し、2 週間目の体重は雄で C 群の体重の 40%, 雌で 47% に減少した。また、摂餌量も著しく低く、雄では C 群の摂餌量の約 60%, 雌では約 65% であった。

3. 血液形態学的検査

検査結果の一部を Table 2, 3 に示す。雄では、1 および 3 ヶ月目に M 群の MCV が有意な減少を示した。雌では、1 ヶ月目に M 群の Hb および MCV が、3 ヶ月目には、L および M 群の Hb, PCV および

Table 2. Hematological findings of male rats fed bis (2, 3, 3, 3-tetrachloropropyl) ether for 1 and 3 months

Groups	C ( 0 ppm)	L ( 600 ppm)	M (3000 ppm)
No. of animals	7	7	7
1 Month			
RBC (X10 <sup>6</sup> )	8.35±0.33	8.26±0.47	8.24±0.47
Hb (g/dl)	15.4±0.6	15.2±0.7	14.6±0.4
PCV (%)	43.8±1.7	42.8±2.0	41.8±1.3
MCV ( fl )	52.3±0.4	51.9±0.9	50.7±0.5 *
3 Months			
RBC (X10 <sup>6</sup> )	8.72±0.39	8.90±0.56	9.17±0.34
Hb (g/dl)	16.1±0.6	16.2±0.6	15.5±0.3
PCV (%)	44.3±1.9	44.1±2.8	41.9±1.5
MCV ( fl )	50.9±0.3	49.5±0.5	45.7±0.4 **

\* P < 0.05 when compared to control  
\*\* P < 0.01 when compared to control

MCV が有意な減少を示した。このように雄雌とも、MCV の減少が見られ、小球性貧血の傾向が認められた。

この他、表には示さなかったが、雄の 1 ヶ月目に PLT が増加傾向と 3 ヶ月目の WBC の減少傾向がそれぞれ M 群で認められた。また、雌では 1 ヶ月目に

Table 3. Hematological findings of female rats fed bis (2, 3, 3, 3-tetrachloropropyl) ether for 1 and 3 months

Groups	C ( 0 ppm)	L ( 600 ppm)	M (3000 ppm)
No. of animals	7	7	7
1 Month			
RBC (X10 <sup>6</sup> )	7.79±0.25	8.11±0.36	8.01±0.26
Hb (g/dl)	15.9±0.5	16.0±0.5	15.3±0.4 *
PCV (%)	43.0±1.4	43.5±1.5	42.4±1.2
MCV ( fl )	53.9±0.5	53.5±0.4	52.9±0.5 **
3 Months			
RBC (X10 <sup>6</sup> )	8.00±0.38	7.45±0.16**	7.88±0.21
Hb (g/dl)	16.6±0.5	15.7±0.3 **	14.9±0.2 **
PCV (%)	43.2±2.2	39.4±0.9 **	39.0±1.3 **
MCV ( fl )	54.0±0.6	52.9±0.5 **	49.4±0.7 **

\* P < 0.05 when compared to control  
\*\* P < 0.01 when compared to control

Table 4. Biochemical findings of male rats fed bis (2, 3, 3, 3-tetrachloropropyl) ether for 1 month

Groups	C ( 0 ppm)	L ( 600 ppm)	M (3000 ppm)
No. of animals	7	7	7
T-PRO ( g/dl)	6.7±0.5	6.9±0.6	6.6±0.4
ALB ( g/dl)	4.7±0.1	4.7±0.1	4.9±0.1 **
A/G	2.4±0.5	2.3±0.6	2.8±0.6
BUN (mg/dl)	16±1	18±1	21±1 **
CRN (mg/dl)	0.54±0.03	0.52±0.05	0.53±0.06
UA (mg/dl)	3.05±0.66	3.35±0.62	3.82±0.89
GLU (mg/dl)	130±17	119±15	134±22
NEFA (mEq/l)	0.48±0.11	0.50±0.05	0.48±0.11
PL (mg/dl)	134±3	148±8 *	159±5 **
T-GLY (mg/dl)	129±19	121±32	75±11 **
T-CHO (mg/dl)	52±8	63±6 *	78±5 **
ALP (mU/ml)	416±28	357±67	293±22 **
CHE (mU/ml)	510±67	510±90	370±30 **
CK (mU/ml)	212±80	286±186	314±232
GOT (mU/ml)	61±7	67±8	62±11
GPT (mU/ml)	33±3	33±3	32±6
HBDH (mU/ml)	71±62	89±51	97±58
ICDH (mU/ml)	4.0±2.3	4.0±1.8	5.4±2.9
LAP (mU/ml)	44±1	43±1	42±1
LDH-P (mU/ml)	259±264	363±251	411±298
G6PDH (mU/ml)	8.03±4.35	7.49±3.38	7.70±3.65
GLDH (mU/ml)	7.2±2.1	7.4±2.0	8.2±2.5
Ca (mg/dl)	9.3±0.4	9.5±0.3	9.8±0.3 **
Pi (mg/dl)	9.0±1.0	9.0±1.0	10.0±1.5
Na (mEq/l)	139±2	139±2	139±1
K (mEq/l)	4.7±0.2	4.5±0.4	4.7±0.5
Cl (mEq/l)	102±3	101±1	101±1
Mg (mEq/l)	2.8±0.5	3.4±0.3 *	3.8±0.5 **

\* P < 0.05 when compared to control  
\*\* P < 0.01 when compared to control

PLT が、3ヵ月目には WBC がM群で増加傾向を認めた。

#### 4. 血清生化学的検査

雄の結果を Table 4, 5 に示す。1ヵ月目では、PL, T-CHO, Mg がLおよびM群で、ALB, BUN, Ca, がM群で有意な増加を、T-GLY, ALP, CHE がM群で有意な減少を示した。3ヵ月目では、T-PRO, ALB, PL がLおよびM群で、T-CHO, Mg がM群で有意な増加を、A/G, ALP, GOT, GPT, LAP がM群で有意な減少をそれぞれ示した。

雌の結果は Table 6, 7 に示す。雄と同様の傾向が認められた。すなわち、その変化の特徴は脂質の増加(雄では T-GLY 減少)といくつかの酵素の減少であった。

雄雌とも、M群での脂質の増加は大きく(雄の T-GLY は減少)、脂質の主要な代謝臓器である肝臓と検体摂取の関連性が示唆された。しかし、酵素については有意差を認めるものの、その変化は小さく、また戸部ら<sup>6)</sup>は、重度の肝障害の場合は多くの酵素が増加すると報告している。このことより、M群での肝臓への影響はそれほど重度のものではないと考える。

一方、実験途中で瀕死動物として処理されたH群に

Table 5. Biochemical findings of male rats fed bis (2, 3, 3, 3-tetrachloropropyl) ether for 3 months

Groups	C (0 ppm)	L (600 ppm)	M (3000 ppm)
No. of animals	7	7	7
T-PRO (g/dl)	6.5±0.3	7.0±0.2 **	7.4±0.2 **
ALB (g/dl)	4.2±0.1	4.4±0.1 *	4.5±0.1 **
A/G	1.8±0.1	1.7±0.1	1.6±0.1 **
BUN (mg/dl)	18±1	16±2	18±2
CRN (mg/dl)	0.62±0.03	0.60±0.04	0.55±0.04**
UA (mg/dl)	1.60±0.43	1.78±0.45	1.63±0.58
GLU (mg/dl)	146±12	143±27	129±11
NEFA (mEq/l)	0.45±0.09	0.47±0.09	0.45±0.09
PL (mg/dl)	133±13	149±5 *	163±6 **
T-GLY (mg/dl)	170±41	185±17	143±17
T-CHO (mg/dl)	54±8	60±3	66±4 **
ALP (mU/ml)	232±20	240±16	199±13 **
CHE (mU/ml)	662±153	808±102	701±110
CK (mU/ml)	256±252	243±130	178±79
GOT (mU/ml)	82±12	82±12	64±10 *
GPT (mU/ml)	53±7	51±6	39±6 **
HBDH (mU/ml)	50±20	72±39	61±24
ICDH (mU/ml)	4.9±2.7	6.2±2.4	7.9±6.2
LAP (mU/ml)	44±2	43±3	41±1 **
LDH-P (mU/ml)	159±76	265±184	205±100
G6PDH (mU/ml)	7.78±3.94	9.07±3.53	10.11±5.63
GLDH (mU/ml)	22.6±4.4	23.4±7.2	18.9±7.0
Ca (mg/dl)	11.5±0.4	12.0±0.5	11.0±0.3
Pi (mg/dl)	8.7±0.7	8.7±0.9	8.0±0.7
Na (mEq/l)	139±1	140±1	140±1
K (mEq/l)	5.0±0.3	5.5±0.5	5.3±0.4
Cl (mEq/l)	101±1	102±1	101±1
Mg (mEq/l)	2.2±0.1	2.3±0.2	2.5±0.2 **

\* P < 0.05 when compared to control  
\*\* P < 0.01 when compared to control

Table 6. Biochemical findings of female rats fed bis (2, 3, 3, 3-tetrachloropropyl) ether for 1 month

Groups	C (0 ppm)	L (600 ppm)	M (3000 ppm)
No. of animals	7	7	7
T-PRO (g/dl)	6.8±0.6	6.9±0.8	7.8±0.7 *
ALB (g/dl)	4.1±0.1	4.2±0.2	4.4±0.1 **
A/G	1.6±0.4	1.7±0.8	1.4±0.3
BUN (mg/dl)	21±1	21±1	20±3
CRN (mg/dl)	0.59±0.09	0.63±0.07	0.53±0.04
UA (mg/dl)	5.25±1.31	6.07±2.40	2.83±0.22**
GLU (mg/dl)	157±27	160±15	142±16
NEFA (mEq/l)	0.53±0.09	0.42±0.11	0.45±0.08
PL (mg/dl)	134±4	146±8 **	186±7 **
T-GLY (mg/dl)	68±14	78±9	117±38 **
T-CHO (mg/dl)	68±10	92±13 **	138±13 **
ALP (mU/ml)	311±23	276±41	248±25 **
CHE (mU/ml)	1332±168	1205±154	996±49 *
CK (mU/ml)	653±860	574±456	148±46
GOT (mU/ml)	90±26	83±19	54±5 **
GPT (mU/ml)	37±6	37±5	28±3 **
HBDH (mU/ml)	151±68	141±73	72±35
ICDH (mU/ml)	9.2±4.5	8.7±5.0	5.8±2.2
LAP (mU/ml)	50±4	45±2	41±2 **
LDH-P (mU/ml)	511±229	493±268	300±153
G6PDH (mU/ml)	12.89±7.82	11.69±5.98	6.12±2.86
GLDH (mU/ml)	8.2±1.0	7.6±1.5	7.6±2.3
Ca (mg/dl)	9.1±0.2	9.5±0.2	9.8±0.1 **
Pi (mg/dl)	6.9±1.3	6.8±1.7	5.7±1.0
Na (mEq/l)	138±1	138±2	137±1
K (mEq/l)	5.0±0.4	4.7±0.3	4.5±0.4
Cl (mEq/l)	103±1	103±2	102±1
Mg (mEq/l)	4.0±0.3	4.2±0.6	3.5±0.2 *

\* P < 0.05 when compared to control  
\*\* P < 0.01 when compared to control

Table 7. Biochemical findings of female rats fed bis (2, 3, 3, 3-tetrachloropropyl) ether for 3 months

Groups	C (0 ppm)	L (600 ppm)	M (3000 ppm)
No. of animals	7	7	7
T-PRO (g/dl)	6.5±0.1	6.6±0.2	7.2±0.4 **
ALB (g/dl)	4.1±0.1	4.1±0.1	4.4±0.2 **
A/G	1.7±0.1	1.7±0.1	1.6±0.1
BUN (mg/dl)	15±2	15±2	15±3
CRN (mg/dl)	0.58±0.05	0.55±0.06	0.53±0.04
UA (mg/dl)	2.32±0.48	2.38±0.74	1.76±0.53
GLU (mg/dl)	121±17	134±18	111±9
NEFA (mEq/l)	0.46±0.09	0.50±0.06	0.48±0.10
PL (mg/dl)	143±11	170±10 *	230±16 **
T-GLY (mg/dl)	67±22	82±20	159±35 **
T-CHO (mg/dl)	68±7	96±9	139±18 **
ALP (mU/ml)	176±7	178±19	127±16 **
CHE (mU/ml)	1903±163	1718±149	1384±203 **
CK (mU/ml)	381±296	394±343	300±301
GOT (mU/ml)	96±38	76±16	60±15 *
GPT (mU/ml)	46±15	41±6	37±7
HBDH (mU/ml)	92±39	82±29	87±30
ICDH (mU/ml)	7.7±5.9	7.0±3.0	7.0±3.7
LAP (mU/ml)	43±2	43±2	41±1
LDH-P (mU/ml)	338±162	276±119	271±111
G6PDH (mU/ml)	10.31±4.11	7.90±3.01	9.15±4.46
GLDH (mU/ml)	36.1±27.0	23.0±9.2	14.7±5.2
Ca (mg/dl)	9.9±0.3	10.9±1.1	10.1±0.4
Pi (mg/dl)	6.4±0.8	5.7±0.8	6.4±0.6
Na (mEq/l)	139±1	140±1	139±1
K (mEq/l)	5.3±0.5	5.1±0.3	5.0±0.5
Cl (mEq/l)	102±2	102±1	101±1
Mg (mEq/l)	2.5±0.2	2.5±0.2	2.5±0.1

\* P < 0.05 when compared to control  
\*\* P < 0.01 when compared to control

ついても、血清中の T-GLY, ALP および GOT について測定した。その値をC群の1ヵ月目と比較すると、雄雌とも、T-GLY (30.33±6.09, 29.83±7.7) は著しい減少を、ALP (854.5±175.6, 871.4±384.3), GOT (169.3±115.1, 117.8±32.7) は増加を示し、細胞毒型の肝傷害<sup>7)</sup> に類似する変化が認められた。

5. 臓器重量

肝臓、腎臓および副腎の変化を Table 8, 9 に示す。この他の臓器でも、有意差が散見されたが、変化は小さく、また一定の傾向も認められなかった。

雄雌とも、1ヵ月目よりM群の肝臓および腎臓が有意な増加を示した。そして、3ヵ月目では、その傾向がL群でも認められるようになった。また、雌の副腎でも1ヵ月目のLおよびM群、3ヵ月目のL群で有意な増加を示した。

6. 病理組織学的検査

肝臓および腎臓の変化について Table 10, 11 に示す。

雄では、CおよびL群で認められない肝細胞の空胞化が、3ヵ月目にM群の3例に認められた。死亡動物(H群)では、肝細胞の膨化がほとんどの動物に見られ、うち3例は壊死をともなった。また空胞化も6例に認められた。このほか死亡動物では精巣の曲

Table 8. Organ weights of male rats fed bis (2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether for 1 and 3 months

Groups		C ( 0 ppm)	L ( 600 ppm)	M (3000 ppm)
1 Month				
No. of animals		7	7	7
Body weight ( g )		224.7±8.6	224.3±15.8	210.5±9.4
Liver	Abso.( g )	7.29±1.36	7.25±0.65	10.11±0.50**
	Rela.( g%)	3.25±0.67	3.23±0.11	4.80±0.09**
Kidneys	Abso.( g )	1.50±0.12	1.57±0.09	1.74±0.13**
	Rela.( g%)	0.67±0.05	0.70±0.06	0.83±0.07**
Adrenals	Abso.( g )	29.7±2.5	28.0±2.3	28.4±2.1
	Rela.(mg%)	13.2±1.1	12.9±0.9	13.5±1.2
3 Month				
No. of animals		13	13	13
Body weight ( g )		329.9±24.6	313.1±15.9	304.6±22.8**
Liver	Abso.( g )	8.26±0.80	9.26±1.08*	12.56±1.21**
	Rela.( g%)	2.51±0.25	2.96±0.32*	4.12±0.12**
Kidneys	Abso.( g )	1.79±0.11	1.93±0.20	2.11±0.18**
	Rela.( g%)	0.54±0.04	0.62±0.05**	0.69±0.04**
Adrenals	Abso.( g )	36.9±3.4	38.2±4.6	37.0±2.1
	Rela.(mg%)	11.3±1.4	12.2±1.3	12.2±1.1

\* P < 0.05 when compared to control  
\*\* P < 0.01 when compared to control

Table 9. Organ weights of female rats fed bis (2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether for 1 and 3 months

Groups		C ( 0 ppm)	L ( 600 ppm)	M (3000 ppm)
1 Month				
No. of animals		7	7	7
Body weight ( g )		143.8±8.2	144.4±6.3	151.3±8.9
Liver	Abso.( g )	4.46±0.33	4.83±0.43	8.00±0.61**
	Rela.( g%)	3.10±0.14	3.35±0.23	5.29±0.23**
Kidneys	Abso.( g )	1.12±0.03	1.12±0.08	1.30±0.10**
	Rela.( g%)	0.78±0.04	0.77±0.03	0.86±0.06**
Adrenals	Abso.( g )	39.1±3.3	50.6±4.0 **	60.7±6.2 **
	Rela.(mg%)	27.3±2.7	35.0±2.6 *	40.1±3.0 **
3 Month				
No. of animals		13	13	13
Body weight ( g )		180.4±12.1	181.3±6.3	178.3±8.5
Liver	Abso.( g )	4.61±0.29	5.13±0.17*	7.94±0.59**
	Rela.( g%)	2.56±0.12	2.83±0.08*	4.45±0.22**
Kidneys	Abso.( g )	1.15±0.07	1.23±0.08*	1.29±0.11**
	Rela.( g%)	0.64±0.06	0.68±0.04	0.72±0.05**
Adrenals	Abso.( g )	45.5±4.7	51.3±4.9 **	48.3±4.0
	Rela.(mg%)	25.3±3.1	28.3±2.5*	27.1±2.5

\* P < 0.05 when compared to control  
\*\* P < 0.01 when compared to control

細精管内精子の消失あるいは曲細精管の萎縮がほとんどの例に見られた。この他の臓器では、特記するような変化は認められなかった。

雌では、CおよびL群で認められない中心静脈周囲の肝細胞の膨化が、3ヵ月目のM群の11例に認められた。死亡動物(H群)では、肝細胞の膨化および空胞化がそれぞれ6および4例に認められた。また、脾臓の濾胞内リンパ細胞の減少が7例に認められた。この他の臓器では特記するような変化は認め

Table 10. Histopathological findings of male rats fed bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether for 1 and 3 months

Groups	1 Month				3 Months			
	C	L	M	H*	C	L	M	
No. of animals examind	5	5	5	10	13	13	13	
Liver	liver cell							
	swelling	0	0	0	9	0	0	0
	single cell necrosis	0	0	0	3	0	0	0
	vacuolization	0	0	0	6	0	0	3
Kidney	tubules							
	epithelial cast	2	4	2	7	10	6	12
	eosinophilic body	5	5	5	0	13	13	13
	regeneration	0	2	0	0	3	1	4
	desquamation	0	0	0	0	10	9	12

\* All died or moribund within one one month

Table 11. Histopathological findings of female rats fed bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether for 1 and 3 months

Groups	1 Month				3 Months		
	C	L	M	H*	C	L	M
No. of animals examined	5	5	5	10	13	13	13
Liver							
liver cell swelling	0	0	0	6	0	0	11
focal necrosis	0	0	0	0	0	1	0
vacuolization	0	0	0	4	0	0	0
sinusoid dilatation	0	0	0	0	1	0	0
Kidney							
tubules							
epithelial cast	3	3	2	6	4	7	7
calcification	4	4	5	0	12	13	13

\* All died or moribund within one one month

られなかった。

空胞化については、脂肪染色を行っていないので、断定することはできないが、生化学検査値や実験的肝障害の報告<sup>6)</sup>から推測すると、その本態は脂肪であると考えられた。また病理組織学的検査結果より、本検体の肝臓への傷害性は細胞毒型<sup>7)</sup>に分類されるものと考えられた。

### ま と め

Bis(2,3,3,3-tetrachloropropyl) ether を 0, 600, 3000 および 15000 ppm 添加した飼料を雄雌のラットに3ヵ月間自由に摂取させ、生体への影響を検査した。

15000 ppm 群では、雄雌とも1ヵ月以内に消瘦ともなっており死亡した。また、雄の600および3000 ppm

群でも、軽度の体重抑制が認められた。

血液形態学検査では、MCVの減少傾向が雄の3000 ppm および雌の600および3000 ppm 群で認められた。

血清生化学的検査では、雄雌とも3000 ppm 群で、リン脂質および総コレステロールの増加が認められた。また、雌ではトリグリセライドの増加も認められた。このような変化は600 ppm 群でも、軽度に見られた。

臓器重量では、雄雌とも3000 ppm で肝臓が増加した。また、3000 ppm 群の腎臓および600 ppm 群の肝臓が軽度な増加傾向を示した。

病理組織学的検査では、雄雌とも、15000 ppm 群で肝細胞の壊死あるいは膨化が認められた。また、3000 ppm 群では、雌で軽度の肝細胞の膨化および雄で空胞化が認められた。

以上のことから、本検体の毒性学上の標的臓器は肝臓であると結論した。

### 文 献

- 1) 山本 亮：農薬学，p.83 (1969) 南江堂
- 2) T. Miyazaki *et al.*: *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 26, 420(1981)
- 3) 宇野正清ら：奈良県衛研所報，17, 94<sup>~</sup>(1983)
- 4) 宇野正清ら：衛生化学，30, 207 (1984)
- 5) 山崎 実ら：武田研究報，40, 163 (1981)
- 6) 戸部満寿夫ら：衛生試験報，99, 156 (1981)
- 7) H. J. Zimmerman: *Environ. Health. Perspect.*, 3, 15, (1976)

防菌・防黴剤パラクロルメタキシレンール (PCMX) の雌マウス  
における経皮発癌性試験 (慢性毒性試験を含む)

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

Combined Long-term Toxicity and Carcinogenicity Test of  
*p*-Chloro-*m*-xyleneol (PCMX) Applied to Female Mouse Skin

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

*p*-Chloro-*m*-xyleneol (PCMX), a widely used antibacterial/antifungal agent, was evaluated for its potential to induce cutaneous neoplasia in female Slc : ddY mice. PCMX (1.0% and 10.0%) dissolved in ethanol was applied to the shaved skin two times weekly for 79 weeks. The control group received olive oil under similar conditions. Moreover, 10 animals in each group receiving the same dosages were killed at 6 and 12 months and used for the chronic toxicity study. No statistically significant effects on survival were apparent and no skin tumors were found in the treated group. Although adenomas of the lung and adenocarcinomas of the mammary gland were observed in both control and experimental groups, their occurrence was not considered to be treatment-related, because no significant differences were observed. In the chronic toxicity study, no significant effect related to the chemical was evident. Therefore, under the conditions of the present study, PCMX did not show local carcinogenic activity.

(Received May 31, 1988)

はじめに

細菌類やカビ類の防菌・防黴剤は、工業用、農業用、医療用、化粧品用および家庭用品など広い範囲に使用されており、われわれの生活環境中では、特に、保健衛生面での貢献が大きい。

*p*-Chloro-*m*-xyleneol (PCMX) は、家庭用品の中で皮革、ペイントおよびインキなどの防菌・防黴剤として使用されているほか、糊や接着剤においても用いられている。PCMX の毒性に関しては、変異原性<sup>1)</sup>、急性毒性<sup>2,3)</sup>、亜急性毒性<sup>4)</sup>、催奇形性<sup>5)</sup>、皮膚ならびに眼粘膜刺激性についてはいくつかの報告<sup>6)</sup>があるが、発癌性ならびに慢性毒性に関する報告は見当たらない。今回、われわれは家庭用品の毒性研究の一環として、PCMX の慢性毒性を含む経皮発癌性試験についてマウスを用いて検討した。

実験材料および方法

1. 被験物質

*p*-Chloro-*m*-xyleneol (PCMX) は、東京化成工業株

式社製 (Lot. No. AS-01) を用いた。

本品は、白色の微細な結晶で、水に難溶、アルコール、エーテル、ベンゼン、油脂および NaOH 水溶液に可溶の化合物である。投与に際しては、PCMX を所定の設定濃度になるようエタノールに溶解させて投与した。しかし、対照群はオリーブ油単独投与とした。PCMX の化学構造式を Fig. 1 に示す。

2. 使用動物および飼育条件

4週令の雌 Slc : ddY マウス (SPF) (静岡実験動物農業協同組合) を1週間予備飼育した後、一般状態から健康と思われた動物を選び5週令で実験に供した。

発癌性試験は、対照群70匹、1.0%群および10.0%

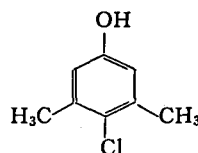


Fig. 1. Structural formula of *p*-chloro-*m*-xyleneol

群,各50匹とした。別に,各群10匹からなるサテライト群を対照群,1.0%および10.0%群に加え,慢性毒性試験に供した。

動物は,ソフトチップ(三協ラボサービス株式会社)を敷いたポリカーボネート製ケージに5匹ずつ収容し,室温 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,湿度 $55\pm 5\%$ ,照明は点灯6時,消灯18時の環境条件下のバリアーシステムの動物室で,固形飼料(船橋農場製F2)と水道水を自由に摂取させて飼育した。

### 3. 発癌性試験

検体の投与は,動物用バリカンで剪毛した動物の背部中央に $1\times 1.5\text{cm}$ の広さに,幅1cmのガラス製ノズルを付した注射器で,投与液を0.025ml塗布した。検体の塗布は週2回とし,18ヵ月間にわたって行った。なお,塗布部位の皮膚の発毛状態は個体差があるので,バリカンによる剪毛は随時塗布前日に行った。

用量設定:PCMXの急性毒性試験におけるマウスでの $\text{LD}_{50}$ 値は,経口投与で雌雄ともに1g/kgであり<sup>2)</sup>,背部皮下注射では,雌雄ともに3g/kgであった<sup>6)</sup>。それらの中毒症状ならびに死亡経過から推察するとPCMXは比較的低毒性のものであると考えられた。

PCMXのマウスによる長期塗布毒性実験の報告はなされていないが,ウサギで3.75%,12%および40%PCMXの90日間の塗布実験において,12%群で弱い刺激性,40%群に皮膚の腐食性が認められたこと<sup>4)</sup>,また,モルモットを用いた皮膚一次刺激性試験で,20.0%PCMX群に発赤が認められたこと<sup>7)</sup>などを参考にし,予備試験としてPCMXの1.5%および15.0%を雌マウスの背部に30日間塗布した。その結果,15.0%群で著明な変化は認められなかったが,18ヵ月間の投与期間を考慮して,長期試験での投与量を1.0%および10.0%の2段階とした。

体重および摂餌量:体重および摂餌量の測定はケージ毎にまとめて行い,27週目までは週1回,それ以降は隔週に測定した。

動物の一般状態および死亡(剖検):投与期間中,毎日朝夕2回,動物の一般状態および死亡の有無について観察し,途中死亡動物あるいは,瀕死の動物は発見後すみやかに解剖し,剖検所見を記録した。

血液学的検査:屠殺時に,対照群より20匹,1.0%および10.0%群より各10匹ずつ,無作為に選んだ動物(非絶食下)の眼窩静脈叢より採血した血液について赤血球数(RBC),ヘモグロビン量(Hb),ヘマトクリット値(Ht),白血球数(WBC),平均血球容積(MCV),平均ヘモグロビン量(MCH),平均ヘモグロビン濃度

(MCHC)をコールター・カウンターSP型(米国Coulter Electronics)で測定し,さらに,スライドグラスに塗抹した血液は,ライトギザム染色を施した後,マイクロックA型(立石電気)で白血球百分率を算出した。

病理組織学的検査:投与期間終了日まで生存した動物は,エーテル麻酔下で放血致死させた後解剖し,剖検所見を記録してから脳,心臓,肺,肝臓,腎臓および脾臓を摘出して実重量を測定し,体重比重量の算出を行った。さらに,卵巣,下垂体,甲状腺,顎下腺,胸腺,副腎,食道,胃,膀胱,十二指腸,空腸,回腸,腸間膜リンパ節,子宮,脊髄,大腿骨および膀胱を摘出し,先の臓器とともに10%中性緩衝ホルマリン液で固定後,脱水し,パラフィン包埋後薄切し,ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色標本を作製して病理組織学的検査を行った。

### 4. 慢性毒性試験

PCMXの発癌性試験と並行して,対照群,1.0%および10.0%群の各サテライト群を用意し,12ヵ月間の試験を行った。

観察,体重および摂餌量の測定は発癌性試験と同様に行った。検体投与6ヵ月目に,各群から5匹の動物を無作為に選び,12ヵ月目では,すべての生存動物について発癌性試験と同様の検査項目と血清生化学的検査を行った。

血清生化学的検査は,前日から約16時間の絶食後,血液学的検査用に眼窩静脈叢から採血後,断頭により採血し,遠心分離して得た血清について,総タンパク量(T-PRO),尿素窒素(BUN),血糖(GLU),離脂遊脂肪酸(NEFA),中性脂肪(T-GLY),総コレステロール(T-CHO),アルカリ性ホスファターゼ(ALP),グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT),グルタミン酸ピルビリン酸トランスアミナーゼ(GPT),血清グリンブロン・ジペチジルアミノペプチダーゼ(GPDAP)をジェムサックIV型自動分析装置(米国Electro Nucleonics)によって測定した。

### 5. 統計処理

血液学的検査(白血球百分比を除く),血清生化学的検査および器官重量の測定値の統計処理は,対照群とPCMX各投与群について,等分散の検定をBartlett法<sup>8)</sup>で行い,等分散の場合,一元配置分散分析で群間に有意差を認めたときは,Dunnett<sup>9),10)</sup>あるいはShefféの方法<sup>11)</sup>によって対照群とPCMX各投与群との比較を行った。等分散が認められない場合は,Kruskal-Wallis法<sup>12)</sup>を行い,群間に有意差を認めたときは,DunnettあるいはShefféの方法によって対

照群と PCMX 各投与群との比較を行った。また、2 群間の比較には t 検定を用いた。

病理組織学的検査成績については  $\chi^2$  検定を用いた。

## 結 果

### 1. 発癌性試験

#### 1.1. 体重および摂餌量

PCMX の 1.0% 群および 10.0% 群の平均体重および摂餌量の経時的变化を Fig. 2 に示した。体重および摂餌量とも、対照群 (オリーブ油単独投与群) とほぼ同様の推移を示し、各群間に有意の差を認めなかった。

#### 1.2. 一般状態および動物の死亡

実験期間中、PCMX 投与群で、特に異常を示す所見は得られなかった。

各群の生存曲線を Fig. 3 に示した。1.0% 群で 22 週目より、10.0% 群では 28 週目より、対照群は 33 週目より死亡が認められた。1.0% および 10.0% 群はともに対照群とほぼ同様の推移を示した。実験終了時 (79 週目) には、いずれの群も約半数の動物の死亡がみられ、対照群と投与群との間に有意差を認めなかった。

### 1.3. 死亡動物の剖検所見

途中死亡した動物の剖検時肉眼所見における腫瘍の発生は、対照群では、肺の腫瘍が 40 匹中 10 例 (25.0%)、肝および脾臓の腫瘍が 40 匹中各 2 例 (5.0%) に認められた。さらに、皮下腫瘍が 40 匹中 19 例 (47.5%) に認められた。1.0% 群では、肺、胃および卵巣腫瘍が 30 匹中各 2 例、皮下腫瘍が 30 匹中 10 例 (33.3%) に認められた。10.0% 群では、胃および子宮に 30 匹中各 1 例 (3.3%) の腫瘍が認められ、皮下腫瘍が 30 匹中 8 例 (26.7%) に認められた。なお、皮下腫瘍の発生部位は頸部、腋窩および鼠径部が主であった。

### 1.4. 18ヵ月目の所見

#### 1.4.1. 血液学的所見

18ヵ月目まで生存した動物についての血液学的検査成績は Table 1 に示した通りである。1.0% 群では、RBC, Hgb および MCHC が、10.0% 群では、Hgb および MCHC が、対照群に比し有意の増加を示した。白血球百分率については、3 群間に差を認めなかった。

#### 1.4.2. 器官重量

18ヵ月目まで生存した動物の器官重量は Table 2 に

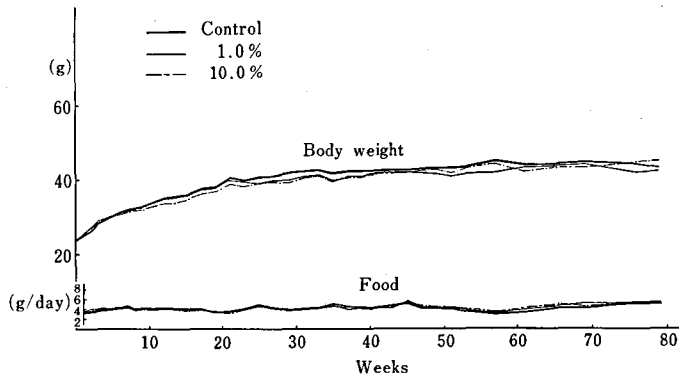


Fig. 2. Growth and food consumption for female mice painted with PCMX

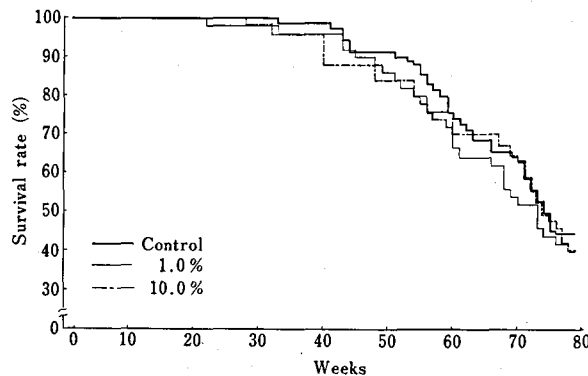


Fig. 3. Survival curves of female mice painted with PCMX

Table 1. Hematological findings of female mice painted with PCMX for 18 months

Test	Units	Dose (%)			
		No. of animals	0	1.0	10.0
			20	9	10
RBC	$\times 10^6 / \mu\text{l}$		8.24 $\pm$ 1.32	9.05 $\pm$ 0.46 *	8.56 $\pm$ 0.58
Hgb	g/dl		12.2 $\pm$ 1.9	13.6 $\pm$ 0.3 **	13.4 $\pm$ 0.8 *
Hct	%		37.6 $\pm$ 5.3	39.8 $\pm$ 1.3	38.1 $\pm$ 2.2
MCV	fl		45.8 $\pm$ 4.2	43.9 $\pm$ 1.6	44.5 $\pm$ 2.4
MCH	pg		14.9 $\pm$ 1.1	15.1 $\pm$ 0.7	15.7 $\pm$ 1.0
MCHC	%		32.6 $\pm$ 1.1	34.4 $\pm$ 0.6 **	35.2 $\pm$ 0.8 **
WBC	$\times 10^3 / \mu\text{l}$		13.9 $\pm$ 24.4	5.5 $\pm$ 1.3	11.3 $\pm$ 19.4
Differential (No. of animals)			(31)	(20)	(19)
Neutro	%		27.6 ( 2.8-55.7)	25.5 (12.1-42.3)	21.9 ( 0.0-40.2)
Eosino	%		5.7 ( 0.9-21.9)	8.1 ( 3.9-19.2)	8.0 ( 0.0-22.0)
Lympho	%		64.2 (29.5-96.3)	63.9 (46.3-78.8)	66.8 (43.9-95.5)
Mono	%		1.7 ( 0.0- 4.3)	1.4 ( 0.0- 4.0)	1.8 ( 0.0- 6.9)

Results are given as mean  $\pm$  S.D. (min.-max.)

\* : Significant at the 5% level as compared with the control value

\*\* : Significant at the 1% level as compared with the control value

Table 2. Body and organ weight findings of female mice painted with PCMX for 18 months

Test	Units	Dose (%)			
		No. of animals	0	1.0	10.0
			31	20	20
Body weight	g		43.4 $\pm$ 6.8	40.9 $\pm$ 8.3	44.7 $\pm$ 10.3
Absolute Organ Weights					
Brain	g		0.49 $\pm$ 0.02	0.49 $\pm$ 0.02	0.50 $\pm$ 0.02
Heart	g		0.18 $\pm$ 0.03	0.16 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.03
Lung	g		0.31 $\pm$ 0.14	0.31 $\pm$ 0.22	0.27 $\pm$ 0.06
Liver	g		2.26 $\pm$ 1.12	1.79 $\pm$ 0.89	1.70 $\pm$ 0.30 *
Kidney	g		0.72 $\pm$ 0.37	0.56 $\pm$ 0.15	0.60 $\pm$ 0.13
Spleen	g		0.50 $\pm$ 0.45	0.28 $\pm$ 0.27 *	0.31 $\pm$ 0.23 *
Relative Organ Weights					
Brain	g%		1.16 $\pm$ 0.17	1.23 $\pm$ 0.21	1.17 $\pm$ 0.25
Heart	g%		0.41 $\pm$ 0.07	0.39 $\pm$ 0.06	0.42 $\pm$ 0.08
Lung	g%		0.73 $\pm$ 0.38	0.85 $\pm$ 0.91	0.62 $\pm$ 0.16
Liver	g%		5.20 $\pm$ 2.40	4.34 $\pm$ 1.75	3.91 $\pm$ 0.65 **
Kidney	g%		1.66 $\pm$ 0.84	1.40 $\pm$ 0.40	1.40 $\pm$ 0.36
Spleen	g%		1.19 $\pm$ 1.13	0.66 $\pm$ 0.60	0.74 $\pm$ 0.60

Results are given as mean  $\pm$  S.D.

\* : Significant at the 5% level as compared with the control value

\*\* : Significant at the 1% level as compared with the control value

示した通りである。

1.0%群では、脾臓に、10.0%群では、肝臓および脾臓に実重量の有意な減少が認められた。体重比重量では、10.0%群で肝臓に有意の減少が認められたほか、対照群との間に差を認めなかった。

#### 1.4.3. 剖検所見

18ヶ月目まで生存した動物の剖検時肉眼所見における腫瘍の発生は、対照群で、肺の腫瘍が30匹中10例(33.3%)、皮下および胃の腫瘍が30匹中各5例(16.7%)に認められたほか、肝腫瘍が1例(3.3%)認めら

れた。1.0%群では、20匹中、肺に1例(5.0%)、皮下に2例(10.0%)の腫瘍が認められた。10.0%群では、腫瘍の発生は認められなかった。

#### 1.4.4. 病理組織学的所見

生存動物ならびに途中死亡動物に認められた腫瘍の病理組織学的検索結果は Table 3 に示した通りである。

肺の腺腫は、対照群でも66匹中19例(28.8%)に認められた。1.0%群では、47匹中18例(38.3%)であったが、10.0%群では46匹中4例(8.7%)と有意に減少



Table 3. Location and histological classification of tumors observed  
 in female mice painted with PCMX for 18 months

Group	Control	1.0%	10.0%
No. of animals examined	66	47	46
Brain			
meningioma	1 ( 1.5)	0	0
Pituitary			
chromophobe adenoma	1 ( 1.5)	1 ( 2.1)	0
Lung			
adenoma	19 (28.8)	18 (38.3)	4 ( 8.7) *
Adrenal			
pheochromocytoma	0	0	1 ( 2.2)
Forestomach			
squamous cell carcinoma	0	1 ( 2.1)	0
papilloma	5 ( 7.6)	0	0
papillary hyperplasia	2 ( 3.0)	0	2 ( 4.3)
Ovary			
clear cell carcinoma	1 ( 1.5)	0	0
papillary adenoma	1 ( 1.5)	0	0
hemangioendothelioma	1 ( 1.5)	0	0
Uterus			
hemangioma	0	0	1 ( 2.2)
Lymph node			
lymphosarcoma	1 ( 1.5)	0	0
Mammary gland			
adenocarcinoma	10 (15.1)	8 (17.0)	7 (15.2)
adenoma	8 (12.1)	3 ( 6.4)	0
Skin			
squamous cell carcinoma	1 ( 1.5)	0	0
Leukemia	1 ( 1.5)	0	1 ( 2.2)
Lymphoma	2 ( 3.0)	1 ( 2.1)	2 ( 4.3)

Numbers in parentheses indicate percentage incidences.

\* : Significant at the 5% level as compared with the control value

Table 4. Summary of histological findings of female mice painted  
 with PCMX for 18 months (non-neoplastic lesions)

Group	Control	1.0%	10.0%
No. of animals examined	66	47	46
Pituitary			
congestion	3 ( 4.5)	0	1 ( 2.2)
Liver			
focal cell infiltration	37 (56.1)	22 (46.8)	11 (23.9)
extramedullary hematopoiesis	7 (10.6)	5 (10.6)	6 (13.0)
Kidney			
Tubulus			
dilatation	40 (60.6)	23 (48.9)	36 (78.3)
regeneration of epithelium	6 ( 9.1)	2 ( 4.3)	3 ( 6.5)
epithelial cast	12 (18.2)	11 (23.4)	13 (28.3)
Interstitium			
cell infiltration	22 (33.3)	16 (34.0)	22 (47.8)

Numbers in parentheses indicate percentage incidences.

していた。肉眼的に皮下に認められた腫瘍は全て乳腺の腺癌であり、対照群で66匹中10例 (15.1%)、1.0%群では47匹中8例 (17.0%) および10.0%群では46匹中7例 (15.2%) にみられ、各群間に有意差を認めなかった。その他の部位にも腫瘍が散見されたが対照群と投与群との間に差を認めなかった。なお、塗布部位における皮膚の腫瘍は、実験群には認められなかった。

非腫瘍性的変化として、18ヵ月目にみられた主な所見について Table 4 に要約した。肝臓における細胞浸潤は各群に認められ、腎臓では、尿細管の拡張および細胞浸潤が多数例に認められたが、いずれも群間に有意の差を認めなかった。

## 2. 慢性毒性試験

### 2.1. 体重および摂餌量

体重および摂餌量ともに対照群とほぼ同様の推移を

示し、各群間に有意差を認めなかった。

## 2.2. 一般状態および動物の死亡

実験期間中に、PCMX 投与群で特に異常を示す所見はみられなかった。

途中死亡動物は、45週目に1.0%群の1例が死亡したのみであった。

## 2.3. 死亡動物の剖検所見

45週目に死亡した1.0%群の1例は、腋窩部に皮下腫瘤がみられたほか、肝および腎臓の退色、脾臓の肥

大が認められた。

## 2.4. 6ヵ月および12ヵ月目の所見

### 2.4.1. 血液学的所見

血液学的所見では、6ヵ月目および12ヵ月目ともに、対照群とPCMX群との間に有意差を認めなかった (Table 5)。

### 2.4.2. 血清生化学的所見

1.0%群で、6ヵ月目に、NEFA, PL, T-GLY および T-CHO が対照群に比して有意の減少を示したが、

Table 5. Hematological findings of female mice

Test	Units	Month Dose (%) No. of animals	6 M		
			0 5	1.0 5	10.0 4
RBC	$\times 10^6/\mu l$		9.96 $\pm$ 0.17	9.66 $\pm$ 0.62	9.79 $\pm$ 0.43
Hgb	g/dl		15.1 $\pm$ 0.4	14.5 $\pm$ 1.7	15.0 $\pm$ 0.2
Hct	%		43.4 $\pm$ 0.9	41.2 $\pm$ 4.2	43.0 $\pm$ 0.8
MCV	fl		43.5 $\pm$ 0.7	42.6 $\pm$ 2.6	43.9 $\pm$ 1.2
MCH	pg		15.2 $\pm$ 0.6	14.9 $\pm$ 1.3	15.3 $\pm$ 0.8
MCHC	%		34.9 $\pm$ 1.2	35.0 $\pm$ 1.1	34.9 $\pm$ 1.1
WBC	$\times 10^3/\mu l$		6.3 $\pm$ 1.3	6.8 $\pm$ 2.7	6.2 $\pm$ 1.1
Differential			(5)	(5)	(5)
Neutro	%		20.9 (17.7-22.4)	18.4 (14.0-23.0)	16.5 (13.6-19.2)
Eosino	%		5.0 (2.3-7.1)	5.2 (1.1-8.9)	5.4 (3.8-7.8)
Lympho	%		72.3 (67.5-78.2)	74.0 (69.2-80.9)	76.8 (72.4-82.1)
Mono	%		1.8 (0.0-4.3)	0.4 (0.0-1.0)	1.2 (0.5-2.3)

Results are given as mean  $\pm$  S.D.(min.-max.)

Table 6. Biochemical findings of female mice

Test	Units	Month Dose (%) No. of animals	6 M		
			0 5	1.0 5	10.0 5
T-PRO	g/dl		4.79 $\pm$ 0.11	4.99 $\pm$ 0.49	4.69 $\pm$ 0.35
ALB	g/dl		3.41 $\pm$ 0.16	3.35 $\pm$ 0.20	3.40 $\pm$ 0.24
A/G			2.47 $\pm$ 0.26	2.25 $\pm$ 0.68	2.65 $\pm$ 0.24
BUN	mg/dl		24.2 $\pm$ 3.6	21.5 $\pm$ 6.8	25.3 $\pm$ 6.7
GLU	mg/dl		165 $\pm$ 23	131 $\pm$ 28	147 $\pm$ 26
NEFA	meq/l		1.65 $\pm$ 0.08	1.05 $\pm$ 0.17 **	1.45 $\pm$ 0.43
PL	mg/dl		233 $\pm$ 20	166 $\pm$ 23 **	193 $\pm$ 34
T-GLY	mg/dl		176 $\pm$ 69	83 $\pm$ 18 *	141 $\pm$ 38
T-CHO	mg/dl		68 $\pm$ 8	39 $\pm$ 11 **	56 $\pm$ 20
ALP	mu/ml		138 $\pm$ 27	164 $\pm$ 63	174 $\pm$ 29
GOT	mu/ml		329 $\pm$ 131	260 $\pm$ 8	299 $\pm$ 139
GPT	mu/ml		52 $\pm$ 16	49 $\pm$ 19	49 $\pm$ 24
$\gamma$ -GTP	mu/ml		0.01 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00
GPDAP	mu/ml		15.4 $\pm$ 7.3	20.5 $\pm$ 6.0	20.4 $\pm$ 3.5

Results are given as mean  $\pm$  S.D.

\* : Significant at the 5% level as compared with the control value

\*\* : Significant at the 1% level as compared with the control value

10.0%群では変化を認めなかった。12ヵ月目では、10.0%群に、NEFA の有意の減少と ALP の有意の増加が認められた (Table 6)。

2.4.3. 器官重量

6ヵ月目および12ヵ月目ともに、各臓器の実重量と体重比重量において、各群間に有意の差を認めなかった (Table 7)。

2.4.4. 剖検所見

6ヵ月目および12ヵ月目ともに、対照群および投与

群のいずれにも異常と思われる所見を認めなかった。

2.4.5. 病理組織学的検査

死亡動物および6, 12ヵ月目に解剖した動物の主な腫瘍性病変として、肺の腺腫が6ヵ月目の対照群に1例、12ヵ月目の対照群および1.0%群に各2例認められた。また、主な腫瘍性病変としては、6ヵ月目および12ヵ月目ともに腎臓の尿管の拡張がみられたが、各群間に差を認めなかった。

Painted with PCMX for 6 and 12 months

12 M		
0	1.0	10.0
5	4	5
9.35 ± 0.57	9.42 ± 0.55	9.56 ± 0.49
15.0 ± 0.2	15.3 ± 0.8	15.3 ± 0.5
41.3 ± 1.9	41.5 ± 2.3	41.8 ± 1.7
44.1 ± 1.5	44.0 ± 0.5	43.7 ± 1.7
16.1 ± 1.0	16.2 ± 0.2	16.0 ± 0.5
36.3 ± 1.6	36.9 ± 0.3	36.5 ± 0.6
6.5 ± 1.4	6.7 ± 2.1	8.5 ± 7.5
(5)	(4)	(5)
16.4 ( 9.9-27.6)	10.3 ( 8.6-14.7)	11.4 ( 4.7-17.5)
9.4 ( 2.0-19.8)	6.1 ( 3.9- 8.6)	4.4 ( 0.9-11.8)
71.4 (60.2-81.1)	82.8 (80.0-87.0)	80.9 (33.4-92.5)
2.0 ( 0.0- 4.0)	0.8 ( 0.0- 3.0)	1.5 ( 0.0- 3.2)

Painted with PCMX for 6 and 12 months

12 M		
0	1.0	10.0
5	4	5
5.07 ± 0.31	4.90 ± 0.22	5.16 ± 0.44
3.42 ± 0.11	3.27 ± 0.09	3.58 ± 0.12
2.10 ± 0.24	2.03 ± 0.18	2.36 ± 0.50
24.2 ± 3.5	25.9 ± 3.1	25.6 ± 3.5
161 ± 48	183 ± 26	186 ± 30
1.62 ± 0.17	1.18 ± 0.36	1.26 ± 0.21 *
198 ± 13	190 ± 31	203 ± 16
145 ± 30	145 ± 39	127 ± 28
96 ± 15	93 ± 29	98 ± 18
178 ± 34	150 ± 42	240 ± 46 *
282 ± 37	254 ± 68	236 ± 29
44 ± 12	48 ± 7	53 ± 12
0.30 ± 0.50	0.25 ± 0.33	0.82 ± 0.91
25.2 ± 2.8	24.4 ± 4.5	24.3 ± 2.9

Table 7. Body and organ weight findings of female

Test	Units	Month	6 M		
			Dose (%)	M	
				0	1.0
No. of animals	5	5	5		
Body weight	g		35.2 ± 6.2	33.7 ± 2.6	37.5 ± 3.7
Absolute Organ Weights					
Brain	g		0.50 ± 0.02	0.48 ± 0.02	0.50 ± 0.03
Heart	g		0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.03	0.15 ± 0.01
Lung	g		0.21 ± 0.02	0.24 ± 0.04	0.24 ± 0.04
Liver	g		1.22 ± 0.16	1.22 ± 0.14	1.21 ± 0.06
Kidney	g		0.42 ± 0.06	0.42 ± 0.07	0.46 ± 0.10
Spleen	g		0.11 ± 0.03	0.17 ± 0.14	0.11 ± 0.02
Relative Organ Weights					
Brain	g%		1.44 ± 0.26	1.43 ± 0.14	1.34 ± 0.18
Heart	g%		0.42 ± 0.07	0.45 ± 0.07	0.41 ± 0.03
Lung	g%		0.62 ± 0.09	0.72 ± 0.19	0.65 ± 0.11
Liver	g%		3.49 ± 0.29	3.67 ± 0.68	3.25 ± 0.19
Kidney	g%		1.20 ± 0.11	1.27 ± 0.25	1.22 ± 0.18
Spleen	g%		0.31 ± 0.07	0.53 ± 0.50	0.30 ± 0.04

Results are given as mean ± S.D.

## 考 察

PCMX は米国および英国では古くから医療用として泌尿生殖器系局所消毒剤として用いられている。そのため経験的に比較的安全と考えられて、動物における毒性データが不十分のまま、長い間ヒトでの臨床に用いられてきており、ある意味で特異な経過をもつ物質と言うこともできる。しかしながら、その後、安全性を追求する必要性から種々の動物を用いた試験が実施されるようになった。それらのデータによると、PCMX には特記すべき全身性の毒性はなく、わずかに高濃度で、眼および皮膚に対する刺激性が報告されているにすぎない。しかし、これらの動物に用いた試験の中には、長期間皮膚に投与して発癌性を含む慢性の安全性を検討したという研究はみられていない。最近、我が国においても家庭用品などを中心に種々の目的でPCMX が用いられ、ヒトに接触する機会も多くなってきている。このような理由から長期の安全性に関する情報が必要とされ、今回、長期投与実験が実施された。実験には1.0%および10.0%のPCMX をマウスの皮膚に週2回、79週間塗布したが、誘発された腫瘍発生はなく、特記すべき毒性所見もみられなかった。なお、乳腺の腫瘍が腺癌および腺腫として認められたが、対照群および実験群との間に有意差はなく、自然発生によるものと思われた。また、全身諸臓器においても明らかな毒性出現は認められなかった。しかしな

がら、血液学的検査所見では、赤血球数(1.0%群)、ヘモグロビン、平均ヘモグロビン濃度において対照群に比してPCMX 投与群では有意に増加を示した。これらの値の差はバックグラウンドデータを参考にすれば、軽微であることから異常所見とは考え難かった。臓器重量においては、肝(10.0%群)および脾臓の重量の減少が認められたが組織学的にその意義を明らかにすることはできなかったことから、毒性学的には有意の所見と考え難かった。また、血清生化学的検査値においても、1.0%群の6ヵ月目にNEFA, PL, T-GLY および T-CHO の減少が、10.0%群の12ヵ月目にNEFA の減少がみられ、さらに、10.0%群の12ヵ月目にALP の上昇がみられたが、いずれも用量に相関した明らかな変化ではなかったことから毒性所見とは考え難かった。Guess と Bruch によるクロロキシレノールの総説によれば<sup>4)</sup>、30日間のウサギの皮膚での投与を紹介し、PCMX の高用量(40%溶液)で皮膚刺激性があった以外は、12%以下では毒性所見はなかったとしている<sup>4)</sup>。また、多くの動物での試験の結果を総合的に判断しても、致死量に近い極めて高い用量の投与を除けば特別な臓器に対する毒性はないと結論づけている。ヒトでの長期間にわたる使用経験を含めれば、PCMX には重篤な毒性あるいは蓄積性はないと思われ、通常的使用方法を続ける限り、安全な物質として位置づけることができると思われる。

mice painted with PCMX for 6 and 12 months

12 M		
0	1.0	10.0
5	4	5
42.1 ± 8.5	43.2 ± 11.8	43.7 ± 6.5
0.51 ± 0.02	0.47 ± 0.04	0.49 ± 0.03
0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.15 ± 0.02
0.25 ± 0.03	0.23 ± 0.04	0.24 ± 0.06
1.32 ± 0.19	1.30 ± 0.22	1.50 ± 0.28
0.55 ± 0.06	0.51 ± 0.09	0.60 ± 0.20
0.14 ± 0.03	0.15 ± 0.06	0.16 ± 0.11
1.24 ± 0.23	1.14 ± 0.23	1.14 ± 0.13
0.39 ± 0.04	0.37 ± 0.08	0.35 ± 0.02
0.62 ± 0.09	0.57 ± 0.19	0.54 ± 0.08
3.15 ± 0.23	3.08 ± 0.39	3.42 ± 0.21
1.34 ± 0.18	1.20 ± 0.15	1.36 ± 0.28
0.35 ± 0.13	0.37 ± 0.19	0.35 ± 0.19

### ま と め

防菌・防霉剤として使用されている *p*-Chloro-*m*-xyleneol(PCMX) について、Slc: ddY 雌マウスを用いて発癌性試験を行うとともに、慢性毒性試験も合わせて検討した。発癌性試験では、エタノールに溶解させた1.0%および10.0%のPCMXを、週2回、79週間にわたって背部皮膚に塗布した後、全例屠殺し、病理組織学的検査を行った。なお、対照群にはオリーブ油単独を実験群と同様の方法で投与した。慢性毒性試験では、上記濃度で同様に処理した後、6ヵ月目および12ヵ月目に屠殺し、病理組織学的検査ならびに血清生化学的検査を行った。

発癌性試験では、動物の生存率に対照群と実験群との間で有意の差はみられなかった。肺の腺腫および乳腺の腺癌が認められたが、それらの腫瘍は対照群にも認められたため、薬物による影響とは考え難かった。なお、塗布部位における皮膚腫瘍の発生は実験群には認められなかった。

慢性毒性試験では、血液学的所見、血清生化学的検査、臓器重量ならびに病理組織学的検査のいずれにおいても、特に、薬物の影響と思われる所見は得られなかった。

したがって、本実験条件下では、PCMXによる経皮発癌性はないものと思われた。

### 文 献

- 1) A. M. Bonin *et al.*: *Mutation Research*, **105**, 303(1982)
- 2) 門馬純子ら：厚生省（生活化学安全対策室）報告, 1985
- 3) E. W. Schafer, Jr., W. A. Bowles, Jr.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **14**, 111(1985)
- 4) W. L. Guess and M. K. Bruch: *J. Toxicol.-Cut & Ocular Toxicol.*, **5**, 233(1986)
- 5) 野田 勉ら：大阪市立環境科学研究所報告, **45**, 100 (1982)
- 6) 豊島 滋ら：社内報 (1985)
- 7) 高瀬吉雄ら：厚生省（生活化学安全対策室）報告, 1986
- 8) 畑村又好, 奥野忠一, 津村善郎共訳：統計の方法, p. 282 (1980), 岩波書店
- 9) C. W. Dunnett: *J. Am. Statist. Assoc.*, **50**, 1096 (1955)
- 10) C. W. Dunnett: *Biometrics*, **20**, 482(1964)
- 11) H. Sheffé: *Biometrics*, **40**, 87(1964)
- 12) W. H. Kruskal & W. A. Wallis: *J. Am. Statistic. Assoc.*, **47**, 583(1952)
- 13) 佐久間 昭：生物検定法, p. 234, 東大出版会 (1975)

## クロルピリフォスのラットによる28日間反復投与毒性試験について

小川幸男・鈴木幸子・内田雄幸・鎌田栄一・斎藤 実・梅村隆志  
若菜雅美・金子豊蔵・黒川雄二・戸部満寿夫

## 28-day Repeated Dose Toxicity Test for Chlorpyrifos in Wistar Rat

Yukio OGAWA, Sachiko SUZUKI, Osayuki UCHIDA, Eiichi KAMATA  
Minoru SAITO, Takashi UMEMURA, Masami WAKANA,  
Toyozo KANEKO, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE

A 28-day oral toxicity test of chlorpyrifos was conducted in rats by gavage at doses of 0.0, 0.1, 0.78, 6.25 and 50.0 mg/kg/day. Cholinesterase activity in serum of rats was decreased at a dose of 0.78 mg/kg/day and above. Brain cholinesterase was decreased at a dose of 6.25 mg/kg/day and above. Total-protein, triglycerides and total-cholesterol in serum and body weight gain were decreased, while urea nitrogen in serum and adrenal weight were increased in the 50.0 mg/kg/day dose group. Degeneration of tubules in the kidney was found in the groups given 0.78 mg/kg/day and above. No significant effect related to treatment was observed in hematological and clinical studies. After a 14-day recovery period, all of the above changes returned to normal except for the depression of brain cholinesterase activity. Kidney was slightly affected at doses higher than 0.78 mg/kg/day. The liver and adrenal gland were slightly affected at a dose of 50.0 mg/kg/day. The main adverse effect of chlorpyrifos was a depression of cholinesterase activity, and the lowest toxic dose was determined to be 0.78 mg/kg/day. It is concluded that a oral dose of 0.1 mg/kg/day for 28 days produced no significant toxic effect in rats under the condition of this study.

(Received May 31, 1988)

## はじめに

白蟻駆除剤として広く使用されていたクロルデン類の代替物質として使用されている有機リン剤クロルピリフォスの安全性を調べる目的で、28日間の反復投与毒性試験を行ったので報告する。

## 実験材料および方法

**被検物質：**実験に用いたクロルピリフォス (0,0-diethyl 0-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate) (CP) は日本化薬製の商品名カヤタック (純度98.5%) で、構造式を Fig. 1 に示した。

**動物および飼育条件：**静岡県実験動物農業協同組合より Slc : Wistar ラット雌雄各 100 匹を 4 週齢で購入し、1 週間の馴化飼育の後に、山崎ら<sup>1)</sup>の方法により雄 (123.5~134.1 g) 雌 (100.4~112.6 g) の各々 70 匹を対照 (C) 群と最高用量 (H) 群および中間の用量 (L, ML, MH) 群の 5 群のほか回復群として C 群と H 群の 2 群、計 7 群に雌雄各 10 匹を割り付けた。室温 23±1°C, 湿度 55±5%, 6 時~18 時の 12 時間照明下の SPF 動物室内で、床敷を入れたポリカーボネート

製ケージに 5 匹を収容し、ラット飼育用固形飼料 (船橋農場製 F2) と水道水を自由に摂取させた。

**投与量および投与方法：**文献的にラットの亜急性毒性試験で、コリンエステラーゼ活性阻害を認めない最大無作用量、0.1 mg/kg<sup>2)</sup> を L 群とした。また、90 日間の投与でコリン作動性症状を発現させる<sup>3)</sup> 50 mg/kg を確実中毒量と考え、予備試験で 7 日間の連続投与を行った結果、死亡を認めなかったので 50 mg/kg を H 群とした。この H 群の投与量は LD<sub>50</sub> 値 (雌雄とも平均 140 mg/kg, p. o.)<sup>2-5)</sup> の約 1/3 量である。この L 群と H 群の間を公比 8 として、6.25 (MH 群), 0.78 mg/kg (ML 群) を設け計 4 用量とした。

検体はコーン油に溶解し、動物の体重 100 g 当たり 0.2 ml になるように調製し、毎朝体重を測定しその

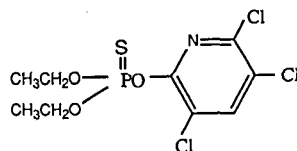


Fig. 1. Chemical structure of chlorpyrifos

体重から投与量を計算し、胃ゾンデにより1日1回28日間強制経口投与を行った。なお、回復群については最終投与後14日間の回復期間を設けた。

**観察ならびに検査項目：**投与期間中は一般状態の観察を行い、最終投与24時間後および回復期間終了後に、以下に示す検査を各群5例について行った。

#### 1. 一般状態、体重および摂餌量

一般状態の観察、死亡の有無、および体重の測定については毎朝行い、摂餌量の測定は週に1回行った。

#### 2. 血液学的検査および生化学的検査

16時間絶食後、エーテル麻酔下で眼窩静脈叢より採血し、Table 1 に示す血液学的検査の項目、および遠心分離した血清について生化学的検査の項目を測定した。

また、脳を正中線で2分しその一方を秤量し、3倍量の1.15% KCl 溶液を加えてホモジナイズした後、10000Gで20分間遠心分離した上清について、T-PRO および CHE を測定した。

#### 3. 病理学的検査

放血と殺後、剖検し、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、副腎を摘出し重量を測定した。これらに加え下垂体、眼球、膀胱、大腿骨(骨髓)および肉眼的に変化の認められた器官、組織を摘出し、10%中性等張ホルマリンで固定した。

病理組織学的検査は心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、膀胱および肉眼的に変化の認められたものについて行った。

#### 4. その他の検査

Table 1. Hematological and biochemical examinations

Items of measurement	Abbreviation	Kit
<b>Hematology</b>		
Coulter counter model SP		
Red blood cell	RBC	
Hemoglobin	HGB	
Hematocrit	HCT	
White blood cell	WBC	
Sysmex platelet counter PL-100		
Platelet	PLT	
Microx Heg 30A		
Differential count of white blood cell		
Reticulocyte count		
<b>Biochemistry Gensac automatic fast analyzer type IV</b>		
<b>Serum</b>		
Total protein	T-PRO	WAKO
Albumin	ALB	WAKO
Albumin-globulin ratio	A/G	Calculation
Blood urea nitrogen	BUN	SHINOTEST
Creatinine	CRN	BMJ
Glucose	GLU	BMJ
Triglycerides	T-GLY	BMJ
Total cholesterol	T-CHO	BMJ
Alkaline phosphatase	ALP	WAKO
Cholinesterase	CHE	BMJ *
Aspartate aminotransferase	GOT	EIKEN
Alanine aminotransferase	GPT	EIKEN
$\gamma$ -Glutamyltransferase	$\gamma$ -GTP	BMJ
Lactate dehydrogenase	LDH-P	SHINOTEST
Calcium	Ca	WAKO
Phosphorus, inorganic	Pi	WAKO
Sodium	Na	DAIICHI
Potassium	K	DAIICHI
<b>Brain</b>		
Total protein	T-PRO	WAKO
Cholinesterase	CHE	BMJ *
<b>Blood coagulability Amelung coagurometer KC-10</b>		
Fibrinogen	FIB.	MIDORIJUJI
Prothrombin	PT	MIDORIJUJI
Activated partial thromboplastin	APTT	MIDORIJUJI
Hepaplastin	HEP.	EIZAI

BMJ : Boehringer mannheim yamanouchi, EIKEN : Eiken kagaku Co., Ltd.  
 SHINOTEST : Shinotest laboratory, WAKO : Wako pure chemical industries  
 DAIICHI : Daiichi pure chemicals Co., Ltd.  
 MIDORIJUJI : Midorijuji Co., Ltd., EIZAI : Eizai Co., Ltd.  
 \* : A substrate : Acetylthiocholine

血液凝固能検査では、2, 3で用いた動物とは別の各群5例について、エーテル麻酔下で頸静脈より3.8%クエン酸ナトリウム0.2mlを入れた注射筒で採血し、分離した血漿についてTable 1に示した項目を測定した。

尿検査では、ラブスティック3(マイルス三共)を用い、解剖前日に各群5例より強制排尿により得た尿について蛋白質、ケトン体、ブドウ糖、潜血、pHの5項目を検査した。

### 5. 統計処理

体重についてはt検定、血液学的検査、生化学的検査、臓器重量についてはF検定を行った後、等分散のものはt検定、等分散でないものはAspin-Welch法でt検定を行った。

## 実験結果

主に変化の見られた検査項目について記述し、それぞれの表に示した。

### 1. 一般状態、体重および摂餌量 (Fig. 2)

一般状態および症状等には変化は認められず、また死亡する動物もなかった。

雄のH群で体重は全期間において有意の増加抑制を示し、摂餌量は1~3週で低下する傾向があった。雌

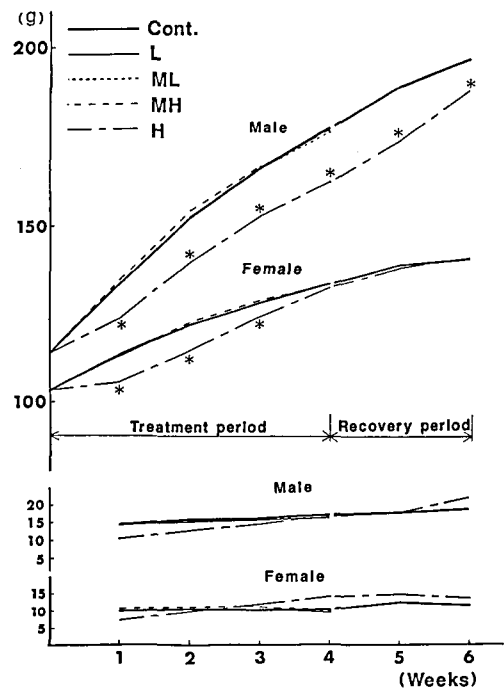


Fig. 2. Effects of chlorpyrifos on body weight and food consumption of rats

Table 2. Biochemical findings in rats after 28 days treatment of chlorpyrifos and 14 days

Group(Dose)	Cont.	L (0.1mg/kg)	ML(0.78mg/kg)	MH(6.25mg/kg)	H(50.0mg/kg)
No. of Animals	5	5	5	5	5
Male					
S T-PRO g/dl	6.47±0.08	6.51±0.20	6.49±0.09	6.58±0.19	6.10±0.11**
S ALB g/dl	3.96±0.05	3.99±0.09	4.02±0.05	3.96±0.08	3.74±0.10**
S A/G	1.58±0.06	1.59±0.08	1.63±0.07	1.52±0.11	1.58±0.04
S BUN mg/dl	17.24±1.19	19.02±1.11*	19.54±1.22 *	20.34±1.04**	19.62±0.95**
S CRN mg/dl	0.50±0.06	0.52±0.03	0.55±0.02	0.52±0.03	0.58±0.05 *
S GLU mg/dl	164.6±10.16	163.4±9.71	161.6±9.56	158.0±14.97	120.2±8.87**
S T-GLY mg/dl	144.4±26.56	140.6±11.10	127.8±26.57	128.8±23.87	64.2±5.81**
S T-CHO mg/dl	59.40±6.11	57.60±2.97	61.60±5.18	54.40±1.52	44.60±5.41**
S ALP mU/ml	567.4±53.6	582.2±36.7	583.8±25.9	555.4±16.0	729.8±85.0**
S CHE mU/ml	599.6±49.3	581.8±40.6	427.0±38.9**	277.6±16.6**	93.8±32.8**
S GOT mU/ml	49.60±5.98	53.40±3.91	47.60±4.88	50.60±6.19	64.00±12.35*
B CHE mU/mgP	49.08±3.25	53.38±6.58	48.82±4.24	26.12±2.68**	15.66±1.07**
Female					
S T-PRO g/dl	6.52±0.16	6.44±0.16	6.23±0.47	6.25±0.12 *	5.95±0.12**
S ALB g/dl	3.73±0.10	3.80±0.10	3.75±0.19	3.73±0.07	3.63±0.04
S A/G	1.34±0.02	1.44±0.05**	1.53±0.13 *	1.48±0.03**	1.56±0.06**
S BUN mg/dl	17.82±1.56	18.96±0.63	20.42±3.12	19.20±1.18	20.78±0.78**
S CRN mg/dl	0.60±0.05	0.52±0.04*	0.57±0.11	0.48±0.02**	0.50±0.05 *
S GLU mg/dl	126.8±11.0	136.0±19.8	145.6±30.7	130.0±6.3	126.2±12.7
S T-GLY mg/dl	123.8±35.3	110.2±42.8	92.0±31.3	122.6±33.0	72.4±19.5 *
S T-CHO mg/dl	110.6±11.19	112.8±7.01	111.8±15.79	109.0±12.39	74.0±6.36**
S ALP mU/ml	400.0±93.0	377.2±18.5	362.2±28.5	393.0±32.0	401.8±62.1
S CHE mU/ml	2482.0±414.1	2064.6±319.8	1253.6±211.5**	473.2±40.5**	110.8±33.0**
S GOT mU/ml	61.60±4.51	63.00±3.74	63.20±5.17	60.40±8.59	61.60±5.81
B CHE mU/mgP	61.68±7.61	55.78±6.60	52.80±3.72 *	24.12±2.11**	14.40±1.51**

Values indicate mean±S.D., S : Serum, B : Brain,  
Level of significance : \* p<0.05 in comparison with control value  
: \*\* p<0.01 in comparison with control value



のH群で、体重は1～3週で有意の増加抑制を示したが、その後はC群と差が無かった。このH群の摂餌量は、投与初期に低下し、3週目以後回復期間にかけてC群より増加する傾向を示した。

雌雄ともにその他の群に差は認められなかった。

2. 血液学的検査

血液学的検査の結果は、表に示していないが、雄のH群で PLT の減少、雌のH群で RBC, HGB および HCT, MH および H 群で分葉核好中球の減少、H 群で杆核好中球およびリンパ球の増加が認められた。雄の回復 H 群で RBC の減少、PLT の増加が認められた。しかし、いずれも軽度の変化であり、バックグラウンドデータの範囲内のものであった。

3. 生化学的検査 (Table 2)

血清では雄のL群以上で BUN の増加、H群ではさらに T-PRO, ALB, GLU, T-GLY, T-CHO の減少、CRN, ALP, GOT の増加、MH 群では Ca の減少、雌の MH および H 群で T-PRO, Na の減少、L 群以上で A/G 比の増加、L, MH および H 群では CRN の減少、H 群ではさらに BUN の増加と T-GLY, T-CHO の減少が認められた。しかし、雌雄のH群の T-CHO と T-GLY, 雄のH群の ALP の変化を除けばバックグラウンドデータの範囲内の変化であり、大

untreated recovery period	
recovery	
Cont.	H(50.0mg/kg)
5	5
6.47 ± 0.12	6.42 ± 0.12
3.96 ± 0.06	3.89 ± 0.07
1.58 ± 0.03	1.54 ± 0.03
20.50 ± 1.83	20.20 ± 1.92
0.48 ± 0.04	0.43 ± 0.04
159.2 ± 8.93	130.6 ± 9.13 **
231.4 ± 45.08	116.8 ± 17.71**
65.20 ± 6.06	54.40 ± 7.44 *
410.2 ± 26.72	448.8 ± 55.03
476.0 ± 34.33	485.2 ± 30.72
48.20 ± 4.09	55.60 ± 5.73 *
56.58 ± 3.19	39.52 ± 2.02 **
6.39 ± 0.08	6.21 ± 0.05 **
3.90 ± 0.06	3.83 ± 0.06
1.57 ± 0.07	1.60 ± 0.04
21.26 ± 0.47	20.36 ± 0.56 *
0.60 ± 0.03	0.53 ± 0.02 **
147.4 ± 14.47	119.0 ± 7.45 **
164.6 ± 32.90	94.2 ± 8.26 **
124.20 ± 7.60	117.60 ± 6.27
293.2 ± 16.27	301.8 ± 9.18
2851.8 ± 270.4	2240.6 ± 236.4**
48.80 ± 3.35	52.60 ± 1.82
52.60 ± 2.07	34.90 ± 2.79 **

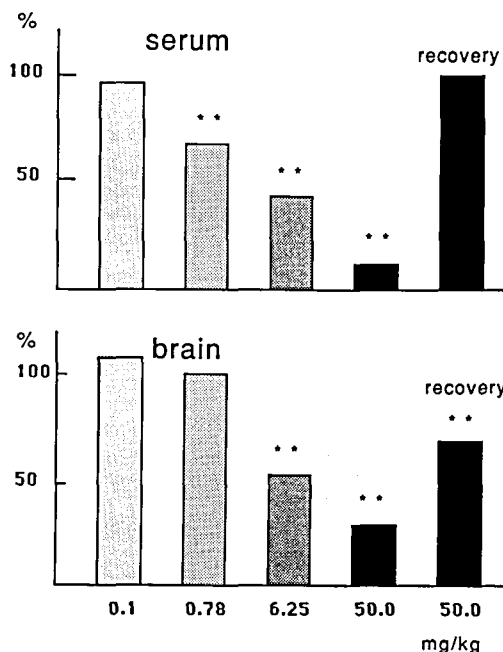


Fig. 3. CHE activity of male rats treated chlorpyrifos  
Level of significance: \*\*p<0.01 in comparison with control value

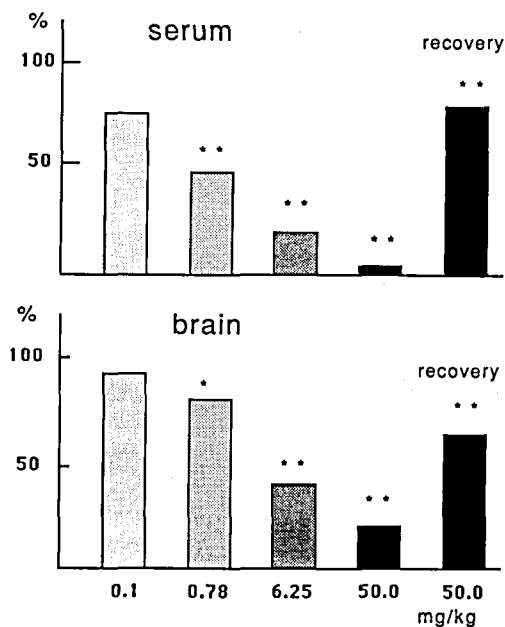


Fig. 4. CHE activity of female rats treated chlorpyrifos  
Level of significance: \*p<0.05 in comparison with control value

: \*\*p<0.01 in comparison with control value



untreated recovery period	
recovery	
Cont.	H(50.0mg/kg)
5	5
279.5 ± 11.5	265.0 ± 12.6
8.24 ± 0.54	7.69 ± 0.72
1.78 ± 0.14	1.72 ± 0.06
42.2 ± 3.4	44.4 ± 5.1
2.95 ± 0.22	2.90 ± 0.15
0.64 ± 0.06	0.65 ± 0.02
15.1 ± 1.6	16.8 ± 2.3
170.7 ± 7.1	173.7 ± 6.1
4.48 ± 0.33	4.61 ± 0.35
1.13 ± 0.06	1.16 ± 0.06
46.6 ± 8.0	49.8 ± 1.9
2.63 ± 0.16	2.65 ± 0.14
0.66 ± 0.04	0.67 ± 0.02
27.2 ± 4.1	28.7 ± 1.8

していた。

#### 5. 病理組織学的検査 (Table 4)

腎臓において、尿管の変性が雄の ML 群以上に各5例、雌は ML 群に1例、MH 群以上に各3例、硝子滴が雄の C 群に1例、L および MH 群に各3例、H 群に5例、また石灰沈着が雄の L および ML 群に各1例、MH 以上の群に各5例、雌の C 群に1例、L 群に2例、H 群に3例、細胞浸潤が雄の H 群に1例、雌の ML および MH 群に各1例、H 群に3例認められた。

副腎の皮質細胞の空胞化が雄の ML 以上の群に各5例、雌の C 群に1例、膨化が雄の ML 以上の群に各5例認められた。

回復群の腎臓に、尿管の変性が雄の H 群に1例、雌の H 群に5例、細胞浸潤が雄の H 群に1例、雌の C 群に1例、H 群に2例認められた。

副腎に皮質細胞の空胞化が雄の H 群に2例、雌の C 群に1例、H 群に4例認められた。

雄では腎臓の尿管の変性、硝子滴、石灰沈着などに回復が見られたが、雌では尿管の変性が回復せず、副腎の皮質細胞の空胞化は増加していた。

#### 6. その他の検査

検体によると思われる変化は認められなかった。

### 総括および考察

CP のラットにおける28日間の反復投与毒性試験で

の著明な変化は、CHE 活性の低下であった。CHE 活性の低下は ML(0.78 mg/kg) 以上の群の雌雄の血清と雌の脳、MH(6.25 mg/kg) 以上の群の雄の脳で用量に伴った変化として認められた。McCollisterら<sup>2)</sup>は CP の2年間のラットへの混餌投与による実験で、1 mg/kg 以上の投与で、30日目から血漿中の CHE の著明な低下を認めており、投与期間を重ねても、1 mg/kg 未満の量では低下を認めていない。この結果と我々の結果はほぼ一致した、また、CP の代謝が早い<sup>6)</sup>ことから、投与期間に関係なく、血清中の CHE 活性低下発現最少量は 0.78 mg/kg 付近にあると考えられる。

McCollister ら<sup>2)</sup>は同時に1年間の投与の後に7～8週の回復期間で血漿、赤血球および脳中の CHE 活性の低下は正常に復したとしているが、28日間の反復投与14日間の回復期間で血清 CHE 低下は雌雄ともほぼ回復していた。しかし、脳中の CHE の低下は14日間の回復期間では、回復の傾向は見られるが充分ではなく、血清の回復より遅れていた。この脳中 CHE の低下は180日間投与後で、血漿と同じ 1 mg/kg の投与量に認められており<sup>2)</sup>、28日間の投与でも血清での CHE 低下発現量とはほぼ同じ量で低下が見られることから、比較的早い時期に、血清の低下に伴って脳中の CHE も低下すると考えられる。

CHE の変化の他に 20%以上の変動を示した変化として、H 群では雌雄で T-GLY と T-CHO の減少、雄で GLU の減少と ALP, GOT の増加が認められたが、雄の ALP 以外の変化はバックグラウンドデータの範囲内に入るものであった。これらの変化は回復期間後ではいずれも回復の傾向を示していた。また H 群では、雌雄ともに体重の増加抑制が認められ、体重の増加抑制が T-PRO, GLU, T-GLY, T-CHO の変化に響影を及ぼした可能性<sup>7)</sup>も考えられる。さらに雄の ALP, GOT の増加と雌の肝臓重量の増加から肝臓への影響も考えられるが、雄では肝臓重量は低下し、組織学的にも雌雄とも変化が認められなかった。

BUN は雄の ML 群以上と雌の H 群で、増加し、それに伴い組織学的にも腎臓の尿管の変性等が軽度であるが認められた。CP は、代謝されて90%が尿中へ排泄される<sup>6)</sup>ことから、腎臓に認められた変化は検体の影響と考えられる。また、副腎重量の増加が H 群で認められたが、組織学的に著変は認められなかった。これらの変化はいずれも検体の影響と考えられるが、重篤な組織障害を伴ったものでなく、いずれも軽度のもと考えられる。

CP の28日間の投与後認められた、多くの変化は14

日間の回復期間後に、いずれも回復あるいは回復傾向が認められたが、脳の CHE の低下は十分に回復しなかった。CHE と有機リン剤との結合が不可逆性<sup>8)</sup>で、ヒトでは血中 CHE 活性の95%の阻害を回復するには約28日間を要し<sup>9)</sup>、CHE 活性が完全に回復するには14日間より長い回復期間が必要ではないかと思われる。

28日学反復投与毒性試験の結果、CHE 活性低下が認められなかった 0.1 mg/kg が CP の無影響量であると考えられる。また、CP の主たる毒性は CHE 活性阻害によるものであり、0.78 mg/kg (ML 群) 以上で腎臓に、50.0 mg/kg (H 群) で肝臓や副腎に弱い影響を与えるものと考えられる。

## 文 献

- 1) 山崎 実他, 武田研究所報, Vol. 40, No. 3/4, 1981
- 2) McCollister S. B., et al.: *Food Cosmet. Toxicol.*, 12, 45, 1974
- 3) WHO, FAO, *Data Sheets on Pesticide*, No. 18, July, 1975
- 4) Gains T. B.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 14, 515, 1969
- 5) Bertheau P. E. & Deen W. A.: *Bull. Envir. Contami. Toxi.*, 19, 113, 1978
- 6) Smith G. W. et al.: *J. Agr. Food Chem.*, 15, 132, 1967
- 7) 柴田 進他, 日本臨床 (増刊号), 453, 23, 1980
- 8) 宇尾野公義, 日本臨床 (増刊号), 38, 833, 1980
- 9) 松崎松平他, 血清コリンエステラーゼ活性およびアイソザイムの臨床的意義, 臨床検査 Mook, 11, 133, 1982

### デヒドロ酢酸ナトリウムのラットにおける催奇形性に関する研究

田中 悟・川島邦夫・中浦慎介・S. DJAJALAKSANA・高仲 正

#### Studies on the Teratogenic Potential of Sodium Dehydroacetate in Rats

Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA,  
Srikandi DJAJALAKSANA and Akira TAKANAKA

Sodium dehydroacetate was given orally by stomach intubation to pregnant Wistar rats at the dose levels of 0, 25, 50 or 100 mg/kg during days 6 to 17 of gestation, and the effects of the compound on fetal development and postnatal growth of offspring were examined.

In the two higher dose groups of 50 and 100 mg/kg, maternal body weight gains and food consumptions were suppressed. In the fetuses from both dose groups, considerable body weight loss, high incidence of skeletal variations and retardation of ossification were observed. Increase in fetal death was also observed in the highest dose group, which was considered to be due to marked retardations in intrauterine developments.

However, there was no evidence of fetal malformations attributable to the treatment of sodium dehydroacetate, and the postnatal growth of the offspring was not retarded in any of the dose groups.

It is concluded that sodium dehydroacetate has a retardant effect on fetal developments but not a teratogenic effect in the rat.

(Received May 31, 1988)

医薬品、農薬、食品添加物、家庭用品に使用されている化学物質、環境汚染を起こすおそれのある化学物質などの安全性を評価する場合、一般毒性、ガン原性、催奇形性などに関する情報は重要であるが、催奇形性は次世代の発生・発達に悪影響を及ぼすため特に重要である。

われわれは、食品添加物の安全性に関する研究の一

環として、各種の食品添加物の催奇形性について検索している<sup>1-11)</sup>。

今回、保存料として使用されているデヒドロ酢酸ナトリウムの催奇形性をラットを用いて検索した。

デヒドロ酢酸ナトリウムは、わが国では1953年にデヒドロ酢酸とともに食品添加物に指定され、合成保存料としての使用が許可されている<sup>12)</sup>。現在、チーズ、

バター、マーガリンについて、使用基準量（製品 1 kg 当たり 500 mg 以下）が定められている。ADI (acceptable daily intake) については、諸外国では使用されていない関係などから定められていないが、1 日 1 人当たりの摂取量は大体 0.19 mg (0.0038 mg/kg) であるという調査結果が報告されている<sup>12)</sup>。

毒性については、デヒドロ酢酸を 0.02~1% の割合で添加した飼料でラットを 2 年間飼育した慢性毒性試験の結果、1% 群の肝脂肪質の増加を除き、特に悪影響は認められなかったと報告されている<sup>13)</sup>。また、デヒドロ酢酸の 0.05~0.3 g/kg 用量をラットに 180 日間経口投与した試験<sup>14)</sup> および赤毛ザルに 120 日間経口投与した試験<sup>12)</sup>において、両試験とも 0.2 g/kg 以上では体重増加抑制などの毒性徴候が現れ、0.3 g/kg では動物の死亡が認められたと報告されている。

一方、塩原<sup>15)</sup>は妊娠マウスにデヒドロ酢酸ナトリウムの 50~200 mg/kg を妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間毎日経口投与し、胎仔死亡、胎仔発育抑制、14 肋骨頻度増加および骨化遅延が認められたと報告している。

本試験は、ラットを用いてデヒドロ酢酸ナトリウムの催奇形性を検索し、妊娠母体および胎仔発生に対する無影響量を推定するとともに、塩原<sup>15)</sup>がマウスで報告している胎仔の発生障害がラットでも発現するかどうかを調べることを目的として実施した。

## 実験方法

### 1. 被験物質

デヒドロ酢酸ナトリウム（台商，Lot. No. 4207899）は食品添加物公定書規格品を用い、蒸留水に溶解し動物に経口投与した。

### 2. 動物

ウィスター系ラット（日本ラット，12~13 週齢）を用い、妊娠ラットを得るために未経産雌を雄と終夜同居させた。翌朝膣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妊娠ケージ（夏目製作所製）に 1 匹ずつ収容し、固形飼料（オリエンタル酵母，MF）および水道水を自由に摂取させた。動物飼育室は温度 25 ± 1°，相対湿度 55 ± 5%，換気回数 15/hr，明暗交代 12 時間（明 6:00~18:00）とした。

### 3. 投与量および投与方法

デヒドロ酢酸ナトリウムの投与量は予備試験の成績を参考にして決定した。すなわち、12 週齢の雌ラットにデヒドロ酢酸ナトリウムの 25, 100 および 400 mg/kg を 12 日間強制経口投与した結果、400 mg/kg では

著しい立毛、流涎、下痢、衰弱、体重減少が認められ、5 匹全例が死亡した。100 mg/kg でも軽度な立毛と体重増加の抑制が認められたが、死亡例はなかった。25 mg/kg ではデヒドロ酢酸ナトリウムの投与によると思われる異常は認められなかった。したがって、軽度な毒性徴候が認められた 100 mg/kg を最高用量とし、以下 50 および 25 mg/kg 用量とした。

1 群 22~23 匹の妊娠ラットに胎仔の器官形成期を含む妊娠 6 日から 17 日までの 12 日間毎日 1 回胃ゾンデを用いてデヒドロ酢酸ナトリウムの上記の 3 用量を強制経口投与し、胎仔実験および育成実験を行った。なお、対照群のラットには蒸留水を同様に経口投与した。

妊娠ラットは毎日一般状態を観察し、体重および摂餌量を測定した。

### 4. 胎仔実験

各群 16~17 匹の妊娠ラットについては、妊娠 20 日目にエーテル麻酔下で帝王切開して卵巣および子宮を摘出し、黄体数および着床数を数え、胎仔の生死を調べた。死亡胎仔は初期死亡と後期死亡に分類した。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、性別を判定し、体重を測定した。

各母体について、約 1/3 の胎仔はブアン液で約 2 週間固定したのち、Wilson の方法<sup>16)</sup> に準じて粗大切片標本を作成し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たのち、アリザリン赤染色骨格標本を作製して拡大鏡下で骨格系の異常の検査を行った<sup>17)</sup>。

### 5. 育成実験

妊娠末期に帝王切開しなかった妊娠ラット（各群 6 匹）については自然分娩させて育成実験を行い、出生後の仔動物の成長について調べた。分娩後可及的速やかに出産仔の匹数および生死を調べるとともに、外表異常の検査を行い、生存仔については雌雄を判定し、体重を測定した。出生後 4 日に新生仔数の調整を行い、11 匹以上の新生仔を哺育している母動物については雌雄がほぼ同数からなるよう 10 匹を無作為に残し、余分な新生仔は屠殺した。仔動物は一般状態を毎日観察し、週 1 回体重を測定した。4 週齢時に離乳し、10 週齢時に全例屠殺剖検した。各群の同腹仔の雌雄各 2 匹については主要器官の重量を測定した。なお、母動物は仔動物の離乳後に屠殺剖検し、子宮の着床痕数を調べた。

### 6. 統計処理

実験成績は母体を評価の単位として、 $\chi^2$ -検定、t-検定あるいは順位和検定を行い、危険率 5% および 1% の水準で対照群と比較した。

## 実験成績

## 1. 妊娠母体に及ぼす影響

## 1) 一般状態

妊娠9日(投与4日)から100 mg/kg群に立毛症状を示した妊娠ラットが4匹観察された以外、妊娠期および授乳期を通して特に異常は認められなかった。なお、立毛症状は妊娠20日には観察されなくなった。

## 2) 体重および摂餌量

妊娠期間中における各群妊娠ラットの平均体重および摂餌量を3日隔間でTable 1に示した。

体重について、25 mg/kg群は対照群と同様順調な体重の増加を示した。50および100 mg/kg群では投与開始後体重増加の抑制が認められ、50 mg/kg群は有意差を示さなかったが、100 mg/kg群は妊娠15日以後有意な低体重を示した。なお、授乳期の体重に有

意差は認められなかった。

摂餌量について、25 mg/kg群は妊娠期間中を通して対照群とほぼ同程度の摂餌量を示した。50および100 mg/kg群は投与期間中対照群より低い摂餌量を示した。

## 3) 剖検所見

妊娠20日目に帝王切開した妊娠ラットおよび仔動物の離乳後屠殺した母ラットについて、それぞれ内部器官を肉眼的に検査したが、デヒドロ酢酸ナトリウムの投与に起因したと考えられる異常所見は認められなかった。なお、妊娠期および授乳期を通して死亡例は認められなかった。

## 4) 黄体数、着床数および着床率

Table 2に示した通り、妊娠黄体数、着床数および着床率のいずれにおいても対照群と各デヒドロ酢酸ナトリウム投与群との間に有意差は認められなかった。

Table 1. Effect of oral administration of sodium dehydroacetate on body weight and food consumption of pregnant rats

Dose (mg/kg)	0	25	50	100	
No. of dams examined	22	23	23	23	
Body weight	0-day <sup>a)</sup>	260.7±14.8	265.7±18.8	261.0±15.8	260.8±13.7
	3-day	275.4±18.9	280.1±19.2	278.5±14.1	276.0±18.8
	6-day	286.0±18.5	290.9±20.0	286.9±16.1	287.0±15.4
	9-day	299.1±14.8	298.5±21.4	289.4±18.1	288.6±15.5
	12-day	317.8±19.2	307.0±22.1	306.6±19.5	304.6±21.1
	15-day	333.4±21.9	331.2±23.1	325.4±20.4	316.7±24.0*
	18-day	377.7±23.8	371.5±25.9	361.2±24.7	352.5±20.8**
	20-day	400.5±30.0	401.6±28.3	388.9±25.3	375.9±30.6**
Food consumption	1-day	15.5±5.2	16.2±3.5	14.9±4.1	15.7±4.3
	3-day	19.3±2.8	19.2±2.6	18.8±2.8	20.1±3.8
	6-day	20.2±3.6	20.8±2.3	20.2±2.4	20.6±2.2
	9-day	21.2±2.6	22.8±2.6	19.7±2.1	16.8±6.1
	12-day	23.5±3.2	22.5±3.1	19.8±2.6**	18.4±3.8**
	15-day	23.9±3.3	21.7±2.0	22.1±2.9	20.1±4.8**
	18-day	25.8±2.9	25.0±2.1	23.8±2.7*	23.5±3.2*
	20-day	23.6±4.9	23.9±3.3	22.7±2.7	23.8±4.5

The results are given as mean±S.D. \* (P<0.05), \*\* (P<0.01): Significant difference from the control value. a): Days of gestation

Table 2. Effect of oral administration of sodium dehydroacetate on pregnant rats

Dose (mg/kg)	0	25	50	100
No. of dams examined	22	23	23	23
No. of dams for fetal examination	16	17	17	17
No. of corpora lutea	227	235	234	242
(mean±S.D.)	(14.1±1.7)	(13.8±1.5)	(13.7±2.3)	(14.2±1.6)
No. of implants	191	216	203	216
(mean±S.D.)	(11.9±3.3)	(12.7±1.4)	(11.9±2.7)	(12.7±2.3)
Implantation ratio(%)	83.4	92.2	85.8	89.3
No. of dams for postnatal examination	6	6	6	6

## 2. 胎仔発生に及ぼす影響 (胎仔実験)

## 1) 生存仔数, 性比, 体重および死亡率

Table 3 に示した通り, 平均胎仔数および性比については対照群と各デヒドロ酢酸ナトリウム投与群との間に有意差は認められなかった. 胎仔体重については 25 mg/kg 群は対照群とほぼ同程度であったが, 50 および 100 mg/kg 群は雌雄とも対照群に比べて有意に低い値を示した. 胎仔死亡については 100 mg/kg 群の死亡率が有意に高い値を示した.

## 2) 外表検査成績

対照群を含むいずれの群においても, 外表奇形を有する胎仔は 1 例も認められなかった (Table 3).

## 3) 内部器官検査成績

対照群に異常胎仔は認められなかったが, デヒドロ酢酸ナトリウム投与群では腎盂拡張および脳室拡張の胎仔が 1~2 例認められた (Table 4). しかし, これらの異常は自然発生的に観察される種類のものであり<sup>18)</sup>, また発生率も低かった.

## 4) 骨格検査成績

骨格検査成績は Table 5 にまとめて示した. 骨格奇形は対照群には認められなかった. デヒドロ酢酸ナトリウム投与群では結節状肋骨の胎仔が 25 mg/kg 群に 1 例, 50 mg/kg 群に 5 例, 100 mg/kg 群に 4 例それぞれ認められた. また肋骨癒合の胎仔が 25 mg/kg 群に 1 例認められた. しかし, これらの奇形は自然発生的に観察される種類のものであり<sup>18)</sup>, また発生率に有意差は認められなかったことから, デヒドロ酢酸ナトリウム投与に起因するものとは考えられなかった.

骨格変異については, 種々の骨格変異を有する胎仔が対照群を含む各群に認められた. 対照群に比較して, 25 mg/kg 群ではいずれの変異の発生率においても有意差は認められなかった. しかし, 50 mg/kg 群では胸骨異常 (変形, 癒合, 欠損) が, 100 mg/kg 群では後頭骨変形, 頸椎椎弓異常, 胸椎椎体異常 (変形, 欠損) および胸骨異常 (変形, 癒合, 欠損) がそれぞれ有意に高い発生率を示した.

Table 3. Effect of oral administration of sodium dehydroacetate to pregnant rats on fetal development

Dose(mg/kg)	0	25	50	100
No. of dams examined	16	17	17	17
No. of implants	191	216	203	216
No. of live fetuses (mean ± S.D.)	187 (11.6 ± 3.4)	212 (12.4 ± 1.2)	202 (11.8 ± 2.7)	197 (11.5 ± 3.5)
Sex ratio(male/female)	92/95	97/115	110/92	99/98
Body weight(g)				
male(mean ± S.D.)	3.7 ± 0.3	3.5 ± 0.3	3.1 ± 0.2 **	2.6 ± 0.3 **
female(mean ± S.D.)	3.4 ± 0.3	3.3 ± 0.2	2.9 ± 0.2 **	2.4 ± 0.3 **
No. of dead implants	4	4	1	19
Early death	4	4	1	17
Late death	0	0	0	2
Mortality(%)	2.2	1.6	0.5	11.8 *
No. of dams with dead implant only	0	0	0	1
No. of fetus with malformation	0	0	0	0

Mortality is given as the average of the incidence in each litter.  
\*(P<0.05), \*\* (P<0.01): Significant difference from the control value.

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

Dose(mg/kg)	0	25	50	100
No. of dams examined	16	17	17	16
No. of fetuses examined	61	70	67	66
Dilatation of the renal pelvis	0	2(3.4)	2(3.1)	1(1.6)
Dilatation of the ventricle	0	0	0	1(1.6)

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

Table 5. Effect of oral administration of sodium dehydroacetate to pregnant rat on skeletal development of the fetuses

Dose(mg/kg)	0	25	50	100
No. of dams examined	16	17	17	16
No. of fetuses examined	126	142	135	131
No. of fetuses with malformations				
Nodulated ribs	0	1(0.7)	5(3.6)	4(3.2)
Fused ribs	0	1(0.7)	0	0
No. of fetuses with variations				
Varied occipital bones	0	3(1.9)	3(2.0)	41(30.3)**
Varied cervical arches	0	4(2.9)	12(9.1)	61(45.9)**
Cervical ribs	4(3.0)	8(5.7)	16(10.6)	20(14.5)
Varied thoracic centra	17(14.6)	25(17.2)	29(22.4)	66(49.6)**
Varied sternbrae	82(60.4)	102(71.3)	125(91.4)**	131(100)**
Shortened 13th ribs	1(0.8)	0	0	0
Lumbar ribs	75(60.6)	97(67.7)	88(68.0)	86(65.6)
radimentary extra	72(57.1)	88(62.6)	82(63.3)	78(60.1)
Varied lumbar centra	3(3.5)	9(5.1)	6(4.7)	8(5.5)
	0	0	2(1.6)	0
Ossification state(average number)				
Metacarpal	7.3	7.0	6.0**	6.0**
Metatarsal	8.0	8.0	8.0	7.6**
Sacro-caudal vertebrae	7.7	7.5	6.8**	5.4**

Occurrence rate(%) in parentheses is given as the average of the incidence in each litter.  
 \*\*( $P<0.01$ ): Significant difference from the control value.

Table 6. Effect of oral administration of sodium dehydroacetate to pregnant rat on postnatal growth of the offspring

Dose(mg/kg)	0	25	50	100
No. of dams examined	6	6	6	6
No. of implantation sites (mean $\pm$ S.D.)	84 (14.0 $\pm$ 1.0)	92 (15.3 $\pm$ 1.8)	74 (12.3 $\pm$ 3.4)	76 (12.6 $\pm$ 0.8)
No. of newborn at birth (mean $\pm$ S.D.)	76 (12.6 $\pm$ 1.8)	86 (14.3 $\pm$ 1.6)	68 (11.3 $\pm$ 3.2)	70 (11.6 $\pm$ 1.2)
Delively index(%)	90.0	90.9	92.2	92.0
No. of offspring at 4 days (mean $\pm$ S.D.)	62 (10.3 $\pm$ 2.8)	80 (13.3 $\pm$ 1.6)	64 (10.6 $\pm$ 2.4)	66 (11.0 $\pm$ 1.6)
viability index(%)	82.5	93.2	95.5	94.1
No. of offspring after selection at 4 days (mean $\pm$ S.D.)	54 (9.0 $\pm$ 1.5)	60 (10.0 $\pm$ 0.0)	56 (9.3 $\pm$ 1.2)	58 (9.6 $\pm$ 0.8)
No. of offspring at 4 weeks (mean $\pm$ S.D.)	54 (9.0 $\pm$ 1.5)	59 (9.8 $\pm$ 0.4)	56 (9.3 $\pm$ 1.2)	57 (9.5 $\pm$ 0.8)
Lactation index(%)	100	98.3	100	98.3
No. of offspring at 10 weeks (mean $\pm$ S.D.)	53 (8.8 $\pm$ 1.6)	59 (9.8 $\pm$ 0.4)	56 (9.3 $\pm$ 1.2)	56 (9.3 $\pm$ 0.8)
Survival index(%)	98.1	100	100	98.3

Delivery index=(No. of offspring at birth/No. of implantation sites) $\times$ 100  
 Viability index=(No. of offspring at 4 days/No. of offspring at birth) $\times$ 100  
 Lactation index=(No. of offspring at 4 weeks/No. of offspring selected at 4 days) $\times$ 100  
 Survival index=(No. of offspring at 10 weeks/No. of offspring at 4 weeks) $\times$ 100  
 These indexes are given as the average of the incidence in each litter.

骨化状態については、中手骨数、中足骨数および仙尾椎骨数を調べて判定した。対照群に比較して、25 mg/kg 群ではいずれの骨数でも有意差は認められなかったが、50 mg/kg 群(中手骨、仙尾椎骨)および100 mg/kg 群(中手骨、中足骨、仙尾椎骨)では骨数が有意に少なく、骨化遅延が認められた。

### 3. 出生仔の成長に及ぼす影響(育成実験)

各群6匹の妊娠ラットを自然分娩させ、出産仔の生

後の成長について調べた。

Table 6 に示した通り、着床数、分娩率、4日齢生存率、哺育率、10週齢生存率のいずれにおいても対照群と各デヒドロ酢酸ナトリウム投与群との間に有意差は認められなかった。なお、妊娠ラットは全て22日の夜から23日の朝の間に分娩し、群間に差はなかった。また出生仔に外形異常は認められなかった。

出生仔の体重について、10週齢に至るまで測定した



Table 7. Effect of oral administration of sodium dehydroacetate to pregnant rat on body weight of the offspring

Dose(mg/kg)		0	25	50	100
No. of dams examined		6	6	6	6
Male	0-day <sup>a)</sup>	6.8±0.6(40)	6.6±0.6(37)	6.4±0.6(36)	6.3±0.9(31)
	4-day	9.8±1.6(35)	9.7±1.0(36)	9.2±1.5(36)	7.7±2.1(31)
	1-week	16.7±2.2(26)	15.1±1.4(29)	18.8±2.3(31)	15.2±2.5(30)
	4-week	81.8±10.4(26)	81.4±6.2(29)	82.6±9.9(31)	80.4±9.7(30)
	10-week	347.6±35.9(25)	326.5±32.3(29)	344.7±26.5(31)	345.9±27.0(30)
Female	0-day	6.0±0.5(28)	6.2±0.7(46)	5.9±0.8(28)	5.8±0.8(36)
	4-day	8.8±2.4(28)	9.4±1.0(44)	8.4±1.9(28)	7.5±1.6(35)
	1-week	15.6±2.1(28)	14.3±1.0(31)	17.0±3.0(25)	14.5±2.2(27)
	4-week	70.9±9.3(28)	74.9±7.2(30)	75.8±10.7(25)	71.0±16.4(27)
	10-week	221.9±45.1(28)	224.1±16.6(30)	228.6±17.9(25)	220.8±11.8(26)

The results are given as mean±S.D.

Numerals in parentheses represent the number of offspring.

a): Times after birth

Table 8. Effect of oral administration of sodium dehydroacetate to pregnant rat on absolute organ weight of the offspring

Dose(mg/kg)		0		25		50		100	
No. of dams examined		6		6		6		6	
Sex of offspring		Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male
No. of offspring		12	12	12	12	12	12	12	12
Brain(g)		1.9±0.2	2.0±0.1	1.9±0.1	2.0±0.1	1.9±0.1	2.0±0.1	1.8±0.1	1.9±0.1
Pituitary(mg)		12.8±2.7	9.6±3.2	13.5±3.8	10.9±2.4	13.3±3.3	10.7±2.8	12.7±2.1	10.7±2.2
Thyroid(mg)		18.1±6.3	21.3±6.7	17.9±6.6	20.9±7.3	18.2±5.2	25.6±6.2	19.7±5.6	19.8±6.2
Thymus(g)		0.5±0.1	0.6±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.4±0.1	0.6±0.1
Heart(g)		1.0±0.1	1.4±0.2	0.9±0.1	1.3±0.1	0.9±0.3	1.4±0.1	1.0±0.1	1.5±0.2
Lung(g)		1.6±0.2	1.9±0.3	1.4±0.1	1.9±0.2	1.5±0.2	1.9±0.3	1.5±0.2	2.0±0.3
Spleen(g)		0.6±0.1	0.8±0.2	0.6±0.1	0.8±0.1	0.6±0.1	0.8±0.1	0.5±0.1	0.7±0.1
Liver(g)		11.6±1.7	16.6±1.8	11.2±1.7	16.3±2.2	11.1±1.2	16.0±1.2	11.2±1.2	17.0±1.9
Kidney(g) R		1.0±0.1	1.4±0.1	1.0±0.1	1.4±0.2	0.9±0.1	1.3±0.1	0.9±0.1	1.4±0.1
L		1.0±0.1	1.4±0.2	1.0±0.1	1.4±0.2	0.9±0.1	1.3±0.1	0.9±0.1	1.4±0.1
Adrenal(mg) R		35.3±7.4	25.0±3.3	29.0±3.0	23.9±4.5	30.0±2.6	24.0±3.9	31.7±4.5	25.9±5.6
L		35.4±7.9	26.0±4.2	31.3±3.6	25.8±4.9	32.4±8.1	26.9±5.3	34.2±4.4	27.5±3.0
Ovary(mg) R		72.5±14.8		87.3±14.6		80.8±18.7		79.7±18.7	
L		73.5±12.8		83.5±11.2		81.3±17.0		85.3±14.9	
Uterus(g)		0.45±0.1		0.4±0.1		0.4±0.1		0.4±0.1	
Testis(g) R			1.7±0.1		1.7±0.1		1.7±0.1		1.7±0.1
L			1.7±0.2		1.7±0.1		1.7±0.1		1.7±0.1

The results are given as mean±S.D. The offspring were killed at 10 weeks after birth

R: Right, L: Left.

が、いずれの測定時においても雌雄とも対照群と各デヒドロ酢酸ナトリウム投与群との間に有意差は認められなかった (Table 7)。

一般状態および10週齢時の解剖所見においても特にデヒドロ酢酸ナトリウム投与との関連性をうかがわせる異常は認められなかった。また、主要器官の重量でも対照群と各デヒドロ酢酸ナトリウム投与群との間に有意差は認められなかった (Table 8)。

## 考 察

妊娠母体について、50および100 mg/kg用量では摂取量の低下と体重増加の抑制が認められ、50 mg/kg以上は妊娠ラットに対して毒性発現量であることが明らかとなった。

胎仔発生について、外形検査、内部器官検査および骨格検査のいずれにおいても特にデヒドロ酢酸ナトリ

ウムによると考えられる奇形の発現はなく、デヒドロ酢酸ナトリウムの催奇形性は認められなかった。

しかしながら、50および100 mg/kg 用量では胎仔体重の低下、骨格変異の増加および骨化遅延が認められ、また、100 mg/kg 用量では胎仔死亡率が増加した。50および100 mg/kg は妊娠ラットに対して体重増加抑制などの毒性を現す用量であったことおよび妊娠中の母体の摂餌量の低下や低栄養は胎仔の発育に悪影響を及ぼすことから<sup>19,20)</sup>、この胎仔体重の低下は母体に対する毒性影響のために二次的に胎仔の発育が抑制された可能性は否定できない。しかし、特に50 mg/kg 用量では妊娠ラットの摂餌量の低下および体重増加の抑制の程度は比較的軽度であったにもかかわらず、胎仔体重の低下の程度はかなり著明であった。この事実は母体の毒性影響を反映した二次的影響のみによって胎仔の発育が抑制されたとは考えがたい。すなわち、デヒドロ酢酸ナトリウムは胎仔に対して発育抑制作用を有することが強く示唆される。したがって、胎仔体重の低下は母体に対する毒性の二次的影響とともに胎仔に対する発育抑制作用のために胎仔の発育が抑制されたものと考えられる。そして、一般に発育抑制の胎仔では骨化が遅延して骨化遅延に由来する骨格変異が増加することから、本試験で認められた骨格変異の増加および骨化遅延は胎仔の発育抑制を反映した変化であり、また胎仔死亡率の増加は特に著しく発育が抑制された胎仔が死亡した結果と考えられる。

以上のラットを用いた本試験で認められたデヒドロ酢酸ナトリウムによる胎仔の発育抑制を中心とした発生障害は、第14肋骨の発生率の増加は認められなかったが、体重低下、死亡率増加、骨化遅延が認められ、塩原<sup>15)</sup>のマウスを用いた試験結果と同質のものと考えられる。

出生仔の成長について、明らかな胎仔の発育抑制が認められた50および100 mg/kg 用量では出産時の体重がやや低い傾向ではあったが、出産時を含めていずれの測定時においても胎仔のように有意な低体重は認められなかった。また分娩率、生存率、解剖所見および主要器官重量においても異常は認められなかった。これらの事実から、本試験で認められた胎仔の発育抑制は、胎仔の体重が急速に増加する妊娠末期の短時間間に速やかに回復し、出生後の成長には悪影響を及ぼさないものと考えられる。

塩原<sup>15)</sup>のマウスの試験では無影響量は明らかにされていないが、本試験における無影響量は妊娠ラットおよび胎仔に対してはともに25 mg/kg、出生仔に対しては100 mg/kg とそれぞれ推定される。なお、母体

および胎仔に対する無影響量の25 mg/kg は1日1人当たりの推定摂取量(0.0038 mg/kg)<sup>12)</sup>のほぼ6500倍である。

## ま と め

デヒドロ酢酸ナトリウムの25, 50および100 mg/kg 用量を妊娠ラットに妊娠6日から17日まで1日に1回経口投与し、妊娠母体および胎仔発生におよぼす影響並びに出生後の仔動物の成長について調べ、以下の結果を得た。

- 1) 妊娠母体について、50 mg/kg 以上では摂餌量の低下および体重増加の抑制などの毒性徴候が認められた。
- 2) 胎仔発生について、催奇形性は認められなかったが、50 mg/kg 以上では胎仔体重の低下、骨格変異の増加および骨化遅延が認められた。100 mg/kg では胎仔死亡率も増加した。
- 3) 出生仔の成長について、いずれの投与量でも悪影響は認められなかった。

以上、デヒドロ酢酸ナトリウムの催奇形性は認められなかったが、高用量では胎仔の発育を抑制することが明らかにされた。なお、妊娠母体および胎仔発生に対する無影響量はともに25 mg/kg と推定された。

本研究は厚生省生活衛生局・食品添加物安全性再評価試験検査費によって実施した。

## 文 献

- 1) 大森義仁ら：食衛誌，9，473 (1968)
- 2) S. Tanaka *et al.*: *J. Food Hyg. Soc.*, 14, 371 (1973)
- 3) S. Tanaka *et al.*: *ibid.*, 14, 542 (1973)
- 4) S. Tanaka *et al.*: *ibid.*, 14, 549 (1973)
- 5) S. Tanaka *et al.*: *Cong. Anom.*, 13, 73 (1973)
- 6) S. Nakaura *et al.*: *J. Food Hyg. Soc.*, 16, 34 (1975)
- 7) S. Tanaka *et al.*: *J. Toxicol. Sci.*, 2, 149 (1977)
- 8) S. Tanaka *et al.*: *J. Food Hyg. Soc.*, 20, 378 (1979)
- 9) S. Tanaka *et al.*: *ibid.*, 23, 468 (1982)
- 10) 川島邦夫ら：衛生試報，103，10 (1985)
- 11) 川島邦夫ら：衛生試報，104，64 (1986)
- 12) 石館守三，谷村顕雄：“第五版・食品添加物公定書解説書”，p. 631 (1987)，広川書店
- 13) H. C. Spencer *et al.*: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 99, 57 (1950)
- 14) 柴田鉄郎：千葉大腐敗研報告，6，1 (1953)
- 15) 塩原正一：日本公衛誌，27，91 (1980)
- 16) J. G. Wilson and J. Warkany: “Teratology-Principles and Techniques”, p. 262 (1965) Chicago Univ. Press

- 17) A. B. Dawson: *Stain Technol.*, 1, 123 (1926)  
 18) H. Morita *et al.*: *Cong. Anom.*, 27, 147 (1987)  
 19) 村上氏広ら：“出生前の医学—先天異常の基礎と臨床—”, p. 276 (1968), 医学書院  
 20) 池田高良：医学のあゆみ, 103, 933 (1977)

## ジベンジルトルエンの胎仔発生に及ぼす影響

黒崎美保・川島邦夫・中浦楨介・田中 悟  
 S. DJAJALAKSANA・高仲 正

## Effects of dibenzyltoluene on fetal developments of rats

Tomiyasu KUROSAKI, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Satoru TANAKA,  
 Srikanth DJAJALAKSANA and Akira TAKANAKA

Dibenzyltoluene was given to pregnant rats by oral intubation during days 7 to 17 of gestation at dose levels of 100, 300 and 1000 mg/kg/day, and its teratogenic effect was examined in the fetuses.

Suppressions in maternal food consumption and body weight or piloerection were observed in the 1000 mg/kg group. Moreover, a significant decrease in fetal body weight was observed in the 1000 mg/kg group. There was no evidence of an increase in malformations attributable to the treatment with dibenzyltoluene in any of the dose levels examined.

It is concluded that dibenzyltoluene has no teratogenic effect in rats, although toxic signs were observed in treated dams and fetuses at 1000 mg/kg/day.

(Received May 31, 1988)

われわれは、既存化学物質の安全性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 Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate<sup>1)</sup>, Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate<sup>2)</sup>, Zinc diethyl-dithiocarbamate<sup>3)</sup>, クロルデン<sup>4)</sup>, ヘプタクロル<sup>5)</sup>などの成績をそれぞれ報告した。

今回は、化学工業で広く熱媒体として使用されているジベンジルトルエン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。

ジベンジルトルエンは既存化学物質であるが(分類番号4,コード番号632),催奇形性に関する報告はない。

## 実験方法

ジベンジルトルエンはヒュルス社(西独)の製品を用いた。ジベンジルトルエンは水にほとんど溶けないのでゴマ油(日本薬局方)で50%溶液を調製して投与した。投与量は、妊娠ラットを用いた予備試験の成績に基づいて、妊娠母体に体重の増加抑制が観察された1000 mg/kgを最高用量とし、以下300 mg/kgおよび100 mg/kgの3段階とした。

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。動物飼育室は温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 相対湿度 $55 \pm 5\%$ , 換気回数15回/hr., 明暗交代12時間(明期6:00~18:00)とした。

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。

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日まで、ジベンジルトルエンの1000 mg/2 ml/kg, 300 mg/0.6 ml/kg および 100 mg/0.2 ml/kg 用量を毎日1回胃ゾンデを用いて強制経口投与した。なお、対照群の妊娠ラットにはゴマ油2 ml/kgを同様に経口投与した。

妊娠ラットは毎日一般状態を観察し、体重および摂餌量を測定した。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、死亡胎仔数および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、頭部および腹部についてはWilsonの粗大切片法<sup>6)</sup>で、胸部については西村の顕微解剖法<sup>7)</sup>で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>8)</sup>にしたがってアリザリン赤染色骨格標本を作製し、骨格系の異常の検査を行った。なお、腰椎肋骨については、第13肋骨の1/2以上の長さを有するものを「extra」、それより短いものを「痕跡状」と判定し、それぞれの発生頻度を調べた。

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、着床数、胎仔数、胎仔体重)および順位和検定(胎仔の死亡率、性比、異常発生率、骨化数)を用い、危険率5%および1%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

### 1. 妊娠母体に及ぼす影響

#### 1) 一般症状

100および300 mg/kg群では、全観察期間を通して一般状態に変化は認められなかった。1000 mg/kg群では投与開始6日後(妊娠13日目)から散発的な立毛が1~2例観察されたが、死亡例は認められず、投与開始10日後(妊娠17日目)頃には消失した。

#### 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300 mg/kg群は対照群と比較して有意な差を示さなかった。1000 mg/

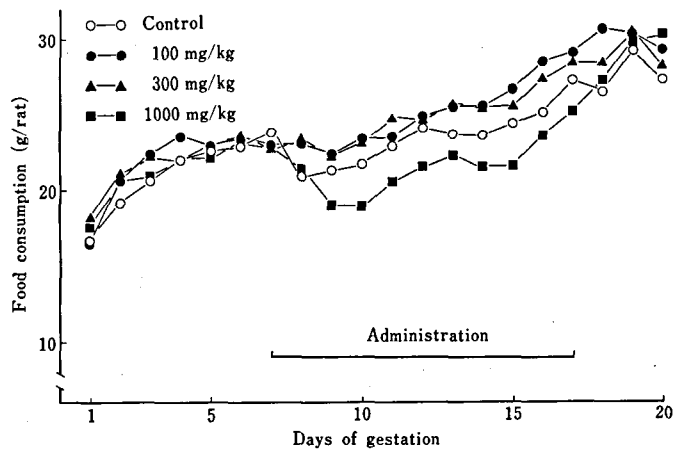


Fig. 1. Effect of oral administration of dibenzyltoluene on food consumption of pregnant rats

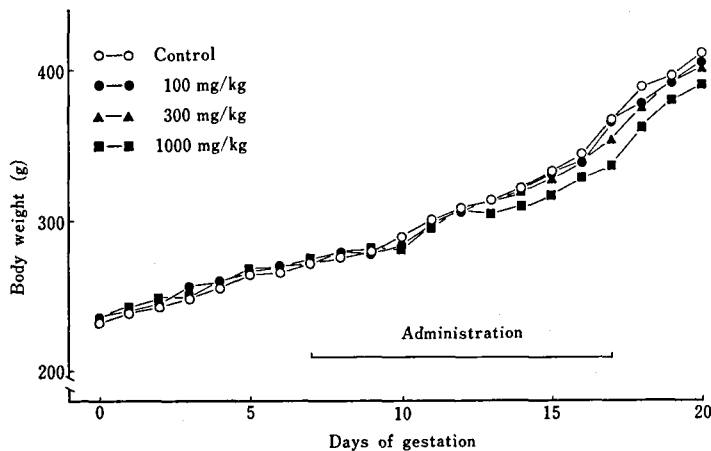


Fig. 2. Effect of oral administration of dibenzyltoluene on body weight gain of pregnant rats

kg 群では投与開始3日後(妊娠9日目)から摂餌量の低下が観察されたが、投与終了後ただちに对照群の水準まで回復した。

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。100 および 300 mg/kg 群は对照群と同様な体重推移を示したが、1000 mg/kg 群では投与開始7日後(妊娠13日目)から体重の増加抑制が観察され、投与終了後も对照群の水準まで回復しなかった。

4) 黄体数, 着床数および着床率

妊娠20日目の各群母ラットの黄体数, 着床数および着床率を Table 1 に示した。平均黄体数の有意な減少が1000 mg/kg 群に認められた以外、黄体数, 着床数および着床率には对照群とジベンジルトルエン投与

群との間に有意差は認められなかった。

2. 胎仔に及ぼす影響

1) 生存胎仔数, 性比, 体重および死亡率

Table 2 に示したように平均胎仔数, 性比および胎仔死亡率ともに対照群とジベンジルトルエン投与群との間に有意差は認められなかった。しかし、有意な胎仔体重の低下が1000 mg/kg 群の雌雄に認められた。

2) 外表検査成績

臍帯ヘルニアの胎仔が对照群に1例観察された。内反手, 曲尾および短尾をともなった胎仔が1000 mg/kg 群に1例観察されたが、その発生率は低く对照群との間に有意差は認められなかった (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。腎盂の拡張が对照群に1例, 300 mg/kg 群に2例,

Table 1. Effect of oral administration of dibenzyltoluene on pregnant rats on the reproductive parameters

Dose ( mg/kg )	0	100	300	1000
No. of dams	20	20	20	20
No. of dams with live fetuses	20	20	20	20
No. of corpora lutea (mean ± S.D.)	299 (14.9±2.2)	280 (14.0±2.5)	288 (14.4±1.9)	274 (13.7±1.5)*
No. of implants (mean ± S.D.)	251 (12.5±2.9)	235 (11.7±3.1)	259 (12.9±1.5)	252 (12.6±1.5)
Implantation ratio (%)	84.8	83.7	91.0	92.3

Implantation ratio(%) is expressed as the average of the incidence in each litter.  
\*:P<0.05

Table 2. Effect of oral administration of dibenzyltoluene to pregnant rats on the fetal developments

Dose ( mg/kg )	0	100	300	1000
No. of dams	20	20	20	20
No. of implants	251	235	259	252
No. of live fetuses (mean ± S.D.)	243 (12.1±3.0)	223 (11.1±3.1)	246 (12.3±1.6)	240 (12.0±1.6)
Sex ratio (male/female)	124/119	104/119	129/117	122/118
Body weight (g)				
male(mean ± S.D.)	4.1±0.3	4.0±0.3	4.0±0.3	3.8±0.4 *
female(mean ± S.D.)	3.9±0.2	3.8±0.2	3.8±0.2	3.6±0.4 *
No. of dead implants	8	12	13	12
Early death	8	11	11	12
Late death	0	1	2	0
Mortality (%)	4.1	5.5	5.0	4.5
No. of fetuses with external malformations	1(1.7)*	0	0	1(0.5) <sup>b</sup>

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

\*:Omphalocele ; <sup>b</sup>:Manus vara, short and kinky tail

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

\*\*:P<0.05

1000 mg/kg 群に1例観察された。左側臍動脈が対照群に2例, 100 mg/kg 群と300 mg/kg 群にそれぞれ1例, 大動脈弓部欠損および左側鎖骨下動脈の分岐異常が1000 mg/kg 群にそれぞれ1例ずつ観察された。しかし, いずれの異常の発生率とも対照群との間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 に示した。

##### a) 骨格奇形

骨格奇形として肋骨の癒合, 頸骨の欠損および橈骨の形成不全を合併した胎仔が1000 mg/kg 群に1例観

察された。しかし, 発生率は低く対照群との間に有意差は認められなかった。

##### b) 骨格変異

種々の骨格変異が対照群を含む各群に認められた。それらの種類と発生率は次の通りであった。頸椎肋骨の胎仔が対照群, 100および300 mg/kg 群にそれぞれ1例, 頸椎弓の異常(変形)の胎仔が1000 mg/kg 群に1例, 胸椎体の異常(変形, 分離)の胎仔が対照群を含む各群に2~25例, 胸骨核の異常(変形, 分離, 欠損)の胎仔が対照群を含む各群に55~75例観察された。しかし, 対照群に比べてこれらの骨格変異の発生

Table 3. Effect of oral administration of dibenzyltoluene to pregnant rats on the internal organ developments of the fetuses

Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of dams	20	20	20	20
No. of fetuses examined	86	85	90	87
Dilatation of renal pelvis	1(1.0)	0	2(2.9)	1(1.0)
Left umbilical artery	2(2.7)	1(1.0)	1(1.7)	0
Absence of the aortic arch	0	0	0	1(1.3)
Bifurcation of left subclavian artery	0	0	0	1(0.8)

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

Table 4. Effect of oral administration of dibenzyltoluene on pregnant rats on the skeletal developments of the fetuses

Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
No. of dams	20	20	20	20
No. of fetuses examined	157	138	156	153
Malformation				
Fusion of ribs	0	0	0	1(0.7)*
Absence of tibia	0	0	0	1(0.7)*
Hypoplasia of radius	0	0	0	1(0.7)*
Variation				
Cervical ribs	1(0.6)	1(0.7)	1(0.7)	0
Varied cervical arches	0	0	0	1(1.0)
Varied thoracic centra	4(2.6)	2(1.3)	3(2.0)	25(17.3)
Varied sternbrae	55(34.6)	55(39.4)	60(37.3)	75(49.2)
Lumbar ribs	31(19.0)	14(9.2)	17(10.9)	69(46.5)**
rudimentary	31(19.0)	14(9.2)	17(10.9)	65(44.2)**
extra	0	0	0	4(2.4)
Varied lumbar centra	0	0	0	3(2.1)
Varied sacral arch	0	0	0	1(0.7)*
Varied caudal arch	0	0	0	1(0.7)*
27-presacral vertebrae	0	0	0	8(6.3)
Deformity of humerus	0	0	0	1(0.7)*
Ossification state(average number)				
Metacarpus	7.9	7.9	7.8	7.8
Metatarsus	8.0	8.0	8.0	8.0
Sacro-caudal vertebrae	7.9	8.0	7.8	8.2

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

\* :Accompanied with fusion of 4th sacral arch and 1st caudal arch, absence of tibia, hypoplasia of radius and deformity of humerus.

\*\* :P<0.01

率に有意差は認められなかった。腰椎肋骨（痕跡状を含む）を有する胎仔が対照群を含む各群に14～69例観察され、1000 mg/kg 群の発生率（46.5%）は対照群に比べ有意に高かった。また、腰椎体の異常（変形）の胎仔が1000 mg/kg 群に3例、仙椎前の椎骨数が27個の胎仔が1000 mg/kg 群に8例、仙椎弓と尾椎弓の異常（癒合）の胎仔および上腕骨の異常（変形）の胎仔がそれぞれ1例観察された。しかし、発生率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ジベンジルトルエン投与群との間に有意差は認められなかった。

## 考 察

妊娠ラットにジベンジルトルエンを経口投与した場合、1000 mg/kg 群では立毛、摂餌量の減少および体重増加の抑制が認められ、1000 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。

1000 mg/kg 群において平均黄体数の低下が観察されたが、ジベンジルトルエンは卵の着床後に投与されており、ジベンジルトルエンの投与に起因した変化とは考え難い。

胎仔に対する影響として1000 mg/kg 群では雌雄ともに有意な胎仔体重の低下が認められた。1000 mg/kg は妊娠ラットに対して摂餌量の減少を示す用量であったこと、および妊娠中の母体の摂餌量の低下や低栄養は胎仔の発育に悪影響を及ぼすことから<sup>9,10)</sup>、この胎仔体重の低下は母体に対する毒性影響のために二次的に胎仔の発育が抑制されたものと考えられる。

ジベンジルトルエンを投与した妊娠ラットから得られた胎仔に内反手、曲尾および短尾の複合奇形が1例観察された。しかし、これらは自然発生的にも観察される異常であり<sup>11,12)</sup>、発現率も低くジベンジルトルエン投与の影響とは考えられない。

内部器官の異常として腎盂の拡張が300および1000 mg/kg 群に、左側臍動脈が100および300 mg/kg 群に、大動脈弓部欠損および左側鎖骨下動脈の分岐異常が1000 mg/kg 群に観察された。しかし、これらの異常はいずれも自然発生的に観察される種類<sup>11,12)</sup>であったこと、および発生率にも有意差はなかったことから、ジベンジルトルエン投与の影響とは考えられない。

骨格奇形として肋骨の癒合、頸骨の欠損および橈骨の形成不全を合併した胎仔が1000 mg/kg 群に観察されたが、発生率に有意差は認められなかった。また、

この胎仔は外表検査において内反手、曲尾および短尾の複合奇形と判定されたもので、これら骨格異常が反映された結果と考えられた。骨格変異として頸椎肋骨、頸椎弓の異常、胸椎体の異常、胸骨核の異常、腰椎体の異常、仙椎前の椎骨数が27個の胎仔、上腕骨の異常、仙椎弓の異常および尾椎弓の異常が観察された。しかし、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。これらの異常のうち上腕骨の異常、仙椎弓の異常および尾椎弓の異常は同一胎仔に観察され、この胎仔は外表検査で内反手、曲尾および短尾の複合奇形と判定されたものであった。一方サリチル酸などの催奇形因子を妊娠ラットに投与した場合、腰椎肋骨（extra）の発生頻度が増加する事が報告されている<sup>13,14)</sup>。本実験において1000 mg/kg 群で痕跡状を含めた腰椎肋骨の発生頻度が有意に増加した。しかし、痕跡状を除いた腰椎肋骨（extra）の発生頻度には対照群との間に有意差は認められず、ジベンジルトルエンの投与によってextra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。

以上の成績からジベンジルトルエンには催奇形作用は無いものと考えられた。なお、母体および胎仔に対して300 mg/kg 用量は無影響量であった。

## ま と め

ジベンジルトルエンの100,300および1000 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日目まで毎日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、100および300 mg/kg 用量では一般症状、摂餌量および体重増加に特に変化は認められなかった。1000 mg/kg 用量では、立毛、摂餌量の減少および体重増加の抑制が認められた。

2) 妊娠20日目の胎仔について、100および300 mg/kg 用量では平均生存胎仔数、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が、1000 mg/kg 用量で雌雄の胎仔体重の有意な低下が認められた。外表、内部器官および骨格の検査においてもジベンジルトルエン投与によると考えられる異常は観察されなかった。

以上、本実験条件下では、ジベンジルトルエン1000 mg/kg 用量は妊娠ラットに対して毒性影響量であったが、催奇形作用および胎仔致死作用は認められなかった。

## 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) 中浦楨介ら：衛生誌報, 102, 55 (1984)
- 4) 宇佐見誠ら：衛生誌報, 104, 68 (1986)
- 5) 山口 恵ら：衛生誌報, 105, 33 (1987)
- 6) 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
- 7) 西村耕一：先天異常, 14, 23 (1974)
- 8) A. B. Dawson: *Stain Technol.*, 1, 123(1926)
- 9) 村上氏広ら：“出生前の医学—先天異常の基礎と臨床—” p. 276 (1968), 医学書院
- 10) 池田高良：医学のあゆみ, 103, 933 (1977)
- 11) 亀山義郎ら：先天異常, 20, 25 (1980)
- 12) H. Morita *et al.*: *Cong. Anom.*, 27, 147(1987)
- 13) S. Tanaka *et al.*: *Cong. Anom.*, 13, 73(1973)
- 14) 安田峰生, 前田広由：先天異常, 13, 25 (1973)

### F344 ラットにおける potassium pyrophosphate の亜慢性毒性試験

下地尚史・松島裕子・今井田克己・長谷川良平  
黒川雄二・林 裕造

#### Subchronic Oral Toxicity Study of Potassium Pyrophosphate as a Preliminary to Long-term Carcinogenicity Studies in F344 Rats

Naoshi SHIMOJI, Yuko MATSUSHIMA, Katsumi IMAIDA, Ryohei HASEGAWA,  
Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI

A 13 week-subchronic toxicity study of potassium pyrophosphate (PP) was carried out in male and female F344 rats at the dose levels of 10, 5, 2.5, 1.25, 0.6 and 0% in the diet to estimate the maximum tolerable dose for subsequent long term carcinogenicity study. Sixty animals of both sexes were divided into 6 groups each. By the end of the test, two male and one female animals in the highest dose groups had died because of renal failure. Body weight gains of both male and female rats treated with 10% PP and of male rats treated with 5% PP were significantly decreased as compared to those of controls. On histopathological examination, necrosis and calcification in renal tubules, ulceration and/or granuloma formation in tongue mucosa and hypertrophy of salivary glands were observed at high incidence in these groups.

Based on these findings, a concentration of 5% in diets was determined to be the maximum tolerable dose of PP for use in rats in a long-term carcinogenicity study.

(Received May 31, 1988)

#### はじめに

potassium pyrophosphate( $K_4P_2O_7$ )は分子量330.35, 純度95%以上で水に易溶な, 無色～白色の結晶または塊, あるいは白色の結晶性粉末または粉末であり, 他の縮合リン酸塩に類似した性質を持つ。昭和32年に食品添加物として指定され, 他の縮合リン酸塩と併用して, ハム・ソーセージの結着剤, 水産缶詰のストラバイトの防止, 果実缶詰の変色防止, アイスcreamのオーバーラン, コーヒ原料の抽出量の増加, ハム・ソーセージの歩留まり向上, 冷凍すり身の保水性の増加, 麺類の食味の改善と歩留まりの向上, チーズの老化防止等, 広範囲に使用されている。potassium pyrophosphateを用いた毒性試験の報告はほとんどなく,

sodium pyrophosphateによる急性毒性試験では, 腹腔内投与によるLD<sub>50</sub>が233 mg/kg, 経口投与によるLD<sub>50</sub>が4,000 mg/kg以上と報告され<sup>1)</sup>, より長期の試験では腎尿管に石灰沈着等の変化が認められることが報告されている<sup>1)</sup>。我々は potassium pyrophosphateの長期投与における生体影響および癌原性の検索を計画している。今回は癌原性試験に先立ち雌雄のF344ラット120匹を用い, potassium pyrophosphate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

5週齢のF344ラットを雌雄各60匹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匹の雌雄6群ずつに分けた。動物の飼育はパリヤース



テムの飼育室にて行い、室内の環境条件は温度  $24 \pm 1$  °C、湿度  $55 \pm 5\%$ 、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。検体として太平化学産業株式会社製の potassium pyrophosphate を用いた。potassium pyrophosphate をチャーズリバー社製粉末飼料 (CRF-1) にそれぞれ 10, 5, 2.5, 1.25, 0.6% の割合で混入し、上記雌雄各群の動物に13週間自由に摂取させた。対照群として基本飼料 (CRF-1, 粉末) のみを与える群を設けた。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、腹部大動脈より採血後、屠殺剖検した。

血液および血清生化学的に、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、MCV(%), GOT, GPT, ALP, TTT, 総ビリルビン, 総コレステロール, TG,  $\beta$ -リポ蛋白, 総蛋白, A/G, 尿素窒素, クレアチニン, 尿酸, ZTT, カルシウムの項目について測定した。剖検時、諸臓器は肉眼的に観察してから摘出・精査し、脳、下垂体、唾液腺、胸腺、心臓、肺、腎臓、副腎、脾臓、肝臓、睪丸、卵巣については重量測定を行った。上記臓器の他、脊髄、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、精囊腺、前立腺、子宮、腔を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。

## 結 果

### 1. 一般状態, 体重, 摂餌量

実験全期間を通じて、最高用量群 (10%) の雄で2例、雌で1例腎障害によると考えられる途中死亡が認められた。また最高用量群では雌雄ともに実験開始早期から消瘦がみられ、実験終了時まで続いた。その他の potassium pyrophosphate 投与群、対照群に一般状態の異常は認められなかった。各投与群の1匹1日当たりの平均摂餌量および平均被験物質摂取量 (カッコ内) は雄の10%, 5%, 2.5%, 1.25%, 0.6% および対照群でそれぞれ 9.1 g (905mg), 14.9 g (744mg), 15.7 g (394 mg), 15.2 g (190 mg), 15.1 g (91 mg), 14.6 g (0mg), 雌の10%, 5%, 2.5, 1.25%, 0.6%

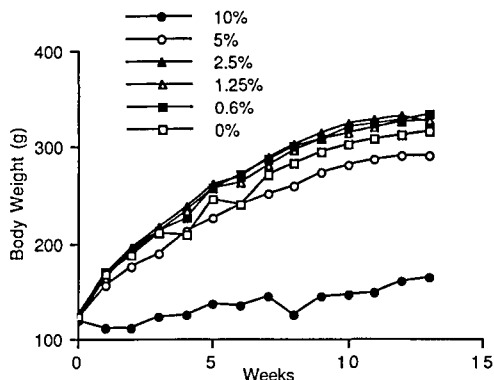


Fig. 1. Growth curve of male F344 rats treated with various doses of potassium pyrophosphate in a subchronic toxicity study

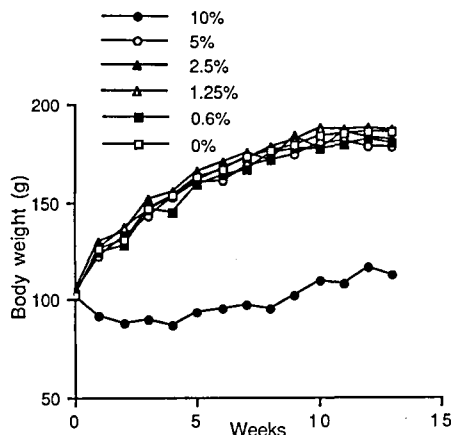


Fig. 2. Growth curve of female F344 rats treated with various doses of potassium pyrophosphate in a subchronic toxicity study

および対照群ではそれぞれ 5.8 g (584mg), 10.2 g (508mg), 10.0 g (251mg), 10.3 g (128mg), 9.6 g (58mg), 10.0 g (0mg) であり、雌雄ともに最高用量群 (10%) で摂餌量の有意な減少が認められた。実験期間中雌雄とも最高用量群に体重増加抑制がみられ、実験終了時の平均体重では、雄の10%および5%群、雌の10%群の対照群より有意に低値を示した。各群の平均体重の推移を Fig. 1, 2 に示した。

### 2. 血液および血清生化学的所見

各項目ごとの値を Table 1, 2 に示した。

血中尿素値が雌雄とも処置群で高値を示した。その他肝機能に関する検査値および血球数においても処置群で有意な変動が認められた。

Table 1. Serum chemistry and hematology results(male)

Dose (Effective No.)	10 % (7)	5 % (10)	2.5 % (10)	1.25 % (10)	0.6 % (10)	Control (8)
GOT(KU)	92.0±9.6**	70.0±7.3	66.2±8.1	67.7±4.8	68.5±8.1	67.5±6.1
GPT(KU)	39.5±9.0**	27.9±1.4*	26.2±1.9	25.8±2.8	24.3±2.8	25.8±2.0
Alp(KAU)	21.1±2.0**	13.3±1.2	11.3±1.2**	11.8±0.9**	11.8±1.3*	13.3±1.0
TTT(SHU)	0.99±0.54**	0.40±0.16	0.27±0.11	0.45±0.16	0.42±0.29	0.34±0.17
T-bil.(mg/dl)	0.55±0.08*	0.47±0.08	0.51±0.07	0.52±0.08	0.48±0.06	0.46±0.07
T-cho.(mg/dl)	96.3±5.5**	51.0±5.4	49.9±2.7	54.2±2.7	50.1±3.8	51.7±3.8
TG(mg/dl)	69.1±16.8	77.6±17.6	77.5±14.3	116.0±18.6**	94.7±30.7	85.3±17.5
β lipo-pro.(mg/dl)	131.4±26.8	117.5±20.8	106.0±27.1	195.1±147.1	132.4±36.8	127.2±19.8
T-pro.(g/dl)	6.25±0.22*	6.54±0.13	6.57±0.18	6.65±0.16*	6.50±0.12	6.48±0.10
A/G	1.70±0.19	1.75±0.05	1.81±0.07	1.85±0.07	1.89±0.09	1.93±0.08
BUN(mg/dl)	34.6±2.1**	22.7±1.8**	17.9±2.1	17.6±1.4	17.0±1.3	17.5±1.1
Creatinine(mg/dl)	0.85±0.21	0.65±0.25	0.84±0.23	0.94±0.15	0.72±0.45	0.91±0.35
Uric acid(mg/dl)	2.00±0.37**	1.19±0.29	1.01±0.20	1.29±0.56	1.47±0.63	0.98±0.29
ZTT(KU)	2.79±1.02**	1.62±0.32**	1.24±0.19*	1.41±0.36*	1.07±0.23	1.08±0.12
Ca(mg/dl)	9.2±0.4**	10.5±0.3**	10.7±0.2	10.8±0.4	11.1±0.6	10.9±0.3
Erythrocyte(x10 <sup>4</sup> /mm <sup>2</sup> )	706.6±43.7**	893.1±17.3**	926.1±24.0	953.4±33.0	942.8±15.1	949.0±22.4
Ht.(%)	375.0±16.4**	443.6±9.1**	454.6±11.8	468.4±15.6	465.1±9.5	465.5±10.8
MCV(μ2)	53.3±1.1**	49.7±0.7*	49.1±0.3	49.2±0.4	49.0±0.5	49.0±0.0
Leukocyte(x10 <sup>2</sup> /mm <sup>2</sup> )	71.9±14.5	59.9±10.5	85.7±38.5	146.6±41.4**	98.9±14.2**	59.3±15.5
Hb.(g/dl)	121.1±20.7**	154.0±3.7**	153.8±15.1	160.3±6.1	159.9±3.2	161.3±3.6

\* : p&lt;0.05    \*\* : p&lt;0.01

Table 2. Serum chemistry and hematology results (female)

Dose (Effective No.)	10 % (8)	5 % (9)	2.5 % (10)	1.25 % (10)	0.6 % (9)	Control (10)
GOT(KU)	90.3±3.6**	69.0±3.9**	70.7±5.8**	68.8±8.7	69.0±5.2*	63.3±4.1
GPT(KU)	35.2±9.0**	26.5±4.2*	24.1±2.8	23.4±1.4	23.0±2.6	23.1±2.0
Alp(KAU)	15.0±1.8**	8.6±1.1	8.6±0.8	10.0±1.7	9.0±1.2	8.5±1.4
TTT(SHU)	0.43±0.17	0.39±0.14	0.45±0.22	0.48±0.19	0.31±0.09*	0.44±0.16
T-bil.(mg/dl)	0.47±0.16	0.53±0.12	0.62±0.06	0.55±0.11	0.59±0.07	0.57±0.11
T-cho.(mg/dl)	112.0±10.0**	83.9±9.2	85.0±5.5	86.4±8.5	80.8±5.1*	87.7±6.2
TG(mg/dl)	65.0±26.2	53.2±9.7	59.0±10.3	57.0±12.2	54.3±4.6	58.3±9.4
β lipo-pro.(mg/dl)	79.0±30.7*	52.9±13.7**	93.3±16.4	92.6±21.8	90.4±8.5	102.8±16.9
T-pro.(g/dl)	6.01±0.20**	6.19±0.18*	6.41±0.24	6.45±0.09	6.32±0.19	6.37±0.16
A/G	2.00±0.18	1.90±0.26	1.88±0.09	1.84±0.33	2.02±0.10	1.93±0.12
BUN(mg/dl)	35.6±5.3**	25.8±2.3**	19.4±1.4**	18.3±1.4**	16.8±1.1	16.1±1.2
Creatinine(mg/dl)	0.66±0.14	0.70±0.25	0.76±0.34	0.91±0.22	0.86±0.31	0.65±0.33
Uric acid(mg/dl)	1.75±0.32	1.71±0.35	1.66±0.22	1.73±0.29	1.74±0.37	1.78±0.26
ZTT(KU)	0.80±0.38**	1.67±0.71	2.18±0.39	2.37±1.58	1.56±0.47	1.98±0.82
Ca(mg/dl)	9.5±0.5**	10.8±1.1	10.4±0.9	9.8±0.4**	10.0±0.2**	10.4±0.4
Erythrocyte(x10 <sup>4</sup> /mm <sup>2</sup> )	685.8±34.9**	862.2±25.6	861.1±23.0	856.6±23.4	864.6±21.4	876.9±32.6
Ht.(%)	372.1±15.5**	445.4±14.1	444.8±13.5	441.1±14.3	448.3±10.1	452.7±16.4
MCV(μ2)	54.1±0.8**	51.6±0.5	51.8±0.6	51.6±0.7	51.9±0.3	51.7±0.7
Leukocyte(x10 <sup>2</sup> /mm <sup>2</sup> )	66.8±8.3**	127.9±64.8	207.5±51.1**	239.0±33.6**	160.3±55.3	116.5±23.3
Hb.(g/dl)	116.9±24.5**	159.3±5.3	160.1±5.6	157.8±5.4	158.8±4.7	159.5±4.0

\* : p&lt;0.05    \*\* : p&lt;0.01

## 3. 臓器重量

各臓器ごとの絶対重量および相対重量を Table 3, 4 に示した。

腎相対重量は雌雄とも処置群で高値を示した。その

他の臓器においても処置群で有意な変化の認められるものがあった。

## 4. 病理組織学的所見

主要な病理組織学的所見の要約を Table 5 示した。

Table 3. Absolute and relative organ weights (male)

Dose (Effective No.)	10 % (8)	5 % (10)	2.5 % (10)	1.25 % (10)	0.6 % (10)	control (10)
Brain	1.86±0.04** (1.1)**	1.98±0.06 (0.7)*	2.01±0.06 (0.6)	1.98±0.05 (0.6)*	2.02±0.04 (0.6)*	2.02±0.08 (0.6)
Pituitary	0.007±0.003 (0.004)	0.011±0.004 (0.003)	0.008±0.003 (0.002)	0.008±0.003 (0.002)	0.007±0.002 (0.002)	0.011±0.006 (0.003)
Saliv. glands.	0.78±0.21* (0.48)**	0.82±0.28* (0.28)**	0.68±0.12 (0.20)	0.60±0.06 (0.18)	0.62±0.05 (0.19)	0.59±0.06 (0.19)
Thymus	0.12±0.05** (0.07)	0.20±0.04 (0.07)	0.23±0.03 (0.07)	0.22±0.03 (0.07)	0.26±0.04 (0.08)	0.23±0.05 (0.07)
Lung (R)	0.48±0.03** (0.29)**	0.71±0.07 (0.24)	0.77±0.04 (0.24)	0.77±0.07 (0.23)	0.77±0.10 (0.23)	0.75±0.11 (0.24)
(L)	0.26±0.03** (0.15)**	0.36±0.04 (0.12)	0.39±0.03 (0.11)	0.38±0.03 (0.12)	0.41±0.06 (0.12)	0.37±0.03 (0.12)
Heart	0.58±0.05** (0.36)**	0.87±0.14 (0.30)	1.01±0.06 (0.31)	0.96±0.06 (0.29)	1.01±0.08 (0.30)	0.95±0.12 (0.30)
Spleen	0.40±0.05** (0.25)**	0.61±0.05 (0.21)**	0.64±0.04 (0.19)	0.61±0.04 (0.19)	0.65±0.06 (0.19)	0.62±0.05 (0.20)
Liver	4.13±0.37** (2.5)**	7.00±0.58 (2.4)**	7.62±0.60 (2.3)	7.77±0.47* (2.4)*	7.67±0.45 (2.3)	7.22±0.54 (2.3)
Adrenal (R)	0.019±0.002* (0.012)**	0.021±0.006 (0.007)	0.022±0.001 (0.006)	0.020±0.005 (0.006)	0.021±0.005 (0.006)	0.024±0.004 (0.008)
(L)	0.021±0.005 (0.012)**	0.021±0.003 (0.007)	0.023±0.001 (0.007)	0.023±0.001 (0.007)	0.023±0.003 (0.007)	0.023±0.008 (0.007)
Kidney (R)	0.78±0.05** (0.48)**	1.09±0.05** (0.38)**	1.03±0.07 (0.31)	0.99±0.09 (0.30)	1.02±0.05 (0.31)	0.99±0.06 (0.31)
(L)	0.84±0.08** (0.52)**	1.10±0.06** (0.37)**	1.04±0.08 (0.32)	1.00±0.07 (0.30)	1.02±0.06 (0.31)	0.99±0.05 (0.31)
Testis (R)	1.17±0.07** (0.71)**	1.41±0.08 (0.49)*	1.48±0.06 (0.45)	1.43±0.10 (0.44)	1.48±0.09 (0.44)	1.42±0.07 (0.45)
(L)	1.22±0.06** (0.75)**	1.44±0.08 (0.50)**	1.50±0.05 (0.46)	1.47±0.06 (0.45)	1.52±0.05 (0.46)*	1.49±0.07 (0.47)

Relative organ weights are showed in parentheses(%).

\* : P<0.05    \*\* : P<0.01

Table 4. Absolute and relative organ weights (female)

Dose (Effective No.)	10 % (9)	5 % (10)	2.5 % (10)	1.25 % (10)	0.6 % (10)	control (10)
Brain	1.75±0.07** (1.5)**	1.84±0.05 (1.0)	1.86±0.06 (1.0)	1.84±0.05 (1.0)	1.89±0.05 (1.1)*	1.86±0.05 (1.0)
Pituitary	0.006±0.002** (0.005)	0.010±0.003 (0.006)	0.012±0.003 (0.007)	0.011±0.003 (0.006)	0.010±0.003 (0.006)	0.010±0.003 (0.005)
Salv. glands.	0.61±0.18** (0.54)**	0.44±0.04* (0.25)**	0.40±0.05 (0.22)	0.43±0.08 (0.23)	0.41±0.05 (0.23)	0.40±0.03 (0.22)
Thymus	0.13±0.04** (0.12)	0.17±0.03 (0.09)	0.17±0.06 (0.09)	0.20±0.05 (0.11)	0.20±0.04 (0.11)	0.19±0.03 (0.10)
Lung (R)	0.40±0.04** (0.35)**	0.57±0.07 (0.32)*	0.54±0.04 (0.30)	0.56±0.06 (0.30)	0.54±0.04 (0.30)	0.54±0.06 (0.29)
(L)	0.21±0.03** (0.19)**	0.29±0.03 (0.16)	0.27±0.03 (0.15)	0.28±0.03 (0.15)	0.27±0.02 (0.15)	0.29±0.03 (0.16)
Heart	0.48±0.04** (0.43)**	0.63±0.03 (0.35)**	0.65±0.07 (0.35)*	0.60±0.05 (0.32)	0.60±0.04 (0.33)	0.61±0.04 (0.33)
Spleen	0.34±0.06** (0.30)**	0.48±0.06* (0.27)**	0.43±0.03 (0.24)	0.43±0.04 (0.23)	0.42±0.05 (0.23)	0.43±0.03 (0.23)
Liver	3.16±0.24** (2.8)**	4.07±0.34* (2.3)**	3.97±0.16 (2.2)*	3.94±0.17 (2.1)	3.77±0.25 (2.1)	3.77±0.28 (2.0)
Adrenal (R)	0.018±0.002* (0.016)**	0.022±0.005 (0.012)	0.024±0.004 (0.01)	0.023±0.005 (0.012)	0.024±0.004 (0.013)	0.023±0.005 (0.012)
(L)	0.020±0.003** (0.018)*	0.025±0.003 (0.014)	0.025±0.006 (0.014)	0.024±0.005 (0.013)	0.027±0.004 (0.015)	0.026±0.004 (0.014)
Kidney (R)	0.64±0.05** (0.57)**	0.88±0.06** (0.55)**	0.72±0.06** (0.40)**	0.63±0.05* (0.34)*	0.59±0.03 (0.33)**	0.57±0.04 (0.31)
(L)	0.67±0.05** (0.59)**	0.97±0.04** (0.56)**	0.71±0.05** (0.39)**	0.62±0.05 (0.33)	0.60±0.03 (0.33)	0.60±0.04 (0.32)
Ovary (R)	0.020±0.005* (0.018)	0.033±0.010 (0.019)	0.041±0.019 (0.023)	0.042±0.020 (0.023)	0.040±0.009 (0.022)	0.042±0.022 (0.023)
(L)	0.012±0.003 (0.011)	0.040±0.020 (0.022)	0.046±0.021 (0.025)	0.039±0.022 (0.021)	0.045±0.016 (0.025)*	0.033±0.009 (0.018)

Relative organ weights are showed in parentheses(%).

\* : P&lt;0.05    \*\* : P&lt;0.01

Table 5. Summary of histopathological findings in F344 rats (both sexes) after 13 weeks treatment

Findings	Concentration of potassium pyrophosphate in diet					
	10%	5%	2.5%	1.25%	0.6%	0%
<b>Kidney</b>						
Tubular necrosis, with calcification and interstitial fibrosis	+++	++	±	—	—	—
<b>Tongue</b>						
Ulceration and/or granuloma formation	+	+ ~ ±	—	—	—	—
<b>Salivary glands (serous)</b>						
Hypertrophy	+	± ~ —	—	—	—	—

+++ : severe    ++ : moderate    + : mild    ± : slight

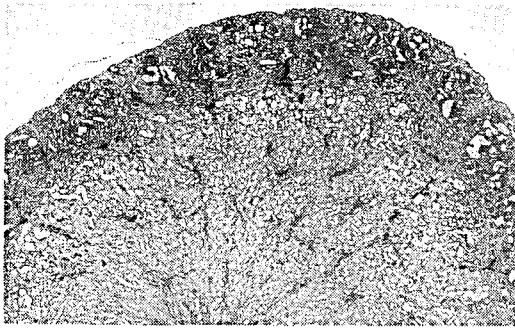


Fig. 3. Tubular necrosis, calcification and interstitial fibrosis in kidney of rat treated with 10% potassium pyrophosphate for 13 weeks



Fig. 4. Higher magnification of Fig. 3

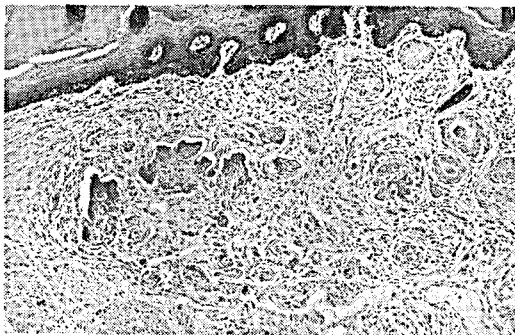


Fig. 5. Granuloma formation in tongue of rat treated with 10% potassium pyrophosphate for 13 weeks

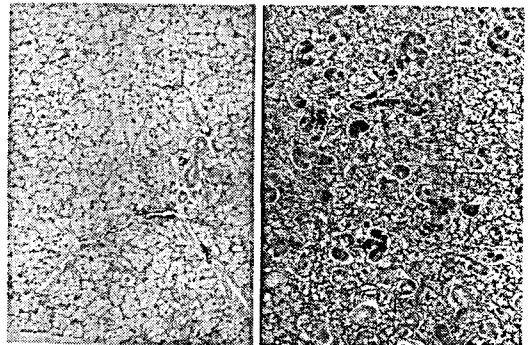


Fig. 6. Hypertrophy in salivary gland of rat treated with 10% potassium pyrophosphate for 13 weeks (left) and that of control rat (right)

腎臓：10%投与群の雌雄全例において皮質髄質境界部を中心とした広範な部位に、中等度から高度のカルシウム沈着を伴った尿細管壊死、間質の線維化および単核性細胞浸潤が認められた (Fig. 3, 4)。5%投与群

では皮質髄質境界部に限局して軽度から中等度のカルシウム沈着を伴った尿細管壊死が、雌雄とも全例に認められた。2.5%投与群において、皮質髄質境界部に散見される限局的な尿細管上皮細胞の萎縮および脱落

が雄で7/10例、雌で8/10例認められた。1.25%および0.6%投与群においては特記すべき変化は認められなかった。

舌：舌先部あるいは舌根部の粘膜、粘膜下組織において潰瘍、肉芽腫形成等の変化がみられた (Fig. 5)。これらの病変は10%群の雄8/8例、雌7/9例に、5%群の雄6/10例、雌4/10例にみられ、2.5%以下の群では認められなかった。

唾液腺：高用量群 (10%, 5%) の舌下腺および顎下腺の漿液腺部において、腺房細胞の肥大、染色性の変化 (好塩基性化) およびそれともなう線条部、介在部、導管の圧迫性と思われる萎縮が10%群の雄7/8例、雌4/9例に、5%群の雄2/10例にみられた (Fig. 6)。これらの変化は常に前述の舌の病変に伴って認められた。

その他：顎下リンパ節において RES 細胞の増殖、リンパ芽球の増殖等、舌病変に対する反応性変化と考えられるものが10%群の雄2/10例、雌1/10例にみられた。その他の臓器においては特記すべき所見は認められなかった。

## 考 察

平均摂餌量は、雌雄ともに最高用量群で有意な減少が認められ、高濃度添加飼料に対する摂餌忌避行動が示唆された。今回の実験における10%、5%、2.5%、1.25%、および0.6%群の平均摂餌量は、対照群に比べ、雄で62%、102%、108%、104%、103%、雌で58%、102%、100%、103%、96%であり、5%以下の群では摂餌量の減少は全く認められなかった。一方10%、5%、2.5%、1.25%、および0.6%群の最終平均体重は対照群に比べ、雄で52%、92%、103%、104%、106%、雌で61%、95%、98%、100%、97%であった。したがって本実験でみられた体重増加抑制の原因は摂餌量の減少および腎の障害によるものと考えられた。

血中の尿素窒素の増加は腎障害を反映した変化と考えられる。また、赤血球数と白血球数の変動より、造血管系への影響の可能性も示唆されたが、病理組織学的には造血管系に著変はみられなかった。GOT、GPTなど肝機能に関するパラメータは高濃度群で対照群に比して有意な変動がみられたが、病理組織学的には肝に著変はみられなかった。腎における尿細管の病変は sodium pyrophosphate の試験で報告されたものとはほぼ同様のものでは<sup>2)</sup>、高リン血症の長時間の持続が関与するものとされる<sup>3)</sup>。また、potassium pyroantimonate により腎尿細管上皮内のカルシウム濃度が高まり、その後石灰沈着を起こすという報告もある<sup>4)</sup>。舌における炎症性の病変は、被験物質の水溶液が強アルカリを示す (1% 水溶液で pH 10.2) ためと考えられ、最高用量群における摂餌忌避は舌に対するアルカリ刺激が主たる原因と考えられた。唾液腺および顎下リンパ節にみられた変化は舌の病変に対する反応性のものと考えられた。

以上、摂餌量の減少が5%以下の投与群で全くみられないこと、体重の増加抑制が5%投与群で10%以内であったこと、主病変である腎の変化が5%投与群では皮質髄質境界部への限局性のものであったことなどから本物質の癌原性試験における最大耐量を5%と判断した。

## 文 献

- 1) P. K. Datta *et al.*: *J. Sci. Food Agric.*, **13**, 556 (1962)
- 2) R. K. Zalups *et al.*: *Am. J. Pathol.*, **113**, 95 (1983)
- 3) F. J. C. Roe: *Mineral deposition in the renal pelyvis of rats. a brief review.* (1979)
- 4) H. T. Nguyen *et al.*: *Am. J. Pathol.*, **100**, 39 (1980)

タルクに含まれるアスベスト検出のための  
X線分析型走査電子顕微鏡の利用

今沢孝喜・下地尚史・篠田和俊・今井田克己  
高橋道人・林 裕造

Application of X-Ray Analytical Scanning Electron Microscopy  
to the Detection of Asbestos in Talc

Takayoshi IMAZAWA, Naoshi SHIMOJI, Kazutoshi SHINODA,  
Katsumi IMAIDA, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI

For the detection of asbestos fibers, 2 kinds of analytical methods based on ultrastructural observation by transmission electron microscope and crystallographic analysis by X-ray diffraction have been used or proposed. The present study was performed using a scanning electron microscope (SEM, JSM-840A, JEOL) as well as energy dispersed X-ray detector (QX200J, LINK Analytical Limited, SEM-EDX) to establish a reliable analytical method for the detection of asbestos fibers mixed at various concentrations in talc. The SEM conditions used in the study were as follows: accelerating voltage, 15~20 kV; probe current,  $1 \times 10^{-8}$  mA; working distance, 15~25 mm; and for the chemical elementary analysis, accelerating voltage, 15 kV; probe current,  $2 \times 10^{-6}$  mA; working distance, 39 mm. Three kinds of asbestos fibers were investigated: chrysotile, tremolite and crocidolite. Chrysotile and tremolite were mixed in talc at concentrations of 0.8 and 0.5% (W/W), respectively. Crocidolite was observed and analyzed in the pure form without admixture of talc. The talc, chrysotile, tremolite and crocidolite demonstrated showed petal-like, needle-like, slate-like and rod-like shapes, respectively, under the SEM. Mg, Si and Ca were detected by chemical elementary analysis. Mg and Si were evident in talc and chrysotile, Mg, Si and Ca in tremolite, and Na, Mg, Si and Fe in crocidolite. Although both morphological and elementary analyses showed characteristic features when used alone, combining the two methods resulted in a more reliable method for the detection and identification of asbestos fiber types.

(Received May 31, 1988)

## はじめに

エネルギー分散型X線分析装置(EDX)付走査電子顕微鏡(SEM)は、試料の表面の超微形態学的観察と元素分析をほぼ同時に行える装置である。EDXは、電子線照射により観察試料面から発生する特性X線を検出し試料の構成元素の定性、半定量(線分析、面分析)および定量分析を行うことが可能である<sup>1-3)</sup>。

アスベストは柔軟性、抗張力があり、また耐熱性、耐圧性さらに耐酸、耐アルカリ性の特性があることからボイラー被覆、不燃建材、プレーキライニング、石棉スレート板などに広く利用されてきたが<sup>4)</sup>、疫学調査ではヒトに対する癌原性が疑われており<sup>5,6)</sup>、動物実験でも肺や腹腔内の中皮腫の発生が知られている<sup>7-9)</sup>。また、最近一部のペーパーパウダーからアスベストが検出されたという報告<sup>10)</sup>もあり、アスベスト検出方法の

確立が急務となっている。

アスベスト繊維の検出法として、国際的には、透過型電子顕微鏡による形状観察が提案され、最近、X線回折法による分析が試みられてはいるものの<sup>10,11)</sup>、その検出限界濃度は必ずしも満足すべきものではない。特に、元素構成が極めて類似しているクリソタイルとタルクの鑑別には技術的問題が残されている。今回著者らは、SEM-EDXを用いて超微形態観察と元素分析の観点からタルク中に混入しているアスベスト繊維の検出法の検討を試みた。

## 実験材料および方法

### 1. 検 体

タルクおよびアスベスト繊維であるクリソタイル、トレモライト(The Cosmetic Toiletry and Fragrance Association: CTFA 指定品)、クロシドライト

(International Union Against Cancer: UICC より配布された標準品) について検討を行った。

<化学組成>

タルク:  $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$

クリソタイル:  $Mg_3Si_2O_5(OH)_4$

トレモライト:  $Ca_2Mg_5Si_8O_{22}(OH)_2$

クロソドライト:  $Na_2Fe_5Si_8O_{22}(OH)_2$

タルク、クロソドライトはそのまま、クリソタイルならびにトレモライトは、標準試料としてタルク中にそれぞれ 0.8%, 0.5% (w/w) の濃度で混入した検体を実験に用いた。なお、本濃度はX線回折分析法における検出限界濃度である<sup>12,13)</sup>。

2. 試料作製

SEM 用試料支持台にネイルエナメル (カネボウ社) あるいはカーボンペースト (日本電子) を薄く塗布し

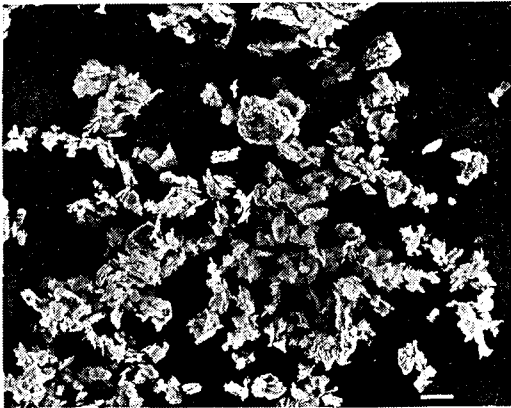


Fig. 1-a. Scanning electron micrograph demonstrating the appearance of talc crystals. Bar: 10  $\mu$ m



Fig. 1-b. Higher power view of talc crystal clusters. The surfaces are petal-like. Bar: 10  $\mu$ m

乾燥直前に少量の検体をその上へ重層した。十分に乾燥後、真空蒸着装置 (日本電子, JEE-4X) により炭素蒸着を行い、その後、検鏡および分析を実施した。

3. SEM 観察および EDX 分析

SEM (日本電子, JSM-840A) による形態観察時の条件は、

加速電圧: 15~20 kV

試料電流:  $1 \times 10^{-8}$  mA

作動距離 (WD): 15~25 mm

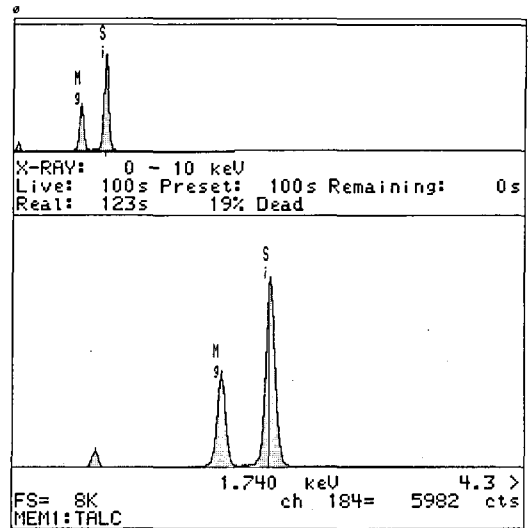


Fig. 1-c. SEM-EDX spectrograms of talc. The two peaks are Mg and Si.

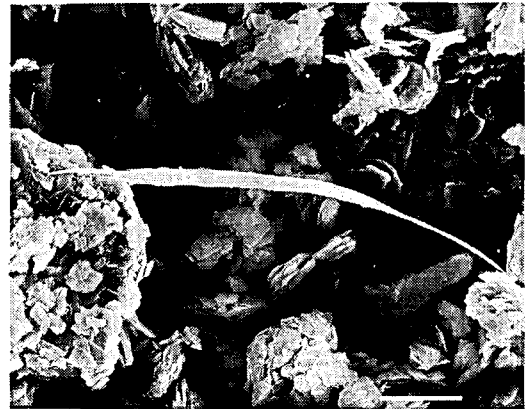


Fig. 2-a. Scanning electron micrograph of a chrysotile fiber strip in a talc mixture. The strip of chrysotile in the center can be clearly distinguished from the talc crystal clusters. Bar: 10  $\mu$ m



EDX(LINK, QX200J) による元素分析時の条件は、

加速電圧：15 kV

試料電流： $2 \times 10^{-6}$  mA

作動距離(WD)：39 mm

で行った。

なお、元素分析は同一部位について3～5回繰り返し行い、再現性を確認した。

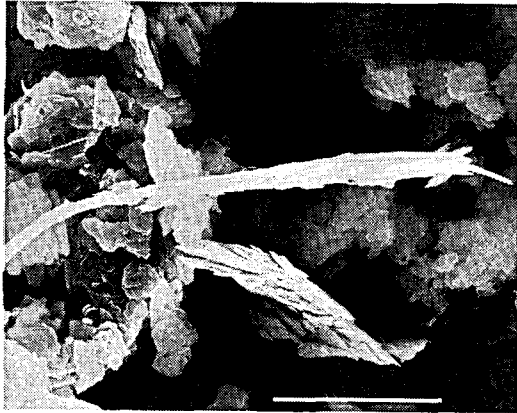


Fig. 2-b. Another strip of chrysotile is observed to comprise a bundle of fibers. The characteristic morphological appearance allows easy recognition. Bar: 10  $\mu$ m

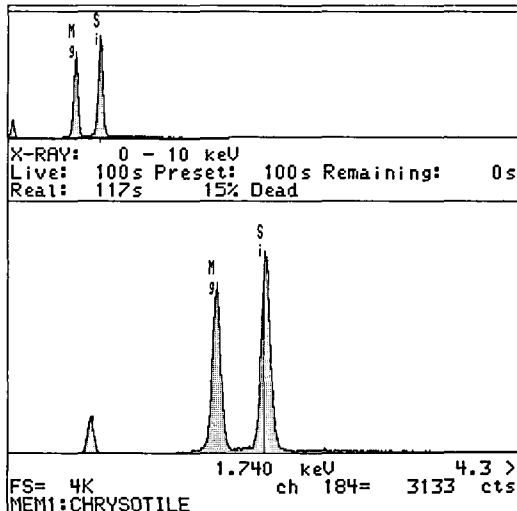


Fig. 2-c. SEM-EDX spectrograms of chrysotile. The two peaks are Mg and Si. A clear difference in the ratio between the two peaks as compared with Fig. 1-c is evident.

## 結 果

タルクとアスベスト繊維の走査型電子顕微鏡像と元素分析結果を Fig. 1, 2, 3, 4 に示した。

なお、元素分析結果の Fig. において上段は元素分析能力全域でのスペクトルを、下段はその一部拡大図を示した。また、最左端のスペクトルは分析結果とは直接関係のない 0-ストローブピークである。

### <タルク>

タルクの表面形態は花卉状を呈する構造が明瞭であり (Fig. 1-a, b), 元素分析結果 (Fig. 1-c) より固有のスペクトルとして Mg, Si の 2 種のみが認められた。前者のピークは、後者の約 1/2 (ピーク比：約 1/2) であった。

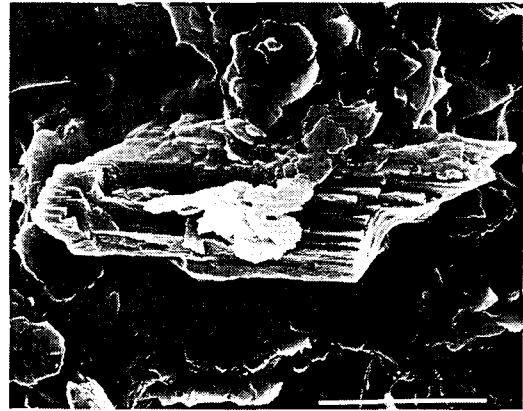


Fig. 3-a. Scanning electron micrograph demonstration of the appearance of tremolite crystal structure. Note slate-like morphology. Bar: 10  $\mu$ m



Fig. 3-b. Multi-layered slate-like appearance of tremolite. Bar: 10  $\mu$ m

### <クリソタイル>

タルク中のクリソタイルは、先端が $1\mu\text{m}$ 以下の針状を呈し、重積集合したタルクとは容易に識別し得た (Fig. 2-a, b). 元素分析結果 (Fig. 2-c) は、タルクと同様、Mg, Si のみが認められたが、両元素のピーク比 (Mg/Si) はタルクの約 $1/2$ に比して高い傾向にあった。

### <トレモライト>

今回検索したトレモライトはスレート状 (Fig. 3-a), ないし層を形成した面状 (Fig. 3-b) であり、その元

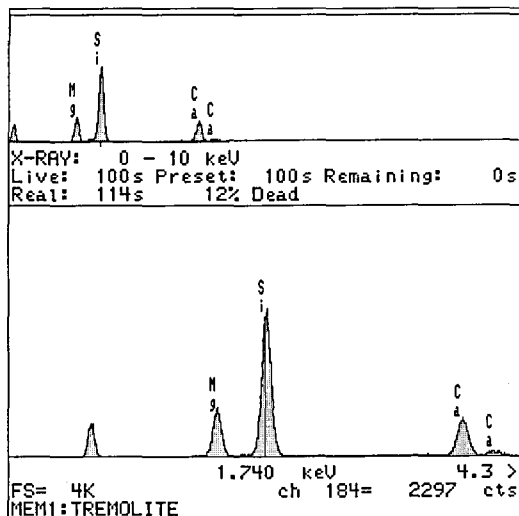


Fig. 3-c. SEM-EDX spectrograms of tremolite. Two Ca peaks are seen in addition to Mg and Si.

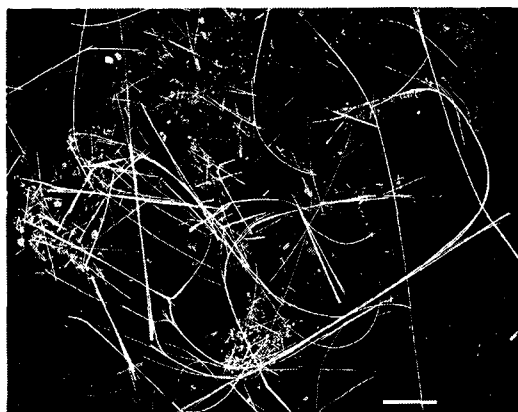


Fig. 4-a. Scanning electron micrograph of crocidolite. Low magnification illustrating long, thin fibers. Bar:  $100\mu\text{m}$

素分析結果 (Fig. 3-c) ではタルクおよびクリソタイルで見られた Mg, Si のほかに Ca のピークも連続した2ヶ所に認められ、化学組成を反映していた。高いピークはK殻の $\alpha(K\alpha)$ であり、他方はK殻の $\beta(K\beta)$ である。

### <クロソドライト>

クロソドライトは長さ $0.5\text{mm}$ 以上、太さ $1\mu\text{m}$ 以下のシャープな長繊維構造を呈し (Fig. 4-a, b), 元素分析結果 (Fig. 4-c) から Si, Mg のピークのほか、クロソドライトに特徴的な化学組成である Na, Fe が

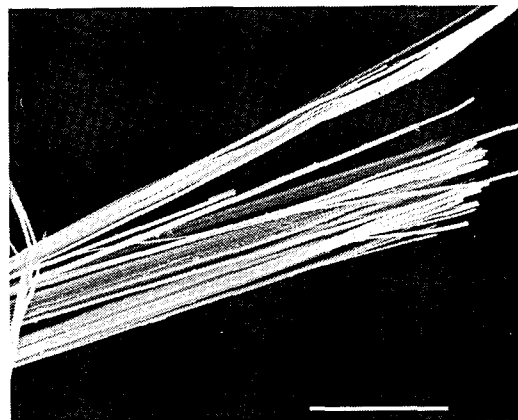


Fig. 4-b. Higher power view demonstrating that crocidolite fibers are straight and rod-like. Bar:  $10\mu\text{m}$

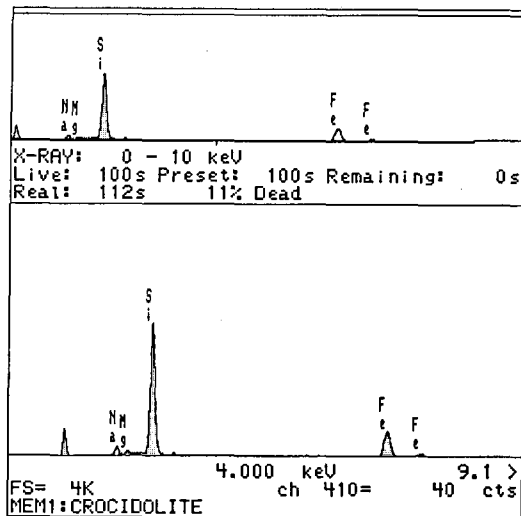


Fig. 4-c. SEM-EDX spectrograms of crocidolite. Fe and Na peaks are seen as well as Mg and Si peaks.

認められた。Fe のピークは連続した2ヵ所に認められ、高い方のピークは  $K\alpha$  であり、他方は  $K\beta$  である。

## 考 察

今回著者らは SEM-EDX を用いて、タルク中に混入するアスベスト繊維の検出ならびに同定を試みた。

SEM による形態観察では、それぞれのアスベスト繊維(クリソタイル, トレモライト, クロソライト)に特有の構造が認められ、形態的に各々を識別することは一応可能であった。一方、EDX による元素分析ではタルクとトレモライト, クロソライトはその構成元素組成から区別でき、タルクとクリソタイルはその Mg, Si のピーク比から各々の同定は可能であった。さらに分析結果の再現性も良好であった。しかし、クロソライトにおいては、化学組成で Mg を含んでないにもかかわらず元素分析では微量の Mg が検出されたが、その理由としてアスベストの産地による差異か、あるいは試料作製時のタルク混入の可能性が考えられた。したがって、元素分析と同時に走査型電子顕微鏡による形態的観察がアスベスト繊維の同定には必要であると思われた。そのためには SEM-EDX による検討が有効であろう。

アスベスト繊維は環境中においても稀な物質ではなく都市の大気や飲料水<sup>14)</sup>、ベビーパウダー<sup>10)</sup>や清酒<sup>15,16)</sup>にも混入していると言われている。液体中のアスベストの繊維観察法としては極めて微少な繊維を対照とするため電子顕微鏡が使用されているが多くの場合は透過型電子顕微鏡によるものである<sup>10,16)</sup>。さらに、SEM による超微形観察や、EDX を併用して形態観察と同時に元素分析を実施した報告<sup>15,17)</sup>もあるが、必ずしも確立した方法ではない。アスベストの癌原性については、アスベストを含有するタルク鉱山の採石、粉碎労働者に肺癌による死亡率が有意に高いとの報告があり<sup>6)</sup>、森永ら<sup>18)</sup>は胸膜中皮腫患者のアスベスト繊維曝露歴と肺内アスベスト繊維の関連について指摘している。また、動物実験でもアスベスト繊維が中皮腫を生じるなどその発癌性が報告されている<sup>7-9)</sup>。近年、化学組成が同一のアスベストであってもその形態や繊維の長さによってその発癌性が異なり、アスベストの発癌性における形態的要因の関与も示唆されているので<sup>19)</sup>、この点からも SEM での形態観察によるアスベスト繊維の同定は重要であると思われる。

以上のように、SEM-EDX を用いることにより、

X線回折法の検出限界濃度においても、その形態観察と元素分析により容易にアスベスト繊維の検出と種類の同定ができた。SEM-EDX は、アスベストのような鉱物ばかりではなく、重金属などの生体内分布を検索する上でも有用な装置であり、今後研究面での利用価値は極めて大きいものと期待される。

## 結 語

SEM-EDX を用いて、タルクとその中に含有されるアスベスト繊維の同定の可否について検討した。SEM による形態観察では、それぞれのアスベスト繊維(クリソタイル, トレモライト, クロソライト)に特有の構造が認められ、形態的に各々を識別することは可能であった。また、EDX による元素分析結果ではその構成元素組成あるいはピーク比から各々の同定は可能であり、分析結果の再現性も良好であった。SEM-EDX はアスベストの検出だけでなく、その構成繊維の同定にも有効な手段と思われる。

終わりに、本研究を行うにあたりタルクおよびアスベストを御提供くださった、環境衛生化学部の武田明治部長、木嶋敬二室長に深謝致します。

## 文 献

- 1) 水平敏知：神経進歩，25，569 (1981)
- 2) 水平敏知：組織細胞化学，131 (1981)，学際企画
- 3) 水平敏知：臨床検査，30，11 (1986)
- 4) 横山ら：臨床検査，28，11 (1984)
- 5) H. S. R. Malaker *et al.*: *JNIC*; 74, 61 (1985)
- 6) M. Kleinfeld *et al.*: *Arch. Environ. Health*; 14, 663 (1967)
- 7) J. C. Wagner *et al.*: *Br. J. Cancer*; 29, 252 (1974)
- 8) M. F. Stanton *et al.*: *JNCI*; 58, 587 (1977)
- 9) M. F. Stanton *et al.*: *JNCI*; 48, 797 (1972)
- 10) 神山ら：医学のあゆみ，142, 47 (1987)
- 11) 神山宣彦：昭和50年度環境保全研究成果集，86, 1 (1975)
- 12) 厚生省薬務局：医薬品研究，19, 397 (1988)
- 13) 厚生省薬務局：医薬品研究，19, 398 (1988)
- 14) I. J. Selikoff: *Arch. Environ. Health*; 25, 1 (1972)
- 15) 猪子正憲：食衛誌，23, 422 (1982)
- 16) 荻野ら：東京衛研年報，34, 178 (1983)
- 17) J. P. Marsh *et al.*: *Cancer Research*; 48, 709 (1988)
- 18) 森永ら：医学のあゆみ，143, 221 (1987)
- 19) J. C. Wagner *et al.*: *Brit. J. Cancer*; 23, 567 (1969)

## 新生仔ハムスターの膵における内分泌細胞の免疫組織化学的特性

古川文夫・豊田和弘・佐藤秀隆・岡宮英明  
阿部 弘・高橋道人・林 裕造

### Immunohistochemical Characterization of Pancreatic Endocrine Cells in the Newborn Hamster

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

Pancreatic islet cells of newborn hamsters were investigated immunohistochemically using the avidin-biotin peroxidase complex (ABC) method for binding of specific antibodies to glucagon, insulin, somatostatin, pancreatic polypeptide (PP), neuron-specific enolase (NSE) and keratin.

The A cells (glucagon) appeared to be localized primarily in the peripheral area of the islet, while B cells (insulin) occurred in the central area. A few D cells (somatostatin) were found intermingled with A and B cells within all islets. The ratio of B to A (A/B) cells was approximately 1 at the newborn stage.

Neuron-specific enolase (NSE) was also examined and was found to be present at appreciable concentrations in the islet cell tissue of adult pancreas but was only rarely found in newborn hamsters.

Antiserum to keratin (an epithelial marker) demonstrated binding in hamsters at day 14, 21 and 35 after birth but not at days 0, 1 and 7.

These findings are considered to be related to developmental and functional features at the embryonal and newborn stages.

(Received May 31, 1988)

## はじめに

成熟したハムスターの Langerhans 氏島 (ラ氏島) の内分泌細胞は insulin 陽性細胞 (B細胞) が中心部に, glucagon 陽性細胞 (A細胞) が辺縁部に, somatostatin 陽性細胞 (D細胞) が A, B 細胞層の間に位置し<sup>1)</sup>, これらの細胞の比率 A : B : D は 20 : 70 : 10 である。この他に十二指腸葉のラ氏島に集中して pancreatic polypeptide (PP) 陽性細胞が存在している<sup>1)</sup>。ヒトの胎児膵においては A : B の細胞の比率は 1 : 1 に近く, 爬虫類, 両生類, 魚類などの下等脊椎動物も同じような比率を示すことが報告されてはいるが<sup>2)</sup>, ハムスターの新生仔膵における分布についての報告はない。

本研究は免疫組織化学的手法を用いて新生仔ハムスターの各種内分泌細胞を同定し, その特性について検討を行った。

## 実験材料および方法

妊娠14日目の syrian golden hamster 5匹を三協ラボサービス社より購入し, 分娩まで固型飼料 (オリエ

ンタル MF, オリエンタル酵母社製) と水道水を自由に与え, 生まれた新生仔35匹を用いた。

出産後, 新生仔は生後0日, 1日, 2日, 7日, 14日, 21日, そして35日に各5匹ずつ無作為に選び出し検索に供した。生後21日までは母乳にて飼育し, それ以後は固型飼料にて飼育した。検索日にはハムスターの体重を測定し, 屠殺・剖検, 膵臓または腹部臓器を摘出し直ちに10%中性リン酸緩衝ホルマリン液にて48時間固定, 通常の方法でアルコール系列にて脱水後, パラフィン包埋し, 3 $\mu$ の半連続切片を作製し, ヘマトキシリン エオジン染色で形態学的検索を行った。

## 免疫組織化学的染色<sup>1,4,5)</sup>

免疫組織化学的染色は常法にてキシレンで脱パラフィン後, 脱キシロールをアルコールで行い, メタノールと過酸化水素の混合液にて内因性ペルオキシターゼの阻止を行った。その後リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で洗浄, PBS で6倍希釈の正常ヒツジ血清にてマスキングを行った。

一次抗体は下記のものを用いた。

Anti-human glucagon (DAKO 社製)

- 抗原：ヒト合成グルカゴン  
 希釈倍率：400倍（免疫動物ウサギ）  
 Anti-human insulin (DAKO 社製)  
 抗原：ブタ膵インシュリン  
 希釈倍率：400倍（免疫動物モルモット）  
 Anti-human somatostatin (DAKO 社製)  
 抗原：ウシ サイログロブリン標識合成  
 環状 (1-14) ソマトスタチン  
 希釈倍率：400倍（免疫動物ウサギ）  
 Anti-human pancreatic polypeptide (PP) (FNK 社製)  
 抗原：ブタ PP  
 希釈倍率：400倍（免疫動物ウサギ）  
 Anti-human keratin (DAKO 社製)  
 抗原：ウシの鼻部の表皮ケラチン  
 希釈倍率：400倍（免疫動物ウサギ）  
 Anti-human neuron-specific enolase (NSE) (DAKO 社製)  
 抗原：ウシの脳のホモダイマー  
 希釈倍率：400倍（免疫動物ウサギ）

以上の抗体はマスキングに用いたと同様の6倍希釈の正常ヒツジ血清希釈液を使用した。

その後 PBS で3回洗浄，二次抗体は biotinylated sheep antirabbit IgG (Vector 社製)，ただし，insulin においては抗体の免疫動物がモルモットのために biotinylated sheep antiguinea pig IgG (Vector 社製) を用い，avidin-biotin complex (Vector 社製) で染色した。呈色液は PBS 200 ml に 3,3'-diaminobenzidin-4HCl (DAB) を 20mg と 0.3% の過酸化水素 100  $\mu$ l を加えた。なお反応時間は経験上 5~10分とした。核染色は 1% methyl green で行った。methyl green は PBS 280 ml に 0.1N 塩酸 120 ml を加え全量を 400 ml とし，methyl green (Chroma 社製) を 4g 溶解し使用染色液とした。

## 実験結果

新生仔ハムスターの体重は Fig. 1 に示すように生後0日では  $2.5 \pm 0.2$  g，14日では  $19.9 \pm 1.0$  g に増加し，離乳時にあたる21日では  $20.6 \pm 1.4$  g，35日では  $67.5 \pm 12.0$  g であった。

新生仔ハムスターの膵は生後0日から7日の新生仔では肉眼的に確認するのは困難であったが，14日以降ではほぼ成熟ハムスターの膵と同様の肉眼的形態を示した。

組織学的にみると生後0日の時点において膵腺房細胞は集簇して，小さな腺房構造を形成し，細胞質内に

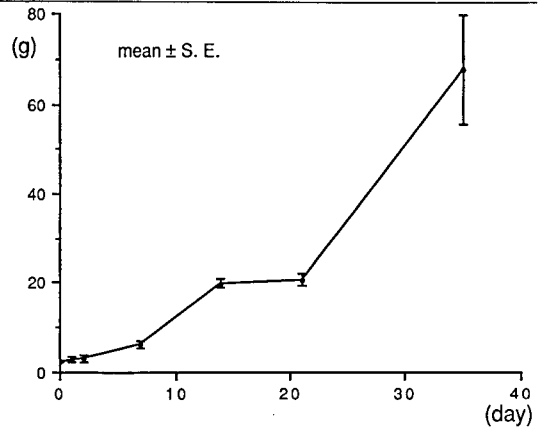


Fig. 1. Growth curve of newborn hamsters

Table 1. Immunohistochemical findings in the islets and ducts of newborn hamster pancreas

Day	Islet of Langerhans				Duct	
	A cell	B cell	D cell	NSE	Keratin	
0	+	+	+(few)	-	-	
1	+	+	+(few)	-	-	
2	+	+	+(few)	-	-	
7	+	+	+	-	-	
14	+	+	+	+	+	
21	+	+	+	+	+	
35	+	+	+	+	+	

+ : positive                      - : negative

\* : Neuron-specific enolase

は少数のエオジン好染性顆粒 (Zymogen 顆粒) が認められた (Fig. 2)。14日以降では結合組織が発達し，小葉構造も明らかに認められた。

免疫組織化学的検索結果は Table 1 に示した。生後1日でのラ氏島はやや円形の明るい細胞群からなり，これらの細胞群は膵の中心を貫く主膵管に沿って，ブドウの房状に分布し，しばしばラ氏島と膵管が相接する像もみられたが，周囲との被膜はほとんどみられなかった (Fig. 3)。ラ氏島内における各構成細胞の局在を半連続標本によって検討した結果，glucagon 陽性細胞はラ氏島の辺縁部に存在し (Fig. 4)，insulin 陽性細胞は中央部に位置し (Fig. 5)，somatostatin 陽性細胞はほとんど認められなかった (Fig. 6)。14日以降はラ氏島の構成細胞数は成熟ハムスターに近づき，ラ氏島の周囲は外分泌腺により囲まれ，主膵管より離れて存在した。

NSE は生後0日から7日のラ氏島は陰性を示したが，

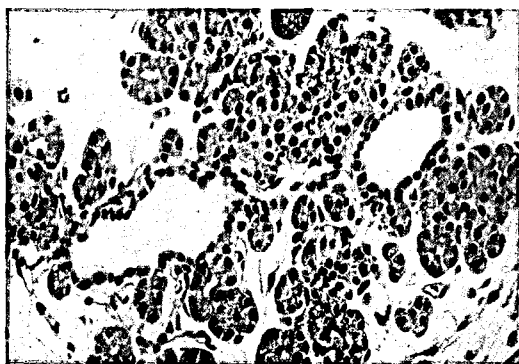


Fig. 2. Pancreas in a newborn hamster at birth day 0. Rudimentary acini are developed and eosinophilic zymogen granules are present

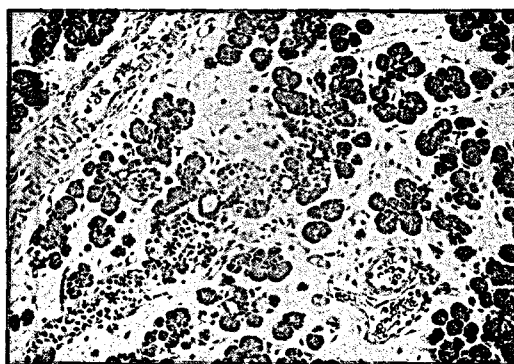


Fig. 3. Pancreas tissue at day 1 after birth. Note islets of Langerhans\*

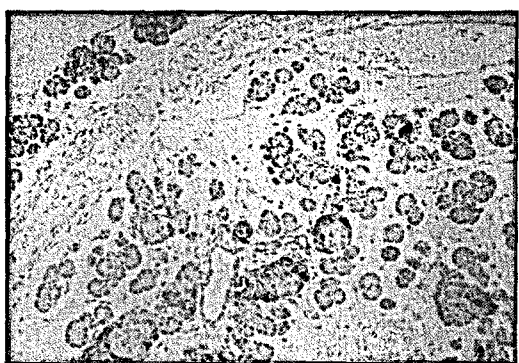


Fig. 4. Adjacent section to Fig. 3 demonstrating immunohistochemical staining of glucagon positive cells (A cells)



Fig. 5. Adjacent section stained for insulin-positive cells (B cells)

14日以降はラ氏島の構成細胞がすべて NSE 陽性を示した (Fig. 7).

生後0日から7日の新生仔の膵管はやや背の高い細胞が腺腔を形成し、核はクロマチンに富み、一部の細胞には zymogen 顆粒の存在がみられた (Fig. 3). 上皮は丈が高く keratin は陰性を示した (Fig. 8). 14日以降では成熟ハムスターと同じような丈の低い上皮細胞で被われた。しかし、14日以降は胆膵共通管上皮および膵管上皮細胞は丈が低くなると同時に上皮細胞は keratin 陽性を示した (Fig. 9).

## 考 察

ラ氏島の発生に関して Pearse らは神経稜由来を考え<sup>6)</sup>、Fujita はさらに広く Paraneuron 系細胞を提唱している<sup>7)</sup>。しかし最近ではラットの膵の発生は妊娠11日 (マウスでは9.5日) に膵が腸より分離し、妊娠

16から17日に膵管上皮と腺房細胞は形成され、出生初期にはラ氏島は膵管に沿って存在するが、その後膵管から徐々に離れると言われる原始膵管からの出芽説が有力であり<sup>8)</sup>、ヒトのラ氏島でもこの説を示唆する事実が報告されている<sup>9)</sup>。今回の我々の結果でも原始膵管からの出芽説を支持する所見がみられている。

ヒトのラ氏島は4ヵ月で全体の約1/3が形成され、その多くはA細胞で占められ、その後は発育につれてB細胞が増加し、その比は逆転すると報告されている<sup>10)</sup>。そのA:Bの細胞比率は一般的に1:1に近いとされている<sup>2)</sup>。ハムスターのラ氏島はヒト、ウサギ、ラットではB細胞がラ氏島の中心部を占め、A細胞は辺縁部に、D細胞はA、B両細胞群の間に位置する<sup>1,2,3)</sup>。新生仔の所見からA:Bの細胞比率は約1:1で、D細胞はほとんど認められず、週齢が進むにつれてその比率は成熟ハムスターの細胞比率に近づいた。

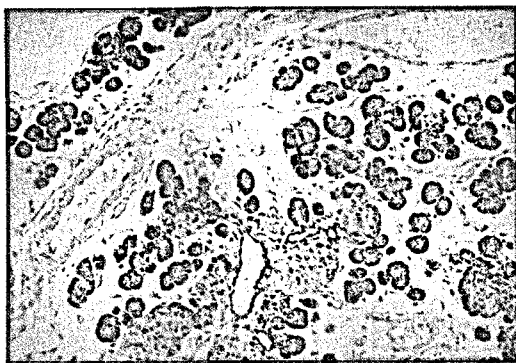


Fig. 6. Adjacent section stained for somatostatin positive cells (D cells)

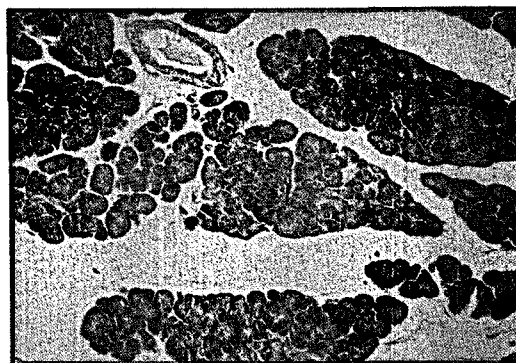


Fig. 7. Immunohistochemical demonstration of NSE positive islands in a weanling hamster at day 21 after birth

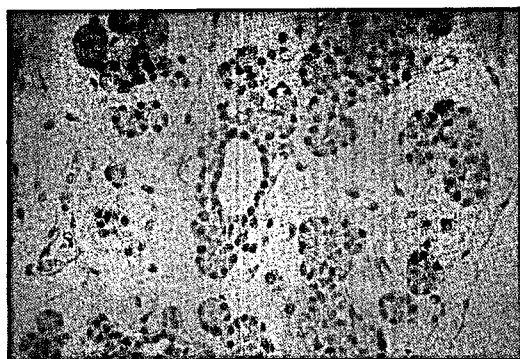


Fig. 8. Immunohistochemical staining for keratin in a newborn hamster at day 0. Note lack of any positive reaction in the duct



Fig. 9. Immunohistochemical demonstration of keratin positive cells in a young hamster at day 35 after birth. Note strong positive reaction in the luminal cytoplasm of cells in the large duct

新生仔におけるこのような細胞比率は、爬虫類、両生類、魚類などの下等脊椎動物の細胞比率と類似しており<sup>2,3)</sup>、個体発生において系統発生の過程をたどるといふ発生学的観点から興味深い所見と考えられた。新生仔期から成熟する過程に陽性細胞の比率はA細胞が減少するとともに、B細胞がやや増加、D細胞も同様に増加した。新生仔のラ氏島においてA細胞 (insulin) とB細胞 (glucagon) が主体をなす理由は、この時期には成長が著しいため glucagon や insulin が大量に消費されるために、somatostatin による抑制機構が不要になるためと考えられる。また、ラットで反応性の違いを検討した実験では、特に glucose で若いラット (2.5ヵ月) は反応性が高いのに対し、老齢ラット (18ヵ月) では反応性は低く、加齢によるラ氏島の反応性の違いが報告された<sup>11)</sup>。

NES は成熟ハムスターのラ氏島で陽性を示すが、生後0から7日の新生仔膵のラ氏島は陰性を示し、14日以降ではラ氏島の内分泌細胞は NSE 陽性を示した。この NSE の作用はブドウ糖からピルビン酸への過程のうち 2-ホスホグリセリン酸と 2-ホスホエノールピルビン酸の間を触媒する酵素で、免疫組織化学的に検索するとラ氏島以外に下垂体前葉細胞、甲状腺膀小細胞、副腎髄質クローム親和性細胞などの神経内分泌に存在が確認されている<sup>12,13)</sup>。生後ラ氏島は NSE が存在しなく、分化とともに後天的に獲得されたものと考えた。

生後7日までの新生仔ハムスターの膵管上皮は背の高い上皮が環状に列んで腺腔を形成したが、一部の上皮では腺房細胞と考えられる Zymogen 顆粒を有する細胞が存在した。その時期では keratin は陰性を示し

た。14日以降になると胆膵共通管および膵管上皮細胞は丈が低くなり陽性を示した。これは胎生期には膵の腺房細胞内では消化酵素 (amylase や trypsin) を産生することは報告されているが<sup>14,15)</sup>、それを膵管内に分泌しているかは明らかではない。よって今回の形態学および keratin の所見から、生後7日以前では膵機能が十分でなく、膵管としての働きが完成されていないと考えられた。

## 文 献

- 1) 古川文夫ら：衛生試験所報告, 104, 77 (1986)
- 2) 橋本敬祐：膵の形態と機能, p.23 (1982) 宇宙八木書店
- 3) 橋本敬祐：膵の形態と機能, p.5 (1982) 宇宙八木書店
- 4) Hsu, S. H. et al.: *J. Histochem. cytochem.*, 29, 577(1981)
- 5) Hsu, S. H. et al.: *J. Histochem. cytochem.*, 30, 1079(1982)
- 6) Pearse, A. G. E. et al.: *J. Histochem. cytochem.* 17, 303(1967)
- 7) 藤田恒夫：医学のあゆみ, 95, 21 (1975)
- 8) Scot L. Eustis et al.: *Digestive system*, p.209 (1985) Springer-Verlag
- 9) Antonio L. Cubilla et al.: *Tumor of the exocrine pancreas*, p.5(1984) AFIP
- 10) 内藤聖二：膵臓の研究, p.6 (1983) 同文書院
- 11) Joseph M. et al.: *Endocrinology*, 116, 821 (1985)
- 12) Y. Ariyoshi et al.: *Gann*, 74, 219(1983)
- 13) 石井 勝：腫瘍マーカーハンドブック, p.330 (1985) サイエンス・フォーラム
- 14) Keene, M. F. L.: *Lancet I* 767(1929)
- 15) 内藤聖二：膵臓の研究, p.76 (1983) 同文書院

## 分析型走査電子顕微鏡を用いたラット膀胱結石の解析ならびにその信頼性

岡宮英明・今沢孝喜・佐藤秀隆・古川文夫・豊田和弘  
小野寺博志・高橋道人・林 裕造

### Application and Significance of X-Ray Analytical Scanning Electron Microscopy in Investigation of Rat Urinary Bladder Stones

Hideaki OKAMIYA, Takayoshi IMAZAWA, Hidetaka SATO, Fumio FURUKAWA,  
Kazuhiro TOYODA, Hiroshi ONODERA Michihito TAKAHASHI  
and Yuzo HAYASHI

Rat urinary bladder stones were investigated using a JEOL-JSM840A scanning electron microscope (SEM) equipped with a Link-QX200J energy dispersed X-ray detector (EDX). Spontaneously occurring urinary bladder stones from 5 rats demonstrated various surface characteristics under the SEM. P, Mg, K and Ca could all be detected by SEM-EDX, and comparison of the ratios of each of these elements suggested that ammonium magnesium phosphate was predominant in 4 cases and calcium phosphate in the other. These findings were essentially similar to the results of qualitative X-ray fluorescence analysis performed on the same bladder stones. It was concluded that SEM-EDX is a reliable tool for the examination of bladder stones.

(Received May 31, 1988)

## はじめに

エネルギー分散型X線分析装置 (EDX) 付走査電子顕微鏡 (SEM) は、試料表面の超微形態学的観察と同時に、電子線照射により試料面から発生する特性X線を検出し、試料の構成元素の定性および半定量あるい

は定量分析を行うことが可能な装置である<sup>1-3)</sup>。このSEM-EDXの生体試料への応用は組織内無機物質の局在の検索など種々考えられるが、特に外来性のあるいは病的に形成された生体内異物の検索と同定に有効と考えられる。今回、SEM-EDXの生体試料への応用法検討の一環として、最近7年間に病理部において



偶発的に認められたラット膀胱結石の元素分析を試み、その結果を蛍光X線分析による測定結果と比較し、生体内無機物質の解析における SEM-EDX の有用性について検討した。

### 実験材料および方法

最近7年間に病理部で実施された長期動物試験において偶発的に認められたラット膀胱結石5症例について検索を行った。

#### 1. 材 料

症例 1: F344 ラット雌 (42週齢) にみられたもので、単発性、 $18 \times 11 \times 9$  mm の楕円体で、白色、表面はやや粗造で脆く、チョーク様を呈する。

症例 2: F344 ラット雌 (42週齢) にみられたもので、単発性、 $12 \times 8 \times 6$  mm の楕円体。白色で一部褐色調を呈する。表面は比較的平滑である (Fig. 1)。

症例 3: Donryu ラット雄 (77週齢) にみられたもので、多発性、底面の直径 15 mm、高さ 13 mm の円錐形のもの1個、直径 5~7 mm の球形のもの7個、4 mm 以下の球形のもの数個、白色で表面には細かい突起があり微細顆粒状を呈する (Fig. 2)。

症例 4: Donryu ラット雄 (77週齢) にみられたもので、多発性、直径 1~6 mm の球形のもの約 100 個。白色で表面には凹凸があり金平糖状を呈する。

症例 5: F344 ラット雌 (42週齢) にみられたもので、単発性、 $30 \times 19 \times 15$  mm の楕円体。白色で表面は一部に突起を認めるがほぼ平滑で、やや脆くチョーク様を呈する。

#### 2. SEM-EDX による観察と分析

##### 試料の作製

SEM 用試料支持台にネイルエナメル (カネボウ) あるいはカーボンペースト (日本電子) で検体を固定し、真空蒸着装置 (日本電子, JEE-4X) により炭素蒸着を行った。単発性の症例では表面の一部を採取し、多発性の症例では小型のものをそのまま試料とした。

##### 観察および分析

SEM (日本電子, JSM-840A) および EDX (リンク, QX200J) による形態観察と元素分析を以下の条件で行った。

##### <表面構造の観察および写真撮影>

加速電圧: 5 kV

試料電流:  $1 \times 10^{-8}$  mA

ワーキングディスタンス: 15~25 mm



Fig. 1. Macroscopic appearance of the sample #2 bladder stone. Note the smooth surface. Scale: 5 mm

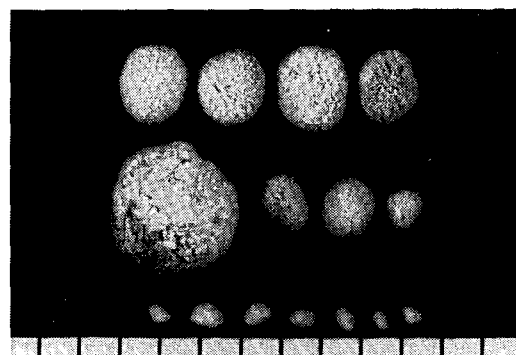


Fig. 2. Macroscopic features of bladder stones from sample #3. Note the granular surface. Scale: 5 mm

##### <元素分析>

加速電圧: 15 kV

試料電流:  $2 \times 10^{-6}$  mA

ワーキングディスタンス: 39 mm

なお、元素分析は同一部位について3ないし5回繰り返し行い、再現性を確認した。

#### 3. 蛍光X線分析法による元素分析

SEM-EDX による元素分析結果との比較のため、結石の一部を破碎し、蛍光X線分析法 (ケベックス, システム0700エネルギー分散型蛍光X線分析装置) による元素の定性試験を日本食品分析センター (大阪) に依頼して行った。

## 結 果

膀胱結石の走査電顕写真と元素分析結果を Fig. 3~7 に示した。なお、元素分析結果の Figure において上段は元素分析能力全域でのスペクトルを、下段には一部を拡大して示した。全域のスペクトルは、拡大部分以外の元素は検出されなかったことを示している。

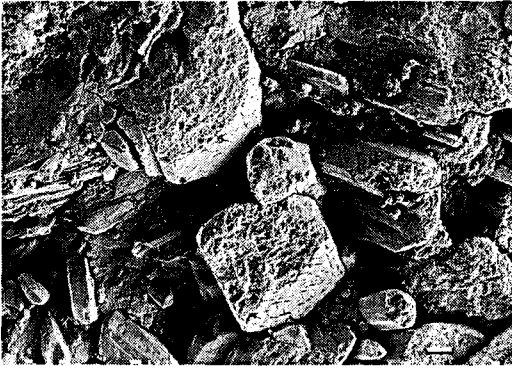


Fig. 3-a. Scanning electron micrograph of the sample #1 bladder stone. Bar: 10  $\mu$ m

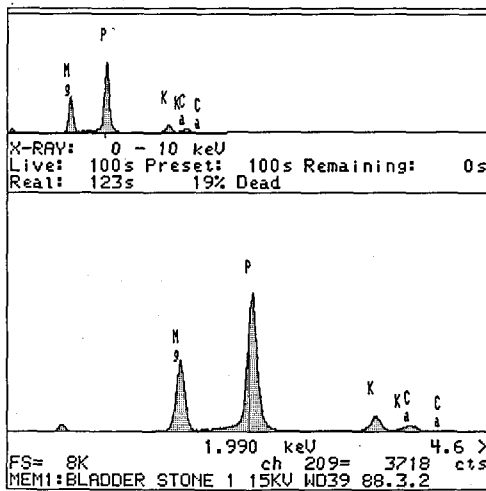


Fig. 3-b. SEM-EDX spectrograms of the sample #1 bladder stone. The four peaks are Mg, P, K and Ca, respectively.

また、最左端のスペクトルは分析結果とは無関係の0-ストローブピークである。

症例 1: 表面は柱状の構造がみられ、断面には小孔がみられた (Fig. 3-a), 元素分析の結果ではリン (P) およびマグネシウム (Mg) の高いスペクトルがみられ、他にカリウム (K) とカルシウム (Ca) が検出された (Fig. 3-b). 各々のピーク比は  $Mg : P : K : Ca = 30 : 59 : 7 : 3$  であった。

症例 2: 表面は一部で中心に孔を形成する層状の構造も認められたが、全体としては比較的平坦な像を呈した (Fig. 4-a). 元素分析の結果では、P および Mg の高いスペクトルと K と Ca の低いスペクトルが検出された (Fig. 4-b). 各々のピーク比は  $Mg : P : K : Ca = 28 : 58 : 5 : 9$  で、症例 1

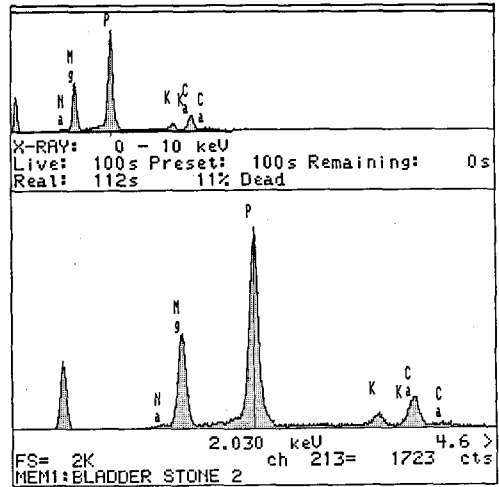


Fig. 4-b. SEM-EDX spectrograms of the sample #2 bladder stone. The five peaks are Na, Mg, P, K and Ca, respectively.

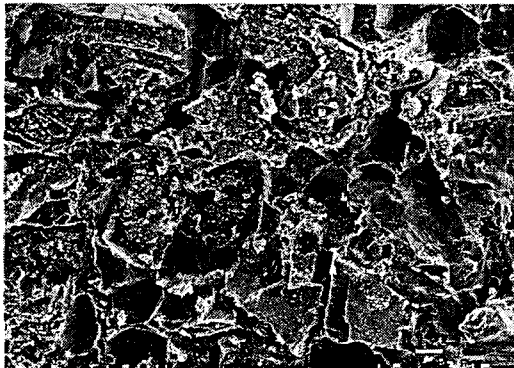


Fig. 4-a. Scanning electron micrograph of the sample #2 bladder stone. Bar: 10  $\mu$ m

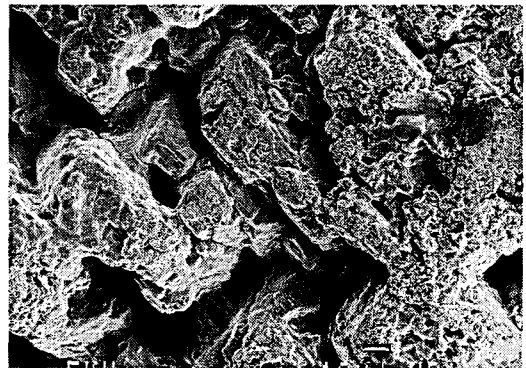


Fig. 5-a. Scanning electron micrograph of a bladder stone from sample #3. Bar: 10  $\mu$ m

と同様の値であった。

症例 3：表面は四角形の岩状の構造を呈し、所々に大型の四角い孔がみられた (Fig. 5-a)。元素分析では、P および Mg のスペクトルが高く、K と Ca は痕跡的に検出された (Fig. 5-b)。ピーク比は Mg : P : K : Ca = 40 : 57 : 2 : 1 であった。

症例 4：敵状の構造がみられ、全体的には平らな岩状を呈した (Fig. 6-a)。P と Mg が主体で、少量の K のスペクトルがみられた。Ca は極く微量であり、部位によっては検出されなかった (Fig. 6-b)。ピーク比は Mg : P : K : Ca = 42 : 56 : 1 : 1 であり、症例 3 と近似した値であった。

症例 5：表面は円錐状の小突起が多数みられ、他の

例とは特に異なった像を呈した (Fig. 7-a)。元素分析結果では P と Ca の高いスペクトルがみられ、Mg のピークは低かった。Ca の 2 つのピークは左側の高いピークが K 殻の  $\alpha(K\alpha)$ 、右側の低いピークが K 殻の  $\beta(K\beta)$  である。その他、少量の K およびナトリウム (Na) が検出された (Fig. 7-b)。ピーク比は Mg : P : K : Ca = 8 : 46 : 3 : 42 であった。

蛍光 X 線分析結果

分析結果を Table 1 に示した。EDX による分析結果と一致して P, Mg, K, Ca が検出された。Ca の量には症例によって差がみられ、症例 1 および 5 で多く、3 で非常に少ない結果であった。

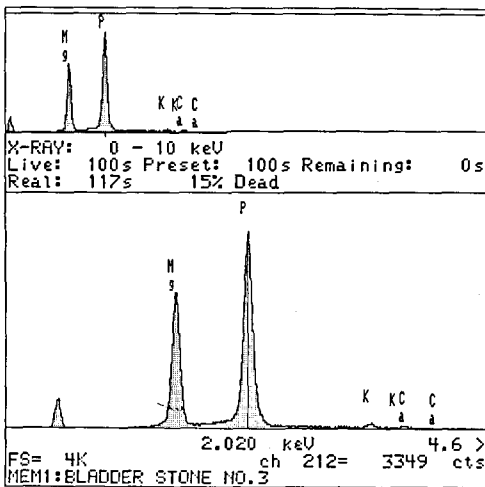


Fig. 5-b. SEM-EDX spectrograms of the same bladder stone from sample #3. The four peaks are Mg, P, K and Ca, respectively. The peaks of K and Ca are relatively low.

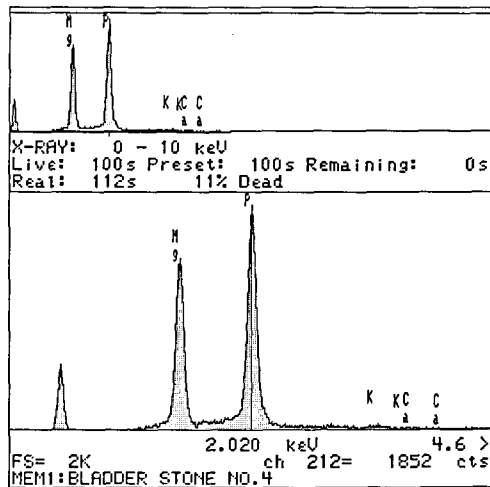


Fig. 6-b. SEM-EDX spectrograms of the same bladder stone from sample #4. The four peaks are Mg, P, K and Ca, respectively. The peaks of K and Ca are very low.

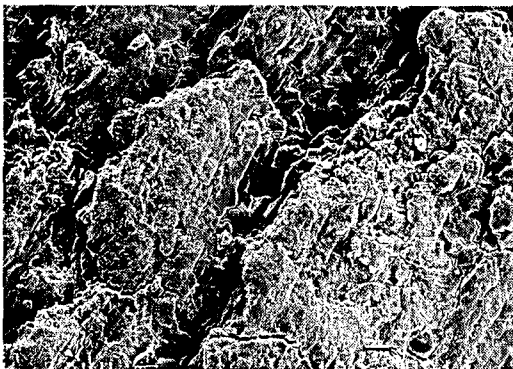


Fig. 6-a. Scanning electron micrograph of a bladder stone from sample #4. Bar: 10  $\mu$ m

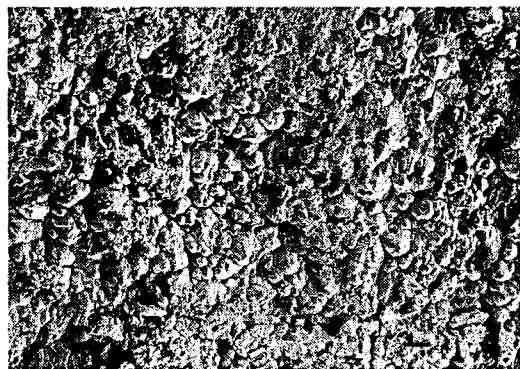


Fig. 7-a. Scanning electron micrograph of the sample #5 bladder stone. Bar: 10  $\mu$ m

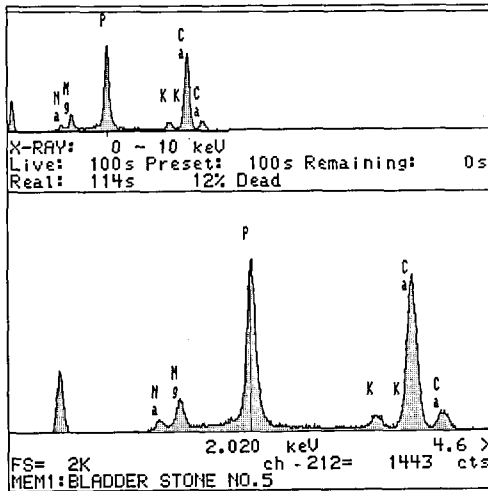


Fig. 7-b. SEM-EDX spectrograms of the sample #5 bladder stone. The six peaks are Na, Mg, P, K, Ca ( $K\alpha$ ) and Ca ( $K\beta$ ), respectively.

## 考 察

5例のラット膀胱結石についてSEM-EDXによる元素分析を試みた。その結果、これらの結石はP, Mg, K, Caが構成無機成分であることが判明し、この結果は、蛍光X線分析の結果と一致した。各々の症例を比較してみると、症例5は他の4例と比較してCaのピークが高くMgが低かった。また、SEMによる観察では、表面構造は症例によって様々であり、結石形成状況の多様性を示すものと思われた。

ヒトの尿結石は非炎症性機転で成り立つものが多いとされ、これは腎機能が種々の生体代謝条件に応じて特定の尿成分を過剰に排泄したり、生体の酸塩基平衡を保つために尿の酸性度が変動し、尿成分の溶解状態が変化し析出が起こるためと考えられている。この尿中成分の飽和ないし溶解度の低下が主因となって生ず

る尿結石はその成分から、尿酸塩石、磷酸塩石、リン酸石灰石、シスチン石、キサンチン石などと呼ばれている。これに対し炎症性機転を介して生ずる尿結石はリン酸アンモニウムマグネシウムおよび尿酸アンモニウムが主成分であるとされ、これらの物質は炎症に伴う尿のアンモニウム発酵に関連して生成され、飽和するものと考えられている<sup>4)</sup>。

ラットの膀胱結石については一般的に発生頻度が低いことからあまり詳細な検討はなされていないが、飼料中のミネラルの量、特にCaとPの比、およびK, Mg, Naのバランスが重要な要因であることが指摘されている。Ca, K濃度が低く、P, Mg, Na濃度の高い飼料で結石の形成が増加し、一方、高Ca食によって結石の発生を抑制した報告などがある<sup>5,6)</sup>。Kuhlmann E. T. ら<sup>7)</sup>は偶発的な膀胱結石の発生は非常に少なく、2998匹のラット(Lewis, Wistar, F344)で2例(0.07%)だけであり、レチノイドの混餌投与で892例中8例(0.9%)と有意に増加したことを報告している。また、結石を化学的に分析し、リン酸アンモニウムマグネシウムが主成分であったとしている。ラットでは、リン酸アンモニウムマグネシウム結石の形成における炎症性機転の関与については解明されていない。

SEM-EDXによる構成元素の量的な比較および以上の報告から、症例1~4はリン酸アンモニウムマグネシウムを主成分としたものであり、症例5はリン酸カルシウムを主成分とした結石であることが推定された。各構成元素の量的な比較についても、EDXによる測定結果は十分に利用可能と思われた。

SEM-EDXと蛍光X線分析の分析結果に量的な面での若干の相違がみられたが、蛍光X線分析が一定量の試料中の平均的な結果であるのに対し、EDXはある特定の点での分析結果であること、および結石の全体が均一な構成成分であるとは限らず、サンプルの採取場所によって差が生ずる可能性があることなどが

Table 1. Results of Qualitative X-ray Fluorescence Analysis of Rat Bladder Stones

Element Sample No.	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca
1	-	+++	-	-	+++	-	-	++	+++
2	-	+++	-	-	+++	-	-	++	++
3	-	+++	-	-	+++	-	-	++	+
4	-	+++	-	-	+++	-	-	++	++
5	-	+++	-	-	+++	-	-	++	+++

+++ : > 1%, ++ : 0.01~1%, + : < 0.01%, - : Not detected

原因と思われた。この点は SEM-EDX による分析を試料の数ヶ所で実施することによりある程度解決されたと考えられた。また、蛍光 X 線分析は 1% 以上含まれる元素が全て (卅) で示され、このような比較的多く含まれる元素の量的比較ができなかったのに対し、SEM-EDX は比較が可能であった。詳しい成分分析は化学的な定性、定量分析と対比すべきであるが、簡便なあるいは補足的な元素分析法として、SEM-EDX は非常に有効であると判断された。特に、不均一な試料の特定の部位の元素分析には非常に効果を発揮するものとおもわれる。また、生体内の微細局所の観察、分析に有効であると考えられ、広範な応用が期待できる。

### 結 語

ラット膀胱結石について SEM-EDX を用いて表面構造の観察およびその構成元素の分析を試みた。その結果、5 例の結石はいずれも、P, Mg, Ca, K を含む

ことが示され、蛍光 X 線分析による結果とよく一致していた。また、ピーク比による量的な比較と文献的な考察から、5 例中 4 例はリン酸アンモニウムマグネシウム、1 例はリン酸カルシウムを主成分とする結石と考えられた。

生体内の無機成分の検索において、SEM-EDX は非常に有効な装置であると思われた。

### 文 献

- 1) 水平敏知：神経進歩，25，569 (1981)
- 2) 水平敏知：組織細胞化学，131 (1981)，学際企画
- 3) 水平敏知：臨床検査，30，11 (1986)
- 4) 飯島宗一：最新病理学 (2 版)，214 (1975)，文光堂
- 5) H. W. Casey *et al.*: *Pathology of laboratory animals*, 1, 157 (1978), Springer-Verlag
- 6) J. C. Woodard *et al.*: *Urinary System*, 364 (1986), Springer-Verlag
- 7) E. T. Kuhlmann *et al.*: *Laboratory Animal Science*, 34, 299 (1984)

## フロー法 (Flow-through method) による徐放性インドメタシンカプセル製剤の *in vitro* 溶出挙動

小室徹雄・四方田千佳子・長谷川隆一・伊阪 博・木村俊夫

### Studies on the Dissolution Behaviors of Indomethacin Extended-Release Capsules by the Flow-through Method

Tetsuo KOMURO, Chikako YOMOTA, Ryuichi HASEGAWA,  
Hiroshi ISAKA and Toshio KIMURA

*In vitro* dissolution behaviors of indomethacin extended-release capsules (Spansule type) obtained from 8 commercial brands were investigated using the paddle method, the rotating-basket method (JP XI) and the flow-through method where a continuous flow, column typed dissolution apparatus is used.

The amount of indomethacin released from extended-release granules was found to be proportional to the square root of time with the use of the flow-through method but not the paddle or rotating basket methods.

These results suggest that dissolution characteristics of Spansule type dosage forms are better expressed by the flow-through method than the other two methods.

(Received May 31, 1988)

製剤技術の進歩発展に伴い、多くの薬物を対象に徐放化が試みられ、種々の徐放性製剤が開発されている。これらの徐放性製剤は様々な徐放化機構を有しているが基本的には投与回数を減らし投与間隔を長くすると言う点に特徴がある。したがって、徐放性製剤では特

に溶出挙動に関する製剤の品質が十分に管理される必要があるものと言える。しかし、これらの徐放性製剤の評価にとって重要な溶出試験の規格、試験法は必ずしも統一されているとは限らず今後の課題となっている。

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。

これまでに *in vitro* 溶出試験法の一つフロー法 (Flow-through method) を用いてニトラゼパム非コーティング錠の銘柄間の溶出挙動の差がパドル法、回転バスケット法によってよりもより明確に表現できることを報告した<sup>1)</sup>。今回経口固形製剤である市販徐放性インドメタシン製剤を例にとり *in vitro* 溶出挙動をフロー法を用いて測定し、その結果をパドル法 (日局11)、回転バスケット法 (日局11) により得られる結果と比較した。今回用いた製剤は、スパンサー型の徐放化機構、つまり数種類の溶出速度の異なる顆粒成分から主薬が経時的に溶出されてくることにより徐放化が行われるという特殊な溶出機構を有している製剤であるので、フロー法では回転バスケット法、パドル法とは異なった溶出挙動が得られるものと期待した。

## 実験方法

### 試料および試薬

試験製剤としての徐放性インドメタシンカプセルは市販品 (8 銘柄の製剤、インドメタシンとして 25 mg 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

溶出試薬はパドル法、回転バスケット法ならびにフロー法により行った。パドル法、回転バスケット法は日局11に準じ、試験液として崩壊試験法第2液 (pH

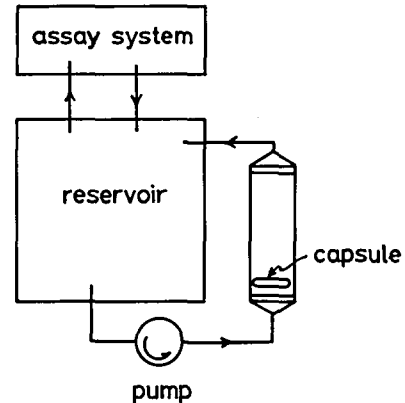


Fig. 1. Schematic diagram of the flow-through method

6.8) を用いて、試験液量 900 ml、液温  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、回転数 100 rpm で行った。インドメタシンの溶出量は、溶出試験システム (富士産業・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 320 nm に於ける吸光度を経時的に測定することにより算出した。

フロー法は、プラスチック製円筒 (内径 16 mm、高さ 50 mm にカプセルが保持できるようになっている) を用い、試験液 900 ml をローラポンプ (東京理科機械(株) MP 1001) を用いて一定流量 ( $5.92 \text{ ml/cm}^2/\text{min}$ ) で灌流することにより行った。フロー法で用いた試験液、溶出装置はいずれも  $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$  に保った。フロー法による溶出試験装置の概略を Fig. 1 に

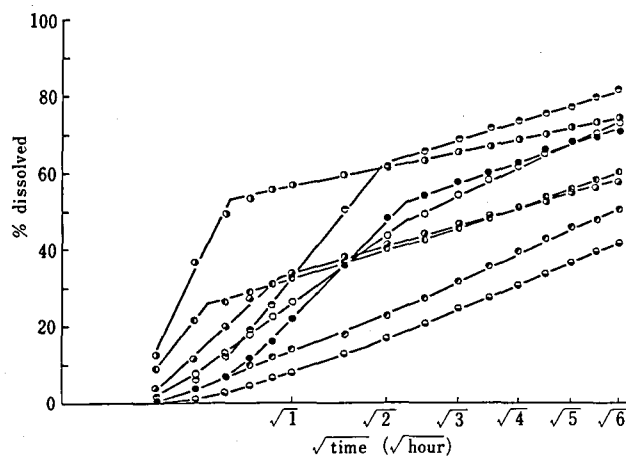


Fig. 2. Dissolution profiles of indomethacin extended-release capsules plotted against  $\sqrt{\text{time}}$  using flow-through method  
flow rate:  $5.92 \text{ ml/cm}^2/\text{min}$

示した。

## 実験結果

フロー法による徐放性インドメタシンカプセル剤の溶出挙動を Fig. 2 に示した。図から明らかなように、縦軸に溶出率を横軸に時間の平方根をプロットした場合、これらの製剤は折れ点を有するが何れも直線性を示し、あたかもマトリックスから主薬が溶出してくるような溶出パターンとして表現することができた。

パドル法による溶出試験結果を Fig. 3 に示した。何れの製剤も溶出パターンは曲線となりフロー法で得られた結果とは異なっていた。

回転バスケット法による溶出試験結果を Fig. 4 に

示した。パドル法により得られた試験結果と比べると幾分はフロー法により得られた結果に類似していたが溶出パターンは曲線となりフロー法との差異が認められた。今回用いた徐放性製剤はスパンスール型製剤で数種類の溶出速度の異なる顆粒成分からできていることを考慮して、それらの顆粒成分を肉眼的に分類することのできる製剤について顆粒のサイズ、色等で幾種類かに分類しそれぞれの顆粒からの主薬の溶出試験を行った結果を Fig. 5 に示した。横軸に時間の平方根をとるとフロー法の場合 a, b, c は速放性顆粒、d および e は徐放性顆粒と考えられるが、フロー法では d および e の溶出パターンは直線性を示したのに反し、パドル法あるいは回転バスケット法では曲線となった。

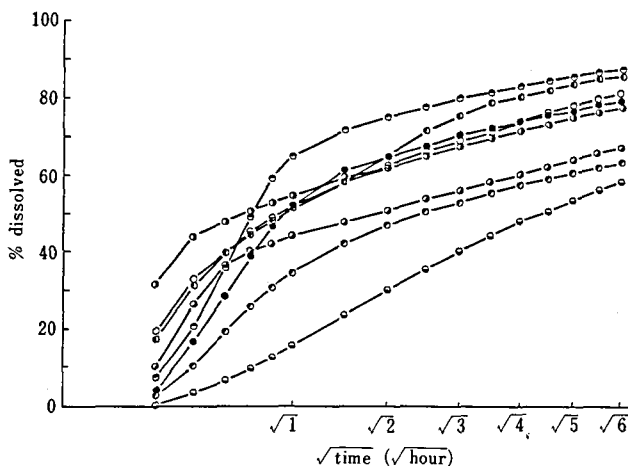


Fig. 3. Dissolution profiles of indomethacin extended-release capsules plotted against  $\sqrt{\text{time}}$  using paddle method

spindle speed: 100 rpm, pH: 6.8, medium volume: 900 ml

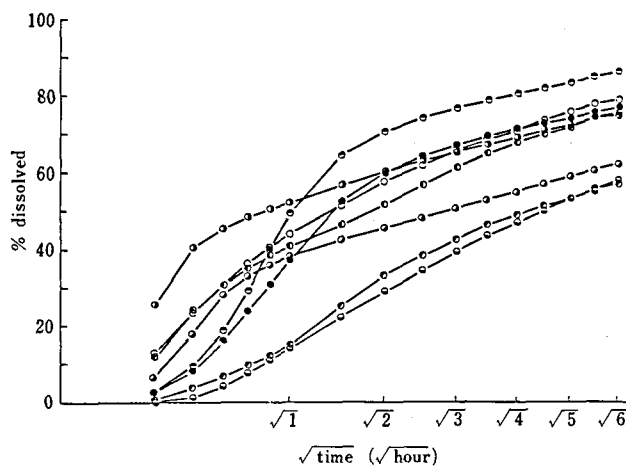


Fig. 4. Dissolution profiles of indomethacin extended-release capsules plotted against  $\sqrt{\text{time}}$  using rotating basket method

spindle speed: 100 rpm, pH: 6.8, medium volume: 900 ml

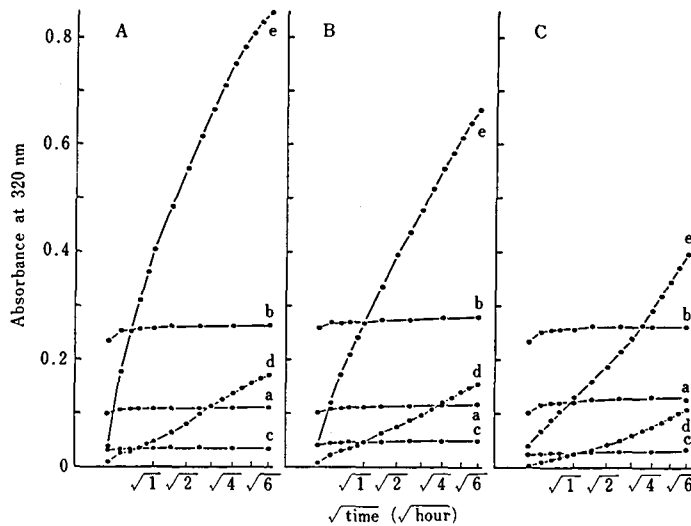


Fig. 5. Release of indomethacin from separated granules based on size and color using the paddle (A), rotating basket (B) or flow-trough (C) methods

white granules .....a: ~500  $\mu\text{m}$ , b: 500~590  $\mu\text{m}$ , c: 590  $\mu\text{m}$ ~  
yellow granules.....d: ~590  $\mu\text{m}$ , e: 590  $\mu\text{m}$ ~

また、Fig. 5 から明らかのように、それらの溶出速度もフロー法に比べパドル法あるいは回転バスケット法では顕著に大きなものとなった。徐放性顆粒の破壊に起因する可能性が示めされたものと言える。

## 考 察

今回検討した製剤は、いずれもスパンスール型の徐放化機構を有する製剤であるのでその溶出挙動は必ずしも単一ではないこと、また溶出速度の遅い顆粒は6時間の溶出試験終了後も初期の形状を保っていたこと等から、主薬の溶出にはマトリックスからの溶出過程も含まれていると考えられる。フロー法の場合にはその溶出パターンが溶出率を時間の平方根に対してプロットした場合、直線性を示したことから、主薬の溶出には拡散によるものが含まれていると言える<sup>2)</sup>。つまり、フロー法が穏やかな条件下での溶出試験であるために表現し得たものと考えられる。溶出曲線に折れ点が見れることに関しては、溶出速度の異なる顆粒、あるいはマトリックスの膨潤等によるものと考えられる<sup>3,4)</sup>。

パドル法、回転バスケット法は、日局11, USPXXIにも採用されており繁用される溶出試験法ではあるが、再現性に問題があり<sup>5,6)</sup>、また装置の攪拌強度つまり製剤に与える物理的破壊強度がフロー法よりも大きく<sup>7)</sup>、その結果として溶出速度が速まっている可能性が考えられる。回転バスケット法の場合には、比較的フロー法による試験結果に近い結果が得られたとはい

え、溶出試験装置の構造上、機械的に顆粒を破壊する可能性があり、必ずしも各成分顆粒からの溶出挙動を正確に表現しているとはいえないかもしれない。

今回検討した試験法の内、回転数あるいは流速を種々変化させて製剤間の溶出率の相関性を見た場合、相関性はフロー法が一番高くパドル法が低いという結果が得られている。フロー法の場合、溶出液の流速および容器の断面積等、主薬の溶出に及ぼす因子が少なく単純な系であること等種々の利点がある<sup>8-10)</sup>。また溶出は回転バスケット法、パドル法に比べ緩和な条件下で行われているため、*in vitro*における製剤の品質管理という点から、このような徐放化機構を有する製剤の溶出試験には適用し得るものと考えられる。

## 文 献

- 1) 小室徹雄他：衛生試験報, 105, 56 (1987)
- 2) T. Higuchi: *J. Pharm. Sci.*, 52, 1145(1963)
- 3) A. M. Fouli *et al.*: *Int. J. Pharmac.*, 14, 95 (1983)
- 4) I. Malley *et al.*: *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 13, 67(1987)
- 5) R. J. Withey: *J. Pharm. Pharmac.*, 23, 573 (1971)
- 6) R. J. Withey and A. J. Bowker: *J. Pharm. Pharmac.*, 24, 345(1971)
- 7) H. Ogata *et al.*: *J. Pharm. Sci.*, 68, 708 (1979)
- 8) F. Langenbacher: *J. Pharm. Sci.*, 58, 1265(1969)
- 9) P. L. Gould: *Brit. Polymer J.*, 15, 172(1983)
- 10) H. Möller: *Pharm. Ind.*, 45, 617(1983)



## Determination of Prenylamine Lactate Tablets by High Performance Liquid Chromatography

FAN Ji-Fen\*, Rieko MATSUDA, Mumio ISHIBASHI and Yasushi TAKEDA

范 积芬・松田りえ子・石橋無味雄・武田 寧

Prenylamine lactate (PL) tablets used as an anti-arrhythmic agent have been determined in some pharmacopeias<sup>1,2)</sup> by the non-aqueous titration method after extraction with chloroform. This procedure is complicated and the precision is not satisfactory. In this paper a simpler HPLC assay method for PL tablet is proposed. PL was determined with an ODS column using a mixture of methanol and water containing phosphoric acid and triethylamine or a mixture of methanol and water containing sodium dodecylsulfate as the ion-pairing agent. Analytical results of commercially available formulations obtained by the HPLC methods were compared with those by the conventional non-aqueous titration method. The HPLC method showed better precision and accuracy than the titration method.

(Received May 31, 1988)

### Introduction

Prenylamine lactate (PL) is a widely used anti-arrhythmic agent and PL and its formulation are admitted in many pharmacopeias. The Assay method specified under the monograph of Prenylamine Lactate Tablet in JP XI involves the extraction and evaporation process followed by non-aqueous titration. This procedure is rather complicated and the analytical precision is not satisfactory.

Recently, many formulations are being determined by high performance liquid chromatography (HPLC), and this analytical technique has been introduced to the JP for Identification, Purity and Assay tests. The present paper describes the HPLC determination of PL tablets and compares the precision and accuracy of this method with those of the conventional titration method.

### Experimental

**Apparatus** The high performance liquid chromatograph used consisted of a model 635 pump (Hitachi), a sample injector equipped with a 20  $\mu$ l sampling loop (Rheodyne), and a model Uvidec-100-II variable wavelength detector (JASCO) monitoring at 260 nm.

HPLC signals from the detector were integrated with a mode C-R3A integrator (Shimadzu). A stainless steel column (25 or 15 cm of length and 4 mm of diameter) packed with Inertsil ODS (Gasukuro kogyo) was maintained at 40° in a model CO-8000 column oven (Tosoh). Three other ODS columns, Zorbax ODS (DuPont), TSK-gel ODS-120T (Tosoh) and  $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub> (Waters) were also used.

The eluent was a mixture of methanol, water, phosphoric acid and triethylamine (60 : 40 : 0.5 : 0.2) (Eluent I) or a mixture of methanol and water (80 : 20) containing 0.125 % of sodium dodecylsulfate (SDS) (Eluent II).

**Reagents** PL (Meiji Seika) and diphenhydramine hydrochloride (DH) (Tokyo Kasei) were used without further purification. All other reagents were of reagent grade.

### Solutions

**Standard solution of PL** Accurately weighed 37.5 mg of PL and 5.0 ml of the internal standard solution were dissolved in 50.0 ml of 80 % methanol. The concentration of PL was 0.75 mg/ml.

**Internal standard (IS) solution** DH was dissolved in 80% methanol to give a concentration of 5 mg/ml.

**Assay procedure** A portion of powdered PL tablets equivalent to about 19 mg of PL

\* Tianjin Municipal Institute for Drug Control

Table 1. Effect of phosphoric acid on retention time and tailing factor

Concentration of phosphoric acid (v/v %)	Retention time (min)		Tailing factor	
	DC	PL	DC	PL
0	-*	-	-	-
0.5	5.69	13.91	1.04	1.73
1.0	5.63	13.78	1.21	1.68

\* Not eluted

was accurately weighed and transferred into a glass-stoppered test tube. Twenty ml of methanol and 2.5 ml of the internal standard solution were added to the tube, and the mixture was shaken for about 20 minutes and brought to a volume of 25 ml with methanol. After centrifuge, a 20  $\mu$ l aliquot of the supernatant was injected to the HPLC.

### Results and Discussion

The effect of the concentration of phosphoric acid added to Eluent I was examined. The concentration of methanol in the eluent was maintained to 60%. The retention times of PL and DH were measured with Inertsil ODS column. The result is shown in Table 1. It is expected that PL and DH are scarcely ionized in a mixture of methanol and water (60 : 40), and that they are not easily eluted with the eluent in the absence of phosphoric acid. In the eluent containing phosphoric acid, not a little part of PL and DH may take the ionized form and the affinity to the hydrophobic ODS column may be decreased. In accordance with the expectation, DH and PL were eluted at about 5.7 and 14 min with the eluent containing phosphoric acid.

Amines, triethylamine (TEA) for instance, added to the eluent have been proposed as tailing-reducing agents. Bayer<sup>3)</sup> reported that addition of amines to the mobile phase decreased the retention time as well as the tailing factor of the basic compound and called this effect a silanophillic effect. The silanophillic effect was attributed to the interaction between amines and the active centers on the silica surface.

Figures 1 and 2 show the influence of the amount of TEA added to the mixture of methanol, water and phosphoric acid (60 : 40 : 0.5) on the retention time and tailing factor

for PL and DH with the four ODS columns. The retention times with Zorbax ODS column were reduced by the addition of 0.1% TEA,

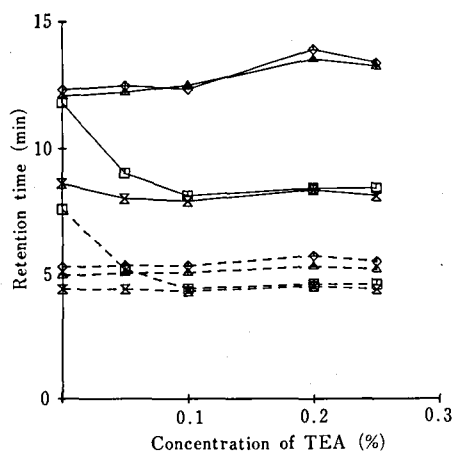


Fig. 1. Effect of TEA on the retention time of PL and DH

Column;  $\diamond$  Inertsil ODS  $\square$  Zorbax ODS  
 $\triangle$  TSK-gel ODS  $\times$   $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub>  
 —: PL      - - - : DH

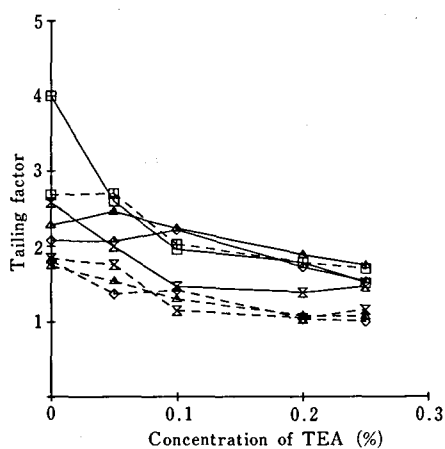


Fig. 2. Effect of TEA on the tailing factor of PL and DH

Symbols and lines are the same as in Fig. 1

and in the concentration range of more than 0.1% the retention times did not change any more. The change of retention time was very small with other stationary phases.

On the other hand, with all of four columns the tailing factors that represent the symmetry of the peak were reduced with the increase in concentration of TEA, although the degree of reduction in tailing factor varied among the columns. Zorbax ODS, which gave a retention time affected significantly by addition of TEA, also showed the highest sensitivity to the concentration of TEA in the tailing factor. Since both the retention time and tailing factor did not vary with a TEA concentration over 0.2%, the concentration of TEA was decided at 0.2%.

Figure 3 shows the chromatogram of PL tablet and the IS with Eluent I. The additives contained in the tablet were eluted near the

dead volume (about 3 minutes) and did not interfere with the determination of PL.

We examined another separation mode, the ion-pair chromatography. This chromatographic technique has brought an improvement in the separation of ionic substances, and in this chromatographic mode the property or concentration of ion-pairing agent plays an important role. The effect of the concentration of SDS is shown in Table 2. The retention times of PL and DH increased with the increase in SDS concentration; and with 0.5% SDS, they were not eluted until 30 min. The concentration of SDS was decided to 0.125% taking the resolution between PL and DH and total analysis time into consideration. The tailing factor was not affected by the SDS concentration.

The chromatogram of PL tablet and IS with eluent II was shown in Fig. 4.

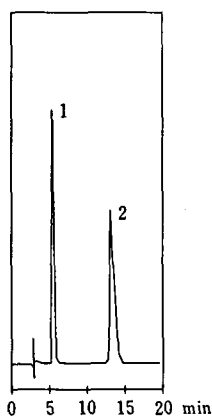


Fig. 3. Chromatogram of PL tablet with Eluent I  
Peak 1: DH 2: PL

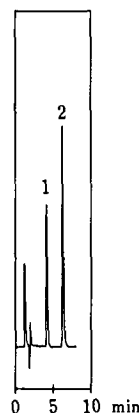


Fig. 4. Chromatogram of PL tablet with Eluent II  
Peak 1: DH 2: PL

Table 2. Effect of concentration of SDS on retention time and tailing factor

Concentration of SDS (v/v %)	Retention time (min)		Tailing factor	
	DH	PL	DH	PL
0.031	3.53	4.78	-*	-*
0.063	3.67	5.32	1.00	1.01
0.125	4.04	6.08	1.01	1.02
0.25	6.05	11.38	1.03	1.03
0.50	-**	-**	-**	-**

\* Split peak  
\*\* Not eluted

Table 3. Content of PL Tablets by the HPLC and titration methods

Sample	HPLC method <sup>*</sup>				Titration method <sup>**</sup>	
	Eluent I		Eluent II		Content(%)	RSD(%)
	Content(%)	RSD(%)	Content(%)	RSD(%)		
A	99.19	0.66	99.35	0.24	101.6	1.51
B	104.0	0.53	103.8	0.32	99.20	1.23
C	89.03	1.05	87.91	1.24	101.9	4.79
D	98.77	0.95	97.26	0.49	98.53	3.02

\* Number of samples is 6

\*\* Number of samples is 8

The calibration curve for PL with Eluent I was linear over the range of 0~1.25 mg/ml, and the coefficient of correlation and the intercept were 0.9998 and 0.0285, respectively. The calibration curve obtained with Eluent II was also straight and the coefficient of correlation and the intercept were 0.9997 and 0.0161, respectively.

Table 3 shows the results of the determination of PL tablets by the two HPLC methods described above and by the non-aqueous titration method specified in the JP monograph. The relative standard deviation (RSD) of the HPLC method with Eluent II was smallest while that of the titration method was 2 to 4 times as large. The content of PL in sample C obtained by titration method was much higher than that obtained by HPLC methods. These results suggest the possibility of the degradation of PL in the sample tablet, because the titration method can not distinguish the

degraded products of PL, and the obtained result represents the total amount of PL and its degraded products. With the HPLC method, the result corresponds to the amount of PL because even closely related components can be quantified separately.

The results described above clearly reveals the superiority of the HPLC method. HPLC methods have advantages such as good precision and simplicity of procedure as comparing with the conventional titration method, and this should be useful in detecting the degradation of PL especially.

#### Reference

- 1) Japanese Pharmacopeia, 11-th edition, p. 730 (1986)
- 2) British Pharmacopoeia, 1980, p. 809
- 3) E. Bayer and A. Paulus: *J. Chromatogr.*, 400, 1 (1987)

2-Nitro-*p*-cresol および sodium deoxycholate 投与による  
ラット肝オルニチン脱炭酸酵素の誘導

南原精一・紅林秀雄・田中 彰

Hepatic ornithine decarboxylase activity of rats induced by administration  
of 2-nitro-*p*-cresol and sodium deoxycholate

Seiichi NAMBARU, Hideo KUREBAYASHI and Akira TANAKA

The time course of hepatic ornithine decarboxylase (ODC) induction in response to 2-nitro-*p*-cresol (NPC) and sodium deoxycholate (DCA-Na) was traced in young male SD rats. No hepatic ODC was induced by the i. p. administration of NPC alone, whereas ODC levels were elevated 4, 6 and 8 weeks when DCA-Na was orally given 2 weeks after dosing with NPC. Compared with the control groups treated with only NPC, DCA-Na or vehicle (DMSO), the ODC level was significantly higher in the group treated with both NPC and DCA-Na after 6 weeks.

(Received May 31, 1988)

ま え が き

ポリアミン合成系の律速酵素であるオルニチン脱炭酸酵素 (ODC; E. C. 4. 1. 1. 17) は、動物酵素としては最も短い半減期 (約10分) を示し、その誘導、活性変動、失活は細胞の種々の因子で調節されると考えられている。代謝回転の遅い酵素では生成速度が大幅に変化しても酵素の存在量が速やかに変動することはない。しかし酵素が速やかに代謝回転していると、酵素生成の開始、停止が、そのまま酵素量の変動として現れ、生理的条件の変動に対応した代謝活性の速やかな調節との関連を考えてよいであろう。

これまで ODC がその顕著な誘導生成という特性を通じて、発癌の機構と密接に関係していることを示唆する内外の報告が多い<sup>1)</sup>。高山ら<sup>2)</sup> は、マウス皮膚の ODC 誘導を測定することにより、種々の新しい発癌プロモーターを見出した。

2-nitro-*p*-cresol (NPC) は、染料の原料、有機工業薬品の合成中間体として使用され、年産数百トンといわれている。その LD<sub>50</sub> (3.36 g/kg) からは特に毒性の強い化合物とは考えられないが、最近その難分解性が示唆されており、その安全性評価に関連して ODC への影響を調べる基礎実験を行い、以下のような結果を得たので報告する。

実験材料および方法

動物：6週令の雄性 SD ラット (体重 160~180 g)

を静岡県実験動物農業協同組合より購入し、1週間馴化飼育後に用いた。

投与方法：7週令で1群4匹として、NPC を DMSO 溶液として ip 投与 (117 mg/kg) し、対照群には DMSO のみを投与した。9週令から NPC を単回投与したラットおよび DMSO のみを投与した群に飲料水として 0.25% の deoxycholate-Na (DCA-Na) を連続投与した。

DCA-Na 投与開始後の 2, 4, 6, 8 週目にラットを屠殺し、肝ホモジネートの 105000×g 上清を調製し酵素液とした。

酵素活性の測定<sup>3)</sup>：ODC cytosol enzyme による反応組成と反応条件を Table 1 に示す。DL-[1-<sup>14</sup>C]-

Table 1. Incubation mixture

DL-1- <sup>14</sup> C-Ornithine	0.5 μCi
L-Ornithine	0.4 mM
Tris-HCl buffer, pH 7.4	40.0 mM
Pyridoxal phosphate	20.0 mM
Dithiothreitol	1.4 mM
Enzyme extract	1.0 ml
Total volume	2.5 ml

Procedure: The above mixture was incubated at 37° for 1 hr and 0.5 ml of 2N-HCl was added and shaken for 20 min. <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> was trapped in methanol-toluene scintillator and the label was counted. The radioactivity of ODC was expressed as pmol/min/mg protein.

ornithine は日本アイソトープ協会より購入し、その他の試薬は特級品を用いた。

操作法は Table 1 の脚注に記載した方法にしたがって行った。

### 結果および考察

NPC 単回投与2週間後から肝癌プロモーターの DCA-Na を、飲料水に混じて連続投与したところ、

Table 2 に示したように飲料水のラット当りの毎日の摂取量は、2週から8週にかけてほぼ同様であった。

体重の増加は、実施した実験期間中 Table 2 に示した各処理群に於て、対照群と比べてほとんど有意差はなかった。肝重量についても各処理群で有意差を認めなかった。

Table 3 にみる如く NPC 投与群では有意な ODC 活性の上昇はみられなかったが、NPC 投与2週間後

Table 2. Effect of chemicals on body and liver weights of rats

	Drinking water <sup>a</sup> consumed (ml/day/rat)	Total DCA-Na <sup>b</sup> consumed (mg/rat)	Gain in body weight (g)	Liver weight (g)	Liver weight /body weight (%)
2 Weeks					
DMSO			104.6 ± 6.0	13.2 ± 0.7	3.97 ± 0.09
NPC			111.8 ± 17.2	13.5 ± 1.1	3.97 ± 0.14
DCA-Na	16.5	578	97.0 ± 6.5	12.6 ± 1.0	3.97 ± 0.20
NPC+DCA-Na	15.2	532	84.5 ± 13.7	12.6 ± 0.1	4.12 ± 0.22
4 Weeks					
DMSO			167.0 ± 6.5	14.7 ± 0.8	3.62 ± 0.11
NPC			170.0 ± 14.5	13.8 ± 0.8	3.52 ± 0.10
DCA-Na	15.7	1099	162.8 ± 4.9	13.7 ± 1.5	3.47 ± 0.29
NPC+DCA-Na	16.6	1162	130.6 ± 5.0 <sup>c)</sup>	15.0 ± 1.0	4.20 ± 0.30
6 Weeks					
DMSO			161.3 ± 12.1	14.5 ± 1.0	3.67 ± 0.13
NPC			148.5 ± 13.2	13.0 ± 0.2	3.35 ± 0.09
DCA-Na	17.3	1817	156.0 ± 1.1	14.8 ± 0.6	3.82 ± 0.13
NPC+DCA-Na	17.5	1838	134.0 ± 7.0	12.5 ± 1.0	3.56 ± 0.15
8 Weeks					
DMSO			164.3 ± 1.1	12.9 ± 0.1	3.35 ± 0.03
NPC			130.8 ± 8.7	11.5 ± 1.4	3.32 ± 0.28
DCA-Na	18.0	2520	162.0 ± 4.9	13.3 ± 0.4	3.36 ± 0.03
NPC+DCA-Na	18.5	2590	140.0 ± 20.5	12.8 ± 0.8	3.65 ± 0.25

<sup>a)</sup> 0.25% DCA-Na in drinking water was given to rats throughout the experimental period.

<sup>b)</sup> The total intake of DCA-Na was estimated from the fluid intake per cage.

<sup>c)</sup>  $p < 0.01$  when compared to DMSO value. Results are mean ± SE of 4 rats.

Table 3. Effect of chemicals upon ODC activity of rats.

	Liver ornithine decarboxylase (pmol <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> /min/mg protein)			
	2 Weeks	4 Weeks	6 Weeks	8 Weeks
DMSO	0.33 ± 0.05	0.50 ± 0.04	1.05 ± 0.03	0.44 ± 0.05
NPC	0.51 ± 0.06	0.38 ± 0.03	0.50 ± 0.07	0.50 ± 0.07
DCA-Na	0.53 ± 0.03	0.61 ± 0.04	1.09 ± 0.11	0.62 ± 0.03
NPC+DCA-Na	0.45 ± 0.05	0.68 ± 0.09	1.55 ± 0.03 <sup>#,*</sup>	0.69 ± 0.03

Results are mean ± SE of 4 animals.

<sup>#</sup>  $P < 0.01$  when compared to DMSO value by Scheffe's test.

\*  $P < 0.05$  when compared to DCA-Na value by Scheffe's test.

から DCA-Na を連続投与した [NPC+DCA-Na] 群は、4週目から NPC および DMSO 群より有意差は認められないけれどもいくらか高い傾向を示し、6週に於てシエッフの多重比較検定法により有意差が認められた。この群は DMSO 投与後 DCA-Na を連続投与した [DCA-Na] 群と比較しても6週で有意に高い活性を示した。

以上 NPC 単回投与2週間後から、プロモーターの DCA-Na を連続投与すると、肝 ODC 活性は上昇する傾向がみられたが、有意差としては6週目だけであり、ODC 活性自体本来生理的条件による変動が大きい<sup>4)</sup>ことを考慮すると、NPC による本質的な影響かどうかは今後の詳細な検討が必要と思われる。

## 文 献

- 1) L. A. Hongisto, P. Seppänen, E. Hölttä, J. Jänne: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **106**, 291 (1982); J. H. Choi, I. E. Scheffler: *J. Biol. Chem.*, **258**, 8384(1983); L. McConlogue, M. Gupta, L. Wu, P. Caffino: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **81**, 540(1984); T. G. O'Brien: *Cancer Res.*, **36**, 2644(1976)
- 2) 高山昭三, 伊東信行, 河内 卓, 北川知行: 日産科学振興財団研究報告書 **5**, 51 (昭和57年度)
- 3) 清水光行: 慈医誌, **95**, 1109 (1980)
- 4) D. C. Farwell *et al.*: *Cancer Letters*, **5**, 139 (1978)

## 高速液体クロマトグラフィーによるアイライナー中の パラオキシ安息香酸エステル類の定量

斎藤恵美子・木嶋敬二・武田明治

### Determination of Six Esters of *p*-Hydroxybenzoic acid in Eye liner by High Speed Liquid Chromatography

Emiko SAITO, Keiji KIJIMA and Mitsuharu TAKEDA

A rapid method for HPLC determination of six esters of *p*-hydroxybenzoic acid (PHBA) such as methyl (PHBA-Me), ethyl (PHBA-Et), propyl (PHBA-Pro), isopropyl (PHBA-IPro), buthyl (PHBA-Bu) and isobutyl (PHBA-IBu) in eye liner was investigated.

This method is based on the technique of solvent extraction or solvent extraction-column chromatography of the samples by HPLC with octyl silane (Develosil ODS-5) as the stationary phase, a mixture of water-methanol-acetonitrile (50 : 35 : 15) as the eluent, and ultraviolet spectrophotometer as the detector. The plots of the peak high vs amount of six esters of PHBA were linear between 0~20 µg/ml. The recoveries of esters of PHBA spiked to a model sample at the level of 0.1% were 92.6~100.0% by this method.

This method is simple and rapid, Therefore it is applicable for the determination of PHBA esters in eye liner in routine analysis.

(Received May 31, 1988)

## はじめに

パラオキシ安息香酸エステル類 (以下パラベンと略す) は化粧品に最も多く利用される防腐剤である。通常、化粧品に用いられるパラベンはパラオキシ安息香酸メチル (PHBA-Me), エチル (PHBA-Et), プロピル (PHBA-Pro), イソプロピル (PHBA-IPro), ブチル (PHBA-Bu), イソブチル (PHBA-IBu) を単独または2種以上を組合わせて用いられる。

また、薬事法の化粧品品質基準においては最大配合

許容限度はパラベンの総量で1.0%以下となっている。

パラベンの分析法については紫外外部吸収 (UV) 法<sup>1)</sup>, ガスクロマトグラフ (GC) 法<sup>1,3,4)</sup>, 薄層クロマトグラフ (TLC) 法<sup>1,5,8)</sup> および液体クロマトグラフ (HPLC) 法<sup>2,6-13)</sup> など数多くの報告がある。しかし、共存物質の多い化粧品やそれに関連のある医薬部外品のように剤形が複雑な製品中のパラベンの分析を行うには、クリンナップが必要であり、これらの検討を行うために、今回メイクアップ化粧品のうち、特に防菌の面で必要性の高いアイライナー中のパラベンの定量法を

HPLC を用いて検討した。その結果、共存するほかの成分の妨害もなく精度よく定量することができたので報告する。

## 実 験

### 1. 試 薬

パラベン (PHBA-Me, -Et, -Pro, -IPro, -Bu, -IBu) 標準液: パラベン (試薬特級) それぞれ 100.0 mg を量り、メタノールに溶かして 100.0 ml とする。この液を標準原液として、メタノールで適宜希釈して標準溶液とする。

カラム用シリカゲル: Kiesel gel 60 (メルク製) を 105°C, 2時間、活性化したものを用いた。その他の溶媒および試薬はすべて試薬特級を用いた。

### 2. 装 置

装置は高速液体クロマトグラフ: LC-6A (島津製作所製), 検出器: SPD-6A (同社製), データー処理装置: クロマトパック, C-R3A, 検出器: 波長可変紫外可視検出器 SPD-6A (島津製), Reodyne Sample Injector を組合せて用いた。

### 3. 試験溶液の調製

(I)法 試料約 0.5g を精密に量り、無水硫酸ナトリウム 5g を加えて十分にかきまぜ、メタノール 20 ml を加えて 40°C の水浴中に 10 分間加熱した後、10 分間超音波処理を行い、5 分間遠心分離 (3000 rpm) し、上澄液をとる。残渣にメタノール 20 ml を加え、上記の抽出操作を 2 回くり返す。上澄液を合わせ、エバポレータを用いて、突沸に注意しながら濃縮 (40°C 以下) し、メタノールを加えて 50.0 ml とする。

(II)法 試料約 0.5g を精密に量り、飽和塩化ナトリウム液 50 ml を少量ずつ加えながら分液ロートに移す (飽和塩化ナトリウム液だけで移しきれない場合は、つぎに加える溶媒を用いて移す) つぎに 10% 硫酸 5 ml を加えて酸性とし、ジクロロメタンまたは *n*-ヘキサン・酢酸エチル (80:20) を 50 ml 加えた後、振とう機を用いて 5 分間振り混ぜて放置する。

有機溶媒層を分取し、さらに同じ溶媒を用いて 2 回抽出する。全有機溶媒層に無水硫酸ナトリウムを加えて 10 分間放置した後ろ過する。ろ液はエバポレータを用いて、突沸に注意しながらほぼ溶媒がなくなるまで濃縮し、これにメタノールを加えて 50.0 ml とし必要ならば HPLC 用メンブランフィルターでろ過して試験溶液とする。

(III)法 試料約 0.5g を精密に量り、アセトニトリル 50 ml を少量ずつ加え分液ロートに移す、これに *n*-ヘキサン 50 ml を加えて 5 分間振り混ぜて放置し

た後、アセトニトリル層を分取する。さらに *n*-ヘキサン層をアセトニトリル 50 ml で 2 回抽出をくり返す。アセトニトリル層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて 10 分間放置した後、ろ過する。ろ液を以下 (II)法と同様に操作する。

(IV)法 上期 (I) (II) および (III) 法のいずれかの試験溶液調製法により操作して得た。試験溶液をエバポレータを用いて約 1 ml まで濃縮した後、カラム用シリカゲル 3g を加えてよく分散させ、加えたシリカゲルがさらさらになるまで溶媒を除去する。これを、あらかじめ、カラム用シリカゲル 3g を *n*-ヘキサン・酢酸エチル (97:3) 混液を用いて充てんしたカラム (20 mm × 300 mm) にできるだけ密に積層させる。さらに無水硫酸ナトリウム 3g を上層に加える。はじめカラムに *n*-ヘキサン・酢酸エチル (97:3) 混液を流し、溶出液 50 ml を除く、つぎに *n*-ヘキサン・酢酸エチル (80:20) 混液を流して溶出液 60 ml を分取する。溶出速度は 1 ml/min で行う。溶出液を以下 (II)法のろ液はエバポレータを用いて、と同様に操作する。

### 4. HPLC による定量

#### 1) HPLC の測定条件

カラム: Develosil ODS (4.6 mm × 250 mm)

移動相: 水・メタノール・アセトニトリル (50:35:15)

流速: 1.0 ml/min

カラム温度: 40°

検出波長: 254 nm

#### 2) 測定方法

各試験溶液について HPLC を行い、パラベン (PHBA-Me, -Et, -Pro, -IPro, -Bu, -IBu) を測定した。定量は 6 種のパラベンの標準物質を用いて作成した検量線 (Fig. 2) より算出する。

## 結果および考察

### 1. 試験溶液の調製法の検討

一般に化粧品中のパラベンの分析に前処理法として、溶媒を用いる抽出法、カラム法、水蒸気蒸留法、などがあげられる。そのうち水蒸気蒸留法は回収率が低いという報告があることから有機溶媒を用いる抽出法およびカラム法について検討した。

パラベンの溶解性の高い溶媒のうち、エーテルが抽出にはよく用いられている<sup>6,7)</sup>。また、アセトン、エタノール、メタノール、ジクロロメタン、アセトニトリル、酢酸エチルなども用いられている。

ところでアイライナーには顔料をオイル、ワックス



系の基剤に練りこむ固型アイライナーと塗膜形成剤としてエマルジョン樹脂、水溶性高分子や乳化系ワックス等を含む液状アイライナーがあり、エーテル、ジクロロメタンを用いた場合にパラベン以外の成分が溶解してくることから、化粧品一般に用いられるメタノールで抽出する簡易な溶媒抽出法(I)と高分子類を顔料とともに凝集沈殿させ、飽和食塩水を用いて *n*-ヘキサン・酢酸エチル(80:20)で抽出する液々抽出法(II)と油脂類および脂肪酸等の基剤や香料等の除去に用いられる *n*-ヘキサン-アセトニトリル分配法(III)等について検討を行った。その結果とくに試料中に着色剤として、カーボンブラック、色素等が最終段階に残存した場合や、液々分配法でエマルジョンが生じて分離が困難な場合は、シリカゲルカラム法(IV)によるクリーンアップが必要である。

シリカゲルカラムの調製は文献<sup>11)</sup>を参考にして行った。文献によるカラムの調製およびはじめに流出除去する溶媒 *n*-ヘキサン・酢酸エチル(95:5)は、アイライナーの場合、試料の成分組成によってはパラベンの一部が溶出してくるものがあったので *n*-ヘキサン・酢酸エチルの組成比及び溶出量について検討したところ、*n*-ヘキサン・酢酸エチル(97:3)を用いその溶出量を50 mlにするとよいことがわかった。

## 2. HPLC の測定条件の検討

パラベン類の分析にカラムを Develosil ODS (内径 4.6 mm, 長さ 250 mm) を用い、移動相について種々検討した結果メタノール・水・アセトニトリル(50:35:15)が Fig. 1 に示すように6種のパラベンは完全に分離した。

またカラムに TSK gel ODS 80Tm, Cosmosil 5 C<sub>18</sub> についても実験を行ったが Develosil ODS の場合と同様なクロマトグラムが得られた。

## 3. 妨害物質の影響

アイライナー中にはパラベン類の他に防腐殺菌剤、防ばいの目的で酸性防腐剤、デヒドロ酢酸(DHA)などとフェノール系防腐剤イソプロピルメチルフェノール(IPMP)およびカチオン系防腐剤グルコン酸クロルヘキシジンなどが含有されていることが考えられる。

そこで酸性防腐剤である安息香酸(BA)、サリチル酸(SA)、ソルビン酸(SOA)およびデヒドロ酢酸(DHA)とフェノール系防腐殺菌剤の IPMP について検討した。これらの防腐剤について HPLC を行った。その結果、それぞれのもつ極大吸収のうち、SOA はパラベンと類似している上、メチルパラベンと Rt が近く妨害する。その他の成分は通常使用される濃度では問題がなく BA と SA は Rt がメチルパラベン

より早くピークは重ならないことがわかった。また IPMP は 254 nm では妨害にならなかった。なお SOA とメチルパラベンが共存する試料については、(IV)法を用いることにより、SOA は *n*-ヘキサン・酢酸エチル(80:20)に溶出しなため除去できる。

## 4. 検量線

パラベン6種(PHBA-Me, -Et, -Pro, -IPro, -Bu, -IBu)の標準原液をメタノールを用いて希釈し、5, 10, 15, 20 μg/ml の標準系列を調製し、これらの標準溶液各 5 μl を注入して得られたクロマトグラムから絶対検量線法により各パラベンのピーク高さ、または面積より検量線を作成する。ピーク高さより検量線を Fig. 2 に示す。原点を通る良好な結果が得られた。

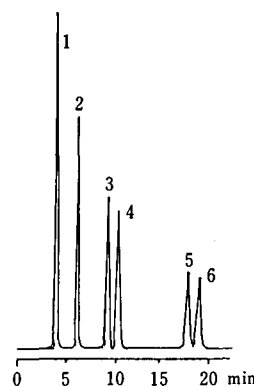


Fig. 1. HPLC Chromatogram of Esters of PHBA

Column: Develosil ODS-5(4.6 mm i.d × 250 mm) Mobile phase: H<sub>2</sub>O: CH<sub>3</sub>OH: CH<sub>3</sub>CN (50:35:15) Column temp.: 40° Flow rate: 1.0 ml/min Detector: UV 254 nm  
Peaks 1: PHBA-Me 2: PHBA-Et 3: PHBA-IPro 4: PHBA-Pro 5: PHBA-IBu 6: PHBA-Bu

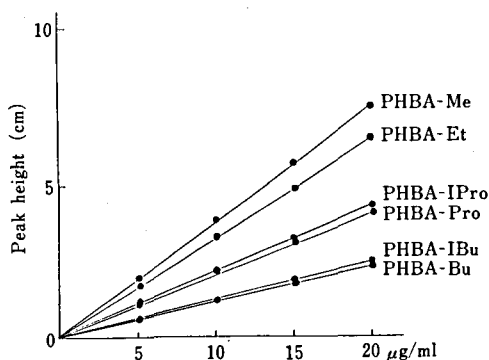


Fig. 2. Calibration curves for Parabens

## 5. 回収率の検討

固型アイライナーにパラベン (PHBA-Me, -Et, -Pro および -Bu) を各々 0.1% 含有したモデル試料 (Table 1) を試作し, 上記 I, II, III および IV 法を用いて試験溶液の調製を行い HPLC により定量した結果良好な回収率が得られた。

得られた回収率を Table 2 に示した。なお (IV) 法は (I) 法により抽出した後 (IV) 法を行ったものである。また IPro, IBu についても市販品に添加し回収率を測定したところ 92.6~100.0% であった。

## 6. 市販アイライナーの分析結果

パラベンの成分表示のある市販アイライナー13種に

Table 1. Formula of model eye liner

Eye liner (cake type)	%
Japan wax	20.0
Stearic acid	10.0
Caster wax	10.0
microcrystalline wax	5.0
Caprylic/Capric acid Triglyceride	5.0
Blackoxide of iron	49.6
PHBA-Me	0.1
PHBA-Et	0.1
PHBA-Pro	0.1
PHBA-Bu	0.1
total	100.0

Table 2. Recoveries of esters of PHBA in the model eye liner

Method	PHBA-Me	PHBA-Et	PHBA-Pro	PHBA-Bu
I	99.5	95.7	99.3	99.3
	98.6	95.5	100.0	99.3
	99.4	95.5	98.7	98.6
II	99.2	95.5	99.7	99.7
	98.6	95.1	97.9	99.4
	97.3	94.8	98.8	98.8
III	99.5	95.5	99.1	99.4
	99.1	95.8	100.0	100.0
	98.8	94.8	98.5	98.8
IV	99.0	95.7	99.3	99.3
	98.8	94.1	98.3	100.0
	93.0	92.6	93.8	98.6

Table 3. Determination of esters of PHBA in comercial eye liner

Method No.	PHBA-Me		PHBA-Et		PHBA-Pro		PHBA-Bu	
	II	III	II	III	II	III	II	III
A	88.5	89.5	85.9	89.5	95.6	97.6	108.0	94.8
B					99.5	98.3		
C	95.0	92.9						
D	86.5	99.3			88.5	103.6		
E	94.3	99.7						
F	98.3	99.0						
G	101.5	100.5						
H	101.6	98.8						
I	93.0	97.7						
J		99.8				99.5		
K*			87.8	80.0	86.6	85.3	85.9	96.7
L	96.2	98.4			102.4	102.0		
M*					98.4	98.8	107.4	107.0

Each value was shown as percent of declared,

\* The method II or III was attempted first, and then carried out with method IV

つてⅡ法またはⅢ法により試験を行い、得られた値を処方に対する含有%として Table 3 に示した。いずれも良好な回収率が得られた。

これらのことから、本法を利用することによりアイライナー中のパラベンの定量が可能となったが、アイライナー製品は種類も多く特にペンシル型の製品などの一部は抽出に充分注意し、必要に応じ抽出溶媒の変更を行うことや、製品中に含有する成分も多岐に渡るため妨害成分による誤認には十分注意する必要がある。

## 文 献

- 1) 衛生試験法注解：日本薬学会，298 (1980)
- 2) 衛生試験法注解追補：日本薬学会，1386 (1986)
- 3) J. A. W. Gossell: J. Chromatogr., 63, 429 (1971)
- 4) 鎌田国広ら：東京衛研年報，32, 99 (1981)
- 5) 風間成孔ら：東京衛研年報，31, 91 (1980)
- 6) 中島慶子ら：衛生化学，26, 326 (1980)
- 7) 北田善三ら：食衛誌，21, 480 (1980)
- 8) 野沢竹志ら：東京衛研年報，33, 259 (1982)
- 9) 岡谷吉雄：F. J. 臨時増刊 NO5, 121 (1984)
- 10) 松永明信ら：衛生化学，31, 269 (1985)
- 11) 三上栄一ら：衛生化学，32, 34 (1986)
- 12) 小林加代子ら：食工誌，33, 514 (1986)
- 13) 日本薬学会第 108 年会，公衆衛生協議会資料，26 (1988)

## 高速液体クロマトグラフィーによる、ベニバナ黄色素 (*Carthamus tinctorius* L. 抽出エキス) および市販ベニバナ黄色素中のサフロミン A, B の分析について

合田幸広・鈴木淳子・義平邦利

### Studies on High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Safflomin A and B in Safflower Yellow (the Extract of *Carthamus tinctorius* L.) and Commercial Safflower Yellows

Yukihiko GODA, Junko SUZUKI and Kunitoshi YOSHIHARA

Identifications of safflomin A and B in an extract of *Carthamus tinctorius* and two commercial safflower yellows were carried out. On quantitative analysis by high-performance liquid chromatography, the contents of safflomin A in the extract and commercial safflower yellows I and II were 39.5, 0.84 and 2.01% respectively.

(Received May 31, 1988)

## 緒 言

天然色素は、合成品と異なり化合物レベルでの構造、特性、分析方法等の知見が少ないため、規格基準の作成や、定量的な安全性試験を行いにくい。

ベニバナ黄色素は、乾燥したキク科植物ベニバナ (*Carthamus tinctorius* L.) の管状花を水で抽出し黒褐色の色素液を作り、これをろ過して澄明にした後、濃縮し精密ろ過を経て噴霧乾燥して製造される<sup>1)</sup>。これまでに単離が報告されているベニバナ黄色素構成成分には、Safflomin (SF)-A<sup>2)</sup>, SF-B<sup>3)</sup>, Safflor yellow A<sup>4)</sup>, Safflor yellow B<sup>5)</sup> 等があり、それぞれ Fig. 1 に

示すような構造式が提出されている。しかし、これらの化合物について定量的な実験は行われておらず、どの化合物が真の主成分であるのか明らかでない。一方、市販のベニバナ黄色素の分析方法としては、既に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた方法が示されているが<sup>6)</sup>、各成分の分離が非常に悪く、この条件では、基本的に色価<sup>7)</sup> のみを基準として作られた市販品中の天然色素含量を推定する目的には適さない。

今回我々は、賦形剤等の加えられていないベニバナ黄色素 (*C. tinctorius* 抽出エキス) を入手し、同エキス中の主成分含量を明らかにし、さらに市販品について天然色素含量を推定して、規格基準および安全性試

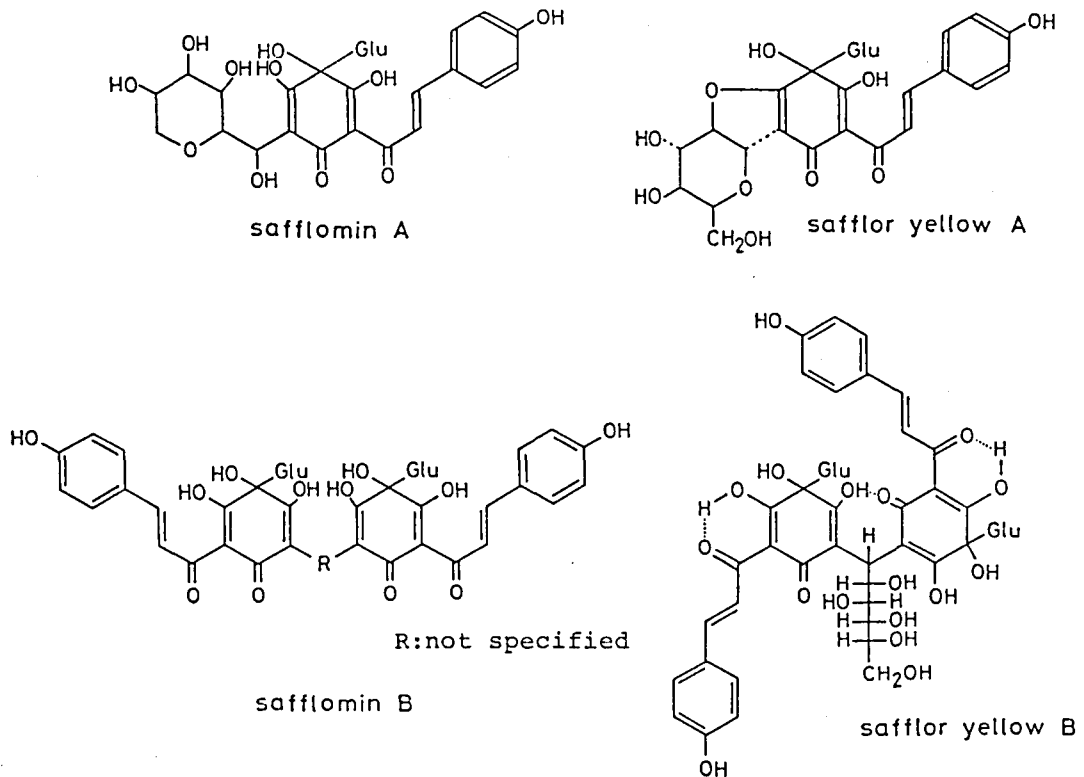


Fig.1. Proposed structures of isolated compounds from safflower yellow

験の基礎的知見を得たので報告する。

## 実験方法

### 1. 材料

ベニバナ黄色素 (*C. tinctorius* 抽出エキス) はキスミー化粧品より、SF-A, B は山形大学小原教授より御恵与されたものを用いた。市販のベニバナ黄色素は、国産の2社2試料を用いた。SF-A および両試料の405 nm での  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ) 値は、それぞれ340, 18.6, 52.1である。

### 2. 試薬

アンバーライト XAD-II はオルガノ(株)製を、他の試薬は全て市販の特級品を用いた。

### 3. 装置

HPLC 装置は、島津 LC-6A に、検出器として島津 SPD-6AV または SPD-M1A を取り付けたものを用いた。天秤は Mettler M5 を用いた。

### 4. HPLC 分析条件

分析カラム：東ソー TSK gel ODS-80T<sub>M</sub> 4.6 × 250 mm, 溶媒：MeOH : 10% AcOH = 1 : 2, 流速：0.6 ml/min, 検出波長：405 nm および多波長同時分

析, 検出温度：室温。

### 5. 市販色素の精製

各試料 1g を、内径 60 mm, 長さ 300 mm の XAD-II を充填したガラスカラムにのせ、水で溶出する成分がほとんどなくなるまで水洗後、色素画分をメタノールで溶出させた。水溶出画分中に乳糖が含まれている事を、日本薬局方の乳糖確認反応<sup>2)</sup> および薄層クロマトグラムにより確認した。

### 6. SF-A の定量実験

検出波長 405 nm, 検出感度 0.02 AUFS, 注入量 10  $\mu\text{l}$ , ピーク高さ法で実験を行った。

検量線は 0.103 mg の SF-A を量り、水に溶かして 10 ml としたものを原液とし、原液および原液を 8.24, 6.18, 4.12, 2.06 ppm に希釈したものを用いて作製した。抽出エキスおよび市販色素は、得られる SF-A 含量が 4~10 ppm 内に収まるように水で定量的に希釈し HPLC に供した。

## 結果と考察

### 1. 色素成分の定性的同定

4種の逆相系カラムを用い、溶媒、流速等を検討し

た結果、実験方法で示した分析条件において、ベニバナ黄色素 (*C. tinctorius* 抽出エキス) 中の色素成分の分離が最も良いことが判明した。本条件での分析結果を Fig. 2 に示す。抽出エキス中の SF-A, B の同定は、標品との  $t_R$  (A: 8.6 min, B: 21.0 min) およびフォトダイオードアレイ検出器による紫外可視スペクトル (Fig. 3) の比較による。

市販色素は、天然色素成分以外にも賦形剤等の多くの成分を含有している可能性が高く、そのままでは比較的感度の低いフォトダイオードアレイ検出器を用いた分析が行いにくい。そこで XAD-II を用いて精製し、天然色素成分含量を高めた後、同検出器を用いて成分中の SF-A, B の存在を確認した (Fig. 4)。

## 2. SF-A の定量

Fig. 1 よりベニバナ黄色素 (*C. tinctorius* 抽出エキス) の主色素成分のひとつは SF-A であると考えられたので、SF-A 含量を明らかにする目的で実験を行

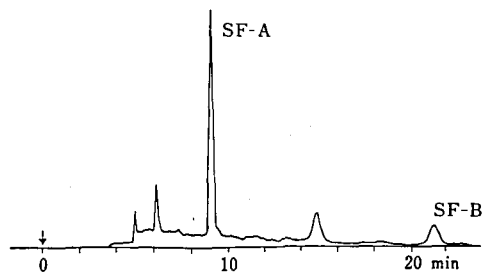


Fig. 2. HPLC analysis of safflower yellow (extract of *Carthamus tinctorius* L.)

った。その結果、検量線 (Fig. 5) より得られた抽出エキスおよび市販色素 2 試料の SF-A 含量は、それぞれ 39.5, 0.84, 2.01% であることが明らかになった。また、本実験で用いられたベニバナ黄色素 (*C. tinctorius* 抽出エキス) は、市販色素の生産の際に用いるベニバナ黄色素と同様の製法を経て作られている

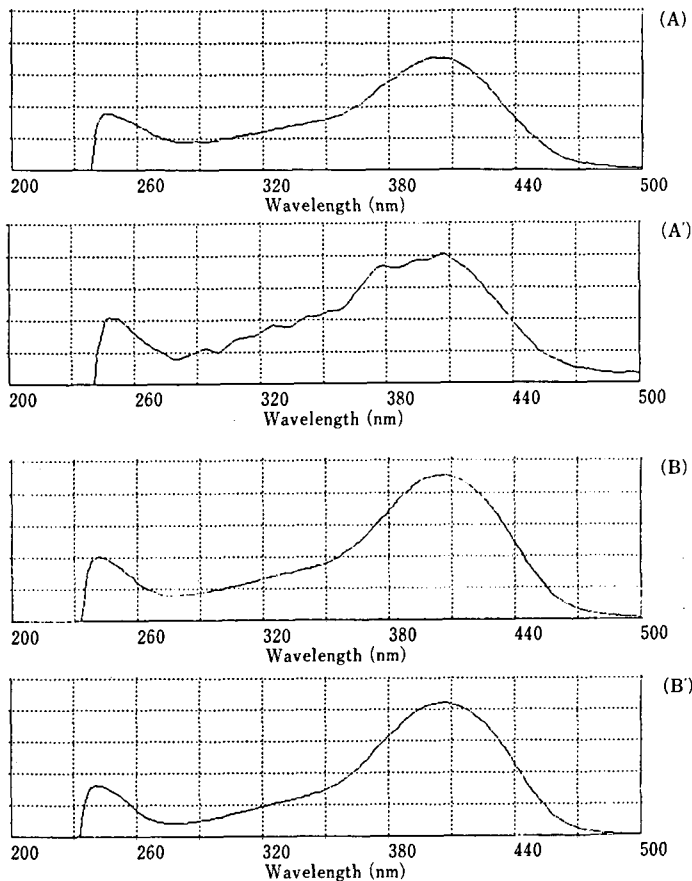


Fig. 3. UV-VIS spectra by photodiode array detector

A: peak eluted at 8.8min, A': authentic saffloamin A  
B: peak eluted at 21.0min, B': authentic saffloamin B

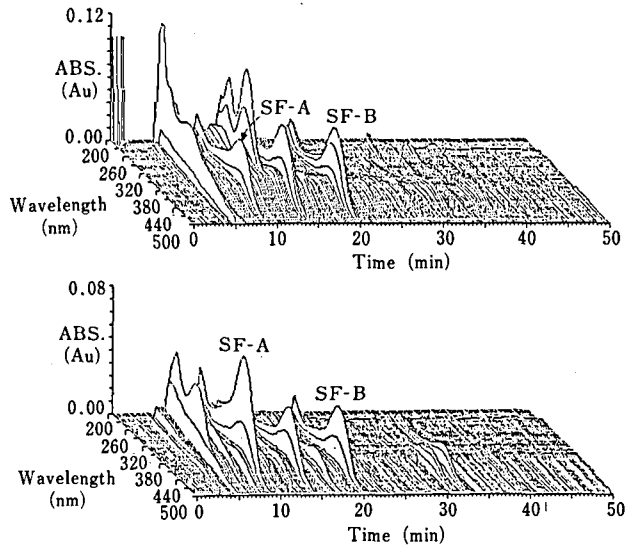


Fig. 4. 3-Dimensional chromatogram 45°(+) of commercial safflower yellows  
 Upper chromatogram: commercial safflower yellow I  
 Lower chromatogram: commercial safflower yellow II

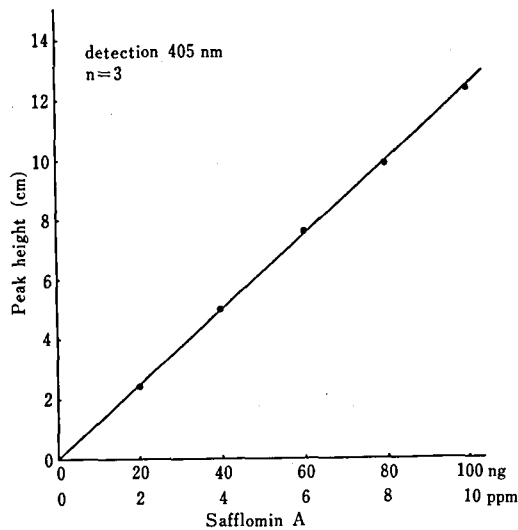


Fig. 5. Calibration curve of safflomin A by HPLC

と考えられたので、市販色素中のベニバナ黄色素含量を主成分のひとつと考えられる SF-A の含量から推定した。その結果、市販色素中の天然色素の含量は、試料 I で約 2%、試料 II で約 5% と非常に低い値であることが示唆された (Table 1)。

最後に、貴重な SF-A, B の標品を御恵与頂いた山形大小学教授、貴重なベニバナ黄色素 (*C. tinctorius* 抽出エキス) を御恵与頂いたキスミー化粧品に深謝する。

## 文 献

- 1) 谷村顯雄ら編：天然着色料ハンドブック，p. 324 (1979) 光琳
- 2) J. Onodera, H. Obara, M. Osone, Y. Maruyama, S. Sato: *Chem. Lett.*, 433, 1981
- 3) 小野寺準一，小原平太郎，佐藤慎吾：日本化学会第37春季年会講演要旨 p. 1074 (1978)
- 4) Y. Takahashi, N. Miyasaka, S. Tasaka I. Miura, S. Urano, M. Ikura, K. Hikichi T. Matsumoto;

Table 1. Content of safflower yellow in commercially available sample

	Content of safflomin A (%) n = 4	Estimated content of Safflower yellow* (%)
Safflower yellow (extract of <i>C. tinctorius</i> L.)	39.5	100
Commercial safflower yellow I	0.84	2
Commercial safflower yellow II	2.01	5

\*Each content was estimated by the following formula,  
safflomin A content / safflomin A content of safflower yellow x 100

- M. Wada: *Tetrahedron Lett.*, **23**, 5163(1982)  
 5) Y. Takahashi, K. Sato, M. Yanagiya, M. Ikura, K. Hikichi, T. Matsumoto, M. Wada: *Tetrahedron Lett.*, **25**, 2471(1984)  
 6) 厚生省食品化学課編：厚生省食品化学レポート

- リーズ No. 39, p. 114 (1985)  
 7) 日本食品添加物団体連合会編：天然食品添加物規格総集第2版, p. 34 (1981)  
 8) 日本薬局法第11改正, p. 1207 (1986) 厚生省

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)の脂肪組織への分布

高木 篤也

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

Atsuya TAKAGI

The distribution of 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) (MBEBP) to the fat in rats was studied. The rats were fed on diets containing 0.2, 1.0, and 5.0% MBEBP for 19 days. The concentrations of MBEBP in the fat of the rats were  $481 \pm 58$ ,  $1356 \pm 227$  and  $1305 \pm 304$   $\mu\text{g/g}$  in the 0.2, 1.0 and 5.0% groups, respectively. This result suggested that the MBEBP in the fat in 1.0% group was more concentrated due to the decrease in fat in this group.

(Received May 31, 1988)

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り、その性状は白色の微粉末で脂溶性である。MBEBP を0.2, 1.0, 5.0% の各濃度で飼料に混ぜ27日間摂取させると、高用量(5%) 群よりも中間量(1.0%) 群で体重増加抑制が

強くみられ、さらに、脂肪組織中 MBEBP 量は中用量群のほうが高用量群より高いことを報告した<sup>1)</sup>。しかし、その原因が5%群より1%群で MBEBP の脂肪組織への移行量が多いためなのか、あるいは5%群よりも1%群で体重増加抑制および体脂肪の減少が強いことから、MBEBP が脂肪組織中で1%群でより強く濃縮された結果なのかは明らかでなかった。そこで、今回はこの問題を明らかにするため、MBEBP を

前回より短期間 (19日間) ラットに投与して、脂肪組織中の MBEBP 量を測定したので報告する。

## 実験方法

### 1. 薬物

MBEBP は大内新興化学工業製 (Lot No. 506002) のものを使用した。構造式を Fig. 1 に示す。

### 2. 実験動物

Slc: Wistar ラット (静岡実験動物農業協同組合生産) 5週齢雄を用い、一群5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 (船橋農場製, F-2) に混合して固形飼料とした。飼料および水 (水道水) は自由に摂取させ、投与期間は19日間とした。なお、1.0%群は投与開始から3日間は0.2%添加飼料を与え、5%群では、投与開始から3日間は0.2%添加飼料を、次の4日間は1.0%添加飼料を与えて添加飼料に慣らした後、それぞれ所定の用量にした。

### 4. 脂肪組織中の MBEBP の測定法

脂肪組織中の MBEBP の抽出および測定は前報の如く行った<sup>1)</sup>。

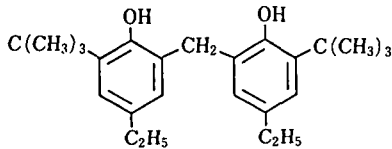


Fig. 1. 2,2'-Methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) (MBEBP)

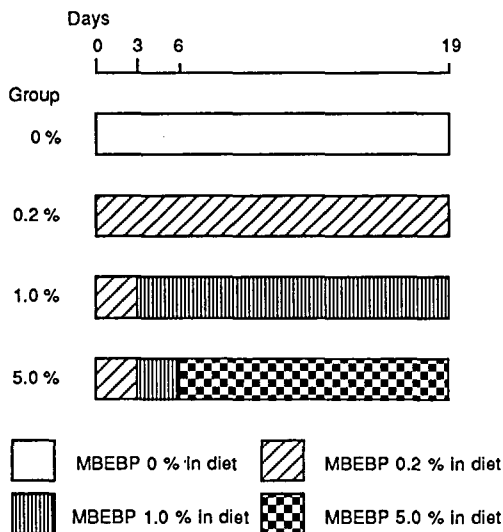


Fig. 2. Experimental protocol

Table 1. Distribution of MBEBP to Fat in Rats

Group	MBEBP ( $\mu\text{g/g}$ )
0.2%	481 $\pm$ 58
1.0%	1356 $\pm$ 227
5.0%	1305 $\pm$ 304

Values represent Mean  $\pm$  S.D.

## 結果および考察

MBEBP の脂肪中含量は0.2, 1.0および5.0%群でそれぞれ481 $\pm$ 58, 1356 $\pm$ 227 および1305 $\pm$ 304  $\mu\text{g/g}$ であった (Table 1)。

体重増加量は0, 0.2, 1.0および5.0%群でそれぞれ78 $\pm$ 15, 76 $\pm$ 10, 45 $\pm$ 14および52 $\pm$ 11gであった。また、実験期間中の平均摂餌量は0, 0.2, 1.0および5%群でそれぞれ、21 $\pm$ 1, 22 $\pm$ 1, 21 $\pm$ 2 および24 $\pm$ 2 (g/day) であり、対照群と検体投与群で差は認められなかった。なお、前回の27日間の MBEBP 投与では0.2, 1.0および5.0%群での脂肪組織中 MBEBP 量はそれぞれ567, 2053および1231  $\mu\text{g/g}$  であり、体脂肪量は肉眼的に1.0%群のほうが5.0%群より少なかった<sup>1)</sup>。今回の MBEBP 19日間投与では脂肪組織中の MBEBP 量は、0.2%群より1.0%群のほうが高いレベルであったが、1.0%群と5.0%群ではほぼ同量であった。また、体重増加量も1.0%群と5.0%群ではほぼ同じであり、体脂肪量も肉眼的に差は認められなかった。今回の MBEBP 19日間投与実験で1%群のほうが5%群よりも脂肪組織に MBEBP が多く移行するという現象は認められなかった。したがって、0.2, 1.0および5.0% MBEBP 添加飼料を27日間投与した実験において脂肪組織中に1.0%群のほうが5%群より MBEBP が多い理由として、1%群のほうが5%群よりも体重増加抑制および体脂肪の減少が強いことにより、MBEBP の体脂肪中での濃縮が1%で強く生じたためと考えられた。なお、19日間投与で脂肪中の MBEBP 量に差が見られず、わずかに、8日間多い27日間投与で差が見られたが、投与開始時に投与量を段階的に上げているため、たとえば5%群では19日間投与と27日間投与では、実験にはそれぞれ13日間と21日間投与であり、投与期間の差は大きいことに注意する必要がある。

## 文 献

高木篤也ら: 衛生試験, 105, 26 (1987)



## 新しい融点測定器の使用経験

岡田敏史・木村俊夫

## Experience on Using a New Equipment for Measuring Melting Point

Satoshi OKADA, Toshio KIMURA

A new apparatus for measuring melting point was evaluated from the viewpoint of the Japan Pharmacopeia. The instrument is equipped with a temperature control system and meets the requirement for regulating the rate of rising temperature to 1°C/min. Further, it was convenient in that the temperature-time program can be repeated.

However it had some shortcomings, especially in the matter of uniformity of temperature distribution in a heating vessel. But these problems were basically overcome with the cooperation of the manufacture, thus making possible the observation of subtle changes related to the melting phenomena.

(Received May 31, 1988)

日局による粉末薬品の融点測定には規定された装置と温度計を用い、「予想した融点の約 5°C 低い温度から 1 分間に 1°C 上昇するように加熱を続ける」という操作法（第一法）によって行うことになっている<sup>1)</sup>。加熱法については特に規定されていないが、パーナーで前記の操作を行うことには無理がある。そこで、実際には加熱浴中にヒーターと循環のためのファンを組み込み簡単な温度制御回路の下で昇温させる装置が市販されている。例えば、ヤマト科学製 MP-21 型、Büchi 社（スイス）の 512 型がこれに相当する。しかし、温度制御は不十分であるほか、Büchi 社製の装置では加熱浴のレベルが低いため日局温度計の浸線まで浸せないなどの難点がある。

最近、宮本理研工業より昇温プログラムを設定して自動的に温度コントロールが可能な融点測定装置 PA-10S 型が発表され、これを使用する機会が得られた。そこで、ある昇温プログラムを設定し、温度変化の測定をおこった結果、融点近傍における 1°C/min の昇温プログラムの実行と繰り返し測定における利便性に優れている一方、加熱容器内における温度の均一性に問題があることなどを見いだした。そこで、著者らはこの装置に若干の改良を加えることにより従来の装置に見られない安定した加熱速度 (1°C/min) が得られ、信頼性の高い融点測定を行うことができたのでその使用経験について報告する。

## 実験方法

装置 宮本理研工業製の融点測定装置 PA-10S

型を用いた。日局 11 に準拠した加熱容器部と温度制御部より成り、容器直下に置かれたヒーターにより加熱され、浴中の温度はサーミスター（白金抵抗測温体）により検知され温度制御部に信号が送られる。したがって、目的物質の予想融点に合わせて昇温プログラム（温度—時間関係）を設定すれば何回でも繰り返し測定が可能である。

温度計は新日本計測機の第十一改正日本薬局方浸線付温度計を用いた。また、融点測定用毛細管として硬質ガラス製毛細管（内径 1.0±0.2 mm、壁厚 0.2~0.3 mm、長さ 120 mm）を用いた。

試料 国立衛生試験所融点測定用標準品 (Control: 851 および 871) を試験に用いた。各試料はメノウ乳鉢中で微粉末とした後、デシケーター中で 24 時間以上乾燥したものを規定の方法で毛細管中に充填して試験に供した。

操作法 日局一般試験法の融点測定法第一法に準拠して行った<sup>1)</sup>。ただし、融点近傍における加熱速度の調節は Fig. 1 に示すような昇温プログラムを設定して行った。すなわち、予想融点を MP とする時、その 11°C 下 (MP-11) より 3°C/min, 5°C 下 (MP-5) より 3°C 上 (MP+3) まで 1°C/min の温度上昇をさせた後、MP-11 の温度まで急速冷却させ、その後 2 分間その温度を維持させ、スタート時の温度に戻す。これを 1 サイクルとして繰り返し測定ができるようにプログラムを設定する。したがって、1 サイクルに要する時間 (12+X) は上がりきった温度 (MP+3) をスタート時点の温度 (MP-11) に戻すまでの時間 X に

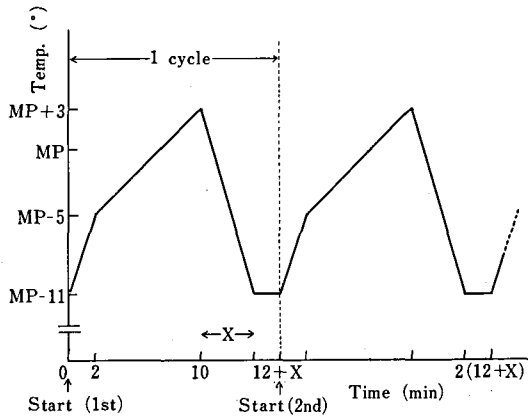


Fig. 1. Schematic temperature-time program for measuring melting point

MP indicates the end of melting and X is the interval of lowering the highest temperature to the lowest.

よって決まり、MP-11 が室温に近いほど長時間を要することになる。

なお、標準品の融点測定においては日局で規定する「固体を全く認めなくなったときの示度」を融点とする測定のほか、融点付近における状態変化として湿潤点 (B. M.), 収縮点 (S. P.), 崩壊点 (C. P.), 液化点 (M. P.) および融解終点 (E. M.) の5点の観察も行った<sup>2)</sup>。

### 結果および考察

#### 昇温プログラムと実際の温度変化

国立衛生試験所融点標準品はワニリン他6種の物質より構成されている。ここでは融点測定器の温度制御が最も困難な領域での温度制御状態を観察するため、100°C以下の融点標準品としてワニリンを、200°C以上の融点標準品としてカフェインを選び、それぞれに対する昇温プログラムと実際の温度変化の関係についての観察を行った。ワニリンおよびカフェインの融解範囲 (B. M. と E. M. の間) はそれぞれ 82°C~83°C、236°C~237.5°Cである。そこでワニリンの MP=83°C、カフェインの MP=237°Cとして Fig. 2, 3 の実線に示すような昇温プログラムを作成した。このプログラムを実行させ、実際に観測された温度変化を Fig. 2, 3 に各点で示した。

ワニリンの場合 (Fig. 2), MPの前後における昇温プログラム (1°C/min) はほぼ満足に実現されている。ただし、83~84°Cでの温度勾配は少しゆるやかになっている。また、70~76°C間の3°C/minの温度勾配がゆるやかであるが、これは70°Cまでの冷却が不十

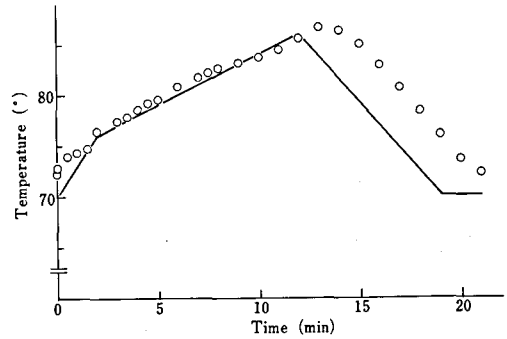


Fig. 2. Temperature-time program for Vanillin and the running results

Solid line indicates the temperature-time program.

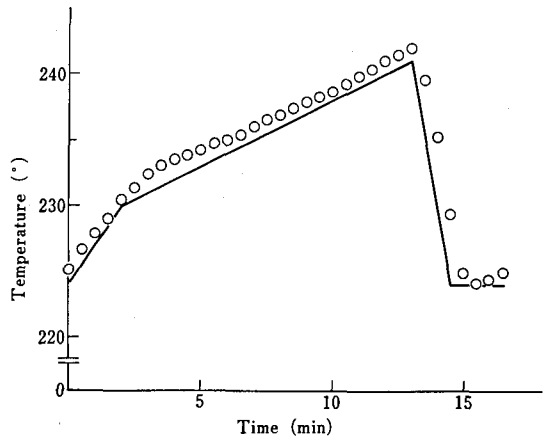


Fig. 3. Temperature-time program for Caffeine and the running results

Solid line indicates the temperature-time program.

分であったことによるものと思われる。なお、本装置には繰り返し測定を速やかに行うための冷却ファンが浴の側面に設けられている。これは昇温時にも作動して温度制御を容易にしている。しかし、最高温度と室温 (測定当時 30°C) との差が大きくない時、16°C (86→70°C) 低下させるのにはかなり時間を要することが Fig. 2 からわかる。また、12~15分における実測値のプログラム曲線からのずれはヒーターの余熱によるものであり、ワニリンのような低融点のものを測定する場合、より効果的な冷却法が必要と思われる。

Fig. 3 にカフェインについての昇温プログラムと実際の温度変化を示した。MP近傍における1°C/minの昇温過程はワニリンの場合にくらべてよく実現されており、ほぼ理想的といえる。なお、プログラムと実際の温度変化との間に1~2°Cの温度差がみられるが、これはサーミスターの指示温度と実際の温度との間にずれがあることにも起因している。242→224°Cへの

冷却はワニリンの場合にくらべて早く、1サイクルの測定に要する時間はそれだけ短縮される。

### Model PA-10S における二、三の問題点

本装置の加熱容器部はサイズ、穴の大きさとその配置など日局記載のとうり設計されている。しかしながら、浴内を攪はんする機構がないため浴内温度の均一性が保障され得るのか不安が残る。事実、加熱浴の直下にヒーターが置かれているため昇温の過程で激しく対流の起きていることが外部からも観察される。そこで、試料を置く位置を水銀球の上部 (Upper)、中央部 (Middle) および下部 (Lower) と変えたときの融点標準品のそれぞれの融解終点 E. P. が試料を置く位置によって変化しないかどうか観察してみた。その結果を Table 1 に示した。これから明らかのように水銀球の中央部と上部の間にほとんど差はないとみられ、期待どりの E. P. 値を示している。一方、水銀球下部の測定値は中央部での測定値にくらべ 0.4~1.5°C 高い値が得られており、そのずれの度合は高い融点をもつものほど大きくなっている。これは加熱容器内の温度の不均一性を示しているものと思われ、攪はんの必要性を示唆している。また、試料を温度計の左右

どちらに置くかにより融点に差 (左側で 0.2~0.3°C 高い) が認められた。これはサーミスター ( $\phi 3.2$  mm) 先端が左側より水銀球中央部に置かれているため、対流の乱れが生じたものと考えられる。

温度の不均一分布の問題とは別に、照明装置がないため浴内が暗く試料の状態変化を詳細に観察することが困難であった。

以上の観察結果にもとづき、次の三点について改良を加えた。1) 攪はん機構の取り付け、2) 対流を妨げない程度の細いサーミスター ( $\phi 1.6$  mm) に交換する、3) 照明装置の取り付け。

### 改良後の性能

攪はん装置としては前記のヤマト科学あるいは Büchi 社製融点測定装置にみられるようなプロペラ式攪はんでは気泡が入り、観察の妨げとなる。そこで、温度計、毛細管およびサーミスター検出部を取り囲むリング状の金属羽根を 3 cm の範囲で上下動させる方式とした。なお、この上下動は可変式とし、毎分 4~24 回と変えることができる。これらの改良を加えた融点測定器を用いて融点標準品 (Control: 851 および 871) の融点測定をおこない、その結果を Table 2 に示し

Table 1. Difference in melting point by changing the position of sample filled in the capillary

Substance	Position	Melting point			Aver.
Vanillin	Upper	82.4	82.5	82.5	82.5
	Middle	82.5	82.5	82.6	82.5
	Lower	82.9	83.0	82.9	82.9
Acetoanilide	Upper	116.4			116.4
	Middle	116.5			116.5
	Lower	118.1			118.1
Acetophenetidin	Upper	135.5			135.5
	Middle	135.6			135.6
	Lower	136.3			136.3
Sulfanilamide	Upper	166.2	166.3		166.3
	Middle	166.2	166.3		166.3
	Lower	167.2	167.4		167.3
Sulfapyridine	Upper	193.2	193.2		193.2
	Middle	193.3	193.3		193.3
	Lower	194.1	194.0		194.1
Caffein	Upper	237.4	237.5	237.5	237.5
	Middle	237.5	237.6	237.5	237.5
	Lower	238.9	239.0	239.0	239.0

Upper, middle, and lower indicate the position of the top of capillary attached to the outer surface of the mercury bulb.

The melting point means the end of melting (E.M.).

Samples used in this measurement are "Melting Point Reference Standards" (Control: 851).

Table 2. Measurements of melting points for (1) Vanillin and (2) Caffein, by using the improved apparatus of Model PA-10S

(1) Vanillin							
	Expt.	B.M.	S.P.	C.P.	M.P.	E.M.	
Control:	1	80.6	81.6	82.0	82.2	82.8	
	2	80.5	81.6	82.2	82.3	83.0	
	871	3	80.8	81.4	81.9	82.3	83.0
	4	80.8	81.2	82.1	82.4	83.2	
	5	80.8	81.4	82.1	82.3	83.1	
	Aver.	80.7	81.4	82.1	82.3	83.0	
Control:	1	80.6	81.3	81.8	82.2	82.7	
	851	2	80.8	81.6	82.0	82.4	83.1
	3	80.5	81.4	82.1	82.2	82.8	
	Aver.	80.6	81.4	82.0	82.3	82.9	
(2) Caffein							
	Expt.	B.M.	S.P.	C.P.	M.P.	E.M.	
Control:	1	235.2	235.8	236.6	237.1	237.6	
	2	235.3	235.6	236.4	237.1	237.6	
	871	3	235.4	235.8	236.6	236.9	237.6
	4	235.4	236.0	236.6	237.0	237.7	
	5	235.5	236.2	236.8	237.2	237.7	
	Aver.	235.4	235.9	236.6	237.1	237.6	
Control:	1	235.2	235.6	236.4	237.0	237.7	
	851	2	235.4	236.0	236.8	237.2	237.6
	3	235.2	235.8	236.4	237.2	237.7	
	Aver.	235.3	235.8	236.5	237.1	237.7	

Range of melting are 82-83° for Vanillin and 236-237.5° for Caffein, respectively. Abbreviations of characteristic points on melting are described in the text.

た。融点範囲の諸点 (B.M., S.P., C.P., M.P., E.M.) のいずれにおいても極めて再現性の高い結果が得られた。また、測定部位の上下左右による差も解消することができた。なお、本装置による B.M. および S.P. 点の測定値が文献値<sup>3)</sup>より若干低いけれども、これは融け始めのごく初期であるこの2点の観察には、測定者による差が強く現れるためと思われる。これに対し E.M. 点 (JP で規定する融点) では極めてよく一致している。融点とは物理化学的には「固相と液相が平衡状態にあるときの温度」と定義されるが、微量の試料を用いてこの温度を正確に求めることは困難であるため各国薬局方とも毛細管中の試料を加熱浴中で徐々に加温し、浴温を測定するという間接法を採用している。したがって、測定器具や操作法によっても融点が多少異なってくることになる。そのため試料の充填法、挿入時期、加熱速度など操作法の細部が規定されることになる。このうち加熱速度の制御が最も困

難であり、従来の測定装置では 1°C/min の昇温という微妙な温度制御は不可能であった。

自動制御方式を採用する本装置は融点測定において最も困難であったこの過程を適切な温度-時間プログラムを設定することにより容易に実現し得る。また、攪はん機構、照明装置を組み込むことで浴内温度の均一性が保障され、いっそう使いやすいものとなった。

最後に、ご協力いただいた宮本理研工業㈱と同社の木村英晴氏に深謝いたします。また、改良された本装置は新しいモデルとして同社より発売されることになっている。

## 文 献

- 1) 厚生省編：第十一改正日本薬局方，p.97 (1986)
- 2) 長沢佳熊，鹿島 哲，西崎笹夫：衛生試験，73，93 (1955)
- 3) 長沢佳熊，鹿島 哲，木島敬二，太田美矢子：衛生試験，85，116 (1967)

## 乱用薬物の現場検査キットの評価と改良

中原 雄 二

### Evaluation and Improvement of Field Test Kits for Identification of Abused Drugs

Yuji NAKAHARA

Commercially available field test kits for the identification of methamphetamine, narcotics, cannabis, cocaine, LSD and methamphetamine in urine were evaluated and improved concerning sensitivity, selectivity, handling and portability.

(Received May 31, 1988)

#### はじめに

薬物乱用は、世界的に一段と拡大を見せている。近年、我が国においても、従来の覚醒剤の乱用のみならず、コカイン、大麻、LSD、各種幻覚剤、ヘロイン、モルヒネ、等々の流入が見られ、薬物事犯の捜査をより複雑にしている。そのため、現場において、押収薬物が何であるかを推定する必要があり、乱用薬物の現場検査キットの重要度が増している。現在用いられている市販の検査キットは、覚醒剤メタンフェタミンはシモン試薬<sup>1)</sup>、麻薬はマルキス試薬<sup>2)</sup>、大麻はデュケノア試薬<sup>3)</sup>、コカインはスコット試薬<sup>4)</sup>、LSD はエーリッヒ試薬<sup>5)</sup> を利用しているが、最近それらの再評価<sup>6-8)</sup> が必要になっている。

著者は現在市販または、実際に用いられている現場検査キットを感度、選択性、操作性、携帯性等について評価し、改良を加えたので報告する。

#### 実験方法

##### 1. 市販検査キット

現在、国内で入手可能な市販の検査キットを購入して使用した。

覚醒剤用：国産化学，日本化学発光，NIK (USA)

麻薬用：国産化学，NIK (USA)

大麻用：国産化学，NIK (USA)

コカイン用：NIK (USA)

尿中覚醒剤用：YMC 島久

試薬の組成および使用法は Table 1 に示す。

##### 2. 検査キットの改良

以下の試薬は本研究室で従来のものに改良を加え、現場検査用として開発したものである。

1) 覚醒剤用：A液に4%アセトアルデヒドアンモニア水溶液，B液に2%ニトロプルシッドソーダ水溶液を調整して置く。

用時綿棒を試薬Aおよび試薬Bに順次浸した後，これを検体に付着させる。

2) 麻薬用：濃硫酸 0.5 ml とホルアルデヒド水溶液 0.1 ml を混ぜて，内径 3 mm，長さ約 3 cm の肉薄のガラス管に入れ，バーナで封じる。これを蓋付きの内径 6 mm，長さ約 6 cm のポリエチレンチューブに入れる。

用時少量の検体をチューブに入れ，蓋をした後，チューブを強く曲げて，中のガラス管を折り，激しく振る。

3) 大麻用：クロロホルム 100 ml とジエチルアミン 1 ml を混ぜた溶液を作り，その 1 ml を内径 3 mm，長さ約 3 cm の肉薄のガラス管に入れ，バーナで封じる。このガラス管とファーストブルー-Bの 5 mg を蓋付きの内径 6 mm，長さ約 6 cm のポリエチレンチューブに入れておく。

用時少量の検体をチューブに入れ，蓋をした後，チューブを強く曲げて，中のガラス管を折り，激しく振る。

4) コカイン用：チオンアン酸コバルト 1 g，りん酸 1 ml，メタノール 40 ml，水 60 ml に高度サラジ粉飽和水溶液 0.1 ml を加えて良く混和し，バイアル瓶に入れる。

用時コカイン試薬に綿棒を漬けて，綿にしみせ，これを検体に付着させる。

Table 1. 市販の現場試験キットの組成と使用法

組	成	使用法
<b>覚醒剤用キット</b>		
国産化学	①20%炭酸ナトリウム ②1%ニトロプルシッドソーダ ③50%アセトアルデヒド-アルコール	検体を試験管に入れ、①液、②液、③液の順にそれぞれ1~2滴を滴下し軽く振って良く混ぜる。
日本化学発光	①10%炭酸ナトリウム(口紙) ②1%ニトロプルシッドソーダ: 50%アセトアルデヒド-アルコール(9:1)	検体をプラスチックチューブに入れ、②液の入ったガラス管を折り、良く振って混ぜる。
NIK	濃硫酸 10cm に40%ホルムアルデヒドを10滴(マルキス試薬)	検体をプラスチックバックに入れ、試薬入りのガラス管を折り、良く振って混ぜる。(NIK法)
<b>麻薬用キット</b>		
国産化学	マルキス試薬	検体を呈色板に取り、試験入りのキャピラリー管を折り、検体上に滴下させる。
NIK	マルキス試薬	上記のNIK法と同じ。
<b>大麻用キット</b>		
国産化学	①ワニリン 0.4g, アセトアルデヒド 5滴, エタノール 20ml ②濃塩酸 ③クロロホルム(デュケノア試薬)	検体を①容器に入れ、振り混ぜて上澄液を②の容器に入れ、振り混ぜさらに③液を加え、混和する。
NIK	デュケノア試薬	上記のNIK法と同じ。
<b>コカイン用</b>		
NIK	①2%チオシアン酸コバルト: 96%グリセリン(1:1) ②濃塩酸 ③クロロホルム	検体をプラスチックバックに入れ、①のガラスチューブを折り、振る。次に②さらに③のガラスチューブを折り、振る。
<b>LSD用</b>		
DEA	p-ジメチルアミノベンツアルデヒド 0.5g をエタノール 30ml に溶かし、その上に濃塩酸 20ml を加える	検体を試験管に入れ、その上に試薬を数滴たらし、色の変化を見る。
<b>尿水覚醒剤用</b>		
YMC 島久	①1%ニトロプルシッドソーダ: 50%アセトアルデヒド-メタノール(1:1)+1.5%酢酸 ②1%炭酸ナトリウム	吸着チップに尿中の覚醒剤を吸着させ、20%アセトン水で洗浄後、①液で溶出し、②液を3滴加える。

5) LSD用: エタノール: 濃塩酸(1:1) 1ml を内径 3mm, 長さ約 3cm の肉薄のガラス管に入れ、バーナで封じる。このガラス管と p-ジメチルアミノシナナムアルデヒド 50mg を蓋付きの内径 6mm, 長さ約 6cm のポリエチレンチューブに入れておく。

用時チューブを強く曲げて、中のガラス管を折り、激しく振る。LSD 試薬に綿棒を漬けて、綿にしませ、これを検体の一部に押し付ける。

## 結果と評価

### 1. 覚醒剤の検査キット

用いた覚醒剤検査キットは NIK を除きシモン反応を用いているので、感度がよく、比較的選択性に優れている。その点、NIK 製のキットはマルキス試薬のため、感度、選択性に劣る。国産化学製は操作性に劣り、日本化学発光製は試薬の安定性に問題がある。改

Table 2. 覚醒剤の検査キットの特徴と評価

	国産化学	日本化学発光	NIK	改良法
呈色	青色	青色	赤橙色	青色
検出感度 (mg)	0.2~0.4	0.2~0.3	1.0~2.0	0.1~0.2
選択性	良い	良い	悪い	良い
操作時間	約30秒	約10秒	約10秒	約10秒
操作性	やや面倒	良い	良い	良い
評価	1滴の量が変わ動する	安定性にやや難	感度と選択性に問題がある	感度が良く、操作が簡単

Table 3. 麻薬の検査キットの特徴と評価

	国産化学	NIK	改良法
呈色	紫紅色(モルヒネ)	紫紅色(モルヒネ)	紫紅色(モルヒネ)
検出感度	良い	良い	良い
選択性	良い	良い	良い
操作時間	約10秒	約10秒	約10秒
操作性	良い	良い	良い
評価	濃硫酸に注意 携帯性が良い	プラスチックバッグ中で見づらい	携帯性が良く、操作が楽

Table 4. 大麻の検査キットの特徴と評価

	国産化学	NIK	改良法
脚色	紫色	紫色	赤紫色
検出感度	やや悪い	悪い	良い
選択性	良い	良い	良い
操作時間	約5分	約2分	約30秒
操作性	面倒	良い	非常に良い
評価	アンプルカットなど現場では煩雑	感度が悪い、操作は楽	感度も良く、操作が楽

Table 5. コカインの検査キットの特徴と評価

	NIK	改良法
呈色	青色	ライトブルー
検出感度 (mg)	1~2	0.1~0.2
選択性	やや良い	やや難
操作時間	約1分	約10秒
操作性	良い	非常に良い
評価	感度は悪いが、選択性に優れている	選択性に劣るが、感度と操作性が良い

Table 6. LSD の検査キットの特徴と評価

	DEA法	改良法
呈色	青紫色	紫色
検出感度	鋭敏	非常に鋭敏
選択性	比較的高い	比較的高い
操作時間	約10秒	約10秒
操作性	普通	良い
評価	安定性、操作性やや難	安定性も良く、感度、操作性に優れている

良法 (Fig. 1) は従来のシモン試薬に比べ2液であるため操作が容易で、感度も高い。安定性、判別性などすべての点で優れている。

2. 麻薬の検査キット

用いた麻薬検査キットは全てマルキス試薬を用いて

おり、感度、選択性は同じである。NIK製のプラスチックバッグは色の識別が若干見にくい、携帯性や操作性についても大きな差異は見られない。改良法 (Fig. 2) は比較的安全に使え、後始末が簡単である。

3. 大麻の検査キット

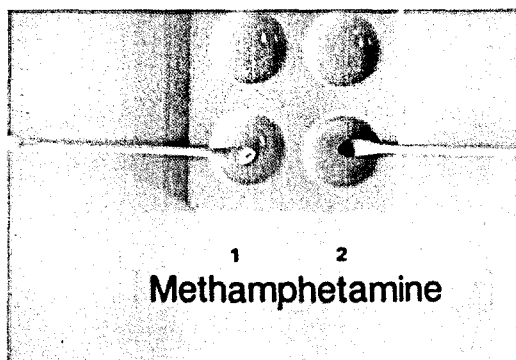


Fig. 1. New methamphetamine test kit  
1: negative, 2: positive

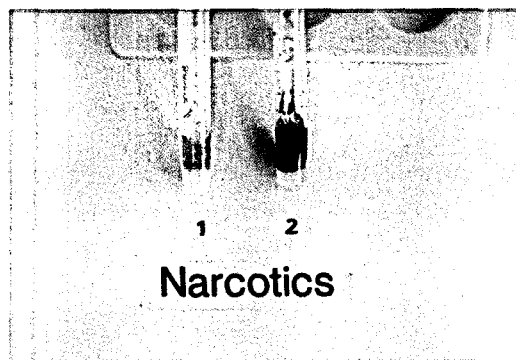


Fig. 2. New narcotics test kit  
1: negative, 2: positive

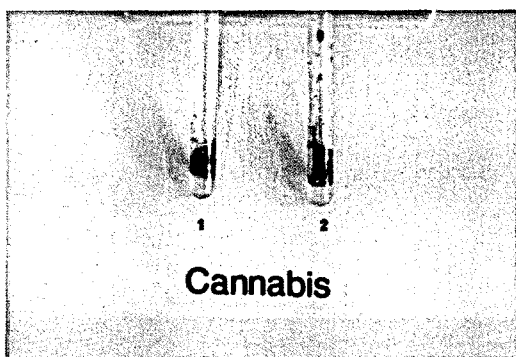


Fig. 3. New cannabis test kit  
1: negative, 2: positive

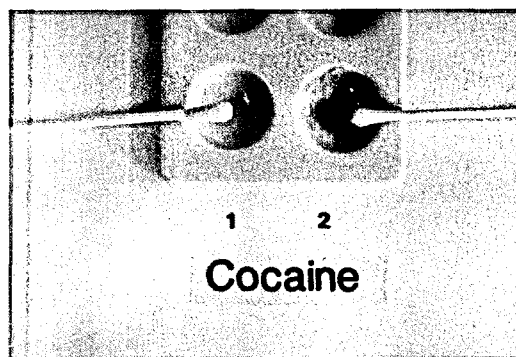


Fig. 4. New cocaine test kit  
1: negative, 2: positive

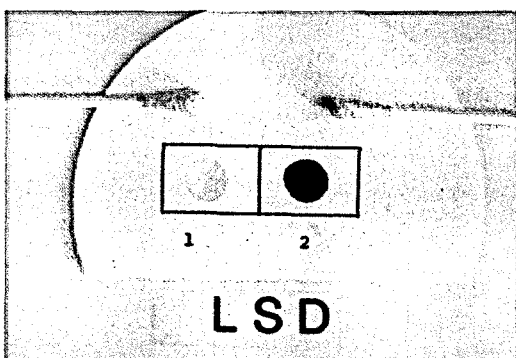


Fig. 5. New LSD test kit  
1: negative, 2: positive

Table 7. 尿中覚醒剤の検査キットの特徴と評価

	島久 (シモン反応利用)
呈色	青色
検出感度	1 µg/ml 尿
選択性	呈色は2級アミンの反応であるが、エフェドリンには陰性、メタンフェタミンに比較的特異性を示す
操作時間	約3分
操作性	尿から覚醒剤を抽出、生成するため、やや困難
携帯性	非常に良い
評価	尿の検査としては感度も操作性も良好、試薬の安定性にやや劣るが、冷蔵庫保存で10ヶ月安定

4. コカインの検査キット

NIK 製も改良法もチオシアン酸コバルトを主体とする呈色反応であるが、前者はクロロホルム抽出を用いる2段階法を採用している。そのため、NIK 製は比較的选择性に優れているが、感度と操作性においてかなり劣る。改良法 (Fig. 4) はクロロホルム抽出を

市販の大麻検査キットはデュケノア試薬を用いているため、感度が落ち、操作が面倒な点があった。改良法 (Fig. 3) はファーストブルー-Bを用いているため、感度が非常に高く、操作性も楽であり、比較的选择性もよい。



省いているので、若干選択性は落ちるが、迅速簡便で高感度な点を重視した。

#### 5. LSD の検査キット

DEA 法<sup>9)</sup>は *l*-α-ジメチルアミノベンツアルデヒドを用い、改良法 (Fig. 5) は *l*-α-ジメチルアミノシンナムアルデヒドを用いている。反応性は、後者のほうが高く、感度に優れている。選択性に関しては両者とも比較的高いが、トリプタミン系幻覚剤も同様な呈色を示す。両試薬とも溶液にしておく、安定性が悪いが、改良法は用時ガラスチューブを割り、溶液にするため、安定性に優れている。

#### 6. 尿中覚醒剤の検査キット

市販の尿中覚醒剤検査キットは尿を一度 ODS ゲルを通し、覚醒剤を保持し、洗浄液で着色成分を除いた後、シモン試薬を含むメタノール溶液で溶出して、最後に炭酸ナトリウムで呈色させるもの<sup>10)</sup>である。選択性、感度も良好である。試薬の安定性にやや問題があるが、実用性を備えた現場検査キットとして有用である。

### ま と め

乱用薬物検査用の市販の検査キット 9 種類と、著者の改良した試薬キットについて比較検討し、それらの評価を加えた。市販の試薬キットは、10年以上も改良が加えられてないものが多く、感度、操作性や選択性に

ついて改良の余地があることがわかった。本報は、特に選択性、操作性および実用性の点に重点をおいて改良を加えたが、市販品に比べ、多くの面で優れた検査法に改良することができた。なお、キットの評価に経済性を加えてないが、改良法は特別高価な試薬や器具を使っておらず、またキット化に際しコストアップになるような困難な操作を必要としないので、経済性も優れていると思われる。

### 文 献

- 1) F. Fiegl, *Spot Tests in Organic Analysis*, Elsevier Publishing Co., Amsterdam, p. 260, 1956
- 2) E. Marquis: *Pharm. Zentralhalle Dtsch.*, p. 844, 1896
- 3) P. Duquenois *et al.*: *Bull. Sci. Pharm.*, 45, 203 (1938)
- 4) L. J. Scott, Jr.: *Micrograms*, 16, 179 (1973)
- 5) H. W. Van Urk: *Pharm. Weekbl.*, 66, 473 (1929)
- 6) R. A. Velapoldi *et al.*: *J. Forensic Sci.*, 19, 636 (1974)
- 7) S. H. Johns *et al.*: *J. Forensic Sci.*, 24, 631 (1979)
- 8) P. B. Baker *et al.*: *The Analyst*, 108, 777 (1983)
- 9) DEA "Narcotic identification Manual", Appendix D (1977)
- 10) Y. Nakahara and H. Sekine: *Forensic Sci. Int.*, 26, 277 (1984)

## Production of Monoclonal Antibodies to Sheep Erythrocyte Antigens

沢田純一・寺尾允男

Jun-ichi SAWADA and Tadao TEDAO

Hybridoma cell lines (deposited in the Japanese Cancer Research Resources Bank) producing monoclonal IgM or IgG anti-sheep erythrocyte antibodies were prepared from BALB/c mouse spleen cells developing the primary antibody response.

(Received May, 31, 1988)

The primary antibody response to sheep erythrocytes (SRBCs) is widely used for the elucidation of the mechanism of antibody response and also in immunotoxicity testing. However, the antigenic structures on the sheep erythrocyte surface membranes have not been identified or well characterized. In order to clarify the molecules which carry antigenic

determinants in this anti-SRBC system, we established hybridoma cell lines producing monoclonal antibodies against SRBC antigens from spleen cells of BALB/c mice primed 3 days before.

### Materials and Methods

#### 1. Monoclonal antibodies to SRBC

BALB/c female mice (8 weeks old; Shizuoka Laboratory Animal Center, Hamamatsu) were immunized i. v. with  $5 \times 10^7$  cells/mouse of SRBCs in RPMI 1640 medium (Gibco Laboratories). Three days after immunization, the spleen cells were fused with P3/NS1/1-Ag4-1 (NS1) cells as described previously<sup>1,2)</sup>. Briefly, hybridoma cells were selected in a HAT-containing medium, and the antibody activity in the culture supernatants of hybridomas was determined by hamagglutination (HA) and hemolytic assays as described below. The hybridomas from positive cultures were cloned by limiting dilution, and the positive clones were screened. The culture supernatants of the cloned cells were obtained by centrifugation when the cultures became confluent.

## 2. Hemagglutination (HA) assay

To 25  $\mu$ l of serially diluted antibody samples, 25  $\mu$ l of 1% (v/v) SRBC suspension in 10 mM phosphate-buffered saline (pH 7.2) (PBS) was added. After incubation at room temperature for 1 hr, agglutination was determined morphologically<sup>3)</sup>. The HA titer was defined as the reciprocal of the highest dilution giving agglutinating activity.

## 3. Hemolytic assays

Direct and indirect hemolytic assays were performed as described by Galfre and Milstein<sup>4)</sup> with a slight modification. Culture supernatants (2  $\mu$ l) were spotted on surfaces of 0.6 % agarose gels containing 4% SRBCs in PBS. After incubation at 37°C for 1 hr, guinea pig complement (1/20 dilution; Denka) with (in the indirect hemolytic assay) or without (in the direct hemolytic assay) rabbit anti-mouse IgG ( $\gamma$ -specific) antiserum (1/200 dilution; Miles-Yeda) was poured onto the gels. Then, the gels were incubated at 37°C for 1 hr, and local hemolysis in the gels was determined.

## 4. Determination of isotype

The determination of the isotypes for most of monoclonal antibodies were performed by using the isotyping ELISA method as described previously<sup>1)</sup>. Rabbit antisera specific for mouse  $\kappa$ ,  $\lambda$ ,  $\mu$ ,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_{2a}$ ,  $\gamma_{2b}$ ,  $\gamma_3$ ,  $\alpha$  and  $\epsilon$  chains were purchased from Miles Laboratories and used at dilutions between  $10^{-4}$  and  $10^{-5}$ . SRBCs were coated on microtiter plates (Costar EIA plates, #3590) according to the method of Kennett<sup>5)</sup>.

The isotypes of the antibodies, RP 8-18

and RF 29-1 were determined by the indirect hemolytic assay as described above by using the chain-specific antisera (1/200 dilution) instead of the anti- $\gamma$  antiserum.

## Results and Discussion

Hybridoma cells were selected in HAT-containing medium on five 24-well culture plates. Fifteen hemagglutination (HA)-positive wells with direct hemolytic activity and 6 HA-negative wells with indirect hemolytic activity were obtained. The hybridoma cells from these wells were cloned, and the HA titers and hemolytic activities of the culture supernatants of the hybridoma clones (42 positive clones) were determined. Eight HA-positive clones and 3 HA-negative clones with indirect hemolytic activity were finally selected. The properties of monoclonal antibodies from the selected hybridoma clones are given in Table 1. The monoclonal antibodies from the eight HA-positive clones were presumed to be of the IgM class from their direct hemolytic activity, and this was ascertained by isotyping ELISA. The subclass of the 3 monoclonal antibodies with indirect hemolytic activity was determined to be IgG1 by using chain-specific antisera.

Further studies are necessary to identify the antigenic determinants for these monoclonal antibodies. Preliminary data (unpublished) suggest that at least three monoclonal antibodies (F12-18, F 31-2 and F 31-19) are strongly reactive with substances present in glycolipid fractions extracted from SRBCs by the Folch's partition method<sup>7)</sup>.

Since the F 12-1, F 31-2, F 31-19, RP 8-2 and RP 8-18 antibodies showed little or lower reactivities with the SRBCs obtained from certain specified sheep (data not shown), these antibodies were assumed to be able to recognize sheep blood types. Taken together, these data suggest that the antigen system of the primary antibody response to SRBCs is complex and heterogenous.

The cloned hybridoma cell lines P 20-13 and PR 8-18 have already been deposited in the Japanese Cancer Research Resources Bank of this institute and are available without restriction.

Table 1. Properties of monoclonal anti-SRBC antibodies

Monoclonal antibody	HA titer <sup>*1</sup>	Hemolytic activity		Isotype <sup>*3</sup>
		Direct	Indirect <sup>*2</sup>	
P13-7	16	+	+	μ, κ
P18-3	32	+	+	μ, κ
P20-13	16	+	+	μ, κ
F12-1	8	+	+	μ, κ
F12-18	8	+	+	μ, κ
F23-20	16	+	+	μ, κ
F31-2	32	+	+	μ, κ
F31-19	32	+	+	μ, κ
RP8-2	-( <2)	-	+	γ 1, κ
RP8-18	-( <2)	-	+	γ 1, κ
RF29-1	-( <2)	-	+	γ 1, κ

\*<sup>1</sup> HA titer of culture supernatants.

\*<sup>2</sup> Indirect hemolytic activity was determined by using anti-mouse IgG serum as a developing antibody.

\*<sup>3</sup> Immunoglobulin isotypes were determined by isotyping ELISA or indirect hemolytic assay.

References

- 1) J. Sawada *et al.*: *Mol. Immunol.*, 23, 625(1986)
- 2) J. Sawada *et al.*: *J. Steroid Biochem.*, 28, 405 (1987)
- 3) J. L. Sever *et al.*: *J. Immunol.*, 88, 320(1962)
- 4) G. Galfre and C. Milstein: *Methods in Enzymology*, 73, p.1 (1981), Academic Press, New York
- 5) J. S. Garvey *et al.*: *Methods in Immunology*, 3rd ed., p. 313(1977), Benjamin, London
- 6) R. H. Kennett *et al.* (ed): *Monoclonal Antibodies*, p. 376(1980), Plenum Press, New York
- 7) J. Folch *et al.*: *J. Biol. Chem.*, 225, 497(1957)

マイコトキシンの化学分析に関する研究 (第19報)  
T-2 toxin 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 (XIX)  
Enzyme Immunoassay of T-2 toxin in Foods

Etsuko ISOHATA, Masatake TOYODA, Yukio SAITO

T-2 toxin enzyme immunoassay (EIA) test kits using T-2 toxin monoclonal antibody-coated plates were evaluated by recovery tests of several food types. Spiked with T-2 toxin, T-2 toxin levels as low as 15 ppb could be detected in artificially contaminated foods by EIA within 1 hr (without pre-purification). The simplicity, sensitivity and specificity of the EIA should make it the preferred method for monitoring T-2 toxin in foods.

(Received May 31, 1988)

高温多湿のわが国では食品の安全性を考える時、食品に発生するかびの存在は無視できない。トリコセセン系のかび毒である T-2 toxin (T-2) は、赤かび病の麦に産生するフザリウム属のかびが生産する赤かび毒であり、食中毒等ヒトおよび家畜に被害を与えることで知られている。これらのかび毒(マイコトキシン)の分析手段に現在バイオテクノロジーの技術により種々のモノクローナル抗体が量産され市販されている。前報の Aflatoxin の EIA 分析に続き、今回赤かび毒の一つである T-2 の EIA 分析を試みたところ、二三の知見が得られたので報告する。

## 実験方法

### 1. 実験材料

用賀町周辺で購入した豆菓子類 (ボンゴ豆, カッシューナッツ, ポップコーン), 穀類 (小麦, とうもろこし, 大豆, 内地米), 離乳食 (野菜フレーバー, 混合野菜, ほうれん草ミルク入り, 混合果実, 魚野菜, 牛肉野菜) 天然果汁 (アップルジュース, ミックスフルーツジュース)

### 2. 試薬

- 2.1. 試薬および有機溶媒類は市販の試薬特級品, 水は超純水製造装置により精製した純水
- 2.2. T-2 EIA 用キット (宇部興産㈱)
- 2.3. T-2 標準品 (和光純薬㈱)
- 2.4. メタノール (和光純薬㈱, 試薬特級品)

### 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 ㊄E-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 TLC Scanner CS-930

### 4. 実験操作と結果

#### 4.1. 方法

食品 50g を細切均一化し, 豆菓子と穀類は T-2 標準液 15 ppb を添加し Fig. 1, 2 の方法により T-2 を抽出する。また離乳食類はろ過し, 遠心分離 (10000 回転) する。何れも Fig. 3 に示す EIA 法にしたがって処理する。得られた Well 中の T-2 を Subst-

rate solution で発色させ, 2 波長プレートリーダーで測定 (432, 630 nm) する。これらの値を同様に処理して得た T-2 標準液の検量線 (濃度と吸光度の片対数表) によって定量値を求める。

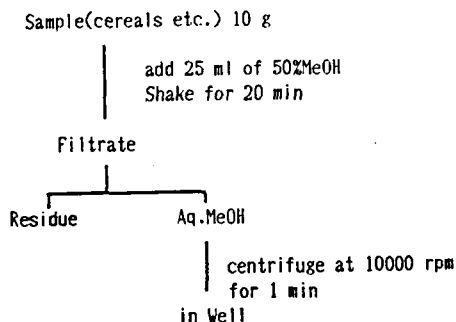


Fig. 1. Extraction and clean-up of T-2 toxin in cereals

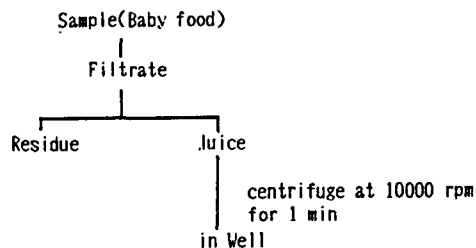


Fig. 2. Extraction and clean-up of T-2 toxin in baby food

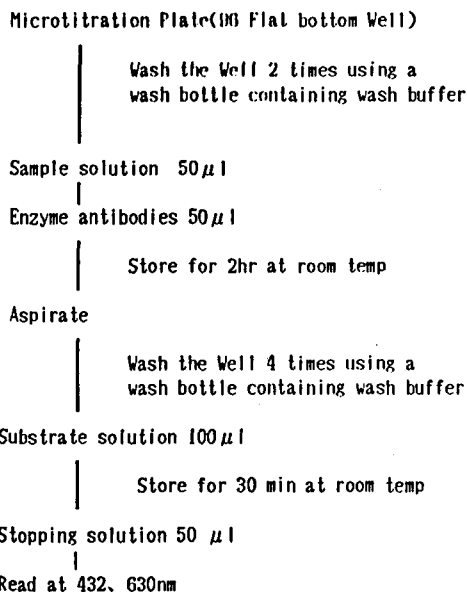


Fig. 3. Enzyme immunoassay procedure for the determination of T-2 toxin

4.2. 検量線

T-2 の検量線を Fig.4 に示す. 標準溶液濃度が 0.4~100 ppb の定量が可能であった. T-2 の EIA 用のキットの再現性は優れており, 検量線は5組のキット間の相違はほとんど認められなかった.

4.3. 安定性

① 0.4, 1.2, 3.7, 11.1, 33.3, 100, 300 ppb の T-2 標準液について EIA を行い, 得られた well 中の T-2 を Substrate solution で黄色溶液とし, 吸光度を測定する (Fig. 5).

② 食品からの T-2 抽出液を EIA 処理し①と同様に発色し吸光度を測定する (Fig. 6). ①, ②何れも 1.5時間後迄は変化しない.

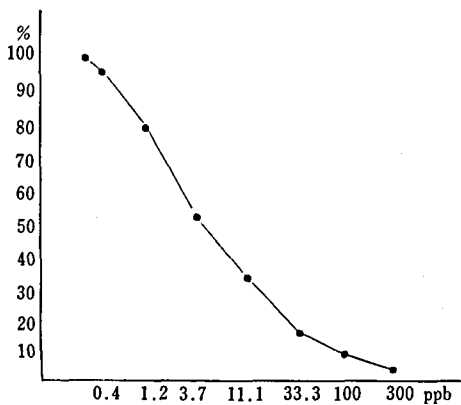


Fig. 4. Calibration curve for T-2 toxin by EIA

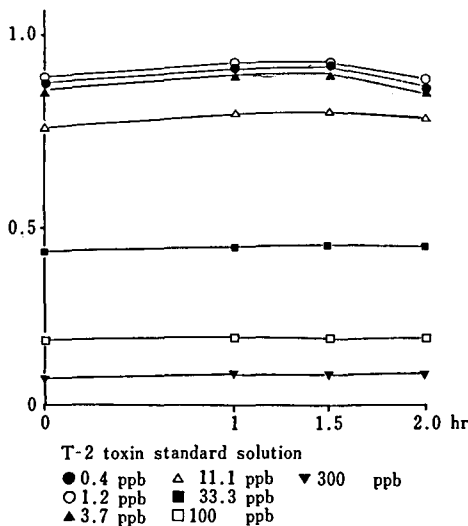


Fig. 5. Stabilities of color of reaction mixtures after adding stopping reagent in T-2 toxin standard solution

③ 吸光度測定用の試料を, 4℃ の冷蔵庫に保存し経時変化をみたが, 10日間保存しても吸光度は変化しない (ボンゴ豆を除く).

4.4. 回収率

ボンゴ豆, カッシュナッツ, ポップコーン, 小麦, とうもろこし, 大豆, 内地米に T-2 標準液 (希釈用緩衝液で調整した標準液) 15 ppb を添加し, 50% MeOH (純水あるいはキット中の希釈用緩衝液で調整したもの) と MeOH (抽出後純水等量で希釈あるいは希釈用緩衝液で希釈したもの) 抽出液の試料について EIA を行い, 得られた Well 中の T-2 の吸光度を測定し回収率を求めた (Table 1). EIA キット用希釈緩衝液を使用して調整した 50% MeOH よって抽出したカッシュナッツ, ポップコーン, とうもろこし中の T-2 は 100, 112, 100% 回収した. その他の食品の回収率は優れた結果を示さなかった. 何れの試料

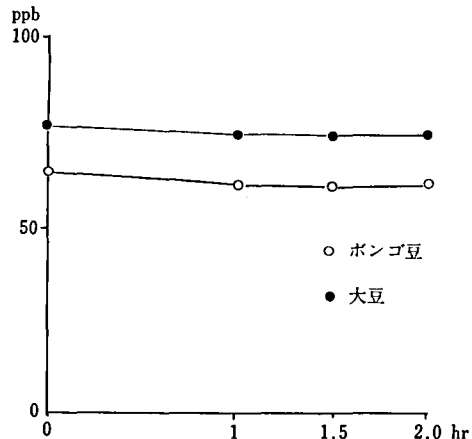


Fig. 6. Stabilities of color of reaction mixtures after adding stopping reagent in beans

Table 1. Recovery of T-2 toxin added to foods

Sample	50% MeOH		MeOH	
	①%	②%	③%	④%
ボンゴ豆	280	895		378
カッシュナッツ	191	100	92	
ポップコーン	20	112	42	
小麦	83	86	33	
大豆			37	24
とうもろこし	8	100	75	38
内地米		17	35	23

- ① 純水で調製
- ② キット中の緩衝液で調製
- ③ MeOH 抽出液を純水で2分の1に希釈
- ④ " 抽出キット中の緩衝液で希釈

も3検体分析したが回収率は、ほぼ同様の値を示した。

### ま と め

EIA 法は分析用使用器具と廃液量が他の分析方法に比べて極端に少ない、分析対象物質への特異性、高感度、簡易性に優れ、さらに肉眼での定性分析も可能等かび毒分析に適した分析方法である。われわれは既に Aflatoxin の EIA 分析法を検討し前報に報告した。今回は T-2 toxin の EIA 分析用のキットによる分析を行った。T-2 toxin 用の EIA キット中の標準液は、0.4~100 ppb の範囲で良好な検量線が得られた。そしてそれらは豆菓子類（カッシュナッツ、ポップコーン）と穀類（とうもろこし）に 15 ppb 添加した試料と共に優れた再現性を示した。これらは T-2 toxin 抽出用と標準液の作製にはキット中の緩衝液で調整した 50% MeOH を使用したものが最もよい回収率を

示した。assay 終了後 Well 中で発色した試料は 1.5 時間の範囲で安定であった。一般に EIA 分析は分析対象化合物に特異的な分析法であるので、分析において前処理の簡易化が図られることを特徴としているが、食品種の違いで、添加回収実験結果に差があった。

EIA キットによるかび毒分析はキット毎の再現性は優れており複数のプレートによる分析が可能である。また assay 後 1 枚のプレート (96 well) を 1~1.5 分という短時間測定が可能であり、その他インターフェース内のプレートリーダーを使用することで膨大な試料の調査が容易になる。これらは今後かび毒汚染実態の把握に期待できる手法と思われる。

終わりに、EIA 用キットを御提供頂きました宇部興産株式会社開発研究部に対し深く感謝いたします。

本研究はヒューマンサイエンス振興財団の長寿関基礎科学研究の一環として行った。

## 家庭用浄水器の衛生性に関する基礎的検討

杉田たき子・石綿 肇・高山澄江・一戸正勝

### Chemical and Microbiological Examinations of Home-Water Purifiers

Takiko SUGITA, Hajimu ISHIWATA, Sumie TAKAYAMA and Masakatsu ICHINOE

Chemical and microbiological examinations of home-water purifiers and activated charcoals packed in them were carried out. Charcoals contained from 0.5 to 2.7 ppm of zinc but not detectable concentration of lead and cadmium. No or less microorganisms was also detected in the charcoals. Migration of silver into water from silver-treated charcoals was between 33 and 79 ppb, but increased to 333 ppb when slight acidified water with diluted nitric acid was used. Silver concentration in the effluent from water purifiers when they were attached to faucets was less than 5 ppb though out a 4-week examination period. Microorganisms in effluent increased up to  $48 \times 10^4$  cfu/ml in 200 ml of a forerun after 3 weeks, but decreased to less than  $10 \times 10^2$  cfu/ml or less after 5L of effluent was discarded.

(Received May 31, 1988)

近年、家庭用浄水器の普及率が著しく高まっている。市販品の多くは水道の蛇口接続型および卓上型である。水道水はそのまま飲用できるにもかかわらず、さらに浄水器を用いる理由としてカルキ臭の除去などが挙げられる。しかし、浄水器の使用により内蔵活性炭からの溶出物や塩素除去の結果として起こり得る器内での微生物の繁殖など二次的な問題が起こる可能性もある<sup>1,2)</sup>。また、微生物の繁殖の対策の1つとして銀処理活性炭を使用した浄水器も広く使用されている。このような活性炭では、さらに銀の溶出についても考

慮しなければならない。

そこで、家庭用浄水器について特にその衛生性に関わる活性炭の材質および溶出試験ならびに浄水器の使用時における銀の溶出と微生物の出現とについて検討を行った。

## 実験方法

### 1. 試料

市販の家庭用浄水器にもちいられている銀処理および無処理活性炭、ならびに銀処理活性炭を使用してい

る水道蛇口直結型および導管接続型浄水器 2 器種。設置場所は当所新館 3 階および 2 号館 1 階実験室の 2 カ所。

2. 装置

原子吸光度計日立 518 型 (フレーム式)。

3. 活性炭中の重金属の定量

115°C で 3 時間乾燥した活性炭 5 g を精秤し、50% 硫酸 5 ml および濃硝酸 1 ml を加え、弱火で硫酸の煙がなくなるまで加熱した。500°C で灰化したのち、濃硝酸 5 ml を加え、水浴上で加熱乾固した。ふたたび濃硝酸 1 ml を加え加熱し水で 25 ml とし、原子吸光度測定用検液とした。

4. 銀の溶出試験

乾燥活性炭 2 または 4 g を採り蒸留水 100 ml を加え、各種条件下で浸出を行った。東洋ろ紙 No. 5C を用いてろ過し、初流液 30 ml を捨て、その後のろ液に終濃度 0.5N となるように硝酸を加えて原子吸光度測定用検液とした。

5. 活性炭中の細菌検査

無菌的に採取した活性炭 10 g を生理的食塩水 90 ml に入れ、35°C で 1 週間保持した液を試料液とし細菌学的検索を行った。チオグリコロト培地による MPN 法により陽性となった試料液の 1 ml を採り、トリプトソイ平板、GAM 平板に培養した。

6. 通水試験

接続型浄水器 2 種を水道蛇口に直接あるいは付属の導管を用いて接続し、毎分 2L の流速で通水した。初流水 2L を採取し、続いて 3L を捨て、その後の 2L を分取してそれぞれ検水とした。各分取水の初めの 200 ml は微生物試験用とし、試験終了後の残液は各

分取液にもどした。

7. 通水試験水中の銀の測定

検水 1L に濃硝酸 1 ml を加え、ロータリーエバポレーターを用いて約 65°C で濃縮乾固した。残留物に 0.5N 硝酸 25 ml を加え原子吸光度測定用検液とした。

8. 通水試験水の細菌試験

一般細菌測定には標準寒天培地を用い、培養条件は 35°C、48 時間および 25°C、6 日間とした。大腸菌群は乳糖ブイヨン法で検索を行った。1 試料当たり 5 枚のペトリ皿を用い、出現する菌集落のうち、代表株を保存培地 (半流動標準寒天) に分離した。グラム染色、カタラーゼ反応、オキシダーゼ反応等、常法に従って同定を行った。

結 果

1. 活性炭中の重金属

3 社 4 点 (銀処理 3 点および無処理 1 点) の活性炭について鉛、亜鉛、カドミウム含量を測定した。結果を Table 1 に示す。鉛およびカドミウムは検出限界以下 (それぞれ 0.5 ppm, 0.1 ppm) であったが、亜鉛は 0.5~2.7 ppm 検出された。なお、銀については活性炭の灰化時にルツボに熔着し、回収率が非常に低いため、現在灰化法について検討中である。

2. フラスコ内での活性炭からの銀の溶出

浄水器から銀処理活性炭を取り出し、各種条件下で溶出試験を行った時の結果を Table 2 に示す。硝酸酸性水<sup>3)</sup>で 10 分間煮沸した場合、333±64 ppb の溶出が認められた。蒸留水を用いて煮沸 10 分または 25°C あるいは 30°C で 1 時間浸漬を行った場合は 33~79 ppb の銀の溶出が認められた。銀の溶出は静置より

Table 1. Determination of heavy metals in charcaol packed in water purifiers

Sample	Pb	Zn	Cd
	(ppm, mean ± SD, n=5)		
1 Ag-treated	nd	2.7 ± 1.1	nd
2 Ag-treated	nd	1.1 ± 0.1	nd
3 Ag-treated	nd	0.5 ± 0.2	nd
4 non-treated	nd	2.5 ± 0.7	nd

Detection limits: Pb, 0.5 ppm; Cd, 0.1 ppm  
Recoveries of these metals when 50 μg of Pb, 50 μg of Zn or 5 μg of Cd was spiked to 5g of the sample 4 were 87.2 ± 3.3, 94.8 ± 3.8 and 102.6 ± 2.6%, respectively.

Table 2. Release of silver from silver-treated charcaol into solvents under several conditions (mean±S.D.)

Sample (g)	Solvent	Volume (ml)	Temp. (°C)		Time (min)	Ag (ppb)
2	acidic water*	100	boil	-	10	333±64
2	dist. water	100	boil	-	10	79±9
2	dist. water	100	25	shake	60	64±12
2	dist. water	100	30	shake	60	57±13
2	dist. water	100	25	not shake	60	35±5
2	dist. water	100	30	not shake	60	33±5
4	dist. water	100	30	shake	60	59±9
4	dist. water	100	30	not shake	60	47±8

\*distilled water containing 0.1 ml of diluted (1-100) nitric acid

Table 3. Concentration of silver and microorganisms in the effluent from water purifier containing silver-treated charcaol

Day	Sampling fraction	Direct connection		Tube connection		
		Ag (ppb)	Microorganisms (cfu/ml)*	Ag (ppb)	Microorganisms (cfu/ml)*	
		35°	25°	35°	25°	
0	0-2L	1.3	0.6	0.4	52	34×10
	5-7L	1.1	0	0.4	3	26×10
2	0-2L	1.3	30	59	2.0	12×10 <sup>2</sup>
	5-7L	1.3	0	4	1.5	18×10
4	0-2L	1.7	10×10	8×10	2.2	44×10 <sup>2</sup>
	5-7L	1.2	5	3	1.8	17×10 <sup>2</sup>
7	0-2L	2.1	89×10 <sup>2</sup>	19×10 <sup>3</sup>	3.5	20×10 <sup>3</sup>
	5-7L	1.5	2	2	3.5	21×10
14	0-2L	1.9	12×10 <sup>4</sup>	14×10 <sup>4</sup>	1.7	56×10 <sup>3</sup>
	5-7L	1.5	0.4	0	2.2	8×10
21	0-2L	3.2	48×10 <sup>4</sup>	46×10 <sup>4</sup>	3.0	19×10 <sup>4</sup>
	5-7L	1.9	10	12	3.1	96×10
28	0-2L	2.4	45×10 <sup>3</sup>	25×10 <sup>4</sup>	4.7	19×10 <sup>4</sup>
	5-7L	1.7	6	28	2.1	10

\*200ml of a forerun of each fraction  
 Recovery of silver added to the tap water at 2.5ppb level was 89.6±13.4% (mean±S.D., n=3).  
 Temperature indicates the incubation temperature of microorganisms.

振とうで高く、25°C と 30°C では差がなかった。また、試料の量を2倍用いても銀の溶出濃度に大きな差はみられなかった。

硝酸酸性水-煮沸10分および蒸留水-煮沸10分の条件によって得たろ液 5ml に銀 500ng を添加したときの回収率は、それぞれ 88.9±2.3% および 98.9±19.6% であった。

### 3. 活性炭中の細菌数

7社、13点(銀処理7点、無処理6点)の活性炭について試験した。一般細菌数試験では全て陰性であったが、チオグリコロート培地による増菌培養で、銀処理活性炭3検体、無処理活性炭1検体が陽性となり、トリプトソイ平板培地、GAM 平板培地で好気性菌 *Bacillus* 属の発育をみたが、いずれも菌量は極めて少なかった。

### 4. 通水による銀の溶出と微生物の流出

家庭用浄水器を水道に接続して銀の溶出と微生物の流出について4週間、初流液 2L および 5L 目から

7L 目までの 2L について試験を行った(設置場所は新館)。微生物試験では各分取液の初めの 200ml についての結果である。結果を Table 3 に示す。

銀の溶出の最高値は蛇口直結型で28日目の 4.7ppb であった。初流液と 5L 目の流出液とでは、前者で僅かながら高い値が認められた。

一方、初流液における細菌数は、直結型においては1週間目、導管型においては2日目に 10<sup>3</sup>cfu/ml の細菌が出現し始めた。5L 通水後には直結型ではいずれの時期でも法定数<sup>4)</sup>以下の菌量であった。導管型では5L 通水後でも 35°C 出現菌が2日以降3週間目まで 10<sup>2</sup>~10<sup>3</sup>cfu/ml に達していた。25°C 出現菌では使用直後で 26×10<sup>3</sup>cfu/ml の菌量がみられ、以後、5L 通水後でも 10<sup>3</sup>cfu/ml レベルを維持した。なお、本実験を行った季節は冬期ではあるが空調の不調から実験室内の気温が 17~38°C と、国内における一般的な使用室内の温度としてはかなり高い条件であった。



Table 4. Change of the concentration of microorganisms in the effluent of water purifier containing silver-treated charcoal

Week	Sampling fraction <sup>#1</sup>	Direct connection		Lead-tube connection	
		Incubation temperature			
		35°	25°	35°	25°
Number of microorganism (cfu/ml)					
0	0L	0.5	0.5	44×10	91×10
	5L	n.d. <sup>#2</sup>	n.d.	n.d.	n.d.
1	0L	78	13×10	18×10	76×10
	5L	n.d.	n.d.	0	45
3	0L	41×10 <sup>2</sup>	11×10 <sup>2</sup>	11×10 <sup>2</sup>	16×10 <sup>2</sup>
	5L	34	46	6	37
4	0L	12×10 <sup>2</sup>	23×10 <sup>2</sup>	52	12×10 <sup>2</sup>
	5L	29	33	0	36
5	0L	14×10 <sup>3</sup>	14×10 <sup>3</sup>	11×10	11×10
	5L	20	27	0	34
6	0L	61×10 <sup>2</sup>	15×10 <sup>2</sup>	20×10	n.d.
	5L	8	20	0	n.d.
8	0L	14	62	42×10	88×10
	5L	0	7	0	27
12	0L	18	17×10	0	72
	5L	0	17	0	2
16	0L	9×10 <sup>2</sup>	11×10 <sup>2</sup>	n.d.	n.d.
	5L	95	14×10	n.d.	n.d.
20	0L	54	27×10	93×10	10×10 <sup>3</sup>
	5L	0	67	7	20×10

<sup>#1</sup> 200ml of a forerue of each fraction

<sup>#2</sup> not determined

### 5. 長期通水試験における細菌数の変動

別に、当所2号館1階の実験室に上記実験と同一種類の別の浄水器を設置して長期使用による流出菌数の変化を調べた。その結果をTable 4に示す。実験期間中の気温は25±5℃であった。初流水においては3週間目より10<sup>3</sup> cfu/mlの細菌が出現しはじめるが、5L通水時には法定<sup>4)</sup>菌数以下に減少した。使用4～5カ月では5L通水後でも100 cfu/mlを超える場合もみられた。Table 3に示した結果に比べ、流出菌数が少なかった。

## 考 察

家庭用浄水器の衛生性について基礎的な検討を行った。浄水器に用いられている活性炭については食品添加物公定書収載の規格<sup>3)</sup>で十分対応できるものと思われる。銀処理活性炭に関しては、浄水器から取り出して溶出試験を行った場合は50 ppb前後の銀の溶出がみられたが、通水試験では銀の溶出は5 ppb以下であった。しかし、銀の使用目的である殺菌性に関して

みると微生物の出現量からみて必ずしもその効果は十分ではなく、効果の過剰信頼は危険である。また、殺菌効果を上げるために銀の溶出濃度をあげるような処理法は逆に飲料水の安全性の問題に関わるものと思われる。

一方、出現細菌では腸内細菌は検出されておらず直接衛生問題に結びつくものではない。微生物の繁殖は結果に大きな開きがあった。その理由として、主として実験室の気温の差によるものとおもわれる。また、給水系が異なることも原因の1として考えられる。いずれにしても、実際の使用にあっては初流液を捨てるなどの注意は必要と考えられる。

## 文 献

- 1) 坂川 勉：食品衛生研究, 35, 39 (1985)
- 2) 古畑勝則, 松本淳彦：水道協会雑誌, 56, 31 (1987)
- 3) 厚生省：第5版食品添加物公定書 p.183 (1986)
- 4) 水道法, 177号 (昭和32年)

## アルミニウム製なべからの食品擬似溶媒中への重金属の溶出

杉田たき子・石綿 肇・義平邦利

Migration of Heavy Metals into Food-Simulating Solvents  
from Aluminum Pans

Takiko SUGITA, Hajimu ISHIWATA, Kunitoshi YOSHIHIRA

The release of heavy metals from aluminum pans into food-simulating solvents was determined. The migration of  $61 \pm 14$  and  $27 \pm 3$  ppb of copper and  $93 \pm 6$  and  $76 \pm 26$  ppb of lead into the solvent was observed, respectively, when 4% acetic acid was boiled in both surface-treated and non-treated pans, but not in a water and 0.5% sodium bicarbonate solution. No cadmium, chromium nor zinc was detected in any food-simulating solvent when left standing at  $20 \pm 3^\circ\text{C}$  for 24 hr or upon boiling for 10 min or 2 hr.

(Received May 31, 1988)

食品用器具に用いられるアルミニウム製品は通常0.1%以下の銅や亜鉛との合金が、また、一部の製品では0.35%以下のクロムとの合金が用いられている<sup>1)</sup>。アルミニウム製なべからの食品擬似溶媒中へのアルミニウムの溶出については既に報告した<sup>2)</sup>が、アルミニウムの溶出時に上記重金属が同時に溶出することが考えられる。

今回、上記3種類の重金属に加えて、プラスチック製食品用品の材質規格で規定されているカドミウムおよび鉛<sup>3)</sup>についてアルミニウム製なべからの溶出試験を試みたので報告する。

## 方 法

## 1. 試 料

次に示す市販の手付きなべを用いた。

a) アルミニウムなべ：表示容量1.6 l，内径15.0 cm，深さ9.0 cm，内表面積600 cm<sup>2</sup>，水を満たしたときの容量1.6 l。

b) アルマイトなべ（銀白色）：表示容量1.2 l，内径15.5 cm，深さ5.9 cm，内表面積476 cm<sup>2</sup>，水を満たした時の容量1.1 l。

## 2. 重金属測定用試験溶液の調製

試料を中性洗剤で洗浄したのち、水でよくすすぎ、蒸留水で洗い風乾した。試験は同一ロットの製品3点ずつを一群として行った。溶出用液は中性食品の代りに水を、酸性食品の代りに4%酢酸を、また、アルカリ性食品の代りに0.5%炭酸水素ナトリウム溶液を用いた。試験はすべて同一材質製の添付のふたをして行

った。試験溶液の作製条件は次の通りである。

a) 室温24時間<sup>4)</sup> 溶出用液は、ふたの下面から5 mm下の所まで満たした。液量はアルミニウムなべで1400 ml，アルマイトなべで800 mlであった。この時の室温は、 $20 \pm 3^\circ\text{C}$ であった。

b) 煮沸10分<sup>5)</sup> 溶出用液はなべの上端から2 cm下まで満たした。液量はアルミニウムなべで1200 ml，アルマイトなべで700 mlであった。加熱は600Wの電熱器を用い、スライダックを接続して弱く沸騰が続くように調節した。

c) 煮沸120分<sup>5)</sup> 溶出用液を容量の2/3量入れた。液量は、アルミニウムなべで1000 ml，アルマイトなべで700 mlであった。電熱器を用い、弱く沸騰が続くように調節した。120分後に減少した液量の分を水を用いて補正した。

## 3. 重金属の測定

試験溶液に終濃度0.1Nとなる様に濃硝酸を加えた液を原子吸光法用試験溶液とした。標準液は原子吸光分析用標準液を用いた。原子吸光度計は日立Model-518（フレーム式）を用い、測定波長は、カドミウムで228.8，クロムで357.9，銅で324.8，鉛で283.3，および亜鉛で213.8 nmである。また、感度は2.0，測定時間は5秒とした。本方法におけるカドミウム，クロム，銅，鉛，および亜鉛の検出限界は溶出液中の濃度としてそれぞれ，10，25，25，50および25 ppbである。

## 結果および考察

## 1. 回収率

アルマイト製なべを用い、0.5% 炭酸水素ナトリウム溶液を2時間煮沸した液に各重金属を検出限界の10倍濃度となるように添加したときの回収率は Table 1 の通りであった。

## 2. 重金属の溶出量

水、4%酢酸、0.5%炭酸水素ナトリウム溶液中へのカドミウム、クロム、銅、鉛、亜鉛の溶出量を Table 2 に示す。アルミニウム製、アルマイト製両なべ共に、いずれの溶出条件でもカドミウム、クロム、亜鉛の溶出は認められなかった。4%酢酸を用い、煮沸2時間でアルミニウム製品から  $61 \pm 14$  ppb の銅、 $93 \pm 6$  ppb

Table 1. Recoveries of heavy metals from migration solutions

Heavy metal	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn
Spiked (ppb)	100	250	250	500	250
Recovery (%)	$98.7 \pm 1.2$	$74.7 \pm 1.2$	$99.2 \pm 0.7$	$117.3 \pm 1.2$	$103.5 \pm 1.8$

Heavy metals were spiked in the 0.5% sodium bicarbonate solution boiled for 2 hr in a surface-treated pan. The spiked amounts were 10 times of each detection limit of heavy metals.

Table 2. Release of heavy metals to food-simulating solvents from aluminum pans

Solvent	Material	Condition	Cd					Cr		Cu		Pb		Zn	
			( ppb )												
Water	non-treated	20±3°C 24 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 10 min	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 2hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	surface-treated	20±3°C 24 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 10 min	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 2 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4% Acetic acid	non-treated	20±3°C 24 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 10 min	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 2 hr	nd	nd	61±14	93±6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	surface-treated	20±3°C 24 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 10 min	nd	nd	27±3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 2 hr	nd	nd	nd	76±26	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
0.5% NaHCO <sub>3</sub> solution	non-treated	20±3°C 24 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 10 min	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 2 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	surface-treated	20±3°C 24 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 10 min	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
		boil, 2 hr	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Detection limits of Cd, Cr, Cu, Pb and Zn were 10, 25, 25, 50 and 25 ppb.

の鉛の溶出が認められた。また、アルマイト製品からは煮沸2時間で  $76 \pm 26$  ppb の鉛の溶出が認められた。煮沸10分では  $27 \pm 3$  ppb の銅が検出されたが、煮沸2時間では認められなかった。これらの値は検出限界に非常に近い値であった。

なお、4%酢酸を2時間煮沸したときのアルミニウムの溶出量はアルミニウム製品で  $501 \pm 5.3$  ppm、アルマイト製品で  $161 \pm 16$  ppm である<sup>2)</sup>。

## 文 献

- 1) JIS 4000 アルミニウムおよびアルミニウム合金の板および条 (1982)
- 2) Inoue, T., Ishiwata, H., Yoshihira, K.: *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 599 (1988)
- 3) 厚生省告示第20号 (昭和57年2月16日)
- 4) 厚生省告示第84号 (昭和61年4月1日)
- 5) International Organization for Standardization: ISO/TC 107/SC 6N (1982)

## 家庭用ポップコーン製造器の合成樹脂製部品からの溶出液の蒸発残留物試験

石綿 肇・杉田たき子・山本 都・山田 隆・義平邦利

### Residue on Evaporation of the Migration Solution of the Plastic Part of Corn Poppers

Hajimu ISHIWATA, Takiko SUGITA, Miyako YAMAMOTO,  
Takashi YAMADA, and Kunitoshi YOSHIHIRA

The migration amounts of residue on evaporation into a food-simulating solvent from plastic parts of two corn poppers obtained from the Niigata Quarantine Office were determined to be 7 and 11 ppm. Release of heavy metals was less than 1 ppm in both samples. These results were in conformity with the specifications of the Japanese Food Sanitation Law.

(Received May 31, 1988)

合成樹脂製の器具については、食品衛生法により規格が設定されている。近年、家庭用のポップコーン製造器が輸入されるようになり、一部のものについて使用されている合成樹脂製の部品から溶出する蒸発残留物が規格値を超えるものもみられ問題となっている。

今回、韓国製の家庭用ポップコーン製造器について食品衛生法に規定されている蒸発残留物試験を行ったので報告する。なお、同法による重金属試験は、蒸発残留物試験と同じ試験溶液を用いることができるので重金属の溶出についても試験を試みた。

#### 試 料

新潟検疫所から送付された家庭用ポップコーン製造器(2台)の噴き出し口に使用されている合成樹脂製部品 Fig. 1.

#### 試験溶液の調製

試料を少量の水で洗ったのち、60℃に加熱した4%酢酸600mlを入れた内径23cmのシャーレ中に、食品が接する面を下にして置いた。シャーレをガラス板で覆い、60℃の恒温水槽中に30分間放置して試験溶液を調製した。この時の液面の高さは2cmであり、

食品に接する面(237cm<sup>2</sup>)のうち154cm<sup>2</sup>および食品に接しない面120cm<sup>2</sup>が4%酢酸と接した。したがって

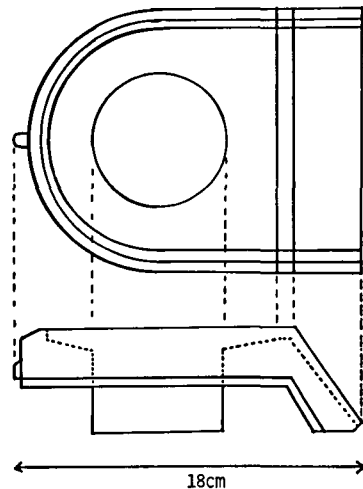


Fig. 1. 家庭用ポップコーン製造器の被験部品の見取り図  
上: 上面より, 下: 側面。

て、本法では  $1\text{cm}^2$  当たり浸出液  $2.19\text{ml}$  に相当しており、結果の表示は  $2\text{ml}/\text{cm}^2$  となるように計算補正した。なお、表面積の測定は物差しで長さを測定し、その結果に基づいて算出した。

#### 蒸発残留物の測定

試験溶液  $200\text{ml}$  を採り、ロータリーエバポレーターで約  $20\text{ml}$  に濃縮した。濃縮液を石炭皿に移し少量の水で洗い込んだのち、沸騰水浴上で蒸発乾固した。これを  $105^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$  の乾燥器中に2時間放置したのち、デシケーター（シリカゲル）中で50分間放冷し、Mettler AC 100 で重量を測定した。別に、4%酢酸  $600\text{ml}$  をシャーレ中で  $60^\circ\text{C}$  で30分間加温して空試験を行った。

#### 重金属の測定

食品添加物公定書<sup>1)</sup>による重金属の測定法によった。すなわち、試験溶液  $20\text{ml}$  をネスラー管に採り、水を加えて  $50\text{ml}$  とし、硫化ナトリウム試液2滴を加え混和した。5分間放置後、生成した混濁を比較液と比較した。比較液は、4%酢酸  $20\text{ml}$  をネスラー管に採り  $10\text{ppm}$  鉛標準液  $2\text{ml}$  および水を加えて  $50\text{ml}$  としたのち、試験溶液と同様に処理した。

以上、測定はすべて同一試験溶液について2回ずつ行った。

### 実験結果および考察

蒸発残留物および重金属の測定結果を Table 1 に示した。入手した試料は、2検体共に食品衛生法の規格<sup>2)</sup>（蒸発残留物は  $30\text{ppm}$  以下、重金属は  $1\text{ppm}$  以下）に適合し、蒸発残留物は試料1で  $7\text{ppm}$ 、試料2では  $11\text{ppm}$  であった。また、重金属は両者共に  $1\text{ppm}$  以下であった。

今回用いた方法は、片面浸漬ではあるが、試料の形

Table 1. Residue on evaporation and heavy metals released from a plastic part of imprted corn poppers

	Sample 1	Sample 2
Evaporation residue	7 ppm	11 ppm
Heavy metals*	nd	nd

\* detection limit: 1 ppm

Migration conditions: 4% acetic acid at  $60^\circ\text{C}$  for 30 min.

状の関係で食品と接する面すべてを浸漬しておらず、また、食品と接しない部分の一部も4%酢酸に浸漬されている。

なお、参考までに、以上の実験に用いた試料に付いて、再度、両面浸漬法による溶出試験を試みた。即ち、 $60^\circ\text{C}$  に加温した4%酢酸  $2014\text{ml}$  に試料（全表面積  $1007\text{cm}^2$ ）を浸漬し、 $60^\circ\text{C}$  で30分間放置して試験溶液とした。以後、前記の方法により蒸発残留物および重金属を測定した。両面浸漬した場合は、食品と接する面は全て浸漬できるものの、食品とは接触しない裏側の面、特に、ネジ穴やバリを削り取った部分まで溶出試験の対象となるが、蒸発残留物は試料1で  $7.5\text{ppm}$ 、試料2で  $6.5\text{ppm}$  であった。また、重金属は両者共に  $1\text{ppm}$  以下であった。この結果は、すでに溶出試験に用いた試料について再度試験して得られた結果であり、あくまで参考値にすぎないが、試料の裏面からの蒸発残留物の溶出もそれほど大きなものとは思われなかった。

### 文 献

- 1) 厚生省：食品添加物公定書，p. 20 (1986)
- 2) 厚生省告示 434 (1966. 10. 4)

## 食品添加物用タルクの抽出液の液性について

石綿 肇・杉田たき子・義平邦利

## pH of the Aqueous Extracts from Talc Prepared for the Food Additive

Hajimu ISHIWATA, Takiko SUGITA, Kunitoshi YOSHIHIRA

The pH of the aqueous extract from talc manufactured for use as food additive was determined according to the methods designated in the Japanese Standards of Food Additives V (the existing law) and IV. The pH's of the extract solutions as determined by a pH meter were between 8.7 and 9.2 against the standard of between 6.0 and 8.0. When litmus papers were used (the method in IV), the pH's of the extract solutions were indicated as neutral.

(Received May 31, 1988)

第四版食品添加物公定書 (第四版)<sup>1)</sup> によるタルク規格のうち液性は、リトマス紙を用いて中性であることを確認する方法であったが、現行の第五版食品添加物公定書 (第五版)<sup>2)</sup> では pH メーターを用い、液性の範囲が 6.0~8.0 と改定された。最近、従来と同一の方法で製造したタルクの液性が規格値を外れるもの

が多いこと、また、pH 値が大きくばらつくことが問題となった。そこで、食品添加物用タルクの液性について試験を行い、若干の知見を得たので報告する。

## 方 法

## 1. 試 料

Table 1. Talcs and Those pH Values of the Aqueous Extracts Examined in other Laboratories

Sample No.	Maker	pH value		
		Self exam.	Entrusted exam.	Guarantor
1	A	8.7	8.7	a
2	A	8.9	9.0	a
3	A	8.7	8.9	a
4	B	8.0	8.8	b
5	B	8.2	8.7	b
6	B	8.2	8.8	b
7	C	8.3		
8	D	9.2		
9	D	8.9		
10	D	9.0		
11	E		8.7	c
12	E		8.6	c
13	E		8.6	c

厚生省食品化学課より送付された試料を Table 1 に示す。これらの試料は、いずれも食品添加物として製造されたものであり、第五版の方法により自社で pH を測定した結果、および厚生省指定検査機関等で行われた試験結果が添付されていた。

## 2. 装置および試薬

1) pH メーター：TOA pH Meter Model HM-20E (東亜電波工業)

2) フィルターホルダー：マイクロフィルター 6164 (柴田化学器械)

3) メンブランフィルター：直径 47mm, 孔径 0.45  $\mu\text{m}$  (Toyo membrane filter cellulose nitrate type TM-2, 東洋ろ紙科学産業)

4) 標準緩衝液：pH 6.86 および 9.18 (和光純薬)

5) リトマス紙：赤および青 (東洋ろ紙科学産業)

## 3. 測定法

第五版の方法によった。すなわち、試料 10g を量り、水 100 ml を加え、水浴上で 2 時間加熱し、冷後、メンブランフィルターを装着したフィルターホルダーを

用いて吸引ろ過した。少量の水で残さを洗い、ろ過し、ろ液を合せて 100 ml とし pH を測定した。

比較のため、第四版の方法によっても測定した。すなわち、試料 10g に水 50 ml を加え、蒸発する水を補いながら 30 分間煮沸し、冷後水を加えて初めの容量とし、ガラスろ過器 (3G4) で吸引ろ過し、ろ液の pH を測定した。

pH の測定は、pH メーターを用い、残液についてリトマス紙で液性の確認を行った。

## 結果および考察

結果を Table 2 に示す。現行法 (第五版) で試験した時、pH は、いずれの試料とも 8.7~9.1 と非常に狭い範囲内にあった。また、同一試料について第四版の方法でろ液の調製を行った場合、その pH は、8.8~9.2 の範囲であった。第五版の方法による測定値は第四版の方法による測定値より平均で pH 0.1 低い値を示したにすぎず、試料間のバラツキ、ろ液の調製法の違いによる差はほとんどみられなかった。

Table 2. pH of the Aqueous Extracts from Talcs for Food Additive

Sample No.	Extraction Methods		$\Delta$ pH (pH(V) - pH(IV))
	V method	VI method	
1	8.7	8.8	-0.1
2	9.1	9.1	0
3	8.8	8.9	-0.1
4	8.8	8.9	-0.1
5	9.0	9.0	0
6	9.0	9.0	0
7	8.8	8.8	0
8	8.8	9.1	-0.3
10	8.9	9.0	-0.1
11	8.9	9.1	-0.2
12	9.0	9.0	0
13	8.9	9.0	-0.1
14	8.9	9.2	-0.3
Mean			-0.1

Litmus test papers indicated that all samples were neutral in both extraction methods.

以上の結果、ろ液の pH は、製品間の差がほとんどないこと、抽出溶液の量あるいはろ過法の違いによって変化するものではないことが確認された。Table 1 に示した各機関における pH の測定結果および著者らの得た結果を比較すると、同一機関内における数値のばらつきが少ないこと、むしろ機関ごとの差が大であること、また、一部の自社検定値が我々および指定検査機関等の結果よりも低い値を示していることが明らかである。

なお、第四版では、液性の測定には pH メーターを用いず、リトマス紙を用いてろ液が中性であることを確認することになっている。そこで、リトマス紙を用いてろ液の液性を調べたところ、第五版および第四版の方法によって得られた両ろ液ともに、赤色、青色ともに変色は見られなかった。したがって、本実験に用いた試料は液性に関しては、いずれも第四版食品添加物公定書適合品であり、第五版で不適合となった理由として、測定法が改変されたことによるものと考えられる。

リトマスの変色域は pH 4.5 (赤) - 8.3 (青) とされている<sup>3)</sup> が、リトマス紙を用いて試験した限りにおいては、いずれの試料ともその変色は認められなかったので、リトマス紙の他に、BTB 紙、万能 pH 試験紙 (東洋ろ紙科学産業) pH Box (Merck) 等の各種 pH 試験紙を用いて液性をみたが、いずれもほぼ中性

を示した。

一般に、ガラス電極はイオン濃度が低く、緩衝能の低い溶液の pH を正確に測定することは難しいとされている<sup>4)</sup>。このような場合、中性塩を加え、外挿法により pH を算出することもある。そこで、一部のろ液に 30 mM となるように KCl または NaCl を添加して pH メーターで測定したところ 6.8~7.8 を示した。

第四版および第11改正日本薬局方<sup>5)</sup>では、緩衝能のほとんどないと考えられる検液の液性についてはリトマス紙を用いるか、あるいは遊離アルカリ等の規定とし、指示薬を用いて変色を見たり、一定量の酸あるいはアルカリを添加して指示薬の変色の有無を見ている。今後、タルクをはじめとして、ケイソウ土、パーライトなど不溶性鉱物性物質の水抽出液の液性の測定法についてはさらに検討が必要と思われる。

## 文 献

- 1) 厚生省：第四版食品添加物公定書，p. 265 (1978)
- 2) 同上：第五版食品添加物公定書，p. 321 (1986)
- 3) The Merck Index (10th Ed.) p. 794 (1983)
- 4) 第五版食品添加物公定書解説書，p. B93 (広川書店) (1987)
- 5) 厚生省：第11改正日本薬局方，pp. 570, 1124, 1133, 1170 (1986)

## グリチルリチン酸の摂取量に関する研究 (第1報)

神蔵美枝子・中里圭子・谷村顕雄

### Estimation of Daily Intake of Glycyrrhizic Acid According to the Market Basket Studies in Japan (I)

Mieko KAMIKURA, Keiko NAKAZATO and Akio TANIMURA

According to the market basket studies proposed by the Ministry of Health and Welfare, the same kinds of foods were collected at Sapporo, Sendai, Tokyo, Kofu, Nagano, Osaka, Wakayama, Matsue and Kitakyushu in November 1982, divided into 8 groups of foods (Table 2). The glycyrrhizic acid in each group was analyzed by gas chromatography as methylester of glycyrrhetic acid. The estimated daily intake of glycyrrhizic acid per person was 1.39 mg (Table 3). The content of this substance in various foods of each group was found to be 0~100.9 mg/kg, but was not detected in miso (soy bean paste). The results are shown in Table 4 and Figs. 2 and 3.

(Received May 31, 1988)

グリチルリチンは甘草 (*Glycyrrhiza glabra* Linné var. *grandulifera* Regel et Herder) の根茎を水で

浸漬処理して得られ、ナトリウム塩としたものはグリチルリチン酸二ナトリウムおよびグリチルリチン酸三



ナトリウムが食品添加物、甘味料として昭和44年2月1日指定された<sup>1)</sup>。本食品添加物はしょう油およびみそに対して、使用量の制限なしに使用できる。また、甘草根の水浸出液を濃縮して得た甘草抽出物は天然甘味料として、使用制限なしに種々な食品に用いられている。

食品添加物の1日摂取量調査に関しては、ソルビン酸、BHAなどの食品添加物を対象として昭和55年度より実施してきたが、本研究はその一環として、改良マーケットバスケット方式（厚生省食品化学課方式）<sup>2)</sup>によるグリチルリチン酸の摂取量調査につき分担し、全国10機関において調製した試料を対象として分析を行い、1日摂取量を求めた<sup>3)</sup>。また、各群を構成する個々の食品につきグリチルリチンの分析を行い、各群の摂取量に、どのような食品が寄与しているかを明らかにしたので報告する。

## 実験の部

### 1. 試料

各分担研究機関（Table 1）の所在地における大型（東京）、中型（大阪、東京）、中小スーパー（仙台、和歌山、北九州）、地元小売店（札幌、山梨、長野、島根）で、昭和47年11月上旬から中旬にかけ各食品を購入した。食品の購入品目数は各分担研究機関によっても異なるが、おおむね300食品程度であった。

各食品はTable 2に示すとおり8食品群に分類した。各食品群は混合均一化する際、必要に応じ水を加えて均一試料を調製した。試料は冷凍貯蔵した。

### 2. 試薬

クロロホルム、メタノール、アンモニア水（比重、約0.90）など、すべて試薬特級品を用いた。

### 3. 装置

ガスクロマトグラフ：島津ガスクロマトグラフ GC-4CM

Table 1. Samples

No.	Laboratory	Abbreviation
1	Sapporo City Institute of Public Health	Sapporo
2	Sendai Municipal Institute of Public Health	Sendai
3	Tama Branch Laboratory, Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health	Tokyo (Tama)
4	Yamanashi Institute of Public Health	Yamanashi
5	Nagano Research Institute for Health and Pollution	Nagano
6	National Institute of Hygienic Sciences, Osaka Branch	Osaka
7	Wakayama Prefectural Institute of Public Health	Wakayama
8	Shimane Prefectural Institute of Public Health	Shimane
9	Kitakyushu municipal institute of Environmental Science	Kitakyushu
10	National Institute of Hygienic Science	Tokyo (Koku-Ei-Shi)

Table 2. Component of each group in improved market basket method (the Ministry Health and Welfare's method)

Group	Component	Daily intake (g)
I	Soy sauce, Sauces "Sake", Beverages etc.	350.0
II	Cereals (Bread, Sweetened breads, Noodles) etc.	125.0
III	"Miso" (Soy bean paste), "Konnyaku", "Tofu" etc.	82.5
IV	Fish and shellfish (Raw, Canned, Dried), "Tsukudani," Fish ham and sausage, Ham etc.	60.0
V	Oil and fats, Milk and its products, Ice cream	62.5
VI	Confectioneries (Candies, Rice cracker, Biscuits), Nuts etc.	49.5
VII	Canned fruits (Peach, Pineapple, Cherry etc.) "Tsukemono" etc.	37.5
VIII	Instant curry, Salad, Fried fish etc.	27.6
	Total	794.1

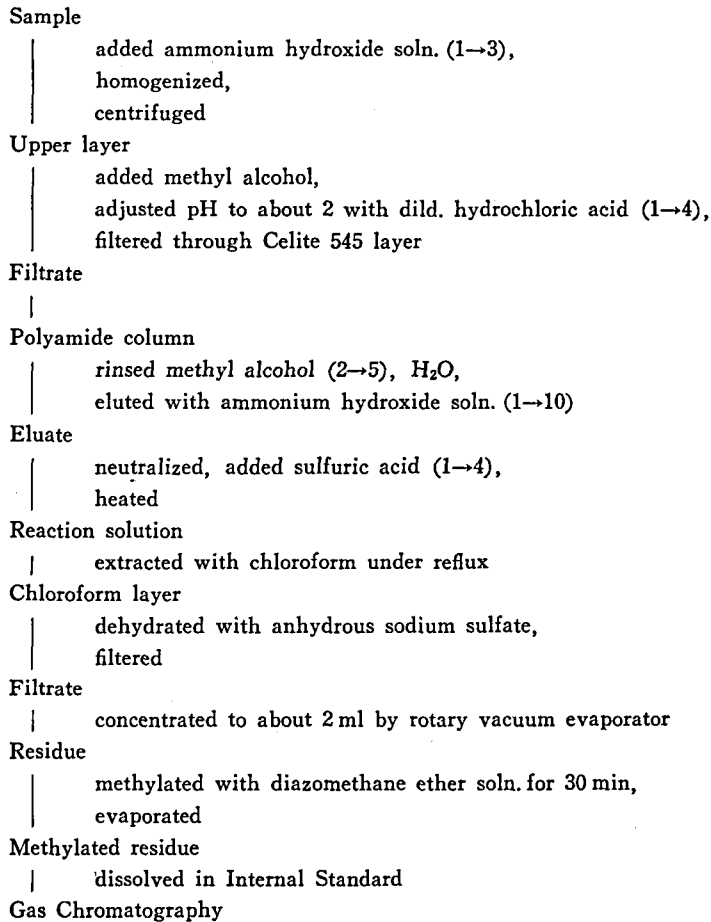


Fig. 1. Analytical procedure for glycyrrhizin

#### 4. 分析方法

試料については 10~30 g, 食品の場合は 10~50 g をとり, 食品中の食品添加物分析法<sup>4)</sup> によった。ただし, 試料をアンモニア水 (1→3) とホモジナイズレ, 遠心分離後の抽出液は, pH 2 に調整し, セライト 545, 2 g を敷いたろ過器を用いてろ過した後, ろ液をポリアミドカラムに加えた。

ガスクロマトグラフィー (GC) の条件

カラム: OV 17 3 mm i. d. × 100 cm

カラム温度: 290°C

注入口温度: 310°C

窒素流量: 65 ml/min

分析方法を Fig. 1 に示す。

#### 結果および考察

##### 1. 添加回収結果

国衛試の試料を用いてグリチルリチンの回収率を調

べた結果は, 添加レベル 30 µg/g で 61~82% であった。炭水化物, 脂肪, デンプンなどからなる多種な食品を含む試料からの回収率としては, ほぼ満足すべき結果と考える。

なお, 試料からのグリチルリチン酸の検出限界は 10 g 中 10 µg (1 ppm 添加レベル) であった。

##### 2. グリチルリチン酸の摂取量

10機関, 各 8 群, すなわち, 80 試料についてグリチルリチンを分析したところ, 51 試料からグリチルリチン酸が検出され, 検出率は 63.8% で, そのうち, VII 群は 90% の検出率を示した。各群からのグリチルリチン酸の摂取量は平均で, I 群からの摂取が 0.66 mg と最も高く, ついで VII 群, IV 群の順であった。1 日総摂取量は山梨, 長野が最も低く, 東京, 大阪はほぼ近似の値を示し, 仙台, 和歌山, 鳥根では大都市よりもやや高く, 北九州は最高の値を示した。また, 食品の購入先, すなわち, 中小スーパーグループ (仙台, 和歌

Table 3. Daily intake of glycyrrhizic acid

Sample	Group	Daily intake (mg)								Total daily intake (mg)
		I (mg)	II (mg)	III (mg)	IV (mg)	V (mg)	VI (mg)	VII (mg)	VIII (mg)	
Sapporo		0	0	0	0	0.28	0.22	0.17	0.21	0.88
Sendai		1.22	0	0	0.27	0	0	0	0	1.49
Tokyo(Tama)		0	0	0	0.34	0	0.22	0.54	0	1.10
Yamanashi		0	0	0	0	0	0	0.24	0	0.24
Nagano		0	0	0	0	0	0	0.29	0	0.29
Osaka		0	0	0	0.39	0	0	0.53	0.14	1.06
Wakayama		1.15	0	0	0	0.31	0.28	0.31	0	2.05
Shimane		2.09	0	0	0	0	0	0.22	0	2.31
Kitakyushu		2.11	0	0	0.43	0	0.35	0.25	0.12	3.26
Tokyo(Koku-Ei-shi)		0	0	0	0.49	0	0.33	0.32	0.11	1.25
Average		0.66	0	0	0.19	0.06	0.14	0.29	0.06	1.39

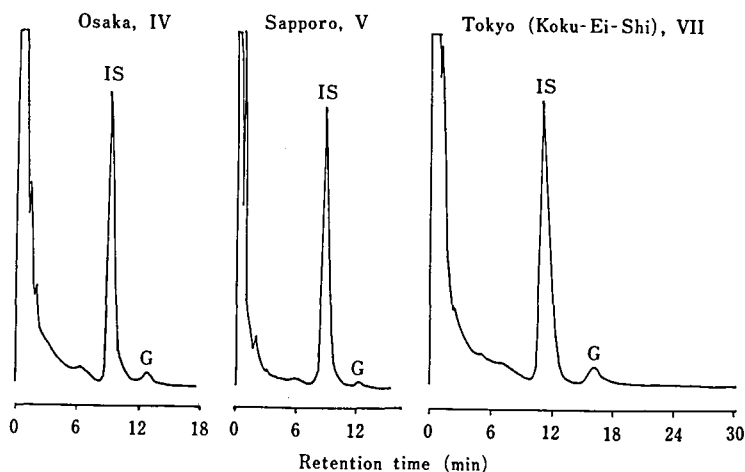


Fig. 2. Gas Chromatograms of Glycyrrhizin in Samples

G: Methyl ester of glycyrrhetic acid produced from glycyrrhizic acid

IS: Methyl ester of dehydrocholic acid as internal standard

Gas chromatograph: Shimadzu GC-4CM

GC Condition: Column; OV 17 3 mm i. d. × 100 cm, temperature; column 290°C, injection port 310°C, carrier gas; N<sub>2</sub> 65 ml/min

山、北九州)で、やや高いように思われるが、そのほか特にならぬ特異性はみられなかった。

これらの結果を総括すると、グリチルリチン酸の1日総摂取量の平均値は1.39 mgで、その46.8%がI群の調味嗜好料からであった。

Table 3にグリチルリチン酸の摂取量を、Fig. 2にグリチルリチン酸が検出された試料のガスクロマトグラムを示す。これらの結果からも明らかなように、GC法ではグリチルリチン酸の定量を妨害するピークは観察されず、感度よくグリチルリチン酸が定量できた。

### 3. 試料の調製に用いた食品中のグリチルリチンの分析

国衛試の試料の調製に用いた食品のうち、グリチルリチン酸の摂取と関係のあると思われる食品につき、グリチルリチン酸の分析を行い、どのような食品がグリチルリチン酸の摂取に関与しているかを調べた。

I群を構成する食品のうち、10食品について分析した結果、ソースから100.9 mg/kgのグリチルリチン酸が検出された。また、しょう油からもわずかに検出された。

III群のみそについては3銘柄ともNDであった。

IV群の8食品については、かまぼこから、100.0 mg/kg, 焼ちくわから 13.3 mg/kg, 19.7 mg/kg のグリチルリチン酸が検出された。

V群では4食品について分析したところ、氷菓(みぞれ)から 9.7 mg/kg のグリチルリチン酸が検出された。

VI群ではせんべいから 100.8 mg/kg, かりんとう, 甘納豆, あんからもグリチルリチン酸が検出された。

VII群ではたくあん漬, 奈良漬, つくだ煮, みかんのカン詰からグリチルリチン酸が検出された。

VIII群では, おつまみのさきいか, ピーナッツバター, あめ, のりつくだ煮からグリチルリチン酸が検出された。

以上の結果を Table 4 に, ガスクロマトグラムを Fig. 3 に示す。

グリチルリチンの分析については, メチル化, トリメチルシリル化後, ガスクロマトグラフィーによる方法などがあり, 近年になり, 高速液体クロマトグラフィーによる分析法が種々検討されているが<sup>5,6)</sup>, 保持時間に対する塩類, 食品成分の影響を無視し得ない場合もあるといわれる。本研究において対象とする食品は多種, 多様であり, これらの食品からの妨害物質の移行も極めて複雑であることが予想される。したがって, あらゆる食品につき, 分析上の妨害の少ない方法を選択する必要がある, ガスクロマトグラフ法を用いたところ, 妨害もなく良好な結果を得た。

甘草根は中国, 中近東等から輸入されるが, 輸入量は平均およそ 600 トンといわれる。これから抽出, 製品化されるグリチルリチン酸は約 168 トン程度で, この値から 1人1日当たりのグリチルリチン酸の消費量を求めると約 4.2 mg となる。

グリチルリチンには抗炎症作用などの種々な薬効があり, また, 長期間大量摂取により低カリウム血症, 頭痛などの副作用を現わすことが報告されている。昭和53年2月13日, 厚生省薬務局通達は「グリチルリチン酸を含有する医薬品等の取扱いについて」<sup>7)</sup>のなかで1日の最大配合量が 40 mg 以上のときは使用上の注意事項を義務づけた。

本調査の結果から, 食品を通じてのグリチルリチン酸の摂取量は注意が必要とされる量よりもはるかに少ないことがわかった。

## ま と め

改良マーケットバスケット方式によるグリチルリチン酸の1日総摂取量は最低 0.24 mg, 最高 3.26 mg, 平均 1.39 mg であった。

Table 4. Analytical results of glycyrrhizin

Group	Food	Glycyrrhizic acid, (mg/kg)
I	Soy sauce	1.4
	"	ND
	"	ND
	"	2.1
	Worcester sauce	ND
	Sauce	100.9
	Sour milk beverage	ND
	Tomato ketchup	ND
II	Cider	ND
	Fruit Juice	ND
	"Miso"(Soy bean paste)	ND
	"	ND
III	"	ND
	"	ND
	"	ND
IV	"Kamaboko"(Fish paste)	ND
	"	100.0
	"Yakichikuwa"(Fish paste)	ND
	"	13.3
	"	19.7
	"Gomokuage"	ND
	"Tsukudani("Namaami")	ND
Meat ham	ND	
V	Frozen dessert("Mizore")	9.7
	Sherbet	ND
	Coffee milk	ND
	Ice cream	ND
VI	Jam	ND
	Biscuit	ND
	"Senbei"(Rice cake)	100.8
	"Amanatto"	1.4
	"Karinto"	8.9
	Sponge-cake	ND
	"An"("Azuki" bean paste)	1.7
	"Kintsuba"	ND
VII	"Fukuzinzuke"	ND
	"Takuanzuke"	51.9
	"Rakkyozuke"	ND
	"	ND
	"Narazuke"	11.2
	"Tsukudani"("Konbu")	34.4
	Mandarin orange, canned	3.8
VIII	"Sakiika"	91.9
	"Ame"	1.0
	"	ND
	Peanut butter	41.0
	"Kuri Kanrozuke"	ND
	"Tsukudani"("Nori")	1.6

ND < 0.5 µg/g

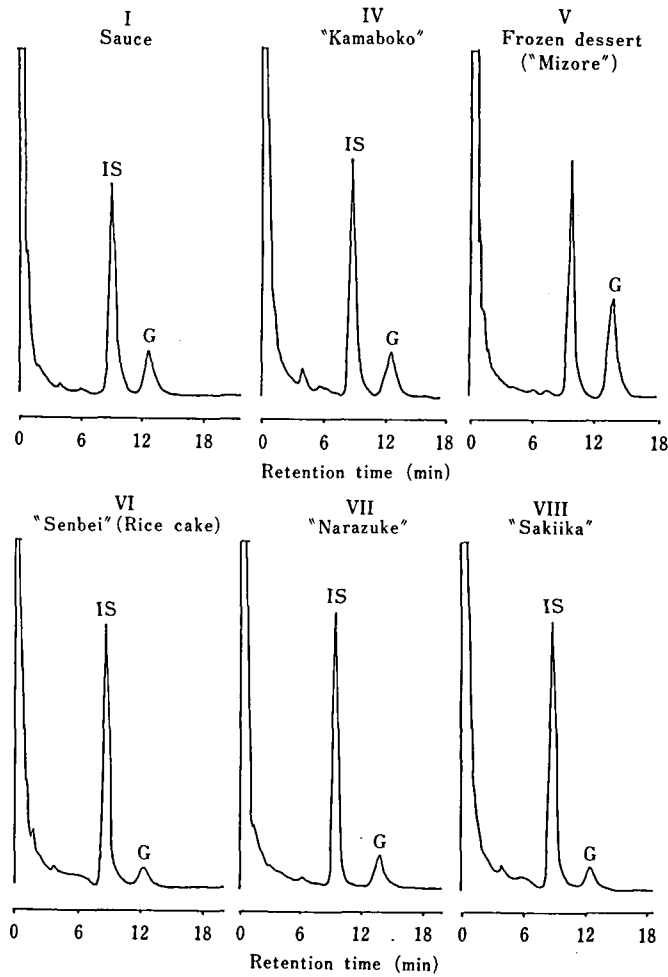


Fig. 3. Gas Chromatograms of Glycyrrhizin in Foods Refer to Fig. 2.

また、各群を構成する個々の食品についてグリチルリチンの分析を行い、調味料、菓子類、つけもの、魚肉ねり製品、つくだ煮類等から、おおむね 1~100 mg/kg のグリチルリチン酸が検出された。したがって、これらの食品が各群のグリチルリチン酸の摂取に寄与していることがわかった。

本調査の結果から、食品を通じて1日に摂取するグリチルリチン酸の量は、医薬品等に用いられる量よりも少なく、注意が必要とされる量の3.5%に過ぎなかった。

最後に、本研究を実施するに当たり、昭和57年度の厚生科学研究費の助成を受けた。記して謝意を表す。

本研究班（10機関）の構成は次のとおりである。  
 機 関 分担研究者  
 札幌市衛生試験所 白石由美子

仙台市衛生試験所  
 東京都立衛生研究所多摩支所  
 山梨県衛生公害研究所  
 長野県衛生公害研究所  
 国立衛生試験所大阪支所  
 和歌山県衛生研究所  
 島根県衛生公害研究所  
 北九州市環境衛生研究所  
 国立衛生試験所

加藤 丈夫  
 大西 和夫  
 深澤 喜延  
 原田 行雄  
 慶田 雅洋  
 伊藤蒼志男  
 豊田 正武  
 横山 剛  
 米田 孟弘  
 一色 賢司  
 神蔵美枝子

文 献

- 1) 第5版食品添加物公定書. p.211, 1986 厚生省
- 2) 厚生省環境衛生局食品化学課編：厚生省食品化学レポートシリーズ, 16, 51 (1982)

- 3) 神蔵美枝子, 中里圭子, 谷村顕雄: 日本食品衛生学会第46回学術講演会で発表, 昭和58年10月14日; 厚生省環境衛生局食品化学課編: 厚生省食品化学課レポートシリーズ, 31, 15 (1983); 豊田正武ら: 日本栄養・食糧学会誌, 36, 489 (1983)
- 4) 厚生省環境衛生局食品化学課編: “食品中の食品

添加物分析法”. p. 589 (1982) 講談社サイエンス・エッセイ

- 5) 加藤三郎: 衛生化学, 26, 318 (1980)
- 6) 北田善三ら: 食衛誌, 21, 354 (1980)
- 7) 厚生省薬務局通達: 薬発第158号, 昭和53年2月13日

## 規格基準設定のための冷凍野菜・果実類の真菌試験

成田紀子・鈴木明子・坂部フミ・宇田川俊一

### Mycological Survey of Frozen Vegetables and Fruits Products for Standardization Purpose

Noriko NARITA, Meiko SUZUKI, Fumi SAKABE and Shun-ichi UDAGAWA

A mycological survey of 40 frozen vegetables and fruits products composed of 10 samples collected from three food processing plants and 30 retailers was carried out to evaluate the safety of foods supplied from central kitchen systems. Most (92.5%) of the samples had a potato-dextrose agar plate count of less than  $10^2$  cfu/g. *Phoma* spp. and yeasts were the most common groups found, followed by *Exophiala*, *Penicillium*, and *Cladosporium*. High levels of contamination ( $1.1 \times 10^4$  and  $3.3 \times 10^3$  cfu/g) were only found in two samples of frozen sliced pineapple. *Penicillium funiculosum*, a freeze-resistant fungus, was most frequent in pineapple products and presumably came from the ingredients. Since many common contaminants such as *Exophiala*, *Phoma* and *Sporothrix* are known human opportunistic pathogens, the recovery of the fungi from frozen foods indicates a potential hazard to human health.

(Received May 31, 1988)

最近, 食生活の多様化に対応して, 食品の調理, 加工, 流通, 販売などの形態も急速に変化している。特に原材料の集中調理加工を経て, 配送, 販売または食事提供までの連続した過程を有するセントラルキッチン/カミサリー・システムを導入する企業(いわゆる外食産業)が急増し, 日本フードサービスチェーン協会の調べでは, 店舗は昭和60年度には全国で約35,000店に達したという。セントラルキッチンでは, 多種の食品特性の異なる原材料や食品を大量に扱うことから, 施設内の微生物制御など食品衛生上の管理を徹底させる必要があり, 厚生省では昭和62年1月20日付で「セントラルキッチン/カミサリー・システムの衛生規範」を制定し, 都道府県に通知を出した<sup>1)</sup>。

セントラルキッチン/カミサリー工場では, 通常調理加工場で製造した食品を急速冷凍し, 搬出するまで冷凍室で保管する。また店舗への製品配送も冷凍車で搬入している。そこで今回の調査では, 衛生規範の公示に先立ってセントラルキッチン/カミサリー・システムにおいて製造されている冷凍食品中特に真菌の一次汚染が危惧される野菜・果実類(原材料は輸入食品)

を対象に, 市販されている同種類の市販冷凍食品と合わせて微生物学的品質管理の実態を把握する目的で真菌試験を行った。

## 試験方法

### 1. 試料

昭和61年2月～3月にセントラルキッチン/カミサリー・システムの製造工場から流通前の冷凍野菜・果実類(冷凍ほうれん草, いんげん, フレンチフライドポテト, ベイクドポテト, ミックスベジタブル, カーネルコーン, スライスストロベリーなど)7品目10検体を採取し, 供試した。原産国は U. S. A. 8検体, 台湾2検体でスライスストロベリーを除く9検体は加熱後摂取食品である。製造年月日の判明しているものはわずかに3試料で, 昭和58年1月20日, 昭和60年4月13日, 昭和60年7月9日と記載されていた。

さらに, 昭和61年5月～6月, 市販されている冷凍食品(ミックスベジタブル, ホールカーネルコーン, 西洋いんげん, そら豆, ホールポテト, 栗かぼちゃ, ベビーキャロット, 冷凍パインなど)8品目30検体を

購入し、供試した。原料の原産国は U. S. A. 13検体、台湾 5 検体、記載なし10検体、国内 2 検体で、加熱後摂取食品28検体、無加熱摂取食品 2 検体である。製造年月日の表示は昭和60年11月15日～昭和61年 4 月16日までの間であった。

## 2. 真菌数の測定

食品衛生検査指針〔I〕検査法別<sup>2)</sup>に準拠した。まず各試料 10g をとり滅菌生理食塩水 90 ml を加え、ワーリングブレンダーで2分間処理し、試料の10倍希釈液を調製した。次にこの試料希釈液を用いて、常法により希釈し、 $10^{-2}$  および  $10^{-3}$  濃度の段階希釈液を調製した。9cm 径ペトリ皿に固めたクロラムフェニコール (50  $\mu\text{g/ml}$ ) 添加ポテト・デキストロース寒天培地 (栄研化学製, PDA) 平板上に各段階の試料希釈液 0.5 ml を塗抹し、23°C, 7日～10日間培養後、出現した真菌コロニーを測定し、最も適切な希釈段階の測定値を平均し試料 1g 当たりの真菌数を算定した。なお、各試料とも希釈段階ごとに3枚の PDA 平板を用いた。菌数測定後、出現したカビを PDA 斜面培地上に移植し、培養後、各菌のコロニーの性状および顕微鏡的形態を観察して同定を行った。

## 結果および考察

### 1. 製造工場からの冷凍野菜・果実類

Table 1 に示すようにセントラルキッチン/カミサリー・システムにおいて供与される冷凍野菜・果実類は3工場から全体で10試料の採取が可能となったが、B工場でのミックスベジタブル 1 検体を除き、いずれも g 当たり菌数  $10^2$  cfu 以下であり、特にポテト加工品は供試した3試料すべてが真菌非検出であった。検出された真菌の種類をみると、*Phoma* と酵母による汚染が広く認められた。そのほか、*Cladosporium*,

*Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* などの主要な好冷性中温菌が分離された点は、これまでの冷凍食品を対象とした調査結果<sup>3)</sup>と同様であった。

### 2. 市販冷凍野菜・果実類

市販試料30検体中、真菌が認められた24検体についての結果を Table 2 に示す。最も多数調査したミックスベジタブル、次に多かったホールカーネルコーンとともに g 当たり約 70 cfu の真菌検出が最高で特に菌数の面で非衛生的な試料は見当たらなかった。検出された真菌の種類は前述の製造工場からのものと同様に *Phoma* と酵母が主体であったが、そのほか黒色酵母とよばれる一群のカビ、すなわち *Aureobasidium*, *Exophiala*, *Hyphozyma*, *Sporothrix* などの検出がみられたことは注目される。*Exophiala*, *Phoma*, *Sporothrix* などのヒト病原性黒色真菌が食品から分離されることは Kazanas<sup>4-6)</sup>, 岩津ら<sup>7)</sup> が指摘しているように食品衛生上のみならず、医真菌学の分野からも注目され、消化管経由で病原性黒色真菌が体内へ侵入する可能性が考えられる。今後、潜在的な真菌症の感染源として食品汚染黒色真菌についての疫学的研究が必要と思われる。

冷凍パイナップルからは g 当たり  $10^3 \sim 10^4$  cfu という大量の真菌が発生し、そのほとんどが *Penicillium funiculosum* と同定された。Scott, Bernard<sup>8)</sup> は変敗したパイナップル—グレープフルーツ果汁から *Penicillium dangeardii* (テレオモルフ *Talaromyces flavus*) を耐熱菌として分離している。冷凍食品の保蔵温度 ( $-20^\circ\text{C}$  以下) では *Penicillium* の増殖は認められないので、このような大量の菌は原料から由来したものと推定される。また、*P. funiculosum* は凍結に対して耐性があるものと考えられる。

パイナップルについては調査されていないが、

Table 1. Fungal counts and their identification in frozen vegetables and fruit products, during processing at central kitchen systems

Products and maker	Fuugal counts per gram	Kind of fungi detected
Spinach, Factory A	$5.7 \times 10$	<i>Cladosporium</i> , <i>Phoma</i> , yeasts
French fried potato, Fac. A	0	
Baked potato, Fac. A	0	
Mixed vegetables, Fac. B	$7.0 \times 10^2$	<i>Phoma</i> , yeasts
Kidney beans, Fac. B	$3.0 \times 10$	<i>Fusarium</i> , unidentified fungi, yeasts
Fried potato, Fac. B	0	
Corn kernels, Fac. B	less than 10	yeasts
Spinach, Fac. B	less than 10	<i>Phoma</i>
Kidney beans, Fac. C	$3.0 \times 10$	<i>Chaetomium</i> , <i>Penicillium</i> , yeasts
Sliced straw berries, Fac. C	$2.7 \times 10$	<i>Mucor</i> , yeasts

Table 2. Fungal counts and their identification in retailed frozen vegetables and fruits products

Product and commercial brand*	Fungal counts per gram	Kind of fungi detected
Mixed vegetables "Brand D"	$7.0 \times 10$	yeasts
Mixed vegetables "D"	$3.0 \times 10$	<i>Phoma</i> , yeasts
Mixed vegetables "D"	$1.0 \times 10$	<i>Phoma</i> , yeasts
Mixed vegetables "D"	less than 10	yeasts
Mixed vegetables "D"	less than 10	yeasts
Mixed vegetables "E"	$5.0 \times 10$	<i>Exophiala</i> , <i>Sporothrix</i> , yeasts
Mixed vegetables "E"	$5.0 \times 10$	<i>Phoma</i> , Yeasts
Mixed vegetables "E"	$2.3 \times 10$	<i>Aureobasidium</i> , yeasts
Mixed vegetables "E"	$1.0 \times 10$	<i>Hyphozyma</i> , yeasts
Mixed vegetables "E"	less than 10	yeasts
Mixed Chinese vegetables "F"	$5.0 \times 10$	yeasts
Mixed vegetables "G"	$1.0 \times 10$	<i>Exophiala</i> , yeasts
Mixed vegetables "H"	less than 10	<i>Phoma</i>
Whole corn kernels "I"	$4.0 \times 10$	<i>Aureobasidium</i> , <i>Phoma</i> , yeasts
Whole corn kernels "I"	$1.3 \times 10$	<i>Phoma</i> , yeasts
Whole corn kernels "I"	$1.3 \times 10$	<i>Phoma</i> , yeasts
Whole corn kernels "I"	$1.3 \times 10$	<i>Phoma</i> , yeasts
Whole corn kernels "I"	$1.3 \times 10$	<i>Exophiala</i> , <i>Phoma</i> , yeasts
Whole corn kernels "J"	$1.0 \times 10$	<i>Phoma</i> , yeasts
Kidney beans "K"	$6.7 \times 10$	<i>Cladosporium</i> , <i>Phoma</i> , yeasts
Kidney beans "K"	$6.3 \times 10$	<i>Exophiala</i> , <i>Phoma</i> , yeasts
Broad beans "L"	less than 10	yeasts
Pineapple "M"	$1.1 \times 10^4$	<i>Penicillium</i>
Pineapple "M"	$3.3 \times 10^3$	<i>Penicillium</i>

\* No fungus detected from three samples of kidney beans, and each one of whole potato, squash and carrot, and these data were excluded from the table.

Beuchat, Nail<sup>9)</sup> は冷凍果実ピューレ11品目のカビ生菌数測定において特に汚染の著しい品目として、ブルーベリーの  $8.9 \times 10^3 \sim 1.2 \times 10^4$  cfu/g, 洋なし  $2.4 \times 10^3 \sim 6.2 \times 10^3$  cfu/g, グレープ  $2.6 \times 10^3 \sim 3.3 \times 10^3$  cfu/g など3種類を報告している。これらの測定値と比較した場合、今回の調査でのパインアップルの生菌数は著しく高く、その汚染は原料パインアップルの加工に際して洗浄除菌処理が不適切なまま冷凍し製造されたのが原因といえよう。

### ま と め

以上を総括すると、Table 3 に示すように試験した冷凍野菜・果実類の92.5%は真菌生菌数がg当たり100個以下ということで、市販製品はもちろんセントラルキッチン/カミサリー・システムにおけるこれらの食品の真菌を対象とした微生物学的規格基準を設定するとすれば、上記の真菌数g当たり100個以下のレベルが妥当であると思われる。なお、市販冷凍果実製品に真菌数の著しく高い試料が検出されたところから、微

Table 3. Summarized results on fungal counts in frozen vegetables and fruits products

Kind of product	No. of samples	Fungal counts per gram				
		0	<10	$10 \sim 10^2$	$10^2 \sim 10^3$	$>10^3$
Vegetables	37	9	7	20	1	0
Fruits	3	0	0	1	0	2
Total (%)	40	9 (22.5)	7 (17.5)	21 (52.5)	1 (2.5)	2 (5.0)



生物制御の上で原料に由来するカビの一次汚染防止を検討する必要がある。同時に製造工程での微生物学的品質管理面についても見直しが見込まれた。

本調査研究は昭和60年度厚生省生活衛生局食品衛生調査費によって実施した。

## 文 献

- 1) 厚生省生活衛生局：食品衛生研究，37 (2)，53 (1987)
- 2) 厚生省環境衛生局監修：食品衛生検査指針 [I]

検査法別，p.615 (1973)，日本食品衛生協会，東京

- 3) 宇田川俊一ら：衛生試験，93，142 (1975)
- 4) N. Kazanas: *Mycopathologia*, 95, 3 (1986)
- 5) N. Kazanas: *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 261 (1986)
- 6) N. Kazanas: *J. Food Prot.*, 50, 933 (1987)
- 7) 岩津都希雄ら：真菌誌，28，392 (1987)
- 8) V. N. Scott, D. T. Bernard: *J. Food Prot.*, 50, 18 (1987)
- 9) L. R. Beuchat, B. V. Nail: *J. Food Prot.*, 48, 312 (1985)

## 国立衛生試験所リボフラビン標準品 (Control 871)

徳永裕司・福岡正道・田中 彰

### Riboflavin Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences

Hiroshi TOKUNAGA, Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA

Riboflavin was tested for the preparation of "Riboflavin Reference Standard". Analytical data obtained were as follows; loss on drying: 0.12%, optical rotation:  $[\alpha]_D^{20} = -133.3^\circ$ , melting point: 298.0°C (decomposition), infrared spectrum: same as Riboflavin Reference Standard (Control 831), thin-layer chromatography: six contaminants, solubility: less than 14 min, assay: 100.5%.

This material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1988)

第十一改正日本薬局方 (JP XI) リボフラビンの定量，同散の定量に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) "リボフラビン標準品" (Control 871) を製造したので報告する。

#### 1. 原 料

東京田辺製薬㈱より購入した。

#### 2. 参照物質および試薬

日本薬局方標準品 (Control 831)，試薬は試薬特級品を用いた。薄層板はメルク社製プレーコートンリカゲル60を用いた。

#### 3. 装 置

島津 QV-50 型分光光度計，堀場 SEPA-200 型高速旋光光度計，日立270-30型赤外分光光度計を用いた。

#### 4. 試験方法

i) 乾燥減量，旋光度，定量は，JP XI リボフラビンの試験法を準用し，融点 (分解点) は，JP XI 一般試験法を用いた。

ii) 赤外吸収スペクトル：臭化カリウム錠剤法を用

いた。

iii) 薄層クロマトグラフ法：標準品 (Control 831) および原料を乾燥し，その約 1 mg を精密に量り，希水酸化ナトリウム試液 (0.1 N) 0.1 ml を加えて溶解後，メタノール 4.8 ml および 0.1 N 塩酸 0.1 ml を加え，標準溶液，試料溶液とする。標準および試料溶液 10 および 20  $\mu$ l ずつを薄層板にスポットする。次に，ジクロロメタン・メタノール・水酸化テトラメチルアンモニウム混液 (80 : 19 : 1) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後，薄層板を風乾する。長波長紫外線 (366 nm) を照射し，生じた蛍光スポットを観察する。

iv) 溶解度：標準品および原料を乾燥し，その約 10 mg を精密に量り，5% 酢酸 100 ml を加え，75  $\pm$  1°C に加熱し，リボフラビンの溶解を観察する。

#### 5. 試験成績

i) 性状：だいたい黄色の粉末で，わずかににおいがある。

ii) 乾燥減量：0.12% (0.5 g, 105°C, 2時間)

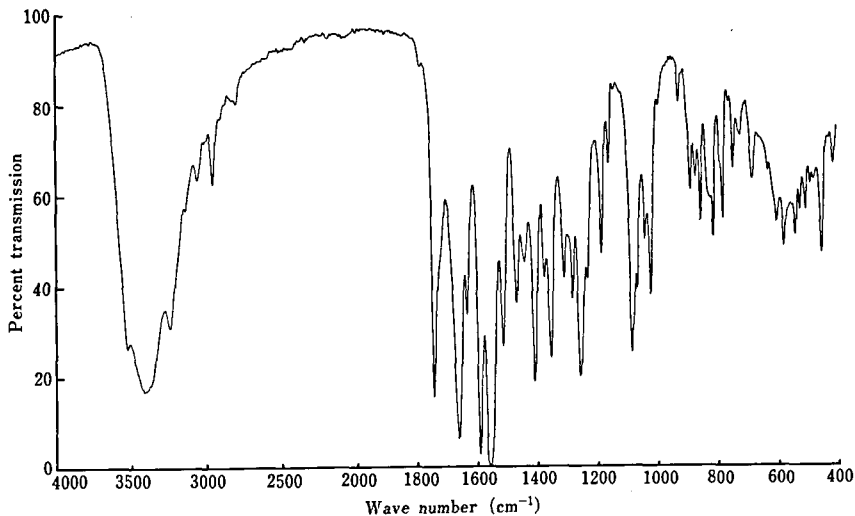


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Riboflavin Reference Standard (Control 871)

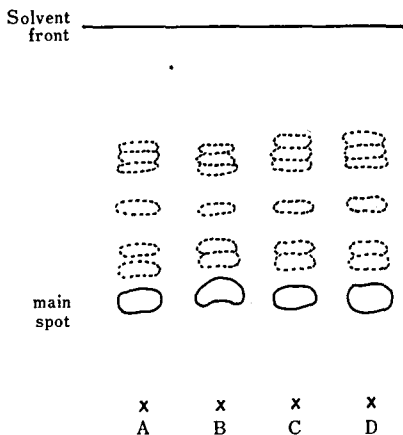


Fig. 2. Thin-layer chromatogram of Riboflavin  
 A, B: Japanese Pharmacopoeia Standard 10 µg, 20 µg  
 C, D: material 10 µg, 20 µg

- iii) 旋光度:  $[\alpha]_D^{20} = -133.3^\circ$
  - iv) 融点: 298.0°C (分解)
  - v) 赤外吸収スペクトル: Fig. 1 に示す.
- 標準品と同一のスペクトルを与えた。

vi) 薄層クロマトグラフ法: Fig. 2 に示す.

原料および標準品では、各6個の不純物の蛍光スポットが観察された。

vii) 溶解度: 14分以内に溶解した。

viii) 定量: 100.5%

### 結 論

標準品原料として入手したリボフラビンを日本薬局方標準品 (Control 831) 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、それぞれ6個の蛍光性不純物が検出され、その定量値は、100.5%であった。薄層クロマトグラフ法にて6個の蛍光不純物が検出されたのであるが、日本薬局方標準品にも同じように6個の蛍光不純物が検出されていることから、原料中の不純物はわずかであるものと考えられる。その他の測定結果等より、今回入手した標準品原料は国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認めた。

終りに、標準品の製造にあたり協力いただいた東京田辺製薬㈱に感謝します。

## 国立衛生試験所アスコルビン酸標準品 (Control 861)

徳永裕司・福岡正道・田中 彰

Ascorbic Acid Reference Standard (Control 861) of National  
Institute of Hygienic Sciences

Hiroshi TOKUNAGA, Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA

Ascorbic acid was tested for the preparation of "Ascorbic Acid Reference Standard". Analytical data obtained were as follows; loss on drying: 0.00%, optical rotation:  $[\alpha]_D^{20} = +21.6^\circ$ , melting point: 189.9°C (decomposition), infrared spectrum: same as the Ascorbic Acid Reference Standard (control 833), and assay: 99.9% by iodometry, 99.5% by 2,6-dichlorophenol indophenol method. This material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard.

(Received May 31, 1988)

第十一改正日本薬局方 (JP XI) アスコルビン酸散および同注射液の定量に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) "アスコルビン酸標準品" (Control 861) を製造したので報告する。

## 1. 原料

武田薬品工業(株)より購入した。

## 2. 参照物質および試薬

日本薬局方標準品 (Control 833) を用い、試薬は試薬特級品を用いた。

## 3. 装置

堀場 SEPA-200 型高速旋光光度計および日立 270-

30型赤外分光光度計を用いた。

## 4. 試験方法

i) 乾燥減量, 旋光度, 定量は, JP XI アスコルビン酸および同散の試験法を準用し, 融点 (分解点) は JP XI 一般試験法を準用した。

ii) 赤外吸収スペクトル: 臭化カリウム錠剤法を準用した。

## 5. 試験成績

i) 性状: 白色の結晶ではない。

ii) 乾燥減量: 0.00% (1g, シリカゲル, 24時間)

iii) 旋光度:  $[\alpha]_D^{20} = +21.6^\circ (+21.38^\circ, +21.83^\circ)$

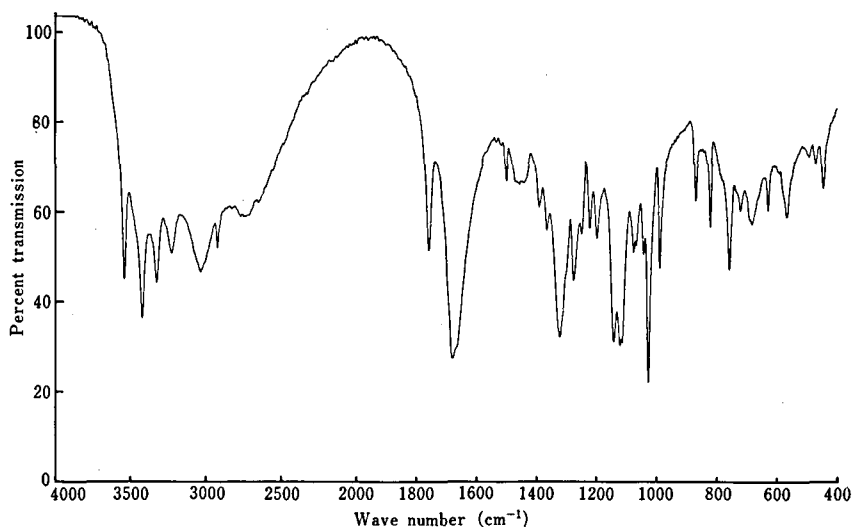


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Ascorbic Acid Reference Standard (Control 861)

+21.58°, 0.5 g, 水, 20 ml, 100 mm)

iv) 融点: 189.9°C (分解)

v) 赤外吸収スペクトル: Fig. 1 に示す.

日本薬局方標準品 (Control 833) と同一のスペクトルを与えた.

vi) 定量: ヨウ素法 -99.9%, 2,6-ジクロルフェノールインドフェノール法 -99.5%

## 結 論

標準品原料として入手したアスコルビン酸を日本薬局方標準品 (Control 833) と比較検討した. 各種の試験の結果, 今回入手した標準品原料が国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認めた.

終りに, 標準品の製造にあたり協力いただいた武田薬品工業㈱に感謝します.

# 業 務 報 告

## Annual Reports of Divisions

### 昭和 62 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、一昨年来検討されてきた当所の業務、組織の見直しについては、引き続き将来計画委員会を中心として作業が進められた結果、現在までに次のような改革案が作成された。

行政研究機関としての当所の役割と性格は従来から確立されており、現在でもその責務と必要性にはいささかの变化もないが、社会の需要の変化に伴い、業務の対象、手段および到達目標は大きく変化していることに鑑み、今回の改革案の基本的な考え方としては、一方では当所の責務を全所員が明確に認識することにより増大する業務に対し正当な優先順位によって適切に対応しやすくすること、他方、ますます学際化する新規業務に備えて、当所の保有する広い分野の人的、物的能力を効率よく発揮し得るようにすることの2点に集約される。これを前提に各部等における業務の見直しを行い、科学技術のすう勢や検定業務の縮小（62年6月から、ブドウ糖注射液等5品目が削除された）等の要因を勘案した結果、本所は、行政対応部門、研究支援部門および安全性評価部門より構成されるものとし、大阪支所には検定検査・標準品製造部門を集約する。また、薬用植物栽培試験場については、筑波を中心として薬用生物資源研究センターを創設し、なお、各分場の在り方については、各方面との調整を行いつつ、可及的速やかに方向を決めたいと考えている。

現在すでに上記の方針に沿い、一部の業務については、実施しており、部の名称等の変更については、64年度に行う計画である。

なお、62年8月厚生科学会議（厚生大臣の私的諮問機関）から「中間とりまとめ」が発表された。その中

で厚生省所管の試験研究機関について、米国 NIH を参考とした試験研究機関の在り方、試験研究機関の統廃合の検討等が言及されているが、これらの問題についてさらに検討するため63年度から「厚生省国立研究機関あり方検討委員会」（仮称）を発足させることになっている。また、政府は62年10月科学技術会議から諮問第13号答申を受け「国立試験研究機関の中長期的在り方の基本」を決定したが、その中でも国立試験研究機関の役割および研究組織の見直し等について提言されている。当所の性格あるいは目的等を基本的に改める必要はないが、今後、他機関の動きに伴って何らかの影響はでてくるものと予想される。

政府は62年4月、内需拡大および輸入促進を図るため約5兆円の補正予算編成を決定した。これに対し当所は、施設整備および研究用大型機器の購入費を要求したところ、6施設の改修工事費として約1050百万円、研究用大型機器（14点）の購入費として約679百万円の補正予算が認められた。これは通常予算要求では到底認められない金額であり、まさに千載一遇の好機に恵まれたといえる。関係部職員の多大の協力を得て、無事所期の目的を達成することができた。なお、購入した研究用大型機器は、当所の共通機器として所員の効率的な活用を期待している。

政府は62年11月下旬、東京都区部の過密解消、都市・産業機能の地方分散を図るべく、国の機関等の一部を地方に移転することを決定し、各省庁に対して移転対象機関の選定方を指示、これに対し各省庁は63年1月下旬31機関を提示した。しかし、これでは不十分であるとして、さらに国の機関等の移転についての基本方針を決定し、東京都区内に存在する約200機関に

については原則としてすべてを移転の対象とし、第2次の選定作業を行うこととなった。2月には当所の実情について調査事項の提出要求があった。当所としては3月、内閣内政審議室、国土庁、総務庁等に対し、移転には原則として反対である旨を申し入れているが、状況は極めて厳しいと予測している。

国際協力関係では、WHOの国際化学物質安全性評価計画(IPCS)の環境保健基準作成のための国際会議、国連食糧農業機関/世界保健機関(FAO/WHO)合同専門家会議等を始め、多数の国際会議への積極的な協力のほか、技術援助関係では、国際協力事業団等からの要請によるインドネシア、フィリピン、タイ等の薬品食品品質管理等プロジェクトに関する技術指導を始め、東南アジア、アフリカ等多数の国からの技術指導要請や研修員の受入れ要請等にこたえてきた。

全国衛生化学技術協議会第24回年会は、9月30日、10月1日国立公衆衛生院および東京都立衛生研究所の共催により都内で開催された。当所からは、「バイオテクノロジー利用医薬品の現状と試験法」(早川亮夫生物化学部第三室長)および「分析精度管理について」(斎藤行生食品部長)が発表された。

最後に、当所の第18代所長(昭和51年11月～昭和59年4月)を務められた下村孟先生が昭和63年3月1日急逝された。謹んで御冥福をお祈り申し上げる。

## 総 務 部

部長 志 多 良 介

### 1. 組織

昭和62年度は、生物化学部に増員1名(6カ月)が認められた。

### 2. 定員

昭和61年度末の定員は289名であったが、第7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名の定員削減および生物化学部における先端技術応用医薬品等の品質確保業務の強化に伴う研究職1名(6カ月)の増員により、昭和62年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)47名、行政職(二)31名、研究職206名、計286名となった。

### 3. 予算

昭和62年度の前年予算概要は次のとおりであった。

#### (1) 一般予算

予算額は2,770,475千円で前年度に比較して0.21%の増額となった。

増額の主な内容としては、①既定定員の昇給原資等

による人件費の増額42,967千円、②研究職1名(6カ月)増員による増額2,523千円、③標準品製造費の酢酸デキサメタゾン他4品目追加による増額1,227千円、④動物飼育員のメンテナンスへの振替(1名)に伴う増額3,492千円である。

また、新規予算としては、乱用薬物基礎研究費18,114千円(薬物の乱用、特に多剤乱用時の依存形成能とその薬物動態ならびに生体に及ぼす影響に関する研究)が認められた。

#### (2) 移替予算

予算額は、170,003千円で前年度に比較して22.95%の増額となった。

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遺伝子組換えを利用したラジオイムノアッセイの改良に関する基礎研究7,641千円、②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5,551千円)、国立機関公害防止等試験研究費において1課題(強毒性が予想される環境汚染物質の培養系を用いた低用量安全性検索法の確立に関する研究21,858千円)が認められた。

なお、昭和62年度の事項別予算額は別紙1のとおりである。

#### (3) 補正予算

補正予算で、施設整備費1,049,670千円および大型機器購入費678,750千円が認められた。

なお、内訳は別紙2のとおりである。

## 4. 施設整備等

昭和62年度の施設整備の概要は次のとおりであった。

### (1) 施設整備費

2号館鋼製建具改修および屋上防水工事(41,840千円)を行った。

### (2) 各所修繕(特別修繕)

本所5号宿舎屋上防水工事(2,933千円)を行った。

### (3) 官庁営繕費(建設省予算)

本所11号館外壁タイル等補修工事(18,058千円)、大阪支所3号館防水工事および9号館(動物舎)防水・外壁工事(12,864千円)ならびに同9号館空調設備工事(28,300千円)を行った。

## 5. 国家検定医薬品等の改正

### (1) 国家検定品目の削除

国家検定医薬品については、昭和62年5月8日厚生省告示第98号をもってブドウ糖注射液等5品目が削除された。

### (2) 標準品交付規程の一部改正

## 別紙 1

## 昭和62年度予算額

事 項	昭和61年度 (A)	昭和62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	2,764,662	2,770,475	5,813	
(項)厚生本省試験研究所				
国立衛生試験所運営費	2,520,807	2,566,562	45,755	
人 件 質	1,726,567	1,771,435	44,868	
人 当 経 費	7,463	7,409	△ 54	
一般事務経費	40,048	40,625	577	
研 究 費	222,470	218,585	△ 3,885	
特別研究費	16,078	16,078	0	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並びに毒性発現機構に関する研究 (6,941千円)
標準品製造費	11,371	12,598	1,227	
安全性生物試験研究センター運営費	215,292	204,768	△10,524	
薬用植物栽培試験場運営費	104,544	96,102	△ 8,442	
情報活動運営費	13,139	13,169	30	
施設管理事務経費	17,281	21,125	3,844	
対がん10か年総合戦略経費	89,999	89,999	0	
受託研究費	56,555	56,555	0	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並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)
乱用薬物基礎研究費	0	18,114	18,114	薬物乱用、特に多剤乱用時の依存形成能とその薬物動態ならびに生体に及ぼす影響に関する研究 (18,114千円)
(項)血清等製造及び検定費	164,867	162,073	△ 2,794	
医薬品等の国家検定及び検査費				
一般事務経費	12,415	12,415	0	
事 業 費	152,452	149,658	△ 2,794	
(項)厚生本省試験研究所施設費				
国立衛生試験所施設整備費	78,988	41,840	△37,148	2号館鋼製建具改修および屋上防水工事(41,840千円)
[移替予算]				
(組織)厚生本省試験研究機関	138,272	170,003	31,731	
(項)国立機関原子力試験研究費	88,408	91,051	2,643	
(項)放射能調査研究費	1,593	2,175	582	
(項)国立機関公害防止研究費	48,271	76,777	28,506	
計	2,902,934	2,940,478	37,544	

## 別紙 2 昭和62年度補正予算(施設整備・大型機器)内訳

(施設整備)	
1	クリーンラボラトリー設備工事 682,554千円
2	遺伝子組換共同実験室設備工事 40,993
3	北海道薬用植物栽培試験場農具兼車庫改築工事 31,911
4	8号館空調設備改修工事 56,886
5	2号館電気配線幹線等改修工事 43,150
6	薬用植物栽培環境制御実験室設備工事 194,176
計 1,049,670	
(大型機器)	
1	核磁気共鳴スペクトル装置 96,800千円
2	プラズマ発光分析装置 50,000
3	フーリエ変換質量分析装置 150,000
4	γ線分析システム 20,000
5	フーリエ変換赤外分光光度計 24,000
6	自動分析装置 82,000
7	多項目自動血球計数装置 40,000
8	血液細胞自動分析装置 53,500
9	分析型走査電子顕微鏡 50,450
10	低バックグラウンド α-β 多サンプル測定装置 12,000
11	LC/FT-IR 分析装置 23,000
12	ガスクロマトグラフ質量分析計 27,000
13	核磁気共鳴装置 27,000
14	カラー画像解析システム 23,000
計 678,750	

当所が製造し、申請者に交付している医薬品試験用標準品については、昭和62年5月28日厚生省告示第111号をもって5品目が追加された。

## 6. その他

昭和62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。

## (6.2.4.1 付)

所長	谷村 顕雄 (副所長)
副所長	内山 充 (薬品部長)
安全性生物試験研究センター長	戸部満寿夫 (安全性生物試験研究センター毒性部長)
総務部長	志多 良介 (医薬品副作用被害救済基金事業部長)
薬品部長	武田 寧 (薬品部薬品第一室長)
安全性生物試験研究センター毒性部長	黒川 雄二 (安全性生物試験研究センター病理部腫瘍病理研究室長)
大阪支所薬品部長	木村 俊夫 (生物化学部標準品製造室長)
大阪支所薬品部長事務取扱解除	伊阪 博 (大阪支所長)

辞 職 池上 忠義 (総務部長)

## 合成化学研究部

部長 神谷 庄造

## 概要

宮原 誠主任研究官は、昭和63年4月1日付けで食品部第一室に配置換えとなった。研究対象は変わるが、当部でみがいた技能と思考を元にして大いに厚生行政に貢献されんことを期待する。また、昭和63年4月1日付けをもって栗原正明技官が第一研究室に採用となった。当部に新風を吹込み、大いに活躍されるよう期待する。

昭和62年度の研究業務は、昨年度に引続き、全般的に順調に進展した。

昭和62年度補正予算による共通大型機器として、400 MHz および 300 MHz の核磁気共鳴スペクトル装置が当部機器室に入った。関係者の御尽力に感謝するとともに、当所の試験・研究に大いに役立つことを



願う次第である。

当部の研究業務については以下に述べるが、従来通り、当部の長年にわたる知識と経験を生かして、業務行政にかかわる各種の委員会、調査会、検討会などに参画し、各種の医薬品関連公定規格書の作成ならびに審議を行った。

#### 研究業績

##### 1. 生理活性物質の合成と反応性に関する研究

i) ニトロアレン類の化学ならびに毒性発現機構に関する研究

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、また、燃焼中の石油ストーブの類からも有害ニトロ多環芳香族化合物（ニトロアレン類）が発生することが知られている。昨年度に引き続き、ニトロアレン類の化学をそれらの変異原性・発癌性との関連において研究を実施している。

本年度は、モノおよびジニトロベンゾ [a] ピレンの電子構造と還元特性について紫外吸収スペクトロメトリーおよびサイクリックボルタメトリーにより検討した結果、ジニトロ体はモノニトロ体よりも還元され易く、それぞれの還元特性と変異原性は相関することが分った。これらのニトロアレン類の変異原性以外の生理活性についても変異原性部および医化学部と協同研究を実施している（特別研究）。

ii) 抗酸化剤の毒性発現機構に関する研究

抗酸化剤のブチルヒドロキシアニソール (BHA) の毒性発現についての化学的研究として、BHA およびその代謝成績体と生体高分子との反応性について研究を行っている。

本年度は、BHA の主代謝物の一つである t-ブチル-1,4-ベンゾキノン (BQ) と SH 酵素モデルとしてのチオフェノール、N-アセチルシステイン、グルタチオンなどの反応を検討した。いずれの SH 化合物も相当するマイケルタイプ付加体を与えた。これらの付加反応を紫外吸収スペクトルにより速度論的に検討し、BHA の毒性発現機構を考察した（生活衛生局食品化学課、厚生省がん研究助成金）。

iii) 抗腫瘍性ニトロソ尿素誘導体の合成と反応性に関する研究

抗腫瘍性ニトロソ尿素誘導体の合成研究の過程で発見された新反応は次のようである。a. ニトロソ基の  $\text{N}^1$ ,  $\text{N}^3$  転位, b. カルバミン酸エステルへの変換反応, c. トリアツェン誘導体への変換反応, d. オキサジアゾール, トリアゾール誘導体など複素環化合物への変換反応, e. ニトロ化合物への変換反応, f. トランスニトロ化反応。昨年に引き続き、これらの新

反応の反応機構を検討した。さらに、各種ニトロソ尿素誘導体の無極性溶媒中の分解機構と生体内での分解機構を比較した。

iv) 標識化合物を用いた各種食品添加物の安全性試験法の開発研究での分担研究として、昨年度に引き続き、赤色 105 号関連化合物の合成法を検討した。

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、タンパク複合体を調製するために必要な化合物の合成を分担研究した。2種類の dl-エフェドリン誘導体を合成し、複合体の合成原料として供給した。

vi) 生理活性物質の合成を目的とした不斉合成法の開発に関する研究

エナンチオトピックな関係にある二つの官能基を分子内に有するプロキラル化合物を用いた有用物質の不斉合成研究の一環として、プロキラル中心を有する対称ジケトンの不斉アセタール化反応の検討を行い、高選択的な反応条件を見出した。

##### 2. 生理活性物質の作用発現に関する研究

i) 抗腫瘍性シアノトリアツェン誘導体の作用発現機構に関する化学的研究

当部で合成したシアノトリアツェン誘導体35種のなかで、ラット腹水肝癌 AH-13 細胞に効果を示すものが4種見出された。生体内でこれらの化合物より生成する活性化学種はフェニルジアゾニウム塩とシアナミドで、前者は DNA をフェニルジアゾ化し、後者はリペラー酵素の活性を阻害すると考えているが、さらに検討中である。

ii) 乱用薬物基礎研究の一環として、モルヒネレセプターと特異的な相互作用を有する新規有用化合物の合成を検討し、モルヒネの6位誘導体を新規に合成した。この新化合物の薬理作用については未検討である。

iii) 生体埋入高分子材料の安全性評価法に関する研究

ポリウレタンの構成単位である低分子カルバメート類を合成し、これらを用いて酵素および酸化剤に対する安定性、特に加水分解反応性を検討した。その結果、N-ヒドロキシカルバメート構造が反応性の高いことが明らかになった。現在、ポリウレタンの分解性における N-水酸化の関与について検討中である。

##### 3. 医薬品の規格および試験法に関する研究

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、規格および試験法の作成を行っている。

日本薬局方外医薬品成分規格については、医薬品原

料26品目および医薬品添加物9品目よりなる1966追補版を発行した。また、日本薬局方外医薬品成分規格原案作成要綱の改訂原案および日本薬局方外医薬品成分規格英文作成要綱(案)をまとめ、東京医薬品工業協会および大阪医薬品協会に検討を依頼した(薬務局審査一・二課)。

日本薬局方については、本年10月に発行される第11改正日本薬局方追補版の英文翻訳要綱(案)をまとめた(薬務局安全課)。

県衛生研究所および県薬務担当部門より、14件の日本薬局方外医薬品成分規格収載品の承認業務にかかわる問合せがあり、これに回答した(薬務局審査二課)。

## 薬 品 部

部 長 武 田 寧

### 概 要

昭和62年度も前年度に引続き、医薬品に関連する、分析法に関する研究、有効性・安全性に関する薬剤学的研究、物理・化学的安定性に関する研究、および麻薬および依存性薬物に関する研究等を実施した。なお、昭和62年5月31日をもってブドウ糖注射液の国家検定が廃止されたことにともない、これまで長年にわたり薬品部において実施してきた医薬品の国家検定業務を終了した。

昭和63年4月1日付けで、林 讓技官が療品部へ配置変更となり、伊豆津健一技官が採用され、薬品第二室に配属された。また、昭和62年度には、HS 財団より岩木和夫氏および奥平和穂氏が流動研究員として派遣された。

### 業務成績

#### 1. 国家検定

ブドウ糖注射液63件を試験した。

#### 2. 国家検査

ブドウ糖注射液41件を試験した。

#### 3. 特別審査試験

新薬155件、殺虫剤5件、およびかぜ薬・解熱鎮痛薬45件、合計205件について試験した。

#### 4. 一斉取締試験

アジマリン錠(19品目)、塩酸プロカイン注射液(11品目)、フマル酸クレマスチンを含有する内服固型剤(33品目)について試験した。

#### 5. 特別行政試験

あへんの試験77件(国産あへん27件、輸入あへん50件)、およびけしのアルカロイド定量試験69件(モル

ヒネ48件、コデイン21件)を実施した。

#### 6. 標準品の製造

向精神薬メクロカロン20g、およびフェンメトラジン20g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事業、フィリピン国食品薬品検定センタープロジェクトに協力した。国際厚生事業団による事業、アジア諸国麻薬行政官研修における鑑定技術実習の実施、および発展途上国薬事行政官研修等に協力した。また、中華人民共和国、天津市薬品検査所の范积芬氏に対し約4ヵ月間医薬品機器分析に関する研修を実施した。

#### 8. その他

日本薬局方外医薬品成分規格作成、日本薬局方改正、殺虫剤指針改訂、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、試薬規格体系調査などに協力した。

### 研究業績

1. 日本薬局方の規格および試験方法に関する研究  
局方製剤の品質規格の設定に関し、医薬品各条への溶出試験設定について検討するための資料とするため、日本薬局方収載固形製剤の塩酸クロルプロマジン錠等について市販製剤の溶出試験の実態調査を行った(厚生科学研究、薬務局安全課)。各国薬局方の溶出試験の判定法を統計学的に評価した。乳酸ブレニラミン錠の液体クロマトグラフ法による分析法を検討した。注射用水に関するガイドライン作製に関し、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、薬務局監視指導課)。

#### 2. 医薬品の分析法に関する研究

非水滴定法の医薬品分析への応用に関し、硝酸ピスマスを用いる非水滴定法について検討した(公定書協会)。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の検討を継続した。臭化ブチルスコポラミン含有製剤の迅速分析法を検討した(薬務局監視指導課)。医薬品分析の自動化に関し、ラボラトリーロボットを用いて固形製剤の全自動分析システムを確立した。分析条件の最適化に関し、ラボラトリーロボットによる最適化システムをカルボン酸の呈色反応の条件最適化に應用した。液体クロマトグラフデータの Kalmann filter による処理を医薬品製剤分析に應用した。

3. 医薬品の有効性、安全性に関する薬剤学的研究  
坐剤の生物学的利用性と放出試験に関し、市販インドメタシン坐剤の放出特性について回転セル法等により検討した。経口医薬品の生物学的利用性と放出試験

に関し、Population pharmacokinetics の有用性についてプログラム NONMEM を用いて胃液酸度の固定要因効果について検討した。徐放性製剤の設計および評価技術の確立に関し、市販マレイン酸クロルフェニラミン徐放性製剤をモデル試料とし、放出特性とイスにおける生物学的利用能について検討した (HS 財団受託研究)。製剤設計の評価法に関し、徐放性製剤の評価に関する指針案を検討した (厚生科学研究, 薬務局審査第一課)。医薬品添加物と薬物との相互作用による生物学的利用能の変化に関し、塩酸クロルプロマジンを選択物質として各種添加物に対する吸着性について検討した (原子力研究)。

#### 4. 医薬品の物理・化学的安定性に関する研究

医薬品の安定性予測試験法に関し、非等温試験法の統計学的評価を行い、ビタミンA錠に適用した。医薬品の光学異性体の分解性および生体成分との相互作用に関し、エチアジド等のラセミ化、エピマー化および加水分解反応に及ぼす血液成分の影響を速度論的に検討した。固体状態における医薬品の分解性に関し、低湿度環境下における水分の作用機序について検討した。医薬品分子の動的構造と反応性に関し、エトポシド等につきコンホメーションと反応性の関係を NMR によって検討した。生分解性高分子製剤における高分子の分解性に関し、高分子分解の測定法として GPC-LALLS システムを確立し、ポリグルタミン酸ナトリウムの酵素分解性を検討した (HS 財団受託研究)。

#### 5. 麻薬および依存性薬物に関する研究

毛髪中の乱用薬物の検出法に関し、重水素標識 GC/MS 法による毛髪中覚醒剤の微量検出法を確立し、覚醒剤乱用者の毛髪分析に応用した (乱用薬物鑑定法整備研究)。酵素免疫測定法による毛髪中の覚醒剤およびその代謝物の超微量検出法の確立を検討した。向精神薬の微量分析法に関し、電気化学検出高速液体クロマトグラフ法による乱用薬物の微量分析法を検討した。喫煙による薬物乱用に関し、覚醒剤の喫煙により生じた薬理活性物質の性質を検討した。大麻およびコカイン中の成分の分析法に関し高速液体クロマトグラフ法による大麻成分の同時定量法を検討した。

## 生物化学部

部長 田 中 彰

### 概 要

昭和62年10月1日付けで山口照英主任研究官が採用され、昭和63年4月1日付けで徳永祐司主任研究官が

大阪支所薬品部に配置換えになった。また同日付けで棚元憲一主任研究官 (衛生微生物部) が当部に併任された。

短期海外出張は田中部長: 製薬技術開発センター個別専門家要請背景調査 (ラオス, 62.8.3~9), 早川室長: バイオ医薬品の規制の科学的根拠に関する国際集会 (フランス, 西独, 62.9.9~20), 日米合同薬学大会 (米国, 62.12.5~9) の延べ3件であった。谷本第二室長は62年9月10日米国 NIH での一年間の留学を終えて帰国した。

昭和63年3月31日付けで HS 財団の流動研究員小島尚氏が退職し、5月16日付けで関沢文氏が新たに当部に配属された。中国からの女子留学生として天津市薬品検査所から范积芬さんが滞在し (63.3.1~4.15), また北京市薬品検査所から周玉さん (4.25~) が約6ヶ月の予定で当部で研修中である。

### 業務成績

#### 1. 国家検定および検査

インスリン製剤 26件, 脳下垂体後葉製剤 8件について検定を行った。またインスリン製剤 3件につき国家検査を行い、全件合格であった。

#### 2. 一斉取締試験

インスリン製剤10件について試験を行い全件含有規格に適合した。

#### 3. 特別審査試験

酵素製剤など19件について試験を行った。

#### 4. 標準品製造

昭和62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

第12改正日本薬局方に伴う業務 (薬務局安全課)、医薬品原料および添加物の規格整備に関する検討、体外診断用医薬品の標準化に関する調査研究 (厚生科学研究費, 薬務局審査第二課)、細胞培養医薬品の品質確保に関する基準作成への協力 (薬務局, 審査第一課)、宇宙ライフサイエンス予備実験計画のうち、無動力環境下を利用した生体系試料の分離、精製技術に関する研究推進への協力 (宇宙開発事業団)、バイオ医薬品の現状と試験法に関する啓蒙活動への協力 (全国衛生化学技術協議会, 日本女子薬剤師会)。

### 研究業務

#### 1. 医薬品の規格および試験法に関する研究

##### i) 塩化リゾチームの定量法に関する研究

塩化リゾチームに混在する微量成分の HPLC による分離精製とその酵素化学的性質の検討を行った。

##### ii) 公定書医薬品試験法の改良に関する研究

局方収載のパンクレアチンおよび含糖ペプシンの規格試験法改正案を作成した。

iii) インスリン製剤の定量法に関する研究

各種インスリン製剤の HPLC による分離、定量条件について分析条件を設定した。

iv) ホルモン等の *in vitro* assay 法の研究

ニワトリの肢芽細胞の軟骨細胞への分化を指標とするための培養条件について、ヒト成長ホルモン (h-GH)、カルシトニン等を対象として基礎的な検討を行った。

v) ステロイドホルモンの定量法

コルチゾン等を用いて、ピロールによる呈色反応機構について考察した。

vi) 遺伝子組換え等の新技術により生産される高分子医薬品の品質試験法の開発 (特別研究)

h-GH をモデルにして、細胞生物学的試験法との相関性について検討した。

vii) バイオテクノロジーにより生産される同種同効医薬品の薬効試験法の標準化に関する研究 (HS 財団受託研究費)

各血栓溶解剤の力価検定法の確立への試行的方法と実施上の問題点について検討した。

2. 医薬品の有効性及び安全性に関する生化学的研究

i) ハイブリッドを形成する蛋白質製剤の有効性と安全性に関する研究

ポリエチレングリコールでハイブリッドを形成したリゾチームを作成し、触媒機能の変化を検討した。

ii) 多形核白血球 (PNL) 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研究

PNL の食作用に伴う水酸ラジカルの産生に対するグルタチオンの促進機構について検討した。

iii) バイオテクノロジー医薬品に対する生体応答の解析に関する基礎的研究 (厚生科学研究費, 大沢班)

主にサイトカイン類の医薬品への応用に関する現状と問題点について検討した。

iv) 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

組換え DNA (r-DNA) 技術により生産した数種の h-GH 誘導体について、その構造と活性相関を検討した。

v) r-DNA 技術を応用して生産される蛋白質性医薬品の活性型の効率的分離、精製技術の開発 (HS 財団受託研究費)

天然型蛋白質と還元・変性させた蛋白質との理化学的識別方法および変性蛋白質の refolding の条件につ

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 (AR) 阻害剤の合成と構造活性相関に関する研究

12種のオキサゾール系阻害剤の構造を X-線回折法で解析し、その構造活性相関を調べた。この結果から新しい阻害剤の構造をデザインし、その合成と阻害効果を検討した。

また生薬エキス中の AR 阻害活性を検索して12種の生薬に強力な効果を見出した。

ii) 各種病態におけるポリオール経路の役割に関する研究

ラット精巣中の AR およびソルビトール脱水素酵素活性と糖尿病によるその変動について検討した。また精巣中から AR を分離、精製して、これらの酵素化学的、物理化学的性状および AR 阻害剤に対する感受性などを明らかにした。

iii) ホルモン等による細胞増殖および分化誘導の調節機構に関する研究

脂肪細胞分化能を有するマウス 3T3 細胞の GH 受容体の分子種について検討した。

またラット皮膚線維芽細胞を用いて各種成長因子による細胞増殖効果に対するグルココルチコイドの作用について検討した。

4. 医薬品等の副作用発現に関与する生体内物質の生化学的研究

病態モデル動物を用いて、その対象臓器に局在する酵素等への薬剤の影響を検討した。特に精巣障害を予測するため、ラットの精子、精母細胞の *in vitro* での培養条件について基礎的な検討を行った。

## 放射線化学部

部長 寺尾 允 男

### 概要

昭和62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、主として、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。また、HS 財団の委託研究として、生体微量物質の分離技術の開発研究

を行った。

手島玲子技官は科学技術庁長期在外研究員として、米国 NIH へ一年間の予定で留学中である。

#### 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、月桂樹葉、セージ葉など21品目中の  $^{137}\text{Cs}$  と  $^{134}\text{Cs}$  の和が暫定基準値を越えていることが判明した。

#### 研究業績

##### 1. 放射性医薬品に関する研究

モノクローナル抗体を用いるラジオイムノアッセイ法の臨床分析への応用研究の一環として、これまでに調製した 11-デオキシコルチゾールおよび 17- $\alpha$ -ヒドロキシprogesteron に対するモノクローナル抗体の可変領域遺伝子の塩基配列を解析し、抗体の抗原特異性との関係を考察した（国立機関原子力試験研究費、科学技術庁原子力局）。

##### 2. 重金属、特に鉛の生体内動態に関する研究

重金属で誘導されるメタロチオネインの体内動態などをイムノアッセイで正確に知る目的で、モノクローナル抗メタロチオネイン抗体を調製し、その抗原認識部位を詳細に調べた。さらに、この抗体を用いるメタロチオネインの定量法を開発した。

##### 3. 免疫担当細胞の機能に関する研究

即時型アレルギー発症機構を解明する目的で、脱顆粒とタンパクリン酸化反応との関係をプロテインキナーゼcの阻害剤を用いて検討し、同酵素の脱顆粒反応への関与を確認した（文部省科研費、文部省）。

##### 4. 生体膜の構造と機能に関する研究

リンパ球培養細胞株 IM 9 の細胞膜に存在するヒト成長ホルモン受容体の単離を行い、この受容体のリン酸化反応について検討した（科学技術振興調整費、科学技術庁振興局）。

##### 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

発熱性物質の超微量分析法を開発する目的で、リビッド A に対するモノクローナル抗体の調製を試みた（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) 優良生薬品種の選択を目的として、生薬成分のイムノアッセイ法を開発しているが、昭和62年度にはモルヒネに対するモノクローナル抗体を調製し、その特異性について検討した。また、ジゴキシンに対するモノクローナル抗体を用いるラジオイムノアッセイ系を確立した（国立機関原子力試験研究費、科学技術庁

原子力局）。

ii) 食品汚染物質としてのマイコトキシンの超微量分析法開発を目的として、ニパレノールに対するモノクローナル抗体を調製し、その特異性を検討し、ラジオ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

モルヒネ受容体の情報伝達機構を知る目的で、マウス脳のモルヒネ受容体を単離し、モルヒネ依存的受容体リン酸化反応について検討した（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的研究を行った（HS 財団受託研究費）。

ii) 海洋生物中に含まれる抗アレルギー作用をもつ物質の検索および分離を検討した（HS 財団受託研究費）。

iii) ヒト内在性レトロウイルスの逆転写酵素および env タンパクに対するモノクローナル抗体の調製について検討した（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、組織培養生成物の評価における基礎研究も行った。検定検査として、特別審査と一斉取締試験を行った。

鈴木室長は（財）交流協会を通して、昭和62年11月4日～13日の間、台湾行政院薬物食品検査局に赴き、生薬ならびに漢方製剤に関する講義と指導を行った。また、HS 財団国際共同研究事業の一環として、11月25日～12月8日にわたり、北京、天津、上海の関係機関を訪れ、研究協議ならびに講演を行った。

日中医学協会笹川医学奨学生として、張伯崇主管薬剤師（甘粛省薬品検査所）が1ヵ年の予定で62年10月1日に来部し、研究に従事している。また、華偉義副研究員（天津薬物研究院）が重点基礎研究費外国技術者招聘により食品添加物部経由で来部し、63年1月1日～3月7日まで研究を行った。

#### 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43件)について審査を行った。

2. 一斉取締試験 医療用漢方エキス製剤葛根湯(14件)についてマオウアルカロイドの定量および小柴胡湯(14件)についてグリチルリチン酸の定量を行い、全件が含量規格に適合した。

#### 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、局方生薬(黄芩, 薏苡仁, 細辛, 防風)および局外生薬(独活, 羌活, 釣藤鈎)の品質評価法について生薬材料学的検討を行った。

###### ii) 漢方製剤の薬理的学的研究

ラットに甘草エキスを経口投与し、血漿中のグリチルリチン濃度を経時的に HPLC を用い測定した。また、グリチルリチンの単独投与による血漿中濃度も測定し、両者の相違を検討した(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種選抜を目的として、テルペン多成分系の定量法を確立し、140 検体の分析を終了した(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

ショウガ科植物のクスリウコンにラットでのカラゲニン誘発浮腫の抑制、マウスでの酢酸誘発色素透過性亢進の抑制などの抗炎症作用を認め、その活性成分としてゲルマクロンを単離同定した。また、インドネシア産薬用植物11種のエキスおよび分画エキスについてセロトニン抗体結合反応などを検討した。

###### iii) 薬用生薬の成分検索とその生物活性の研究

川芎より分離した ligustilide, senkynolide, butylidenphthalide および化学的に合成した butylphthalide, ethylidenphthalide, ethylphthalide を用いてマウス血管平滑筋細胞の増殖抑制作用を検討した。特に前3者に活性が認められ、その増殖過程に対する影響を検討した。また、芍薬エキスのラット子宮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の安全性評価法の開発

紫根カルス中のピロリチジンアルカロイドの存在の有無を調べ、TLC 法による検出限度内ではアルカロイドは認められなかった。また、培地に使用するオーキシンの分析法の確立と生成物についての実施を行った。一方、紫根はその使用目的から薬理作用として肉芽形成促進作用が期待されるため、肉芽形成促進作用

が評価できる実験方法を検討した(HS 財団受託研究費)。

###### v) 薬用資源植物の確保, 開発および利用

前年度に引き続き、川芎の心臓血管系に対する作用を検討した。また、日本産川芎と中国産川芎の含有成分につき比較検討した(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) マイコトシンの検索・分離・同定・構造決定および生物活性の検討

インドネシア Jamu 生薬, 香辛料から分離した真菌類について調査し、アフラトキシン生産菌を分離した。この際、形態的に小型菌核を形成する菌3株を見出した。さらに、菌核中で生成する成分を単離し、新化合物2種の構造を決定した。また、citrinin 生産菌について検討したところ、新生産菌として、2種の黒色不完全菌 *Moniliella suaveolens* var. *nigra*, *Nodulisporium* sp. を同定した。

###### ii) オゴノリ類海藻の生物活性成分の研究

前年チリー産のもので得られた新成分につき、日本産のものについても検討した。

###### iii) 食品中の有害物質の検索に関する研究

前年製作したデータベースシステムへ、入力例を追加した(厚生科学研究費, 生活衛生局食品保健課)。

なお、以上行った研究のいくつかは所外他機関との共同研究であるが、この場合、当部は試験用試料の作成、供給を主とした。

## 療 品 部

部長 中村 晃 忠

#### 概 要

昭和63年4月1日付けで異動があった。辻楠雄療品室長が定年退職し、その後任に小嶋茂雄家庭用品第一室長が、小嶋の後任に鹿庭正昭家庭用品第二室長が、鹿庭の後任に土屋利江医化学部主任研究官がそれぞれ就任した。また、林 譲技官が薬品部から当部理化学試験室へ移った。

医療用具の一斉取締試験は昭和63年度から地方に委譲されることとなった。

補正予算によって多くの大型の共通機器が導入されたが、これらの機品の管理運営を円滑にするために共通機器管理運営委員会が設置され、その世話を理化学試験室がすることとなった。

## 業務成績

### 1. 家庭用品関係

年度計画にしたがって、ジブチル錫アセテート、2,2'-メチレンビス(4-メチル-6-tert-ブチルフェノール)、ジベンゾチアゾリルジスルフィドの分析試験法を作成した。

### 2. 理化学試験室関係

DX-300 質量分析計および FX-200 NMR 装置の利用状況は昭和 61 年度と変わらず盛況であった。DX-300 のデータ保存のために磁気テープ装置の導入が認められた。

## 研究業績

### 1. 歯科材料の安全性に関する研究

コンポジットレジンからのメタクリレート・モノマーの溶出、および充填時の歯質への移行の挙動について考察した結果、歯質への移行は体液への溶出とは異なる原理によっていることを明らかにした(厚生科学研究費、東京医歯大などと共同)。

### 2. 赤眼症候群原因物質の構造研究

アセテート膜透析器による赤眼症候群原因物質の構造研究を継続した。高頻度発症品(S)と低頻度発症品(W)からの多糖類分画の構造を NMR, IR, FAB-MASS を駆使して追求した。また、キシレンのアセテートを合成し、動物実験に供した(科学技術振興調整費、科学技術庁振興局)。

### 3. ポリウレタン・フィルムの埋入組織反応に関する研究

4,4'-diphenylmethanediisocyanate (MDI), poly(tetramethyleneglycol) (PTMG), 1,4-butanediol (BG) を原料とした分子量の異なるポリウレタン8種類をフィルム化し、そのメタノール溶出物の分子量分布を測定した。溶出曲線は2相を呈した。第一相の溶出物と第二相の溶出物には分子量分布に明らかな相違があることがわかった。これらの溶出物を変異原性テストに供した。また、シリコンとのブレンド方法を検討した。分子量の異なる同種のポリウレタン3種類およびシリコン・ポリウレタン・ブレンドフィルム、およびシリコン・フィルムを長期埋入実験に供した。また、このフィルムをオートクレーブ滅菌した時の 4,4'-diaminodiphenylmethane の生成の有無について検討した(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サイド(EO)に関する研究

昨年度に開発した ECD/GC 法の信頼性を確認するために、メニコン(株)、HOYA(株)および食品衛生協会

と共同実験を行った結果、再現性およびヘッドスペース法との相関性ともに良好であることがわかった。本法を用いて市販 IOL 130 検体の分析調査を実施した。その結果、7検体から FDA の基準値(25 ppm)を超える残留 EO を検出した。残留 EO 値と滅菌後の放置期間との関係、およびエアレーションの効果についても検討した(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

MDI/PTMG 系(1)および MDI/PTMG/BG 系(2)の2系統(3. で使用したものと同じ)のポリウレタン・フィルムを $\gamma$ 線照射し、分子量、強度、ケミルミネッセンス(CL)の変化を調べた。その結果、(1)は線量とともに分子量、強度ともに増大したのに対し、(2)は分子量、強度ともに減少した。CL 量は(1)、(2)いずれも線量とともに増加した(国立機関原子力試験研究費、科学技術庁原子力局)。

### 6. 家庭用品による接触皮膚炎の原因究明研究

1) ゴム製品による皮膚炎について：加硫促進剤の加硫後の存在形態を確認するために、配合成分(比)および加硫条件既知のゴムを試作し、その分析を行った。また、ゴム手袋およびゴム靴の個別事例について研究を継続している。

2) 防カビマットによる接触皮膚炎が発生し、その原因が  $\alpha$ -bromocinnamaldehyde であることを明らかにした(関西医大と共同)。

3) 運動選手のテーピングに使うテープによる接触皮膚炎が発生し、その原因究明をおこなった。

4) いわゆる DC ブランドのセーターによる事故の原因物質究明を実施中である。

### 7. 接触皮膚炎の原因究明の方法論に関する研究

パッチテストと分析の二つの手段に依存する従来の方法は限界があるので、新たな実験的方法論を探る試みを開始した。1) 動物を製品で感作し、その感作動物をつかって感作原を追求する、2) *in vitro* の系(白血球遊走阻止、リンパ球幼弱化)を使う、の手段について検討している(国立機関原子力試験研究費、科学技術庁原子力局、毒性部と共同)。

### 8. 化学物質のリスクアセスメントに関する研究

1) 有害物質の健康リスク評価システムのフィージビリティに関する研究：リスクアセスメントの優先順位付けの手順における各種毒性のランク付けのクライテリアを決め、実例に適用し、その有効性を検証した(厚生科学研究費、生活衛生局生活化学安全対策室)。

2) 既存化学物質等の毒性点検プログラムの確立に関する研究: 既存化学物質の毒性点検を行う優先順位を決定した(厚生科学研究費, 生活衛生局生活化学安全対策室, 化学物質情報部等と共同)。

## 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引き続きとして各種ガス状汚染物質の分析法の確立、個人曝露量に関する基礎研究および天然核種の環境調査ならびに水質評価に関する資料収集と水中微量化学物質のプライオリティーリストの作成、水道原水中の特定化学物質調査のための基礎研究および公共用水域の保全に係わる水処理の影響に関する基礎研究を実施した。

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種別許可制度の導入に伴う原料基準と使用基準の作成への協力、化粧品製剤の成分試験法の確立に関する研究を行うとともに、市販化粧品の品質監視を実施した。

なお、チェルノブイリ原子力発電所事故に起因する放射性元素による汚染輸入食品の監視を食品部および放射線化学部と協力して実施した。

人事面では食品部佐々木久美子主任研究官は昭和63年4月1日付けで環境衛生化学部へ配置換えとなった。

武田はWHO主催のIPCS会議(ディルドリン)出席のためスイス・ジュネーブへ出張した(昭和62年7月11日～7月20日)

### 業務成績

#### 1. 空気関係

前年度に引き続き東京都内3ヵ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

紫外線吸収剤の配合が認められているサンオイルおよび日焼け止めファンデーション(34検体)につき一斉取締試験を業務局監視指導課と協力して実施した(業務局監視指導課)。

化粧品の種別許可制度移行に伴い、許可基準作成のための成分リストや規格の基礎調査、規格作成上の問

題点のリストアップならびに国内外の公定書との係わりにおける規格統一などに薬務局審査第二課に協力した(薬務局審査第二課)。

諸外国で使用が許可されているホルムアルデヒド徐放性防腐剤配合化粧品につきアセチルアセトン法の適用を検討し、その結果の評価を行った(業務局審査第二課)。

#### 3. 水質関係

水道原水中の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者との協力のもとに実施した(生活衛生局水道環境部水道整備課)。

水道管の内面塗装に使用されていたタールエポキシ樹脂塗料からの多環芳香族炭化水素の溶出と処理法との関係について検討した(生活衛生局水道環境部水道整備課)。

### 研究業績

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) 呼吸器疾患等の原因物質の一つである空気中のNO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, HCHOの個人曝露量を測定するためのパッシブサンプラーの検討を行った。

2) コピー機械を発生源とするO<sub>3</sub>の各種建築物内空気中の濃度レベルの実態を調査した。

3) 前年度確立した低沸点有機塩素系化合物の簡易定量法を用いて、各種建築物内に居住する人々の個人曝露量の実態を調査した。

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<sup>234</sup>U, <sup>235</sup>U, <sup>238</sup>Uの調査および大気中の<sup>7</sup>Be, <sup>210</sup>Pb, <sup>212</sup>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) ベビーパウダーの品質確保のための基礎研究  
ベビーパウダーの主原料であるタルク中に発癌物質として注目されているアスベストの存在が報告された。ベビーパウダーの品質確保を目的とした研究班に参加し、標準試料の調製およびX線回折装置による分析法の適用性について評価を行った(厚生科学研究(井上班), 薬務局審査第二課)。

2) 繊維状鉱物の安全性評価のための計測法に関する研究

幾つかの天然繊維状鉱物と人工繊維状鉱物が知られている。アスベストの安全性評価にはこれら繊維状鉱物の分別分析が必須であり、さらに製品に添加される添加物、特に金属含有添加物の妨害も考慮する必要がある。以上の諸点に考慮した繊維状鉱物の計測法につ



き検討した（環境保全総合調査研究促進調査費，環境庁）。

### 3) 化粧品の配合成分の簡易迅速分析試験法の確立に関する研究

本研究は第2年に入った。本年度は高速液体クロマトグラフィーによる歯磨，化粧水，乳液，クリームおよびシャンプー中の安息香酸系防腐殺菌剤の多成分分析法を確立した。その他，ヘアートニックおよびクリーム中の卵胞ホルモンならびにアイシャドー中のタール系色素の分析法を分担研究として実施した（厚生科学研究，薬務局審査第二課）。

#### 4) ホルムアルデヒド徐放性防腐剤の分析法

ホルムアルデヒドを徐々に遊離して防腐効果を示すといわれるヒドロキシメチルヒダントインやプロモントロプロバンジオールの使用実態を考慮した分析法を検討した（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評価法の基礎研究の一環として，高速液体クロマトグラフィーによるセロトニンの分析法を確立した。また，ラット腹腔より肥満細胞浮遊液調製法について検討した。

6) 代表的な酸化染毛料である *p*-フェニレンジアミンの酸化生成成分について分析法を検討した。生成物4種を逆相系高速液体クロマトグラフィーで分離分析を可能とするとともに，それらの生成条件についても併せ検討した。

### 4. 水道用薬品および水道用品に関する研究

#### 1) 水道用薬品または水道用品に関する研究

(1) タールエポキシ樹脂塗料からの多環芳香族炭化水素の溶出に関する研究：タールエポキシ樹脂塗料からの多環芳香族炭化水素の溶出状況について検討した（生活衛生局水道環境部水道整備課）。

(2) 水道水中アスベストの実態と経口毒性について文献調査を行った（日本水道協会）。

(3) エポキシ樹脂塗料の概要と毒性について文献調査を行った（日本水道協会）。

#### 2) 水質基準および試験方法の設定に関する研究

(1) 水中のベンツ（a）ピレンの試験方法：水道水中のベンツ（a）ピレンの測定方法について検討した（生活衛生局水道環境部水道整備課）。

(2) 水中のメトキシクロールの試験方法：水道水中のメトキシクロールの測定方法について検討した（生活衛生局水道環境部水道整備課）。

#### 3) 水利用に関する衛生化学的研究

(1) 陸水域における環境変異原物質の動態に関する研究：水域環境に確認された変異原物質のリストの作成を行った（国立機関公害防止等試験研究費（生活衛

生局水道環境部水道整備課），環境庁企画調整局環境研究技術課）。

(2) 公共用水域の保全に係わる高分子凝集剤の評価に関する研究：高分子凝集剤の塩素処理生成物の変異原性について研究した（国立機関公害防止等試験研究費（生活衛生局水道環境部水道整備課），環境庁企画調整局環境研究技術課）。

(3) 飲料水および空気の発がん物質汚染の定量的解析に関する研究：飲料水の発がん物質汚染実態の解明。ベンツ（a）ピレンの塩素処理に伴う変異原性物質の検索を行った（厚生省がん研究費（松下班），国立がんセンター・運営部）。

(4) 水道水中の多環芳香族炭化水素の分析方法の開発と塩素処理生成物の挙動に関する研究：水道水中の多環芳香族炭化水素の測定方法と塩素処理生成物の挙動について検討した（日本水道協会）。

### 5. 環境汚染物質の衛生化学的研究

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（国立機関公害防止等試験研究費，環境庁企画調整局環境研究技術課）。

## 食 品 部

部 長 齋 藤 行 生

### 概 要

食品の安全性を追求することが，われわれに課せられた業務であることに変わりがないが，社会情勢の変化につれて部内の試験研究業務等の有り様に少しずつ変化が見えはじめた。そのうちの二～三を列挙すると，

(i) 食品中の有害汚染物質に関する問題の主なものが国産食品ではなくて国外食品においてあらわれていること，

(ii) 長寿関連基礎研究を通して，食品の新しい生産様式や食品のもつ新しい役割に関して安全性とともに有用性の面からも検討する必要があること，および

(iii) 食品照射を認めようとする国際的動向に対して，独自の立場に立って安全面について新たな研究が必要となってきたこと等である。

昭和62年度も一昨年度にひきつづき，チェルノヴィル原発事故に伴う食品の放射性核種による汚染調査を約1000検体について実施した。協力部は放射線化学部および環境衛生化学部である。さらにオーストラリアからの輸入牛肉の有機塩素系農薬による汚染，ならびに発がん性の疑いのあるスルファメサジン（FDA's

Talk Paper, 1988. 2. 22) による米国産豚肉汚染事件等の問題が起こったがその都度、厚生省生活衛生局と密接に連絡をとりつつ適切に対処し問題の解決にあたった。昨年度はまた、大型機器の購入に伴う設置場所の整備、2号館の工事等により部員一同繁忙を極めたが大過なく新年度を迎えた。

人事面では、昭和63年4月1日付けで、佐々木久美子主任研究官が環境衛生化学部へ配置換えとなり、その後任として合成化学研究部より宮原誠主任研究官が就任し、それぞれの新天地でその実力を十分に発揮することとなった。

昭和62年5月より昭和62年9月まで、Mrs. Ofelia M. Alba (Bureau of Food and Drug, Philippines) がフィリピン国食品薬品検定センタープロジェクトによる研修生として滞在、主として農薬分析に関する研修を受けた。

昭和63年3月末には、(財)ヒューマンサイエンス振興財団の国外流動研究員として、カナダ、Guelf 大学より Dr. Andrew D. Powell が来日、昭和64年3月まで、長寿関連基礎研究に従事することとなった。

鈴木 隆食品第一室長はオーストラリアにおける畜肉の農薬検査体制視察のためにシドニーに(昭和62年12月6日～12月12日)、ついでフィリピン国食品薬品検定センタープロジェクトに係る技術指導の為にマニラに(昭和62年12月12日～12月19日)出張した。さらにタイ国における鶏肉中の農薬の試験検査体制視察のためタイ国に(昭和63年4月24日～昭和63年5月7日)出張した。

豊田正武食品第三室長は乳製品中の汚染物分析法設定会議に出席するためにチェコスロバキアに(昭和63年4月8日～昭和63年4月20日)出張した。

米谷民雄主任研究官および豊岡利正技官は日米合同薬学会に出席のためホノルルに(12/1～12/9, 12/2～12/9)出張した。

斎藤は、西太平洋地域諸国における食品衛生改善に関する WHO 会議(昭和62年8月15日～8月23日)に出席のためマレーシアに、また、食物連鎖の中の放射性核種汚染に関する国際会議に出席のためオーストラリア(昭和62年11月1日～11月9日)に出張した。

#### 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(913件、昭和62年度)、継続中(昭和63年5月31日現在)。アメリカ産冷凍豚肉22検体およびオーストラリア産畜肉(羊; 28件, 豚; 28件, 牛; 55件, 馬; 22件)中の農薬の分析を行った(生活衛生局乳肉衛生課)。

2. 特別行政試験：①食品汚染有害物質調査に伴う検査として、トリクレン、パークレンおよびヘキサクロルベンゼンの分析を実施した。

②食品等の規格基準の設定等に係る検査として、電解質飲料水中の重金属(10検体)の分析を実施した(生活衛生局食品保健課)。

③残留農薬実態調査の一環として、3食品中の8農薬について分析調査を行った(生活衛生局食品化学課)。

④輸入食品中の $\alpha$ 線核種の分析を行った(生活衛生局食品保健課)。

#### 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食肉中の有機塩素系農薬の簡易分析法の設定(生活衛生局乳肉衛生課)

③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)

④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(国立研究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)

⑤ゴマ油中のフロンガスの分析法について検討

⑥実験用動物飼料中からの有機スズ化合物の回収実験

⑦豚肉中のスルファメサジンの分析法の確立

⑧鶏肉、鶏卵中のジフルベンズロンの分析法の改良

⑨トリブチル錫およびジブチル錫の同時分析法の確立

⑩ウレタンの尿中代謝物測定法の検討(対がん十年総合戦略研究)

⑪チオール・ジスルフィドの HPLC 高感度分析法のラット組織への応用

⑫数種発蛍光試薬の開発

⑬陰膳食品中のトリハロメタンの分析法について検討した(対がん十年総合戦略研究)。

##### 2. 食品中の有害物質の代謝・動態

①ベンズピレンの生体内挙動に及ぼす共存食品の影響について検討。経時体内分布に有意差が見られるが、リンパ管からの吸収量には差がないことを明らかにした。

②As の生体内分布に及ぼす共存元素、Se、Te の影響について、それぞれの化学形に注目して検討した。

③市販健康食品中の Ge の化学形を分析する方法を検討し、HPLC-AAS 法、TLC 法を用いて Ge の化

学形を調べた。

④p-ジクロロベンゼンのラット腎毒性発現様式の差を尿中タンパク質との関連において検討した（毒性病部と共同研究）。

⑤ステリグマトシステンの体内分布および発がんとの関連につき検討を加えた。

⑥魚網や船底塗料などに防腐剤として使用されている有機錫化合物の代謝と毒性につき検討を加えた。

### 3. 照射食品

グレープフルーツのγ線照射の有無判別法を確立するために、グレープフルーツ中の成分や種子の発芽・発根にあたるγ線の影響を調べ、迅速にして信頼度の高い half-embryo test 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，生活衛生局食品保健課）。

### 4. 天然有害物質

①微量試料を用いるソラニンおよびカコニンの分析法の確立（HS 財団受託研究費）

②バイオテクノロジー食品の安全性研究の一環として、サラダ菜の組織培養法を確立した（HS 財団受託研究費）。

③バイオリクター食品の安全性に関する問題点につき検討を行った（HS 財団受託研究費）

### 5. 調査研究

①全国から集計されたモニタリングデータベースは約103万件に達し、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。

②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）。

③食品添加物のアレルギー性に関する調査研究（化学物質情報部と協同）

## 食品添加物部

部長 義平 邦利

### 概要

本年は当部の主な業務である化学的合成添加物に関する業務に加えて、長年の懸案であった天然添加物に関し、一部本格的な業務に着手した。さらに、先端技術の一つであるバイオテクノロジー利用による食品添加物の生産と化学的安全評価技術の開発研究も進行している。

第5版食品添加物公定書の英訳作業が終了し、英文

公定書が発刊になった。

山田隆室長は昭和63年1月27日から2月16日までフィリピン食品薬品検定センターへ技術指導のため出張した。また、同研究所の Mrs. Alicia Lorenzo が昭和62年5月1日から9月30日まで食品添加物の分析法について研修した。

### 業務成績

#### 1. 製品検査

食用色素：検査件数 323，合格 323，不合格 0

#### 2. 輸入食品検査

ポップコーン製造器（蒸発残留物）：2検体（新潟検疫所）

#### 3. 調査

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、夏期に購入した加工食品を用いて調製した試料を対象としてグリチルリチン酸の摂取量を調査した。本調査では摂取量にやや地域差が認められた（食品等試験検査費，生活衛生局食品化学課）。

#### 4. 特別行政試験

i) スプレー式ごま油中のフロンガスの検出試験を食品部と合同で行った。フロン11およびフロン12ガスは認められなかった（生活衛生局食品化学課）。

ii) メラミン食器から溶出したホルムアルデヒドの公定定量法と AHMT 法との比較検討した（厚生科学研究費，生活衛生局食品化学課）。

#### 5. 規格，基準作成

乳酸，タルク，リン酸カルシウムについて，食品添加物成分規格改正にともなう純度試験項目の検討を行った。

ワイン中のフェロシアン化合物の検出法について検討し，改良ランキン装置を変更した装置で酸分解，通気蒸留後，電気化学検出器付きイオンクロマトグラフまたはシアンイオン電極を用いて定量する方法を検討した。

食品添加物のタルク中のアスベストの分析法について文献調査し，透過型および走査型電子顕微鏡の使用の可能性を検討した。

亜塩素酸ナトリウム，次亜塩素酸ナトリウムにつき，確認試験法を整備して両者の判別を確実にした。

即席ラーメンに添加される粉末スープ中のポリソルベートの検出法を検討した。

ハイビスカス色素原料の色素成分を分離し分析法を検討した。

食用赤色104号に含まれる主な付随色素2種の構造を明らかにし，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。

食料用色素と工業用色素に含まれる中間体等をHPLCより分析する識別法を検討した。これを適用して市販製品の分析を行った。

タール色素アルミニウムレーキ中の重金属測定法、特にバリウムの測定法について検討を行った。

浄水器用銀定着活性炭からの銀の溶出量を設定するための溶出条件の検討をした(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

#### 6. 海外技術援助

フィリピン食品薬品検定センター職員の日本における食品添加物分析技術取得の援助, およびフィリピンにおいての食品添加物分析に関する技術援助を行った。

#### 7. その他

##### 第5版食品添加物公定書の英文版作製

英文版作製のため, まず用語集および文例集をつくり, これをもとに第5版食品添加物公定書の英訳を行った(生活衛生局食品化学課)。

#### 研究業績

##### 1. 天然添加物の規格設定に関する研究

###### i) コチニール色素

コチニール色素原料より溶媒抽出を行い, 主色素であるカルミン酸を単離精製し, このカルミン酸を用いて, 飼料に添加予定の市販色素中のカルミン酸量を定量した(生活衛生局食品化学課)。

###### ii) フィチン酸

フィチン酸の安定性を検討するために文献調査および $^{13}\text{C}$ -NMRを用いた実験を行った(生活衛生局食品化学課)。

###### iii) 天然着色料, 抗酸化剤の調査研究

植物名(和名, ラテン名), 成分, 性状, 毒性, 分析法等について調査研究を行った(生活衛生局食品化学課)。

##### 2. 食品添加物安全性再評価に関する研究

###### i) 食品添加物の多形核白血球に及ぼす影響

多形核白血球に強い活性化作用を示したカロブジャムについて活性成分が失活しない溶媒抽出法を検討した(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

###### ii) 天然添加物の安全性に関する研究

天然着色料であるクロロフィルとその分解物(クロロフィル a, b, フェオフィチン a, b, ピロフェオフィチン a, b, フェオホルバイド a, ピロフェオホルバイド a)の7種について, 赤血球および培養細胞を用いた生体影響に関するスクリーニング法について検討した。

###### iii) 規制決定のための動物実験における飼料成分の

#### 発ガンに及ぼす影響

飼料に添加した食用105号中の未結合ヨウ素量についてイオンクロマトグラフィーを用いて検討した。また, 各種市販天然添加物中の天然物および賦形剤等の含量について $^{13}\text{C}$ -NMRを用い検討を行った(厚生研)。

##### 3. 食品添加物の有用性等に関する研究

###### i) 食品添加物の有用性に関する研究

保存料として用いられているソルビン酸, ソルビン酸カリウム, 安息香酸, 安息香酸ナトリウムについて, 有用性の観点から特性, 抗菌力, 各国における規制および使用状況等について調べた(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

##### 4. 食品添加物の精度管理に関する研究

従来のタール色素製品検査の地方等への委譲を考慮し, 都道府県衛生研究所, 政令指定都市衛生研究所, および指定検査機関を対象としてタール色素検査予備調査を実施した。調査結果については詳細な解析を行った(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

##### 5. バイオテクノロジーを利用した食品添加物の生産と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およびインドール酢酸)の甘草培養細胞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) アカネおよび西洋アカネの細胞培養を行い, 原料植物およびその細胞培養よりそれぞれのエキスを得, 両者の成分を比較した(HS 財団)。

iii) 西洋アカネ形質転換細胞の培養条件(植物ホルモン添加, 蔗糖濃度)と色素生産量との関係について検討した(HS 財団)。

##### 6. ニトロソ化合物に関する研究

i) しょうゆ, みそ, 焼き魚等の食品に亜硝酸を作用させたときに生成するN-ニトロソ化合物, 特にN-ニトロソアミドについて, 分析条件を検討し, 定量を行った。N-ニトロソアミドはハム, 焼き魚等の場合は検出されなかったが, しょうゆ, みその場合は低濃度ではあるが検出された(厚生省がん研究助成金, 国立がんセンター運営部)。

ii) 市販の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促進するので, その本体を明らかにする目的で, セファデクス G-10 によるクロマトグラフィー, Shim-pack CN による高速液体クロマトグラフィーを行った(厚生省がん研究助成金)。

##### 7. 器具, 容器包装に関する研究

i) 浄水器用銀定着活性炭からの銀の溶出量設定のための溶出条件の検討(食品等試験検査費)。

ii) 紙製器具からの溶出物の試験(厚生省科学研究費)

iii) プラスチック製食品用品中のテトラメチルサクシノニトリルの定量

#### 8. 調査に関する研究

食品添加物のアレルギー性に関する調査研究 FAO/WHO A(1) リストに記載されている食品添加物14品目の安全性に関する文献要約集を作製するにあたり、8品目の生化学、薬理学的分野を担当した(厚生省科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

## 衛生微生物部

部長 三 瀬 勝 利

### 概 要

従来の応用衛生微生物学に加えて、生化学やバイオテクノロジーの手段を取り入れた基礎微生物学研究も、少しずつ軌道に乗りはじめた様に思われる。昭和62年8月、一戸正勝室長は、インドネシア国立医薬品食品研究所で、真菌に関する3ヵ月間の研究指導を行ない、無事帰国した。

昭和63年3月31日付けをもって、30年以上の長きにわたって、当部の発展に尽力された林長男主任研究官と下平富子主任研究官が、定年退職された。また、昭和63年4月1日付けをもって、東京大学応用微生物研究所より、松谷佐知子博士を迎えた。

### 業務成績

#### 1. 国家検定

昭和62年7月以降、インシュリン製剤等の無菌試験は大阪支所で行われる事になった。それまで当部が担当した試験については、不適品はなかった。

#### 2. 一斉取締試験

i) インシュリン製剤10件体について、無菌試験(細菌試験と真菌試験)を行ったが、不適品はなかった。

ii) 滋養強壮保健薬である内用液剤1,088検体について細菌試験(生菌数、大腸菌、黄色ブドウ球菌、および緑膿菌)を行った。その結果、生菌数で1件の不適品、6件の要注意品が認められた。

#### 3. 規格・基準試験、行政試験など

i) 国家検定廃止後のフォロー・アップとして、ブドウ糖注射液の無菌試験が行われたが、1件の不適品が見い出された。

ii) 食中毒防止のための基礎サーヴェイランスデータバンクシステム、企画基準設定のための基礎調査、食品の品質保存期間設定のための基礎研究、ガス置換包装食品の細菌検査(上記のいずれも生活衛生局食品保健課)、および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)が行われた。また、医療用透析液供給システム改善に関する研究(薬務局)も行われた。いずれも成果があげられている。

### 研究業績

#### 1. 真菌に関する研究

##### i) *Fusarium* に関する研究

北海道で乾腐症状を示したジャガイモから、病原性を示す複数の種類の *Fusarium* が分離された。なかでも、*F. sambucinum* と *F. solani* var. *coeruleum* が強い病原性を示した。カーネーションに対して病原性を示す *Fusarium* についても、研究が行なわれた。

##### ii) *Aspergillus* 汚染に関する研究

1980年代前半に輸入された市販ナッツ類から、アフラトキシン生産性を示す *Aspergillus flavus* が高率に見い出された。また、輸入ピーナッツから、O-メチル・ステリグマトシスチンを生産する *A. parasiticus* が発見された。これらの事実は、食品衛生学上問題である。また、インドネシア産生薬から、まなり高率にアフラトキシンを生産する *A. flavus* が発見された事は興味深い。

##### iii) 真菌の生産する二次代謝産物について

子囊菌類 *Emericella* から emindole DA, silvaticol, emestrin B などの新規化合物を分離し、その化学構造を確定した。

##### iv) 真菌の分離・同定

不整子囊菌類 *Talaromyces* に属する新型真菌が発見され、*T. derxii* と命名された。また、ハウスダストから4種の日本では未記録の不完全菌類が発見された。

#### 2. 細菌に関する研究

去年にひきつづき、医療用水の微生物学的研究、衛生細菌学的研究、内毒素に関する研究等が行われた。また、遺伝生化学的研究も行われたが、なかでも低温で増殖して食中毒をひきおこす *Yersinia enterocolitica* の中で、最も病原性が強い血清型 O8 群に属する菌株に、高率に同じ制限酵素(Pst I のアイソゾマー)が見い出された事は興味深い。この知見は、食品中の O8 の検出に応用出来るかも知れない。

## 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。また、今年度より、対がん戦略研究事業の一環として、食品中の発がん関連物質の実態究明と安全性評価手法の確立に関する研究を大阪支所食品部とともに開始し、当部では合成化学研究部と食品部の協力を得て、食品中の発がん関連物質のトキシコネティクスの研究を担当した。

人事面では昭和63年3月31日付けで南原精一主任研究官が定年退職した。昭和63年4月1日付けで土屋利江主任研究官が療品部家庭用品第二室長として転出し、紅林秀雄技官が主任研究官に昇任した。また、薬品部のリサーチレジデントであった奥平和穂技官が新規採用された。

## 研究業務

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

OPP を含む餌料で2年間にわたって飼育したラットの尿中諸代謝物の経時的分離・定量に関する実験が終了した。また、OPP-Na の尿中代謝物の中で2-フェニル-1,4-ベンゾキノリンに膀胱上皮細胞 DNA への損傷作用を有することを明らかとし、その損傷機構を調べた。

2) 赤色105号に関する研究

赤色105号の甲状腺ペルオキシダーゼ活性への影響を *in vitro* の系で調べた。

3) ブチルヒドロキシアニソール (BHA) に関する研究

BHA およびその代謝物をラットに強制経口投与して、ラット前胃上皮細胞 DNA の損傷について調べた。また、BHA の代謝的活性化について Human embryonic cell growth assay を用いて検討した。BHA は3種の動物の肝 S9mix によりいずれも代謝的に活性化されたが、種差を認め、ラット S9 で最も活性化されることが判明した。

4) ジブチルヒドロキソトルエンに関する研究

BHT を妊娠ラットに 1g/kg 投与した場合の催奇形性の宿主経由試験では、対照群との間で細胞の分化

に差異を認めず、本実験系では胎仔に障害を与えないことが判明した。

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) アクリル酸エチルに関する研究

本化合物のラット前胃発がん機構について研究するための予備実験を行った。

2) 家庭用品に使用される化学物質の腎毒性に関する研究（厚生科学研究費）

化学物質の腎毒性を *in vitro* の系で検索する方法を確立させ、その方法を用いて *o*-, *m*-, *p*-ジクロロベンゼンの腎毒性を比較検討した。

3. 既存化学物質の安全性に関する生化学的研究（既存化学物質委託費，生活衛生局生活化学安全対策室）

1) ムスクキシレン (MX) に関する研究

2種の標識位置の違う <sup>3</sup>H-標識 MX の合成法を検討し、環のメチル基を標識した化合物を経口投与した場合の体内分布および排泄の割合を検討した。

2) ケルセンの代謝に関する研究

ケルセンの生体内動態に関する研究を北海道立衛生研究所薬学部の協力を得て開始した。

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）

1) 催奇形性物質の *in vitro* 試験法に関する研究

胚細胞と前胚培養系での胎仔毒性物質の作用を比較し、全胚での形態異常は胚細胞での分化阻害として検索できることが判明した。

2) 体液中催奇形性活性検索法に関する研究

催奇形性物質を投与した動物の血清試料を新しい方法で調製した結果、分化を指標とした胚細胞培養系で催奇活性を検索できることが判明した。

5. 異物代謝に関する酵素等の研究

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

反応速度同位体効果から脂環族一級アミン類の脱アミノ反応経路における反応中間体として、いくつかのラジカル種が関与することを示した。

2) ペルオキシゾーム増殖の毒性評価に関する研究

クロフォプレート投与時のペルオキシゾーム増殖の経時変化および種差について、マーカー酵素活性を指標として検討した。胆汁酸代謝物投与によりラット肝のペルオキシゾーム関連酵素が著しく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

Tricresyl phosphate のラット肝ミクロソーム分画

での分解反応を *o*-, *m*-, *p*-体で比較検討した。

#### 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  $^3\text{H}$ -プロピルニトロソ尿素 (PNU) を投与し、胸腺・骨髄における DNA 付加物の中で、特に  $\text{O}^6$ -プロピルグアニンの形成量を比較検討した。

##### 2) 遺伝子損傷およびその修復に関する分子機構の研究

F344 および Long-Evans ラットの胸腺および肝臓の  $\text{O}^6$ -alkyl G-DNA-alkyltransferase 活性を比較した。また、OPP-Na, BHA の膀胱および前胃上皮細胞 DNA の損傷についても調べている。

#### 7. 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

動物実験モデルとするサルの皮脂成分の構造について検討した。

##### 8. 食品中の発がん関連物質の実態究明と安全性評価手法の確立に関する研究 (厚生科学研究費・対がん戦略研究事業, 国立がんセンター運営部企画室)

##### 1) 食品中の発がん関連物質のトキシコキネティクス的研究

食品添加物の OPP, BHA と発酵過程で食品中に生成するウレタンについて、生体内動態の把握、活性代謝物の予測とその確認、活性代謝物の生成速度とその標的臓器 DNA との結合量あるいは DNA 損傷量などを考慮に入れた用量-反応関係の定量的評価法の確立に関する研究を開始した。

## 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) への協力の一環としてわが国がドラフトの作成を続けてきた環境保健基準 (EHC) シリーズのうち、合成ピレスロイド「アレスリン」および「レスメスリン」は昭和62年11月のモスクワでのタスクグループ会議を終え、目下刊行のための手続きがとられている。

大規模データベースとしてのバイオリジカルデータベースの構築と維持は、その利用の高度化としての化

学物質の構造-活性相関の推定に基づく毒性の予測のための知識ベースシステムの開発へと研究内容が大きく変った。

竹中は医薬品の国際一般名検討の会議出席のため昭和62年4月27日から5月9日までスイスに、中館情報第一室長は IPCS の安全性評価のための化学物質の優先リスト検討の会議出席のため昭和62年10月18日から29日まで西ドイツおよびスイスに、また関沢情報第二室長は合成ピレスロイド「アレスリン」および「レスメスリン」のタスクグループ会議出席のため昭和62年11月15日から22日までソ連に、さらに合成ピレスロイド「フェンバレレート」、「ベルメトリン」および「d-フェノスリン」のドラフト修正作業のために昭和63年2月27日から3月13日までスイスに出張した。

橋場主任研究官は昭和63年1月1日付けで筑波薬用植物栽培試験場との併任になった。

### 業務成績

#### 1. 国際有害化学物質登録制度 (IRPTC)

IRPTC リーガルファイルへの入力の協力として、日本の化学物質規制データ99件、474物質の変更、追加または削除を行った。

照会-回答サービスについては当所から14件、IRPTC から20件、計34件の質問および回答に関連する業務を行った。

昭和62年度 IRPTC 国内協力委員会を昭和63年1月28日に開き IRPTC 関連業務の年次報告と、関連する情報活動 (化学情報協会と石油化学工業協会) ならびに環境庁の化学物質安全性関連業務の紹介を行った。

#### 2. 国際化学物質安全性計画 (IPCS)

環境保健基準「エチレンジプロミド (EDB)」のドラフト作成に着手し、その文献調査ならびに執筆者の選定を行い、竹村望 (芦屋大学)、橋田ちせ (慈恵医大)、大森義仁 (慈恵医大) および当所の林部長 (病理部)、石館部長 (変異原性部)、黒川部長 (毒性部)、武田部長 (環境衛生化学部)、斎藤部長 (食品部)、田中室長 (薬理部)、森本室長 (医化学部) の各原案検討委員に分担執筆を依頼した。

合成ピレスロイド「フェンバレレート」、「ベルメトリン」および「d-フェノスリン」は昭和63年7月に東京で関われるタスクグループを目指し、ドラフトの最終的な修正が行われている。

また、環境保健基準「トリクレジルホスフェート」、「トリフェニルホスフェート」および「トリブチルホスフェート」のドラフトは IPCS 本部に送付され、IPCS の担当官による細部の検討が行われた。

#### 3. オンライン検索と情報誌発行

今年度新たに STN International, BRS, Data-Star, Infoline および Dialine を導入した。このうち特に STN は CA ファイルの利用に関して幾つかの点で Dialog よりも優れていることが明らかになった。

システム別の利用件数は、Dialog 204件, JOIS 36件, CIS 12件, STN 62件, BRS 4件および Data-Star 3件で、総利用件数は321件で昨年度より約30%利用が増加している。このうち生物学関連データベース (MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, IRL, CANCER-LIT) の利用が占める割合は約50%で、特に MEDLINE の利用件数が多い (125件)。また、ファクトデータベースの利用がわずかながら増加している。

情報室ニュースは No. 48 から No. 51 までを作成し所内に配布した。

#### 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62年度の図書購入および製本に要した費用は次のとおりである。

( ) 内は前年度分

外国雑誌	14,174千円	(16,606千円)
国内雑誌	1,104	(1,479)
内外図書	1,310	(1,624)
製本費	951	(939)
	17,539	(20,648)

この他に、受託研究 (セルバンク) に係る文献購入費から1,055千円を図書購入費に充当させて戴いた。

外来閲覧者は100名、外部からの文献複写依頼は51ヵ所から356件で昨年度よりヤム減少している。

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105号を発行し、所員ならびに所外、外国の関連機関または個人に配布した。

#### 研究業績

##### 1. パイオロジカルデータベース作成・検索システムの研究

科学技術振興調整費による本研究は、昨年度行った一般公開実験を以って一応終了したが、引き続き行っている「毒性予測知識ベースシステムに関する研究」(次項参照)の研究費で購入した VAX Station II で作動させるためのプログラムの変更を行った。これは当初の予算措置の関係で HITAC (日立製) の電算機でデータベースを開発したが、研究終了時点で電算機の借用在不可能となったために行ったもので、この結果、来年度より当所において VAX 上で本データベースを活用することが出来るようになった。データベー

スの維持については、引続き変異原性、発癌性、催奇形性試験データの収集を行っている (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

昨年度行った「毒性予測知識ベースシステムの開発」の基本設計をもとに、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システムの詳細設計ならびにパソコンで作動するテストシステムを構築した。このテストシステムは、パイオロジカルデータベースからのダウンロードプログラム、解析用データ作成プログラムおよび統計・解析システムで構成されている (科学技術振興調整費、変異原性部、病理部と共同、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

農薬の安全性評価の現況を昨年に引き続き入力し、データの更新を図るとともに各方面からの関連事項の問合せへの回答に活用している。

###### ii) 医薬品一般名検索用データベース

医薬品一般名に関連するデータ項目を加えて LAN-FILE 3 上に構築したデータベースと、WHO 国際一般名磁気テープを統計情報部の ACOS を介してオンラインで利用するシステムとを結合し、より有効な利用が可能な医薬品一般名データベースを構築した。

##### 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

FAO/WHO A(1) リストに記載されていて我が国で未指定の食品添加物14品目について安全性に関する文献要約集を作成するとともに、情報の検索手法について検討した (厚生科学研究費、食品部、食品添加物部、毒性部、医化学部と共同、昭和60年度より継続、生活衛生局食品化学課)。

###### ii) 実験動物を用いる急性毒性試験等の簡易法に関する研究

化学物質の皮膚および眼刺激性について動物を虐待することなく人への安全性評価を進めるために、各国で開発されている試験研究の最新情報を収集整備すると共に要約を作成した (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情報を検索するシステムを完成させた (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) 底質環境調査：水圏底質環境中での存在を確認された化学物質714物質について変異原性データを検索し、物質同定データと変異原性データおよび情報源を一覧できる表に整理するとともに、それらデータの持つ意義と問題点について検討を加えた（環境庁委託研究、昭和大学薬学部他と共同、日本水質汚濁研究協会）。その他 b) 化学物質の環境調査、c) 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（以上環境庁企画調整局保健部保健調査室）、d) 地下水質調査の優先物質の選定、e) 化学物質による水質および土壤汚染の未然防止に関する基本的検討、f) 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。

## 安全性生物試験研究センター

センター長 戸部満寿夫

厚生省をはじめ環境庁、科学技術庁、文部省、労働省、およびヒューマンサイエンス振興財団と対応する研究業務が62年度も順調に遂行された。また、細胞バンクも品質管理と供給の両面で実績を伸ばしている。年度早々に大きな進物が到来した。動物舎のクリーン化と大型機器整備の実現である。殊に大型機器の問題は、永年の懸案であり、個人的に言えば、不意に去来する大型機器買い替えの想いに、その都度暗い気持ちにさせられていたことが今更のように思い出される。仮に10年に一度、このような措置が経常化されたら国家財政はどうなるのだろうか。

動物舎クリーン化は当所にとって大きな事業となった。短期間のうちに複雑な計画を実現しなければならなかった事情はともかく、会計課、動物管理室を中心に多くの方々の真摯な協力を得て、事業が遂行された。また、計画の作成、動物の移動や委託、実験の中断等に各部の支援を頂いた。併せて衷心から感謝申し上げます。

海外協力では、インドネシア国立薬品食品管理試験所技術協力事業に関連して、インドネシアから3名の研究者の来所、当方から長期1名短期4名の派遣、日米非エネルギー科学技術協力事業の一環である毒性研究協力では米国側より2名、当方から3名の相互交流を見た。また、フィンランドから研修（1名）、大韓民国国立保健院への技術協力（1名）、中華人民共和国からの研修（2名）、が各々行われた。

IPCS および IARC 主催の各種委員会への参加、海外学会での発表も多数にのぼった。

医薬品 GLP および化学物質 GLP 関連では引続き各部の協力を得て、国内30、海外2ヵ所の査察が行われた。

## 毒 性 部

部長 黒川雄二

### 概 要

医薬品 GLP の査察には、審査第一課担当分7ヵ所、審査第二課担当分2ヵ所に当部から延べ9名の室長および主任研究官が参加し、延べ36日間にわたった。

海外からの研修生としては、中国福建省衛生防疫站の呉志仁氏（Wu Zhi Ren）が、第一室で昭和62年4月～6月、同じく中国天津市薬品検査所の唐元泰氏（Tang Yuan Tai）が第四室で昭和62年10月～12月まで、それぞれ毒性学全般に渡って積極的に研鑽をつまれば帰国された。

昭和39年2月より、動物飼育管理の任務を努めてこられた青木八千代厚生技官は、昭和63年3月31日付けをもって退官された。

人事異動として、第4室の会田喜崇主任研究官は化学物質情報部第1室へ、大阪支所薬品部の長谷川隆一主任研究官が毒性部第4室へそれぞれ移動した。部内では、川崎靖主任研究官が第2室から第4室へ、梅村隆志厚生技官が第3室から第1室へ、高木篤也厚生技官が第4室から第2室へそれぞれ配置転換した（いずれも昭和63年4月1日付け）。

動物管理室の児玉幸夫厚生技官が主任研究官に昇任した（昭和63年4月1日付け）。インドネシア薬品食品管理試験所技術協力関連では、第1室の安原加寿雄厚生技官が昭和62年6月から9月まで、主として病理組織標本作成および組織標本診断の技術指導のため、出張した。同じく、第3室の鎌田栄一主任研究官が主として動物飼育設備運営および動物実験の技術指導のため、昭和62年5月から昭和63年5月まで1年間出張した。

動物管理室の児玉幸夫厚生技官は、昭和62年9月から12月まで大韓民国国立保健院（National Institute of Health）の設立に伴う動物飼育施設運営協力のために出張した。

黒川雄二部長は、昭和62年11月7日から15日まで、ドイツ、ハノーバーで開かれた WHO/IPCS のホルムアルデヒドに関するドラフト作成会議、12月12日から20日までイギリス、ハンチントンで開かれた WHO/IPCS の DDT および 2,4-D に関するドラフト作成

会議に出席した。さらに黒川部長は、堀内茂友室長、降矢 強室長とともに日米非エネルギー計画の年次計画として、昭和63年3月22日から31日まで米国に出張し、NIH, NCI, NIEHS等を訪問して意見交換と講演を行った。会田喜崇主任研究官は、科学技術庁の派遣者として、昭和63年3月24日から31日まで、米国NIEHSを訪問し、意見交換を行った。降矢 強室長は昭和62年7月9日から11日まで大韓民国に出張し、韓国食品学会で日本における照射食品の毒性試験について講演を行った。

### 研究業績

#### 1. 科学技術庁

1) 国立機関原子力試験研究費：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

a) γ線照射した柑橘類の毒性に関する研究

γ線照射グレープフルーツについてマウスおよびラットを用いた慢性毒性試験を継続中である。

2) 科学技術振興調整費(重点基礎研究)

a) 実験動物の開発と品質管理に関する研究

小型霊長類のマーモセットの実験動物化の検討を行った。

2. 環境庁 国立公害防止等試験研究費

1) 公共用水域の安全に係わる高分子凝集剤の評価に関する研究

ポリアクリルアミドの毒性に関する文献調査を行い、さらにラットによる慢性毒性試験を開始した。

2) 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

サルの皮脂を採取し、各種試薬の検出度の検討を行った。

3. 厚生省 厚生科学研究費補助金

1) 注射剤の局所刺激性に関する研究(薬務局安全課)

ウサギを用い酢酸注射による刺激性を検討した。

2) 化学物質によるラット腎毒性発現の差に関する研究(生活衛生局生活化学安全対策室)

α-ジクロロベンゼンのラットにおける腎毒性および発癌性の性差に関する研究を行った。

3) 乱用薬物鑑定法整備研究

毛髪中乱用薬物鑑定法を確立するため、サルを用いて実験を行った。

4) 医療品原料および添加物の規格整備のための研究

各種医療品原料と添加物について規格の整備を行った。

5) GLPにおけるコンピューター査察の方策に関

する研究

実験評価におけるコンピュータープログラム妥当性について研究を行った。

4. 厚生省 生活衛生局食品化学課食品添加物安全性再評価費

1) ビタミンEとエリソルビン酸の相乗毒性

ラット慢性毒性試験を終了した。

2) ミョウバンとコチニールの相乗毒性

ラット慢性毒性試験を開始した。

5. 厚生省 生活衛生局食品保健課健康食品対策室

1) 健康食品の安全性に関する研究

無機物性健康食品の一つ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(商品名ビタニック)のラットによる慢性毒性試験を開始した。

6. 厚生省 生活衛生局生活化学安全対策室家庭用品等試験検査費

1) 家庭用品

a) 2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェノール)

ラットによる慢性毒性試験を終了した。

b) ナフトールAS

ラットによる発癌性試験を終了した。

c) α-ジクロロベンゼン

ラットによる吸入慢性毒性試験は、クリーンラボラトリー改修工事の為、6ヵ月で一応終了した。

d) テトラプロモビスフェノールA

マウスによる発癌性試験を開始した。

e) 2,2'-メチレンビス(4-メチル-3-tert-ブチルフェノール)

ラットによる急性および亜急性毒性試験を行った。

f) ジブチルチンジアセテート

ラットによる急性毒性試験を行った。

2) 既存化学物質

a) クロールピリホス

ラットによる亜急性毒性試験を行った。

b) トリプロピルイソシアヌレート

ラットによる亜急性毒性試験を行った。

c) ホキシム

ラットによる亜急性毒性試験を行った。

d) テトラクロロピリホス

ラットによる亜急性毒性試験を行った。

e) 1,1,1-トリクロロエタン

ラットによる28日間反復投与試験を行った。

f) メチレンクロライド

ラットによる28日間反復投与試験を行った。

## g) ジイソプロピルベンゼン

ラットによる発癌性試験を開始した。

## 7. 厚生省 生活衛生局水質試験検査費

オキサジアゾンおよび水槽用塗膜防水剤に関する文献調査を行った。

## 8. 厚生省 乱用薬物基礎研究費

薬物の乱用が世界的に重要な社会問題になりつつある現状をかんがみ昭和62年度から『薬物乱用、特に多剤乱用時の依存形成能とその薬物動態ならびに生態におよぼす影響に関する研究』が発足した。今年度は、クリーンラボ改修工事の影響でサルを用いる依存性実験の開始は不可能であった。関田清司厚生技官は実験動物中央研究所で柳田知司所長の下に3カ月間の研修を行った。

9. 厚生省 癌センター企画調整室がん研究助成金『変異原性をもたない物質による動物発がんとその評価』の題の下に、研究所、大学に所属する6名からなる班を設立し(班長 黒川 部長)、非変異原物質であるが発がん性を示す物質についてその発がんメカニズムに関する研究を行った。

10. ヒューマンサイエンス振興財団共同プロジェクト研究：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

1) 高分子材料の有効性、安全評価の指標となる試験法の研究：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)

ポリウレタン材料のラットへの長期埋入実験を開始した。

## 薬 理 部

部 長 高 仲 正

## 概 要

中沢憲一技官が4月1日付けで採用になり、末梢薬理研究室において主として循環薬理に関する試験、研究を開始した。また、末梢薬理研究室篠内桃子技官は業務内容の移動にともない12月1日付けで生化学薬理研究室に配置換えとなった。末梢薬理研究室井上和秀技官は米国 FDA、医薬品生物製剤センター細菌製剤部細胞生理研究室 J.G. Kenimer 博士のもとにおける培養神経細胞の電気生理学および薬理学的研究を終了し8月31日に帰国した。同技官は11月1日付けでライフサイエンス室併任が発令された。また、生化学薬理研究室川西 徹技官は科学技術庁の長期在外研究員として、11月1日より1年の予定で米国カリフォルニア

州立大学バークレイ校生理解剖学部生理学教室 R. Y. Tsien 教授のもとへ細胞の生理機能と細胞内カルシウムイオンの関係に関する研究のため出張した。コロナ計画によるインドネシア共和国国立薬品食品品質管理試験所に対する技術協力のため、後世代影響研究室中浦慎介主任研究官は発熱性物質試験に関する専門家として9月25日より12月24日までの3カ月間ジャカルタに出張した。また、末梢薬理研究室藤森観之助室長は呼吸循環系の薬理に関する専門家として3月23日より3カ月の予定でジャカルタに出張した。短期海外出張は、高仲：IPCS Task group 会議、Dimethoate および Health Safety Guide 5 品目(スイス、5月9日～17日)、残留農薬 FAO/WHO 合同会議(スイス、9月15日～10月2日)、国立薬品食品品質管理試験所技術協力第6回合同会議(インドネシア、1月19日～29日)の延3件であった。また、国内 GLP 査察には延9名が参加した。

外国よりの研修生としては、Dra. Hotma Limbong(インドネシア、8月31日～2月23日)が呼吸循環系に関する薬理試験法修得のため末梢薬理研究室において研修を行った。また、Dra. Srikanthi Djajala(インドネシア、8月31日～2年間)が催奇形性試験修得のため後世代影響研究室において研修を行っている。

今年度は4課題について研究を終了し、新たに9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6、環境庁関係1、科学技術庁関係1、文部省関係2、ヒューマンサイエンス振興財団3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62年度は4～6月の3カ月間にブドウ糖注射液63件について発熱性物質試験を行い、全て適と判定された。なお、5月末日をもってブドウ糖注射液で国家検定品目より削除されたので、以降国家検査として8月末迄に41件について発熱性物質試験を行い、全て適と判定された。

## 研究業績

## 1. 医薬品等の薬理作用に関する研究

i) チトクローム P-450 のモノクロナル抗体を用いた各種化合物の毒性発見機構の解明に関する研究(一部文部省科学研究費)

本年度で研究を終了した。

ii) 注射剤の局所障害性に関する研究(厚生科学研究、薬務局安全課)

iii) 遊離細胞実験系を用いた臓器特異的毒性発現機序に関する研究(科学技術庁重点基礎研究)

iv) チトクローム P-450 分子種の組合せによるヒト薬物代謝のシミュレーションとその固定化の検討(受託研究)

本年度より3年計画で研究に着手した。

v) 覚醒剤等の中枢作用に関する行動薬理学的研究  
本年度より2年計画で研究に着手した。

vi) 食品中のアミンに由来するニトロソアミン類を活性化する酵素に関する研究(厚生省がん研究)

vii) 心筋および心筋細胞を用いた化学物質の障害性発現機構に関する研究

本年度より3年計画で研究に着手した。

viii) 培養肝細胞を用いた安全性検索法の確立に関する研究(受託研究)

ix) 生薬の循環器系における薬理作用に関する研究(受託研究)

x) 各種化合物の神経系の発生、分化と発達に及ぼす影響に関する研究

本年度で研究を終了した。

xi) 肝腎遊離細胞を用いた毒性発現機構解明に関する研究

xii) 細胞の生理機能と細胞内カルシウムイオンの関係に関する研究

本年度より4年計画で研究に着手した。

xiii) 消化管における薬物代謝活性を変動させる要因に関する研究

本年度より2年計画で研究に着手した。

xiv) 各種化合物の培養神経細胞機能に及ぼす影響に関する研究

本年度より3年計画で研究に着手した。

xv) 医薬品の平滑筋細胞機能に及ぼす影響に関する研究

本年度より3年計画で研究に着手した。

xvi) 肝チトクローム P-448AFB1 に対するモノクロナル抗体の作製とその応用(文部省科学研究費)

単年度で研究を行った。

2. 医薬品等の後世代に及ぼす影響に関する研究

i) 食品添加物の次世代影響に関する研究(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)

ii) 家庭用品に用いられている化学物質の催奇形性に関する研究(家庭用品等試験検査費, 生活衛生局生活化学安全性対策室)

iii) 既存化学物質の催奇形性に関する研究(家庭用品等試験検査費, 薬務局安全課)

iv) ジチオカルバメート系化合物の赤血球障害性と胎仔毒性に関する研究

v) ステロイドホルモン剤の男性化作用に関する研

究

3. 有効性・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)

本年度で研究を終了した。

ii) 強毒性が予想される環境汚染物質等の培養系を用いた低用量安全性検索法の確立に関する研究(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)

本年度より5年計画で研究を開始した。

iii) 新生仔における行動発達試験法の検討

本年度より4年計画で研究に着手した。

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, 薬務局監視指導課)

本年度で研究を終了した。

## 病 理 部

部長 林 裕 造

### 概 要

今年度は人事異動として、昭和63年3月31日付けで長谷川良平腫瘍病理研究室長が退職し、名古屋市立大学医学部第一病理学教室の講師として着任した。また、松岡千明腫瘍病理研究室技官が昭和63年3月31日付けで退職し、(財)食品薬品安全センター秦野研究所の研究技術員として着任した。

本年度、林裕造部長は以下のように海外に出張した。ルクセンブルグで開催された「IPCS/WHO-Euro 主催による遺伝毒性要因への暴露モニタリングの生物学的的手法に関する国際ワークショップ」に出席し意見を交換した(昭和62年7月6日～9日)。韓国・ソウルで開かれた第8回アジア太平洋癌学会に参加し、「環境化学物質のリスク評価」について発表した(昭和62年9月12～20日)。ソビエト・モスクワで開催された「IPCS 主催による合成ピレスロイド、アレスリンおよびピレスメスリンの環境保健クライテリアに関する専門家会議」に出席した(昭和62年11月16～20日)。スイス・ジュネーブで開かれた「食品添加物専門家会議」に出席し、意見の交換を行った(昭和62年3月19日～28日)。

高橋一般病理研究室長および長谷川(前)腫瘍病理研究室長は韓国・ソウルで開かれた第8回アジア太平洋癌学会に参加し、「ハムスターの膀胱発癌過程における種々のプロスタグランジン合成阻害剤の作用」お

よび「BHA 誘発ラット前胃腫瘍発生における retinol acetate の発癌修飾作用」について発表した(昭和62年9月12~20日)。

#### 研究事業

1. 厚生省がん研究助成金(国立がんセンター運営部企画課)

A. 発がん物質の規制決定に関する基礎的研究

1) 発がん物質の規制決定のリスク判定に関する研究

2) 低用量外挿による発がんリスク評価法の規制決定への応用に関する研究

3) 臓器障害により発がん性を示す物質の規制決定の為のリスク評価

4) 内分泌障害により発がん性を示す物質の規制決定のためのリスク評価

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) 発がんに影響する生体側の諸要因の研究

C. がん情報ネットワークの構築と一次、二次予防等、がん対策の評価に関する臨床疫学的研究

1) 発がん物質の総量評価

D. 消化器発がんの修飾要因

1) 膵臓がんの修飾要因

E. 変異原性を持たない物質による動物発癌とその評価

1) 再生状態と発癌

2. 厚生省科学研究費・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. ヒト発がん促進要因の検出とそのリスク評価

1) 肺がん発生に及ぼす食習慣の影響

2) 膀胱がん発生と食習慣、慢性炎症の関連

3. 厚生省科学研究費補助金

A. 医薬品毒性試験ガイドラインに関する研究

B. 発癌性を有する医薬品のリスクアセスメントに関する研究

4. 文部省がん特別研究費関係

A. 化学発癌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

5. 文部省科学研究一般B

A. 化学物質による加齢性病変の発現に関する研究

1) 化学物質による加齢性病変の誘発

6. 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)

A. ピロリン酸カリウムの慢性毒性ならびに癌原性試験

B. タンニン酸の慢性毒性ならびに癌原性試験

## 変異原性部

部長 石 館 基

### 概 要

昭和62年度は試験業務として、前年度に引き続き、1) 食品天然添加物類、2) 水道有機化学物質類、3) 照射食品抽出物あるいは原料、4) 既存化学物質類、5) BHA 代謝物、6) 薬用植物培養生産物および 7) ベンゼンその他の環境汚染物質類などに関する変異原性試験を行った。

研究業務としては、1) 天然甘味料成分ステビオール変異誘発機構の解析、2) 活性酸素種の染色体異常誘発機構の解析、3) フローサイトメトリーによる小核試験法の自動化、4) 日米 NTP 協力による変異原性試験法の開発、5) 細胞株汚染マイコプラズマの除去法に関する基礎研究、ならびに、6) 染色体異常に関するデータの収集などを行い、その結果を各種学会に発表してきた。

長寿関連基礎科学研究事業の一環として、バイオテクノロジーによる高感度簡易試験法の開発に従事し、ニトロフレン化合物に高感受性を示す数種のサルモネラ菌、あるいは、過酸化水素、パラコートに対し、耐性を示すチャイニーズ・ハムスター培養細胞を新たに樹立することができた。

対がん10ヵ年総合戦略に基づいて発足した厚生省細胞バンクは、4年目を迎え、その機能を十分に発揮しつつある。細胞の品質管理はもとより、全国のがん研究者の要望に応え、年間約2000アンプルの供給実績を得ている。

人事面では、昭和63年2月、フィンランドより共同研究のため一年間当部に滞在していたノルバ博士が帰国された。また、インドネシア研修生ユハルニさんは、当部における6ヵ月の研修をおえ、2月に帰国された。部長は昨年8月、シドニーで開催された国際薬理学会シンポジウムでの講演、10月には GLP 査察のためカナダおよびスウェーデンに出張した。また、本年3月にはフランス・リオンで開催された WHO/IARC 専門家会議に出席した。細胞開発研究室(細胞バンク)では、本年3月、リサーチ・レジデント佐々木澄志研究員が退職、4月には新たに東北大学(医・細菌)より、品川保弘研究員を迎えた。

以上の試験研究業務に伴い、当部の細胞変異研究室の林 真主任研究官は、日本環境変異原学会から奨励賞を受けた。また、染色体異常試験については、合計951種の化合物に関する総説を *Mutation Res.* に掲載し、さらに、当部で過去10年間に終了した約700種類の化合物に関するデータ集を出版することができたことは特記すべきであろう。

### 研究業績

#### 1. 食品添加物の変異原性に関する研究

1) 16種類の天然添加物について哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を行った (生活衛生局食品化学課)。

2) 61年度試験において陽性の結果が得られたものの中3種についてマウス骨髄を用いる小核試験を行った (生活衛生局食品化学課)。

#### 2. 7線照射した柑橘類の変異原性に関する研究

7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哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を行った (原子力試験研究費)。

#### 3. 環境汚染化学物質の変異原性に関する研究

1) 水道中における微量有機化合物および関連物質10種について、サルモネラ菌による変異原性試験および哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を行った (生活衛生局水道環境部水道整備課)。

2) 低濃度レベルにおける環境汚染物質の影響を検出するために、フローサイトメーターによる末梢血小核赤血球の測定法について改良を行い、既知小核誘発物質の長期間投与による小核誘発性を検討した (環境庁企画調整局研究調整課)。

3) 既存化学物質4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試験を行った (生活衛生局生活化学安全対策室)。

4) BHAの代謝産物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試験を行った (生活衛生局食品化学課)。

5) 染色体異常試験に用いる数種の培養細胞について、代謝活性化法に用いるS9の細胞毒性を比較した (労働省化学物質情報課)。

#### 4. 生体埋入高分子材料の安全性評価法に関する研究

6種の高分子医用材料抽出物について哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を行った。

#### 5. 薬用植物の組織培養生成物の変異原性に関する研究

チョウセンニンジンの培養生成物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

色体異常試験を行った (薬務局審査二課)。

#### 6. マウスを用いる小核試験法に関する研究

1) 小核誘発における投与経路差について検討を行った。

2) 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。

#### 7. 活性酸素の染色体異常誘発機構に関する研究

1) 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。

2) 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. 照射食品の安全性に関する研究

照射グルコースについて培養細胞を用いる染色体異常試験を行った。

#### 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、クローン遺伝子の制限酵素地図を作成し、高感受性TA98, TA100株を樹立した。

#### 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のアグリコンであるステビオールを *S. typhimurium* TM677に作用させ、サザンブロットハイブリダイゼーション法によりXGPRト遺伝子の構造解析を行った。

#### 11. 変異原性のデータベース

遺伝子突然変異試験、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. 化学物質設計など支援のための知識ベースシステム開発のための詳細設計およびプログラム設計を行った。

#### 13. 突然変異誘発機構の基礎的研究

環境変異原物質の動物遺伝子に及ぼす影響を、シャトルベクターを用いて塩基配列のレベルで解析している。この前段階として、大腸菌中でシャトルベクターをニトロソアミンで処理した後生じる突然変異について塩基配列の変化を解析した。

#### 14. 細胞バンクの運営と関連する基礎的研究

1) 細胞株の収集、品質管理、供給方法を含めた細胞バンク運営。

昭和62年度末までの収集細胞株は585株、昭和62年度中の作成アンブル数は約2000本、供給アンブル数は1022本であった。供給件数は増加の傾向にあり昭和63年度は2000本が見込まれる。

#### 2) 汚染検査

作成したすべての細胞株のマイコプラズマ汚染検査

を実施した。汚染率は約30%であった。

### 3) 細胞株が由来する動物種の確認

アイソザイムの分析により各細胞株の由来する動物種について検討を加えたが、誤りは存在していないことを確認した。しかし、動物種が確認された場合においても、同一動物種間での相互混入の疑いについては上記方法では確認できない。そのため、RFLP プローブ DNA を用いて遺伝子を直接確認する方法の開発研究を行っている。

### 4) 細胞株データベースの開発

すでに一昨年 JCRB 細胞バンク 内部で運用する細胞株データベースを確立した。しかし、他省庁においても細胞バンクが次々設立されつつある現在、横の連携をスムーズにするための細胞株情報データベースを開発する必要性が生じている。そのため、我々が運用しているデータベースを基に、共同利用データベースシステムの開発に着手し、基本的なデータベースの構造を決定し、データ入力および修正プログラムの開発を行なった。

### 15. 発がんプロモーターの検索に関する研究

ras 遺伝子を導入した接触阻止能を有するマウス細胞株を用いて発がんプロモーターを効率良く検索できる実験系を開発した。

## 大 阪 支 所

支所長 伊 阪 博

大阪支所においては、例年とおり国家検定、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を行ってきたところであるが、本年度は特記すべき大きな変革が見られた。その第一点は昭和62年6月よりブドウ糖注射液が国家検定品目より削除され、一部国家検査を行うことになった。第二点はインスリン製剤の国家検定・検査を大阪支所で行うこととなったので、生物化学部による技術指導、機器などの管理換を受け、昭和62年8月当該製剤の第1号を受け付けて試験を実施した。第三点は標準品の製造を行うこととなり、昭和62年10月標準品製造室・保存室などの新設に伴い、同年11月薬品部への、製造にかかる機器類と原料の移管が順次始まり、昭和62年11月13日第1号「トロンビン」の製造を行い、昭和63年度以降に向けての整備が完了した。

これらの業務のほかに特別研究、国立機関原子力試験研究、国立機関公害防止等試験研究および各種の厚生科学研究などを行った。また昭和61年度より継続の

(財) ヒューマンサイエンス 振興財団の長寿関連基礎研究の受託研究を行った。

機器・施設整備などについては内需拡大施策によってガスクロマトグラフ質量分析計 (JMS-DX302) の導入並びに動物実験棟の屋根・空調機器の全面改修、実験動物施設管理運営内規の制定が行われ実働している。

薬品部・食品部および薬理微生物部に述べるような内容が採りあげられ、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

前年度に引き続き高分子材料および超ろ過膜に関するHS 財団の受託研究を行った。また、本所より移管されたインスリン製剤の国家検定・検査および標準品製造業務を開始した。

昭和62年12月10日付けで中原 裕主任研究官が退職した。昭和63年4月1日付けで長谷川隆一技官が主任研究官として毒性部へ、また徳永裕司生物化学部主任研究官が当部へそれぞれ配置換となった。同日付けで田中正一技官および広重律子研究補助員がそれぞれ採用となった。

昭和63年1月27日から15日間、岡田薬品第二室長が、フィリッピン国食品薬品検定センタープロジェクト技術協力のためフィリッピンへ出張した。

### 業務成績

#### 1. 国家検定

ブドウ糖注射液が136件およびインスリン製剤が43件で、全品合格であった。

#### 2. 国家検査

ブドウ糖注射液が125件、リンゲル液が1件、インスリン製剤が2件で全品合格であった。

#### 3. 一斉取締試験

インドメタシンを含有する内服固形製剤22件およびトリクロルメチアジドを含有する内服固形製剤23件につき定量試験を行い、その結果はいずれも全品合格であった。

#### 4. 特別行政試験

国内産収納あへん12件 (岡山県6件, 香川県6件) について、モルヒネ含量の定量試験を実施した。

#### 5. 標準品製造

トロンビンを始めとする4品目の標準品を製造した。

また、63年度告示予定の3品目の新規標準品についてその品質規格の検討を行った。

## 6. 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, 神谷班, 薬務局審査第二課), 局方製剤の品質規格の設定に関する研究(厚生科学研究, 武田班, 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)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) 当部で開発した光学異性体分離定量法を応用し、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ともに、細菌内毒素をラットに投与した病態モデルでのピンドロール R(+) 体および S(-) 体の見かけの分布容積の変化が血液中の  $\alpha_1$  酸性糖蛋白との結合率の差に基づくことを明らかにした。

i-2) 日本薬局方ジフェンヒドラミン製剤4種について、製剤からのジフェンヒドラミン抽出法、液体クロマトグラフ法の条件などを検討し、定量法を確立した(日本公定書協会)。

#### 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方法を開発するために、市販徐放性インドメタシンカプセルについて各種の溶出試験装置を用いて溶出挙動を比較検討した。スパンスール形徐放化製剤の溶出特性の評価にフロー法を利用し得ることを見出した(HS 財団受託研究費)。

ii-2) アスピリン錠および塩酸イミプラミン錠の実態調査を行い、日局溶出試験規格と試験法作成のための検討を行った(厚生科学研究, 薬務局安全課)。

### 2. 医薬品と高分子物質の相互作用

#### i) 高分子の生分解性および内包薬物の放出性に関する研究

種々のタイプのキトサンを用いて調製した膜の卵白リゾチームによる分解性と、その膜に内包させた数種の薬物の放出性について検討し、薬物の放出性がキトサン膜の分解と相関することを明らかにした(HS 財団受託研究費)。

#### 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

ヒスタジンが膜の劣化度を高感度に検出できる指標物として有用であることを見出し、酢酸セルロース、ポリアミド、ポリビニルアルコール製の逆浸透平膜、酢酸セルロース製の逆浸透モジュールについて適用できることを確認した。また、ヒスタジンの膜透過機構

についても検討を加えた(HS 財団受託研究費)。

#### iii) 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

難溶性薬物の可溶化剤として広く用いられているポリオキシエチレン硬化ヒマシ油および硬化ヒマシ油の無機カチオン類およびアドレナリンおよびホモスルファミンなどの有機カチオン類に対するイオン捕捉作用を検討した。程度の差はあるけれども、これらの可溶化剤は、イオン性薬物と相互作用するという結果を得た(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局)。

iv) 細菌内毒素(LPS)の生物化学・薬剤学的研究  
新たに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ゲル電気泳動法を用いて数種のLPSの化学構造上の不均一性を調べた。また、この方法を用いてS型LPSより分画したR型とS型LPSとでは発熱活性、LAL凝固活性に差のあることを明らかにした。

## 食 品 部

部 長 伊 藤 啓 志 男

### 概 要

柴田正室長は国際協力事業団(JICA)の依頼を受け、フィリピン国食品医薬品検定センターにて、食品分析におけるGC/MS利用の研修指導に関する打ち合わせを行うためフィリピンに出張した(昭和63年1月27日~2日10日)。

伊藤は国際酪農連盟(IDF)の依頼を受け、チェコスロバキア(プラハ)でのIDF国際分析法会議に出席、酪農食品中の食品添加物分析部門委員会では、リゾチーム、カラギーナン、ナイシン、レルビキシン、アスパルテーム、抗酸化剤、タール系着色料のわが国の分析法を紹介した。また途上、オランダではリキルト国立農業研究所、抗生物質および酵母のヨーロッパ最大生産社であるギフト・ブロッカード社、西ドイツではキール大学、ゲーテ大学等を見学し、食品分析に関する種々の情報交換を行った(昭和63年4月8日~4月20日)

### 業務成績

#### 1. 製品検査

食用タール色素512検体について検査した。不合格はなかったが、塩化物および硫酸塩含有総和、食用青色1号の含量、食用赤色3号および食用赤色102号の副色素で規格限度すれすれのものが数検体認められた。

#### 2. 輸入食品検査



パバイヤ中の EDB 51件, ビスケット中の二酸化チタン (白色着色料) 9件, キャビア中のホウ酸15件, 器具の材質および溶出試験17件, ワイン中のソルビン酸 2件, ラーメン中のポリソルベート 3件, 菓子中の着色料21件, ハム中の水分活性 3件およびあわび缶詰中の EDTA 6件の合計 127 件の化学検査を行った。

### 3. 特別行政試験

レギュラーコーヒーおよびインスタントコーヒー中の過酸化水素の定量法を作製した (生活衛生局食品保健課)。

寒天中のホウ酸の簡易迅速分析法を作製した (生活衛生局食品保健課)。

### 4. 研修について

神戸農林規格検査所技官 1名の研修を 3ヵ月間 (昭和62年 9月 1日~11月30日), 国際協力事業団の農薬利用コース研修生 6名の農薬分析法の指導および講義を 5日間 (昭和63年 5月 9日~13日) 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: 固体食品中 11種タール色素の Sep-Pak C-18 および HPLC を用いる系統的迅速分析法を作製した (厚生科学研究費, 義平班, 生活衛生局食品化学課)。

②食品中の合成添加物の単一成分分析法: 食品中の微量亜硫酸の比色定量法を確立した。当部で開発した原法に, さらに種々の改良を加え, 通気蒸留後の試験液を 2分し, 過酸化水素溶液を加えないものから加えたものの吸光度を引くことにより夾雑物の影響を除去し, 特異性の高い試験法を作製した (日本薬学会, 衛生調査会)。

寒天, 輸入魚介類からのホウ酸の迅速分析法を作製した。従来の灰化操作の代わりに, 試料を直接, 酸性下でキレート剤 (2-エチル-1,3-ヘキサジオール) 抽出することにより, 迅速かつ再現性の良い結果が得られた (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

昨年に引き続き, 本所食品添加物および地方衛研10機関と協力し, マーケットバスケット方式による調査研究を行った。

今年は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) 48品目 (35化合物) の春夏期での日本人の 1人 1日摂取量を測定し, 57年度の秋冬期での測定結果と比較した。当部は食用タール色素11種を分担した。前回最も摂取量の多かったプロピレングリコール 43.0mg が今回約半量の 23.7mg

に減少したほかは, 大きな増減は認められなかった。前回のA群総摂取量 (49品目) 98.325mg に対し, 今回は 79.150mg であった (厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)。

### iii) 食品添加物の製品検査などの規格に関する試験法の作製

食用黄色 4号, 5号, 食用赤色 2号および 102号の国立衛生試験所標準品の HPLC による色素含有量を測定した。また色素製品検査方式について検討した。乾燥減量の測定のための秤量びんの内径は 40mm 以上にすることにより恒量性が得られた。また塩化物の測定では現行法で活性炭処理を行っているが, この操作中に 20~30%の減少が認められ, 活性炭処理せずに測定できる 0.1N-AgNO<sub>3</sub> による電位差滴定法の方が良好であることを確認した。

各色素原料製品の色素含有量について現行法と HPLC 法を比較した結果, 食用青色 1号で両法の定量性に大きな差が認められた。その原因は, 食用青色 1号では主成分の物性に極めて類似した副色素成分があり, HPLC 法では本成分を分離できるのに対して, 現行法では主成分との区分が不可能であり, 両者の総和として測定したためと考えられる (厚生科学研究, 生活衛生局食品化学課)。

#### iv) 食品添加物の代謝および物性研究

アルギン酸およびその Na 塩, K 塩, および Ca 塩のラットにおける代謝比較を行った。まずアルギン酸の飼料, 糞尿, 各種臓器中からのナフトレゾルシン呈色物の HPLC 定量法を作製した。次に, アルギン酸およびその Na 塩, K 塩, および Ca 塩 90.4mg/kg (日本人の 1人 1日摂取量より算出した値) をラットに経口投与したところ, 3日後糞中のアルギン酸排泄量はそれぞれ 76.8%, 72.7%, 74.2%および 79.3%となり, いずれの場合も著明な差は認められず, その大部分が未反応のまま糞中に排泄されることがわかった。また, これら化合物の投与後の血中 Na, K および Ca 濃度に変動は認められなかった (厚生科学研究費, 高橋班, 生活衛生局食品化学課)。

#### v) 食品由来成分の含有量実態調査研究

B群食品添加物 (有機酸, ビタミン, ミネラルのように天然にも存在するもの) の各種食品中のバックグラウンド値調査を行った。

先ず, オルトリン酸の限外濾過およびイオンクロマトグラフィーを用いる各種食品中からの迅速分析法を作製した。本法は, ATP, ADP 等の有機リン酸および重合リン酸などの影響を全く受けない。次に本法を用いて生鮮食品70数種, 加工食品61種中のオルトリン

酸含有量を測定した。生鮮食品で1000 ppm以上含有するものとしてはさつまいも、小豆、大豆、あじ、あまご、牛肉など23種があり、加工食品で10000 ppm以上の物としては、いわし煮干、脱脂粉乳、あゆ佃煮など5種が認められた(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

vi) 食品中の残留農薬および不許可添加物の分析法に関する研究

① トリアジン系除草剤(Prometone, Propazine, Atrazine, Simazine, Prometryn, Amitryn, Simetryn, Dimethametryn, Metribuzinの合計9種)のニンジン、オレンジ、大豆および玄米からの系統的分析法を作製した。試料をアセトン抽出し、抽出液を食塩溶液にて希釈し、ジクロロメタンで再抽出し、減圧乾固後、残渣をヘキサンに溶かし、アセトニトリル分配後、フロリジルカラム精製を行いFTD-GCにて定量する方法である(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

② 有機塩素系殺虫剤( $\beta$ -BHC, Heptachlor, Aldrin, Heptachlor epoxide,  $\alpha$ -Chlordane,  $p, p'$ -DDE, Dieldrin, Endrin,  $p, p'$ -DDD,  $p, p'$ -DDTの合計10種化合物)の輸入牛肉からの系統的分析法を作製した。試料をアセトン・ヘキサン混液(1:3)で抽出後、抽出液を食塩水で洗浄後、低温下で減圧濃縮し、抽出溶剤を除去する。次にフロリジルカラムに入れ、ヘキサンにて脂肪を除去後、エーテル・ヘキサン(1:9)にて抽出し、減圧濃縮後、ECD-GCにて定量する。本法の20 ppb添加時の回収率はいずれも63.9%以上であった(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

## 2. 食品添加物の有効性に関する研究

i) 亜塩素酸ナトリウム( $\text{NaClO}_2$ )の有効性に関する研究

現在、漂白剤として用いられている $\text{NaClO}_2$ の保存性について検討した。減菌さばホモジネートに魚介類の腐敗細菌2種(*P. fluorescens*, *B. subtilis*)および酵母2種(*C. lipolytica*, *Tr. cutaneum*)を接種し、各種濃度の $\text{NaClO}_2$ を添加して菌数の経日的変化を調べた結果、 $\text{NaClO}_2$ は、特に腐敗細菌に対して著明な効果を示した。また $\text{NaClO}_2$ の効果は現在殺菌料として食品、容器にその使用が認められている $\text{NaClO}$ の殺菌作用とは異なり、静菌作用であることを証明した(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

ii) パラオキシン安息香酸メチル(POBAM)の有効性に関する研究

POBAMの抗菌作用、使用実態、代謝、毒性について文献調査を行った。POBAMの欧米での使用頻度は高く、また毒性は現在我が国で許可されているパ

ラオキシン安息香酸エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルとはほぼ同程度と考えられる(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

## 3. 食品中の有害作用物質に関する研究

各種食品中の微量過酸化水素の定量法を確立し、これらの方法を用いて生鮮食品および加工食品中の過酸化水素の自然含有量を測定した。生鮮食品73種(総検体365件)中で1 ppm以上の物としては小豆、落花生、はたてが、あじ等19種があり、それらの大部分の食品中には過酸化水素分解酵素であるカタラーゼが混在していた。加工食品176種(総検体1130件)中で100 ppm以上の物としてはインスタントコーヒー、レギュラーコーヒーがあり、10 ppm以上の物としてはウーロン茶、ほうじ茶、紅茶、麦茶、ココアの5種があった(厚生科学研究費、内山班)。

ii) 輸入食品中の有害天然成分の分析法に関する研究

亜硫酸の定量に用いられる改良ランキン装置を用いた通気蒸留法による輸入雑豆中の遊離型シアンおよび結合型シアン(配糖体)の分別定量法を確立した。0°Cで20分間通気蒸留し、遊離型を捕集し、次いで50°Cで2時間通気し結合型を捕集し、各捕集液(0.05 N-NaOH溶液)にクロラミンTを加え、クロルシアンを生成させ、ヘッドスペース法により、ECD-GCにて定量する方法である(厚生科学研究費、田辺班、生活衛生局食品保健課)。

4. 陸水域における環境変異原物質の動態に関する研究

予想される環境汚染物質116種の標準品を用いて、Dean-Stark蒸留装置を用いる濃縮法について検討し、良好な回収率を得た。次に本法を用いて河川水および水道水について調査した結果、低沸点有機ハロゲン化合物、クロロベンゼン、フタル酸エステル類、脂肪族炭化水素等が検出された。また、蒸留濃縮検体のHPLCおよびGCクロマトグラム上に多くの未知ピークが出現した。これらの未知ピークの構造解明を行っている(国立機関公害防止等試験研究費、武田班、環境庁)。

## 薬理微生物部

部長 川崎 浩之進

## 概要

昭和62年6月1日より、ブドウ糖注射液が国家検定より削除され、一部国家検査として施行することとなり、同じく6月1日よりインスリン製剤の国家検定を

行うこととなった。

人事面では、昭和62年11月2日、テキサス大サンアントニオ健康科学センター生化学教室において、「糖蛋白の生合成とその制御機構に関する研究」を行うため留学中であった伊丹孝文主任研究官が帰国した。また昭和62年9月30日付けをもって荒木宏昌薬理室長が退職し、昭和62年12月1日付けで後任として伊丹孝文主任研究官が就任した。前年に続きさらに研究員1名減は当部にとって大きな痛手であり、その補充は緊急の要件である。

#### 業務成績

国家検定としてブドウ糖注射液136件と各種インスリン製剤43件を行い、国家検査としてブドウ糖注射液125件、リンゲル液1件と各種インスリン製剤2件を行い、さらに特別行政試験として輸液の発熱性物質試験8件を行い、全品合格であった。

#### 研究業績

##### 1. Limulus test に関する研究

日本薬局方一般試験法としてのエンドトキシン試験法を作成するための基礎的検討の一部として、エンドトキシン標準品候補 Working Reference Endotoxin (Lot 01) (W.R.E.) は、溶解後4℃で保存すれば少なくとも14日間は安定であり、さらに希薄溶液とした場合も4℃で120分間は活性の減弱は認められないことを明らかにし、試験法の基礎固めをした。

一方、注射用水の品質バリデーションに関して、W.R.E. と USP Endotoxin Reference Standard (RES) との間の発熱およびリムルス活性の対比検討を行った(厚生科学研究、薬務局安全課、監視指導課)。

##### 2. 細菌性発熱物質 (LPS) の構造と作用機序に関する研究

###### i) LPS の物理化学的性状と生物活性との相関性に関する研究

W.R.E. と合成リピドAについて、発熱性、リムルス活性、白血球減少活性、シュワルツマン活性を比較検討し、両者はリムルス活性はほぼ同等であるが、他の諸活性はリピドAの方が低いことを明らかにした。

###### ii) LPS と脳プロテオリピドの相互作用に及ぼす有機スズの影響

塩化トリメチルスズの脳内分布とプロテオリピドへの結合性について検討し、スズの脳内への移行機構におけるプロテオリピドの役割を明らかにせんとしている。

###### iii) 溶連菌発熱性外毒素 (SPE) による LPS の毒性増強の作用機序に関する研究

SPE の前処置により LPS 投与後、一過性の高血糖に続く強度の低血糖、血中過酸化脂質の著明な増量、血中  $\beta$ -glucuronidase 活性の上昇を認めたことから、SPE は LPS の多岐にわたる毒性を全般的に増強する可能性を示唆した。さらに SPE 前処置は LPS (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) iv の血中からの消失を抑制することを認めしたが、少量の LPS (1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) iv の場合は影響が認められなかったことから、SPE による LPS の毒性増強作用は LPS の血中からの消失率の低下のみでは説明し得ないことを明らかにした。

##### 3. 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

インスリン製剤中の LPS 検出に関する基礎的検討を行い、インスリンと LPS の混合液 (インスリン 45  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , LPS 0.1  $\mu\text{g}$  あるいは 0.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$  iv) によっても、LPS 0.1 あるいは 0.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$  iv による発熱と差異のない発熱を認めた。リムルス試験においても同様にインスリンと LPS 混合液と LPS 溶液の試験結果が dose dependent に同等であった。このことからインスリンショック量 (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) の約半量のインスリン中に 1/4, 500 量の LPS が混在しても、発熱およびリムルス試験は何らインスリンの影響を受けることなく、LPS 検出が可能であることを明らかにした。しかしより少量の LPS の混在を検出するためには、LPS の分離濃縮の必要があり、この点について、分画分子量3万の遠心式限外ろ過器 (Centricon 30, Amicon Co.) を用いると、LPS 添加量の多少にかかわらず80%以上の回収率で LPS を分離できることを明らかにし、インスリン製剤について何らインスリンの影響を考慮することなく発熱およびリムルス試験を実施できることを示した (特別研究、厚生省)。

##### 4. 農薬、食品添加物等の毒性に関する研究

###### 1) 胎仔毒性に関する研究

a) Trypan blue を妊娠 Wistar ラットに投与し、妊娠20日に胎仔を検索して得られた127例の奇形胎仔について、外表、骨格および内臓奇形出現の関連性について検討した。外表奇形108例、骨格奇形は48例の胎仔に、内臓奇形は27例の胎仔に認められたが、内臓奇形は外表奇形が認められない胎仔からも検出される場合が多いことから、奇形の検出には内臓奇形の検索がより重要であることを示唆した。

b) ラット羊水から精製した  $\alpha$ -フェトプロテインを銅キレートカラムで分画し、2つの分画を得たが、ポリアクリルアミドゲル電気泳動および TSK-gel, G-3000 SW によるゲルろ過で観察したところ、これらは銅イオンへのアフィニティー、分子量およびポリ

アクリルアミドゲル電気泳動度が異なることを認めた。

5. リムル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  
受託研究第2年度の研究として、W. R. E. と RES との発熱およびリムルス活性の対比実験を行い、発熱性は 1 ng W. R. E./10 EU RES であり、リムルス活性は 1 ng W. R. E./8EU RES であることを示した。また W. R. E. を用いて RO および UF 膜のエンドトキシン除去能をさらに詳細に検討し、その過程でエンドトキシンが高圧下にさらされた時、その活性が消失し、常圧にもどると再び活性が認められるようになるという現象を見出した。エンドトキシンの物性探究の重要な手がかりであるばかりでなく、臨床的にも人工透析における問題点ともかかわりのある興味深い問題である (H. S 財団受託研究費)。

6. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究  
化学物質による皮フ組織に対する安全性評価の動物実験代替法の検索の基礎として、マクロファージ遊走阻止試験およびマクロファージ活性酸素産生について基礎的検討を行った。

7. ジベンゾチアジルスルフィドのラットに対する催奇形性に関する研究

62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、ラットに投与し検討した(家庭用品等試験検査費, 生活衛生局生活化学安全対策室)。

## 北海道薬用植物栽培試験場

場長 畠山好雄

### 概要

昭和62年10月1日付けで香月茂樹技官(前北里大学薬学部助手)が新規採用となり、室長として着任した。また、同日付けで熊谷健夫技官が伊豆薬用植物栽培試験場へ配置換えとなった。

長年の懸案事項であった農具舎(326m<sup>2</sup>)が認められ、62年10月に着工し、同12月に竣工、受渡しとなった。

### 業務成績

- 種子交換
 

採種	181種	(筑波試験場へ送付)
受入	33件	133種
分譲	35件	147種
- 指導業務

ケシの講習会が7月に名寄において開催され、講習に当たった。栽培指導については湧別・名寄・下川・札

幌・幌向・中川の各担当者、栽培組合に対して行った研究業務

#### 1. ジャクヤク

育成系統の地域適応性を検定するため道東北見に委託栽培した3年生株の収量調査を行ったところ、多収系統の目安である個体収量 400g 以上を示したものは20系統中11系統あり、当场3年生多収系統と一致したのは、その中7系統であった。

#### 2. ダイオウ

前年と同様、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・過温・水分ストレス耐性を持つと推定される前期285, 後期204, 計489個体を選抜した。染色体についても検鏡したが、全系統とも  $2n=22$  を示し、異数性は観察されなかった。

#### 3. ケシ

寒冷地における一貫種の出葉速度は  $y=30.6+1.89x$  ( $y$ : 播種後日数,  $x$ : 葉位) の一次回帰式が得られた。出葉速度は一般に温度に支配されるが、春播栽培では気温の上昇期に当り、一本の直線回帰にまとめられ、気温・生育段階による規則性の変化はないようである。

果実収量の多収を得るには、基肥ないし早期追肥が基本的施肥技術であることを確認した。

#### 4. 野生薬用植物

ハシリドコロについて、地下部収量の構成要素は根茎と支根の2要素より成るが、収量に対する寄与率は根茎が圧倒的に大きい。成分は地下部収量と相関を示さず、多収高含量系統の選抜の可能性を示している。供試材料の含有成分は非常に低くスコボラミンとアトロピンの合計値が局方値の0.3%以下であり、また、スコボラミンを主成分とするものとアトロピンを主成分とするものがあつた。

## 筑波薬用植物栽培試験場

場長 佐竹元吉

### 概要

タイ王国チュラポーン王女殿下(プーミボン国王の第三王女)が、8月14日に当場を視察、皇室から礼宮様が御同行された。

昭和63年1月1日付けで主任研究官橋場茂子技官(化学物質情報部)が、當場併任として着任した。

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、従来の継続業務に加え、前年度から

引き続き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、中国との共同研究を実施した。また、前に財団の流動研究員として、ルイジアナ州立大学植物生理・生物生理学部 Dr. Hector E. Flores が「形質転換植物による有用物質の生産の研究」について、6月15日から2カ月間の滞在期間中多大の成果をあげ帰国した。

昭和63年3月1日・2日の両日、本所および当場において、薬用植物栽培試験場業務打合わせ会議が開催され、所長、副所長、総務部長および生薬部長等の列席により、意義ある論議が交された。

海外出張は、佐竹が前年度に引き続き、ペルー（8月16日～9月11日）制がん性天然薬物の調査研究、ブラジル（昭和63年1月22日～2月7日）アマゾンの農業研究協力計画実施に参加し、技術協議およびタイ（昭和63年3月21日～29日）で WHO, ICUN, WWF の共催の薬用植物の保護に関する国際会議に出席した。下村講一郎室長、池田嘉代技官は、ハワイで行われた第1回植物化学調節学会日米合同大会および植物化学調節学会第14回年会（8月2日～8月10日）に参加した。

飯田修室長は、ヒューマンサイエンス振興財団の国際共同研究事業の一環として、中国（北京、昆明、貴陽、上海）（10月24日～11月11日）を視察した。

### 業務成績

種子の保管数	1,859種	(1987, 88年分)
入手種子数	190件	1,120種
分譲種子数	206件	4,052種
種子目録配布数	76カ国	416機関

### 研究業績

#### I 薬用植物の栽培に関する研究

##### 1. ミシマサイコ

###### i) 優良系統の選抜に関する研究

2年生の選抜第3代目の27系統の特性を明らかにし、収量性、サイコサポニンの含量性、総エキス含量の高い系統および結実性を考慮して、15系統を選抜した。今年度これらの1年生の生育特性および収量特性を明らかにする。

###### ii) 炭疽病に関する研究

1985年にミシマサイコの地上部が黒変枯死する病害が全国的に大発生した。この病気の原因を明らかにするため、病斑の特徴を明らかにし、菌を分離した。形態的特徴から *Colletotrichum* 属の菌であることが明らかになった。この菌は炭疽病菌であるが、ミシマサイコが宿主となることは知られていないため、新しい

タイプの菌と考えられている。また防除方法についても検討した。

##### 2. ケン

一貫種および外国導入種より第3代目の選抜された16系統について、アヘン中のモルヒネおよびコデインの含有量変異を前年度と比較したところ、今年度は気候条件不順のため生育が悪く、全体的に含有率が低い値が出た。しかし、F102系統はコデイン含量は9.32%と高い値を保持していた。

水耕栽培によるケンの生育は同一条件の土耕と比べて、大変良好であった。人工気象条件により、約50日で結実し、アヘンが収穫された。水耕ではアヘン中のモルヒネの含量は19.84%、コデイン含量は2.70%であり、土耕（ポット）では13.76%と8.05%であった。モルヒネ生産には水耕栽培が良好な結果であった。

##### 3. ハトムギ

温帯ハトムギと熱帯ハトムギの交配によって、ヨクイニンの収量性の高く、草丈が低く、果実の硬度の小さいハトムギの育成をする目的で、継代実験を行っている。今年度は雑種第7世代目の特性を明らかにし、18系統より、16系統を選抜した。F6代までは形質にバラツキが見られたが、雌ずいの色（淡緑色および淡紅色）を指標にするとF7代では安定化が見られた。

#### II 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

Ri プラスミドを保持する *Agrobacterium rhizogenes* を用いて毛状根を誘導する直接法では誘導が困難な植物を *A. tumefaciens* で用いられている共存培養を用いて誘導を試みた。Duboisia M-11-8-6 をリーフディスク法で2日間共存培養したものに毛状根の形成が見られた。形質転換は高圧ろ紙電気泳動法で確認した。毛状根の増殖培地とスコポラミンの生産培地を検討したところ、MS および WP 培地が良好であった。また、培地中にスコポラミンがアトロピンより多く存在することも明らかになった。

##### ii) 不定根による物質生産

###### a) トコン

トコンのクローン増殖した莖葉を用いて、不定根の液体培養によるトコンアルカロイド（エメチン、セファエリン）の生産を検討した。不定根の生育およびアルカロイドの生産条件は NAA 5 mg/l 添加 MS 培地が良好であった。50 ml 培地中で約10週間でエチメンは 300 μg、セファエリンは 2000～3000 μg の生産があった。またこれらのアルカロイドの経時変化をみるとセファエリンは6～8週目に急速な増加が見られた。

## b) ズボイシア

ズボイシア (M11-8-6) の葉からの不定根を液体培養し、トロパンアルカロイド (アトロピン、スコポラミン) の生産の検討を行った。生育は NAA 0.5 mg/l 添加、MS 培地が良好で、アルカロイド生産は INN 0.5 mg および 1 mg/l 添加区が良好であった。IAA の誘導体の 5,6-dichloro IAA および 4-chloro IAA は、アルカロイドの生産および生育の定常期への移行期間が 4~5 週と早く (IAA では約 9 週目)、5 週目以降、培地中にスコポラミンが急速に増加した。

## Ⅲ 薬用資源植物の開発研究

## 1. ベルーアマゾンの薬用植物 (Icoja Negra) の研究

Icoja Negra は現地で抗癌および抗リュウマチ薬として使用される、バンレイシ科 *Unonopsis* 属植物の樹皮である。この樹皮のメタノール抽出液に RNA 逆転写酵素阻害活性が認められた。成分を分離同定したところ、アモルヒン系アルカロイド (ウラボイシ等) およびトリテルペン (ポリカプロール等) であったが、活性成分はまだ単離されていない。

この他、本年度はアマゾン流域の薬用植物 313 種類を収穫し、活性試験を行っている。

## 2. 日中国際共同研究による薬用植物の研究

12系統のカノコソウの染色体は基本数 7 で 2 倍体、4 倍体、8 倍体、10 倍体、および 9 倍体が観察された。キバナオウギは  $2n=16$ 、ジオウ類は  $2n=56$ 、カンゾウ (*G. glabra*) は  $2n=16$ 、ジャクヤクは  $2n=10$ 、センキュウは日中両種とも  $2n=22$  であった。

## 伊豆薬用植物栽培試験場

場長 西 孝三郎

## 概要

昭和62年10月1日付けで熊谷健夫技官 (北海道薬用植物栽培試験場) が配置換えにより着任した。また、西が中国、新疆、ウイグル自治区 (昭和62年7月30日~8月15日) へ植物資源調査のため出張した。

## 業務成績

## 1. 種子交換

採種	115種 (筑波試験場へ送付)
内訳	野生植物 49種
	標本植物 53種
	温室植物 13種
受入	7件 46種
分譲	34件 72種

## 2. 薬用植物の自生地調査

例年と同様伊豆半島各地の野生薬用植物の植生調査を行い、新たにミシマサイコの自生地が見つかった。

## 研究業績

## 1. ミシマサイコ

## 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。本年度は短期間で育苗できる稚苗移植法を確立するため 1/2 MS (IBA 0.5 mg/l, カイネチン 0.05 mg/l) 寒天培地を用い 3 年株より採取した茎頂 (約 3 mm) を植付けた。植付後 1 週~4 週目まで毎週鉢上げを行い、調査は 6 週目まで各区 10 個体について行った。その結果、1, 2 週目に鉢上げた試験区においても枯死株は全然認められず、鉢上げ後の施肥管理等を十分に行えば十分に生育することが示唆された。

## ii) メリクローン種と在来種の肥料反応試験

茎頂培養により増殖した株から採取した種子と在来種から採取した種子を供試し、窒素、リン酸、カリ肥料の半量施用区、標準施用区 (硫安 5.0 g, 過石 6.0 g, 塩加 2.5 g) および増量施用区を設け、ポット試験を行った。収穫期の部位別乾物重は茎重、花器重、種子重は在来種で大きかったが、主根重はメリクローン種が在来種に比べて大きく、メリクローン種では施肥量が多い区ほど大となる傾向が認められ、人工栽培により適しているものと推察される。

## iii) メリクローン種と在来種におけるサイコサポニンの定量

メリクローン種の品質の均一性を評価するため、サイコサポニン (a, d) を定量し在来株との比較を行った。

サイコサポニンの総量はメリクローン株が在来種に比べ個体差が少く、有意に高かった。また、両種のサポニン a/d 比を算出し検定を行った結果、メリクローン種は在来種に比べバラツキが少ないことが明らかになった。

## 2. ステビア

薬剤による倍数性植物の簡易検定法を確立するため、エチレンビスジチオカルバミン酸アンモニウムの希釈液を葉面に塗布し、24時間経過した後、褐変の程度を調査した。

その結果、0.025~0.05% 液で 2 倍体植物は褐変したが、4 倍体植物では変化が認められないことが明らかとなった。

## 和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 野 口 衛

## 概 要

ケン試験栽培を中止し、業務の中心をとくに漢方で汎用される薬用植物の栽培と調製法、ならびにその評価法の研究に転換して一年を経た。

実験設備に関しては、生薬の新しい調製法の開発を目的として、薬用植物電気乾燥装置と多数のサンプルを短時間で分析できる薄層デンストメトリー装置を導入し、また土壤中の空気と水分の植物成長への影響を検討するため、栽培実験用枠試験圃場に暗渠排水管を敷設した。

施設整備に関しては、職員控室の窓枠サッシの交換と内部の改装、農具舎の床の張り直しを行い、また見学者への便をはかるため、温室内を整備した。

## 業務成績

## 1. 種子交換

採種	112種	(筑波試験場へ送付)
受入	16件	60種
分譲	8件	20種

## 2. 指導業務

行政対応として県薬用植物普及研究会、川辺町まちづくり研究会に参加、また地域の薬用植物栽培研究農家の指導を行った。団体見学者への講習は16件、延500人、8月よりはじめた薬草問い合わせの受付け総件数は42件で、その内訳は植物鑑定8、薬効関連16、栽培法11、製造加工その他7件であった。

## 研究業績

## 1. キキョウの栽培と調製に関する研究

## 1) 栽培法について

透明、不透明マルチングならびに土壌改良剤PXの植物体の成長に及ぼす影響を検討した結果、露地区では肥料要素が多いほうが成長は良いが、被覆区では肥料無しでも成長し、逆に肥料による成長阻害が認められ、またPX区が草丈、花実数、茎太、地上重、根長、根重のいずれにおいても最も高い値を示した。その理由は、PXが土壌の団粒構造を促進し、通気性を向上させるためである。白花種は青花種に比べて生根の収量が高く、移植すると収量は直蒔きの50~60%に減少した。

## 2) 生薬調製法について

キキョウ根はそのままでは非常に乾燥しにくく、一月以上経てもまだ柔らかく、少しずつ重量が減少する

が、高圧水を吹き付けて皮を剥いて天日に曝すと一週間程度で真っ白に乾燥した。一方、電気乾燥では、温度が少し高いと表面がわずかに着色した。

## 2. キジツの調製に関する研究

キジツの新しい調製法を開発するため、近隣農家より入手したみかん科植物未熟果実8種(カラタチ、ウンジュウ、ダイダイ、ナツダイダイ、アマナツ、タノウラ、ハッサク、イヨカン)を半切りにし、天日、日陰、電気乾燥を施した。電気送風乾燥法では短時間で製品が仕上がりに、外皮が濃い緑色で香りが強く、フラボノイド含量(hesperidin, naringin, narirutin, neohesperidin)は天日乾燥品に比べ約1.5倍となった。しかし、精油成分の含量はやや低くなり、キジツの香りには精油成分以外の物質が関与していると予測された。電気乾燥品は虫が付きにくいのも大きな特徴である。

## 3. ミシマサイコの栽培試験

産地の異なる3種の種子(茨城、十津川、宮崎)を秋蒔きし、翌年6月にマルチング(透明、不透明、銀色)を施し、11月に収穫し、地上部の背丈と根重を比較したところ、透明、不透明区では対照区より大きい値を示したのに対し、銀色区は対照とほぼ同じかやや低い値を示した。

また、伊豆試験場より入手した種子を春蒔きしたところ、在来種は大きく成長し、開花結実するのにに対し、伊豆産のものは草丈が低く、花を形成しなかった。ただし、11月段階では、根の大きさにはあまり相違は認められなかった。

## 4. クミスクチンの挿し木試験

種子島試験場より分与された苗を育てて得た植物体を2節毎に切断し、切断直後、切断後水挿し2時間、1日放置したグループに分け、そのままあるいは市販発根ホルモン剤(アルファナフチルアセトアミド0.4%含有)処理し、パーミュキュライトに挿し木し、1月後に活着率と根の重量を測定した。その結果、切断直後にホルモン剤を処理した場合に最も高い発根率を示した。また、根重は、水挿し後ホルモン剤処理群がもっとも大きな値を示した。

## 5. その他の植物の栽培試験

北海道試験場より分与されたトウキ、シャクヤク、カラスビシャク、トウスケボウフウ、京都薬科大学より分与されたムラサキ、当场保存のニッケイ、ハトムギ、エビスグサ、コゴメバオトギリの試験栽培を行い、生薬を試製した。

## 6. 圃場発芽と実験室内発芽の比較試験

25種の種子を圃場に蒔き、発芽率を観測した。また、

発芽試験器を高温15, 20, 25, 30度8時間照射, 低温時はこれより10度低く設定し, 実験を行った。その結果, ハブソウ, ペニバナ, ヨウシュチュウセンアサガオ, ペニバナ等は双方の発芽率に対応したが, キキョウ, タマサキツヅラフジのように圃場では発芽するのに実験室発芽ゼロとなる植物, ハナビソウのように温度依存性が高く, 条件によって両者に対応する植物も認められた。

#### 7. 天然薬用資源の解熱活性試験法

8種の漢方製剤原料エキスをLPS発熱家兎に経口投与し, その解熱活性を検討したところ, 通常風邪の治療等に汎用される葛根湯, 香蘇散, 小柴胡湯, 白虎加人参湯や五苓散, 黄連解毒湯には活性は認められず, 婦人用薬として用いられる当帰芍薬散, 下剤として用いられる大承気湯に強い活性が認められた。

#### 8. 薬用資源の有効利用に関する研究

薬用植物の食用, 工芸等医薬原料以外への利用法の検討を目的として, 多種類の薬用植物を試食した結果, 従来もっぱら医薬品として用いられるトウキが根葉を含めて食用となることが明らかとなった。また, クミスクチン, サイコ葉の茶加工ならびに電気乾燥キジンをういたキーホルダーの試作を検討した。

### 種子島薬用植物栽培試験場

場長 葵 一八

#### 概要

昭和59年4月に着任して以来, 場内環境整備の一環として, 庁舎の全面改装および施設等の一部補修, さらに, 砂質圃場への客土(埴土)搬入による, 土壌改善を行ったほか, 圃場としての機能を高めるための, 灌排水施設をも設置した。

圃場は砂丘地内にあるため, 腐植質もすくなく, それに加えて夏季の台風, 潮風害と冬季の北西季節風等の悪影響で, 薬用植物の生育も著しく抑制される自然環境下にある。

そこで, 積極的な防風林造成に併せて, 地力培養(堆きゅう肥・緑肥作物の土壌還元)を意図した管理作物を実施した。

また, 不作付地には, 飼肥料作物としての利用のほか, 土壌線虫等をコントロールする, 前駆作物(暖地型イネ科牧草: ナツカゼ)・熱帯性緑肥作物(クロタリヤ等)を導入し, 土壌のクリーニングを兼ねた地力増進で, 既往の除草作業に要した管理労力が, 節減されたばかりでなく, 生産力向上が期待できた。一方,

既設の薬木園には, 薬用植物の収穫残渣や, 落葉を, 堆積敷料として利用することで, 園内の雑草被圧ならびに表層土の腐植化を高め, 根群域の拡大伸化を促すことが可能になる。

以上のような構想で, 場内の環境整備を行ってきたことで, 地力の向上と, 新規導入の防風樹種(モクマオウ・アカギ)により, 在来の防風樹種(マテバシイ等)に比べて, 約1/2の年限の4~5年で防風効果が発現できた。したがって, 当场における熱帯・亜熱帯系の有用薬木種等を含む, 薬用植物の省資材的な増殖保存には, 防風林に囲繞された圃場内での植栽・管理が, 望ましい育成法であると思われた。なお, 防風効果を意図したことで, 圃場試験精度も高めることが期待できる。

#### 業務成績

##### 1. 種子交換

採種 144種(筑波試験場へ送付)

内訳	自生植物	117種
	導入植物	27種
受入れ	15件	34種
分譲	9件	33種

##### 2. 薬用植物の自生地調査

i) 奄美大島郡の喜界島では, 注目すべき薬用植物の自生種は認めなかったが, 一部の篤志家により, ガジュツ・ウコン・クミスクチン等が自家生産されている程度であった。

町行政では, 「島おこし」の基幹的薬用植物種についての検討段階でもあったため, 「薬用植物をめぐる現況と課題」という首題で講演を行い, 薬用植物種に関する知識啓蒙の研修を実施した。

ii) 沖縄県北部の国頭村奥間では, 篤志家が, クミスクチンを栽培し, 加熱乾燥による「健康食品茶」として販売している。また, 同集落では, ウコンを稲ワラのマルチにより, 生育が極めて良好であることを観察した。

iii) 沖縄県・西表島の琉大農学部附属熱帯農学施設構内の雑木林内では, シナニッケイの生育が良好であることを観察した。その植栽地の照度・土質・土壌水分等の主要因からみて, 当場内でもそれと類似した環境条件を設定することで, 露地でもある程度の生育伸長が可能であると思われた。

#### 研究成績

##### 1. ガジュツの栽培に関する研究

種子島では, 古くからガジュツが栽培され, 経営作物として定着しているが, 慣例的な生産技術であるため, 生産性向上を期するには, 既往の生産技術を再検



討し、改善策を設定することが肝要であると思つた。

そこで、種子島のカジュツ栽培農家の実態を把握するため、アンケート調査ならびに立毛調査を実施し、そこから問題点を摘出し、それが解決のための改善技術について、試験研究を進め、得られた成果によって、生産技術指針を策定した。とくに、カジュツの多収性を図るためには、「栽培様式と施肥管理」とが、主たる技術ポイントであるので、これらのことを中心に、研究成果（「農業および園芸」誌第63巻第6号に投稿中）を概説する。

#### i) 栽植様式

##### イ) 種カジュツの大きさと収量との関係

種カジュツは、根茎重量の大きいもの程、多収につながることを認めた。つまり、種カジュツ1個根茎重と1株根茎収量との相関は、 $r=0.95^{**}$ である。種カジュツとしての経済性からみた1個重は、60~80 gr程度のもので、適正であることを認めた。

##### ロ) 種カジュツ植付け深度の差異と収量との関係

上記種カジュツ1個重60~80 gr程度のもので植付け深度30cmであれば、それよりも浅い植付け深度のものに比べて、3割程度の増収が期待できる。また、植付け深度30cm程度にすれば、有機物多施用も可能となるため、根圏領域内の保水・保肥力も良好となることで、夏季の干害、収穫時（2~3月期）の霜害をも軽減できる有利性がある。

##### ハ) 栽植密度の差異と収穫との関係

密植することで、株間競争が強くなるため、1株当たり根茎収量は小さくなるが、疎植すると、逆に1株当たり根茎収量は大となる。しかし、単位面積当たり根茎収量は、株数の多い密植ほど多収となる。

以上のことから、カジュツ根茎収量の単位面積当たりの増収を図るためには、種カジュツ60~80 gr程度のもので、植付け深度30cm、栽植密度・畦幅80cm

×株間20cmとし、10a当たり植付け株数6000程度であれば、10a当たり1.6t程度の収穫量（販売出荷量）は、確保できる栽植様式であると思つた。

#### ii) 施肥管理

##### イ) 堆きゅう肥施用量と根茎収量との関係

施用する堆きゅう肥素材の質および、腐熟度によって肥効には差異があるが、砂質系の土壌では、a当たり0.4t程度が、施用適量の範囲であると思つた。

##### ロ) 線虫防除の有無がカジュツの根茎収量に及ぼす影響

線虫防除により、カジュツ根茎収量（生・風乾）は、無防除に比べて3割内外の増収効果を認めた。カジュツを加害する線虫は、主として根コブ線虫であることが判明した。

また、線虫防除の有無処理のそれぞれの中では、有機物施用により増収する傾向を認めた。

以上のことから、今後におけるカジュツ栽培では、線虫密度を低下させる前駆作物（暖地型イネ科牧草：ナツカゼ）を導入した生態防除を意図し、それに加えて有機物多施用による栽培法が望ましいと思つた。

## 2. ウコンの多収性に関する研究

### i) 植付け時期試験

### ii) 栽植密度試験

### iii) 堆きゅう肥施用量試験

以上、3試験の成果については、63年度実施の結果をまとめて、取りまとめるので省略。

## 3. クミスクチンの栽培に関する研究

i) 栽植密度×堆きゅう肥施用量試験の結果をまとめて、取りまとめるので省略。

## 4. 日照量の制限が薬用植物の生育・収量に及ぼす影響

現在、試験継続中のため省略。

# 特別研究報告

## Report of Collaborative Study

### 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 (第1次)

(昭和60~62年)

世話人 高橋 惇

科学技術の進歩と産業経済のめざましい発展によって、国民生活に多くの利益をもたらした反面、医薬品・食品添加物・家庭用品・農薬・化学薬品・環境汚染物質などの諸化学物質によって、ヒトおよび動物の健康を損なうような薬害・公害などの被害がしばしば発生し、ある場合は発癌・奇形発生のように重大な毒性を発現させる可能性も考えられている。その原因物質としては、これら諸化学物質自体のほかに、これらの化学物質中に含まれる微量の有害物質の影響も無視できない状態である。各種毒性試験によって生体に及ぼす有害性を検索する手段がかなり進歩してきているが、ヒトにおける発癌性や催奇形性などを予測することは必ずしも容易ではない。そこで、生活関連諸物質中の微量有害成分の汚染状況を把握するとともに、その有害成分の生成機序を明らかにする必要がある。また、生体に摂取された化学物質はそれ自身、あるいは生体内で活性化された代謝物が生体高分子成分と結合し、種々の毒性を発現させると考えられている。そこで、化学物質の体内動態と毒性発現との関連性を明らかにするため、各種動物における代謝過程を詳細に調べ、また化学物質またはその代謝物の生体成分との相互作用を分子レベルで調べ、その化学反応が生体にどのような影響を与えるかを総合的に解析し、化学物質の化学構造および化学的反応性が毒性発現にどのように関連しているかを集約的に知ることが重要課題である。

以上の見地から、生活関連諸物質中の微量有害成分の微量分析法の確立、汚染状況の把握とその生成機序の解明、生体試料からの分離・定量法の確立と体内動態の把握、活性代謝物の予測およびその化学的反応性と毒性発現との相関性、等を総合的に研究し、また、

モデル化合物を投与した動物の尿中代謝物の催奇形性を検索する *in vitro* 試験法の開発研究を行い、ヒトでの安全性予測に応用しうる試験基準を確立させるための研究を実施した。モデル化合物としては、ステリグマトシスチン (STC)、亜硫酸、過酸化水素、ホルムアルデヒド、ニトロアレン類等を選んだ。

発がん性カビ毒 STC はこれまでの *Aspergillus versicolor* およびその関連菌以外にも輸入香辛料などから分離された *Emericella*, *Chaetomium* など数種の子のう菌類で生産することが認められた。特に、*E. striata* は新規の毒性代謝物 emestrin, けいれん性カビ毒 paxilline との同時生産が認められ、生合成経路、あるいは複合汚染に関する今後の問題点を提起する結果を得た。なお、アフラトキシン生産菌である *A. flavus* にも *O*-methylsterigmatocystin 生産株が発見された (衛生微生物部)。

一方、ラットとマウスにおける STC の体内分布の差異を明らかにした。ラットに経口投与した場合、30 時間後でも消化管に70%以上が検出されたが、マウスでは投与6時間後の胃に微量検出されたに過ぎなかった。十二指腸部位、空腸部位および回腸部位に STC 0.2 mg/kg を投与した場合、回腸部位に投与した群のみ出血が観察され、投与部位によるレスポンスの差がみられた (食品部)。

食品に含まれる微量有害成分である亜硫酸および過酸化水素の適切な微量分析法がなく、食品中含有量の把握および体内動態に関する研究は実施されていない。そこで、本研究では生体試料中の亜硫酸と過酸化水素の微量分析法を確立させ、その方法を用いて、ラット諸臓器中でのそれぞれの分解挙動を明らかにした (大阪支所食品部)。

欧米では化粧品などに使用されている防腐剤の中で、2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol (BNPD), 1-

hydroxymethyl-5,5-dimethylhydantoin (HMDH) など hydroxymethylene 基を有する化合物は、ホルムアルデヒドを遊離することから、皮膚に対する毒性発現とその含有量との関連性を明らかにすることが要望されている。そこで、これら防腐剤の薄層クロマトグラフィーによる確認法と HPLC による簡易迅速微量分析法を検討した。BNPD は塩基性側では不安定で、容易にホルムアルデヒドを遊離することを認めた。また、HPLC を用い、化粧品中の BNPD, HMDH の微量分析法を確立させた (環境衛生化学部)。

ホルムアルデヒドはたんぱく質および DNA のモデル化合物と生理的条件下で速やかに反応し、ハイドロキシメチル体、メチレン架橋体を与えることを明らかにした。ホルムアルデヒドによるこのような生体成分の修飾反応が、発癌の引き金になっていると考えられる (合成化学研究部)。

天然系の甘味料であるステビア抽出物成分のステビオサイドには微生物に対する変異原性は認められないが、その代謝物であるステビオールは S9 mix 存在下で前進突然変異を誘発するとの報告があるので、ステビオサイドおよびその代謝物の変異原性の再検討を行った。ステビオサイド自身には変異原性は認められなかったが、そのアグリコンであるステビオールには S9 mix 存在下で弱いながら変異原性のあることが示された。しかし、マウスを用いた *in vivo* 小核試験では陰性であった (変異原性部)。

甘草エキス中のグリチルリチン (G) の体内動態はエキス中の他の成分により影響を受けることが予想されるので、甘草エキス投与と G の単独投与 (エキス中と同量) 時の血漿中 G 濃度の経時変化を比較し、G の偽アルドステロン症発現への関与を検討した。G の血中濃度は偽アルドステロン症の発現と関係しているが、甘草エキス投与群の方が G 単独投与より G の血漿中最高濃度が低い傾向にあり、偽アルドステロン症の発症に対する関与度が低いことが示唆された (生薬部)。

ニトロアレン類に関する研究では、1,6- および 3,6-ジニトロベンツ (a) バイレンを合成し、それらが強い変異原性を有すること、1位および3位のニトロ基の還元性が変異原性と相関することを明らかにした。生体分子の修飾反応については現在検討中である (合成化学研究部)。

毒性試験法の開発研究では催奇形性物質の短期検索法として期待される数種の系 (ラットやマウス胎仔の midbrain cell ならびに limb bud cell の細胞分化や、主として形態形成を指標とした whole embryo cu-

lture ならびに limb bud organ culture) につき、食品添加物・農薬・マイコトキシン等の化合物を用いて検討した。催奇形性物質の究明、奇形発生における種差・構造活性相関・催奇形性発現機序の解明に有力な武器になるものと考えられる (医化学部)。

現在、継続中の第2次本特別研究ではこの第1次研究で確立させた諸手法を化学構造の異なる他のマイコトキシン、ニトロアレン類などにも応用して、精力的にデータの集積を行っており、その成果が大いに期待される。

最後に、終始御協力を戴いた分担研究者各位と本研究の機会を与えて戴いた当局に対し深く感謝の意を表します。

### STC 産生制御の微生物学的研究

#### 衛生微生物部

発がん性カビ毒 Sterigmatocystin (STC) の生産菌について検索を行った結果、これまでの *Aspergillus versicolor* およびその関連菌以外にも輸入香辛料などから分離された *Emericella*, *Chaetomium* など数種の子のう菌類に STC の生産性が認められた。とくに前者に分類される *E. striata* においては新規の毒性代謝産物 emestrin, けいれん性カビ毒 paxilline との同時生産が認められ、生合成経路、あるいは複合汚染にともなう毒性発現上の効果に関して今後の問題点を提起する結果を得た。なおアフラトキシン生産菌である *A. flavus* にも *O*-methylsterigmatocystin 生産株が発見された。

香辛料と起原植物が共通するものが多い生薬類について、インドネシア産生薬のカビ毒生産菌分布調査を行ったが、*A. versicolor* に関しては24点の試料中に8点で陽性であったが1点の *Gaultheria fragrantissima* の葉部に  $2 \times 10^4$  cfu/g を検出した以外はいずれも少数ずつ検出したにすぎなかった。*Emericella* 属は6点で陽性であり、*Plantago major* の全草部、*Coriandrum sativum* の果実部に  $2 \times 10^3$  cfu/g を検出している。ちなみに *A. flavus* は10点に陽性で、分離菌株50株中24株の aflatoxin 陽性株を ELISA 法および TLC 法で検出した。ELISA 法は体内動態に適用可能。

#### 発表論文

- 1) H. Seya, K. Nozawa, S. Nakajima, K. Kawai, S. Udagawa: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1986,

- 109  
 2) H. Seya, K. Nozawa, S. Udagawa, S. Nakajima, K. Kawai: *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 2411 (1986)  
 3) 宇田川俊一: *食品と微生物*, 3, 46 (1986)  
 4) 一戸正勝ら: *衛生試験*, 106, 00 (1988)

### Sterigmatocystin の体内分布および発癌との関連

#### 食 品 部

Sterigmatocystin (Stg) はかび毒の中で最も発癌性の強い Aflatoxin (Af) に似た化学構造で、その癌原性発現機構は Af と同様に dihydrofuran の存在が重要で tetrahydrofuran 体は活性が顕著に低下することが知られている。両化合物共、食品汚染物として食品衛生化学上重視されているかび毒である。既にわれわれが食品中の Stg 分析法として開発した HPLC を利用する方法を駆使し、Stg 強制経口投与した rat と mouse の体内分布および rat における吸収について究明した。これらの結果から rat の消化管中には 30 時間後も約 70% 以上の Stg が検出され、一方 mouse は 6 時間後の胃に微量の Stg が検出されるに過ぎず、24 時間後の消化管中に Stg は全く検出されなかった。Stg の消化管における滞留時間は rat と mouse では異なった結果を示し、mouse の消化管からの排泄は非常に早いことが解った。また rat に Stg を強制経口投与すると 24~30 時間後の胆汁に Stg を検出した。そこで小腸をおよそ三つの部分に分画しそれぞれの部分を結紮して Stg を投与し吸収部位の確認を行った。すなわち十二指腸付近投与群、空腸付近投与群、回腸付近投与群 (20 mg/kg, 2 mg/kg, 0.2 mg/kg 投与) に Stg を投与し胆汁を採取し、3 時間後に小腸を摘出し、得られた腸管組織、腸管内容物、胆汁を分析した。

また同様の方法で Stg 投与直前に胆汁 0.2 ml を投与し、0.2 mg/kg の Stg を投与した。いずれの実験も回腸付近投与群の腸管内容物中の Stg 量が最も多く、空腸付近投与群、十二指腸投与群の順であり、また回腸付近投与群に出血がみられ投与部位別のレスポンス差が明らかであった。

#### 〔方法と結果〕

##### 体内分布について

1) 17 時間除餌の Wistar rat (6 週) に Stg を 25 mg/kg 胃内に強制経口投与し、1, 3, 6, 24, 30 時間後解剖し肝臓、腎臓、脾臓、胃、小腸、大腸を摘出し Stg を分析した。

2) 17 時間除餌の Charles river BDF-1 mouse (5 週) に 20 mg/kg を胃内に強制経口投与し 1, 6, 24, 30 時間後解剖し消化器系臓器を摘出し分析した。

1) の実験結果を Table 1 に示す。rat は投与 30 時間後も消化管内に 75.5% の Stg が検出された。mouse は Stg 投与 6 時間後胃のみに僅少量の Stg を検出するが 24 時間後には今回対象にした何れの臓器からも Stg は検出されなかった。

##### 吸収について

1) 16 時間除餌の Wistar rat (9 週) の胆管にカニューレを挿入後、胃に強制経口投与 (25 mg/kg) し、3, 6, 24, 30 時間に胆汁を採取した後、採血し、解剖により肝臓、腎臓、脾臓、胃、小腸、大腸を摘出し、また Stg 投与から解剖までの尿と糞を採取し、得られたこれらの試料を分析した。24~30 時間の胆汁に 0.98~1.4%、尿へ 0.13%、胃、小腸、大腸中に 68.06~77.05%、血液へ 2 μg/ml の Stg が検出された。また剖検により上部小腸に腸重積が認められ、胃は水溶物で膨満していた。

2) 胆管カニューレを挿入した rat の小腸をおよそ 3 等分した一つの部分すなわち十二指腸付近を結紮し

Table 1. Distribution of Sterigmatocystin in Various Organs of Rat after Oral Dosing

	3 hrs	6 hrs	24 hrs	30 hrs
Liver	0.08mg (1.5%)*1	0.04mg (0.8%)	0.08mg (1.3%)	0.3mg (0.9%)
Kidney	0.03 (0.6)	0.03 (0.6)	0.01 (0.2)	0.01 (0.3)
Spleen	0.03 (0.6)	0.01 (0.2)	0.01 (0.1)	0.01 (0.2)
Stomach content	3.48 (66.4)	4.04 (73.0)	4.46 (73.8)	1.53 (46.8)
Intestinal content	0.75 (14.3)	0.5 (9.0)	0.16 (2.7)	0.5 (15.3)
Colon content	0.10 (1.9)	0.92 (16.6)	0.32 (5.3)	0.4 (12.2)
Body weight of rat	208 g	220 g	240 g	130 g
Dose	5.24mg	5.54mg	6.04mg	3.27mg

\*1 Value in parentheses are percentages of the given dose

Table 2. Distribution of Sterigmatocystin in Small intestine of Rat

	Small intestine								
	Stg 2mg/kg			Stg 0.2 mg/kg			Bile 0.2 ml+Stg 0.2 mg/kg		
	Duodenum (%)	Jejunum (%)	Ileum (%)	Duodenum (%)	Jejunum (%)	Ileum (%)	Duodenum (%)	Jejunum (%)	Ileum (%)
Intestinal Contents	1.3	4.1	6.9	6.2	9.5	6.8	1.2	n. d	1.6
	98.5	94.5	86.5	5.9	12.1	15.3	0.9	5.0	10.3

Stg: Sterigmatocystin

Stg を投与 (20 mg/kg, 2mg/kg, 0.2 mg/kg 投与) した。また別の rat の空腸付近あるいは回腸付近に同様の方法で Stg を投与し、それぞれの投与群について3時間後、胆汁を採り、採血し、解剖により小腸を摘出、得られたこれらの試料を分析した。

また Stg 投与前に胆汁 0.2 ml を投与し同様の実験を試みた。小腸はいずれも小腸と内容物に分けて分した。結果は Table 2 に示すごとくいずれも回腸付近に投与した群の内容物中の Stg 量が最も多く空腸付近、十二指腸付近の順であった。0.2 mg/kg 投与群は胆汁と共に投与すると回腸付近投与群のみ、Stg のみ投与では十二指腸付近投与群と回腸付近投与群に充血あるいは出血がみられ部位別の傷害の差がみられた。20 mg/kg 投与群は投与後 2.5~3 時間に腸炎症状を呈し死亡した。

〔ま と め〕

強制経口投与した rat と mouse の体内分布を調査したところ rat の消化管における滞留時間はかなり長く30時間後も消化管に70%以上の Stg が確認されたが mouse は24時間後の肝臓、腎臓、脾臓、胃、小腸、大腸および内容物から Stg は検出されなかった。これらは mouse による傷害の報告例が少ないことと合致した。Stg の胆汁への排泄は24~30時間であった。次に小腸における Stg の吸収部位を確認する目的で十二指腸付近、空腸付近、回腸付近のそれぞれの投与群について検討したところ、20 mg/kg 投与群はいずれの投与群も腸炎症状を呈し2~3時間で死んだ。2 mg/kg 投与群は三つの部位のいずれの投与群も腸管内容物中の Stg 量が86.5~98.5%であった。0.2 mg/kg 投与群は回腸付近投与群の腸管内容物中の Stg 量が最も多く、空腸付近投与群、十二指腸付近投与群の順に少なく、また Stg 投与直前に当該小腸部位に胆汁を投与した系も同様の結果であった。小腸に Stg を投与すると肉眼でも充血および出血等の傷害がみられ、部位別のレスポンス差が明らかであるが、投与3時間で摘出した腸管の病理組織標本には著明な傷害像はみられなかった。

生体試料中の亜硫酸および過酸化水素の分析並びに *in vitro* での分解に関する研究

大阪支所食品部

〔目的〕

空気、水あるいは食品に含まれる炭素のない微量有害成分である亜硫酸 ( $H_2SO_3$ ) および過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) は非常に分解しやすい物質であり、人が少量摂取した場合、生体内で速やかに分解するといわれている。しかし、 $H_2O_2$  はカタラーゼの少ないマウスに発ガン性があり<sup>1)</sup>、 $H_2SO_3$  はアレルギー体質の人が摂取し、米国で十数名の死者を出している<sup>2)</sup>。 $H_2SO_3$  あるいは  $H_2O_2$  は分解しやすく、炭素のない簡単な化合物であるため分析が困難であり、生体内での分解挙動についての定量的研究は皆無である。

我々は、白ネズミの各種臓器ならびに人の唾液中の  $H_2SO_3$  および  $H_2O_2$  の分析法を開発し、各臓器中の *in vitro* での分解挙動について検討した。

〔実験方法〕

臓器：白ネズミ (体重 500 g) の肝臓、腎臓、小腸、血液および人の唾液を用いた。

生体試料液の調製：各種臓器 1g に対して9倍量の生理食塩水を加えホモジナイザーを用いて冷却しながら摩砕したものを生体試料液とした。

1)  $H_2SO_3$  の測定：メタリン酸添加改良ランキン法により捕集した二酸化硫黄 ( $SO_2$ ) を硫酸イオン ( $SO_4^{2-}$ ) としアルカリ滴定法により測定した。

2)  $H_2O_2$  の測定：メタリン酸前処理酸素電極法<sup>3)</sup>により測定した。

3) カタラーゼ活性測定法：酸素電極法を用いて、梅本らの方法<sup>4)</sup>に準じて行った<sup>3)</sup>。

〔実験結果および考察〕

1.  $H_2SO_3$

1.1. 生体試料での  $H_2SO_3$  の分析法の作成

肝臓ホモジネートへの  $H_2SO_3$  の添加回収率は  $SO_2$

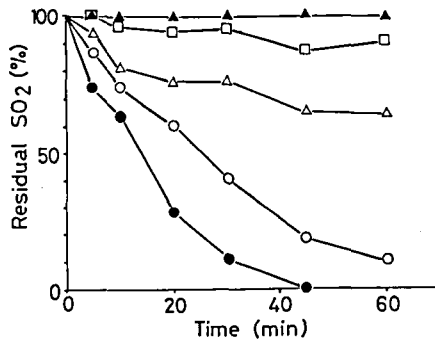


Fig. 1. Time courses for degradation of sulfite added to various rat viscera homogenates

●Liver, ○Kidney, ▲Blood, △Small intestine  
□Human saliva

The 200  $\mu\text{g/g}$  of  $\text{SO}_2$  added to homogenates were shaking at 37°C and residual  $\text{SO}_2$  were determined.

として 10  $\mu\text{g/g}$  添加の場合、従来法の改良ランキン-アルカリ滴定法では43%であった。窒素ガス、煮沸あるいはメタリン酸処理を行うと回収率は74%に上昇し、生体試料中の  $\text{H}_2\text{SO}_3$  の定量法としてメタリン酸処理改良ランキン法では良好な方法であることを明らかにした。

### 1.2. 各種臓器中の $\text{H}_2\text{SO}_3$ の分解挙動

37°C での白ネズミの肝臓、腎臓、小腸、血液および人の唾液のホモジネート中に  $\text{H}_2\text{SO}_3$  を  $\text{SO}_2$  として 200  $\mu\text{g/g}$  添加した時の分解挙動を測定し、その結果を Fig. 1 に示した。肝臓が一番速く分解し、45分で残存率は0%となった。腎臓、小腸、唾液の順に分解率は遅くなり、血液ではほとんど分解しなかった。

## 2. $\text{H}_2\text{O}_2$

### 2.1. 各臓器のカタラーゼ活性

いずれの臓器についてもカタラーゼ活性があり、肝臓での活性が最も強くなった。

### 2.2. 生体試料での $\text{H}_2\text{O}_2$ の分析法の作成

従来の酸素電極法<sup>4)</sup>を用いた場合、いずれの臓器においてもカタラーゼ活性があるため、 $\text{H}_2\text{O}_2$  の添加回収率は0%であった。メタリン酸処理酸素電極法<sup>3)</sup>を用いた場合、メタリン酸によるカタラーゼの不活化により、肝臓ホモジネートへの  $\text{H}_2\text{O}_2$  の添加回収率は5  $\mu\text{g/g}$  添加で、73%以上を得、良好な方法であることが明らかになった。

### 2.3. 各種臓器中の $\text{H}_2\text{O}_2$ の分解挙動

1°C での白ネズミの肝臓、腎臓、小腸、血液および人の唾液のホモジネート中に  $\text{H}_2\text{O}_2$  を 500  $\mu\text{g/g}$  添加した時の分解挙動を測定し、その結果を Fig. 2 に示

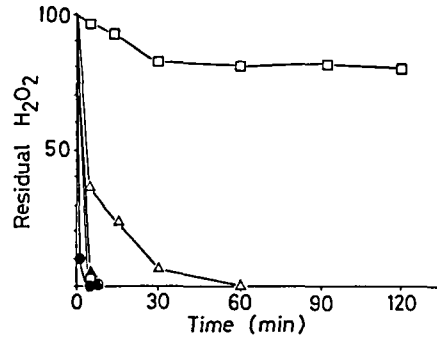


Fig. 2. Time courses for degradation of hydrogen peroxide to various rat viscera homogenates

●Liver, ○Kidney, ▲Blood, △Small intestine  
□Human saliva

The 500  $\mu\text{g/g}$  of  $\text{H}_2\text{O}_2$  added to homogenates were shaking at 1°C and residual  $\text{H}_2\text{O}_2$  were determined by using Method C.

した。肝臓、腎臓、血液中では瞬時に分解した。

## 参考・発表報文

- 1) A. Ito, M. Naito, Y. Naito, H. Watanabe: *Gann*, 73, 315 (1982)
- 2) FDA Consumer 17 (1986)
- 3) 辻 澄子, 津村明宏, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤蒼志男: *食衛誌*, 28, 196 (1987)
- 4) 梅本 滋, 大橋 実, 宇津木義雄: *東海水研報*, 118, 59 (1985)
- 5) 厚生省環境衛生局食品化学課編: “食品中の食品添加物分析法” p.24 (1982) 講談社

## 化粧品中の Formaldehyde-releasing 化合物の微量分析法

環境衛生化学部

我が国においてはホルムアルデヒド (FA) は安全性の観点から医薬部外品および化粧品にはその配合を認めていない。しかし、近年化粧品などに使用される防腐剤の中に FA を徐々に遊離するといわれている防腐剤すなわち、2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol (BNPD), 1-hydroxymethyl-5,5-dimethyl hydantoin (HMDH) など hydroxymethylene 基を有する化合物があり、これらは細菌に対し広い抗菌力を持っているため、諸外国で広く利用されている。これらの化合物について、その FA 徐放性と毒性発現の相関性を明らかにすることはこれら化合物の安全性評価の上で重要と考える。そこで今回はこれら化合物の安定性、FA 生成に及ぼす温度、pH の影響を検討すると

共に、実試料に添加した場合の薄層クロマトグラフィ (TLC) による確認および高速液体クロマトグラフィ (HPLC) を用いる簡易迅速定量法を検討したので報告する。

## 1. 実験

### 1.1. 試薬および試料

試薬：すべて特級品を用いた。

試料：2-Bromo-2-nitro-1,3-propane diol (Aldrich chemical Comp. 製), 1-(Hydroxymethyl)-5,5-dimethyl hidantoin (東京化成製) を用いた。

市販クリーム (水性および油性タイプ) およびシャンプー (乳化タイプ) を用いた。

### 1.2. 装置

TLC: 通常の市販品を用いた。

HPLC: 島津 LC-6A (ポンプ), 島津 SPD-6A (UV 検出器), およびレオダイニンジェクターなどを接続して用いた。

### 1.3. 操作

#### 1.3.1. FA の定量

FA の定量はアセチルアセトン法<sup>1)</sup> による。

#### 1.3.2. TLC 用前処理

クリーム 1.0g をコルベンにとり、エタノールを約 5 ml 加えロータリーエバポレーターを用いて水浴上 40°C で濃縮乾固する。これにエタノールを加え 10.0 ml とし遠心分離 (3000 または 10000 rpm, 10分) をし、上澄液を TLC 用試験溶液とした。

#### 1.3.3. HPLC 用前処理

クリーム (水性または油性タイプ) またはシャンプー (乳化タイプ) 1.0g をとりジクロロメタン 10 ml を加えて超音波処理 (5 min) を行った。これを分液ロートに移し、ジクロロメタン、水各 10 ml を加えて振とうした後、遠心分離 (10000 rpm, 10分) し、得られた水層を一定量とし、HPLC 用試験溶液とした。

#### 1.3.4. TLC および HPLC 条件

TLC の条件は以下のとおりである。

TLC プレート: Kiesel gel 60 (precoated)

展開溶媒: 酢酸エチル・メタノール・アンモニア水 (65:30:8), 検出法: 80°C で5分間乾燥後、アセチルアセトン液<sup>1)</sup> を噴霧し 50° で5分間反応させ、紫外線照射下で観察する。

HPLC の条件は以下の通りである。

カラム: TSKgel ODS 80Tm, 5 $\mu$ m (4.6 mmid  $\times$  250 mm), 移動相: 水・アセトニトリル (95:5), 検出波長: 210~216 nm

## 2. 結果

### 2.1. BNPД, HMDH の経時安定性

#### 2.1.1. FA 生成に及ぼす温度の影響

BNPD は 0.5 mg/ml, HMDH は 0.1 mg/ml のエタノール溶液を共栓試験管に各々 2.5 ml とり、水 2.5 ml を加え、25°C, 40°C, 60°C の水浴中に密栓をして各々 1 時間放置し、温度変化による FA の生成率をアセチルアセトン法を用いて検討した。その結果 BNPД, HMDH とも温度の変化による分解は溶液中では全く認められなかった。

#### 2.1.2. FA の生成に及ぼす pH の影響

BNPD 5 mg/ml, HMDH 1 mg/ml の水溶液を各々 10.0 ml をとり、水 70 ml を加え、さらに希塩酸および希水酸化ナトリウム液によって pH を 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 および 10.0 に調整し、全量を 100.0 ml とする。つぎにこれを 40°C の水浴中で 1 時間放置する。反応液の pH を 5.0~6.0 に調整した後、アセチルアセトン法によって FA の生成量を測定した。その結果は Fig.1 に示すように HMDH では pH の違いによっても FA の生成量の変化はしないが BNPД では塩基性になるにしたがって急激に増加した。

#### 2.1.3. TLC による確認について

BNPD, HMDH 各々の 7.5 mg/ml エタノール溶液を標準原液として用いた。クリーム (油性タイプ) 1.0g をコルベンにとり上記標準原液 2.0 ml を添加し、以下 1.3.2 TLC 用前処理に準じて試験溶液を調製し 1.3.4 TLC の条件に準じて試験を行ったところ R<sub>f</sub> 0.91 に BNPД が 0.86 に HMDH のスポットが観察された。本条件下では最小検出量は 30  $\mu$ g であった。

#### 2.1.4. HPLC の測定条件の検討

順相系: ①カラム; LiChrosorb Si 60, 移動相;

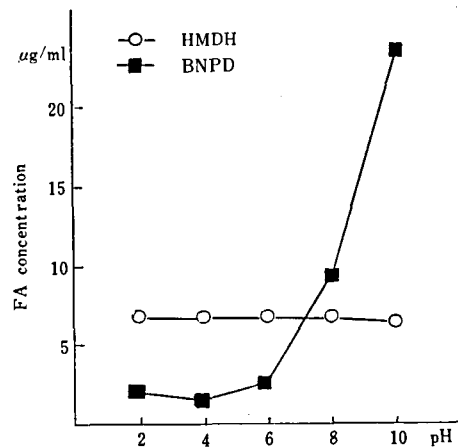


Fig.1. Effect of pH on the formation of FA

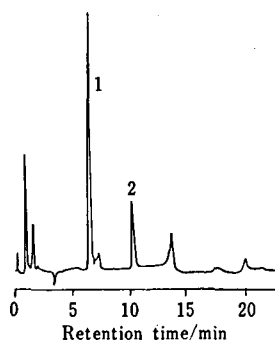


Fig. 2. HPLC Chromatogram obtained from cream extract.

Column; TSK-ODS 80 Tm (4.0 mm i. d. x 150 mm), Mobile phase; H<sub>2</sub>O : CH<sub>3</sub>CN (95 : 5), Detection; UV 216 nm, Flow rate; 0.8 ml/min

1. HMDH, 2. BNPD

ヘキサン・エタノール (7 : 3), ②カラム; Nucleosil 5CN, 移動相, ヘキサン・エタノール (75 : 25) および逆相系, ③カラム; Hitachi gel #3056, TSK ODS 80 Tm, 移動相; 水・アセトニトリル (95 : 5) を用いて検討した。②の条件では HMDH と BNPD の保持時間が近接しているが①と③ではピークの分離度はほぼ同じであったので使用上の便利さから逆相系の③を用いることとした。③の条件を用いてクリーム (水性タイプ) に 0.05% の割合, すなわちクリーム 1g に BNPD および HMDH 各々 0.5 mg/ml エタノール溶液を各々 1 ml ずつ加え, エバポレーター (40° の水浴中) で濃縮した後以下 1.3.3 にしたがって処理をし試験溶液を調製する。本条件で得られたクロマトグラムの 1 例を Fig. 2 に示した。

#### 2.1.5. HPLC による検量線の作成および添加回収率の測定

1.3.4 の HPLC の測定条件を用いると BNPD HMDH は各々 0.01 mg~0.1 mg/ml の濃度範囲において原点を通る良好な検量線が得られた。なお定量限界は各々の成分に対して 0.005% であった。

また前記クリームおよびシャンプーに BNPD および HMDH を 0.01~0.1% の割合に添加し (2.1.4 参照) 得られた回収率を Table 1 に示す。

以上のことから BNPD は塩基性側では不安定で容易に FA を遊離するので注意が必要である。また, TLC において BNPD, HMDH を確認することができる。また, HPLC ではクリームおよびシャンプー中の BNPD, HMDH を分解せずに直接定量することが可能となった。これらのことから BNPD, HMDH など FA を遊離する防腐剤の有用な微量分析法となる

Table 1. Recoveries from cosmetic products

Sample	Added (%)	Recovery (%)	
		BNPD	HMDH
Cream (oily)	0.01	95.0	100.0
	0.05	92.7	105.3
	0.1	92.0	105.0
Cream (aqueous)	0.025	91.0	93.5
	0.05	91.0	96.5
	0.1	94.0	103.3
Sampoo	0.05	96.0	101.3
	0.1	90.0	99.7

ものと考えられる。

#### 参 考 文 献

- 1) 日本薬学会編, 衛生試験法, 注解 p. 683 (1980) 金原出版

#### 微量有害成分の毒性発現機構に関する有機化学的研究

合成化学研究部

生活関連諸物質に含まれる微量有害成分の毒性を正しく評価し, ヒトに対する安全性評価の指標を確立するためには, 微量有害成分の毒性発現機構を分子レベルで解明することが重要な研究課題の一つとなる。本研究では経口, あるいは吸入により毒性を発現することが知られているホルムアルデヒドおよびニトロアレン類を研究対象化合物として選び, それらの化学反応性を明らかにし, 分子レベルでの反応性を細胞あるいは生体レベルでの反応と対応させるための基礎的知見を得ることを目的として研究を展開した。

1. ホルムアルデヒドの癌原性に関する化学的研究  
ホルムアルデヒドはヒトに対して, その濃度に応じて粘膜刺激, 結膜炎, 肺水腫, 出血, 気腫, 肺炎などの毒性を示す。また, ホルムアルデヒドは, 変異原性も有し, ラットの吸入による癌原性試験においては, 高率で鼻腔癌が発生する。

われわれは, ホルムアルデヒドの癌原性は主としてホルムアルデヒドと鼻腔構成タンパク質あるいは核酸との不可逆反応 (分子内マンニヒ反応, メチレン架橋反応など) に基因する考え, ホルムアルデヒドとタンパク質のモデル化合物および核酸塩基との反応を



検討した。

その結果

(i) ホルムアルデヒドとヒスチジン、トリプトファンなどの塩基性アミノ酸との反応では閉環体が生成すること、

(ii) ホルムアルデヒドとトリペプチド類との反応では N-ヒドロキシメチル化とメチレン架橋反応が起きること、

(iii) ホルムアルデヒドとアデニン、アデノシンなどとの反応では 6 位アミノ基の N-ヒドロキシメチル体および 6 位アミノ基がメチレン橋で二分子結合した架橋体が生成すること。

を明らかにした。

当所毒性部および CIIT (The Chemical Industry Institute of Toxicology) におけるホルムアルデヒドの吸入試験の結果 (鼻腔の扁平上皮癌の発生) は、<sup>14</sup>C-ホルムアルデヒドの暴露実験で <sup>14</sup>C が鼻粘膜に高率で検出される事実とよく対応する。さきに述べたホルムアルデヒドの化学反応性に関する知見に基づき、ホルムアルデヒドの癌原性をつぎのように考察した。

ホルムアルデヒドは鼻粘膜との親和性が高く、鼻粘膜構成タンパク質ならびに核酸と可逆および不可逆の反応を起こし易い。また、その反応様式を、以下のように推定した。すなわち、まず最初に、ホルムアルデヒドは、複雑な高次構造を有するタンパク質や核酸の、求核性反応点と高率に反応し、N-および S-ヒドロキシメチル体 (>N-CH<sub>2</sub>OH, -S-CH<sub>2</sub>OH など) となり、ついで、これらのヒドロキシメチル基は他の適当な位置にある求核性反応点と縮合し、メチレン架橋 (>N-CH<sub>2</sub>-N<, >N-CH<sub>2</sub>-C<, -S-CH<sub>2</sub>-N< など) が生成する。また、さらに、ヒドロキシメチル体、あるいは、メチレン架橋体は、生体内で還元を受けてメチル体となることも予想される。

結論

ホルムアルデヒドは、タンパク質および DNA のモデル化合物と生理的条件下速やかに反応し、ヒドロキシメチル体、および、メチレン架橋体を与えることを明らかにした。ホルムアルデヒドによるこのような生体成分修飾反応が、発癌の引き金になっていると考えられる。

2. ニトロアレン類の癌原性に関する化学的研究

ディーゼル排気ガス中などに含まれるニトロアレン類 (多環芳香族炭化水素のニトロ誘導体) は、強力な変異原性および癌原性を示すことから、環境中の微量有害成分の一つとしてヒトへの影響が注目されている化合物群である。われわれは、ニトロアレン類の癌原

性発現に関与すると考えられる化学反応 (代謝変換反応、生体分子修飾反応など) を有機化学的に明らかにする事を目的とし、ニトロアレン類の化学的性質の検討を行っている。特に今回は、今までほとんど研究が行われていなかったベンツ (a) パイレンのニトロ体、特にジニトロ体に注目し、その合成、および化学反応性の検討を行い、代謝実験、および変異原性試験の結果との相関を調べた。

(i) ジニトロベンツ (a) パイレンの合成とその変異原性

ベンツ (a) パイレンを無水酢酸中濃硝酸によりニトロ化すると主生成物は 6-ニトロ体であり、少量の 1-ニトロ体、3-ニトロ体も生成する。それに対し、濃硝酸中での直接ニトロ化では、1,6-ジニトロ体 (mp. 283~5°C) および 3,6-ジニトロ体 (mp. 286~8°C) が生成することが明らかとなった。ジニトロ体の構造は、UV, NMR, MASS などにより決定した。

これらのジニトロ体の変異原性を Ames 法 (TA98, TA100) により調べた結果、S9 非存在下、1,6-ジニトロ体、3,6-ジニトロ体ともに強い変異原性を有することが明らかになった。モノニトロ体の変異原性は、ジニトロ体に比べ非常に弱い。

(ii) ジニトロベンツ (a) パイレンの還元反応

一般に、ニトロアレン類は生体内でニトロ基の還元代謝反応を受けることが知られている。ニトロベンツ (a) パイレンの還元性をサイクリックボルタメトリーで調べた結果、ジニトロ体は、モノニトロ体に比べはるかに還元され易く、+0.65V 付近で二電子還元されることが明らかになった。

1,6- および 3,6-ジニトロ体を含水溶液中、NaSH を用いて室温条件下還元すると、1 位および 3 位ニトロ基が選択的に還元された 1-アミノおよび 3-アミノ-6-ニトロベンツ (a) パイレンが生成した。この結果は、1 位および 3 位ニトロ基の方が 6 位ニトロ基よりも還元され易いことを示す。ジニトロ体の UV および NMR スペクトルも、この選択性を支持した。1 位および 3 位のニトロ基が選択的に還元されることから、6 位にニトロ基の代わりに種々の置換基を導入した 1- および 3-ニトロベンツ (a) パイレンを合成し、その還元性と変異原性を比較した。その結果、6 位の置換基が 1 位および 3 位のニトロ基の還元特性に影響を与えること、また還元特性と変異原性に相関があることが判明した。

サルモネラ菌 TA98 を用いたジニトロベンツ (a) パイレンの *in vitro* 代謝実験により、1 位および 3 位アミノ体が代謝物として検出されたことから、生体

内でも同様の選択的還元反応が進行していることが示された。

#### 結論

1,6- および 3,6-ジニトロベンツ (a) パイレンを合成しそれらが強い変異原性を有すること、1位および3位のニトロ基の還元性が変異原性と相関することを明らかにした。生体分子修飾反応については現在検討中である。

#### 発表報文

- 1) Fukuhara, K., Miyata, N., and Kamiya, S.: The Japan-United States Congress of Pharmaceutical Sciences, Abstract pp. S-229 (1987)

#### ステビオサイドの変異原性に関する再評価

##### 変異原性部

生活関連物質の中でも食品関連物質は我々の生活に密接に関連するものの代表的なものである。近代社会で我々がこれまで使用してきた化学物質の中には、ヒトへの有害性を示すものが含まれていることが指摘されたことなどから、天然物への関心が高まっている。甘味料についても合成甘味料の安全性への疑問から天然系の甘味料が注目されてきた。ステビア (南米パラグアイ原産のキク科の植物) 抽出物は高甘味度をもつ天然物の中では最も市場性の高いもので、ノンカロリーであること、熱および酸に比較的安定していること、熱処理によって褐変反応を起こさないことなどから、巾広く用いられている。ステビオサイドはステビア抽出物の一つで、蔗糖の約150倍もの甘さを持つものである。ステビオサイドの最近の知見については他誌を参照されたい<sup>1)</sup>。

ステビア抽出物あるいはステビオサイドの変異原性についてはいくつかの研究報告がある。本邦においては昭和52年、厚生省が研究班でステビオサイドの変異原性の有無が検討された<sup>2)</sup>。その結果によれば、不純物を含む場合 (約50%) には Ames 試験、培養細胞を用いる染色体異常試験で陽性となるが、純度の高いサンプル (85%) では陰性となっている。その後、数種類のサンプルについて変異原性試験が行われたが、その結果は総て陰性であった<sup>3)-8)</sup>。

ステビオサイドは腸内微生物によってステビオールに変換することが知られている<sup>9)</sup> (Fig. 1)。Nakayama ら<sup>10)</sup> の実験によれば、ラットに <sup>3</sup>H-ステビオサイドを経口投与すると、盲腸内容物、胆汁および糞中にス

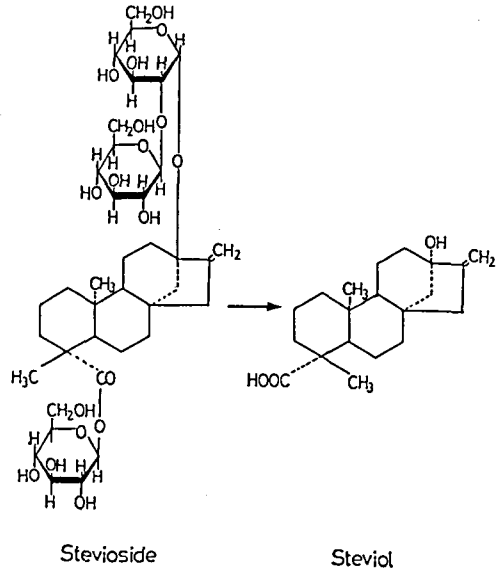


Fig. 1. Intestinal degradation of stevioside

テビオールが検出される。最近、Pezzuto ら<sup>11),12)</sup> は、ステビオサイドには微生物に対する変異原性は認められないが、ステビオールでは S9 mix 存在下で前進突然変異が誘発されることを報告している。当部では、上記試験結果に注目し、改めてステビオサイドの変異原性について再検討するとともに、ステビオールの変異原性について検討を加えた<sup>13)</sup>。

##### 1. 被験物質

ステビオサイドとして、ステビア抽出物“純マルシロン” (丸善化成㈱, Lot No. 00427422, ステビオサイドを83.2%含む) を用いた。ステビオール (丸善化成㈱, Lot No. 8508BB06) は純度99%以上のものを用いた。両検体とも当所、食品添加部 (義平部長) より提供された。

##### 2. 微生物を用いる復帰突然変異試験 (Ames 試験)

サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100 (塩基置換型変異原検出用), TA98, TA97 (フレームシフト型変異原検出用) および TA102 (架橋型、酸化型変異原検出用) の4種の菌株を用いて復帰突然変異試験 (Ames 試験) を行った。ステビオサイドおよびステビオールを共に最高用量 5.0 mg/プレートまで処理したが、S9 mix (代謝活性化) の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。ステビオサイドの陰性結果はこれまでの報告と一致しており、両検体は復帰突然変異を誘発しないものと結論づけられる。

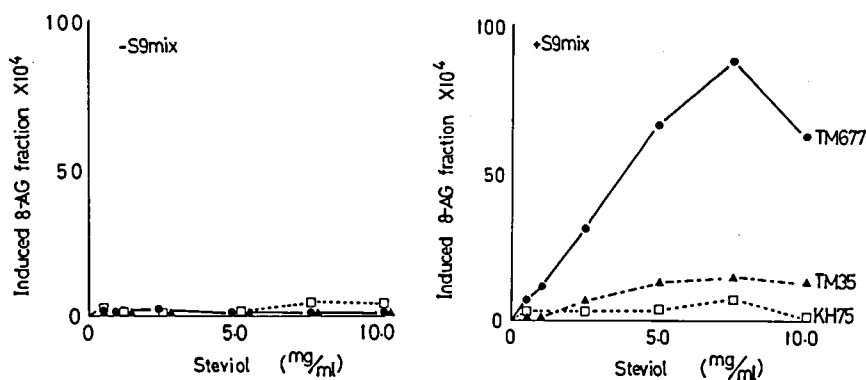


Fig. 2. Forward mutation assay on steviol using *Salmodella typhimurium* TM677, TM35, and KH75 strains

3. 微生物を用いる前進突然変異試験

Skopek ら<sup>14),15)</sup>の方法に準じて、サルモネラ菌(*S. typhimurium*) TM677, TM35 株および KH75 株を用い、8-アザグアニン抵抗性を指標として、前進突然変異試験を行った。ステビオサイドは全て陰性となったが、ステビオールは、TM677 株では S9 mix 存在下で明かな陽性結果を示した (Fig. 2)。この結果は Pezzuto らの報告<sup>11),12)</sup>を支持するものである。TM 677 株は Ames 試験で用いる TA100 株のヒスチジン非要求性株である。復帰突然変異試験で陰性であるのに対し、前進突然変異試験で陽性となった理由の1つ

として、ステビオールが代謝活性化を受けて後、Ames 試験では検出されない比較的大きな変異 (欠失, 挿入, 置換など) を DNA 上に引き起こした可能性が考えられる。目下、前進突然変異コロニーの変異遺伝子について、サザンブロット法による構造解析の研究を進めているが、まだ明確な結論は得られていない<sup>16)</sup>。

4. 微生物を用いる DNA 修復試験 (Recassay)

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の H17 (Rec+) および M45 (Rec-) 株を用いて、最高濃度 10 mg/プレートまで試験を行ったが、ステビオサイドおよびステビオールは共に陰性であった。

Table 1. Chromosomal aberration tests on steviol using Chinese hamster cells in culture

Compound	Solvent	S9	Time (h)	Dose (mg/ml)	Polyploid (%)	Judge	Frequency of cells with chromosomal aberrations (%)						total	Judge
							ctg	ctb	cte	frg	csb	cse		
Steviol	DMSO	-	24-0	0*	2.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
				0.125	0.0	-	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-
				0.25	2.0	-	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-
				0.5	1.0	-	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	-
				0	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
				0.125	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-
	-	48-0	0	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
			0.125	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
			0.25	1.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
			0.5	0.0	-	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-	
			0	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
			0.125	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	
DMSO	+	6-18	0	0.0	-	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
			0.5	9.0	±	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	-	
			0.75	0.0	-	2.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0	9.0	±	
			1.0	0.0	-	3.0	1.0	10.0	0.0	0.0	0.0	13.0	+	
			1.25	0.0	-	4.0	6.0	30.0	0.0	0.0	0.0	36.0	+	
			1.5	0.0	-	3.0	12.0	42.0	0.0	0.0	0.0	45.0	+	
	-	6-18	0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
			0.5	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
			0.75	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
			1.0	0.0	-	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	3.0	-	
			1.25	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
			1.5	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	-	

Time : Treatment time - recovery time.  
 ctg : chromatid gaps (including chromosome gaps), ctb : chromatid breaks, cte : chromatid exchanges,  
 frg : fragmentation, csb : chromosome breaks, cse : chromosome exchanges.  
 \* : Non-treatment control.

5. 微生物を用いる DNA 損傷試験 (umu-test)  
 サルモネラ菌 (*S. typhimurium*) の TA1535/pSK 1002 株を用い、DNA への損傷によって誘発される SOS 遺伝子群のうち突然変異に因与する umu 遺伝子の発現を検出する試験である。本試験では、ステビオールのみが S9 mix 存在下 (1.25 mg/ml) で、弱いながらも陽性結果を示した。

6. 培養細胞を用いる染色体異常試験  
 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHL) を用いた染色体異常試験でも、ステビオールのみが 1.0 mg/ml 以上の濃度で、S9 mix 存在下で陽性となった (Table 1)。

7. 培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験  
 チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHL) を用い、ジフテリア毒素耐性を指標として試験を行った。ステビオールは 0.4 mg/ml の濃度で、S9 mix 存在下で明かな陽性結果を示した。

8. マウスを用いる小核試験  
 変異原に高感受性である MS/Ae マウスを用いて、ステビオールについて小核試験を行った。腹腔内に1回投与24時間後に標本作製をした。最高用量 1,000 mg/kg まで投与したが、小核赤血球の出現頻度の有意な上昇は認められなかった。また、500 mg/kg 投与の48時間後の標本でも陰性結果が得られた。

以上の結果から、ステビオサイドには変異原性は認められなかったが、そのアグリコンであるステビオールには弱いながら変異原性のあることが示された。これらの陽性結果はいずれも *in vitro* 試験系で得られているが、S9 mix を添加した場合に限られている点で注目値する。S9 mix による代謝活性化によって、ステビオールがどのような物質に変化するののかについては不明である。しかしながら、マウスを用いる *in vivo* 小核試験が陰性であったことから、直ちに生体に悪影響を及ぼすものとは考えにくい。さらに、生体内における動態や、他の毒性試験結果をふまえた上で総合的に安全性を評価すべきであろう。

#### 参考・発表論文

- 1) 義平那利, 松井道子, 石館 基: トキシコロジーフォーラム, 10, 281 (1987)
- 2) 河内 卓: 遺伝変異原性を主とする発がん物質スクリーニングの技術開発, 厚生省がん研究報告集(下), pp.773 (1977)
- 3) 奥村昌也, 藤田陽子, 今村美喜郎, 相川 清, 食衛誌, 19, 486 (1979)
- 4) 藤田英男, 枝広知新: 食品工業, 10下, 66(1979)
- 5) Sasaki, M., Sugimura, K., Yoshida, M. A., Abe,

- S.: *La Kromosome*, 11, 574 (1980)
- 6) Medon, P. J., Pezzuto, J. M., Havance-Brown, J. M., Nanayakkra, N. P. D., Soeiaro, D. D., Kamath, S. K., Kinghorn, A. D.: *Fed. Proc.*, 41, 1568 (1982)
  - 7) 田中治(代表): 天然甘味剤の実用化に関する薬学的研究, 昭和56年度科学研究費補助金(試験研究(1)), pp.4 (1983)
  - 8) Kerr, W. E., Mello, M. L. S., Bonadio, E.: *Rev. Brasil. Genet.*, 1, 173 (1983)
  - 9) Wingard, R. E., Brown, J. P., Enderline, F. E., Dale, J. A., Hale, R. L., Seits, C. T.: *Experientia*, 36, 519 (1980)
  - 10) Nakayama, K., Kasahara, D., Yamamoto, F.: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 27, 1 (1986)
  - 11) Pezzuto, J. M., Nanayakkra, N. P. D., Kinghorn, A. D.: *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 24, 83 (1983)
  - 12) Pezzuto, J. M., Compadre, C. M., Swanson, S. M., Nanayakkra, N. P. D., Kinghorn, A. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.)*, 82, 2478 (1985)
  - 13) 松井道子, 松井恵子, 川崎洋子, 沢田 稔, 能美健彦, 祖父尼俊雄, 義平那利, 石館 基: 環境変異原研究, 8, 56 (1986)
  - 14) Skopek, T. R., Liber, H. L., Krolewski, J. J., Thilly, W. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.)*, 75, 410 (1978)
  - 15) Skopek, T. R., Liber, H. L., Kaden, D. A., Thilly, A. W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.)*, 75, 4465 (1978)
  - 16) 松井道子, 松井恵子, 能美健彦, 水沢 博, 石館 基: 環境変異原研究, 9, 93 (1987)

#### 甘草エキスおよびグリチルリチンの経口投与後の血漿中グリチルリチン濃度の比較検討

生薬部 尾崎幸紘, 野口 衛\*  
 \* 和歌山薬用植物栽培試験場

#### 〔目的〕

甘草およびその含有成分のグリチルリチン(G)は食品中に甘味料として繁用されており、また漢方においてその処方中で使用頻度が高く、多く使用されている。甘草およびGは多量に摂取された場合偽アルドステロン症を起し、この症状発現と血中のG濃度とが相関することから、血中におけるG濃度を検討することが甘草およびGの使用における安全性の評価のために重要であることが報告されている<sup>1)</sup>。

一般に生薬エキスの薬理作用は緩和であり、それらに含有される有効成分は徐々に吸収されその薬理作用を発現すると考えられる。一方、界面活性剤、胆汁酸および生薬に含有される種々サポニン成分は種々医薬

品および化合物の消化管からの吸収を促進させることが報告されている<sup>23)</sup>。

これらのことから、種々の成分を含有する甘草エキス中のGの消化管吸収はエキス中の他の成分により影響を受けることが考えられるので、甘草エキス中のGと単独投与のGとの血漿中Gの濃度の経時変化を比較し、これらに含有されるGの偽アルドステロン症発現への関与の程度を検討した。

#### [実験方法]

##### 1. 甘草エキスの作成

中国東北産甘草を使用し、80°C、4時間の還流で3回の水抽出し、凍結乾燥して甘草エキス粉末を得た。この甘草エキスは、 $110.0 \pm 1.0 \text{ mg/1g}$  (甘草中、3.5%含有)のGを含有していた。

また、Gの独投与には食品添加物試験用Gモノアンモニウム塩(和光純薬)を使用した。このGの純度は89.6%であった。

##### 2. 動物実験

実験動物には体重250g前後のWistar系雄ラットを使用した。検体投与前4時間絶食し、実験中水は自由に与えたが飼料は与えなかった。

甘草エキス1,3g/kgおよびこれに含有される相当量のG110,330mg/kgを各々経口(p.o.)投与し、1,2,4,6,8,10,12時間および24時間後に動物をエーテル麻酔し、ヘパリンナトリウム200unit/kg尾静脈投与した後、頸動脈にポリエチレン管を挿入しこれを介して全血を採血した。得た血液は遠心分離後(3000rpm,10分間)、血漿0.5mlを取りメタノール8mlを加え除蛋白し、遠心分離後(3000rpm,10分間)メタノール層を回収した。同様の操作により残渣にメタノール5mlを加え2回洗浄し、各々のメタノール層を合した。

メタノールは減圧下で濃縮乾固し、これにHPLCの移動層溶媒0.5mlを加え溶解し、後ミリポアフィルター(millipore, HV, 0.45 $\mu\text{m}$ )で濾過し、濾液10 $\mu\text{l}$ をHPLCに注入した。

##### 3. 血漿中のGの定量条件

血漿中のGは以下の条件で定量した。

カラム; Inertsil ODS, 5 $\mu\text{m}$ , 4.6 $\times$ 150mm, 移動層; MeCN:H<sub>2</sub>O:AcOH=40:60:1, 流速; 1.0ml/min, 検出器; 245nm, 0.02UFS

#### [実験結果]

##### 1. 血漿中のGの定量

血漿中のGは前記のHPLC条件でよく分離し、検量線は0.5 $\mu\text{l}$ ~30 $\mu\text{l/ml}$ の範囲で直線性を示した。

また、添加実験によりGの血漿からの回収率は99.1

$\pm 1.1\%$ であった。

2. Gおよび甘草エキス含有Gの血漿中の濃度変化  
Gの110mg, 330mg/kg投与により血漿中のG濃度は用量依存的に増加した。

Gの330mg/kg投与による濃度増加は投与後、徐々に始まり6時間後に最高値を示した。その後12時間まで徐々に減少し、24時間後においても濃度は12時間値とはほぼ同程度であった。一方、明らかな血中Gの濃度変化が測定されたGの330mg/kgに相当する甘草エキス3g/kg投与による血漿中のG濃度は徐々に増加し投与後8時間で最高値を示した。この最高値はGの単独投与による値より低い傾向を示した。その後12時間まで徐々に減少し、24時間後においても同程度の濃度値を示した。

この結果をFig.1に示す。

#### [考察]

現在、Gの多量摂取は偽アルドステロン症を起こすためGを含有する医薬品の取扱については規制指導が行われており、1日最大配合量がGとして100mg以上、甘草として2.5g以上の場合は特別の注意が必要であるとしている<sup>4)</sup>。

今回の甘草エキスおよびGの投与量は、主としてその血中濃度の経時変化が明らかとなる甘草エキス3g/kgおよびそれに含有される相当量のG330mg/kgを用いた。

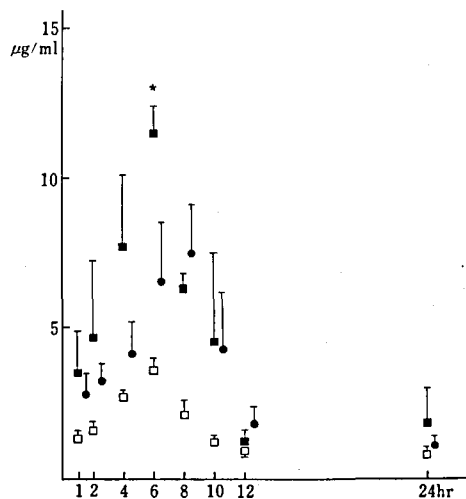


Fig. 1. Changes in serum glycyrrhizin concentration after oral administration of glycyrrhizin and Licorice extraction in rats

□: Glycyrrhizin (p.o.) 110 mg/kg (N=3-4)

■: (p.o.) 330 mg/kg (N=3-4)

●: Licorice Ext. (p.o.) 3 g/kg (N=3-4)

\* p < 0.1

これらの使用量を前記の人間に対する量と比較することは困難であるが、ラットを用いての甘草エキスあるいはGの薬理実験および吸収実験において最大量として甘草エキスでは6g/kg、Gでは600mg/kgの経口投与の報告があり、これらの用量において毒性的、病理的变化は特に認められていない<sup>5,6)</sup>。また、Gの経口投与によるLD<sub>50</sub>値はマウスにおいて3g/kg以上である<sup>7)</sup>。

今回使用した用量は、甘草エキス中のGおよび単独投与後のGの血漿中Gの経時的変化を検討することを目的とした実験であることからその使用した用量は妥当と考えられる。

甘草エキスおよびGの経口投与により血漿中のGは徐々に増加し、若干後者の方が早い時間経過で最高値を示し、その後徐々に減少した。これらの24時間後の濃度値は、ほぼ同程度であった。また、血漿中のGの最高値は甘草エキス投与のほうがGの単独投与よりも低い傾向を示した。この原因として、甘草エキス中に含まれるG以外の成分(群)がGの吸収あるいは排泄過程に影響を与えたことが考えられる。

以上のことから、Gの血中濃度は偽アルドステロン症の発現と関係しているが、この点に関して、甘草エキスのほうがG単独投与よりその欠点は少ないことが考えられる。

### 参 考 報 文

- 1) K. Terasawa *et al.*: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 9, 95 (1986)
- 2) N. Yata *et al.*: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 8, 1041 (1985)
- 3) 酒井 清ら: 薬誌, 106, 671 (1986)
- 4) 厚生省通知, 薬発第158号 (1978)
- 5) 田中 悟ら: 薬誌, 106, 671 (1986)
- 6) Y. Sakiya *et al.*: *Chem. Pharm. Bull.*, 27, 1125 (1979)
- 7) 高木敬次郎: 現代東洋医学, 2, 34 (1981)

### 催奇形性物質の *in vitro* 試験法に関する研究

#### 医 化 学 部

#### (目的)

癌原性物質の検索は、染色体異常や Ames Test 等に代表されるように、動物細胞や細菌を用いた *in vitro* 試験により広範な物質について検索され、毒性評価に関し多大な貢献がなされている。催奇形性物質の検索については、形態的異常を主とした検索法であるため、動物実験にかわる試験管内試験法、特に細胞

レベルでの試験系の確立は困難であると予想されてきた。

しかし、最近、細胞を用いた簡便な催奇形性物質の *in vitro* 試験法が、アメリカやヨーロッパを中心として検討され、動物実験にかわる代替法の世界的待望もあり、わが国においても進展が要望されていることから本研究を行った。

まず、農薬の代謝産物で、催奇形性物質である ethylenethiourea (ETU) をモデル化合物として、胎仔での形態形成阻害が細胞レベルでどのように解析しうるのかを全胚および胚細胞培養系を用いて比較した。

次に、マウスに四肢奇形の発生を認めた thiabendazole (TBZ) に関して、肢芽の細胞および器官培養法を用いた *in vitro* の催奇形性試験法を検討し、直接の催奇形性物質を究明した。

そして、マウスに外脳症を誘発するマイコトキシンである Chaetochromin について、その催奇形作用の強度を予測するためにマウスでの midbrain cell differentiation assay 系を確立し、その系で類縁体を試験した。

さらに、食品添加物である 3-*tert*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) の安全性評価のために、BHA およびその代謝物について、確立した方法で試験を行った結果、体内動態を考慮した *in vitro* 試験により、安全性評価に関する有力な手法となることが判明した。

#### (実験方法, 結果, 考察)

1) 全胚培養と胚細胞培養系による ETU の催奇形性作用の比較

全胚の培養法である Whole embryo culture と、胚細胞の culture system を用いて、催奇形性既知化合物である ETU の催奇形性作用を比較した。

胚細胞培養系では、11日胎仔由来の limb bud cell および midbrain cell culture において、出現する chondrocyte foci および neuronal cell foci の数が ETU の添加濃度 (30~300 μg/ml) に応じて減少し、midbrain cell の方が limb bud cell より阻害されやすかった。

全胚培養では、11日胎仔を ETU 添加血清で、48時間培養し、対照群と比較した。ETU 30 μg/ml ですでに頭部および尾の異常が高頻度で認められ、次いで四肢の異常を認めた。ETU 150 および 300 μg/ml では、これらの異常を全ての胎仔に認め、組織学的検索からも異常を確認した。

以上、cell differentiation assay において、limb bud よりも midbrain の方が ETU により分化阻害をうけやすく、whole embryo culture においても

limb よりも head の方が ETU により Malformation を発生しやすかったことより、組織ごとの response は、両培養系でよく相関した。ETU をモデル化合物とした場合、胎仔での形態形成阻害は細胞培養系での分化阻害を指標として検索できることが明らかとなった。

## 2) TBZ および関連代謝物の催奇形性の *in vitro* 試験およびその催奇形性発現機構

マウスに四肢減奇形仔の発生を認めた TBZ に関して、*in vitro* での催奇形性試験法と体内動態ならびに催奇形性発現機構について検討した。

食品添加物である TBZ での奇形仔発生は、オリーブ油に懸濁して投与した時、四肢減奇形仔の発生を認め、アラビアゴム溶液に懸濁した時には認めなかった。

両懸濁剤での  $^{14}\text{C}$ -TBZ の体内動態を比較した結果、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が判明した。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。

TBZ を妊娠マウスに経口投与し、代謝物として 5-hydroxy 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 の limb bud cell の chondrocyte への differentiation assay system を用いて検討した。TBZ および 5-hydroxy 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-hydroxy TBZ が四肢奇形誘発物質であることが明らかとなった。

さらに、胎仔の肢芽を、妊娠10, 11, 12日目の母体から採取し、TBZ および 5-hydroxy TBZ を含む培地で器官培養した結果、肢芽の形態形成においても発育および軟骨分化の阻害を認め、阻害効果の強さは、発育段階により顕著に異なり *in vivo* での結果とよく相関した。

また、TBZ による催奇形作用誘発のメカニズムについて検索した結果、*in vivo* で暴露した胎仔肢芽の ATP 欠乏と奇形発生頻度は良く相関し、さらに、*in vitro* で TBZ と培養した肢芽細胞での ATP 欠乏と

軟骨に特異的な proteoglycan 量とが良く相関したことから、TBZ の ATP 減少作用 (電子伝達系の阻害) は proteoglycan の糖鎖不全を誘発し、軟骨基質の合成阻害が生じ、四肢減奇形仔を発生したことが明らかとなった。TBZ による四肢奇形仔発生に関する種差 (mouse, positive; rat, negative) は、肢芽細胞での TBZ による軟骨基質生成阻害強度の差と良く相関した。

TBZ による軟骨基質生成阻害作用は、TBZ の化学構造上、どの部位が関与しているのかを明らかにするために Benzimidazoles, Benzothiazoles および, Benzoxazoles の合成標品を用いて limb bud cell differentiation assay を行った。その結果、Benzimidazoles が阻害作用を示し、その置換基効果より、imidazole 環の NH proton が活性発現に重要であり、さらに、その acidity と阻害強度が相関することが示唆された。

## 3) マウスでの細胞分化培養系の開発と Chaetochromin 類縁体の *in vitro* 試験

妊娠10日のマウス胎仔を用いて midbrain および limb bud の細胞を調製し、分化培養系を確立した。新しく分離されたマイコトキシンである Chaetochromin 類縁体について試験した結果、Chaetochromin A および D が非常に強い催奇形性物質であることが確認された。

## 4) 安全評価のための BHA および関連代謝物の催奇形性に関する *in vitro* 試験

BHA の催奇形性に関する安全性を検討するために、BHA および関連代謝物について *in vitro* での cell differentiation assay および催奇形性の宿主経路試験を行った。

BHA に比べて代謝物 (脱メチル体、水酸化体およびキノン体) の方が、neuronal cell foci や chondrocyte foci の生成をより低濃度で阻害することが判明した。数値的代謝物による50%阻害濃度 ( $\text{IC}_{50}$ ) は、BHA の  $\text{IC}_{50}$  の 1/5~1/30 濃度域にあった。BHA をラットに 1000 mg/kg 投与した宿主経路試験では、対照群との間で foci の生成に差異を認めず、さらに、化学的分析でも、BHA およびキノン、ハイドロキノン代謝物は、遊離体として、胎仔および羊水中に検出されなかったことより、この投与条件では、胎仔に傷害を与えないことが判明した。

以上、催奇形性物質の短期検索法として期待される数種の系 (ラットやマウス胎仔の midbrain cell ならびに limb bud cell の細胞分化や、主として形態形成を指標とした whole embryo culture ならびに limb

bud organ culture) につき, 食品添加物, 農薬, マイコキシン等の化合物を用いて, 検討した. 催奇形性誘発物質の究明, 奇形発生における種差の原因, 構造活性相関, 催奇形性発現機序の解明に有力な武器になるものと考えられる.

現在は, 変異原性試験と同様に *in vitro* での催奇形性試験が実施され, 危険度の高い化合物から優先して動物実験を行うことができる時代になりつつある.

動物愛護の世界的な流れの中, 動物数の低減化への今後の努力として, なるべく動物を使用しない細胞株等を用いた催奇形性の *in vitro* 試験法の開発が望まれており, 現在検討中である.

#### 発 表 報 文

- 1) Tsuchiya, T. and Tanaka, A.: *Arch Toxicol*, 57, 243 (1985)
- 2) Tsuchiya, T. and Tanaka, A.: *Toxicol. Lett.* 30, 19 (1986)
- 3) Tsuchiya, T., Tanaka, A., Fukuoka, M. Sato, M. and Yamaha, T.: *Chem. Pharm. Bull.* 35, 2985 (1987)
- 4) Tsuchiya, T., Hisano, T. Tanaka, T. and Takahashi, A.: *Toxicol. Lett.* 38, 97 (1987)
- 5) Tsuchiya, T., Takahashi, A., Asada, S., Takakubo, F. and Eto, K.: *Teratology*, 36, 444 (1987)
- 6) Tsuchiya, T., Sekita, S., Koyama, K. Natori, S. and Takahashi, A.: *Cong. Anom.* 27, 245(1987)
- 7) Tsuchiya, T., Ishida, A., Miyata, N., Takahashi, A. and Kamiya, S.: *Toxic. in vitro in press.*
- 8) Tsuchiya, T., Matuoka, A., Sekita, S. Hisano, T., Takahashi, A. and Ishidate, M. Jr.: *Jeratog. Carcinog. Mutag. in press.*



## 特別研究報告

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

(昭和57年～59年：第一次)

(昭和60年～62年：第二次)

世話人 田 中 彰

バイオテクノロジー生産技術の著しい進歩によりポリペプチド、蛋白質の医薬品が大量に生産されるようになり、従来生物由来のインスリンや成長ホルモンなどをはじめ種々の有用な生理活性物質がすでに臨床的に使用されていることは周知の事実である。

合成 DNA を用いた部位特異的突然変異が可能となり、蛋白質のアミノ酸置換を任意に行うために、分子レベルの設計に基づいて蛋白質の特性を改変することが自由にできるようになり、これらの技術を新世代の遺伝子工学とも呼ぶようになった。

このようなバイオテクノロジー技術を利用して製造された医薬品は一次構造、活性高次構造の立証によりその薬効を保証することは勿論であるが、その医薬品の安全性の面で今まであまり考慮されなかったバイオ関連の新しい問題が出現してきた。バイオ医薬品は正常なプロセッシングを経ず、微生物などの宿主にとって本来異物である物質を無理に生産させるわけであるから、微生物由来の異種蛋白質の混入、アレルギーの夾雑、場合によっては使用する細胞の種類によって、精製過程で混在する恐れのあるオンコジーンなどを確実に排除することが必須となる場合もあるかもしれない。

このように好ましくない作用を示す可能性のある不純物を試験することは、バイオ関連の蛋白質医薬品の安全性を確保するために、極めて重要な問題であり、特別研究のテーマとして、「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」をとりあげた由縁もここにある。

最近の液体クロマトグラフィー (HPLC) におけるカラム充填剤の著しい進歩により、適当な溶離条件を選択すれば、ヒトとブタのインスリンの例にみられるように、一個のアミノ酸残基の差異もクロマトグラム

上で明確に識別が可能になった。しかし、この際分析用標準品の存在が必要になる。また電気泳動法も従来同様に有用な分析法であることに変わりはない。

また蛋白質の高次構造の差異は、その生理活性、抗原性、体内動態に大きな影響を及ぼすと考えられるが、モノクローナル抗体を用いる分析法に代表される免疫学的手法も、蛋白質の高次構造を識別する有効な手段である。

一方、大腸菌等を利用して生産される生物製剤のなかの発熱性物質試験法も重要な問題の一つである。現在発熱性物質の試験法として、日本薬局方にはウサギによる *in vivo* assay が収載されているが、より簡便な *in vitro* assay として、主としてリポ多糖類 (LPS) を対象にしたエンドトキシン試験法としてリムルス試験法が注目されている。

このような簡易な試験法に対して、基礎的な検討を加えておくことは、将来出現する高分子医薬品全体に共通する興味ある重要なテーマと考えられる。

## 組換えヒトインスリン、ヒト成長ホルモンなどの品質確保に有用な試験法に関する研究

生物化学部

## 〔研究目的〕

遺伝子組換え等の新技術により生産されるポリペプチドやタンパク質の大きな特徴は、これが、人為的に遺伝子を操作し、生物が本来持つ遺伝情報を変えるか、あるいは特定の情報を特に取り出すことによって、生きた細胞の体をかりて生産されるものである、ということである。その製造工程は同一目的物質を目指すとしても、遺伝子のデザインの仕方、ベクターの構築法、宿主の選択をはじめとして、きわめて多様であり、また生細胞を用いるという不確定性も秘めている。この

ような従来にない製造方法で得られる医薬品の品質確保を図ろうとする場合、ポイントとなるのは、新しい製法上の特徴と、それにかかわる問題点をふまえることである。すなわち、従来の天然由来のものに対してなされていた項目に加えて、特に以下の諸点に関して新たな観点からの検討が必要である。

- 1) 目的産物の同一性、均一性(純度)に関する試験および化学構造の確認
- 2) 目的とする活性高次構造が形成・保持されていることの立証
- 3) 目的物質関連不純物(副生成物、二次的修飾物質)混入の可能性に関する検討
- 4) 宿主細胞、培地、分離・精製工程等由来の不純物混入の可能性に関する検討

今回われわれは、組換えヒトインスリン、ヒト成長ホルモンなどを例にとり、主に上記の1)~3)の点に関連して品質確保上有用と思われる試験法の開発を目的として研究を行った。

#### [研究結果]

1. 目的産物の同一性、均一性(純度)の検定に有用な試験法について

目的産物の同一性や均一性(純度)の確認は、宿主細胞内でDNAから目的タンパク質へ正しく翻訳されているか、発現後の細胞内での部分分解や分離・精製途上での変化はないか、などをチェックする上で重要である。また、製造ロット毎の規格および試験方法でも必須の試験項目となる。そこで、こうした検定に必要な理化学的試験法に関する検討を行った結果、HPLC法や電気泳動法が簡便で、しかも極めて有用であることが明らかになった。特にHPLC法は充填剤と溶離条件を適切に選べば、ポリペプチド鎖中のアミノ酸1残基の違いでも識別することができ、アミノ酸配列における変異や、末端アミノ酸の違いを有する分子を相互に分離・分析する目的に役立つ。また電気泳動法は、各タンパク質をそれぞれ分子量、電荷、等電点などの性質の違いから識別する手段を提供し、そうした観点での同一性や均一性の確認に有効であることが判明した。なお、これら理化学的手段による同一性の確認には適当な標準物質の存在を必要とする。一方、バイオアッセイによる特異的な生物活性や比活性の測定からも同一性、純度に関する有力な情報が得られる。また、特異抗体の利用による免疫化学的方法も有効であるが、特に電気泳動法と組み合わせればより特異性を高めることができる。

2. 目的産物の化学構造の確認に有用な試験法  
組換えタンパク質は人工的遺伝子産物であるから、

目的産物が変異のない正しいアミノ酸配列を有しているかどうかを解析することは極めて重要である。その目的には、構成アミノ酸分析、ペプチド分析、末端アミノ酸分析法などを総合的に組み合わせることが有用であった。中でも、目的物と標準物質とを適当な酵素で加水分解し、生じたペプチドの溶出パターンをHPLCクロマトグラム上で比較、分析すれば目的物のアミノ酸配列の正しさを簡便に立証することが可能であり、ルーチ的な品質管理上有用なアミノ酸配列確認法となることが明らかになった。この分析法では、タンパク質上のジスルフィド結合の正しさも確認することができる。

3. 活性高次構造が形成・保持されていることを立証する試験法について

最終製品中のタンパク質が活性高次構造を形成・保持していることを確実に立証できる方法は、*in vivo* および *in vitro* のバイオアッセイである。ただし、ホルモンによっては簡便で確実なバイオアッセイ法の確立は必ずしも容易ではない。一方、本目的にかなう確実で簡便な理化学的試験方法を見出すことはできなかったが、タンパク質の高次構造上の大きな変化であればHPLC法により識別できる可能性が示唆された。

4. 目的物質関連不純物(副生成物、二次的修飾物質)混入試験について

1と同様に電気泳動法およびHPLC法が簡便で有用な試験法であることが明らかになった。とくにHPLC法はポリペプチド鎖中のわずかな変化を検出する上にきわめて有効であった。電気泳動法も免疫化学的方法と組み合わせれば、特異的に目的物質関連不純物を検出することができる。

#### 主な成果報告

- 1) M. Ohta *et al.*: "Analysis of Insulins by High-performance Liquid Chromatography II. Separation of Various Species of Insulins", *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3566 (1983)
- 2) T. Oshizawa *et al.*: "Partial Purification and Biological Activity of the Product of Chemically Synthesized Human Growth Hormone Gene Expression in *Escherichia coli*", *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3561 (1985)
- 3) S. Niimi *et al.*: "Purification and Characterization of the Product of Chemically Synthesized Human Growth Hormone Gene Expression in *Escherichia Coli*", *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 4221 (1987)
- 4) T. Hayakawa *et al.*: "Analytical Procedures for Peptides and Proteins Produced by Recombinant DNA Technology", *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 4221 (1987)

binant DNA Technology”, Japan-United States Congress of Pharmaceutical Sciences '87, Symposia Abstracts p. 244 (1987)

その他公表された成果：

- ・太田美矢子他，“高速液体クロマトグラフィーによるインシュリンの分析（II）種々のインシュリンの分離”，日本分析化学会第31年会講演要旨集，p. 551（昭和57年）
- ・太田美矢子他，“高速液体クロマトグラフィーによるインシュリンの分析（V）一種々のインシュリンのフィンガープリントアナリシス”，日本薬学会第104年会講演要旨集，p. 564（昭和59年）
- ・徳永裕司他，“高速液体クロマトグラフ法による生合成および天然ヒト成長ホルモンの分離”，日本薬学会第104年会講演要旨集，p. 564（昭和59年）
- ・太田美矢子他，“高速液体クロマトグラフィーによるインシュリンの分析（VI）ヒトインシュリンとその類縁物質との分離”，日本薬学会第105年会講演要旨集，p. 564（昭和60年）
- ・押沢 正他，“化学合成ヒト成長ホルモン遺伝子の発現蛋白質の部分精製とその生物活性”，日本薬学会第105年会講演要旨集，p. 259（昭和60年）
- ・新見伸吾他，“化学合成ヒト成長ホルモン遺伝子の発現タンパク質の精製と蛋白質化学的検討”，第58回日本生化学会大会，生化学，57，854（1985）
- ・新見伸吾他，“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回日本生化学会大会，生化学，58，841（1986）

#### 免疫学方法を用いる品質試験法の検討

##### 放射線化学部

本研究の目的は遺伝子組換え等のバイオ技術によって生産される医薬品の品質を確保するため，これまでの医薬品について行われてきた試験法に加え，バイオ技術で生産される医薬品に固有の品質試験法として，いかなるものが必要かについて研究する点にある。

医薬品の品質を確保するためには，医薬品そのものの化学的あるいは物理化学的性質などの面からの保証と，製造工程において夾雑してくる不純物の有無，種類および量の面からの保証の，二面からの保証が必要である。また，医薬品として既知のものであれば，生物学的同源性といった問題も考慮に入れる必要がある。

ホルモン等の動物性タンパクを遺伝子組換え技術，特に大腸菌などの微生物によって生産する場合の問題点については，いろいろな指摘がなされている。それらの問題点の1つとして，生合成過程の相違があげられる。

動物体内においてホルモンの生合成は，まず前駆体（プレプロホルモンあるいはプロホルモン）の型で合成されたのち，プロテアーゼによる適当なプロセッシングあるいは糖鎖の附加などを受けて完成する。遺伝子組換えによって動物タンパクを微生物体内で作らせる場合には，動物体内で行われるこのような生合成過程を経ることなく，必要なタンパク構造に相当する遺伝子をプラスミドに組み込むことによって生産することになる。

タンパクの高次構造の構築に，生合成過程でプロセッシングによって除かれるポリペプチド部分あるいは糖鎖部分の関与がある場合には，たとえ最終タンパクの一次構造は同じでも，動物臓器由来の天然型のもの，微生物由来のものとは高次構造に微妙な違いが生じてくる可能性がある。

タンパクの高次構造の相違は，そのタンパクの持つ生理活性はもとより，抗原性，生体内寿命あるいは安定性など，種々の点に影響を与えるものと考えられる。

タンパクの高次構造は，従来，物理化学的手段によって解析されてきているが，我々はモノクローナル抗体を用いる免疫化学的手段によって解析する方法について，遺伝子組換え技術によって生産されるヒト成長ホルモンを用いて検討した。また，LPSなどの不純物の分析をモノクローナル抗体を用いる免疫化学的分析法についても検討している。

#### 実験方法

ヒト成長ホルモン（hGH）および遺伝子組換え技術によって生産したヒト成長ホルモン（r-hGH）は住友製薬㈱から供与を受けた。

抗 r-hGH モノクローナル抗体の調製 50  $\mu\text{g}$ /マウスの r-hGH をフロイント完全アジュバントとともに Balb/c マウスに3週間間隔で皮下に3回注射したのち，最後に50  $\mu\text{g}$ /マウスの r-hGH を生理食塩水とともに静脈注射した。脾臓細胞を採取し，P3/NSI/1-Ag4-1(NSI) と Galfre らの方法<sup>1)</sup> によってポリエチレングリコール法で細胞融合した。

抗 r-hGH 抗体産生細胞は常法にしたがってクローニングした。抗体量の測定は ELISA 法および RIA 法にしたがって行った。RIA 法に用いた <sup>125</sup>I-標識 r-hGH はクロラミン T 法 (<sup>125</sup>I-rhGH) またはボルトンハンター法 (<sup>125</sup>I-BH-r-hGH) により調製した。

#### 実験結果

r-hGH を抗原として免疫した Balb/c マウス脾臓細胞と NSI 細胞の融合によって得られたハイブリドーマを検索した結果，60株の抗 r-hGH 抗体生産株が得られた。これらのうちから，ELISA 法および RIA

Table 1. Characteristics of 16 representative monoclonal antibodies<sup>2)</sup>

Antibody <sup>a</sup>	ELISA (titer)	RIA ( <sup>125</sup> I-r-hGH)		RIA ( <sup>125</sup> I-BH-r-hGH)		Isotype
		titer	Ka(M <sup>-1</sup> )	titer	Ka(M <sup>-1</sup> )	
HGH 1.1.3	3,200	1,600	0.031	1,600	N. D. <sup>b</sup>	γ <sub>1</sub> , κ
1.6.5	46,000	530,000	12	390,000	10.5	γ <sub>2a</sub> , κ
1.8.1	1,600	13,000	0.18	8,400	0.12	γ <sub>2b</sub> , κ
1.9.3	6,100	4,000	0.078	3,800	N. D.	γ <sub>1</sub> , κ
1.11.1	32,000	54,000	0.21	25,000	N. D.	γ <sub>2b</sub> , κ
1.15.3	16,000	150	N. D.	53	N. D.	γ <sub>1</sub> , κ
1.17.2	16,000	40,000	0.21	300,000	0.89	γ <sub>1</sub> , κ
1.31.3	3,600	52	N. D.	16	N. D.	γ <sub>1</sub> , κ
1.32.4	34,000	31,000	0.69	12,000	0.15	γ <sub>2a</sub> , κ
1.35.2	7,500	220,000	3.0	260,000	4.2	γ <sub>1</sub> , κ
1.37.3	42,000	12,000	0.14	6,600	N. D.	γ <sub>2a</sub> , κ
1.41.1	11,000	37	N. D.	11	N. D.	γ <sub>2b</sub> , κ
1.46.1	32,000	17,000	1.1	6,400	N. D.	γ <sub>2b</sub> , κ
2.4.2	770	16,000	0.13	15,000	0.18	γ <sub>1</sub> , κ
2.6.1	44,000	360,000	6.7	160,000	2.7	γ <sub>1</sub> , κ
2.15.4	1,000	5,600	0.10	6,800	0.13	γ <sub>1</sub> , λ

<sup>a</sup> A mixture of serum and ascitic fluid.

<sup>b</sup> Not determined.

法で高い抗体価を示す16株を選択し本研究に使用した。

Table 1にこれらのハイブリドーマの産生する抗体の性質を示す。すべての抗体はIgGクラスであり、アイソタイプはH鎖はγ<sub>1</sub>, γ<sub>2a</sub> またはγ<sub>2b</sub> を持ち、L鎖は2.15.4がλ鎖である以外は全てκ鎖であった。ELISA法とRIA法ではRIA法の方が感度が10倍程度高いので、RIA法によって測定したタイターの方がELISA法によるそれに比べ、一般に高くなっている。しかし、タイターはクローン毎にアッセイ法によって異なるし、同じRIA法でもクロラミンT法で標識した<sup>125</sup>I-r-hGHとボルトンハンター法で標識した<sup>125</sup>I-BH-r-hGHを用いた場合には異なる場合もある。標識法によってタイターが異なる理由は、クロラミンT法はタンパク中のチロシンまたはヒスチジンに<sup>125</sup>I標識が起こるのに対し、ボルトンハンター法はアミノ基を利用した標識法であり、各抗体の認識部位に<sup>125</sup>I標識部位が関与しているかどうかによって親和性が異なってくるからであろう。

これら16種類の抗体のr-hGHとhGHに対する親和性を比較した結果がTable 2である。RIA法によって50%阻害を示すタンパク濃度で比較するかぎりにおいて、全ての抗体は下垂体由来の天然型hGHと遺伝子組換え技術で調製したr-hGHを区別することは

なかった。r-hGHはhGHのN末端にメチオン残基を余分に結合しているが、我々の研究結果を見るかぎり、この部分がr-hGHの抗原性を示しているという結果は得られていない。

Table 2. Inhibition by hGH or r-hGH

Antibody	(Dilution)	Inhibition	
		r-hGH	hGH
HGH 1.1.3	(1/1,600)	760	660
1.6.5	(1/510,000)	6.1	6.5
1.8.1	(1/6,700)	290	380
1.9.3	(1/2,400)	1,100	1,200
1.11.1	(1/18,000)	330	330
1.17.2	(1/160,000)	120	120
1.32.4	(1/9,600)	240	270
1.35.2	(1/91,000)	42	50
1.37.2	(1/5,000)	870	1,000
1.46.1	(1/4,600)	190	250
2.4.2	(1/11,000)	380	440
2.6.1	(1/220,000)	13	19
2.15.4	(1/3,900)	660	570

<sup>a</sup> <sup>125</sup>I-r-hGH was used as the labelled antigen except that <sup>125</sup>I-BH-r-hGH was used for HGH 1.17.2

結果は示していないが、hGH と r-hGH の阻害—用量曲線を各抗体で比較したが、相違の見られるものはなかった。

### 考察

遺伝子組換え技術によって調製したタンパクの抗原性の相違をモノクローナル抗体を用いて試験する方法について検討した。タンパクに対する抗体には高次構造を含めた一次構造を認識するものが存在する。本研究では遺伝子組換え技術で生産されたヒト成長ホルモンを対象として用いた。

我々が調製した16種類の抗 r-hGH モノクローナル抗体を用い、hGH と r-hGH に対する親和性を比較したが、今回の結果からは、両者の間で免疫化学的に差が見られなかった。

最近、モノクローナル抗体を用いた、天然型と遺伝子組換え技術で調製したヒト成長ホルモン<sup>3)</sup>とインターフェロン<sup>7)</sup>の免疫化学的研究が報告されている。これらの研究結果をみるかぎり、天然型と遺伝子組換え技術で生産したタンパクには、免疫化学的に差があることが示唆されるが、結論を下すためにはさらに抗体の詳細な検討が必要であろう。しかし、これらの研究は、遺伝子組換え技術では生産されるタンパクの品質試験の一つとして、モノクローナル抗体を用いる免疫化学的試験法が考えられることを示すものである。

モノクローナル抗体を用いる品質試験法として発熱物質の免疫化学的測定法も考えられる。発熱物質の本体は LPS のリビッドA部分が活性の本体であることは良く知られている。我々はリビッドAに対するモノクローナル抗体の調製を試みているが、現在までに十分に満足の行く抗体を生産するハイブリドーマが得られていない。この研究に関しては現在も進行中である。

### 文献

- 1) G. Galfre, S. C. Howe, C. Milstein, G. W. Butcher and J. C. Howard: *Nature*, 266, 550(1977)
- 2) J-I. Sawada, N. Wada, M. Irie, T. Tokunaga-Doi, E. Ohtsuka, M. Ikehara and T. Terao: *Mol. Immunol.*, 23, 625 (1986)
- 3) R. Aston, L. Cooper, A. Holder, J. Ivanyi and M. Preece: *Mol. Immunol.*, 22, 271 (1985)
- 4) J. Le, B. Y. Rubin, H. C. Kelker, C. Feit, C. Naglir and J. Vilček: *J. Immunol.*, 132, 1300(1984)

### 発熱性物質試験法

### 薬理部

#### 〔目的〕

人工的に有用な形質を他の細胞の DNA に導入して有用な生物活性を有するポリペプチド、例えばインスリンや成長ホルモン等を大量に生産する技術は既に開発過程から実用過程に入っている。この遺伝子組み換え技術には大腸菌等の微生物が利用されている。これらの生物製剤は、大腸菌等の微生物由来であるがために目的とするポリペプチドを生産するクローンの大量培養後に分離、精製する過程で、目的ペプチド以外の生物活性物質やエンドトキシン等の混在の可能性を無視できない。したがって、遺伝子組み換えの新技术により生産される生物製剤に関してはこの点について十分に検討する必要がある。

そこで本研究では生物製剤のうち最初に承認されたインスリンを例にとりそれ自身の有する薬理作用の影響を除いたエンドトキシンの発熱性試験法の開発とリムルス試験法に対するインスリンの干渉作用を検討し、今後開発されてくることが予想される多くの薬物に対しそれぞれ適切な試験法を考える上での基本的な資料とすると共に、さらに生物製剤中に混在する可能性の皆無ではない内因性発熱性物質の産生を引き起こす、または促進する物質の混在を検査する試験法の開発について研究を行った。

#### 〔実験方法および結果〕

1. ウサギ発熱性試験法のインスリン製剤に適用しうる試験法の開発。

ウサギ発熱性物質試験法を用いて標準エンドトキシンとしての設定を予定している *E. Coli* UKT-B (Lot 01) の静脈注射による発熱に対するインスリンの影響を検討した (Fig. 1)。インスリン投与用量をヒト臨床用量およびウサギ血糖を用いたインスリン定量試験の結果から 1 u/kg に設定した。

体重 2.5~3 kg の雄性白色日本在来種ウサギに 5% ブドウ糖注射液 10 ml/kg およびエンドトキシン 5% ブドウ糖溶液 5 ng/kg/10 ml ならびにインスリン (ブタ精製中性インスリン注射液: ノボ・アクトラピド MC) のエンドトキシン混在 5% ブドウ糖溶液 1 u/kg/10 ml を注射した。なお、溶解に用いたブドウ糖はインスリン静注による急性の低血糖ショックを防止するために用いた。

インスリン投与では投与 1 時間後より徐々に体温の

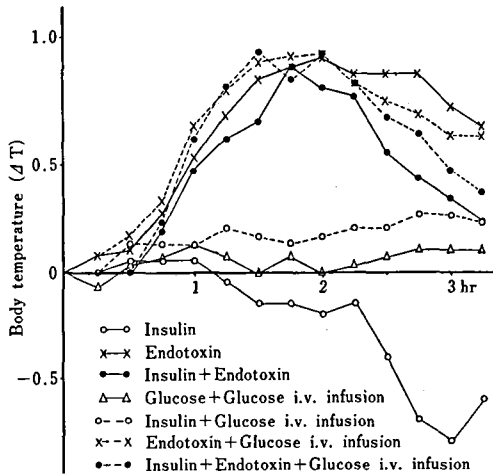


Fig. 1. Effect of insulin on pyretic response of endotoxin

低下が認められ、3時間後に最大の低下を示した。5 ng/kgのエンドトキシンを静注すると2時間後に最大の体温上昇(約0.8°C)が認められその後ゆるやかに回復した。エンドトキシン・インスリン溶液は最大体温上昇に関してはエンドトキシン単独とほぼ同じ時間および上昇を示したが、その後の低下速度が速やかであり、インスリンの影響を反映していた。5%ブドウ糖注射液を0.5 ml/minの速度でテルモ TS-A450C輸液セットを用いてエンドトキシン・インスリン静注直後より点滴注入すると体温上昇パターンはエンドトキシン単独あるいはエンドトキシンドウ糖点滴パターンに近付いた。したがって、インスリン製剤のウサギ発熱性物質試験を行う際にはインスリン製剤をウサギに静注した後、ブドウ糖を持続的に点滴する方法が適切であると思われる。

## 2. エンドトキシン試験(リムルス試験)へのインスリンの影響

1 u/mlのインスリンを混合した0.2~2.5 ng/ml濃度のエンドトキシンを用いてエンドトキシン試験法(合成基質法, Pyrodick)への影響を検討した。インスリン濃度はウサギ試験に用いた濃度と同一とした。合成基質法であるPyrodickを用いた場合、エンドトキシン濃度0.2~1.0 ng/mlまで直線性が得られた。0.2~1.0 u/mlのインスリンは合成基質水解反応に対しなんらの影響も示さず、また1 u/ml濃度のインスリンではエンドトキシンの用量-反応曲線に対しなんらの影響も示さなかった。

## 3. 内因性発熱物質産生物質試験法の検討

発熱性物質が発熱を引き起こす機構として発熱性物

質が直接中枢に作用する場合と多核白血球、単球等の食細胞に作用して産生された内因性発熱物質を介して中枢に作用する場合の二通りがある。そこで内因性発熱物質産生物質としてMicobacteriaの細胞壁の構成成分であるMuramyl dipeptide(合成Adjuvant)を用いてウサギから分離した白血球あるいは腹水単核細胞と共に10%ウサギ serum-Hanks balanced salt solution中で培養した後、遠沈し、その上清をウサギに静注して生じた発熱を検討した。

(1) 心臓穿刺血液より分離した白血球 $2.5 \times 10^7$  cells/mlに10もしくは25  $\mu$ g/mlの割合でMuramyl dipeptide(MDP)を加え、37°で18時間培養した後、遠沈した上清をウサギ当たり1 ml静注して体温の変化を記録した。

白血球のみの培養上清でも徐々に体温が上昇し、3時間後には約0.2°の上昇が認められた。MDPだけでも10  $\mu$ gで2時間後から、25  $\mu$ gでは1時間20分後から体温の上昇が始まり、時間と共に上昇し、3時間後でも上昇の停滞は認められなかった。MDPを添加した白血球を培養した後の上清でMDPは単独と白血球単独培養との和にはほぼ相当し、MDPによる内因性発熱物質産生作用は認められなかった。

(2) ウサギに欝油 Bayol F 100 mlを腹腔内注射して、72時間後、採取した腹水単核細胞 $2.85 \times 10^6$  cells/mlに5乃至10  $\mu$ g/mlの割合でMDPを加え、37°で18時間培養した後、遠沈した上清をウサギ当たり1 ml静注して体温の変化を記録した(Fig. 2)。

細胞のみの培養上清では約50分後に約0.2°の一過性の体温上昇が認められた。MDP 5  $\mu$ g単独では体温の上昇は認められず、10  $\mu$ gで約1時間後から徐々に体温の上昇が認められた。一方、細胞に5  $\mu$ g/ml相当のMDPを加え、培養した場合には投与約15分後から体温の上昇が引き起こされ、約1時間後最高0.3°上昇し、その後徐々に回復する。細胞にMDP

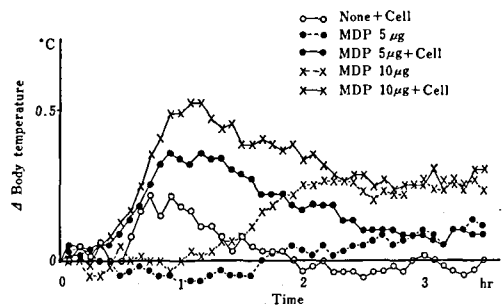


Fig. 2. Pyretic activity of muramyl-dipeptide cultured with ascite monocyte

10  $\mu\text{g}$  を添加, 培養した場合には 5  $\mu\text{g}$  を添加, 培養した場合のパターンと同様に 1 時間をピークとし, 最高約 0.5° の体温上昇を引き起こし, その後徐々に低下し, 約 2 時間後 MDP 単独の体温変動曲線と合致した。

〔結論〕

大腸菌等を用いた遺伝子組み換えにより生産される生物活性物質の安全性の確保のために適した発熱性試験法の検討を行い, インスリン製剤を例として今後開発されてくることが予想される多くの薬物に対し, それぞれ適切な試験法を考える上での基本的な資料とすることを意図して研究を行った。今回の結果よりインスリンの発熱性試験の場合には適切なブドウ糖の点滴を併用することにより, 薬理作用の発現を阻止しつつ発熱性物質の混在を調べることが判明した。したがって, 生物活性物質に関してはその生物活性に依存する作用あるいはエンドトキソンの発熱作用に干渉する作用を消去することにより局方の発熱性物質試験法を適用しうる方法を考える必要がある。さらにリムルス反応を用いたエンドトキソンの試験では 1 u/ml 濃度の注射用インスリンはエンドトキソンの定量に対し全く干渉作用はなく, そのまま用いることができることが判明した。内因性発熱物質産生作用を有する物質の試験には試験物質を腹水単核細胞と培養後, ウサギ発熱性物質試験を行う方法が使用可能であるが, 感度の点で実用的試験法の域まで未だ達していない。

インスリン製剤中の LPS 検出に関する基礎的検討

大阪支所 薬理微生物部

遺伝子組換え操作で大腸菌よりヒト型インスリンが製造されているが, そのインスリン製剤中に大腸菌由来物質の混入の危険性が考えられる。菌体由来物質中発熱性その他各種の生理活性を有し, エンドトキソシン・ショック等をひき起こす細菌性発熱物質 (Lipopolysaccharide: LPS) に焦点をあて, インスリン製剤中の LPS を適正に検出する方法について検討を行った。

〔実験材料と方法〕

インスリン標品: 日本薬局方インスリン標準品 (24.5 u/mg, Control No. 746) を 10 mM HCl に溶解し用いた。

LPS 標品: *E. coli* UKT-B 株より Westphal 法<sup>1)</sup> で抽出精製した LPS を注射用蒸留水に溶解して用い

た。

発熱試験: 日本薬局方発熱性物質試験法に準拠して行った。

リムルス試験: リムルス HS-ワコー LPS 測定用キット (和光純薬) を用い, トキソメーターを使用し比濁時間分析法で LPS を定量した。

LPS の化学的測定法: Carbocyanine dye による方法によった<sup>2)</sup>。

〔実験結果〕

I. 発熱試験による LPS 検出におけるインスリンの干渉作用の有無

インスリン溶液を注射用蒸留水に溶解した LPS と混合後, 注射用生理食塩水で希釈し, ウサギに静注 (インスリン:LPS=45: 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) した時の発熱曲線を Fig. 1 に示す。

LPS 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  単独投与による発熱曲線との間に大きな差異は認められなかったが, 発熱のピークがやや高くなる傾向が認められた。LPS 含量を 0.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$  とした場合の発熱を Fig. 2 に示す。発熱のピークは LPS 単独との間に差は認めなかったが, その後の

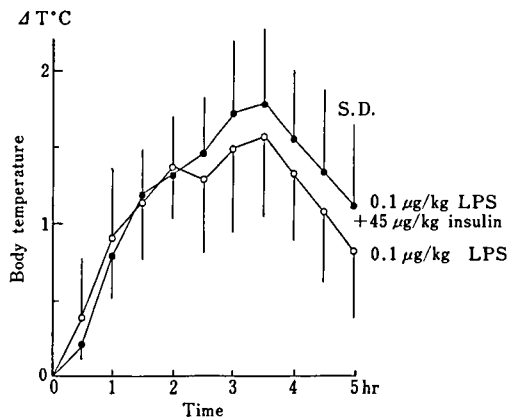


Fig. 1. Effect of insulin on LPS-induced fever in rabbits (1)

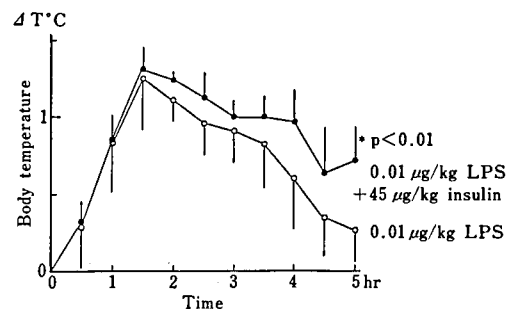


Fig. 2. Effect of insulin on LPS-induced fever in rabbits (2)

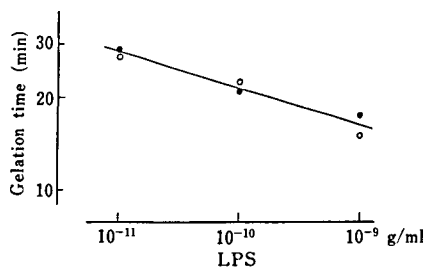


Fig. 3. LAL gelation activity of LPS in the presence (●) and absence (○) of insulin

体温下降がインスリンとの混合投与により遅延する傾向を示し、やや干渉作用があるものの影響は少ないことを認めた。

### II. リムルス試験による LPS 検出におけるインスリンの干渉作用の有無

インスリンと LPS を混合し、LPS 10<sup>-9</sup>~10<sup>-11</sup> g/ml の範囲内でリムルス試験を行った結果を Fig. 3 に示す。ゲル化時間と LPS 濃度の間、LPS 単独の場合とほとんど同じ直線関係が認められた。この結果、リムルス試験にインスリンが何ら影響を示さないことが確認された。

これらの結果から、インスリン中に 1/4500 程度の LPS が混在しても発熱およびリムルス試験で LPS を検出し得ることが分った。

しかし発熱試験においてはインスリンがやや発熱反応に干渉作用を示すことと、インスリンの投与量に限界があることを考慮すれば、より少量の LPS が混在する場合は、LPS の検出に際しては前処理としてインスリンと LPS の分離について検討することが必要

となった。

### III. インスリンと LPS の分離条件の検討

両者の分子量間の大きな差を利用し、ゲルろ過クロ

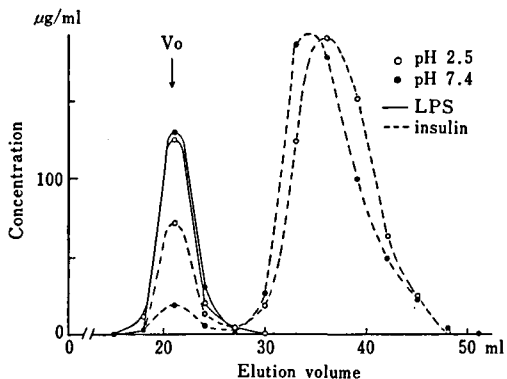


Fig. 4. Separation of insulin-LPS complex from insulin through Sephadex G-75 column

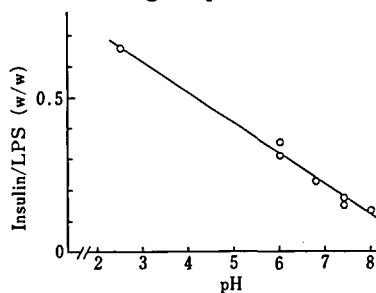


Fig. 5. pH profile of insulin-LPS interaction. After gel filtration through Sephadex G-75 at pH 2.5 (glycine/HCl) or pH 6.0~8.0 (Na phosphate), fractions containing both insulin and LPS were combined and assayed for their contents.

Table 1. Recovery of insulin and LPS by ultrafiltration

Added LPS (μg)	Recovery			
	insulin		LPS	
	μg	(%)	μg	(%)
0	0.9	(0.30)	0	
2	0.4	(0.13)	1.58	(79.0)
6	1.3	(0.43)	5.06	(84.3)
10	1.8	(0.60)	8.08	(80.8)

1 ml of 300 μg/ml insulin in the presence or absence of LPS was filtered through Centricon 30 followed by washing with water and Na phosphate buffer. Each retentate adjusted to 1 ml with phosphate buffer was assayed for insulin and LPS contents.



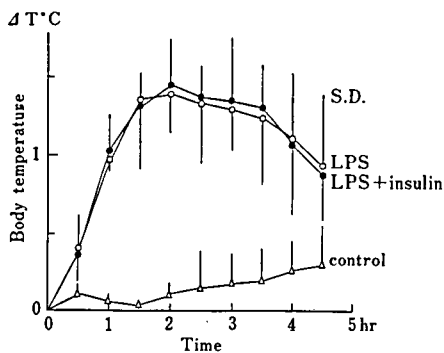


Fig. 6. Pyrogenicity of LPS after ultrafiltration

マトグラフによる分離を試みた。インスリンと LPS の混液を pH 2.5 または 7.4 の buffer で透析し、Sephadex G-75 カラムで溶出分離し、LPS は Carbocyanine dye で、インスリンは Lowry 法で測定した結果を Fig. 4 に示す。

分子量の大きい LPS は void volume に、大部分のインスリンは分子量 1 万以下のフラクションに見出された。しかしその一部は LPS と同時に溶出するのを認めた。Fig. 5 に異なった pH 条件で行った同様の実験結果を示す。

LPS と同時に溶出されるインスリン量は酸性条件下で特に顕著であった。以上の結果からインスリンと LPS の効果的分離法として、まず塩酸性下で大部分のインスリンを除去し、さらに上記実験で認められたインスリンの LPS への結合を中性領域で少なくすることが必要と考え、つぎのような限外ろ過法を試みた。

#### IV. 限外ろ過膜によるインスリンと LPS の分離

Amicon 社製 Centricon 30 (分画分子量 3 万) を用い、一定量のインスリン (300  $\mu$ g) に LPS 0~10  $\mu$ g を添加したものを遠心ろ過し、塩酸、水、pH 7.4 の buffer で洗滌濃縮し、インスリンと LPS の残存量を測定した結果を Table 1 に示す。

LPS は添加量の多少にかかわらずほぼ 80% と一定

の回収率を示し、インスリンはほとんど検出されず、両者の分離は良好であった。

#### V. 限外ろ過操作後の発熱およびリムルス試験

限外ろ過操作後、LPS の回収率が 100% とした場合、その LPS 投与量が 0.05  $\mu$ g/kg となるよう調整した試料をウサギに静注し (インスリン+LPS) 混液との間で発熱性を比較した成績を Fig. 6 に示す。その結果両者の発熱性に全く差を認めず、限外ろ過により LPS を分離し、試験しうることが判明した。対照としてインスリン溶解液の塩酸溶液を投与したが、発熱性を示さず、またろ過液 (インスリン溶液) も発熱性を認めなかった。

同じろ過液をリムルス試験したところ、弱い陽性反応 (LPS に換算して 0.02 ng/ml) を示した。

#### [考察と結論]

以上の成績から、インスリン製剤からの LPS の検出に局方発熱性試験およびリムルス試験が適用しうることが確認された。発熱試験における LPS の検出限界は 0.001  $\mu$ g/kg であり、インスリンショックを誘起する用量 (100  $\mu$ g/kg) の半量を投与限界とすると、重量比にして 0.002% 以上の LPS がインスリン試料中に混在している場合、検出できることになる。さらに少量の LPS の混在については、限外ろ過膜の使用が LPS 検出の有効な手段となると考えられた。一方、リムルス試験は発熱試験より千倍の感度で LPS の検出が可能であることから、結論的にいえばインスリン製剤からの LPS 検出には、リムルス試験が適当であると考えられた。しかし本実験に示したように少量ながらインスリンの LPS への結合が認められたことから、この複合体がリムルス試験結果にどのように影響するかは、一層厳しい検討が必要と考えられる。

#### 文 献

- 1) E. Westphal, O. Lüderitz: *Angew. Chem.*, **66**, 407 (1954)
- 2) P. Zey, S. Jackson: *Appl. Microbiol.*, **26**, 129 (1973)

### Chemicoenzymatic Synthesis of $\beta$ -Lactam Compounds

Masaji OHNO\*, Susumu KOBAYASHI\*, Masa-aki KURIHARA, Harumi KAGA\* and Haruo YAMASHITA\*: *Frontiers of Antibiotic Research*, **19**, (1987)

酵素 (豚肝臓エステラーゼ) による不斉加水分解により得られた種々のキラルシントトンから, カルバペネム抗生物質 (チエナマイシン, カルベチマイシンA, アスペルノマイシンC) を光学活性体として合成した。

東京大学薬学部

### 抗酸化剤の発癌機構に関する有機化学的考察 —BHA の化学反応性を中心として—

宮田直樹: トキシコロジーフォーラム, **11**, 41 (1988)

抗酸化剤には, 動物試験により発癌性を示す化合物がある。BHA を中心に, その化学的性質を明らかにし, 発癌機構を有機化学的に考察した。

### Degradation of 1,3-Diaryl-1-nitrosoureas in Aqueous Solutions and in Organic Solvents

Makoto MIYAHARA, Naoki MIYATA, Masaaki HIROBE\*, and Shozo KAMIYA: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 4418 (1987)

緩衝液中 (0°C, pH -0.5 から 5.4) やいくつかの有機溶媒中における 1,3-Di(*p, p'*-disubstituted) aryl-1-nitrosourea 類の分解反応に付いて検討を行った。水の中で, 擬一次速度にしたがって分解した。1,3-diphenyl-1-nitrosourea は pH が -0.5 から 1.5 の範囲でプロトンイオン濃度が付いて一次で分解し, 脱ニトロソ体を効率よく与えた。また, pH が 1.5 から 5.4 の範囲においてはヒドロキシイオン濃度が付いて一次で分解し 1,3-diphenylurea を与えた。これは, 分解によって生じる活性中間体の再結合によって生成するものと考えられる。有機溶媒中において, その熱分解は一次反応速度にしたがった。生成物は塩基触媒によって生じるものと類似していた。酸, 塩基触媒や熱分解速度は 1,3-dialkylnitrosourea 類のそれに比べておよそ百倍から千倍速かった。反応機構に付いても論じた。

\* 東京大学薬学部

### コンピューターシミュレーションによる各国薬局方の含量均一性試験法の比較

香取典子, 武田 寧, 内山 充: 薬剤学, **47**, 233 (1987)

現在各国の薬局方の含量均一性試験は様々な判定基準に基づいている。例えば, 第11改正日本薬局方 (JP 11) や英国薬局方 (BP 1980) では規格は計数試験に基づいているのに対し, 米国薬局方 (USP XXI) では規格は計量と計数の両方に基づいている。その上, 偏差をはかる基準値は, 前者は試料平均を, 後者は表示量を採用しており各々異なっている。これらの公的な含量均一性試験の試験規格 (JP 11, USP XXI, USP XX, BP 1980, JIS-Z9004, AS 1975) の厳格さと信頼性を, OC 曲線を比較することにより評価した。この公的な試験法の OC 曲線は計算式から求めることが困難なため, モンテカルロ法を用い, コンピューターシミュレーションにより作成した。さらに試験法の頑健性を様々な非正規分布 (PLATYKURTIC, LEPTOKURTIC, SKEWED AND LEPTOKURTIC) において評価した。その結果, 計量試験に基づいた試験法 (USP XXI, AS 1975, JIS-Z9004) は計数試験に基づいた試験法に比べ信頼性, 頑健性とも高かった。また JP 11 と USP XX を比較することにより, 試料偏差の基準値が試験の頑健性に与える影響を考察した。試料平均に基づいた規格 (JP 11) は表示量に基づいた規格 (USP XX) に比べ頑健性および信頼性が低いことが示唆された。したがって, 計量試験に基づき, かつ表示量を試料偏差を量る基準とした試験規格が含量の均一性を評価する際もっとも信頼性の高いことが示された。

### Statistical Evaluation of Nonisothermal Prediction of Drug Stability

Sumie YOSHIOKA, Yukio ASO and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Pharm. Sci.*, **76**, 794 (1987)

医薬品の使用期限の推定において等温予測法に適用した非線形回帰法を非等温予測法に導入するための速度式を展開した。この方法で得られる使用期限および分解の活性化エネルギーの推定値の信頼性をモンテカルロ法によって評価し, 等温法と比較検討した。非等温法による推定値の信頼性は, 試験期間や昇温プログラムなどの実験条件に大きく依存し, 非等温法においては慎重な条件設定の必要性が示された。非等温法を有効に活用するために考慮すべき諸点を明らかにし

た。

**Limits to the Concept of Solid-state Stability**

J. T. CARSTENSEN\*, K. DANJO\*, Sumie YOSHIOKA and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Pharm. Sci.*, 76, 548 (1987)

臭化プロパンテリンの固体状態において観察された二相系の分解データに基づいて、固体薬物の分解を支配する諸因子の速度論的考察を行った。分解速度に対して温度および湿度を関係づける理論式を展開し、先に示した経験式との関連を明らかにした。

\* School of Pharmacy, University of Wisconsin

**The Kinetics of the Racemization of Oxazepam in Aqueous Solution**

Yukio ASO, Sumie YOSHIOKA, Toshio SHIBAZAKI and Mitsuru UCHIYAMA: *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 1834 (1988)

オキサゼパムの水溶液におけるラセミ化反応を光学活性なカラムを用いた高速液体クロマトグラフィーにより検討した。ラセミ化反応が極めて速やかなため光学活性なオキサゼパムを単離することは困難であったが、光学活性なオキサゼパムアセテートを pH 14, 0°C において加水分解することにより、93%以上の活性体を含有するオキサゼパムの溶液を得ることができた。イオン強度 0.5 において、pH 0.5 から 13.5 におけるオキサゼパムのラセミ化速度を測定した。ラセミ化速度に及ぼす溶液の pH, イオン強度および誘電率の影響から、オキサゼパムのラセミ化反応は中性領域においては分子型のオキサゼパムの Spontaneous な反応であり、アルカリ性領域においては分子型のオキサゼパムが特殊塩基触媒を受ける反応か、または、解離型のオキサゼパムの Spontaneous な反応であることが明らかになった。

**Real-time Quantitative Analysis of Unresolved Liquid Chromatographic Peaks with the Use of the Kalman filter**

Yuzuru HAYASHI\*, Toshio SHIBAZAKI, Rieko MATSUDA and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Chromatogr.* 407, 59 (1987)

重なっている HPLC のピークを Kalman filter により、分離定量した。重なったピークの谷と山の見かけの比が約 40% のクロマトグラム (Naphthalene と diphenyl のピーク) から得られた検量線は良好なものであった: 傾き  $A = ca. 1,003$ ; 接片  $B = ca. -0.06$ 。

一方、よく用いられる perpendicular dropping より得られた検量線は良くなかった:  $A = 0.916$ ;  $B = -1.111$ 。

**Resolution of Overlapped Chromatograms by Means of the Kalman Filter****Dimensional Reduction of Error Covariance Matrices and State Estimates Vectors**

Yuzuru HAYASHI\*, Toshio SHIBAZAKI and Mitsuru UCHIYAMA: *Anal. Chim. Acta* 201, 185 (1987)

多数の重なっている HPLC のピークを分離・定量できる、低い次元の Kalman filter を考察した。この filter の有用性は、シミュレーションを用いて確かめた。

**Resolution of Overlapped Chromatograms by Means of the Kalman Filter****Data Processing of Liquid Chromatographic Signals without Solvent Peaks**

Yuzuru HAYASHI\*, Toshio SHIBAZAKI, Rieko MATSUDA and Mitsuru UCHIYAMA: *Anal. Chim. Acta* 202, 187 (1987)

複数のサンプルを、短い時間々隔で HPLC に注入すると重なったクロマトグラムが得られる。このクロマトグラムを、*Anal. Chim. Acta* 201 (1987) 185 で考察した Kalman filter を用いて解析した。ただし、クロマトグラムには、溶媒ピークは含まれていない。

**Resolution of Overlapped Chromatograms by the Use of a Kalman Filter****III. Effects of Overlapping and Outstripping of a Solvent Peak on the Analysis**

Yuzuru HAYASHI\*, Toshio SHIBAZAKI and Mitsuru UCHIYAMA: *J. Chromatogr.* 411, 95 (1987)

溶媒ピークを含んだ、重なったクロマトグラムを *Anal. Chim. Acta* 201 (1987) 185 で考察した Kalman filter を用いて解析した。

**ラボラトリロボットを用いた Simplex 法による反応条件の最適化**

松田りえ子, 石橋無味雄, 内山 充: 薬学雑誌, 107, 683 (1987)

呈色反応条件を最適化する自動システムを作成した。このシステムは、ラボラトリロボットと UV 分光器により構成され、それぞれ RS232-C および GP-IB インターフェースによって、パーソナルコンピュータ

と結ばれている。呈色反応操作はロボットにより行なわれ、呈色液の吸光度の測定、およびその値のコンピュータへの転送は UV 分光器により自動的に行なわれる。コンピュータは転送された吸光度の値に基づいて、super modified simplex 法のアルゴリズムにしたがって、最適値を計算する。このシステムを分子内にフェノチアジン環を持つ薬物と、リンタングステン酸の反応に応用し、塩酸クロルプロマジンとマレイン酸レボメプロマジンについて、最適条件を検索した。

#### Total Organic Carbon as an Index for Specification of Water for Injection

Rieko MATSUDA, Mumio ISHIBASHI, Mitsuru UCHIYAMA, Tamio HIRAOKA\*, Haruhiko HONDA\*, Yasuyuki KUNIHIRO\*, Hiromichi MIKI\*, Yukio NISHIMOTO\*, Kunihei INAZU\*\*, Takanori MIZUNO\*\*, Ryoza WATANABE\*\*, and Kouji YANO\*\*: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70, 681 (1987)

精製水中に不純物として含まれる有機物を定量することは非常に重要である。全有機炭素量 (Total Organic Carbon, TOC) は水の純度を評価する上で、有用なパラメータと思われる。12種のモデル化合物について、3種の方法 (TOC, 過マンガン酸カリウム消費量および UV スペクトルによる分析) を行い、結果を比較した。TOC は全てのモデル化合物に対し、有機炭素量に対応する値を与えたが、他の2方法では非常に値が変化した。

\* 東京医薬品工業協会

\*\* 大阪医薬品協会

#### 医薬品迅速分析法—12— イブプロフェンまたはバルプロ酸ナトリウム製剤 (上)

松田りえ子: 月刊薬事, 29, 769 (1987)

薬務局通知「イブプロフェン又はバルプロ酸ナトリウムを含有する医薬品の比色法による迅速分析法」について解説した。

#### 医薬品迅速分析法—13— イブプロフェンまたはバルプロ酸ナトリウム製剤 (下)

松田りえ子: 月刊薬事, 29, 1303 (1987)

薬務局通知「イブプロフェン又はバルプロ酸ナトリウムを含有する医薬品の比色法による迅速分析法」について分析の実例を示した。

#### Abuse of Smoking Methamphetamine mixed

#### with Tobacco: I. Inhalation Efficiency and Pyrolysis Products of Methamphetamine

Hitoshi SEKINE\* and Yuji NAKAHARA: *J. Forensic Sci.*, 32, 1271 (1987)

たばこに覚醒剤を混ぜて喫煙乱用された時の覚醒剤メタンフェタミン (MA) の吸入効率と生成する熱分解物について調べた。MA をたばこに 5, 10, 20, 30, 50 mg 混ぜて喫煙実験を行ったところ、添加量が増加するにつれてタールへの移行率が増え、6~12%であった。さらに、いろいろの吸入量、パフ間隔などによる影響を調べた結果、最高の効率で MA 添加量の17%であった。次に、タール中の熱分解物を IR, GC/MS, NMR により分析したところ、アンフェタミン、フェニルアセトン、ジメチルアンフェタミン、N-ホルミル-, N-アセチル-, N-プロピル-, および N-シアノメチル-メタンフェタミン (CMMA) の生成が認められた。CMMA は新物質であり、しかも主熱分解物であったので、その生体内運命や薬理作用が興味をもたれた。

\* 埼玉県科学捜査研究所

#### たばこに混ぜた覚醒剤の喫煙により生成したシアノメチルメタンフェタミンの興奮作用

中原雄二, 関根 均\*: アルコール研究と薬物依存, 22, S190 (1987)

たばこに混ぜた覚醒剤の喫煙により生成したシアノメチルメタンフェタミン (CMMA) の興奮作用をマウスおよびラットを用いて調べた。CMMA およびメタンフェタミン (MA) を動物に 1~10 mg/kg 腹腔内投与し、自発運動測定装置により、総運動量と立ち上がり回数を5分ごと、180分間にわたり測定した。その結果、CMMA は 1~2 mg/kg 投与では MA と同等の興奮作用を示し、5~10 mg/kg 投与では MA 投与に比べ最大2倍の総運動量と4.3倍の立ち上がり回数を示した。

\* 埼玉県科学捜査研究所

#### 大麻の使用証明に関する分析法

中原雄二: 法中毒ニュース, 5, 71 (1987)

大麻の使用証明に関する分析法を著者の研究を中心にして、総説した。まず始めに、マリファナ喫煙による活性成分の THC の摂取効率、生体内運命および尿中排泄について解説した。次いで、大麻使用証明のための尿試料の前処理および分析法を TLC, GC, GC/MS, HPLC, イムノアッセイの各方法に分けて説明した。さらに、受動喫煙の問題や鑑定法と法廷防衛度の

関係についても言及し、最後に著者の行った大麻使用者尿の鑑定例を紹介した。

#### 高速液体クロマトグラフィーによる製剤中の日局レセルビンの分析

太田美矢子, 木村俊夫, 田中 彰: 医薬品研究, 19, 91 (1988)

高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法を用いて, 市販製剤中のレセルビンの定量方法を検討した。カラムはゾルバックス TMS(5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm), カラム温度は 40 $^{\circ}$ C, 流量は 1 ml/min, 移動相はアセトニトリル $\cdot$ 0.1M リン酸緩衝液 (pH 3.0) の混液 (45:55) および検出波長は 268 nm を用いた。錠剤および粉末はジオキササンで抽出し, 注射液はジオキササン溶液とし, 内部標準物質の *p*-ヒドロキシ安息香酸ブチルの溶液を一定量加えて, 試料溶液とした。錠剤および粉末の定量結果は, 日本薬局方の定量法 (JP 法) と良く一致した。しかし, 注射液では JP 法に比較して, HPLC 法は低い値を与えた。注射液を HPLC に多量注入し, アセトニトリル $\cdot$ 0.1M リン酸緩衝液の混液 (35:65) で溶出するとき, 7~10個の不純物が検出された。しかし, 従来の JP 法による抽出では, これらの不純物の一部しか除去できないため, 高い定量値を与えた。したがって, HPLC 法は製剤中に含有する多くの不純物を分離定量出来, 定量法として有用な方法であることが示された。

#### 医療用ペプチドとタンパク質類: 新技術の評価

早川堯夫: *Pharm Tech Japan*, 3, 553 (1987)

医療用ペプチドとタンパク質類を生産するための各種新技術, 生産物の化学的, 生物学的解析法, 非臨床および臨床試験のあり方および評価法などに関する最新の動向, インスリン, ヒト成長ホルモン, リンホカイン類, サイトカイン類, TPA, 抗血友病因子, エリスロポイエチン, IGF-1 などの開発経緯, 米国, 英国, スウェーデン, 中華民国, 日本における規制や先端技術医薬品の開発状況について紹介した。

#### 第11改正日本薬局方医薬品各条表記の整備とその背景—液体クロマトグラフ法およびガスクロマトグラフ法について—

早川堯夫, 武田 寧: 医薬品研究, 18, 640 (1987)

日局11の改正作業にあたって, 液体クロマトグラフ法, ガスクロマトグラフ法など, 試料溶液の調製, 操作, 判定, 試験条件などに共通性が高いものにおいて, 表記とその解釈の統一に関する原則が設けられた。

また, 試験目的やデータ, 内容から判断して同一あるいは同義とみなし得る部分についても, 極力表記の統一が図られ, 解釈の一元化を可能にする努力が払われた。本稿では, これらの代表的な表記の例と, 日局11における実例を示しながらその背景説明および解釈について詳述した。

#### バイオテクノロジー応用医薬品の品質確保

早川堯夫: トキシコロジーフォーラム, 11, 9(1987)

バイオテクノロジー医薬品の製造, 構造決定, 諸性質の検討, 品質管理, 非臨床試験, 臨床試験などで一般的に留意すべきポイント, および現時点での問題点について解説した。

#### Hydroxylation of Phenylalanine by Stimulated Neutrophils—Attempts to Detection of Hydroxyl Radical—

Sadaki FUJIMOTO\*, Susumu ISHIMITU\*, Haruo KANAZAWA\*, Tadashi MIZUTANI\*, Akira OHARA\* and Takao HAYAKAWA: *Agr. Biol. Chem.*, 51, 2851 (1987)

多形核白血球は, 細菌などの体内侵入に対し, いわゆる活性酸素を産生して感染防御にあたっているといわれているが, その際強力な殺菌剤である水酸ラジカルが関与しているか否かは長年の論争の一つであった。この大きな原因は, 活性化された白血球における水酸ラジカルの産生を検出する適当な方法が必ずしも確立していなかったことによる。本研究では, フェニアラニンが水酸ラジカルにより特異的に水酸化され, 天然にない *o*- または *m*-チロシンになり, これらが HPLC 法で定量できることに着目して, フェニアラニン存在下で白血球を刺激した際, チロシン誘導体が生成してくるかどうかを検討した。その結果, フェニアラニンの水酸化が白血球刺激後の時間経過および細胞数に依存して起こることを認めた。また, この水酸化が各種の水酸ラジカル消去剤およびスーパーオキシドディスムターゼで顕著に阻害されることから, 各種刺激剤で活性化した白血球から水酸ラジカルが産生してくることを明らかにした。

\* 京都薬科大学

Quality Control of Biotechnological Therapeutic Agents Intended for Human Use in Japan In Therapeutic peptides and proteins: Assessing the new technologies (D. R. Marshak, ed) Takao HAYAKAWA: *Banbury Report* (Cold Spring Harbor Laboratory, New York) 29, 309

(1988)

日本におけるバイオ医薬品の開発状況、バイオ医薬品の品質、有効性、安全性を確保するためにとられようとしている施策、その背景となる基本的な考え方や科学的根拠などについて総括的に解説した。その要点は、①生産工程を一定にすることによる品質の恒常性の確保、②生産物の同定や characterization を徹底に行うこと、③最終製品に混入するかも知れない有害不純物に対して特別な関心を払うこと、④安全性に関わる前臨床試験については、製品の安全性評価を行うに最も適切な方法を選択することを眼目とし、個々の製品についてはケースバイケースで対処すること、⑤臨床試験にあっては、とくに有効成分や不純物に対する抗体生成およびそれに伴う免疫反応に注意すること、などである。

**バイオテクノロジー医薬品：レギュレーションの科学的根拠：EC, 北米, 日本 (その1)**

早川堯夫：*Pharm Tech Japan*, 4, 7 (1988)

バイオテクノロジー医薬品の製造方法のコントロールと生産物の分析、前臨床安全性試験のあり方について、EC, 北米, 日本などにおける現状と問題点について述べた。

**バイオテクノロジー医薬品：レギュレーションの科学的根拠：EC, 北米, 日本 (その2)**

早川堯夫：*Pharm Tech Japan*, 4, 35 (1988)

動物細胞培養法による医薬品生産の安全性、糖タンパク質、モノクローナル抗体などをめぐる技術的進歩、EC, 北米, 日本などにおける行政的対応の実態を述べ、医薬品生産細胞基材の選択および細胞基材におけるウイルスの存在問題に関する基準の作成やモノクローナル抗体製剤の品質確保に必要な独自の具体的指針の作成など、今後わが国が早急に取り組むべき問題について論考した。

**Comparative studies on nephrotoxic effects of Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate and Bis (2,3-dibromopropyl) phosphate on rat urinary metabolites.**

Masamichi FUKUOKA, Terue TAKAHASHI, Katsushi KAITO, and Kouichi TAKADA: *J. Applied Toxicology*, 8, 43(1988)

トリス (2,3-ジブロモプロピル) ホスフェート (Tris-BP) とビス (2,3-ジブロモプロピル) ホスフェート (Bis-BP) とのラット腎臓に対する影響を検討し

た。

71.7, 143.4 および 286.8  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  を1回経口投与し、7日間観察し、尿への乳酸、グルコース、尿酸、ALP,  $\gamma$ -GTP, GPT, GOT, LAP, LDH の排泄パターンと3日間の腎臓中のLDH アイソザイムの挙動を尿細管の病理所見から議論した。

Tris-BP の直接の影響と Tris-BP から Bis-BP に代謝され、その Bis-BP が作用する2つの障害発現を発見した。

**Nephrotoxic effect of Tris (2,3-dibromopropyl) phosphate on rat urinary metabolites: Assessment from  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of urines and biochemical and histopathological examinations.**

Masamichi FUKUOKA, Terue TAKAHASHI, Akira TANAKA, Tsutomu YAMAHA, Katsushi NAITO, Yukio. NAKAJI, Kazuo KOBAYASHI, and Masuo TOBE: *J. Applied Toxicology*, 7, 23 (1987)

トリス (2,3-ジブロモプロピル) ホスフェート (Tris-BP) のラットにおける急性腎障害を検討した。

25, 50, 100 および 200  $\text{mg}/\text{kg}$  体重を1回経口投与し、24時間後に血中および尿中のタンパク、尿素、クレアチニン、グルコース、ALP, GOT, GPT,  $\gamma$ -GTP, LAP および LDH を測定した。また 50, 100 および 200  $\text{mg}/\text{kg}$  体重を1日1回7日間の連続経口投与を行い、各日における上記パラメーターの変化と病理所見と  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルとの観察より、Tris-BP は腎臓近位尿細管上皮細胞のエネルギー生成系に影響するものと結論づけた。

**The metabolic origin of the sulfur atom in the sulfhydryl group of 2-thiobenzothiazole metabolites derived from benzothiazyl sulfenamide in the rat.**

Masamichi FUKUOKA and Akira TANAKA. *Arch. Toxicol.*, 61, 158 (1987)

ベンゾチアジールスルフェンアミド系加硫促進剤のラット体内動態を尿中代謝物から検討した。

尿中代謝物はグルタチオン抱合体経由で、促進剤に存在している硫黄原子が生体内グルタチオンの硫黄原子で交換されていることが判明した。

**Deuterium and tritium labeling of (3-xenyl) cyclohexane by Clemmensen and Wolff-Kishner**

**Reduction**

Masamichi FUKUOKA, Akira TANAKA and Tomoko NISHIMAKI-MOGAMI *Appl. Radiat. Iso.*, **39**, 391 (1988)

水素化トリフェニールの標識化合物を重水素化およびトリチウム化から研究を行った。トリチウム化体の合成に成功すると同時に、この報文は Clemmensen 還元反応および Wolff-Kishner 還元反応のメカニズムに新たな知見を提供した。

**Preparation and Antitumor Effect of Macrophage Activating Factor (MAF) Encapsulated in Liposomes Bearing a Monoclonal Anti-Human Melanoma (A375) Antibody**

Yoshifumi WATANABE\*, Eriko UCHIDA, Masahiro HIGUCHI\*, Yasuyuki IMAI\*, and Toshiaki OSAWA\*: *J. Biol. Response Mod.*, **6**, 556 (1987)

癌の targeting 療法の1つとして、表面に human melanoma A375 cell に対する monoclonal 抗体を結合した、MAF 含有 liposome (MAF-immunoliposome) を調製し、その抗腫瘍効果を検討した。MAF-immunoliposome は、*in vitro*、低 E/T ratio (約15) において顕著な Mφ 介在性細胞障害活性を示した。*in vivo* では、tumor cell, Mφ との同時投与、および systemic な i.v. 連続投与により腫瘍増殖を有意に抑制した。いずれの活性も、抗体非結合 MAF-liposome, MAF solution 単独, MAF 不含有 immunoliposome では認められなかった。lymphokine による癌治療では、lymphokine の腫瘍局所への delivery が重要と思われる。

\* 東京大学薬学部

**Purification and Characterization of the Product of Chemically Synthesized Human Growth Hormone Gene Expression in *Escherichia Coli***

Shingo NIIMI, Takao HAYAKAWA, Tadashi OSHIZAWA, Eriko UCHIDA, Tsutomu YAMAHA, Tadao TERAU, Eiko OHTSUKA\*<sup>1</sup> and Morio IKEHARA\*<sup>2</sup>: *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 4221 (1987)

化学合成したヒト成長ホルモン (hGH) 遺伝子の大腸菌における発現物質を、硫酸分画、DE-52 クロマトグラフィー、クロマトフォーカシングクロマトグラフィー、ウルトロゲル AcA 54 クロマトグラフィーにより精製した。精製物は、SDS ポリアクリルアミド電気泳動、ポリアクリルアミドゲル電気泳動、ゲル等

電点電気泳動、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) において単一であった。そして精製物と標準に用いたメチオニル hGH (m-hGH) は、これらの系において同一の挙動を示した。さらに精製物の構造上の特徴について、アミノ酸組成分析、N末端アミノ酸配列分析、トリプティックペプチドマッピングの手法を用いて調べた。その結果、精製物のアミノ酸組成の実験値は m-hGH の理論値と一致した。また N末端アミノ酸配列 (39アミノ酸残基) は、一残基目においてフェニルアラニンの前にメチオニンが付加している点を除いて hGH の既知の配列と一致した。さらに HPLC における精製物および m-hGH のトリプシン消化ペプチドの溶出パターンは一致した。そしてこれらの溶出パターンは、N末端を含むペプチドに由来すると思われるピークを除いて脳下垂体由来の hGH と同じであった。以上の結果から精製物は m-hGH と同定された。

\*<sup>1</sup> 北海道大学薬学部

\*<sup>2</sup> 大阪大学薬学部

**Spectroscopic studies of brunescant cataractous lenses**

Akio TOMODA\*<sup>1</sup>, Yoshimasa YONEYAMA\*<sup>1</sup>, Teruhide YAMAGUCHI, Katsuko KAKINUMA\*<sup>2</sup>, Kazuo KAWASAKI\*<sup>3</sup>, Taizo YONEMURA\*<sup>3</sup>: *FEBS Lett.* **219**, 472 (1987)

褐色白内障の病因を明らかにする目的で、白内障にて摘出した患者の水晶体の分光学的検討を行った。その結果、白内障の進行 (褐色化) に従い、3-hydroxykynurenine が縮合した xanthomatin が増加してることが明らかとなった。おそらく、この褐色白内障の着色物質はこの xanthomatin と考えられる。

\*<sup>1</sup> 金沢大学医学部生化学

\*<sup>2</sup> 東京都臨床研

\*<sup>3</sup> 金沢大学医学部眼科

**SGP 140, identification of a novel component on human polymorphonuclear leukocyte cell surface, involve in chemotactic and phagocytic activities**

Yukio YAMAMOTO\*, Teruhide YAMAGUCHI, Koei SATO\*, Yoshihisa NISHIKAWA\*, Akiyoshi HIRAGUN\*: *Exp. Hematol.* **16**, 12 (1987)

食細胞系の細胞膜に存在する 140 kDa の糖蛋白 (SGP 140) の好中球機能における役割を明らかにする目的で、SGP 140 に対する抗体を用いて検討した。その結果、anti-SGP 140 抗体は好中球の活性酸素生成

活性や exocytosis にはまったく影響しないが、食菌や走化性を強く阻害した。したがって、SGP 140 好中球の movement に関連していることが示唆された。

\* 東京都臨床研

#### 食細胞の機能発現と糖蛋白：新たな食細胞関連糖蛋白 SGP 140 の性質

山本行男\*, 西川義尚\*, 山口照英, 平郡昭義：臨床免疫, 19, 949 (1987)

食細胞上の糖蛋白として代表的な食作用関連レセプターの生化学的性質, リガンドとの相互作用, 生理機能を, 最近の知見をとりまぜて概説した。

\* 東京都臨床研

#### Formation of Three-membered Rings from $\gamma$ -Iodoketones and $\gamma$ -Iodoesters via 1,3-Elimination

Miwako MORI\*<sup>1</sup>, Nana KANDA, Yoshio BAN\*<sup>2</sup>, and Keiichi AOE\*<sup>3</sup>: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 12, (1988)

触媒量の Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> 存在下,  $\alpha$ -haloketone を基質として ene-halogenocyclization を行ったところ環化成績体  $\gamma$ -Iodoketone が得られた。得られた  $\gamma$ -Iodoketone は diazabicyclo [5.4.0] under-7-enc で処理したところ高収率で三員環化合物に変換された。この三員環形成は syn-1,3 脱離反応が進行した結果であり, 更に遷移状態として W-shaped transition states を経たものと推定される。

\*<sup>1</sup> 北海道大学薬学部

\*<sup>2</sup> 北海道大学

\*<sup>3</sup> 田辺製薬株式会社

#### Search for Lens Aldose Reductase Inhibitor in Medicinal Plants

Hiroshi KOHDA\*, Osamu TAKEDA\*, Naomi FUJIOKA\* Tsuyoshi TANIMOTO, Nana KAWASAKI and Akira TANAKA: *Shoyakugaku Zasshi*, 41, 341 (1987)

糖尿病性合併症の予防や治療に有効なアルドース還元酵素阻害物質を含有する生薬類の検索を行った。99種の生薬類のメタノールエキスを調製し, ウサギ水晶体アルドース還元酵素に対する阻害効果を調べたところ, 営実, ゲンノショウコ, 苦参, 大根草, ウワウルシ, 丁字, 十薬, 茵陳, 毛冬青, 川骨, 黄芩および甘草の12種に IC<sub>50</sub> < 4.9  $\mu$ g を示す著しい阻害活性が認められ, 知母, 大黃, 蘇葉, 金銀花, 釣藤鈎, 檳榔子, 丹参

および荊芥の8種に IC<sub>50</sub> = 5.0~9.9  $\mu$ g の比較的強い阻害活性が認められた。大黃のメタノールエキスから活性画分としてエモジンとセンノサイドAを単離した。これらは強力なアルドース還元酵素阻害剤として知られているケルセチンとほぼ同等の阻害活性を示した。

#### アルドース還元酵素阻害剤——糖尿病性合併症の予防と治療をめざして

谷本 剛：ファルマシア, 24, 459 (1988)

糖尿病性合併症の発症機序としてポリオール代謝異常が注目されており, 現在ポリオール代謝経路を構成する酵素の一つであるアルドース還元酵素を阻害することがその予防や治療を可能にすると考えられるに至った。そしてアルドース還元酵素阻害剤の開発が世界的に試みられるようになり, 臨床的研究も試みられるようになった。そこで, アルドース還元酵素の開発が試みられるに至った理論的背景と代表的なアルドース還元酵素阻害の基礎的, 臨床的研究について概説した。

#### トキシコキネティクス (toxicokinetics) 概説

田中 彰：薬学図書館, 32, 229 (1987)

トキシコキネティクスの基本概念を紹介し, さらに化学物質の体内動態, 速度論モデル, 化学物質の曝露を評価する方法, ヒトに対する安全性を評価する方法論を解説した。

#### 薬剤による精巣障害時の精巣内酵素の変動

池本 庸\*, 田中 彰, 町田豊平\*, 谷野 誠\*, 小寺重行\*, 御厨祐治\*, 白井 尚\*, 三谷比呂志\*: 日本不妊誌, 33, 114 (1988)

可塑剤 DBP (dibutyl phthalate) を成熟雄ラットに1週間投与し, 精巣内の4種の酵素 LDH-X, ODC (ornithine decarboxylase), SDH (Sorbitol dehydrogenase),  $\beta$ -glucuronidase の活性を測定した。光顕的には精巣障害は精細管内, とくに精細胞を中心に認められ, LDH-X 活性は組織学的変化とよく相関し, ODC は組織学的変化に先立って変動し, SDH は低下したまま回復はおそらく,  $\beta$ -glucuronidase は精巣障害に伴って上昇することが分った。

4種の酵素の変動は臨床的不妊精巣の病態生理を理解する上でも極めて興味深い。

\* 東京慈恵会医科大学

#### Fundamental Studies on Cyclophosphamide-induced Testicular Disorder and on the Functional Recovery of the Impaired Testis

Isao IKEMOTO\*, Toyohei MACHIDA\*, Shigeyuki



KOTERA\*, Hiroharu MIKURITA\*, Takashi HIRAI\*, Hiroshi MITANI\* and Akira TANAKA: *Jan. J. Fertil. Steril.*, 33, 120 (1988)

臨床的に広く使われている免疫抑制剤サイクロフォスファミド (CPM) の雄性性腺に対する作用をマウスで検討した。CPM 150 mg/kg, 3回投与は10週令マウスの精巣に強い萎縮を起し, 精細胞, セルトリ細胞, 基底膜に障害を認めた。しかし, 精巣重量, 精細管直径, 精巣光顕像はいずれも投与後6週間で回復した。LH放出ホルモンアナログの併用投与はCPMによるマウス精巣障害に予防効果を与えなかった。

\* 東京慈恵会医科大学

#### Roles of IL 2 and Antigen in the Later Stages of the Primary Antibody Response

Jun-ichi SAWADA, Tadao TERA0 and Myron A. LEON\*: *Immunology*, 62, 199 (1987)

インビボで免疫したマウスから得られた脾細胞を用いて, 一次的免疫応答後期におけるIL 2およびLPSの影響を検討した。

\* Department of Microbiology and Immunology, Wayne State University Medical School, Michigan

#### Production and Characterization of Monoclonal Antibodies to 17 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone

Jun-ichi SAWADA, Tadao TERA0, Shun-ichi ITOH\*<sup>1</sup>, Masako MAEDA\*<sup>1</sup>, Akio TSUJI\*<sup>1</sup>, Hiroshi HOSODA\*<sup>2</sup> and Toshio NAMBARA\*<sup>2</sup>: *J. Steroid Biochem.*, 28, 405 (1987)

17 $\alpha$ -モドロキシプロゲステロンに対するモノクローナル抗体を調製し, その性質を検討した。得られたモノクローナル抗体を用いるエンザイムイムノアッセイにより先天性副腎過形成患者血清の17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロンのレベルの測定を試みた。

\*<sup>1</sup> 昭和大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東北大学薬学部

#### 独活・羌活の品質

西本和光: 現代東洋医学, 8, 74 (1987)

独活および羌活はもとは一物であったが, 現在では唐独活, 唐羌活, 和羌活があり, さらにこれらの原植物が錯乱しているので, その整理を試みた。

#### 釣藤鈎の品質

西本和光: 現代東洋医学, 8, 59 (1987)

中国産釣藤 (広西釣藤) が主に輸入されているが, 多くの分析例をみると, 中国産釣藤鈎の原植物はアルカロイド組成から, 釣藤, 华鈎藤およびカギカズラの3種が考察される。

#### 黄芩の品質

西本和光: 現代東洋医学, 8, 64 (1980)

黄芩は形状によって高品的に分けられるが, その形状の差異に係わらずフラボノイド含量および組成に大きな変動がみられる。総フラボノイドの紫外線吸収スペクトル測定による簡易評価を試みた。

#### 薏苡仁・細辛・防風の品質

西本和光: 現代東洋医学, 9, 67 (1988)

薏苡仁については, ハルムギはジュズダマと交配しやすく, そのヨウ素試液による鑑別を述べた。細辛については, 韓国産が主であるが, 中国にも原植物となる *Asarum* 属植物が数種あることを紹介した。また, 防風については, その代用品とされている浜防風, さらに原植物の類縁種について述べた。

#### 製剤の規格設定——医薬品としての“資格”を持つために

原田正敏: 現代東洋医学, 8, 116 (1987)

生薬, エキス, 最終的漢方製剤の品質を確保するために, 一定の規格を決めることは必要不可欠である。本稿はそれらの規格設定の考え方, 方法につき主として行政上の基準にしたがって解説した。

#### 名称, 成分・分量, 用法・用量——同一処方名でもいろいろな製剤がある

原田正敏: 現代東洋医学, 8, 96 (1987)

漢方処方は同一処方名でも, 使用する生薬の種類と加工法, 配合量, 用法, 用量についていろいろな内容を持つものがある。また, 同一処方でも煎剤, エキス剤, 丸・散剤などいろいろな剤型で使用される。これらのことについて整理し, その根拠となる考え方を示した。

#### 効能・効果——“良い”生薬とは何か一への波及

原田正敏: 現代東洋医学, 9, 94 (1988)

漢方処方の効能・効果への表現には, 古典での漢方術語を用いる場合と現代用語を用いる場合がある。この両者の相互対比を行い, あわせて, 一定の効能・効果を与えることが医薬品にとって重要であることに鑑み, “良い”生薬とは何かにつき考察した。

**漢方薬の薬理**

原田正敏: SUT BULLETIN, 4, 6 (1987)

漢方薬は普通の化学薬品とは異なる面を持ち、このことは薬理研究において端的に表れる。本稿は漢方薬と現代薬を対比させ、薬理的研究における類似面と相違面を述べた。

**High-Performance Liquid Chromatographic Identification and Determination of Dithiocarbamates in Vulcanized Rubber Products**

Masa-aki KANIWA: *J. Chromatogr.*, 405, 263 (1987)

ゴム製品に加硫促進剤として使用されるジチオカーバメート(DTCs)の亜鉛塩は普通2,3種が同時に使用されている場合が多い。我々はその亜鉛塩をコバルト塩に変換してから高速液体クロマトグラフィーにより定性、定量分析する方法を確立した。その際、共存するDTCsは混合錯体を生成するために、そのクロマトグラムは複雑なものとなった。そこで、成分ピークの保持時間ならびに成分ピーク間でのピーク強度比を、DTCsの標準混合系と比較することにより、共存しているDTCsの確認および定量を行った。

**家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求(第4報):市販ゴム製品中のメルカプトベンゾチアゾール系加硫促進剤の分析及びパッチテスト陽性率**  
鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 関東裕美\*, 伊藤正俊\*, 石原 勝\*: 衛生化学, 33, 140 (1987)

市販のゴム履き物中の加硫促進剤の分析を行った。その結果、ゴム履き物には、メルカプトベンゾチアゾール(MBT)系加硫促進剤のうち2-Mercaptobenzothiazole(MBT), Dibenzothiazyl disulfide(MBTS)の2種が含まれていた。ゴム製品によりアレルギー性接触皮膚炎が起こした患者に対してパッチテストを行った結果、検討したMBT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

**ネルの寝間着布による色素沈着型接触皮膚炎—Naphthol AS 類の化学構造とパッチテスト反応の関係について—(第2報)**

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: 皮膚, 29 (増刊第3号), 増178 (1987)

冬期にネルの寝間着を着用している女性患者の頸部、

前腕に色素沈着を認めた。パッチテストの結果、患者が着用しているネル布、Naphthol ASに陽性であった。新たに5種のNaphthol AS関連化合物を合成して、Naphthol AS構造と皮膚反応との関係について検討した結果、Naphthol ASの感作性はNaphthol AS骨格そのものが必要不可欠であることが推定された。

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

**家庭用品に含まれる化学物質の安全性—接触皮膚炎とその原因追求を中心に—**

小嶋茂雄: フォルマシア, 23, 703 (1987)

家庭用品に使われている各種の処理剤の安全性については、1973年以来、年次計画で数種類づつ取り上げて検討が続けられてきており、一定の成果を上げてきている。

ところが、実際に家庭用品によって起こっている接触皮膚炎などの事故については、まだまだその原因の究明が進んでいないのが現状である。著者らは、この数年間皮膚科の臨床医と協力して家庭用品による接触皮膚炎の原因について検討を行ってきており、こうした協力関係の大切さを痛感してきている。その成果の一例として、ネルの寝巻による色素沈着型接触皮膚炎の原因究明の経験を紹介した。

**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**

五十嵐良明, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠: 衛生化学, 33, 90 (1987)

無水フタル酸(PA)は皮膚反応性が高く、皮膚炎の原因となることが報告されている。そこで、一般によく使用されるポリ塩化ビニル製品中にPAが含まれているかどうかを検討するために、PAの分析法を確立した。すなわち、PAをエタノールと反応させてフタル酸モノエチルエステルとし、さらにこれをジアゾメタンと反応させてフタル酸メチルエステルとして、高速液体クロマトグラフィーにより分析することとした。その分析法を用いて市販の塩化ビニル製品を分析した結果、製品中にはPAはごく少量しか含まれていないことが確認された。

**防かびマットによる接触皮膚炎の1例**

河合修三\*, 白井絹江\*, 赤枝民世\*, 河村甚郎\*, 朝田康夫\*, 小嶋茂雄: 皮膚, 29 (増刊第3号), 増56 (1987)

防かびマットを防湿製品に充填する作業員が右顔面、

両手, 両前腕, さらに手背, 躯幹, 下肢におよぶ皮膚炎を生じた。パッチテストの結果, 防かびマットの主成分である  $\alpha$ -Bromo-cinnamic-aldehyde (BCA) で強陽性を示した。BCA は特に抗真菌活性が強く, 揮発性の防菌剤として日常品にもかなり使用されている。しかし, BCA による接触皮膚炎の報告としては我々の事例が初めてである。

\* 関西医科大学皮膚科学教室

### Excretion, Distribution and Metabolic Fate of Sodium o-Phenylphenate and o-Phenylphenol in the Rat

Michio SATO, Akira TANAKA, Toshie TSUCHIYA, Tsutomu YAMAHA, Shinsuke NAKAURA and Satoru TANAKA: 食衛誌, 29, 7 (1988)

オルトフェニルフェノール (OPP) とそのナトリウム塩 (OPP-Na) の雄ラットでの吸収・排泄, 体内分布および代謝について主に  $^{14}\text{C}$  化合物を用いた研究した。両化合物とも経口投与後, 速やかに排泄された。48時間後の排泄量は尿中に85~90%, 糞中に3~4%であった。別ラットによる72時間後の胆汁中への排泄量は27%であり, 吸収後の OPP の腸肝循環が想定された。両化合物とも体内への蓄積は顕著ではなかった。代謝物は抱合体が主で, 非放射性 OPP-Na の2%含有試料による2週間飼育後のラット尿からは非抱合の水酸化体やキノン体も検出された。 $^{14}\text{C}$  化合物の1回経口投与による実験では OPP と OPP-Na の代謝的な差異は認められなかった。

### コンポジットレジン中のメタクリレートモノマーに関する研究 (第1報) 硬化レジンからの各種溶媒への溶出について

菊池 寛, 辻 楠男, 新谷英晴, 中村晃忠: 医科材料. 器械, 6, 621 (1987)

高速液体クロマトグラフィーを用いて, 市販コンポジットレジン12種中のモノマー配合量および硬化レジンプレート (10×20 mm, 厚さ 0.15 mm) から各種溶媒 (メタノール, 20%および40%エタノール, 生理食塩液) 5 ml への溶出量を調べた。

各種メタクリレートの検出件数とその配合量は次の通りであった: Bis-GMA, 11件, 3.1~18.8%; Tri-EDMA, 9件, 3.4~11.3%; UDMA, 3件, 6.8~8.1%。Bis-GMA の溶出量はメタノール, 40%エタノール, 20%エタノールの順に減少し, 生理食塩液への溶出は認められなかったが, Tri-EDMA の溶出量は溶媒の種類によってほとんど変化しなかった。こ

れは, 両者の脂 (水) 溶性の反映と考えられた。

溶媒への Bis-GMA および Tri-EDMA の溶出量とレジンへのモノマーの配語量の間には相関関係が認められた。

### コンポジットレジン中のメタクリレートモノマーに関する研究 (第2報) 歯質へのモノマーの移行について

菊池 寛, 辻 楠男, 中村晃忠: 医科材料. 器械, 6, 627 (1987)

3種類の市販コンポジットレジンを用いて研究を行った。牛前歯の切片の象牙質部分上に内径 5mm, 高さ 2 mm のプラスチックリングを置き, そこにレジンを含めて研化させた。1日および7日後にレジンと象牙質を剥離し, 牛歯中に移行したモノマーと剥離した硬化レジン中の残留モノマーを高速液体クロマトグラフィーで定量した。

硬化前のレジン中のモノマー含有量の多いレジン程, 硬化後の残留モノマー量も多かった。同一のレジンで繰り返し実験を行った場合, Bis-GMA の歯質への移行量が多かった実験では, その同じ切片中の Tri-EDMA の移行量も多く, Bis-GMA 移行量が少ない場合は Tri-EDMA 移行量も少なかった。ところが, 歯質へのモノマー移行量と硬化レジン中のモノマー残留量との間には相関関係は成り立たなかった。また, Bis-GMA の歯質への移行量は時間の経過につれて増える傾向が明らかであったが, Tri-EDMA については同様の傾向は見られなかった。

### ポリサルフォン中空糸型血漿分離器のガンマ線照射による安定性について

辻 楠雄, 水町彰吾, 中村晃忠: 人工臓器, 17, 153 (1988)

逆浸透 (RO) 水を充填してある (Wタイプ) と, RO水を充填していない (Dタイプ) の2種類のポリサルフォン中空糸型血漿分離器に, 1.5, 2.5, 5.0 および 10 Mrad の  $\gamma$ 線を照射して, 血漿分離器の種々の化学的・物理的影響について実験を行った。

中空糸の 121°C, 60 mm の溶出液では, 2.5 Mrad の照射で紫外外部吸収スペクトルと過マンガン酸カリウム還元性物質が何れも最大値を示し, 10 Mrad で再び増加した。Wタイプの紫外外部吸収スペクトルと過マンガン酸カリウム還元性物質は, 各線量ともDタイプのものより高い値を示した。

線量の増加にともない, 中空糸の引張り強度と伸びは減少し, Wタイプは, Dタイプに比べて顕著な減少

を示した。

**Generally applicable high sensitivity optical detection methods in hydroxide eluent suppressed anion chromatography Via postsuppression ion exchange**

Hideharu SHINTANI and Purnendu K. DASGUPTA\*: *Anal. Chem.*, 59, 1963 (1987)

水酸根溶離液で、サブレッサー溶出後のアニオン成分の検出に従来の伝導度検出に替えて、UVあるいは蛍光検出を試みた。サブレッサーの後にアニオンあるいはカチオン交換膜を設置してサブレッサー溶離後の例えば塩素(HCl)や硫酸(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)をイオン選択係数の違いを利用してReplacement Chromatography(置換クロマトグラフィー)を行った。カチオン交換膜使用に際しそのセリウム型を用いプロトンで交換されたセリウムをUVあるいは蛍光で検出した。アニオン交換膜使用に際し、そのアンソラニル酸型用いた塩素イオンあるいは硫酸イオンで交換されたアンソラニル酸をUVあるいは蛍光で検出した。セリウムの場合蛍光検出が、アンソラニル酸の場合UV検出が優れており、伝導度検出の約10倍以上の高感度検出が達成された。

\* Texas Tech University, Dept. of Chemistry

**家庭用品中に用いられる化学物質の安全性について**  
中村見忠: *Journal of Japanese society of hospital Pharmacists*: 24, 9 (1988)

家庭用品に用いられる化学物質についてその接触皮膚炎の原因物質究明, 家庭用品規則制法, 家庭内事故原因とその予防等について記載した総説である。

**Effect of Cadmium on Vitamin D-Non-Stimulated Intestinal Calcium Absorption in Rats**  
Masanori ANDO and Sachiko MATSUI: *Toxicology*, 45, 1 (1987)

Cdによる腸管Ca吸収抑制の機構を検討するため、高Ca、高ビタミンD食で飼育したラットのCa結合蛋白と腸管Ca transportにおけるCdの影響について検討した。Cdの2, 3ヵ月曝露ラットにおける*in vitro*のCa transportはcontrol群に比較して低下した。正常ラットの反転腸管を用いたCa transportは培地にCdを添加すると低下した。Cd曝露ラットの腸粘膜への<sup>45</sup>Caの結合活性はcontrol群の場合より低下した。このことより、Ca結合蛋白へのCdの

結合について検討したところ、Ca結合蛋白にはCdは結合していなかった。以上のことより、CdによるビタミンD非刺激Ca transportの抑制はCa結合蛋白にCdが結合したためではなく、他の要因によるものと考えられる。

**主婦を対象としたホルムアルデヒドと二酸化窒素の個人曝露濃度の同時測定結果について**

松村年郎, 亀谷勝昭, 武田浩昭\*1, 村松 学\*2, 滝口秀昭, 武田明治: *日本公衆衛生雑誌*, 35, 301 (1988)

著者らが開発したHCHOとNO<sub>2</sub>の簡易測定法を用いて、集合住宅に居住する主婦を対象に、暖房時と非暖房時に個人曝露濃度の同時測定を行い、複数汚染物質の個人曝露量の一端を明らかにした。さらに、個人曝露濃度に及ぼす暖房器具および室内環境条件の影響を相関分析等を用いて明らかにした。

**化粧品品の迅速分析法—1—「紫外線吸収剤を含有する化粧品」**

木嶋敬二, 斉藤恵美子: *月間薬事*, 29, 2477 (1987)

本試験法はクリーム類およびサンオイル中のオキシベンゾン, 2(2-ヒドロキシ-5-メチルフェニル)ベンゾトリアゾール, *p*-ジメチルアミノ安息香酸オクチル, テトラヒドロキシベンゾフェノン, オキシベンゾンスルホン酸, ジヒドロキシベンゾフェノン, シノキサートに適用することができる方法である。試料にテトラヒドロフランを用いて試験溶液を調製し、逆相HPLC(カラム: ODS系シリカゲル, 移動相①CH<sub>3</sub>CN・H<sub>2</sub>O(7:3), ②CH<sub>3</sub>CN・H<sub>2</sub>O(4:6)にテトラブチルアンモニウムクロライドを0.1%の割合に加え, pH 4(酢酸)。

検出波長310nm, 添加回収率(0.1および1.0%)添加も良好であり、これらの紫外線吸収剤の分析に有用な方法であるとの結論を得ている。

**化粧品品の迅速分析法—2—「口紅中のタール色素の簡易分析法」**

木嶋敬二, 永山富雄\*: *月刊薬事*, 30, 75 (1988)

製品中の色素含量が比較的高い口紅を対象にTLCを用いる系統的分析方法を検討し、汎用性の高い簡便な定性試験法を作成した。標準法として3分画に抽出する第1法と2分画に抽出する第2法を検討した。薄層板は、メルク社製シリカゲル60または必要に応じて濃縮ゾーン付シリカゲル60を使用した。既存の展開溶媒から最適溶媒の選定を行った。今回試験法を作成す

るにあたり対象としたタール色素は26種である。第1法、第2法共通に赤色3号または赤色226号を単独もしくは同時に含有する試料では最終の残留物に対してピリジンで他の画分と同様に抽出することにより検出が可能である。

\* 東京薬科大学

### 化粧品品の迅速分析法—3—「化粧品中の水銀化合物の分離定量法」

木嶋敏二、渡辺四男也\*：月刊薬事，30，383 (1988)

試料は白降汞含有クリーム (w/o 型)，カーボンブラックおよび酢酸フェニル水銀含有アイライナー (黒色)，酢酸フェニル水銀含有アイライナー (白色) を対象として試験法を検討した。本試験法は定性法と定量法に大別できる。(1) 定性法 (ヨウ化第一銅を用いる方法)。(2) 定量法 i) 試験溶液の調製方法：硫硝酸還元法，五酸化バナジウム分解法，塩酸硝酸溶出法，塩酸抽出法，ii) 測定法，還元気化法，ジチゾン法，金アマルガム法，フレイム原子吸光法を各々検討した。硫硝酸還元法は分解時の水銀消失が少なく，最も一般的で測定に還元気化法を用いる定量法で精度よく分析することができる。

\* 東京都立衛生研究所

### Influence of Cadmium on the Metabolism of Vitamin D<sub>3</sub> in Rats

Masanori ANDO, Motoyuki SHIMIZU\*, Sachiko MATSUI, Yasuyoshi SAYATO\*\*, and Mitsuharu TAKEDA: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 89, 158 (1987)

Cd による Ca 代謝異常の研究の一環として，腎臓の Vitamin D<sub>3</sub> の活性化機構における Cd の影響について検討した。Cd 曝露ラットの 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の血清中濃度は control 群に比較して上昇した。また，副甲状腺摘出ラットでは両群とも摘出しな場合より低下した。一方，Cd 曝露ラットの 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の血清中濃度は control 群より低下した。すなわち，1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> あるいは 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 合成のための PTH の分泌機構は正常であるのに対し，PTH 分泌を行うための PHH 刺激の機構に異常が起こったものと考えられる。これらの結果より，90日の Cd 曝露ラットは 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 不足あるいは PTH 過剰分泌の状態が発生しているものと考えられる。また，Cd 曝露による低リン血症は二次的な症状であることが示唆された。

\* 星薬科大学

\*\* 摂南大学薬学部

### ジクロフルアニドの分析ならびにその汚染実態について

鈴木 隆，石坂 孝，斎藤行生，清長 実\*，食衛誌，28，378 (1987)

ジクロフルアニドの分析は ECD-GC により4種類の液相を用いて灰雑ピークに妨害されることなく ppb レベルの検出および定量が可能であった。試料の磨砕に際して硝酸銀の添加はジクロフルアニドの分解を防ぐ上で不可欠であり，また小麦ではジクロフルアニドと非常にまぎらわしい保持時間を有する物質を除き得た。アセトンで抽出後，これを留去し，*n*-ヘキサンにとかし，*n*-ヘキサン層をアセトニトリルで抽出した。アセトニトリル留去後，フロリジルカラムクロマトグラフィーを行った。市販野菜，果実，小麦の実態調査の結果，温室栽培品，特にトマトにおいて，残留量は少なかったものの高頻度で検出された。

\* 北九州市環境衛生研究所

### Urinary Metabolites of *N*-Nitrosodibutylamine and *N*-Nitrodibutylamine in the Rat: Identification of *N*-Acetyl-*S*-alkyl-*L*-cysteines

Emako SUZUKI\*, Mariko OSABE\*, Masashi OKADA\*, Takashi ISHIZAKA and Takashi SUZUKI: *Jpn. J. Cancer Res. (CTann)*, 78, 382 (1987)

*N*-ニトロジブチルアミン (NDBA)，*N*-ニトロジブチルアミン (NO<sub>2</sub>DBA) およびその 1-アセトキシ誘導体投与ラットの尿中から *N*-アセチル-*S*-ブチル-*L*-システイン，*N*-アセチル-*S*-3-オキソブチル-*L*-システインおよび *N*-アセチル-*S*-3-ヒドロキシブチル-*L*-システインを単離しメチルエステルとして同定した。NO<sub>2</sub>DBA 投与よりも NDBA 投与の方が尿中に多量の *N*-アセチル-*S*-アルキル-*L*-システインが排泄され，また 1-アセトキシン NO<sub>2</sub>DBA よりも 1-アセトキシン NDBA 投与群のラットの方が3種類の *N*-アセチル-*S*-アルキル-*L*-システイン誘導体の排泄量が多かった。このことは NDBA と NO<sub>2</sub>DBA の著しい生化学的活性の差，即ちそれらのアルキル化能の差にその原因の一つがあるとも考えられる。

\* 東京生化学研究所

### Simplified Cleanup and Gas Chromatographic Determination of Organophosphorus Pesticides in Crops

Kumiko SASAKI, Takashi SUZUKI and Yukio SAITO: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70, 460 (1987)

農作物中の残留有機リン農薬の簡便な分析法として、グリーンアップにリン酸と塩化アンモニウム混液による凝固法を応用するとともに、キャピラリーカラムを用いた FPD-ガスクロによる同時分析を検討した。

検討した23農薬、7農作物の中で、特に極性の高いジクロルボスとジメトエートは回収率が低く(41~71%)、さらにクロルピリホス等、特に極性の低い5農薬も一部の農作物において回収率が低かったが、その他は80%以上の回収率を得た。また、タマネギはシリカゲルミニカラムによる精製を追加することにより、16農薬について分析が可能であった。検出限界は1.25~17.5 ppb であった。

#### Determination of Tri-*n*-Butyltin and Di-*n*-Butyltin Compounds in Fish by Gas Chromatography with Flame Photometric Detection

Kumiko SASAKI, Takashi ISHIZAKA, Takashi SUZUKI and Yukio SAITO: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71, 360 (1988)

魚体中のトリブチルスズとジブチルスズの同時分析法を検討した。試料を塩酸・メタノール抽出し、ヘキサンに転溶後、ゲルパーミエーションクロマトグラフィーにより精製したのち、グリニャル試薬を用いてテトラアルキル誘導体とする。これらをキャピラリーカラムを装備した FPD-ガスクロマトグラフによって定量した。添加回収率は80~105%、検出限界は0.02 ppm であった。養殖ハマチから0.07~2.0 ppmの塩化トリブチルスズと0.02~0.11 ppmの塩化ジブチルスズを検出した。これらの分析値はガスマスによる定量結果とよく一致した。

#### チオール化合物の蛍光分析 (SBD-F および ABD-F を中心にして)

豊岡利正, 今井一洋\*: トキシコロジーフォーラム, 10, 519 (1987)

著者らが開発したチオール基に特異的な2種の発蛍光試薬、アンモニウム 7-フルオロ 2,1,3-ベンゾオキサジアゾール-4-スルフォネート (SBD-F) および 4-(アミノスルホニル)-7-フルオロ-2,1,3-ベンゾオキサジアゾール (ABD-F) について、それらの特徴および数種チオール化合物の HPLC 分離検出について述べた。また、血液中チオール化合物の測定、血漿中カトプリルの測定等の応用について概説するとともに、今後の展望について触れた。

\* 東京大学医学部附属病院分院

#### Fluorometric Assay of Thiols with Fluorobenzodiazoles.

Kazuhiro IMAI\* and Toshimasa TOYO'OKA: *Methods in Enzymol.*, 143, 67 (1987)

ベンゾフラザン骨格を有する2種の発蛍光試薬 (SBD-F および ABD-F) について、それらの性質およびチオール誘導体の HPLC 分離検出法について述べた。また応用として卵白アルブミンを取り上げ蛋白質中の half-cystine 残基の特異的標識を行うとともに、 $\alpha$ -キモトリプシンで酵素分解し切り出されたシステイン含有ペプチドの選択的 HPLC 検出およびそれらのアミノ酸配列を気相プロテインシーケンサーにより決定する方法を概説した。

\* 東京大学医学部附属病院分院

#### Simultaneous Determination of Thiols and Disulfides by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection

Toshimasa TOYO'OKA, Sadao UCHIYAMA, Yukio SAITO and Kazuhiro IMAI\*: *Anal. Chim. Acta*, 205, 29 (1988)

チオール基に特異的な発蛍光試薬 SBD-F および ABD-F を用いチオール、ジスルフィド化合物の高感度同時測定を行った。チオール・ジスルフィドを含む試料に ABD-F を加え、60°C、5分間反応させチオール化合物のみを標識する。次いで過剰の ABD-F を酢酸エチルで除去後、ジスルフィド化合物を tri-*n*-butylphosphine で対応するチオール化合物に還元しつつ、別の試薬 SBD-F で 60°C、20分間標識する。得られた ABD-thiol および SBD-thiol 体を HPLC 蛍光検出し、チオール・ジスルフィドの同時測定を行った。本法における検出限界は90~900 fmol であり、従来の同時分析法よりも1オーダー以上高感度であった。

\* 東京大学医学部附属病院分院

#### Automatic Amino Acid Analysis Utilizing 4-Fluoro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole.

Hiroto KOTANIGUCHI<sup>1</sup>, Miyako KAWAKATSU<sup>2</sup>, Toshimasa TOYO'OKA and Kazuhiro IMAI<sup>2</sup>: *J. Chromatogr.*, 420, 141 (1987)

ギルソン社製の自動プレカラム誘導体化装置を用い NBD 標識アミノ酸の一斉分析を行った。本装置によるシステイン、タウリンを含むアミノ酸の CV(%) の平均値は 100 p mol 注入の場合 0, 71%, 20 p mol 注

入の場合には1.18%と良好な結果が得られた。本システムにより24種アミノ酸を40 min以内で分離することができ、検出限界は10~100 f molの範囲であった。血清中アミノ酸の測定および蛋白質構成アミノ酸の組成分析を行ったところ、従来法と良い相関が得られた。

\*1 エムエス機器

\*2 東京大学医学部附属病院分院

### High-Performance Liquid Chromatography with Photochemical Fluorimetric Detection of Tryptophan Based on 4-Fluoro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole: Total Protein Amino Acid Analysis.

Kazuhiro IMAI\*<sup>1</sup>, Eiji UEDA\*<sup>2</sup> and Toshimasa TOYO'OKA: *Anal. Chim. Acta*, 205, 7 (1988)

発蛍光試薬 NBD-F を使用することによってアミノ酸の高感度分析が可能である。しかしトリプトファンのみは NBD-F により蛍光性の誘導体を与えなかった。本論文では NBD-tryptophan を合成し、その構造が他の NBD-amino acid と同型の構造であることを確認した。一方この NBD-tryptophan pH 2-10 の溶液中で UV 照射すると蛍光性の化合物に導くことができ、その強度は照射時間を長くすることにより増加した。しかし、他の NBD-amino acid 照射により一部分解し、無蛍光体に変化した。18種の NBD-amino acid を Nucleosil ODS カラムで一斉分離後、光照射装置で反応させ蛍光検出するとトリプトファンの検出限界は 3 p mol であった。これに対して他のアミノ酸では 10~100 f mol であった。

\*1 東京大学医学部附属病院分院

\*2 東京大学薬学部

### HPLC Electrochemical Fluorometric Detection of Amino acids Including Tryptophan Using 4-Fluoro-7-nitro-benzo-2-oxa-1,3-diazole

Noriyuki WATANABE\*<sup>1</sup>, Toshimasa TOYO'OKA and Kazuhiro IMAI\*<sup>2</sup>: *Biomed, Chromatogr.*, 2, 99 (1987)

NBD-amino acids は励起波長 470 nm, 蛍光波長 540 nm を有する蛍光性の誘導体であるが NBD-tryptophan のみは無蛍光体であった。しかし電気化学的に酸化すると蛍光体に変換することを見出した。HPLC カラムの溶離液を on-line で +0.48V で酸化後蛍光検出するとトリプトファンの検出限界は 50 f mol であった。一方、同一システムにおける他のア

ミノ酸の検出限界は 100 f mol 以下と高感度であった。

\*1 東京大学工学部

\*2 東京大学医学部附属病院分院

### Design and Choice of Suitable Labelling Reagents for Liquid Chromatography

Kazuhiro IMAI\* and Toshimasa TOYO'OKA: *J. Chromatogr. Library*, 39A, 209 (1988)

現在まで報告されているアミン、チオール、アルコールおよびカルボン酸用 HPLC 標識試薬について、UV-VIS, 蛍光, 電気化学用試薬に大別し、それらの特徴を述べるとともに測定方法ならびに应用について、例を上げながら概説した。

\* 東京大学医学部附属病院分院

### Marine Terpenes and Terpenoids. III. Isolation and Structures of Two Cembrane Diols from the Soft Coral *Sinularia mayi*

Masaru KOBAYASHI\*, Takashi ISHIZAKA, Noriko MIURA\* and Hiroshi MITSUHASHI\*: *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 2314 (1987)

軟体サンゴ *Sinularia mayi* の脂質抽出物より九種のセンプラン型ジテルペンを単離した。これらのうち七種の  $\alpha$ -メチレン- $\gamma$ -ラクトン化合物 (1-7) は種々の軟体サンゴより既に単離されているものであった。二種の新規センプランジオール, sinulariol A (8a) と sinulariol B (9) の構造を各種機器分析により決定した。9 については誘導体と絶対構造既知の nephthenol (11) との比較により絶対構造を決定した。8a と 9 は種々の軟体サンゴにみられるセンプランラクトンの前駆体と考えられる。

北海道大学薬学部

### Protein-binding Potential of Ochratoxin A *in vitro* and Its Fluorescence Enhancement

Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 28, 453 (1987)

発ガン性マイコトキシンといわれているオクラトキシン A (Oct. A) の毒性に関する基礎情報を得るため、*in vitro* の動物組織や血清タンパク質への結合能が検討された。電気泳動法による検討の結果、ラット血清アルブミンへの親和性は高いが、肝、腎の可溶性組織タンパク質へは低かった。ヒト血清アルブミン (HSA) は  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -グロブリンよりも極めて高い親和性を示し、その結合パラメータは  $n=2.15 \pm 0.05$ ,  $K=6.01 \pm 0.09 (\times 10^5/M)$  であった。一方 Oct. A は HSA 共存

下で増けい光し、その作用は pH 依存性を示した。この増けい光は Oct. A のカルボキシル基に由来する主たる結合とは関連性がなく、むしろイソクマリン環との弱い相互作用に起因するものと推定された。

#### Effect of Dosage and Form of Cadmium on its Absorption and Distribution

Curtis D. KLAASSEN\*, Lois D. LEHMAN\* and Tamio MAITANI: *Trace Subst. Environ. Health* 20, 113 (1986)

カドミウムを塩化カドミウム (CdCl<sub>2</sub>) とカドミウム-チオネイン (Cd-Th) として経口投与した時の、消化管吸収と臓器分布を調べた。Cd-Th 投与では、高い腎/肝カドミウム濃度比が得られたが、腎への高い蓄積によるものではなく、肝への移行量が少ないためであった。CdCl<sub>2</sub> を1万倍の範囲で投与量を変えて与えた時には、臓器中濃度の増加は投与量の増加よりも顕著であった。

\* University of Kansas Medical Center

#### 食品中のカドミウムおよびヒ素の吸収と代謝

米谷民雄: 食衛誌, 28, 286 (1987)

食品中の有害金属の代表例として、重金属のカドミウムと類金属のヒ素を取り上げ、その消化管吸収に影響を及ぼす因子と代謝機構について解説した。

#### Chemical Form-dependent Induction of Hepatic Zinc-thioenin by Arsenic Administration and Effect of Co-administered Selenium in Mice

Tamio MAITANI, Nobuko SAITO\*, Mayumi ABE\*, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: *Toxicol. Lett.*, 39, 63 (1987)

4種のヒ素化合物(亜ヒ酸、ヒ酸、メチルアルソン酸、ジメチルアルソン酸)をマウスに経口又は腹腔内投与し、肝亜鉛-チオネインが誘導されるかを調べた。4種のヒ素化合物いずれにおいても誘導が認められたが、無機ヒ素化合物では1桁低い投与量で誘導が認められた。亜ヒ酸と亜セレン酸の相互作用を肝亜鉛-チオネイン誘導の観点から調べたところ、亜セレン酸による誘導量が、亜ヒ酸の同時投与により減少するという結果が得られた。

\* 明治薬科大学

#### Strain Differences in Changes of Essential Metal Levels in Testes and Other Organs of Mice after Cadmium Administration

Tamio MAITANI and Kazuo T. SUZUKI: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 10, s-12 (1987)

5種の近交系マウスに塩化カドミウムを皮下投与し、精巣、肝臓、腎臓中の必須金属レベルの変化を調べた。DBA と CBA では精巣中 Cd 濃度が他の3系統よりも高く、同時に精巣中必須金属レベルの大きな変化が認められた。一方、肝臓中の必須金属レベルは C3H, BALB, C57BL において、大きな変化が認められた。ただしメタロチオネイン誘導量に関する亜鉛レベルは、DBA と CBA の方が大きな増加を示した。また BALB において、肝障害による肝臓から腎臓への Cd の急激な移行を示唆するデータが得られた。

\* 国立公害研究所

#### 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

河村葉子: 食衛誌, 28, 288 (1987)

食品汚染物質であるベンズピレンが経口により摂取される時、共存する食品および食品成分によりその生体内挙動がどのような影響をうけるのかを、消化管吸収、体内分布、排泄、代謝等に関して概説した。

#### The Effect of Various Foods on the Intestinal Absorption of Benzo (a) pyrene in Rats

Yoko KAWAMURA, Eiichi KAMATA, Yukio OGAWA, Toyozo KANEKO, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 29, 21 (1988)

ラット腸管におけるベンゾ(a)ピレン(BP)の吸収に及ぼす共存する種々の食品の影響について検討した。<sup>14</sup>C-BP を12種類の食品および食品成分とともにラットに経口投与し、血中の放射活性を測定したところ、トリオレインや大豆油はBPの吸収を促進し、その吸収率は50.5%および39.4%であった。一方、セルロース、パン、デンプン、ハウレンソウ、かつおぶし等固型食品および水懸濁液では吸収が抑制され、吸収率は20.1%から29.5%であった。固型食品においては、*in vitro* におけるBPの遊離量と吸収率に相関がみられた。固型食品とBPの結合は、BPの腸管吸収における重要な抑制因子であった。

#### Distribution, Excretion and Lymphatic Absorption of Benzo (a) pyrene Administered Orally in Oil Solution and Aqueous Suspension Forms

Yoko KAWAMURA, Takashi UMEMURA, Masami WAKANA, Toyozo KANEKO, Sadao Uchiya-



ma and Yukio SAITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 29, 26 (1988)

ベンゾ(*a*)ピレン (BP) の大豆油溶液と水懸濁液をラットに経口投与し、分布・排泄およびリンパ管吸収に及ぼす担体の影響を検討した。BP は肝臓および腎臓に高濃度で存在し、水懸濁液ではその傾向が著しかった。BP の主排泄経路は油溶液では胆管から糞中であつたが、水懸濁液では尿中へ移行する割合が高かつた。このように、BP 投与時に共存する油および水の影響は、消化管吸収時のみではなく分布や排泄にまで及ぶことが明らかとなつた。一方リンパ管からの吸収量は、油溶液で0.20%、水懸濁液で0.22%とほぼ等しく、BP の腸管吸収におけるリンパ系の寄与は小さく、担体による差もみられなかつた。

#### Estimation of Daily Intake of Chlovoform by Japanese Housewives

Masatake TOYODA, Kayoko KOBAYASHI, Akio MITSURA, Yukio SAITO, Keiichi UNO\*<sup>1</sup> and Yoshio SAKABE\*<sup>2</sup>: *J. Food Safety.*, 8, 219 (1987)

名古屋市および足助町の21人の主婦から3日間の陰膳試料を集めた。クロロホルムの分析は、試料 30 g, 水 170 ml, リン酸 1 ml, アスコルビン酸 0.5 g を蒸留フラスコに入れ、窒素ガス気流下加熱し、クロロホルムを 0°C 冷却 *n*-ペンタン中に捕集し、ECD-GC にてクロロホルム含量を分析し検出クロロホルムは GC-MS で確認した。陰膳試料中のクロロホルム濃度は 1.7~45.8 ppb, 平均 13.7±9.6 ppb であつた。主婦のクロロホルムの1日摂取量は 7.5~51.9 μg, 平均 26.4±11.8 μg であつた。

\*<sup>1</sup> 愛知県衛生研究所

\*<sup>2</sup> 名古屋市衛生研究所

#### アルコール飲料中のカルバミン酸エチルの簡易分析法

小林加代子, 豊田正武, 斎藤行生: 食衛誌, 28, 492 (1987)

アルコール飲料中のカルバミン酸エチル (EC) の簡易分析法を開発した。試料をエキストレルト20に負荷し、ジクロロメタンで溶出させ、さらにセップバックフロリジルを通して精製後、N, N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタールと反応させてアルキル化し、エキストレルトミニカラムで精製し、GC-FID で測定した。検出限界は 30 ppb で、清酒、ビール、酎ハイに対し、300 ppb を添加したときの回収率は70.9~86.3%であつた。9種の市販アルコール飲料につい

て本法を用いて調査したところ、EC は検出限界以下または痕跡量あつた。本法により前法で1日以上を要した分析時間を5~6時間と短縮することができた。

#### Determination of Ethyl Carbamate in Sake by Alkylation and Gas Chromatography with a Flame Ionization Detector

Kayoko KOBAYASHI, Masatake TOYODA and Yukio SAITO: *J. Food. Hyg. Soc. Japan*, 28, 330, 1987

清酒中のカルバミン酸エチルを誘導体化し、GC-FID で測定する方法を開発した。カルバミン酸エチルはクロロホルムで抽出し、フロリジルカラムで精製後、濃縮し、N, N-ジメチルホルムアミドジメチルアセタールと反応させてからさらにエキストレルトカラムで精製し、測定した。検出限界は 10 ppb, 100 μg/kg を添加した時の回収率は平均73.7%であつた。アルキル化物の構造は GC/MS で確認した。

#### Inhibitors of the Arachidonate Cascade from *Allium chinense* and Their Effect on *in vitro* Platelet Aggregation

Yukihiko GODA, Masaaki SHIBUYA\* and Ushio SANKAWA\*: *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 2668 (1987)

*Allium Chinense* G. DON の鱗茎よりプロスタグランジンおよびトロンボキサン合成酵素阻害を指標として N-(*p*-trans-coumaroyl)-tyramine, N-(*p*-cis-coumaroyl)-tyramine, lunularic acid, *p*-coumaric acid を単離した。さらに lunularic acid の関連化合物であるスチルベン類についてプロスタグランジン合成酵素阻害作用を検討した。またこれらの化合物について血小板凝集抑制作用も検討した。

\* 東京大学薬学部

#### Inhibitors of Prostaglandin Biosynthesis from *Mucuna birdwoodiana*

Yukihiko GODA, Masaaki SHIBUYA\* and Ushio SANKAWA\*: *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 2675 (1987)

*Mucuna birdwoodiana* の茎より4種のフェノール性化合物を単離した。これらの化合物のうち 2,6-dimethoxyphenol と N-(*trans*-freruloyl) tyramine は、プロスタグランジン生成阻害作用を示し、さらに前者は *in vitro* での強力な血小板凝集抑制能を有していた。

\* 東京大学薬学部

**Studies on Biologically Active Compounds Contained in Chinese Medicinal Plants Used against the Stagnation of Disordered Blood**

Yukihiko GODA, Madoka KATAYAMA\*, Mitsuko TANAKA\*, Masaaki SHIBUYA\*, Fumiyuki KIUCHI\* and Ushio SANKAWA\*: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 10, s-50 (1987)

漢方で瘀血症状に用いられる生薬についてプロスタグランジン生合成阻害作用を指標にして一次スクリーニングを行った。その結果強い阻害作用を示した3種の生薬「降真香」、「鷄血藤」、「薤白」についてその阻害活性成分の単離、同定を行った。得られた活性物質のうち、単離量が多いものについては、さらに *in vitro* の血小板凝集抑制作用についても検討した。

\* 東京大学薬学部

**植物培養細胞中の微量重金属について**

山崎 壯, 義平邦利: 植物組織培養, 4, 95 (1987)

植物組織培養において、培地成分中の微量金属が培養細胞中にどれだけ取り込まれているのかの検討が必要であることをに問題提起した。

食用ニンジンとアカネの培養細胞について微量金属(亜鉛, マンガン, 銅, 鉄)量を測定した。培地組成と比べて、特に銅が高率に取り込まれていた。

**Studies in the Guinea-pig Stomach on the Formation of N-Nitrosomethylurea, from Methylurea and Sodium Nitrite, and its Disappearance**

Miyako YAMAMOTO, Hajimu ISHIWATA, Takashi YAMADA, Kunitoshi YOSHIHARA, Akio TANIMURA and Isao TOMITA\*: *Fd. Chem. Toxic.*, 25, 663 (1987)

モルモットにメチル尿素と亜硝酸ナトリウムを投与したときの、胃における N-ニトロソメチル尿素(NMU)の生成および消失について検討した。モルモットは腺胃のみを有し、胃内 pH もヒトに近い。亜硝酸の胃からの消失は極めて速く、2.5分後には20%以下に減少した。NMUは胃内で速やかに生成したが投与後10分で胃内濃度は最大となりその後は徐々に消失した。このとき血中にも NMU が検出された。普通に餌を与えたモルモットの場合は前日より水だけを与えたモルモットに比べ、胃内での NMU 生成量は約3分の1であったが、餌の存在より胃内からの NMU の消失速度は遅くならなかった。

\* 静岡県立大学薬学部

**Liquid Chromatographic Determination of Melamine in Beverages**

Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE, Takeshi YAMAZAKI and Kunitoshi YOSHIHARA: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70, 457 (1987)

飲料中のメラミンの定量法について検討した。飲料を陽イオン交換樹脂および陰イオン交換樹脂カラムで処理し、溶離液についてイオンペア高速液体クロマトグラフィーを行った。カラムじゅうてん剤は ODS を使い、移動相として 0.005M 1-ラウリル硫酸ナトリウムを含む 0.005M リン酸緩衝液を用いた。ジュース、コーヒーなど4種の酸性飲料に 0.6~2.4 ppm の濃度に添加したメラミンの回収率は 90.3~102.1 ppm であった。メラミン樹脂製コップにこれらの飲料を入れ、95°C で30分間加熱したところ、0.52~2.20 ppm のメラミンの溶出を認めた。

**Tetramethylsuccinonitrile in Polyvinyl Chloride Products for Food and Its Release into Food-simulating Solvents**

Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE and Kunitoshi YOSHIHARA: *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, 185, 39 (1987)

塩化ビニルの重合促進剤である 2,2'-アゾビスイソブチロニトリルの分解物テトラメチルサクソニトリル(TMSN)のポリ塩化ビニル(PVC)製食品用品中の残存量とその移行について調べた。17種の試料中12種に TMSN が認められ、最高は 523 ppm であった。この製品について各種食品類似溶媒を用いて溶出試験を行ったところ、60°C で30分間の保温では TMSN の溶出はほとんど認められなかった。オリーブ油中で 40°C で120日間の保温で 5 ppb の溶出が認められた。PVC からの TMSN の溶出 ( $y$ , ppb) は温度 ( $x$ ) に大きく影響され、 $\ln y = 0.08786x - 5.696$ ,  $r = 0.9927$  の関係にあった。材質、溶出液中の TMSN は GC-MS で確認した。

**Chemical, Physical and Microbiological Indexes to the Surface Deterioration of Melamine Resin**

Takiko INOUE, Hajimu ISHIWATA and Kunitoshi YOSHIHARA: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 28, 348 (1987)

プラスチックの劣化の衛生指標を求める目的で、メラミン樹脂製食品用品を4%酢酸で加熱処理を20回繰り返し、化学的、物理的、微生物学的方法により劣化

を測定した。メラミンに対するホルムアルデヒドの溶出モル濃度比 ( $y$ ) と処理回数 ( $x$ ) とは  $\ln y = -1.0755 \ln x + 2.2462$  の関係にあった。メチレンブルーの吸着能 ( $y$ ) は  $\ln y = 4.2064 \ln x - 9.3640$  の式にしたがって変化し、表面粗さ ( $y$ ) は、上記指標が一定となった  $x=7$  以上で  $\ln y = 0.9330 \ln x - 1.6486$  の関係が、また *Escherichia coli* による汚染度 ( $y$ ) は  $\ln y = 0.4254 \ln x + 9.2976$  の関係が認められた。

#### Involvement of Transposable Elements in the Formation of Hybrid Phages between Bacteriophages P1 and R Plasmid NR1

Shigeru IIDA\*, Jurg MEYER\*, Katsutoshi MISE and Werner ARBER\*: *FEMS Microbiol. Lett.*, 43, 111 (1987)

P1 および NR1 両レプリコン中に存在する IS 1 分子間での組換えにより、P1-NR1 合一體と P1-RTF および P1-r-det ファージが形成されることが証明された。ハイブリッド・ゲノム上での IS 1 分子によって引き起こされる欠失が、さらに進むと、ブラック形成能を持った PICm ファージが作られることになる。

\* バーゼル大学・バイオセンター

#### Widespread Occurrence of the Restriction Endonuclease *Yen I*, an Isoschizomer of *Pst I*, in *Yersinia enterocolitica* Serotype 08

Michiko MIYAHARA, Tsutomu MARUYAMA\*<sup>1</sup>, Akira WAKE\*<sup>2</sup>, and Katsutoshi MISE: *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 577 (1988)

エルシニア 風菌 *Yersinia enterocolitica* 55株 (03 17株, 05 2株, 06 1株, 08 14株, 09 8株, 01, 02, 03 2株, 05, 027 4株, 07, 08 6株, 08, 019 1株), *Yersinia pseudotuberculosis* 33株, および *Yersinia pestis* 3株の計91株について制限酵素産生の検索を行った。酵素の検索および精製は、lysozyme 処理法と polyethyleneimine 法を用いた。検索した *Yersinia* 風菌のなかで、*Y. enterocolitica* 08 の14株中12株に制限酵素の産生がみられ、他の株から産生を検出できなかった。08株から産生されていたのは *Pst I* の isoschizomer であり、*Yen I* と命名した。*Yen I* と *Pst I* は切断塩基配列も同一であることを ligation 実験を行って確認した。*Y. enterocolitica* A2635(08) が産生する酵素を多量に精製した。600 U/g 湿細胞重量の純度の良い精製液が得られた。*Yen I* は低温 0°C においても *Pst I* より活性を発揮するので、熱不安定な

DNA の切断などに有用であると思われる。

\*<sup>1</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>2</sup> 国立予防衛生研究所

#### 内毒素活性を担う構造の解明への道

##### —Lipid A の構造と活性相関—

榎元憲一：ファルマシア, 24, 163 (1988)

多彩な生物活性を有する細菌内毒素 (エンドトキシン) の活性本体であるリピドAの構造が明らかにされたが、それに至るまでの過程を筆者の仕事を中心に総説している。また、リピドAの構造活性相関を論ずるとともに今後の問題点について言及した。

#### ジャガイモ乾腐病の原因菌と病原性

一戸正勝, 陶山一雄\*: 植物防疫, 41, 260 (1987)

北海道網走地方における営農集団の大規模種イモ貯蔵庫で、乾腐症状を示すジャガイモが多数認められた。かねて乾腐病菌の分類学的位置づけが本邦では混乱していたので、病徴のみられる塊茎を温室において表皮部着生菌を分離する方法と、塊茎断面の空洞部より直接釣菌する方法を併用して菌分離を行い、形態学的性状、発育至適温度、病原性などを検討した。表皮部着生菌として主に *Fusarium oxysporum*, *F. solani* を、空洞形成部からは *F. sambucinum*, *F. solani* var. *coeruleum* を主に分離した。ジャガイモ塊茎への接種試験で *F. sambucinum*, *F. solani* var. *coeruleum* に強い病原性を認め、ついで少数分離した *F. avenaceum* に中程度の病原性を認めた。従来10数種の *Fusarium* が乾腐病に関与するとされていたものを生態的、病因的に整理して原因菌を確定した。

\* 東京農業大学

#### カーネーション立枯病菌 (*Fusarium graminearum*) の完全世代 *Gibberella zeae* の野外における発生

外側正之\*, 一戸正勝：関西病虫害研究会報, 30, 43 (1988)

1985年秋、静岡県伊豆地方のカーネーション栽培場において立枯病が多発し、病斑上に多数の黒色粒状の子のう殻が観察された。子のう殻より子のう胞子を単孢子分離、培養して接種試験を行った結果、*Fusarium* 世代の大型分生子を接種した場合と同様、カーネーションに病原性を示すとともに、病斑上に大型分生子および子のう殻を形成したところから本菌は立枯病菌の完全世代であることを確認した。培養的性状、形態的特長および病原性から *Gibberella zeae* (SCHW.)

PETCHであることを明らかにした。

\* 静岡農業試験場南伊豆分場

#### 野菜, 果実の真菌

一戸正勝, 森 悦男\*: 防菌防微誌, 16, 95 (1988)  
 生鮮野菜類や果実類が生産地での栽培段階, 集荷選別を受けての出荷を経て, 輸送あるいは貯蔵され, 青果市場より一般小売店, 消費家庭にいたるまでに種々の変敗が発生し, 経済的損失をもたらしている。植物病原菌として野菜, 果実を加害する真菌類について論及するとともに, 具体例として貯蔵庫内に保管された種イモとしてのジャガイモのカビによる変敗, 貯蔵環境中の真菌フローラについて述べた。さらに, 市場病害として, 青果市場における真菌による腐敗, 変敗のみられたリンゴ, 国産および輸入カンキツ類, 果菜類などについての実態調査の結果をとりまとめた。

\* 川崎市立衛生研究所

#### 肺真菌症

宮地純樹\*, 秋山一男\*, 一戸正勝: 呼吸, 6, 792, (1987)

真菌による肺感染症として本邦ではアスペルギルス症, カンジダ症, クリプトコッカス症, ムーコル症が重要であり, クリプトコッカス症以外は日和見感染の要素が強い。診断はいずれも症状やX線像からは困難であり, 肺生検組織(ときに喀痰)からの菌検出や血清反応による。アスペルギルス症は侵襲型のほか菌球型があり複雑である。近年これら4菌のほかに輸入真菌症であるコクシジオイデス症やヒストプラスマ症などの報告が散見されるようになり注意が必要である。真菌アレルギーによる肺疾患のうち気管支喘息ではアスペルギルス, カンジタなどが, アレルギー性気管支肺真菌症ではアスペルギルスが, 過敏性肺臓炎では放線菌類のほかクリプトコッカス, トリコスポロンなどが重要視される。

\* 関東中央病院

#### 輸入ナッツ類からの *Aspergillus flavus* の分離・同定とそのアフラトキシン生産性

長谷川明彦\*, 田中敏嗣\*, 青木伸實\*, 山本 進\*, 戸矢崎紀紘\*, 松田良夫\*, 宇田川俊一: マイコトキシン, 25, 21 (1987)

1981および1983年に輸入された市販ナッツ5種類11検体, ビーナッツ10検体から分離された *Aspergillus flavus* についてアフラトキシン(AF)生産性を検索し

た。ナッツにおける *A. flavus* の着生率は46.5%で, ビーナッツでの着生率49.6%と大差がなかった。ナッツ類の分離株44株中37株(84.1%), ビーナッツの分離株47株中43株(91.5%)がAF生産性を示した。ナッツ類のAF生産菌は大部分 *A. flavus* subsp. *flavus* と同定された。アーモンド, チックピー, ヘーゼルナッツ, マカデミアナッツ, ビスタチオナッツにAF生産菌による汚染が認められた。

\* 神戸市環境保健研究所

#### 輸入ピーナッツから分離した O-methylsterigmatocystin 生産性 *Aspergillus parasiticus* について

長谷川明彦\*, 田中敏嗣\*, 山本 進\*, 戸矢崎紀紘\*, 松田良夫\*, 宇田川俊一: マイコトキシン, 26, 37 (1987)

O-Methylsterigmatocystin (OMST) は *Aspergillus flavus* からアフラトキシン(AF)と同時に新規の代謝産物として報告され, その後数種のカビからその生産が記録されている。本報では1983年に輸入したピーナッツから分離した *A. parasiticus* の1菌株が培地上でAFを生産せずOMSTのみを生産することをTLC, HPLCなどにより確認した。本菌のOMST生産はピーナッツミール培地上で700 μg/g, 白米培地上で350 μg/g, YES培地で180 μg/gであった。*A. parasiticus* によるOMSTの生産はBhatnagarら(1987)の報告に次ぎ, 世界で二番目の記録である。

\* 神戸市環境保健研究所

#### Structures of Two Stereoisomers of a New Type of Indoloditerpene Related to the Tremorgenic Mycotoxin Paxilline, from *Emericella desertorum* and *Emericella striata*

Koohei NOZAWA\*, Shun-ichi UDAGAWA, Sho-ichi NAKAJIMA\* and Kenichi KAWAI\*: J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1157 (1987)

子囊菌類 *Emericella desertorum* の菌体ヘキサノエキソおよび *E. striata* の菌体アセトンエキソから, 痙れん性マイコトキシンの一種 paxilline 関連化合物として新規二次代謝産物 emindole DA, プリズム晶, mp 146~147°C,  $[\alpha]_D -30.7^\circ$ , emindole SA, 粉末状, mp 58~60°C,  $[\alpha]_D +32.0^\circ$  (分子式はともに  $C_{28}H_{39}NO$ ) を単離し, その化学構造を<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR スペクトル, X線解析などにより決定した。両者ともに proto 型の indoloditerpene であり,

paxilline の生合成に関連のある物質と思われる。

\* 星薬科大学

**Studies on Fungal Products. Part 10. Isolation and Structures of Novel Bicomarins, Desertorins A, B, and C, from *Emericella desertorum*** Koohei NOZAWA\*, Hideyuki SEYA\*, Shoichi NAKAJIMA\*, Shun-ichi UDAGAWA and Ken-ichi KAWAI\*: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1735 (1987)

子囊菌類 *Emericella desertorum* の二次代謝産物として、silvaticol, nidulol, ergosterol, paxilline, mannitol とともに3種類の新規 bicomarin 化合物を菌体クロロホルムエキスから単離し, desertorin A ( $C_{22}H_{18}O_8$ ), B ( $C_{23}H_{20}O_8$ ), C ( $C_{24}H_{22}O_8$ ) と命名した。それぞれの構造を  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR スペクトルなどによる化学的解析に基づき, 7,7'-dihydroxy-4,4'-dimethoxy-5,5'-dimethyl-6,8'-bicomarin, 5,5'-dimethyl-7-hydroxy-4,4',7',7'-trimethoxy-6,8'-bicomarin と確定した。Silvaticol, nidulol は *Aspergillus silvaticus* の代謝産物として知られ, 本菌からは始めて分離された。

\* 星薬科大学

**Studies on Fungal Products. XIV. Emestrin B, a New Epitritiodioxopiperazine, from *Emericella striata***

Koohei NOZAWA\*, Shun-ichi UDAGAWA, Shoichi NAKAJIMA\* and Ken-ichi KAWAI\*: *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 3460 (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, 菌体アセトン抽出物から shamixanthone とともに, 新規化合物として mp 230~238°C (分解), 無色粉末状の代謝産物が分離され, emestrin B と命名し, その化学構造を研究した。本物質は  $C_{27}H_{22}N_2O_{10}S_3$  からなり, 既報の抗真菌活性を有する環状 epitritiodioxopiperazine 化合物 emestrin に対応する epitritio 誘導体である。Emestrin B の構造をその絶対配位を含め,  $^1H$ -NMR,  $^{13}C$ -NMR スペクトルなどによる化学的解析に基づき決定した。Shamixanthone は emestrin 関連化合物で, *E. varicolor*, *E. rugulosa* など同じ *Emericella* 属菌類の数種から既に報告されている。

\* 星薬科大学

**Structure of Neovasinin, a New Metabolite Produced by the Fungus, *Neocosmospora vasinfecta* E.F. Smith, and Its Biological Activity to Lettuce Seedlings**

Hirimitsu NAKAJIMA\*, Kaoru NISHIMURA\*, Takashi HAMASAKI\*, Yasuo KIMURA\* and Shun-ichi UDAGAWA: *Agric. Biol. Chem.*, 51, 2831 (1987)

植物病原菌 *Neocosmospora vasinfecta* var. *africana* の代謝産物に関する研究の過程で, 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, 前報で neovasinone として報告したが, 今回はさらに新規物質として neovasinin と名付けた mp 204~206°C,  $C_{17}H_{24}O_5$ , 無色板状結晶が得られ, その構造を主として  $^1H$ - と  $^{13}C$ -NMR を用い, 2H, 5H-pyrano [4,3-b] pyran-2-one と解明した。Neovasinin は neovasinone と同様, レタス幼植物の根の伸長を 3 mg/l で促進, 100 mg/l でコントロールの 170%に達した。

\* 鳥取大学農学部

**A New Species of Heterothallic *Talaromyces*** Masaki TAKADA\* and Shun-ichi UDAGAWA: *Mycotaxon*, 31, 417 (1988)

1976年に岡山県倉敷市の農耕地土壌から分離された不整子囊菌類 *Talaromyces* の性現象を単孢子分離し検討したところ, ヘテロタリックであり, 新種と判明した。本菌は 37°C でよく生育し, コロニー裏面は深緑色または淡オレンジ色を呈し, 灰緑色の子嚢果, 楕円形, 有刺の子嚢胞子, 複または三輪生状のベニシリ, 円筒形または紡錘形の分生子を形成する特徴を有する。*Talaromyces* の既知種はいずれもホモタリックであり, 容易に区別することができる。本菌を *T. derxii* (アナモルフ *Penicillium derxii*) と命名・記載し, 形態を図示した。

\* 東洋醸造株式会社

**Materials for the Fungus Flora of Japan (42)** Tokio IWATSU\*<sup>1</sup>, Shun-ichi UDAGAWA and Noritsuna TOYAZAKI\*<sup>2</sup>: *Trans. mycol. Soc. Japan*, 28, 9 (1987)

室内環境の真菌について公衆衛生学的研究調査を実施中にハウスダストから日本で未記録の不完全菌類が多数分離された。本報告では以下の4種について記載し, 図示した。

*Phialophora parasitica*: 大阪府吹田市千里ヶ丘の

集合住宅で採集したハウスダストから分離。

*Lecytophora hoffmannii*: 東京都新宿区内のビルディング内ロビーのカーペットから採集したハウスダストから分離。

*Acremonium sclerotigenum*: 福岡県小倉市住宅で採集したハウスダストから分離。

*Sporothrix cyanescens*: 大阪府吹田市千里ヶ丘の集合住宅で採集したハウスダストから分離。

\*1 千葉大学生物活性研究所

\*2 神戸市環境保健研究所

### 医薬品中の真菌とマイコトキシン汚染およびその制御

宇田川俊一: マイコトキシン, 26, 23 (1987)

まず医薬品における微生物学的品質管理として医薬品の GMP 実施に伴う内用液剤および X 線造影剤の菌数限度基準を解説し, 次に生薬製剤およびその原料生薬におけるカビ汚染として真菌汚染の認められる生薬原料の例や生薬原料に多発するカビの種類と発生率を述べた。最後に植物性生薬におけるマイコトキシン汚染の危険, とくにアフラトキシン汚染の可能性について言及した。

### 中国の真菌・マイコトキシン研究

宇田川俊一: *New Food Industry*, 30, 1 (1988)

中国西安市で1987年8月25~29日に開催された第1回中日国際真菌学会議の内容を, とくにマイコトキシン研究に関する中国側の講演発表を中心に紹介した。

### 食品における真菌(カビ)汚染と危害

宇田川俊一: 食衛誌, 28, 219 (1987)

食品に発生するカビについて総説として以下のような話題を述べた。

食品汚染カビの生育条件と制御(水分活性, 温度, その他として酸素, pH, 乾燥, エタノール), 食品中のカビの検出と計測, 市販加工食品の真菌数, 食品別カビフローラと汚染原因菌(穀類とその加工品, 菓子類・甘味, 油脂類・種実類, 豆類および加工品, 魚介類と水産加工品, 獣鳥肉と加工品, 乳・乳製品, 野菜・果実類と加工品, 嗜好飲料類, 調味料・香辛料, 調理加工食品・冷凍食品), 食品中の日和見感染菌とその危害。

カビによる食品の苦情が最近激増している理由をあげ, 市販流通加工食品の真菌生菌数, 食品由来カビと主要加工食品との関係を表にまとめて示した。

### 真菌フローラ(5) 土壌真菌

宋田川俊一: 防菌防黴誌, 15, 261 (1987)

生物劣化の研究上重要な土壌真菌として, 接合菌類の *Absidia*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum*, *Thamnidium*, 子囊菌類中の不整子囊菌類 Onygenales, Eurotiales に属する代表的な菌属, 核菌類 Microascales, Sordariales に属する代表的な菌属, 盤菌類に属する代表的な菌属および不完全菌類に属する *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gliocladium*, *Humicola*, [*Myrothecium*, *Oidiodendron*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phialophora*, *Scolecobasidium*, *Scopulariopsis*, *Sporothrix*, *Stachybotryis*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Verticillium* などの諸属の形態, 食品, 工業資材の劣化, ヒトおよび家畜の真菌症, マイコトキシンを解説した。

### トキシコキネティクス

高橋 惇: トキシコロジーフォーラム, 10, 235, (1987)

IPCS の "Principles of Toxicokinetic Studies" を中心に, 最近のトキシコキネティクスに関する著書および総説に示されている内容を紹介した。トキシコキネティクスの研究領域, 母化合物・代謝物・生体高分子との結合体生成に関する速度論モデル, 生理学的ファーマコキネティクスモデル, ヒトにおける化合物質への曝露を評価するためのトキシコキネティクスの方法論, トキシコキネティクス試験の評価などについて概説した。

### Urinalysis for Detection of Chemically Induced Renal Damage (1) Changes in Urinary Excretions of Enzymes and Various Components Caused by Mercuric Chloride and Gentamicin

Hisayuki OHATA\*, Kazutaka MOMOSE\*, Atsushi TAKAHASHI and Yoshihito OMORI: *J. Toxicol. Sci.*, 12, 341 (1987)

化学物質による腎近位尿管障害を早期に, 高感度で検索する方法を開発するため, 塩化第二水銀, ゲンタマイシンの数用量を投与したラットの尿中諸酵素活性, 尿管細胞数などを経時的に測定した。これらのパラメーターの変化は BUN 値の変化よりはるかに早い時期に見られ, また, 両化学物質によるパラメーターの変動パターンが異なることを認めた。数種の尿中

パラメーターを組合せて経時的に測定することにより、近位尿細管障害の強度と障害部位が推定可能であることを示した。

\* 昭和大学薬学部

#### Urinalysis for Detection of Chemically Induced Renal Damage (2) Changes in Urinary Excretions of Enzymes and Various Components Caused by *p*-Aminophenol, Puromycin Aminonucleoside and Hexadimethrine

Hisayuki OHATA\*, Kazutaka MOMOSE\*, Atsushi TAKAHASHI and Yoshihito OMORI: *J. Toxicol. Sci.*, **12**, 357 (1987)

化学物質による腎障害の障害部位とその強度を鋭敏に検索する方法を確立させる目的で、腎障害部位の異なる *p*-アミノフェノール、ピュロマイシン アミノスクレオソドおよびヘキサジメトリンの用量を投与したラットの尿中諸酵素活性、蛋白、尿細管細胞数などを経時的に測定した。これらのパラメーターを測定することによって、腎糸球体、近位および遠位尿管の障害を識別することが可能であることを示唆した。

\* 昭和大学薬学部

#### Effects of Benzimidazoles on Mouse and Rat Limb Bud Cells in Culture

Toshie TSUCHIYA, Takuzo HISANO\*, Akira TANAKA and Atsushi TAKAHASHI: *Toxicol. Lett.*, **38**, 97 (1987)

催奇形性の *in vitro* 試験法である mouse limb bud cell differentiation assay を用いて構造活性相関を検討した。Benzothiazoles および benzoxazoles は、分化阻害を示さなかったが、benzimidazoles は阻害活性を示し、その置換基効果より、imidazole 環の NH proton が活性発現に重要であり、さらにその acidity と阻害活性の強度が相関することが示唆された。また、thiabendazole (TBZ) による催奇形性発現における種差の原因を明らかにするために、TBZ およびその代謝物による分化阻害度を mouse (sensitive) および rat (resistant) の limb bud cell を用いて比較した。その結果、細胞での感受性の差が種差の主な原因となることが示唆された。

\* 熊本大学薬学部

#### Effect of Chaetochromin A, Chaetochromin D and Ustilaginoidin A, Bis (naphtho-r-pyrone) Derivatives, on the Mouse Embryo Limb Bud

#### and Mid Brain Cells in Culture

Toshie TSUCHIYA, Setsuko SEKITA, Kiyotaka KOYAMA\*, Sinsaku NATORI\* and Atsushi TAKAHASHI: *Cong. Anom.*, **27**, 245 (1987)

妊娠10日のマウス胎子を用いて、midbrain および limb bud の細胞を調製し、分化培養系を確立した。

新しく分離されたマイコトキシンである chaetochromin 類緑体について試験した結果、chaetochromin A および D が非常に強い催奇形性物質であることが確認され、ustilaginoidin A よりも数分の一の濃度で50%分化阻害を示した。

マウスの胚細胞を用いた本法は、催奇形性の *in vitro* 試験として非常に有力と考えられる。

\* 明治薬科大学

#### Effects of 3-*tert*-Butyl-4-hydroxy anisole and Its Hydroquinone and Quinone Metabolites on Rat and Human Embryonic Cells in Culture

Toshie TSUCHIYA, Akiko ISHIDA, Naoki MIYATA, Atsushi TAKAHASHI and Shozo KAMIYA: *Toxic. in vitro*, (1988) in press

3-*tert*-Butyl-4-hydroxyanisole (BHA) の催奇形性に関する安全性を検討するために、BHA および関連代謝物について embryonic cells を用いた *in vitro* での試験を行った。Midbrain および limb bud cell differentiation assay を行った結果、BHA に比べて代謝物(脱メチル体、水酸化体およびキノン体)の方が、neuronal cell foci や chondrocyte foci の生成をより低濃度で阻害することが判明した。BHA の代謝的活性化について、HEPM cell growth assay を用いて検討した。その結果、BHA は3種の動物の肝 S9 mix によりいずれも代謝的に活性化されたが、種差を認め、ラット S9 で最も活性化された。BHA をラットに1000 mg/kg 投与した宿主経路試験では、対照群との間で foci の生成に差異を認めず、embryo に傷害を与えないことが判明した。

#### Comparative Studies on Absorption, Distribution, and Excretion of Flame Retardants Halogenated Alkyl Phosphate in Rats

Ken-ichiro MINEGISHI, [Hideo KUREBAYASHI, Seiichi NAMBARA, Kazushige MORIMOTO, Terue TAKAHASHI and Tsutomu YAMAHA: 衛生化学, **34**, 102 (1988)

難燃剤トリス (2,3-ジブロモプロピル) ホスフェイ

トリス (2,3-ジプロポピル) ホスフェイト, トリス (1,3-ジクロプロピル) ホスフェイト, トリス (1-クロロ-2-プロピル) ホスフェイトおよびトリス (2-クロロエチル) ホスフェイトのラットにおける吸収, 分布, 排泄について比較検討した。

**DNA Damage in Urinary Bladder Epithelium of Male F344 Rats Treated with 2-Phenyl-1,4-benzoquinone, One of the Non-conjugated Urinary Metabolites of Sodium o-Phenylphenate**  
Kazushige MORIMOTO, Masamichi FUKUOKA, Ryohei HASEGAWA, Akira TANAKA, Atsushi TAKAHASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 78, 1027 (1987)

o-Phenylphenol (OPP) およびその尿中フリー代謝物を雄性 F344 ラット膀胱に直接注入し上皮細胞 DNA の損傷をアルカリ溶出法にて調べた。2-Phenyl-1,4-benzoquinone (PBQ) は 0.05~0.1% の濃度で DNA 損傷を認めたが, OPP や 2,5-dihydroxybiphenyl では同濃度でも損傷を認めなかった。0.05%~0.10% PBQ 処理後5日目のラット膀胱には単純性過形成も認められた。

**Specificity of O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase**

A. E. PEGG\*, D. SCICCHITANO\*, Kazushige MORIMOTO and M. E. DOLAN\*: *IARC Sci. Publ.*, 84, 30 (1987)

哺乳動物の O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase (AAT) は大腸菌の AAT とは異なり O<sup>4</sup>-methyl T からのメチル基を除去する能力を欠如していた。また RNA 中の O<sup>6</sup>-methyl G は AAT の基質としては二本鎖 DNA の O<sup>6</sup>-methyl G よりかなり弱い反応性を示した。一方, O<sup>6</sup>-methyl G を含有する相補的オリゴヌクレオチドは AAT の良好な基質となった。本基質を <sup>32</sup>P で標識することを通じて AAT の高感度分析法への応用についても検討した。

\* 米国ペンシルベニア州立大学ハーシーメディカルセンター癌研究所

**Isolation and Identification of Metabolites of 2-Ethylhexyl Diphenyl Phosphate in Rats**

Tomoko NISHIMAKI-MOGAMI, Ken-ichiro MINEGISHI, Akira TANAKA and Michio SATO: *Arch. Toxicol.*, 61, 259 (1988)

防炎性の可塑剤である 2-エチルヘキシルジフェニ

ルホスフェート (EHDPP) のラットでの体内動態を検討した。経口投与した <sup>14</sup>C-EHDPP は速やかに吸収され, 24時間以内には80%が尿および糞へ排泄された。7日間では, 48%が尿に, 52%が糞に回収された。胆汁排泄は2日で6%と低く, 主排泄経路は尿と推定された。放射能は投与後2時間をピークに各臓器に広く分布し, 特に血液, 肝, 腎, 脂肪組織に高かった。脂肪組織, 肝からの消失はやや遅れたが, 7日間ほとんどすべて消失した。アンバーライト XAD-2 カラムで尿中の放射能の90%を回収し, メチル化後, ラジオ GC および FPD-GC で分析した。非標識 EHDPP 投与尿も同様に処理し, GC-MS で合成標品との比較により尿中代謝物としてジフェニルホスフェートおよびその *o*-水酸化体, モノフェニルホスフェート, フェノールを同定した。EHDPP は脂溶性が高いが, 速やかに極性物質へと代謝され, 尿へ排泄されるものと考えられる。

**Involvement of the Fatty Acid Oxidation Complex in Acetyl-CoA-Dependent Chain Elongation of Fatty Acids in *Escherichia coli***

Tomoko NISHIMAKI-MOGAMI, Hiroshi YAMANAKA\*<sup>1</sup> and Michinao MIZUGAKI\*<sup>2</sup>: *J. Biochem.*, 102, 427 (1987)

大腸菌のアセチル-CoA 依存性脂肪酸炭素鎖伸長系への  $\beta$ -酸化酵素の関与について検討した。炭素鎖伸長活性は  $\beta$ -酸化活性と同様の炭素源による影響をうけた。大腸菌では,  $\beta$ -酸化の5酵素が分子量26万の蛋白 (fatty acid oxidation complex=FAO complex) 上に存在している。FAO complex に対する抗体を作成して免疫滴定を行うと, 炭素鎖伸長活性は complex 上の  $\beta$ -酸化酵素活性と同様に阻害された。さらに, 部分反応の免疫滴定により, 縮合, 3-ケト還元の間段階が FAO complex により触媒されることが判明した。先に著者らは, 大腸菌よりエノイル還元酵素を単離精製しており, したがって, この脂肪酸炭素鎖伸長反応は, エノイル還元段階を除き  $\beta$ -酸化の逆反応であると考えられる。

\*<sup>1</sup> 東北大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東北大学医学部付属病院

**Effects of Rose Bengal on Serum Levels of Thyroid Hormones and Thyroid Peroxidase Activity in Male Mice**

Hideo KUREBAYASHI, Masamichi FUKUOKA, Tomoko NISHIMAKI-MOGAMI, Ken-ichiro MI-



NEGISHI and Akira TANAKA: *J. Toxicol. Sci.*, 13, 61 (1988)

食用赤色105号(ローズベンガル, RB)を, 0% (対照), 0.125%, 0.25% 含む飲料水に溶かし, 雄性 B6C3F<sub>1</sub> マウス(8週齢)に25~30匹を一群として2週間投与し, その血清中の甲状腺ホルモン(T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, rT<sub>3</sub>), 甲状腺刺激ホルモン(TSH)および甲状腺ペルオキシダーゼ(TPO)活性などへの影響を調べた。RB投与群のT<sub>4</sub>およびT<sub>3</sub>の各濃度は対照と比較して有意に低下し, T<sub>4</sub>よりT<sub>3</sub>の減少および, rT<sub>3</sub>の相対的増加がみられた。甲状腺重量もやや増加の傾向が認められたが, rT<sub>3</sub>, TSHの各濃度, 体重増加およびTPO活性と同様, 有意差は認められなかった。また *in vitro* の系で, TPOのグアヤコール酸化活性は, RBの添加による阻害がみられた。以上の結果より, 1) ヨウ素過剰, 2) 末梢細胞における5'-deiodinaseの阻害, 3) TPO活性の阻害などが推定された。

#### 薬理作用とステム—医薬品一般名の仕組み—

竹中祐典: 薬学図書館, 32, 147 (1987)

医薬品の国際一般名(INN)は, その命名にあたりいくつかの規則を設けているが, そのうち最も重要なものとして薬理作用と化学構造の類似または差異に基づき特定の「ステム」を名称のうちに付与する規則を, 実例を示し, また最近の動向を加えて解説した。

#### 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)

米国環境保護庁(EPA)と環境変異原情報センター(EMIC)が共同で行っているGENE-TOX Programの概要と, 変異原性に関する24の試験法について, 文献数, 被験物質数, 文献の所在などについて整理した結果を紹介した。

#### 薬剤の骨髄毒性に関する基礎的研究—骨髄検査の毒性試験への応用—

松本清司, 白井俊一\*: 順天堂医学, 33, 74 (1987)

種々の薬剤の骨髄毒性をラットで検索する手段を開発するために基礎的実験を行った。その結果, ラットの骨髄細胞を指標とした場合の成熟時間は9週齢であること, また同一のラットから繰り返し採血を行う場合は全血液量の0.3%以下であれば4日間採血しても変化がないことがわかった。続いて, 5種類の薬物をそれぞれ4日間連続投与し, 末梢血および骨髄を調べ

たところ, 末梢血または骨髄にのみ影響を及ぼすもの, あるいは両者に影響するものの3つのグループに分けることができた。これらの結果と骨髄の関連を考察した。

\* 順天堂大学医学部

#### Relationship between the Duration of Treatment and the Incidence of Renal Cell Tumors in Male F344 Rats Administered Potassium Bromate

Yuji KUROKAWA, Yuko MATSUSHIMA, Naoko TAKAMURA, Takayoshi IMAZAWA and Yuzo HAYASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 78, 358 (1987)

雄F344ラット232頭に臭素酸カリウム(臭力)を飲水中濃度500ppmで投与し, その腎発癌性に関する最小投与期間と最小投与量を求めるための実験を行った。その結果, 腎腺腫発生に要する臭力の最小投与期間は26週間であった。さらに臭力13週間投与後(総投与量4g/kg)水のみで2年間飼育した場合にも50%の動物に腎腫瘍の発生をみた。

#### Oral Administration of the Renal Carcinogen, Potassium Bromate, Specifically Produce 8-Hydroxydeoxyguanosine in Rat Organ DNA

Hiroshi KASAI\*, Susumu NISHIMURA\*, Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI: *Carcinogenesis*, 8, 1959 (1987)

8-ハイドロキシデオキシグアニジン(8-OH-dG)は, 活性酸素種によるDNA傷害を示すマーカーとして近年注目をあびている。酸化剤である臭素酸カリウムをラットに1回経口投与した後に標的発癌臓器である腎での8-OH-dGの有意の上昇が観察された。一方, 非標的臓器である肝の上昇はなかった。酸化剤であり, 非癌性物質の次亜塩素酸ナトリウムおよび亜塩素酸ナトリウムでの腎での8-OH-dGの上昇も見られなかった。これらの事実は, 8-OH-dGの上昇と活性酸素によるDNA傷害, さらにその標的臓器とも関連性があることを強く示唆するものであると考えられる。

\* 国立がんセンター

#### Comparative Studies on Lipid Peroxidation in the Kidney of Rats, Mice and Hamsters and on the Effect of Cysteine, Glutathione and Diethyl Maleate Treatment on Mortality and

### Nephrotoxicity after Administration of Potassium Bromate

Yuji KUROKAWA, Naoko TAKAMURA, Chiaki MATSUOKA, Takayoshi IMAZAWA, Yuko MATSUSHIMA, Hiroshi ONODERA and Yuzo HAYASHI: *J. Amer. Coll. Toxicol.*, 6, 489 (1987)

腎発癌性である臭素酸カリウム(臭力)による過酸化脂質(LPO)の誘導に関する種差、性差をTBA法を用いて検討した。ラットでは、臭力静注後に用量相関を伴って経時的な有意の上昇がみられた。一方、マウス、ハムスターでのLPOの有意の上昇は見られなかった。ラットにおける腎毒性、生存率に対して、システイン、グルタチオンは防御的に作用し、ゼチルマレートは悪化させた。これらのことから、臭力の毒性、発癌性に活性酸素種が関与していることが強く示唆された。

### National Toxicology Program (NTP) National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) の歴史と現況

黒川雄二：トキシコロジーフォーラム, 11, 94(1988)  
表題のごとく、NTPとNIEHSについてその成立の歴史的経過と現在の研究業務体制について概略を述べた。

### Comparative Studies on Nephrotoxic Effects of Tris (2,3-Dibromopropyl) Phosphate and Bis (2,3-Dibromopropyl) Phosphate on Rat Urinary Metabolites

Masamichi FUKUOKA, Terue TAKAHASHI, Katsushi NAITO and Koichi TAKADA: *J. Appl. Tox.*, 8, 43 (1988)

Tris-BPおよびBis-BP誘発腎毒性の比較を排泄尿中の異常パターンによって行った。尿酸は2日目にTris-BPよりもBis-BPの方が高いレベルで排泄された。2日目尿におけるLAPの活性はTris-BPからBis-BPへの変換を示唆していた。LDHのアイソザイムの尿中パターンは両者間で異なっていた。ナトリウムイオンの尿中排泄においてBis-BPはTris-BPと異なって異常であった。病理組織学的に腎尿細管の壊死などがみられた。

### Distribution, Excretion and Lymphatic Absorption of Benzo (a) pyrene Administered Orally in Oil Solution and Aqueous Suspension Forms

Yoko KAWAMURA, Takashi UMEMURA, Masa-

mi WAKANA, Toyozo KANEKO, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 29, 26 (1988)

ベンゾ(a)ピレン(BP)の大豆油溶液および水懸濁液をラットに経口投与し、2種類の担体がBPの分布、排泄およびリンパ管吸収に及ぼす影響について検討した。BPは肝臓および腎臓に高濃度で存在したが、水懸濁液ではその局在化がより著しかった。吸収されたBPの主排泄経路は油溶液では胆管から糞中であったが、水懸濁液では尿中へ移行する割合が高かった。このように、BP投与時に共存する油および水の影響は、消化管吸収時のみではなく分布や排泄にまで及ぶことが明らかとなった。

一方リンパ管からの吸収量は、油溶液で0.20%、水懸濁液で0.22%とほぼ等しく、BPの腸管吸収におけるリンパ系の寄与は小さく、担体による差もみられなかった。

### The Effect of Various Foods on the Intestinal Absorption of Benzo (a) pyrene in Rats

Yoko KAWASAKI, Eiichi KAMATA, Yukio OGAWA, Toyozo KANEKO, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 29, 21 (1988)

ラット腸管におけるベンゾ(a)ピレン(BP)の吸収に及ぼす共存する種々の食品の影響について検討した。

<sup>14</sup>C-BPを12種類の食品および食品成分とともにラットに経口投与し、血中の放射活性を測定したところ、トリオレインや大豆油はBPの吸収を促進し、その吸収率は50.5%および39.4%であった。一方、セルロース、リグニン、パン、米がゆフレーク、デンプン、ポテトフレーク、ハウレンソウ、かつおぶし、オパールミンなど固形の食品および水懸濁液では吸収が抑制され、吸収率は20.1%から29.5%であった。固形の食品においては、*in vitro*におけるBPの遊離量と吸収率に相関がみられた。固形食品とBPの結合は、BPの腸管吸収における重要な抑制因子であった。

### 医科大学における実験動物教育の現状と問題点—SPF動物施設の利用者教育

堀内茂友：ラボラトリーアニマル, 4, 19 (1987)

SPF動物施設がバリア施設と同一概念のもと我が国に導入され、そのバリア施設が非常に普及してその運用上の諸問題を述べた。特に各種化学物質の安全性確保に関連する試験研究機関のバリア施設の利用者の

構成と試験項目との関連で、例示として国立衛生試験所の安全性生物試験研究センターの運営・利用基準(動物実験施設の使用遵守要項)を紹介した。その後、特に最近きびしくなった各種の実験動物規範 (GLP) の医薬品の安全性試験の実施に関する基準を取り上げ、GLP 適用施設の教育、研修プログラムなどについて述べた。

#### Muscarinic Stimulation of Catecholamine Release from PC12 Cell is Mediated by a Pertussis Toxin Sensitive Mechanisms

Kazuhide INOUE, J. G. KENIMER\*: *Fed. Proc.*, 46, 338 (1987)

PC12 ではムスカリン性刺激に応じてイノシトール代謝回転亢進と、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇ならびにカテコールアミンの放出が生じる。この放出は外液の  $Ca^{2+}$  を必要とし、ムスカリン性拮抗薬アトロピン (10 nM) で阻害される。ホスフォリパーゼ C 阻害薬ネオマイシン (1 mM) は、この放出を 30% 程度抑制した。一方、protein kinase C の活性化剤 1,2-DG は 50  $\mu$ g/ml の高濃度で放出を増強した。また、百日咳毒素 (1  $\mu$ g/ml) で 21 時間インキュベーションすることにより、カテコールアミンの放出は抑制された。以上の成績から、ムスカリン性刺激によるカテコールアミンの放出は、Ni あるいは他の GTP 結合蛋白が介在する PI 代謝回転の系が一部抑制していることが示唆された。

\* Food and Drug Administration, U. S. A.

#### Contractile Response and Electrophysiological Properties in Enzymatically Dispersed Smooth Muscle Cells of Rat Vas Deferens

Ken NAKAZAWA, Norio MATSUKI\*, Koki SHIGENOBU\*, and Yutaka KASUYA\*: *Pflügers Arch.*, 408, 112 (1987)

ラット精管単離平滑筋細胞の調製法を開発し、調製した細胞の電気生理学的性質を検討した。組織を Ca-free 修正 Tyrode 液中でインキュベートした後、高カルウム液で処置し、コラゲナーゼおよびエラストラーゼを用いて細胞を単離した。得られた細胞はノルエピネフリン用量依存的に収縮し、その反応性は精囊側より牽丸側の細胞の方が高かった。細胞にパッチ・クランプ法を whole-cell recording の要領で適用した場合、約 -40 mV の静止膜電位を示し、脱分極通電で活動電位を発生した。膜電位固定下、脱分極パルスを加えると、一過性の Ca 電流、持続性の K 電流が観察さ

れた。以上のことから、この単離細胞は正常な機能を維持しており、平滑筋の電気生理学的研究に有用であると判断された。

\* 東京大学薬学部

#### Adenosine Triphosphate-activated Inward Current in Isolated Smooth Muscle Cells from Rat Vas Deferens

Ken NAKAZAWA and Norio MATSUKI\*: *Pflügers Arch.*, 409, 644 (1987)

ラット単離平滑筋細胞を用いてアデノシン三リン酸 (ATP) の作用を電気生理学的に検討した。電流固定下、ATP は膜抵抗減少を伴う脱分極を惹起した。膜電位固定下では内向き電流が記録された。この内向き流は一過性であり直ちに不活性化された。ニカルジピン、Cs を用いた実験より、この内向き流は電位依存性に活性化される Ca, K 電流とは異なると判断された。細胞密着型パッチ・クランプでは ATP の電極内灌流により約 20 pS のコンダクタンスを持つ単一イオン・チャンネル電流が観察された。ATP により活性化される巨視的電流、単一チャンネル電流の逆転電位は共に約 0 mV であった。これらの結果は、ATP が平滑筋において、その神経伝達物質様作用を、イオン・チャンネルを活性化することにより発現することを示唆している。

\* 東京大学薬学部

#### Involvement of Calcium in Calcium-current Inactivation in Smooth Muscle Cells from Rat Vas Deferens

Ken NAKAZAWA, Hiroshi SAITO\* and Norio MATSUKI\*: *J. Membrane Biol.*, 100, 13 (1987)

ラット精管平滑筋細胞の電位依存性 Ca 電流の不活性化機構を検討した。外液 Ca を Ba または Sr で置換した場合、内向き流の不活性化は遅延した。この遅延は、定常状態での活性化・不活性化曲線より表面電荷の差によるものではないと判断された。外液 Ca 濃度の上昇により Ca 電流の不活性化はやや促進した。外液 Ba 濃度を 10.8 mM とし、Ca を添加すると内向き流の不活性化速度は Ca 濃度に依存して増大した。細胞内を高濃度のクエン酸で灌流した場合、不活性化は遅延した。以上のことから、平滑筋細胞の Ca 電流の生活活性化に電位依存性の機構に加え Ca 依存性の機構が関与すると結論された。この Ca 依存性の不活性化は Ca-overload に対する細胞の防御機構であると

考えられる。

\* 東京大学薬学部

### Characteristics of Ca-channel Current in Isolated Smooth Muscle Cells from Rat Vas Deferens

Norio MATSUKI\*, Ken NAKAZAWA and Hiroshi SAITO\*: *Jpn. J. Smooth Muscle Res.*, 23, 411 (1987)

ラット精管より単離した平滑筋細胞のカルシウム電流の性質を調べた。

① カルシウム電流の早い成分と遅い成分：カルシウム・チャンネルの移動電荷としてバリウムを用いた。バリウム電流は不活性化過程により早い成分と遅い成分に分離することが可能であった。この2成分は活性化電位・不活性化電位において差がなかった。ニコルジピンは遅い成分を選択的に抑制した。これらの結果は、2種類のカルシウム・チャンネルを仮定するより、むしろ1種類のチャンネルの動態で説明する方が妥当であると考えられる。

② カルシウム依存性不活性化機構：バリウム電流は外液にカルシウムを添加することにより不活性化が促進した。また、不活性化は細胞内クエン酸により遅延した。これらのことは不活性化に細胞内カルシウムが関与することを示唆している。

\* 東京大学薬学部

### Are $\alpha$ -Adrenoceptors Involved in Positive Inotropic Effects of Phenylephrine in Chick Ventricles?

Ken NAKAZAWA, Yutaka KASUYA\* and Koki SHIGENOBU\*: *Japan. J. Pharmacol.*, 45, 89 (1987)

フェニレフリンの陽性変力作用が $\alpha$ -受容体を介するものであるか否かをヒヨコ心室筋を用いて調べた。ヒヨコの発育に伴うフェニレフリンに対する感受性の変化は、イソプロテレンールのそれとはほぼ一致した。フェニレフリンの陽性変力作用はフェントラミン、ソタロールで拮抗されたが、ブラソシン、ヨヒンビンでは影響されなかった。フェニレフリンは脱分極筋におけるカルシウム活動電位の立ち上がり速度を促進し、この促進はソタロールで抑制されフェントラミンで影響されなかった。以上のことから、フェニレフリンの陽性変力作用の一部は $\beta$ -受容体を介する細胞外カルシウム流入の増大によるものであることが示唆された。他のメカニズムの関与も考えられるが、それは $\alpha$ -作

用に分類しうるものではないといえる。

\* 東京大学薬学部

### Mechanism of Muscarinic Receptorstimulated Norepinephrine Release

Kazuhide INOUE and Jamaes G. KENIMER\*: *Japan. J. Pharmacol.*, 46, 254P (1988)

ある種の細胞ではムスカリン性アセチルコリン受容体刺激によりカテコールアミンを放出するが、その機序についてはいまだ不明確である。我々はラット褐色細胞腫 PC12 を用いて、ムスカリン性受容体アゴニスト、メタコリンが用量依存的に放射性カルシウムの流入と放射性ノルエピネフリン (NE) の放出を惹起することを明らかにした。ナトリウム不含溶液での実験および電位依存性カルシウムチャンネルのブロッカーを用いた実験から、このメタコリンによる反応には、ニコチン誘発 NE 放出に関連した電位依存性カルシウムチャンネルとは明らかに異なる受容体制御カルシウムチャンネルが関与していることが示唆された。さらに、メタコリンによるカルシウム流入と NE 抽出は百日咳毒素 (PTX, 0.5~2.0 ng/ml, 21時間) より抑制され、その容量依存性は41,000ダルトン蛋白の ADP リボシル化反応の容量依存性に一致した。本研究は、ムスカリン性アセチルコリン受容体刺激が受容体制御カルシウムチャンネルを開くことにより神経伝達物質を放出すること、そしてこのカルシウムチャンネルは PTX 感受性 GTP 結合蛋白により制御されていることを示した最初の報告である。

\* Food and Drug Administration, U. S. A.

### Characterization of Mixed-function Oxidases and Purified Cytochrome P-450 of Livers of House Musk Shrew, *Suncus Murinus*

Keinosuke MIZOKAMI, Morio FUKUHARA\*, Takehiko NOHMI, Momoko SUNOUCHI, Kannosuke FUJIMORI, Akira TANAKA and Yoshihito OMORI: *Drug Metab. Dispos.*, 16, 151 (1988)

ジャコウネズミ科スunksムリナスの肝臓における薬物代謝酵素系の特性について調べた。スunks肝のチトクローム P-450 と薬物代謝酵素活性のレベルはラット肝に比べ低かったが、チトクローム  $b_5$  と NADPH-チトクローム c 還元酵素活性はラットと同等のレベルであった。スunksのチトクローム P-450 と薬物代謝酵素活性のレベルは、フェノバルビタールとメチルコラントレン処置によって誘導された。

メチルコラントレン処置したスunksの肝より、光学的性質および触媒作用の異なる2種のチトクローム P-450 分子種を分離・精製した。これらは、高スピン型と低スピン型で、一酸化炭素と還元型との結合差スペクトルの吸収極大を 448.0 nm と 448.5 nm に示すみかけの分子量が 53,500 と 55,000 の蛋白であった。また得られたチトクローム P-450 分子種をメチルコラントレン処置したラット肝の主要チトクローム P-450 分子種と比較検討した。

\* 国立公衆衛生院

#### Effect of L-tryptophan Excess and Vitamin B<sub>6</sub> Deficiency on Rat Urinary Bladder Cancer Promotion

Diane F. BIRT\*, Alan D JULIUS, Ryohei HASEGAWA, Margaret St. JOHN\*, and Samuel M. COHEN\*: *Cancer Res.*, 47, 1244 (1987)

ラットを用いた N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide (FANFT) 膀胱発癌モデルによりトリプトファン過剰とビタミン B<sub>6</sub> 欠乏の影響を検討した。0.2% FANFT 食を4週間投与した後、1群:基礎食、2群:2%トリプトファン混餌食、3群:ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏食 (1.0 mg/kg 飼料)、4群:トリプトファン過剰+ビタミン B<sub>6</sub> 欠乏食を投与し、実験期間80週で全生存動物を屠殺剖検した。その結果、膀胱腫瘍の発生率は第1群で最も高く40%であった。第3群では13%、第2群と4群では28~29%であった。尿中のトリプトファン代謝物は、すべての処置群で変動がみられたが、腫瘍発生とは相関関係がみられなかった。また、尿中オルニチン脱炭酸酵素にも変動はみられなかった。今回の実験結果は、従来からいわれているトリプトファン代謝物は膀胱腫瘍の発生を促進するという仮説を支持するものではなく、その他の食事性要因が関与している可能性を示唆している。

\* The Eppley Institute for Research in Cancer, University of Nebraska, U. S. A.

#### Evaluation of Epidermal Cell Kinetics Following Freezing or Wounding of Mouse Skin and Their Potential as Initiators of Carcinogenesis

Ryohei HASEGAWA, Margaret St. JOHN\*, T. Scott TIBBELS\*, and Samuel M. COHEN\*: *J. Invest. Dermatol.*, 88, 652 (1987)

凍結潰瘍という機械的組織損傷が発癌に深く関与していることをラット膀胱発癌モデルを用いて示してき

た。今回は、マウス皮膚発癌において凍結による損傷が同じような作用を有するかを検索した。7週齢雌の SENCAR マウスを用い、イニシエーション処置としてドライアイスを入れたアセトン中で冷却した金属棒をマウス背部皮膚に当てて凍結損傷を作成した群、深い切創を作成した群、DMBA 塗布群、アセトン塗布群を設け、プロモーションとして TPA を週2回52週間塗布した。その結果、陽性対照群である DMBA 群では多数の皮膚腫瘍が発生したが、いずれの損傷群でも腫瘍発生はみられず、そのイニシエーション作用は認められなかった。以上、凍結潰瘍による発癌イニシエーション作用はラット膀胱にある程度特異的な現象であることが示唆された。

\* The Eppley Institute for Research in Cancer, University of Nebraska, U. S. A.

#### Enhancing Effect of Cysteamine Hydrochloride on the Development of Gastroduodenal Tumors Induced by N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in F344 Rats

Ja June JANG\*, Fumio FURUKAWA, Ryohei HASEGAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO, Yuzo HAYASHI, and Michihito TAKAHASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 78, 571 (1987)

システアミンをラットに投与すると十二指腸に潰瘍が発生するが、このようにして発生した十二指腸潰瘍の存在が実験胃癌発生においてどのように作用するのかを検討した。実験は7~8週齢の雌雄 F344 ラット (各群25匹) を用い、100 mg/l の MNNG を給水瓶にて16週間自由に摂取させた。システアミンの投与は MNNG 投与開始前2週間 (1群)、4日間 (2群)、投与期間中4回 (3群)、投与終了後4日 (4群) とした。そのほか MNNG のみの群 (5群)、システアミンの1回投与のみの群 (6群) を設けた。その結果、1群の雄で十二指腸の腺癌の発生率が20%と上昇した (対照群では4%)。また3群では雌雄とも、胃幽門腺領域での腺癌の発生率が上昇していた。以上の結果より粘膜障害およびその修復が MNNG によるラット実験胃癌の生成に促進的に働くことが示された。

\* Korea Cancer Center Hospital, Seoul, Korea

#### Mammary and Renal Tumor Induction by Low Doses of Adriamycin in Sprague-Dawley Rats

Ja June JANG\*, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO, Yoshifumi MIYAKAWA and Zuzo HAYASHI:

*Carcinogenesis*, 8, 1149 (1987)

アドリアマイシンの発癌性を50日齢の雌雄のSD系ラットを用い検討した。アドリアマイシンの10 mg/kg 1回, 2 mg/kg 1回, または2 mg/kg×5回(2週間以内)を静脈内に投与し52週間飼育後, 屠殺剖検し病理組織学的に検索した。

アドリアマイシン投与群の雌では多発性の乳腺腫瘍(大部分が線維腺腫)の発生が多くみられ, 2 mg/kg 1回群で30%, 5回群で41%であった。一方, 対照群では8%であった。また, アドリアマイシン投与群では5例の腎細胞性腫瘍が認められたほか, 腎尿管上皮の異細胞巣がみられたが, 対照群ではそのような病巣を認めなかった。

アドリアマイシンのラットへの低用量投与によって, 乳腺および腎での腫瘍発生が示唆され, アドリアマイシンによって治療された患者の発癌性リスクを評価するためにはさらなる検討が必要である。

\* Korea Cancer Center Hospital, Seoul, Korea

## 発癌性試験の評価

林 裕造, 長谷川良平: 医薬品研究, 18, 495(1987)  
昭和59年厚生省薬務局長通知によって公示された医薬品を対象とする発癌性(癌原性)試験ガイドラインに準じて実施された試験の結果を医薬品開発の観点からどのように評価したらよいかについて具体的に述べた。以下にその項目を記す。

1. 評価の段階
2. 技術面の評価
  - 1) 試験動物の選択と飼育条件
  - 2) 被験動物
  - 3) 投与経路
  - 4) 投与量は設定(1)
  - 5) 投与量の設定(2)
  - 6) 投与期間
  - 7) 解剖と組織標本の作製
3. 評価に影響を与える病理学的検査の問題点
4. 発癌性試験結果の評価基準
  - 1) WHOの評価基準
  - 2) 具体的な評価基準
  - 3) 腫瘍の発生を修飾する要因
5. 医薬品開発の立場からみた発癌性試験の評価
  - 1) 最初の判断
  - 2) 作用機序による分類
  - 3) 最終評価の一般基準

## 発癌物質のヒトに対する危険度の総合評価

林 裕造, 高橋道人: 代謝, 臨時増刊号「癌'87」,

## 24, 3 (1987)

I. ヒトに対する発癌物質の危険度を評価するには対象となる発癌物質の種類および評価の直接的な目的によってその内容は異なる。

## 1) 回顧評価と予知評価

回顧評価は職業癌など疫学データを中心にして癌の発生を回顧的に調べることを目的としている。予知評価は生活環境中から実験的手法により発癌物質を発見し, ヒトに対してどの程度の危険度をもつか評価する。

## 2. 定性的評価と定量的評価

定性的評価はヒトに対して発癌性を示しうるか否かの判断であり, 定量的評価はヒトに対してどの程度の危険度を有するかの判断である。

## II. IARCにおける発癌性評価

## III. 癌の一次予防と予知評価

## 1) 予知評価の対象と目標

## 2) 定性的予知評価

## 3) 定量的予知評価

## IV. 総合評価に必要な今後の研究課題

## Initiating Activity in a Two-stage Mouse Skin Model of Nine Mutagenic Pyrolysates of Amino Acids, Soybean Globulin and Proteinaceous Food

Hidetaka SATO, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Yoshifumi MIYAKAWA, Ryohei HASEGAWA, Kazuhiro TOYODA and Yuzo HAYASHI: *Carcinogenesis*, 8, 1231 (1987)

マウス皮膚二段階発癌モデルを用いて, 9種類のヘテロサイクリックアミンについてそのイニシエーション作用を検索した。イニシエーション処置として被検物質を週2回5週間 CD-1 マウスの背部皮膚に塗布し, その後プロモーターとしてTPA(2.5 μg)を週2回47週間塗布した。被検物質/TPA群では, 5~30%に腫瘍の発生を認めたが, 被検物質/acetone群, DMSO/acetone群, DMSO/TPA群では実験期間を通じ腫瘍発生を認めなかった。実験終了時の腫瘍発生率をFisherの直接確率法で検定したところ, Trp-P-1/TPA群で有意(p<0.05)に高いことが示され, また実験期間中の腫瘍発生状況をPetoの傾向検定により検定したところ, Trp-P-1/TPA, Trp-P-2/TPA, Phe-P-1/TPA, MeAαC/TPA群の各群でDMSO/TPA群とのあいだに有意差(p<0.05)を認めた。今回の実験結果から, ID<sub>50</sub>(50% Initiating dose)を算出した。

**Spontaneous Mesotheliomas in Fischer Rats—  
A Histological and Electron Microscopic Study**  
Hiroyuki TANIGAWA\*, Hiroshi ONODERA and  
Akihiko MAEKAWA: *Toxicologic Pathol.*, 15,  
157 (1987)

F344 ラットの自然発生中皮腫を病理学的に検索した。腫瘍は雄にのみ発生し、無処置ラット 395 匹中 17 匹にその発生をみた。17 例の腫瘍のうち 16 例は腹腔/陰囊内に、残り 1 例は胸腔内に発生した。肉眼的に腫瘍は漿膜表面に黄褐色、種々の大きさの結節としてみられ、顕微鏡的には円形及至卵円形核を有する立方状～多角状の細胞の有茎状あるいは無茎状の増殖を示し、度々腺様配列が認められた。組織化学的にはコロイド鉄およびケラチン陽性であった。電顕的には多数の微絨毛、基底膜や接着装置を認め、細胞質内には豊富なフィラメント、拡張した粗面小胞体と良く発達したゴルジ装置がみられた。これら F344 ラット自然発生中皮腫の形態学的特徴は、ひとの、あるいは実験的に誘発されたラットの中皮腫と同じであった。

\* 森下製薬・薬理研究所

**化学物質による誘発腫瘍の組織発生“脳”**

前川昭彦: トキシコロジーフォーラム, 10, 459 (1987)

実験的脳腫瘍の病理形態学的検索により化学物質による誘発脳腫瘍の組織発生を検討した。ラット、マウスの自然発生脳腫瘍および実験動物、殊にラットにニトロソ尿素により誘発された神経系腫瘍の病理学的検索の結果、誘発腫瘍の病理学的所見は基本的には自然発生のそれと同じであるが、組織像はより多彩で、異型性、悪性度が強く、かつ多発する傾向がみられた。実験的脳腫瘍の組織発生としては、膠芽腫、星細胞腫、乏突起細胞腫や混合型膠腫は未分化膠細胞に、顆粒細胞腫や髄膜腫はクモ膜上皮に、神経鞘腫はシュワン細胞に、また脊索腫は脊索の遺残組織に由来する。

**化学物質による誘発腫瘍の組織発生“脾”**

高橋道人, 古川文夫: トキシコロジーフォーラム, 10, 497 (1987)

脾臓の組織構成は内分泌系のランゲルハンス島と外分泌系の腺房細胞および導管に大別される。したがって脾臓から発生する腫瘍もこれら三つの組織に由来を求めることができるが、そのほか間葉系の腫瘍の発生がある。

本稿では最近の脾臓発癌の研究成果を踏まえ、脾管上皮細胞由来の腫瘍、腺房細胞由来腸瘍、島細胞由来

腫瘍の組織発生につき、形態学的、特に免疫組織学的に検討を試みた。

**Long-Term Studies on Carcinogenicity and  
Promoting Effect of Phenylbutazone in Don-  
ryu Rats**

Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA\*<sup>1</sup>, Kyoko FURUTA, Jun KANNNO\*<sup>2</sup>, Chiaki MATSUOKA, Toshiaki OGIU\*<sup>3</sup>, and Yuzo HAYASHI: *J. Natl. Cancer Inst.*, 79, 577 (1987)

フェニルブタゾン(PB)の癌原性およびプロモーション作用をラットを用いて検討した。癌原性の検索としては、各群雌雄各 50 匹ずつの Donryu ラットに 0 (対照群), 0.125 または 0.25% PB 添加飼料を 2 年間与えた。対照群を含む各群に種々の腫瘍がみられたが、雌 0.25% 副腎褐色細胞を除き、投与群において対照群に比べ有意に高い発生率をみた腫瘍はなかった。種々の観点から、褐色細胞腫の有意の増加は PB 投与に起因するものでなく、PB の癌原性はないと結論された。プロモーション作用の検索としては、イニシエーターとして ENU または PNU を短期投与した雌ラットに 0.25% PB 添加飼料を 2 年間投与した。その結果、白血病発生に対する PB のプロモーション作用は認められなかったが、わずかながら腎および甲状腺の腫瘍発生に対するプロモーション作用が示された。

\*<sup>1</sup> 森下製薬・薬理研究所

\*<sup>2</sup> 東京医科歯科大学医学部

\*<sup>3</sup> 愛知県がんセンター研究所

**Long-Term *in vivo* Carcinogenicity Study of  
Phenytoin (5,5-Diphenylhydantoin) in F344  
Rats**

Ja June JANG\*, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Ryohei HASEGAWA, Hidetaka SATO, and Yuzo HAYASHI: *Fd. Chem. Toxic.*, 25, 697 (1987)

F344 ラットを用いててんかん薬フェニトインの癌原性試験を実施した。6 週齢の雌雄ラットを用い、13 週間の悪急性毒性試験を実施し、投与量の設定を行った。雌雄各 50 匹からなる 3 群に対し、フェニトインを 0, 0.025, 0.05% の濃度に粉末飼料に混じり 2 年間自由に摂取させた。投与終了後 8 週目 (実験期間 112 週) に屠殺剖検し、病理組織学的に検索を行った。体重増加の抑制は雌の処置群で用量相関をもって認められたが、雄では対照群と差はなかった。生存率は処置群と

対照群で差を認めなかった。処置群, 対照群を含めいづれも種々の腫瘍発生がみられたが, 統計的有意差をもって増加した腫瘍はなく, フェニトインの投与によって腫瘍を誘発させたと思わせる所見はなかった。フェニトインは今回の実験条件のもとでは F344 ラットに癌原性を示さなかったことが明らかとなった。

\* Kore Cancer Center Hospital, Seoul, Korea

### 医薬品の安全性試験成績の評価とヒトへの外挿 (1) 総論

大沢仲昭\*, 高橋道人: トキシコロジーフォーラム, 10, 529 (1987)

医薬品の開発の過程で, その安全性はまず実験動物を用いる前臨床試験で検討される。その成績を基にしてヒトへの安全性が予測されることになる。そしてヒトへの安全性が予測されることになる。そしてヒトでの安全性の確保が十分になされることが予測されてからその医薬品の開発はさらに進められることになり, 臨床第一相試験, すなわちヒトにおける安全性試験に移る。

前臨床試験で用いられる動物がどれだけヒトに類似し, あるいは異なっているかについての情報を得ることが必要で, それらの動物を用いたときの限界についてよく理解する必要がある。

これまで得られている膨大な前臨床安全性試験の成績と臨床試験の成績, 第4相, さらに一般臨床知見を集積し, 対比することにより医薬品の安全性確保を一層確実なものにすることができる。

\* 東京大学医学部

### 医薬品の安全性試験成績の評価とヒトへの外挿 (2) 解熱鎮痛消炎剤

大沢仲昭\*, 高橋道人: トキシコロジーフォーラム, 10, 636 (1987)

解熱鎮痛消炎剤として現在用いられているものには大別して, 副腎皮質ステロイド剤と非ステロイド性抗炎症剤がある。

ヒトにおける医薬品の副作用を予測することにより, その発生を防止し優れた薬剤を開発する上で毒性試験の成績が具体的にどのようにより有用であるかを NSAID をとりあげて解説した。

副作用の大部分は毒性試験で得られた成績から予測が可能であると思われるが, 機能毒性や免疫毒性では必ずしも容易でない。この点に関して臨床使用上で慎重な配慮が必要である。

### 医薬品の安全性試験成績の評価とヒトへの外挿 (3)

#### 血圧降下剤

大沢仲昭\*, 高橋道人: トキシコロジーフォーラム, 11, 81 (1987)

血圧降下剤を対象として, その慢性毒性および発癌性を中心に, 動物とヒトにおけるデータの対比, その評価について代表的な例を挙げて述べた。

血圧降下剤の開発の歴史, 作用機序について概説を行った。

レセルピン, ヒドララジン,  $\beta$  遮断剤の発癌性の問題を疫学的調査の結果と動物実験の結果とを対比しながら評価に必要な事項について解説した。また今後の問題点を指摘した。

\* 東京大学医学部

### Experimental Induction of Ovarian Sertoli Cell Tumors in Rats by N-Nitrosoureas

Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA\*<sup>1</sup>, Kyoko FURUTA, Jun KANNO\*<sup>2</sup>, Toshiaki OGIU\*<sup>3</sup> and Yuzo HAYASHI: *Environ. Health Perspect.*, 73, 115 (1987)

ACI, Wistar, Fischer および Donryu 系各ラットにおける卵巣腫瘍の自然発生は極めて稀であり, これらラットに高用量のニトロソ尿素を生体投与しても卵巣腫瘍の発生はみられなかったが, Donryu ラットに 400 ppm の ENU な飲料水として4週間だけ, あるいは 200 mg/kg の PNU を一回だけ胃内に強制経口投与することにより卵巣腫瘍(セルトリ細胞腫あるいはセルトリ顆粒膜細胞腫)の高率な発生をみた。

\*<sup>1</sup> 森下製薬・薬理研究所

\*<sup>2</sup> 東京医科歯科大学医学部

\*<sup>3</sup> 愛知県がんセンター研究所

### Lack of Carcinogenicity of Tartrazine (FD & C Yellow No. 5) in the F344 Rat

Akihiko MAEKAWA, Chiaki MATSUOKA, Hiroshi ONODERA, Hiroyuki TANIGAWA\*<sup>1</sup>, Kyoko FURUTA, Jun KANNO\*<sup>2</sup>, Ja June JANG\*<sup>3</sup> and Yuzo HAYASHI: *Fd. Chem. Toxicol.*, 25, 891 (1987)

タートラジン(黄色4号, FD & C Yellow No. 5)のラットにおける癌原性を検討した。各群雌雄各50匹ずつの F344 ラットに蒸留水に OC 対照群), 1 または 2% の濃度に溶解したタートラジンを飲料水として2年間投与した。対照群を含む各群に種々の腫瘍が認められたが, 雄腹腔中皮腫および雌子宮内膜ポリープを除き, 投与群においていずれの腫瘍も対照群に比べ



有意の増加を示さなかった。腹膜中皮腫および子宮内膜ポリープはいずれも F344 ラットに好発する自然発生腫瘍であり、投与群における発生に用量相関がなく、発生時期や前癌性病変を認めないことなどより、これら腫瘍の有意の増加はタートラジン投与に起因するものではなく、タートラジンの癌原性はないと結論された。

\*1 森下製薬・薬理研究所

\*2 東京医科歯科大学医学部

\*3 Korea Cancer Center Hospital, Seoul, Korea

**Initiating Potential of 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2), Butylated Hydroxyanisole (BHA), Butylated Hydroxytoluene (BHT) and 3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone (Quercetin) in Two-Stage Mouse Skin Carcinogenesis**

Hidetaka SATO, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Yoshifumi MIYAKAWA, Ryohei HASEGAWA, Kazuhiro TOYODA, and Yuzo HAYASHI: *Cancer Letters*, 38, 49 (1987)

マウス皮膚二段階発癌モデルを用いて、AF-2, BHA, BHT, ケルセチンについてそのイニシエーション作用を検索した。イニシエーション処置として被検物質を週2回5週間 CD-1 マウスの背部皮膚に塗布し、その後プロモーターとして TPA (2.5 µg) を週2回47週間塗布した。被検物質/TPA 群では、5~35%に腫瘍の発生を認めたが、被検物質/acetone 群, DM-SO/acetone 群, DMSO/TPA 群では実験期間を通じ腫瘍発生を認めなかった。実験終了時の腫瘍発生率を Fisher の直接確率法で検定したところ、AF-2/TPA 群で有意 ( $p < 0.05$ ) に高いことが示され、また実験期間中の腫瘍発生状況を Peto の傾向検定により検定したところ、AF-2/TPA, BHA/TPA 群で DMSO/TPA 群とのあいだに有意差 ( $p < 0.05$ ) を認めた。今回の実験の結果から AF-2, BHA にはイニシエーション作用が認められたが、BHT およびケルセチンにはその作用が認められなかった。

**Histochemical Demonstration of Colonic Type Mucin in Glandular Metaplasia and Adenocarcinoma of the Human Urinary Bladder**

Ryohei HASEGAWA, Shoji FUKUSHIMA\*, Masao HIROSE\*, Kenji SEKI\*, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, and Nobuuki ITO: *Acta Pathol. Jpn.*, 37, 1097 (1987)

ヒト膀胱の増殖性病変について種々の粘液染色を実施し、大腸粘膜の染色性と比較検討した。膀胱組織として正常粘膜、ブルン細胞巣、扁平上皮化生、円柱上皮化生、腺性化生、移行上皮癌、扁平上皮癌、腺癌の症例を収集し、通常の粘液染色のほか大腸粘液を特異的に染めるとされているアルカリ水解 PAS (PB/KOH/PAS) 染色とコンカナバリンA染色を用いて検討した。その結果、粘液産生は円柱上皮化生と腺性化生のすべてと腺癌のうち粘液癌(印環細胞癌を含む)において著明に認められ、円柱上皮化生12例中2例と腺性化生16例中2例、粘液癌11例中5例にアルカリ水解 PAS 陽性粘液が、コンカナバリンA染色で大腸型のⅢ型粘液は円柱上皮化生と腺性化生に1例ずつと粘液癌の4例に認められた。以上、膀胱の増殖性病変では良性、悪性を問わず大腸型粘液の産生が認められることを明らかにした。

\* 名古屋市立大学医学部

**Oral Administration of the Renal Carcinogen, Potassium Bromate, Specifically Produces 8-Hydroxydeoxyguanosine in Rat Target Organ DNA**

Hiroshi KASAI\*, Susumu NISHIMURA\*, Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI: *Carcinogenesis*, 8, 1959 (1987)

腎臓の発癌物質である potassium bromate (KBrO<sub>3</sub>) をラットに経口投与すると腎細胞内の DNA に 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dG) の有意な増加が観察された。一方、標的臓器ではない肝細胞について調べてみると、8-OH-dG の有意な増加はみられなかった。さらに、発癌性のない酸化剤である NaClO および NaClO<sub>2</sub> は腎における 8-OH-dG の生成に影響を及ぼさなかった。以上の結果より、標的細胞での 8-OH-dG の生成が KBrO<sub>3</sub> の発癌性には重要であることが示唆された。

\* 国立がんセンター研究所

**Glandular Changes Associated with the Spontaneous Interstitial Cell Tumor of the Rat Testes**

Jun KANNO\*, Chiaki MATSUOKA, Kyoko FURUTA, Hiroshi ONODERA, Akihiko MAEKAWA, and Yuzo HAYASHI: *Toxicologic Pathology ISSN*, 15, 439 (1987)

発癌性試験の無処置対照群 F344 および Wistar ラットの糖巣を組織学的に検索し、精巣内の腺腫様変化

の病理組織学的特徴と組織発生について検討した。2年齢 F344 ラットの精巣266個のうち、263個(98.9%)に間細胞腫を、39個(14.7%)に腺腫様変化を認めた。1年齢 F344 ラット精巣にも1/38(2.6%)、2年齢 Wistar ラット精巣にも3/154(1.9%)の頻度で腺腫様変化が認められた。この腺腫様変化は例外なく間細胞腫内に認められた。腺腫様変化は大きさ、形、および数において変化に富み、管状腺管または囊胞状腺管よりなり上皮は円柱状または立方状であった。また、上皮間に閉鎖堤があり、しばしば PAS-alcian blue 陽性の刷子縁を、稀に alcian-blue 陽性の胞体内空胞を有していた。連続切片による観察の結果、この変化と精巣網との連続は認められず、間細胞腫に巻き込まれた変性精細管の血管内皮様の扁平な上皮との連続が確認された。このことより、この腺腫様変化が精細管セルトリ細胞の化生性変化であることが示唆された。

\* Korea Cancer Center Hospital, Seoul, Korea

#### New Tester Strains of *Salmonella typhimurium* Highly Sensitive to Mutagenic Nitroarenes

Masahiko WATANABE, Takehiko NOHMI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 147, 974 (1987)

プラスミド pBR 322 に組み込まれた *Salmonella typhimurium* TA 1538 遺伝子ライブラリーから、ニトロアレン類の代謝活性化に関与するニトロ還元酵素、アセチル転移酵素遺伝子のクローニングを行い、それぞれ対照株の約50倍の酵素活性を持った菌株を得た。Ames 試験において、ニトロ還元酵素高生産株 TA 1538 NR (pYG 111) は、2-ニトロフルオレンに対して約10倍、1-ニトロピレンに対して約60倍の高い感受性を示し、アセチル転移酵素高生産株 TA 1538/1,8-DNP (pYG 121), TA 1538/1,8-DNP (pYG 122) は、2-ニトロフルオレンに対して約10倍、1,8-ジニトロピレンに対して約25倍の高い感受性を示した。上記菌株は、ニトロアレン類に対する高感受性株として有用である。

#### マウス小核試験—その特徴と評価—

林 真：環境変異原研究, 9, 73 (1987)

日本環境変異原学会でのシンポジウム「変異原の *in vivo* 短期検索—有用性と問題点—」での講演論文である。小核試験発展の歴史的な考察、主として骨髄を用いる染色体異常試験との比較における小核試験の特徴について述べた。次に小核試験によって得られた

結果を評価するために他の試験系 (*in vivo* での染色体異常試験、動物での発がん試験、ヒトに対する発がん性)でのデータと比較検討した。その結果、染色体異常との相関は非常に高いことがわかったが、発がん性との相関にはまだ問題点のあることが示された。すなわち、このような比較検討をするためのデータの不備が明らかとなり、信頼性の高いデータを集めたデータベースの構築の必要が示唆された。

#### *In vivo* 小核試験の基礎と応用に関する研究

林 真：環境変異原研究, 9, 3 (1987)

小核試験は化学物質の染色体異常誘発性をみるための *in vivo* 試験系として一般的に用いられるようになってきたが、染色体異常と小核誘発の関係に関する基礎的な研究はほとんどなされていないのが現状である。Mitomycin C, 6-mercaptopurine および 1-β-D-arabinofuranosylcytosine (Ara-C) を用い、染色体異常の誘発と小核誘発の経時変化を詳細に比較検討することにより、統一的に小核の生成を説明するモデルを構築した。また、Ara-C によって誘発された染色体断片の大きさの分布と、同一処理によって誘発された小核の DNA 量の分布を比較したところよく一致することが判明し、このことによっても小核が染色体異常は由来することを示すことができた。

#### 食品添加物の変異原性試験成績(その8)一昭和61年度厚生省試験研究費による—

石館 基, 滝沢行雄\*1, 坂部美雄\*2, 石崎睦雄\*3, 伊藤和敏\*4, 館 正知\*5: トキシコロジーフォーラム, 10, 649 (1987)

厚生省食品化学課より、日本食品添加物協会を通じて配布された天然添加物10種について、Rec-assay, Ames テストおよび染色体異常試験を行った。その結果、アルギン酸が Ames テストおよび染色体異常試験で S9 mix 非存在下でともに陽性となったが、Rec-assay では陰性であった。マウスを用いる小核試験では16種の食品添加物について試験を行ったが、いずれも陰性の結果を示した。

\*1 秋田大学医学部

\*2 名古屋市衛生研究所

\*3 茨城県衛生研究所

\*4 神奈川県衛生研究所

\*5 中央労働災害防止協会労働衛生検査センター

#### 染色体異常試験のアウトライン

祖父尼俊雄：医薬会安全性研究会会報, 24, 8(1987)  
染色体異常試験の概略について紹介した。初めに染

染色体異常の基本的な分類を述べ、次いで放射線と化学物質による染色体異常の誘発性の差異について解説した。さらに、化学物質に対する染色体異常試験の一般的な方法を紹介し、特に統計処理法を適用する上で考慮すべき点について解説した。

#### The Clastogenicity of Chemicals in Cultured Mammalian Cells

Motoi ISHIDATE, Jr. and Marion C. HARNOIS: *Mutagenesis*, 2, 240 (1987)

培養細胞を用いる染色体異常試験について、他の *in vitro* 変異原性試験や *in vivo* 変異原性試験あるいは発がん性試験結果との相関性の問題を論議し、以下の4点の重要性を指摘した。

- 1) *In vitro* 染色体異常試験は Ames 試験法を補う方法として有用である。
- 2) 用いた細胞の種類によって結果が異なる場合は、特定の細胞の感受性の違いによるのではなく、試験プロトコルの差異によることが多い。
- 3) ある化合物が非常に高濃度 (10 mM 以上) で陽性となった場合には、化合物の作用以外の要因が関与していないかを検討する必要がある。
- 4) 異数性を誘発するような特殊な化合物があるとしても、異数性が特定の細胞に限って誘発されるものとは考え難い。

#### 培養細胞における化学物質の染色体異常誘発性について (その1)

祖父尼俊雄: 季刊「化学品安全」, 5 (2), 1 (1987)

培養細胞に対する化学物質の染色体異常誘発性について、(その1) と (その2) に分けて概説した。最初に染色体異常の意義に触れた後、染色体異常の種類について国際命名規約にのっとりながら詳細に記述し、さらに染色体異常の生成機構について、化学物質の DNA に対する初期損傷を基に論じた。

#### 培養細胞における化学物質の染色体異常誘発性について (その2)

祖父尼俊雄: 季刊「化学品安全」, 5 (3), 13 (1987)

(その1) に引き続き、染色体異常試験法の実際について、処理方法、代謝活性化法、濃度の選択、顕微鏡観察、記録の方法、判定方法の順に具体的な方法を紹介した。さらに、およそ240の論文から得られたデータを基に、化学物質による染色体異常誘発性について定性的および定量的に検討した。最後に、微生物による突然変異試験およびマウスによる小核試験で得ら

れた結果と比較し、さらに発がん試験結果と比較検討を行い、培養細胞による染色体異常試験の有用性について言及した。

#### リレーショナルデータベースソフトウェアによる文献データベースの作成と利用

水沢 博: 蛋白質核酸酵素, 32, 973 (1987)

一般的に研究を行う過程において大量のデータが発生し蓄積する。特に、文献データに関してはその整理に多くの研究者が困っている現状である。こうした事情から、蛋白質核酸酵素の編集者からの依頼で、パーソナルコンピュータを利用して扱えるデータベースソフトウェアの解説を行った。代表的なデータベースソフト dBASEII を取り上げ、その基本的なコマンドの使用方法について解説した後、このソフトを用いた筆者が作成した文献管理システムを紹介した。論文の作成に当たり、収集した文献リストをデータベース化する。このデータベースを基に、投稿予定の雑誌で決められている書式を指定すると、自動的にその書式で文献データベースをテキストファイルとするシステムである。

#### 細胞バンクにおける情報管理システム

水沢 博: 蛋白質核酸酵素, 32, 1077 (1987)

1984年設立された厚生省細胞バンクにおいては細胞の収集、品質管理、供給および提携機関との連絡などの事務を迅速に行わなければならないため可能な限りコンピュータを利用することとした。そのため、細胞株基本データベース (500レコード)、保存管理データベース (800レコード)、利用者管理データベース (1500レコード)、供給記録データベース (3500レコード)、参考文献データベース (950レコード) の5つの基本的なデータベースの構造を定義した。日常的な細胞バンク業務を通じてデータ入力を行い標記レコード数のデータを蓄積してきた。これらのデータを効果的に利用するためのプログラムを bBASEII の書式にしたがって作成した。このプログラムはデータ入力、出力、修正の基本的なプログラムのほか、細胞バンク運営上必要となる利用者に提出するデータシートや連絡票の自動作成、月末や年度末のアンブル数の集計、連絡用手紙の自動作成などのサブルーチンを含んでいる。

#### Induction of Chromosomal Aberrations in Active Oxygen-generating Systems II. A Study with Hydrogen Peroxide-resistant Cells in Culture

Minoru SAWADA, Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, **197**, 133 (1988)

濃度をしだいに高めながら繰り返し  $H_2O_2$  で処理することにより、チャイニーズハムスターの培養株細胞 (CHL) から  $H_2O_2$  に対する抵抗性の高まった細胞を得ることができた。そのなかの一つのクローン (R-8) は、元の細胞 (CHL) と比較しておよそ10倍の抵抗性を約2ヵ月間維持した。細胞当たりのカタラーゼ活性は、R-8 では元の CHL の約10倍に増大していた。SOD, glutathione peroxidase および glutathione reductase については変化は認められなかった。50%の細胞に染色体異常を誘発するのに要する  $H_2O_2$  濃度を比べると、R-8 では元の CHL の約10倍であった。スーパーオキシサイドラジカル ( $O_2$ ) 産生系である, xanthine oxidase と hypoxanthine を培地に加えると、CHL では染色体異常の出現が著しいのに対し、R-8 では大部分が抑制された。一方、細胞内で  $O_2$  を産生する可能性が示唆されているパラコートを加えた場合には、両細胞ではほぼ同程度の異常が出現した。

**Effect of Riboflavin, Retinol, and Zincon Micronuclei of Buccal Mucosa and of Esophagus: A Randomized Double-Blind Intervention Study in China**

Nubia MUNOZ<sup>\*1</sup>, Makoto HAYASHI, Lu Jian BANG<sup>\*2</sup>, Jurgen WAHRENDORF<sup>\*4</sup>, Massimo CRESPINI<sup>\*4</sup>, and F. Xavier BOSCH<sup>\*1</sup>: *JNCI*, **79**, 687 (1987)

中国における食道がん多発地帯 Huixian での riboflavin (200 mg), retinol (50000 IU), 亜鉛 (50mg) および対照群としてプラセボを1年間服用させ、その効用を食道上皮細胞と口腔粘膜中に観察される小核の動態について調査した。塗抹標本はメタノールで固定後約1年間室温で保存されたものを用い、4',6'-diamidino-2-phenylindole で蛍光染色後検鏡した。口腔粘膜細胞中に出現する小核の頻度は、処理の前後および処理群と対照群の間で統計学的に有為な差は観察されなかった。しかし、食道上皮細胞についてはビタミン処理群と対照群の間で小核の出現頻度に統計学的に有為な差が認められた (処理群0.19%, 対照群0.31%,  $P=0.04$ )。

<sup>\*1</sup> International Agency for Research on Cancer, France

<sup>\*2</sup> Henan Cancer Institute, People's Republic of China

<sup>\*3</sup> German Cancer Research Center, Federal Republic of Germany

<sup>\*4</sup> Institute Regina Elena, Italy

**Strain Difference in the Micronucleus Test**

The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test: *Mutat. Res.*, **204**, 307 (1988)

日本環境変異原学会、哺乳動物試験分科会、小核試験共同研究グループによる第2回共同研究として、小核試験におけるマウスの系統差について検討した。用いた系統は現在わが国で広く用いられている ddY, CD-1, BDF1 および変異原高感受性とされている MS/Ae の4系統である。モデル物質として作用機作の異なる colchicine, DMBA, ENU, 6-MP およびクロム酸カリの6種類を用いて小核試験を実施した。すべての系統は6種類すべての化合物に対して陽性の結果を示した。MS/Ae 系統は他の系統と比較して特に高用量群で強く小核を誘発する傾向を示した。小核誘発に対する系統差はあるが、小核試験のための実験動物としてはどの系統も使用可能であることが示された。

**Induction of Chromosomal Aberrations in active Oxygen-generating Systems I. Effects of Paraquat in Chinese Hamster Cells in Culture**

Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, **197**, 127 (1988)

チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いて、paraquat (PQ) の染色体異常誘発性における superoxide anion radical ( $O_2$ ) の関与について検討を行った。0.8 mg/ml の PQ で3時間処理後21時間の回復時間において染色体標本を作製すると、およそ50%の細胞に染色体の構造異常が出現した。構造異常の大部分は染色体型で、しかもギャップと切断が大勢を占めていた。

Superoxide dismutase の抑制剤である diethylthiocarbamate で1時間前処理すると、PQ による染色体異常誘発性が増強された。Glutathione の scavenger である diethyl maleate によっても染色体異常の誘発が増強されたが、catalase の抑制剤 3-aminotriazole では何らの影響もみられなかった。PQ による染色体異常誘発性は、高酸素濃度 (80%) によっても増強された。これらの結果から、PQ による染色体異常誘発性は  $O_2$  の生成と直接あるいは間接的に関与しているが、 $O_2$  の不均化反応によって生成される過酸化水素、あるいは hydroxyl radical および singlet

oxygen など他の活性酸素種と関与していない可能性が示唆された。

**A comparative Analysis of Data on the Clastogenicity of 951 Chemical Substances Tested in Mammalian Cell Cultures** Motoi ISHIDATE, Jr., Marion C. HARNOIS and Toshio SOFUNI: *Mutation Res.*, 195, 151 (1988)

化学物質の哺乳類培養細胞に対する染色体異常誘発性について、1964～1985年間に発表された原著を基に総説を著わした。およそ240の論文から951化合物についての結果が得られた。951化合物の中、447 (47%) は直接法または代謝活性化法で陽性、417 (44%) は直接法で陰性であるが、代謝活性化法による結果がなく、4は代謝活性化法で陰性であるが、直接法による結果がなく、30 (3%) は直接法および代謝活性化法でともに陰性であった。残り53では陽性と陰性の両結果が報告されていた。

染色体異常誘発性は化合物によって著しく異なり、最小有効濃度で比較すると、 $4.3 \times 10^{-8} \sim 6.9 \times 10^2$  mM という広い範囲にわたっていた。チャイニーズ・ハムスター細胞 (CHL) を用いた試験結果については、20%の細胞に染色体異常を誘発する濃度 (D20)、および単位濃度当たりの交換型異常をもつ細胞の相対値 (TR) で定量的な比較を行った。さらに、Ames 試験、小核試験結果とそれぞれ比較するとともに、発がん試験結果とも比較した。染色体異常試験と Ames 試験でともに陽性となった場合、さらには小核試験でも陽性となった場合には、発がん試験で陽性となる傾向があり、これら3つの変異原性試験の有用性について検討を加えた。

**Comparative Studies on the Sensitivity of Three Methods for Detecting Mycoplasmal Contamination in Cell Cultures**

Touho YOSHIDA\*, Masako KAWASE, Kiyoshi SASAKI, Hiroshi MIZUSAWA, Motoi ISHIDATE, and Masao TAKEUCHI\*: *Bull. JFCC*, 4, 9 (1988)

培養細胞を汚染するマイコプラズマの検出法として知られる DNA 蛍光染色法、直接培養法、細胞傷害法について *M. arginini*, *M. orale*, *M. salivarium*, *M. hyorhinae*, *A. laidlawii* の各マイコプラズマを用いて検出感度を比較検討した。蛍光染色法は細胞傷害法に対して1000倍の感度を有し、培養法は蛍光染色法とはほぼ同等の感度であった。細胞バンクで収集した168株について汚染検査をした結果、39株 (23%) が蛍光

染色法で陽性であった。また、陽性となったものうち33株は培養法でも陽性であったが、6株は陰性と判定された。このデータを基に細胞バンクでは蛍光染色法を標準的な方法として汚染検査に用い、培養法を補助的方法とすることとした。

\* (財)発酵研究所

**ベアードイオンクロマトグラフ法による日局複方ビタミンB散の定量法**

中原 裕, 岡田敏史, 伊阪 博: 医薬品研究, 19, 84 (1988)

日局11中の「ビタミンB散」には硝酸チアミン、リポフラビン、塩酸ピリドキシンおよびニコチン酸アミドの4種のビタミンが処方されている。HPLCによるこれら4種の成分の同時定量法を確立すべく種々の検討を行った。

リポフラビンの極性が他の3成分と比較して大きく異なるための通常の逆相クロマトグラフ法では4成分の同時定量が困難であるためベアードイオンクロマト法による分離定量法を試みた。その結果、HPLC条件としては ODS 系カラム ( $\mu$  BONDAPAK C18) を用い、移動相はヘプタンスルホン酸ナトリウムを含む 0.04M リン酸緩衝液 (pH 2.5)/アセトニトリル混液 (9:1)、測定波長 280 nm とすることで4種の成分を分離定量できることが明らかとなった。

別に、モデル製剤を調製し、4成分の抽出条件について検討した結果、0.01N 塩酸を用い、50°C、30分間の抽出により、いずれの成分も定量的に分析できることが明らかとなった。

**Effect of Sonication on the Dispersion State of Lipopolysaccharide and Its Pyrogenicity in Rabbits**

Tetsuo KOMURO, Toshimi MURAI and Hironoshin KAWASAKI: *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 4946 (1987)

水溶液中におけるリポ多糖 (LPS) の分散状態に及ぼす超音波照射の影響をシェークロス密度勾遠心法 (SDGU) により、ウサギにおける発熱活性との関係で検討した。SDGUにより、フェノール/水抽出法により得られる LPS は、水に懸濁させた場合、低密度から高密度領域にわたって広く分散していること、3分間の超音波照射によりある一定の低密度領域にピークを有するように水中での分散状態が変化すること、各画分の発熱活性は、超音波照射により得られるピーク、すなわち、ある一定の、粒子サイズの小さい LPS

画分に強く現れること、などが明らかとなった。

### Sodium Deoxycholate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis of Lipopolysaccharide at Low Temperature

Tetsuo KOMURO, Chikako YOMOTA and Toshio KIMURA: *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 1218 (1988)

リポ多糖 (LPS) の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 (DOC-PAGE) を 4°C で行い、電気泳動パターンの再現性を検討した。大型スラブゲル (4×150×300 mm) を用い、20 mg という大量の LPS を、4°C という低温で電気泳動した後、分画し、通常の厚さのスラブゲル (厚さ 1 mm) を用いて再度 DOC-PAGE にかけて泳動パターンを比較したところ、各画分の LPS は元の泳動パターンと完全に一致した。これらの結果から、4°C での DOC-PAGE は、未知構造を有する LPS を、本来の生物活性を損なうことなく分画しようとする場合には有用な手段であると考えられる。

### 高品位グラフ作成ツール LIRA 2 ver.2

中原 裕, 柳谷真美, 木村俊夫: 化学 PC 研究会会報, 9, 29 (1987)

先に発表した直線回帰グラフ作成ツール LIRA 2 ver.1 のプログラムをさらに充実させるために、機能の追加と強化を行った。その主な点は、1) Y軸の異なるデータの重ね描き、2) 図中注釈の保存とファイル化、3) グラフィックファイルの編集、4) セットアップパラメーターの追加とファイル化、5) ファイル名入力時の既登録ファイル名の重複チェック、6) キャプション入力時のグラフ一部表示、7) プロット記号およびラインスタイルの種類追加 などである。

### カタラーゼ活性を有する食品中の過酸化水素の定量法について

辻 澄子, 津村明宏\*, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤善志男: 食衛誌, 28, 196 (1987)

食品中の微量の過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) を測定する場合、カタラーゼが共存すると  $H_2O_2$  の測定値が低下する。そこで、メタリン酸処理によるカタラーゼ失活後、酸素電極法により  $H_2O_2$  の測定を行った。この方法により  $H_2O_2$  の添加回収実験を行ったところ、鶏レバーは 50  $\mu\text{g/g}$ 、丸干しいわしは 5  $\mu\text{g/g}$ 、しらす干しは 1  $\mu\text{g/g}$  添加でそれぞれ70%以上の回収率が得られた。種々の食品中の  $H_2O_2$  含量をメタリン酸と従来法で測定し比較した。活性が 4 U/g 以下の食品は両法の値

が同じであった。20 U/g 以上の活性をもつ食品はメタリン酸法で初めて検出できた。

\* 神戸農林規格検査所

### 種々の角度から見た食品添加物 (I)

伊藤善志男: 科学と工業, 61, 209 (1987)

我が国の食品添加物に関する法規、許可制度、規格、基準および表示義務について解説した。特に最近の表示義務の変更 (ポジティブリストからネガティブリストへ) について述べた。また我が国と欧米での食品添加物の使用基準の相異点の各種輸入食品に及ぼす影響について、具体的に実例を示した。

次に食品添加物の安全性の評価について下記の5つの角度から説明した。①各種安全性試験法 (急性、亜急性、慢性、催奇性、発癌性、変異原性および代謝試験)、②1日許容摂取量 (ADI)、③食品添加物と医薬品の安全性に関する考え方の比較、④特殊毒性で問題になった食品添加物の行政的対応、⑤発癌性についての考え方 (デラニー条項、イニシエーターとプロモーターの区分、閾値を基とした定量的考察)。

### 種々の角度から見た食品添加物 (II)

伊藤善志男: 科学と工業, 61, 282 (1987)

食品添加物の有効性 (使用理由) について下記の4点から説明した。①食糧資源の有効利用 (低級食糧の利用)、②食糧消費形態の変化、③食品工業の生産規模の増大と食品流通機構の拡大、④栄養上の問題

次に食品添加物の役割 (使用目的) について、下記の4つに大別し、具体例を示して解説した。①食品の品質保持の目的: 保存料、殺菌料、酸化防止剤、防虫剤、品質保持剤、被膜剤、②食品栄養価を高める目的: 強化剤、③食欲向上の目的: 着色料、発色剤、漂白剤、甘味料、酸味料、着香料、④食品の品質改良、食品製造の簡便化の目的: 食品製造用剤、結着剤、小麦粉改良剤、膨張剤、乳化剤、糊料、食品製造用アルカリ剤、抽出剤、溶剤、品質改良剤、醸造用剤、消泡剤、粘着防止剤、保水乳化安定剤。

### 種々の角度から見た食品添加物 (III)

伊藤善志男: 科学工業, 61, 322 (1987)

輸入食品を中心に、不許可添加物について解説した。不許可添加物については、我が国では許可されていないが、輸出国では許可されているものと、いずれの国でも許可されていないものの2つに大別されることを実例をあげて説明した。

次に合成食品添加物と天然添加物について、着色料

を中心に品質, 安定性, 価額, 安全性等, 種々の角度から比較した。

食品中の添加物分析法の他の分析法との相違点を述べ, さらに分析上の種々の注意点を指摘した。

最後に, 日本人の食品添加物の1人1日摂取量の調査研究を実施した目的とその後の経過について分析結果を基に説明した。

#### ガスクロマトグラフィーによる食品中のカーバメイト系, 酸アミド系12種農薬の同時分析法

外海泰秀, 中村優美子, 辻 澄子, 伊藤普志男: 衛生化学, 33, 206 (1987)

カーバメイト系, 尿素系, 酸アミド系等12種農薬はアセトニトリルまたはアセトンで試料から同時抽出し, 10%食塩水で希釈後ジクロロメタンで再抽出した。この有機層を濃縮後 Sep-pak Florisil に通して精製し, メチルまたはトリフルオロアセチル誘導体とした後, FTD または ECD-GC で測定した。

スニップ, クロロプロファミン, ジウロン, リニューロン, プロパニル, プロピザミド, プロボキシル, イソプロカーブ, BPMC, XMC, MTMC および MPMC をオレンジまたは玄米に 0.1 ppm 添加したときの本法による回収率は90.5~95.1%であった。

#### Metabolism of Citric Acid, Potassium Citrate, Sodium Citrate and Calcium Citrate in the Rat

Yumiko NAKAMURA, Yasuhide TONOGAI, Sumiko TSUJI and Yoshio ITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 28, 251 (1987)

ラットを用いて, クエン酸およびそのナトリウム塩, カルシウム塩, カリウム塩の代謝を調べた。伊藤らによって算出されたクエン酸の日本人の一日摂取量 37.78 mg/kg を基準として投与量を設定した。クエン酸およびその塩類の  $^{14}\text{C}$  でラベルされたもの, あるいはされていないものをラットに経口投与して, 尿中へのクエン酸排泄量, 呼気中の  $^{14}\text{C}$  放射活性および血中の  $^{14}\text{C}$  放射活性の経時変化を調べた。その結果, 投与されたクエン酸およびその塩類は, いずれも体内へ吸収された後, ほとんどが代謝されて体内へは蓄積せずに, 主として呼気中に  $\text{CO}_2$  として排泄されることがわかった。また, 塩の違いによる差は顕著ではなかった。

#### ガスクロマトグラフィーによる果実飲料中エステルガムの検出・定量法

津村明宏<sup>\*1</sup>, 外海泰秀, 安藤 徹<sup>\*2</sup>, 伊藤普志男: 農林規格検査所調査研究報告, 11, 12 (1987)

我が国でエステルガムはチューインガム基礎剤として, チューインガムにのみ使用が許可されている。米国では日本のエステルガムに相当するガム基礎剤が9種類 CFR に記載されている。これらは固樹脂(ロジン)由来の樹脂酸をグリセリンまたはペンタエリスリトールと反応させて得られるエステルであり, 乳化作用を持つことから乳化剤または比重調整剤として用いられる。したがって輸入果実飲料に添加される可能性があるため, エステルガムの GC による検出・定量法を作成し, 各種エステルガム標品の分析と輸入食品の分析を行った。

<sup>\*1</sup> 神戸農林規格検査所

<sup>\*2</sup> 大阪港検疫所

#### Determination of Ethylenediaminetetra-acetic Acid in Foods by Colorimetry

Takashi HAMANO\*, Yukimasa MITSUHASHI\*, Susumu YAMAMOTO\*, Yukio MATSUKI\*, Yasuhide TONOGAI, Keizo NAKAMURA and Yoshio ITO: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 34, 603 (1987)

エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) およびその金属キレートを含む食品を 0.1 M NaOH で磨砕後透析し, pH 2.5 で過剰の  $\text{CuSO}_4$  を加えて EDTA-Cu に変換する。この溶液を2つに分け, 一方には直接バソクプロインを加えて過剰の  $\text{Cu}^{2+}$  を比色定量し, 地方には  $\text{CoCl}_2$  を加えて EDTA-Co として  $\text{Cu}^{2+}$  を遊離させ, 全  $\text{Cu}^{2+}$  量をバソクプロインで比色定量した。両者の差を EDTA 量として算出した。

数種食品に EDTA-Cu を 50 ppm または 250 ppm 添加したときの本法による回収率は, それぞれ 88.7~99.4%または 92.7~99.9%であった。

\* 神戸環境保健研究所

#### マーケットバスケット方式による生鮮食品群からのビタミン, ミネラル, 遊離アミノ酸の1日摂取量の推定

四方田千佳子, 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>, 森口 裕<sup>\*9</sup>, 内山寿紀<sup>\*9</sup>, 城 照雄<sup>\*10</sup>, 伊藤普志男: 日本栄養・食糧学会誌, 40, 451 (1987)

従来加工食品に対する食品添加物摂取量調査用のマーケットバスケット方式に準じて生鮮食品に対する

6食品群を作成し、全国10機関で調整した試料についてビタミン、ミネラルおよび遊離アミノ酸の分析を行い、生鮮食品由来の1日摂取量を求めた。調査対象物質の摂取量を生鮮食品と加工食品とで比較すると、グルタミン酸では加工食品の摂取量中にかなりの人為的添加量を含むと類推されたが、そのほかの物では摂取量の大部分が天然含有量に由来すると考えられた。

- \*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

#### 比色法による即席めん粉末スープ中ポリソルベートの検出・定量法

外海泰秀, 中村優美子, 辻 澄子, 伊藤誉志男: 食衛誌, 28, 427 (1987)

粉末スープ中ポリソルベートの定量を2種の比色法(チオシアン酸コバルト法およびドラージェンドルフ法)の併用により行う分析法を開発した。定性法としてのTLC法ではシリカゲルプレートを用い、ジクロロメタン・メタノール・アセトン・水(55:20:15:4)混液により展開してドラージェンドルフ試薬で発色させた。定量法としてのカラム法ではシリカゲルカラムを用い、酢酸エチルで洗浄した後、ジクロロメタン・メタノール(2:1)により溶出した。発色試薬としてチオシアン酸コバルトおよびドラージェンドルフ試薬を比較したところ、前者は精度において、後者は感度において秀れていた。試料にポリソルベート200ppmを添加して本法により定量したところ3回収率は94.5~97.0%であり、両比色法による測定値間に有意差は認められなかった。国産および輸入即席めん粉末スープ8検体についてポリソルベートの使用実態を調査したところ、輸入品には100~345ppm検出されるものが見られた。

#### アスコルビン酸を含有する清涼飲料中の過酸化水素の分析法およびその測定値について

辻 澄子, 石田浩平\*, 中村優美子, 外海泰秀, 江川 宏\*, 伊藤誉志男: 食衛誌, 28, 445 (1987)

アスコルビン酸含有清涼飲料は酸性を呈するため、酸素電極法により過酸化水素( $H_2O_2$ )を測定する際に、リン酸緩衝液(PB)でカタラーゼの至適pHに調整す

る必要がある。11種の市販アスコルビン酸含有清涼飲料について検討し、 $H_2O_2$ 含有を測定した。酸素電極装置に試料セル内にPBを加え、溶存酸素を窒素ガスで追い出した後、試料を加え、カタラーゼを加えて、生成する酸素を測定して $H_2O_2$ を算出した場合は、いずれの試料からも $H_2O_2$ を検出しなかった。一方、試料をあらかじめPBで混和した溶液を試料セルに加え、溶存酸素を窒素ガスで追い出した後、カタラーゼを加えて測定した場合は、 $H_2O_2$ として0.2~4.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ が検出された。その原因としては試料中のアスコルビン酸がカタラーゼを加えるまでの間に、PB中の溶存酸素により酸化されて $H_2O_2$ を発生したことが明らかになった。

\* 日本缶詰検査協会神戸検査所

#### マーケットバスケット方式による日本人の $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ および $\delta$ トコフェロール1人1日摂取量の推定

林 弘道\*1, 宮川あし子\*1, 原田行雄\*1, 一色賢司\*2, 加藤丈夫\*3, 神蔵美枝子, 黒田弘之\*4, 後藤宗彦\*5, 坂部美雄\*6, 佐々木清司\*7, 白石由美子\*8, 西島基弘\*9, 深澤喜延\*10, 横山 剛\*11, 森口 裕\*12, 内山寿紀\*12, 城 照雄\*13, 四方田千佳子, 伊藤誉志男: 日本栄養・食糧学会誌, 40, 457 (1987)

食品添加物摂取量調査用マーケットバスケット方式に従い、1983年10月に加工食品について、1985年10月と1986年5月に生鮮食品について全国10地域で試料を調整し、トコフェロール(Toc)同族体を分析して1日摂取量を求めた。秋期における総Tocの摂取量は、加工食品群で14.98mg、生鮮食品群で2.14mgであり、加工食品の寄与が大きかった。加工食品群では、群ごとに同族体の種類と構成比が異なり、主な成分は $\gamma$ -Tocであったが、生鮮食品の同族体組成は比較的単純で、 $\alpha$ -Tocが76%を占めた。生鮮食品群での春期と秋期の総Tocの摂取量には差は認められなかった。

- \*1 長野県衛生公害研究所
- \*2 北九州市環境衛生研究所
- \*3 仙台市衛生研究所
- \*4 香川県衛生研究所
- \*5 島根県衛生公害研究所
- \*6 名古屋市衛生研究所
- \*7 大阪市立環境科学研究所
- \*8 札幌市衛生研究所
- \*9 東京都立衛生研究所多摩支所
- \*10 山梨県衛生公害研究所
- \*11 和歌山県衛生公害研究センター
- \*12 厚生省生活衛生局食品化学課
- \*13 日本添加物協会



マーケットバスケット方式による生鮮食品群からの8種有機酸, 4種核酸, オルトリン酸, 安息香酸, グリセリン脂肪酸エステル, アルギン酸ナトリウム, 亜硫酸, 硝酸, 亜硝酸, マンニトール, ソルビトール, グリセリン, アンモニアの1日摂取量の推定  
四方田千佳子, 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, 森口 裕\*9, 内山寿紀\*9, 城 照雄\*10, 伊藤誉志男: 日本栄養・食糧学会誌, 41, 11 (1988)

全国10機関で1人1日喫食量に相当する生鮮食品を採取後6食品群に分類し, 23種食品添加物を分析して1日摂取量を求めた. 摂取量を既報の加工食品群での摂取量と比較すると, グリセリン, 酢酸, 安息香酸, コハク酸などでは加工食品群の方が多く, 加工食品に人為的に添加されたと同推されたが, そのほかの食品添加物ではほとんど天然含量に由来すると考えられた.

\*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

#### ラットの血清, 肝臓のビタミンA重量およびステロイド代謝に及ぼす食餌性スクアレンの影響

中村優美子, 海外泰秀, 辻 澄子, 伊藤誉志男, 内山 充: 日本栄養・食糧学会誌, 41, 103 (1988)

健康食品として市販されている深海鮫エキスの主成分であるスクアレンをウイスター系雄性ラットに 0.1, 0.5 または 1.0 ml/day, 28日間経口投与して, 血清, 肝臓のビタミンA含量およびステロイド代謝に及ぼす影響を調べたところ, 次の結果が得られた. 1) スクアレン0.5または1.0 ml/day 投与で seborrhea 症状が見られた. 2) いずれの投与量においても血清, 肝臓中のビタミンAおよびコレステロール含量に顕著な変化は見られなかった. 3) 血清, 肝臓および糞中のスクアレン含量は投与量に応じて増加した. 4) 糞中のコレステロールおよびコプロスタノール排泄量は, 0.1 ml/day 投与群においては control 群とはほぼ同程度であったが, 0.5 ml/day および 1.0 ml/day 投与群では少ない傾向があった. 5) 数種の胆汁酸排泄量

の増加が 0.1 ml/day においてのみ見られた.

#### 食品添加物の分析法

海外泰秀: フードケミカル, 3, 56 (1987)

各種食品添加物について実験溶液の調製法, 精製法, 測定法の項目に区切り, 主として当研究室で開発した方法について紹介した.

1. 試験溶液の調製法—精油定量器を用いた防かび剤, 抗酸化剤の分析法.
2. 精製法—アルミナカラムによる防かび剤, フロリジルカラムによる被膜剤の分析法.
3. 測定法—GC による保存料, 有機酸, 乳化剤, 殺菌剤の分析法, HPLC による着色料, アミノ酸, 核酸, ビタミン, 発色剤, 甘味料の分析法. イオンクロマトグラフィーによる無機陰イオン, 金属陽イオンの分析法. 原子吸光法による金属塩類, 結着剤, 金属含有着色料の分析法. 微量酸素電極法による殺菌, 漂白剤の分析法. 蛍光法による強化剤の分析法. 酵素法による食器成分・食品添加物などの分析法.

#### 次亜塩素酸ナトリウム処理野菜におけるクロロホルムの生成に関する研究

市川 富夫\*, 中村優美子: 日本公衆衛生雑誌, 34, 661 (1981)

塩素消毒後の水道水にはクロロホルムが存在していることが明らかにされている. 野菜の次亜塩素酸ナトリウム処理により, クロロホルムが生ずるか否かについて調べた. 次亜塩素酸ナトリウム処理野菜にクロロホルムが検出された. クロロホルムの生成量は, 次亜塩素酸ナトリウム濃度ならびに処理時間に比例して増加したことが認められた. 通常処理に使用される濃度に近い 250 ppm の次亜塩素酸ナトリウム溶液浸漬では, 15種の野菜のうち4種においてクロロホルムを検出したが, 処理濃度が 2500 ppm とした場合にすべての野菜でクロロホルムを検出した. 生成したクロロホルムは野菜をゆで調理することにより消失した. 凍結乾燥では必ずしも消失するとは限らなかった. 次亜塩素酸ナトリウム処理野菜中のクロロホルム生成について, クロロホルムが日常食用に供される野菜にどれくらいの頻度および規模で認められるかについて調べる必要があるものと思われる.

\* 国立栄養研究所

#### Effect of Dietary Tauvine on Cholesterol 7 $\alpha$ -Hydroxylase Activity in the Liver of Mice Fed a Lithogenic Diet

Yumiko NAKAMURA-YAMANAKA, Keisuke TSUJI\* and Tomio ICHIKAWA\*: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 33, 239 (1987)

ICR 系雄性マウスについて、食餌性タウリンの肝 cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase 活性に及ぼす影響を調べた。まず、CE-2 固型飼料で4週間飼育したマウスを1:00 h および 13:00 h 屠殺して酵素活性を測定した。次に、3種の半合成飼料(コレステロール、コール酸を含まない standard, 0.5% コレステロールおよび 0.25% コール酸を含む C-CA, およびこれに 5% taurine を添加した C-CA+5% taurine) を5週間摂食させたマウスを1:00 h に屠殺して酵素活性を測定した。Cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase 活性は、1:00 h では 13:00 h における活性の約6倍であった。また、食餌性タウリンは本酵素の活性を約2倍に上昇させた。したがって、タウリンは肝 cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase 活性を上昇させることによってコレステロールの胆汁酸への変換を促進し、これが胆石形成抑制作用と関係のあることが推定された。

\* 国立栄養研究所

#### Determination of Rosin Ester Gum Emulsifiers in Fruit Juices by Gas Chromatography

Yasuhide TONOGAI, Thoru ANDO\*<sup>1</sup>, Akihiko TSUMURA\*<sup>2</sup> and Yoshio ITO: *J. Food Protec.*, 50, 464 (1987)

ロジンエステルは果実飲料からベンゼン抽出し、 $N_2$  KOH-エタノールでケン化後、生じたロジン酸を酸性下にエーテル抽出し、TMS 誘導体としたのち GC で測定した。7種のエステルガム標品を本法で分析した結果、エステルガム中のジヒドロアピエチン酸およびアピエチン酸の含量はそれぞれ33.8~75.1% および 0~36.7% と異なったが、両者の和は66.7~75.1% (平均70.9 $\pm$ 3.0%) と均一化していた。輸入果実飲料中のエステルガム由来のジヒドロアピエチン酸およびアピエチン酸を GC-MS で同定し、GC で定量した結果、エステルガム含量は 15.2~33.9 ppm であった。

\*<sup>1</sup> 大阪空港検疫所

\*<sup>2</sup> 神戸農林規格検査所

#### ウサギ用直腸体温計の坐剤実験用円筒型感温部の試作

坂本 純, 伊丹孝文, 江馬 真, 川崎浩之進: 実験動物, 36, 449 (1987)

ウサギの直腸内に挿入したままで坐剤の直腸内投与

が可能で、かつ投与した坐剤が肛門から漏出しないような直腸体温計感温部を開発した。この改良型と漏出防止栓のない従来型の感温部とを用いて、細菌性発熱物質を投与したウサギの直腸温を測定して比較したところ、両感温部の検温性能に差はみられなかった。これらの結果から、今回試作した感温部は解熱坐剤の効力を検討するのに極めて有用であると考えられた。

#### Malformations in Rat Fetuses Induced by Trypan Blue

Makoto EMA, Takafumi ITAMI, Hironoshin KAWASAKI and Seizaburo KANOH: *Exp. Amin.*, 36, 261 (1987)

Trypan blue を Wistar ラットの妊娠中に投与し、妊娠20日に胎仔を検査して得られた127例の奇形胎仔について、それらの外表、骨格および内臓奇形を詳細に検討した。外表奇形胎仔は108例認められた。尾奇形が最も多く観察され、そのほか二分脊椎、湾曲足、外脳および鎖肛などが高頻度で検出された。骨格奇形は48例の胎仔にみられ、椎骨奇形が最も高頻度で観察された。内臓奇形は27例の胎仔に認められ、心臓および大血管系の奇形、水頭、小眼または無眼などが高頻度でみられた。ほぼ90%の骨格奇形胎仔は外表奇形をも有していた。しかしながら、内臓奇形は外表奇形が認められない胎仔から検出される場合が多かった。これらの結果から、胎仔における奇形の検出には内臓奇形の検索がより重要であることが示唆された。

#### Microheterogeneity of Rat $\alpha$ -Fetoprotein on a Copper Chelate Column

Takafumi ITAMI, Makoto EMA, Jun SAKAMOTO and Hironoshin KAWASAKI: *J. Chromatography*, 417, 168 (1987)

ラット羊水から精製した  $\alpha$ -フェトプロテインを銅キレート・カラムによって分離して得た2画分について、ポリアクリルアミド、ゲル電気泳動および TSK-gel G-3000 SW によるゲルろ過で観察した。ラット  $\alpha$ -フェトプロテインは少なくとも2つの variant の混合物であり、これらは銅イオンへのアフィニティー、分子量およびポリアクリルアミド・ゲル電気泳動での移動度が異なることを示した。

#### Magnesium Aspartate HCl and Magnesium Sulfate Prevent Cerebrovasospasms Induced by Ethanol and Barium in the Rat Brain Microcirculation

Makoto EMA, Asefa GEBREWOLD\*, Bella T. ALTURA\* and Burton M. ALTURA\*: *Federation Proc.*, 46, 715 (1987)

エタノールおよび BaCl<sub>2</sub> による脳血管収縮に対するマグネシウム塩の効果を, ラット脳表面の細動脈の径を image-splitting TV microscopic recording system により *in situ* で測定することによって検討した. MgSO<sub>4</sub>(MgS) および Mg aspartate HCl (MgA) を脳表面に投与したところ細動脈の拡張がみられた. MgS および MgA とも大腿静脈または内頸動脈内に投与している間, エタノールおよび BaCl<sub>2</sub> による脳細動脈の収縮が抑制された.

\* Department of Physiology, State University of New York Health Science Center at Brooklyn

#### Physiology of the Potentiation of Lethal Endotoxin Shock by Streptococcal Pyrogenic Exotoxin in Rabbits

Toshimi MURAI, Yoshiyuki OGAWA, Hironoshin KAWASAKI and Seizaburo KANO: *Infection and Immunity*, 55, 2456 (1987)

A群溶レン菌発熱性外毒素 (SPE) による大腸菌内毒素 (endotoxin, ET) の致死毒性増強作用について基礎的な解析を行った. SPE (10 µg/kg, iv) を前処置しておくことにより ET (1 µg/kg, iv) 投与後, 一過性の高血糖に続く強度の低血糖, 血中過酸化脂質の著明な増量, 血中 β-glucuronidase 活性の上昇が認められ, これらの変化は ET のみを大量 (100 µg/kg, iv) に投与したときの変化とよく対応していた. このことから SPE は ET の多岐にわたる毒性を全般的に増加する可能性が示唆された. さらに SPE 前処置は ET (100 µg/kg, iv) の血中からの消失を抑制することが判明したが, 少量の ET (1 µg/kg, iv) を投与した際には影響しなかったことから, SPE による ET の毒性増強作用は ET の血中からの消失率の低下のみでは容易に説明し得ないことが明らかとなった.

#### 植物組織培養—材料の滅菌法

下村講一郎: 化学と生物, 26, 173 (1988)

植物の組織培養を始める場合, 対象とする植物の葉, 莖, 根, 種子などを目的に応じて殺菌する必要がある. 材料の採取, 殺菌法などについて我々が日常行っている方法を紹介するとともに注意点についても述べた.

#### Bradykinin-Degrading Glycoprotein in *Aloe arborescens* var. *natalensis*

Akira YAGI\*<sup>1</sup>, Nobuo HARADA\*<sup>2</sup>, Koichiro SHIMOMURA, Itsuo NISHIOKA\*<sup>3</sup>: *Planta Medica*, 19 (1987)

キダチアロエの60%硫酸分画よりタンパクを50.7%含有する糖タンパク (分子量約40,000) を単離した. この糖タンパクは, *in vitro* モルモット摘出回腸でのブラディキニン分解活性を持っていた. アミノ酸分析を組合わせた逆相高速液体クロマトグラフィーで, アロエ糖タンパクはブラディキニンの Pro 7-Phe 8 と Phe 8-Arg 9 を切断することが判明し, タンパク分解活性は, この糖タンパクがカルボキシルペプチド活性を持つことで示唆された.

\*<sup>1</sup> 福山大学薬学部

\*<sup>2</sup> 万有製薬(株)

\*<sup>3</sup> 九州大学薬学部

#### Ri プラスミドと毛根—最近の話題

鎌田 博\*, 大川博志\*, 下村講一郎: 発酵と工業, 45, 865 (1987)

Ri プラスミドを保持する土壤微生物である *Agrobacterium rhizogenes* が植物に感染すると毛根病を引き起こすことが知られている.

この特集では, 病徴の出現に至る過程と Ri プラスミド, Ri プラスミドの種類とオパイン, 毛状根の成長と個体再分化, Ri プラスミドの利用, 毛状根の利用について最近の話題を中心に解説した.

\* 筑波大学遺伝子実験センター

#### Ri プラスミド形質転換細胞による物質生産

下村講一郎, 池田嘉代: 組織培養, 13, 193 (1987)

土壤細菌である *Agrobacterium rhizogenes* が植物に感染すると, 形質転換した毛状根と呼ばする不定根が誘起される. この毛状根を用いての有用物質生産に関して, 最近の論文, 知見および情報を交えて, 毛状根の誘導と培養, 有用物質の生産, 培地中への有用物質の分泌などについて紹介した.

#### 薬のきた道進む道 I

野口 衛: 薬学図書館, 33, 91 (1988)

人類が医学と薬を生みだしてきた歴史を概括し, 東西両洋の古代薬物書神農本草経, ギリシャ本草の記載内容を比較しながら, 古代人の用いた薬について論じた.

- 中原雄二ほか著：覚せい剤とは，p.3～21，**依存性薬物情報シリーズ No.2—「覚せい剤」**依存性薬物情報班  
編京文社（1988）
- 山口照英，柿沼カツ子：NADPH オキシダーゼを含む膜分画の調製，p.804～808，**統生化学実験講座8巻「血液」**日本生化学会編  
東京化学同人（1987）  
\* 東京都臨床研
- 町田豊平\*，田中 彰：第15章泌尿器，p.427～435「**医薬品有害作用の予測**」，北川晴雄監修  
R&Dプランニング（1987）  
\* 東京慈恵会医科大学
- 原田正敏著：漢方薬の使い方，p.122～128，**新・薬学読本** 高木敬次郎編  
日本評論社（1987）
- 原田正敏著：医薬品としての漢方製剤，p.24～25；桂皮（ケイヒ），p.316～318，芍薬（シャクヤク），p.322～324，**東洋医学大辞典** 大塚恭男ほか編  
（佛）講談社（1988）
- 原田正敏著：生物活性志向の研究を進めるにあたって，p.391～402，**新編生物活性天然物質** 柴田承二ほか編  
医歯薬出版（佛）（1988）
- 武田明治：「総論」，p.1～47，「殺菌剤」，p.109～135，「付録，**農薬の残留基準，登録保留基準設定状況**」，p.189～207，**最新農薬学** 井上哲男編  
広川書店（1988）
- 小沼博隆ほか著：サルモネラ，p.27～37，p.190～207，セラウス菌，p.86～100，p.324～341，**食中毒菌の制御**，坂井千三編  
中央法規出版（1988）
- 一戸正勝ほか著：カビ毒による中毒，p.177～180，**中毒医学読本一からだの科学増刊20**，和田 攻編  
日本評論社（1988）
- Shun-ichi UDAGAWA *et al.*: Some Coprophilous Ascomycetes from Peru p.151～168，**Studies on Cryptogams in Southern Peru** Ed. Hiroshi INOUE  
Tokai University Press（1987）
- Shun-ichi UDAGAWA: Geographical Distribution of the Pleomorphic Plectomycetes in Asia and Their Teleomorph-anamorph Connections p.9～28，**Pleomorphic Fungi: The Diversity and Its Taxonomic Implications** Ed. Junta SUGIYAMA  
Kodansha and Elsevier（1987）
- Shun-ichi UDAGAWA, Setsuko SEKITA *et al.*: Thermophilic and Thermotolerant Fungi for Industrial Applications: Mycology Aspects p.117-125, Setsuko SEKITA, Shun-ichi UDAGAWA *et al.*: Thermophilic and Thermotolerant Fungi for Industrial Applications: Chemical Aspects of Mycotoxins p.127-140, **Microbial Biomass Proteins** Ed. M. MOO-YOUNG, K.F. GREGORY  
Elsevier（1987）
- M. E. DOLAN, K. MORIMOTO and A. E. PEGG: Specificity of alkyltransferases isolated from mammalian cells and *E. coli* p.101～111, **Repair of DNA Lesions Introduced by N-Nitroso Compounds**, Ed. B. Myrnes and H. Krokan  
Norwegian University Press（1986）
- 堀内茂友：「消毒薬の毒性と安全性」p.131～149，**実験動物施設における滅菌，消毒作業マニュアル**，前島一淑編  
ソフトサイエンス社（1982）
- 堀内茂友：「毒性領域における獣医学の新展開」，p.2～19，**獣医学におけるフロンティア—毒性学からの挑戦**，大阪府立大学農学部編（昭和63年2月27日）
- 大野泰雄：「細胞膜，および細胞内小器官と毒性」，p.25～40，「中毒の治療と予防」，p.190～203，**毒性学**，大森義仁編  
広川書店（1988）
- Akihiko MAEKAWA and Yuzo HAYASHI: Granulosa/theca cell tumor, Ovary, Rat p.15～22, **Mo-**

**nogr. on Pathology of Laboratory Animals (Genital System)**, Eds., T. C. Jones, U. Mohr, R. D. Hunt, Springer-Verlag, Berlin (1987)

Akihiko MAEKAWA and Yuzo HAYASHI: Adenomatous hyperplasia, Rete Testis, Rat. p. 234~236, **Monogr. on Pathology of Laboratory Animals (Genital System)**, Eds. T. C. Jones, U. Mohr, R. D. Hunt, Springer-Verlag, Berlin (1987)

前川昭彦：がん原性試験，p. 110~122, **化審法 毒性試験法解説**，厚生省生活化学安全性対策室監修，大森義仁編  
化学工業日報社 (1987)

Yuzo HAYASHI and Michihito TAKAHASHI: Modulation of pancreatic acinar cell carcinogenesis by testosterone, p. 200~206, **Experimental Pancreatic Carcinogenesis**, Eds, D. G. Scarpelli, J. K. Raddy, D. S. Longnecker, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida (1987)

伊東信行，林 裕造：カラーアトラス実験腫瘍病理組織学  
ソフトサイエンス (1987)

林 裕造，高橋道人，伊東信行，黒木登志夫：化学物質の発癌性評価

薬事日報社 (1987)

M. HAYASHI *et al.*: Assays for germ-cell mutation in mammals, pp. 245~265, "Long-term and short-term assays for carcinogens".  
IARC, Lyon (1986)

M. HAYASHI *et al.*: Assays for genetic changes in mammalian cells, pp. 167~243, "Long-term and short-term assays for carcinogens, A critical appraisal".  
IARC, Lyon (1986)

石館 基 (監修)，祖父尼俊雄，林 真，松岡厚子，沢田 稔，畑中みどり，能美健彦，松井道子，渡辺雅彦，松井恵子，中館正弘：改訂増補 染色体異常試験データ集  
L. I. C. 社，東京 (1987)

松井道子，谷村頭雄，石館 基ほか著：腸内菌によるサイクラミン酸塩の代謝，pp. 79~108, "腸内フローラの代謝"  
学術出版センター (1988)

野口 衛著：薬学の科学と技術，p. 121~131  
**薬学概論 改訂2版**  
辰野高司，川瀬 清，山川浩司編  
南江堂 (1987)

ブチルヒドロキシアニソール (BHA) の安全性評価に関する有機化学的研究—BHA およびその代謝物と生体成分との反応性の解析: 宮田直樹, 宮原 誠, 神谷庄造

食品等試験検査費 (昭和61年9月~63年2月), 昭和63年2月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

製剤設計の評価方法に関する研究: 武田 寧, 青柳伸男, 鹿庭なほ子

厚生科学研究 (昭和60年9月~63年3月), 昭和63年4月厚生省薬務局審査第一課に報告。

局方製剤の品質規格の設定に関する研究: 青柳伸男, 鹿庭なほ子, 武田 寧, 小室徹雄, 四方田千佳子, 木村俊夫

厚生科学研究 (昭和62年9月~63年3月), 昭和63年4月厚生省薬務局安全課に報告。

毛髪中の覚醒剤の微量分析法: 中原雄二, 島峯望彦, 高橋一徳, 武田 寧

乱用薬物鑑定法整備研究 (昭和62年7月~63年3月), 昭和63年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

クラックの代謝産物に関する研究: 中原雄二, 石上暁子

厚生科学研究 (昭和62年9月~63年3月), 昭和63年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

がん末期医療の在宅ケアのための疼痛管理に用いる麻薬製剤に関する研究: 中原雄二

厚生科学研究 (昭和62年12月~63年3月), 昭和63年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

臭化ブチルスコポラミン含有製剤の迅速分析法: 松田りえ子, 石橋無味雄, 武田 寧

医薬品迅速分析法等作成費 (昭和62年4月~62年10月), 昭和62年10月厚生省薬務局監視指導課に報告。

「医療における日本薬局方医薬品の役割に関する研究」: 田中 彰, 内山 充, 秋葉保次\*<sup>1</sup>, 朝長文弥\*<sup>2</sup>, 鈴木徳治\*<sup>3</sup>, 綱川延孝\*<sup>4</sup>, 坂下 隆\*<sup>5</sup>

厚生科学研究費 (昭和61年11月~昭和62年3月), 昭和62年6月厚生省薬務局安全課に報告。

\*<sup>1</sup> 日本薬剤師会

\*<sup>2</sup> 北里大学病院・薬剤部

\*<sup>3</sup> 千葉大学薬学部

\*<sup>4</sup> 東京医薬品工業協会

\*<sup>5</sup> 大阪医薬品協会

バイオテクノロジーを利用して開発される医薬品等の評価及び品質確保に関する研究 (医薬品開発研究用試薬機器研究班): 沢田純一

厚生科学研究 (昭和62年4月~63年3月), 昭和63年3月厚生省薬務局経済課に報告。

バイオテクノロジー医薬品に対する生体応答の解析に関する基礎的研究: 沢田純一

厚生科学研究 (昭和62年4月~63年3月), 昭和63年3月大沢利昭班長 (厚生省薬務局審査第一課) に報告。

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: 原田正敏, 鈴木英世, 荻原幸夫\*<sup>1</sup>, 鹿野美弘\*<sup>2</sup>, 赤堀 昭\*<sup>3</sup>, 市尾義昌\*<sup>4</sup>, 三浦 治\*<sup>5</sup>

厚生科学研究 (昭和62年4月~63年3月), 昭和63年4月厚生省薬務局審査第二課に報告。

\*<sup>1</sup> 名古屋市立大学, \*<sup>2</sup> 北海道薬科大

\*<sup>3</sup> 小太郎漢方製薬(株), \*<sup>4</sup> 佛津村順天堂

\*<sup>5</sup> 鐘紡(株)

日本薬局方外生薬の品質確保に関する研究: 原田正敏, 鈴木英世, 佐竹元吉, 下村裕子\*<sup>1</sup>, 岡田 稔\*<sup>2</sup>, 鈴木堯\*<sup>3</sup>, 西川洋一\*<sup>4</sup>, 藤田正雄\*<sup>5</sup>, 永井吉澄\*<sup>6</sup>

厚生科学研究 (昭和62年4月~昭和63年3月), 昭和63年3月厚生省薬務局審査第二課に報告。

\*<sup>1</sup> 東京薬科大学, \*<sup>2</sup> 佛津村順天堂

\*<sup>3</sup> 建林松鶴堂(株), \*<sup>4</sup> 東京医薬専門学校

\*<sup>5</sup> ウチダ和漢薬(株), \*<sup>6</sup> 三国(株)

一般用医薬品の評価方法に関する研究: 名尾良憲\*<sup>1</sup>, 伊藤宗元\*<sup>2</sup>, 佐谷圭一\*<sup>3</sup>, 戸部満寿夫, 原田正敏  
厚生科学研究 (昭和62年4月~63年3月), 昭和63年4月厚生省薬務局審査第一課に報告。

\*<sup>1</sup> 東京都社会保険支払基金

\*<sup>2</sup> 慶応健康相談センター

\*<sup>3</sup> アスカ薬局

歯科材料の安全性及び有効性ガイドライン作成に関する研究: 佐藤温重\*<sup>1</sup>, 石川達也\*<sup>2</sup>, 辻 楠雄, 中村晃忠, 田口国雄\*<sup>3</sup>

厚生科学研究費補助金 (昭和61~63年度), 昭和63年

3月厚生省薬務局審査第二課に報告。

- \*1 東京医科歯科大学, \*2 東京歯科大学  
\*3 日本歯科材料工業協同組合

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：横山栄二\*1, 田中 勝\*1, 鈴木継美\*2, 井村伸正\*3, 青木繁伸\*4, 宮本純之\*5, 中村晃忠, 佐藤道夫, 竹中祐典

厚生科学研究（昭和61～62年度）, 昭和63年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

- \*1 国立公衆衛生院, \*2 東京大学医学部  
\*3 北里大学薬学部, \*4 群馬大学医学部  
\*5 住友化学工業(株)

既存化学物質等の毒性点検プログラムの確立に関する研究：井村伸正\*1, 戸部満寿夫, 中村晃忠, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 五十嵐利明, 中館正弘, 大島輝夫\*2, 塚本烈史\*2

厚生行政科学研究（昭和62年度）, 昭和63年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

- \*1 北里大学薬学部  
\*2 日本化学物質安全・情報センター

ベビーパウダーの品質確保のための基礎研究：木嶋敬二

厚生科学研究（昭和62年7月～63年3月）, 昭和63年4月厚生省薬務局審査二課に報告。

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：木嶋敬二, 斎藤恵美子

厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月）, 昭和63年4月厚生省薬務局監視指導課に報告。

繊維状鉱物の安全性評価のための計測法に関する研究：木嶋敬二, 斎藤恵美子, 武田明治  
環境庁保全総合調査研究促進調整費（昭和63年2月～63年3月）, 昭和63年4月環境庁企画調整局研究調査課に報告。

国説自動車排ガス測定所における大気汚染測定調査報告：松村年郎, 滝口秀昭, 亀谷勝昭, 武田明治  
調査報告（昭和61年4月～62年3月）, 昭和63年7月環境庁大気保全局自動車公害課に報告。

水道水の標準分析方法の開発に関する研究 水中のメトキシクロールの分析方法：安藤正典, 松井啓子, 神

野透人, 武田明治

食品等試験検査費（昭和60年12月～61年10月）, 昭和63年6月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

水道水の標準分析方法の開発に関する研究 水中のベンゾ（a）ピレンの分析方法：安藤正典, 松井啓子, 神野透人, 武田明治

食品等試験検査費（昭和61年12月～62年10月）, 昭和63年6月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

タールエポキシ樹脂塗料からの多環芳香族炭化水素の溶出に関する研究：松井啓子, 神野透人, 安藤正典, 武田明治

食品等試験検査費（昭和61年12月～62年10月）, 昭和63年6月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

食品中の各種汚染物質の実態に関する研究：鈴木 隆, 佐々木久美子, 五十嵐敦子, 斎藤行生  
厚生科学研究費（昭和62年4月～63年3月）, 昭和63年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食肉鶏肉中の各種汚染物質等に関する研究：鈴木 隆, 斎藤行生

厚生科学研究費補助金（昭和62年4月～63年3月）, 昭和63年4月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

オーストラリア産輸入肉中の有機塩素系農薬の分析：

鈴木 隆, 佐々木久美子, 斎藤行生

食品等試験検査費（昭和62年6月～63年3月）, 昭和63年4月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

デミリン（ジフルベンズロン）の残留分析法：豊岡利正, 鈴木 隆, 斎藤行生

食品等試験検査費（昭和62年6月～62年7月）, 昭和62年8月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

アメリカ産冷凍豚肉中スルファメサジン分析：豊岡利正, 鈴木 隆, 斎藤行生

食品等試験検査費（昭和63年3月～63年4月）, 昭和63年4月東京検疫所に報告。

食品中の有害物質の検索に関する研究：豊田正武, 斎藤行生, 関沢 純, 鈴木英世, 林 真  
厚生科学研究費（昭和62年4月～63年3月）, 昭和63年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**食品添加物の有用性等に関する調査**：義平邦利，山本都  
厚生科学研究（昭和62年10月～63年3月），昭和63年3月，生活衛生局食品化学課に報告。

**食品添加物の多形核白血球に及ぼす影響に関する研究**：義平邦利，合田幸広，鈴木淳子，森川馨\*，藤田昌彦\*  
食品等試験検査費（昭和61年4月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

\* 公衆衛生院

**第5版食品添加物公定書の乳酸，タルク及びリン酸カルシウムの規格改正案について**：義平邦利，山崎壮，山本都，石綿肇，山田隆  
食品等試験検査費（昭和63年1月）昭和63年1月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**天然添加物の分析法に関する調査，研究**：義平邦利，川崎洋子，小池紀子，合田幸広  
厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月），昭和63年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**天然添加物の変異原性試験等に関する研究**：義平邦利，川崎洋子，黒柳正典\*  
厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月），昭和63年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

\* 静岡県立大薬学部

**タール色素及びその製剤の分析法**：義平邦利，神蔵美枝子，合田幸広，風間成孔\*1，広門雅子\*1，植松洋子\*1，岩原繁雄\*2，井上泰幸\*2，宮崎典子\*2  
食品等試験検査費（昭和62年4月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

\*1 東京都立衛生研究所

\*2 食品薬品安全センター

**亜塩素酸ナトリウム及び次亜塩素酸ナトリウムの試験法の検討**：義平邦利，神蔵美枝子，合田幸広，佐藤恭子  
食品添加物規格基準設定費（昭和62年8月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**食品添加物1日摂取量調査**：神蔵美枝子，武田由比子，川崎洋子，合田幸広，佐藤恭子，小池紀子，鈴木淳子，

義平邦利  
食品等試験検査費（昭和62年2月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**即席ラーメンに添付されている粉末スープ中のポリソルベート検出法の検討**：石綿肇，川崎洋子，武田由比子，山本都，義平邦利  
食品等試験検査費（昭和62年6月～62年7月），昭和62年7月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**安全性試験に用いる天然添加物の品質評価に関する研究—コチニール—**：合田幸広，鈴木淳子，義平邦利  
食品等試験検査費（昭和62年9月～63年3月），昭和63年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**スプレー式ごま油中のフレオンガスの検出試験**：山田隆，義平邦利，斎藤行生，鈴木隆，佐々木久美子，石坂孝  
食品等試験検査費（昭和62年7月），昭和62年7月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**ポップコーン製造器の蒸発残留物の試験**：石綿肇，井上たき子，山田隆，山本都，義平邦利  
輸入食品等の検査（昭和62年6月）昭和62年6月新潟検疫所に報告。

**メラミン樹脂製食器から溶出したホルムアルデヒドのアセチルアセトン法及びAHMT法による定量の比較検討**：石綿肇，井上たき子，義平邦利  
食品等試験検査費（昭和62年8月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**浄水器用銀付着活性炭からの銀の溶出に及ぼす各種溶出条件の比較検討**：石綿肇，井上たき子，義平邦利  
食品等規格設定費（昭和62年6月～62年12月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**市販紙製器具から食品へ移行する化合物に関する検討**：石綿肇，井上たき子，義平邦利，馬場二夫\*  
厚生科学研究（昭和62年7月～63年2月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

\* 大阪市環科研

**天然添加物の規格設定—ハイビスカス色素の品質評価に関する研究—**：佐藤恭子，義平邦利，  
食品等試験検査費（昭和62年6月～63年3月），昭和



63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**タール色素の精度管理**：義平邦利，神蔵美枝子，山田隆，武田由比子，石綿 肇，川崎洋子，山本 都，山崎 壯，合田幸広，佐藤恭子，小池紀子

食品等試験検査費（昭和62年4月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**ワイン中のフェロシアン化合物の検出，定量**：山崎

壯，合田幸広，山田 隆，義平邦利

食品等試験検査費（昭和62年7月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**タルク中のアスベストの分析**：山崎 壯，山田 隆，義平邦利

食品等試験検査（昭和62年10月～62年11月），昭和63年11月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**細菌性食中毒防止のための基礎的サーベランスに関する研究**：小沼博隆，尾上洋一\*1，品川邦汎\*2，塩沢寛治\*3，安形則雄\*4，丹野憲二\*5

厚生科学研究（昭和62年～63年3月），昭和63年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

\*1 神奈川県衛生研究所

\*2 岩手大学農学部

\*3 静岡県衛生環境センター

\*4 名古屋市衛生研究所

\*5 日本食品分析センター

**品質保持期間の設定指標に関する研究**：三瀬勝利，小沼博隆，高山澄江，品川邦汎\*1，丹野憲二\*2

厚生科学研究（昭和61年～63年3月），昭和63年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

\*1 岩手大学農学部

\*2 日本食品分析センター

**畜産食品中の抗生物質個別検査法に関する研究**：小沼博隆，神保勝彦\*，松本昌雄\*

厚生科学研究（昭和61年～63年3月），昭和63年4月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

\* 東京都立衛生研究所

**ヘプタクロルの代謝試験に関する報告**：高橋 惇

既存化学物質委託費，（昭和61年10月～62年4月），昭和62年4月生活衛生局生活化学安全対策室へ報告。

昭和61年度地域し尿適正処理調査報告書：医薬品（抗

生物質の代謝）：嶺岸謙一郎

厚生省委託研究費，（昭和62年2月～62年4月），昭和62年5月生活衛生局水道環境部環境整備課浄化槽対策室へ報告。

**ブチルヒドロキシアニソール（BHA）の安全性評価に関する研究 BHA とそのヒドロキノンおよびキノンのラットとヒト胚細胞に及ぼす影響**：土屋利江，高橋 惇

食品等試験検査費，（昭和61年9月～63年2月），昭和63年2月生活衛生局食品化学課へ報告。

**ムスクキシレンの代謝試験報告**：嶺岸謙一郎，南原精一，福岡正道，高橋 惇

既存化学物質委託費，（昭和59年9月～63年3月），昭和63年4月生活衛生局生活化学安全対策室へ報告。

**オルトフェニルフェノールナトリウム（OPP-Na）のラットによる代謝試験報告**：高橋昭江，佐藤道夫，森本和滋，土屋利江，福岡正道，高橋 惇

食品等試験検査費（昭和60年9月～63年3月），昭和63年5月生活衛生局食品化学課へ報告。

**食品添加物のアレルギー性に関する調査研究-我が国で未指定の食品添加物に関する規格および毒性関連情報の要約の作成**：竹中祐典，内山貞夫，山崎 壯，高橋昭江，関沢 純，橋場茂子，松本清司，大沢利昭\*  
厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

\* 東京大学薬学部

**実験動物を用いる急性毒性試験等の簡易法に関する研究**：西村正雄\*，関沢 純，戸部満寿夫，黒川雄二，内藤克司，山中すみへ\*

厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月），昭和63年3月厚生省薬務局安全課に報告。

\* 東京歯科大学

**底質環境調査（文献調査）**：内海英雄\*1，関沢 純，佐藤孝彦\*2，木苗直秀\*3，井出速雄\*4，中室克彦\*5，門上希和夫\*6，安部明美\*7，細見正明\*8  
環境庁委託調査研究（昭和62年10月～63年3月），昭和63年3月環境庁水質保全局に報告。

\*1 昭和大学

\*2 岐阜薬科大学

\*3 静岡薬科大学

- \*4 東京医科歯科大学
- \*5 摂南大学
- \*6 北九州市衛生試験所
- \*7 神奈川県公害センター
- \*8 国立公害研究所

**実験動物を用いる急性毒性試験等の簡易法に関する研究**：安原加寿雄，内藤克司，内田雄幸，高田幸一，黒川雄二，戸部満寿夫  
厚生科学研究（昭和62年10月～63年3月），昭和63年3月厚生省薬務局安全課に報告。

**覚醒剤の微量分析に関する研究**：関田清司，落合敏秋，松本清司，降矢 強，黒川雄二  
乱用薬物鑑定法整備研究（昭和62年9月～62年12月），昭和63年3月「毛髪による分析研究」班（武田班長）に報告。

**ビス(2,3,3,3-テトラクロロプロピル)エーテルの慢性毒性試験**：関田清司，川崎 靖，松本清司，落合敏秋，白井章夫，安原加寿雄，中路幸男，降矢 強，黒川雄二，戸部満寿夫  
既存化学物質毒性試験（昭和62年4月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

**タール色素の毒性に関する研究**：堀内茂友，児玉幸夫，戸部満寿夫  
厚生科学研究（昭和62年9月～63年3月），昭和63年3月伊藤正俊班長（東邦大学医学部皮膚科学教室）に報告。

**デヒドロ酢酸ナトリウムのラットにおける催奇形性に関する研究**：田中 悟，川島邦夫，中浦楨介，高仲 正  
食品等試験検査費（昭和59年2月～61年10月），昭和63年5月厚生省生活衛生局食品化学課へ報告。

**2,2'-Methylenebis(4-ethyl-6-*tert*-butylphenol)のラットにおける催奇形性に関する研究**：田中 悟，川島邦夫，中浦楨介，高仲 正  
家庭用品等試験検査費（昭和60年10月～62年8月），昭和63年5月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室へ報告。

**注射剤の筋肉内投与による血清CPK活性の上昇と筋組織障害との関連性**：中浦楨介，田中 悟，川島邦夫，

高仲 正，戸部満寿夫  
厚生科学研究（昭和62年9月～63年3月），昭和63年5月厚生省薬務局安全課へ報告。

**注射用水のバリデーションに用いるエンドトキシン試験に関する研究**：藤森観之助，簾内桃子，中沢憲一，高仲 正  
厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月），昭和63年4月厚生省薬務局監視指導課へ報告。

**注射用水の品質バリデーションに関する研究**：高仲 正，藤森観之助，武田 寧，石橋無味雄，石関忠一，柵元憲一  
厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月），昭和63年4月厚生省薬務局監視指導課へ報告。

**家庭用品に使用される化学物質の腎毒性に関する研究**：大野泰雄，高橋 惇  
厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月），昭和63年4月厚生省生活衛生局企画課へ報告。

**GLPにおけるコンピューター査察の方策に関する研究**：高仲 正，中路幸男，林 真  
厚生科学研究（昭和62年4月～63年3月），昭和63年4月厚生省薬務局審査課へ報告。

**タートラジン（食用黄色4号）の慢性毒性・癌性に関する研究**：前川昭彦，松岡千明，小野寺博志，吉田京子，林 裕造  
食品等試験検査費（昭和56年4月～62年3月），昭和63年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**食品添加物の変異原性に関する試験—哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験及びマウス骨髄を用いる小核試験**：沢田 稔，松岡厚子，林 真，祖父尼俊雄，石館 基  
天然添加物安全性調査費（昭和62年10月～63年3月），昭和63年6月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**水道中における微量有機物質の変異原性に関する研究—(1)微生物を用いる突然変異試験**：松井道子，渡辺雅彦，松井恵子，石館 基  
**(2)哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験**：松岡厚子，沢田 稔，祖父尼俊雄，石館 基  
水質管理強化対策費（昭和62年10月～63年3月），昭和63年6月厚生省生活衛生局水道環境部に報告。

既存化学物質の変異原性に関する研究—(1) 微生物を用いる突然変異試験：渡辺雅彦，松井道子，松井恵子，石館 基

(2) 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験：沢田 稔，松岡厚子，祖父尼俊雄，石館 基

既存化学物質毒性試験調査費（昭和62年5月～62年9月），昭和63年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

BHA 代謝産物の変異原性に関する研究—(1) 微生物を用いる突然変異試験：松井道子，渡辺雅彦，松井恵子，石館 基

(2) 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験：松岡厚子，祖父尼俊雄，石館 基

食品添加物安全性再評価費（昭和62年4月～62年7月），昭和63年2月厚生省生活衛生局水道環境部に報告。

生体外染色体異常試験のスクリーニングの精度の向上に関する研究 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験：松岡厚子，沢田 稔，祖父尼俊雄，石館 基  
労働省依託研究費（昭和62年6月～62年7月），昭和63年4月労働省化学物質調査課に報告。

薬用植物の組織培養生成物に関する研究—(1) 微生物を用いる突然変異試験：渡辺雅彦，松井道子，松井恵子，石館 基

(2) 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験：沢田 稔，松岡厚子，祖父尼俊雄，石館 基

薬用植物の組織培養生成物の評価研究費（昭和62年6月～62年9月），昭和63年5月厚生省薬務局審査二課に報告。

残留農薬の多成分分析法の確立「1. 食品中に残留する9種のトリアジン系除草剤の多成分一斉分析法，2. 牛肉中に残留する10種の有機塩素系殺虫剤の多成分一斉分析法」：外海泰秀，長谷川ゆかり，中村優美子，伊藤誉志男

食品等試験検査費（昭和62年8月～62年12月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品由来成分の含有量実態調査研究「食品中のオルトリン酸の含有量調査について」：辻 澄子，稲森一美，柴田 正，伊藤誉志男

食品等試験検査費（昭和62年10月～63年3月），昭和63年5月厚生省生活衛生局食品化学課に提出。

輸入食品中の有害天然成分の調査研究「通気蒸留法による輸入雑豆中のシアンの簡易分析法」：中村優美子，長谷川ゆかり，外海泰秀，伊藤誉志男，田辺弘也\*  
厚生科学研究費（昭和62年10月～62年12月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

\* 相模女子短期大学

日本人の食品添加物の1人1日摂取量実態調査研究「日本人の11種食用タール色素の1人1日摂取量調査研究」：辻 澄子，柴田 正，稲森一美，伊藤誉志男  
食品等試験検査費（昭和62年6月～62年10月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物の有効性に関する研究「1. 細菌及び酵母に対する亜塩素酸ナトリウムの抗菌作用，2. メチルパラベンダゾールの抗菌作用，使用実態，代謝，毒性について」：外海泰秀，長谷川ゆかり，中村優美子，伊藤誉志男

食品等試験検査費（昭和62年11月～63年3月），昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物の製品検査等の規格に関する試験法の作製「高速液体クロマトグラフィーによる食用タール色素中の主色素定銀法の作製，乾燥減量，塩化物，硫酸塩試験法の改良」：柴田 正，辻 澄子，稲森一美，伊藤誉志男

食品等試験検査費（昭和62年4月～63年3月），昭和63年5月厚生省生活衛生局食品化学課に提出。

天然添加物の分析手法等に関する研究「各種団体食品中の11種食用タール色素の系統的分析」：柴田 正，辻 澄子，稲森一美，伊藤誉志男  
厚生省科学研究費（昭和62年9月～63年3月），昭和63年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

輸入果実中のエチレンジプロマイド（EDB）含有量の市場調査研究：外海泰秀，中村優美子，長谷川ゆかり，伊藤誉志男

厚生科学研究費（昭和62年4月～62年7月），昭和63年7月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食品添加物のナトリウム塩と他の塩との代謝比較研究「アルギン酸およびそのナトリウム塩，カリウム塩，カルシウム塩のラットにおける代謝」：中村優美子，長谷川ゆかり，外海泰秀，伊藤誉志男  
食品等試験検査費（昭和62年6月～62年10月），昭和

63年2月厚生省生活衛生食品化学課に報告.

**ジベンゾチアジルスルフィドのラットに対する催奇形試験**: 江馬 真, 坂本 純, 川崎浩之進  
家庭用品等試験検査費(昭和61年10月~62年5月), 昭和62年9月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告.

**バイオテクノロジーを応用して開発された医薬品等の**

**評価および品質確保に関する研究「薬用植物の組織培養生成物の評価に関する研究」**: 佐竹元吉, 戸部満寿夫, 原田正敏, 石舘 基, 古谷 力\*, 田端 守\*  
厚生科学研究補助金総括研究費(昭和62年4月~63年3月), 昭和63年3月厚生省薬務局審査第二課に報告.

---

\* 北里大学

\* 京都大学

栗原正明, 宮田直樹, 神谷庄造: プロキラル中心を有する対称ジケトンの不斉アセタール化

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

福原 潔, 宮田直樹, 神谷庄造: ニトロアレーンの化学: モノおよびジニトロベンツ(a)パイレンの電子構造と還元特性

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

末吉祥子, 丹野雅幸, 神谷庄造: N-アリアル-N-ニトロ化合物における NO ラジカルの生成とトランスニトロ化

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

丹野雅幸, 末吉祥子, 神谷庄造: O-ニトロイソ尿素中間体を経る N-アリアル-N-ニトロイソ尿素類の分解反応

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

Toyohiko KIKUCHI\*, Kiyoshi FUKUHARA, Mitsuo MACHIBA\* and Hideo IIDA\*: Total Synthesis of (-)-Celacinnine, (±)-Celabenzine and (-)-Cela-furine

11th International Congress of Heterocyclic Chemistry, Heidelberg (1987. 8. 20)

\* 東京薬科大学

Kiyoshi FUKUHARA, Naoki MIYATA and Shozo KAMIYA: Synthesis, Chemical Property and Mutagenicity of Dinitrobenzo (a) pyrene

The Japanese-United States Congress of Pharmaceutical Sciences, Honolulu, Hawaii (1987. 12. 3)

Naoki MIYATA, Makoto MIYAHARA and Shozo KAMIYA: Chemical Studies related to the Mechanism of Action 3-BHA (Antioxidant)

International Conference on Medical, Biochemical and Chemical Aspects of Free Radicals (1988. 4. 10)

Makoto MIYAHARA, Naoki MIYATA and Shozo KAMIYA: Studies on the Degradation of 1,3-Diaryl-1-nitrosoureas.

日米合同薬学会 (1987. 12. 3)

宮原 誠, 宮田直樹, 神谷庄造: BHA の化学① そ

の代謝物 *l*-ブチル-1,4-ベンゾキノンの反応性

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

鹿庭なほ子, 青柳伸男, 武田 寧, 緒方宏泰\*: 日局崩壊試験の限界について

第24回全国衛生化学技術協議会年会 (1987. 10. 1)

\* 明治薬科大学

青柳伸男, 鹿庭なほ子, 本郷秀二\*, 武田 寧: インドメタシン坐剤のバイオアベイラビリティに関する研究

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 昭和薬科大学

鹿庭なほ子, 青柳伸男, 武田 寧: モーメント解析パラメータの検出力-モンテ・カルロ法による検討

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 武田 寧: 光学活性医薬品製剤の光学純度に関する HPLC による検討

第24回全国衛生化学技術協議会年会 (1987. 10. 1)

吉岡澄江, 阿曾幸男, 武田 寧: 安定性加速試験法の統計学的考察—その活用と限界—

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 武田 寧: 光学活性な薬物のエビマー化, ラセミ化及び加水分解反応に及ぼす血漿および血清アルブミンの影響

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

S. YOSHIOKA, Y. ASO and M. UCHIYAMA: Statistical Evaluation of Nonisothermal Prediction of Drug Stability and Proposal of a Typical Experimental Design

The Japanese-United States Congress of Pharmaceutical Sciences, Honolulu, Hawaii (1987. 12. 7)

石橋無味雄, 松田りえ子, 内山 充: 少量注射剤 (100 ml 以下) 中の微粒子測定

日本薬学会第107年会 (1987. 4. 3)

Mumio ISHIBASHI, Mitsuru UCHIYAMA: Compendial Standards and Regulatory Issuer in Japan

**PDA International**

Conference on Liquidborne Particle Inspection and Metrology, Virginia (1987. 5. 13)

石橋無味雄, 松田りえ子, 武田 寧: 注射用水の製造に関するバリデーションについて  
第24回全国衛生化学技術協議会年会 (1987. 10. 1)

石橋無味雄: 膜を用いる注射用水のバリデーションについて  
ニューメンブレンテクノロジーシンポジウム88(1988. 3. 15)

林 譲, 松田りえ子, 石橋無味雄: Kalman Filter を用いた分析システム  
第8回液体クロマトグラフィー討論会 (1987. 10. 28)

松田りえ子, 香取典子, 石橋無味雄, 内山 充: ラボラトリオートメーションによる分析条件の最適化  
日本薬学会第107年会 (1987. 4. 2)

林 譲, 松田りえ子, 吉岡澄江, 武田 寧: ロボットによる製剤分析システム I. Kalman filter を用いたデータ処理  
第31回液体クロマトグラフ研究会 (1988. 1. 28)

松田りえ子, 林 譲, 石橋無味雄, 武田 寧: ロボットによる製剤分析システム II. システムの評価  
第31回液体クロマトグラフ研究会 (1988. 1. 28)

松田りえ子, 林 譲, 石橋無味雄, 武田 寧: ロボットによる製剤分析システム  
第3回 LA ロボットシンポジウム (1988. 3. 14)

中原雄二: 喫煙による薬物乱用の化学的研究  
第151回日本神経精神薬理学会 (1987. 6. 16)

中原雄二, 関根 均\*: たばこに混ぜた覚醒剤の喫煙により生成したシアノメチルメタンフェタミンの興奮作用  
第22回日本アルコール医学会 (1987. 9. 29)

\* 埼玉県科学捜査研究所

野崎益司\*, 須崎紳一郎\*, 山本保博\*, 大塚敏文\*, 仁平 信\*, 林田真喜子\*, 中原雄二: シモン法を用いた尿中覚醒剤簡易キットで陽性を示した臨床例の検討

第2回中毒研究会東日本部会 (1988. 1. 16)

\* 日本医科大学

中原雄二, 石上暁子, 武田 寧: 高感度高速液体クロマトグラフィーのための ECD ラベル化剤 III 印加電位ゼロでの BNQ 化アミンの高感度検出法  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

石上暁子, 中原雄二, 武田 寧: 高感度高速液体クロマトグラフィーのための ECD ラベル化剤 IV BNQ 化による覚醒剤関連化合物の高感度 HPLC 分析  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

中原雄二, 石上暁子, 武田 寧, 宇田泰三\*, 伊藤幸勝\*, 宇佐川崇\*, 西村 実\*: メタンフェタミンの選択的検出のためのモノクローナル ELISA 法の開発と実用化  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

\* 宇部興産

島峯望彦, 高橋一徳, 中原雄二, 武田 寧: 安定同位体内部標準法による GC/MS 分析による毛髪中の覚醒剤メタンフェタミンとその代謝物の定量  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

高橋一徳, 島峯望彦, 石上暁子, 中原雄二, 武田 寧: 覚醒剤類似物質デプレニールを投与したサル尿中代謝物の検出  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

関根 均\*, 中原雄二: 覚醒剤の喫煙乱用に関する研究 III 喫煙による覚醒剤熱分解生成量とその生成機構について  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

\* 埼玉県科学捜査研究所

仁平 信\*, 林田真喜子\*, 平川慶子\*, 渡辺日章\*, 中原雄二: 吸着チップ/シモン法による尿中覚せい剤スクリーニング  
第72次日本法医学会総会 (1988. 5. 26)

\* 日本医科大学

大野昌子\*, 落合敏秋\*, 関田清司\*, 角田健司\*, 渡部富雄\*, 島峯望彦, 高橋一徳: 向精神剤のマイクロクリスタルテスト VI

第72次日本法医学会総会 (1988. 5. 26)

\* 昭和大学医学部

早川堯夫: バイオテクノロジー医薬品の現状と試験法  
について

第24回全国衛生化学技術協議会 (1987. 9. 30)

Takao HAYAKAWA: **Biotechnologically-derived  
Medical Agents-Current Regulatory Situation in  
Japan**

INTERSCIENCE Symposium on Biotechnologi-  
cally-derived Medical Agents: The Scientific Basis  
of their Regulation (1987. 9. 13)

Takao HAYAKAWA, Miyako OHTA, Shingo NI-  
IMI, Eriko UCHIDA: **Analytical Procedures for  
Peptides and Proteins Produced by Recombinant  
DNA Technology**

Japan-United States Congress of Pharmaceutical  
Sciences 87 (1987. 12. 6)

谷本 剛, P. F. KADOR\*, J. H. KINOSHITA\*: 基底  
膜産生細胞のアルドース還元酵素とアルデヒド還元酵  
素

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 米国, NIH

川崎ナナ, 谷本 剛, 田中 彰, 神田博史\*, 武田  
理\*, 藤岡尚美\*: アルドース還元酵素阻害作用を有す  
る生薬の検索

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 広島大学医学部

西川 諭\*, 西田好孝\*, 山田泰樹\*, 上村春樹\*, 田中  
俊樹\*, 上杉晴一\*, 池原森男\*, 内田恵理子, 早川堯  
夫: 蛋白質工学によるヒト成長ホルモン誘導体の作成  
と生物活性

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 大阪大学薬学部

福岡正道, 田中 彰, 最上知子: (3-Xenyl) Cyclo  
hexane の  $^2\text{H}$  および  $^3\text{H}$  標識化反応について

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

福岡正道, 田中 彰, 池本 庸\*, 町田豊平\*: 精巢障  
害に関する研究 その1, Dibutyl phthalate (DBP)

による睾丸萎縮について

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 東京慈恵会医科大学

小林茂樹\*, 小谷栄一\*, 佐々木宏光\*, 石井耀子\*, 飛  
永精照\*, 福岡正道, 田中 彰: モノオキシゲナー  
スモデル,  $\text{Fe}(\text{MeCN})_6^{2+}-\text{H}_2\text{O}_2-\text{Ac}_2\text{O}$  によるフェニル  
ブタゾンの酸化について

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 昭和薬科大学

Tsuyoshi TANIMOTO, Peter F. KADOR\* and Jin  
H. KINOSHITA: **The Role of Aldose and Aldehyde  
Reductase in Basement Membrane Production  
The Association for Research in Vision and  
Ophthalmology**

Annual Spring Meeting, Florida, U. S. A. (1987. 5. 5)

\* National Eye Institute, NIH, U. S. A.

尹 康子\*, 阪口正明\*, 石田寿昌\*, 井上正敏\*, 田中  
千秋\*, 谷本 剛: Aldose reductase 阻害剤の立体構  
造の解析とその活性相関について

第37回日本薬学会近畿支部総会 (1987. 11. 1)

\* 大阪薬科大学

内田恵理子, 新見伸吾, 早川堯夫, 田中 彰, 森川  
実\*: 脂肪細胞分化能を有するマウス 3T3 細胞の成長  
ホルモン受容体

第60回日本生化学会 (1987. 10. 12)

\* ニッカウイスキー生産技術研究所

新見伸吾, 早川堯夫, 内田恵理子, 田中 彰: ラット  
皮膚線維芽細胞を用いた glucocorticoid による細胞  
増殖の調節

第60回日本生化学会 (1987. 10. 13)

山口照英, 柿沼カツ子\*: チトクローム c ペルオキシ  
デースによる  $\text{H}_2\text{O}_2$  生成活性の測定

日本炎症学会 (1987. 7. 24)

\* 東京都臨床研

平田洋子\*<sup>1</sup>, 山口照英, 柿沼カツ子\*<sup>2</sup>, 永津俊治\*<sup>3</sup>,  
南 正康\*<sup>1</sup>: MPP<sup>+</sup> の好中球活性酸素生成系に及ぼす  
影響

日本生化学会 (1987. 10. 12)

- \*1 日本医科大学衛生学  
 \*2 東京都臨床研  
 \*3 名古屋大学医学部生化学

山口照英, 山本行男\*1, 吉川 昭\*2, 柿沼カツ子\*1,  
**好中球チトクローム b<sub>558</sub> の精製**  
 日本生化学会 (1987. 10. 13)

- \*1 東京都臨床研  
 \*2 埼玉日赤研究所

神前 格\*1, 山口照英, 山本行男\*2, 柿沼カツ子\*2:  
**CML 患者好中球の活性酸素生成能について**  
 臨床免疫学会 (1987. 10. 17)

- \*1 東芝中央病院  
 \*2 東京都臨床研

池本 庸\*, 町田豊平\*, 小寺重行\*, 御厨裕治\*, 白井  
 尚\*, 三谷比呂志\*, 福岡正道, 田中 彰: **核磁気共鳴**  
**を用いた実験的精巣障害の検討**  
 日本アンドロロジー学会第6回学術大会 (1987. 10. 23)

\* 東京慈恵会医科大学

池本 庸\*, 町田豊平\*, 田中 彰, 小寺重行\*, 御厨  
 祐治\*, 白井 尚\*, 三谷比呂志\*: **精巣障害における**  
**血中 LDH-X の発現に関する基礎的検討**  
 第75回日本泌尿器科学会総会 (1987. 5. 15)

\* 東京慈恵会医科大学

I. IKEMOTO\*, T. MACHIDA\*, A. TANAKA, S. KO-  
 TERA\*, H. MIKURIYA\*, T. SHIRAI\* and H. MI-  
 TANI\*: **Changes in serum lactate dehydrogenase-**  
**X activity observed after experimental testicu-**  
**lar damage**  
 5th International forum of Andrology, Paris (1987.  
 7. 4)

\* 東京慈恵会医科大学

菊池 裕\*1, 入江昌親\*1, 岡田芳男\*2, 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**  
**ローナル抗体の性質**  
 第60回日本生化学会 (1987. 10. 13)

- \*1 星薬科大学  
 \*2 神戸学院大学薬学部

中山 茂\*1, 井口 伸\*1, 岡田芳男\*1, 菊池 裕\*2,

入江昌親\*2, 沢田純一, 池淵秀治, 寺尾允男: **哺乳動**  
**物のメタロチオネイン (MT)1-7 位の合成とその抗原**  
**性について**

第37回日本薬学会近畿支部大会 (1987. 11. 2)

- \*1 神戸学院大学薬学部  
 \*2 星薬科大学

沢田純一, 永松国助, 寺尾允男: **モルヒネに対するモ**  
**ノクローナル抗体の調製及び性質**  
 日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

菊池 裕\*1, 入江昌親\*1, 中山 茂\*2, 井口 \*2伸,  
 岡田芳男\*2, 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性質**  
 日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

- \*1 星薬科大学  
 \*2 神戸学院大学薬学部

鈴木澄子\*1, 中澤裕\*1, 藤田昌彦\*1, 鈴木和博, 岡  
 修一\*2, 中込和哉\*2, 田中秀典\*2: **ヒト好中球の活性**  
**化反応に対するスタウロスポリンの影響**  
 第60回日本生化学会大会 (1987. 10. 13)

- \*1 国立公衆衛生院  
 \*2 工業技術院・微工研

Kazuhiro SUZUKI, Hideharu IKEBUCHI, and Ta-  
 dao TERAO: **Human Growth Hormone Receptor**  
**on Human Cultured Lymphocytes (IM-9); Affi-**  
**nity Isolation and Endogenous Phosphorylation**  
 日米合同薬学大会 (1987. 12. 7)  
 (JUC Pharm Sci '87)

池淵秀治, 手島玲子, 一戸正勝, 寺尾允男: **ニバレノ**  
**ールの免疫測定法について**  
 第27回マイコトキシン研究会 (1988. 1. 13)

池淵秀治, 手島玲子, 佐藤道夫, 沢田純一, 一戸正勝,  
 寺尾允男, 平井和人\*, 柚木 齋\*: **Tetraacetylniva-**  
**lenol に対するモノクローナル抗体の調製と性質**  
 日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

\* 日本医科大学

鈴木英世: **定量用生薬成分について**  
 第16回生薬分析討論会 (1987. 7. 22)

鈴木英世, 野口 衛, 原田正敏: **定量用生薬成分の純**



## 度決定について

第24回全国衛生化学技術協議会年会 (1987. 10. 1)

青木伸實\*, 田中敏嗣\*, 長谷川明彦\*, 山本 進\*, 戸矢崎紀紘\*, 松田良夫\*, 宇田川俊一, 鈴木明子, 成田紀子, 関田節子, 原田正敏: インドネシア産伝承薬からのアフラトキシン生産菌の分離同定

第26回マイコトキシン研究会 (1987. 9. 4)

\* 神戸市環境研

関田節子, 原田正敏, 鈴木明子, 成田紀子, 宇田川俊一: インドネシア伝承薬から分離した黒色不完全菌による citrinin 生産性の研究

第27回マイコトキシン研究会 (1988. 1. 13)

木村正康\*, 古林伸二郎\*, 能登谷浩平\*, 三村泰彦\*, 鈴木 潤\*, 関田節子, 原田正敏: 川芎成分によるマウス血管平滑筋細胞の増殖抑制作用

第61回日本薬理学会 (1988. 3. 24)

\* 富山医薬大

河合賢一\*, 野沢幸平\*, 仲嶋正一\*, 宇田川俊一, 関田節子, 原田正敏: 小菌核型成型 *Aspergillus flavus* の代謝産物の研究

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

\* 星薬科大学

尾崎幸紘, Soedigdo, S\*, Wattimena, J. R\*: クスリウコンの抗炎症作用およびその活性成分

第61回日本薬理学会総会 (1988. 3. 24)

\* バンドン工科大学

有馬四重野\*, 松永佳世子\*, 鈴木真理\*, 早川律子\*, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 中村晃忠: ネルの寝間着布による Pigmented Contact Dermatitis. Naphthol AS 類の化学構造とパッチテスト反応について (III)

第51回日本皮膚科学会東日本学術大会 (1987. 10. 18)

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

新谷英晴: イオンクロマトグラフィーによる血清中の成分の同時分析

日本化学会第55回秋季大会 (1987. 10. 19)

新谷英晴: イオン交換樹脂による血清中の尿毒症成分

## の除去

日本化学会第55回秋季大会 (1987. 10. 17)

辻 楠雄, 菊池 寛, 中村晃忠: 医療用具の残留エチレンオキサイドに関する研究 (第11報) — 眼内レンズに残留するエチレンオキサイドの定量法 —

第62回日本医科器械学会大会 (1987. 5. 22)

NAKAMURA, A., KIKUCHI, H., TSUJI, K.: Analytical method for determining residual ethylene oxide in intraocular lens by ECD-gas chromatography

3rd World biomaterials congress (1988. 4. 25)

NAKAMURA, A.: Analytical method for determining residual ethylene oxide in intraocular lens by ECD-gas chromatography

Tokyo Biomaterial satellite symposium (1988. 4. 28)

松村年郎, 亀谷勝昭, 武田明治, 村松 学\*: 揮発性有機塩素化合物の個人曝露濃度の測定法について

第28回大気汚染学会 (1987. 10. 26)

\* 東京都衛生局

松村年郎, 滝口秀昭, 亀谷勝昭, 武田明治: 主婦を対象とした HCHO と NO<sub>2</sub> の個人曝露濃度の同時測定結果について

第28回大気汚染学会 (1987. 10. 26)

松村年郎: 室内汚染の現状と今後の方向

第28回大気汚染学会 (1987. 10. 26)

Toshiro MATSUMURA, Katsuaki KAMETANI and Mitsuharu TAKEDA: Simultaneous Determination Method of Personal Exposure Levels for formaldehyde and Nitrogen Dioxide

The 4th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Berlin (West), (1987. 8. 19)

木嶋敬二, 斉藤恵美子, 武田明治, 内山裕美\*: 染毛剤の分析 (V) — HPLC による染毛剤の酸化生成物の分析 —

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

\* 北里大学衛生学部

木嶋敬二, 斉藤恵美子, 渡辺四男也\*, 観 照雄\*, 石野正蔵, 原田裕文\*, 永山富雄\*, 岩倉良平\*, 澤村邦夫\*, 西島 靖\*, 平松 功\*, 廣田 博\*, 藤山喜雄\*:  
香粧品試験法防腐剤

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 日本薬学会衛生試験法部会香粧品専門小委員会

神野透人, 松井啓子, 安藤正典, 武田明治: B (a) Pの塩素処理生成物に関する研究

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

鈴木 隆, 佐々木久美子, 斎藤行生: 豪州産輸入肉中の有機塩素系農薬の分析

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

佐々木久美子, 鈴木 隆, 斎藤行生: 魚体中のトリブチルスズとジブチルスズ化合物の分析

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

石坂 孝, 鈴木 隆, 斎藤行生: ビス (トリブチルスズ) オキシドのラットによる代謝

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

豊岡利正, 鈴木 隆, 斎藤行生\*: 新規ベンゾフラザン誘導体の蛍光試薬としての評価

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 東京大学医学部附属病院分院

Toshimasa TOYO'OKA, Takashi SUZUKI, Sadao UCHIYAMA, Yukio SAITO and Kazuhiro IMAI\*: Simultaneous Determination of Thiol and Disulfide by HPLC with Fluorescence Detection and Its Application to Biological Specimen.

The Japanese-United States Congress of Pharmaceutical Sciences (1987. 12. 6)

\* 東京大学医学部附属病院分院

Shoshichi NOJIMA\*<sup>1</sup>, Ken KARASAWA\*<sup>1</sup>, Toshimasa TOYO'OKA, Kazuhiro IMAI\*<sup>2</sup>, Tetsuyuki KOBAYASHI\*<sup>3</sup> and Ichiro KUDO\*<sup>3</sup>: Determination of the Structure of Lysophospholipase L<sub>2</sub> in *E. coli* K-12.

The Japanese-United States Congress of Pharmaceutical Sciences (1987. 12. 6)

\*<sup>1</sup> 帝京大学薬学部

\*<sup>2</sup> 東京大学医学部附属病院分院

\*<sup>3</sup> 東京大学薬学部

内山貞夫: 照射食品の検知法

放射線プロセスシンポジウム (1987. 11. 16)

米谷民雄, 内山貞夫, 武田明治, 斎藤行生: ヒ素とセレンおよびヒ素とテルルを同時投与した時の金属分布と肝亜鉛-チオネイン誘導

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

Curtis D. KLAASSEN\*, Lois D. LEHMAN\* and Tamio MAITANI: Effect of Dosage and Form of Cadmium on its Absorption and Distribution 20th Annual Conference on Trace Substances in Environmental Health (1986. 6. 3)

\* University of Kansas Medical Center

Tamio MAITANI, Yukio SAITO and K. T. SUZUKI\*: Changes of Tissue Calcium Levels after Injection of Cadmium in Three Chemical Forms. The Japanese-United States Congress of Pharmaceutical Sciences (1987. 12. 6)

\* 国立公害研究所

河村葉子, 内山貞夫, 斎藤行生: グレープフルーツのγ線照射による影響 (IV) Halfembryo Test による照射の判別について

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 19)

小林加代子, 豊田正武, 斎藤行生: 高速液体クロマトグラフィーによるバレイショ中グリコアルカロイドの定量法の検討

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

小林加代子, 豊田正武, 斎藤行生, 鶴水昭夫\*: 水耕法および組織培養法を用いて生産されたサラダ菜と従来の土耕品とのクロロフィル及びβ-カロチン含量の比較

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 19)

\* 北里大学付属北里保健専門学院

豊田正武, 小林加代子, 斎藤行生, 田村征男\*<sup>1</sup>, 坂部美雄\*<sup>1</sup>, 木川 寛\*<sup>2</sup>, 河村太郎\*<sup>2</sup>, 鶴水昭夫\*<sup>3</sup>: 陰膳方式によるクロロホルムの一摂取量について

日本食品衛生学会第54回学術講演会 (1987. 10. 16)

- \*1 名古屋市衛生研究所
- \*2 横浜市衛生研究所
- \*3 北里保健衛生専門学院

丹羽源廣\*1, 森元英雄\*1, 小林加代子, 豊田正武, 斎藤行生: バイオリアクターによる乳酸醗酵果汁の製造及び同飲料と通常の醗酵法による飲料との成分上の異同について

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 19)

- \*1 キリンビール(株)

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 II. アルミニウム製品からのアルミニウムおよびその他の金属の溶出

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 18)

神蔵美枝子, 合田幸広, 義平邦利: 食用赤色 104 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55回学術講演会 (1988. 5. 20)

川崎洋子, 合田幸広, 佐藤恭子, 義平邦利: 天然色素の研究 II 市販アカネ着色料中の成分について

日本食品衛生学会第54回学術講演会 (1988. 10. 16)

佐藤恭子, 合田幸広, 奥山恵美, 川崎洋子, 義平邦利, 小関良宏\*1, 中村幹雄\*2: 天然色素の研究 III アカネ (Rubie akaene Nakai) 植物体とその培養細胞の色素成分に関する化学的評価

日本食品衛生学会第54回学術講演会 (1987. 10. 16)

- \*1 東大薬学部
- \*2 三栄化学工業(株)

鈴木淳子, 合田幸広, 義平邦利: 天然色素の研究 IV ベニバナ黄色素の定量について

日本食品衛生学会第54回学術講演会 (1987. 10. 16)

川崎洋子, 合田幸広, 義平邦利: 天然色素の研究 VI 西洋アカネ成分中の変異原物質について

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

森川 肇\*, 秋山秀雄\*, 藤田昌彦\*, 鈴木淳子, 合田幸広, 義平邦利: 多形核白血球を用いた天然食品添加物の安全性に関する研究

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

\* 公衆衛生院

合田幸広, 高野寿子, 佐藤恭子, 神蔵美枝子, 義平邦利: イオンクロマト法による食品タール色素中の塩素イオン, 硫酸イオンの定量について

日本食品衛生学会第54回学術講演会 (1987. 10. 16)

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 II. アルミニウム製品からのアルミニウムおよびその他の金属の溶出

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 18)

小島満子, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 魚介類由来腐敗酵母・腐敗細菌の単独及び混合培養による魚介類中揮発性塩基窒素の生成

日本微生物生態学会第3回大会 (1987. 12. 13)

外海泰秀, 伊藤誉志男, 小島満子: 魚介類由来腐敗酵母・腐敗細菌による脂肪分解能の比較—ガスクロマトグラフィーによる検討—

日本微生物生態学会第3回大会 (1987. 12. 13)

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 小島満子: 細菌および酵母に対する亜塩素酸ナトリウムの抗菌作用

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 18)

Ken-ichi TANAMOTO: Development of a new quantitative method for detection of endotoxin by fluorescence labeling on 3-hydroxy fatty acid. International Symposium on Endotoxin Jichi Medical School, Tochigi, JAPAN (1988. 5. 13)

宮原美知子, 三瀬勝利, 丸山 務\*: *Yersinia* 属菌における制限酵素の産生

第58回日本細菌学会関東支部総会 (1987. 10. 16)

\* 東京都立衛生研究所

Michiko MIYAHARA and Katsutoshi MISE: Rapid Method for Detection of Restriction Endonuclease-producing Strains in Pathogenic Bacteria

2nd International Symposium on Analytical Methods and Problems in Biotechnology, Amsterdam, The Netherlands (1988. 3. 29)

宮原美知子, 三瀬勝利, 工藤泰雄\*, 大橋 誠\*: *Salmonella thompson* と *Salmonella infantis* からの制限酵素検出とその精製

日本薬学会第108年会(1988.4.5)

\* 東京都立衛生研究所

Katsutoshi MISE and Michiko MIYAHARA: Rapid Method for Detection of Restriction Endonuclease-producing Strains of Enterobacteriaceae and Vibrionaceae.

Fifth International Symposium on Rapid Methods and Automation in Microbiology and Immunology Florence, Italy (1987.11.4-6)

小泉信三\*, 林 長生\*, 一戸正勝, 吉野嶺一\*, 加藤 肇\*: ムギ類赤かび病菌の発生生態に関する研究 7. *Fusarium tricinctum* (Cda.) Synd. et Hans. (*F. sporotrichioides* Serb.) によるコムギの赤かび症状とその防除

日本植物病理学会62年度夏季関東部会(1987.7.24)

\* 農林水産省農業研究センター

Masakatsu ICHINOE, Kazuo SUYAMA\*<sup>1</sup> and Hisashi KAMIMURA\*<sup>2</sup>: Isolation, pathogenicity, and mycotoxin production of *Fusarium* spp. from diseased potato tubers.

22th Meeting for the Joint US-Japan Toxic Microorganisms, UJNR, Tsukuba, Japan (1987.11.12)

\*<sup>1</sup> 東京農業大学

\*<sup>2</sup> 東京都立衛生研究所

一戸正勝: 第2回 WHO/FAO/UNEP 合同国際マイコトキシン会議報告—発展途上国のマイコトキシン汚染対策の現状

第27回マイコトキシン研究会(1988.1.13)

岡田早苗\*, K. R. KSWANTO\*, 一戸正勝, 落合史明\*, 小崎道雄\*: インドネシアの固有発酵食品, ダケの微生物について

日本食品工業学会(1988.3.26)

\* 東京農業大学

安形則雄\*<sup>1</sup>, 品川邦汎\*<sup>2</sup>, 上田成子\*<sup>3</sup>, 小沼博隆, 杉山純一\*<sup>4</sup>: 逆受身ラテックス凝集反応による各種由来セレウス菌の下病原性毒素の産生性

日本食品衛生学会第55回学術講演会(1988.5.19)

\*<sup>1</sup> 名古屋市衛生研究所

\*<sup>2</sup> 岩手大学農学部

\*<sup>3</sup> 女子栄養大学

\*<sup>4</sup> デンカ生研株式会社

酒井綾子: BALB 3T3 細胞の2段階トランスフォーメーションに対する数種の食品添加物の作用の検討

日本薬学会第108年会(1988.4.6)

中島廣光\*<sup>1</sup>, 浜崎 敏\*<sup>1</sup>, 西村 薫\*<sup>1</sup>, 木村靖夫\*<sup>1</sup>, 宇田川俊一, 小笠原勝\*<sup>2</sup>, 米山弘一\*<sup>2</sup>, 佐藤定男\*<sup>3</sup>: 植物病原菌 *Neocosmospora vasinfecta* の生産する植物生長調整物質(第2報)

日本農芸化学会昭和63年度大会(1988.4.3)

\*<sup>1</sup> 鳥取大学農学部

\*<sup>2</sup> 宇都宮大学農学部

\*<sup>3</sup> 三共(株)

河合賢一\*, 野沢幸平\*, 仲嶋正一\*, 宇田川俊一, 関田節子, 原田正敏: 小菌核形成型 *Aspergillus flavus* の代謝産物の研究

日本薬学会第108年会(1988.4.5)

\* 星薬科大学

野沢幸平\*<sup>1</sup>, 河合賢一\*<sup>1</sup>, 仲嶋正一\*<sup>1</sup>, 坪内春夫\*<sup>2</sup>, 宇田川俊一: *Ramichloridium apiculatum* NHL 2956の代謝産物の研究

日本薬学会第108年会(1988.4.5)

\*<sup>1</sup> 星薬科大学

\*<sup>2</sup> 名古屋市衛生研究所

庄司昭伸\*<sup>1</sup>, 依藤時子\*<sup>2</sup>, 濱田稔夫\*<sup>2</sup>, 巽 陽一\*<sup>3</sup>, 橋本孝二\*<sup>3</sup>, 戸矢崎紀紘\*<sup>4</sup>, 宇田川俊一: 急性骨髄性白血病に合併した Cutaneous mucormycosis の1例 第75回関西真菌懇談会(1988.5.14)

\*<sup>1</sup> 大阪回生病院

\*<sup>2</sup> 大阪市立大学医学部

\*<sup>3</sup> 大阪市立十三市民病院

\*<sup>4</sup> 神戸市環境保健研究所

岩津都希雄\*, 宇田川俊一: 新種と思われる *Phialophora* の1菌種について

日本菌学会第31回大会(1987.5.31)

\* 千葉大学

高田正樹\*, 宇田川俊一: ヘテロタリク性質を有

する *Talaromyces* の一新種について

日本菌学会第31回大会 (1987. 5. 31)

\* 東洋醸造(株)

堀江義一\*<sup>1</sup>, 山崎幹夫\*<sup>2</sup>, 宇田川俊一: 生薬より分離した子のう菌について

日本菌学会第31回大会 (1987. 5. 31)

\*<sup>1</sup> 千葉県中央博物館\*<sup>2</sup> 千葉大学薬学部宇田川俊一, 畑井喜司雄\*: シャコ (*Squilla oratoria*) の真菌症起因菌と思われる *Phialemonium squillae* sp. nov. について

日本菌学会第31回大会 (1987. 5. 31)

\* 日本獣医畜産大学

Shun-ichi UDAGAWA: Taxonomy and Mycotoxin Production of *Aspergillus* and *Penicillium*

The First China-Japan International Congress of Mycology (1987. 8. 26)

## 青木伸實\*, 田中敏嗣\*, 長谷川明彦\*, 山本 進\*, 戸矢崎紀紘\*, 松田良夫\*, 宇田川俊一, 鈴木明子, 成田紀子, 関田節子, 原田正敏: インドネシア産伝承薬からのアフラトキシン生産菌の分離・同定

第26回マイコトキシン研究会 (1987. 9. 4)

\* 神戸市環境保健研究所

野沢幸平\*<sup>1</sup>, 仲嶋正一\*<sup>1</sup>, 河合賢一\*<sup>1</sup>, 宇田川俊一, 堀江義一\*<sup>2</sup>, 山崎幹夫\*<sup>3</sup>: *Emericella* 属菌類の生産する新規インドロジテルペン誘導体 *Emindole* 類およびその関連化合物

第29回天然有機化合物討論会 (1987. 8. 28)

\*<sup>1</sup> 星薬科大学\*<sup>2</sup> 千葉県中央博物館\*<sup>3</sup> 千葉大学薬学部法月克弘\*<sup>1</sup>, 能崎章輔\*<sup>1</sup>, 宇田川俊一, 河合賢一\*<sup>2</sup>, 川原信夫\*<sup>2</sup>: 新規糸状菌代謝産物 *Dithiosilvatin* の *in vitro* での抗病原真菌活性について

日本医真菌学会第31回総会 (1987. 11. 13)

\*<sup>1</sup> 東洋ビューティサプライ(株)\*<sup>2</sup> 星薬科大学高鳥浩介\*<sup>1</sup>, 一条 茂\*<sup>2</sup>, 宇田川俊一: 畜舎土壌にみる好ケラチン性真菌

日本医真菌学会第31回総会 (1987. 11. 13)

\*<sup>1</sup> 食品薬品安全センター秦野研究所\*<sup>2</sup> 帯広畜産大学岩津都希雄\*, 宇田川俊一: 海水からの *Hortaea werneckii* の分離

日本医真菌学会第31回総会 (1987. 11. 13)

\* 千葉大学

寺尾 清\*<sup>1</sup>, 伊藤恵美子\*<sup>1</sup>, 宇田川俊一, 河合賢一\*<sup>2</sup>, 野沢幸平\*<sup>2</sup>: *Emestrin* の急性毒性

第27回マイコトキシン研究会 (1988. 1. 13)

\*<sup>1</sup> 千葉大学真核微生物研究センター\*<sup>2</sup> 星薬科大学

## 谷井昭夫\*, 宇田川俊一, 堀田治邦\*: 担子菌系統の真菌によるゴボウの黒条病 (新称)

昭和62年度日本植物病理学会北海道部会 (1987. 11. 17)

\* 北海道立十勝農業試験場

森本和滋, 高橋 惇: ラット胸腺における O<sup>6</sup>-alkyl-guanine-DNA alkyltransferase 活性

第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 9)

## 森本和滋, 橋高浩史, 高橋 惇, 宮田直樹, 神谷庄造, 古川文夫, 高橋道人, 林 裕造: ラット前腎上皮細胞における DNA 損傷とその修復の検出 (1) 基礎的條件の検討

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

## K. MORIMOTO, M. FUKUOKA, M. SATO T. TAKAHASHI, T. TSUCHIYA, A. TANAKA and A. TAKAHASHI: Carcinogenic Mechanism of F344 Rat Urinary Bladder Tumors Induced by Sodium o-Phenylphenate

II nd International ISSX Meeting "Xenobiotic Metabolism and Disposition", Kobe, Japan (1988. 5. 19)

## 南原精一, 福岡正道, 田中 彰, 嶺岸謙一郎, 高橋惇: ムスクキシレン (MX) の代謝に関する研究 (4) MX の標識化について

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

最上 (西巻) 知子, 嶺岸謙一郎, 高橋 惇: サル皮表

## 脂質の組成 (II)

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

紅林秀雄, 田中 彰, 高橋 惇: ウサギ肝ミクロソームによるシクロヘキシルアミンの脱アミノ反応. V—重水素同位体効果—

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

Hideo KUREBAYASHI, Masamichi FUFUOKA and Atsushi TAKAHASHI: Possible intermediates on the metabolic pathways for oxidative deamination of cyclohexylamine by rabbit liver microsomes.

4th Biennial General Meeting of The Society for Free Radical Research: International Conference on Medical, Biochemical and Chemical Aspects of Free Radicals, Kyoto, Japan (1988. 4. 12)

土屋利江, 高橋 惇, 朝田総一郎\*, 高久保文恵\*, 江藤一洋\*: *In vitro* assay 系 (全胚, 細胞) での ethylenethiourea の催奇形作用の比較

第27回先天異常学会 (1987. 7. 17)

\* 東京医科歯科大学歯学部

土屋利江, 高橋 惇, 朝田総一郎\*, 高久保文恵\*, 江藤一洋\*: ラット胚細胞培養と全胚培養系による胎仔毒性物質の検索

第14回日本毒科学会学術年会 (1987. 7. 24)

\* 東京医科歯科大学歯学部

土屋利江, 石田章子, 宮田直樹, 高橋 惇, 神谷庄造: 安全性評価に関する生化学的研究 (1) 3-*t*-Butylhydroxyanisole (BHA) および代謝物の embryonic cell assay

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

Toshie TSUCHIYA, Toshihiro IIO\*, Naoki MIYATA, Shouzou KAMIYA, Atushi TAKAHASHI: Metabolism of 3-*tert*-butyl-4-hydroxy anisole and the teratogenic potential of its metabolites

II nd International ISSX Meeting—ISSX-88 “Xenobiotic Metabolism and Disposition” (1988. 5. 18)

\* Showa collage of Pharmaceutical Sciences., Tokyo

松本清司, 落合敏秋, 関田清司, 川崎 靖, 安原加寿雄, 中路幸男, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫: マーモセットによるマイトマイシンCの長期毒性試験 第14回日本毒科学会学術年会 (1987. 7. 22)

金子豊蔵, 安原加寿雄, 池田康和, 鈴木康雄, 鎌田栄一, 小川幸男, 戸部満寿夫: 2-Mercaptoimidazoline (2-MIZ) の毒性に関する研究 (第4報)

第14回日本毒科学会学術年会 (1987. 7. 23)

会田喜崇, 高田幸一, 門馬純子, 斎藤 実, 安原加寿雄, 内田雄幸, 小林和雄: 三種のトリハロメタンの毒性に関する研究 (その1)

第14回日本毒科学会学術年会 (1987. 7. 23)

梅村隆志, 高田幸一, 中路幸男, 岩菜雅美, 小川幸男, 鎌田栄一, 金子豊蔵, 戸部満寿夫: *p*-Dichlorobenzene (*p*-DCB) の毒性に関する吸入と経口投与による差異について

第14回日本毒科学会学術年会 (1987. 7. 23)

高木篤也, 門馬純子, 会田喜崇, 吉本浜子, 鈴木幸子, 高田幸一, 内藤克司, 大野泰雄, 鈴木康雄, 中路幸男, 黒川雄二, 戸部満寿夫: 2,2'-メチレンビス (4-エチル-6-*tert*-ブチルフェノール) の毒性に関する研究 (その1)

第14回日本毒科学会学術年会 (1987. 7. 23)

小林和雄, 内藤克司, 内田雄幸, 安原加寿雄, 高田幸一: Bis-BP: Mg 投与によるラット消化器系および泌尿器系の組織学的変化について

第3回毒性病理学会 (1987. 2. 6)

白井章夫, 松本清司, 落合敏秋, 川崎 靖, 関田清司, 降矢 強: 低体重ラットの血液形態学的検査値 第34回日本実験動物学会 (1987. 5. 21)

降矢 強: 日本における照射食品の毒性を中心とする健全性試験について

第1回韓国食品衛生学会, 特別講演 (1987. 7. 10)

梅村隆志, 高田幸一, 小川幸男, 若菜雅美, 鎌田栄一, 鈴木幸子, 金子豊蔵, 黒川雄二: *p*-Dichlorobenzene (*p*-DCB) 吸入暴露でみられた腎臓障害について 第4回毒性病理学会 (1988. 2. 6)

戸部満寿夫：農薬中毒における解毒剤に関するアンケート調査結果について

第9回中毒研究会 (1987.7.18)

葛西 宏\*, 西村 暹\*, 黒川雄二, 林 裕造：臭素酸カリウムの経口投与によるラット腎 DNA 中の 8-ヒドロキシグアニンの生成

第46回日本癌学会 (1987.9.7)

\* 国立がんセンター生物部

黒川雄二, 松島裕子, 林 裕造：臭素酸カリウムのマウス腎に対する発癌性について

第46回日本癌学会 (1987.9.7)

K. INOUE and J. G. KENIMER\*: Muscarinic stimulation of catecholamine release from PC12 cell is mediated by a pertussi toxin sensitive mechanism

Federation of American Society for Experimental Biology, USA (1987.4.3)

\* Food and Drug Administration, USA

松木則夫\*, 中沢憲一, 斎藤 洋\*: ラット精管単離平滑筋細胞におけるカルシウム電流の特性

第29回日本平滑筋学会 (1987.6.5)

\* 東京大学薬学部

中沢憲一, 松木則夫\*, 斎藤 洋\*: ラット精管単離平滑筋細胞 Ca 電流の Ca 依存性不活性化機構

第76回日本薬理学会関東部会 (1987.6.7)

\* 東京大学薬学部

宇佐見誠\*, 中浦慎介, 山口 恵, 川島邦夫, 田中 悟, 高仲 正, 佐藤孝二\*: ラット培養胎芽の発育に必要な血清成分の検討

第27回日本先天異常学会学術集会 (1987.7.17)

\* 名古屋大学農学部

M. SUNOUCHI, Y. ISHIMI\*<sup>1</sup>, K. MIZOKAMI, M. FUKUHARA\*<sup>2</sup>, A. TAKANAKA, M. HANAOKA\*<sup>1</sup> and Y. MASA-ATU\*<sup>1</sup>: Preparation and characterization of monoclonal antibodies against hamster liver cytochrome P-448-I highly specific to aflatoxin B<sub>1</sub>

VII th International Symposium of Microsomes

and Drug Oxidations, Austraria (1987.8.21)

\*<sup>1</sup> 東京大学薬学部

\*<sup>2</sup> 国立公衆衛生院

M. SUNOUCHI: Activation of chemical carcinogens

VII th International Symposium of Microsomes and Drug Oxidations, Austraria (1987.8.21)

Norio MATSUKI\*, Ken NAKAZAWA, Hiroshi SAITO\*: Effects of adenosine 5'-triphosphate (ATP) on mechanical responses and membrane ionic currents of rats vas deferens

X th International Congress of Pharmacology, Sidney (1987.8.24)

\* 東京大学薬学部

川西 徹, 川野澄江\*<sup>1</sup>, 大野泰雄, 高仲 正, 山添康\*<sup>1</sup>, 加藤隆一\*<sup>1</sup>, 大森義仁\*<sup>2</sup>: 精製チトクローム P-450 再構成系によるニトロソアミン類の代謝

第64回日本癌学会総会 (1987.9)

\*<sup>1</sup> 慶応大学医学部

\*<sup>2</sup> 慈恵医科大学

M. A. ROGAWSKI\*, K. INOUE, S. SUZUKI\* and J. L. BARKER\*: Anterior pituitary cells possess a calcium-dependent chloride conductance that is regulated by GTP-analogs

Society for Neuroscience, USA (1987.11.15)

\* National Institute of Health, USA

大野泰雄：肝毒性試験における代替法～肝遊離細胞を用いた肝毒性試験代替法～

第8回静岡県実験動物研究会「代替法シンポジウム」(1988.2.26)

松木則夫\*, 中沢憲一, 比護勝哉\*, 阿部和穂\*, 斎藤洋\*: カルモジュリン拮抗薬によるジヒドロピリジン感受性 Ca チャネルの抑制

第61回日本薬理学会総会 (1988.3.24)

\* 東京大学薬学部

松木則夫\*, 中沢憲一, 斎藤 洋\*: ラット精管単離細胞のイオン電流に対する神経伝達物質の影響

第61回日本薬理学会総会 (1988.3.26)

\* 東京大学薬学部

井上和秀, J. G. KENIMER\*: ムスカリン性アセチルコリン受容体刺激によるノルエピネフリン放出の機序  
第61回日本薬理学会総会 (1988. 3. 26)

\* Food and Drug Administration, USA

鈴木良典, 大野泰雄, 永松国助, 池淵秀治, 寺尾允男, 高仲 正: 遊離肝細胞を用いた Codeine の毒性発現機構の研究  
第108回日本薬学会総会 (1988. 4. 4)

石館 基, 祖父尼俊雄: 短期試験法による長期毒性の予測  
第14回日本毒科学会学術年会, ワークショップ(1987. 7. 24)

Motoi ISHIDATE Jr., Toshio SOFUNI and Makoto HAYASHI: Quantitative evaluation of genotoxic potency of chemicals in a battery system combined with *in vitro* and *in vivo* tests.  
Xth Internat. Congres of Pharmacol., Sydney (1987. 8. 26)

Motoi ISHIDATE Jr.: Can short-term mutagenicity tests predict the long-term toxicity in animals?  
International Safety Evaluation System. Life Science Res., Tokyo (1987. 10. 20)

林 真, 祖父尼俊雄, 石館 基: 小核試験のための統計学的手法  
日本環境変異原学会第16回大会 (1987. 10. 27)

Hannu NORPPA, Makoto HAYASHI, Toshio SOFUNI, Yukio KODAMA and Motoi ISHIDATE Jr.: Micronucleus test by flowcytometry: Application to mouse peripheral blood  
日本環境変異原学会第16回大会 (1987. 10. 27)

松井道子, 松井恵子, 能美健彦, 水沢 博, 石館 基: ステピオールによる突然変異誘発機構について—サザンプロット法による解析  
日本環境変異原学会第16回大会 (1987. 10. 27)

松岡厚子, 沢田 稔, 畑中みどり, 祖父尼俊雄, 石館 基: 米国 NTP 計画との協力研究—25種化合物の染色体異常試験

日本環境変異原学会第16回大会 (1987. 10. 28)

林 真, 祖父尼俊雄, 石館 基ほか: 小核試験における投与経路の差

日本環境変異原学会第16回大会 (1987. 10. 28)

祖父尼俊雄, 沢田 稔, 畑中みどり, 水沢 博, 石館 基: 活性酸素発生系おける染色体異常誘発—ソフトX線による検討

日本環境変異原学会第16回大会 (1987. 10. 28)

渡辺雅彦, 能美健彦, 石館 基: ニトロアレン類の代謝活性化に関する *Salmonella* 遺伝子のクローニング—構造解析とその利用

日本環境変異原学会第16回大会 (1987. 10. 28)

川瀬雅子, 佐々木澄志, 水沢 博, 吉田東歩\*, 竹内昌男, 石館 基: 培養細胞株におけるマイコプラズマ検出法の確立

第60回日本組織培養学会大会 (1987. 6. 29)

\* 財団法人発酵研究所

佐々木澄志, 水沢 博, 石館 基: v-ras 遺伝子導入 BALB 3T3 細胞を用いた形質転換定量実験系の確立  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9)

竹内昌男, 吉田東歩\*, 水沢 博, 川瀬雅子: 動物細胞株のマイコプラズマ汚染  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9)

\* 財団法人発酵研究所

長谷川良平, 高橋道人, 林 裕造: ラット諸臓器のDNA合成に対する肝部分切除の影響  
第76回日本病理学会総会 (1987. 3. 31)

立松正衛\*, 今井田克己\*, 津田洋幸\*, 朝元誠人\*, 高橋道人, 伊東信行\*: 胆嚢癌に高率に出現するペプシノーゲン陽性癌細胞の免疫組織化学的検索  
第76回日本病理学会総会 (1987. 3. 31)

\* 名古屋市立大学

白井智之\*, 津田洋幸\*, 広瀬雅雄\*, 増井恒夫\*, 立松正衛\*, 長谷川良平, 伊東信行\*: 剖検膀胱にみられた尖圭コンジローマの2例  
第76回日本病理学会総会 (1987. 3. 31)

\* 名古屋市会大学



宮川義史\*, 高橋道人, 林 裕造: マウスの毛周期 (hair cycle) に関する研究—特に系統差について—  
第14回日本毒科学会学術年会 (1987. 7. 24)

\* 日本たばこ生物実験センター

佐藤秀隆, 高橋道人, 古川文夫, 長谷川良平, 宮川義史, 林 裕造: 皮膚二段階発癌モデルにおける OPP-Na のプロモーション作用について  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 7)

宮川義史\*, 滝沢春雄\*, 佐藤秀隆, 高橋道人, 林 裕造: 皮膚二段階発癌における hair cycle とイニシエーション活性の用量反応性について  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 7)

\* 日本たばこ生物実験センター

長谷川良平, 古川文夫, 山下克美\*<sup>1</sup>, 森本和滋\*<sup>2</sup>, 高橋道人, 林 裕造: 膀胱の凍結潰瘍による発癌イニシエーション作用  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 7)

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

\*<sup>2</sup> 国立衛生試験所医化学

高橋道人, 古川文夫, 佐藤秀隆, 長谷川良平, 林 裕造: 食道発癌におけるアルコールの影響  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 8)

Hiroshi KASAI\*, Susumu NISHIMURA\*, Yuji KUROKAWA, Yuzo HAYASHI: Formation of 8-hydroxyguanine in rat kidney DNA after oral administration of potassium bromate.  
46th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (1987. 9. 8)

\* Biol. Div., Natl. Cancer Center Res. Inst.

下地尚史, 長谷川良平, 佐藤秀隆, 古川文夫, 高橋道人, 林 裕造: MNNG ラット胃二段階発癌モデルにおける食塩およびエトキシンの作用  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 8)

前川昭彦, 小野寺博志, 吉田京子, 菅野 純, 川添豊\*: F344 ラットにおける N-Methyl-N-nitrosourea, N-Trimethylsilylmethyl-N-nitrosourea 及び N-Neopentyl-N-nitrosourea の癌原性・標的臓器  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 9)

小野寺博志, 前川昭彦, 吉田京子, 林 裕造: 食用色素黄色4号 (タートラジン) の F344 ラットに於ける癌原性について  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 9)

張 子俊\*, 長谷川良平, 古川文夫, 佐藤秀隆, 高橋道人, 林 裕造: ラット肝二段階発癌におけるアセトアミノフェンのイニシエーション作用  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 9)

\* Dept. Pathol., Korea Cancer Ctr. Hosp., Korea

古川文夫, 高橋道人, 長谷川良平, 佐藤秀隆, 林 裕造: ハムスター実験膀胱における高脂肪食の影響について  
第46回日本癌学会総会 (1987. 9. 9)

Yuzo HAYASHI: Carcinogenic risk evaluation of environmental chemicals.  
The 8th Asia Pacific Cancer Conference (1987. 9. 16)

Michihito TAKAHASHI, Ryohei HASEGAWA, Yuzo HAYASHI and Ja June JANG\*: Effects of various prostaglandin synthesis inhibitors on pancreatic carcinogenesis in hamsters.  
The 8th Asia Pacific Cancer Conference (1987. 9. 16)

\* Dept. Pathol., Korea Cancer Center Hosp.

Ryohei HASEGAWA, Michihito TAKAHASHI, Yuzo HAYASHI and Ja June JANG\*: Co-carcinogenic effect of retinol acetate on the BHA-induced forestomach carcinogenesis in the rat.  
The 8th Asia Pacific Cancer Conference (1987. 9. 17)

\* Dept. Pathol., Korea Cancer Center Hosp.

下地尚史, 長谷川良平, 今沢孝喜, 松岡千秋, 豊田和弘, 古田京子, 古川文夫, 林 裕造: 四塩化炭素とアルコールによる肝硬変の短期作成およびその可逆性  
第4回日本毒性病理学会 (1988. 2. 5)

佐藤秀隆, 豊田和弘, 古川文夫, 岡宮英明, 下地尚史, 長谷川良平, 高橋道人, 林 裕造: アドリマイシン腎毒性の発現とその進展に関する酵素組織学的研究  
第4回日本毒性病理学会 (1988. 2. 5)

永岡隆晴, 小野寺博志, 外館あさひ, 前川昭彦: ラット子宮内膜腺癌の発生に関する実験病理学的研究  
第4回日本毒性病理学会(1988.2.6)

豊田和弘, 古川文夫, 佐藤秀隆, 岡宮英明, 高橋道人, 林裕造: 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  
第4回日本毒性病理学会(1988.2.6)

岡宮英明, 古川文夫, 豊田和弘, 佐藤秀隆, 下地尚史, 長谷川良平, 高橋道人: BOPの投与により発生したハムスターの多発性肝嚢胞  
第4回日本毒性病理学会(1988.2.6)

古川文夫, 豊田和弘, 長谷川良平, 佐藤秀隆, 岡宮英明, 下地尚史, 高橋道人: 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  
第4回日本毒性病理学会(1988.2.6)

外館あさひ, 小野寺博志, 永岡隆晴, 前川昭彦: 若齢雄ラットに見られた下垂体奇形腫の一例  
第4回日本毒性病理学会(1988.2.6)

岡田敏史, 中原裕, 村井真美, 木村俊夫: クロロプロマジンおよびエタクリジンのセルロースへの吸着  
日本薬学会第108年会(1988.4.4)

村井真美, 柴田正, 岡田敏史, 木村俊夫: 逆浸透膜の性能評価における指標物質の検索  
日本薬学会第108年会(1988.4.5)

小室徹雄, 四方田千佳子, 長谷川隆一, 木村俊夫, 伊阪博: 市販インドメタシン徐放性製剤の *in vitro* 溶出挙動に関する考察  
日本薬学会第108年会(1988.4.4)

四方田千佳子, 小室徹雄, 木村俊夫, 伊阪博: キトサン膜のリゾチームによる分解性  
日本薬学会第108年会(1988.4.4)

Tetsuo KOMURO, Chikako YOMOTA and Toshio KIMURA: Fractionation of R- and S-form LPS from *E. coli* UKT-B LPS and their biological activities International Symposium on Endotoxin, Tochigi, Japan (1988.5.11)

Katsuya\* INADA, Masao YOSHIDA\*, Miyuki SUZUKI\*, Kazuhiko TAKAHASHI\*, Horoshi TAMURA\*, Shigenori TANAKA\*, Shigeatsu ENDO\*, Toshimi YOSHIDA\*, Hidetoshi SUDA\* and Tetsuo KOMURO: A new perchloric acid treatment of human plasma for detection of endotoxin by an endotoxin-specific chromogenic test  
International Symposium on endotoxin, Tochigi, Japan (1988.5.11)

\* 岩手医科大学

柴田正, 辻澄子, 稲森一美, 伊藤誉志男: 第4級アミンを用いる化粧品中の各種着色料の簡易定量法  
第21回日本化粧品技術者会研究討論会(1987.6.17)

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 山本公平: 油性食品中カロチノイド系色素の HPLC による定量法  
第24回全国衛生化学技術協議会年会(1987.10.1)

毛利孝明\*, 西岡千鶴\*, 石川英樹\*, 黒田弘之\*, 大北健逸\*, 伊藤誉志男: 生鮮食品中の有機酸の一日摂取量について  
第24回全国衛生化学技術協議会年会(1987.10.1)

\* 香川県衛生算研究所

中村優美子, 長谷川ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 花房実\*, 広瀬英昭\*, 田原迫洋一\*, 處真也\*, 安藤徹: 各種輸入果実中の EDB 分析上の問題点について  
第24回全国衛生化学技術協議会年会(1987.10.1)

\* 大阪空港検疫所

中村優美子, 長谷川ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 通気蒸留装置を用いた輸入雑豆中シアンの簡易分析法  
日本食品衛生学会第54回学術講演会(1987.10.15)

辻澄子, 稲森一美, 柴田正, 伊藤誉志男: イオンクロマトグラフィーによる食品中のオルトリン酸の定量法  
日本食品衛生学会第54回学術講演会(1987.10.15)

中村(山中)優美子, 外海泰秀, 辻澄子, 伊藤誉志男, 内山充: ラットの血清, 肝臓のビタミンA含量およびステロイド代謝に及ぼすスクアレンの影響  
第26回日本栄養食糧学会近畿支部大会(1987.11.21)

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤蒼志男:  
Dean-Stark 蒸留装置を用いる環境水中の微量有機  
化合物の分析

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤蒼志男,  
小島満子: 細菌および酵母に対する亜塩素酸ナトリウ  
ムの抗菌作用

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 18)

辻 澄子, 稲森一美, 柴田 正, 伊藤蒼志男, 内堀伸  
健\*1, 小林健夫\*1, 鈴木 宏\*1, 長谷幸子\*2, 室井順  
子\*2, 兼田 登\*2: イオンクロマトグラフィーによる  
各種食品中のオルトリン酸の分析法および調査結果に  
ついて

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 20)

\*1 日本生活協同組合連合会商品検査センター

\*2 灘神戸生活協同組合商品検査センター

柴田 正, 辻 澄子, 伊藤蒼志男, 三浦和生\*1, 小原  
一雄\*2, 足立忠夫\*2, 儀賀達彦\*3, 浜野 孝\*4, 三ツ  
橋幸正\*4, 青木伸実\*4, 山本 進\*4, 手塚義博\*5: 食品  
中の微量亜硫酸の比色定量法の確立

日本食品衛生学会第55回学術講演会 (1988. 5. 20)

\*1 日本任詰協会

\*2 日本食品分析センター大阪支所

\*3 サデトリ(株)分析センター

\*4 神戸市環境保健研究所

\*5 日本冷凍食品検査協会

江馬 真, Gebrewold, A. \*, Altura, B. T. \*, Altura,  
B. M. \*: ラットにおけるエタノールおよび塩化バリウ  
ムによる脳血管収縮に対するマグネシウム塩の抑制効  
果

第61回日本薬理学会総会 (1988. 3. 26)

\* Dept. of Physiology, State Univ. of New York  
Health Science Center at Brooklyn

小川義之, 村井敏美, 川崎浩之進: 高分子膜モジュ  
ールにより製造した水の品質評価: バイロジェン及び細  
菌リークを指標にして

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

熊谷健夫, 畠山好雄: ホソバオケラの栽培試験 (1) 系  
統比較

日本生薬学会北海道支部第11回例会 (1987. 7. 18)

畠山好雄, 熊谷健夫, 米田該典: ハシリドコロの収量  
と成分含量について

日本生薬学会第34回年会 (1987. 10. 15)

須藤 浩\*, 鎌田 博\*, 下村講一郎, 原田 宏\*:  
*Agrobacterium rhizogenes* を用いての木本植物で  
の毛状根形成とその特性

第10回植物組織培養シンポジウム (1987. 7. 14)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

鎌田 博\*, 下村講一郎, 須藤 浩\*, 原田 宏\*:  
*Atropa belladonna* 毛状根および再分化個体の諸特  
性

第10回植物組織培養シンポジウム (1987. 7. 14)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

池現嘉代, 下村講一郎, 佐竹元吉, 手嶋大輔\*, 青山  
敏信\*: トコンの組織培養に関する研究

第10回植物組織培養シンポジウム (1987. 7. 15)

\* 九州大学付属病院薬剤部

下村講一郎, 池田嘉代, 佐竹元吉, 須藤 浩\*, 鎌田  
博\*: 薬用植物における *Agrobacterium rhizo*  
*genes* を用いての leaf disk 法による形質転換

第10回植物組織培養シンポジウム (1987. 7. 15)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

大川博志\*, 鎌田 博\*, 須藤 浩\*, 下村講一郎, 原  
田 宏\*: *Datura* 毛状根の生長に対するジベレリン  
の効果

第10回植物組織培養シンポジウム (1987. 7. 16)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

Hiroshi KAMADA\*, Hiroshi HARADA\*, Koichiro  
SHIMOMURA: Effects of GA3 on Growth and  
Alkaloid Production by Hairy Roots of *Datura*  
*innoxia*

14th Annual Plant Growth Regulator Society of  
America Meeting [Joint PGRSA-JSCRIP] (1987. 8. 4)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

Kayo IKEDA, Koichiro SHIMOMURA: Tissue Cul-  
ture of *Cephaelis ipecacuanha*: Clonal Propa-  
gation and Alkaloid Production

14th Annual Plant Growth Regulator Society of

America Meeting [Joint PGRSA-JSCR] (1987. 8. 4)

Koichiro SHIMOMURA, Kayo IKEDA, Hiroshi KAMADA\*: Effects of Auxins on Alkaloid Production by Root Cultures of *Duboisia* and *Cephaelis* Plants

14th Annual Plant Growth Regulator Society of America Meeting [Joint PGRSA-JSCR] (1987. 8. 4)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

飯田 修, 佐竹元吉, 一戸正勝, 箕浦修介\*, 岡田稔\*, 三橋 博\*: ミシサイコの炭疽病に関する研究  
日本生薬学会第34回年会 (1987. 10. 16)

\* 津村研究所

池田嘉代, 下村講一郎: トコンの組織培養に関する研究 3. 不定根の液体培養によるアルカロイド生産  
日本生薬学会第34回年会 (1987. 10. 16)

糸川秀治\*, 大木利勝\*, 竹谷孝一\*, 佐竹元吉, 下村講一郎: アカネ属の抗腫瘍活性成分について  
日本生薬学会第34回年会 (1987. 10. 16)

\* 東京薬科大学

嵯峨 均\*<sup>1</sup>, 松本貴子\*<sup>1</sup>, 角谷治夫\*<sup>1</sup>, 小川 徹\*<sup>1</sup>, 鎌田 博\*<sup>2</sup>, 下村講一郎: ムラサキ毛状根によるシコニンの生産  
日本生薬学会第34回年会 (1987. 10. 16)

\*<sup>1</sup> ライオン株式会社

\*<sup>2</sup> 筑波大学遺伝子実験センター

下村講一郎, 池田嘉代, 鎌田 博\*: Ri プラスミド Vir 遺伝子の活性化物質を用いた毛状根の誘導  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

奥山恵美, 山崎 壮, 佐藤恭子, 義平邦利, 下村講一郎, 鎌田 博\*<sup>1</sup>, 小関 宏\*<sup>2</sup>, 中村幹夫\*<sup>3</sup>: 天然色素の研究 v 西洋アカネ (*Rubia tinctorum* L.) の原植物とその培養細胞の色素成分の比較

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\*<sup>1</sup> 筑波大学遺伝子実験センター

\*<sup>2</sup> 東京大学教養学部

\*<sup>3</sup> 三栄株式会社

下村講一郎, 北沢 尚, 岡村信幸\*, 岡本美智枝\*, 八木 晟\*: 丹参の組織培養に関する研究 (1) 不定根培養による Transhinone 類の生産  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 福山大学薬学部

池田嘉代, 下村講一郎, 鎌田 博\*: トコンの組織培養に関する研究 4. 不定根からの個体再分化について  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

浅水哲也\*<sup>1</sup>, 安田一郎\*<sup>2</sup>, 秋山和幸\*<sup>2</sup>, 下村講一郎, 佐竹元吉: *Agrobacterium rhizogenes* の保持する Ri プラスミドによる薬用植物の形質転換と有用物質の生産  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

\*<sup>1</sup> 富山薬事研究所

\*<sup>2</sup> 東京都立衛生研究所

江崎勝司, 佐竹元吉, 楠見武徳\*<sup>1</sup>, 柿澤 寛\*<sup>1</sup>, 福田博史\*<sup>2</sup>, 糸川秀治\*<sup>3</sup>: ペルー産生薬の研究 *Icoja Negra* の成分  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 6)

\*<sup>1</sup> 筑波大学生物系

\*<sup>2</sup> 広島大学薬学部

\*<sup>3</sup> 東京薬科大学

佐竹元吉: 薬用植物の栽培研究の現状と展望  
第20回日本薬剤師会学術大会 (1987. 9. 20)

野口 衛, 細田勝子, 玉置克己, 本下哲史, 八田真義: 薬用植物の栽培と調製に関する研究 第1報, キキョウについて  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

野口 衛, 細田勝子, 北野 謙: 薬用植物の栽培と調製に関する研究 第2報, キジツについて  
日本薬学会第108年会 (1988. 4. 4)

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62年に行った演題は次のとおりである。

### 第293回（昭和62年4月14日）

1. 局方はちみつの芽胞汚染の実態  
衛生微生物部 ○高山 澄江  
林 長男
2. 日本人の食品添加物1人1日摂取量調査研究  
大阪支所食品部 ○伊藤 蒼志男  
四方田 千佳子
3. 妊娠期投与メチルアゾキシメタノールのラット出生仔行動に及ぼす影響  
薬理部 長尾 重之
4. 臭素酸カリウムの発癌性における用量作用関係  
病理部 ○今沢 孝喜  
松島 裕子  
高村 直子  
黒川 雄二
5. ラット肝2段階発癌におけるアセトアミノフェンのイニシエーション作用の検索  
病理部 ○長谷川 良平  
古川 文夫  
豊田 和弘  
佐藤 秀隆  
張 子俊  
高橋 道人
6. 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  
変異原性部 ○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

### 第294回（昭和62年5月12日）

1. ラット腎遊離細胞への有機陰イオン、8-anilino-1-naphthalene sulfonate の取り込み機構  
薬理部 大野 泰雄
2. アスコルビン酸を含有する市販清涼飲料水中の過

酸化水素の分析法及びその測定値について

- 大阪支所食品部 辻 澄子
3. 培養細胞株におけるマイコプラズマ検出法の確立  
変異原性部 ○川瀬 雅子  
佐々木 澄志  
水沢 博
  4. 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  
合成化学部 宮原 誠
  5. 1-n-propyl-1-nitrosourea (PNU) 投与 F344 ラットにおける胸腺 DNA の修飾  
医化学部 森本 和滋

### 第295回（昭和62年6月9日）

1. P-DCBの吸入及び経口投与による体内蓄積量とその毒性発現の差異について  
毒性部 梅村 隆志
2. クロルプロマジンおよびエタクリジンのセルロースへの吸着  
大阪支所薬品部 岡田 敏史
3. タートラジン（食用黄色4号）のF344ラットにおける病原性について  
病理部 ○松岡 千明  
小野寺 博志  
前川 昭彦
4. オキサゼパムのラセミスヒ反応の速度論的検討  
薬品部 ○阿曾 幸男  
吉岡 澄江  
柴崎 利雄  
内山 充
5. ケイヒ配合漢方エキス剤の品質管理のための指標成分について  
生薬部 ○鈴木 英世  
野口 衛
6. メースの抗炎症効果とその活性成分の研究  
生薬部 ○尾崎 幸紘  
関田 節子

### 第296回（昭和62年7月7日）

「国立衛生試験所におけるデータベース」

1. 文献情報整理のためのパーソナルデータベース  
療品部 中村 晃忠
2. NMR スペクトルデータベースの作成と検索法  
療品部 叶 多謙蔵

3. *In vitro* 染色体異常試験のデータベース  
(1) データベースシステムの概要  
変異原性部 林 真
4. *In vitro* 染色体異常試験のデータベース  
(2) 951化合物についての解析  
変異原性部 祖父尼 俊 雄
5. 農薬評価情報データベース  
化学物質情報部 関 沢 純
6. 食品中の有害物質に関するデータベース  
食 品 部 豊 田 正 武
7. 細胞株データベース「JDACS」  
変異原性部 水 沢 博
8. 食品中の汚染物モニタリングデータベース  
食 品 部 斉 藤 行 生
9. バイオロジカルデータベース  
化学物質情報部 中 館 正 弘
- 療 品 部 ○小 嶋 茂 雄  
変 異 原 性 部 能 美 健 彦
4. シブチルスズのラットにおける代謝  
食 品 部 石 坂 孝
5. 雄ラットによるブチルスズ化合物の尿中S含有代謝物について  
食 品 部 ○鈴 木 隆  
石 坂 孝
6. ラット膀胱上皮細胞における DNA 損傷とその修復(その2) OPP およびその代謝物について  
医 化 学 部 ○森 本 和 滋  
福 岡 正 道
7. 四塩化炭素とアルコールによる肝硬変の短期作成およびその可逆性  
病 理 部 長 谷 川 良 平
- 病 理 部 ○下 地 尚 史  
今 沢 孝 喜  
松 岡 千 明  
古 田 京 子  
高 村 直 子  
古 川 文 夫  
長 谷 川 良 平

## 第297回(昭和62年9月8日)

1. 酵母および細菌による魚介類の腐敗について  
衛生微生物部 小 島 満 子
2. 輸入果実中 E. D. B. の残留分析について  
大阪支所食品部 長 谷 川 ゆかり
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  
大阪支所薬理微生物部 小 川 義 之
4. インドネシア産薬用植物の研究  
Graptophyllum Pictum の成分について  
生 薬 部 ○関 田 節 子  
尾 崎 幸 紘
5. Dinitrobenzo [a] pyrene の合成および変異原性の解析  
合 成 化 学 部 福 原 潔
6. 胚細胞培養と全胚培養系における胎仔毒性物質の検索  
医 化 学 部 土 屋 利 江

## 第298回(昭和62年10月13日)

1. N-ニトロソ尿素類の分解反応における置換基効果  
合成化学研究部 ○末 吉 祥 子  
丹 野 雅 幸
2. ラットの血清および肝臓のビタミンA含量およびステロイド代謝に及ぼす食餌性スクアレンの影響  
大阪支所食品部 中 村 優 美 子
3. 防カビ剤  $\alpha$ -ブロモシナムアルデヒドの変異原性ならびに市販防カビ製品の分析

## 第299回(昭和62年11月10日)

1. 腐敗酵母または腐敗細菌により生成される魚介類中揮発性塩基窒素の経日変化  
衛生微生物部 小 島 満 子
2. 腐敗酵母または腐敗細菌による脂肪分解能の比較  
大阪支所食品部 外 海 泰 秀
3. 好氣的及び嫌氣的条件下における N-ニトロソ尿素の分解様式の違いについて  
合成化学研究部 ○丹 野 雅 幸  
末 吉 祥 子
4. 照射グレープフルーツの検知法に関する研究  
食 品 部 ○内 山 貞 夫  
豊 岡 利 正  
河 村 葉 子
5. グレープフルーツに含まれるチオール化合物の $\gamma$ 線照射による変化  
食 品 部 ○豊 岡 利 正  
内 山 貞 夫
6. デプレニルを投与したサル尿中代謝物の検出  
薬 品 部 石 上 暁 子
7. 非等温法による安定性予測の統計学的考察  
薬 品 部 吉 岡 澄 江

第300回(昭和62年12月8日)

1. 3種のトリハロメタンの毒性に関する研究  
 毒 性 部 会 田 喜 崇
2. 2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェ  
 ノール)の毒性に関する研究  
 毒 性 部 ○高 木 篤 也  
 薬 理 部 大 野 泰 雄
3. サル表皮脂質の組成  
 医 化 学 部 最 上 知 子
4. 高速液体クロマトグラフ法による軟膏およびクリ  
 ーム中のプロピオン酸ベクロメタゾンの定量  
 生 物 化 学 部 徳 永 裕 司
5. イオンクロマトグラフ法による食用タール色素中  
 の塩化物、硫酸塩試験法について  
 食 品 添 加 物 部 ○合 田 幸 広  
 佐 藤 恭 子  
 神 蔵 美 枝 子  
 義 平 邦 利
6. ポリ塩化ビニル製品中の無水フタル酸の定量法  
 療 品 部 五 十 嵐 良 明
7. 微小医療用具に残留する滅菌ガス(エチレンオキ  
 サイド)の定量法と眼内レンズの残留量について  
 療 品 部 ○辻 楠 雄  
 菊 池 寛

第301回(昭和63年1月12日)

1. 植物体とその培養細胞の成分に関する化学的評価  
 法について(1)  
 食 品 添 加 物 部 ○佐 藤 恭 子  
 合 田 幸 広  
 奥 山 恵 美  
 川 崎 洋 子
2. 培養細胞中に培地から取り込まれた微量金属につ  
 いて  
 食 品 添 加 物 部 山 崎 壮
3. 改良ランキン装置を用いた輸入雑豆中のシアンの  
 簡易分析法  
 大 阪 支 所 食 品 部 中 村 優 美 子
4. 脳下垂体前葉腫瘍細胞クローン GH3 cell での  
 Ca<sup>2+</sup> 依存性 Cl<sup>-</sup> 電流の発見と GTP 類化合物に  
 による制御  
 薬 理 部 井 上 和 秀
5. 脂環族一級アミンのマイクロソームによる N-水酸  
 化反応とその検出  
 医 化 学 部 紅 林 秀 雄
6. 小核試験のための統計学的手法

変異原性部 林 真

第302回(昭和63年2月9日)

- 『新しい *in vitro* 試験法による安全性評価へ  
 のアプローチ—Alternative Toxicology』
1. *In vitro* 染色体異常試験法の現状—他の試験系  
 との比較  
 変 異 原 性 部 祖 父 尼 俊 雄
  2. BALB 3T3 細胞のトランスフォーメーションを  
 指標とする発癌イニシエーターとプロモーターの  
 検索  
 衛 生 微 生 物 部 酒 井 綾 子
  3. 癌遺伝子 *ras* を導入した BALB 3T3 細胞株  
 (Bhas 42) の発癌プロモータースクリーニング系  
 開発への応用  
 変 異 原 性 部 ○佐々木 澄 志  
 水 澤 博  
 石 館 基
  4. 肝及び腎細胞を用いた *in vitro* 毒性試験法  
 薬 理 部 大 野 泰 雄
  5. 培養神経細胞を用いた神経機能障害性の *in vitro*  
 試験法  
 薬 理 部 井 上 和 秀
  6. プタ遊離嗅細胞を用いた *in vitro* 試験法—匂い  
 物質に対する膜電位および膜流動性変化について  
 毒 性 部 佐 井 君 江
  7. 全胎芽を用いた催奇形性の *in vitro* 試験法—ラ  
 ット胎芽培養液としての血清成分の検討  
 薬 理 部 中 浦 楨 介
  8. 細胞培養を主とした催奇形性の *in vitro* 試験法  
 医 化 学 部 土 屋 利 江
  9. *In vitro* 免疫機能試験法  
 放 射 線 化 学 部 沢 田 純 一
  10. アラキドン酸カスケード関連酵素を用いた *in*  
*vitro* 試験法  
 食 品 添 加 物 部 合 田 幸 広
- 第303回(昭和63年3月8日)
1. 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  
 食 品 添 加 物 部 ○神 蔵 美 枝 子  
 合 田 幸 広
  2. Dean-Stark 蒸留装置を用いる環境水中の微量有  
 機化合物の分析  
 大 阪 支 所 食 品 部 長 谷 川 ゆ かり

3. ニトロアレン類の代謝活性化に関与する *Salmonella* 遺伝子のクローニング—構造解析とその利用—  
 変異原性部 渡辺雅彦
4. ラット胸腺におけるO<sup>6</sup>-アルキルグアニン—DNAアルキルトランスフェラーゼ活性  
 医化学部 森本和滋
5. ラットの長期発癌性試験における白内障の発生について  
 病理部 ○豊田和弘  
 松岡千明  
 古川文夫
6. *p*-Dichlorobenzene (*p*-DCB) のラットにおける毒性学的研究—性差と腎障害について—  
 毒性部 梅村隆志
7. *p*-Dichlorobenzene (*p*-DCB) の腎における毒性学的研究—腎における eosinophilic body 発現の一考察—  
 毒性部 ○若菜雅美  
 金子豊蔵  
 食品部 内山貞夫



## 支 所 例 会

## 第89回 (昭和62年6月22日)

薬理微生物部 小川 義之

1. ペアードイオンクロマトグラフ法による複合ビタミンB散の定量法  
薬品部 中原 裕
2. 4(S)-アルキル-1,3-チアゾリジン-2-チオンを用いる不斉アミド化ならびにアシル化反応  
食品部 長谷川 ゆかり
3. 標準 endotoxin と合成 Lipid A の数種生物活性における比較  
薬理微生物部 荒木 宏昌

## 第90回 (昭和62年7月20日)

1. 血中ピンドロールの分割定量とその応用  
薬品部 長谷川 隆一
2. マウス・ラットのコレステロール胆石形成およびステロイド代謝に及ぼす食餌性タウリンの影響  
食品部 中村 優美子
3. 細菌性発熱物質 (LPS) およびその加熱分解産物の限外ろ過による除去

## 第91回 (昭和62年9月21日)

1. 医薬品試験用標準品について  
薬品部 木村 俊夫
2. 食品中のポリソルベートの検出・定量法  
食品部 外海 泰秀
3. Diethylene glycol mono-*n*-butyl ether のラット次世代に及ぼす影響  
薬理微生物部 江馬 真

## 第92回 (昭和62年11月26日)

1. 市販インドメタシン製剤の *in vitro* 溶出試験  
薬品部 小室 徹雄
2. ラットの血清及び肝臓のビタミンA含量およびステロイド代謝に及ぼす食餌性スクアレンの影響  
食品部 中村 優美子
3. エンドトキシン試験法に関する問題点  
薬理微生物部 川崎 浩之進

---

 特別講演会
 

---

昭和62年7月3日

Plant tissue culture for production of agrichemicals and pharmaceutical: Recent experimental approaches

Louisia State University Dr. Hector E. Flores

昭和62年7月17日

Sister chromatid exchange and cancer incidence  
安全性生物試験研究センター変異原性部

Dr. Hannu Norpa

昭和62年9月10日

「エイズ」について

国立予防衛生研究所腸内ウィルス部長

北村 敬

昭和62年9月18日

「コンピューター分子設計の新しい方法論」について

東京大学薬学部教授 板井 昭子

昭和62年9月25日

「植物のバイオテクノロジー」について

筑波大学生物学系助教授 鎌田 博

昭和62年10月7日

「薬物依存性の評価」について

財団法人 実験動物中央研究所

付属前臨床医学研究所長 柳田 知司

昭和62年11月11日

「癌標的臓器と不定期 DNA 合成」について

東京大学医科学研究所教授 松島 泰次郎

昭和62年11月27日

「成人T細胞白血球ウィルス」について

京都大学ウィルス研究所長 日沼 頼夫

昭和62年12月11日

「癌細胞の薬物耐性」について

癌研究会癌研究所 鶴尾 隆

昭和63年1月18日

「GTP 結合蛋白と細胞の情報伝達」について

東京大学薬学部教授 宇井 理生

昭和63年2月4日

「食細胞の応答とその酸素代謝」について

東京大学医科学研究所教授 金ヶ崎 士朗

---

 支所所内講演会
 

---

1. 昭和62年11月25日

制がん薬の体内送達システムについて

京都大学薬学部助教授 橋田 充

2. 昭和62年12月2日

インドネシア国への医療協力について

(財)日本公定書協会 川村 次良

3. 昭和63年3月10日

欧米の薬局方調査について

(社)東京医薬品工業協会常務理事

豊田 勤治

## 昭和62年度に行った主な研究課題

## Main Research Projects Carried Out in Fiska Year 1987

## 特別研究 (厚生省)

- 生活関連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, 衛徴, 医化学, 変異原, 支所食品)  
Disposition and toxicological mechanism of toxic trace compounds in the environment and food stuffs
- 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, 療品, 添加, 薬理, 病理, 支所薬徴)  
Studies on development of quality tests of high molecular drugs produced by new manufacturing methods such as recombinant DNA technology and others

## 国立機関原子力試験研究費 (科学技術庁)

- 標識化合物を用いた化粧品安全性試験法の開発研究 (食添, 合成, 放射, 薬理)  
Development of the assay system for evaluation of the safety of cosmetics by using radiolabeled compounds
- 薬用植物の優良品種の選抜法の開発研究 (筑波, 合成, 放射線)  
Studies on bleeding of medicinal plants by using radioimmunoassay
- 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基礎的研究 (生物, 療品, 放射線, 医化学)  
Utilization of labelled compounds and cell technology for the development of *in vitro* sensitization tests for drugs and chemicals
- 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)  
Preparation and evaluation of standard drugs to estimate the effects of formulation materials on the bioavailability
- 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 (放射線, 食品, 食添, 衛徴, 筑波)  
Development of analytical methods of food contaminants by using radiolabeled com-

pounds

- 柑橘類の $\gamma$ 線照射の有無判別法および健全性に関する研究  
Studies of identification and wholesomeness of gamma-irradiated citrus fruits
  - 柑橘類等の $\gamma$ 線照射の有無判別法に関する研究 (食品)  
Study of identification of gamma-irradiated citrus fruits
  - $\gamma$ 線照射した柑橘類の毒性に関する研究 (毒性)  
Toxicological studies on irradiated grape fruits
  - $\gamma$ 線照射した柑橘類等の変異原性に関する研究 (変異原)  
Mutagenicity study on gamma-irradiated citrus fruits
- 遺伝子組換えを利用したラジオイムノアッセイの改良に関する基礎的研究 (放射線)  
Studies on improvement of radioimmunoassay by genetic engineering
- 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)  
Research on hemocompatibility changes of biomedical polymers by  $\gamma$ -ray sterilization

## 放射能調査研究費 (科学技術庁)

- 環境資料中の天然放射性核種の調査に関する研究 (環境)  
Studies on the determination of natural radioactive nuclides in environmental samples

## 科学技術振興調整費 (科学技術庁)

- 免疫学的受容体の修飾・機能変換技術の開発  
免疫調節因子受容体の修飾・機能変換技術の開発  
Development of methods for functional modification of receptors involved in immunological function
  - 生化学的修飾によるリンパ球の成長ホルモン受容体の機能に関する研究 (放射線)  
Studies on the functional modification of growth hormone receptors of human lymphocytes by biochemical methods
- 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  
生体膜を利用した生理活性物質の分離、精製等  
の開発（療品）

Study on development of technology for separation and purification of biologically active substances using biomimetic membranes

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）  
Development of the predictive system for *in vitro* or *in vivo* toxicities of chemicals by the estimation of their structure-activity relationship (SAR) on the knowledge base system
4. 先端技術を用いた食品添加物の生産技術と安全性試験法の確立に係わる基礎研究（食添、食品、衛微、医化、合成）  
Studies on production of food additives in high technology and development of the test method for the safety of the products
5. 遺伝子操作等を利用した病原微生物と毒性物質の検出法開発にかかわる研究（衛微、生物、放射線）  
Methods for detection of pathogenic bacteria and their toxic substances with use of recombinant DNA technology
6. 最近開発された遊離細胞実験系を用いた臓器特異的毒性発現機序に関する研究（薬理）  
Studies on the organ specific toxicity using recently established freshly isolated cells

#### 国立機関公害防止等試験研究費（環境庁）

1. 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（環境、食品、医化学、毒性）  
Development of a human monitoring procedure for lipophilic environmental pollutants and its application to exposure assessment
2. 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）  
Development of the method to detect *in vivo* cytogenetic effects of environmental pollutant chemicals at low dose level
3. 強毒性が予想される環境汚染物質等の培養系を用いた低容量安全性検出法の確立に関する研究（薬理）  
Studies in the assessment of putative poten-

tial toxicity of environmental pollutants at low dose using culture systems

4. 公共用水域の保全に係わる高分子凝集剤の評価に関する研究（毒性、環境）  
Evaluation of polyelectrolytes to the ambient water quality conservation
5. 環境汚染物質の摂取総量に体する経路別寄与率の評価手法確立に関する研究（食品）  
Assessment of total human exposure to environmental pollutants through food, water and air
6. 陸水域における環境変異原物質の動態に関する研究（環境、支所食品）  
Movement of mutagenic substances in fresh water

#### 環境保全総合調査研究促進調整費（環境庁）

繊維状鉱物の安全性評価のための計測法に関する研究（環境）  
Studies on measurement of mineral fibrous materials for safety evaluation

#### 厚生科学研究費補助金（厚生省）

1. 新食品の安全性評価手法に関する調査研究（副所長）  
Evaluation methodology for safety and wholesomeness of newly developed foodstuffs
2. 注射剤の局所刺激性に関する研究（センター長、毒性）  
Study on local irritation by intramuscular injection in rabbits
3. 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、生薬、センター長、毒性、薬理、変異原、支所長）  
Studies on the standards for ingredients and additives of drugs not in the Japanese Pharmacopoeia
4. 製剤設計の評価方法に関する研究（薬品）  
Studies on the design and evaluation of dosage forms
5. 局方製剤の品質規格の設定に関する研究（薬品、支所薬品）  
Studies on the standards of drug formulations in Japanese Pharmacopoeia
6. クラックの尿中代謝産物に関する研究（薬品）  
Inhalation efficiency and pyrolysis products of cocaine by smoking crack, and their metabolites in urine

7. 医療における日本薬局方医薬品の役割に関する研究 (生物, 副所長)  
Studies on roles of pharmaceuticals in Pharmacopoeia of Japan in medical treatment
8. 日本薬局方外生薬の品質確保に関する研究 (生薬, 筑波)  
Studies on security of the quality of the crude drugs not in the Japanese Pharmacopoeia
9. 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)  
Studies on decoctions guiding security of the quality of the Chinese extract medicines
10. 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)  
Development of simple and rapid determination methods for prescription components of cosmetics
11. 食品中の各種中の汚染物質の実態に関する研究 (食品)  
National survey of pollutants in foods
12. 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)  
Establishment of a data-base for the listing of harmful substances in foods
13. 天然添加物の分析法等に関する研究 (食添, 支所食品)  
Studies on analysis of natural food additives
14. 紙製器具の衛生確保に関する研究 (食添)  
Hygienic chemistry on utensils for foods
15. 品質保持期間の設定指標研究 (衛徴)  
Studies on the indicative feature for shelf life of foods
16. 患者由来 Streptococcus のプラスミドと溶原ファージに関する遺伝生化学的研究 (衛徴)  
Genetical and biochemical studies on plasmids and phages carried in Streptococcus of human origin
17. 細菌性食中毒防止のための基礎的サーベイランスに関する調査研究 (衛徴)  
Studies on the basal information system of food poisoning surveillance
18. 食品添加物のアレルギーに関する調査研究 (情報)  
Investigation of toxicological and biochemical literatures on some food additives listed in the FAO/WHO(AI) food additives list and preparation of their summarized monographs
19. GLP におけるコンピューター査察の方策に関する研究 (薬理, 毒性, 変異原)  
Investigation and preparation of guide to inspection of computerized system in GLP
20. 注射用水の品質バリデーションに関する研究 (薬理, 薬品, 衛徴, 支所薬徴)  
Studies on the process validation to the preparation of water for injection
21. 発癌性を有する医薬品のリスクアセスメントに関する研究 (病理)  
Risk assessment of carcinogenic pharmaceuticals
22. 体外診断用医薬品の標準化に関する研究 (生物)  
Research on standardization of *in vitro* diagnostic agents
23. 医薬品による重篤な副作用の防止に関する研究 (ショック) (センター長)  
Study on the prevention of serious side effects by medical drugs
24. 一般用医薬品の評価方法に関する研究 (センター長, 生薬, 変異原)  
Studies on the methodology for evaluation of the proprietary drugs
25. バイオテクノロジーを応用して開発される医薬品等の評価および品質確保に関する研究 (センター長, 放射線, 生薬, 変異原, 筑波)  
Studies on quality control of medicine produced by application of plant tissue culture
26. 受託試験施設で行われる医薬品の安全性試験の適性化に関する研究 (センター長)  
Questionnaire on the present status of the contract laboratories in Japan
27. 実験動物を用いる急性毒性試験等の簡易法に関する研究 (センター長, 情報)  
Study on the simple methods for acute toxicity test using experimental animal
28. 日米科学協技術協力研究事業毒物学研究 (センター長)  
Toxicology program under the US-Japan non-energy research cooperation
29. 輸入熱帯病の治療薬の開発および供給体制に関する研究 (薬品)  
Studies on the development and distribution of remedies for imported tropical diseases

30. 高齢者薬物療法の総合的研究(薬品)  
Studies on the dosage forms suitable for elderly patients
31. がん末期医療の在宅ケアのための疼痛管理に用いる麻薬製剤に関する研究(薬品)  
Chemical studies on narcotic maintenance for cancer pain
32. バイオテクノロジー医薬品に対する生体応答の解析に関する基礎的研究(生物, 放射線)  
Studies on biological effects of biotechnologically produced medicines
33. 歯科材料の安全性および有効性ガイドライン作成に関する研究(療品)  
Preparation of guidelines for the preclinical safety and validity evaluation of dental materials
34. ベビーパウダーの品質確保のための基礎研究(環境)  
Fundamental studies on quality control of baby's powder products
35. 畜水産物中の残留有害物質の分析に関する研究(食品)  
Studies on analytical method of toxic residues in live-stock products
36. 医療用透析液供給システムの改善に関する研究(衛徴)  
Studies on the improvement of dialysate supply systems for hemodialysis patients
37. 家庭用品に使用される化学物質の腎毒性に関する研究(医化学, 毒性, 薬理)  
Studies on nephrotoxicity of toxic chemicals contained in house hold products
38. 医薬品毒性試験ガイドラインに関する研究(薬理, 病理, 変異原)  
Research for revision of the guidelines for toxicity studies required for application for approval to manufacture (import) drugs
39. 抗 HIV 物質のスルリーニング研究(衛徴)  
Screening of anti HIV chemical substances
40. 医薬品分子の動的構造はその反応剤の安定性の微視的評価法の確立(薬品)  
Evaluation of drug stability in regard to the dynamic conformation
41. 天然添加物の安全性に関する研究(食添)  
Studies on safety on natural food additives
42. 飼料添加物中の天然色素の調査研究(食添)
- Studies of analysis of natural colorants in feed additives
43. 水道水中における微量有機物質の変異原性に関する研究(変異原)  
Mutagenicity study on organic chemical contaminants in the city water
44. 食品添加物の変異原性に関する研究(変異原)  
Mutagenicity study on food additives currently used in Japan
45. 天然添加物の変異原試験(変異原)  
Mutagenicity study on natural food additives
46. BHA 代謝産物の変異原性試験(変異原)  
Mutagenicity study on metabolites of BHA
47. ステビオサイドの変異原試験(変異原)  
Mutagenicity study on stevioside
48. 輸入食品に含まれる有害天然物質等の調査研究(支所食品)  
Establishment of analytical method for natural toxic compounds contained in imported foods
49. 有害物質の健康リスク評価のシステムのフィジビリティに関する研究(療品, 情報)  
Feasibility study on health risk evaluation system for harmful chemicals
50. 既存化学物質等の毒性点検プログラムの確立に関する研究(療品, 情報)  
Priority setting for toxicity evaluation of chemicals already marketed
51. 薬用植物の組織培養生成物の変異原性に関する研究(変異原)  
Mutagenicity study on tissue culture products from medical plants
52. 既存化学物質の変異原性に関する試験(変異原)  
Mutagenicity study on existing chemicals
- 厚生科学研究費補助金(食品調査研究事業)**  
畜水産食品中の抗生物質個別検査法に関する研究(衛徴)  
Studies on the analytical methods for residues of antibiotics in meat, meat products, fish and marine products
- 科学研究補助金(文部省)**  
1. 好塩機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)  
Involvement of protein phosphorylation in the degranulation from rat basophilic leuko-

nia cells

2. 赤痢菌及びサルモネラの持つ制限酵素産生ミニプラスミドに関する研究 (衛徴)  
Studies on small plasmids carrying a restriction endonuclease gene in *Shigella* and *Salmonella*
3. アフラトキシン BL 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)  
Metabolic activation of aflatoxin BI by specific cytochrome P-450 and It's relation to liver carcinogenesis
4. 肝チトクローム P-448 AFBI に対するモノクローナル抗体の作成とその応用 (薬理)  
Preparation of monoclonal antibodies to liver cytochrome P-448 AFBI
5. 化学物質による加齢性病変の発現に関する研究 (病理)  
Studies on chemical-induced age-related lesions in animals
6. 制がん制天然薬物の調査研究 (筑波)  
Research work of antitumor compounds from medicinal plant in Amazon
7. 遺伝子資源としての本邦保有微生物株の収集、同定と情報整理に関する研究 (衛徴)  
The Japanese culture collection and identification of microorganisms as gene banks, and microbial culture information database
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化 (病理)  
Appearance and stability of phenotypic expression in chemical carcinogenesis

#### がん研究助成金 (厚生省)

1. 食品に含まれる N-ニトロソ化合物前駆体に関する研究 (所長, 食添, 薬理)  
Studies on endogenous formation of carcinogenic N-nitroso compounds and nitrosatable compounds in foods
2. 発がん物質の規制決定に関する基礎的研究 (病理, 合成, 食添)  
Basic studies for regulating decision of environmental carcinogens
3. 変異原性を持たない物質による動物発がんとその評価 (毒性)  
Evaluation of carcinogenic mechanisms shown by non-mutagenes agents
4. 飲料水および空気の発がん物質汚染の定量的

験法 (衛徴)

- Quantitative assay of carcinogens in water and air
5. 生体高価子結合型アフラトキシンの免疫学的試験法 (衛徴)  
Enzyme-Immunoassay for macromolecule-aflatoxin adducts
6. ヒトがん発生に關与する要因の基礎的, 臨床的研究 (病理)  
Correlative experimental and clinical studies on development of human cancer
7. 消化器がんの修飾要因 (病理)  
Modification of gastro-intestinal carcinogenesis in animals
8. 食品中のニトロソ化合物の生成と抑制 (食添)  
Formation of nitroso-compounds in foods and the inhibition
9. 飲料水および空気の発がん物質汚染の定量的解析に関する研究 = 飲料水の発がん物質汚染の解明 (環境)  
Studies on quantitative analysis of carcinogenic pollutants in drinking water and atmosphere = Elucidation of carcinogenic pollutants in drinking water
10. がん情報ネットワークの構築と一次, 当次予防等, がん対策の評価に関する臨床疫学的研究 (病理)  
Setup of information network for cancers in reference to clinico-epidemiological studies on primary and secondary cancer prevention

#### 食品等試験検査費

1. 食品添加物のナトリウム塩と他の塩との代謝比較研究 (医化学, 支所食品)  
Studies on metabolism of sodium and other salts of food additives
2. 食品添加物の有効性に関する研究 (食添, 支所食品)  
Studies on utilization of food additives
3. 残留農薬の多成分分析法の確立 (支所食品)  
Establishment of systematic analytical methods for multipesticides residue
4. 食品由来成分の含有量実態調査研究 (支所食品)  
Investigates on some compound's content originated in various natural food
5. 天然添加物の分析法などに関する研究 (食添,

## 支所食品)

Establishment of analytical methods for natural food additives

6. 食用タール色素の製品検査法の開発に関する研究 (食添, 支所食品)

Establishment and improvement of quality control's methods for food colors

7. 食品添加物の一日摂取量調査に関する研究 (食添, 支所食品)

Estimation of daily intake of food additives according to the market basket studies in Japan

## 家庭用品等試験検査費

ジベンゾチアジルスルフィドのラットに対する催奇形性試験 (支所薬徴)

Teratology study of dibenzthiazyl disulfide in rats

## 食品添加物安全性再評価費

ピロリン酸カリウムの慢性毒性ならびに癌原性試験 (病理)

Chronic toxicity and Carcinogenicity study of potassium pylophosphate in rats

## 委託事業 (厚生省)

1. 乱用薬物鑑定法整備研究 (薬品, 毒性, 合成, 放射)  
Studies on identification methods of abused drugs —Hair analysis for monitoring drug abuse history—
2. タール色素毒性研究 (センター長)  
Study on the tar dye
3. 依存性薬物情報研究 (薬品)  
Studies on information of drugs of dependence

## 環境庁委託研究費

1. 底質環境調査: 文献調査 (情報)  
Investigation of mutagenic compounds in water sediment through data in the literatures

## その他

1. 水道水中の多環芳香族炭化水素の分析方法の塩素処理生成物の挙動に関する研究 (環境) 日本水道協会  
Studies on establishment of determination methods for polyaromatic hydrocarbons and behaviour of their chlorinated products

## 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1分野 ライフサイエンスの基礎としてのバイオテクノロジーの開発

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
  - A. 組替え 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)  
On development of effective isolation and purification techniques for obtaining in an active form of protein drugs produced by recombinant DNA technology
  - B. 医薬品等生理活性物質の探索技術の研究 (モノクロナール抗体を利用する技術の開発) (放射線)  
Studies on survey methods of biologically active substances —Application of monoclonal antibodies—
  - C. 腸内細菌から制限酵素を含む遺伝子操作関連試薬の開発 (衛徴)  
Screening of restriction endonucleases and DNA/RNA modifying enzymes in *Enterobacteriaceae*
  - D. 生理活性物質を生産する有用真菌の探索, 分離, 培養 (衛徴)  
Survey, isolation and cultivation of fungi for production of biologically active metabolites
  - 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)  
Detection and isolation of biologically active substances from marine organisms
  - F. レトロウイルスの RNA 構造の決定とその各種モノクロナール抗体の開発 (放射線)  
Determination of RNA sequence of a retrovirus in baboon and preparation of monoclonal antibodies against its protein components
3. 動植物細胞を用いた宿菌・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)  
Production of useful compound by hairy root culture transformed with Ri plasmid
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の確立に関する研究 (薬理)  
Studies on the *in vitro* assay methods for drug efficacy and safety using culture system
- 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)  
Development of the test method for evaluating the safety of materials of medicinal plants produced by biotechnology
- C. バイオテクノロジーによる高感度簡易試験法の開発 (変異原)  
Development of mutagenicity tests highly sensitive to chemicals using biotechnology
- (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)  
Studies on standardization of pharmacological assays of generics of biotechnology drugs —On tissue plasminogen activators and pro-urokinases—
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於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  
Studies on production in biotechnology and development of the analytical method for evaluating safety of the products
- 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)  
Development of methods for safety assessment of products by plant tissue culture
- 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)  
Analytical discrimination of the components in natural food and new food developed through biotechnology
- 第2分野 医療, 福祉サービスの基礎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研究
- (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及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)  
Kinetic study on degradation of bioerodible polymers and drug release from the polymer matrix
- B. 徐放性製剤の設計及び評価技術の確立に関する生物薬理学的研究 (薬品, 支所薬品)  
Biopharmaceutical studies on the design and evaluation of prolonged-release dosage forms
- (2) チトクローム P-450 価子種の組合せによるヒト薬物代謝のシミュレーションとその固定化の検討 (薬理)  
Studies on the simulation of human drug metabolism by the combination of cytochrome P-450s and its Immobilization
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 vitro* 試験法の開発) (療品, 合成)  
Studies on preclinical safety evaluation method for polymer materials for implant: *In vivo* and *in vitro* testing methods for tissue reactions
- (2) 生体埋入高分子材料の変異原性に関する研究 (変異原)  
Mutagenicity study on polymer materials for implant
- (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及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)  
Standardization of the method of the limulus test and its application for the safety evaluation of high molecular membranes and their materials
- 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 (副所長, 薬品)  
Development of evaluation methodology for controlled release dosage forms
2. 薬用資源植物の確保, 開発および利用 (筑波, 生薬, 薬理)  
Exploitation and utilization of medicinal plant resources in Japan and China

## 対がん十力年総合戦略研究事業

1. 食品中の発がん関連物質の実態究明と安全性評価手法の確立に関する研究(副所長, 医化学, 支所食品, 合成, 食品)

Development of toxicokinetic methods for safety evaluation and exposure assessment of potential carcinogen in foods.

2. ヒト発がん促進要因の検出とそのリスク評価(病理)

Detection and evaluation of promoting factors in development of human cancers

## 対がん十力年総合戦略の支援事業に関する研究

## 細胞バンクの運営システムに関する研究

1. 細胞株の培養, 保管及び供給を管理するための

データベースマネジメントの開発と運用方法に関する研究(変異原)

Development of a database management system in a computer to control the cultivation, preservation, and distribution of cell lines preserved in the cell bank

2. 同一動物種内に属する多種類の細胞株を見分ける新しい方法論の開発; DNAの制限酵素断片多形性検出法の応用(変異原)

Development of new methods for the verification of cell lines of the same animal species; Application of detection method of restriction fragment length polymorphism of chromosomal DNA

## 国家検定および検査等の処理状況

## Survey of the Results of National Tests

昭和62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、6月1日に削除となった5品目948件（前年度に比べて82.08%，総件数の78.67%，そのうちブドウ糖注射液は904件で81.96%，総件数の75.02%）の減少とヒトインシュリン注射液関係4品目の20件（46.51%，総件数の1.66%）の増加があり、前年度に比べて、総件数で929件（77.10%）の減少であった。

国家検査は、6月1日に検定品目より削除されたも

ののうち二相性インシュリン水性懸濁注射液及びブドウ糖注射液が検査命令の対象となり、本年度は172件（そのうちブドウ糖注射液は166件）の検査があった。

次に、製品検査は88件（12.55%）の増加となり、以下特別審査試験の43件（23.50%）、一斉取締試験の288件（103.60%）および輸入食品検査の808件（164.90%）の増加があり、特別行政試験は221件（67.07%）の減少であった。

検定検査等の総処理件数は3,436件で、前年度に比べて224件（7.64%）の増加であった。

区 分	昭和62年度の処理件数					
	東 京		大 阪		合 計	
国 家 検 定	( 97)	97件	( 179)	179件	( 276)	276件
国 家 検 査	( 44)	44	( 128)	128	( 172)	172
製 品 検 査	( 323)	323	( 466)	466	( 789)	789
特 別 審 査 試 験	( 281)	226	( 0)	0	( 281)	226
特 別 行 政 試 験	( 101)	101	( 8)	8	( 109)	109
一 斉 取 締 試 験	( 521)	521	( 45)	45	( 566)	566
輸 入 食 品 検 査	(1,800)	1,171	( 127)	127	(1,927)	1,298
一 般 依 頼 試 験	( 0)	0	( 0)	0	( 0)	0
合 計	(3,167)	2,483	( 953)	953	(4,120)	3,436

( ) 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62年度国家検定品目別月別判定別件数実績表…………… 286頁
- 昭和62年度国家検査品目別月別判定別件数実績表…………… 288頁
- 昭和62年度製品検査月別判定別件数実績表…………… 288頁

- 昭和62年度特別審査試験月別判定別件数実績表…………… 288頁
- 昭和62年度輸入食品検査月別判定別件数実績表…………… 290頁
- 昭和62年度特別行政試験実績表…………… 294頁
- 昭和62年度一斉取締試験判定別件数実績表…………… 294頁

## 昭和62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
ブタ精製インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—
ブタ精製中性インシュリン注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
オキシトシン注射液	東京	5	—	5	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
バソプレシン注射液	東京	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
タンニン酸バソプレシン油性懸濁注射液	東京	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ブドウ糖注射液	東京 大阪	29 71	—	29 71	30 42	—	30 42	4 23	—	4 23	—	—	—	—	—	—	—	—	—
内訳	内容量 100 ml 未満	東京 大阪	12 42	—	12 42	16 24	—	16 24	2 11	—	2 11	—	—	—	—	—	—	—	—
	内容量 100 ml 以上	東京 大阪	17 29	—	17 29	14 18	—	14 18	2 12	—	2 12	—	—	—	—	—	—	—	—
ヒトインシュリン注射液	東京 大阪	1 —	—	1 —	1 —	—	1 —	2 —	—	2 —	1 —	—	1 —	2 —	—	2 —	—	1 —	—
ヒトイソフェンインシュリン水性懸濁注射液	東京 大阪	2 —	—	2 —	3 —	—	3 —	4 —	—	4 —	2 —	—	2 —	3 —	—	3 —	—	1 —	—
半合成ヒト中性インシュリン注射液	東京 大阪	— —	—	— —	— —	—	— —	— —	—	— —	1 —	—	1 —	— —	—	— —	—	1 —	—
半合成ヒトインシュリン亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	— —	—	— —	1 —	—	1 —	— —	—	— —	1 —	—	1 —	— —	—	— —	—	1 —	—
計	東京 大阪	38 71	—	38 71	36 42	—	36 42	12 23	—	12 23	6 —	—	6 —	5 —	—	5 —	—	4 —	—
合 計		109	—	109	78	—	78	35	—	35	6	—	6	5	—	5	—	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	—	—	—	1	—	1	—	—	—	1	2	—	1	2	
1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	2	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6	—	6
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	63	—	63
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	136	—	136
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	30	—	30
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	77	—	77
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	33	—	33
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	59	—	59
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	7
—	—	—	2	—	2	2	—	2	2	—	2	1	—	1	2	—	2	2	10	—	2	10	
1	—	1	4	—	4	4	—	4	3	—	3	2	—	2	2	—	2	2	14	—	2	14	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	—	—	—	1	—	1	1	—	1	1	—	1	1	—	1	1	5	—	1	5	
1	—	1	1	—	1	2	—	2	—	—	—	2	—	2	—	—	—	—	2	—	—	2	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—	7	
3	—	3	7	—	7	10	—	10	6	—	6	8	—	8	5	—	5	5	97	—	5	97	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	179	—	—	179	
3	—	3	7	—	7	10	—	10	6	—	6	8	—	8	5	—	5	5	276	—	5	276	

## 昭和62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
インシュリン亜鉛 水性懸濁注射液	東京 大阪	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
結晶性インシュリン 亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
無晶性インシュリン 亜鉛水性懸濁注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ブドウ糖注射液	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	22	1	23	18	—	18	—	9	—	9
内 訳	内容量が100 ml未滿のもの	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	15	—	15	8	—	8	—	5	—	5
	内容量が100 ml以上のもの	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	7	1	8	10	—	10	—	4	—	4
リンゲル液(内容 量が100ml以上 のもの)	東京 大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
計	東京 大阪	1	—	1	1	—	1	1	—	22	1	23	18	—	18	—	9	—	9
合計		1	—	1	1	—	1	1	—	52	1	53	18	—	18	—	9	—	9

## 昭和62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	17	—	17	33	—	33	30	—	30	29	—	29	30	—	30	25	—	25
大	阪	47	—	47	41	—	41	38	—	38	43	—	43	37	—	37	37	—	37
計		64	—	64	74	—	74	68	—	68	72	—	72	67	—	67	62	—	62

## 昭和62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	27	—	27	33	—	33	1	—	1	27	—	27	15	—	15	31	—	31
試	験 件 数	29	—	29	33	—	33	2	—	2	32	—	32	23	—	23	53	—	53

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	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
15	-	15	16	-	16	23	-	23	7	-	7	5	-	5	20	-	20	40	1	41
2	-	2	3	-	3	5	-	5	2	-	2	-	-	-	5	-	5	23	-	23
13	-	13	13	-	13	18	-	18	5	-	5	5	-	5	15	-	15	17	1	18
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	1
15	-	15	17	-	17	24	-	24	7	-	7	5	-	5	21	-	21	43	1	44
15	-	15	17	-	17	24	-	24	7	-	7	5	-	5	21	-	21	171	1	172

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
43	-	43	32	-	32	7	-	7	29	-	29	24	-	24	24	-	24	323	-	323
14	-	14	49	-	49	43	-	43	21	-	21	48	-	48	48	-	48	466	-	466
57	-	57	81	-	81	50	-	50	50	-	50	72	-	72	72	-	72	789	-	789

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
15	-	15	4	-	4	14	-	14	19	-	19	32	-	32	8	-	8	226	-	226
15	-	15	7	-	7	26	-	26	19	-	19	34	-	34	8	-	8	281	-	281

## 昭和62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
農 産 物	東京	156	—	13	169	107	6	—	113	93	5	—	98	52	2	—	54	57	—	—	57	61	—	—	61
	大阪	14	1	—	15	31	10	—	41	2	—	—	2	2	—	—	2	5	3	—	8	5	—	—	5
水 産 物	東京	23	—	—	23	6	—	—	6	—	—	—	—	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	15	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
畜 産 物	東京	40	—	8	48	21	—	—	21	21	—	—	21	10	—	—	10	12	—	—	12	6	—	83	89
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1	—	3
か ん び 詰 類	東京	3	—	—	3	21	—	—	21	12	—	—	12	2	—	—	2	3	—	—	3	7	—	—	7
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
添 加 物	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
酒 精 飲 料	東京	10	—	—	10	6	—	—	6	1	—	—	1	6	—	—	6	2	—	—	2	1	—	—	1
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
飲 酒 精 原 料	東京	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
清 涼 飲 料	東京	5	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
そ の 他 の 飲 料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器 具 容 器 包 装 お も ち ゃ	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	5	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	3	—	—	—	—



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	
18	—	—	18	71	—	—	71	66	2	—	68	2	—	—	2	24	3	—	27	16	—	—	16	723	18	13	754	806
—	—	—	—	1	—	—	1	3	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	—	4	67	14	—	81	81
—	—	—	—	3	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	34	—	—	34	34
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	15	15	15
5	—	—	5	14	—	—	14	2	—	8	10	1	—	—	1	14	—	21	35	1	—	13	14	147	—	133	280	855
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1	—	3	3
1	—	—	1	5	—	—	5	7	—	—	7	—	—	—	—	3	—	—	3	—	—	—	—	64	—	—	64	64
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6	6	—	—	6	6	6
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	27	—	—	27	27
—	2	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	2	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	2	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—	7	7
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	—	—	8	8
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	2	4
—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	5	—	10	10

## 昭和62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	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	1	1	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—
東 京	239	—	21	260	161	6	—	167	129	5	—	134	72	2	—	74	77	—	—	77	75	—	83	158
大 阪	14	1	—	15	36	10	15	61	9	1	—	10	3	4	—	7	5	4	—	9	7	1	—	8
合 計	253	1	21	275	197	16	15	228	138	6	—	144	75	6	—	81	82	4	—	86	82	1	83	166

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	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	2	—	3	3
24	—	—	24	93	—	—	93	76	2	8	86	3	—	—	3	41	3	21	65	17	—	13	30	1,007	18	146	1,171	1,800
—	3	—	3	1	—	—	1	3	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	6	10	82	24	21	127	127
24	3	—	27	94	—	—	94	79	2	8	89	3	—	—	3	41	3	21	65	21	—	19	40	1,039	42	167	1,298	1,927

## 昭和62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 監視指導課	1. 医薬品の試験について	1	療品部
	2. 注射水の品質確保について	45	{薬品部 (15) 衛生微生物部 (15) 薬理部 (15)}
	3. 輸液製剤の試験	8	支所食品部
	4. 検定を受けるべき医薬品の手数料, 検定基準及び試験品の数量について	5	
" 麻薬課	輸入生あへのモルヒネ含有率試験	50	薬品部
合 計		109	{東京 101件 大阪 8件}

## 昭和62年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分	合 格	不 合 格	計
東 京	502	19	521
大 阪	45	0	45
合 計	547	19	566

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63年10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	エンドトキシン	2 $\mu$ g入 1本	13,900	注射用水のエンドトキシン試験
8	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
9	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
10	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
11	血清性性腺刺激ホルモン	1,000単位 1本入	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
12	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
13	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
14	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
15	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
16	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
17	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
18	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
19	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
20	ジギタリス	1g入 1本	12,100	ジギタリス、同末の定量法
21	ジギトキシン	50mg入 1本	11,800	ジギト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
22	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
23	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
24	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

## 日本薬局方標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
25	G-ストロファンチン	100mg入 1本	12,500 <sup>円</sup>	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
26	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位 1本入	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
27	チロジン	500mg入 1本	10,100	パンクレアチンのたん白消化力試験
28	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
29	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
30	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
31	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
32	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
33	トロンビン	500単位入 2本	29,500	トロンビンの定量法
34	ニコチン酸	500mg入 1本	12,200	ニコチン酸注射液の定量法
35	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
36	脳下垂体後葉	20mg入 2本	11,300	オキシトシン注射液, パソプレシン注射液の純度試験および定量法
37	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
38	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
39	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
40	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
41	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
42	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
43	プレドニゾロン	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
44	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
45	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
46	ヘパリンナトリウム	1,200単位 1本入	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
47	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
48	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
49	葉酸	500mg入 1本	13,600	葉酸, 同錠, 同注射液の定量法
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	リボフラビン	200mg入 1本	15,400	リボフラビン, 同散, リン酸リボフラビンナトリウム, 同注射液の定量法
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63年10月1日現在)

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	ウロキナーゼ	1,000単位入1本	15,400	ウロキナーゼ原液およびその製剤の定量法
2	エストラジオール	50mg入 1本	12,000	エストラジオール及びその製剤の純度試験
3	エストロン	50mg入 1本	12,000	エストロン及びその製剤の確認試験および定量法
4	塩酸チアミン液	1mg入 1本	8,500	チアミン及びその製剤の定量法
5	カリジノゲナーゼ	100単位入 1本	13,500	カリジノゲナーゼおよびその製剤の生物活性試験並びに定量法
6	吉草酸ジフルコルトロン	100mg入 1本	10,700	吉草酸ジフルコルトロン及びその製剤の定量法
7	酢酸デキサメタゾン	100mg入 1本	15,600	酢酸デキサメタゾン及びその製剤の定量法
8	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
9	フルオシノニド	100mg入 1本	14,400	フルオシノニド及びその製剤の確認試験および定量法
10	フルオロメトロン	100mg入 1本	15,600	フルオロメトロン及びその製剤の定量法
11	フルドロキシコルチド	100mg入 1本	15,600	フルドロキシコルチド及びその製剤の定量法
12	プロピオン酸テストステロン	50mg入 1本	11,500	プロピオン酸テストステロン及びその製剤の定量法
13	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及びその製剤の定量法
14	融点測定用 アセトアニリド, アセトフェネチジン, カフェイン, スルファニルアミド, スルファピリジン, ワニリン	各1g入 6本	35,700	融点測定用温度計, 同装置の補正
15	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及びその製剤の定量法
16	リゾチーム	500mg入 1本	19,500	リゾチーム製品の定量法
17	リン酸ヒスタミン	50mg入 1本	9,600	ヒスタミン試験
18	リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム	100mg入 1本	10,300	リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム及びその製剤の定量法
19	リン酸ブレドニゾロンナトリウム	100mg入 1本	10,300	リン酸ブレドニゾロンナトリウム及びその製剤の定量法
20	ルチン	500mg入 1本	11,100	ルチン製品の定量法
21	アシッドバイオレット6B	1g入 1本	2,900	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
22	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
23	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
24	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
25	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
26	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
27	エオシン	1g入 1本	2,700	医薬品, 化粧品および製剤中のエオシンの確認試験
28	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
29	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
30	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
31	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
32	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
33	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
34	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
35	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
36	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
37	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
38	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
39	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
40	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
41	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
42	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キシンの確認試験
43	パーマネントオレンジ	1g入 1本	2,400	外用医薬品, 化粧品および製剤中のパーマネントオレンジの確認試験
44	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
45	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
46	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
47	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
48	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
49	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
50	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
51	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
52	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
53	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
54	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
55	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
56	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
57	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62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
アスコルビン酸	46	150	169		27	
安息香酸エストラジオール	26	0	5		21	
インシュリン	104	104	24	7	177	
ウロキナーゼ	10	313	178	15	130	
エストラジオール	45	0	6		39	
エストロン	39	0	0		39	
エルゴカルシフェロール	80	20	90		10	
塩酸チアミン	64	200	166		98	
塩酸チアミン液	85	0	18		67	
塩酸ピリドキシン	138	297	286		149	
カリジノゲナーゼ	34	192	129	5	92	
含糖ペプシン	67	0	41		26	
吉草酸ベタメタゾン	29	0	25	2	2	
ギトキシン	21	0	8		13	
血清性性腺刺激ホルモン	26	146	48		124	
コハク酸トコフェロール	54	97	41		110	
コハク酸ヒドロコルチゾン	45	0	12	1	32	
コレカルシフェロール	98	20	60		58	
酢酸コルチゾン	16	57	2		71	
酢酸デキサメタゾン	0	50	0	1	49	
酢酸トコフェロール	141	244	328		57	
酢酸ヒドロコルチゾン	29	133	60	1	101	
酢酸ブレドニゾロン	20	63	10		73	
シアノコバラミン	66	250	258		58	
ジギタリス	17	0	0	1	16	
ジギトキシン	4	77	9	4	68	
ジゴキシン	13	100	50		63	
酒石酸水素エビネフリン	23	50	7		66	
酒石酸水素ノルエビネフリン	24	0	2		22	
G-ストロファンチン	26	0	0		26	
胎盤性性腺刺激ホルモン	95	97	91		101	
チロジン	36	200	163	1	72	
デキサメタゾン	55	0	26		29	
デスラノンド	81	0	9	1	71	
トコフェロール	47	97	98		46	
トリアムシノロン	46	0	9		37	
トリアムシノロンアセトニド	36	0	12		24	
トロンピン	54	47	72		29	
ニコチン酸	55	0	15	2	38	
ニコチン酸アミド	53	200	181	2	70	
脳下垂体後葉	13	50	9		54	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	74	0	8		66	
薄層クロマトグラフ用パルミチン酸レチノール	62	50	16		96	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	56	0	6		50	

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 量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
ヒアルロニダーゼ	29	0	9		20	
ヒドロクロロチアジド	45	0	6	3	36	
ヒドロコルチゾン	11	150	40		121	
フルオシノニド	40	0	7		33	
フルオシノロンアセトニド	29	0	9		20	
フルオロメトロン	0	50	0	1	49	
フルドロキシコルチド	0	50	0		50	
ブレドニゾロン	41	15	42		14	
プロゲステロン	36	0	1		35	
プロピオン酸テストステロン	26	0	0		26	
プロピオン酸ベクロメタゾン	0	50	2		48	
ベタメタゾン	25	50	5		70	
ヘパリンナトリウム	87	0	68		19	
マレイン酸エルゴメトリン	24	100	14		110	
メトトレキサート	35	0	2		33	
融点測定用 (アセトアニリド, アセトフ エネチジン, カフェイン, スルファニルアミド, スル ファビリジン, ワニリン)	10	58	20	2	46	
葉酸	5	100	56		49	
ラナトシドC	83	0	8	1	74	
酪酸ヒドロコルチゾン	0	50	0		50	
リゾチーム	30	605	316		319	
リボフラビン	202	200	283	2	117	
硫酸プロタミン	9	50	3	1	55	
リン酸ヒスタミン	34	95	25		104	
ルチン	7	50	23		34	
レセルピン	36	0	15	5	16	
計	2,997	4,977	3,701	58	4,215	

## (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	75		1		74	
アシッドレッド	0		0		0	
アゾルビンエキストラ	85		2		83	
アマランス	476		8	3	465	
インジゴ	132		2		130	
インジゴカルミン	0		0		0	
エオシン	117		1		116	
エリスロシン	0		0		0	
オイルエローAB	218		1		217	
オイルエローOB	228		1		227	
オイルオレンジSS	225		2		223	
オイルレッドXO	204		2		202	
オレンジI	275		1		274	
オレンジII	156		1		155	
ギネアグリーンB	68		1		67	
サンセットエローFCF	0		0		0	
タートラジン	0		0		0	
テトラクロルテトラブROMフルオレセイン	150		1		149	
テトラブROMフルオレセイン	112		2		110	
トルイジンレッド	77		1		76	
ナフトールエローS	147		4		143	
ニューコクシン	0		0		0	
パーマネントオレンジ	30		2		28	
ハンサエロー	75		2		73	
ファストグリーンFCF	23		6		17	
ファストレッドS	197		1		196	
ブリリアントブルーFCF	0		0		0	
フルオレセイン	188		1		187	
フロキシン	352		6		346	
ボンソーR	248		1		247	
ボンソーSX	149		1		148	
ボンソー3R	157		1		156	
リソールルビンBCA	361		1		360	
レーキレッドC	385		1		384	
レーキレッドCBA	121		1		120	
レーキレッドDBA	161		2		159	
ローズベンガル	0		0		0	
計	5,192		57	3	5,132	

# 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、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)	$10^{12}$	T	ミ	リ (milli)	$10^{-3}$	m
ギ	ガ (giga)	$10^9$	G	マイクロ	(micro)	$10^{-6}$	$\mu$
メ	ガ (mega)	$10^6$	M	ナ	ノ (nano)	$10^{-9}$	n
キ	ロ (kilo)	$10^3$	k	ピ	コ (pico)	$10^{-12}$	p
デ	シ (deci)	$10^{-1}$	d	フェムト	(femto)	$10^{-15}$	f
セン	チ (centi)	$10^{-2}$	c	ア	ト (atto)	$10^{-18}$	a

## 3・2 物理量, 化学量, 物性などの単位および定数の記号または略号は, 次に掲げるものを用いる.

メートル	m	度(セルシウス)	°C	parts per billion	ppb
マイクロメートル	μm	ケルビン度	K	モル濃度	M
ナノメートル	nm	キュリー	Ci	規定濃度	N
(mμ を用いない)		カウント毎分	cpm	旋光度	α
オングストローム	Å	(cps は用いない)		吸光度	A
平方メートル	m <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: 本文の引用箇所右肩に<sup>3), 2<sup>5)</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: 衛生試報, 88, 112 (1970)  
 2) 菅野三郎ら: 衛生化学, 17, 19 (1971)  
 3) M. D. Hollenberg, D. B. Hope: *Biochem. J.*, 106, 557 (1968)  
 4) A. White *et al.*: *Principles of Biochemistry*, 4th Ed., p. 937 (1968), McGraw-Hill Inc., New York  
 5) 佐々木慎一: マススペクトル解説, 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)

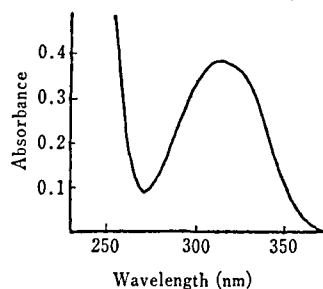


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard" (20  $\mu$ g/ml) (コピーにタイプ)

図の番号は Fig. 1., Fig. 2., ……とし、表題、説明はともに図の下に、表の番号は Table 1., Table 2., ……とし、表題は表の上に、説明は表の下に記す。なお、表題、説明は原則として英語で書き(資料の場合はこの限りでない)、表題は大文字で始め、最後に . をつけない。

例: Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive sugar production

Table 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone as a function of time

図および別紙に書いた表は、その裏に題名、著者名、本文中のそう入ページを記す。提出するときは一括して封筒に入れ、そのおもてに論文題名、著者名、ならびに図、表のそれぞれの枚数を記し、原稿の最後にとじる。

8. 誌上発表の記載要領: 題名の次に改行して著者名、雑誌名、巻数、ページ数、年号の順に記す。さらに改行して論文の要旨のみに記す。外国語の論文の要旨は、日本語で原稿用紙1枚程度にまとめる。ただし、題名、著者名、雑誌名は外国語。
9. 学会発表の記載要領: 演者名に続いて演題名を記す。改行して学会名、日付け【例:(1972.4.5)】を記す。各演題ごとに余白2行を設ける。

## 校 正

初校は著者が行う。人名、化学名、数値、文献などは特に綿密に校正する。内容の追加、行数の増加は認めない。

国立衛生試験所図書委員会

昭和 63 年度 図書 編集 委員

内 山	充	武 田	寧	竹 中	祐 典
福 原	潔	川 崎	ナ ナ	永 松	国 助
尾 崎	幸 紘	新 谷	英 晴	斉 藤	恵美子
宮 原	誠	川 崎	洋 子	宇田川	俊 一
高 橋	照 江	内 藤	克 司	小野田	欽 一
今井田	克 己	松 井	道 子	岡 田	敏 史
下 村	講一郎	大 野	清	西 村	規 章

衛 生 試 験 所 報 告 第 106 号

昭和 63 年 11 月 20 日 印 刷  
昭和 63 年 11 月 25 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