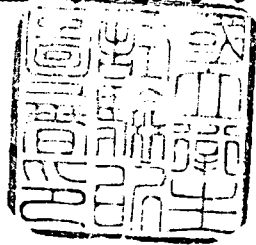


ISSN 0077-4715
CODEN: ESKHA 5

衛生試験所報告

第 107 号



平成元年

BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES

No. 107 1989

国立衛生試験所

衛生試験報
Eisei Shikenjo Hokoku

衛生試験所報告

第 107 号

平成元年

**BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HYGIENIC SCIENCES**

No. 107 1989

Published by
National Institute of Hygienic Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

総 説	
生薬の薬理試験法	原田正敏 1
報 文	
酵素製剤の品質に関する研究 (第9報) —カリジノゲナーゼ製剤—	谷本 剛・福田秀男 17
α -プロモシンナムアルデヒドの変異活性並びに市販製品への使用の実態	小嶋茂雄・能美健彦・宮田ルミ子・鹿庭正昭・五十嵐良明・中村晃忠 21
アルカリ溶出法によるラット前胃扁平上皮細胞 DNA 損傷の検出	森本和滋・橋高浩史・辻 和彦・高橋 惇・古川文夫・高橋道人・林 祐造 25
防菌・防微剤 α -プロモシンナムアルデヒド (BCA) の雌マウスにおける	
経皮慢性毒性/発癌性試験	門馬純子・内田雄幸・高田幸一・会田嘉崇・吉本濱子・ 鈴木康雄・小林和雄・中路幸男・黒川雄二・戸部満寿夫 29
マウスによるトリス (ジクロロプロピル) ホスフェートの急性毒性及び亜急性毒性試験	鎌田栄一・内藤克司・中路幸男・小川幸男・ 鈴木幸子・金子豊蔵・高田幸一・黒川雄二・戸部満寿夫 36
2-Mercaptobenzothiazole のマウスにおける毒性について	小川幸男・鎌田栄一・鈴木幸子・ 小林和雄・内藤克司・金子豊蔵・黒川雄二・戸部満寿夫 44
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・中浦嶺介・Djajalaksana Srikandi・黄 芒莉・高仲 正 51
F344 ラットにおける diphenylamine の28日間反復投与毒性試験	吉田順一・下地尚史・ 古田京子・高村直子・畝山智香子・矢沢りり・今井田克己・林 裕造 56
BrdU 免疫組織化学およびランタン・トレーサー法による 1,3-dinitrobenzene の精巢毒性の	
病理学的解析	篠田和俊・岡宮英明・今沢孝喜・古川文夫・豊田和弘・佐藤秀隆・高橋道人 63
エトキシソリン投与によるラット腎石灰化および腎結石の分析型電子顕微鏡による解析:	
(超微形態学的観察並びに元素分析)	今沢孝喜・豊田和弘・篠田和俊・岡宮英明・ 古川文夫・今井田克己・高橋道人・林 裕造 68
ラットの上部消化管腫瘍発生におけるビタミンA欠乏の影響	豊田和弘・佐藤元信・佐藤秀隆・古川文夫・今沢孝喜・今井田克己・高橋道人 73
乳酸カルシウムの F344 ラットにおける亜慢性毒性試験	松島裕子・小野寺博志・ 永岡隆晴・外館あさひ・渋谷 淳・前川昭彦・黒川雄二・林 裕造 78
Steviol による突然変異誘発機構に関する研究—Southern blotting 法による解析—	松井道子・松井恵子・能美健彦・水沢 博・石館 基 83
Production of Tropane Alkaloids by Cultured Cells of a <i>Duboisia</i> Hybrid	Koichiro SHIMOMURA, Nobuyuki OKAMURA, Motoyoshi SATAKE and Akira YAGI 88
ノ ー ト	
酵素製剤の品質に関する研究 (第10報) —ウロキナーゼ製剤—	谷本 剛・川崎ナナ・周 玉・田中 彰 92
プラスチック容器の透明性試験	水町彰吾・小嶋茂雄・中村晃忠 94
高速液体クロマトグラフィーによる化粧品中の紫外線吸収剤の定量	斎藤恵美子・木嶋敬二・武田明治 99
市販アカネ着色料中の成分について	川崎洋子・合田幸広・佐藤恭子・義平邦利 103
イオンクロマトグラフィーによる亜塩素酸ナトリウム, 次亜塩素酸ナトリウムの識別	合田幸広・鈴木淳子・神蔵美枝子・義平邦利 105
液体クロマトグラフ法によるニコチン酸注射液中のニコチン酸の定量	徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫 108

資料

向精神剤の同定に関する研研(第6報)

幻覚剤 2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (STP), 2,5-Dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) および 2,5-Dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET) の標準品製造と各種分析データ	島峯望彦・高橋一徳・中原雄二	113
カリジノゲナーゼ標準品の長期安定性	谷本 剛・福田秀男・木村俊夫	119
国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品 (Control 881)	谷本 剛・川崎ナナ・四方田千佳子・村井真美・木村俊夫・田中 彰	121
家庭用有機溶剤中のベンゼンの分析: 地方衛生研究所との共同研究	五十嵐良明・鹿庭正昭・小嶋茂雄・中村晃忠・真鍋静子・中島晴信・松永一朗・仲村智子・斉藤 稔・中島重人・青山大器・宇都宮暁子・長谷川一夫・中川友夫・瀬上昭子・中島慶子・鈴木助治・中村義昭	124
マイコトキシンの化学分析に関する研究(第20報)		
とうもろこしおよびとうもろこし加工品中の Aflatoxin 分析	五十畑悦子・豊田正武・斉藤行生	128
ICP 発光分光法の分光干渉に関する検討と市販ミネラルウォーターの分析への応用	米谷民雄・内山貞夫・斉藤行生	132
金属製調理器具中のアンチモンならびにその他の重金属濃度について	石綿 肇・杉田たき子・義平邦利	134
食品添加物, 亜塩素酸ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウムの確認試験法の検討	神蔵美枝子・佐藤恭子・合田幸広・義平邦利	138
医薬品の一般名称検索システムについて	橋場茂子・竹中祐典・中籠正弘	141
国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control : 871)	小室徹雄・四方田千佳子・木村俊夫	145
日本薬局方ヘパリンナリウム標準品 (Control : 871) の共同検定	四方田千佳子・長谷川隆一・小室徹雄・岡田敏史・木村俊夫	148
国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (Control : 871)	田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫	151
国立衛生試験所コレカルシフェロール標準品 (Control : 871)	田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫	154
国立衛生試験所吉草酸ジフルコルトロン標準品 (Control : 871)	田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫	156
国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control : 871)	田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫	159
国立衛生試験成トコフェロール標準品 (Control : 881)	田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫	162
国立衛生試験所ブレドニソロン標準品 (Control : 871)	岡田敏史・広重律子・田中正一・村井真美・徳永裕司・木村俊夫	165
国立衛生試験所塩酸ピリドキシン標準品 (Control : 871)	岡田敏史・広重律子・田中正一・村井真美・徳永裕司・木村俊夫	168
国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control : 881)	田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫	170
業務報告		173
誌上发表		210
単行本		252
行政報告		255
学会発表		264

衛試例会	285
昭和63年度に行った主な研究課題	291
国家検定および検査等の処理状況	299
国立衛生試験所標準品	307

CONTENTS

Review

- Masatoshi HARADA: Experimental Methodology on Pharmacological Studies on Crude Drugs..... 1

Originals

- Tsuyoshi TANIMOTO and Hideo FUKUDA: Studies on the Quality of Enzyme Preparations (IX)
—kallidinogenase Preparations—17
- Shigeo KOJIMA, Takehiko NOUMI, Rumiko MIYATA, Masa-aki KANIWA, Yoshiaki IKARASHI
and Akitada NAKAMURA: α -Bromocinnamaldehyde, Its Mutagenicity and Contents in
Commercial Products.....21
- Kazushige MORIMOTO, Hiroshi KITSUTAKA, Kazuhiko TSUJI, Atsushi TAKAHASHI, Fumio
FURUKAWA, Michito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: Measurement of DNA Damage
in Forestomach Squamous Epithelium Alkaline Elution Assay.....25
- Junko MOMMA, Osayuki UCHIDA, Koichi TAKADA, Yoshitaka AIDA, Hamako YOSHIMOTO,
Yasuo SUZUKI, Kazuo KOBAYASHI, Yukio NAKAJI, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE:
Combined Long-term Toxicity/Carcinogenicity Test of α -Bromocinnamic aldehyde (BCA)
Applied to Female Mouse Skin.....29
- Eiichi KAMATA, Katsushi NAITO, Yukio NAKAJI, Yukio OGAWA, Sachiko SUZUKI, Toyozo
KANEKO, Koichi TAKADA, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE: Acute and Subacute
Toxicity Studies of Tris (1,3-dichloro-2-propyl) Phosphate on Mice.....36
- Yukio OGAWA, Eiichi KAMATA, Sachiko SUZUKI, Kazuo KOBAYASHI, Katsushi NAITO, Toyozo
KANEKO, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE: Toxicity of 2-Mercaptobenzothiazole in Mice.....44
- Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA, Srikandi DJAJALAKSANA, Mang-Li
HUANG and Akira TAKANAKA: Studies on the Teratogenic Potential of 2,2'-Methylene bis
(4-ethyl-6-tert-butylphenol) In Rats51
- Junichi YOSHIDA, Naoshi SHIMOJI, Kyoko FURUTA, Naoko TAKAMURA, Chikako UNEYAMA,
Ruri YAZAWA, Katsumi IMAIDA and Yuzo HAYASHI: Twenty-eight Day Repeated Dose
Toxicity Testing of Diphenylamine in F344 Rats.....56
- Kazutoshi SHINODA, Hideaki OKAMIYA, Takayoshi IMAZAWA, Fumio FURUKAWA,
Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO and Michihito TAKAHASHI: Application of Brdu-
immunohistochemistry and Lanthanum-tracer Methods to the Pathological Evaluation
of 1,3-Dinitrobenzene Testicular Toxicity63
- Takayoshi IMAZAWA, Kazuhiro TOYODA, Kazutoshi SHINODA, Hideaki OKAMIYA, Fumio
FURUKAWA, Katsumi IMAIDA, Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI: Analysis
of Renal Calcification and Stone Formation in Rats Treated with Ethoxyquin Using
X-Ray Analytical Scanning Electron Microscopy: Ultrastructural Observations and
Element Analysis.....68
- Kazuhiro TOYODA, Motonobu SATO, Hidetaka SATO, Fumio FURUKAWA, Takayoshi IMAZAWA
Katsumi IMAIDA and Michihito TAKAHASHI: Effect of Vitamin A Deficiency on PNUR-
induced Carcinogenesis in the Rat Upper Digestive Tract.....73
- Yuko MATSUSHIMA, Hiroshi ONODERA, Takaharu NAGAOKA, Asahi TODATE, Makoto
SHIBUTANI, Akihiko MAEKAWA, Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI: Subchronic
Oral Toxicity Study of Calcium Lactate in F344 Rats.....78
- Michiko MATSUI, Keiko MATSUI, Takehiko NOHMI, Hiroshi MIZUSAWA and Motoi ISHIDATE:
Mutagenicity of Steviol: An Analytical Approach Using the Southern Blotting System.....83
- Koichiro SHIMOMURA, Nobuyuki OKAMURA, Motoyoshi SATAKE and Akira YAGI: Production
of Tropane Alkaloids by Cultured Cels of a *Duboisia* Hybrid.....88

Notes

- Tsuyoshi TANIMOTO, Nana KAWASAKI, Zhou YU and Akira TANAKA: Studies on the Quality
of Enzyme Preparations(X)—Urokinase Preparation—.....92
- Shogo MIZUMACHI, Shigeo KOJIMA and Akitada NAKAMURA: Transparency Test for Plastic

Containers.....	94
Emiko SAITO, Keiji KIJIMA and Mitsuharu TAKEDA: Determination of Seven Ultraviolet Absorbent in Cosmetics by High Speed Liquid Chromatography.....	99
Yoko KAWASAKI, Yukihiko GODA, Kyoko SATO and Kunitoshi YOSHIHIRA: Studies on Coloring Constituents in Commercial Madder Color.....	103
Yukihiko GODA, Jyunko SUZUKI, Mieko KAMIKURA and Kunitoshi YOSHIHIRA: Distinction between Sodium Chlorite and Sodium Hypochlorite by Ion-chromatography.....	105
Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Determination of Nicotinic Acid in Injections by High-performance Liquid Chromatography.....	108

Technical Date

Mochihiko SHIMAMINE, Kazunori TAKAHASHI and Yuji NAKAHARA: Studies on the Identification of Psychotropic Substances VI Preparation and Various Analytical Data of Reference Standards of Some Hallucinogens, 2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (STP), 2,5-Dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) and 2,5-Dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET).....	113
Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Toshio KIMURA: Long-term Stability of Kallidinogenase Reference Standard.....	119
Tsuyoshi TANIMOTO, Nana KAWASAKI, Chikako YOMOTA, Mami MURAI, Toshio KIMURA and Akira TANAKA: Urokinase Reference Standard of National Institute of Hygienic Sciences (Control 881).....	121
Yoshiaki IKARASHI, Masa-aki KANIWA, Shigeo KOJIMA, Akitada NAKAMURA, Shizuko MANABE Harunobu NAKAJIMA, Ichiroh MATSUNAGA, Tomoko NAKAMURA, Yuzuru SAITOH, Shigeto NAKAJIMA, Taiki AOYAMA, Akiko UTSUNOMIYA, Kazuo HASEGAWA, Tomo-o NAKAGAWA, Akiko SEGAMI, Keiko NAKAJIMA, Sukeharu SUZUKI and Yoshiaki NAKAMURA: The Process of Developing and Improving the Analytical Method of Benzene in Organic Solvents for Household Use: Interlaboratory Collaborative Study.....	124
Etsuko ISOHATA, Masatake TOYODA and Yukio SAITO: Studies on Chemical Analysis of Mycotoxim (XX) Chemical Analysis of Aflatoxins in Corn and Cornproducts.....	128
Tamio MAITANI, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: Examination of Spectral Interference in ICP-Atomic Emission Spectrometry and Metal Analysis on Commercially Available Natural Mineral Water.....	132
Hajime ISHIWATA, Takiko SUGITA and Kunitoshi YOSHIHIRA: Antimony and Other Heavy Metals in Metallic Kitchenware.....	134
Mieko KAMIKURA, Kyoko SATO, Yukihiko GODA and Kunitoshi YOSHIHIRA: Modified Method for the Identification of Sodium Chlorite and Sodium Hypochlorite as Food Additives.....	138
Shigeo HASHIBA, Yusuke TAKENAKA and Masahiro NAKADATE: Development of the Database on Nonproprietary Names of Drugs.....	141
Tetsuo KOMURO, Chikako YOMOTA and Toshio KIMURA: Lysozyme Reference Standard (Control 871) of the National Institute of Hygienic Sciences.....	145
Chikako YOMOTA, Ryuichi HASEGAWA, Tetsuo KOMURO, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Collaborative Study of Japanese Pharmacopoeia Heparin Sodium Reference Standard (Control 871).....	148
Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Ergocalciferol Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences.....	151
Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Cholecalciferol Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences.....	154
Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Diflucortolone-21-Valerate Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences.....	156

Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Cyanocobalamin Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences.....	159
Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Tocopherol Reference Standard (Control 881) of National Institute of Hygienic Sciences.....	162
Satoshi OKADA, Ritsuko HIROSHIGE, Masakazu TANAKA, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA and Toshio KIMURA: Prednisolone Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences.....	165
Satoshi OKADA, Ritsuko HIROSHIGE, Masakazu TANAKA, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA and Toshio KIMURA: Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences.....	168
Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA: Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 881) of National Institute of Hygienic Sciences.....	170
Annual Reports of Divisions.....	173
Summaries of Papers Published in Other Journals.....	210
Titles of Scientific Books.....	252
Scientific Reports to Governmental Agencies.....	255
Titles of Speeches at Scientific Meetings Seminars.....	264
Seminars	285
Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1988.....	291
Survey of the Results of National Tests.....	299
Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences.....	307

生薬の薬理試験法

原田正敏

Experimental Methodology on Pharmacological Studies on Crude Drugs

Masatoshi HARADA

Properties of crude drugs are different from those of a pure synthetic compound which is prepared as a candidate for a newly developed drug in that; crude drugs are composed of innumerable ingredients and have at least some therapeutic efficacies. Accordingly, a pharmacological study of crude drugs resembles studying of a sample such as a complex combined preparation and a lot of problems upon pharmacological examination arises from properties inherent in crude drugs. In this review, these problems are discussed, being based on pharmacological studies which have been performed in several crude drugs.

(Received May 31, 1989)

はじめに

多種多様にわたる天然物の中で、何かしらの薬効を持つものとして、古来から医療に使われているものを一般に生薬といっている。

医薬品の立場から生薬をみると次の2項目が大きな特徴となる。

- ① 既知、未知の複数の成分からなる。
- ② ヒトにおける治療効果の記載やその事実を持つ。生薬におけるこのような背景のもと、近代科学の黎明と同期しながら生薬の医薬品志向の研究は展開し、モルヒネを始めとする多くの医薬品がその過程の中で結実してきた。その研究過程の中には、医薬品というものの開発と共に薬理作用の試験法、評価法の展開があることを忘れることはできない。クロード・ベルナルが骨格筋弛緩薬のクラレの作用点をカエルを使って証明したときの“簡単な実験”は、作用点の解析という業績の重要性を示すと共に、実験技術の重要性をも唱えて余りあるものといえよう。

ところで、生薬にはこのクラレのように作用の極めて強いものから、続けて飲んでも副作用はないとさえ言われるほどに作用が緩和なものまでいろいろな種類がある。前者に属するものは、その作用のために研究対象になりやすく、ジギトキシンのような多くの天然物由来の医薬品が開発された。このことは、研究の成り行き上、概して、薬理作用の評価がしやすいもの——生薬に備わる効果が強いものから研究が進行し、

したがって、その種のものの研究は峠を越えていくことを示してもいる。

後者のものについては、その作用の緩和なため、必ずしも前者のような薬効評価の軌道に乗せて研究を進められるとは限らなくなってくる。この両者の薬効評価という点で、上に書いた特徴を加味して考えると次のようになる。

1) 作用の強い生薬：薬理作用の強い成分（有効成分）があり、それがその生薬の作用を事実上代表するので、研究上、主に、薬理作用の強い単一成分とみなして扱える。

2) 作用の緩和な生薬：薬理作用を持つ成分（有効成分）があっても、それが1種類とは限らず、また、含有量が少なかつたり、作用の強さがそれほどではなかつたりすると、必ずしもその生薬レベル（粗エキス）の段階ではその作用が“顔を出す”とは限らない。したがって、1)の単一成分的な扱いは難しくなり、複雑な配合製剤を扱うような見方をしなければならなくなってくる。

現在、わが国では、生薬の研究は化学と薬理活性両面で盛んであり、その対象物には和漢薬が多い。すなわち、上項の2)にあたる生薬となる。したがって、この種の試料で薬理試験を行う場合には、それ特有な諸現象に遭遇することがよくある。本稿では、これらのことについて、筆者が行った研究を中心として、具体的な生薬例を取り上げながら述べさせて頂く。したがって、個々の生薬の薬理は必要最小限に止めた。な

お、本稿の内容に関する記述は他の文献¹⁾にもあるので、必要に応じて参照されたい。

一般的事項

薬理試験法そのものは特に生薬特有のものはない。既存の方法を適宜選ぶ。新規な方法の開発が大事であることはどの分野にも通ずる。(薬理試験法の種類)

この際、動物の小型化は重要なことである。天然物成分は純粋にするにつけ量的に僅かになり、大量を集めるのには大変な作業となる。ストレス潰瘍予防の試験では、ラットが第一選択の動物であるが、マウスを使うことにより、試料量は1オーダー下げられる²⁾。また、節遮断薬の試験では、ネコをよく使うが、ラットを使えばやはり節約出来る³⁾。ただ、小動物のほうが測定パラメータに一層の限界があるので、試験目的にしたがった動物選択が必要である。(動物の小型化)

生薬から試験試料を作製するときの注意事項がある。いくつかの例を挙げよう。

生薬は天然の“なま”のものを加工処理して保存が利くように調製される。したがって、その調製法によっては、必ずしも同じ名称の品物でも、含有されるすべての成分がすべて同じである(天然物が持つ自然的バラツキの範囲内)とも限らない。

例えば、杏仁、桃仁(キョウニン、トウニン)はそのまま乾燥させた品物とあらかじめ炒る処理をした品物がある。これらから、熱水抽出エキスを造ると、前者では、含まれるアミグダリンがその途中で分解し、生成するベンズアルデヒドと胃酸は多く、あるいは、ほとんど揮散消失してしまう。一方、後者では、酵素のエムルジンが加工時に壊されてしまうので、エキス中にアミグダリンが移行してくる。したがって、これらの試料はアミグダリンについては、違うものとなる。そのため、アミグダリンが質、量共に十分薬理活性を示す成分であるならば、この両者のエキスの作用は異なって現れることになる。

また、アミグダリンを含む試料であっても、動物に投与した際のその分解の有無によって異なる効果を示す。例えば、桃仁のメタノールエキス(酵素の活性が働かない)をマウスとラットの胃内と腹腔内に投与すると、前者の投与方法では死亡を与えるのに対して、後者ではそれを与えない⁴⁾。(生薬の調製の知識; 薬物投与ルートと薬効の発現)

生薬中に酵素が生きている場合、その熱水抽出エキスを造る際に、その条件の違い(水の昇温速度など)が酵素活性の働きに当然影響を与える。そのため、それによって基質から生成する生成物の量が違ってくる。

配糖体とそのゲニン体の比率がその例である。この点、条件を揃えることが大事なことになる。

ただ、医薬品としてのエキスを考える場合には、最終的には薬効発揮が大事なことであるので、体内における成分の挙動を忘れてはならない。配糖体はいま述べたアミグダリン、あるいは、以下に例示する山梔子のゲニポンドのように多くの場合、消化管内で加水分解を受ける。そのため、試料中で配糖体とゲニン体の比率がそれぞれ違っていても、体内に適用された場合は最終的には同じ作用の状態になるかも知れない。このようなことから、医薬品としての生薬の品質評価には、常にヒトとの関連付けで見える見方が一方ではあることも忘れてはならない。(共存酵素の影響)

生薬は医薬品志向の下、一定範囲の成分的バラツキを許容されているから、同じ名前のものでロットによってそのバラツキがあることに注意しなければならない。麻黄(マオウ)の研究の際、初めに購入したものと1年ほどして購入したものとでは、エフェドリンとプソイドエフェドリンとの含量と比率が異なっていた(総量1.86%と0.90%、比率1:7と2:1)⁵⁾。したがって、一つの研究を終了させるために十分な一定ロットを確保する必要がある。(一定ロットの確保)

この例では、麻黄の2ロット間で有効成分の含有量が違っていたが、ここで、生薬の力価につき若干考察をしておく。局方では、総アルカロイド量を規定し(0.6%以上)、各成分の分離定量は要求していない。そして、この2ロットの麻黄は局方の規格には適合した。いま、薬理作用に関して、エフェドリンとプソイドエフェドリンを比較してみると、両者間で交感神経興奮作用と中枢興奮作用は質的には同様であるが、効力的には差異がある。例えば、血圧上昇(血管収縮)作用は前者が強く、血管透過性の抑制作用は後者が強い⁶⁾。麻黄は、鎮咳去痰薬、気管支拡張薬、鼻炎用薬、解熱鎮痛消炎薬とみなされる処方配合されているが、このような医薬品に期待される麻黄の治療効果は、必ずしもどちらかのアルカロイドに限定されることはなく、両アルカロイドにオーバーラップすると考えられる。したがって、麻黄の品質に対して、単一成分基準に立った評価は難しいことになる。そして、このような内容は麻黄に限らず、ほとんどの生薬に付随する。

ただ、生薬は成分的に、質、量ともに一定のバラツキを持つものであるが、できるだけ揃ったものが好ましいので、メーカーでは、局方の規格をさらに絞るなどして、品質の確保に対する工夫をしている⁷⁾。

含有成分のうちには、精油のように揮散しやすいものがある。一方、この成分が生薬の薬効に重要と見な

されることが多い。これらの生薬から作った煎剤の薬理を調べようとするとき、通常、この濃度では試料的にうす過ぎる。そのため、一層濃縮したり、乾燥エキスにして高濃度に溶かしたりする。そうすると、易揮散成分はさらに消失し、試験系に乗らないことになる。この点、やむを得ないことであるが、薬理試験結果の成分的検討に難しい問題を抱える。したがって、測定できた薬理効果の母生薬への関連付けはこの成分に關しては十分に吟味する必要がある。(易揮散成分)

生薬を研究目標にすると、必ずその薬効が付随してくる。ところで、この薬効の信憑性に関していろいろなレベルがある。薬理学的に証明されているものから単に文献上のものだけというものまでに渡る。したがって、薬理的基盤に不足している生薬では、その薬効に關して、必ずしもすべての人から共通の認識を受けているとは限らない。このような生薬について、もし、共通する情報があれば、一層生薬の性質を考えるときの参考になると思われる。これに相当するものとしては、行政上、公認されている効能・効果を挙げてよいであろう。ただ、日本の生薬使用の特徴として、単味の生薬よりも配合製剤(漢方製剤を含む)が優位なので、生薬によっては配合製剤の効能・効果を参考とせざるを得ないものが少なくない。このような立場で以下の生薬の薬効や使用の状態を記述するが、詳しいことは文献⁸⁾を参照されたい。(生薬の効能・効果)

カッコン(葛根)⁹⁾

マメ科クズの根である。漢方処方用薬であり、かぜ薬、解熱鎮痛消炎薬とみなされる処方などに配合されている。

本研究は葛根の各種溶媒による画分を一般的薬理スクリーニング法にかけて試験するというスタイルで行った。

葛根のメタノールエキスをマウス摘出小腸に投与すると、図1のように、小腸は、まず、収縮し、次いで直ぐに弛緩した。この現象は、エキス中に小腸平滑筋を収縮させる成分と弛緩させる成分が共存することを示唆するようである。そのため、成分分画を行ったところ、弛緩成分はダイズセインであり、パパベリンの約1/3の鎮痙効力を持つことがわかった。その後、中本らにより収縮成分はアセチルコリンであると同定された^{10a)}。

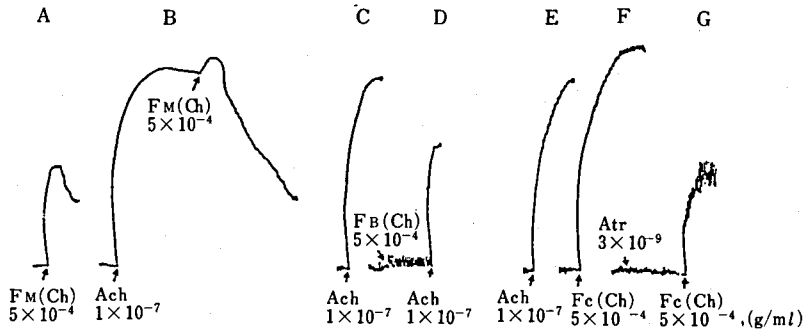
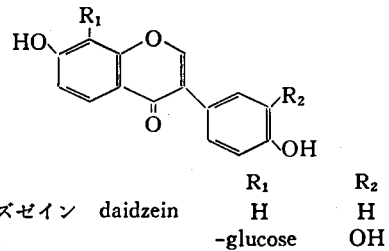


図1 葛根(中国産)エキスの摘出マウス小腸に対する作用^{9a)}

- 注) A: メタノールエキス (FM(ch)) は小腸を収縮させる。
 B: Aの作用はアセチルコリン (Ach) で収縮させた小腸でも僅かに認められる。しかし、この収縮は直ちに弛緩に転じ、その投与前のアセチルコリンのように収縮は持続しない。
 C: アセチルコリンによる収縮。
 D: FM(ch) を酢酸鉛で処理し、上清部をとり、これに塩基性酢酸鉛を加えて沈殿部 (FB(ch)) と上清部 (FC(ch)) に分ける。FB(ch) はアセチルコリンの収縮を抑制する。
 E: アセチルコリンによる収縮。
 F: FC(ch) は小腸を収縮させる。
 G: Fの作用はアトロピン (Atr) で拮抗される。

このような作用の相反現象は葛根でほかにもあり、例えば、異なる画分同士において、イヌ血圧の上昇と下降（静脈投与）やマウス体温の上昇と下降（腹腔内投与）を観察したが、広く、天然物粗エキスにおいて見られることのようにである。（相反する薬理作用の共存）

葛根エキスの各画分のスクリーニングにおいては、使用した量が抽出器官の試験（マグヌス法）で最高 1×10^{-2} g/ml という大量を使った^{9b)}。この量は極めて多く、通常の試験では事実上使用しない。しかし、エキスでは、その中に活性成分があったとしても共存する非活性成分により希釈されているので、かなり大量を使って初めて効果が認められることもある。例えば、アセチルコリンの活性は、それ単独であれば、極めて低用量でも検出できるが、エキス中ではエキスの過剰量を使ってその活性が得られた。

したがって、試験薬用量をどの程度までにするかは、分画操作の進み具合などに応じて適宜選ぶことが必要になる。要は特異的活性が評価されればよい。このことは丸ごと動物についてもいえることである。ただ、高用量では浸透圧やpHなどの影響が出やすいので注意が必要となる。（エキスの最高投与量の選択）

生薬成分の中には水に溶けにくいものが少なくない。粗エキスときには比較的水に馴染むが、分画操作が進んでつれてそのような画分が現れてくる。そのため、溶解補助剤や懸濁剤を使う場合が出てくる。そのようにして調製した試料液が試験標本に対する最終段階のものであればよいが、*in vitro* 試験時にあるように、栄養液を介するような場合、しばしば、栄養液に均一に拡散する前に再度析出することがある。これは上に述べたダイズゼインの場合にも起ったことであるが、このようなときには、あらかじめ栄養液中に溶かしておいたものを最終試験液として使うとよい。（難溶性物質の適用）

各画分のトノサマガエル坐骨神経-縫工筋における試験において、アセトン抽出画分やそれに続くメタノール抽出画分は神経刺激による筋の収縮を抑制したが、それに続く水抽出画分はその反対にその収縮を増強した。これに関与する成分は極めて水可溶なものであることがわかり、その作用の“面白さ（コリンエステラーゼ阻害薬はこの作用を持ち、通常は強い作用の薬物群に属する。）”のために期待したのであるが、植物エキス中にはミネラルが多く含まれることを思い出し、その画分を灰化してその灰分を試験したところ、まさにそれと同じ結果を得てしまった。言ってみれば、標本を養う培地の無機成分の組成を変えた実験をしてい

たことになった。これは非特異的な薬理活性であるので、試料がエキスのときにはこれに対する配慮が要る。（エキス中の非特異的成分による“不必要な活性”の発現）

上に述べたように、葛根中にはアセチルコリンがある。本成分は不安定な成分であり、分解されやすく、飲んで薬効を発揮するまでにいたらない。ところが、エキス中に本成分が存在すると、その分解はかなり抑制されてくる。中本らの研究^{10b)}によると、アセチルコリンの一定量を含むエキス（このエキス中にはアセチルコリンが示す以外のコリン作動活性はない）とアセチルコリン単独につき、コリンエステラーゼと加熱による分解反応を調べたところ（*in vitro* 試験）、前者は極めて強い抵抗性を示した。また、モルモットの消化管適用で、薬液に触れない消化管の運動を亢進させた。

このような現象は、不安定な活性成分がエキス中の共存成分によって、安定化・保護されていることを示唆しており、薬剤学的見地からも重要な性質と思われる。（易分解性物質の安定化・保護）

なお、葛根中には、PG-1 というイソフラボン成分があるが^{9c)}、本成分はモルモットの摘出輸精管のアドレナリンによる収縮を増強する作用（交感神経系の作用の増強）を示した（ 1×10^{-4} g/ml）^{9b)}。

シャクヤク（芍薬）¹¹⁾

ボタン科シャクヤクの根はそれにあたる。胃腸鎮痛薬であり、漢方処方薬としても使う。漢方処方では、鎮痛鎮痙薬、婦人薬、冷え症用薬、かぜ薬、皮膚疾患用薬、消炎排膿薬とみなされる処方などに繁用されている。

芍薬の研究は主成分ペオニフロリンについて一般薬理スクリーニングを行った。エキスの試験はそれほど行わなかったが、その理由は、既存の報告を見ると、エキスの作用が緩和であること、本成分が量的に主要な特殊成分であること（含有量 2~4%）¹²⁾、そして、単一物質であれば、作用が緩和でもある程度の解析ができることなどであった。（試験物質の選択）

ペオニフロリンは確かに作用は緩和である。例えば、急性毒性（LD₅₀）は 3.53 g/kg（静脈）、9.53 g/kg（腹腔）で事実上無毒とさえいえる。その薬理作用として、鎮静作用、抗炎症作用、内臓平滑筋弛緩作用、血管平滑筋弛緩作用などが得られた。そして、芍薬の推定される治療効果と適合するとも考えられた。しかし、これらの作用は極めて高用量で発現するので、普通の新薬開発的な評価からは問題にならないかも知れ

表1 薬理作用の構造特異性の例

	ペオニフロリン				ベンゾイルメサコニン
	脳室内投与による鎮静、催眠 (ラット)	冠血管拡張 (イヌ生体位, i. a.)	胃運動弛緩 (ラット生体位, i. v.)	抗オキシトシン作用 (ラット摘出子宮)	致死量 (マウス, i. p.)
本体	+ (≥ 1 mg/head)	+ (≥ 0.5 mg/heart)	+ (≥ 200 mg/kg)	+ (1.67×10^{-3} M)	40~50 mg/hg
desbenzoyl 体	- (5mg/head)	- (40 mg/heart)	- (600 mg/kg)	- (1.67×10^{-3} M)	300~330 mg/kg
安息香酸 Na		- (10 mg/heart)			

i. a.: 動脈内投与, i. v.: 静脈内投与, i. p.: 腹腔内投与, +: 作用あり, -: 作用なし

ない。

ただ、薬理試験に付きまとう事項、すなわち、薬物に対する動物とヒトの反応性の差、また、正常状態と病的・異常状態におけるその反応性の差があるので、なかなか緩和な作用の評価は難しい。

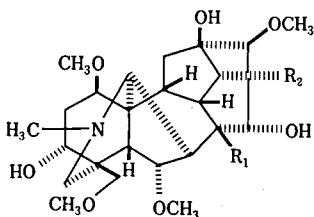
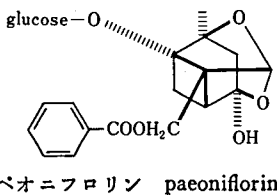
一方、薬理作用の構造特異性はその物質固有のものであるから、この性質はその物質の薬理的性格という点で重要なことである。その考えに基づいて、本成分の脱ベンゾイル体の供給が可能であったので、そのベンゾイル部分 (安息香酸) と共に作用を見たところ、表1のようにペオニフロリンの作用は完全に特異的のものであった。したがって、この緩和な作用をどのようにヒトで評価するのは難しいが、少なくとも、構造特異性の作用であるという点、意義を持つものと考

えられる。なお、表1には、この例に似た活性の減弱が附子 (フシ) についても載っている¹³⁾。(緩和な作用の構造特異性)

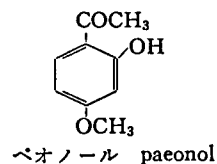
芍薬の水溶性画分の一つは、ウサギの子宮運動を経口投与で持続的に亢進させた。この作用機序を検討するのであるが、1回の投与で観察時間に2~3時間しかかからない。そのため、拮抗薬を利用した実験はなかなか行えない。その点、薬物の静脈適用は、作用の持続性が短いため、反復実験には極めて好都合である。しかし、エキス画分の静脈投与は非吸収成分がある試料では、あまり合理的ではない。ただ、次善の策として、もし、この活性成分がエキスの活性をリードするならば、静脈投与でもある程度の検討はできるであろう。このようなことで、ラットを使い、静脈投与で試験した。結果は、エキスの子宮運動亢進作用はアトロピンの前処置により抑制されることを示し、エキス中にコリン作動性の成分があることを知った。多分、この成分が経口投与によって得た活性の本体であろう¹⁴⁾。(投与経路の互換性)

芍薬と関連して、同じボタン科に属する植物にボタンがある。その根皮を牡丹皮といって重要な生薬とする。漢方処方用薬としては、婦人薬とみなされる処方などに配合されている。

牡丹皮中には、芍薬と同様にペオニフロリンが含まれており、その量は0.5~1%強で、芍薬の1/4のほどである。また、主成分としては、ペオノールが1%強から2.5%ほど含まれる¹⁵⁾。芍薬と牡丹皮はかなり共通な薬能を唱えており、しばしば同一処方に配合される。したがって、このような処方では、その治療効果



		R ₁	R ₂
メサコニチン	mesaconitine	-OCOCH ₃	-OCOC ₆ H ₅
ベンゾイルメサコニン	benzoylmesaconine	-OH	-OCOC ₆ H ₅
メサコニン	mesaconine	-OH	-OH

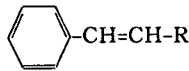


にベオニフロリンが一層関与する可能性は大きい。なお、ベオノールは種々の薬理効果を示すが、抗炎症試験でアスピリンの1/3程度の活性を与えた¹⁶⁾。(生薬の組合せによる成分的オーバーラップ)

ケイヒ (桂皮)¹⁷⁾

クスノキ科 *Cinnamomum cassia* Blume の樹皮はこれにあたる。健胃薬であり、漢方処方薬としても使われる。漢方処分では、かぜ薬、鎮痛鎮痙薬、解熱鎮痛消炎薬、鎮痛薬、動悸抑制薬、保健強壯薬、婦人薬とみなされる処方などに繁用されている。

桂皮の研究はその主成分ケイアルデヒドについて行った。本成分はその芳香性、味覚刺激性のためにあまねく知られている。このような特殊感覚を介する薬理作用(局所適用による作用)の重要性はいうまでもないが、その一方、本成分が体内(血液循環)に入ったときにはそれとは別の薬理作用(全身的適用による作用)を示す可能性がある。ここではそれを調べることにした。



ケイアルデヒド	-CHO
ケイアルコール	-CH ₂ OH
桂皮酸	-COOH

その薬理研究の結果、ケイアルデヒドは少量で中枢興奮作用(脳幹網様体の刺激)、多量では中枢抑制作用を示すが、緩和な効力であること、交感神経末端や副腎からカテコールアミンを遊離すること、緩和な平滑筋弛緩作用(ババペリン様作用)や末梢血流量増加作用を持つことなどがわかった。この中には後に述べるように相反する方向の作用も現れているので、したがって、生体に対する総合的効果は極めて複雑なものである。

ここでは、薬理スクリーニングの段階で得た知見からカテコールアミン遊離作用を調べるに至ったいきさつを紹介しよう。

桂皮の薬能から循環器系に対する作用を調べようと思ひ、その一環としてモルモットの摘出心臓にケイアルデヒドを与えた。そうすると、心収縮力と拍動数は増加し、強心作用を呈した。そして、この作用は発現に潜時を持つという特徴を示した。このことは、ケイアルデヒドの直接的作用ではなく、何らかの間接的作用であるように思われた。その考え方の一つとして、この薬物が心臓の交感神経末端からカテコールアミンを遊離し、それが強心作用を与えるという機序が候補

となるが、その後の実験で、このことが実験薬理学的に証明された。また、この作用はケイアルコールと桂皮酸では現れなかったので本成分のアルデヒド基に特異的なものである。(構造特異性)

ケイアルデヒドのこの作用は、その機序から考えると、他の関連臓器にも十分起こることが予想される。近い例として、アセトアルデヒドにこの作用が認められており、この物質はイヌの副腎からカテコールアミンを遊離する。このようなことからイヌの摘出副腎を使って試験し、ケイアルデヒドのカテコールアミン遊離作用を化学的に定量して確認した。それならば、この遊離は生体においても起こるはずであるから、その際、遊離されるカテコールアミンが多かれ、少なかれ、ある程度の作用を生体に与えるであろう。それを見るために、麻酔イヌの副腎に対して、直接動脈注射で与えたところ、全身血圧は上昇した。そして、この上昇はカテコールアミンに基づくものであることを実験薬理学的に証明した。なお、この副腎における遊離作用の受容体的検討の結果、ケイアルデヒドは副腎のアセチルコリン受容体を介さない機序により作用することが判明した。

ところが、動脈経由の薬物適用は極めて特殊なもので、通常の薬物は全身循環系を介してそれぞれの臓器・組織に作用する。生薬としては、ケイアルデヒドは桂皮を介して体内に入るわけであるから、実際の作用は消化管適用下で起こるものである。それを見るために、まず、ケイアルデヒドの静脈投与下での作用を調べた。この投与ルートであれば、直接ある濃度のケイアルデヒドは副腎に到達するはずであるから、作用は起こるであろう。実験の結果、20 mg/kg の投与により静脈血のカテコールアミン量は増加することを認め、また、上で述べたように、薬理学的に証明した作用機序をその量の測定を通して分析化学的に確認した(図2参照)。

続いて、消化管投与に移った。ケイアルデヒドは化学構造上、消化管からの吸収は十分あると思われるが、活性のある基を持っており、消化管適用では、どの程度副腎に到達するかは不明である。しかし、ある量はそこへ達するであろうと考え、静脈投与時の適用量を参考として、50~200 mg/kg を十二指腸内に投与した。その結果、表2に示すように、投与後、20~30分で血中のカテコールアミン量は用量依存的に増加し、高用量では2時間以上持続した。

その作用を吸収量と連動させてみるため、薬物投与後の門脈血と静脈血中のケイアルデヒド量を測定した。それにより、ケイアルデヒド 200 mg/kg では投与後

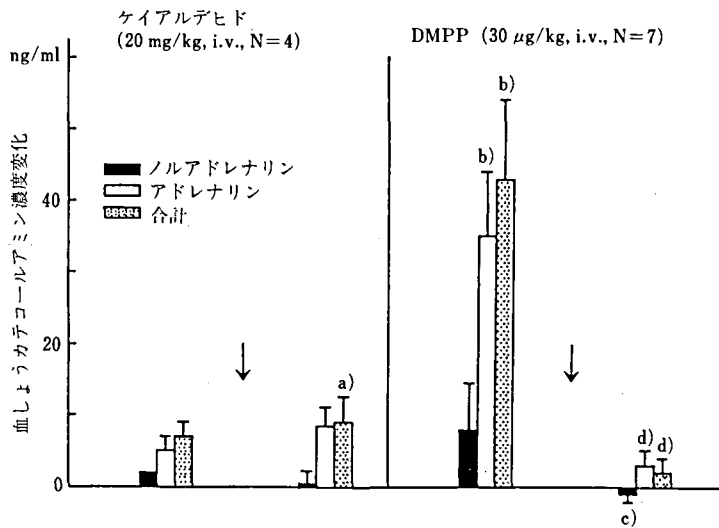


図2 ケイアルデヒドのイヌ静脈投与におけるカテコールアミン遊離作用^{7e)}

注) DMPP: dimethylphenylpiperazinium

↓: ヘキサメトニウム+アトロピンで節遮断を行う。

a) $p < 0.05$ (基礎分泌量に対して) b) $p < 0.01$ (同)

c) $p < 0.05$ (節遮断前に対して) d) $p < 0.01$ (同)

5分で吸収はピークとなり、2時間以上持続することがわかった。この際、血中に分泌されたカテコールアミンによると思われる薬理作用としては予試験的ではあるが血糖値の上昇がみられた。なお、血圧の上昇は見られないが、ケイアルデヒドは末梢血管の拡張作用を持つので、ネットとしての作用がそのように出たものであろう。この薬用量(50 mg/kg から)は用量的に評価できる量であり、ケイアルデヒドの種々の作用の中では重要な作用と思われる。例えてみると、生体を“活動型”に導くといえる。

以上のことを実験薬理の立場から見ると、*in vitro* 標本の結果と *in vivo* 標本の結果との関連付けがよく問題となるが、作用機序の内容によっては、両者の結果を比較的密に関連付けることができる——という一つの例示とみなせる。(*in vitro* 標本の結果と *in vivo* 標本の結果との関連性)

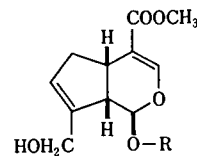
いままで述べてきたことはあくまでケイアルデヒドについてのものであり、桂皮自身ではない。これらの結果を桂皮の薬理に結び付けるとすれば、本成分が揮発性成分であるということからくる問題に直面する。生薬中にはケイアルデヒドは1%以上含まれる重要成分であるが、桂皮を粉末で使う場合を除き、それを配合する処方煎剤として使うことが多い。そうすると、煎剤中では、その溶存量はかなり減ってくる。したがって、桂皮という生薬の効能・効果をケイアルデヒドを介して考察するにはなかなか難しいことがあり、い

まのところ断定的なことはいえない。しかし、桂皮の品質評価のパラメータとして、味や香り、そして精油分(ケイアルデヒドが約90%)は重要な要素であるから、本成分は桂皮を考える際にはいろいろな意味で主要成分の位置を占めるといえる。(易揮散成分)

サンシン (山梔子)¹⁸⁾

アカネ科クチナシの果実はそれにあたる。漢方処方薬として使われ、消炎排膿薬、皮膚疾患用薬、尿路疾患用薬、精神神経用薬とみなされる処方などに配合されている。

この研究は主成分ゲニボシドとそのゲニン体のゲニピン、および、少数項目でエキスをを用いて行った。なお、ゲニピンは生薬には含まれていない。両成分を試験した意図は、前者が生薬中、約5%と高含量であること¹⁹⁾、生体内で前者は加水分解を受けて後者を遊離するであろうこと、配糖体よりもゲニン体のほうが概して強い活性を示す例があること、そして、エキスの



ゲニボシド	geniposide	-R
ゲニピン	genipin	-glucose
		H

表2 ケイアルデヒドのイヌ十二指腸内投与

時間 (分)	CMC(N=3)			50 mg/kg(N=3)		
	A	N	T	A	N	T
Basal ^{a)}	1.9±0.8	5.4±1.7	7.3±1.5	2.8±0.3	5.1±1.0	7.9±0.7
1						
5	2.4±0.8	4.0±1.5	6.5±1.6			
10	2.4±0.7	4.1±1.9	6.5±1.5			
20	2.7±0.5	3.6±1.6	6.3±1.4	9.7±2.2 ^{b)}	6.6±2.6	16.3±3.6
30	4.0±1.1	2.8±1.9	6.8±0.9			
45	4.2±2.0	3.5±2.0	8.0±0.4			
60	4.0±0.9	2.9±1.8	6.8±0.9	6.2±2.2	6.4±1.9	12.6±2.7
90	4.8±1.3	2.1±1.7	6.9±0.4			
120	3.0±1.3	3.1±1.7	4.9±2.0	3.3±0.5	5.7±1.3	8.9±1.1
180				3.9±1.5	5.0±1.1	8.9±1.3
240				2.3±1.3	4.1±1.4	6.4±0.6
300				2.8±1.4	4.4±1.4	7.3±0.1
360				2.4±1.0	3.6±0.6	6.1±0.4

注) 数字は血しょう濃度 (ng/ml), a) 基礎分泌量, b) $p < 0.05$ (a) に対して), c) $p < 0.01$ (同)

活性は緩和らしいことなどから出たものである。そして、この兩成分はできるだけ同時に試験した。このようにすると、兩者間で比較がよくでき、また、しばしば、コントロール群が1群ですむので都合がよい。(関連する成分同士の同時試験)

山梔子の薬能として、鎮静、消炎、利胆、止血、利尿などがいわれている。これらを目標に、まず、第一次スクリーニング(症状観察、摘出小腸、血圧など)、次いで、鎮静、消炎、利尿に関する試験を種々行ったが、その当時のルーチンの方法では顕著な作用は得られなかった。結果論的にはなるが、最後に予定していた利胆実験からこの生薬の研究は展開することになった。

ラットにゲンボシド 1g/kg を静脈内、十二指腸内、経口の3ルートで与えても、胆汁分泌作用は促進されなかった。これに反して、ゲンビンは25~100 mg/kg でその活性を示し、対照薬デヒドロコール酸を上回る効力であった。前者が体内で分解して後者を与えたとすれば、前者の作用は見られてもよいわけである。ところが、その投与量は1g/kg と極めて多く、また、消化管経由、非消化管適用の兩者で効かなかったものだから、その理由についての詳細な検討はそれ以上行わず、中止してもよいのかも知れない。ただ、毒性も低いので、敢えて2g/kg の経口投与を試みた。勿論、その量の静脈投与は実験薬理的には余りにも大過剰であるので行わなかった。

そうすると、図3に示すように、投与2時間目から

有意の胆汁分泌促進がみられ、7時間まで持続した。この際、1g/kg は2時間目位から分泌促進の傾向を示し、6~7時間で初めて有意な活性を与えた。なぜ、最初の実験で1g/kg の情報を得られなかったかという点、ゲンピンやデヒドロコール酸の活性は投与後30分でピークになり、2時間では消失してしまうのを見ており、数時間以上という長時間の観察をしなかったこと、有意差を示さない活性発現の傾向は、そのときには“前向き”には評価しにくかったことなどのためであった。(投与量、投与ルート、実験観察時間におけ

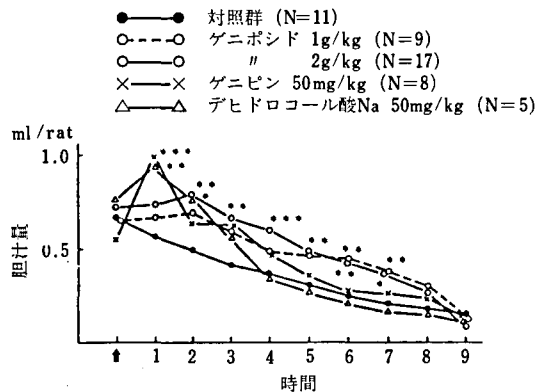


図3 ゲンボシドとゲンビンのラット胆汁分泌促進作用^{18c)}

注) *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, ***, $p < 0.001$

↑, 十二指腸内投与

におけるカテコールアミン遊離作用

100 mg/kg(N=5)			200 mg/kg(N=10)		
A	N	T	A	N	T
3.5±0.6	3.6±0.2	7.2±0.6	2.5±0.4	4.4±0.4	6.9±0.3
			4.9±1.6	2.9±0.6	7.8±1.1
			7.3±2.9	2.9±0.6	10.2±2.7
			11.7±5.4	2.3±0.6	14.0±5.1
8.8±1.6 ^{b)}	4.7±0.9	13.5±2.0 ^{b)}	19.0±9.1	3.0±0.6	22.0±8.8
			13.5±3.5 ^{c)}	2.1±0.4	15.6±3.3 ^{b)}
			15.6±4.5 ^{c)}	3.1±0.6	18.6±4.6 ^{b)}
7.2±2.2	3.0±0.8	10.2±1.6	23.7±7.2 ^{c)}	3.6±1.3	27.3±7.6 ^{b)}
			35.5±12.2 ^{b)}	6.0±2.6	41.5±12.6 ^{b)}
7.7±2.1	5.0±0.8	12.7±2.8	76.4±28.7 ^{b)}	20.5±7.1	96.1±31.6 ^{b)}
9.8±3.6	5.2±1.3	15.0±4.5			
4.6±1.9	4.5±0.8	9.1±1.9			
4.7±0.9	3.0±0.6	7.8±1.0			
3.2±0.9	3.8±0.4	7.0±0.9			

A: アドレナリン, N: ノルアドレナリン, T: 合計

るケースバイケースの選択)

このようにして、利胆作用の本体はゲニピンであり、ゲニポシドを服用すると消化管内で加水分解が起こって、ゲニピンが生じ、それが胆汁分泌を促進させるといふ仮説が立てられた。検討の結果、ゲニピンはその通りの挙動をとって肝臓に達し、そこでグルクロン酸抱合を受け、Na⁺ イオンと共に肝細胞から毛細胆管に能動輸送されるときに浸透圧勾配ができ、それに伴って水分が移動して胆汁量が増加するという胆汁酸非依存の利胆作用を持つことがわかった。(消化管投与の特徴)

ゲニポシドのゲニピンを介して現す利胆作用は生薬の薬効に関係するものと思われるが、この研究は生薬の治療効果に関する情報を実験遂行の判断材料にすることができた一例である。(実験モデルの選択)

Takeda *et al.* はゲニピンの利胆作用から出発して、同系列のイリド化合物やクマリン化合物、あるいはフェノール性化合物について、構造-活性相関的に調べており、グルクロン酸抱合能が重要であることを示した²⁰⁾。(構造-活性相関の展開)

なお、ゲニピンの一定量はラットのカルバコール(コリン作動薬)誘発胃酸分泌を抑制し、マウス小腸のコリン作動薬による収縮を競合的に拮抗した。この作用は抗コリン作用(アトロピン様作用)を示唆するが、構造的に窒素を含まない点、興味あるところである^{18d)}。

マオウ(麻黄)⁵⁾

マオウ科 *Ephedra sinica* Stapf の地上茎はそれにあたる。鎮咳去痰薬であり、漢方処方用薬としても使われる。漢方処方では、鎮咳去痰薬、気管支拡張薬、鼻炎用薬、解熱鎮痛消炎薬とみなされる処方などに配合されている。

一般的に、生薬の含有成分(または成分群)が化学的および薬理的に逐次解明されていくにつれて、その成分が生薬全体の効果に対してどの程度関与するであろうか——ということが重要な問題として浮かび上がってくる。もし、その関連成分がある程度でもわかってくれば、その知見は生薬の品質評価の一層のレベルアップに通ずる。ちょうど、ロートエキスをその中のヒヨスチアミン系アルカロイドによって取り扱うことができるように。

このようなところに焦点をあてて、本研究は行われた。この種の研究が行えるためには、取り上げる成分がエキスから抽出できること、エキス中のその含有量が定量できること、そして、なるべく、エキスからその成分だけを除いたもの(脱該成分エキス、“ブランクエキス”)が調製できることの3点が必要となる。この条件に該当するものは極めて少なく、アルカロイド含有生薬がそれに相当するぐらいである。また、この場合の薬物投与ルートはエキスの実際的使用に基づくものである以上、少なくとも消化管内投与でなければならぬ。そうすると、エキスの薬効が薬理試験で評

価できるものでないと意味がない。このような条件を満たすものとして麻黄を選んだわけである。

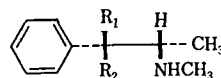
試料は、麻黄エキス、そのアルカロイド画分、そして、脱アルカロイドエキス（エキスの1/10~1/20のアルカロイドが残存）である。それぞれ、含有アルカロイドとして同じ量、脱アルカロイドエキスではエキス相当量を使った。

薬理活性評価のモデルとしては、麻黄の薬能やエフェドリン類の薬理効果などに基づいて、交感神経興奮作用や中枢神経興奮作用が重要であるので、それらを評価するモデルを選んだ。試験の結果、マウスの自発運動量の増加、ラットの自発脳波上の覚醒、イヌの血圧上昇（図4）、血糖の増加（図4）、気道抵抗の減少（気管支拡張に相当する）、マウス酢酸-腹膜炎の血管透過性亢進の抑制、ラットカラゲニン-足趾浮腫の抑制（アドレナリン作動性機構の関与あり）において、麻黄エキスとアルカロイド画分は活性を示し、脱アルカロイドエキスは活性を示さないか、あるいは、示しても極めて弱いものであった（投与ルートはイヌが十二指腸内、その他は経口）。

これらの結果は麻黄の薬効に含有アルカロイドが質的に極めて優位に関与することを示す。厳密に言えば、ここでの試験モデルが麻黄の薬効のすべてを評価したとはいえないし、また、用いた投与量も限られた範囲のものであるから必ずしも投与量全体を代表しないかも知れない。しかし、本実験の範囲はかなりの重要領域をカバーしているので、麻黄の評価にアルカロイドを第一義的に考えてよいといえよう。（含有成分の母生薬に対する関与度）

それでは、麻黄エキス中のアルカロイド（3.6%）以外の共存成分（96.4%）はあまり意味がないのであろうか——となると、ここに一つの問題が出てくる。それは、麻黄エキスとアルカロイド画分（20 mg/kg）の比較において、例えば、イヌの血圧上昇、血糖の増加の観察で、作用のピーク時の強さが前者は後者の1/2ほどで、持続時間にはあまり違いはなかったという現象である。よく、エキスは作用が緩和で持続的であるといわれるが、このような性質が麻黄にも現れているようにも思え、このことを薬物の吸収面で見ることにして、その吸収状態をイヌの門脈血中と静脈血中におけるアルカロイド量の測定を行って調べた。

その結果、図4に示すように、エキス中のアルカロイドの吸収はアルカロイド単独の場合に比べて、ゆっくりと起こり、投与後30分ほどで後者と同じレベルに達し、その後はそのレベルを越えて、持続的な吸収パターンを示した。このことは確かにエキスの特徴を示



R₁ R₂
 (-) エフェドリン H OH
 (+) プソイドエフェドリン OH H

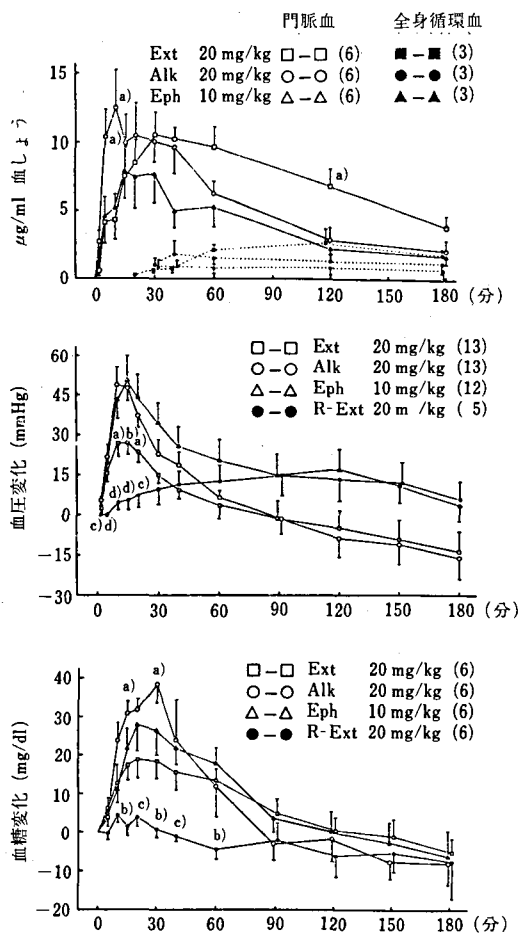


図4 麻黄エキス (Ext)、アルカロイド画分 (Alk)、エフェドリン (Eph)、脱アルカロイド麻黄エキス (R-Ext) のイヌ血中濃度 (上段)、血圧上昇作用 (中段)、血糖増加作用 (下段)^{5a)}

注) 用量は Alk 換算又は相当した量 (十二指腸内投与)。カッコ内は例数。

上段: a) $p < 0.05$ (Ext~Alk), 中段: a) $p < 0.05$ (Ext~Alk); b) $p < 0.01$ (Ext~Alk); c) $p < 0.05$ (Ext~R-Ext); d) $p < 0.01$ (Ext~R-Ext); 下段: a) $p < 0.05$ (Ext~Alk); b) $p < 0.01$ (Ext~R-Ext); c) $p < 0.05$ (Ext~R-Ext)。

しており、アルカロイド以外の共存成分が影響を与えているわけである。薬剤の剤形の中で、徐放剤があるが、エキスの特徴の一つとしてそのような性質が具備されているといえよう。ただ、脂肪と胆汁酸の関係のように、共存成分の種類によっては、かえって、ある成分の吸収促進に働くような例もあるので、ケースバイケースでエキスをみる必要はある。(共存成分の影響)

また、薬物の血中濃度と薬効発揮が比例するものと必ずしもそうでないものがある。麻黄の例では、投与後、15～20分ぐらまではアルカロイドの吸収量と薬効発揮は比例したが、それ以降は吸収が十分あっても、薬効発揮は減弱あるいは消失し、比例関係は認められなかった(図4)。その理由としては、アルカロイドのタキフィラキシー(交感神経終末におけるカテコールアミンの減少)が考えられる。(薬物の血中濃度と薬理作用の関係)

エキスのこのような性質から、もし、あるエキスがあり、その主成分がエキスの薬効を代表し、共存成分はその吸収を修飾するものであれば、その修飾物質を何らかの単一成分あるいは配合成分群で置き換えることにより、エキスを成分的に管理可能なものでシミュレートできるかも知れない。しかし、現実には、エキス中には多くの有効成分があり、さらに、処方レベルになると一層複雑さが増すので、実用的意義は持たないであろう。なお、本論とは離れるが、成分の管理という点において、生薬分野へのバイオテクノロジーの導入の試みは意義のあることと考えられる。

エキスの投与ルートを選ぶとき、何時も感ずることであるが、エキスは必ず消化管から吸収されない成分を含む。そのため、一定の臓器や組織に対する直接作用を見るには、エキスそのものより、吸収を受けた画分でみる方が研究内容としては合理的である。また、純物質でも難溶のものは脈管注射ができず、臓器や組織に対する直接作用はやはり見られない。このことから、吸収される画分を取得すること、あるいは、吸収された物質をそのまま(門脈血中にあるまま)直接試験臓器や組織に作用させることを考察した²¹⁾。

前者では、ロートエキスをイヌの十二指腸内に投与し、直ちに門脈血を一定補液下でできるだけ多量に採取し、除蛋白後の血清を試験試料にした。これについて、摘出小腸標本と血圧測定標本で、アトロピン作用を確認することができ、もし、吸収される物質に一定以上の効力があるものであれば、この方法で被吸収画分(勿論多数の成分から成るであろう)の作用を調べることができることを知った。

後者については、イヌの門脈を直接大腿動脈に繋いで血液ルートを作り、後肢血流量を測定することができる。このイヌの十二指腸内にエフェドリンとパバペリンを投与すると、それぞれ、血流量は減少と増加を示し、それらの薬物の性質通りの作用を示した(血圧やその他の知見から、一定の時間範囲では後肢血管に対する直接作用であると解釈できる)。この血流の変動パターンは薬物の吸収パターンを逐一表現していると考えられ、化学的定量では描けない特徴を持つ。この標本に麻黄エキスを投与すると、血流量は減少し、確かにエキス中の被吸収画分の作用はエフェドリン類似のものであることがわかった。

さらに、難溶性の物質として、芍薬の項で述べた牡丹皮の主成分ベオノールを投与したところ、血流減少作用を示した。すなわち、ベオノールの吸収体(その化学的確認は未定)は血管収縮作用を示すのであるが、この知見は普通の動脈適用では得られない特徴的なものである。(非吸収画分を含むエキスあるいは難溶性成分からの被吸収画分の取得と薬効評価)

センキュウ(川芎)²²⁾

セリ科 *Cnidium officinale* Makino の根茎である。漢方処方用薬としては、婦人薬、冷え症用薬、皮膚疾患用薬、消炎排膿薬とみなされる処方などに配合されている。

この研究は川芎の毒性学的検討²³⁾時に、丸ごとの動物において、顕著な症状が観察されたため、その機構を解明する目的で行った。

川芎のエキスをラットの腹腔内に投与すると、筋肉が弛緩し、特に後肢は後方に伸ばしたまま、腹這いの状態を持続させる。この筋肉の弛緩症状は他の症状に比べて顕著なものであり、また、そのような状態にあっても、呼吸麻痺に陥ることはなく、大量投与による死亡発現を除いては、やがて回復する。この弛緩症状は丸ごとの動物の症状としては比較的特異的なものと思われ、中枢性の筋弛緩作用の出現を比較強く考えることができる。

そのため、症状の出現の有無をパラメータとして、エキスの分画を行ったところ、クロロホルム画分に筋弛緩状態の活性は集約し、その画分の主構成成分であり、また、特異的成分のリグスチライド、クニジライド、センキュウノライドのフタライド系化合物にその作用を認めた。この作用機序を追求するため、ラットの脊髄反射(交叉伸展反射)に対する作用を検討したところ、図5に示すように、これらの化合物やクロロホルム画分は、脊髄反射を抑制して筋弛緩作用(中枢

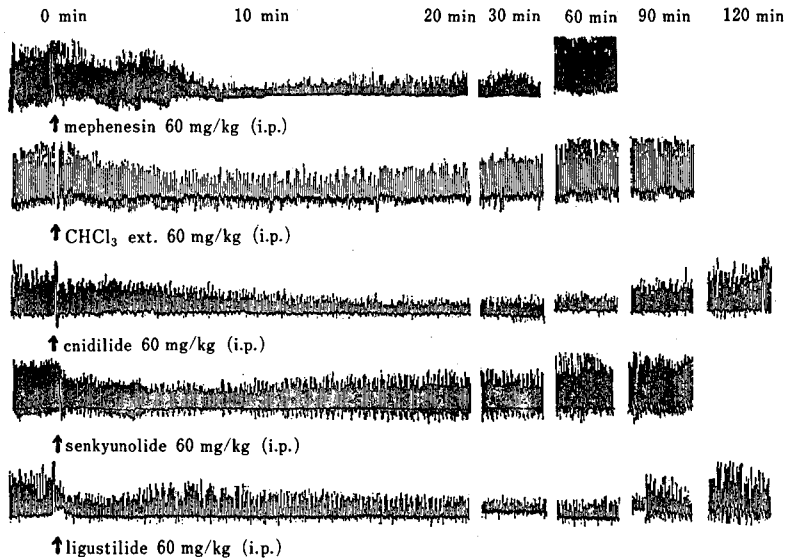
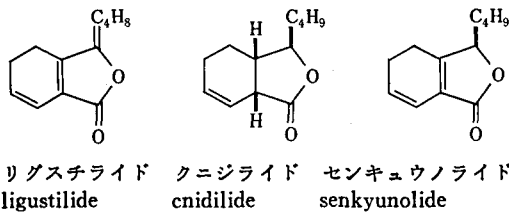


図5 川芎のクロロホルムエキスおよびフタライド化合物のラット交叉伸展反射に対する作用(腹腔内投与)^{22a)}

注) 記録の高さは片側坐骨神経の中樞端の電気刺激による反対側の後肢の動きを示す。



性筋弛緩作用)を示し、クラール作用(末梢性の筋弛緩作用)は持たないことがわかった。これらの効力は、対照薬のメフェネシンの約1/2であり、消化管からの吸収も良い。本フタライド化合物は川芎の主要成分であるので、その治療効果に密に関連することが伺えた。(症状観察時に見られる症状の重要性)

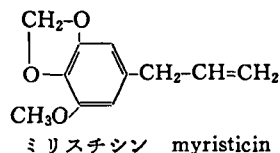
ニクズク(肉豆蔻)(メース)

ニクズク科ニクズクの種子である。健胃薬に属する。その仮種皮をメースといい、これも生薬あるいはスパイスとして使う。メースは熱帯圏でよく用いられ、例えば、インドネシアでは、芳香性健胃薬、鎮痛薬、抗リウマチ薬とされている。

Ozakiらはメースについて、インドネシアの研究者と共同研究を行い、民間での効能・効果に基づき、その活性成分の本体を追求した²³⁾。その試験遂行の特徴は、目標とする薬理試験モデルを選択し、エキスの細画分の投与量を、それらの取得量に比例した量に基づいて設定したことである。

試験モデルには、民間での効能・効果から考えて、抗炎症作用を取り上げ、ラットのカラゲニン足蹠浮腫とマウス酢酸誘発腹膜炎の血管透過性と腹部のよじり症状を指標としている。その結果、これらの試験法で、エキスの経口投与は活性を与えた(1.5g/kg:足蹠浮腫抑制, 1g/kg:血管透過性抑制, 0.3g/kg:よじり症状抑制)。さらに、マウスの試験モデルを用い、逐次、母エキスの細画分を溶媒による分配と各種クロマトグラフ法により進め、各画分の取得量に応じた投与量を基準として活性の移行を追求したところ、ほとんど定量的に活性画分を一定の脂溶性画分に集約することができた。このときの試験で、ラットモデルを使用しなかったのは、最初の試験で、ラットとマウスの両標本で作用に平行性が見られたこと、マウス標本のほうが試料が少量で済む利点があることによる。この最終活性画分は90%ほどミリスチシンであり、メースの抗炎症作用はこの成分に帰することがわかった。その効力は対照薬インドメタシンの6%ほどであったが、そのことからアスピリンとではほぼ同オーダーのものと思われる。

ニクズクは芳香性健胃薬として有名であり、また、



多量摂取で起こり得る特異的な精神症状の発現も知られることであるが、ミリスチシンの抗炎症作用の知見は始めてのものであり、民間的効能・効果が本研究の薬理作用の設定に役に立った。ミリスチシンにはプロスタグランジンの生合成を抑制することが知られている²⁴⁾ので、この作用が抗炎症作用に少なくとも一部は関与していることと考えられる。(実験モデルの選択)

なお、この活性評価の方法では、ミリスチシンがメース中で最も活性の強い成分であるとはいえない。次項参照。(生薬の効果を代表する活性成分追求のための投与量設定)

クスリウコン (クスリ鬱金) (精油画分)

ショウガ科 *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. の根茎である。インドネシアでは利胆薬として民間的に用いられている。また、その水蒸気蒸留で得られた精油が胆汁分泌促進作用を示すことが報告されている。

Ozaki らがインドネシアの研究者と共同して行った研究²⁵⁾は、本精油の利胆活性を成分的に追求するものであるが、その進め方は精油中に活性の強い成分を追求するという視点で行ったものであり、この点、前のメースの場合と趣を異にする。

精油をラットに経口投与し、流出胆汁に対する影響をみたところ、胆汁分泌促進作用が得られた。さらに、精油をクロマトグラフ法により細画分に分け、各画分を一定用量 (300 mg/kg) 投与したところ、一つの画分が最も強い活性を示した。これを種々の分析法によって調べたところ、*d*-カンフルが 45.2% 含有されていることがわかった。*d*-カンフルはほぼその画分の効力を代表するものであったが、対照薬デヒドロコール酸に比べて、作用の最大効果はほぼ等しいが、一層長い持続を示した。*d*-カンフルの胆汁分泌促進作用の機序には一部は総胆汁酸量の排泄増加に基づくことがわかった。

カンフルは医薬品としては、局所適用で鎮痛、消炎などの目的で使い、全身性適用の使用はないが、生薬として服用すると、質的にはこの作用が起こることになる。この薬理的知見にも民間的効能・効果が有益な情報となっている。(実験モデルの選択)

この研究では、精油の各画分の取得量が異なっているので、精油の利胆作用に対する *d*-カンフルの関与の程度が結論付けられるまでには至っていないが、精油全体の分画操作には際限がない中で、強い活性を持つ成分を得たという点で特徴があった。(活性の強い成分の取得を目指した追求試験)

オゴノリ²⁶⁾

紅藻植物オゴノリ科 *Gracilaria verrucosa* Papenfuss に属する。生薬というよりも、緑色映える刺身のつまとして食用とする。

この研究はオゴノリによると考えられる急性的中毒事件の原因追及の研究班が組織された際、その分胆研究として行ったものである。結果は中毒時のオゴノリ本体が入手できないこともあって、その詳細なことは解明できなかったが、オゴノリエキスを生物活性追求の検索ルートに乗せて試験し、その中にいくつかの活性成分の存在を推測することができた。併せて、市販のオゴノリには化学的加工処理を施していることから、その処理を行ったオゴノリにつき検査したところ、活性は消失していることをつきとめることができ、その処理法の食品としての妥当性を裏付けることで終了した。

まず、採取したばかりのオゴノリのエキスであるが、オゴノリ中にはカリウムを主とする無機物が極めて多く、そのエキス中にはそれが高濃度に存在することになり、薬理試験を行ってもその影響が出てしまい、共存する成分が持つかも知れない薬理活性を評価することができなかった。(エキス中の非特異的成分による“不必要な活性”の発現)

そのため、各種溶媒によるエキス作製時に、無機物を除去することにより、高用量のエキスを薬理試験に使うことができた。その結果、クロロホルム-メタノールエキス、メタノールエキス、エーテルエキス、ブタノールエキス、水エキスの何れかにおいて、モルモットでは、腹腔投与により、耳血管拡張、掻鼻、排尿、正向反射の消失を認め (これらはヒスタミンによるものではない)、マウスでは、下痢 (経口投与)、自然の入眠時間の延長 (経口、腹腔、静脈投与) を認めた。これらの活性はエキスの高用量 (通常、3.3, 6.0, 20 g/kg など) で得られたものであり、事実上、ヒトの中毒とは関係しないと思われるが、これらの活性はすべてエキスレベルのものであるから、成分的にはある程度の量の活性成分は存在するわけである。

食卓に上るオゴノリは石灰処理を行うため、その処理法に従って新鮮原料から加工オゴノリを作り、さらに、石灰を使わずに水のみで浸漬処理したものも作り、それらからエキスを調製したところ、それぞれのエキス量は新鮮原料からのエキスに比べて半分以下になった。この3エキスを、新鮮品からのエキスを基準とした相当量ずつモルモットに投与し、耳血管拡張、正向反射の消失、致死効果を調べたところ、図6に示した

エキス	投与量 g/kg (腹腔)	投与後 の時間	耳血管拡張	正向反射消失	死	亡
A	3	0-2	● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
		2-24	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	● ● ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
		24-	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	● ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
A	1.5	0-2	● ● ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
		2-24	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
		24-	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
B	1.4	0-2	● ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
		2-24	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
		24-	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
C	1.0	0-2	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
		2-24	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	● ● ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
		24-	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	● ● ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

図6 オゴノリの加工処理による薬理活性の消失・減弱^{26b)}

注) Aエキス: 新鮮品からのメタノールエキス (エーテル処理済み)
 Bエキス: 水で十分浸漬したものからのメタノールエキス
 Cエキス: 石灰処理後水浸漬処理したものからのメタノールエキス
 黒丸印: 活性あり (モルモット各匹)
 白丸印: 活性認められない (同)
 投与量: Aの高用量がBとCの投与量と同価である。

ように、事実上、処理済みのエキスの作用は消失した。このことは、加工処理により、活性成分が除去されたことを意味し、その処理法が、この成分の変動の立場からは合理的であることを示す。(原料の加工処理の意義)

上記したように、ここで得た薬理活性は弱いものである。その中で、エーテルエキスはマウスにおいて自然の入眠時間を延長したが、この作用は一種の中枢興奮作用である可能性が高い。そして、その最低発現用量は各投与法(経口、腹腔、静脈)それぞれ、500, 300, 150 mg/kg であり、活性はそれぞれ、コントロールに比して約2倍、約2倍、約20%の時間延長であった。試験試料がエキスレベルであることを考えると、この活性は評価できると思われる。

ところで、中枢興奮作用を数量的に調べる簡単なモデルとしては、麻黄の項で用いた自発運動の亢進や麻酔薬による睡眠時間の短縮などをよく使うが、案外、これらの薬効評価の測定感度は低い。エフェドリンのような中枢興奮作用成分を含む麻黄でさえ、有意な結果を与えるためには、3~4 g/kg (経口) という多量が必要とした²⁶⁾。この自発運動の亢進は作用としてはきわめて強力なもので(ヒトでのことを考えると容易に想像できる)、これを起こす物質はそれ程多くない。多分、オゴノリエキスではこの活性は得られないであろう。このような場合、さらに、感度の良いモデルが得

られれば望ましいわけである。このことから、症状観察上利用できるパラメータとして、マウスの自然入眠時間を選んだ。このモデルでは、麻黄湯(麻黄、桂皮、杏仁、甘草)エキスの450 mg/kg (経口) で、効果を得ている²⁷⁾ ので、かなり、感度は良くなったといえる。新鮮オゴノリ中にこのような中枢興奮作用物質があるということは想像しなかったが、自然界にはいろいろな活性を持つ成分が広く存在するということに触れた事例であった。(薬効評価のための感度の高いモデル)

おわりに

生薬の薬理試験を遂行するときには、その展開のパターンは大きくわけると次の3通りになる。第1は、試料の中に何でもよいから活性のある物質を探求すること、第2は、生薬の治療効果に対する薬理的基礎を築いていくこと、そして、第3は複数の薬物の併用効果そのものを検討することである。この第3は生薬試料が無数ともいえる成分によって構成されているため、いろいろなタイプの薬物相互作用が生じており、併用効果を研究するため格好なモデルと考えられるからである。

したがって、一般的な新薬開発で試験される単一物質(ヒトでの使用体験の情報はない)の薬効評価と比べると、生薬の薬理試験の内容はいろいろな様式に富む。

本稿では生薬の薬理試験に関連するいろいろな事項の例を紹介した。その中には、一般的な薬理試験に関するものも含まれているが、参考までに、それらの事項を整理して表3に記した。

物質と生体との相互作用は、原理的にみて、特に生

表3 薬理試験に関連する事項例

- 1) 試験物質の選択 (ジャクヤク)
- 2) 関連する成分同士の同時試験 (サンシン)
- 3) 生薬の調製の知識 (一般的事項)
- 4) 一定ロットの確保 (一般的事項)
- 5) 生薬の組合せによる成分的オーバーラップ (ジャクヤク)
- 6) 易揮散成分 (一般的事項, ケイヒ)
- 7) 薬理試験法の種類 (一般的事項)
- 8) 生薬の効能・効果 (一般的事項)
- 9) 実験モデルの選択 (サンシン, ニクズク, クスリウコン)
- 10) 活性の強い成分の取得を目指した追求試験 (クスリウコン)
- 11) 動物の小型化 (一般的事項)
- 12) 薬効評価のための感度の高いモデル (オゴノリ)
- 13) 構造-活性相関的展開 (サンシン)
- 14) 難溶性物質の適用 (カッコン)
- 15) 非吸収画分を含むエキスあるいは難溶性成分からの被吸収画分の取得と薬効評価 (マオウ)
- 16) 消化管投与の特徴 (サンシン)
- 17) 投与量, 投与ルート, 実験観察時間におけるケースバイケースの選択 (サンシン)
- 18) 生薬の効果を代表する活性成分追求のための投与量設定 (ニクズク)
- 19) エキスの最高投与量の選択 (カッコン)
- 20) 薬物投与ルートと薬効の発現 (一般的事項)
- 21) 投与経路の互換性 (ジャクヤク)
- 22) *in vitro* 標本の結果と *in vivo* 標本の結果との関連性 (ケイヒ)
- 23) 症状観察時に見られる症状の重要性 (センキュウ)
- 24) 構造特異性 (ケイヒ)
- 25) 緩和な作用の構造特異性 (ジャクヤク)
- 26) 共存成分の影響 (マオウ)
- 27) 共存酵素の影響 (一般的事項)
- 28) 相反する薬理作用の共存 (カッコン)
- 29) 易分解性物質の安定化・保護 (カッコン)
- 30) エキス中の非特異的成分による“不必要な活性”の発現 (カッコン, オゴノリ)
- 31) 薬物の血中濃度と薬理作用の関係 (マオウ)
- 32) 含有成分の母生薬に対する関与度 (マオウ)
- 33) 原料の加工処理の意義 (オゴノリ)

薬に 関係する物質であるからという特殊性はない。したがって、現在までに、如何なる物質であれ、それに蓄積している薬理情報は、生薬を研究するにあたり重要な参考資料となる。

概して、生薬および生薬成分で得られる薬理活性の強さは、しばしば薬理的対照薬として選ばれる薬物のそれと比べて緩和なものが多い。また、実験の内容によっては、例えば、実験的肝障害に対する改善効果を調べるときのように、必ずしも適切な薬理的対照薬を見出だし得ないことがある。現在、動物実験で得られる結果をヒトへ一層密に関連させるため、常に新しい方法論の導入が精力的に工夫されているわけであるが、このような例をみると、生薬に具備される薬能を適切なレベルで“尊重”することは合理的である。

それと共に、薬理試験で得られた成績が、生薬の治療効果の説明に矛盾しないような結果になったとしても、その両者を密に関連付けるためには、十分な薬理作用機序に基づいた質的・量的考察を行う必要がある。いまだ、それに至らないうちは、現象記載のレベルに止めておくべきである。

最後に、上項で述べた第2の薬理試験遂行のパターン、すなわち、生薬の治療効果志向の研究と関連して、日本の医薬品の中における生薬関連製剤の実情を垣間見ておく。その全貌を鳥瞰する余裕はないので、一例として、医療用漢方製剤(特掲医薬品)をみてみよう。

本製剤の生産金額(昭62)²⁸⁾ についての上位10種は、小柴胡湯(ショウサイコトウ)、八味丸(ハチミガン)、補中益気湯(ホチュウエッキトウ)、加味逍遙散(カミショウヨウサン)、小青竜湯(ショウセイリュウトウ)、大柴胡湯(ダイサイコトウ)、桂枝茯苓丸(ケイジクリョウガン)、当帰芍薬散(トウキシャクヤクサン)、柴胡桂枝湯(サイコケイシトウ)、猪苓湯(チョレイトウ)である。

全医薬品(万の桁の品目数がある)の生産額4兆8千億円余りに対して、小柴胡湯のそれは0.5%強を与え、この10品目全体では1%に近い数字を示す。

漢方処方には、その治療効果において、現代的医薬品と比べて一定の特色を持つジャンルのもものが少なくない。例えば、ここの10処方でも、高齢や疾病・手術などで衰えた状態に対する保健強壯的な薬剤、肝臓疾患用薬、尿路疾患用薬、婦人特有な症状に対するいわゆる婦人薬などの薬効群を見ることができる²⁹⁾。

このように、生薬関連製剤は日本の薬物治療の一端を担っているが、この種のもは西洋ではみられない。日本のオリジナルの医薬品として、世界周知の合成医

薬品や天然物抽出精製医薬品があるが、この線上で、特色ある生薬関連製剤に思いを馳せておくこともあながち“夢物語”ではないかも知れない。

生薬関連製剤を日本の薬物治療の中に一層“適材適所”的に位置付けることは将来の発展を見越して大事なことである。そのためには、生薬・生薬関連製剤の有効性評価と品質評価の内容を一層向上させ、さらに、その原料となる薬用植物を栽培する場合の諸種パラメータの設定が望まれる。現在、生薬に関する化学面と薬理評価面の基礎研究は急速に進歩しているが、この趨勢はこれらに対して格好の土壌となっている。

文 献

- 1) a) 原田正敏：生薬，41，1 (1989)；b) 同 (柴田承二編 (代表))：新編生物活性天然物質，p.391 (1988) 医歯薬出版；c) 同 (柴田承二，糸川秀治，三川 潮，庄司順三，滝戸道夫編)：薬用天然物質，p.66 (1982) 南山堂；d) 同 (柴田承二監修，原田正敏編)：医薬品の開発第2巻薬理活性物質Ⅱ第14，17章 (1989) 廣川書店
- 2) a) S. Yano and M. Harada: *Jpn. J. Pharmacol.*, 23, 57 (1973)；b) S. Yano et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 2500 (1989)
- 3) M. Harada et al.: *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 1372 (1974)
- 4) 田中 悟ら：薬誌，103，937 (1983)
- 5) a) M. Harada and M. Nishimura: *J. Pharm. Dyn.*, 4, 691 (1981)；b) 原田正敏ら：第16回和漢薬シンポジウム，p.291 (1983)
- 6) a) 秋葉一美ら：日薬理誌，75，383 (1979)；b) Y. Kasahara et al.: *Planta medica*, 1985, 325
- 7) a) 原田正敏：1d) 薬理活性物質Ⅰ，p.110；b) 同：月刊薬事，27，2507 (1985)
- 8) a) 原田正敏：210 処方 漢方薬物治療学，薬理的アプローチ，p.78 (1985) 廣川書店；b) 同：1d) 薬理活性物質Ⅰ，p.143；c) 第十一改正日本薬局方解説書，E-178および各生薬項 (1986) 廣川書店
- 9) a) 柴田承二ら：薬誌，79，863 (1959)；b) M. Harada and K. Ueno: *Chem. Pharm. Bull.*, 23, 1798 (1975)；c) Y. Ohshima et al.: *Planta medica*, 54, 250 (1988)
- 10) a) 中本泰正ら：薬誌，95，1123 (1975)；b) 同：同，65，1128 (1975)
- 11) a) 高木敬次郎，原田正敏：薬誌，89，879 (1969)；b) 同：同，89，887 (1969)；c) 同：同，89，893 (1969)；d) 原田正敏：同，89，899 (1969)
- 12) 原田正敏編：繁用生薬の成分定量，p.208 (1989) 廣川書店
- 13) 後藤担久：日薬理誌，52，496 (1956)
- 14) M. Harada et al.: *J. Pharm. Dyn.*, 7, 304 (1984)
- 15) 12) p.306 参照
- 16) a) 原田正敏，山下厚子：薬誌，89，1205 (1969)；b) 原田正敏ら：同，92，750 (1972)
- 17) a) 原田正敏，尾崎幸紘：薬誌，92，135 (1972)；b) M. Harada and S. Yano: *Chem. Pharm. Bull.*, 23, 941 (1975)；c) M. Harada et al.: *Ibid.*, 24, 1784 (1976)；d) M. Harada and A. Saito: *J. Pharm. Dyn.*, 1, 89 (1978)；e) M. Harada et al.: *Ibid.*, 5, 539 (1982)
- 18) a) 原田正敏ら：薬誌，94，157 (1974)；b) 油田正樹ら：同，96，147 (1976)；c) M. Aburada et al.: *J. Pharm. Dyn.*, 1, 81 (1978)；d) *Idem.*: *Ibid.*, 3, 423 (1980)
- 19) 12) p.170 参照
- 20) S. Takeda et al.: *J. Pharm. Dyn.*, 3, 485 (1980)
- 21) 原田正敏 (理化学研究所編)：ライフサイエンスの現状と将来Ⅱ集 5. 生物活性物質研究，p.127 (1985) 創造 (東京)
- 22) a) 尾崎幸紘ら：薬誌，109，402 (1989)；b) 原田正敏ら (科学技術庁研究開発局編)：東洋医学の科学的実証，証，経穴の科学的実証及び生薬資源の確保に関する研究，p.252 (1986) 薬業時報社
- 23) Y. Ozaki et al.: *Jap. J. Pharmacol.*, 49, 155 (1989)
- 24) A. Rasheed et al.: *Planta medica*, 50, 222 (1984)
- 25) a) Y. Ozaki and O. B. Liang: 生薬，42，257 (1988)；b) 尾崎幸紘，S. Soedigdo: 同，42，333 (1988)
- 26) a) 鈴木英世ら：食衛試，27，387 (1985)；b) 同：同，27，393 (1985)
- 27) 野上 寿ら：月刊薬事，27，2603 (1985)
- 28) 厚生省薬務局：薬事工業生産動態統計 (昭62)

酵素製剤の品質に関する研究 (第9報)

—カリジノゲナーゼ製剤—

谷本 剛・福田秀男

Studies on the Quality of Enzyme Preparations (IX)

—Kallidinogenase Preparations—

Tsuyoshi TANIMOTO and Hideo FUKUDA

Kallidinogenase preparations were investigated with a view of comparing their quality by the enzymological method. These studies were carried out on 13 types of preparations (tablet: 7 kinds, capsule: 3 kinds, ampoule: 3 kinds) of commercially available kallidinogenase preparations. The kinin-liberating activity per one international unit (IU) of kallidinogenase was approximately 400 ng bradykinin/min/IU. The contents of other enzymes, i. e., kininase, trypsin and protease, were determined as the impurities. Kininase, trypsin and protease activities in the preparations for injection were very low. However, one preparation for internal use contained large amounts of these enzymes as impurities. It was presumed that contamination with large amounts of kininase, trypsin and protease have an adverse influence upon the assay and stability and efficacy of these preparations.

(Received May 31, 1989)

カリジノゲナーゼ (EC 3.4.21.8) はキノーゲンに特異的に作用してキニン遊離するキノーゲンゲナーゼの一種であり、循環障害改善薬として広く臨床に使用されている。現在、医薬品として使用されている製剤はブタ膵臓由来のカリジノゲナーゼを主成分とするものであるが、この製剤には品質上の幾つかの問題点が指摘されている^{1,2)}。特に、キノーゲンから生理作用物質としてのキニンを遊離させる作用とこのキニンを分解する不純酵素としてのキナーゼの混在量は重要な問題点である。そこで市販製剤についてこれらの点を中心に酵素化学的観点からの品質評価を試みた。

実験方法

1. 試料・試薬・標準品

1) 試料：13種の製剤を市販品から入手した。内訳は錠剤7検体、カプセル剤3検体、注射剤3検体であり、錠剤およびカプセル剤はいずれも腸溶剤であり、注射剤は凍結乾燥製剤であった。

2) 試薬：大豆トリプシンインヒビターは Sigma 社から購入した。D-パルルロイシル-アルギニン p-ニトロアニリド・2塩酸塩 (S-2266) は Kabi 社から、ブラジキニン は和光純薬工業㈱から購入した。キノーゲンは生化学工業㈱から供与されたものを使用した。

このキノーゲンはウシ血漿から調製した低分子量キノーゲンであり、最大キニン遊離能は 155 ng ブラジキニン/mg であった。ブラジキニンのエンザイムイムノアッセイ用キット (マーケット A) は大日本製薬㈱から供与された。

3) 標準品：国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品を使用した。

2. 試液

1) リン酸緩衝液：pH 7.0 の 0.1M リン酸緩衝液 500 ml に水を加えて 1000 ml とする。

2) トリス塩酸緩衝液：トリスヒドロキシメチルアミノメタン 2.42 g に水 100 ml を加えて溶かし、これに塩酸を加えて pH 8.0 に調整した後、水を加えて 200 ml とする。

3) トリプシンインヒビター溶液：大豆トリプシンインヒビター 5mg にリン酸緩衝液を加えて溶かし、10 ml とする。

3. ブラジキニンのエンザイムイムノアッセイ

既報の方法³⁾にしたがって行った。

4. カリジノゲナーゼ製剤の力価測定

1) 試料溶液および標準溶液の調製：内服用剤の場合は、錠剤10個あるいはカプセル剤10個の内容物を乳鉢に取り、リン酸緩衝液の適量を加えてすりつぶし、粥

状とした後、さらにリン酸緩衝液を加えて、その1 ml 中に約10単位のカリジノゲナーゼを含む液を製する。次いで、これを12000 rpm で20分間遠心分離し、その上澄液を試料原液とし、この4 ml にトリプシンインヒビター溶液1 ml を加え、さらにリン酸緩衝液を加えて正確に10 ml としたものを試料溶液とする。注射剤は10アンプルの内容物をリン酸緩衝液に溶かし、1 ml 中に約10単位を含む液を製し、試料原液とし、この4 ml にトリプシンインヒビター溶液1 ml を加え、さらにリン酸緩衝液を加えて正確に10 ml としたものを試料溶液とする。標準品1アンプルの内容物をリン酸緩衝液に溶かし、正確に10 ml としたものを標準原液とし、この4 ml にトリプシンインヒビター溶液1 ml を加え、さらにリン酸緩衝液を加えて正確に10 ml としたものを標準溶液とする。

2) 基質溶液：S-2266 10mg をトリス塩酸緩衝液に溶かし、正確に50 ml とする。

3) 操作法：あらかじめ $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で5分間加温した基質溶液2.5 ml を層長10 mm のセルに入れ、これに $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で5分間加温した試料溶液0.5 ml を加えると同時に記録計を作動させ、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で水を対照にして2分および6分後の波長405 nm における吸光度 A_{T2} および A_{T6} を測定する。別に、標準溶液0.5 ml につき試料溶液と同様に操作し、2分および6分後の吸光度 A_{S2} および A_{S6} を測定する。また別に、トリプシンインヒビター溶液1 ml にリン酸緩衝液を加えて10 ml とした液0.5 ml につき、試料溶液と同様に操作して、2分および6分後の吸光度 A_{O2} および A_{O6} を測定する。これらの得られた吸光度から、次式により試料1個または1アンプル当りの単位を算出する。

試料1個又は1アンプル当りの単位 (KU)

$$= \frac{(A_{T6} - A_{T2}) - (A_{O6} - A_{O2})}{(A_{S6} - A_{S2}) - (A_{O6} - A_{O2})} \times \frac{a}{10} \times b \times \frac{1}{10}$$

a: 標準品1アンプル当りの単位

b: 調製した試料原液の全量 (ml)

5. キニン遊離能の測定法

1) 試料溶液の調製法：内服用剤の場合、試料の適量を取り、20 mM リン酸緩衝液 (pH 8.0) を加えてすりつぶし粥状とした後、さらに同緩衝液を加えて1 ml 中に約2.5単位を含む液を製する。次いで、12000 rpm で20分間遠心分離し、得た上澄液1 ml にトリプシンインヒビター溶液1 ml および10 mM 1,10-フェナントロリン液1 ml を加え、さらに20 mM リン酸緩衝液 (pH 8.0) を加えて10 ml としたものを試料溶液とする。注射剤の場合は試料の適量を取り、

20 mM リン酸緩衝液 (pH 8.0) を加えて溶かし、1 ml 中に約2.5単位を含む液を製し、以下、内服用剤の場合と同様にして試料溶液を製する。

2) キニノーゲン溶液：キニノーゲンの適量を取り、20 mM リン酸緩衝液 (pH 8.0) を加えて溶かし、その1 ml にキニノーゲンを6mg 含む液を製する。

3) 操作法：あらかじめ $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で5分間加温した試料溶液0.5 ml に $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で5分間加温したキニノーゲン溶液0.5 ml 加えて $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で正確に2分間反応させた後、3分間煮沸し、次いで20% トリクロル酢酸液0.2 ml を加えて氷冷し、3000 rpm で10分間遠心分離して上澄液を得る。この上澄液0.5 ml に0.9% 塩化ナトリウム-0.2% セラチン-0.1% アジ化ナトリウムを含む0.55M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) 0.5 ml を加えて前処理検体とし、この0.2 ml を用いて生成したカリジンの量をエンザイムイムノアッセイによってブラジキニン量 (B) として測定する。別に、20 mM リン酸緩衝液 (pH 8.0) 0.5 ml を用いて試料溶液と同様に操作し、空試験値 (B_0) を測定する。

キニン遊離活性 (単位/KU)

$$= (B - B_0) \times 24 \times \frac{1}{a} \times \frac{1}{2}$$

a: 試料溶液1 ml 中のカリジノゲナーゼ単位 (KU)

ただし、1分間に1 ng のブラジキニン相当量のキニンを遊離する酵素量を1単位とする。

6. キニナーゼ活性の測定法

1) 試料溶液の調製：内服用剤の場合、試料の適量を取り、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えてすりつぶし粥状とした後、さらに50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて、1 ml 中に約2単位を含む液を製し、次いで12000 rpm で20分間遠心分離し、得た上澄液を試料溶液とする。注射剤の場合は、試料の適量を取り、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて溶かし、1 ml 中に約2単位を含む液を製して、試料溶液とする。

2) ブラジキニン溶液の調製：ブラジキニンの適量を取り、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて溶かし、その1 ml に200 ng のブラジキニンを含む液を製する。

3) 操作法：あらかじめ $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で5分間加温した試料溶液0.5 ml に $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で5分間加温したブラジキニン溶液0.5 ml を加え、 $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で正確に2.5分間反応させた後、20% トリクロル酢酸液0.2 ml を加えて反応を停止し、3000 rpm で10分間遠心分離

して上澄液を得る。この上澄液 0.5 ml に 0.9% 塩化ナトリウム-0.2% ゼラチン-0.1% アジ化ナトリウムを含む 0.55M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) 0.5 ml を加えて、前処理試料検体とし、この 0.2 ml を用いてエンザイムイムノアッセイ法で残存ブラジキニン量 (B) を測定する。別に、試料溶液の代わりに 50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 ml を用いて試料溶液の場合と同様に操作して空試験値 (B₀) を測定する。

キナーゼ量 (単位/KU)

$$= (B_0 - B) \times 24 \times \frac{1}{a} \times \frac{1}{2.5}$$

a: 試料溶液 1 ml 中のカリジノゲナーゼ単位 (KU)

ただし、1分間に 1 ng のブラジキニンを分解する酵素量を 1 単位とする。

7. トリプシン様酵素活性の測定法

1) 試料溶液の調製：カリジノゲナーゼ製剤の力価測定法の項に準じて、試料原液を調製する。試料原液 4 ml にトリプシンインヒビター溶液 1 ml を加え、さらにリン酸緩衝液を加えて正確に 10 ml としたものを試料溶液 I とし、試料原液 4 ml にリン酸緩衝液を加えて正確に 10 ml としたものを試料溶液 II とする。

2) 基質溶液：S-2266 10mg をトリス塩酸緩衝液に溶かし、正確に 50 ml とする。

3) 操作法：あらかじめ 30±0.5°C で 5 分間加温した基質溶液 2.5 ml を層長 10 mm のセルに入れ、これに 30±0.5°C で 5 分間加温した試料溶液 I 0.5 ml を加えると同時に記録計を作動させ、30±0.5°C で水を対照にして 2 分および 6 分後の波長 405 nm における吸光度 A₁₂ および A₁₆ を測定する。別に、試料溶液 II 0.5 ml につき試料溶液 I と同様に操作し、2 分および 6 分後の吸光度 A₂₂ および A₂₆ を測定する。

トリプシン様酵素活性 (単位/KU)

$$= \{(A_{26} - A_{22}) - (A_{16} - A_{12})\} \\ \times \frac{1}{4} \times \frac{1000}{11600} \times \frac{3}{0.5} \times \frac{1}{a}$$

a: 試料溶液 1 ml 中のカリジノゲナーゼ量 (KU)

ただし、1分間に 1 nmol の S-2266 を加水分解する酵素量を 1 単位とする。

8. その他の蛋白分解酵素活性の測定法

1) 試料溶液の調製：カリジノゲナーゼ製剤の力価測定法の項に準じて、試料原液を調製する。試料原液 1 ml にリン酸緩衝液を加えて、その 1 ml に 1 単位のカリジノゲナーゼを含む液を製する。

2) 基質溶液：ハンマーステン法で精製した乳製カゼイン 0.6 g にリン酸緩衝液 80 ml を加え、60°C で

20 分間加温して溶かし、pH を 7.0 に調製した後、リン酸緩衝液を加えて 100 ml とする。

3) 操作法：35±0.5°C に保った基質溶液 5 ml にあらかじめ 35±0.5°C で 5 分間加温した試料溶液 1 ml を加え、反応を開始する。正確に 20 分間経過後に 1.8% トリクロル酢酸液 5 ml を加えてよく振り混ぜ、35±0.5°C で 60 分間放置した後、定量用ろ紙を用いてろ過する。初めのろ液 3 ml を除き、次のろ液につき、波長 275 nm における吸光度 A を水を対照にして測定する。別に、試料溶液 1 ml に 1.8% トリクロル酢酸液 5 ml を加えた後、基質溶液 5 ml を加えて、以下同様に操作して吸光度 A₀ を測定する。また別に、チロシン標準品を精密に量り、0.1N 塩酸に溶かし、その 1 ml 中にチロシン 50.0 μg を含む液を製し、波長 275 nm における吸光度 A_S を水を対照にして測定する。

蛋白分解酵素活性 (単位/KU)

$$= \frac{(A - A_0)}{A_S} \times 50 \times \frac{1}{10} \times 11$$

ただし、1分間にチロシン 1 μg 相当量の生成物を生じる酵素量を 1 単位とする。

結果と考察

1. カリジノゲナーゼ製剤のキニン遊離活性

カリジノゲナーゼはキノノーゲンからキニンを遊離させることによって、その薬理効果が期待される薬剤である。一方、その定量試験は通常、高精度迅速分析法である合成基質を用いた方法で行われる。しかし、この方法はカリジノゲナーゼに特異的な方法ではない。すなわち、定量法が薬理効果に必要なキニン産生能を直接反映しているわけではない。そこで、本製剤の品質を評価するには生体成分としてのキノノーゲンからのキニン遊離能を試験する必要がある。今回はカリジノゲナーゼ製剤をキノノーゲンに作用させたときに生じるキニン量をエンザイムイムノアッセイ法で測定することによって、各製剤のもつキニン遊離活性を調べた。Table 1 には合成ペプチド基質 S-2266 を用いた定量法で測定したカリジノゲナーゼ量に基づいたカリジノゲナーゼ 1 単位当りのキニン遊離活性量として表した。各製剤のキニン遊離活性は 350 ng ブラジキニン/分/KU 以上を示した。カリジノゲナーゼ標準品のキニン遊離活性は 516 ng ブラジキニン/分/KU であったので、各製剤に含有されるカリジノゲナーゼはカリジノゲナーゼ標準品の 70~103% のキニン遊離能をもつものであることで推察された。

Table 1. Potency and kinin-liberating activity of kallidinogenase preparations

Sample No.	Potency (KU/T, C, A)	Kinin-liberating activity (ng BK/min/KU)
1	24.6	444
2	31.2	383
3	73.8	365
4	6.3	531
5	26.2	469
6	37.3	454
7	4.2	379
8	25.3	449
9	37.8	431
10	31.6	371
11	21.5	463
12	4.4	419
13	43.9	505

T: Tablet (sample No. 1~7), C: Capsule (sample No. 8~10), A: Ampoule (sample No. 11~13)
 BK: bradykinin
 KU: international unit of kallidinogenase

Table 2. Contents of other enzyme activities as the impurity

Sample No.	Enzyme activity (unit/KU)		
	Kininase	Trypsin	protease
1	2.8	0.198	0.63
2	8.6	6.04	14.1
3	387	0.816	25.8
4	3.9	0.174	1.1
5	4.2	2.58	14.8
6	15.6	0.208	0.37
7	15.7	0.261	12.3
8	0.70	0.217	0.0
9	5.3	6.04	11.1
10	5.4	0.522	12.5
11	1.4	0.058	1.2
12	4.9	0.145	0.21
13	0.25	0.155	0.18

One unit of kininase, trypsin and protease activities was defined as the amount of enzyme catalyzing the hydrolysis of 1 ng bradykinin per min, hydrolysis of 1 nmol of S-2266 per min and formation of a product corresponding to 1 μ g tyrosine per min using casein as the substrate, respectively.

2. カリジノゲナーゼ製剤における夾雑酵素としてのキニナーゼ、トリプシン様酵素、その他の蛋白分解酵素の含有量

カリジノゲナーゼ製剤はキニンを産生する酵素剤であり、このキニンが薬効を現す本体である。そのため、キニンの分解酵素が混在することは製剤の品質上大きな問題となる。そこで、キニンの分解酵素、キニナーゼの含有量を種々の製剤について測定してみた。注射剤や大部分の内服用剤においては0.3~15 ng プラジキニン/分/KUの極めて低い量しか認められなかった。しかし、純度の非常に低い原体を使用した製剤である検体3では387 ng プラジキニン/分/KUという多量のキニナーゼの混在が示された。検体3のキニン遊離能は365 ng プラジキニン/分/KUであり、このことは検体3においては、カリジノゲナーゼによって産生されたキニンのすべてを分解するのに十分なキニナーゼ量を同時に含有していることを示すものである。したがって、このような製剤はたとえ主成分としてのカリジノゲナーゼを十分量含有しているとしても期待する薬効が得られない可能性もある。

カリジノゲナーゼはブタ脾臓から製されるものであるから、十分に精製されたものでなければトリプシンやトリプシン様酵素あるいはその他の蛋白分解酵素が夾雑する可能性は大きい。これらの夾雑酵素が多く混在することは製剤の安定性や薬効に悪影響をおよぼすと共に定量法などの品質試験法にも悪影響することが考えられる。トリプシン様酵素活性は注射剤においては0.15単位/KU以下であり、カリジノゲナーゼのS-2266に対する活性は1単位当り3.72 nmol/分であることから、カリジノゲナーゼ単位に換算して4%以下の含有率であった。内服用剤におけるトリプシン様酵素活性は0.17~6.0単位/KUの範囲であり、製剤間に大きな差がみられた。特に、検体2および9ではカリジノゲナーゼ単位に換算して160%以上のトリプシン様酵素活性を含有していた。その他の蛋白分解酵素は内服用剤においては検体1, 4, 6, 8のように1単位/KU以下のものもあったが、その他の検体では10単位/KU以上を含有していた。注射剤においてはすべて1単位/KU以下であった。

製剤中の3種の夾雑酵素の含有率は製剤ごとに異なり、キニナーゼを多く含むものであってもトリプシン様酵素の量は少ない製剤もあり、またキニナーゼの量が少なくてもトリプシン様酵素やその他の蛋白分解酵素の量が多い製剤もあった。このことは多分に原体の製造方法が異なることによるものと思われる。注射剤の場合はいずれの夾雑酵素の量も内服用剤に比べて低

い値であったが、これは注射剤が直接体内に適用されるものであることからその原体の精製度が内服用剤のそれより高いことを示すものであろう。

文 献

- 1) 藤本幸夫：薬物療法, **10**, 485 (1977)
- 2) 早川堯幸, 川村次良：医薬品研究, **9**, 799 (1978)
- 3) 谷本 剛, 福田秀男, 山羽 力：医薬品研究, **16**, 839 (1985)

α -プロモシナムアルデヒドの変異活性ならびに 市販製品への使用の実態

小嶋茂雄・能美健彦・宮田ルミ子
鹿庭正昭・五十嵐良明・中村晃忠

α -Bromocinnamaldehyde, Its Mutagenicity and Contents in Commercial Products

Shigeo KOJIMA, Takehiko NOUMI, Rumiko MIYATA, Masa-aki KANIWA,
Yoshiaki IKARASHI and Akitada NAKAMURA

The amount of α -bromocinnamaldehyde (BCA), an anti-mildew agent, in some commercial products, was examined by high performance liquid chromatography (HPLC) using the following conditions: column, Nucleosil 50-5 (Nagel, 250 mm \times 4.6 mm i. d.); mobile phase, hexane-chloroform (12 : 5); flow rate, 1.0 ml/min; detector, ultraviolet detector; detection wavelength, 290 nm. Large amounts of BCA were detected in anti-mildew mat (10,700-43,500 μ g/g), anti-mildew cloth (1,100 μ g/g) and BCA gel (10,050 μ g/g).

BCA was also tested for mutagenicity against *Salmonella typhimurium* TA100, TA98 and TA2637, with and without metabolic activation (S9 mix). The result showed that BCA was a very potent mutagen and induced 1.0×10^6 of revertants per mg against TA100 without S9 mix. The mutagenicity decreased to 1.3×10^4 revertants per mg in the presence of S9 mix.

(Received May 31, 1989)

ま え が き

α -プロモシナムアルデヒド (BCA) は、最近種々の用途に使われるようになった昇華性の防かび剤である¹⁾。従来の防かび剤が処理した製品中やその周りにいるかびや細菌の発育を阻止するのにとどまるのに対して、BCA はこれを含む製品から少しずつ気化してその空間中にあるかびや細菌全体を死滅させるという特徴的な働きを持っている。

この BCA の安全性に関してはほとんど報告がないが、最近、BCA の変異原性や皮膚感作性に関して注目すべき報告がなされた。Neudecker ら²⁾ は、シナムアルデヒド自体には変異原性はないが、その α 位を臭素で置換する (BCA) と強い変異原性を示すようになると報告している。また、河合ら³⁾ は、家庭用の湿

気取りに防かびマットをのせる作業をしていた職場で起きた接触皮膚炎事故について検討した結果、この事故が防かびマットから気散した BCA によって起こったものであり、BCA は非常に強い皮膚感作性物質であることが分つたと報告している。

著者らは、河合ら³⁾ の報告から BCA が生活環境中で日常的に接するような製品にも使用されている事実を知り、市販の防かび製品中の BCA の含有量について高速液体クロマトグラフィ (HPLC) を用いて調査を行った。また、BCA の変異活性の強さについても、Ames 試験を用いて再検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 試 料

BCA の分析に供した市販の防かび製品は、Table 1

の通りである。

これらのうちで、No. 1 と 2 は 1986 年に関西医大から BCA の分析を依頼されたもので、特に、No. 2 は接触皮膚炎事故の原因となったものである³⁾。また、No. 3~8 は、1986~8 年に東京都内あるいは川崎市内で購入したものである。

2. 試薬および器具

BCA : 和光純薬製のものを用いてベンゼンから再結晶して標準品として用いた。

シリカゲル : Merck 社製 Silicagel 60 (70~230 mesh)。

クロマト管 : 内径 10 mm, 長さ 30 cm の活栓付きガラス製クロマト管。

シリカゲルカラム : 塩化メチレンを用いた湿式法により、シリカゲル 3 g をクロマト管に充填して作成したもの。

その他の試薬は、市販の特級品を用いた。

3. 防かび製品中の BCA の分析

3.1. HPLC 条件

分離カラム : Nagel 社製 Nucleosil 50-5 (250 mm × 4.6 mm i. d.), 移動相 : ヘキサン-クロロホルム (12 : 5), 流速 : 1.0 ml/min, カラム温度 : 室温, 検出器 : 紫外部検出器, 測定波長 : 290 nm。

3.2. 定量法

① 防かびマットおよび防かびクロス : 薄片状になるまでほぐしたもの、あるいは、細かく切ったもの 0.1 g を量り採り、メタノール 20 ml を加えて、20 分間加熱・還流して抽出する。抽出液をろ取り、ロータリーエバポレーターを用いて溶媒を留去する。この抽出操作を 2 回繰り返す。得られた抽出物を少量の塩化メチレンに溶かして、シリカゲルカラムに負荷し、塩化メチレン 25 ml で溶出する画分を採る。

これを塩化メチレンにより、BCA の濃度が 5~50 μg/ml の範囲に入るような液量にメスアップし、試験溶液とする。この試験溶液 2 μl を HPLC 装置に注入して、得られたクロマトグラム上の BCA のピークのピーク高さを測定し、予め標準液を用いて作成しておいた検量線から試料中の BCA の含有量を求める。

② BCA ゲル : めのうの乳鉢ですりつぶしたもの 0.1 g を量り採って、シリカゲルカラムに積層し、塩化メチレン 25 ml で溶出する画分を採る。

以下、防かびマットの場合と同様に操作する。

③ 運動靴用洗剤 : 洗剤 3 g に水 30 ml を加えて、塩化メチレン 20 ml で 2 回抽出する。抽出液を合し、水で洗ったのち、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水する。ロータリーエバポレーターを用いて 1~2 ml に濃

縮して、シリカゲルカラムに負荷し、塩化メチレン 25 ml で溶出する画分を採る。

以下、防かびマットの場合と同様に操作する。

④ 防虫剤 : 塩化メチレンに溶かし、そのまま HPLC 装置に注入して分析した。

4. 変異原性試験 (Ames 試験)

Salmonella typhimurium TA100, TA98, および TA2637 の 3 種の菌株を用い、Yahagi らのプレインキュベーション法⁴⁾ にしたがって行った。S9 mix は、PCB (カネクロール 400) を投与した雄の Fisher 344 ラットの肝臓から調製したものをを用いた。BCA を DMSO に溶解し、試験菌株を含む培地に加えたのち、37°C で 2 日間培養し、出現した変異株のコロニー数をコロニーカウンターにより測定した。

結果ならびに考察

1. 市販防かび製品中の BCA の分析

1.1. BCA の分析条件

BCA は脂溶性の化合物で、290 nm 付近に極大吸収を示すため、分離カラムには順相系のシリカゲルカラムを、移動相にはヘキサン-クロロホルム (12 : 5) 混液を、また、検出器には紫外部検出器を用いることによって、容易に HPLC で分析することができる。

Fig. 1 の a~c に、BCA の標準液、ならびに運動靴用洗剤および防かびクロス抽出液のクロマトグラムを示す。BCA は、この HPLC 条件において、保

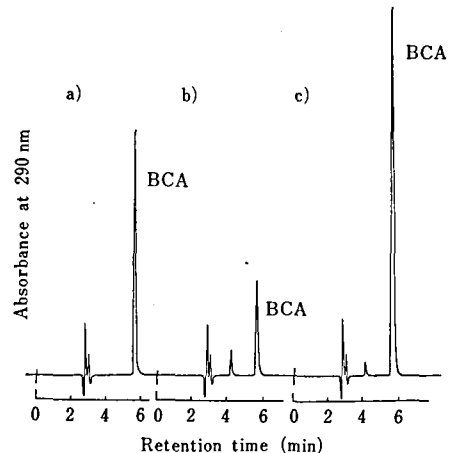


Fig. 1 Typical HPLC Chromatograms of BCA Standard Solution (a), and Extracts of a Detergent (b) and Anti-mildew Cloth (c) Chromatographic conditions: column, Nucleosil 50-5 (Nagel, 4.6 mm i. d. × 250 mm); mobile phase, hexane-chloroform (12 : 5); detector, UV detector; wavelength, 290 nm.

持期間5.7分のシャープなピークを与え、ピーク高さ法により作成した検量線は、検討した範囲 (BCAの注入量として5~60 ng) において、原点を通る良好な直線性を示した。

今回分析した市販の防かび製品 (Table 1) の中には、BCAの分析の妨害となるようなピークを示すものはなかった。

1.2. 市販の防かび製品からの BCA の抽出法

セルロース製品から処理剤を抽出するには、これを膨潤しうるメタノールが最も適しているので^{5,6)}、防かびマットや防かびクロスの抽出にはメタノールを用いた。Fig. 2 に、抽出を繰り返したときの BCA の抽出パターンを示す。いずれの場合も、メタノールで2~3回抽出することにより含まれている BCA をほぼ定量的に抽出できることが分かった。

BCA ゲル中の BCA は、ゲルをすりつぶして、シリカゲルカラムに積層し、塩化メチレンで溶出することによって、また、運動靴用洗剤中の BCA は、水を加えて、塩化メチレンで2回抽出することによって、いずれも定量的に抽出することができた。

1.3. 市販製品中の BCA の含有量

Table 1 に、市販防かび製品中の BCA の分析結果を示す。

防かびマットについては、入手の時期の異なった4種の試料について分析したが、その分析値は10700~43500 $\mu\text{g/g}$ の範囲にあり、今回分析した製品の中で最も多量の BCA を含んでいた。また、防かびクロスからは1100 $\mu\text{g/g}$ 、BCA ゲルからは10050 $\mu\text{g/g}$ の

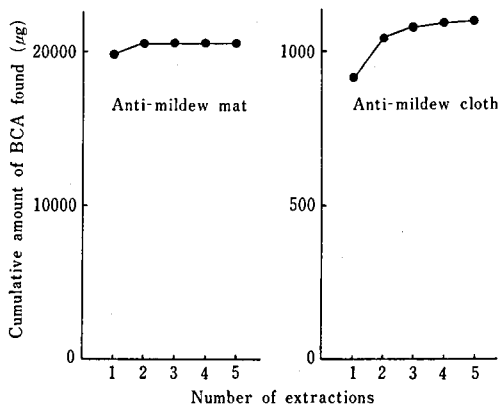


Fig. 2 Extraction Efficiencies of BCA from Anti-mildew Mat and Anti-mildew Cloth with Methanol

BCA が検出された。

一方、運動靴用洗剤からは18 $\mu\text{g/g}$ 、衣裳ダンス用の防虫剤からは37 $\mu\text{g/g}$ の BCA しか検出されなかった。

2. 変異原性試験

Table 2 と Fig. 3 に、Ames 試験の結果を示す。高用量群で変異コロニーの数が急激に減少しているのは、BCA の殺菌作用によるものと思われる。

TA100 株は、塩基置換型の変異を検出するのに適しているが、BCA は、この TA100 株に対して、S9 mix 非存在下で0.2 μg /プレート以上の濃度にお

Table 1. Analytical results of BCA in some commercial anti-mildew products

No.	Sample	Trade name	BCA found ($\mu\text{g/g}$)
1	Anti-mildew cloth ^{a),b)}		1,100
2	Anti-mildew mat A ^{a),c)}	(Tokuyama soda)	20,500
3	" "	(")	10,700
4	" "	(")	43,500
5	" "	(")	34,500
6	BCA gel ^{d)}	"Kabi shut" (Fuji film)	10,050
7	Moth-proofing agent ^{e)}	"Neopara ring" (S. T. chemical)	37
8	Detergent for shoes	"Duckrin" (Jhonson)	18

^{a)} Obtained from Kansai medical college hospital.

^{b)} Used in drawers for the preservation of clothes.

^{c)} The accessory of "Mizutori Zōsan", the drying agent for furnitures containing calcium dichloride.

^{d)} Silicagel containing BCA is packed in a small paper bag, and used for the preservation of films, cameras and optical apparatuses.

^{e)} Main component is p-dichlorobenzene. Used in wardrobes.

Table 2. Mutagenicity of BCA against *Salmonella typhimurium* TA100, TA98 and TA2637

Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	His ⁺ Revertants/plate					
	TA100		TA98		TA2637	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
0	114	100	29	30	19	31
0.1	200		39		27	
0.2	259		40		23	
0.5	443		27		58	
1	492		58		153	
2	1,796		125		208	
5	1,848	128	135	38	223	33
10	1e ^{a)}	119	147	25	1e	35
20		249		46		75
50		536		68		243
100		748		159		754
200		1,612		48		532
500		1e		1e		1e

^{a)} Lethal effect.

いて強い変異原性を示した。Fig. 2 から求めた誘発変異コロニー数は、mg 当たり 1.0×10^6 個であった。一方、S9 mix の存在下での変異コロニー数は、mg 当たり 1.3×10^4 個で、前者の場合の約 1/100 にまで変異活性が弱まった。

BCA は、TA98 株および TA2637 株に対しても強い変異活性を示した。いずれの場合も、TA100 株の場合と同様に、S9 mix 非存在下でより高い活性を示す傾向にある。

以上の結果は、Neudecker ら²⁾ の報告と基本的に一致しており、BCA が非常に強い direct-acting mutagen であることを確認することができた。

さらに、既知の変異原性物質⁷⁾ との mg 当たりの誘発変異コロニー数の比較から、BCA の変異活性は、S9 mix 非存在下でベンツ (a) ビレンや 4-NQO に、

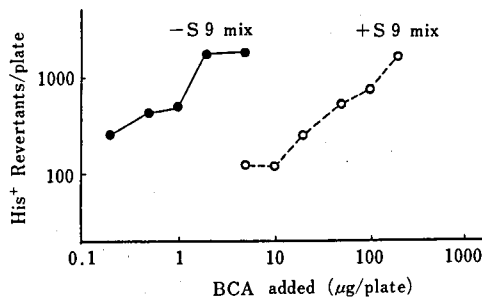


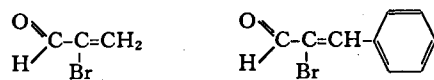
Fig. 3 Mutagenicity of BCA against *Salmonella typhimurium* TA100

S9 mix 存在下でトリス (2,3-ジプロモプロピル) ホスフェート (TDBPP) に、それぞれ匹敵するレベルにあることが分った。

3. BCA の安全性に関する考察

Neudecker ら²⁾ や著者らの実験結果から、BCA に非常に高い変異活性が認められた事実、ならびに、BCA が、TDBPP の変異原性⁸⁾ や発がん性⁹⁾ の本体と考えられている^{10,11)} 2-ブromoアクロレイン (BA) とよく似た化学構造を有していること (Fig. 4) など考え合せると、BCA にも発がん性のある可能性が示唆される。しかしながら、現在までのところ、発がん性については十分に検討されていない。さらに、河合ら³⁾ の報告によれば、BCA は非常に強い皮膚感作性物質でもある。

今回分析した市販の製品については、そのいずれからでも BCA が検出されたが、BCA ゲルを写真のフィルム、カメラ、光学機器などのケースに入れてその防かび保存剤として使うような《閉鎖系での使用》を除いては、多くの人が少しずつ気化してきた BCA に長期にわたって暴露される可能性がある。



2-Bromoacrolein

α -Bromocinnamaldehyde

Fig. 4 Chemical Structures of 2-Bromoacrolein (BA) and α -Bromocinnamaldehyde (BCA)

今後、さらに BCA の安全性試験を追加するとともに、本剤のヒトへの有害性について慎重に検討する必要があると思われる。

本報の一部は日本薬学会第 107 年会 (1987, 京都) において発表した。

文 献

- 1) 西村民男：防菌防黴, 3, 2 (1975)
- 2) T. Neudecker *et al.*: *Mutation Research*, 110, 1 (1983).
- 3) 河合修三ら：皮膚, 29, 増56 (1987)
- 4) T. Yahagi *et al.*: *Cancer Lett.*, 1, 91 (1975)
- 5) 鹿庭正昭ら：衛生化学, 23, 7 (1977)
- 6) 小嶋茂雄ら：衛生化学, 32, 350 (1986)
- 7) 石館 基：環境変異原研究, 4, 26 (1982)
- 8) A. Blum, B. N. Ames: *Science*, 195, 17 (1977)
- 9) National Cancer Institute: Bioassay of tris (2, 3-dibromopropyl) phosphate for possible carcinogenicity (Technical report series No. 76), Publ. No. (NIH)78-1326. Washington DC, US Government Printing Office, 1978
- 10) P. J. Marsden, J. E. Casida: *J. Agric. Food Chem.*, 30, 627 (1982)
- 11) E. J. Søderlund *et al.*: *Biochem. Pharmacol.*, 33, 4017 (1984)

アルカリ溶出法によるラット前胃扁平上皮細胞 DNA 損傷の検出

森本和滋・橋高浩史・辻 和彦・高橋 惇
古川文夫・高橋道人・林 裕造

Measurement of DNA Damage in Forestomach Squamous Epithelium by Alkaline Elution Assay

Kazushige MORIMOTO, Hiroshi KITSUTAKA, Kazuhiko TSUJI,
Atsushi TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA,
Michito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI

The alkaline elution assay were applied for assessing DNA damage of forestomach squamous epithelium in the male F344 rat. The animals were starved for 18 hr and then given a single oral dose of the sample in saline or corn oil. After 3 hr the stomach was removed, opened along the greater curvature and washed with cold 0.024M EDTA-0.075M NaCl (pH 7.5). The mucosa of the forestomach was scraped off gently with the edge of a cover glass, and the stratified squamous epithelium was collected by scraping off firmly with the edge of a cover glass. Since the collected epithelium cells adhere to the pipettes, these cells were transferred onto a polycarbonate filter by using a micro spatula.

The dose-dependent DNA damages (5~150 mg/kg) were observed after administration of 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (MNNG), a forestomach carcinogen.

(Received May 31, 1989)

はじめに

先に著者らは *o*-phenylphenol (OPP) および OPP-Na の膀胱発ガンにおいて尿中キノン代謝物 2-phenyl-1,4-benzoquinone が標的臓器である膀胱上皮細胞 DNA に対して損傷作用を有していること¹⁾を我々が開発した膀胱上皮細胞 DNA 損傷をアルカリ溶出法で調べる方法²⁾にて明らかにした。

Ito ら³⁾は酸化防止剤である 3-tert-butyl-1,4-hydroxyanisole (3-BHA) が F344 ラットによって

2% 群で前胃の扁平上皮癌を誘発することを報告した。BHA と OPP-Na は Ames テストなどの短期遺伝子毒性試験が陰性であること⁴⁾、標識化合物を経口投与し、標的臓器 DNA への共有結合性を調べるといずれの化合物も結合性が認められない等^{5,6)}の共通性がある。

胃における DNA 損傷の検出については 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (MNNG) 投与後の幽門腺部の DNA 損傷をアルカリショ糖密度勾配遠心法 (alkaline sucrose density gradient, ASG 法) で経時

的に DNA 損傷を追跡している報告がある^{7,8)}。しかし ASG 法は DNA の一本鎖切断を用量反応評価するのが困難である。一方、DNA 損傷に引き続いて誘起される修復 DNA 合成を調べる不定期 DNA 合成法 (unscheduled DNA synthesis, UDS 法) は Furihata や Matsushima⁹⁾ により腺胃を中心にして MNNG をはじめとする alkyl 鎖長の異なる 1-alkyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine や 4-nitroquinoline 1-oxide および 1-nitroso-1-methylurethane 等で用量反応評価がされている。測定の endpoint が切断後の修復にある UDS 法に比してアルカリ溶出法は一本鎖切断を直接測定する方法¹⁰⁾であり、かつ用量反応評価ができる利点がある。

前胃は先に報告した膀胱上皮粘膜²⁾ や腺胃粘膜と比較すると角化重層扁平上皮であり、組織的に全く異なった上皮で、増殖帯は下層に分布している。したがって手法的に上皮細胞を適切に採取することが容易ではないことから、DNA 損傷の測定にアルカリ溶出法を適用した報告はほとんど無い。前胃粘膜を対象にしたアルカリ溶出法の確立は前胃を標的とする BHA の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. 前胃扁平上皮細胞採取法について

実験動物は雄性 F344/DuCrj ラット (チャールズリバー) を用い、エーテル麻酔下で胃を摘出し、大彎側から切り開き、0.024M EDTA-0.075M NaCl (pH 7.5) 溶液 (EDTA-NaCl 溶液) で洗滌した。次に、カバーガラスで粘液を除去した後扁平上皮組織を集めた。剝離後の前胃組織は中性ホルマリン液にて固定した。

2. 上皮細胞塊のフィルター上への移動方法の検討

採取した上皮細胞塊を EDTA-NaCl 溶液に懸濁し、各種のピペットにてポリカーボネートフィルターカラムに移動した。また別の方法として、細胞塊はそのままミクロスパーテルを用いて直接フィルター上に移し、その後 1.5 ml の EDTA-NaCl 溶液を加え洗滌した。

3. 絶食による体重の減少

ラットは午後4時半から絶食し、翌日の午前10時半に投与実験を開始した。この絶食のスタート時と18時間後の体重を測定し減少率を算出した。

4. MNNG 処理実験

7~8週令 (体重 160~180 g) のラットに MNNG (Aldorich Chemical Company, Inc) を胃ゾンデにて

強制経口投与した。MNNG はまず dimethylsulfoxide (DMSO) 250 μ l に溶解し、次に生理食塩水 4 ml を加え調製した (終濃度 5.9% DMSO)。

5. コーンオイル処理実験

コーンオイル 4 ml を強制経口投与し、0, 1, 2, 4 時間後に解剖し胃内残留性を調べた。

またコーンオイル投与後3時間後の扁平上皮細胞を採取しアルカリ溶出法を行った。

6. アルカリ溶出法

膀胱上皮細胞で確立した方法²⁾ に準じて行った。前胃扁平上皮細胞は 10 μ g DNA 相当量を用いた。分画後、フィルター上に残存する DNA の抽出率を 5 ml のアルカリ液 (0.2% SDS, 20 mM EDTA, tetrapropylammonium hydroxide, pH 12.1) で振とう抽出し検討した。各分画およびフィルター抽出液の DNA 分析は 3,5-diaminobenzoic acid dihydrochloride を用いるケイ光法²⁾ にて行った。

結果と考察

1. 前胃上皮細胞採取法について

擦過前の前胃粘膜は表面に角化層を伴った扁平上皮

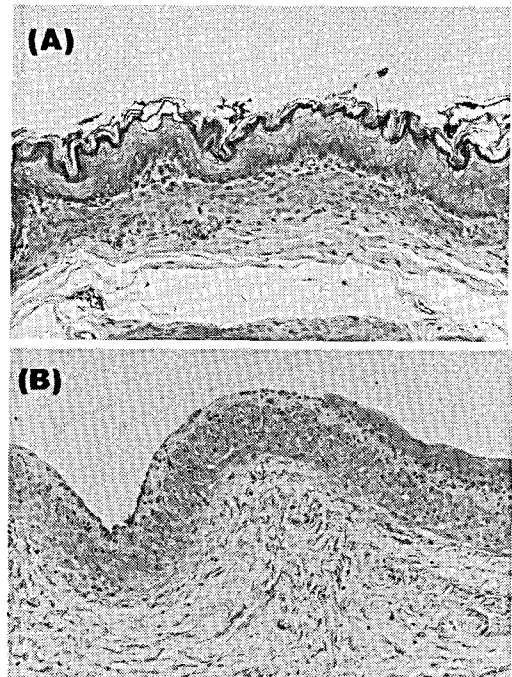


Fig. 1. Histological appearance of the rat forestomach before and after scraping off the stratified squamous epithelium

(A) Before scraping, (B) After scraping. The epithelium appears to be almost completely removed. HE staining, $\times 60$.

細胞が見られる (Fig. 1A). 膀胱上皮細胞は2~3層であるが前胃においては7~8層の扁平上皮細胞の上にさらに角化層が存在する. この角化層を含めた表層細胞を採取すると変性細胞が含まれるため, 損傷したDNAを含有することになり, まず角化層を除去する必要がある. 種々検討の結果, カバーグラスにて粘膜を弱くかき取ると角化層が除去され, さらに強くかき取ると扁平上皮細胞がかき取られ, 粘膜下組織が露呈してくることがわかった. Fig. 1Bには擦過後の前胃粘膜の組織像を示した. 右端には一部上皮細胞が残存していることがわかる.

2. 上皮細胞塊のフィルター上への移動方法の検討

採取した上皮細胞はまず膀胱上皮細胞の操作と同様に, EDTA-NaCl 溶液に懸濁し, ポリプロピレン製ピペット (Excell Tips) にて移動を試みたがピペット壁への付着が強く移動は困難であった. さらにポリスチレン製, ポリエチレン製ピペット, およびシリコン処理したガラス製ピペットにてフィルター上に移動しようとしたが, いずれも粘性が強く移動は困難であった. 前胃組織は膀胱に比して粘性が極めて強いことがわかった.

そこで, カバーグラスにてかき取った細胞をミクロスパーテルにて集め直接フィルター上に移し NaCl-EDTA 溶液を加えて洗滌する方法を採用した.

3. フィルターからの DNA 抽出率の検討

アルカリ溶出後フィルター上に残存する DNA はアルカリ液による2回の振とう抽出では DNA の回収は88%と低くさらにフィルターを細かく切り抽出すると, 96%の回収が得られた. 膀胱組織の場合には2回の抽出でよかったが前胃では3回の抽出操作が必要ながわかった. 前胃組織の方が粘性が高く, DNA 量も多かった為と考えられる.

4. MNNG 処理ラットにおける前胃上皮細胞 DNA の損傷

In vivo における前胃の実験においては投与前に絶食し胃内容物が無い状態にして化合物の影響を調べる方がデータのばらつきが少なく望ましい. そこでまず絶食に伴う体重の減少を調べた. 150~199gのラット50匹における絶食の前後の体重の減少率は 6.66±1.94% (平均±SD) であった. 120~149gでは 8.62±2.90% (30匹), 200~250gでは 6.09±1.56% (35匹) と体重の増加と共に減少率は低下した. アルカリ溶出法は主として体重 160~180g を用いて行うこととした.

Fig. 2にはMNNGを生理食塩水に溶解し, 経口投与後3時間の前胃上皮細胞 DNA のアルカリ溶出パ

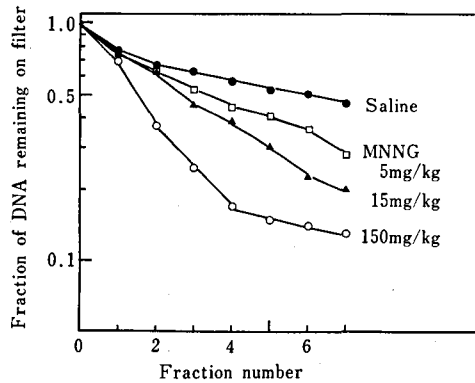


Fig. 2. Alkaline elution patterns of DNA of forestomach squamous epithelium from F344 rats treated with MNNG

Rats were starved for 18 hr and then given 4 ml of MNNG in saline via gastric tube. The animals were killed 3 hr later and their forestomachs were removed.

ターンを示した. 溶出速度定数 (K, ml^{-1}) を求めると Table 1 に示したように濃度に依存して DNA 損傷が増大した. 即ち, 5~150 mg/kg (0.023~0.68%) で濃度依存性がみられ, 対照群と 15 mg/kg MNNG との間には統計的に有意差 ($P < 0.05$) が認められた. Tatematsu ら⁷⁾ は 8 週令の近交系 WA ラットに 12 mg/2 ml の MNNG (60 mg/kg) を 6 時間毎に 2 回投与して 2, 12, 24 時間後の幽門腺部の DNA 損傷を ASG 法で調べて修復の経時変化を追跡している. また Furihata ら⁹⁾ は 7~8 週令の F344 ラットに 100 mg/kg の MNNG を投与して ASG 法にて同じく幽門腺部の DNA 損傷の経時変化を調べている. これらの MNNG の投与量に比して今回のアルカリ溶出法の方が投与量が低く, したがって ASG 法より低濃度で DNA 損傷が検出されることが示唆された. Sina ら¹¹⁾ はラットの肝臓実質細胞を用いて *in vitro* における DNA 損傷を 91 種の化合物で調べている. MNNG は 0.03 mM でも DNA 損傷を認めており, 我々の *in vivo* における 15 mg/kg の投与には 4.6 mM の溶液を用いており, *in vitro* の約 150 倍の高い濃度で DNA 損傷が認められたことになる.

また生理食塩水対照群のアルカリ溶出速度定数は 0.0522 と膀胱の生理食塩水対照群の 0.0126²³⁾ に比してかなり高い値を示した.

5. コーンオイル処理実験

前胃に癌原性を有する化合物は BHA⁹⁾, ethyl acrylate(EA)¹²⁾, diglycidyl resorcinol ether¹²⁾, 1,2-dibromoethane¹²⁾, 1,2-dibromo-3-chloropropane¹²⁾,

Table 1. Alkaline elution rates of DNA in forestomach squamous epithelium of F344 rats

Treatment ^{*1}	Number of experiments	Elution rate ^{*2} K(ml ⁻¹) x 10 ²
(A) MNNG study		
saline	3	5.22 ± 2.54
MNNG 5mg/kg	4	7.97 ± 2.87
15mg/kg	5	12.59 ± 4.18 ^{*3}
150mg/kg	3	14.27 ± 5.20
(B) Corn oil study		
corn oil	12	4.92 ± 2.85

*1 Rats were starved for 18hr and then given 4 ml of sample solution via gastric tube. The animals were killed 3 hr later and their forestomach were removed.

*2 Data show mean values ± SD.

*3 P < 0.05 from the saline group.

1-chloro-2-methylpropene¹²⁾, 3-chloro-2-methylpropene¹²⁾ 等脂溶性の化合物が多く、Ghanayemら¹²⁾はコーンオイルに溶解して投与している。そこでまず、絶食ラットに4 mlのコーンオイルを投与して、0, 1, 2, 4時間後に解剖し、胃内貯留性を調べた。1時間後では胃内に投与量の70%以上のコーンオイルが回収された。また、4時間後でも60%ほど胃内残留が観察された。そこで曝露時間を3時間と決定した。コーンオイル投与後3時間の前胃扁平上皮細胞DNAのアルカリ溶出速度定数はTable 1に示したように、0.0492と生理食塩水の処置群とほぼ同じ値を示した。膀胱の上皮細胞DNAのコントロール値と比較すると高い²⁾が、その理由が前胃の組織特性によるものと、その他の操作上の違いによるものが考えられる。なかでも前胃上皮細胞採取には一部角化の混入が避けられないことから前者の寄与が大きいものと考えられる。しかしMNNG処理実験において150 mg/kgでは対照値の3倍の値が得られることから、今後BHAやEAの発癌機構の解明に本法を応用したい。

ま と め

1. 膀胱組織とは異なり前胃組織は、角化層の下部に上皮細胞が存在する為、まず角化層をカバーグラスにて穏やかに除去後、目的とする扁平上皮細胞を採取した。前胃組織の組織学的検索によって扁平上皮細胞がこの方法によって採取されたことを確かめた。

2. 上皮細胞塊のフィルター上への移動法やフィルターからのDNAの抽出法は組織の粘性のゆえに膀胱とは異なった方法を確立した。

膀胱とは異なった方法を確立した。

3. MNNGを投与すると用量(5~150 mg/kg)に依存してDNA損傷が増大した。

4. 絶食ラットにコーンオイルを投与すると4時間後でも60%が胃内に残留した。コーンオイル処理ラットの前胃扁平上皮細胞DNAのアルカリ溶出速度定数は生理食塩水処理の値とほぼ等しかった。

文 献

- 1) Morimoto, K. et al.: *Jpn. J. Cancer Res.*, **78**, 1027 (1987)
- 2) 森本和滋ら: 衛生試験報, **106**, 29 (1988)
- 3) Ito, N. et al.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **70**, 343 (1983)
- 4) Kawachi, T. et al.: *IARC Sci. Publ.*, No. 27, p. 323 (1980), IARC, Lyon
- 5) Reitz, R. H. et al.: *Chem.-Biol. Interact.*, **43**, 99 (1983)
- 6) Hirose, M. et al.: *Toxicology*, **45**, 13 (1987)
- 7) Tatematsu, M. et al.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 775 (1980)
- 8) Furihata, C. et al.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **72**, 1327 (1984)
- 9) Furihata, C. and Matsushima, T.: *CRC Critical Reviews in Toxicology*, **17**, Issue 3, 245 (1987)
- 10) Kohn, K. W. et al.: *Biochemistry*, **13**, 4134 (1974)
- 11) Sina, J. F. et al.: *Mutat. Res.*, **113**, 357 (1983)
- 12) Ghanayem, B. I. et al.: *Cancer Lett.*, **32**, 271 (1986)

防菌・防黴剤 α -プロモシナムアルデヒド (BCA) の
雌マウスにおける経皮慢性毒性/発癌性試験

門馬純子・内田雄幸・高田幸一・会田喜崇・吉本濱子・鈴木康雄
小林和雄・中路幸男・黒川雄二・戸部満寿夫

Combined Long-term Toxicity/Carcinogenicity Test of α -Bromocinnamic
aldehyde (BCA) Applied to Female Mouse Skin

Junko MOMMA, Osayuki UCHIDA, Koichi TAKADA, Yoshitaka AIDA,
Hamako YOSHIMOTO, Yasuo SUZUKI, Kazuo KOBAYASHI,
Yukio NAKAJI, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE

Bromocinnamic aldehyde (BCA), an antibacterial/antifungal agent, was tested for its chronic toxicity/carcinogenicity in female Slc: ddY mice.

The animals received 0.25%, 1.0% and 4.0% of BCA dissolved in olive oil applied to the shaved back skin area twice a week for 79 weeks. The control group received olive oil alone under similar conditions. In addition to these animals, 5 animals in each group were killed at 6 and 12 months for investigation of the time-related toxic effect of BCA.

A slight inhibition of body weight increase and a slight decrease in the survival rate were seen in the 4.0% BCA-treated group. No significant changes were observed in hematological parameters at 6, 12 and 18 months. In chemical biochemistry determination in the blood at 6 and 12 months, a significant decrease in non-esterified fatty acid and phospholipid values was observed in the experimental groups. Histopathologically, necrosis, scabbing, cell infiltration and thickening of the epidermis were noted at the site of application in the 4.0% BCA group. Moreover, extramedullary hematopoiesis and amyloid degeneration were detected in the spleen, while the incidence of adenomas in the lung decreased with a dose-response. These changes seemed to be the result of a non-specific inflammatory reaction to the irritation effects of the agent on the skin. No significant differences in the incidence of tumors were found between the control and experimental groups, not only at the site of application but also in other organs, although lung adenomas decreased dose-dependently in all treated groups.

The above mentioned results indicated that under the conditions of the present study, BCA was toxic to the skin but did not show carcinogenic activity.

(Received May 31, 1989)

はじめに

α -Bromocinnamic aldehyde (BCA) は広い抗菌スペクトルを持つ防菌・防黴剤として、光学精密機械、写真フィルム、望遠鏡、皮革製品およびスポーツ用品等の保存に使用されている。

本品は、ケイ皮特有の芳香があり、微黄色の結晶性粉末である。融点は 68.5~69.5°C で、60°C 付近より昇華する。ジメチルスルホキシド、アセトン、クロホルム、ベンゼン、エタノール、エーテルおよびオリブ油に溶けるが、水には難溶である。BCA の化学構造式を Fig. 1 に示す。

BCA は強い皮膚刺激性があり¹⁾、ヒトでアレルギー

一性接触皮膚炎を引き起こす²⁾ことが報告されている。毒性データとして、微生物に対する変異原性が極めて強いとの報告^{3,4)}があるほか、急性毒性⁵⁾および催奇形性⁶⁾についての報告がある。しかし、慢性毒性ならびに発癌性に関する報告は見当たらない。

今回、我々はマウスを用いて経皮投与による BCA の慢性毒性/発癌性試験を実施した。なお、雄マウスは fighting が激しく、皮膚に損傷をきたすことから、

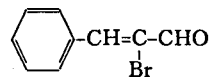


Fig. 1. Structural formula of α -Bromocinnamic aldehyde

雌マウスを用いて実験を行った。

実験材料および方法

1. 被験物質

α -Bromocinnamic aldehyde(BCA) は、高砂香料社製(工業用)を用い、投与に際しては、BCAを所定の濃度(0.25%、1.0%および4.0%)になるようオリーブ油に溶解させた。対照群にはオリーブ油のみを投与した。

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)を1週間予備飼育した後、5週令で実験に供した。

動物は、ソフトチップ(三協ラボ社)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 ± 1 ℃、湿度 55 ± 5 %、照明は点灯6時、消灯18時の環境下のバリアシステム動物室で、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. 実験方法

1) 用量設定および群構成

BCAのマウスでのLD₅₀値(p.o)は、雄で0.47g/kg、雌で0.50g/kgであった⁵⁾。

BCAのモルモットを用いた皮膚一次刺激性試験で、1.0%および5.0%群に発赤が認められたことなどを参考にし¹⁾、予備試験では、0.6%、1.0%、2.0%、4.0%および6.0%(各群5匹)のBCAを雌マウスの背部に30日間塗布した。その結果、6.0%で塗布部位に脱毛、痂皮形成および潰瘍性変化がみられたが、4.0%以下の濃度では著明な変化を認めなかったことから、長期試験での投与量を0.25%、1.0%および4.0%の3段階に設定した。

以上の結果に基づき、本試験のための群構成は、対照群70匹、0.25%、1.0%および4.0%群、各50匹とし、さらに、経時の変化をみる目的で、各群10匹からなるサテライト群(途中屠殺群)を設けた。

2) 投与方法および投与期間

動物用バリカンで動物の背部中央を 1×1.5 cmの広さに剪毛し、幅1cmのガラス製ノズル(夏目製作所製)を付した注射器で、0.025mlを、週2回、18カ月間塗布した。サテライト群の動物は6カ月および12カ月に経時的屠殺を行った。塗布部位の皮膚の発毛状態は個体差があるので、剪毛は随時塗布前日に行った。

3) 体重および摂餌量

体重および摂餌量は、27日目までは週1回、それ以降は隔週に、ケージごとにまとめて測定した。

4) 一般状態の観察

動物の一般状態および死亡の有無を毎日朝夕2回観察し、途中死亡例は発見後速やかに、また、瀕死の動物は屠殺後解剖し、剖検所見を記録した。

5) 血液学的検査

実験終了時に、対照群より20匹、0.25%、1.0%および4.0%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、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)で測定した。さらに、塗抹標本は、ライトギムザ染色を施し、マイクロックスA型(立石電気)で白血球百分率を算出した。サテライト群でも、6ヶ月目に各群から5匹の動物を無作為に選び、12ヶ月目ではすべての生存動物について同様の検査を行った。

6) 血清生化学的検査

検体投与6ヶ月目にサテライト群の各群から5匹の動物を無作為に選び、12ヶ月目ではすべての生存動物について血清生化学的検査を行った。

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)、遊離脂肪酸(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ン酸トランスアミナーゼ(GPT)、グリシルプロリン・ジペプチジルアミノペプチダーゼ(GPDAP)をGEMSAEC IV型自動分析装置(米国Electro Nucleonics)にて測定した。

7) 剖検および病理組織学的検査

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。その他の臓器は肉眼的観察の後、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。各臓器から組織を切り出した後、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。なお、6カ月および12カ月に屠殺したサテライト群の動物についても同様の方法で標本を作成し検査した。

4. 統計処理

血液(白血球百分比を除く)、血清生化学的検査お

よび器官重量については、Bartlett⁷⁾の方法により、まず分散の一樣性の検定を行い、分散が一樣な場合には一元配置の分散分析を行った。群間に有意性が認められ、各群の動物数が一定であるなら、Dunnett法^{8,9)}、不定ならば、Schefféの方法¹⁰⁾によって対照群に対する各群の平均値の一对比較検定を行った。また、分散が一樣でない場合は、Kruskal-Wallisの方法¹¹⁾によって順位検定を行い、群間に有意性が認められ、各群の動物数が一定の場合はDunnett型、一定でない場合はScheffé型の平均順位の一对比較検定を行った。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は χ^2 検定¹²⁾を用いた。

結 果

1. 体重および摂餌量

0.25%、1.0%および4.0%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。

体重変化では、4.0%群で15週目以降に、1.0%群では47週目以降に、体重の増加抑制傾向がみられた。0.25%群は対照群とほぼ同様な体重の推移を示し

た。

摂餌量は、全投与期間を通して各群ともほぼ同様な推移を示した。サテライト各群の体重および摂餌量もほぼ同様の推移を示した。

2. 一般状態および動物の死亡

塗布部位皮膚は、各投与群とも濃度に比例して、塗布開始後3~4週目頃より発赤が認められ、その後、発赤は著しくなり、脱毛、出血、潰瘍がみられた後、痂皮を形成した。一部の動物では再び上皮が新生されたが、新しい上皮では体毛の植立が非常に遅れた。また、対照群を含む全群に、実験開始後45週目頃より、頸部、腋窩および鼠径部皮下に腫瘤を認める動物があった。各群の生存率をFig. 3に示した。最初の死亡例は0.25%群で28週目に、1.0%群は18週目に、4.0%群は22週目に、対照群では33週目にみられ、0.25%および1.0%群の生存率は対照群とほぼ同様であった。4.0%群では48週目に低値を示し、実験終了時までその傾向が継続した。実験終了時(79週目)には対照群、0.25%、1.0%および4.0%群で約半数以上の動物が死亡したが、対照群と投与群との間に有意差を認めな

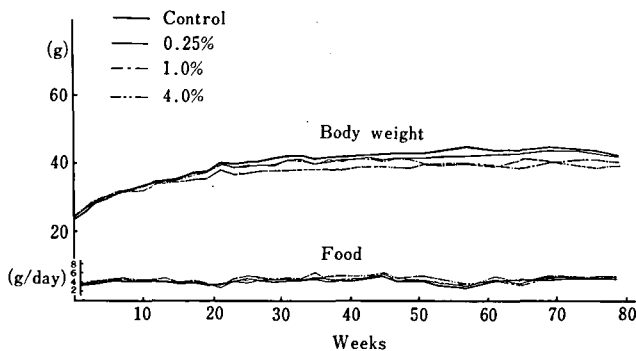


Fig. 2. Growth and food consumption of female mice painted with BCA for 18 months

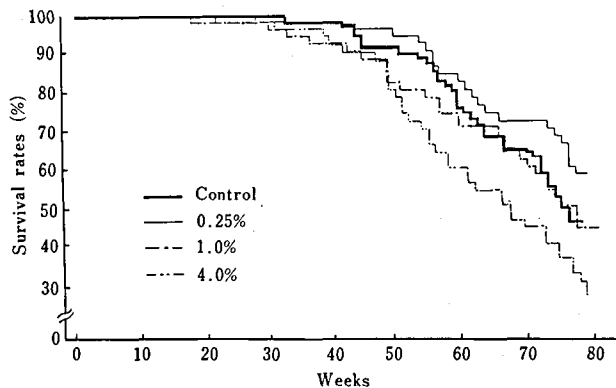


Fig. 3. Survival curves of female mice painted with BCA for 18 months

かった。サテライト群もほぼ同様な症状を示した。途中死亡は、50週目に0.25%群に1例みられた。

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では、対照群を含む各群に皮下腫瘍が認められた。皮下腫瘍の発生は、対照群4/19例 (47.5%)、0.25%群6/21例 (28.6%)、1.0%群11/28例 (39.3%)、4.0%群13/37例 (35.1%)で、発生部位は頸部、腋窩および鼠径部が主であった。その他に、肺、肝臓および脾臓などに腫瘍の発生がみられた。

サテライト群では、50週目に死亡した0.25%群の1例に、腋窩部に皮下腫瘍がみられ、肝臓の小葉明瞭感、腎臓の退色および皮髄境界不明瞭が認められた。

4. 血液学的所見

18カ月目まで生存した動物の血液学的検査成績は対

照群と投与群との間に差は認めず、サテライト群の6ヶ月および12ヶ月目も同様であった。

5. 血清生化学的所見

サテライト群による血清生化学的検査では、6カ月目に、1.0%群で T-Pro の有意の増加が、1.0%および4.0%群で NEFA の有意の減少がみられ、0.25%群で PL の有意の減少が認められた。12カ月目においては、全処置群で NEFA の有意の減少、1.0%群で T-GLY の有意の減少が認められた (Table 1)。

6. 器官重量

18カ月目まで生存した動物の体重および器官重量では、4.0%群で心臓の体重比重量に増加がみられたほかは対照群との間に差は認めず、サテライト群でも差はみられなかった。

7. 剖検所見

Table 1. Biochemical findings of female mice painted with BCA for 6 and 12 months

		Month			
		6 M			
		Dose (%)			
Test	Unit	0	0.25	1.0	4.0
		n	5	5	5
T-PRO	g/dl	4.79 ± 0.11	4.77 ± 0.10	5.04 ± 0.36	5.26 ± 0.13 *
ALB	g/dl	3.41 ± 0.16	3.50 ± 0.11	3.55 ± 0.22	3.58 ± 0.11
A/G		2.47 ± 0.26	2.81 ± 0.49	2.40 ± 0.19	2.13 ± 0.10
BUN	mg/dl	24.2 ± 3.6	17.7 ± 5.5	17.8 ± 3.3	18.9 ± 3.6
GLU	mg/dl	165 ± 23	153 ± 20	157 ± 26	142 ± 15
NEFA	meq/l	1.65 ± 0.08	1.46 ± 0.25	1.31 ± 0.14 *	1.24 ± 0.21 **
PL	mg/dl	233 ± 20	169 ± 29	197 ± 29	198 ± 28
T-GLY	mg/dl	176 ± 69	124 ± 45	107 ± 31	87 ± 66
T-CHO	mg/dl	68 ± 8	44 ± 12	61 ± 17	63 ± 14
ALP	mu/ml	138 ± 27	164 ± 60	164 ± 57	166 ± 86
GOT	mu/ml	329 ± 131	297 ± 142	315 ± 78	301 ± 80
GPT	mu/ml	52 ± 16	50 ± 21	60 ± 12	55 ± 7
γ-GTP	mu/ml	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
GPDAP	mu/ml	15.4 ± 7.3	16.7 ± 1.7	20.0 ± 4.8	18.7 ± 4.9

		Month			
		12 M			
		Dose (%)			
Test	Unit	0	0.25	1.0	4.0
		n	5	4	5
T-PRO	g/dl	5.07 ± 0.31	5.01 ± 0.49	5.53 ± 0.69	5.02 ± 0.65
ALB	g/dl	3.42 ± 0.11	3.49 ± 0.20	3.51 ± 0.15	3.41 ± 0.21
A/G		2.10 ± 0.24	2.36 ± 0.43	1.88 ± 0.56	2.05 ± 1.12
BUN	mg/dl	24.2 ± 3.5	19.1 ± 2.6	20.2 ± 4.3	20.2 ± 2.5
GLU	mg/dl	161 ± 48	180 ± 40	145 ± 14	137 ± 38
NEFA	meq/l	1.62 ± 0.17	1.07 ± 0.22 *	1.02 ± 0.26 **	1.02 ± 0.17 *
PL	mg/dl	198 ± 13	203 ± 10	167 ± 22	189 ± 37
T-GLY	mg/dl	145 ± 30	109 ± 29	81 ± 27 *	84 ± 37
T-CHO	mg/dl	96 ± 15	109 ± 13	81 ± 19	112 ± 17
ALP	mu/ml	178 ± 34	155 ± 57	162 ± 39	184 ± 131
GOT	mu/ml	282 ± 37	280 ± 77	228 ± 70	271 ± 108
GPT	mu/ml	44 ± 12	41 ± 11	35 ± 3	44 ± 10
γ-GTP	mu/ml	0.30 ± 0.50	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
GPDAP	mu/ml	25.2 ± 2.8	18.9 ± 5.6	20.8 ± 5.0	22.9 ± 4.8

n : Number of animals examined

Results are given as mean ± S.D.

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

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

18カ月目の剖検時における最も著明な変化は投与群にみられ、塗布部位の痂皮および潰瘍の形成等の皮膚病変であった。その程度は用量に相関し、4.0%群で最も強く認められた。また、皮膚病変を有する動物に全身の皮下および腹腔内リンパ節の腫大が認められ、その発生頻度は4.0%群で最も高かった。臓器では、肝臓および腎臓の退色を伴う軽度の肥大が各群に認められた。さらに、各群で、低頻度の非腫瘍性と考えら

れる種々の変化が散見された。腫瘍は、対照群で肺、皮下、胃および肝臓に、0.25%群では肺、皮下および下垂体に、1.0%群では肺、皮下および卵巣に、また、4.0%群では肺および子宮に散見された。

サテライト群では、6カ月目に、0.25%群に肺の腫瘍が、1.0%群では片腎欠損が各1例ずつみられたが、4.0%群では著明な変化は認められなかった。12カ月目では、4.0%群に塗布部位の脱毛および潰瘍が散発

Table 2. Location and histological classification of tumors observed in female mice painted with BCA for 18 months

Dose (%)	0	0.25	1.0	4.0
No. of animals examined	66	47	46	46
Nervous system				
Brain/meningioma	1			
Endocrine system				
Parathyroid/adenoma		1		
Pituitary gland/adenoma	1			
Pancreas/adenoma		1		
Hematopoietic system				
Lymph node/leukemia	9	5	9	7
Spleen/histiocytoma		1		
hemangioendothelioma				1
Respiratory system				
Lung/adenoma	19	9	10	6*
adenocarcinoma	9	5	9	9
metastasis	7	3	4	6
Digestive system				
Forestomach/papilloma	5		2	8
Glandular stomach/adenocarcinoma	1			
Rectum/adenocarcinoma				1
Liver/hemangioendothelioma				1
Urinary system				
Urinary bladder/fibroma			1	
Genital system				
Uterus/polyp				1
adenoma		1		
fibrosarcoma		1		1
sarcoma				1
Vagina/hemangioendothelioma				1
Mammary gland/adenoma	7	1	1	
adenoacanthoma			2	
adenocarcinoma	10	8	7	6
Integument, muscle-skeletal system				
Skin/Subcutaneous				
papilloma		2		2
acanthoma				1
squamous cell carcinoma	1		1	
sebaceous gland adenoma				1
malignant fibrous histiocytoma			1	
fibrosarcoma				1
Bone/osteosarcoma	1			
Others				
peritoneum and retroperitoneum mesothelioma	1			

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

的にみられ、皮下(腋窩部、肩甲骨の筋肉部)のリンパ節の腫大が認められた。また、1.0%群でも、塗布部位に軽度の潰瘍形成が1/5例、皮下のリンパ節腫大が2/5例にみられた。その他、皮下腫瘍が0.25%群で1例、肝臓および腎臓の退色を伴う軽度肥大が、1.0%群で2例、4.0%群で1例認められた。

8. 病理組織学的所見

腫瘍の病理組織学的所見を Table 2 に示す。塗布部位の皮膚では、乳頭腫が0.25%群で2/47例(4.3%)、4.0%群で2/46例(4.3%)、棘細胞腫、皮脂腺腫および腺癌が4.0%群に各1例ずつ認められた。扁平上皮癌は、対照群で1/66例、1.0%群で1/46例、悪性線維性組織球腫が1.0%群で1/46例認められ、いずれも各群間で有意差を認めなかったが、皮膚腫瘍全体としては4.0%群でやや多い傾向にあった。白血病は対照群を含む各群に5~9例に認められ、各群間に差は認めなかった。肺の腺腫は、対照群19/66例(28.8%)に対し、0.25%群では9/47例(19.1%)、1.0%群では10/46例(21.7%)と減少傾向にあり、4.0%群では6/46例(13.0%)と有意に減少していた。肉眼的に認めら

れた皮下腫瘍は組織学的にはほとんど全て乳腺の腺癌であり、対照群で10/66例(15.2%)、0.25%群で8/47例(17.0%)、1.0%群で7/46例(15.2%)および4.0%群で6/46例(13.0%)であり、各群間に有意差はみられなかった。その他の臓器組織にも低頻度ながら腫瘍が散見されたが、対照群と投与群との間に差は認められなかった。

非腫瘍性の病変として、特に変化の認められた皮膚、脾臓およびリンパ節の18ヵ月目の所見について Table 3 に要約した。皮膚では、壊死が0.25%、1.0%、および4.0%群にみられ、1.0%および4.0%群で有意の増加を示した。さらに、4.0%群で痂皮形成、線維化、細胞浸潤、表皮の肥厚および出血などに有意の増加がみられた。脾臓のアミロイド変性は対照群および0.25%群ではみられなかったが、1.0%群で1/46例(2.2%)、4.0%群では8/46例(17.4%)と有意の増加を示した。髄外造血は対照群の7/66例(10.6%)に対し、4.0%群で15/46例(32.6%)と有意の増加を示した。リンパ節の形質細胞増生およびリンパ球増生はいずれも0.25%、1.0%および4.0%群で有意の増加を示した。

Table 3. Summary of histological findings in female mice painted with BCA for 18 months (Non-neoplastic lesions)

Dose (%)	0	0.25	1.0	4.0
No. of animals examined	66	47	46	46
Skin/Subcutaneous				
necrosis		1	8 **	16 **
scab.	1	5	4	17 **
fibrosis		2	1	8 **
cell infiltration	3	7	7	13 **
epidermis thickening	1	5	1	11 **
hemorrhage			1	
Spleen				
granulation		1		
congestion and/or sinusoid dilatation		1	3	2
amyloid degeneration			1	8 **
hemosiderine deposition		2	1	
plasma cell hyperplasia			1	
extramedullary hemato-poiesis	7	8	10	15 **
lymphocyte increase		1	3	
neutrophil infiltration			1	
fibrosis	1			
capsular thickening	1			
follicular enlargement	12	4 **	4 **	3 **
Lymph node				
plasma cell increase		7 **	9 **	9 **
sinusoid dilatation		2	1	1
lymphocyte increase		4	7 **	5 **
follicular enlargement	5			
congestion	1	2	1	
extramedullary hemato-poiesis			3	1
macrophage and mast cell hyperplasia				1

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

その他の主な非腫瘍性病変としては、4.0% 群で、肝臓の髓外造血の増加および細胞浸潤の減少、腎臓の細胞浸潤の減少等が認められた。

サテライト群の12カ月目屠殺例で、肺の腺腫が、対照群2/5例、0.25% および1.0% 群で各1/5 例にみられたが、4.0% 群では認めなかった。非腫瘍性病変として、1.0% および4.0% 群に、皮膚の壊死、線維化、肥厚、リンパ節での形質細胞増生が認められた。

考 察

0.25%, 1.0% および4.0% の BCA をマウス皮膚に週2回、79週間塗布したところ、高用量群(4.0%)の投与部位に、壊死、痂皮形成、線維化、細胞浸潤および表皮の肥厚などの病変が有意に増加した。さらに、リンパ節の腫大、脾臓の髓外造血およびアミロイド変性の増加がみられた。これらの変化は血液学的検査で貧血所見がなく、白血球数が減少していたことなどを考慮すると、BCA の刺激作用による皮膚病変に伴う非特異的な反応性病変と考えられた。Barry(1972)らは¹³⁾、類縁物質 シンナムアルデヒドの各濃度(5.0%, 1.0%, 0.1%)を雌の50日齢のマウス皮膚に3日間塗布し、発癌性のある場合に活性が抑制される皮脂腺の non-specific esterase 活性を検討した結果、活性が抑制されなかったことからシンナムアルデヒドの発癌性に対し否定的な予測をしている。今回の試験において、投与部位の皮膚腫瘍発生は、有意差はなかったものの、皮膚腫瘍全体としては4.0% 群でやや高い傾向がみられた。しかし、塗布部位との関連がみられなかったことから、自然発生と考えられた。本試験において肺腫瘍の発生が投与群で抑制された。Stoner(1973)らは¹⁴⁾、肺腫瘍好発系の雌 A/He マウスに、シンナムアルデヒドを16回(総量4.0または8.0g/kg)腹腔内に投与し、肺腫瘍発生の促進はなかったと報告している。また、我々は、BCA と類似作用をもつ防菌・防黴剤パラクロメタキシレノールを18カ月間 Slc : ddY マウスの背部皮膚に塗布(1% および10%)し、10%群で肺腺腫の減少が観察されたことを先に報告した¹⁵⁾。本試験における結果はこれらの報告と一致する。これら肺腫瘍の減少は、BCA のもつ抗菌作用が何らかの形で関与し影響を与えた可能性があると考えられた。その他の腫瘍発生として、白血病、乳腺腫瘍および前胃乳頭腫などがみられたが、いずれも有意差はみられず、自然発生と考えられた。

臓器重量において、4.0% 群で心臓の体重比重量の増加を認めたが、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。

血清生化学的検査値においては、NEFA の減少が6カ月目の1.0%, 4.0%群で、12ヶ月目の全投与群で認められた。さらに、PL の減少は0.25%群の6カ月目に、T-GLY の減少が1.0% 群の12カ月目にみられた。このような脂質の低下は体重減少と関係のある現象と考えられた。諸臓器に低頻度ながら散見されたその他の腫瘍性ならびに非腫瘍性病変は、いずれも加齢に伴う変化であり、薬物による影響とは考えられなかった。

今回の長期毒性試験の結果、BCA 塗布による明らかな発癌性は認められなかったが、BCA が揮発性物質であること、刺激性が強いこと、ヒトで強いアレルギー性接触皮膚炎を引き起こしたこと、かなり強い変異原性物質であること、また、強い発癌性物質である Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate の変異原性や癌原性の本体となっている2-プロモアクロレインとよく似た化学構造を BCA が有していることなどを考え合わせると、他の投与経路(例えば経口)においては、発癌性の可能性がまだ残っている。さらに、最近さまざまな使われ方¹⁶⁾がなされてきており接触の機会が多くなるなどを考慮すれば、今後、本物質の安全性に関する情報に注意を払う必要がある。本物質の使用に当たっては、宮城島が¹⁷⁾0.3% 以上では皮膚刺激性があるので、0.1% 以下で用いる方が安全であると報告している。今回の試験においても、最低用量である0.25%群でも皮膚への障害がみられており、できる限り低濃度で使用する必要があると考えられる。

謝 辞

病理組織学的検索にあたり、御助言頂いた当所病理部前川昭彦室長に感謝致します。

文 献

- 1) 高瀬吉雄ら：厚生省(生活化学安全対策室)報告, 1986
- 2) 河合修三ら：皮膚, 29, 56 (1987)
- 3) 小嶋茂雄ら：日本薬学会第107年会講演要旨集, p.689, 京都, 1987
- 4) T. Neudecker et al.: *Mutation Research*, 110, 1 (1983)
- 5) 門馬純子ら：厚生省(生活化学安全対策室)報告, 1985
- 6) 西尾 晃ら：厚生省(生活化学安全対策室)報告, 1985
- 7) 畑村又好ら：統計的方法, p.282 (1980), 岩波書店
- 8) C. W. Dunnett: *J. Am. Statist. Assoc.*, 50, 1096 (1955)
- 9) C. W. Dunnett: *Biometrics*, 20, 482 (1964)
- 10) H. Sheffé: *Biometrics*, 40, 87 (1964)

- 11) W. H. Kraskal & W. A. Wallis: *J. Am. Statistic. Assoc.*, **47**, 583 (1952)
- 12) 佐久間 昭: 生物検定法, p.234, 東大出版会 (1975)
- 13) D. H. Barry *et al.*: *Nature*, **240**, 560 (1974)
- 14) G. D. Stoner *et al.*: *Cancer Res.*, **33**, 3069 (1973)
- 15) 門馬純子ら: 衛生誌報, **106**, 39 (1988)
- 16) 河合修三ら: 皮膚病診療, **9**, 821 (1987)
- 17) 宮城島明男: 日本衛生検査技師会雑誌, **12**, 150 (1963)

マウスによるトリス (ジクロロプロピル) ホスフェートの
急性毒性および亜急性毒性試験

鎌田栄一・内藤克司・中路幸男・小川幸男・鈴木幸子
金子豊蔵・高田幸一・黒川雄二・戸部満寿夫

Acute and Subacute Toxicity Studies of Tris (1,3-dichloro-2-propyl)
Phosphate on Mice

Eiichi KAMATA, Katsushi NAITO, Yukio NAKAJI, Yukio OGAWA,
Sachiko SUZUKI, Toyozo KANEKO, Koichi TAKADA,
Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE

Slc/ddY mice (10 male, 10 female per group) were given a single p.o. intubation of tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) in olive oil and were observed for 14 days. LD₅₀ values of male and female mice were 2.67 (2.52~2.83) and 2.25 (2.12~2.39) g/kg, respectively. The animals revealed ataxic gait, hyperactivity, and convulsion.

Slc/ddY mice (12 male, 12 female per group) were administered diet containing 1.33, 0.42, 0.13, 0.04, and 0.01% of TDCPP for 3 months. Male and female mice of the 1.33% group showed emaciation, rough hair, and tremor; and all animals died within one month. Hematological studies showed slight anemia in males of the 0.42% group and females of the 0.42% and 0.13% groups. They also exhibited a tendency to increase ALP and GPT levels. The animals of the 0.42%, 0.13% and 0.04% groups exhibited tendency to increase liver weights and kidney weights in both sexes. Histopathologically, very slight focal necrosis was recognized in the liver in only 2 females of the 0.42% group. The NOEL under this condition is 0.01% in the diet of tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (male: 13.2 mg/kg/day, female: 15.3 mg/kg/day).

(Received May 31, 1989)

はじめに

我が国では火災による事故対策としてカーテン、カーベットの防炎加工が、消防法や児童福祉法などにより義務づけられており、また、米国では可燃性織物法 (Flamable Fabrics Act) によって、特に乳幼児の寝具類に使用が義務づけられている¹⁾。カーテン、カーベットや寝具に使用されているポリエステル、ナイロンなどの可燃性繊維や木綿、レーヨンなどの易燃性繊維は、防炎加工剤をもちいて難燃化しているが、この防炎加工剤には、無機リン酸塩・ホウ酸塩・カルバメート塩などの一時的防炎剤と有機リン化合物・有機ハロゲン化合物などの耐久性防炎剤がある。代表的な化

合物としてトリス (1-アジリジニル) ホスフィンオキサイド (APO), トリス (2,3-ジプロモプロピル) ホスフェート (TDBPP) があげられる。しかし、APO は経口急性および経皮急性毒性が強く、造血機能障害、生殖機能障害なども認められ²⁾、また、TDBPP はマウスの肝臓・腎臓、ラットの腎臓に発癌性³⁾がある事から、「家庭用品規制法」の対象品目となり、これらの化合物を使用した加工製品の製造、輸入が規制されている⁴⁾。そのため、その代替品としてトリス (1,3-ジクロロ-2-プロピル) ホスフェート (TDCPP) をはじめとする種々の有機リン化合物が使用されてきた。この TDCPP には、サルモネラ菌に対し非代謝活性化下で変異原性が見られ、さらに、S9 Mix 存在下でより

強い変異原性を示す^{5,6)}。また、その分解産物にも変異原性があり⁶⁾、さらに、CHL 細胞に S9 Mix 存在下で染色体異常をおこすことから⁷⁾、その発癌性が疑われている。今回、我々は慢性毒性・発癌性試験に先立ち、マウスの経口急性毒性試験および3カ月間の経口亜急性毒性試験を行ったので報告する。

実験材料および方法

1. 経口急性毒性試験

実験に用いた TDCPP は、純度94%の Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (東京化成(株)製)で、その性状は、無色粘稠性の液体、水に不溶、メチルアルコール、クロロホルム、ベンゼン等に可溶である。

生後4週齢の Slc: ddY マウス (日本エスエルシー)を購入し、室温 24±1°C、湿度 55±5% の条件に設定された SPF 動物室内で、1週間順化飼育後、層別無作為により各群雌雄それぞれ10匹ずつに群分けした。投与開始時の体重は、雄 19~21 g、雌 18~21 g であった。検体投与前16時間から投与後時6時間目まで、床敷の替わりに金網を入れたポリカーボネイト製ケージ内に動物を収容し、その間除餌し、飲水は自由に与えた。その後の観察は、床敷を入れたポリカーボネイト製ケージ内に収容し、観察を行った。

TDCPP を 5W/V% の割合でオリーブ油液に混和し、超音波発生器を用いて十分に乳化し投与液とした。投与量は、公比 1.08 で雄では 2.21 g/kg より 3.50 g/kg まで、雌では 1.89 g/kg より 2.78 g/kg まで容量をかえて、金属製胃管を用いて1回強制経口投与を行った。対照群には、最高投与量と同じ容量のオリーブ

油を投与した。

症状および死亡は、検体投与後14日目まで観察し、死亡動物ならびに観察終了時の生存動物すべてについて剖検した。LD₅₀ 値は、14日間の死亡動物数から Litchfield-Wilcoxon 法で算出した。

2. 経口亜急性毒性試験

急性毒性試験と同じ系統および週齢のマウスを使用し、層別無作為により各群雌雄それぞれ12匹ずつに群分けした。床敷を入れたポリカーボネイト製ケージに3匹ずつ収容し、急性毒性試験と同一条件の動物室で飼育した。実験開始時の体重は、雄 25~29 g、雌 21~23 g であった。

300 ml のエチルアルコールに溶解した TDCPP を、20 kg の市販粉末飼料 (船橋農場製、MM-1) 中に混和し、成型した後、70°C、8時間乾燥してペレットを作製した。飼料中の濃度は、急性毒性試験で死亡が観察されない用量 (雄 2.21 g/kg、雌 1.89 g/kg) から本実験の1日当りの最高摂取量を 2.00 g/kg とし、1日当りの平均摂取量から 1.33 w/w% とした。以下、公比 3.2 で、0.42、0.13、0.04、0.01 w/w% 濃度の飼料を作製した。このペレットを動物に3カ月間自由に摂取させた。また、飲水は水道水を自由に摂取させた。

投与期間中、一般状態および死亡の有無を毎日観察し、体重、摂餌量は、週1回測定した。

投与開始後1カ月目および3カ月目に各群雌雄6匹について、眼窩静脈叢より無麻酔で採血し、コールターカウンター・SP 型 (Coulter Electronics 社製) を用い、Table 1. に示す項目について血液学的検査を

Table 1. Hematological and biochemical examinations

	Items of measurement	abbreviation	Kit
Hematology	[Coulter Counter Model SP]		
	Red blood cell	RBC	
	Hemoglobin	HGB	
	Hematocrit	HCT	
	Mean corpuscular volume	MCV	
	Mean corpuscular hemoglobin	MCV	
	Mean corpuscular hemoglobin concentration	MCHC	
	White blood cell	WBC	
Biochemistry	[Gemsac Auto Analyzer TypeIV]		
	Total protein	T-PRO	WAKO
	Albumin-globulin ratio	A/G	calculation
	Blood urea nitrogen	BUN	SHINOTEST
	Glucose	GLU	BMY
	Total cholesterol	T-CHO	BMY
	Alkaline phosphatase	ALP	WAKO
	Aspartate aminotransferase	GOT	EIKEN
	Alanine aminotransferase	GPT	EIKEN
	[Electrophoresis]		
	Albumin	ALB	

行い、断頭採血により得られた血清について、ジェムサック・IV型オートアナライザー (Electro Nucleonics 社製) およびセルローズ・アセテート膜電気泳動装置 (German 社製, Sepraphore III) を用いて、Table 1. に示す項目について血清生化学的検査を行った。また、採血後、直ちに動物を剖検し、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣の湿重量を測定し、さらに下垂体、甲状腺、副腎、膵臓、胃、小腸、大腸、卵巣、子宮、腸間膜リンパ節を摘出し、これらの臓器を10%中性ホルマリン液で固定後、常法により HE 染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。ただし、1.33%群はカ1月未満で全例死亡した為、これらの検査は実施できなかった。各検査の測定値の統計処理は、Bartlett の方法により分散の一樣性の検定を行ない、分散が一樣の場合には、一元配置の分散分析を行った。分散分析で、群間に有意性が認められ、各群の動物数が一定ならば、Dunnnett 法、不定ならば、Scheffé 法によって対照群に対する各群の平均値の一对比較検定を行った。また、分散が一樣でない場合、Kruskal-Wallis の方法で順位検定を行い、群間に有意性が認められ、各群の動物数が一定の場合には Dunnnett 型、一定でない場合には Scheffé 型の平均値の一对比較検定を行った。

結 果

1. 経口急性毒性試験

1.1. 一般状態および動物の死亡

投与後30分ごろより検体投与群の雌雄全例に自発運動の抑制が見られ、さらに投与後3時間目より、雄の

全ての投与群および雌の 2.04 g/kg 以上の群に接触刺激による鳴声、間代性痙攣、反射亢進、歩行失調、振顫、閉眼が見られた。雌の最低用量群 (1.89 g/kg) でも、これらの症状が投与後6時間目より見られた。間代性痙攣は、最低用量群の雄で2/10例、雌で1/10例に見られ、投与量の増加に伴い、発現数は増加し、発現までの時間は短縮し、さらに、持続時間にも延長が見られた。なお、雄 3.00 g/kg 以上の群および雌 2.57 g/kg 以上の群では、全例に痙攣の発現が見られた。上記の症状は雄で48時間目、雌では24時間目までに消失したが、動物はその後、うずくまりの症状を呈した。死亡した動物は、上記症状の発現後、うずくまりのまま、雄で投与後9時間目から、雌で投与後24時間目から7日目まで見られた。なお、死亡を免れた動物は、雌雄とも低用量群で3日目、高用量群で7日目までにすべての症状は消失し回復した。

1.2. 死亡動物および14日間生存動物の剖検所見

死亡動物では、雌雄とも肝臓の褪色、腎皮質の褪色および髓質の充鬱血、副腎の充鬱血、胃粘膜の出血ならびに粘膜の剝離が見られた。生存動物では著変は見られなかった。

1.3. LD₅₀ 値

14日間の動物の死亡数およびその経過を、Table 2. に示す。LD₅₀ 値およびその信頼限界は、雄で 2.67 (2.52~2.83)g/kg、雌で 2.25 (2.12~2.39)g/kg であった。

2. 経口亜急性毒性試験

2.1. 一般状態および死亡

1.33%群の雌雄に、るいそう、粗毛、振顫が実験初

Table 2. Mortality of mice administered TDCPP

Sex	Dose (g/kg)	No. of Animals	Hours				Days							
			1	6	9	24	2	3	4	5	6	7	14	
Male	cont.	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
	2.21	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
	2.38	10	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	-	1
	2.57	10	0	0	0	0	1	1	1	2	5	5	-	5
	2.78	10	0	0	0	0	0	0	3	5	5	5	-	5
	3.00	10	0	0	0	2	2	2	2	2	6	9	-	9
	3.24	10	0	0	1	4	5	6	7	9	9	9	-	9
	3.50	10	0	0	0	5	9	9	9	9	9	10	-	10
Female	cont.	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
	1.89	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
	2.04	10	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	-	1
	2.21	10	0	0	0	0	0	3	3	3	4	4	-	4
	2.38	10	0	0	0	0	0	1	5	5	6	7	-	7
	2.57	10	0	0	0	0	0	1	5	7	8	9	-	9
	2.78	10	0	0	0	1	6	8	8	9	10	10	-	10

Male : LD₅₀ : 2.67(2.52 - 2.83) g/kg

Female : LD₅₀ : 2.25(2.12 - 2.39) g/kg

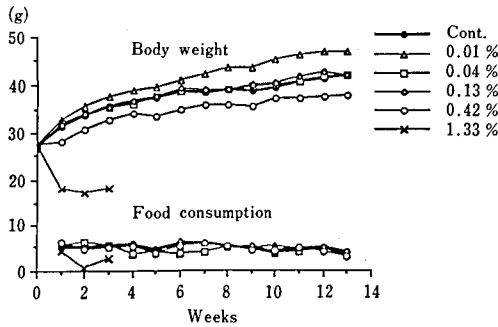


Fig. 1. Body Weight and Food Consumption of Male Mice Administered TDCPP

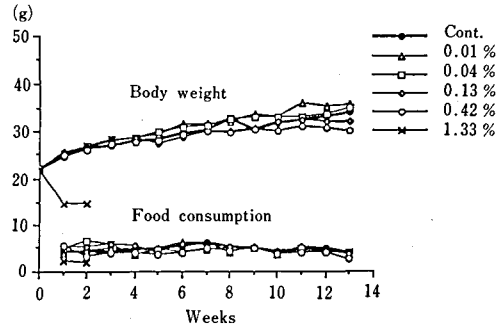


Fig. 2. Body Weight and Food Consumption of Female Mice Administered TDCPP

期から見られ、雄で投与開始5日目、雌で7日目より死亡が見られ、1カ月目までに全例が死亡した。剖検では、雌雄とも腎臓の褪色、副腎の充鬱血、胃粘膜の出血斑が見られ、さらに雄で肝臓の肥大、精巣の萎縮が認められた。その他の群では、一般状態に変化はなく、途中死亡も見られなかった。

2.2. 体重および摂餌量

投与開始直後より1.33%群の雌雄に著しい体重増加抑制が、また、雄0.42%群では軽度の体重増加抑制が見られた。摂餌量では、1.33%群雌雄に低値が見られたが、その他の群では、対照群との間に差は認められなかった (Fig. 1, 2)。

2.3. TDCPP 平均摂取量

毎週の摂餌量と平均体重から算出した TDCPP の平均摂取量を、Table 3. に示す。各群ともほぼ設定摂取量に近い値を示した。

2.4. 血液学的検査

雄では、0.42% 群で RBC, HGB と HCT の減少傾向が1カ月目および3カ月目に見られ、その変化に伴った MCV の減少と MCHC の増加が3カ月目に見られた。雌では、0.13%群で HGB の減少が1カ月目に見られ、さらに、0.42%群では RBC, HGB および HCT の減少が1カ月目および3カ月目に見られた (Table 4)。

2.5. 血清生化学的検査

雄では、0.13%以上の群で ALP の増加傾向が1および3カ月目に見られ、また、0.01%群と0.42%群で ALB の増加と投与全群で A/G の増加が3カ月目に見られ、0.13%群で BUN および GPT の増加が1カ月目に見られた。雌では、0.42%群で ALP の増加が1カ月目に、増加傾向が3カ月目に見られた (Table 5)。

2.6. 病理学的検査

a) 臓器重量

雄では、肝臓の実重量で0.13%以上の群に増加および増加傾向が1および3カ月目に見られ、体重比では、0.04%以上の群で増加および増加傾向が1および3カ月目に見られた。腎臓の実重量・体重比ともに、0.13%以上の群で増加および増加傾向が1および3カ月目に見られた (Table 6)。

雌では、肝臓および腎臓重量に雄と同様に、増加および増加傾向が0.04%以上の群に見られた。また、心臓の実重量に、0.13%以上の群で増加が1カ月目に見られた (Table 7)。

b) 病理組織学的検査

雄では、1カ月目の0.01%群の2例に心臓の肉芽形成が、また、3カ月目では、各群の2~3例に腎尿管内の上皮性円柱が極く軽度で認められた。その他、下垂体、肝臓、胃に極く軽度の変化が散発的に認められた。

Table 3. Daily intake of TDCPP

Sex	Concentration in the Diet (%)					
	0	0.01	0.04	0.13	0.42	1.33
Male	0	13.2	47.3	171.0	576.0	1792.3
Female	0	15.3	61.5	213.6	598.0	1973.1

(mg/kg/day)

Table 4. Hematological findings of mice administered TDCPP

Tests	Units	Months	Dose (%)				
			Cont.	0.01	0.04	0.13	0.42
No of animals		1	6	6	6	6	6
		3	5	6	6	5	6
Male							
RBC	$\times 10^6/\text{mm}^3$	1	9.02 \pm 1.47	8.68 \pm 1.20	8.68 \pm 1.73	8.55 \pm 0.26	8.51 \pm 0.89
		3	8.75 \pm 1.27	8.87 \pm 1.25	7.79 \pm 1.28	8.38 \pm 0.57	7.37 \pm 0.35
HGB	g/dl	1	15.9 \pm 2.1	14.9 \pm 2.7	15.2 \pm 2.8	15.0 \pm 0.5	14.8 \pm 1.5
		3	14.9 \pm 1.7	14.9 \pm 2.1	13.4 \pm 2.1	14.4 \pm 0.8	13.0 \pm 0.7*
HCT	%	1	42.5 \pm 6.3	37.4 \pm 10.3	39.9 \pm 7.1	39.3 \pm 1.4	38.1 \pm 4.5
		3	40.0 \pm 5.6	39.6 \pm 5.8	35.2 \pm 5.4	37.8 \pm 3.2	31.8 \pm 1.4
MCV	fl	1	47.3 \pm 1.9	41.2 \pm 10.7	46.2 \pm 1.6	46.1 \pm 1.5	44.7 \pm 1.4
		3	45.7 \pm 1.8	44.5 \pm 0.8	45.3 \pm 1.0	45.1 \pm 1.0	43.1 \pm 0.7*
MCH	pg	1	18.1 \pm 1.1	22.1 \pm 11.3	17.7 \pm 0.4	17.5 \pm 0.6	17.5 \pm 0.4
		3	17.1 \pm 1.1	16.8 \pm 0.2	17.3 \pm 0.3	17.2 \pm 0.3	17.6 \pm 0.4
MCHC	%	1	37.7 \pm 0.8	35.0 \pm 8.7	38.4 \pm 0.6	38.1 \pm 0.7	39.1 \pm 1.4
		3	37.4 \pm 2.3	37.8 \pm 0.8	38.2 \pm 1.1	38.2 \pm 1.3	40.8 \pm 1.0*
WBC	$\times 10^3/\text{mm}^3$	1	8.9 \pm 3.3	8.6 \pm 1.9	7.1 \pm 1.2	5.8 \pm 0.8	9.4 \pm 4.4
		3	6.6 \pm 4.4	6.1 \pm 2.0	5.6 \pm 0.6	7.5 \pm 2.3	7.5 \pm 1.5
Female							
RBC	$\times 10^6/\text{mm}^3$	1	8.73 \pm 0.37	8.43 \pm 0.44	8.85 \pm 0.38	8.42 \pm 0.14	7.70 \pm 0.77*
		3	8.59 \pm 0.23	8.41 \pm 0.41	8.58 \pm 0.28	8.25 \pm 0.13	7.71 \pm 0.39**
HGB	g/dl	1	15.9 \pm 0.6	15.3 \pm 0.6	15.7 \pm 0.6	14.8 \pm 0.3**	14.3 \pm 0.3**
		3	15.0 \pm 0.4	14.9 \pm 0.7	15.1 \pm 0.5	14.4 \pm 0.3	13.4 \pm 0.6**
HCT	%	1	41.0 \pm 1.5	39.4 \pm 2.1	41.2 \pm 1.9	38.6 \pm 0.6	35.5 \pm 3.7**
		3	38.8 \pm 1.1	38.7 \pm 2.0	38.4 \pm 1.2	37.5 \pm 1.3	34.4 \pm 1.3**
MCV	fl	1	46.9 \pm 0.4	46.8 \pm 1.0	46.6 \pm 0.7	46.0 \pm 0.4	46.1 \pm 0.9
		3	45.1 \pm 0.7	46.0 \pm 1.7	44.8 \pm 1.0	45.4 \pm 1.4	44.6 \pm 0.8
MCH	pg	1	18.3 \pm 0.6	18.3 \pm 0.8	17.8 \pm 0.5	17.6 \pm 0.2	18.8 \pm 1.8
		3	17.5 \pm 0.1	17.7 \pm 0.4	17.6 \pm 0.3	17.5 \pm 0.2	17.5 \pm 0.4
MCHC	%	1	39.1 \pm 1.2	39.2 \pm 1.5	38.2 \pm 0.6	38.3 \pm 0.5	40.9 \pm 4.0
		3	38.7 \pm 0.6	38.6 \pm 1.0	39.3 \pm 1.2	38.6 \pm 0.9	39.1 \pm 0.6
WBC	$\times 10^3/\text{mm}^3$	1	6.1 \pm 2.0	5.4 \pm 1.0	4.7 \pm 1.0	4.8 \pm 0.7	7.2 \pm 1.8
		3	5.5 \pm 1.4	4.6 \pm 0.8	4.6 \pm 1.2	4.7 \pm 1.3	4.2 \pm 0.9

Results are given as mean \pm S.D.

* : Significant at 5% level as compared with cont.

** : Significant at 1% level as compared with cont.

雌では、0.42%群の2例の肝臓に極く軽度の巣状壊死が1カ月目に認められた。その他、腎臓、副腎に極く軽度の変化が散発的に認められた。

考察および総括

TDCPPの急性毒性試験で、間代性痙攣が見られた。一方、TDCPPの類似化合物であるTris(2-chloroethyl) phosphate(TCEP)をラット腹腔内に投与すると、激しいテンカン様の痙攣が見られるが、ラット脳内のコリンエステラーゼ阻害作用は弱い⁸⁾。さらに、TCEPのラット経口LD₅₀値200~400 mg/

kg⁹⁾に対し、TDCPPのラット経口LD₅₀値は、2830 mg/kg⁹⁾であることから、TDCPPは他の有機リン化合物と比較し、急性毒性は弱いと考えられる。また、Armywormの幼虫に対する抗コリンエステラーゼ作用も弱いことが報告されており⁹⁾、TDCPP投与時に見られた痙攣は、その抗コリンエステラーゼ作用だけでなく、他の作用も加わって発現したと考えられる。

亜急性毒性試験における血液学的検査では、雄0.42%群、雌0.13%以上の群でRBC、HGBおよびHCTに減少および減少傾向が見られ、マウスへの極く弱い貧血作用が考えられる。

Table 5. Biochemical findings of mice administered TDCPP

Test	Units	Months	Dose (%)				
			Cont.	0.01	0.04	0.13	0.42
No. of animals		1 3	6 6	6 6	6 6	6 6	6 5
Male							
T-PRO	g/dl	1 3	6.1 ± 0.1 5.8 ± 0.3	6.2 ± 0.3 6.0 ± 0.3	6.1 ± 0.2 5.9 ± 0.3	6.2 ± 0.2 5.8 ± 0.2	6.2 ± 0.3 5.7 ± 0.1
ALB	g/dl	1 3	3.5 ± 0.1 2.9 ± 0.1	3.6 ± 0.5 3.3 ± 0.2*	3.5 ± 0.2 3.2 ± 0.2	3.6 ± 0.1 3.2 ± 0.2	3.8 ± 0.3 3.3 ± 0.1*
A/G		1 3	1.37 ± 0.07 1.02 ± 0.09	1.39 ± 0.29 1.20 ± 0.10*	1.42 ± 0.18 1.21 ± 0.04*	1.41 ± 0.07 1.22 ± 0.13*	1.60 ± 0.19 1.40 ± 0.08**
BUN	mg/dl	1 3	24 ± 4 33 ± 6	27 ± 3 33 ± 5	29 ± 4 30 ± 3	32 ± 4** 28 ± 3	28 ± 4 27 ± 5
GLU	mg/dl	1 3	168 ± 41 187 ± 25	160 ± 22 219 ± 88	156 ± 17 180 ± 17	165 ± 17 175 ± 16	200 ± 24 202 ± 15
T-CHO	mg/dl	1 3	143 ± 18 106 ± 13	144 ± 15 125 ± 20	123 ± 9 118 ± 16	127 ± 26 112 ± 23	131 ± 12 90 ± 26
ALP	mu/ml	1 3	264 ± 36 131 ± 29	242 ± 38 160 ± 44	234 ± 42 141 ± 49	306 ± 130 206 ± 89	524 ± 334 329 ± 160
GOT	mu/ml	1 3	141 ± 22 143 ± 33	117 ± 31 117 ± 27	141 ± 22 153 ± 36	166 ± 49 155 ± 43	145 ± 23 152 ± 39
GPT	mu/ml	1 3	28 ± 5 29 ± 5	27 ± 6 28 ± 6	27 ± 4 29 ± 6	57 ± 40* 30 ± 8	37 ± 4 35 ± 4
Female							
T-PRO	g/dl	1 3	5.8 ± 0.1 5.7 ± 0.3	5.8 ± 0.2 5.7 ± 0.2	5.7 ± 0.2 5.7 ± 0.4	5.7 ± 0.2 5.8 ± 0.1	5.9 ± 0.3 5.8 ± 0.3
ALB	g/dl	1 3	3.7 ± 0.3 3.5 ± 0.3	3.7 ± 0.2 3.4 ± 0.2	3.5 ± 0.1 3.4 ± 0.3	3.6 ± 0.1 3.4 ± 0.2	3.7 ± 0.3 3.4 ± 0.1
A/G		1 3	1.85 ± 0.29 1.58 ± 0.25	1.79 ± 0.29 1.51 ± 0.13	1.56 ± 0.24 1.47 ± 0.16	1.69 ± 0.15 1.47 ± 0.16	1.77 ± 0.31 1.43 ± 0.17
BUN	mg/dl	1 3	22 ± 4 29 ± 5	21 ± 2 26 ± 4	19 ± 4 25 ± 5	24 ± 5 23 ± 2	25 ± 3 22 ± 2
GLU	mg/dl	1 3	153 ± 15 158 ± 21	139 ± 11 169 ± 14	141 ± 17 157 ± 18	147 ± 17 147 ± 16	181 ± 38 155 ± 7
T-CHO	mg/dl	1 3	94 ± 7 75 ± 13	96 ± 16 83 ± 29	98 ± 13 85 ± 23	115 ± 14 86 ± 28	99 ± 25 96 ± 29
ALP	mu/ml	1 3	261 ± 47 186 ± 27	280 ± 26 186 ± 65	262 ± 40 165 ± 39	245 ± 29 156 ± 48	336 ± 64* 232 ± 72
GOT	mu/ml	1 3	147 ± 24 155 ± 21	150 ± 24 158 ± 21	158 ± 16 174 ± 25	150 ± 22 162 ± 17	145 ± 32 162 ± 27
GPT	mu/ml	1 3	26 ± 2 26 ± 4	27 ± 4 27 ± 3	27 ± 3 29 ± 4	27 ± 4 29 ± 4	31 ± 4 29 ± 3

Results are given as mean ± S.D.

* : Significant at 5% level as compared with cont.

** : Significant at 1% level as compared with cont.

血清生化学的検査で、3カ月目の雄0.01%以上の群でALBの増加に伴うA/G比の増加が見られたが、この変化は、用量に伴った変化でなく、さらに対照群のALBの値がやや低い値を示したことから、TDCPP投与による変化ではないと考える。SDラットにおける¹⁴C標識TDCPPの臓器分布試験で、静脈内投与

の場合、その比放射能が肺で最も高く、次いで肝臓・腎臓に認められ、また、皮膚塗布でも、肝臓・肺・腎臓に高い比放射能が報告されている¹⁰⁾。また、¹⁴C標識TDCPPを用いたMinegishiら¹¹⁾の実験でも、同様に肝臓・腎臓に高い比放射能が認められ、さらに、投与168時間後でも、肝臓にその比放射能が見られて

Table 6. Organ weight of male mice administered TDCPP

Test.	Units	Months	Dose (%)				
			Cont.	0.01	0.04	0.13	0.42
No. of animals		1 3	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6
B.W.	g	1 3	36.5 ± 1.9 45.5 ± 5.2	38.5 ± 2.3 48.5 ± 9.0	34.7 ± 2.6 42.1 ± 3.9	34.6 ± 2.9 42.3 ± 6.7	34.2 ± 3.0 37.4 ± 2.5
Absolute Organ Weight							
Brain	g	1 3	0.44 ± 0.02 0.46 ± 0.02	0.44 ± 0.04 0.47 ± 0.02	0.44 ± 0.04 0.47 ± 0.03	0.45 ± 0.02 0.48 ± 0.01	0.45 ± 0.01 0.46 ± 0.02
Heart	g	1 3	0.16 ± 0.01 0.19 ± 0.02	0.16 ± 0.01 0.20 ± 0.03	0.16 ± 0.02 0.20 ± 0.03	0.16 ± 0.02 0.20 ± 0.02	0.15 ± 0.01 0.19 ± 0.02
Lung	g	1 3	0.26 ± 0.04 0.24 ± 0.05	0.21 ± 0.02 0.26 ± 0.02	0.25 ± 0.05 0.29 ± 0.08	0.28 ± 0.07 0.33 ± 0.05	0.26 ± 0.04 0.26 ± 0.05
Liver	g	1 3	1.56 ± 0.15 1.85 ± 0.27	1.73 ± 0.15 2.07 ± 0.47	1.61 ± 0.15 2.00 ± 0.22	1.82 ± 0.26 2.25 ± 0.34	2.27 ± 0.30** 2.29 ± 0.20
Kidney	g	1 3	0.53 ± 0.04 0.63 ± 0.11	0.54 ± 0.06 0.59 ± 0.09	0.56 ± 0.05 0.66 ± 0.07	0.65 ± 0.10 0.76 ± 0.11	0.58 ± 0.07 0.72 ± 0.14
Spleen	g	1 3	0.10 ± 0.01 0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.06 0.10 ± 0.05	0.10 ± 0.03 0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01 0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.03 0.12 ± 0.01
Testes	g	1 3	0.22 ± 0.03 0.24 ± 0.04	0.23 ± 0.01 0.27 ± 0.02	0.24 ± 0.03 0.26 ± 0.02	0.22 ± 0.02 0.26 ± 0.04	0.23 ± 0.05 0.24 ± 0.03
Relative Organ Weight							
Brain	g%	1 3	1.22 ± 0.10 1.02 ± 0.10	1.16 ± 0.09 0.94 ± 0.16	1.29 ± 0.18 1.12 ± 0.13	1.31 ± 0.11 1.16 ± 0.18	1.31 ± 0.11 1.24 ± 0.08
Heart	g%	1 3	0.44 ± 0.05 0.42 ± 0.04	0.43 ± 0.05 0.41 ± 0.03	0.47 ± 0.05 0.49 ± 0.09	0.46 ± 0.05 0.49 ± 0.05	0.44 ± 0.03 0.52 ± 0.07
Lung	g%	1 3	0.71 ± 0.10 0.54 ± 0.12	0.55 ± 0.04 0.56 ± 0.10	0.71 ± 0.16 0.70 ± 0.25	0.81 ± 0.18 0.81 ± 0.17	0.76 ± 0.12 0.70 ± 0.12
Liver	g%	1 3	4.28 ± 0.27 4.04 ± 0.24	4.49 ± 0.24 4.26 ± 0.39	4.63 ± 0.21 4.78 ± 0.76	5.23 ± 0.50** 5.33 ± 0.28**	6.62 ± 0.45** 6.11 ± 0.27**
Kidney	g%	1 3	1.46 ± 0.13 1.38 ± 0.16	1.41 ± 0.19 1.23 ± 0.16	1.61 ± 0.08 1.59 ± 0.30	1.86 ± 0.16** 1.81 ± 0.16	1.71 ± 0.12* 1.92 ± 0.31*
Spleen	g%	1 3	0.27 ± 0.02 0.26 ± 0.04	0.34 ± 0.17 0.20 ± 0.10	0.28 ± 0.06 0.24 ± 0.04	0.26 ± 0.04 0.27 ± 0.06	0.31 ± 0.06 0.32 ± 0.04
Testes	g%	1 3	0.60 ± 0.07 0.53 ± 0.06	0.59 ± 0.03 0.57 ± 0.10	0.69 ± 0.11 0.62 ± 0.11	0.65 ± 0.04 0.62 ± 0.14	0.67 ± 0.15 0.64 ± 0.03

Results are given as mean ± S.D.

* : Significant at 5% level as compared with cont.

** : Significant at 1% level as compared with cont.

いることから、肝臓・腎臓・肺への TDCPP の影響が示唆される。しかし、TDCPP を 50 mg/kg 腹腔内投与した Wistar ラットの実験では、血漿 BUN・GOT および肝臓組織に変化は見られていない¹²⁾。一方、マウスを用いた本試験では、雌の 0.42% 群の肝臓に極く軽度の巣状壊死が認められ、0.13% 以上の雌雄の群で ALP と GPT の増加傾向、さらに、肝臓重量の増加傾向が 0.04% 以上の群で見られたことから、マウス肝臓への影響が示唆された。

本実験条件下でのマウスへの確実中毒量は 0.42% と推定され、慢性毒性・発癌実験での最高投与量は、4000 ppm が妥当と考えられる。また、無影響量は、0.01% (雄: 13.2 mg/kg/day, 雌: 15.3 mg/kg/day) と推定される。

なお、4000 ppm を最高用量とするマウスの長期投与試験で、肺と肝臓の腫瘍発生の増加が認められている¹³⁾。

Table 7. Organ weight of female mice administered TDCPP

Tests	Units	Months	Dose (%)				
			Cont.	0.01	0.04	0.13	0.42
No. of animals			6	6	6	6	6
B.W.	g	1	27.4 ± 2.4	28.4 ± 0.8	28.8 ± 1.6	29.6 ± 2.1	27.6 ± 1.1
		3	32.5 ± 4.6	35.3 ± 6.0	33.2 ± 3.8	31.8 ± 4.3	30.2 ± 1.4
Absolute Organ Weight							
Brain	g	1	0.44 ± 0.01	0.46 ± 0.01	0.46 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.45 ± 0.02
		3	0.49 ± 0.02	0.50 ± 0.01	0.49 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.48 ± 0.02
Heart	g	1	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.01**	0.14 ± 0.02*
		3	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.02
Lung	g	1	0.23 ± 0.06	0.23 ± 0.04	0.23 ± 0.05	0.23 ± 0.02	0.23 ± 0.03
		3	0.23 ± 0.07	0.24 ± 0.04	0.29 ± 0.04	0.22 ± 0.03	0.23 ± 0.04
Liver	g	1	1.14 ± 0.17	1.20 ± 0.08	1.27 ± 0.10	1.53 ± 0.22**	1.71 ± 0.14**
		3	1.33 ± 0.26	1.55 ± 0.28	1.59 ± 0.29	1.69 ± 0.33	1.87 ± 0.20**
Kidney	g	1	0.33 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.42 ± 0.04**	0.44 ± 0.03**	0.41 ± 0.02**
		3	0.40 ± 0.03	0.46 ± 0.04	0.46 ± 0.05	0.52 ± 0.05**	0.52 ± 0.04**
Spleen	g	1	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01
		3	0.11 ± 0.04	0.10 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.02
Relative Organ Weight							
Brain	g%	1	1.63 ± 0.17	1.62 ± 0.04	1.60 ± 0.06	1.58 ± 0.11	1.63 ± 0.11
		3	1.52 ± 0.21	1.45 ± 0.24	1.49 ± 0.15	1.55 ± 0.24	1.60 ± 0.05
Heart	g%	1	0.44 ± 0.05	0.47 ± 0.04	0.48 ± 0.04	0.52 ± 0.03	0.52 ± 0.09
		3	0.45 ± 0.05	0.48 ± 0.06	0.48 ± 0.05	0.50 ± 0.07	0.51 ± 0.06
Lung	g%	1	0.85 ± 0.21	0.79 ± 0.13	0.81 ± 0.19	0.78 ± 0.08	0.84 ± 0.11
		3	0.72 ± 0.16	0.68 ± 0.14	0.87 ± 0.12	0.71 ± 0.05	0.75 ± 0.13
Liver	g%	1	4.16 ± 0.35	4.24 ± 0.23	4.41 ± 0.34	5.17 ± 0.46**	6.19 ± 0.35**
		3	4.10 ± 0.40	4.40 ± 0.34	4.77 ± 0.43*	5.27 ± 0.43**	6.18 ± 0.47**
Kidney	g%	1	1.21 ± 0.09	1.26 ± 0.09	1.47 ± 0.14**	1.48 ± 0.08**	1.49 ± 0.09**
		3	1.23 ± 0.16	1.31 ± 0.14	1.40 ± 0.17	1.65 ± 0.08**	1.72 ± 0.09**
Spleen	g%	1	0.37 ± 0.05	0.34 ± 0.04	0.38 ± 0.05	0.37 ± 0.03	0.36 ± 0.05
		3	0.33 ± 0.08	0.30 ± 0.06	0.34 ± 0.08	0.38 ± 0.09	0.38 ± 0.06

Results are given as mean ± S.D.

* : Significant at 5% level as compared with cont.

** : Significant at 1% level as compared with cont.

文 献

- 1) 大場啄磨：環境汚染物質と毒性 有機物質篇 化学の領域増刊 129号 p.101 (1980) 南江堂
- 2) 厚生省生活衛生局生活化学安全対策室編著：逐条解説 有害物質含有家庭用品規制法 (1986) ぎょうせい
- 3) NCI: Carcinogenesis Technical Report Series, No. 76 (1978)
- 4) 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律 施工令 昭和四十九年九月二十六日 政令第三百三十四号
- 5) M. D. Gold, et al.: *Science*, 200, 785 (1978)
- 6) A. Nakamura, et al.: *Mutation Res.*, 66, 373 (1979)
- 7) A. Matsuoka et al.: *Mutation Res.*, 66, 277 (1979)
- 8) D. W. Fassett et al.: *Industrial Hygiene and Toxicology*, Vol. II, p.1923 (1963), Interscience Publishers, New York
- 9) A. T. Eldefrawi et al.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 17, 720 (1977)
- 10) A. A. Nomeir et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 57, 401 (1981)
- 11) K. Minegishi et al.: *Eisei Kagaku*, 34, 102 (1988)
- 12) E. J. Soderlund et al.: *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 56, 20 (1985)
- 13) 鎌田栄一：未発表

2-Mercaptobenzothiazole のマウスにおける毒性について

小川幸男・鎌田栄一・鈴木幸子・小林和雄*・内藤克司
金子豊蔵・黒川雄二・戸部満寿夫

Toxicity of 2-Mercaptobenzothiazole in Mice

Yukio OGAWA, Eiichi KAMATA, Sachiko SUZUKI, Kazuo KOBAYASHI*,
Katsushi NAITO, Toyozo KANEKO, Yuji KUROKAWA and Masuo TOBE

2-mercaptobenzothiazole (MBT) has been used mainly as a vulcanization accelerator in rubber manufacture and an intermediate in the production of other accelerators. Acute and chronic toxicity studies were performed to evaluate its potential to induce toxicological effect using Slc: ddY mice.

The oral LD₅₀ values of MBT (mg/kg) were as follows: (1) suspension in 5% gum arabic solution: 1558 for males and 1490 for females. (2) suspension in olive oil: 3148 for males. Convulsion was the major change in general conditions observed. The acute toxicity of MBT in males was stronger when suspended in 5% gum arabic solution than that when suspended in olive oil.

A 20-month chronic toxicity study of MBT on mice was carried out with dose levels of 30, 120, 480 and 1920 ppm in the diet. Inhibition of body weight gain was observed in the 1920 ppm group of the males from the initial stage of treatment. Histopathologically, cell infiltration in the interstitium of kidney in the 1920 and 480 ppm groups of the males were found at 20th month. It was concluded that no observable effect level of MBT was 120 ppm (14.6 mg/kg/day for males and 13.52 mg/kg/day for females).

(Received May 31, 1989)

はじめに

2-mercaptobenzothiazole (MBT) はチアゾール系有機ゴム加硫促進剤であり、またスルフェンアミド系の有機ゴム加硫促進剤の中間原料として使用されている。MBT はゴム製品による接触性皮膚炎の代表的な原因物質であり、またアメリカ合衆国では、ゴムタイヤが主要な最終製品であるため、環境汚染物質として注目されている。この MBT の毒性を調べるために、急性および慢性毒性試験を Slc: ddY マウスを用いて行ったので報告する。

実験材料および方法

1. 急性毒性試験

被験物質：実験に用いた 2-mercaptobenzothiazole は大内新興化学工業製の商品名ノクセラール M (technical grade) である。Fig. 1 に構造式を示した。

動物および飼育：雌雄の Slc: ddY マウス (日本エスエルシー) を、床敷を入れたポリカーボネイト製ケ

ージに 5 匹ずつ収容し、室温 24±1°C、湿度 55±5%、6～18時の12時間照明下の SPF 動物室で1週間馴化飼育の後、体重を測定、層別化を行い雌雄を各群10匹に、平均体重が等しくなるように群分けし、5週齢で実験に供した。

投与液の調製：5%アラビアゴム水溶液に MBT が 20W/V% になるように乳鉢で研磨し懸濁液を調製した。オリーブ油にも同様に MBT が 20W/V% になるように懸濁液を調製した。

動物数および投与：投与前日より16時間絶食させた各群10匹の動物に、MBT の5%アラビアゴム水溶液懸濁液を Table 1 に示す用量で、1回強制経口投与した。なお、溶媒の違いによる急性毒性の差異を検討するために、雄を用いて、MBT のオリーブ油懸濁液を同様に投与した。

観察ならびに検査項目：投与直後より8時間後まで

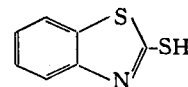


Fig. 1. Chemical structure of 2-mercaptobenzothiazole

* 食品農医薬品安全性評価センター

Table 1. Mortality of mice in MBT acute toxicity test

1) 5% gum arabic solution (suspension of MBT)

dose	time	hour				day						total
		1	3	6	24	2	3	4	5	6	7	
male												
0 mg/kg(Cont.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
965 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
1157 mg/kg	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3/10
1389 mg/kg	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3/10
1667 mg/kg	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10
2000 mg/kg	0	1	5	3	0	0	0	0	0	0	0	9/10
2400 mg/kg	7	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	9/10
2880 mg/kg	8	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	10/10
female												
0 mg/kg(Cont.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
965 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
1157 mg/kg	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	4/10
1389 mg/kg	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	6/10
1667 mg/kg	1	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	6/10
2000 mg/kg	2	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	9/10
2400 mg/kg	5	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	9/10
2880 mg/kg	4	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	10/10

2) olive oil (suspension of MBT)

dose	time	hour				day						total
		1	3	6	24	2	3	4	5	6	7	
male												
0 mg/kg(Cont.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
1667 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
2000 mg/kg	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10
2400 mg/kg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10
2880 mg/kg	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10
3456 mg/kg	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6/10
4147 mg/kg	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9/10

一般状態および死亡を継続的に観察し、その後の観察は7日間毎日行った。死亡動物は発見後直ちに剖検し、生存動物は7日間の観察終了後に全て剖検した。また、7日間の死亡動物数から、Litchfield-Wilcoxon法によりLD₅₀値を算出した。

2. 慢性毒性試験

被験物質：急性毒性試験に用いたものと同じ検体を使用した。

動物および飼育：急性毒性試験と同条件で1週間馴化飼育したSlc: ddYマウスを、急性毒性試験と同様に群分けを行い、5週齢で実験に供した。

動物数および投与：雌雄各群30匹(対照群のみ60匹)とし、MBTを0(対照群)、30、120、480および1920 ppmの濃度で添加した飼料を、20ヵ月間自由に摂取させた。飲水は自由に摂取させた。

観察ならびに検査項目：

1) 一般状態、体重および摂餌量

一般状態、死亡の有無を毎日観察した。体重および摂餌量の測定は12ヵ月までは毎週、以後は隔週に行った。

2) 血液学的検査および血清生化学的検査

6.12および20ヵ月に目に、16時間絶食後エーテル

麻醉下で眼窩静脈叢より採血し、Table 2に示す項目について血液学的検査を行った。なお、白血球百分比は鏡検により算出した。

6.12および20ヵ月目に、16時間絶食後エーテル麻醉下で断頭により採血し、遠心分離した血清について、Table 2に示す項目について血清生化学的検査を行った。ただし、アルブミン量およびA/G比については、セルロース・アセテート膜電気泳動法を用いて蛋白質量より算定した。

3) 病理学的検査

6.12および20ヵ月目に断頭採血し、剖検の後、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓および精巣を摘出し重量を測定した。これらに加え下垂体、甲状腺、顎下腺、胃、腸管、膵臓、卵巣、子宮、精巣上体、精囊、坐骨神経、胸骨、筋肉、膀胱、大腿骨、脊髄および腫瘤等の肉眼的に異常の認められた臓器、組織を摘出し、10%中性等張ホルマリン液により固定した。

4) 統計学的処理

血液、血清生化学的検査および臓器重量については、Bartlettの方法によりまず分散の一様性の検定を行い、分散が一様な場合には一元配置の分散分析を行った。群間に有意性が認められ、各群の動物数が一定である

Table 2. Hematological and serum biochemical examinations

items of measurement	abbreviation	kit(maker)
Hematology [Coulter counter model SP]		
red blood cell count	RBC	
hemoglobin concentration	Hb	
hematocrit	Hct	
mean cell volume	MCV	
mean cell hemoglobin	MCH	
mean cell hemoglobin concentration	MCHC	
platelet count	Plt	
white blood cell count	WBC	
Biochemistry [Gensaeac automatic fast analyzer type IV]		
total protein	TP	Wako
albumin	Alb	Electrophoresis
albumin-globulin ratio	A/G	Calculation
blood urea nitrogen	BUN	Shinotest
total cholesterol	TCh	BMJ
alkaline phosphatase	AIP	Wako
aspartate aminotransferase	Ast(GOT)	BMJ
alanine aminotransferase	Alt(GPT)	BMJ

BMJ : Boehringer mannheim yamanouchi. Shinotest : Shinotest laboratory, Wako : Wako pure chemical industries

なら Dunnett 法, 不定ならば Scheffé の方法によって対照群に対する各群の平均値の対比較検定を行った。また, 分散が一樣でない場合は, Kruskal-Wallis の方法によって順位検定を行い, 群間に有意性が認められ, 各群の動物数が一定の場合は Dunnett 型, 一定でない場合は Scheffé 型の平均順位の一対比較検定を行った。生存率は Life-Table 法により計算した。

実験結果

主に対照群に対して統計的に有意差の認められた検査項目について記述し, それぞれの表あるいは図に示した。

1. 急性毒性試験

1) 5% アラビアゴム水溶液懸濁

雄は 1157 mg/kg 以上, 雌では 1667 mg/kg 以上の群で投与直後より腹ばい, 流涙, 流涎, 痙攣, 四肢の麻痺を示した。これらの症状は用量の増加に伴い程度が強くなり, 発現数も増加したが, 投与3時間目以後では自発運動の抑制や, 閉眼を伴ううずくまりが主な症状として認められた。死亡の経過はオリーブ油懸濁の試験成績とともに Table 1 に示した。

LD₅₀ 値は, 雄で 1558 mg/kg (信頼限界 1355~1792 mg/kg), 雌では 1490 mg/kg (信頼限界 1285~1728 mg/kg) であった。

2) オリーブ油懸濁

2000 mg/kg 以上の群で投与直後より, 5% アラビアゴム水溶液懸濁で認められたと同様の症状および症状の経過を示したが, オリーブ油懸濁の場合に症状および死亡の発現した用量は5% アラビアゴム水溶液懸濁の場合のおよそ2倍であった。

LD₅₀ 値は 3140 mg/kg (雄のみ, 信頼限界 2157~3583 mg/kg) であった。

2. 慢性毒性試験

1) 一般状態, 体重および死亡率

一般状態で認むべき症状はなかった。

体重 (Fig. 2, 3) では, 雄の 1920 ppm 群で投与初期より増加抑制, 30および 480 ppm 群では65週頃より減少が認められた。

雌では35週頃より 120 ppm 群で増加が認められた。

摂餌量 (Fig. 2, 3) では, 雄の 1920 ppm 群で28週目頃より50週目頃まで対照群よりやや多かった。その他, 雌雄とも各投与群で所々に多少の増減を示したが, いずれも一定の傾向が無く, 大きな差ではなかった。

摂餌量および体重から算出した投与期間中の1匹当たりの平均検体摂取量を Table 3 に示した。

死亡率は, 雄の対照群で 43.5% であったのに対し 1920 ppm 群では 52.8% とやや高く, 雌では30および 1920 ppm 群でやや高いが, その他の群ではいずれも一定の傾向が無く大きな差を認めなかった。

2) 血液学的検査

雄の 1920 ppm 群で Hct が20ヵ月目で減少を示した (Table 4)。雌では 480 ppm 群の Hct および MCV が6ヵ月目で減少, MCH および MCHC が20ヵ月目に増加を示した (Table 5)。白血球百分比については, 雌雄とも各群に有意な変化を認めなかった (Table 4, 5)。

3) 血清生化学的検査

雌雄とも各検査時期, 項目で有意な変化を認めなかった。

4) 臓器重量

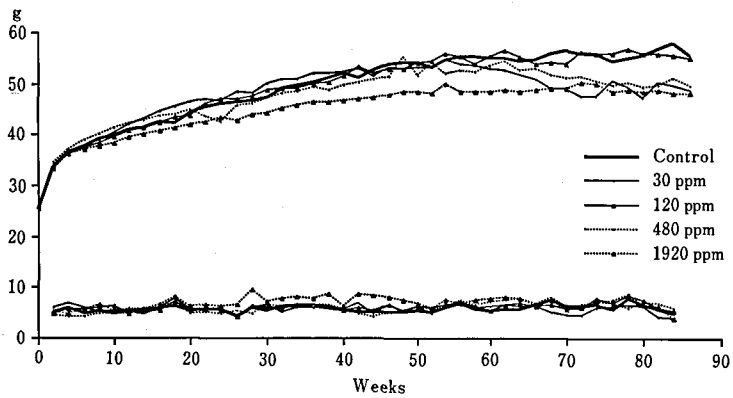


Fig. 2. Body weight and food consumption of male mice fed MBT

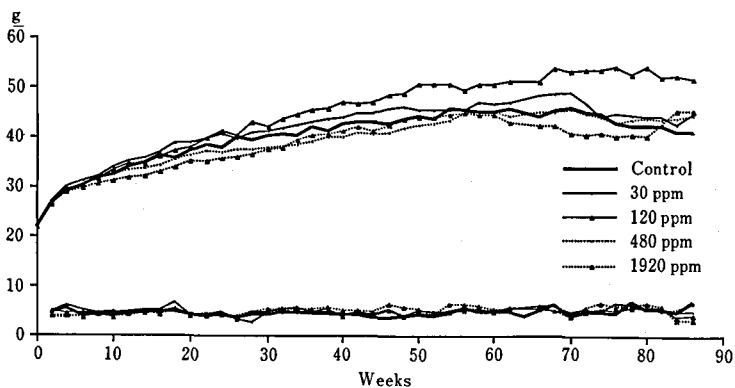


Fig. 3. Body weight and food consumption of female mice fed MBT

Table 3. Daily intake of MBT

dose	male	female
30 ppm	3.60	3.61
120 ppm	14.69	13.52
480 ppm	57.90	58.87
1920 ppm	289.40	247.98

(mg/kg/day)

雌雄とも各検査時期、項目で有意な変化を認めなかった。

5) 病理組織学的所見

Table 6 および 7 に肺、肝臓、腎臓および造血系についての所見を示した。

6ヵ月目に雌雄で腎臓の尿細管に上皮性円柱を認めたほか、肺または肝臓にも変化を認めたが、いずれも散発的であり用量に伴う変化ではなかった。

12ヵ月目に雌雄で肺の腺腫、肝細胞の空胞化、グリソン鞘の細胞浸潤、腎臓の尿細管に上皮性円柱および間質の細胞浸潤等の変化を認めたが、いずれも散発的

であり用量に伴う変化ではなかった。

20ヵ月目には、雌雄で肺の腺腫、肝細胞の空胞化、雌で肝臓のグリソン鞘の細胞浸潤、腎臓の尿細管の拡張、雄で腎臓の尿細管の上皮性円柱、石灰化、雌雄で間質の細胞浸潤、胃の粘膜下織の肥厚、精巣の石灰化、萎縮および子宮の嚢胞および管腔の拡張等の変化を認めた。雄の腎臓の間質の細胞浸潤は、480および1920 ppm 群でその発現がやや多く認められたが、その他の変化は散発的であり、用量に伴う変化ではなかった。

死亡動物については腫瘍性変化のみを検討した。その結果、肺の腺腫、乳腺の腺腫あるいは腺癌、白血病等の変化を認めたが、いずれも検体投与による臓器特異性がなく、また用量に伴う変化ではなかった。

考 察

急性毒性試験において、オリーブ油懸濁液投与より、アラビアゴム水溶液懸濁液投与の MBT の LD₅₀ 値は低く、より強い急性毒性を示した。MBT は水、ガス

Table 4. Hematological findings of male mice fed MBT for 20 months

test	month	dose n	0 ppm (cont.) n	30 ppm n	120 ppm n	480 ppm n	1920 ppm n				
RBC $10^6/\text{mm}^3$	6	10	9.16±0.75	5	7.50±1.75	5	8.77±0.49	5	7.40±2.12	5	8.35±0.58
	12	10	8.06±0.59	5	8.19±1.12	5	8.15±0.10	5	7.00±2.61	5	7.61±1.40
	20	14	10.53±2.43	6	9.48±0.94	7	8.90±1.94	6	9.16±0.80	9	8.45±1.70
Hb g/dl	6	10	15.5±1.2	5	13.1±2.7	5	15.0±0.9	5	12.8±3.0	5	14.4±0.8
	12	10	13.4±1.0	5	13.5±1.4	5	13.2±0.3	5	11.7±3.4	5	12.5±2.1
	20	14	15.2±3.9	6	14.8±2.0	7	12.9±2.3	6	13.1±1.6	9	13.3±1.8
Hct %	6	10	41.6±3.8	5	34.5±7.4	5	39.6±3.5	5	34.1±9.7	5	38.2±2.6
	12	10	37.4±3.0	5	37.7±5.5	5	36.8±1.6	5	32.0±8.9	5	34.7±6.1
	20	14	45.8±12.4	6	41.5±3.7	7	39.2±8.0	6	39.2±2.9	9	36.5±7.9 *
MCV fl	6	10	45.4±1.0	5	46.3±2.2	5	45.1±1.8	5	46.0±1.4	5	45.7±0.4
	12	10	46.4±2.0	5	46.0±2.1	5	45.1±1.8	5	48.9±10.9	5	45.6±2.8
	20	14	43.3±2.5	6	43.9±1.1	7	44.6±4.6	6	43.0±2.5	9	43.2±1.4
MCH pg	6	10	17.0±0.9	5	17.6±0.9	5	17.1±0.5	5	17.6±1.5	5	17.3±0.5
	12	10	16.6±0.4	5	16.5±0.6	5	16.3±0.4	5	17.9±3.7	5	16.5±0.7
	20	14	14.4±0.8	6	15.7±1.6	7	14.8±1.9	6	14.5±1.8	9	16.1±2.5
MCHC g/dl	6	10	37.4±2.0	5	38.1±1.5	5	37.9±2.2	5	38.2±3.5	5	37.9±0.9
	12	10	35.9±1.1	5	35.9±2.3	5	36.0±1.0	5	36.6±0.9	5	36.2±1.1
	20	14	33.3±1.2	6	35.7±3.5	7	33.2±1.2	6	33.6±2.4	9	37.4±5.9
Plt $10^6/\text{mm}^3$	6	10	13.7±3.9	5	14.8±3.7	5	11.6±2.8	5	12.3±1.5	5	14.7±3.0
	12	10	15.5±6.5	5	12.8±5.7	5	14.1±4.0	5	8.0±5.2	5	10.6±5.8
	20	14	15.0±6.4	6	14.9±5.7	7	10.6±4.0	6	21.2±9.7	9	15.2±6.0
WBC $10^3/\text{mm}^3$	6	10	7.9±2.1	5	6.8±1.8	5	8.3±2.0	5	7.4±1.7	5	6.5±1.3
	12	10	7.7±1.3	5	6.2±1.9	5	7.3±1.1	5	14.7±14.5	5	7.9±4.4
	20	14	18.0±25.0	6	8.6±2.6	7	9.2±4.5	6	10.8±7.8	9	7.3±2.2

Values represent mean ± S.D. * : by P<0.05

Table 5. Hematological findings of female mice fed MBT for 20 months

test	month	dose n	0 ppm (cont.) n	30 ppm n	120 ppm n	480 ppm n	1920 ppm n				
RBC $10^6/\text{mm}^3$	6	10	8.80±0.60	5	8.87±0.38	5	7.98±0.32	5	8.16±0.17	5	8.64±0.65
	12	10	8.42±0.82	5	8.07±0.35	5	8.06±0.23	5	7.89±0.51	5	7.89±0.59
	20	15	8.94±1.10	7	8.63±0.84	9	7.97±1.52	10	8.21±0.73	7	8.14±2.87
Hb g/dl	6	10	15.2±0.8	5	15.4±0.4	5	14.0±0.2	5	14.1±0.4	5	14.7±1.2
	12	10	13.9±1.2	5	13.3±0.6	5	13.3±0.3	5	12.9±0.7	5	13.0±0.7
	20	15	13.4±1.3	7	12.8±1.2	9	12.3±2.2	10	15.4±7.2	7	12.1±3.7
Hct %	6	10	40.1±2.6	5	39.3±2.2	5	36.0±1.6	5	35.0±1.0 *	5	37.9±3.5
	12	10	36.6±3.6	5	36.1±1.6	5	34.9±1.6	5	34.8±2.1	5	35.5±1.9
	20	15	39.6±4.1	7	37.6±3.0	9	36.2±6.1	10	36.2±3.1	7	36.0±11.2
MCV fl	6	10	45.6±1.7	5	44.2±1.2	5	45.0±0.8	5	42.8±0.6 *	5	43.8±1.9
	12	10	43.4±1.5	5	44.7±1.0	5	43.3±1.6	5	44.1±2.3	5	45.0±2.1
	20	15	44.4±2.6	7	43.6±1.1	9	45.9±5.2	10	44.1±1.1	7	46.4±7.2
MCH pg	6	10	17.3±1.0	5	17.4±0.5	5	17.6±0.6	5	17.4±0.2	5	16.8±0.2
	12	10	16.5±0.3	5	16.4±0.2	5	16.5±0.3	5	16.4±0.3	5	16.5±0.3
	20	15	15.1±1.0	7	15.0±0.6	9	15.6±1.5	10	18.8±8.0 *	7	15.6±2.4
MCHC g/dl	6	10	37.9±2.4	5	39.2±1.9	5	39.0±1.4	5	40.5±0.6	5	38.4±1.1
	12	10	38.0±1.6	5	36.7±1.2	5	38.0±2.1	5	37.2±1.9	5	36.7±1.2
	20	15	34.9±0.5	7	34.3±0.9	9	34.1±1.0	10	42.4±17.2 **	7	33.7±0.8
Plt $10^6/\text{mm}^3$	6	10	14.9±4.6	5	12.2±3.8	5	12.9±1.7	5	13.4±3.7	5	12.0±2.5
	12	10	9.2±2.3	5	10.2±0.9	5	10.9±2.6	5	12.2±4.5	5	9.1±1.0
	20	15	14.8±8.8	7	8.6±3.4	9	6.5±4.0	10	10.9±3.9	7	9.3±5.0
WBC $10^3/\text{mm}^3$	6	10	5.4±1.5	5	4.8±0.6	5	5.1±1.3	5	6.2±1.0	5	5.1±1.1
	12	10	4.5±1.3	5	5.0±1.4	5	5.2±1.0	5	4.7±0.8	5	5.8±2.3
	20	15	9.6±9.9	7	6.0±2.8	9	5.6±2.0	10	6.9±4.1	7	50.3±89.7

Values represent mean ± S.D. * : by P<0.05, ** : by P<0.01

Table 6. Histopathological findings of male mice fed MBT for 20 months

organ finding	dose month n	0ppm(cont.)				30 ppm				120 ppm				480 ppm				1920 ppm			
		6	12	20	D*	6	12	20	D*	6	12	20	D*	6	12	20	D*	6	12	20	D*
Lung		10	10	14	22	5	5	6	12	5	5	7	12	5	5	6	13	5	5	9	9
adenomatous hyperplasia										1											1
adenoma			3	12	8	1	2	4	2	1	3	6		1	2	7	3	1	4	5	
adenocarcinoma												1									1
perivascular cell aggregation			1			1				1											
Liver														1							2
adenoma			2																		
hepatocellular carcinoma							1	6		1											
liver cell enlargement			2	1																2	
vacuolization		1	4	1						1	2			3	2						2
single cell necrosis														1						1	
focal necrosis		1	1																	1	
Glisson sheath cell infiltration							1			1				1							
Kidney																					
renal cell carcinoma					1																
tubules epithelial cast dilatation		5	4	8		5	2	2		5	2	1		4	2	2		3	3	3	
calcification				1							1										
epithelial cell vacuolization			3				3				1				2						1
interstitium cell infiltration		4	1		1	1	1			1											2
Hematopoietic system leukemia		3	1			2	1			2	1			2	4			1	5		

D*: Dead animal

Table 7. Histopathological findings of female mice fed MBT for 20 months

organ finding	dose month n	0ppm(cont.)				30 ppm				120 ppm				480 ppm				1920 ppm			
		6	12	20	D*	6	12	20	D*	6	12	20	D*	6	12	20	D*	6	12	20	D*
Lung		10	10	15	15	5	5	7	7	5	5	9	9	5	5	10	10	5	5	7	7
adenomatous hyperplasia										1											
adenoma			1	3	7	1	3	4		3	4			8				1	5	2	
adenocarcinoma												1									
perivascular cell aggregation		2	2	3		2	1			2	1			1	1	2					
Liver																					
adenoma			1	1																	
liver cell vacuolization			1			2	1														
focal necrosis																					1
necrosis		1																			
Glisson sheath cell infiltration		2	3			1	3			2	3			4				2	2		
Kupffer cell tumor																					1
Kidney																					
tubules epithelial cast dilatation		6				3				1				1	1			2	1		
epithelial cell vacuolization			6				2			3				3							3
interstitium cell infiltration			1	1		1				1				1							
Hematopoietic system leukemia		1	1	9		2	2			5				3				1	2		

D*: Dead animal

リン等には難溶であり温水中に微溶¹⁾という性質を持つ。したがって、アラビアゴム水溶液に懸濁した場合の方がLD₅₀値が低かったことの一因として、投与後消化管内において懸濁液が暖められたことによりMBTが水に若干溶解し、比較的吸収されやすくなったものと考えられた。急性毒性試験で認められた痙攣は、Guessら²⁾も報告しており、ペントバルビタールの投与でブロックされる中枢性の痙攣²⁾で、慢性投与においては神経組織に病理学的な変化を伴わない³⁾といわれる。また、MBTはdopamine β-hydroxylaseの阻害作用を持つ⁴⁾が、ドパミンからノルアドレナリン合成を担うこの酵素の阻害と、MBTによる痙攣との関連は不明である。

Guessら²⁾は、マウスへMBTの110 mg/kgを1週間連続腹腔内投与した時、肝細胞の壊死および腎臓の尿細管上皮細胞における混濁腫脹の発現を報告している。またラットに16日間の投与で2500 mg/kg群の体重の増加抑制、マウスでは1500, 3000 mg/kg群で死亡が報告されている³⁾。マウスおよびラットに、94 (マウスのみ)、188, 375, 750, 1500, 3000 (ラットのみ) mg/kgを13週間投与した結果、死亡例は雌雄マウスと雌ラットに750, 1500 mg/kg群で認められ、体重の増加抑制がマウス、ラットともに用量に依存して認められており、また3000 mg/kg群の雌雄ラットに腎臓の遠位尿細管の壊死の発現が指摘されている⁵⁾。今回の実験ではMBTの投与により雄に体重の増加抑制を認め、また20ヵ月目において腎の間質に細胞浸潤を認めたのみで、明らかな死亡の増加および肝臓の変化は認められなかった。

腫瘍性の変化としては、2年間の投与によりB6C3 F1雌マウスで(375, 750 mg/kg) “equivocal evidence of carcinogenic activity”と結論され、肝細胞の腺腫および腺癌(combined)が増加し、F344/Nラットでは雌雄とも “some evidence of carcinogenic activity”と結論され、雄で(375, 750 mg/kg)白血病、膵臓の腺房細胞腺腫、副腎の好クロム性細胞腫、包皮腺腫および腺癌(combined)が増加し、雌で(188, 375 mg/kg)下垂体腺腫、副腎の好クロム性細胞腫が増加したと報告されている³⁾。しかし、ddYマウスに1920 ppmの濃度(雄で約290 mg/kg, 雌で約250 mg/kgに相当)を最高用量として20ヵ月間投与した今回の実験では、上述の報告³⁾と異なり、MBTによるとと思われる腫瘍性変化は認められなかったが、この原因が投与量の差異によるものか、あるいはマウスの系統差によるものかは明らかでない。

本試験による最大無作用量は120 ppm(雄14.69 mg/kg/day, 雌13.52 mg/kg/day)と考えられ、480 ppm群以上の雄では腎間質の細胞浸潤が認められた。

文 献

- 1) 9887の化学商品, p.838 (1985) 化学工業日報社
- 2) Guess, W. L. and O'Leary, R. K: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **14**, 221 (1969)
- 3) National Toxicology Program, Technical Report Series No. 332, 1988
- 4) Johnson, G. A: *J. Pharm. Pharmacol.*, **22**, 710 (1970)
- 5) Federal Register/Vol. 50, No. 215/Wednesday, November 6, (1985)/Proposed Rules, 46121: Environmental Protection Agency (EPA)

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・中浦慎介・Djajalaksana Srikandi¹⁾
黄 芒莉²⁾・高仲 正

Studies on the Teratogenic Potential of 2,2'-Methylenebis
(4-ethyl-6-tert-butylphenol) in Rats

Satoru TANAKA, Kunio KAWASHIMA, Shinsuke NAKAURA,
Srikandi DJAJALAKSANA¹⁾, Mang-Li HUANG²⁾
and Akira TAKANAKA

2,2'-Methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol), an antioxidant, was given orally to pregnant Wistar rats by stomach intubation at the dose levels of 187, 375 or 750 mg/kg body weight during days 7 to 17 of gestation, and the effects of the compound on dams and fetal development were examined.

In dams at the two higher doses of 375 and 750 mg/kg, toxic signs such as hair fluffing and diarrhoea were observed, and their body weight gain and food consumption were suppressed. Two dams which showed marked diarrhoea in the highest dose group of 750 mg/kg died. However, there was no evidence of fetal malformations attributable to the treatment of the compound in any of the dose group tested, though a slight increase in fetal death was found in the highest dose group.

It is concluded that 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) has a weak lethal effect on fetal development but not a teratogenic effect in the rat.

(Received May 31, 1989)

家庭用品に使用されている化学物質の安全性を評価する場合、一般毒性、がん原性、催奇形性などに関する情報は重要であるが、なかでも催奇形性は次世代の発生・発達に悪影響を及ぼすために特に重要と考える。

われわれは、家庭用品に使用されている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おり、これまでに繊維製品の防炎加工剤¹⁻³⁾およびゴム類の加硫促進剤⁴⁻⁷⁾の成績をそれぞれ報告した。

今回は老化防止剤としてゴムやプラスチック類に使用されている2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) (MBEBP) の催奇形性をラットを用いて検索したので、その成績を報告する。

MBEBP の急性毒性は弱く、雌雄のラットに 10 g/kg を経口および腹腔内投与しても死亡例は認められていないが、飼料に添加してラットに3月間投与した

亜急性毒性試験では0.2~5%の添加濃度で血清中トリグリセライドが減少したと報告されている⁸⁾。また Takahashi ら⁹⁾は MBEBP の 1.135 mmol/100 g 添加飼料をラットに1週間摂取させた試験で肝臓中トリグリセライドの減少を報告している。

一方、Telford ら¹⁰⁾は各種の抗酸化剤をラットに妊娠期間中、強制経口投与あるいは飼料添加投与して胎仔死亡について調べ、MBEBP (飼料添加投与、積算投与量・250 mg/rat) による胎仔死亡率の増加を報告している。しかし、Telford ら¹⁰⁾は催奇形性については検討しておらず、MBEBP の催奇形性について検討した報告は認められない。

本研究は、MBEBP の催奇形性について検索し、Telford ら¹⁰⁾が報告している胎仔致死作用が認められるかどうかを調べるとともに、妊娠母体および胎仔発生に対する無影響量を推定することを目的として実施した。

実験方法

MBEBP は大内新興化学工業の製品 (Lot No.

¹⁾ National Quality Control Laboratory of Drug and Food, Indonesia

²⁾ 中華人民共和国湖北省薬物検査所

312020)を用いた。MBEBPは水にほとんど溶解しないため、オリーブ油(日本薬局方)を用い、超音波ホモジナイザーにより懸濁液を調製して投与した。投与量は、非妊娠雌ラットを用いた予備試験の成績を参考にして、妊娠母体に何らかの毒性徴候が現れることが期待される750 mg/kgを最高用量とし、以下、375 mg/kg および 187 mg/kg 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。動物室は温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 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、未經産雌を雄と一夜同居させた。翌朝陰垢中に精子が認められた雌ラットを妊娠したものとして実験に供し、この日を妊娠0日とした。

妊娠ラットはアルミ製妊娠ケージ(夏目製作所)に一匹ずつ収容し、固形飼料(オリエンタル酵母, MF)および水道水を自由に摂取させた。

各群18~24匹の妊娠ラットに、胎子の器官形成期を含む妊娠7日から17日まで、MBEBPの750 mg/5 ml/kg, 375 mg/2.5 ml/kg および 187 mg/1.25 ml/kg 用量を毎日1回胃ゾンデを用いて経口投与した。なお、対照群の妊娠ラットにはオリーブ油 5 ml/kg を同様に経口投与した。

妊娠ラットについては一般状態を毎日観察し、体重および摂餌量を測定した。

すべての妊娠ラットは妊娠20日間にエーテル麻酔下で帝王切開して子宮を摘出し、黄体数、着床数、死亡胎仔数、生存胎仔数を調べた。生存胎仔については外表異常の検査を行い、性比を調べ、体重を測定した。各母体当たり約1/3の生存胎仔についてはブアン液で約2週間固定したのち、Wilsonの方法¹¹⁾に準じて粗大切片標本作製して内部器官の異常の検査を行った。残り約2/3の生存胎仔については90%エタノール液で固定したのち、Dawsonの方法¹²⁾にしたがってアリザリン赤染色骨格標本作製して骨格系の異常の検査を行った。

実験成績は母体を評価の単位として、 χ^2 -検定、t-検定また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。

結果および考察

1. 妊娠母体に及ぼす影響

妊娠ラットの一般状態について、対照群および187 mg/kg 群では特に異常は観察されなかった。375 mg/kg 群では立毛様症状と軽度な下痢を示すラットが認

められた。750 mg/kg 群のラットでは投与3日(妊娠9日)頃から立毛様症状、下腹部の汚れ(失禁)、下痢が観察され、また鼻孔あるいは口角周囲への凝血塊様物の付着が認められた。そして特に著しい下痢症状を示した2匹は衰弱して妊娠16日と19日にそれぞれ死亡した(Table 1)。口角周囲などへの凝血塊様物の付着の原因については明らかでないが、MBEBPと類似の化学構造を有する老化防止剤2,2'-methylenebis(4-methyl-6-tert-butylphenol)は血液凝固時間を遅延させることが報告されていることから¹³⁾、MBEBPも同様な血液凝固時間遅延作用を有し、そのために鼻孔や口角周囲への出血傾向が現れた可能性が考えられる。

妊娠期間中の母ラットの体重の推移をFig. 1に示した。187 mg/kg 群は対照群と同様順調な体重増加を示した。375 mg/kg 群は投与6日(妊娠12日)から、750 mg/kg 群は投与3日(妊娠9日)から、帝王切開した妊娠20日まで、対照群に比較してともに有意に低い体重を示し、MBEBP投与の影響が認められた。なお、両群の体重増加抑制の程度は375 mg/kg 群より750 mg/kg 群が大きかった。

摂餌量については図示しなかったが、187 mg/kg 群は妊娠期間中を通して対照群と同様な摂餌量を示した。37 mg/kg 群は投与2日(妊娠8日)から5日(妊娠11日)まで、750 mg/kg 群は投与2日(妊娠8日)から9日(妊娠15日)まで、それぞれ対照群より有意に低い摂餌量を示した。しかし、その後は両群の摂餌量とも漸増し、投与終了翌日(妊娠18日)以後は対照群とほぼ同程度となった。

以上の成績から、妊娠ラットに対して375 mg/kg は毒性発現量、750 mg/kg は致死量であることが明らかにされた。なお、同系の非妊娠雌ラットを用いた

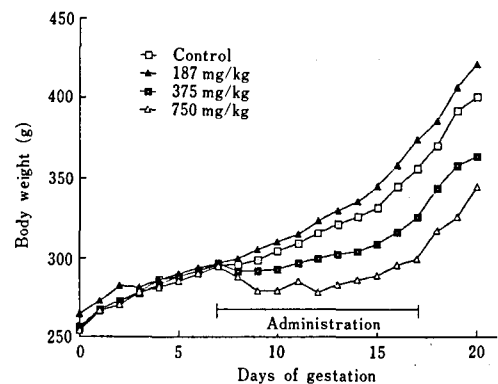


Fig. 1. Effect of oral administration of MBEBP on body weight of pregnant rats

予備試験では 1000 mg/kg の11日間の投与でも、立毛様症状や下痢などの毒性徴候は観察されたが、死亡例は認められなかったことから、MBEBP の毒性は非妊娠雌に比べて妊娠雌においてやや強く現れるものと考えられる。

妊娠ラットの帝王切開の成績を Table 1 に示した。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 MBEBP 各群との間に有意差は認められなかった。

2. 胎仔発生に及ぼす影響

Table 2 に示した通り、生存胎仔数および性比では

対照群と MBEBP 各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、187 mg/kg 群の雄のみ有意に低い値を示した。しかし、さらに高用量である 375 および 750 mg/kg 群はともに有意に低い体重を示さなかったことから、MBEBP 投与に起因したものとは考えがたい。

胎仔死亡率について、対照群と MBEBP 各群との間に有意差は認められなかったが、750 mg/kg は 19.7 % と高い死亡率を示した。750 mg/kg は妊娠ラットに対して毒性徴候を示し、死亡動物も認められたこと

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

Dose (mg/kg)	0	187	375	750
No. of dams	24	18	20	20
No. of dead dams	0	0	0	2
Mortality (%)	0	0	0	10.0
No. of corpora lutea (mean ± S.D.)	393 (16.4 ± 4.1)	269 (14.9 ± 2.5)	299 (14.9 ± 3.2)	279 (15.5 ± 2.7)
No. of implants (mean ± S.D.)	319 (13.3 ± 3.9)	235 (13.0 ± 2.5)	245 (12.2 ± 4.8)	220 (12.2 ± 3.4)
Implantation ratio (%)	82.6	87.7	79.5	80.9

Implantation ratio is given as the average from each dam.

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

Dose (mg/kg)	0	187	375	750
No. of dams	24	18	20	18
No. of implants	319	235	245	220
No. of live fetuses (mean ± S.D.)	276 (11.5 ± 5.2)	212 (11.7 ± 4.2)	228 (11.4 ± 5.1)	182 (10.1 ± 4.1)
Sex ratio (%) (male/female)	84.0 (126/150)	100.0 (106/106)	88.4 (107/121)	116.7 (98/84)
Body weight (g)				
Male (mean ± S.D.)	4.0 ± 0.5	3.5 ± 0.3 **	3.8 ± 0.3	3.7 ± 0.6
Female (mean ± S.D.)	3.7 ± 0.5	3.4 ± 0.3	3.6 ± 0.3	3.5 ± 0.6
No. of dead implants	43	23	17	38
Early death	40	8	15	34
Late death	3	15	2	4
Mortality (%)	12.5	11.1	12.0	19.7
No. of dams with dead implants only (%)	2(8.3)	1(5.6)	1(5.0)	2(11.1)
No. of fetuses with external malformation	0	0	1(0.5) ^{a)}	0

Fetal mortality (%) is given as the average of incidence in each litter.

a): General edema, and its occurrence rate (%) in parenthesis is given as the average of incidence in each litter.

** (P < 0.01): Significant difference from the control value.

から、母体に対する著しい毒性影響を反映した二次的影響によって胎仔死亡が増加した可能性は否定できない¹⁴⁾。しかし、Telford ら¹⁰⁾の MBEBP はラットの胎仔死亡率を増加させたという報告を併せ考えた場合、MBEBP は軽度ではあるが胎仔致死作用を有することが示唆される。なお、すべての胎仔が死亡していた母体が対照を含む各群に 1~2 匹ずつ観察されたが、その発生率に有意差はなかった。

生存胎仔の外表面検査において、375 mg/kg 群に全身水腫の胎仔が 1 例観察されたが、その発生率に有意差は認められず、また自然発生的にも観察される異常であった¹⁵⁾。

胎仔の内部器官の検査成績を Table 3 に示した。対照群に異常例は観察されなかったが、腎盂の拡張が 187 mg/kg 群に 3 例および 750 mg/kg 群に 1 例、脳室拡張が 375 mg/kg 群に 1 例それぞれ観察された。しかし、それらの発生率に有意差は認められず、また

腎盂の拡張および脳室拡張とも自然発生的に観察される種類¹⁵⁾であった。

胎仔の骨格検査の成績を Table 4 に示した。骨格奇形は全群を通して 1 例も認められなかった。種々の骨格変異が対照群を含む各群に認められた。すなわち、頸椎肋骨の胎仔が対照群に 1 例、胸椎椎体の変形(痕跡状、二連球状)の胎仔が 187 mg/kg 群と 375 mg/kg 群に各 1 例、胸骨核の異常(変形、分離、癒合、欠損)の胎仔が対照群を含む各群に 28~70 例、腰椎肋骨を有する胎仔が対照群を含む各群に 71~79 例、腸骨前 27 椎骨の胎仔が対照群に 1 例と 750 mg/kg 群に 3 例、それぞれ観察された。しかしながら、187 mg/kg 群の胸骨核の異常を除き、いずれの骨格変異の発生率も対照群と MBEBP 各群との間に有意差は認められなかった。187 mg/kg 群の胸骨核の異常の発生率の有意な増加については、さらに高用量である 375 および 750 mg/kg 群ではともに有意な発生率の増加が認め

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

Dose (mg/kg)	0	187	375	750
No. of dams	21	17	18	16
No. of fetuses examined	104	81	86	74
Dilatation of renal pelvis	0	3(2.9)	0	1(1.3)
Dilatation of cerebral ventricle	0	0	1(0.9)	0

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

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

Dose (mg/kg)	0	187	375	750
No. of dams	22	17	19	16
No. of fetuses examined	172	131	142	108
No. of fetuses with skeletal malformation	0	0	0	0
No. of fetuses with variations				
Cervical ribs	1(0.8)	0	0	0
Varied thoracic centra	0	1(0.7)	1(0.6)	0
Varied sternbrae	34(21.4)	70(55.8) **	28(26.6)	37(35.1)
Lumbar ribs	79(49.3)	75(58.8)	72(49.8)	71(66.4)
rudimentary	75(46.4)	75(58.8)	68(46.6)	67(62.5)
extra(14th rib)	4(2.9)	0	4(3.2)	4(3.9)
27-pre-sacral vertebrae	1(0.5)	0	0	3(2.7)
Ossification state(average number)				
Metacarpi	7.9	7.7	7.9	7.8
Metatarsi	8.0	8.0	8.0	8.0
Sacro-caudal vertebrae	8.0	7.8	8.0	8.1

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

** (P<0.01): Significant difference from the control value.

られなかったことから、MBEBP 投与に起因したものととは考えがたい。なお、サリチル酸などの催奇形性物質を妊娠ラットに投与した場合、14肋骨 (extra rib) の発生頻度が増加することから^{16,17)}、14肋骨は催奇形性検出の指標の一つになると考えられているが、本試験の MBEBP 投与群において14肋骨の発生頻度が特に高くなるという成績は得られなかった。

骨化状態については、仙・尾椎骨、中手骨、中足骨数を調べて判定した。いずれの骨数においても対照群と MBEBP 各群との間に有意差はなく、MBEBP 投与の影響は認められなかった。

ま と め

2,2'-Methylenebis(4-ethyl-6-tert-butyl-phenol) の187, 375および750 mg/kg 用量をウイスター系妊娠ラットに妊娠7日から17日まで毎日1回強制経口投与し、妊娠母体および胎仔発生に及ぼす影響について調べた。

1) 妊娠母体について、375 mg/kg 以上では立毛様症状、下痢、摂餌量の低下および体重増加の抑制が認められた。さらに、750 mg/kg では口角周囲などへの凝血塊様物の付着、下腹部の汚れ (失禁)、著しい下痢が観察され、2例が死亡した。黄体数や着床率に影響は認められなかった。

2) 胎仔発生について、いずれの投与量でも生存胎仔数、性比および胎仔体重に影響は認められず、外表、内部器官および骨格の検査においても本化学物質に起因したと考えられる異常例は観察されなかったが、750 mg/kg では胎仔死亡率の増加傾向が認められた。

以上、2,2'-methylenebis (4-ethyl-6-tert-butyl-

phenol) はラットの胎仔発生に対して、大量投与した場合弱い致死作用を有することが示唆されたが、催奇形性は認められなかった。なお、無影響量は妊娠母体に対して 187 mg/kg、胎仔発生に対して 375 mg/kg とそれぞれ推定された。

本研究は厚生省生活衛生局・家庭用品試験検査費によって行った。

文 献

- 1) 川島邦夫ら：衛生試報, 98, 50 (1980)
- 2) 田中 悟ら：衛生試報, 99, 50 (1981)
- 3) 川島邦夫ら：衛生試報, 101, 55 (1983)
- 4) 中浦楨介ら：衛生試報, 102, 55 (1984)
- 5) S. Nakaura *et al.*: *J. Toxicol. Sci.*, 8, 339 (1983)
- 6) 中浦楨介ら：日本薬学会講演要旨集, 5G11-2 (1985)
- 7) S. Nakaura *et al.*: *J. Toxicol. Sci.*, 10, 252 (1985)
- 8) T. Takagi *et al.*: *J. Toxicol. Sci.*, 12, 587 (1987)
- 9) O. Takahashi and K. Hiraga: *Toxicol. Letters*, 8, 77 (1981)
- 10) I. R. Telford *et al.*: *Am. J. Anat.*, 110, 29 (1962)
- 11) 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
- 12) A. B. Dawson: *Stain Technol.*, 1, 123 (1926)
- 13) O. Takahashi and K. Hiraga: *Toxicol. Letters*, 7, 405 (1981)
- 14) 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
- 15) H. Morita *et al.*: *Cong. Anom.*, 27, 147 (1987)
- 16) 安田峰生, 前田広由：先天異常, 13, 25 (1973)
- 17) S. Tanaka *et al.*: *Cong. Anom.*, 13, 73 (1973)

F344 ラットにおける diphenylamine の28日間反復投与毒性試験

吉田順一・下地尚史・古田京子・高村直子・畝山智香子
矢沢るり・今井田克己・林 裕造

Twenty-eight Day Repeated Dose Toxicity Testing of
Diphenylamine in F344 Rats

Junichi YOSHIDA, Naoshi SHIMOJI, Kyoko FURUTA, Naoko TAKAMURA,
Chikako UNEYAMA, Ruri YAZAWA, Katsumi IMAIDA and Yuzo HAYASHI

A twenty-eight day repeated dose toxicity test of diphenylamine (DPA) was carried out in male and female F344 rats at dose levels of 1000, 333, 111 or 0 mg/kg/day.

Thirty-six animals of both sexes were divided into 6 groups of equal number, 4 groups being used for the 28 days dosing study and the remainder for investigation of recovery.

Inhibition of body weight gain, increase of liver, spleen and kidney weights, and anemia were observed in the highest dose groups in both sexes. The same groups demonstrated mucosal hyperplasia in the forestomach, dilatation, degeneration or necrosis of renal tubules in the corticomedullary junction, and hyperplasia in the bone marrow histopathologically. Slight increase of spleen, liver and kidney weights as well as slight degeneration of renal tubules were evidenced in several animals receiving the dose level of 333 mg/kg/day. Repair of histopathological lesions and anemia occurred within 14-day resting period.

Based on these findings, under the present experimental conditions, the no observable effect level of DPA was 111 mg/kg/day.

(Received May 31, 1989)

はじめに

Diphenylamine ($C_{12}H_{11}N$: DPA) は芳香族アミンに属する分子量 169.23 の化合物で、水に不溶な白色の結晶性粉末である。本化合物は家禽の食品添加物、果樹の腐敗病予防剤、りんごのやけ病予防剤等として、また牛のラセン虫駆除剤としても用いられてきた。りんごのやけ病抑制のための本剤の許容限度は、米国 FDA により 10 ppm と規定されている。実験動物を用いた毒性試験としては、ラットの単回経口投与試験で LD_{50} 値が 300 mg/kg 以上であったとの報告¹⁾ や混餌によるラットの 7.5 か月慢性毒性試験²⁾、2年間慢性毒性試験³⁾ 等があり、慢性毒性試験では高用量群で成長抑制、貧血、腎毒性等が報告されているものの、いずれもやや古い実験データに基づく報告である。

今回、我々は比較的短期間における DPA の無影響量の検索ならびに主たる毒性の確認のために雌雄の F344 ラット 72 匹を用いて 28 日間の強制経口による反復投与試験を実施した。

実験材料および方法

5 週齢の F344 ラット雌雄各 36 匹を日本チャールズリバー社より購入し、1 週間の馴化期間後、雌雄とも各群 6 匹として 6 群に分けた。動物の飼育はバリエーションシステムの飼育室にて行い、室内の環境条件は温度 $24 \pm 1^\circ C$ 、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。プラスチックケージ内に動物を 6 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。動物には固型飼料 (CRF-1, 日本チャールズリバー社) および飲料水 (水道水) を自由に摂取させた。

検体は和光純薬株式会社製の純度 98% の DPA を用い、オリーブ油に溶解して、5 ml/kg となるように濃度を調製した。群構成は 1000, 333, 111 および 0 mg/kg の投与群ならびに 1000 および 0 mg/kg の 14 日間回復群とした。動物にはラット用金属製胃ゾンデを用い、1 日 1 回として検体を 28 日間連続経口投与した。なお、対照群には溶媒のオリーブ油を同様に投与した。

投与後、全動物の一般状態を連日観察し、定期的に体重と摂餌量を測定した。最終投与日または休薬14日目の夕刻から動物を一晩絶食させ、翌日にエーテル深麻酔下で、腹部大動脈より採血したのち屠殺剖検した。

血液学的検査は赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、MCV(%)の各項目について、また血清生化学的検査はGOT, GPT, ALP, ビリルビン, コリンエステラーゼ, 総コレステロール, 総蛋白, アルブミン, A/G, 尿素窒素, クレアチニン, カルシウム, 無機リン, ナトリウム, カリウム, クロールの各項目について実施した。

剖検時、肉眼的に観察したのち諸臓器を摘出・精査し、脳, 下垂体, 唾液腺, 胸腺, 心臓, 肺, 腎臓, 副腎, 脾臓, 肝臓, 精巣については重量測定を行った。上記臓器にくわえ脊髄, 胸骨, 大腿骨, 胃, 腸, 膀胱, 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, 陰を10%中性緩衝ホルマリン液に固定した。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。

血液学的検査, 血清生化学的検査および臓器重量の結果は分散比を Bartlett の方法で検定し, 等分散の場合は一元配置の分散分析を行い, 不等分散の場合は Kruskal-Wallis の方法によって順位和検定を行った。群間に有意性が認められた場合の多重比較は, 例数が等しければ Dunnett 型, 例数が異なれば Scheffe 型で, それぞれ対照群と各処置群間の有意差検定を行った。なお, 回復群では t-検定を行った。

結 果

1. 一般状態, 体重, 摂餌量

全試験期間を通じて, 検体投与によると考えられる途中死亡例は認められなかった。雌雄の最高用量群の床敷が交換後1~2日後から暗褐色に汚れる傾向がみられたが, 排尿に起因した変化と推察され, 休薬期間中では消失した。それ以外にはいずれの群においても一般状態の変化は認められなかった。

雌雄の平均体重推移を Fig. 1, 2 に示した。実験期間中雌雄とも最高用量群にのみ体重増加抑制がみられ, 14日間の休薬では回復しなかった。一方, 摂餌量は最高用量群で若干低値を示したが, 対照群と比較して有意差は認められなかった。

2. 血液および血清生化学的所見

雌雄の項目ごとの値を Table 1, 2 に示した。

血液学的検査では雌雄とも 1000 mg/kg 群で赤血球

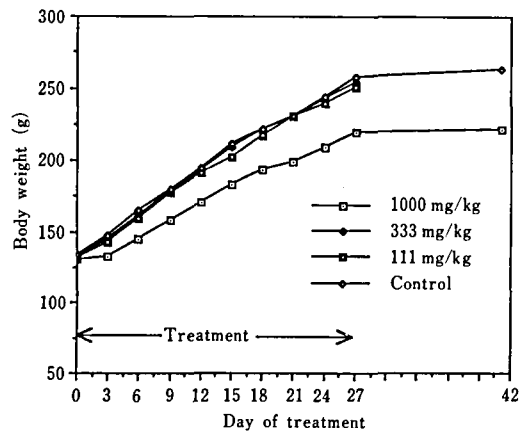


Fig. 1. Growth curves of male rats treated orally with DPA

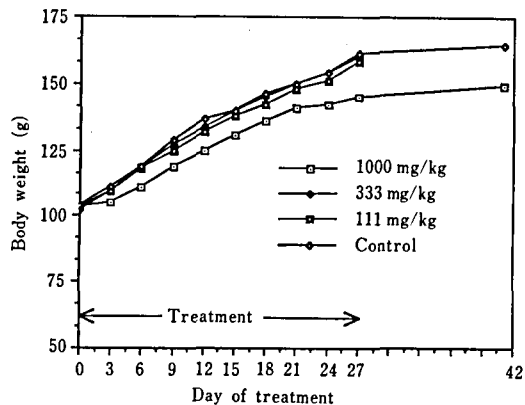


Fig. 2. Growth curves of female rats treated orally with DPA

数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値の減少または減少傾向, 白血球数, MCV の増加または増加傾向が示されたが, 休薬後には MCV およびヘモグロビン量の高値が示されたのみであった。血清生化学的検査では雄の 111 mg/kg 以上の投与群でアルブミンの増加が, 333 mg/kg 以上の投与群において総ビリルビン, A/G の増加, 1000 mg/kg 群でカリウムの増加, クロールの減少が, また雌の 1000 mg/kg 群で総ビリルビンの増加傾向が示されたが, これらの項目のうち休薬後も対照群との間に差が認められたのはカリウムのみであった。

3. 肉眼的所見

前胃部の白色隆起または軽度な肥厚が 1000 mg/kg 群の雄 3 例および雌 6 例に, また脾の軽度腫大が 1000 mg/kg 群の雌雄各 2 例および 333 mg/kg 群の雄 1 例に認められた。回復群では脾の軽度腫大が 1000 mg/

Table 1. Serum chemistry and hematology data for male rats treated with DPA

Item	28 days dosing test (mg/kg)				14 days recovery test (mg/kg)	
	1000	333	111	0	1000	0
Effective No.	5	6	6	6	6	6
Serum chemistry						
GOT(IU/l)	101±3.9	99.3±16.0	90.2±8.1	91.5±10.8	94.5±6.3**	111±5.8
GPT(IU/l)	37.8±5.4	37.8±5.2	37.3±1.8	38.8±5.3	35.2±4.2**	47.7±4.5
Alp(IU/l)	504±64.1	535±21.6	530±38.0	535±42.8	402±21.7	399±10.9
T-bil(mg/dl)	0.14±0.05**	0.08±0.04*	0.02±0.04	0.02±0.04	—	—
T-cho(mg/dl)	61.6±12.6	47.7±2.3	52.2±3.3	54.0±3.5	51.7±4.1*	46.5±3.0
Cho-E(IU/l)	5.80±0.84	8.00±2.61	5.17±2.93	6.83±2.48	5.67±3.27	7.17±3.06
T-pro(g/dl)	6.50±0.10	6.50±0.17	6.47±0.16	6.33±0.12	6.58±0.15	6.43±0.19
Alb(g/dl)	4.82±0.19**	4.82±0.16**	4.65±0.10**	4.43±0.10	4.72±0.12	4.52±0.21
A/G	2.92±0.43**	2.88±0.43**	2.57±0.22	2.35±0.18	2.57±0.27	2.40±0.34
BUN(mg/dl)	27.2±15.2	15.3±2.12	17.7±1.47	15.5±1.87	16.9±1.00	18.6±1.83
Creatinine(mg/dl)	0.44±0.11	0.42±0.04	0.43±0.05	0.42±0.04	0.35±0.05	0.37±0.05
Ca(mg/dl)	10.1±0.32	10.0±0.26	10.3±0.29	10.2±0.30	10.0±0.17	10.0±0.07
P (mg/dl)	8.66±0.86	7.20±0.36	7.07±0.16	7.73±0.29	8.03±0.33*	7.60±0.32
Na(mEQ/l)	143±0.9	143±1.5	143±0.6	143±0.9	142±1.2	142±1.0
K (mEQ/l)	4.64±0.15**	4.50±0.18	4.32±0.15	4.28±0.22	4.37±0.18**	3.87±0.23
Cl(mEQ/l)	103±2.3**	104±1.0	105±1.0	105±1.0	104±1.1	104±1.1
Hematology						
Erythrocyte(x10 ⁴ /mm ²)	169±7.5	199±15.7	238±35.7	238±83.4	223±10.6	241±37.2
Ht.(%)	10.8±0.58	11.4±0.97	12.8±2.15	12.9±4.46	13.5±3.22	12.3±2.02
MCV(μ2)	64.4±1.5	57.7±1.0	54.2±1.2	54.3±1.4	60.7±3.4**	51.0±0.6
Leukocyte(x10 ² /mm ²)	262±63.2*	86.0±21.2*	59.7±15.4	44.3±5.5	56.2±5.4	54.3±5.7
Hb.(g/dl)	14.2±1.05**	15.8±0.42	16.3±0.58	16.4±0.27	17.6±0.47**	17.0±0.43

Data represent mean values±S.D. —: Not detectable.

*: Significantly different from respective control value at p<0.05.

** : Significantly different from respective control value at p<0.01.

Table 2. Serum chemistry and hematology data for female rats treated with DPA

Item	28 days dosing test (mg/kg)				14 days recovery test (mg/kg)	
	1000	333	111	0	1000	0
Serum chemistry						
Effective No.	6	5	6	6	6	6
GOT(IU/l)	72.3±9.3	81.2±7.2	80.8±14.6	80.5±11.3	80.7±11.7	80.0±4.4
GPT(IU/l)	54.0±18.9	27.0±3.2	32.5±3.3	34.0±4.1	40.3±1.0	42.7±2.9
Alp(IU/l)	438±30.4	399±43.1	390±24.4	416±23.4	347±57.9*	268±27.4
LDH(IU/l)	271±189	1097±169**	652±239*	378±221	643±275	242±182
T-bil(mg/dl)	0.28±0.40	0.04±0.05	0.08±0.04	0.07±0.05	—	—
T-cho(mg/dl)	67.3±12.6	69.6±3.9	69.3±3.3	69.8±5.4	80.7±5.1	72.8±7.0
Cho-E(IU/l)	4.33±1.51	6.20±1.92**	5.33±2.07**	2.33±2.07	5.50±3.27	3.17±2.14
T-pro(g/dl)	6.40±0.18	6.54±0.15	6.42±0.17	6.40±0.14	6.35±0.12	6.50±0.17
Alb(g/dl)	4.47±0.43	4.70±0.12	4.63±0.19	4.53±0.12	4.52±0.08**	4.70±0.11
A/G	2.40±0.56	2.58±0.23	2.60±0.20	2.43±0.14	2.50±0.15	2.62±0.13
BUN(mg/dl)	18.8±12.4	16.2±2.47	16.2±2.10	15.9±0.68	17.7±1.67	18.8±1.70
Creatinine(mg/dl)	0.43±0.05	0.40±0.07	0.42±0.04	0.47±0.05	0.43±0.05	0.42±0.04
Ca(mg/dl)	10.1±0.48	10.2±0.24	9.9±0.3	9.9±0.3	9.5±0.2	9.7±0.1
P (mg/dl)	6.8±0.3	8.0±0.6	7.7±0.4	7.4±0.8	7.2±0.4	6.7±0.6
Na(mEQ/l)	145±1.5	142±1.1**	144±1.0	145±2.1	146±0.8**	144±1.1
K (mEQ/l)	4.15±0.36	4.32±0.22	4.03±0.29	4.22±0.44	3.38±0.08	3.30±0.09
Cl(mEQ/l)	108±4.0	105±0.7	106±1.2	106±0.9	105±0.9	105±0.8
Hematology						
Effective No.	6	6	6	6	6	6
Erythrocyte(x10 ⁴ /mm ²)	154±6.7*	212±23.0	201±23.3	232±15.9	217±15.9	244±38.2
Ht.(%)	9.4±0.42*	12.4±1.39	10.8±1.36	12.6±0.95	13.0±0.96	13.0±2.11
MCV(μ2)	60.7±1.0*	58.3±1.2	53.7±1.0	54.5±2.7	59.5±0.8**	53.2±0.8
Leukocyte(x10 ² /mm ²)	280±112*	55.7±14.2	42.0±4.0	48.8±24.3	49.7±7.4	47.0±8.0
Hb.(g/dl)	13.4±0.5*	15.7±1.7	15.7±0.8	17.2±0.7	18.4±0.2**	17.0±0.7

Data represent mean values±S.D. —: Not detectable.

*: Significantly different from respective control level at p<0.05.

** : Significantly different from respective control level at p<0.01.

kg 群の雌雄各 1 例に認められたのみであった。

4. 臓器重量

雌雄の臓器ごとの絶対重量および相対重量を Table 3, 4 に示した。

雌雄とも 333 mg/kg 以上の投与群で肝、腎、脾の重量増加または増加傾向が、また 1000 mg/kg 群で胸腺、精巣の重量減少が示された。一方、14日間の休業後においても胸腺以外は回復しなかった。

5. 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 に示した。

腎臓：皮質髄質境界部付近の尿細管の変性・壊死が 1000mg/kg 群の雌雄全例、333 mg/kg 群の雄 6 例中 1 例に、乳頭部の変性・壊死が 1000 mg/kg 群の雄 5 例中 1 例、雌 6 例中 1 例に、尿細管の拡張および尿門柱が 1000 mg/kg 群の雄 5 例中 2 例、雌 6 例中 2 例に認められた (Fig. 3)。これらの変化は 2 週間の回復群ではみられなかった。111 mg/kg 投与群および対照

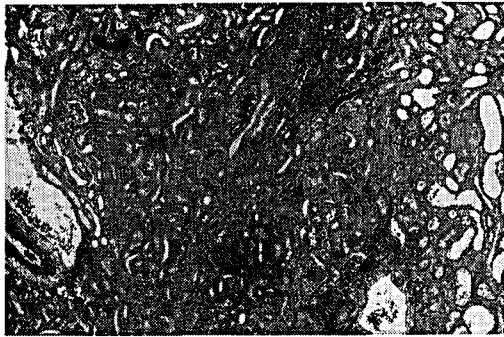


Fig. 3. Dilatation of renal tubules, cyst formation, and degeneration or necrosis of epithelium at the corticomedullary junction in a male rat kidney (1000 mg/kg group)

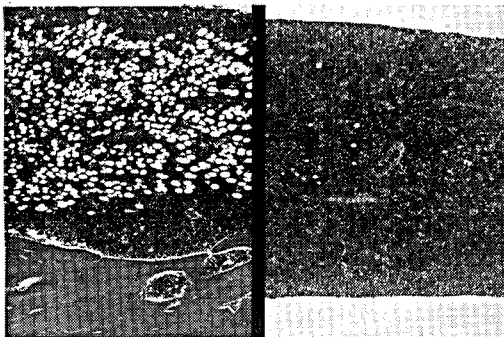


Fig. 4. Appearance of the bone marrow. Note hyperplasia in the treated (right: 1000 mg/kg) but not control (left: 0 mg/kg) cases

群においては特記すべき変化は認められなかった。

脾臓：1000 mg/kg 投与群の雌雄全例に、うっ血および髓外造血像がみられた。333 mg/kg 以下の投与群においては特記すべき変化は認められなかった。

骨髄：1000 mg/kg 投与群の雌雄全例に、造血亢進像がみられた (Fig. 4)。333 mg/kg 以下の投与群においては特記すべき変化は認められなかった。

胃：前胃粘膜の糜爛が 1000 mg/kg 群の雄 5 例中 1 例、雌 6 例中 1 例に、前胃粘膜の過形成が 1000 mg/kg 群の雄 5 例中 3 例、雌 6 例中 3 例に認められた。

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

最高用量群では雌雄とも投与初期より体重増加抑制が認められ、休業後も回復しなかった。これらの動物の摂餌量は対照群に比べ低値ではあったが、有意なものではなく、この変化は DPA の大量投与によるものと考えられた。血液学的検査では赤血球数の減少およびそれが原因と考えられるヘマトクリット値およびヘモグロビン量の減少が 1000 mg/kg 群の雌雄で観察され、DPA 投与により貧血状態が惹起されたものと考えられた。剖検時観察された脾の腫大ならびに組織検査で観察された脾の髓外造血像および骨髄の造血亢進像は貧血に対する生体の反応と考えられた。また白血球数の増加も観察されたが、それを裏づけるような組織学的変化はなく、本検体投与に起因したものか否かは不明であった。ラットを用いた混餌による DPA の慢性毒性試験^{2,3)}でも貧血が生じ、腎と肝に血球崩壊によると思われる褐色色素顆粒の沈着が出現したと報告されている。なお、本実験の回復群では赤血球数が対照レベルにあり、また脾および骨髄の組織像に著変が認められなかったことから、今回認められた造血系の変化は休業により回復するものと考えられた。血清生化学的検査では検体投与群で対照群と比べ有意な増加または減少を示した項目が散見されたが、ほとんどのもので用量相関性がなく、また雌雄での一致もなかったことから、これらは偶発所見と考えられた。なお、ビリルビンは 1000 mg/kg 群の雌雄で増えており、検体の影響によるものと想定されたが、休業後には検出されず可逆性的変化と考えられた。

病理組織学的に変化が出現したのは胃と腎であった。腎では皮質境界部に尿細管の拡張、尿門柱の出現、上皮細胞の変性・壊死が、また腎乳頭部に変性像が観察された。これらの変化は慢性毒性試験での結果^{2,3)}と一致していたが、シスト形成、間質の炎症性変化、膀

Table 3. Absolute and relative organ weights of male

Item	28 days dosing study (mg/kg)			
	1000	333	111	0
Effective No.	5	6	6	6
Body weight	205±13.0**	245±5.4	237±12.8	240±4.8
Brain	1.86±0.04 (0.91)	1.95±0.04 (0.80)	1.91±0.03 (0.81)	1.92±0.05 (0.80)
Pituitary	0.011±0.002 (0.005)**	0.010±0.002 (0.004)	0.010±0.002 (0.004)	0.010±0.001 (0.004)
Salv. glands.	0.44±0.15 (0.21)	0.49±0.12 (0.20)	0.50±0.09 (0.21)	0.55±0.08 (0.23)
Thymus	0.24±0.04** (0.12)**	0.37±0.03 (0.15)	0.30±0.02** (0.16)	0.33±0.05 (0.15)
Lung (R)	0.60±0.09 (0.29)	0.60±0.04 (0.25)	0.63±0.03 (0.26)	0.62±0.04 (0.26)
(L)	0.30±0.02 (0.15)	0.33±0.03 (0.14)	0.33±0.02 (0.14)	0.32±0.02 (0.13)
Heart	0.74±0.05 (0.36)	0.84±0.01 (0.34)	0.85±0.05 (0.36)	0.82±0.06 (0.34)
Spleen	1.05±0.07* (0.51)*	0.70±0.04 (0.29)	0.54±0.06 (0.23)	0.55±0.01 (0.23)
Liver	9.85±0.69** (4.8)**	9.11±0.30** (3.7)**	7.91±0.55 (3.3)**	7.59±0.26 (3.2)
Adrenal (R)	0.027±0.006 (0.013)	0.020±0.001 (0.008)	0.021±0.004 (0.009)	0.022±0.005 (0.009)
(L)	0.024±0.001 (0.012)	0.021±0.001 (0.009)	0.021±0.003 (0.009)	0.019±0.002 (0.008)
Kidney (R)	1.02±0.14 (0.50)	0.90±0.06 (0.37)	0.83±0.06 (0.35)	0.83±0.01 (0.35)
(L)	1.02±0.07** (0.50)**	0.91±0.03* (0.37)	0.83±0.04 (0.35)	0.84±0.03 (0.35)
Testis (R)	1.29±0.02* (0.63)	1.36±0.07 (0.56)	1.37±0.06 (0.58)	1.36±0.02 (0.57)
(L)	1.32±0.04** (0.64)**	1.39±0.04 (0.57)	1.39±0.05 (0.59)	1.40±0.03 (0.58)

Data represent mean values±S.D.

Relative organ weights are shown in parentheses(%).

* : Significantly different from respective control value at P<0.05.

** : Significantly different from respective control value at P<0.01.

Table 4. Absolute and relative organ weights of female

Item	28 days dosing test (mg/kg)			
	1000	333	111	0
Effective No.	6	6	6	6
Body weight	131±12.1**	155±9.2	153±7.3	152±3.9
Brain	1.76±0.03 (1.35)	1.80±0.04 (1.17)	1.77±0.03 (1.16)	1.79±0.07 (1.18)
Pituitary	0.008±0.001 (0.006)	0.011±0.001 (0.007)	0.011±0.001 (0.007)	0.010±0.003 (0.007)
Salv. glands.	0.28±0.08 (0.21)	0.38±0.13 (0.25)	0.36±0.07 (0.23)	0.35±0.09 (0.23)
Thymus	0.20±0.05** (0.15)**	0.32±0.02 (0.21)**	0.32±0.03 (0.21)	0.35±0.03 (0.23)
Lung (R)	0.41±0.05** (0.32)	0.49±0.05 (0.31)	0.45±0.02 (0.29)	0.50±0.05 (0.33)
(L)	0.22±0.01 (0.17)	0.25±0.01 (0.16)	0.23±0.01 (0.15)	0.24±0.03 (0.16)
Heart	0.51±0.04* (0.39)	0.58±0.04 (0.38)	0.55±0.04 (0.36)	0.58±0.02 (0.38)
Spleen	0.72±0.17* (0.55)*	0.49±0.05* (0.32)*	0.42±0.03 (0.27)	0.38±0.03 (0.25)
Liver	6.36±0.77* (4.86)**	5.29±0.47* (3.42)**	4.47±0.15 (2.92)	4.35±0.34 (2.87)
Adrenal (R)	0.026±0.003 (0.020)*	0.024±0.003 (0.015)	0.022±0.003 (0.014)	0.024±0.004 (0.016)
(L)	0.025±0.004 (0.019)	0.025±0.003 (0.016)	0.022±0.001 (0.014)	0.026±0.005 (0.017)
Kidney (R)	0.64±0.05** (0.49)*	0.57±0.03 (0.37)	0.53±0.02 (0.35)	0.53±0.02 (0.35)
(L)	0.67±0.10* (0.51)*	0.60±0.04 (0.38)	0.53±0.04 (0.34)	0.54±0.02 (0.36)

Data represent mean values±S.D.

Relative organ weights are shown in parentheses(%).

* : Significantly different from respective control value at P<0.05.

** : Significantly different from respective control value at P<0.01.

rats treated with DPA

14 days recovery test (mg/kg)	
1000	0
6	6
222±11.3**	263±11.5
1.97±0.06 (0.89)**	1.99±0.10 (0.76)
0.008±0.001* (0.003)	0.010±0.001 (0.004)
0.45±0.05* (0.20)	0.52±0.04 (0.20)
0.30±0.02 (0.14)	0.33±0.05 (0.13)
0.59±0.13 (0.27)	0.65±0.04 (0.25)
0.34±0.03 (0.15)	0.35±0.04 (0.13)
0.83±0.08 (0.37)	0.88±0.11 (0.33)
0.72±0.07* (0.32)**	0.59±0.03 (0.23)
7.21±0.26** (3.3)**	7.84±0.31 (3.0)
0.026±0.006 (0.012)*	0.023±0.003 (0.009)
0.028±0.005 (0.013)*	0.025±0.003 (0.010)
0.89±0.12 (0.40)*	0.90±0.05 (0.34)
0.88±0.07 (0.40)*	0.92±0.07 (0.35)
1.37±0.06 (0.62)**	1.43±0.06 (0.55)
1.43±0.06 (0.64)**	1.47±0.04 (0.56)

膀胱膜の過形成や扁平化生は認められなかった。胃では剖検時最高用量群の雌雄で前胃部の白色隆起または軽度な肥厚が観察され、前胃粘膜の糜爛または過形成が、組織学的に確認された。これらはDPAの粘膜に対する刺激性を示唆する所見と考えられた。14日間の休業によりこれら腎および前胃病変が回復したことから本検体により惹起された変化は可逆性のものと考えられた。

以上の結果から、本実験条件下におけるDPAの無影響量は111 mg/kg/dayと考えられた。

今回の検索では、その原因までは追求できなかったものの長期投与試験で観察された成長抑制、貧血、腎病変が確認されており、28日間反復投与試験は慢性毒性試験の結果予測や最大安全量の推定に有力な資料を提供するものとする。

rats treated with DPA

14 days recovery test (mg/kg)	
1000	0
6	6
149±5.8**	164±6.1
1.85±0.05 (1.24)*	1.85±0.05 (1.13)
0.010±0.002 (0.007)	0.012±0.002 (0.007)
0.34±0.03 (0.23)*	0.33±0.04 (0.20)
0.29±0.02 (0.19)*	0.28±0.04 (0.17)
0.48±0.04 (0.32)*	0.47±0.04 (0.29)
0.25±0.02 (0.17)*	0.24±0.02 (0.15)
0.59±0.05 (0.40)*	0.56±0.02 (0.34)
0.49±0.02* (0.33)**	0.40±0.03 (0.24)
4.70±0.19* (3.15)**	4.31±0.29 (2.63)
0.024±0.003 (0.016)	0.024±0.003 (0.014)
0.025±0.003 (0.017)	0.024±0.005 (0.015)
0.59±0.03* (0.40)**	0.53±0.05 (0.32)
0.58±0.03 (0.39)**	0.54±0.06 (0.33)

Table 5. Summary of histopathological findings in male and female rats treated with DPA

Findings	28 day dosing test (mg/kg)				Recovery test (mg/kg)	
	1000	333	111	0	1000	0
Kidney						
Tubular degeneration and/or necrosis	± ~ ++	- ~ ±	-	-	-	-
Tubular dilatation with or without protein cast	- ~ +	-	-	-	-	-
Bone marrow						
Hyperplasia	+	-	-	-	-	-
Spleen						
Congestion	± ~ ++	-	-	-	-	-
Extramedullary hematopoiesis	± ~ +	-	-	-	-	-
Forestomach						
Mucosal hyperplasia	- ~ +	-	-	-	-	-
Erosion	- ~ +	-	-	-	-	-

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

文 献

- 1) P. K. Griswold, Jr. *et al.*: *Cancer Res*, 26, 619 (1966)
- 2) J. O. Thomas, *et al.*: *Stanford Med. Bull*, 15, 90 (1957)
- 3) J. O. Thomas, *et al.*: *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 10, 362 (1967)

BrdU 免疫組織化学およびランタン・トレーサー法による
1,3-dinitrobenzene の精巣毒性の病理学的解析

篠田和俊・岡宮英明・今沢孝喜・古川文夫
豊田和弘・佐藤秀隆・高橋道人

Application of BrdU-immunohistochemistry and Lanthanum-tracer
Methods to the Pathological Evaluation of
1,3-Dinitrobenzene Testicular Toxicity

Kazutoshi SHINODA, Hideaki OKAMIYA, Takayoshi IMAZAWA,
Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO
and Michihito TAKAHASHI

The pathogenesis of 1,3-dinitrobenzene (1,3-DNB)-associated testicular toxicity was investigated in Sprague-Dawley rats with 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) immunohistochemistry and lanthanum-tracer methods as well as routine histopathological examination. Animals were killed at 8, 12, 24, 48 and 96 hr after a single oral administration of 1,3-DNB at a dose of 25 mg/kg. Histopathologically, severe alterations in the testes such as degenerating pachytene spermatocytes and giant cell formation were observed by 24 hr. Immunohistochemical analysis revealed no differences in the distribution of BrdU-positive cells between treated and control rats throughout the experiment. Thus it was concluded that 1,3-DNB exerted no effects on DNA synthesis in spermatogonia and preleptotene spermatocytes. Using the lanthanum-tracer method, it was shown that although lanthanum could penetrate the intercellular space from the basement membrane, the tight junction, consisting of fusions of contiguous Sertoli cell membranes, prevented further diffusion in both control rats and those killed at 8 hr after dosing. On the other hand, at 24 hr after dosing, lanthanum penetrated into the adluminal compartment beyond the tight junctions, thus demonstrating loss of integrity of the blood-testis barrier. The results suggested that the Sertoli cell is the primary target of 1,3-DNB testicular toxicity.

(Received May 31, 1989)

はじめに

1,3-dinitrobenzene(1,3-DNB) は染料、爆薬等の合成や、プラスチック工業において広く用いられるニトロ化合物で、ヒト¹⁾ および動物²⁾ においてメトヘモグロビン血症や、それに続発する貧血などを生じることが知られている。また、近年ではラット精巣に対する障害性についても報告³⁻⁷⁾ されている。

精巣毒性を惹起する化学物質は数多く知られており⁸⁻¹⁰⁾、その障害機序から、内分泌系に作用するもの、精細管上皮への直接作用によるもの、循環障害を介するものなどに大別されている。1,3-DNB による障害機序については、セルトリ細胞に対する影響が示唆されているが⁴⁾、明らかにはなっていない。今回、通常的光顕、電顕検索のほか、DNA 合成の指標となる 5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU) による免疫組織

化学ならびに細胞間結合の観察に使われる電顕ランタン・トレーサー法を用いて 1,3-DNB の毒性発現機序を経時的に検索し、併せてこれらの手法の、精巣毒性の病理学的解析における有用性についても検討を行った。

実験材料と方法

実験には9週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットを用いた。1,3-DNB(Sigma 社製) はオリーブ油に溶解(0.5% w/v) し、25 mg/kg b.w. の用量で単回強制胃内投与を行った。対照として無処置群を設けた。投与後 8, 12, 24, 48, 96 時間目に各々 3~8 匹をエーテル麻酔下にて放血屠殺後剖検し、精巣を摘出して以下の組織検索に供した。

1. 病理組織学的検索

光顕検索：精巣をブアン液にて固定し、パラフィン

切片を作製し、HE ならびに PAS 染色を施し病理組織学的に検索した。

電顕検索：精巣を燐酸緩衝液 (0.1M, pH 7.3) にて調製した 2.5% グルタルアルデヒド溶液により注入固定し、細切後、同液にて 2 時間浸漬固定し、2.0% オスミウム酸溶液による後固定を行った。常法に従いエボン切片を作製後、酢酸ウラン-クエン酸鉛の二重染色を施し、透過型電子顕微鏡 (JEOL-1200EX) にて鏡検した。

2. BrdU 免疫組織化学

一部の動物は屠殺 2 時間前に BrdU (Sigma 社製) を 40 mg/kg の用量で腹腔内に投与し、精巣摘出後、一方を 70% アルコール、他方を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン切片を作製後、細胞増殖検出キット (Amersham 社製) を用いて免疫組織化学的に染色した。また、ヘマトキシリンによる核染色も併せて行った。

3. ランタン・トレーサー法

Neaves¹¹⁾ の方法に準じて行った。一部の精巣は注入固定することなく細切し、1.0% 硝酸ランタンを含むカコジル酸緩衝液 (0.1M, pH 7.8) で調製した 2.0% グルタルアルデヒド溶液にて氷水中で 5 時間固定後、同緩衝液中に一晩浸漬し、同濃度の硝酸ランタンを含む 2.0% オスミウム酸で 8 時間の後固定を行った。常法に従いエボン切片を作製後、酢酸ウラン-クエン酸鉛の二重染色を施し、透過型電子顕微鏡にて鏡検した。

結 果

一般症状では投与後 6 ないし 8 時間で顕著なチアノーゼを呈したが、ほぼ 24 時間後には回復した。剖検ではいずれの時期においても脾臓の暗色化と腫大がみられたが、肉眼的に精巣を含め他の臓器には著変を認めなかった。

通常の光顕検索では、1,3-DNB 投与後 8 時間においてはほとんど変化を認めなかったが、12 時間後 (Fig. 1) では Stage VII~XII に相当する精細管において厚糸期の精母細胞が好酸性を増し、セルトリ細胞の胞体が不明瞭であった。24 時間後 (Fig. 2) においては、核膜がなく染色体様の構造をもつ、精母細胞由来と思われる巨細胞が認められ、さらに、48 時間 (Fig. 3) および 96 時間後では、前者とは異なり、明瞭な核膜に囲まれた核を数個有する初期の精子細胞に由来すると思われる巨細胞が認められた。また、ほぼ Stage IX~XIV~I に相当する精細管においては精上皮中層の細胞が消失し、セルトリ細胞は胞体が著しく

不明瞭であった。一方、投与後いずれの時期においても、精祖細胞ならびに合糸期までの精母細胞には著変を認めなかった。

電顕検索においては、投与後 8 時間に一部の精細管でセルトリ細胞に軽度の空胞形成が散見され、12 時間後 (Fig. 4) では変性過程にある精母細胞がみられたが、他の造精細胞にはほとんど変化を認めなかった。24 時間後では、セルトリ細胞は著しく空胞化し、細胞内小器官の変性も顕著であった。

BrdU の免疫組織化学では、アルコール固定標本がホルマリン固定標本よりも良好な染色性を示した。Fig. 5 に無処置動物における BrdU 投与後 2 時間の陽性細胞の分布を示した。陽性細胞の出現は精細管の Stage の相違によって明瞭な差を認め、陽性細胞は精祖細胞および前合糸期の精母細胞であった。1,3-DNB の投与群においては、投与後いずれの時期にも陽性細胞の分布に無処置群と差を認めなかった。

ランタン・トレーサー法による検索では、微細構造の保持は良好であり、加ランタンによっても固定効果にはほとんど影響はみられなかった。通常の方法により作製した無処置動物の電顕像 (Fig. 6) と比べてランタン・トレーサー法 (Fig. 7) では、ランタン粒子の侵入により基底部の細胞境界が明瞭であった。

無処置動物 (Fig. 7) では、ランタンは基底側から細胞間隙に沿って精細管中に侵入していたが、隣接するセルトリ細胞の細胞膜の融合により形成されている tight junction においてそれ以上の侵入は阻止され、傍腔区画には認められなかった。一方、1,3-DNB 投与動物においては、投与後 8 時間 (Fig. 8) ではランタンの細胞間隙への侵入は無処置動物と差を認めなかったが、24 時間後 (Fig. 9) においては、一部の精細管でランタンはセルトリ細胞間の tight junction を越えて精子細胞周囲にまで侵入していた。

考 察

Hess 等³⁾ は 1,3-DNB 単回投与によるラット精巣の形態変化を光顕にて詳細に検索し、厚糸期の精母細胞の変性や巨細胞の出現等を報告している。また、Blackburn 等⁴⁾ は、ラットでの電顕検索から 1,3-DNB の投与による初期変化として Stage VII~XI の精細管のセルトリ細胞に空胞化を認め、セルトリ細胞が 1,3-DNB の標的細胞である可能性を示唆している。一方、Foster 等⁵⁾ はラット精巣の初代培養系を用いて 1,3-DNB の影響を検討し、1,3-DNB を培養系に添加することにより *in vivo* でみられるようなセルトリ細胞の空胞化や精細胞の剝離を認めている。また、

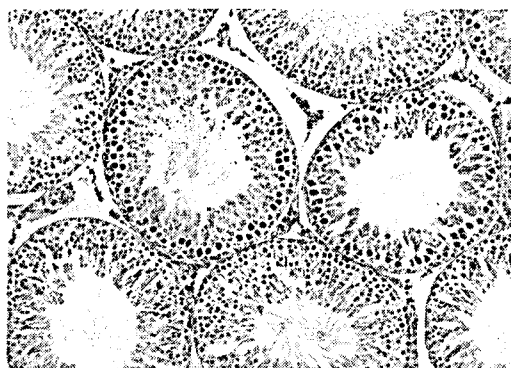


Fig. 1. Seminiferous tubules from a rat 12 hr after dosing; Note degenerating spermatocytes with increased cytoplasmic eosinophilia and Sertoli cells whose outlines are obscure; H & E stain $\times 33$

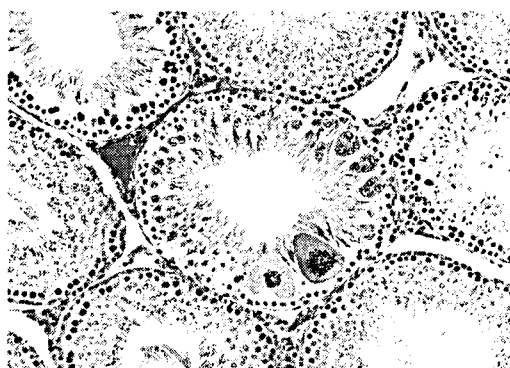


Fig. 2. Seminiferous tubules from a rat 24 hr after dosing; Note giant cells demonstrating condensed chromosome-like structures, probably derived from pachytene spermatocytes; H & E stain $\times 40$

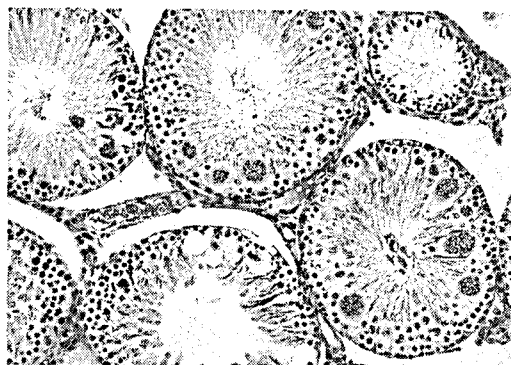


Fig. 3. Seminiferous tubules from a rat 48 hr after dosing; Note giant cells with multiple nuclei, probably derived from early spermatids; H & E stain $\times 40$

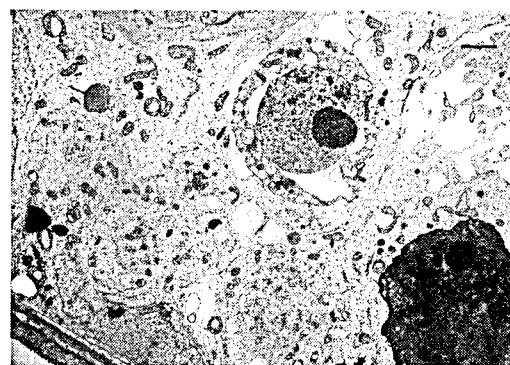


Fig. 4. Electron micrograph from a rat 12 hr after dosing; Note necrotic spermatocytes and cytoplasmic vacuolation in the Sertoli cells; Bar $2 \mu\text{m}$

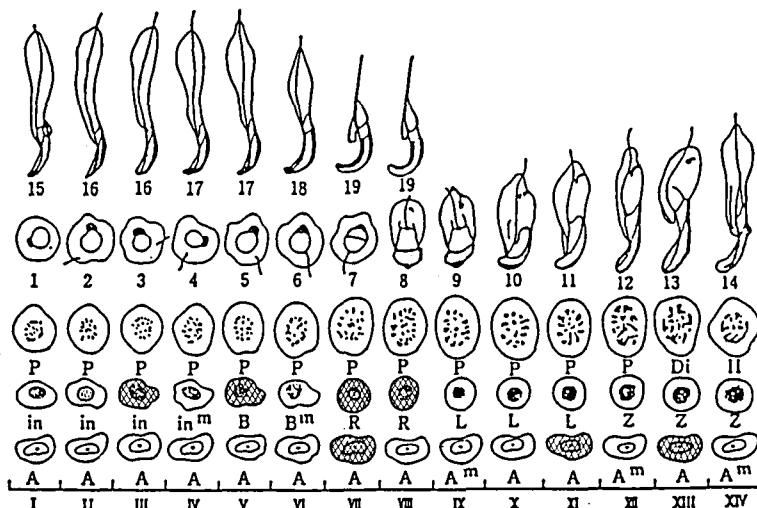


Fig. 5. Scheme of distribution of BrdU-positive cells 2 hr after BrdU injection; This drawing illustrates cellular composition in the 14 stages of the spermatogenesis cycle, and cells indicated by cross hatches are BrdU-positive (modified from ref. 20). There were no differences in distribution of BrdU-positive cell between control and treated rats throughout the experiment.

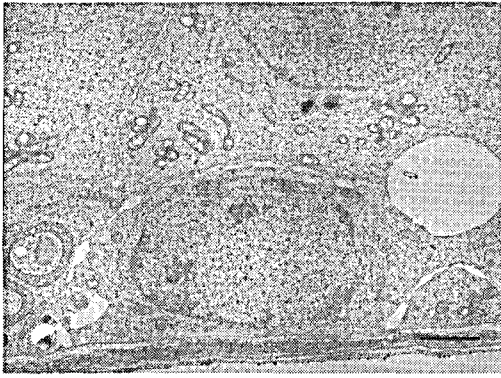


Fig. 6. Electron micrograph (routine method) of spermatogonium and Sertoli cells from an intact rat; Bar 2 μ m



Fig. 7. Electron micrograph (lanthanum-tracer method) from an intact rat; Bar 2 μ m

Lanthanum particles have penetrated the intercellular cleft around a spermatogonium, but stop abruptly at the tight junction between Sertoli cells



Fig. 8. Electron micrograph (lanthanum-tracer method) from a rat 8 hr after dosing; Bar 2 μ m

Lanthanum particles have not diffused beyond the tight junctions

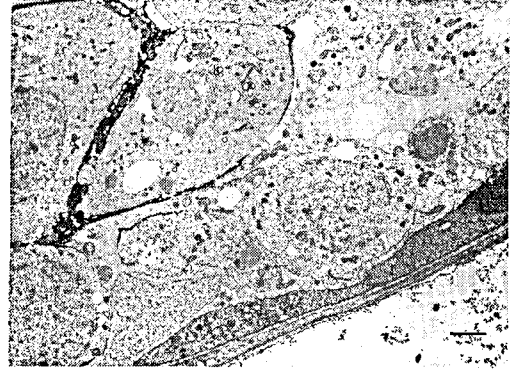


Fig. 9. Electron micrograph (lanthanum-tracer method) from a rat 24 hr after dosing; Bar 2 μ m

Lanthanum particles have penetrated into the adluminal compartments (around spermatids) through the tight junctions

彼らはセルトリ細胞が1,3-DNBを脱ニトロ化することも示し、その代謝産物が精巣毒性の原因となっているのではないかと推測している。しかし、いずれの報告においても1,3-DNBの障害機序を明らかにするには至っていない。

今回、我々はBrdU免疫組織化学およびランタン・トレーサー法を用いて1,3-DNBの精巣毒性の発現機序を検討し、BrdU免疫組織化学の結果から、1,3-DNBは造精細胞のDNA合成に対して影響がないことを、また、ランタン・トレーサー法の結果からは、1,3-DNBにより血液-精巣関門が破綻することを示した。血液-精巣関門の保持はセルトリ細胞の重要な機能の一つで、隣接するセルトリ細胞間に存在する特

殊な密着結合(tight junction)により形成されており、精子発生におけるホルモン環境の保持、造精細胞の障害因子の暴露からの保護、精子抗原の自己免疫系からの隔絶等に重要な役割を持つと考えられている¹²⁻¹⁴⁾。一般にセルトリ細胞は種々の障害因子に対して極めて耐性であり¹²⁾、そのため血液-精巣関門も物理的/化学的障害や、種々の病変に対してほとんど影響を受けないとされているが¹³⁾、今回の検索で血液-精巣関門の破綻が認められたことから、1,3-DNBはセルトリ細胞を直接、障害することが示唆された。また、光顕および電顕検索では血液-精巣関門の外側(基底区画)に存在する造精細胞にはほとんど変化を認めず、精祖細胞、および前細糸期精母細胞のDNA合成にも影

響がみられなかったことから、厚糸期以降の精母細胞の変性や巨細胞の形成はセルトリ細胞の障害に伴った二次的な変化であると思われる。

ところで、精巣に対する薬物等の毒性を検索する場合、通常の光顕あるいは電顕検索では病変を的確に把握したり、障害機序を推定するには不十分であることが少なくない。この理由として精子発生の各段階において造精細胞の物質代謝が多様に変化し、毒性物質に対しても種々な感受性を示すことや¹⁵⁾、血液-精巣関門の存在といった精巣の臓器としての特殊性があることが推測されるが、このため簡便で、かつ有用な検索手法が必要であると考えられる。

今回検索に用いた BrdU 免疫組織化学は細胞増殖を検出する手法で、発癌研究では前癌病変の DNA 合成の検出などに汎用されているものの¹⁶⁾、通常の毒性試験の評価手法としてまだ用いられることが少ない。精巣では体細胞分裂前 (premitotic)、減数分裂前 (premeiotic) の DNA 合成が常に繰り返されており¹⁷⁾、本法を精巣毒性の解析に適用することは意義のあることと思われる。BrdU 免疫組織化学による検索は、ある種の抗癌剤のような DNA 合成に影響を与える薬物の精巣毒性の検出により有用であると考えられ、さらには精上皮の細胞動態を検索する上でも応用が期待できるものと思われる。

一方、ランタン・トレーサー法は細胞間結合の観察に用いられ^{18,19)}、精巣においては実験的精管結紮モデルの形態検索に応用された報告¹¹⁾はあるが、毒性試験で適用された例は少ない。今回用いた方法はランタン溶液を添加した固定液による浸漬固定であり、ランタンの血管内注入等の特別な手法を用いることなく実施できるため毒性試験における精巣のルーチンの電顕検索に十分に利用可能であると思われる。精巣のランタン・トレーサー法による検索は、今回の検索で示したように、薬物のセルトリ細胞に対する障害性を検出する際に有用であると考えられた。

結 語

1,3-DNB による精巣毒性の発現機序を BrdU 免疫

組織化学およびランタン・トレーサー法を用いて検討した。ランタン・トレーサー法の結果から、1,3-DNB はセルトリ細胞を障害し、血液精巣関門が破綻することが明らかとなった。また、BrdU 免疫組織化学の結果からは、1,3-DNB は造精細胞の DNA 合成には影響がないことが示された。

文 献

- 1) N. Ishihara *et al.*: *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **36**, 161 (1976)
- 2) V. Facchini *et al.*: *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 931 (1981)
- 3) R. A. Hess *et al.*: *J. Androl.*, **9**, 327 (1988)
- 4) D. M. Blackburn *et al.*: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **92**, 54 (1988)
- 5) P. M. D. Foster *et al.*: *Toxicol. in vitro*, **1**, 31 (1987)
- 6) S. D. Perreault *et al.*: *J. Androl.*, **9**, 317 (1988)
- 7) R. E. Linder *et al.*: *J. Toxicol. Environ. Health*, **19**, 477 (1986)
- 8) S. D. Schrag, R. L. Dixon: *Reproductive Toxicology*, p. 301 (1985), Raven Press, New York
- 9) F. Neumann: *Arch. Toxicol.*, Suppl. **7**, 109 (1984)
- 10) R. L. Dixon, J. L. Hall: *Principles and Methods of Toxicology*, p. 107 (1982), Raven Press, New York
- 11) W. B. Neaves: *J. Cell Biol.*, **59**, 559 (1973)
- 12) D. W. Fawcett: *Hand book of physiology: Endocrinology V*, p. 21 (1975), American Physiological Society, Washington DC
- 13) 熊本悦明ら: *代謝*, **16**, 425 (1979)
- 14) 奥村克彦: *トキシコロジーフォーラム*, **7**, 599 (1984)
- 15) 大橋輝久ら: *日本内分泌学会誌*, **62**, 279 (1986)
- 16) 立松正衛ら: *トキシコロジーフォーラム*, **11**, 269 (1988)
- 17) 西宗義武: *代謝*, **16**, 433 (1979)
- 18) 水平敏知: *医学・生物学領域の電子顕微鏡操作マニュアル*, p. 227 (1986) 講談社
- 19) 松本 明: *電子顕微鏡的研究の実際*, p. 124 (1979) 近代出版
- 20) B. Perey *et al.*: *Amer. J. Anat.*, **108**, 47 (1961)

エトキシキン投与による腎石灰化および腎結石の分析型電子顕微鏡
による解析：(超微形態学的観察ならびに元素分析)

今沢孝喜・豊田和弘・篠田和俊・岡宮英明・古川文夫
今井田克己・高橋道人・林 裕造

Analysis of Renal Calcification and Stone Formation in Rats
Treated with Ethoxyquin Using X-Ray Analytical
Scanning Electron Microscopy: Ultrastructural
Observations and Element Analysis

Takayoshi IMAZAWA, Kazuhiro TOYODA, Kazutoshi SHINODA,
Hideaki OKAMIYA, Fumio FURUKAWA, Katsumi IMAIDA,
Michihito TAKAHASHI and Yuzo HAYASHI

Rat renal calcification and stone formation were investigated using a JEOL-JSM840A scanning electron microscope (SEM) equipped with a LINK-QX200J energy dispersed X-ray detector (EDX).

Male Wistar rats were treated with 100 ppm N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in the drinking water or 10% NaCl in the diet for 8 weeks, and subsequently administered a dietary supplement of 0.1% ethoxyquin (EQ) for 32 weeks. An additional group received the EQ treatment alone.

Calcification and stones were observed from the renal papilla to the pelvis region in all EQ treated groups. The incidence and grade of the lesion in the combined treated groups were much more greater than in the group treated with exposed to EQ alone. Ultrastructurally, microvilli on the surface of the renal papilla cells appeared degenerated or disappeared completely in the treated groups.

Chemical element analysis of the renal stones revealed P and Ca to be the primary constituents. They were therefore considered to be of hydroxyapatite type.

(Received May 31, 1989)

はじめに

腎実質内の石灰沈着および尿路での結石形成を来す原因として尿中へのカルシウム (Ca) 塩類排泄の増加にともない、尿成分の一部が析出、結晶化し、増大することが考えられているが、そのうち腎杯、腎盂で形成される結石を腎結石と呼んでいる。ヒトにおける腎結石の原因としては、腸よりの Ca 吸収の増加 (サルコイドーシス, 特発性高 Ca 血症, ビタミン D 過剰症等) や骨よりの脱 Ca の亢進 (悪性腫瘍の広範な骨転移, 上皮小体機能亢進, 骨の石灰脱失をおこすような代謝性疾患等) などがある¹⁾。

一方、毒性試験においても、用いた実験動物の腎乳頭部から腎盂にかけての石灰化あるいは結石はしばしばみられる病変であるが、その発生要因についてはまだ不明な点も多い。

我々は抗酸化剤としてゴムの変質防止剤や飼料添加

物に用いられているエトキシキンがラットの2段階胃発癌モデルにおいて発癌促進作用を有することを報告しているが²⁾、その際、強度の腎乳頭部壊死とともに腎の石灰化ならびに腎結石が見出された。今回、これらエトキシキンによる腎石灰化と腎結石の超微形態学的特徴とその構成元素の種類を調べる目的で分析型電子顕微鏡 (SEM-EDX) を用いて解析を行った。

実験材料および方法

動物は7週齢の Wistar 系雄ラット (静岡実験動物協同組合より購入) を用い、プラスチックケージに各5匹ずつ収容した。

それを6群に分け、1群 (10匹) は無処置のコントロールで実験終了時まで基礎食として CRF-1 固型飼料を与えた。2群 (10匹) には8週間基礎食を与えた。3群から6群まで8週間イネーション処置を以下の如く行った。3群 (20匹) は飲料水中に 100 ppm

の濃度で N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) を自由摂取させ、4群(20匹)は10%塩化ナトリウム含有固型飼料を、5群(20匹)、6群(10匹)には MNNG+10% 塩化ナトリウムを投与した。イニシエーション処置終了後、2群から5群には1%エトキシキン混合粉末飼料を32週間投与した。6群には基礎食のみを与えた。実験開始後8, 9, 14, 20および38週目に尿の pH を計測し、40週で全生存動物を、エーテル麻酔下で屠殺剖検した。剖検後10%ホルマリン液にて固定後、腎の腎盂を中心に分割し、石灰沈着および結石を確かめた。その結果、結石形成の激しい5群については検索を行わなかった。また、6群は石灰沈着あるいは結石が全く認められず、1群のコントロールと同様のため6群についても行わなかった。今回は光学顕微鏡で認められた石灰沈着と小さな結石に絞った。したがって、比較のための1群と2群から4群まで各群2匹ずつ計8匹の検索を行った。

標本は脱イオン水にて3回洗浄し、アルコール脱水後、臨界点乾燥装置(日本電子, JCPD-5)で作製した。SEM 用試料支持台にカーボンペースト(日本電子)で標本を固定し、真空蒸着装置(日本電子, JEE-4X)により炭素蒸着を行った。

SEM(日本電子, JSM-840A)およびEDX(LINK, 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: 15 kV

試料電流: 1×10^{-8} mA

ワーキングディスタンス: 25 mm

<元素分析>

加速電圧: 15 kV

試料電流: 2×10^{-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。

結 果

実験終了後の生存動物の腎左右のどちらかに石灰化あるいは結石の形成のあるものを含めて発生率は2群から5群ともに80%以上の高頻度でみられたが、1群のコントロールと6群では1例もみられなかった。また、2群から4群で明らかに結石形成と判別できるものは20~35%で、MNNG+塩化ナトリウム処置後エトキシキンを投与した5群では100%の発生率でみられ、2群は最も低く、4群、3群の順であった。

実験開始後8, 9, 14, 20および38週間に尿の pH

を計測したがほとんど差がみられなかった。

次に、腎結石の走査電顕像と元素分析の結果を Fig. 1~12 に示した。なお、元素分析の Fig. において上段は元素分析能力全域でのスペクトルを、下段はその一部を拡大した図である。

Fig. 1, 2 は1群のコントロールのほぼ正常な SEM 像である。Fig. 1 は腎杯の細胞表面である。細胞は平面的で凹凸がみられる。Fig. 2 は腎乳頭部の細胞表面の強拡大像である。細胞の表面全体に無数の小さな突起物が観察されるが、これは微絨毛である。Fig. 3 はコントロールの細胞表面の元素分析結果である。イオウ(S), リン(P), カルシウム(Ca), がわずかにみられ、ナトリウム(Na), マグネシウム(Mg), クロール(Cl) が微量に検出された。

Fig. 4, 5 は2群の1%エトキシキンのみ投与した SEM 像である。Fig. 4 は腎乳頭部細胞表面に附着し

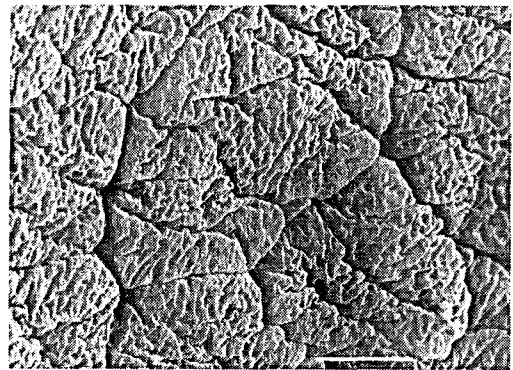


Fig. 1. Scanning electron micrograph demonstrating the normal appearance of the calyx epithelial surface in a control rat.

Bar: 10 μ m (Control)

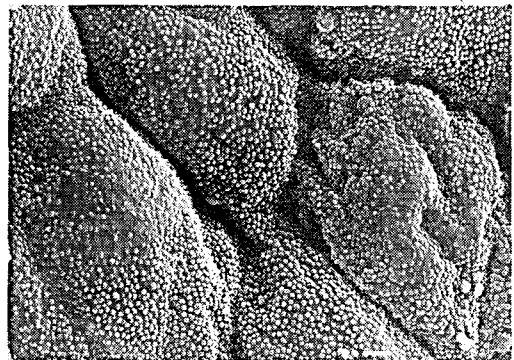


Fig. 2. Higher power view of normal renal papilla cell surface. Note the short microvilli.

Bar: 1 μ m (Control)

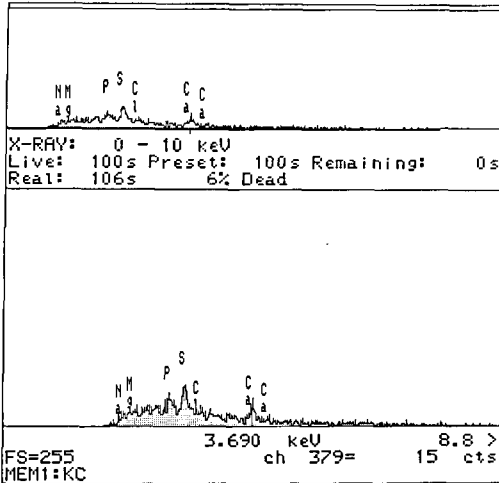


Fig. 3. SEM-EDX spectrograms of papilla cell surface. The seven peaks are Na, Mg, P, S, Cl, Ca ($K\alpha$) and Ca ($k\beta$), respectively. (Control)

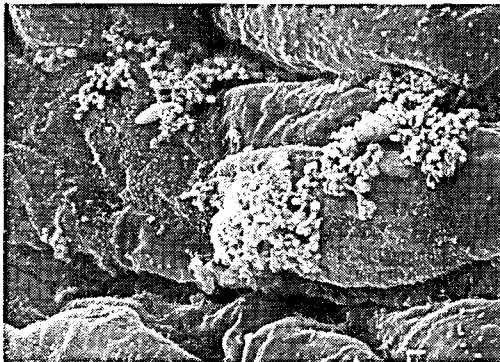


Fig. 4. Scanning electron micrograph of stones on the papilla epithelial surface.

Bar: 1 μ m (1% ethoxyquin diet)

た微細な結石である。細胞表面は微絨毛が部分的に消失し、形態的变化もみられる。Fig. 5は同様に、腎乳頭部にみられた微細な結石と小さな結石である。Fig. 6は2群の微細な結石の元素分析結果である。1群の分析でみられた結果よりも全体にピークは高いが、後述の3, 4群にみられるようなスペクトルではなかった。これは結石に形成される前の石灰沈着のものと思われた。

Fig. 7, 8は3群のMNNG+1%エトキシキン投与のSEM像である。Fig. 7は乳頭部の細胞表面に1 μ mより小さな結石が付着しているのが観察され、細胞表面もコントロール群に比較して形態的に特有の

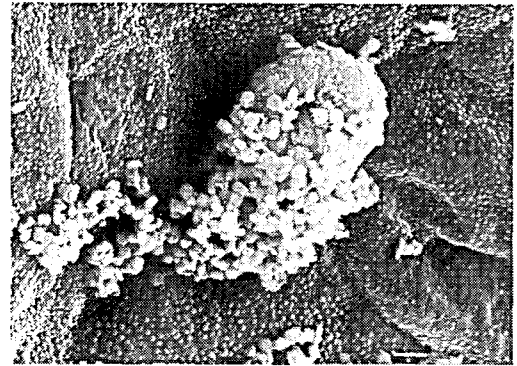


Fig. 5. Scanning electron micrograph of crystalline stones. Note the associated reduction of microvilli the underlying cells.

Bar: 1 μ m (1% ethoxyquin diet)

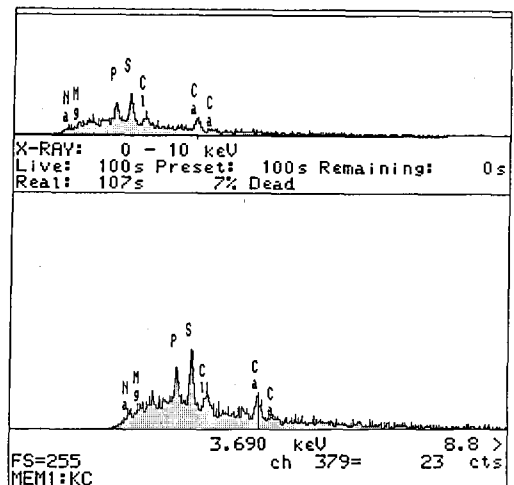


Fig. 6. SEM-EDX spectrograms of stones. The seven peaks are Na, Mg, P, S, Cl, Ca ($K\alpha$) and Ca ($k\beta$), respectively.

(1% ethoxyquin diet)

像を呈している。Fig. 8は腎杯にみられた赤血球を巻き込んだ大きな結石像である。Fig. 9は3群の結石の元素分析の結果である。PとCaのスペクトルが高く、Na, Mg, Sは少量検出された。また、鉄(Fe)がわずかながら検出された。

Fig. 10, 11は4群の10%塩化ナトリウム+1%エトキシキン投与のSEM像である。Fig. 10は腎杯細胞表面に広く赤血球を巻き込んだ結石が付着した像である。また、細胞境界に石灰沈着が観察される。Fig. 11はFig. 10と同様に腎杯細胞表面に付着した結石である。Fig. 12は4群の結石の元素分析結果である。3群とほとんど同様の分析結果である。

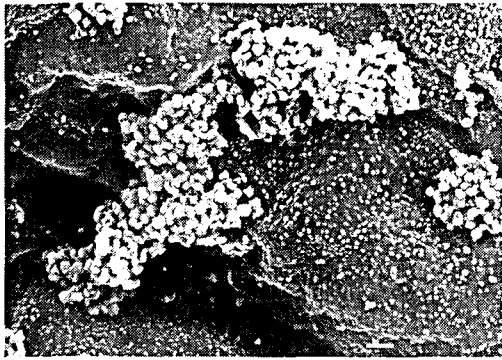


Fig. 7. Scanning electron micrograph of stone clusters on the papilla surface. Note the irregular cell surfaces and partial disappearance of microvilli.

Bar: 1 μ m (MNNG+1% ethoxyquin diet)

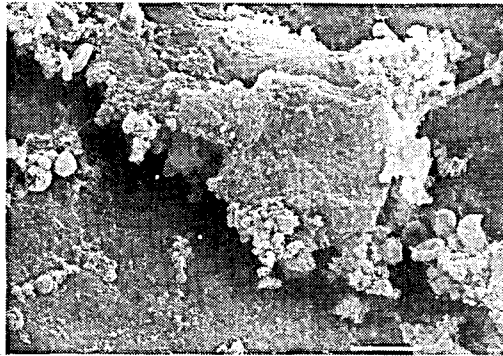


Fig. 8. Scanning electron micrograph of renal stones on the calyx surface. Note adherence of red blood cells to the stones.

Bar: 10 μ m (MNNG+1% ethoxyquin diet)

考 察

ラットに腎の石灰化ならびに腎結石を誘発させ、SEM-EDX を用いて腎乳頭から腎杯、腎盂にかけてその検索を行った。

SEM による形態観察により、石灰化および結石が腎の細胞表面に付着しているのが明瞭で、さらに元素分析により付着していたものの構成成分はPとCaからなることが判明した。また、細胞表面に微絨毛の変化を中心とする形態的变化も認められ、結石形成とかなり深い相関性があると思われた。

エトキシキンが腎の近位尿管に障害を引き起こすことはすでに報告されており³⁾、腎2段階発癌モデルでも発癌促進作用が認められている⁴⁾。最近の報告⁵⁾では、エトキシキンはラット腎の乳頭壊死およびそれ

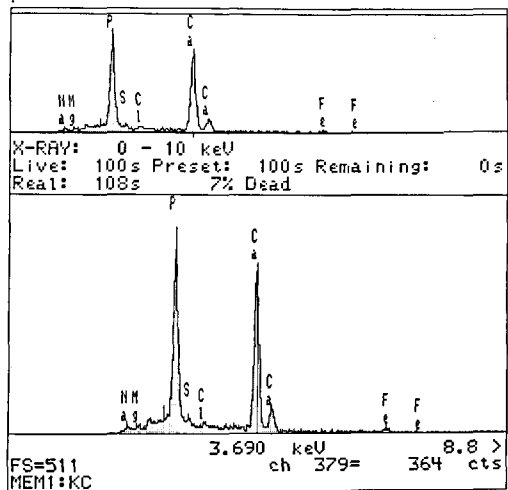


Fig. 9. SEM-EDX spectrograms of renal stones. Two Fe peaks are seen in addition to Na, Mg, P, S, Cl, Ca ($k\alpha$) and Ca ($k\beta$). The peaks for P and Ca are very prominent.

(MNNG+1% ethoxyquin diet)

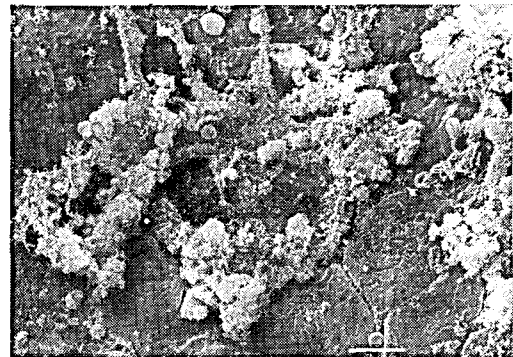


Fig. 10. Scanning electron micrographic overview of renal stones on calyx cell surfaces.

Bar: 10 μ m (10% NaCl+1% ethoxyquin diet)

にもなる石灰化病変の出現に2種類以上の化合物が相乗的に作用して促進することを示している。我々の行った実験でも腎結石形成についてみるとエトキシキンのみ投与した群よりもMNNGあるいは塩化ナトリウムを前処置した群の方が結石形成がより明瞭であった。腎における石灰化病変は皮髓境界の間質にみられるもの、尿細管壊死後に特に皮質にみられるもの、腎乳頭部にみられるものに分けることができ、これらの発生機序もそれぞれ異なることが明らかにされている。皮髓境界型では飼料中のミネラルの量、特にCaとPの比が重要な要因であることが指摘されており、単に高Ca状態が腎の石灰化および結石を促進する条

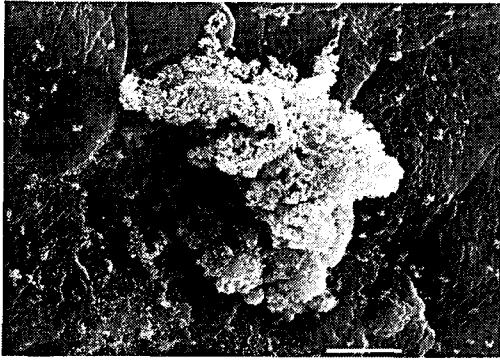


Fig. 11. Scanning electron micrograph of renal stones on the calyx cell surfaces.

Bar: 10 μ m (10% NaCl+1% ethoxyquin diet)

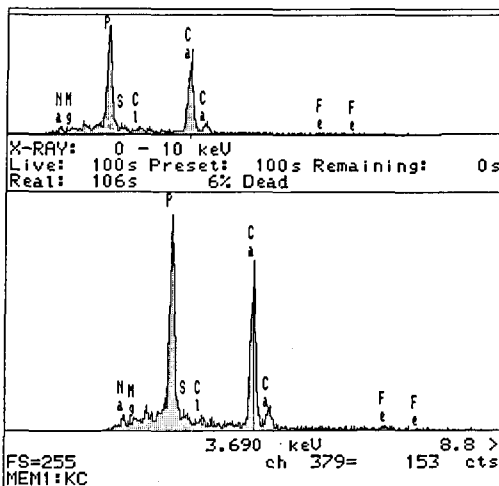


Fig. 12. SEM-EDX spectrograms of renal stones. The peaks for P and Ca are very high. (10% NaCl+1% ethoxyquin diet)

件ではないとされている⁶⁾。腎乳頭部にみられる結石は乳頭壊死が重要であり、石灰化あるいは結石形成は二次的な病変であると考えられているが⁷⁾、その促進作用についてはあまり知られていない。エトキシキン誘発の結石は腎乳頭から腎杯および腎盂にみられ、細胞の微絨毛がおそらく薬物により剝離し消失していた。結石には赤血球がしばしば混入していた。細胞壊死により出血し、赤血球あるいは壊死細胞が結石の核とな

る可能性が考えられた。

元素分析による結果から腎結石の成分はPとCaがほとんどで、Mg, Na, Cl等は微量であった。Feが検出されたのはおそらく赤血球を含んでいるためと思われる。岡宮ら⁸⁾は同様な方法でラットの膀胱結石を分析し、MgおよびPの含量が多い傾向にあると報告しているが、今回検索を行った腎結石はMgをほとんど含まず、Caのピークが非常に高く、自然発生の膀胱結石とはその構成元素が異なることが示された。エトキシキンで誘発された結石の特性なのか、あるいは発生部位によってその構成元素が異なるのかは、今後さらに症例を検討する必要がある。このことから今回検索した腎結石はいずれもリン酸石灰石であることが推定された。このようにSEM-EDXは尿路系の病変、特に腎の石灰化、結石の発生原因を含めた解析にも有用であり、今後ますますその生物分野における応用が期待される。

結 語

ラット腎結石の形成状態についてSEM-EDXを用いて観察およびその構成元素の分析を行った。その結果結石形成のある腎では細胞表面の微絨毛の剝離あるいは細胞の変性が観察された。元素分析からは、PとCaが構成成分の大部分であり、膀胱結石とは異なった結果となった。エトキシキン誘発結石はいずれも同じ構成元素からなり、文献的な考察からリン酸石灰を主成分とする結石と考えられた。

文 献

- 1) 相沢 幹ら：新病理学各論，p.402 (1987) 南山堂
- 2) Takahashi, M *et al.*: *Cancer Letters*, 30, 161 (1986)
- 3) Skaare. JU *et al.*: *Toxicol Appl Pharmacol*, 42, 19 (1977)
- 4) Ito. N *et al.*: *Toxicol pathol*, 14, 315 (1986)
- 5) Shomoji. N *et al.*: *J. Toxicol Pathol*, 1, 185 (1988)
- 6) Phillips. JC *et al.*: *Food Chem Toxicol*, 24, 283 (1988)
- 7) Jones. TC *et al.*: *Urinary System*, p.185 (1986), Springer-Verlag
- 8) 岡宮英明ら：衛生試験所報告，106, 82 (1988)

ラットの上部消化管腫瘍発生におけるビタミンA欠乏の影響

豊田和弘・佐藤元信・佐藤秀隆・古川文夫
今沢孝喜・今井田克己・高橋道人Effect of Vitamin A Deficiency on PNUR-induced Carcinogenesis
in the Rat Upper Digestive TractKazuhiro TOYODA, Motonobu SATO, Hidetaka SATO, Fumio FURUKAWA,
Takayoshi IMAZAWA, Katsumi IMAIDA and Michihito TAKAHASHI

The effects of vitamin A (VA) deficiency on 1-propyl-1-nitrosourethan (PNUR)-induced tumorigenesis in the upper digestive tract were investigated in male F344 rats. Starting at 6 weeks old, animals were given PNUR in the drinking water (200 ppm) for one week, and starting 2 weeks later, were divided into 3 groups (30 rats/group) and maintained on VA-deficient diet, VA-supplemented diet (semipurified diet) or standard diet (CRF-1), respectively. An additional control group (10 rats) was fed VA-deficient diet without PNUR treatment. The experiment was terminated at 41 weeks after the beginning of PNUR administration, and development of tumors in the upper digestive tract was determined histopathologically. Squamous cell tumors were observed in the oral cavity, tongue and forestomach of all PNUR treated groups, while no tumors developed in the control group. Significantly higher incidences of forestomach papillomas were observed in the groups administered VA-deficient or VA-supplemented diets, as compared with that receiving standard diet ($p < 0.01$, $p < 0.05$, respectively). These results thus suggest that the higher incidences of forestomach tumors were probably due to general dietary differences (semipurified vs. standard diets) and not to the VA deficiency per se.

(Received May 31, 1989)

はじめに

ビタミンA(VA)と上部消化管腫瘍発生との関係については、疫学的にVA摂取量が少ないほど、口腔、舌、咽頭、喉頭、食道等、特に扁平上皮における癌の発生が多いこと、また、これらの癌患者においては血漿中のレチノール値が低いことも報告されている¹⁻³⁾。動物を用いた発癌実験においても、VAおよびその関連物質の投与により、舌、頬嚢(ハムスター)、食道、前胃等における腫瘍発生が抑制されたとの報告がみられる^{3,4)}。このように、疫学的にも実験的にもVA欠乏が上部消化管腫瘍発生のリスクを高めることが指摘されているが、実験的にVA欠乏とこれらの腫瘍発生との関係を検索した報告は少ない。

今回我々は、ラットの上部消化管2段階発癌モデルを用い、VA欠乏状態が腫瘍発生のプロモーション過程においてどの様に影響するかを検索した。

実験材料および方法

1. 実験材料

動物は5週齢の雄F344/NSlc系ラット(SPF)100匹を日本エスエルシー社(静岡)より購入し、通常飼料と水道水で1週間馴化飼育した後、無作為に4群に分け実験に供した。動物の飼育はバリエーションシステムの飼育室にて、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数18回/時(オールフレッシュ)、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行った。動物は透明なポリカーボネート製ケージに5匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス社(東京)のソフトチップを用い、週2回交換を行った。

今回、上部消化管腫瘍発生のイニシエーターとして採用した1-propyl-1-nitrosourethan(PNUR)⁵⁾は、東京化成工業社(東京)製のN-Nitroso-N-n-Propylurethanを用いた。

VA欠乏飼料(粉末)とVA添加飼料(粉末)の合成はオリエンタル酵母工業社(東京)に依頼した。

Table 1. Analysis data for vitamin A-supplemented and standard diets

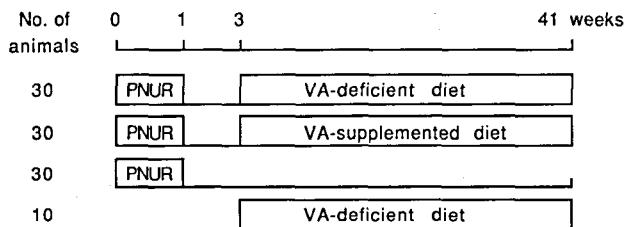
	Vitamin A supplemented diet	Standard diet (CRF-1)		Vitamin A supplemented diet	Standard diet (CRF-1)
[General components / 100 g diet]			[Vitamins / 100 g diet]		
Calories	360 Cal	358 Cal	Vitamin A	1000 IU*	2130 IU
Moisture	9.0 g	8.0 g	Total carotenoid		0.7 mg
Protein	22.5 g	23.2 g	Vitamin B ₁	2.4 mg*	5.1 mg
Fat	6.1 g	5.9 g	Vitamin B ₂	8.0 mg*	3.2 mg
Ash	4.2 g	6.6 g	Vitamin B ₆	1.6 mg*	1.2 mg
Fiber	4.4 g	3.3 g	Vitamin B ₁₂	0.001 mg*	0.011 mg
Nitrogen free extract	53.8 g	53.0 g	Vitamin C	60.0 mg*	17.0 mg
[Minerals / 100 g diet]			Vitamin D ₃	200 IU*	N E
Ca	560 mg	1200 mg	Vitamin E	10.0 mg*	21.0 mg
P	990 mg	870 mg	Vitamin K ₃	10.4 mg*	N E
Na	250 mg	280 mg	Biotin	0.04 mg*	0.0238 mg
K	420 mg	920 mg	Folic acid	0.4 mg*	0.2 mg
Mg	74.9 mg	300 mg	Ca-pantothenate	10.0 mg*	5.2 mg a)
Mn	2.2 mg	7.2 mg	Niacin	12.0 mg*	13.6 mg
Cu	0.57 mg	1.2 mg	Inositol	12.0 mg*	148.0 mg
Fe	27.0 mg	15.8 mg	Choline-CI	400 mg*	380 mg b)
Zn	5.1 mg	5.2 mg	P-aminobenzoic acid	10.0 mg*	N E
Co	N E	< 0.1 mg	* : Additional volume , N E : Not examined		
I	0.46 mg*	N E	a) Pantothenic acid , b) Choline		

Charles River Japan, Inc. (1988), Oriental Yeast Co., LTD

本飼料の原料配合比は、コーンスターチ (38%)、ビタミンフリーカゼイン (25%)、アルファー澱粉 (10%)、セルロースパウダー (8%)、リノールサラダ油 (6%)、ミネラル類 (6%)、グラニュー糖 (5%)、ビタミン類 (2%) である⁶⁾。また、このほかに通常飼料として日本チャールスリバー社 (神奈川) 製の CRF-1 粉末飼料を用いた。VA 添加飼料⁶⁾と通常飼料の主な成分の分析値あるいは添加量を Table 1 に示した。VA 添加飼料は、VA を 1000 IU 添加した飼料であり、VA 欠乏飼料は、VA 無添加の飼料である (両飼料間の違いは、VA 添加の有無のみである)。

2. 実験方法

イニシエーション処置として3群 (各30匹) には 200 ppm PNUR 含有飲料水を1週間自由摂取させ、3週目よりそれぞれ VA 欠乏飼料、VA 添加飼料および通常飼料を38週間自由に摂取させた。残りの1群 (10匹) は対照群として、イニシエーション処置をせずに VA 欠乏飼料のみを同期間自由に摂取させた (Fig. 1)。実験期間中、動物の一般状態を連日観察し、また経時的に体重測定を行った。投与最終日に全動物を一晩絶食させた後、エーテル麻酔下に瀉血、屠殺し、解剖に付した。諸臓器を肉眼的に観察した後、直ちに、鼻腔および口蓋を含む頭部、舌、食道、胃、



Animals : male F344 rats (6 weeks old)

PNUR : 1-propyl-1-nitrosourethan 200 ppm in the drinking water

Fig. 1. Experimental design

十二指腸、肝臓、膵臓、心臓、肺、腎臓、副腎、脾臓および著変を認めた組織を摘出し、10%緩衝ホルマリ

ン液にて固定した。固定後、各臓器および組織を切り出し、通常の方法によりパラフィン包埋後、薄片片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (H & E) 染色を施して、病理組織学的に検索した。また、データの統計処理にはフィッシャーの直接確率法を用いた。

結 果

1. 体重および一般状態

実験期間中の PNUR 処置群の体重推移を Fig. 2 に示した。VA 欠乏飼料投与群では、VA 欠乏飼料の投与開始直後 (4 週目) に一時、体重減少がみられ、その後も VA 添加飼料および通常飼料投与群に比べ軽度の体重増加抑制が認められた。また、イニシエーション処置をせずに VA 欠乏飼料のみを投与した群においても同程度の体重増加抑制が認められた。以上の変化を除けば、各群の動物の一般状態に著変は認めら

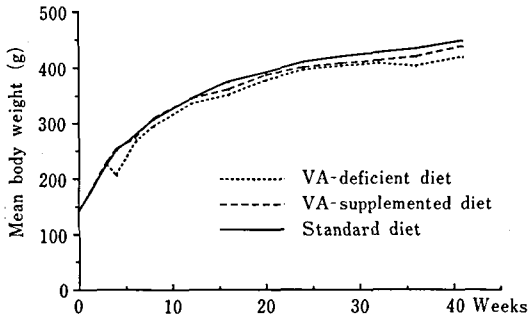


Fig. 2. Growth curves of F344 male rats administered different diets following PNUR treatment

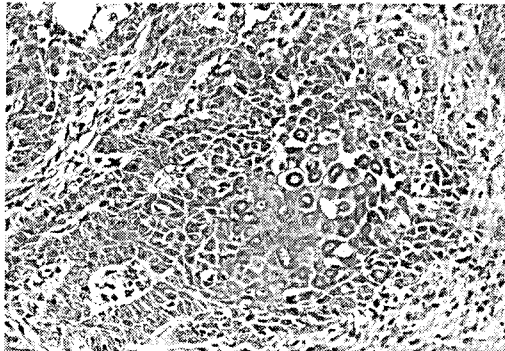


Fig. 3. Squamous cell carcinoma in the oral cavity of a F344 male rat administered VA-supplemented diet following PNUR treatment; H & E stain, $\times 66$



Fig. 4. Squamous cell papilloma of the tongue in a F344 male rat administered VA-supplemented diet following PNUR treatment; H & E stain, $\times 6.6$

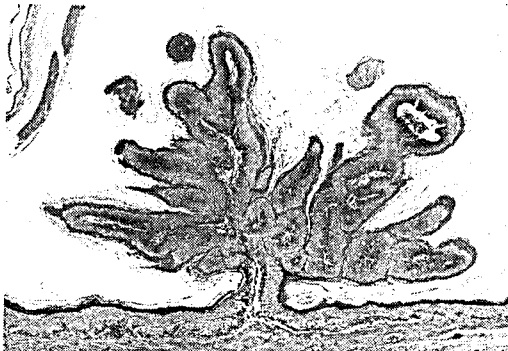


Fig. 5. Squamous cell papilloma of the forestomach in a F344 male rat administered VA-supplemented diet following PNUR treatment; H & E stain, $\times 16$

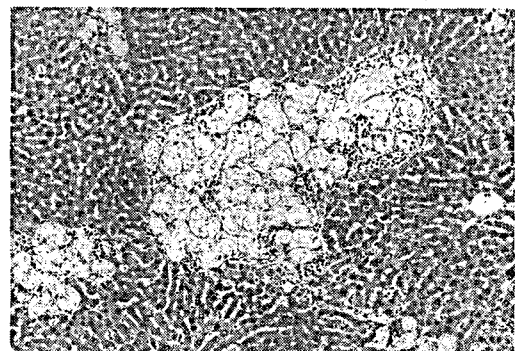


Fig. 6. Bile duct proliferation in the liver of a F344 male rat administered standard diet following PNUR treatment; H & E stain, $\times 33$

れず、全動物が投与最終日まで生存した。

2. 病理学的検索

<肉眼的所見>

解剖時の肉眼的観察の結果、PNURを処置した群において口腔粘膜および前胃に白色の隆起性病変が多く観察されたほか、肺の白色結節および舌の白色隆起性病変が少数例認められた。その他、皮下の充実性腫瘤がPNUR処置後にVA欠乏飼料およびVA添加飼料を投与した群に1例ずつ見られた。イニシエーション処置をせずにVA欠乏飼料のみを投与した群においては著変を認めなかった。

<組織学的所見>

病理組織学的検索の結果、PNURを処置した群の主な所見として、鼻腔の呼吸上皮の過形成および乳頭腫、肺の肺胞上皮の過形成および腺腫、口腔の扁平上皮の過形成、乳頭腫および扁平上皮癌、舌の扁平上皮の過形成および乳頭腫、食道の扁平上皮の過形成、前胃の扁平上皮の過形成および乳頭腫、膵腺房細胞の好塩基性細胞巣、肝臓の小胆管増生、肝細胞の壊死巣お

よび空胞変性、腎盂移行上皮の過形成、腎尿細管の円柱形成および石灰沈着、包皮腺の腺腫、皮下の線維腫等が認められた (Fig. 3~6)。しかし、イニシエーション処置をせずにVA欠乏飼料のみを投与した群では、肝臓の小胆管増生が1例にみられたほかには上記のような所見は認められなかった。

PNURを処置した群の主な病変の発生率をTable 2に示した。有意差検定の結果、VA欠乏飼料あるいはVA添加飼料を投与した群では、通常飼料を投与した群に比べ、前胃乳頭腫の発生率が高く ($p < 0.01$, $p < 0.05$)、肝臓の小胆管増生の発生率が低かった ($p < 0.01$)。そのほか、肝細胞の空胞変性がVA添加飼料を投与した群に多く認められた ($p < 0.05$)。その他の病変の発生率については、各群間に有意な差は認められなかった。

考 察

VA欠乏と前胃腫瘍の発生との関係については、Uma Santhanam らが、diethylnitrosamineを処置

Table 2. Incidences of lesions in F344 male rats administered various diets following PNUR treatment

Histopathological findings	VA-deficient diet (%)	VA-supplemented diet (%)	Standard diet (%)
Nasal cavity			
Hyperplasia	0/30	0/29	1/30 (3)
Papilloma	0/30	0/29	1/30 (3)
Lung			
Hyperplasia	3/29 (10)	4/30 (13)	1/30 (3)
Adenoma	0/29	1/30 (3)	0/30
Oral cavity			
Hyperplasia	15/30 (50)	18/29 (62)	16/30 (53)
Papilloma	3/30 (10)	4/29 (14)	7/30 (23)
Carcinoma	1/30 (3)	1/29 (3)	1/30 (3)
Total tumors	4/30 (13)	5/29 (17)	7/30 (23)
Tongue			
Hyperplasia	1/29 (3)	1/30 (3)	2/29 (7)
Papilloma	0/29	2/30 (7)	2/29 (7)
Esophagus			
Hyperplasia	0/29	0/30	1/30 (3)
Forestomach			
Hyperplasia	10/30 (33)	9/30 (30)	12/30 (40)
Papilloma	11/30 (37)**	9/30 (30)*	2/30 (7)
Pancreas			
Basophilic foci	0/29	0/26	1/29 (3)
Liver			
Bile duct proliferation	8/29 (28)**	11/30 (37)**	30/30 (100)
Focal necrosis	0/29	6/30 (20)	3/30 (10)
Vacuolar degeneration	0/29	8/30 (27)*	1/30 (3)
Kidney (Pelvis)			
Hyperplasia	1/29 (3)	0/30	0/30
Preputial gland adenoma	1		
Subcutaneous fibroma		1	

** , * : Significantly different from standard diet-group at $p < 0.01$ or $p < 0.05$, respectively

した BALB/c および Swiss マウスにおいて、前胃の癌が、VA 欠乏飼料を投与した動物では認められたが通常飼料を投与した動物では認められなかったと報告している⁷⁾。今回の実験においても、VA 欠乏飼料を投与した群では、通常飼料投与群に比べ、前胃乳頭腫の発生率が有意に高かった。しかし、VA 添加飼料投与群においても同様に前胃乳頭腫の発生率の上昇がみられ、この腫瘍発生率の上昇を単純に VA 欠乏の影響であるとは考え難い。また、肝臓に認められた小胆管増生についても、通常飼料投与群に比べ、VA 欠乏飼料および VA 添加飼料投与群で有意に発生率が低く、これらの変化は VA 欠乏の影響ではなく、通常飼料と合成飼料 (VA 欠乏飼料および VA 添加飼料) との違いによるものと考えられる。

両飼料の主な成分については Table 1 に示した如くで、両飼料間の主な違いは合成飼料では通常飼料に比べイノシトール含量が約12分の1に、ビタミン B₁₂ の含量が11分の1に相当する点である。そのほかのビタミン含量、ミネラル含量、一般成分、カロリー量等においては大きな違いは認められず、今回認められた前胃乳頭腫および肝臓の小胆管増生の発生率の違いは、イノシトールあるいはビタミン B₁₂ の影響による可能性が示唆される。

イノシトールは、抗脂肪肝作用を有することで知られており、欠乏によりラットで脂肪肝、発育不良等が引き起こされる。今回の実験においても、VA 添加飼

料を投与した群で、肝細胞の空胞変性が多く認められたが、これがイノシトール摂取量の低下による変化であるかどうかは不明である。また、ビタミン B₁₂ は、その欠乏により悪性貧血、舌炎、胃液無酸症、脊髄障害等を起こすことが知られているが、今回認められた変化との関連性の有無は明らかではない。今後、これらの点につき解明の必要があろう。

今回の実験では前胃以外にも、口腔粘膜、舌等で腫瘍の発生が認められたが、いずれも各群間の発生率に差はみられず、これら上部消化管腫瘍の発生に対する VA 欠乏の影響は認められなかった。

文 献

- 1) B. Middleton, T. Byers *et al.*: *Nutr. Cancer*, 8, 107 (1986)
- 2) A. B. Miller: *Diet and the Aetiology of Cancer*, p. 39 (1989), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg
- 3) M. B. Sporn, A. B. Roberts, D. S. Goodman: *The Retinoids*, Vol. 2, p. 327 (1984), Academic Press Inc., Orlando, Florida
- 4) S. V. Kandarkar, P. D. Potdar, S. M. Sirsat: *Neoplasma*, 31 (4), 415 (1984)
- 5) A. Maekawa, S. Kamiya, S. Odashima: *Gann*, 67, 549 (1976)
- 6) オリエンタル酵母工業(株), *Nutritional Control*, p. 35
- 7) Uma Santhanam, V. S. Lalitha, S. V. Bhide: *Int. J. Cancer*, 40, 784 (1987)

乳酸カルシウムの F344 ラットにおける亜慢性毒性試験

松島裕子・小野寺博志・永岡隆晴・外館あさひ・渋谷 淳
前川昭彦・黒川雄二・林 裕造

Subchronic Oral Toxicity Study of Calcium Lactate in F344 Rats

Yuko MATSUSHIMA, Hiroshi ONODERA, Takaharu NAGAOKA, Asahi TODATE,
Makoto SHIBUTANI, Akihiko MAEKAWA, Yuji KUROKAWA and Yuzo HAYASHI

A subchronic toxicity study of calcium lactate was carried out in male and female F344 rats to estimate the maximum tolerated dose for a subsequent long-term toxicity/carcinogenicity study. Experiment I: Rats were divided into 6 groups, each consisting of 5 males and 5 females. Calcium lactate was dissolved in water at concentrations of 5, 2.5, 1.25, 0.6, 0.3 and 0%, each animal group was given one of these solutions as the drinking water for 13 wk. In all groups, basic diet (CRF-1) was given ad libitum. No fatalities occurred. In all treated groups, including the 5% group, a <10% depression of body-weight gain as compared with the control group was observed. Some parameters in the hematological and biochemical data demonstrated change in the treated groups. On histological examination, however, no severe toxicological findings were found in any of the treated groups. Experiment II: Rats were fed synthetic diet B, containing 30, 20, 10, 5 or 0% calcium lactate. In the highest dose group, body weight-gain was strongly reduced as compared with the control group. Histological examination revealed nephrocalcinosis in all groups, including the control group, and an inverse dose-effect relation was observed with regard to degree of its development. Females exhibited this lesion to a greater extent than males. Experiment III: Rats were given CRF-1 or synthetic diet B for 8 wk. Nephrocalcinosis was found only in the group given synthetic diet. It was ascertained that the nephrocalcinosis observed in Exp. II and III was dependent on the low Ca/P ratio (Ca/P: <1) of the synthetic diet B. From the results of Exp. I, 5% and 2.5% in drinking water were thought to be appropriate dose levels for the long-term toxicity/carcinogenicity study.

(Received May 31, 1989)

食品添加物である乳酸カルシウムは水に可溶性で緩衝性があり、またカルシウムの吸収性が優れていることから、主として栄養強化用カルシウム剤としてパン、菓子、小麦粉、調製粉乳、豆腐、味噌、漬物類に使用されており、その他緩衝剤、膨張剤としてパン、菓子などに用いられている¹⁾。乳酸カルシウムの生産量は、米国では123000ポンド(1970)²⁾、日本では400t、うち食品添加物として使用されている量は100t(1986、日本食品添加物協会調査)である。

乳酸カルシウムの毒性に関してはほとんど文献がなく動物を用いての唯一の論文として、萩原と箱山³⁾はWistar ラットに乳酸カルシウム4.6%飼料を投与したところ、2週間目で毛が黄色く薄くなり、毛がいつも濡れた感じで、3週間目には毛が茶色になり口から出血する等の症状がみられ、著明な体重増加抑制を示したと報告しているが、病理学的所見についての記載はない。またヒトでは10g/250ml水溶液1回投与で

激しい腹痛と嘔吐、下痢を起こし、乳児に6g(10% solution)投与したところ軽い下痢症状を起こしたが嘔吐はみられず、血液生化学的検査で血清カルシウムの大幅な増加、タンパク質の軽度上昇とリンの減少が見られた²⁾との報告がある。乳酸カルシウムの変異原性についてはサルモネラ菌を用いたAmes試験で陰性であった²⁾。

今回我々は乳酸カルシウムの慢性毒性/癌原性試験に先立ち亜急性毒性試験を行ったので報告する。

材料および方法

検体：食品添加物としての乳酸カルシウム・5水塩(2-Hydroxypropanoic acid calcium salt $C_6H_{10}CaO_6 \cdot 5H_2O$ 308.30)〔武蔵野化学研究所(株)〕は白色の粉末または粒で、無臭または僅かに特異な臭いがある。本品の乾燥物換算では乳酸カルシウム97.0~101.0%を含有し、純度試験では、無色澄明、pH 6.0~8.0、重金

属 20 µg/g 以下 (Pb), アルカリ金属およびマグネシウム 1% 以下, ヒ素 4 µg/g 以下 (As₂O₃) であった。

動物: 5 週齢の SPF 雌雄 F344/DuCrj ラット (日本チャールスリバー [株]) を 1 週間飼育馴化後群分けした。

飼育条件: プラスチックケージにホワイトフレックを床敷として用い, セミバリアシステムの動物飼育室で飼育した。

観察および検査: 実験期間の総検体摂取量は飲水量または摂餌量を測定して算出した。体重測定は週 1 回行った。一部試験においては代謝ケージを用いて 24 時間尿を採取し尿検査を行った。生存動物は屠殺時に採血して, 血液学的並びに血液生化学的検査を行うと共に全動物について剖検・肉眼的観察を行った。実験 I においては対照群および最高用量群, また実験 II および III においては全動物について病理組織学的に検索した。

実験 I

乳酸カルシウムは水溶性でかつ安定であるのでイオン交換水に 5, 2.5, 1.25, 0.6, 0.3% の濃度で溶解し飲料水として 13 週間自由摂取させ, 対照群にはイオン交換水のみを同様に与えた。各群共基本食 (CRF1, オリエンタル酵母 [株]) を自由摂取させた。最高用量設定の根拠は, 本品の水への最大溶解度が 5% であることに基づいている。動物は雌雄各 5 群匹ずつを用い, 13 週目に全生存動物を屠殺・剖検した。

実験 II

雌雄各群 10 匹を用い, 乳酸カルシウムを精製飼料標準配合 [B 配合粉末飼料 (オリエンタル酵母 [株])] に 30, 20, 10, 5 および 0% の割合で混入し 20 週間自由摂取させた。雌雄各群 5 匹ずつを実験開始 8 週目に途中剖検し, 残りは 20 週目に屠殺剖検した。

実験 III

雄 20 匹を 2 群に分け, 一方の群には B 配合粉末飼料を, 他の群には CRF1 固型飼料を自由摂取させ, 飲料水としてイオン交換水を自由摂取させた。各群 5 匹を実験開始後 4 週目に屠殺し, 残りは 8 週目に屠殺剖検した。

実験結果

実験 I

雌雄各群に一般状態の異常は認められず, 実験終了の 13 週目まで全例生存した。

体重増加: 雄では 5 および 1.25% 群に軽度の体重増加抑制が見られたが, 増加抑制の程度は対照群の 10% 以内にとどまり, かつ雌では各群間に大きな差は見ら

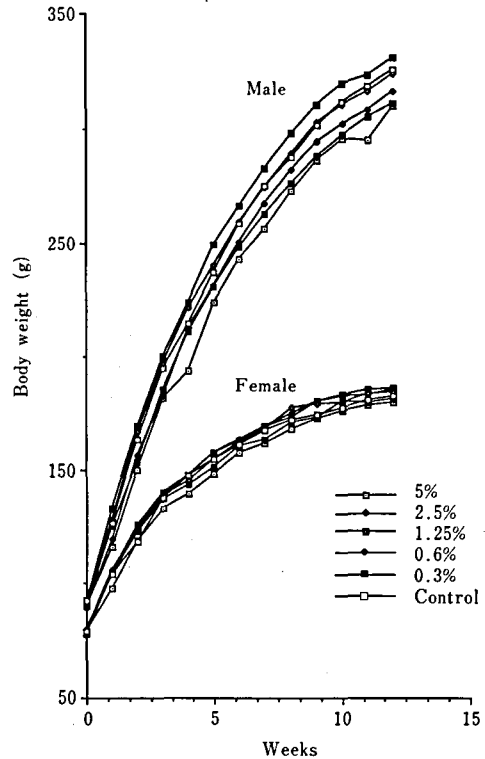


Fig. 1. Growth curves of male and female F344 rats given calcium lactate at 0, 0.3, 0.6, 1.25, 2.5, 5% in drinking water for 13 wk. (Exptl. I)

れなかった (Fig. 1)。

飲料水および検体摂取量: ラット 1 匹における 1 日の平均飲料水摂取量は雌雄 5% 群で対照群の 75%, 雌 2.5% 群が 88% であったが, 他の群は対照群とほぼ同じであった。摂水量より算出した検体総摂取量は用量と相関した。

血液学的検査: 雄で幾つかのパラメーターの変動, 中でも白血球の減少が全投与群でみられたが, 白血球をはじめ全パラメーターの変動において用量相関はみられなかった (Tables 1, 2)。

血液生化学的検査: 雌雄共に幾つかのパラメーターで有意差がみられたが, 雄においては何れも用量相関を伴わない散発的な変動であった。一方, 雌においては, 軽度ではあるが BUN およびクレアチニンの増加等, 腎毒性を疑わせる所見が 0.6% 群以上の群でみられ, また 0.6% 以上の群で LDH の上昇が, 1.25% 以上で GOT の上昇がみられ, 何れにおいてもわずかながら用量との相関がみられた (Tables 1, 2)。

臓器重量: 雄の 5% 群で心臓が対照群に比し有意に低く, 体重比では雄 1.25% 群の脳が有意に低かった。

Table 1. Serum biochemistry and hematology results (Exptl. I, male)

Dose (%) Effective No.	Control 10	0.3 10	0.6 10	1.25 10	2.5 10	5 10
GOT (KU)	94.2 ± 8.9	87.4 ± 10.6	85.6 ± 11.2	167.2 ± 53.3*	83.4 ± 6.7	96.2 ± 4.0
GPT (KU)	28.8 ± 4.3	31.2 ± 2.6	28.6 ± 3.0	27.4 ± 2.9	30.0 ± 3.3	26.2 ± 3.0
LDH (WU)	102 ± 313	512 ± 349*	684 ± 445	847 ± 623	496 ± 211*	1121 ± 166
ALP (KAU)	12.1 ± 0.9	12.1 ± 0.8	12.8 ± 0.6	12.7 ± 0.8	12.6 ± 0.7	13.1 ± 0.6
TTT (SHU)	0.68 ± 0.23	0.64 ± 0.15	0.82 ± 0.21	0.70 ± 0.35	0.84 ± 0.23	0.90 ± 0.27
Total-bil. (mg/dl)	0.44 ± 0.11	0.50 ± 0.15	0.42 ± 0.17	0.48 ± 0.14	0.42 ± 0.14	0.42 ± 0.17
Total-cho. (mg/dl)	56.2 ± 2.2	55.6 ± 3.1	54.8 ± 2.2	58.6 ± 2.1	55.0 ± 4.4	56.0 ± 4.4
TG (mg/dl)	164 ± 29	167 ± 19	156 ± 16	196 ± 29	154 ± 54	169 ± 23
β-Lipo-pro. (mg/dl)	132 ± 24	137 ± 19	124 ± 15	161 ± 29	114 ± 43	137 ± 23
Total-pro. (g/dl)	7.20 ± 0.14	7.30 ± 0.07	7.08 ± 0.08	7.12 ± 0.13	6.96 ± 0.23	6.92 ± 0.13
A/G	1.54 ± 0.05	1.50 ± 0.07	1.54 ± 0.11	1.50 ± 0.07	1.58 ± 0.08	1.58 ± 0.10
BUN (mg/dl)	19.0 ± 1.2	19.2 ± 0.8	19.0 ± 1.0	16.4 ± 2.7	20.0 ± 1.2	21.4 ± 0.9*
Creat. (mg/dl)	0.56 ± 0.05	0.54 ± 0.05	0.48 ± 0.04*	0.56 ± 0.05	0.54 ± 0.05	0.56 ± 0.05
Uric acid (mg/dl)	1.76 ± 0.59	1.54 ± 0.15*	1.52 ± 0.16*	1.72 ± 0.17*	1.84 ± 0.88	1.94 ± 0.25
ZTT (KU)	0.56 ± 0.08	0.50 ± 0	0.56 ± 0.05	0.66 ± 0.11	0.50 ± 0.10	0.64 ± 0.05
γ-GTP (μU/ml)	1.60 ± 0.54	1.60 ± 0.54	1.60 ± 0.54	1.40 ± 0.54	1.40 ± 0.54	2.40 ± 0.89
Ca (mg/dl)	9.90 ± 0.97	11.06 ± 0.37*	10.80 ± 0.07	11.16 ± 0.82	11.54 ± 0.52*	10.74 ± 0.49
Erythrocyte (x10 ⁴ /mm ³)	951 ± 31	975 ± 19	951 ± 31	942 ± 14	943 ± 59	910 ± 76
Leucocyte (x10 ² /mm ³)	95 ± 12	74 ± 15*	47 ± 12**	51 ± 7**	59 ± 5**	60 ± 3**
Hb. (g/dl)	175 ± 3	175 ± 7	164 ± 5**	166 ± 4**	178 ± 9	196 ± 38
Ht. (%)	52.0 ± 1.0	50.8 ± 0.4*	50.6 ± 0.5*	50.8 ± 0.4*	51.3 ± 1.3	52.7 ± 1.3
MCV (μ ³)	496 ± 7	496 ± 8	470 ± 18*	478 ± 9*	484 ± 21	481 ± 31

* : p < 0.05 ** : p < 0.01 Mean ± SD

Table 2. Serum biochemistry and hematology results (Exptl. I, female)

Dose (%) Effective No.	Control 10	0.3 10	0.6 10	1.25 10	2.5 10	5 10
GOT (KU)	74.0 ± 6.7	77.0 ± 7.0	74.4 ± 3.4	85.0 ± 8.3*	88.4 ± 6.2**	90.0 ± 6.0**
GPT (KU)	17.8 ± 2.7	21.6 ± 5.0	21.2 ± 2.6	18.6 ± 5.2	23.4 ± 4.7	24.0 ± 2.9**
LDH (WU)	267 ± 179	473 ± 227	586 ± 221*	880 ± 271**	889 ± 403*	712 ± 232**
ALP (KAU)	8.0 ± 0.8	9.1 ± 1.0	8.0 ± 1.0	8.5 ± 1.4	8.0 ± 0.6	8.3 ± 0.4
TTT (SHU)	0.74 ± 0.13	0.88 ± 0.42*	0.90 ± 0.12	0.66 ± 0.32	0.82 ± 0.23	1.12 ± 0.23*
Total-bil. (mg/dl)	0.58 ± 0.08	0.46 ± 0.18	0.54 ± 0.19	0.62 ± 0.14	0.42 ± 0.13*	0.62 ± 0.16
Total-cho. (mg/dl)	94.4 ± 6.1	92.6 ± 3.8	92.8 ± 4.7	88.4 ± 4.0	90.2 ± 8.0	86.2 ± 4.7*
TG (mg/dl)	114 ± 18	120 ± 35	116 ± 33	110 ± 24	119 ± 14	147 ± 29
β-Lipo-pro. (mg/dl)	96 ± 20	105 ± 36	95 ± 32	91 ± 23	108 ± 20	131 ± 31
Total-pro. (g/dl)	7.02 ± 0.10	7.04 ± 0.16	6.96 ± 0.16	7.16 ± 0.23	7.10 ± 0.12	7.08 ± 0.26
A/G	1.66 ± 0.05	1.64 ± 0.08	1.64 ± 0.08	1.60 ± 0.10	1.62 ± 0.13	1.54 ± 0.23*
BUN (mg/dl)	18.2 ± 0.8	18.6 ± 0.9	19.6 ± 2.1	21.2 ± 1.5**	22.0 ± 1.4**	21.0 ± 4.0
Creat. (mg/dl)	0.46 ± 0.05	0.50 ± 0.10	0.54 ± 0.05*	0.54 ± 0.05*	0.56 ± 0.05*	0.66 ± 0.05**
Uric acid (mg/dl)	1.96 ± 0.15	1.96 ± 0.28	2.16 ± 0.19	2.16 ± 0.08*	2.26 ± 0.40	2.34 ± 0.20*
ZTT (KU)	0.58 ± 0.13	0.64 ± 0.11	0.74 ± 0.18	0.68 ± 0.10	0.70 ± 0.24	0.88 ± 0.13**
γ-GTP (μU/ml)	1.60 ± 0.54	2.20 ± 0.44	2.00 ± 0.70	2.20 ± 0.44	1.80 ± 0.44	2.00 ± 0.70
Ca (mg/dl)	10.48 ± 0.76	10.38 ± 0.81	10.88 ± 0.66	10.06 ± 0.52	10.06 ± 0.50	10.24 ± 0.23*
Erythrocyte (x10 ⁴ /mm ³)	912 ± 24	894 ± 33	907 ± 17	905 ± 12	897 ± 18	916 ± 46
Leucocyte (x10 ² /mm ³)	50 ± 8	58 ± 8	41 ± 6	59 ± 9	49 ± 9	74 ± 10**
Hb. (g/dl)	164 ± 5	161 ± 9	162 ± 4	164 ± 3	161 ± 4	164 ± 11
Ht. (%)	53.6 ± 0.5	54.0 ± 0.7	53.6 ± 0.5	53.6 ± 0.5	53.8 ± 0.5	53.6 ± 0.5
MCV (μ ³)	488 ± 12	482 ± 16	486 ± 8	485 ± 7	482 ± 9	491 ± 24

* : p < 0.05 ** : p < 0.01 Mean ± SD

病理学的所見

1) 肉眼的所見

雌の1.25%群1例の卵巣に嚢胞

2) 病理組織学的所見

リンパ節：5% 群雌雄各1例と対照群雌2例に小肉芽腫，5% 群雌1例にカルシウム沈着，ハーダー氏腺：対照群雌1例に軽度の炎症，肺：雌5% 群および対照群の各1例に血管壁へのカルシウム沈着，5% 群

雄1例に局所性無気肺，5% 群雌の1例に大型細胞の血管内栓塞，心臓：雌5% 群の3例および対照群の全例に局所的な心筋炎，腺胃：5% 群雌雄各2例の幽門部上皮の萎縮，5% 群雌1例に局所的な壊死と2例にビ爛，肝：5% 群雌雄各2例と対照群雌2例雄1例に類洞内および血管周囲への軽度の細胞浸潤，対照群雌1例に局所的な壊死，5% 群雌1例，雌2例および対照群雌雄各2例に小肉芽腫，脾臓：5% 群雌1例と対

照群雌雄各 1 例に腺房細胞の一部萎縮と消失, 5% 群雄 1 例に軽度の臍管周囲炎, 腎臓: 雄 5% 群および对照群全例の尿細管上皮に Eosinophilic body, 对照群雌 3 例の尿細管にカルシウム沈着, 对照群雄 2 例に尿細管再生上皮, 精巣: 5% 群 1 例に精細胞の分裂障害 (巨細胞の出現), 前立腺: 5% 群 2 例の間質に軽度の細胞浸潤, 对照群 1 例に上皮空胞変性, 骨髓: 5% 群雄 5 例 雌 4 例および对照群の雌雄全例に軽度の脂肪髓化が見られた。

実験 II

実験終了の 20 週目まで雌雄とも全例生存した。

体重増加: 雌雄共に最高用量群では実験開始より 4 ~ 8 週目まで体重が減少しその後徐々に増加がみられたが, 20 週目では对照群のほぼ 60% と著明な体重増加抑制を示した。雄においては 20% 群においても有意な体重増加抑制が見られた。

尿検査: 投与 18 週目に代謝ケージにて 24 時間採尿した。尿量は雄で对照群 3 ml に対し 30% 群, 20% 群では約 6 ml と对照群の 2 倍量であった。これに対して雌では全群ほぼ 5 ml であった。尿中のカルシウム濃度 (mg/dl) は 30% 群では雄 138.8 雌 158.8, 20% 群雄 59.0 雌 184.8, 10% 群雄 25.7 雌 40.8, 5% 群雄 17.4 雌 19.0, 对照群雄 8.0 雌 14.2 でありほぼ用量に相関した。

血液生化学的検査: 雌雄投与群で幾つかの検査値に有意の減少がみられたものの用量相関はみられなかった。

病理学的所見: 病理組織学的に, 20 週目の屠殺例で

对照群を含む全群に種々の病変が認められたが, 腎病変を除き, 对照群と投与群の間に差はみられなかった。腎病変としては, 腎尿細管上皮へのカルシウム沈着が雌雄全群にみられたが, その程度は对照群に最も強く, カルシウムの投与量に相関して減少し, また雄よりは雌に強く出現した。沈着部位は皮質と髓質の境界部に最も強くおこり, さらに同部尿細管の変性, 拡張および集合管の変性を伴っていた。これらはいわゆる nephrocalcinosis といわれる病変と一致する所見であった⁴⁾。なおこの腎病変は 8 週目ですでに認められた。Table 3 は 20 週目における体重, 検体摂取量, 尿中 Ca 排泄量, 血清 Ca および尿細管上皮の Ca 沈着の程度および病変をまとめたものである。

実験 III

尿細管へのカルシウム沈着は投与 4 週目ですでに B 配合飼料に強く (廿~卅) 見られたが, CRF1 では (-) であった。

考 察

実験 I において雄の最高用量群での体重増加抑制は对照群の 10% 以内にとどまっていた。血液学および血液生化学的検査においては, 幾つかの検査値に変動がみられ, 特に雌においては腎および肝毒性を示唆する検査値異常がみられたが病理組織学的には腎, 肝をはじめとしてそれら血液学および血液生化学的データを裏づける明瞭な所見は認められなかった。検体投与に起因すると考えられる唯一の病理組織学的所見は腺胃粘膜の局所的なび爛, 壊死および萎縮であった。

Table 3. Body weight, average diet or Ca intake, Ca in urine or serum and histological findings of the kidney in rats (Exple II, 20 wk)

Dose ^(a) (%)	Body weight (g)	Diet intake (g/day/rat)	Calcium			Ca deposit in kidney	Degeneration of the epithel	
			Intake (g/kg/day)	Urine (mg/dl)	Serum (mg/dl)		Proximal tubule	Collecting tubule
Male								
30	192 ± 15 ^(b)	9.7	22.4	138.8*	11.0	~ ± ^(c)	~ +	± ~ ++
20	283 ± 17*	16.6	17.7	59.0**	10.7	~ ±	~ +	± ~ ++
10	323 ± 6	15.6	7.1	25.7**	10.7	±	± ~ +	+ ~ ++
5	357 ± 19	15.2	3.1	17.4*	10.6	+	~ +	+ ~ ++
0	338 ± 18	14.9	-	8.0	10.8	+ ~ ++	± ~ ++	+ + ~ + + +
Female								
30	118 ± 21*	6.2	20.3	158.8**	11.1	~ ±	~ + +	~ + +
20	175 ± 7	9.7	14.4	184.8**	10.7	±	~ +	~ + +
10	190 ± 12	10.7	6.9	40.8*	10.5	± ~ +	~ + +	+ ~ + +
5	184 ± 2	9.2	3.0	19.0	11.0	+ ~ + +	± ~ + +	~ + +
0	184 ± 5	10.8	-	14.2	10.1	+ + + ~ + + + +	+ ~ + +	+ ~ + + +

^(a) 5 rats/dose, ^(b) * p<0.01, ** p<0.001, ^(c) + + + + ~ + + + : Severe, + + : Moderate, + ~ ± : Slight Mean ± SD

この病変は検体の直接刺激作用によるものと考えられ、ヒトへの大量経口投与で消化器症状が見られていることも一致する所見と思われる。しかしながらその変化は最高用量群においてもきわめて軽度であった。

実験Ⅰでは5%群においても明瞭な毒性所見が認められず、かつ飲料水投与では5%が投与可能最大溶解量であるため、より高用量投与による乳酸カルシウムの毒性を検討するために混餌投与による実験Ⅱを行った。混餌投与においては5%以上の濃度に検体を添加すると栄養上支障が起こることが指摘されているため精製粉末飼料を用いて実験を行った。その結果、全群に腎尿細管上皮へのカルシウム沈着を主体とする著明な腎障害(nephrocalcinosis)がみられ、その程度は用量と逆相関し、また雌により強くみられた。実験的に nephrocalcinosis の起こる原因は飼料中のカルシウムとリンの比率が重要であり⁵⁾、Ca/P比が1より小さいとき誘発され、1より大きい時は出現しない⁶⁾とされ、またエストロゲン⁷⁾、飼料中の蛋白や脂肪^{8,9)}、炭水化物¹⁰⁾、マグネシウムの含有量、年齢⁵⁾等多くの要因の関与が挙げられている。Galloway は体重の伸びや石灰沈着の有無を考慮し、飼料中ミネラルの至適比率をCa:P:Mg=3:1:2と報告している⁵⁾。今回の実験でもちいた飼料中のミネラル含有量(mg/100g飼料)はCRF1でカルシウム(Ca)1200、リン(P)870、マグネシウム(Mg)300(Ca/P=1.33)であったのに対し、B配合飼料ではCa560、P990、Mg74.9(Ca/P=0.57)とB配合飼料のCa対Pの比率は1より小さく、Mgの含有量も低かった。これらの事より、実験Ⅱにおける対照群での高率な腎障害はこの低いCa/P比およびMg量に起因し、投与群で用量と相関して腎障害の抑制がみられたのは、乳酸カルシウムの添加によるCa/P値の上昇によるものと考えられる。B配合飼料による腎障害を再検討するためにおこなった実験Ⅲにおいて、腎障害はCa/P値の高いCRF1投与群には見られなかったこともこれまでの結果と一致していた。実験ⅠおよびⅡの5%群における検体摂取量(カルシウム, g/kg/day)を比較すると実験Ⅰでは雄3.68, 雌3.74, 実験Ⅱでは雄3.1, 雌3.0であり、雌雄共に飲水で投与した方が僅かにカルシウムを多く摂取していた。しかしながら、実験Ⅰではnephrocalcinosisがまったく見られなかったのに対し、実験Ⅱでは5%群を含む全群で同病変がみられており同病変の発生がカルシウム量ではなくリンとの比率(Ca/P比)に起因する事実と一致する。nephrocalcinosisが雌により強くみられたことは、その発生にCa/P値だけでなくestrogenが関与していると考

えられ、nephrocalcinosisの発生は卵巣摘出で軽減され、その後のestrogen投与で再び増強するという報告とも一致する⁷⁾。一方、Chow¹¹⁾は飼料中のカルシウムの増加は血清カルシウム値に影響しないが、血清リンの濃度を下げ、Phillips^{12,13)}は、飼料中のカルシウム濃度を上げて余剰なカルシウムは尿、糞便中に排泄してしまうことを報告している。今回の実験ⅠおよびⅡにおいて、何れも多量のカルシウムが投与されたにもかかわらず、血清カルシウム値には大きな変動がみられず、また投与量に相関して尿中へのカルシウム排泄がみられたことはこれらの文献と一致する結果である。

以上の結果より、慢性毒性/癌原性試験のための用量設定は実験Ⅰに基づき、体重増加抑制が対照群の10%以内にとどまり、病理組織学的にも乳酸カルシウム投与による毒性学的所見がほとんど見られなかった5%を最大耐量と考え、飲水混入による至適乳酸カルシウム濃度を5および2.5%と判断した。尚、同実験は現在2年間の投与が終了し、病理組織学的検索が進行中である。尚、本研究は、厚生省が助成金による研究班「長期動物試験による環境化学物質の発がん性評価に関する研究」の分担研究として行われたものである。

要 約

F344ラットを用い、乳酸カルシウムの亜慢性毒性を検討した。実験Ⅰでは乳酸カルシウムを飲料水に5, 2.5, 1.25, 0.6, 0.3%に混入して13週間自由摂取させた。その結果、5%群においても体重増加抑制は対照群の10%以内にとどまり、血液学および血液生化学的検査で幾つかの検査値に変動がみられたものの、病理組織学的検索において特に問題となる所見は認められなかった。乳酸カルシウムは5%が最大溶解度の為、より高用量投与による毒性を検討するため、混餌投与による実験ⅡおよびⅢを行った。実験ⅡではB配合粉末飼料に30, 20, 10, 5%の濃度で混入し20週間、また実験ⅢではCRF1あるいはB配合粉末飼料を8週間自由摂取させた。その結果、実験Ⅱにおいて対照群を含む全群にnephrocalcinosisが認められ、その程度は対照群に最も強く、カルシウム投与濃度に逆相関しており、また雌により強く発現した。実験ⅢにおいてB配合飼料投与によるこの腎病変は4週目で既に認められた。実験ⅡおよびⅢにみられたnephrocalcinosisはB配合飼料中のCa/P値が小さいことに起因していた。

以上の結果より長期毒性/癌原性試験のための至適用量は実験Ⅰの結果より5および2.5%と判断した。

文 献

- 1) 石館守三, 谷村頭雄: 食品添加物公定書解説 広川書店, D698, D692 (1987)
- 2) *Federal Register*: 45, p. 32324 (1980)
- 3) 萩原和夫, 箱山年子: 長野県短期大学紀要, 31, p. 1 (1976)
- 4) K. Benirschke, F. M. Garner, T. C. Jones: *Pathology of Lab. Animals*, 1, p. 154 (1978)
- 5) J. H. Galloway, D. Glover and W. C. Fox: *Laboratory Animal Care*, 14, p. 6 (1964)
- 6) M. J. L. Clapp, J. D. Wade and D. M. Samuels: *Laboratory Animals*, 16, p. 130 (1982)
- 7) H. Iwata, Y. Hirouchi, H. Inoue and M. Enomoto: *Exp. Anim.*, 35, p. 299 (1986)
- 8) H. Kaunitz and RE. Johnson: *Metablism*, 25, p. 69 (1976)
- 9) M. D. Stonard, D. M. Samuls and E. A. Lock: *Fd. Chem. Toxic.*, 22, p. 139 (1984)
- 10) S. S. Kang, R. G. Price, J. Yudkin, N. A. Worcester and K. R. Bruckdorfer: *Br. J. Nutr.*, 41, p. 65 (1979)
- 11) Fu-Ho, C. Chow, G. F. Taton, J. P. Boulay, L. D. Lewis, E. E. Remmenga and D. W. Hamar: *Investigative Urology*, 17, p. 273 (1980)
- 12) J. C. Phillips, C. Bex, D. Mendis and S. D. Gargolli: *Fd. Chem. Toxic.*, 24, p. 283 (1986)
- 13) B. V. Morukov and A. I. Grigor'ev: *Hum. Physiol.* 4, p. 721 (1978)

Steviol による突然変異誘発機構に関する研究
—Southern blotting 法による解析—

松井道子・松井恵子・能美健彦・水沢 博・石館 基

Mutagenicity of Steviol: An Analytical Approach Using
the Southern Blotting System

Michiko MATSUI, Keiko MATSUI, Takehiko NOHMI, Hiroshi MIZUSAWA
and Motoi ISHIDATE

Steviol is the aglycone of stevioside, which is a non-caloric sugar substitute commonly used in Japan. Our previous studies and Pezzuto et al. have demonstrated that steviol is mutagenic after metabolic activation in the forward mutation assay using *Salmonella typhimurium* TM677 (TM677), whereas it is non-mutagenic in the reverse mutation assay (Ames test) using *S. typhimurium* TA 100, TA98, TA102 and TA97. There is the possibility, therefore, that activated steviol selectively induces a deletion or insertion of more than one base pair which cannot be detected by strains commonly used in the Ames test. In this study, we confirmed first that the 8-azaguanine (8-AG) resistance of the TM677 mutants appears to reside in the chromosomal gpt gene, since it can be complemented by the gpt gene of *E. coli* (Ecogpt). The chromosomal DNA of TM677 and TM677 mutants were digested by several restriction enzymes: *Bam*HI, *Sau*3AI, *Alu*I, *Taq*I, *Hae*III, *Hpa*II and *Rsa*I, and analyzed by the Southern blot hybridization technique with a probe to the gpt gene DNA of *E. coli*. No significant differences in DNA fragment length, however, were formed between the wild type and spontaneous or steviol-induced mutants.

(Received May 31, 1989)

はじめに

南米パラグアイに野生するキク科植物 (*Stevia rebaudiana*) より抽出される stevioside は、甘味度が高く (蔗糖の約 150 倍) 低カロリーで、熱、酸に比較的安定であることから日本において天然甘味料として広く用いられている。Stevioside の変異原性について

はいくつかの報告があり、いずれも陰性となっている¹⁻⁶⁾。わが国においても昭和 52 年厚生省がん研究班で stevioside の変異原性の有無が検討され、その結果不純物を含む場合 (純度約 50%) には、微生物を用いる復帰突然変異試験 (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、純度の高い場合 (純度 85%) には陰性となるとされている⁷⁾。Stevioside

は摂取されると腸内細菌により, steviol に変換されるものと考えられている (Fig. 1)^{8,9)}. Pezzuto ら¹⁰⁾は *Salmonella typhimurium* TM677 株を用いた前進突然変異試験により, stevioside は変異原性を示さないが, stevioside のアグリコンである steviol は S9 mix 存在下で変異原性を示すことを明らかにした。我々は、これらの報告に注目し, stevioside および steviol の変異原性をさらに詳細に検討するために7種の変異原性試験: 微生物を用いる復帰突然変異試験 (Ames Test), 微生物を用いる前進突然変異試験 (Forward mutation assay), 微生物を用いる DNA 修復試験 (Rec-assay), 微生物を用いる DNA 損傷試験 (Umu test), ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 (Chromosomal aberration test), ほ乳類培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験 (Gene mutation assay) およびマウスを用いる小核試験 (Micronucleus test) を行った。各々の試験結果¹¹⁾については既に報告済みなのでここでは結果のまとめ (Table 1) を示した。Stevioside は S9 mix の有無に関わらず5種の変異原性試験いずれにおいても変異原性を示さなかった。しかし steviol は, Forward mutation assay, Umu test, Chromosomal aberration test および Gene mutation assay において S9 mix 存在下で変異原性を示した。Steviol が同じ *Salmonella typhimurium* を用いながら復帰突然変異を検出する系 (Ames test) では変異原性を示さず, 前進突然変異を検出する系 (Forward mutation assay) においてのみ変異原性を示したことは, この化合物が代謝活性化を受けた後, Ames 系では検出されない比較的大きな変異 (欠失, 挿入, 置換等) を DNA 上に引き起こしている可能性を示唆している。今回, 我々は上記の点を明らかにする目的で, DNA の構造解析に広範に用いられている Southern blotting 法を用いて *Salmonella typhimurium* の変異の構造解析を行ったので, その結果を報告する。

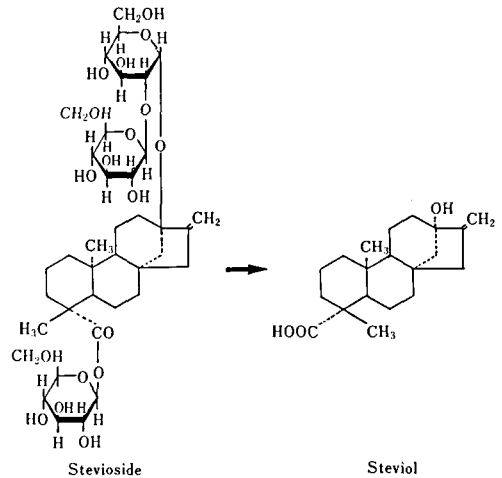


Fig. 1. Intestinal degradation of stevioside

実験材料ならびに方法

1. 試薬

Stevioside としてステビア抽出物“純マルミロン” (丸善化成物, 純度83.2%) および steviol (丸善化成物, 純度99%以上) を用いた。両化合物とも当所食品添加物部義平部長より提供された。

制限酵素 *Bam*HI, *Sau*3AI, *Alu*I, *Taq*I, *Hae*III, *Hpa*II および *Rsa*I は東洋紡績より購入した。

8-Azaguanine (8-AG) は Fluka の製品を使用した。

2. 試験菌株

S. typhimurium TA677 は Dr. W. G. Thilly (Toxicology group, Department of Nutrition and Food Science, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts) より分与を受けた。

Table 1. Summary of the mutagenicity tests

Assays	Stevioside		Steviol	
	-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix
Ames test	-	-	-	-
Forward mutation assay	-	-	-	+
Umu test	-	-	-	+
Rec-assay	-	-	-	-
Chromosomal aberration test	-	-	-	+
Gene mutation assay	-	-	-	+
Micronucleus test	-	-	-	-

3. Steviol による突然変異の誘発

3.1 凍結保存菌株の作製

S. typhimurium TM677 を Brain heart infusion 培地で 37℃, 一夜培養を行い, バイアル瓶に培養液 0.5 ml および Dimethyl sulfoxide (DMSO) 55.5 μl ずつ分注, 混合後 -80℃ に保存した。

3.2 Forward Mutation assay

Stock culture 1 ml を 37℃ の water bath にて溶解し, 49 ml の minimal E medium に加え, 37℃, 1時間振とう培養を行った。代謝活性化法の場合は, 培養液 0.8 ml, S9 0.1 ml, Cofactor 0.1 ml および steviol 50 μl (0~10 mg/50 μl DMSO) を混合し, 直接法の場合は, 培養液 1 ml と steviol 50 μl (0~10 mg/50 μl DMSO) を混合した後, 37℃, 1時間培養した。遠心分離 (1000 g, 15分) 後, 菌数 1×10^7 /ml になるように適当量のリン酸緩衝液に懸濁し, この懸濁液 0.4 ml に 8-AG 溶液 (20 mg/ml) 175 μl を加えた top agar 9.4 ml を加えて良く混合し, 2.5 ml ずつ bottom agar plate (15 ml) に重層した。37℃, 24時間培養後プレート上に生育した *S. typhimurium* TM677 の 8-AG 耐性変異株のコロニー数を計測した。同時に steviol 処理後の生菌数を測定するために, 0.1 ml の菌懸濁液を 10^4 培希釈し, その 0.1 ml に top agar 2 ml を加え, よく混合後 bottom agar plate に重層し, 37℃, 24時間培養した。プレート上に生育したコロニー数を計測し 1 ml 当りの菌数を算出後, 変異頻度を次のように求めた。

$$\text{変異頻度} = \frac{\text{8-AG 耐性コロニー数/ml}}{\text{生菌数/ml}}$$

同時にコントロール, すなわち steviol の代わりに DMSO 50 μl を混合して同様の実験を行った。Steviol 処理により得られた 8-AG 耐性株のうち分離した 10 菌株およびコントロールプレートに出現した 8-AG 耐性株 10 菌株から DNA を抽出し, southern blot hybridization による解析に使用する株とした。

3.3 Southern blot hybridization による解析

S. typhimurium TM677 および分離株した 8-AG 耐性株からの染色体 DNA の抽出は Murmur らの方法に準じて行い, Southern blotting は Reed¹²⁾ らの方法に準じて行った。すなわち, 制限酵素で切断した染色体 DNA を 1% の agarose gel で電気泳動し, gel を 0.4N 水酸化ナトリウム溶液に 15分間浸し, その後メンブランフィルター (Zeta-Probe Blotting Membranes(BIO-RAD)) に切断した DNA を移した。次にメンブランフィルターを gel よりはがし, 1M tris buffer(pH 8.0) で 10分間洗浄後, 2X SSC

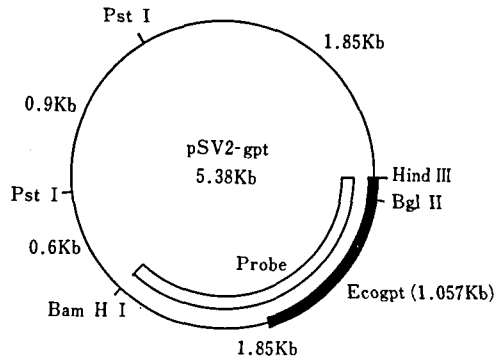


Fig. 2. Restriction map of pSV2-gpt plasmid

溶液で15分洗浄した。43℃ で30分乾燥後 80℃ で2時間処理し, プラスチックの袋の中にメンブランフィルターと hybridization 溶液 (100 μl/cm²) および carrier DNA (CT DNA 0.5 mg/ml) を入れ, 43℃ で5時間 prehybridization を行った後, probe (1.66×10^7 cpm/cm²) を加え, 43℃ で1晩 hybridization を行った。メンブランフィルターを 2X SSC/0.1% SDS 溶液, 0.5X SSC/0.1% SDS 溶液, 0.1X SSC/0.1% SDS 溶液の順で洗浄を行った後, 乾燥し, サランラップに包み X線フィルムに露光させた。

3.4 Plasmid DNA および probe の調製

E. coli HB101/pSV2-gpt から pSV2 gpt プラスミド (約 5.2 kb, Fig. 2) を抽出し, 制限酵素 Hind III と Bam HI で切断した。Agarose gel 電気泳動を行い, gpt 遺伝子を含むバンド (約 1.0 kb) を切り出し, electron elution 法により精製した。この DNA を nick translation 法を用い ³²P で標式した。

結果ならびに考察

1. Steviol の変異原性

Steviol の突然変異頻度ならびに菌の生存率の結果を Fig. 3 に示した。*S. typhimurium* TM677 を用いて steviol の forward mutation assay を行った結果, Steviol は S9 mix 存在下で変異原性を示し, Pezzuto らと同様に陽性の結果を得た。S9 mix が無い場合は, 10 mg/ml まで濃度を上げて, steviol は TM677 に変異原性を示さなかった。生菌数は, S9 mix 存在下では 7.5 mg/ml で約 50% にまで減少したが, S9 mix 不在下では, ほとんど減少しなかった。

2. Steviol による突然変異が *S. typhimurium* TM677 の 8-AG 耐性株の gpt 遺伝子上に生じていることの確認

本実験で用いた forward mutation assay は DNA 合成の salvage 経路に因する xanthine guanine

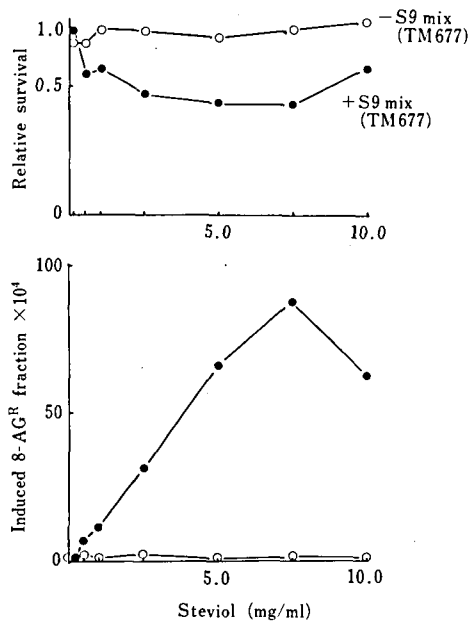


Fig. 3. Concentration-dependent toxicity and mutagenicity of steviol

phosphoribosyl transferase の遺伝子 (*gpt*) 上に生じた変異による 8-AG 耐性を指標にした試験系である。今回, steviol の forward mutation assay で分離された *S. typhimurium* TM677 の 8-AG 耐性が *gpt* 遺伝子の変異に由来しているか否かを確認するために, *gpt* 遺伝子を有する plasmid DNA を分離菌株に導入し, 8-AG 感受性が回復するか否かを調べた。その結果, *S. typhimurium* TM677 に生じた 8-AG 耐性突然変異株, 10 菌株中 7 菌株に *E. coli* 由来の pSV2-*gpt* plasmid の導入により 8-AG 感受性が回復した。従って, steviol による突然変異は *S. typhimurium* TM677 の *gpt* 遺伝子上に生じたと考えられる。残りの 3 菌株は pSV2-*gpt* plasmid を導入しても 8-AG 感受性が回復しなかった。

3. Southern blot 法を用いた *gpt* 遺伝子上に生じた突然変異の解析

Southern blot 法は, 目的とする DNA (この場合は *gpt* 遺伝子) と相補性を持つ遺伝子の分子量を迅速に測定する方法で, 具体的には, アガロースゲルで分画した DNA を, ³²P でラベルしたプローブ DNA (*gpt* 遺伝子) とハイブリダイズさせ, オートラジオ

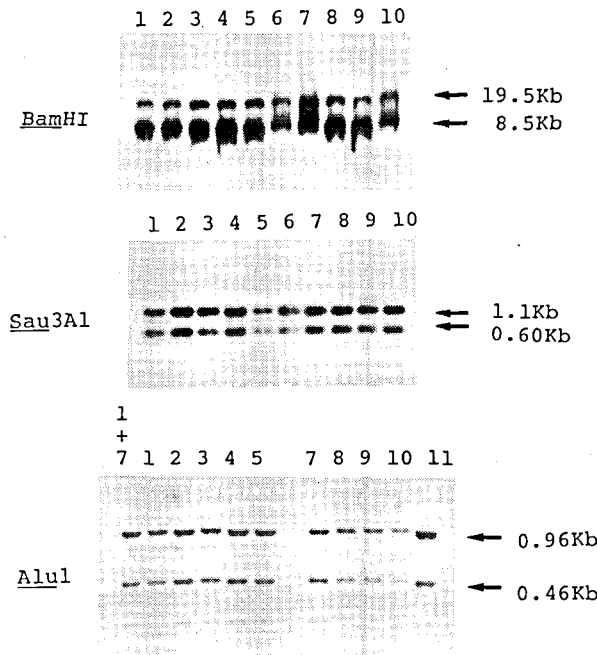


Fig. 4. Southern blot hybridization analysis of chromosomal DNA of *S. typhimurium* TM677 derivatives

Lane No. 1~2: Wild types

3~6: Spontaneous revertants

7~11: Steviol-induced mutants

グラフィーを行う。

Steviol により誘発された変異株は、*gpt* 遺伝子上に変異を持つことが示唆されたので、次に steviol により誘発された変異株、自然誘発変異株および野生株の chromosome DNA を抽出し、6種類の制限酵素で切断した後、agarose gel(1%) で電気泳動し、pSV2-*gpt* plasmid 由来の大腸菌 *gpt* 遺伝子を probe に southern blot hybridization を行った。これは、もし *gpt* 遺伝子上に欠出変異が起きれば、*gpt* 遺伝子の分子量に差が生じ、電気泳動の際に移動度の差となってあらわれるからである。実験結果の一部を Fig. 4 に示した。変異遺伝子は *Bam* HI, *Sau*3 AI, *Alu* I, *Taq* I, *Hae* I, *Hpa* II および *Rsa* I のいずれかの制限酵素で切断した場合、19.5 kb と 8.5 kb (*Bam* HI), 1.1 kb と 0.6 kb (*Sau*3 AI), 0.78 kb (*Taq* I), 0.64 kb と 0.34 kb (*Hae* II), 0.96 kb と 0.38 kb (*Hpa* II), 1.18 kb と 0.68 kb (*Rsa* I), 0.94 kb, 0.46 kb (*Alu*I) に probe と hybridize するバンドを示した。が、いずれの場合も野生型との間に分子量の差は検出されなかった。

この結果から、今回使用した制限酵素の組合せによる southern blot hybridization 法では検出できないような変化が起きていることが推定される。Forward mutation assay の結果から *Salmonella* の *gpt* 遺伝子上に何らかの変化が生じていることは確かであり、現在 plasmid DNA を用いて別の方法により解析を進めており、いくつかの知見を得ているので別の機会

に報告したいと考えている。

文 献

- 1) 奥村昌也, 藤田陽子, 今村美喜郎, 相川 清: 食衛誌, 19 (5), 486 (1979)
- 2) 藤田英夫, 枝広知新: 食品工業, 10下, 66 (1979)
- 3) M. Sasaki, K. Sugimura, M. S. Yoshida and S. Abe: *Kromosome*, 11, 574 (1980)
- 4) P. J. Medon, J. M. Pezzuto, j. m. Havancebrown, N. P. D. Nakayakkra, D. D. Soeiarso, S. K. Kamath and A. D. Kinghorn: *Fed. Proc.*, 41, 1566 (1982)
- 5) 田中 治(代表): 天誼甘味料の実用化に関する素学的研究, 昭和56年化学研究補助金(試験研究(1)), p. 4 (1983)
- 6) W. E. Kerr, M. L. S. Mello, and E. Bonadio: *Rev. Brasil, Genet.*, 1, 173, (1983)
- 7) 河内 卓: 遺伝変異原性を種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), p. 773 (1977)
- 8) R. E. Wingard, J. P. Brown, F. E. Enderline, J. A. Dale, R. L. Hale, and C. T. Seits: *Experientia*, 36, 519, (1980)
- 9) K. Nakayama, D. Kasahara, and F. Yamamoto: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 27 (1) 1, (1986)
- 10) J. M. Pezzoto, C. M. Compadre, S. M. Swanson, N. P. D. Nanayakkra, and A. D. Kinghorn: *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 82, 2472 (1985)
- 11) 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: 環境変異研究, 8 (3), 65 (1986)
- 12) R. A. Reed, and D. A. Mann: *Nucleic acids, Res. USA*, 81, 1991 (1985)

Production of Tropane Alkaloids by Cultured Cells of a *Duboisia* Hybrid

Koichiro SHIMOMURA¹⁾, Nobuyuki OKAMURA²⁾, Motoyoshi SATAKE¹⁾
and Akira YAGI²⁾

下村謙一郎・岡村信幸・佐竹元吉・八木 晟

The production of scopolamine-rich calli was investigated by the quantification of tropane alkaloids in a gas chromatograph equipped with a flame thermoionic detector (FTD). Stem and leaf segments from a selected strain, M-II-8-6, a hybrid between *Duboisia myoporoides* R. Br. and *D. leichhardtii* F. Muell, were used for this experiment. Stem-derived callus subcultured for over one year in the dark on Murashige-Skoog (MS) medium containing 0.1 mg/l indole-3-acetic acid (IAA) produced hyoscyamine and scopolamine with a yield of 0.006 and 0.005% dry weight, respectively. Leaves of shoot cultures did not show any detectable levels of alkaloids. However, the leaf callus subcultured for over one year in the dark on MS medium containing 0.1 mg/l IAA produced hyoscyamine and scopolamine with a yield of 0.007 and 0.009% dry weight, respectively. These results indicate that the ability to synthesize tropane alkaloids in stem- and leaf-derived calli can be maintained on MS medium containing IAA.

(Received May 31, 1989)

Introduction

Production of tropane alkaloids in cultured cells of *Duboisia leichhardtii* F. Muell was reported by Yamada and Endo¹⁾. These alkaloids were initially found in unorganized calli induced on media containing phytohormones, but after three to four months culture no alkaloids could be detected¹⁾. Although several studies on cultured cells of *D. myoporoides* R. Br., a scopolamine-rich species, have been reported, the feasibility of using cultured cells for the production of tropane alkaloids still remains to be established^{2,3,4)}. In the present experiment the production of scopolamine-rich calli from a selected scopolamine-rich strain, M-II-8-6, a hybrid of *D. myoporoides* and *D. leichhardtii*^{5,6)}, was examined by using a gas chromatograph equipped with a FTD.

Materials and Methods

Callus induction and subculture

The mother plant, M-II-8-6, was cultivated

in the field in Tsukuba, Japan. Young leaves and stems of this plant harvested in August, 1985, contained 3~4% and 0.5~1.0% of hyscyamine, respectively, and 0.2~0.3% and 0.01% of scopolamine, respectively. Leaves and stems (about 4 cm in length) were dipped in 75% ethanol for 30 sec, rinsed in sterile water once, surface-sterilized for 10 min in 2% NaClO with Tween 20 (1 drop/40 ml) and rinsed with sterile water three times. Sterilized leaf segments 4 mm in diameter and stem segments 2 mm in length were cultured on MS⁷⁾ solid media supplemented with various concentrations and combinations of IAA, NAA, 2,4-D and kinetin under 16 hr light (Toshiba FLR40S-W/M fluorescent tubes, 54~62 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) or in the dark at 25°C. After 12- and 14- week incubation of the leaf and the stem, respectively, all calli formed were transferred and maintained on the same media with 4 to 8 weeks between transfers. Suspension cultures were grown in MS medium supplemented with 1 mg/l IAA on a rotary shaker (100 rpm) at 25°C in the dark. The shoots (3 cm in length) were sterilized as above and the shoot tips were dissected under a binocular microscope and cultured on MS medium supplemented with 0.05 mg/l NAA and 3 mg/l kinetin at 25°C under 16 hr light. Multiple

¹⁾ Tsukuba medicinal plant research station, national institute of hygienic sciences, 1 hachimandai, tsukuba, Ibaraki, 305 Japan.

²⁾ Faculty of pharmacy and pharmaceutical sciences, Fukuyama University, Hiroshima, 729-02 Japan.

shoots were divided into single shoots and then cultured on a hormone-free MS medium to maintain the shoots for experiments.

Preparation of samples for gas chromatography

A freeze-dried sample was homogenized in a screw-capped test tube by using a Polytron for 1 min in 30 ml of CHCl_3 -MeOH-28% NH_4OH (15:5:1), followed by sonication at 20~30°C for 10 min. After brief centrifugation the supernatant was collected by decantation and evaporated to dryness by a nitrogen stream. The dried sample was trimethylsilylated with bis-TMS-acetamide (50 μl) at 42°C for 15 min according to Yamada's method¹¹. The reaction product was diluted with n-hexane to which cocaine had been added as an internal standard just prior to use.

Gas chromatography

Gas chromatography was performed on a Shimadzu GC-9A equipped with a FTD, using a glass column (3 mm \times 2 m) packed with 5% OV-17 on Supelcoport (100~120 mesh, Supelco Inc.). The sensitivity limit for

alkaloids was 0.5 ng. Gas chromatography conditions: injection temperature, 230°C; detector temperature, 260°C; helium as carrier gas at a flow rate of 50 ml/min. Retention times (min): hyoscyamine (12.5), cocaine (16.9), scopolamine (20.4). Peak areas were calculated with a Chromatopac. Shimadzu Model C-R3A. A linear response in the range of 10 to 120 ng for hyoscyamine and 20 to 80 ng for scopolamine was obtained upon estimation of the peak area ratio of tropane alkaloids to cocaine and the content (ng) of these alkaloids.

GC-MS

Trimethylsilylated alkaloids were identified by GC-MS (Shimadzu 6020). GC-MS conditions: column, 5% OV-17 Supelcoport (100~200 mesh, Supelco Inc.); injection temperature, 230°C; column temperature, 200°C; detector temperature, 290°C; ionizing energy, 70 eV. TMS-hyoscyamine and -scopolamine: MS m/z (rel. int.) 361(M^+ , 13), 140(20), 124(100); 375(M^+ , 5), 205(11), 193(5), 154(27), 138(100).

Table 1. Contents of tropane alkaloids in stem and leaf callus of *Duboisia* cultured on MS medium containing phytohormones at 25°C in the dark for 12 to 14 weeks

phytohormone (mg/l)	stem callus				leaf callus		
	dry wt. (mg)	% dry wt.		dry wt. (mg)	% dry wt.		
		hyos.	scop.		hyos.	scop.	
IAA	0.1	34.2	0.13	0.008	100	0.0100	0.0154
	1	75.9	0.069	0.011	120	0.0084	0.0151
	3	105.5	0.037	0.003	250	0.0110	0.0084
	10	143.6	0.025	t	320	0.0005	nd
IAA kinetin	0.1 0.5	185.2	0.025	0.002	330	0.0029	0.0060
	1 "	265.1	0.017	0.002	420	0.0078	0.0070
	3 "	291.9	0.022	0.010	450	0.0027	0.0051
	10 "	175.6	0.028	0.015	190	0.0190	0.0358
NAA	0.1	45.4	0.013	t	30	0.0849	0.0179
	0.5	60.6	0.091	t	310	0.0009	t
	1	101.2	0.055	t	260	0.0010	nd
	3	167.2	0.033	t	270	0.0003	0.0019
NAA kinetin	0.1 0.5	83.0	0.051	0.003	100	0.0069	0.0068
	0.5 "	214.9	0.034	0.014	400	0.0012	0.0018
	1 "	230.4	0.032	0.013	350	0.0024	0.0164
	3 "	331.1	0.009	0.003	350	0.0005	0.0007

t. trace

nd. not detected

Results and Discussion

Alkaloid production in stem callus

The effect of light on production of tropane alkaloid was examined in a preliminary experimental experiment. No difference on the callus growth was found between the light and dark-grown calli. However, green soft stem callus cultured under light did not produce any detectable level of scopolamine. Thus, culture of the stem calli was performed in the dark.

No tropane alkaloids were detected in calli cultured on media with 0.5~3 mg/l of 2,4-D or 0.5 mg/l of kinetin in combinations with 0.5~3 mg/l of 2,4-D. The calli on the media containing IAA, NAA and kinetin at the concentrations of 0.5~10 mg/l gave detectable amounts of hyoscyamine and scopolamine. In particular, stem calli of the primary cultures showed a high content of hyoscyamine on media containing IAA, NAA, IAA-kinetin or

NAA-kinetin. In addition, scopolamine was detected in the stem callus of the primary culture on media containing 0.1~1 mg/l IAA or 0.5 mg/l kinetin in combination with either 3~10 mg/l IAA or with 0.5~3 mg/l NAA, although its content was less than one tenth of hyoscyamine (Table 1). However, at the 1st subculture the hyoscyamine content decreased substantially in the stem callus on media containing IAA-kinetin, NAA-kinetin combinations and NAA alone. No scopolamine was detected under these conditions. In contrast, stem calli grown on media containing 0.1 and 1 mg/l IAA still produced 0.034% and 0.008% for hyoscyamine and 0.039% and 0.004% for scopolamine dry weight, respectively. At the 9th subculture the yield of hyoscyamine and scopolamine in the callus on the media containing 0.1 mg/l IAA was 0.006 and 0.005% dry weight, respectively (Table 2).

Alkaloid production in leaf callus

Subcultures of calli formed on leaf segments

Table 2. Contents of tropane alkaloids in stem and leaf callus of *Duboisia* hybrid cultured on MS medium containing IAA at 25°C in the dark

subculture	stem callus				subculture	leaf callus			
	IAA (mg/l)	dry wt. (mg)	% dry wt.			IAA (mg/l)	dry wt. (mg)	% drywt.	
			hyos.	scop.				hyos.	scop.
1st	0.1 ^a -1 ^b	20.0	0.034	t	1st	0.1	40.0	0.0086	0.0250
	0.1-2	50.0	0.017	0.013	1	20.0	0.0203	0.0205	
	0.1-3	40.0	0.025	0.039	3	320.0	0.0005	t	
	1-1	80.0	0.004	t	2nd	0.1	70.0	0.0086	0.0119
	1-2	70.0	0.005	t	1	150.0	0.0107	0.0116	
2nd	1-3	100.0	0.008	0.004	3rd	1-1	600.0	0.0006	t
	0.1-1	8.9	0.294	t	1-1'	430.0	0.0024	0.0020	
	0.1-2	50.3	0.027	0.030	1-2	360.0	0.0003	nd	
	1-1	5.4	0.001	t	1-2'	160.0	0.0002	nd	
	1-2	8.0	0.025	0.032	1-3	270.0	0.0012	t	
3rd	0.1-1	60.0	0.047	0.011	1-3'	420.0	0.0011	t	
	0.1-2	200.0	0.002	0.003	1-4	260.0	0.0037	nd	
	1-1	50.0	0.012	0.012	1-4'	680.0	0.0001	nd	
	1-2	210.0	0.002	0.002	4th	0.1-1	600.0	0.0002	t
	0.1-1	280.0	0.003	0.005	0.1-2	100.0	0.0059	0.0045	
4th	0.1-2	150.0	0.010	0.006	1	270.0	0.0005	t	
	1-1	360.0	0.004	0.004	5th	1-1	30.0	0.0069	0.0091
	1-2	560.0	0.003	0.001	1-1'	30.0	0.0238	0.0228	
	0.1	100.0	0.006	0.005	1-2	70.0	0.0103	0.0102	
	1	270.0	0.001	t	1-2'	100.0	0.0126	0.0303	
9th					1-3	260.0	0.0003	0.0007	
					1-3'	60.0	0.0039	0.0071	
					1-4	60.0	0.0046	0.0163	

a. Concentration

b. Sample number means analysis of 2-3 independent samples of one line.

t. Trace

nd. Not detected

on media containing the same phytohormones as used for stem calli were carried out. Leaves of shoot cultures established from shoot-tips did not produce any tropane alkaloids¹¹. However, calli induced from leaf segments of *in vitro* shoots subcultured in the dark on media containing 0.1 and 1 mg/l of IAA produced scopolamine at 0.02~0.03% dry weight at the 1st subculture. At the 5th subculture the yield of hyoscyamine and scopolamine from the calli on the medium containing 1 mg/l IAA was 0.024% and 0.023% dry weight, respectively.

Alkaloid production in suspension cultures

Hyoscyamine and scopolamine contents of the cells in suspension cultures were 0.002% and 0.002% dry weight, respectively.

The above results clearly demonstrated that the production of tropane alkaloids in both stem and leaf calli was maintained for over one year in the dark, although the proliferation of the calli was slow. In fact, the calli formed on leaf and stem segments on media containing 2,4-D (or 2,4-D in combinations with kinetin) did not produce any tropane alkaloids (data not shown). The ability of stem and leaf calli to synthesize tropane alkaloids might be expressed as a consequence of IAA stimulating metabolic-redifferentiation during the subculture. Recently, Ozeki and Komamine reported that induction of anthocyanin synthesis in carrot cells correlated with

the metabolic differentiation and morphological differentiation⁹. No tropane alkaloids production was reported in the calli derived from *D. leichhardtii*¹¹ and *D. myoporoides*⁹. Thus, the use of this hybrid, M-II-8-6, may allow the prolonged production of tropane alkaloids.

Acknowledgements

We thank Dr. H. E. Flores of Pennsylvania State University for previewing the manuscript and Dr. A. D. Powell for critical reading of the manuscript. We also thank Mr. T. Kitazawa, Mr. K. Yamakita, Mr. T. Matsuyama and Miss N. Nitsuta for their technical assistance and Prof. H. Shiomi for utilization of cocaine.

References

- 1) Y. Yamada and T. Endo: *Plant Cell Rep.*, **3**, 186 (1984)
- 2) K. J. Sippy and H. Friedrich: *Planta Med. Suppl.*, 186 (1975)
- 3) Y. Kitamura *et al.*: *Phytochem.*, **25**, 2541 (1986)
- 4) K. Kagei *et al.*: *Yakugaku Zasshi*, **100**, 574 (1980)
- 5) K. Kagei *et al.*: *Shoyakugaku Zasshi*, **32**, 222 (1978)
- 6) K. Kagei *et al.*: *ibid.*, **32**, 228 (1978)
- 7) T. Murashige and F. Skoog: *Physiol. Plant.*, **15**, 473 (1962)
- 8) Y. Ozeki and A. Komamine: *ibid.*, **53**, 570 (1981)

酵素製剤の品質に関する研究 (第10報)

—ウロキナーゼ製剤—

谷本 剛・川崎ナナ・周 玉・田中 彰

Studies on the Quality of Enzyme Preparations (X)

—Urokinase Preparation—

Tsuyoshi TANIMOTO, Nana KAWASAKI, Zhou YU and Akira TANAKA

Urokinase preparations were investigated with a view to comparing their quality by enzymological methods. These studies were carried out on 10 kinds (9 kinds of preparations produced from human urine and one kind of preparation produced from tissue culture) of commercially available urokinase preparations. The potency of all preparations assayed by the two-stage method were found to be within the range of permissible content. Because there are two molecular weight types (molecular weight: 54000 and 33000) of urokinase, the distribution of two types of urokinase in preparations was determined. Human urine urokinase preparations contained mainly the high molecular weight type urokinase (over 90%), and the tissue culture preparation contained the low molecular weight type urokinase alone.

(Received May 31, 1989)

ウロキナーゼはプラスミノゲン分子中の $^{540}\text{Arg-}^{541}\text{Val}$ 結合のみを加水分解して、プラスミンを生成する極めて特異性の高い酵素であり、この生成したプラスミンが血栓を溶解する作用を示すために、各種の血栓症や血管閉塞症などの治療に用いられる。現在、医薬品として用いられているウロキナーゼにはヒト尿から得たものとヒト腎細胞の組織培養法で得たものとがある。ヒト尿由来のウロキナーゼには酵素学的性質を異にする分子量 33000 と 54000 の 2 種の分子量型の存在することが知られており¹⁾、製剤間でこれらの分布の異なることが報告されている²⁾。

我々は市販のウロキナーゼ製剤を入手する機会を得たので、力価および分子量の点からこれらの製剤についての評価を試みた。

実験材料および実験方法

1. 試料・試薬・試液

試料：ウロキナーゼ製剤はヒト尿由来製剤 9 品目 (検体 A~I) とヒト腎臓組織培養由来製剤 1 品目 (検体 J) を市販品から入手した。

ウロキナーゼ標準品：国立衛生試験所標準品を使用した。

試薬：プラスミノゲン (R=0.5, ウシ, 二段法用),

トロンビン (ウシ, 二段法用) およびフィブリノーゲン (ウシ, タイプ 2) は第一化学薬品株式会社より購入した。グルタリル-グリニル-アルギニン-メチルカルバミド (MCA) はペプチド研究所製を使用した。

2. ウロキナーゼの力価測定法

西崎らの方法³⁾ およびその改良法⁴⁾ にしたがって二段法で行った。

3. ウロキナーゼの分子量分布の測定

日立 655 型液体クロマトグラム装置を用いて、次の条件による液体クロマトグラフ法で測定した。

i) 試薬・試液

(1) 0.2M リン酸塩緩衝液：リン酸二水素カリウム 13.6 g, リン酸二水素ナトリウム 15.6 g およびアジ化ナトリウム 1.0 g に水 700 ml を加えて溶かし、薄めたリン酸 (6.8→500) を加えて pH 3.0 に調整し、さらに水を加えて全量を 1000 ml とする。

(2) 移動相 A：ゼラチン 5.0 g に 0.2M リン酸塩緩衝液 400 ml を加えて加温して溶解し、室温に戻した後、さらに 0.2M リン酸塩緩衝液 400 ml を加える。この液に薄めたリン酸 (6.8→500) を加えて pH 3.0 に調整し、さらに 0.2M リン酸塩緩衝液を加えて全量を 1000 ml とし、ろ過する。

(3) トリス緩衝液：トリスヒドロキシメチルアミノ

メタン 30.0g および塩化ナトリウム 14.6g に水 300 ml を加えて溶かし、1N 塩酸試液を加えて pH 8.5 に調整し、さらに水を加えて全量を 500 ml とし、ろ過する。

(4) MCA 液：グルタリル-グリニル-アルギニン-メチルクマリルアミド 5mg をジメチルスルホキシド 1 ml に溶かし、これにトリス緩衝液を加えて全量を 500 ml とする。

ii) 試料溶液の調製

検体に移動相Aを加えて溶かし、その 1 ml に10000 単位のウロキナーゼを含むように調製する。

iii) 分析条件

(1) 分離部

・固定相：TSK-GEL SW タイプ G 3000SW
(7.5 mmφ×600 mm)

- ・移動相：移動相A
- ・カラム温度：28℃
- ・流量：0.5 ml/min
- ・注入量100 μl

(2) 反応部

- ・反応試液：MCA 液
- ・流量0.75 ml/min
- ・反応コイル：0.25 mmφ×1500 mm
- ・反応温度：37℃
- ・検出器：蛍光光度計（励起波長：365 nm, 蛍光波長：460 nm）

実験結果

1. 市販ウロキナーゼ製剤の力価

9種のヒト尿由来ウロキナーゼ製剤および1種のヒト腎組織培養由来ウロキナーゼ製剤について国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品を使用して二段法で定量した (Table 1)。いずれの製剤とも表示量の 91~109% の範囲の活性が認められ、規格に適合する力価を含有することが示された。

2. 市販製剤中のウロキナーゼの分子量型

各製剤に含まれるウロキナーゼの分子量分布を HPLC 法で検討した。Fig.1 に各検体の HPLC 法によるクロマトグラムを示し、Table 2 にこのクロマトグラムのピーク面積から求めた高分子量型ウロキナーゼと低分子量型ウロキナーゼの含有率を示した。ヒト尿由来製剤（検体A~I）はいずれも分子量 54000 の高分子量型ウロキナーゼを主成分とするものであり、その含有率は90%以上であった。この結果は規格値「高分子量型を75%以上含有」を十分満足するものであった。一方、ヒト腎組織培養由来の製剤はその規格において「低分子量型ウロキナーゼを95%以上含む」とされているが、今回の試験においても高分子量型の

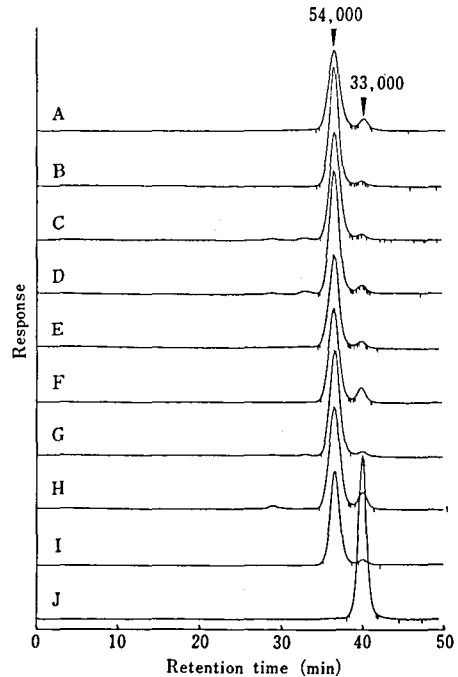


Fig. 1. Chromatograms of urokinase preparations by HPLC

Table 1. Contents of enzyme activity in urokinase preparations

Sample No.	Labeled amount (unit/vial)	Range of permissible content (%)	Urokinase activity (unit/vial) %	
A	6,000	90 - 110	5,690	94.8
B	6,000	90 - 110	5,690	94.8
C	6,000	90 - 110	5,860	97.7
D	60,000	90 - 110	57,200	95.3
E	60,000	90 - 110	58,000	96.7
F	60,000	90 - 110	55,700	92.8
G	60,000	90 - 110	63,300	105.5
H	60,000	90 - 110	60,700	101.2
I	60,000	90 - 110	54,600	91.0
J	60,000	90 - 110	65,300	108.8

Table 2. Contents of high and low molecular weight urokinase species in commercial preparations

Sample No.	Source of urokinase	Content (%)	
		High molecular weight species	Low molecular weight species
A	Human urine	92.7	7.3
B	Human urine	97.7	2.3
C	Human urine	97.9	2.1
D	Human urine	95.3	4.9
E	Human urine	96.1	3.9
F	Human urine	90.7	9.3
G	Human urine	97.6	2.4
H	Human urine	90.8	9.2
I	Human urine	96.7	3.3
J	Tissue culture	0.0	100.0

混在は認められず、低分子量型のみを含有するものであることが確認された。

考 察

ヒト尿に存在するウロキナーゼには分子量の異なるいくつかの分子種が存在し、ヒト尿由来ウロキナーゼ製剤には分子量 54000 と 33000 の 2 種の活性型分子種の存在が知られており¹⁾、この 2 種の酵素化学的性状

が異なることも報告されている²⁾。今回検討したヒト尿由来製剤も分子量分布を調べた結果から、高分子量と低分子量の 2 種の分子種を含有していることが確認されたが、その含有率は全ての製剤において高分子量型が 90% 以上であり、高分子量型を主成分とする製剤であった。また、腎組織培養由来のウロキナーゼ製剤は分子量 33000 のウロキナーゼのみが含有された低分子量型製剤であった。

謝 辞

ウロキナーゼ製剤の分子量分布の測定に当たっては持田製薬株式会社品質管理部の御協力を得ました。ここに感謝の意を表します。

文 献

- 1) R. D. Philo, P. J. Gaffney: *Thromb. Res.*, **21**, 81 (1981)
- 2) 土岐尚親, 須見洋行: *医学のあゆみ*, **112**, 762 (1980)
- 3) 西崎笹夫, 川村次良: *医薬品研究*, **5**, 295 (1974)
- 4) 渡辺良三ら: *医薬品研究*, **15**, 733 (1984)
- 5) P. J. Gaffney *et al.*: *Thromb. Haemostas.*, **45**, 34 (1981)

プラスチック容器の透明性試験

水町彰吾・小嶋茂雄・中村晃忠

Transparency Test for Plastic Containers

Shōgo MIZUMACHI, Shigeo KOJIMA and Akitada NAKAMURA

A new sensory test method for judging the transparency of plastics containers for aqueous infusion was developed. The test procedure is as follows: Prepare four different grades of reference suspensions, grade 1 to 4, according to the procedure in ISO/DIS 3826.4. Take ten empty containers. Fill two containers with the grade 1 suspension, two with the grade 2, and so on, filling 8 containers in all. Fill the remain 2 containers with water. Show each one of the ten containers to a volunteer in random order and ask him each time how does he judge it, turbid or not turbid. Repeat these tests among five different volunteers. If all volunteers judged the containers filled with the most turbid reference suspension, grade 4, to be turbid and the similar containers filled with water not turbid, such containers were judged to be transparent. On the other hand, the containers were not considered to be transparent if a significant number of volunteers judged even the containers filled with grade 4 suspension to not be turbid and vice versa.

The test accurately determines the difference in the transparency of containers.

(Received May 31, 1989)

はじめに

輸液用プラスチック容器が薬局方に収載されたときに、プラスチック容器はガラス容器に比べて透明性が悪く、不溶性異物を検査しにくいので、透明性を定義する必要が生じた。その時点で、製剤総則の注射剤・不溶性異物検査法に、特にプラスチック容器の場合のみ、検査する場所の明るさを8000~10000ルクス（ガラス容器の場合は1000ルクス）に指定した。

同時に薬局方の本文にはないが、薬務局長通知により“プラスチック容器胴部切片の450nmにおける透過率が55%以上”という規定が透明性の保証のための試験法とされた¹⁾。この試験は、標準的な異物が8000~10000ルクスで肉眼的に識別できるかいなかを当時の容器片の透過率との関係を検討した岡らの実験結果²⁾にもとずいたものである。

しかし、この透過率による方法には次のような問題点が指摘されてきた：1) 同じ試料を異なった分光器で測定した時、透過率が著しく異なる場合がある^{3,4)}。2) プラスチックの表面が粗い場合には、フィルムの透過率がよくても、実際には濁りや異物の確認が難しいことがある⁴⁾。これらの問題点を解決するため、新しい試験法の設定を試みた。

すなわち、試験法は輸液に薬剤を混注した場合に、その薬剤が析出したかどうか肉眼で識別できるような透明性を保証しうるものである必要がある。このことについては、すでに病院関係者より要望されている^{5,6)}。いいかえれば、或るレベル以上の濁りが明確に識別できるような透明性を保証しうる試験法であるべきである。容器のプラスチックの光学的透過率は濁りが見えるか見えないかを決定する重要な要素ではあってもすべてではなく、輸液容器の大きさ、形あるいは表面処理などによっても視覚的な見易さは左右され

ると思われる。せんじつめれば、濁りが見えやすい容器か見えにくい容器かをトータルな観点からどのように客観的に試験して表現するかが課題なのである。

そこで、具体的にはホルマジン乳濁液 (FS) を用いて種々のレベルの濁りの標準液を作成し、これをプラスチック容器に入れて肉眼で観察するという官能試験を行ってみることにした。FS は日本工業規格および ISO の規格にて濁りの標準液として既に採用されている^{7,8)}。なお FS を用いる透明性の判定は既にイギリス薬局方にて血液バッグを対象として行われている⁹⁾。

実 験

1. 試 薬

ヘキサメチレンテトラミン (ヘキサミン) および硫酸ヒドラジンはいずれも JIS 特級を用いた。

2. ホルマジン乳濁液の調製

ヘキサミン溶液：ヘキサミン 2.5g を 100 ml の共栓フラスコ中で 25 ml の水に溶かす。

硫酸ヒドラジン溶液：硫酸ヒドラジン 1.0g を水に溶かして 100 ml とする。

ホルマジン乳濁液原液：ヘキサミン溶液に硫酸ヒドラジン溶液 25 ml を加え 25°C で 24 時間放置する。添加したのち数時間すると沈澱が生成してくる。この原液は表面に傷のないガラス容器中で二ヵ月間有効である。用時、よく振り混ぜて用いる。

標準乳濁液：ホルマジン乳濁液原液 15 ml を水で 1000 ml に希釈する。この標準液は用時調製し 24 時間有効である。

参照乳濁液：Table 1 に示した比率で標準液を水で希釈したものを参照乳濁液とする。

3. 官能試験-1 (有対照法)

試料：プラスチック容器を 2 個用意し、片方に参照

Table 1. Preparation of reference suspensions

	Grade of turbidity			
	1	2	3	4
Standard suspension (ml)	5	10	30	50
+	+	+	+	+
Water (ml)	95	90	70	50

乳濁液を表示容量だけ入れ、他方に水を同じ量だけ入れる。

試験方法：どちらに参照乳濁液を入れたか知らされていない4～5人に個別に、この二つの試料を見せて、どちらに入っている液が濁っているかを問い、正解率を求める。

4. 官能試験-2 (無対照法)

試料：プラスチック容器を10個用意し、水およびGrade No. 1～4の4段階の参照乳濁液を各々二個の容器に表示容量だけ入れる。

試験方法：どの容器に何が入っているか知らされていない5～6人を個別に呼び、この10個の容器を一つずつ乱数表を使ってランダムな順で見せて、内容液が濁っているかどうかを問い、濁っていると判定した人の率を試料ごとに求める。

5. 業務局長通知の方法による透明性試験

容器の胴部の一部を約0.9×4cmの大きさに切断し、セルの中の水に浸漬して、波長450nmの透過率を水を対照として測定する。

結果および考察

有対照法による結果をTable 2に示す。

Table 2に示すように、参照乳濁液の濁りが薄くな

っても (Grade No. が小さいほど薄い)、正解率が必ずしも低下しなかった。また、見掛け上はNo. 5の容器はNo. 1の容器よりかなり透明性がよいと思われるにもかかわらず、その差異は表現されていなかった。

すなわち、対照 (水) と比較する方法では、透明性の悪い容器においても、かなり薄い濁りも判別できることがわかった。逆にいえば、このような有対照官能試験法では、容器の透明性の差を区別できないことがわかった。

次に無対照法の結果を記す。用いた試料はTable 3に、実験の結果はTable 4に示した。

この方法は、先の有対照法と異なって、より実際の場面に近い試験法である。すなわち、実験の部で記述したように試料を作製し、5～6人の験者を個別に呼び、10個の試料を一つずつ、乱数表を使ったランダムな順序で見せ、濁っているかどうかを質問する。判断できないと答えた場合も、濁っている方に加える。Table 4に示すとおり、有対照法と異なり、内容液の濁りの度合いが強いほど、濁っていると答えた人の割合が多くなっている。表に示した結果をFig. 1に図示した。

左上から右下へ、フィルムの透過率の順番に並べてあるが、二、三の例外はあるが透過率が大になるほど

Table 2. The results obtained by the sensory test method 1^{a)}

No.	Manufacturer	Use	Material	Volume (ml)	Test results				Transmittance of film at 450nm (%)
					Reference suspension 2 ^{b)}	3 ^{b)}	4 ^{b)}	Standard suspension	
1	A	B1.	PVC	200	4/5	2/5	2/4	4/4	65.1
2	B	B1.	PVC	200	4/5	4/5	3/5	5/5	79.4
3	C	B1.	PVC	200	4/4	5/5	4/5	5/5	77.7
4	D	B1.	PVC	150	4/5	5/5	3/5	5/5	68.7
5	A	Inf.	PVC	200	4/5	5/5	5/5	5/5	73.5
6	E	Inf.	PE-PP	500	—	—	5/5	5/5	88.9

B1. = Blood bag, Inf. = Container for aqueous infusion.

a) Test procedure: Take two empty containers. Fill one of them with a volume of reference suspension or standard suspension equal to its nominal capacity, and the other with the same volume of water. Show these containers simultaneously to a volunteer, and ask him which is turbid. The test results shown in Table indicate the ratio of right answers / number of volunteers.

b) The grade of turbidity of reference suspensions. See Table 1.

Table 3. Samples for the sensory test method 2^{a)}

Sample No.	Manufacturer	Use	Material	Volume (ml)
①	A	Bl.	PVC	200
②	A	Inf.	PVC	200
③	F	Inf.	PE	500
④	E	Inf.	PE-PP	100
⑤	D	Inf.	PVC	500
⑥	E	Inf.	PE-PP	500
⑦	F	Inf.	PE	500
⑧	B	Inf.	PVC	500
⑨	A	Inf.	EVA	500
⑩	A	Inf.	EVA	500
⑪	G	Inf.	PVC	600

a) See foot note in Table 4.

曲線の立ち上がり急になっているといえる。一番透過率の悪い No. ① の容器は PVC 製の血液バッグで、この場合はかなりの験者がどの乳濁液の場合でも判断できないと答えたので、判定曲線はいまいなものになった。一方、No. ⑪ の容器は某社の PVC 製の輸液容器であるが、Grade 3 および 4 では 100% が濁っていると答え、Grade 2 でも 70% が濁っていると答え、水の場合には 100% が濁っていないと答えており、判断が非常に明解であった。判定曲線は立ち上がりの急なシグモイド型となった。この容器は一見して透明性がよいという印象を持ったものであった。その他の容器は No. ① と No. ⑪ の中間的なパターンを示している。No. ② はやはり PVC 製の輸液容器である。しかし、この PVC フィルムの透過率は悪く、水の場合でも 40% が濁っていると答えた。No. ① よりはましであるが、濁っているか否かの判断するのに困難な容器であるといえる。

我々は、No. ⑪ のように、ある程度の濃い濁りは 100% 濁っていると判断でき、水は 100% 濁っていないと判断されるような容器が透明性のよい容器であると考える。特に、濃い濁りの場合にも濁っていないと判断するようなことは、実際の治療現場において判断を誤ることを意味するので問題は大きい。このような目で Fig. 1 をみると、フィルムの透過率のみで容器の透明性の良否を判定できないことが分かる。No. ⑨ と No. ⑩ は同じ社のほとんど同じ形のエチレン・酢酸ビニル共重合体製の容器であり、透過率は両者とも非常によいにもかかわらず、No. ⑩ では Grade 4 の場合でも 20% が濁っていないと誤答した。この容器の内面

はサザ波状に加工されており、その加工の具合が No. ⑨ と No. ⑩ とで微妙に違っていたため、No. ⑩ で濁りが見にくくなったものである。また、No. ③ と No. ④ はやはりほとんど透過率は変わらないにもかかわらず、No. ③ の判定曲線はいまいなものになった。No. ③ は円筒状のポリエチレン (PE) 製のボトルで、No. ④ は水筒のような形のポリプロピレンと PE の共重合体製のボトルである。容器を一見した時、明らかに No. ④の方が透明性がよいと思えたのにフィルムの透過率が変わらないのは、No. ③ のフィルムが薄いのに白濁しているのに対し、No. ④ は澄明だがフィルムが厚いためであった。また No. ③ のボトルは粗密のシマ模様があるのに対し、No. ④ は均一であった。結局、これらの場合、フィルムの白濁あるいはシマ模様の要素の方が内容液の濁りの判定の難易に大きく影響したといえる。

このように、フィルムの透過率は確かに内容液の濁りの判定の難易、すなわち容器の透明性を決める一つの要素ではあるが、フィルムの白濁や表面の微妙なザラつき (波状の紋) の方がより影響を与えることは明らかである。言い換えれば、容器の透明性を判断するには、フィルムの透過率によるのは妥当ではなく、無対照の官能試験による判定曲線をもって判断する方が実態をよく表現できると考えられる。

ま と め

1) プラスチック容器の断片の透過率の測定値 (薬務局長通知の方法) は、肉眼で内容液の濁りを鑑別できるかどうかと必ずしも相関しなかった。

Table 4. The results obtained by the sensory test method 2^{a)}

Sample No.	Water	Test results				Transmittance of film at 450nm (%)
		Reference		suspension		
		1 ^{b)}	2 ^{b)}	3 ^{b)}	4 ^{b)}	
①	4/6	5/6	4/6	4/6	5/6	62.9
	3/6	3/6	5/6	4/6	5/6	
②	3/5	4/5	3/5	5/5	5/5	73.5
	1/5	2/5	4/5	5/5	5/5	
③	1/5	2/5	5/5	4/5	4/5	76.4
	1/5	2/5	3/5	5/5	4/5	
④	0/5	2/5	3/5	5/5	5/5	77.2
	0/5	1/5	1/5	4/5	5/5	
⑤	1/5	2/5	4/5	5/5	5/5	85.5
	0/5	3/5	4/5	5/5	5/5	
⑥	1/5	0/5	3/5	5/5	5/5	88.9
	0/5	1/5	2/5	5/5	5/5	
⑦	0/5	1/5	0/5	5/5	5/5	89.9
	0/5	4/5	3/5	5/5	5/5	
⑧	0/5	1/5	2/5	5/5	5/5	91.8
	0/5	1/5	3/5	5/5	5/5	
⑨	0/5	0/5	2/5	5/5	5/5	94.7
	0/5	0/5	1/5	5/5	5/5	
⑩	0/5	1/5	1/5	3/5	4/5	95.1
	0/5	1/5	1/5	4/5	4/5	
⑪	0/5	0/5	3/5	5/5	5/5	97.8
	0/5	1/5	4/5	5/5	5/5	

a) Test procedure: Take ten empty containers. Fill two containers with grade 1 suspension, two with the grade 2; and so on, filling 8 containers in all. Fill the remaining 2 containers with water. Show each of the ten containers to a volunteer in a random order, and ask him each time how does he judge it, turbid or not turbid. The test results shown in Table indicate the ratio of number of volunteers judged "turbid" / number of volunteers.

b) The grade of turbidity of reference suspensions. See Table 1.

2) 容器に水を入れたものを対照として与え、これと比べて判定する方法(有対照法)では、かなり不透明な容器に入った薄い濁りの場合でも、濁っていると判定できた。すなわち、この方法では透明性のよい容器と不透明な容器との差が出ない。

3) 対照なしに濁っているかどうか5~6人の験者(医療の現場では対照を用意して濁りを判定する方法は実際のでない)により総合的に判定する方法(無対照法)では、透明性のよい容器と透明性の悪い容器との区別が可能であった。この方法の場合、水を入れた時にほとんどの験者が濁っていないと判定し、濃い濁りの標準液を入れたときにほとんどの験者が濁っていると判定する容器が良い容器と考えられる。

今後、この無対照法を基礎にして容器の透明性試験法を確立したい。

この試みに協力された薬品部、生物薬品部、療品部の方々に感謝する。

文 献

- 1) 薬務局長通知: 薬発第875号, 昭和47年9月21日
- 2) 岡 恒, 伊阪 博, 持田研秀: 医薬品研究, 3, 322 (1972)
- 3) 大阪支所・木村俊夫氏よりの私信
- 4) 鍵谷昌男, 望月誠一, 佐古英二: 薬局, 24, 331 (1973)
- 5) 小沢省吾, 成瀬 篤, 相馬 清: 臨床水電解質, 3, 554 (1985)

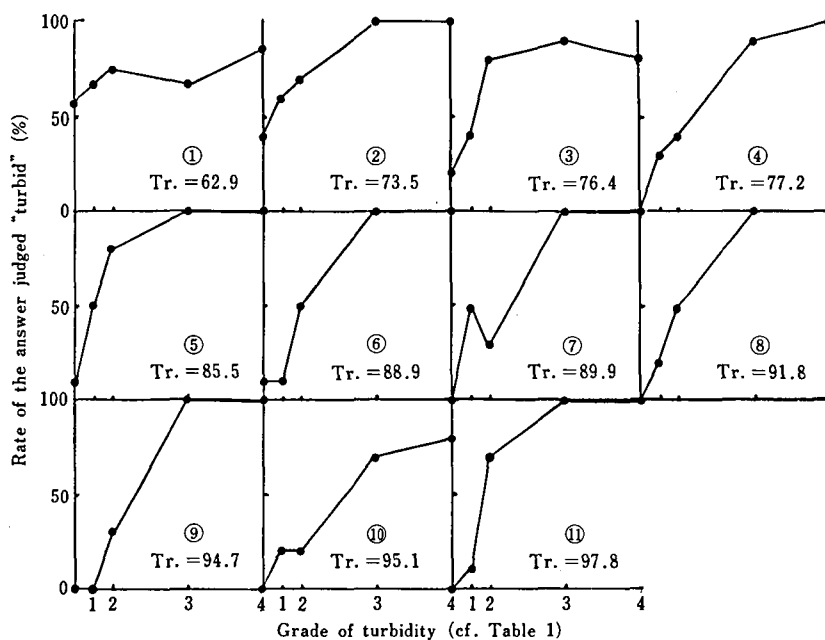


Fig. 1. Patterns of judging obtained by the test method 2

- 6) 島田慈彦：臨床水電解質，3，559（1985）
 7) JIS K 0101（1986）
 8) ISO 3826-DIS（1986）

- 9) British Pharmacopoeia Appendix XIX F, A216（1988）

高速液体クロマトグラフィーによる化粧品中の紫外線吸収剤の定量

齊藤恵美子・木嶋敬二・武田明治

Determination of Seven Ultraviolet Absorbent in Cosmetics by High Speed Liquid Chromatography

Emiko SAITO, Keiji KIJIMA and Mitsuharu TAKEDA

A rapid method for the HPLC determination of ultraviolet absorbent (UV abs.) in cosmetics was investigated.

This method is based on the technique of solvent extraction of the sample by HPLC with silica-ODS (Develosil ODS-5) as the stationary phase A, B, C, and D as the eluent and the ultraviolet spectrophotometer (310, 284 nm) as the detector.

The plots of the peak height vs amount of seven UV abs. were linear between 0~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

The recoveries of UV abs. to a model sample at the level of 0.1% were 93.2~100.0% by this method.

This method is simple and rapid, therefore it is applicable for the determination of UV abs. in cosmetics in routine analysis.

(Received May 31, 1989)

はじめに

紫外線吸収剤にはパラアミノ安息香酸系、ケイ皮酸系、ベンゾフェノン系、アゾール系、サリチル酸系など数多く知られている。これらを化粧品に配合することにより、皮膚に影響をおよぼす紫外線領域(400~290nm)を遮断して過度の日光を浴びることにより生ずる皮膚障害を防止あるいは予防できる。日光の巾広い波長域を遮断するためには、製品に2種またはそれ以上の紫外線吸収剤が配合される場合があり、これらの分析法としてはUV法¹⁾、TLC法²⁾、GC法³⁾、HPLC法⁴⁾などがあるが、迅速で簡易なHPLCによる報告は少ない。そこで夏季に需要の多いサンオイル、ファンデーション、クリーム中の紫外線吸収剤の定量法を検討し、共存する他の成分の妨害もなく精度よく定量することができた。本法の市販品への応用についても検討を加え十分適用できたので報告する。

実 験

1. 試 薬

oxybenzone (OXB), 2-(2-hydroxy-5-methylphenyl) benzotriazole(HMPBT), cinoxate(CNX) および guaiazulene(GZ), は粧原基に適合, 2-ethylhexyl p-dimethyl aminobenzoate(EHDMAB), 2-ethylhexyl 4-methoxy-cinnamate(EHMC) および homomenthyl salicylate(HMS) は粧外規に適合したものをを用いた。試料の溶解, 抽出および HPLC に用いる溶媒, 試薬はすべて試薬特級を用いた。

2. 装 置

高速液体クロマトグラフ: LC-6A (島津製作所製), 検出器: 波長可変紫外可視検出器 SPD-6A (同社製) データ処理装置: クロマトバック C-R3A, 注入器: sampleinjector (Reodyne 社製), 多波長検出器 (photodiode array detector): 大塚電子製 MCPD-350PC, 超音波洗浄器: Bransonic 220

3. 試験溶液の調製

試料 1.0g (紫外線吸収剤 0.1% 含有) を精密に量り, テトラヒドロフラン (THF) を加えてよく混和し, 超音波を用いて分散溶解させた後, THF を加えて正解に 10 ml とする。この液 5.0 ml を量り, HPLC 用移動相を加えて 50.0 ml とする。必要に応じて, メンブランフィルターを用いてろ過または遠心分離によって得られた上澄液を試験溶液とする (紫外線吸収剤の含有量によっては適宜試料の採取量の増減あるいは試験溶液の希釈を行う)。

4. HPLC による定量

i) HPLC の測定条件

カラム: Develosil ODS(4.6 mm id×250 mm)
移動相: A アセトニトリル・水 (80:20), B³⁾ アセトニトリル・水 (70:30), C³⁾ アセトニトリル・水 (40:60) にテトラブチルアンモニウムクロライド (TBAC) を0.1%になるように加えて溶かし, 酢酸を加えて pH 4.0 に調整する。D メタノール・THF・水・過塩素酸 (55:20:25:0.15), 流速: 1 ml/min. カラム温度: 40°C 検出波長: 310, 284 nm.

ii) 測定方法

試験溶液 5 μ l について HPLC を行い, 得られた各紫外線吸収剤のピーク高さ (又は面積) を測定し, 別に制作した検量線から試験溶液中の各紫外線吸収剤の濃度を算出する。

結果および考察

1. 測定波長の選定

今回対象とした紫外線吸収剤は Fig. 1 に示すように極大吸収波長が 310 nm 附近にあるが, GZ は吸収強度が非常に低いので 284 nm を検出波長とした。

2. HPLC 測定条件の検討

i) HPLC 用カラムは Develosil ODS の他に TSK gel 80 T_M (4.6 mm id×150 mm) を用いて HPLC を行ったがいずれもよい結果が得られた。

ii) 移動相の検討

今回対象とした紫外線吸収剤を単独で測定する場合はカラムの維持管理が最も簡単な, 移動相 A および B が適当であるが, 製品によっては紫外線吸収剤 2 種又はそれ以上配合される場合がある。紫外線吸収剤の組

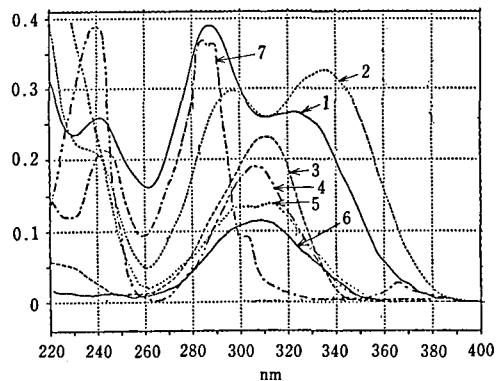


Fig. 1. Ultraviolet spectra of ultraviolet absorbent by photodiode array detector

1. OXB 2. HMPBT 3. EHDMAB 4. HMS
5. EHMC 6. CNX 7. GZ

み合わせによっては上記移動相では分離不可能なものもあるので、これらの移動相を種々変えて検討した。移動相Aを用いて OXB, HMPBT, EHDMAE を測定したクロマトグラムを Fig. 2 に示す。CNX を測定する場合、移動相AおよびBを用いると OXB の保持時間と近いので配合量によっては分離が不可能となる。

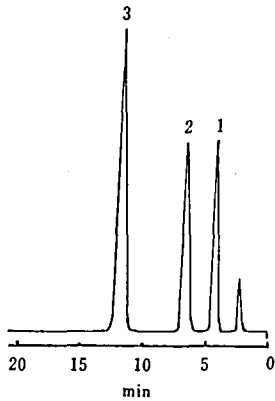


Fig. 2. Chromatogram of ultraviolet absorbent
Column: Develosil ODS (4.6 mm i. d × 250 mm)
Mobil phase: CH₃CN : H₂O (80 : 20)
Column temp: 40°C Flow rate 1.0 ml/min
Detector: UV 310 nm
1. OXB 2. HMPBT 3. EHDMAE

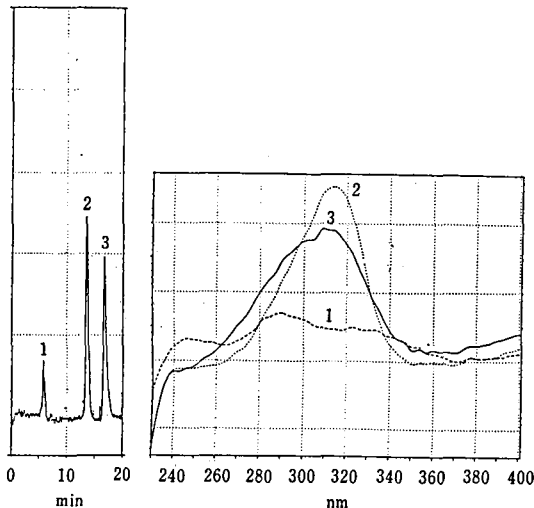


Fig. 3. Chromatogram and spectra of commercial sample F by photodiode array detector

Column: Develosil ODS (4.6 mm i. d × 250 mm)
Mobil phase: MeOH : THF : H₂O : HClO₄ (55 : 20 : 25 : 0.15)
Column temp: 40°C Flow rate 1.0 ml/min
Detector: UV 310 nm
1. OXB 2. EHDMAE 3. EHMC

そこで、アセトニトリル水系にイオン対形成剤を加え酢酸で pH 4.0 に調整することで、TBAC の効果で CNX の保持時間を遅らし、分離が可能となった。また EHDMAE と EHMC が同一試料に配合される場合は、A, B および C のいずれの移動相を用いても分離は不能であった。そこでメタノール・THF・水・過塩素酸 (50 : 20 : 30 : 0.15)²⁾ の組成比を種々変えて D を用いることにより両者が分離できた。市販ファンデーション F を多波長検出器を用いて測定したクロマトグラムを Fig. 3 に示す。

3. 妨害成分の影響

化粧品は一般に油脂類、界面活性剤、防腐殺菌剤、酸化防止剤、香料など多種類が配合されている。その中で特に防腐殺菌剤が測定に影響をおよぼすと考えられるので汎用されるパラベン類 (パラオキサン安息香酸メチル, エチル, プロピル, ブチルエステル) およびデヒドロ酢酸, 安息香酸, サリチル酸, ソルビン酸とその塩について、上記測定条件での影響を検討した。パラベン類は各溶液中に 1% (許容含量) 含有する濃度に添加し、移動相Aを用いて HPLC を行ったところパラベン類のピークは認めなかった。またデヒドロ酢酸, 安息香酸, サリチル酸, ソルビン酸についてもパラベン類と同様に検討したところ、いずれも小さなピークを認めたが保持時間が一致せず妨害はしなかった。

4. 検量線

各紫外線吸収剤 (OXB, HMPBT, EHDMAE, CNX, EHMC, GZ, HMS) 約 0.2 g を精密に量り、

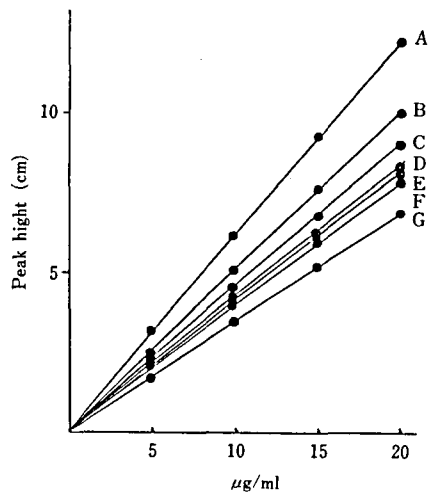


Fig. 4. Calibration curves for ultraviolet absorbent
A. EHDMAE B. EHMC C. HMS
D. GZ (284 nm) E. OXB F. HMPBT G. CNX

THF を加えて溶かし、正確に 100 ml とする。この溶液各々 10.0 ml を 100 ml メスフラスコに量り、HPLC 用移動相を加えて 100 ml とし標準原液とする。標準原液を HPLC 用移動相を用いて希釈し、5, 10, 15, 20 $\mu\text{g/ml}$ の標準系列を調製する。これらの標準溶液各 5 μl を注入してえられたクロマトグラムから、絶対検量線法により各紫外線吸収剤のピーク高さまたはピーク面積により検量線を作成する。ピーク高さによる検量線を Fig. 4 に示す。その結果原点を通る良好な直線が得られた。

5. 添加回収率

サンオイル、ファンデーションに各紫外線吸収剤 0.1% 添加した試料についてそれぞれの測定条件により HPLC を行ったところ、Table 1 に示すようにいずれも 93.2~100.0% と良好な結果が得られた。

6. 市販化粧品の分析結果

市販サンオイル 6 種、ファンデーション 16 種、クリーム 11 種について分析し、得られた値を処方に対する含有%として Table 2, 3, 4 に示した。いずれも良好な結果であった。

以上日やけ止め製品中の紫外線吸収剤を簡易で妨害物質もなく精度よく分析することができた。

Table 1. Recoveries of ultraviolet absorbent from sunoil and foundation

U. V. Abs	Sunoil (%)	Foundation (%)
OXB	99.3	99.0
CNX	98.7	99.2
HMPBT	100.0	100.0
EHDMA B	100.0	100.0
EHMC	96.2	93.2
GZ	98.0	95.0
HMS	97.9	95.9

Table 2. Determination of ultraviolet absorbent in commercial sunoil

Sample	OXB	HMPBT	EHDMA B	EHMC	SHM
A	99.3		103.2		
B	100.8		104.3		
C	99.0			96.2	
D	90.0		100.3		
E		100.0			97.9
F		100.0			95.9

Each value was as percent of declared

Table 3. Determination of ultraviolet absorbent in commercial foundation

Sample	OXB	CNX	EHDMA B	EHMC
A		97.3	108.0	
B	99.0		102.0	
C	91.0			
D		98.0		
E		96.5		
F	99.0		97.7	102.7
G	94.3		100.7	
H	100.8		100.0	
I	106.4		100.4	
J	101.7		101.3	
K	101.7		101.5	
L	97.6		102.0	
M	100.5			
N	93.3			
O	100.0			
P	93.1			

Each value was as percent of declared

Table 4. Determination of ultraviolet absorbent in commercial cream

Sample	OXB	CNX	EHDMA B	EHMC	GZ
A		101.7			
B	95.2				
C	100.0		107.6		
D	101.5		100.5	93.2	
E	97.7		96.5	98.0	
F		102.9			
G	100.5		100.0		
H		96.0			
I	99.0		96.7		
J		100.2			
K		98.7			98.0

Each value was as percent of declared

文 献

- 1) 岡谷吉雄: F. J. 臨時増刊 No. 5, 75 (1984)
- 2) 衛生試験法注解追補: 日本薬学会, (1986)
- 3) 木嶋敬二ら: 月刊薬事, 29, 12, 61, (1987)
- 4) L. Gagliardi *et al.*: J. of Chromatogr. 408, 409 (1987)

市販アカネ着色料中の成分について

川崎洋子・合田幸広・佐藤恭子・義平邦利

Studies on Coloring Constituents in Commercial Madder Color

Yoko KAWASAKI, Yukihiko GODA, Kyoko SATO and Kunitoshi TOSHIHIRA

Two main coloring constituents in the commercial madder color were isolated and identified as ruberthric acid and lucidin-3-O-primeveroside. On quantitative analysis by high-performance liquid chromatography, the contents of ruberthric acid and lucidin-3-O-primeveroside in commercial madder color were determined 0.07% and 0.04%, respectively.

(Received May 31, 1989)

緒 言

天然添加物は、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、合成品と比べ定量的な安全性試験が難しく、明確な規格基準が定められているものはほとんどない。さらに市販の製品では、賦形剤、安定剤等が多量に添加され、真の天然物含量が低くなる場合が多い。一方、平成3年1月1日より、合成物だけでなく天然添加物も表示が義務づけられることとなり、化学的な面においても早急な対応が求められている。このような情勢に基づき、我々は、規格基準の作製や安全性試験のための基礎的知見を得ることを目的として、既に数種の天然着色料について分析法を検討し、主色素成分の同定や定量を報告している¹⁻³⁾。今回は、セイヨウアカネ (*Rubia tinctorum*) の乾燥根を水又はエタノールで抽出して得られるアカネ着色料(市販品)を選び、同様の観点から、主色素成分の単離同定、定量を行ったので報告する。

実 験 方 法

1. 材 料

市販のアカネ着色料は日本食品添加物団体連合会により入手した $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (420 nm) が 0.2 の液体試料を用いた。

2. 試 薬

Sephadex LH20 はフェルマシアより、標準品 Ruberthric acid はフナコシ薬品より購入したものを、Lucidin-3-primeveroside は京都大学井上教授より御恵与されたものを用いた。

3. 装 置

日本分光 880-PU 型高速液体クロマトグラフ、島

津 OPI-2 型分光光度計、日本分光 A-102 型赤外分光光度計、日本電子 FX-200 型核磁気共鳴装置を用いた。

4. 主色素成分の単離

試料 26 g (35 ml) の溶媒を留去し、残渣を水に溶解後、Sephadex LH20 カラムクロマトグラフィーで分画した。各画分を HPLC で分析を行い(分析カラム: Shim-pack ODS 6 mmφ×15 cm, 移動相: MeOH: 5% AcOH=4:6, 流速: 1.0 ml/min, 検出温度: 40°C), 色素成分が含まれている画分を集め、分取 HPLC (分取カラム: Shim-pack prep-ODS 20 mm×25 cm, 移動相: MeOH: 5% AcOH=4:6, 流速 15 ml/min) を行い、化合物 1 (7.2 mg) および化合物 2 (2.3 mg) を単離した。

5. 定量実験

上記 HPLC 分析条件下、検出波長 280 nm, 検出感度 0.16 AUFS, 注入量 5 μl, ピーク高さによる絶対検量線法で行った。

結果および考察

1. 主色素成分の単離および同定

試料の ¹³C-NMR の測定により試料中の主成分はエタノールであると考えられたので、試料の溶媒を留去した。分析および分取 HPLC のための逆相系カラム, 移動相, 流速, 温度等を検討した結果, 実験方法で述べた条件が最も良いことがわかった。そこで残査について分画を繰り返す, 主色素成分 1 および 2 を単離した。化合物 1 および 2 の同定は, 標品との t_R (9.6 min, 10.5 min), UV, および IR スペクトル (Fig. 1) の比較によった。その結果, 化合物 1, 2 はそれぞれ Ruberthric acid, Lucidin-3-O-primeveroside

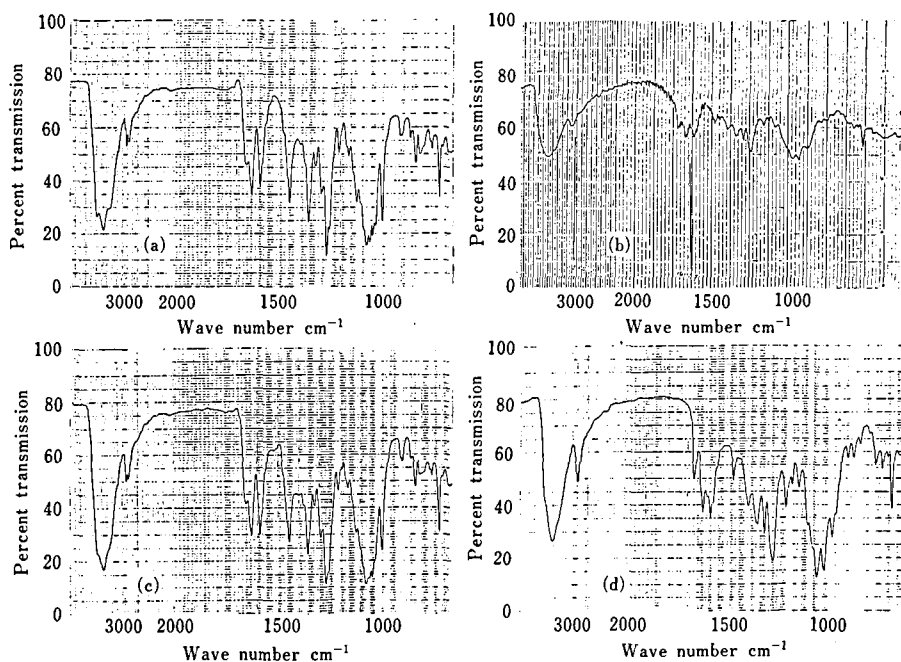


Fig. 1. Infrared spectra of authentic Ruberthric acid (a), Lucidin-3-O-primeveroside (b), compound 1 (c) and compound 2 (d); Kbr disk

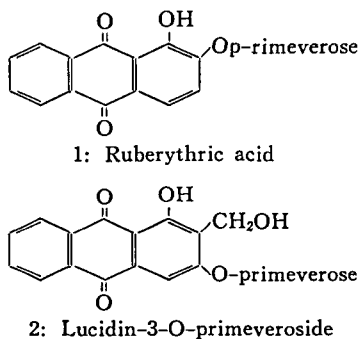


Fig. 2. Structures of ruberthric acid and lucidin-3-O-primeveroside

(Fig. 2)であることが明らかとなった。これらはすでにアカネ着色料の原料植物である *R. tinctorum* より単離が報告されている⁴⁾が、市場に流通している市販品中にも実際に含まれていることを明らかにしたのは今回が初めてである。

2. Ruberthric acid と Lucidin-3-O-primeveroside の定量

これまでの結果より市販アカネ着色料の主色素成分は、化合物1, 2と考えられたので、両者の含量を測定するために定量実験を行った。Fig. 3 に市販アカネ着色料の HPLC 分析を、Fig. 4 に両色素の検量線を

示した。その結果、試料として用いた市販アカネ着色料の化合物1および2の含量はそれぞれ0.07%, 0.04%であることが明らかになった。これらの主色素成分は比較的安定で、他の色素成分が極微量であると推定されることから、これらの化合物を評価のメルクマールに用いることが可能と思われる。また、化合物2のアグリコンの Lucidin は強い変異原性をもつことが知られており^{5,6)}、天然添加物の安全性評価の上で本実験は興味深いものと思われる。

なお、貴重な標品を御恵与頂いた京都大井上教授、IR スペクトルチャートを御恵与頂いた東京薬科大糸川教授に深謝する。

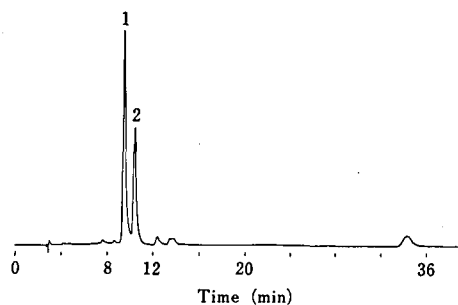


Fig. 3. HPLC analysis of commercial madder color

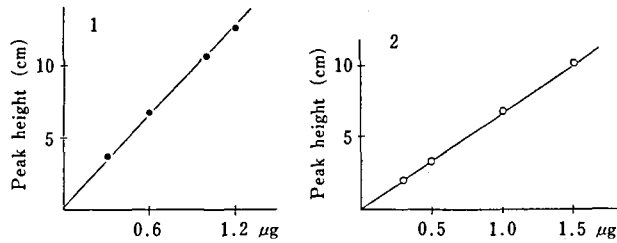


Fig. 4. Calibration curves of Ruberthric acid (1) and Lucidin-3-O-primeveroside (2) by HPLC

文 献

- 1) 合田幸広ら：衛生試験. 106, 101 (1988)
- 2) 佐藤恭子ら：日本食品衛生学会第56回学術講演会要旨集 p.45 (1988)
- 3) 合田幸広ら：日本薬学会第109年会講演要旨集Ⅲ p.198 (1989)
- 4) 谷村顕雄ら：天然着色料ハンドブック, p.379 (1979) 光琳
- 5) J. P. Brown *et al.*: *Mutation Res.*, 66, 9 (1979)
- 6) Y. Yasui *et al.*: *ibid.*, 121, 185 (1983)

イオンクロマトグラフィーによる亜塩素酸ナトリウム，
次亜塩素酸ナトリウムの識別

合田幸広・鈴木淳子・神蔵美枝子・義平邦利

Distinction between Sodium Chlorite and Sodium Hypochlorite by
Ion-chromatography

Yukihiro GODA, Jyunko SUZUKI, Mieko KAMIKURA and Kunitoshi YOSHIHIRA

A new method to distinguish between sodium chlorite and sodium hypochlorite by ion-chromatography is described. Under the operating condition (TSK-gel DEAE-5PW glass column 8.0 mm ID×7.5 cm with an aqueous solution containing 20 mM sodium carbonate, 10 mM sodium hydroxide and 4 mM ethylenediamine) and electrochemical detector (Toso EC-8000, -200 mV, Ag-electrode), chlorite and hypochlorite anions were clearly separated and detected and the retention times (t_R) were 6.0 and 4.6 min, respectively.

(Received May 31, 1989)

緒 言

食品添加物公定書によれば，亜塩素酸ナトリウム¹⁾および次亜塩素酸ナトリウム²⁾には，それぞれ独自の成分規格があり，さらに前者には漂白剤としての使用基準が，後者は殺菌料としての使用基準が定められている。しかし公定書中の確認試験法では，両者の識別が困難である。また定量法も，どちらとも，酸性下のヨードメトリーが指定されており，両化合物を区別して定量することはできない。

一方，近年イオンクロマトグラフィー (IC) が無機化合物の一般的分析法として注目を浴びている。しかし，亜塩素酸，次亜塩素酸化合物について同一条件でICを行った報告はない。これは，亜塩素酸イオンが，ICの通常分析条件である中性-酸性溶媒と電気伝導度検出法の組合せで分析可能であるにもかかわらず，次亜塩素酸イオンは，中性-酸性条件で容易に分解するため，分析には塩基性溶媒に電気化学検出法を組み合わせる必要があることによると思われる^{3,4)}。そこで我々は，両イオンそれぞれの標準的分析条件を

用いた際、もう一方のイオンがどのような挙動をするかを調べ、両化合物の識別が IC で簡便に行えるかどうかを検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

亜塩素酸ナトリウムは保土ヶ谷化学より御恵与頂いた純度99.7%のものを用いた。次亜塩素酸ナトリウムは有効塩素濃度12%の表示のある食品添加用のものを用いた。なお、食品添加物公定書法²⁾にしたがって実測した本品の有効塩素濃度は、12.74%であった。

2. 試薬

水はすべて蒸留水を Millipore 社製 Mill-Q II を用い純水まで精製したものを、1-オクタンスルホン酸ナトリウムは Aldrich 社製のものを、他の試薬はすべて和光純薬社製、特級品を用いた。

3. 装置

IC 装置は、島津 HIC-6A に電気伝導度検出器として島津 CDD-6A を取り付けたものおよび、東ソー CCPD に電気化学検出器として東ソー EC-8000 (作用電極 Ag) を取り付けたものを用いた。天秤は Mettler M5 を用いた。

4. IC 条件

4.1 電気伝導度検出法

分析カラム：東ソー TSK-gel IC-Anion-PW 4.6 mm ID 5 cm, 溶離液：0.8 mM 1-オクタンスルホン酸ナトリウム, 50 mM ホウ酸, 5% グリセリン, 流速：1.2 ml/min, 温度：40°C, 注入量：100 μ l, 検出感度：0.4 μ S/cm.

4.2 電気化学検出法

分析カラム：東ソー DEAE-5PW Glass 8.0 mm ID \times 7.5 cm, 溶離液：4 mM エチレンジアミン, 20 mM 炭酸ナトリウム, 10 mM 水酸化ナトリウム, 流速：1.2 ml/min, 温度：40°C, 注入量：100 μ l, 印加電圧：-200 mV, 検出感度, 640 nA FS.

5. 検量線の作成

亜塩素酸イオンはピーク面積法、次亜塩素酸イオンはピーク高さ法で実験を行った。

結果と考察

1. 電気伝導度検出法

亜塩素酸イオンは、フタル酸等、弱酸性溶媒を基本とした IC の標準的溶媒条件で検出可能なイオンであるが、塩素イオンと保持時間が近似するため、同イオン分析では、オクタンスルホン酸ナトリウムに、ほう酸を加え pH を 5.2 までに調整した溶媒を用いる。分析

結果を Fig. 1 に示す。用いた亜塩素酸ナトリウムは、非常に高純度の物であるが、本条件では、亜塩素酸イオン ($t_R=5.8$ min) の他に若干量の塩素イオン ($t_R=6.6$ min) が、分解産物として検出される。しかし亜塩素酸ナトリウム濃度として、0~20 ppm の範囲内

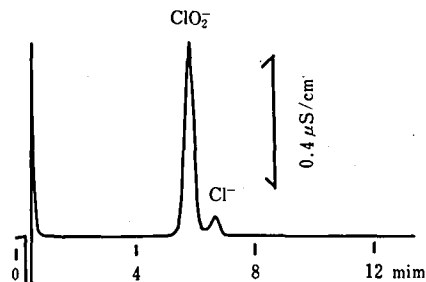


Fig. 1. Ion-chromatographic analysis of sodium chlorite (5 ppm) with conductivity detector

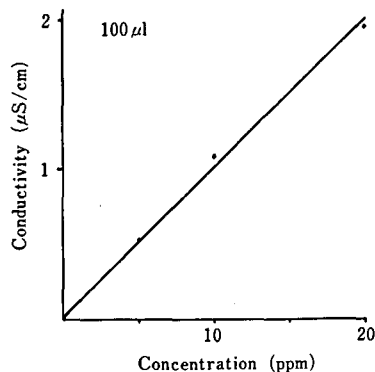


Fig. 2. Calibration curve of sodium chlorite by a monitoring system of conductivity (ClO_2^-)

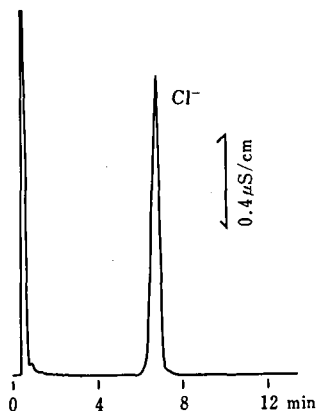


Fig. 3. Ion-chromatographic analysis of sodium hypochlorite (5 ppm as available chlorine) with conductivity detector

では、亜塩素酸イオンの検量線は良好な直線性を示し (Fig. 2), 塩素イオンへの分解は一定であることが判る (検出限界 2 ppm). 一方, 次亜塩素酸ナトリウムを同条件で分析すると, 分解産物と考えられるアニオンは塩素イオン ($t_R=6.6$ min) しか検出されなかった (Fig. 3). 以上の結果から, 亜塩素酸ナトリウムは, 電気伝導度検出法により, 次亜塩素酸ナトリウムと識別可能であり, 本法は亜塩素酸ナトリウムの確認試験法として応用可能であると考ええる. 一方, 次亜塩素酸ナトリウムの確認試験法としては, 本法は次亜塩素酸イオンそのものを直接検出できない点で若干問題点のある分析法であると考えられる.

2. 電気化学検出法

次亜塩素酸ナトリウムおよび, 亜塩素酸ナトリウムの分析結果を Fig. 4, 5 にそれぞれ示す. 次亜塩素酸ナトリウムは, 固体では非常に不安定で, 一般には塩基性の水溶液のかたちでのみ入手可能である. これらの溶液中では, 次亜塩素酸イオンは, 次亜塩素酸だけでなく塩素や他の塩素酸化物および塩素イオン, 他の

塩素酸化物イオン類と平衡関係にあることが知られている⁵⁾. 事実 Fig. 4 では $t_R=4.6$ min にある次亜塩素酸イオンの他に $t_R=9.3, 14.5$ min に他の塩素系イオンが負方向 (酸化電位) に観測されている. しかし, Fig. 5 で $t_R=6.0$ min に観測される亜塩素酸イオンと考えられるピークは Fig. 4 ではまったく観測されず, 次亜塩素酸イオンと亜塩素酸イオンとは単純な平衡関係にないことが判明した. また, 高濃度で次亜塩素酸ナトリウムと亜塩素酸ナトリウムを混合した溶液を調製し (次亜塩素酸ナトリウム:有効塩素濃度として 120 ppm, 亜塩素酸ナトリウム: 250 ppm) 検出感度を下げ, 分析を行っても Fig. 6 の示すように, すべてのピークについて良好な分離結果が得られた. よって次亜塩素酸ナトリウムと亜塩素酸ナトリウムは本法で容易に識別でき, 本法は, 両化合物の確認試験に応用可能であるものと考えられる. またこれまで, 同一条件で次亜塩素酸イオンと亜塩素酸イオンを分離検出した例はなく, さらに本条件では他の塩素系イオンの同時分析も行える可能性があり, 本実験結果は興味深いものと考えられる. なお, Fig. 7 に横軸を次亜塩

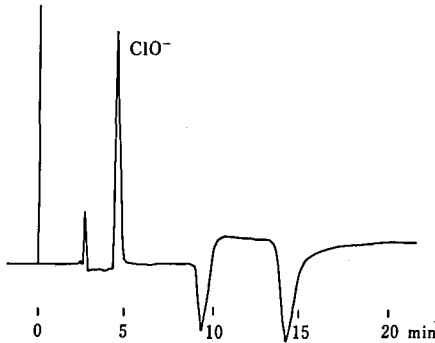


Fig. 4. Ion-chromatographic analysis of sodium hypochlorite with electrochemical detector

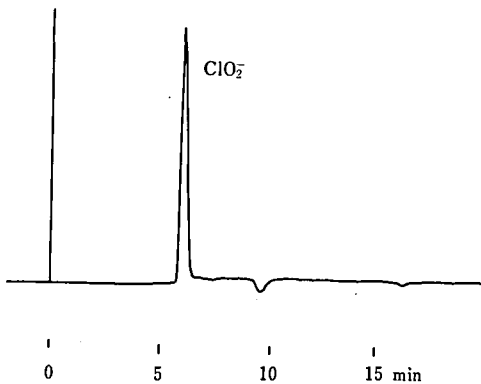


Fig. 5. Ion-chromatographic analysis of sodium chlorite with electrochemical detector

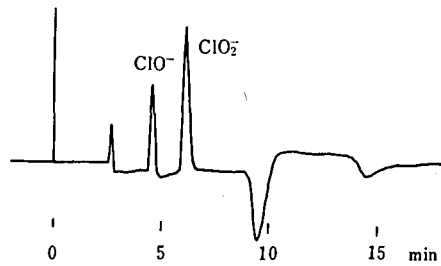


Fig. 6. Ion-chromatographic analysis of mixture of sodium chlorite (250 ppm) and sodium hypochlorite (120 ppm as available chlorine) with electrochemical detector

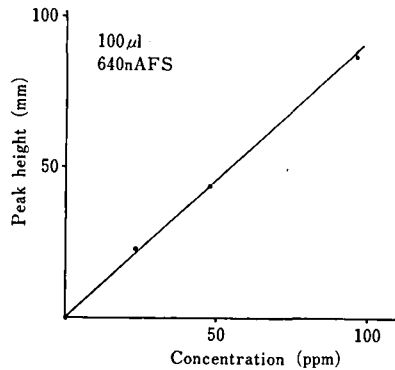


Fig. 7. Calibration curve of sodium hypochlorite (as available chlorine) with electrochemical detector

素酸ナトリウムの有効塩素濃度で示した次亜塩素酸イオンの検量線を示す (検出限界: 有効塩素濃度として 10 ppm).

結 語

食品添加物である亜塩素酸ナトリウムと次亜塩素酸ナトリウムの識別を目的として、ICの応用を検討し、電気化学検出法で簡便に行えることを示した。

文 献

- 1) 食品添加物公定書第五版, p. 116, (1986) 厚生省
- 2) 食品添加物公定書第五版, p. 258, (1986) 厚生省
- 3) 今井一洋ら編: 超高感度高速液体クロマトグラフィー, (1985) 学会出版センター
- 4) 日本分析化学会編: イオンクロマトグラフィー, (1988) 共立出版
- 5) 今井 博ら: 日本化学会誌, 1974 (2), 238

液体クロマトグラフ法によるニコチン酸注射液中のニコチン酸の定量

徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫

Determination of Nicotinic Acid in Injections by High-performance Liquid Chromatography

Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA

A high-performance liquid chromatographic method for determination of nicotinic acid (NA) in commercial injections was established. NA was determined by high-performance liquid chromatography on an Inertsil ODS column (4.6×150 mm) using a mixture of 0.05M monobasic sodium phosphate solution (pH 3) and methanol (80:20) containing 1.5 mM sodium 1-octanesulfonate as the mobile phase at 35°C and the detection wavelength at 260 nm. The working curve for 0 to 120 µg nicotinic acid/ml against 100 µg caffeine/ml as internal standard passed through the origin and was linear. On comparing the analytical data obtained by this method and those by the colorimetric method, both data were in good agreement.

(Received May 31, 1989)

実験従事者の健康被害を減じる目的で有害試薬が指定され、第十一改正日本薬局方の制定に当たり多くの試験法が改訂された。しかし、現局方においても有害試薬の臭化シアンを用いる試験法として、「ニコチン酸 (NA) 注射液」を含む9品目が残され、昭和63年10月に制定された局方の追補版で「塩酸チアミン」等の5品目が改訂されたが、残された4品目、「NA注射液」(定量法)、「ニコチン酸アミド注射液」(定量法)、「乾燥酵母」(定量法)および「複方ビタミンB散」(確認試験)の検討が必要となっている。

今回、我々は「NA注射液」中のNAを定量する目的で臭化シアンを使用しない方法として液体クロマトグラフ (HPLC) 法を確立し、従来法¹⁾と比較したので報告する。

実 験 の 部

1. 試薬および試液

NAは日本薬局方標準品、カフェイン (CF) は日

本薬局方品を用い、1-オクタンスルホン酸ナトリウム (SO) は東京化成(株)のものを用いた。NA注射液 (1 ml中に NA 20mg または 50mgを含む) はトーアエイヨー(株)より提供を受けた。そのほかの試薬は試薬特級品を用いた。

NA原液: NA標準品を乾燥した後、その約0.05gを精密に量り、移動相を加えて正確に50mlとする (1 mg/ml)。

NA溶液: NA原液10mlを正確に量り、移動相を加えて正確に50mlとする (0.1 mg/ml)。

CF溶液: CF約0.1gを精密に量り、移動相を加えて正確に100mlとする (1 mg/ml)。

ベンジアルコール (BA) 溶液: BA約0.1gを精密に量り、メタノールを加えて正確に100mlとする (1 mg/ml)。

リン酸二水素ナトリウム試液: 0.05Mリン酸二水素ナトリウム試液に0.05Mリン酸溶液を加えて、pHを3に調整する。

2. 装置

島津 SPD-6A 型紫外吸光検出器, 島津 C-R6A 型クロマトバックおよび東洋 TE-105 型クールメイト (恒温水循環装置) を連結した島津 LC-6A 型 HPLC 装置を用いた。

3. 定量法

3.1 HPLC 法

本品の NA ($C_6H_5NO_2$) 約 0.1 g に対応する容量を正確に量り, 移動相を加えて正確に 100 ml とする。この液 10 ml および内標準溶液 10 ml を正確に加え, 移動相にて 100 ml とし, 試料溶液とする。別に, NA 標準品を 105°C で 1 時間乾燥し, その約 0.1 g を精密に量り, 移動相を加えて正確に 100 ml とする。この液 10 ml および内標準溶液 10 ml を正確に加え, 移動相にて 100 ml とし, 標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 10 μ l につき, 次の条件で HPLC 法により試験を行い, 内標準物質のピーク面積に対する NA のピーク面積の比 Q_T および Q_S を求める。

ニコチン酸 ($C_6H_5NO_2$) の量 (mg)

$$= \text{NA 標準品の量 (mg)} \times Q_T / Q_S$$

内標準溶液 CF の移動相溶液 (1 \rightarrow 1000)

操作条件

検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 260 nm)

カラム: 内径約 4 mm, 長さ 15 cm のステンレス管に 5 μ m のオクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。

カラム温度: 35°C 付近の一定温度

移動相: SO 1.1 g にリン酸二水素ナトリウム試液・メタノール混液 (4:1) を加えて溶かし, 1000 ml とする。

流量: CF の保持時間が約 9 分となるように調整する。

カラムの選定: 標準溶液 10 μ l につき, 上記の条件で操作するとき, NA, 内標準物質の順で溶出し, その分離度が, 10 以上のものを用いる。

3.2 比色定量法

第十一改正日本薬局方「NA 注射液」の定量法を準用する¹⁾。

結果および考察

「NA 注射液」中には無痛化剤として BA が含まれているため NA, CF (内標準物質) および BA がそれぞれ分離する条件を検討した。

1. メタノール濃度の検討

移動相として 5 mM SO を含むリン酸二水素ナトリウム試液・メタノール混液中のメタノールの濃度を

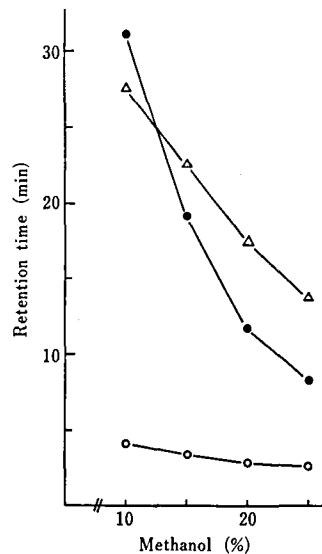


Fig. 1. Effect of concentration of methanol on retention time

HPLC conditions: column, Inertsil ODS, 4.6 \times 150 mm; mobile phase, mixtures of 0.05M monobasic sodium phosphate solution (pH 3) and methanol (90:10), (85:15), (80:20) and (75:25) containing 1.5 mM sodium 1-octanesulfonate; wavelength, 260 nm; flow rate, 1 ml/min; column temperature, 35°C; sensitivity, 0.16 AUFS

O: nicotinic acid, ●: caffeine, Δ: benzyl alcohol

10~25%に変更したときの NA, CF および BA の保持時間 (t_R) の変化を検討した。その結果を Fig. 1 に示す。

Fig. 1 からわかるように NA の t_R はメタノールの増加に伴い 4.1 分から 2.6 分と減少したが, CF あるいは BA の t_R は約 30 分付近から約 10 分付近へと大きく減少した。BA の溶出時間を考慮して 20% のメタノールを用いることにした。

2. カラム温度の検討

カラム温度を 20~45°C に変更し, 3 種類の化合物の t_R の変化を検討した。その結果を Fig. 2 に示す。

Fig. 2 からわかるように温度の上昇によって NA の t_R はあまり変化しないが, BA は 17.3 分から 12.3 分に, CF は 13.1 分から 8 分に減少した。この結果より, カラム温度として温度調節の簡便な 35°C を用いることにした。

3. SO 濃度の検討

カウンターイオンの SO の濃度を 0~7 mM に変化させたときの 3 種類の化合物の t_R を Fig. 3 に示す。

Fig. 3 からわかるように SO 濃度の増加に伴い NA

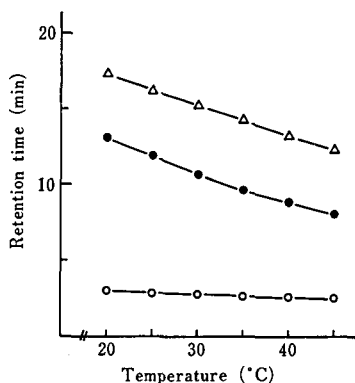


Fig. 2. Effect of column temperature on retention time

HPLC conditions: mobile phase, a mixture of 0.05M monobasic sodium phosphate solution (pH 3) and methanol (80:20) containing 1.5 mM sodium 1-octanesulfonate; column temperature, 20~45°C. The other conditions were the same as Fig. 1. ○: nicotinic acid, ●: caffeine, △: benzyl alcohol

の t_R は 2.5 分から 2.6 分とわずかに増加したが、CF あるいは BA の t_R は減少することがわかった。NA に対してはカウンターイオンとしての効果が少しではあるが認められ、かつ CF および BA の t_R を減少させることが出来た。この結果より、SO として 5 mM のものを用いることにした。

4. リン酸二水素ナトリウム試液のイオン強度および pH の検討

リン酸二水素ナトリウム試液の 25~100 mM を用いて前記の 3 種類の化合物の t_R を測定した。イオン強度の増加にともない 3 種類の化合物の t_R はわずかに減少することが分かった。また、リン酸二水素ナトリウム試液の pH を 2.0 から 3.5 に変化させたが、3 種類の化合物の t_R は変化しなかった。NA の pK_a は 4.95, pK_b は 10.45 であり²⁾、今回検討した pH

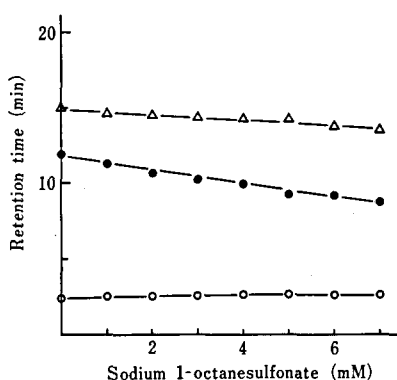


Fig. 3. Effect of concentration of sodium 1-octanesulfonate on retention time

HPLC conditions: mobile phase, mixtures of 0.05 M monobasic sodium phosphate solution (pH 3) and methanol (80:20) containing 0~7 mM sodium 1-octanesulfonate. The other conditions were the same as Fig. 1.

○: nicotinic acid, ●: caffeine, △: benzyl alcohol

の範囲では NA はほとんど非解離の状態が存在しており、その結果として NA の t_R が変化しないということが推定できた。この結果より、50 mM のリン酸二水素ナトリウム試液 (pH 3) を用いることにした。

1 ml 中に NA 20~120 μ g および CF 100 μ g を含む溶液を調製し、CF のピーク面積に対する NA のピーク面積の比を用いて検量線を作成した。検量線は原点を通る良好な直線性を示し、1 ml 中に NA 100 μ g および CF 100 μ g を含む溶液を用いて 6 回の繰り返し注入の結果得られたピーク面積比の平均値は 1.063 で、その変動係数は 0.26% であった。

次に、1 ml 中に NA 100 μ g, CF 100 μ g および BA 400 μ g を含む液を調製し、この液 10 μ l を用いて分離度の検討を行った。Table 1 に用いた 4 種類の

Table 1. Resolution between nicotinic acid (NA), caffeine (CF) and benzyl alcohol (BA) using four kinds of columns

column	flow rate (ml/min)	t_R (min)			Rs1	Rs2
		NA	CF	BA		
Inertsil ODS	1	2.7	9.1	14.3	20.1	11.3
Shimadzu ODS-M	0.8	2.9	9.3	15.1	23.2	12.9
Shimadzu ODS-H	0.6	3.6	9.7	19.0	17.1	17.5
Cosmosil s_{C18}	0.7	3.2	9.8	17.2	17.4	12.9

Rs1: Resolution between nicotinic acid and caffeine

Rs2: Resolution between caffeine and benzyl alcohol

Table 2. Content per cent of nicotinic acid in injections obtained by high-performance liquid chromatography

	HS21	HS22	HS23	HS51	HS52	HS53
1	103.8	104.4	103.7	103.6	103.8	102.2
2	103.5	104.4	102.1	103.5	103.6	102.2
3	102.4	104.0	103.2	102.4	103.9	102.5
4	103.0	105.1	103.2	102.5	103.4	102.2
5	103.0	104.0	102.4	103.4	102.9	102.6
6	103.1	104.0	102.4	102.6	103.2	101.1
\bar{x}	103.1	104.3	102.8	103.0	103.5	102.1
c. v	0.44	0.41	0.60	0.54	0.37	0.52

HS21, HS22, HS23: batch No. of nicotinic acid injections (20 mg/ml)

HS51, HS52, HS53: batch No. of nicotinic acid injections (50 mg/ml)

カラム名, 流量, NA, CF および BA の t_R および分離度を示した。

実験条件の検討は Inertsil ODS のカラムを用いて行ったが, 他の3種類のカラムを用いても NA を測定できることが明らかになった。しかし, BA の溶出時間が若干長くなることがわかった。

Table 1 の結果から, 流量として CF の t_R が約9分となるように設定したとき, カラムの選定条件としては NA, CF の順に溶出し, それらの分離度を10以上とすることが適当と思われた。

5. NA 注射液への応用

市販の NA 注射液 (20 mg/ml, 50 mg/ml) について, 今回確立した HPLC 法にて測定を行い, その結果を表示量に対する含量 % を用いて Table 2 に示す。なお, このときのクロマトグラムの1例を Fig. 3 に示す。

Table 2 から分かるように製造番号の異なる 20 mg/ml の注射液3種類および 50 mg/ml の注射液3種類の6回の繰り返し実験の結果得られた含量範囲は 102.1~104.3% であり, 局方の「NA 注射液」の範囲, 95~110% の範囲内にあった。

現行の比色定量法にて測定を行い, その結果を Table 3 に示す。

6種類の注射液から得られた NA の含量範囲は 102.2~105.5% の範囲であり, HPLC 法で得られた値と比べて少し高めの値を与えている製剤もあるが, 統計的には有意の差は認められなかった。この結果から, 今回確立した HPLC 法による NA 注射液の定量法は現行の日局定量法の代替法として十分な精度と正確さを有していた。

終わりに, ニコチン酸注射液を提供いただいたトー

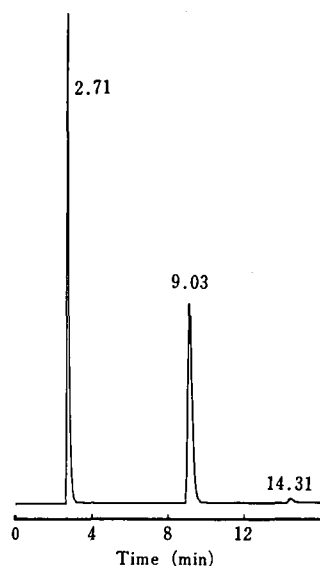


Fig. 4. HPLC Chromatogram of nicotinic acid injection which contains 20 mg of nicotinic acid

HPLC conditions: column, Inertsil ODS, 4.6×150 mm; mobile phase, a mixture of 0.05M monobasic sodium phosphate solution (pH 3) and methanol (80:20) containing 1.5 mM sodium 1-octanesulfonate; wavelength, 260 nm; flow rate, 1 ml/min; column temperature, 35°C; sensitivity, 0.16 AUFS. t_R (2.71 min): nicotinic acid, t_R (9.03 min): caffeine, t_R (14.31 min): benzyl alcohol

アエイヨー(株)に感謝するとともに, 実験に関してご助言頂いた同社福島工場品質管理課長石田忠夫氏および実験の手助けを頂いた大阪薬科大学研究生宮本由香里嬢に深謝します。

Table 3. Content per cent of nicotinic acid in injections obtained by colorimetry

	HS21	HS22	HS23	HS51	HS52	HS53
1	103.7	103.0	102.7	107.0	103.3	102.3
2	106.3	104.3	104.0	103.7	103.0	102.0
3	106.6	107.2	104.0	104.3	103.0	102.3
\bar{x}	105.5	104.8	103.5	105.0	103.1	102.2
c. v	1.51	2.05	0.72	1.67	0.17	0.17

HS21, HS22, HS23: batch No. of nicotinic acid injections (20 mg/ml)

HS51, HS52, HS53: batch No. of nicotinic acid injections (50 mg/ml)

文 献

- 1) 第十一改正日本薬局方, p. 718 (1986) 厚生省
- 2) 第十一改正日本薬局方解説書, p. C-1204(1986)
広川書店

向精神剤の同定に関する研究 (第6報)
 幻覚剤 2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (STP), 2,5-Dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) および 2,5-Dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET) の標準品製造と各種分析データ

島峯望彦・高橋一徳・中原雄二

Studies on the Identification of Psychotropic Substances VI
 Preparation and Various Analytical Data of Reference Standards of
 Some Hallucinogens, 2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (STP),
 2,5-Dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) and
 2,5-Dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET)

Mochihiko SHIMAMINE, Kazunori TAKAHASHI and Yuji NAKAHARA

The Reference Standards of 2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine (STP), 2,5-dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) and 2,5-dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET) were prepared. Their purities measured by HPLC were 99.5% for STP hydrochloride, 99.8% for DOB hydrobromide and 99.5% for DOET hydrochloride. For the identification and determination, various analytical data of the three drugs were obtained by using UV, IR, HPLC, GC/MS and NMR, and the discrimination were discussed.

(Received May 31, 1989)

はじめに

1971年国連において「向精神剤に関する条約」が採択され、1976年に発効し、現在、92ヶ国が加盟している。わが国も本条約批准に向けて準備を進めているところである。これらが法律で規制された時、それらの鑑定法の整備が必要となってくる。そのために、まずこれらの標準品を製造し、その物理的、化学的性質を測定しておくことが不可欠である。対象となっている向精神剤の内訳は、幻覚剤22、覚せい剤・興奮剤23、催眠鎮静剤26、精神安定剤24、鎮痛剤2、抗てんかん剤2となっている。我々は、行政の要請を受けて、最も規制の厳しい付表Iの22品目についてその作業を進めているが、今回幻覚剤の中で強い作用を持ち、乱用や依存毒性が問題となっている 2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (STP または DOM) とその芳香環の4位のブロムおよびエチル同族体である 2,5-Dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) と 2,5-Dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET) の3種について標準品の製造を行い、各種分析データを測定し

たので報告する。

実験の部

1. 標準品の製造

2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine (STP) は m-cresol (和光純薬製) から先に報告した我々の方法¹⁾で、2,5-dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) は 2,5-dimethoxybenzaldehyde (東京化成製) から Aldous ら²⁾の方法で、2,5-dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET) は m-ethylphenol (Aldrich 製) から STP と同様の方法¹⁾でそれぞれ合成した。

上記の方法で得た STP および DOET はいずれも無水エタノールに溶かし、飽和塩化水素・エタノール溶液を少量加え、氷室に放置する。析出する結晶をとり、無水エタノールより再結晶を数回繰り返して、採取後減圧で乾燥し、STP・HCl および DOET・HCl を得た。HPLC により純度を計算すると両者ともに 99.5% であった。DOB は HBr 塩として得られ、イソプロパノールで再結晶を数回繰り返して、採取後減圧で乾燥して DOB・HBr を得た。HPLC で純度を計算

すると99.8%であった。

以下、これらのものを標準品として用いる。試薬、溶媒は市販の試薬特級品を用いた。

2. 装置

測定装置は以下のものを用いた。

UV: 島津 UV-260 分光光度計

HPLC: 横河 HP 1040M

ダイオードアレイ検出システム

GC/MS: 横河 HP 5890A (MSD 5970付)

IR: 島津 IR-460 赤外分光光度計

NMR: Varian GEMINI-300 FTNMR (300 MHz)

核磁気共鳴装置

3. 試験方法

3.1 薄層クロマトグラフ法

試料溶液は各試料のメタノール溶液 (1→500) を用い、薄層板 (Silica gel 60 F254, メルク社製) に約 10 μ l スポットした。展開溶媒と発色試薬を下に示す。

展開溶媒

i) methanol: conc. NH_4OH = 100:1.5

ii) CHCl_3 : methanol: conc. NH_4OH = 27:3:0.1

iii) CHCl_3 : acetone: methanol: conc. NH_4OH = 15:12:3:0.1

発色試薬: 塩化白金ヨウ化カリウム溶液

3.2 紫外吸収スペクトル

各試料を正確に 1mg とり、メタノール 40 ml に溶解した溶液を用いて紫外吸収スペクトルを測定し、E値を算出した。

3.3 高速液体クロマトグラフィー

試料溶液は各試料の水溶液 (1→1000) を用い、マイクロシリンジでその 5 μ l をクロマトグラフに注入する。カラムは Inertsil ODS (5 μ , 150 \times 4.6 mm), 移動相は i) 1/6M NaH_2PO_4 : methanol: CH_3CN = 3:1:1 と ii) 1/8M NaH_2PO_4 : CH_3CN = 4:1 の 2種類を用い、流速は 1 ml/min, カラム温度は 40 $^\circ\text{C}$, 検出波長は 290 nm で測定した。

3.4 ガスクロマトグラフ—質量分析 (GC/MS)

GC/MS は、各試料の遊離塩基およびトリフルオロアセチル (TFA) 誘導体として測定した。

各試料のメタノール溶液を適宜希釈して用い、オートサンプラーでその 1 μ l をクロマトグラフに注入する。

(i) TFA 誘導体化

上記のメタノール溶液を一部とり、減圧乾固して得た残渣に無水トリフルオロ酢酸: 酢酸エチル (1:1) 溶液の 0.2 ml を加え、55 $^\circ\text{C}$ で 20 分間加熱する。冷

後室温で窒素気流下溶剤を留去した後、酢酸エチル 0.1 ml に溶解し、試料溶液とする。

(ii) 測定条件

測定条件を下に示す。

カラム: 10 m \times 0.25 mm i. d. (thickness, 0.3 μ m)
100% dimethylsiloxane capillary column
(OV-1 bonded, ガスクロ工業製)

注 入: Splitless, 150 $^\circ\text{C}$

測定温度: 60 $^\circ\text{C}$ (0.5 min) — 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ — 250 $^\circ\text{C}$

キャリアガス: ヘリウム (25 Kpa)

3.5 赤外吸収スペクトル

各試料約 1mg を用いて、常法により KBr 錠を作製し、測定した。

3.6 核磁気共鳴スペクトル

各試料約 10mg を CDCl_3 (1% TMS を含む) 1 ml に溶解し、試料溶液とする。

4. 試験成績

1) 性状および融点

STP \cdot HCl は白色結晶状粉末で、融点は 193~194 $^\circ\text{C}$ (lit.³⁾ 188~189 $^\circ\text{C}$), DOB \cdot HBr は白色結晶状粉末で、融点は 175 $^\circ\text{C}$ (lit.⁴⁾ 塩酸塩として 197~198 $^\circ\text{C}$), DOET \cdot HCl は白色結晶状粉末で、融点は 195~196 $^\circ\text{C}$ (lit.⁵⁾ 195 $^\circ\text{C}$) である。

2) 薄層クロマトグラフ法 (TLC)

3種の展開溶媒による各試料のTLCの結果はTable 1に示す通りであった。

STPとDOETのRf値はほぼ同じ値を示し、TLCでは両者の識別は困難であったが、DOBとは明らかな差が認められた。

3) 紫外吸収スペクトル (UV)

それぞれの吸収極大、極小およびE値の測定結果をTable 2に示す。STPとDOETの吸収曲線は酷似していて区別が不可能であるが、DOBのそれは他に比べやや長波長側にシフトしているため識別可能であった。

4) 高速液体クロマトグラフ— (HPLC)

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

Compound	Rf \times 100		
	Solvent		
	i	ii	iii
STP	36	32	38
DOB	38	36	42
DOET	37	32	39

* Conditions are described in the text

用いた2種類の移動相のいずれにおいても3種の化合物は明確に分離した (Table 3 および Fig. 1). Fig. 1 に示すように、各ピークの UV スペクトルを画かせることにより、近接の STP(4.6 min) と DOB (5.2 min) の識別が確実にできた。

Table 2. UV data of the drugs

Compound	$\lambda_{\text{min}}^{\text{MeOH}}$		$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$	
	nm	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	nm	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$
STP, HCl	217	323.6	225	341.4
	254	24.1	292	190.5
DOB, HBr	258	9.0	224*	300.2
			297	150.8
DOET, HCl	217	311.2	225	338.0
	253	13.2	292	194.0

* inflexion

5) ガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS)

3種の化合物の遊離塩基と TFA 誘導体の保持時間 (RT) および主ピークを Table 4 に示す。

5.1 遊離塩基

STP, DOB および DOET のいずれの場合にもベースピークは m/z 44 で、 β 解裂により生成した $[\text{CH}_2\text{CH}=\text{NH}_2]^+$ である。その他主なピークは、親イオン

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

Compound	Eluent	
	i	ii
STP	4.6	10.1
DOB	5.2	13.2
DOET	8.0	23.4

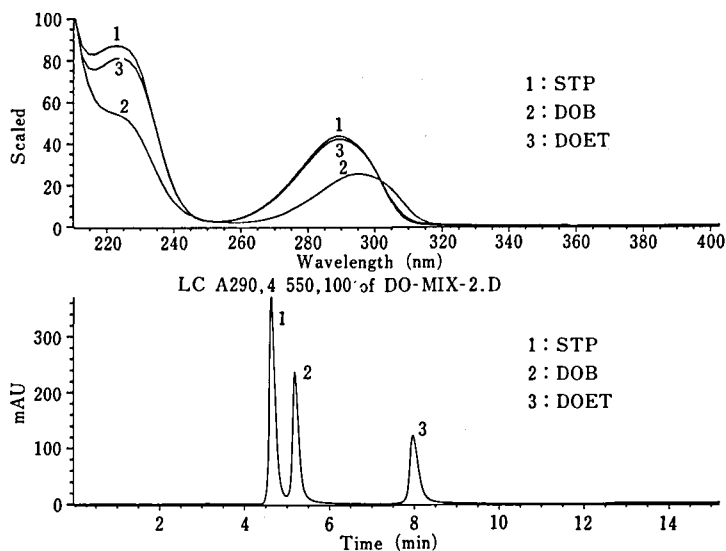


Fig. 1. HPLC chromatograms and UV spectra of STP, DOB and DOET

Table 4. Retention times and principal peaks of STP, DOB and DOET by GC/MS

		RT (min)	Base peak (m/z) ⁱ	Principal peaks (relative abundance, %)
STP	base	9.3	44	209(M ⁺ , 1.2), 166(37.4), 151(13.9), 135(3.6), 91(5.8), 77(5.3)
	TFA-	10.4	165	305(M ⁺ , 62.9), 192(44.2), 140(6.7), 135(41.1), 91(19.5)
DOB	base	9.8	44	275 : 273(M ⁺ , 0.4 : 0.4), 232 : 230(8.5 : 9.2), 217 : 215(1.4 : 1.4), 201 : 199(1.0 : 1.1), 121(1.3), 105(2.1), 91(1.8), 77(4.8)
	TFA-	10.9	258	371 : 369(M ⁺ , 80.3 : 79.0), 258 : 256(100 : 98.4), 231 : 229(84.8 : 89.5), 201 : 199(26.0 : 24 : 3), 140(29.3)
DOET	base	11.2	44	223(M ⁺ , 60.9), 180(21.6), 165(7.5), 149(1.0), 91(4.7), 77(3.7)
	TFA-	12.2	179	319(M ⁺ , 60.9), 206(42.6), 149(16.9), 140(8.3), 91(23.8)

(M⁺) から上記の ethylimine 部分が脱離した M⁺ -43[m/z 166(STP), 230, 232(DOB), 180(DOET)], さらに続いて脱メチルが起きた, M⁺ -58[m/z 151(STP), 215, 217(DOB), 165(DOET)] がそれぞれ認められた。

5.2 TFA 誘導体

TFA 誘導体マススペクトル (EI) を Fig.2 に示

す。遊離塩基の場合に比べ, M⁺ が明確に現われている。推定される主な解裂様式を Fig.3 に示す。解裂経路は主に二経路である。まず M⁺ から CF₃CONH₂ の脱離によりスチレン様イオンとなる。他の経路はβ解裂によりアミン部分 (m/z 140) とベンジル部分とに解裂し, さらに続いて脱 OCH₂ が起きるルートである。これらの解裂様式を元に類縁物質の確認, 同定

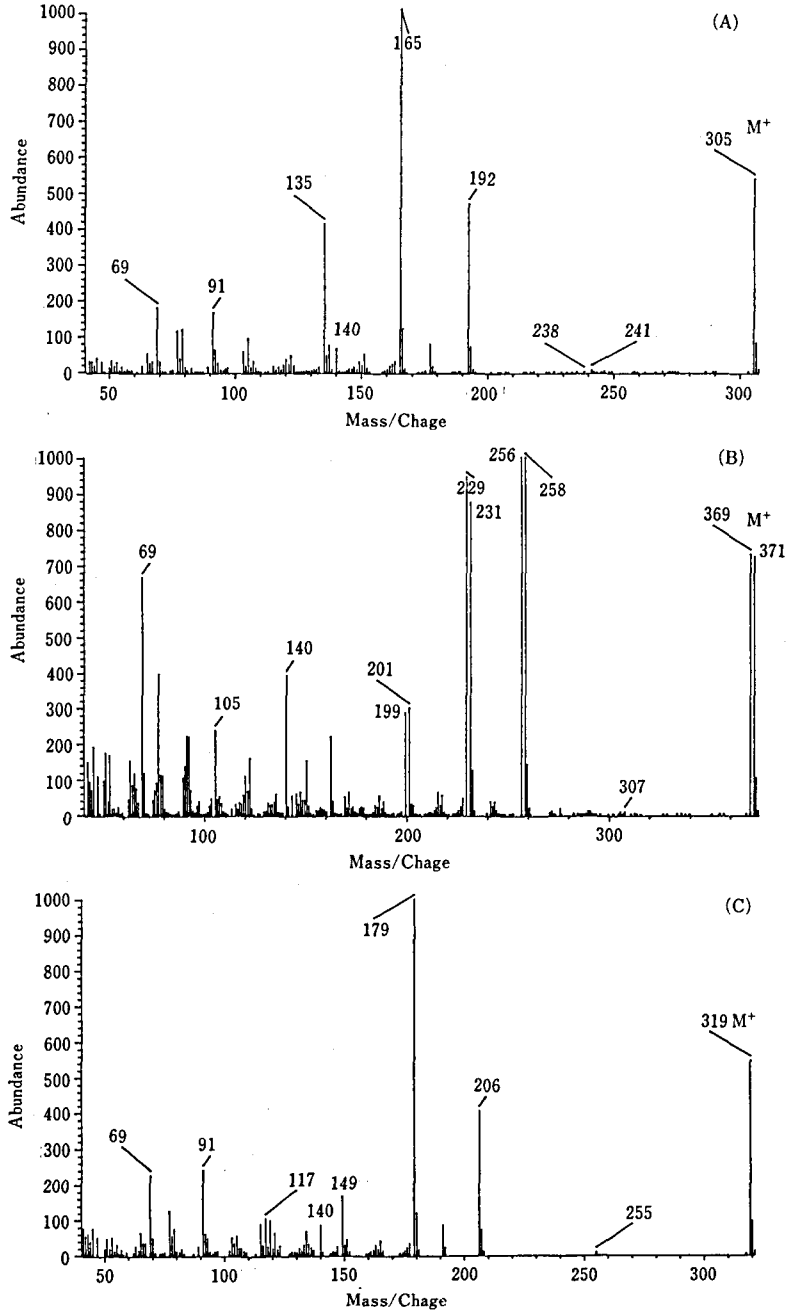


Fig. 2. EI mass spectra of TFA-STP (A), TFA-DOB (B) and TFA-DOET (C)

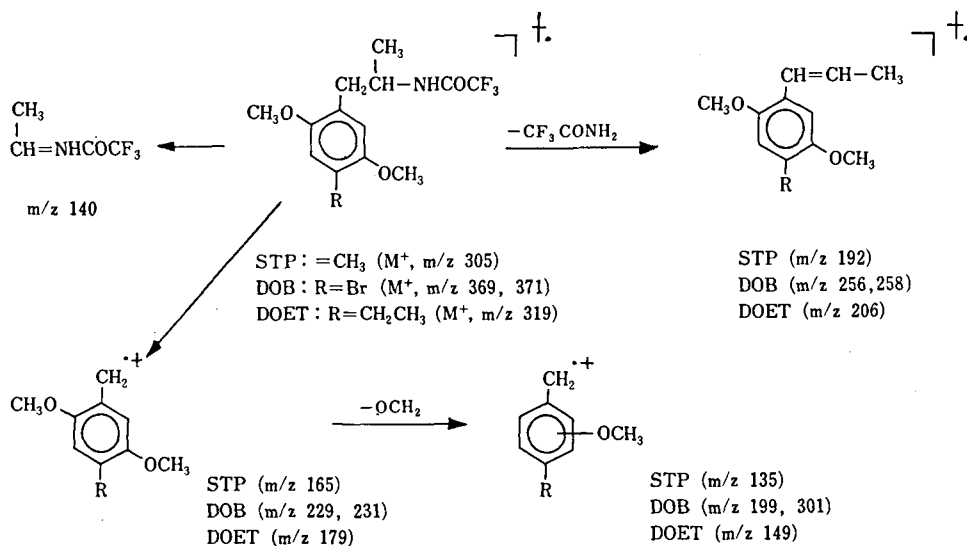


Fig. 3. Possible mass fragmentation patterns of TFA-STP, TFA-DOB and TFA-DOET

を行うことが可能であると思われる。

6) 赤外吸収スペクトル (IR)

3種の化合物のKBr錠による赤外吸収スペクトルをFig. 4に示す。3者とも非常に類似したスペクトルを示しているが、DOBにおいて740および790 cm^{-1} にハロゲンに由来するピークが認められ、他の2者との異なる点である。

7) 核磁気共鳴スペクトル (NMR)

3種の化合物のプロトンケミカルシフト (δ ppm)の帰属をTable 5に示す。興味深いことには、4位にプロムが入ると、3位の水素が他のものに比べ0.16

ppm程度低磁場にシフトし、5位の OCH_3 が2位の OCH_3 と分離 (3.82, 3.88 ppm) して、2本の singlet として現われた。また、DOBのHBr塩であるためその NH_3 は他のHCl塩の NH_3 に比べ0.35 ppm程度、高磁場にシフトしている。

結 論

向精神剤条約の別表Iに含まれる幻覚剤STPと最近この別表Iに追加された構造類似のDOBおよびDOETの標準品の製造に基づき、3種の化合物の各種分析データを整備するとともに、相互の識別のため

Table 5. Proton chemical shifts (δ ppm) of STP-HCl, DOB-HBr and DOET-HCl salts in CDCl_3

	$^*\text{NH}_3$	1'	2'	3'	$^{\text{2,5}}\text{OCH}_3$	3	6	$^*\text{X}$
STP	8.35bs	2.89dd 3.10dd	3.70m	1.36d	3.79s	6.68s	7.21s	X= CH_3 2.19s
DOB	8.00bs	2.95dd 3.05dd	3.79m	1.42d	3.82s 3.88s	6.85s	7.27s	X=Br
DOET	8.34bs	2.86dd 3.10dd	3.68m	1.37d	3.79s	6.69s	7.26s	X= $\overset{\text{a}}{\text{C}}\text{H}_2\overset{\text{b}}{\text{C}}\text{H}_3$ a: 2.59q b: 1.15t

bs: broad singlet, dd: double doublet, m: multiplet, s: singlet, d: doublet, t: triplet, q: quartet.

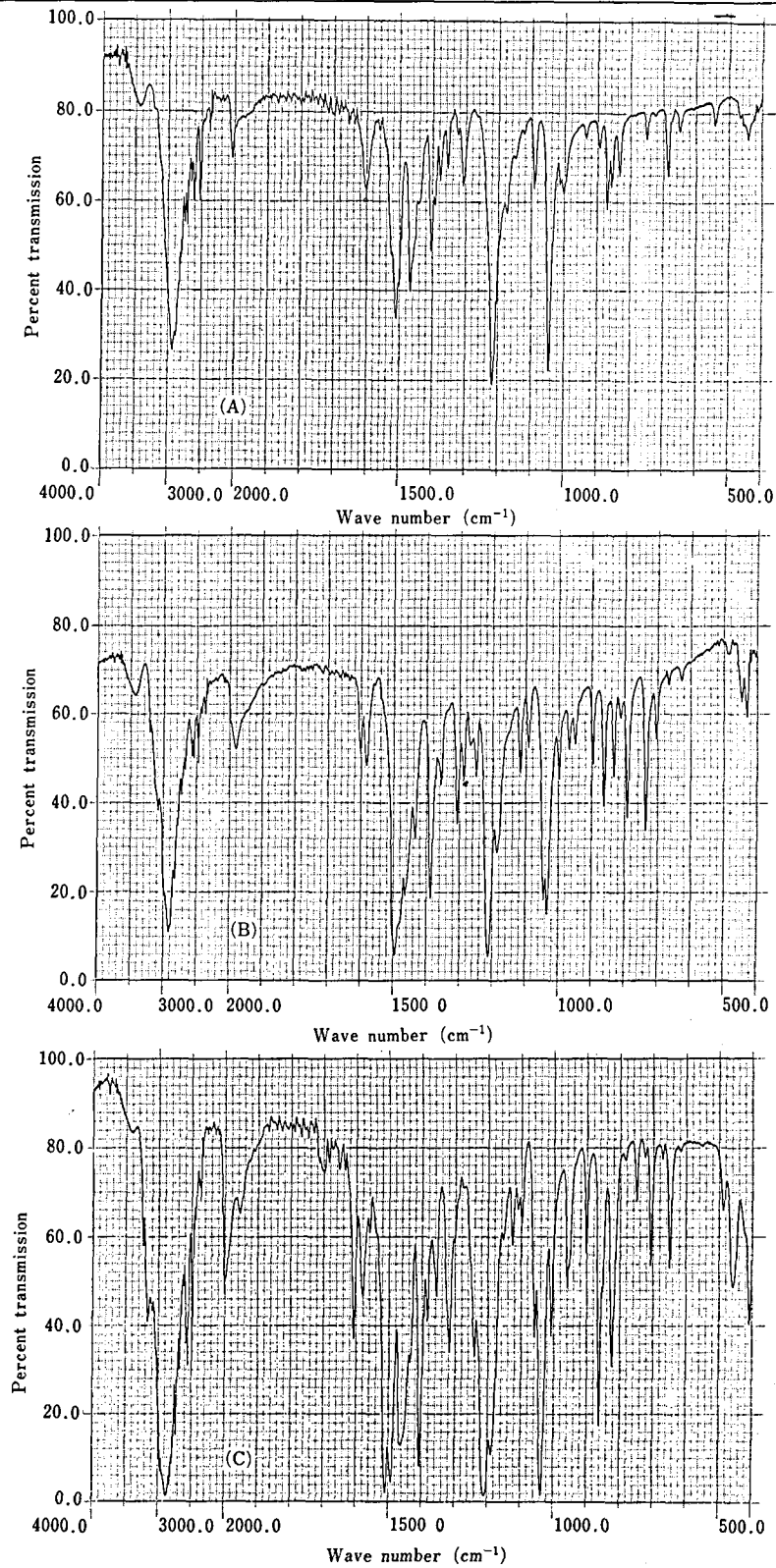


Fig. 4. IR spectra of STP·HCl (A), DOB·HBr (B) and DOET·HCl (C)

にデータの解析を行った。本資料は鑑定の際の参考資料として役立つものと思われる。

文 献

- 1) 大野昌子, 島峯望彦, 高橋一徳: 衛生試験. 91, 41 (1973)
- 2) F. A. B. Aldous, B. C. Barrass, K. Brewster, D. A. Buxton, D. M. Green, R. M. Pinder, P. Rich, M. Skeels and K. J. Tutt: *J. Med. Chem.*, 17, 1100 (1974)
- 3) J. W. Gunn, Jr, S. P. Sobol and R. A. Moore: Analytical manual, BNDD publishing, p. 95 (1971)
- 4) K. Bailey, D. R. Gagne and R. K. Pike: *J. A. O. A. C.*, 59, 1162 (1976)
- 5) A. T. Shulgin: *C. A.*, 71, 293, 12781 j (1969) (Brit. PT, 1, 147, 739)

カリジノゲナーゼ標準品の長期安定性

谷本 剛・福田秀男・木村俊夫

Long-term Stability of Kallidinogenase Reference Standard

Tsuyoshi TANIMOTO, Hideo FUKUDA and Toshio KIMURA

The long-term stability of Kallidinogenase Reference Standard of National Institute of Hygienic Sciences was studied. The standard was kept for a long term (60 months) at -5°C , 20°C , 37°C and 50°C . No decrease in kallidinogenase activity was observed at 60 months at -5°C and 28 months at 20°C . The decrease in the activity of the standard kept at 37°C was only 7% at 10 months. The standard kept at 50°C had lost nearly all activity at 4 months. Therefore, "Kallidinogenase Standard" was stable for prolonged storage (about 5 years) at -5°C .

(Received May 31, 1989)

WHO が1982年にカリジノゲナーゼ国際標準品を初めて確立したのを受けて¹⁾, わが国においても標準品の制定が計画され, 1983年に第1回の国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品を配布するに至った²⁾. 当初, 本標準品のおよその需要量の予測はカリジノゲナーゼ製剤の生産量などから立てられ, それに基づいて必要量を製造したが, 以後の製造計画を立てる上において, その保存方法と安定性に関する見地が必要であった. そこで, 初回製造した標準品を用いてその力価の種々の温度における経時的变化を調べた.

実験方法

1. 試薬・試液

1) 1) リン酸緩衝液: pH 7.0 の 0.1M リン酸塩緩衝液 500 ml に水を加えて 1000 ml とする.

2) トリス塩酸緩衝液: トリスヒドロキシメチルアミノメタン 2.42 g に水 100 ml を加えて溶かし, これに塩酸を加えて pH 8.0 に調整した後, 水を加えて 200 ml とする.

3) トリプシンインヒビター溶液: 大豆トリプシンインヒビター 5mg にリン酸緩衝液を加えて溶かし,

10 ml とする.

4) 基質液: D-パルル-ロイシル-アルギニン *p*-ニトロアニリド・2塩酸塩 (S-2266) 10mg にトリス塩酸緩衝液を加えて溶かし, 50 ml とする.

2. 試料

国立衛生試験所カリジノゲナーゼ標準品 (Control 821) を用いた.

3. 試料の保存条件

無色のアンプルに封入された標準品を紙箱に入れて遮光し, -5°C , 20°C , 37°C および 50°C に保った恒温器に入れて保存した.

4. 力価測定法

先に報告した合成ペプチド基質 (S-2266) を用いる方法⁴⁾ に準じて測定した.

1) 試料溶液の調製: 1 アンプルをリン酸緩衝液に溶かして正確に 10 ml とし, この 4 ml を正確に量り, トリプシンインヒビター溶液 1 ml を正確に加え, さらにリン酸緩衝液を加え, 正確に 10 ml とする.

2) 操作法: $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ で5分間予温した基質液 2.5 ml に同様に予温した試料溶液 0.5 ml を加えて反応を開始し, 2分および6分後の波長 405 nm におけ

Table 1. The change on standing of kallidinogenase activity

Temperature (°C)	Kallidinogenase activity (unit/ampoule)						
	Periods of storage (month)						
	0	1	4	10	16	28	60
-5	5780 (100)	5800 (100.3)	5710 (98.8)	5880 (101.7)	5650 (97.8)	6000 (103.8)	5900 (102.1)
20					5600 (96.9)	5820 (100.7)	3580* (61.9)
37			5585 (96.6)	5375 (93.0)	4690 (81.1)		
50		5200 (90.0)	155 (2.7)				

The numbers in parentheses are percentages with respect to the activity of the enzyme which stored at -5°C for 0 month.

*: the value of sample stored at room temperature (1 - 30°C) for a period of 60 months.

る吸光度 A_{12} および A_{16} を水を対照にして測定する。別に、トリプシンインヒビター溶液 1 ml にリン酸緩衝液を加えて正確に 10 ml とした液 0.5 ml を用いて同様に操作し、吸光度 A_{02} および A_{06} を測定する。

1 アンプル中のカリジノゲナーゼ量 (単位)

$$= \{(A_{16} - A_{12}) - (A_{06} - A_{02})\} \div 4 \times 50$$

ただし、1 分間に吸光度 0.001 を変化させる酵素量を 1 単位とする。

結果と考察

最長6ヶ月間にわたる力価の経過変化を測定し、Table 1 にその結果を示した。-5°C に保存した場合、6ヶ月間は力価に変動を認めず、20°C での保存では少なくとも28ヶ月間は力価を維持した。37°C では10ヶ月で約7%、16ヶ月で約20%の力価の定価がみられ、50°C では1か月で約10%低下し、4ヶ月ではほぼ完全に力価を消失した。50°C で4ヶ月間保存したものは外観的にも淡褐色に変化していた。

今回の結果から、カリジノゲナーゼ標準品の安定性は温度に依存することが示され、-5°C の低温に保存

する限りにおいては少なくとも5年間、常温においても2年間は力価の低下を認めないことが明らかになった。

現在、カリジノゲナーゼ標準品は製造後直ちに、-5°C 以下の氷室に保管され、配布されるまでこの状態に維持されている。また、カリジノゲナーゼ標準品のロット更新は2~3年ごとに行う計画になっており、1985年に最初のロット更新が行われた³⁾。したがって、現在のカリジノゲナーゼ標準品の供給体制はその力価を充分保証し得るものである。しかし、-5°C で5年間保存が可能であることからカリジノゲナーゼ標準品の製造計画をより合理化できるものと考えられる。

文 献

- 1) WHO/BS/82. 1367
- 2) 谷本 剛, 福田秀男, 木村俊雄, 川村次良: 衛生試験報, 101, 128 (1983)
- 3) 谷本 剛, 福田秀男, 木村俊雄, 山羽 力: 衛生試験報, 103, 116 (1985)
- 4) 谷本 剛, 福田秀男, 川村次良: 衛生試験報, 101, 83 (1983)

国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品 (Control 881)

谷本 剛・川崎ナナ・四方田千佳子・村井真美・木村俊夫・田中 彰

Urokinase Reference Standard of National Institute of Hygienic Sciences (Control 881)

Tsuyoshi TANIMOTO, Nana KAWASAKI, Chikako YOMOTA, Mami MURAI,
Toshio KIMURA and Akira TANAKA

The National Institute of Hygienic Sciences Standard for Urokinase (Control 881) was established in collaboration with five laboratories. This standard contains 1100 international units of urokinase and 1.17 mg of human serum albumin in each ampoule. Urokinase used for the standard is constituted of 1 part of high molecular weight species (M. W. 54000) and 4 parts of low molecular weight species (M. W. 33000).

(Received May 31, 1989)

ウロキナーゼはプラスミノゲンの $^{540}\text{Arg}-^{541}\text{Val}$ 結合を開裂して、これを活性化し、プラスミンを生成する酵素である。ここで生成したプラスミンがフィブリンなどの血栓を溶解するので、本剤は各種の血栓症や血管閉塞症などの治療に広く用いられている。ウロキナーゼの標準品は WHO によって1968年に初めて国際標準品として制定された。しかし、当時のわが国は公的なウロキナーゼ標準品を制定できる状況にはなかった。ところが、製剤の開発が進むにつれて標準品設定の必要性が生じ、1973年に WHO 標準品をもとにして暫定的にウロキナーゼ標準品を設定し、ウロキナーゼ技術懇話会から配布を開始した。以後、1982年まで、暫定的ウロキナーゼ標準品は5回の更新を重ねることになったが、1983年になってこの暫定的標準品に代えて、公的標準品としてのウロキナーゼ標準品を制定することになり、同年、国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品 (Control 821)¹⁾ の配布が開始された。今回、この標準品の更新時期を迎え、国立衛生試験所を含む5機関による共同検定に基づいて第2回目の標準品製造を行ったので、その結果を報告する。

実験の部

1. 標準品候補品

1アンプル中に約1000国際単位のウロキナーゼ、約1mgのヒト血清アルブミンおよび約1mgの塩化ナトリウムを含む凍結乾燥品。

2. 検定用標準品

国際標準品 (第1回, 4800国際単位/アンプル)。

3. 試薬

フィブリンノーゲン：第一化学薬品(株)製のウシフィブリンノーゲン (タイプ2) 又はこれと同等以上の品質を有するもの。

プラスミノゲン：第一化学薬品(株)製のウロキナーゼ活性測定 (二段法) 用プラスミノゲン (R=0.5) 又はこれと同等以上の品質を有するもの。

トロンビン：第一化学薬品(株)製のウロキナーゼ活性測定 (二段法) 用トロンビンまたはこれと同等以上の品質を有するもの。

合成ペプチド基質：グルタリル-グリシル-アルギニン-メチルクマリルアミド (P-MCA) はペプチド研究所製を使用した。

4. タンパク質量の測定

Lowry らの方法²⁾ にしたがって測定した。標準物質にはウシ血清アルブミンを使用した。

5. ウロキナーゼの力価測定法

西崎らの方法³⁾ およびその改良法⁴⁾ にしたがって二段法で行った。

6. ウロキナーゼの分子量分布の測定

次の条件による液体クロマトグラフ法で測定した。

1) 試薬・試液

(1) 0.2M リン酸塩緩衝液：リン酸二水素カリウム 13.6g, リン酸二水素ナトリウム 15.6g およびアジ化ナトリウム 1.0g に水 700ml を加えて溶かし、薄めたリン酸 (6.8→500) を加えて pH 3.0 に調整し、さらに水を加えて全量を 1000ml とする。

(2) 移動相A：ゼラチン 5.0g に 0.2M リン酸塩緩

衝液 400 ml を加えて加温して溶解し、室温に戻した後、さらに 0.2M リン酸塩緩衝液 400 ml を加える。この液に薄めたリン酸 (6.8→500) を加えて pH 3.0 に調整し、さらに 0.2M リン酸塩緩衝液を加えて全量を 1000 ml とし、ろ過する。

(3) トリス緩衝液: トリスヒドロキシメチルアミノメタン 30.0 g および塩化ナトリウム 14.6 g に水 300 ml を加えて溶かし、1N 塩酸試液を加えて pH 8.5 に調整し、さらに水を加えて全量を 500 ml とし、ろ過する。

(4) P-MCA 液: P-MCA 5mg をジメチルスルホキシド 1 ml に溶かし、これにトリス緩衝液を加えて全量を 500 ml とする。

2) 試料溶液の調製

標準品用試料に移動相 A を加えて溶かし、その 1 ml に 10000 単位のウロキナーゼを含むように調製する。

3) 分析条件

(1) 分離部

- ・固定相: TSK-GEL SW タイプ G 3000SW (7.5 mmφ × 600 mm)
- ・移動相: 移動相 A
- ・カラム温度: 28°C
- ・流量: 0.5 ml/min
- ・注入量: 100 μl

(2) 反応部

- ・反応試液: P-MCA 液

- ・流量: 0.75 ml/min
- ・反応コイル: 0.25 mmφ × 1500 mm
- ・反応温度: 37°C
- ・検出器: 蛍光光度計 (励起波長: 365 nm, 蛍光波長 460nm)

結 果

1. 標準品候補品の充填誤差

標準品はヒト血清アルブミンなどの安定化剤を添加したウロキナーゼ液をアンプルに注入し、凍結乾燥して製造される。そこでアンプルへの充填が均一になされていることを調べるために、タンパク質量を指標としてその変動を検討した。標準品候補品 20 アンプルについて試験したところ、Table 1 に示すように、そのバラツキは 5% の危険率で ±1.0% 以内と推定された。

2. 標準品候補品におけるウロキナーゼの分子量分布

ヒト尿由来のウロキナーゼには分子量 54000 の高分子型と分子量 33000 の低分子量型の両者が存在している。これら両者の酵素化学的性質は異なることが報告されており⁵⁾、標準品の品質の継続性を考慮するとき、両者の分布状態はある程度一定に維持されるべきである。標準品候補品に含まれるウロキナーゼの分子量分布を HPLC 法で検討したところ、Fig. 1 に示す

Table 1. Variation in protein contents of 20 ampoules of the Urokinase Reference Standard (Control 881)

	1148	1176	1170	1177	1154
Protein contents	1115	1153	1157	1189	1127
(μg/ampoule)	1180	1151	1161	1160	1165
	1187	1211	1178	1191	1196
Mean	1167 μg/ampoule				
S. D.	±23.2				
C. V.	2.0%				
Range of confidence	±0.93%, 1156~1178 μg/ampoule				

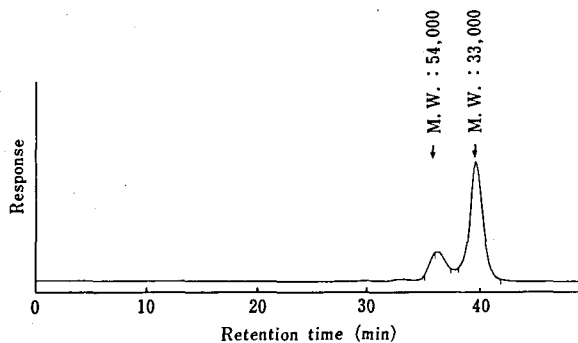


Fig. 1. Chromatogram of urokinase standard by HPLC

Table 2. Results of collaborative assay for the Urokinase Reference Standard (Control 881)

	Lab.	Each value					Mean value		
Urokinase activity (IU/ampoule)	A	1094	1133						1113.5
	B	1063	1043						1053.0
	C	1054	1069						1061.5
	D	1108	1141						1124.5
	E	1145	1186	1184	1086	1217	1158	1079	1150.7
Mean (IU/ampoule)		1117.3					1100.6		
S. D.		±53.60					±41.96		
C. V.		4.80%					3.81%		

ようなクロマトグラフが得られ、ピーク面積から算出した各分子量型の含有率は高分子量型が19%、低分子量型が81%であった。第1回の標準品 (Control 821) は高分子量型を25%、低分子量型を75%の割合で含有しており¹⁾、今回の結果は前回製造した標準品のそれと大差のないことが認められた。

3. 標準品候補品の力価検定

国立衛生試験所が配布した標準品候補品および国際標準品を用いて5機関で共同検定を行った。各機関で得た全測定結果とその平均値を Table 2 に示した。全測定値の算術平均値は1117単位/アンプルであり、その標準偏差は±53.60であった。また、各機関で得た値の平均値から求めた平均値とその標準偏差はそれぞれ1100.6および±41.96であった。

結 論

以上の結果から、今回検定した標準品候補品は高分子量型ウロキナーゼと低分子量型ウロキナーゼを1:4の比率で含有し、1アンプル当たり1100国際単位の

ウロキナーゼを含有するものと認定し、これを第2回の国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品 (Control 881) とした。

謝 辞

第2回ウロキナーゼ標準品の製造に当たり、標準品候補品や試薬を快く製造および供給していただきました持田製薬(株)に深謝いたします。また、力価の共同検定に御協力いただきました持田製薬(株)、(株)ミドリ十字、日本製薬(株)ならびに興和(株)に対しまして、感謝の意を表します。

文 献

- 1) 川村次良, 福田秀男, 谷本 剛, 木村俊夫: 衛生試験, 101, 125 (1983)
- 2) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
- 3) 西崎笹夫, 川村次良: 医薬品研究, 5, 295 (1974)
- 4) 渡辺良三ら: 医薬品研究, 15, 733 (1984)
- 5) P. J. Gaffney *et al.*: *Thromb. Haemostas.*, 45, 34 (1981)

家庭用有機溶剤中のベンゼンの分析法：地方衛生研究所との共同研究

五十嵐良明*1・鹿庭正昭*1・小嶋茂雄*1・中村晃忠*1・真鍋静子*2
 中島晴信*3・松永一朗*3・仲村智子*4・斉藤 稔*4・中島重人*5
 青山大器*5・宇都宮暁子*6・長谷川一夫*6・中川友夫*7
 瀬上昭子*7・中島慶子*8・鈴木助治*9・中村義昭*9

The Process of Developing and Improving the Analytical Method
 of Benzene in Organic Solvents for Household Use:
 Interlaboratory Collaborative Study

Yoshiaki IKARASHI*1, Masa-aki KANIWA*1, Shigeo KOJIMA*1,
 Akitada NAKAMURA*1, Shizuko MANABE*2, Harunobu NAKAJIMA*3,
 Ichiroh MATSUNAGA*3, Tomoko NAKAMURA*4, Yuzuru SAITOH*4,
 Shigeto NAKAJIMA*5, Taiki AOYAMA*5, Akiko UTSUNOMIYA*6,
 Kazuo HASEGAWA*6, Tomo-o NAKAGAWA*7, Akiko SEGAMI*7,
 Keiko NAKAJIMA*8, Sukeharu SUZUKI*9 and Yoshiaki NAKAMURA*9

A method for the determination of benzene in spot removers using gas chromatography (GC) and high-performance liquid chromatography (HPLC) was developed. The method was evaluated by collaborative study.

There are various types of household products containing organic solvents. The collaborative study clarified that a clean-up procedure is necessary for the analysis of products other than spot removers.

Thus, our improved method adopted the head space method in GC and microdiffusion method in HPLC as the clean-up procedure.

(Received May 31, 1989)

はじめに

佐藤らは、1986年4月、家庭用しみ抜き剤に使われるベンジンの中に、一部、27%ものベンゼンを含むものがあつたと報告した¹⁾。しみ抜き剤の主原料である石油ベンジン、リグロインは、各々沸点範囲約50~90℃、75~120℃の石油留分であり、メーカーからの情報によれば、数%のベンゼンなどの芳香族化合物を含むといわれている。したがって、このしみ抜き剤は、意図的にベンゼンを添加したものと考えられた。ベンゼンを長期間吸入した労働者における疫学調査で、白血病その他の血液障害が発生したことが報告されてお

り²⁾、動物実験でも同様の結果が出ている³⁾。米国では労働安全衛生庁 (OSHA) によって、従来5%以上のベンゼンを含む製品が規制を受けていたが、1987年12月より規制が強化され、0.5%以上のベンゼンを含む製品が規制を受けることになっている。一方日本では、労働安全衛生法でベンゼンなど有機溶剤を含む製品には取り扱い上の注意の表示が義務づけられているのみである。そこで、我々は市販のしみ抜き剤中のベンゼンの含有量を知るために、ベンゼンの分析法を作成した。有機溶剤を含む家庭用品はしみ抜き剤をはじめ、洗剤、防錆剤、ワックスなど多岐にわたる。また使われる溶剤もヘキサンのような低沸点のものから灯油成分などのように高沸点のものまでである。これらの様々なタイプの家庭用品を対象品目とした場合に、この分析法ではどのような問題点が生じるかを9機関で調査し、その結果をもとに分析法の改良を行った。

*1 国立衛生試験所・*2 北九州市環境衛生研究所・

*3 大阪府立公衆衛生研究所・*4 大阪市立環境科学

研究所・*5 名古屋市衛生研究所・*6 神奈川県衛生

研究所・*7 横浜市衛生研究所・*8 千葉県衛生研究

所・*9 東京都衛生研究所

実験方法

ベンゼンの分析法（試案）について、9機関で評価し、市販製品を分析した際に生じた問題点を改善した。

1. 分析法

A. 試案

A-1. 試験溶液の調製

試料 10 ml を正確に量りとり、その重量 W(g) を測定する。別に、試料 5 ml を正確に量りとり、ヘキサンを加えて正確に 25 ml としたものを試験溶液とする。塩基や界面活性剤等の添加物が含有されている場合は、試料 5 ml をシリカゲルカラムに流し込み、全流出液をとり、精製水 10 ml と振り混ぜた後、有機層を分取する。これに無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、さらにヘキサンを加えて正確に 25 ml としたものを試験溶液とする。

A-2. 試験

試験溶液およびベンゼン標準液をそれぞれ 2 μ l 採り、ガスクロマトグラフ (GC) または高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入し、得られたクロマトグラム上での試験溶液のベンゼンのピーク高さと、ベンゼン標準液のベンゼンのピーク高さを比較してベンゼンの含有量を求める。

B. 改良案

B-1. GC 法

100 ml のバイアルびん 2 個に、それぞれエチレングリコールモノエチルエーテル 20 ml を入れた後、一方のバイアルびんに試料（エアゾル製品はフラスコ内に噴射させたもの）2.00 g を正確に量り採り、他方のびんにベンゼン標準液 2.0 ml を正確に加える。ゴム栓をした後、25°C の水浴中で 30 分間振り混ぜる。これらのバイアルびんからヘッドスペースガスを 0.5 ml とり、GC に注入し、得られたクロマトグラム上のピーク高さを比較してベンゼン含有量を求める。

B-2. HPLC 法

コンウェイ装置の外室および内室にエタノール 10 ml を入れ、次に試料 1 ml を外室に入れて密閉し、30°C、24時間静置する。静置後、内室液をとり、エタノールで正確に 20 ml としたものを試験溶液とし、その 10 μ l を HPLC に注入する。ベンゼン標準液について同様に操作した時のベンゼンのピーク高さと比較して、含有量を求める。

2. GC 条件

カラム：10% PEG-1500 on Shimalite W(AW-DMCS) (60~80 mesh), 3 mm i. d. \times 2.0 m

カラム温度：50°C, 試料注入口温度：150°C

キャリアーガス：高純度窒素, 30ml/min

検出器：水素炎イオン化検出器 (FID)

3. HPLC 条件

カラム：Nucleosil 5C18(Nagel 社製, 粒径 5 μ m,

4.6 mm i. d. \times 250 mm)

移動相：アセトニトリル-水 (60:40)

流速：1.0 ml/min

カラム温度：室温

検出器：紫外外部検出器

検出波長：254 nm

結 果

有機溶剤を含む家庭用品を Table 1 に示した。各機関でこのような製品に試験法（試案）を適用した場合に、以下のような意見、問題点が指摘された。

1. 試験溶液の調製について

(1) 試料がペースト状でホールピペットで採取できない。(2) 試料がヘキサンと混ざらず、2層に分離してしまう。ヘキサン不溶物がある。(3) シリカゲルカラムにかけても流出してこない。流出するのに時間がかかる。不溶物を除去できない。(4) カラム流出液を水と振り混ぜるとエマルジョンを形成し、ヘキサン層を分離できない。(5) 添加回収試験を行ったところ、回収率の悪いものがあった。

2. ガスクロマトグラフ法について

しみ抜き剤のクロマトグラムではベンゼンのピークは他のピークと分離し、定量することができるが、防

Table 1. Organic solvents for household use

No.	Purpose of use
1	Spot remover
2	Ligroine
3	Glass cleaner
4	Wax
5	Ski wax remover
6	Thinner
7	Thinner for painting
8	Cleaner for painting
9	Leather shoes cleaner
10	Car cleaner
11	Wheel cleaner
12	Metal polish
13	Mildewcide
14	Corrosion inhibitor
15	Cleaner for record
.	.
.	.
.	.

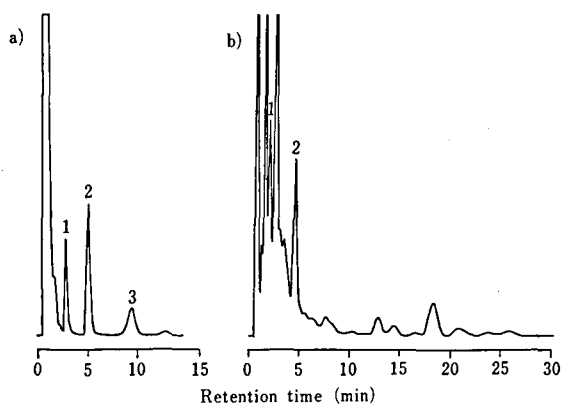


Fig. 1. Typical gas chromatograms of organic solvents for household use

a) spot remover, b) wax.

Peaks: 1; benzene, 2; toluene, 3; xylene.

GC conditions: column; 10% PEG-1500 on Shimadex W (AW-DMCS, 60~80 mesh), 3 mm i. d. × 2 m, column temperature; 60°C, injection and detection temperature; 150°C, carrier gas; N₂, 30 ml/min.

錆剤や油絵の具の溶剤のようなものは妨害ピークが見られ、ベンゼンの定量ができなかった (Fig. 1).

3. 高速液体クロマトグラフ法について

一般に GC 法より妨害が少なかったが、一部の製品にクロマトグラム上、ベンゼンの定量に妨害となるピーク成分を含むものがある。また分析時間がかかるものが多かった (Fig. 2).

考 察

9 機関での検討によって、試案において、試験溶液の調製に最も問題が多いことがわかった。有機溶剤を含む家庭用品には溶液状のものからエアゾル製品、懸濁液、ペースト状のものまであり、試験溶液の調製にはシリカゲルカラムクロマトグラフィーでのクリーンアップ法では不十分なことがわかった。灯油成分を主とした製品では、GC のクロマトグラム上、ベンゼンのピークのすぐ近くに妨害ピークが出現し、定量できないものが多かった。HPLC では GC ほど妨害はなかったが、HPLC でベンゼン類似ピークが現れるのに GC では検出されないなど、試験するに当たっては、両者を併用して行う確認する必要があると考えられた。

これらの結果をもとに、改良法として、GC のためのクリーンアップ法としてヘッドスペース法を採用し、HPLC 法にはコンウェイ装置を用いた微量拡散法で前処理した試験溶液を用いた。いずれも沸点の差を利用した方法で、特に高沸点化合物および極性の高い化合物を除去することができた。そのため溶剤の性状にとらわれることがなくなり、またクロマトグラム上で妨害となっていたピークの除去、分析時間の短縮ができた (Fig. 3, 4).

おわりに

これまで、基準のための試験法は国立衛生試験所だけで検討してきたが、検討できる市販製品が限られ

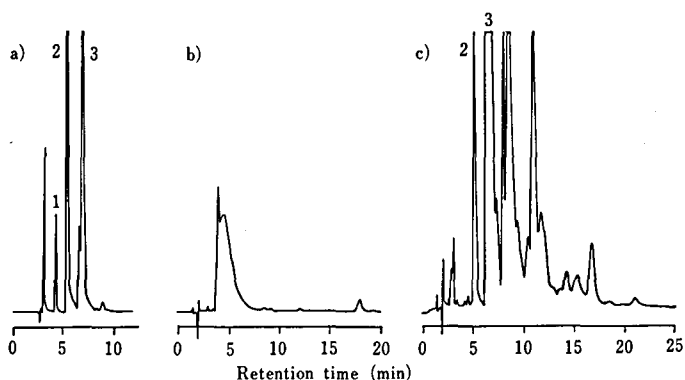


Fig. 2. Typical liquid chromatograms of organic solvents for household use

a) spot remover, b) midewcide, c) car cleaner.

Peaks: 1; benzene, 2; toluene, 3; xylene.

HPLC conditions: column; Nucleosil 5C₁₈ (Nagel, 4.6 mm i. d. × 150 mm), mobile phase; acetonitrile-water (60 : 40), flow rate; 1.0 ml/min, detection wavelength; 254 nm.

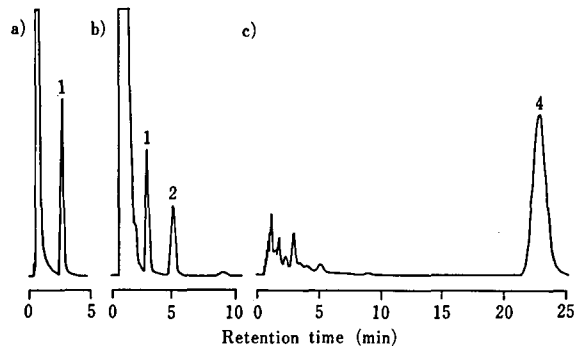


Fig. 3. Analysis of organic solvents for household use by head space gas chromatography

a) standard (5% benzene in hexane), b) spot remover, c) thinner for painting.

Peaks: 1; benzene, 2; toluene 4; ethyl cellosolve.

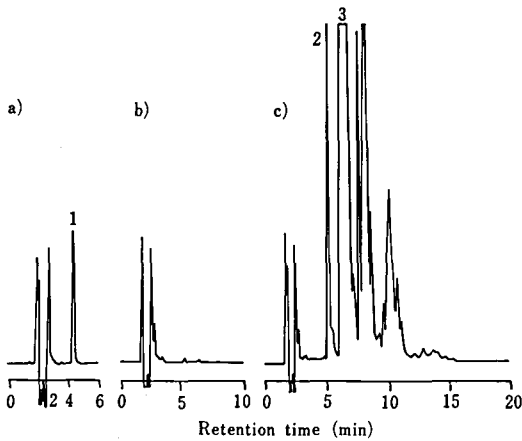


Fig. 4. Analysis of organic solvents for household use by liquid chromatography

These test solutions were treated with microdiffusion method.

a) spot remover, b) mildewcide, c) car cleaner.

Peaks: 1; benzene, 2; toluene, 3; xylene.

たことなどで、実際に各地の衛生研究所などで試験が行われるようになると、いろいろ問題点が出てきたことがあった。今回、複数の機関の協力のもと、意見を適用できる分析法を作成することができた。

本研究に当たり、参加していただいた機関の方々に感謝する。

文 献

- 1) 佐藤章夫, 米倉郁美, 中島民江, 第56回日本公衆衛生学会講演抄録 (1986)
- 2) M. Aksoy, S. Erdem, and G. Dincol: *Acta haematol.*, **55**, 65 (1976)
- 3) E. P. Cronkite, J. Bullis, T. Inoue, and R. T. Drew: *Toxicol. Appl. Pharm.*, **75**, 358 (1984)

マイコトキシンの化学分析に関する研究 (第20報)
とうもろこしおよびとうもろこし加工品中の Aflatoxin 分析

五十畑悦子・豊田正武・斎藤行生

Studies on Chemical Analysis of Mycotoxin (XX)
Chemical Analysis of Aflatoxins in Corn and Cornproducts

Etsuko ISOHATA, Masatake TOYODA and Yukio SAITO

The investigation was carried out to analyze aflatoxins contaminated corn.

1) Methanol, chloroform and acetonitrile were used as the extraction solvents for aflatoxins added to corn. As the result, the method using acetonitrile was found to be effective to extract and detect aflatoxins.

2) The Rapid detection of aflatoxins was made possible by using the affinity column (containing monoclonal antibodies against aflatoxins bound onto agarose) and the mini-column. The detection-limit was 20 ppb of aflatoxins in samples

(Received May 31, 1989)

Aflatoxin (Af.) は強い発癌性と変異原性のあるかび毒として知られる化学物質である。1988年9月29日付読売新聞と10月5日付日本経済新聞紙上に、その年のアメリカにおけるとうもろこしの生産が夏期の異常気温と干ばつが原因で前年度の約37%の減産が予想され、また FDA の調査結果でとうもろこしは Af. に汚染されていたことが報道された。これらの Af. 汚染とうもろこしはアメリカの主要穀倉地帯における収穫高の約10~30%にもおよび見通して、さらにそれらの Af. 汚染とうもろこしは日本などの海外に出荷した可能性のあることを示唆していた。これらの事態を踏まえ、厚生省(生活衛生局食品保健課検疫所業務管理室)よりとうもろこしおよびとうもろこし加工品を対象にした Af. の実態調査が依頼された。輸入とうもろこしは横浜と神戸の各検疫所食品監視課より入手した。とうもろこし加工品は当所の周辺地域(東京都世田谷区)に市販されている食品類を購入した。われわれは既に食品中の Af. 分析については、1971年に発生したビーナッツ加工品等の Af. 汚染を切っ掛けに種々検討をかさね報告している¹⁻⁹⁾、今回は輸入とうもろこしおよびとうもろこし加工品の Af. の調査結果と併せて分析中に得られた二三の知見について報告する。

実験方法

1. 実験材料

1.1 輸入とうもろこし

USA 産とうもろこし18検体(横浜検疫所食品監視課送付13検体, 神戸検疫所食品監視課送付4検体, 穀物検定協会提供1検体)

1.2 とうもろこし加工品

Cornflake 類(チョコレート, シュガー, コーンフレーク等)5検体, Corn starch 2検体, Sweet corn (USA 産)4検体, Corn soup (日本製)2検体, Corn cup (日本製)1検体

2. 試薬と試液

2.1 Aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ 標準品: Makor chemicals.

2.2 試薬類: 市販の試薬特級品

クロロホルムとメタノール: 和光純薬試薬特級品,
アセトニトリル: 片山化学 HPLC 用 PBS 試液: 塩化ナトリウム 8g, 磷酸二ナトリウム 1.15g, 塩化カリウム 0.2g, 磷酸二カリウム 0.2g, を蒸留水に溶解し全量を 1l とする (pH 7.3 に調整).

2.3 薄層板: 2.3-1) Kieselgel 60(Merck) 20×20 cm. 10×10 cm(HPTLC). 2.3-2) RP-18 F254 S(Merck) 10×10 cm(HPTLC).

2.4 ミニカラム: 2.4-1) OXOID(TD-102)

2.4-2) 東洋ナッツ株式会社

2.5 前処理用カラム: OXOID(TD-101)

2.6 EIA キット: 国際バイオ株式会社

3. 装置

3.1 薄層クロマトグラフィー (TLC)

Spectrodensitometer : 島津二波長クロマトスキャナ CS-930.

TLC スポット装置 : 石井商店

紫外線照射装置 : NIKKO SEKIEI works

3.2 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

ポンプ : 日立 635 形.

検出器 : UV-日立 655 型, 日立 650-10 型.

3.3 酵素免疫測定 (EIA) : コロナ 2 波長マイクロプレート光度計 (MTP-22)

4. 実験操作

入手したとうもろこしの全量を粉碎し, 円錐四分法により縮分して, 50g ずつの試料を調製する. これらの試料中の Af. を 4.1~4.3 による方法で分析する.

4.1 メタノール抽出 (厚生省環食128号)

4.2 クロロホルム抽出 (農林省畜産局通達)

4.3 アセトニトリル抽出 (Fig. 1)

4.1~4.3 により調製した試料は TLC あるいは HPLC による検出で妨害物質が認められる場合は, 当該スポットあるいは当該ピーク部分について 4.4 による方法で Af. の確認をし, 必要あればカラムクロマトグラフィー¹⁰⁾を行い, Af. を定量する.

4.4 Af. の確認

4.4-1) TLC による確認

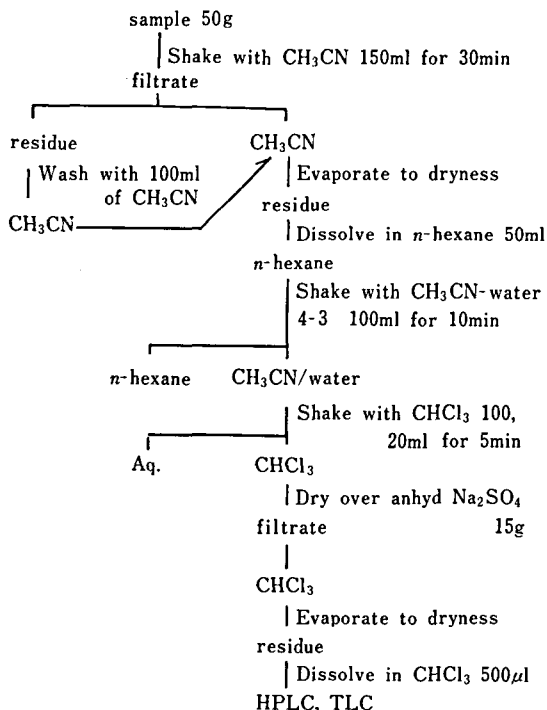


Fig. 1. Analytical procedure for aflatoxins in corn

薄層板 (2.3-1) 2 枚を用意し, 1 枚は 4.5-1-a と 4.5-1-c により 2 次展開を行う. 別の 1 枚は 1 次展開後無水トリフルオロ酢酸 (TFA) により Af. B_{2a} に変換後 4.5-1-b で 2 次展開する.

4.4-2 HPLC による確認

試料約 100 μl を 5 ml のバイアル瓶に入れ, 濃縮乾固する. 残渣に TFA 50 μl を加え 40°C で 15 分間加熱後溶媒を除き, 水-メタノール-アセトニトリル (75-30-20) 100 μl に溶解し HPLC (逆層分配系) を行う.

4.5 Af. の定量

4.5-1) TLC 条件

薄層板 : 20×20 cm は 80°C で 1 時間活性化, 10×10 cm (HPTLC) は水を入れたコンディショントレー中に 30 分保存して使用する.

展開溶媒 :

4.5-1)-a クロロホルム-アセトン-*n*-ヘキサン (85-15-20)

4.5-1)-b クロロホルム-アセトン-イソプロパノール (85-12.5-5)

4.5-1)-c エーテル-メタノール-水 (96-3-1)

4.6 HPLC 条件

4.6-1) 順層分配クロマトグラフィー

カラム : Senshupak silica 1201-N 4.6 mm. id×200 mm

移動相 : クロロホルム-シクロヘキサン-アセトニトリル-イソプロパノール (75-22.5-3-15)

検出波長 : UV 360 nm, 蛍光 Ex 365 nm, Em 425 nm

4.6-2) 逆層分配クロマトグラフィー

カラム : Yanapak ODS-T 4 mm. id×250 mm

移動相 : 水-メタノール-アセトニトリル (75-30-20)

検出波長 : 蛍光 Ex 366 nm, Em 431 nm

5. 迅速分析

4.2 の最初のステップで得られるクロロホルム抽出液の一定量を減圧下で濃縮し, 残渣をアセトニトリル-水 (3-2) 1 ml に溶解した後 PBS 試液 10 ml を加え迅速分析用の試料とする.

前処理 : 2.5 のカラムに PBS 10 ml を流した後, 試料を流し込み蒸留水で洗浄する. カラム中の Af. をメタノール 10 ml で溶出させ, 溶出液は蒸留水 6 ml とクロロホルム 3 ml を加えて振とうし下層を検液とする.

検出 : ① 2.4-1) カラム-検液および Af. 標準液を検液と同一の方法で前処理した溶液をそれぞれのカラムの上端より注入し, クロロホルム-アセトン (9-

sample solution (0.1 ml)

- | Dilute with 0.2 ml dilution solution
- | Transfer 50 μ l into microplate well

microplate well

- | Mix with 50 μ l monoclonal antibody enzyme conjugate in to reference standards Af. B₁ or sample extract
- | Incubate 10 min

microplate well

- | Wash well
- | Add 0.1 ml enzyme substrate to each well
- | Incubate 10 min

microplate well

- | Add stopping solution

read the 450 nm

Fig. 2. Enzyme immunoassay procedure for the determination of aflatoxin B₁

1) 3 ml を流す。② 2.4-2) カラム-検液あるいは Af. 標準液を処理した溶液中にカラムを投入し、上昇法により処理をする。①, ②のカラムは紫外線灯下で Af. の蛍光の有無を肉眼で確認する。

6. EIA 分析

4.2 により処理し得られた検液 (500 μ l) の一部 (10 μ l) を減圧下で濃縮し 80% メタノール 3.75 ml あるいは 18.7 ml に溶解し Fig. 2 により EIA 分析を行う。

7. 実態調査

1.1 および 1.2 に示す輸入とうもろこしととうもろこし加工品中の Af. を分析する。

結果と考察

1. 抽出溶媒

Af. を添加したとうもろこしを 4.1~4.3 の方法により抽出し得られた回収率を Table 1~3 に示す (各 3 試料の平均値を示す)。これらの結果は Table 3 のアセトニトリルによる抽出手段が産地および品種の違う何れのとうもろこしにも凡満足できる結果を示した。

2. 迅速分析

試料をあらかじめアガロースゲルに結合した Af. パ

Table 1. Recoveries of aflatoxins added to corn (extraction with methanol)

Corn	Recoveries of Aflatoxins (%)			
	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
	20 ppb	20 ppb	20 ppb	20 ppb
①	60.7	54.4	55.7	67.5
②	62.3	59.9	55.7	76.3
③	50.1	50.1	48.3	96.3

Table 2. Recoveries of aflatoxins added to corn (extraction with chloroform)

Corn	Recoveries of Aflatoxins (%)							
	B ₁		B ₂		G ₁		G ₂	
	20 ppb	50 ppb	20 ppb	50 ppb	20 ppb	50 ppb	20 ppb	50 ppb
①	39		43		51		56	
②		40		70		60		58
③		45		66		75		74
④		39		53		63		62

Table 3. Recoveries of aflatoxins added to Corn (extraction with acetonitrile)

Corn	Recoveries of Aflatoxins (%)							
	B ₁		B ₂		G ₁		G ₂	
	20 ppb	50 ppb	20 ppb	50 ppb	20 ppb	50 ppb	20 ppb	50 ppb
①	75.0	83.3	62.5	73.8	58.3	60.0	50.2	53.9
②	96.0		97.5		108.5		108.5	
③	72.3		83.3		87.5		94.8	
④	102.5		101.0		82.5		91.0	

Table 4. Results of the surveillance of aflatoxins contamination in corn

No.	検体番号	Aflatoxin (ppb)			
		B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
1	神戸-①	n. d	n. d	n. d	n. d
2	神戸-②	n. d	n. d	n. d	n. d
3	神戸-③	n. d	n. d	n. d	n. d
4	神戸-④	n. d	n. d	n. d	n. d
5	横浜-1-1	n. d	n. d	n. d	n. d
6	横浜-1-2	n. d	n. d	n. d	n. d
7	横浜-1-3	n. d	n. d	n. d	n. d
8	横浜-1-4	n. d	n. d	n. d	n. d
9	横浜-2-1	8.0	n. d	n. d	n. d
10	横浜-2-1	8.0	n. d	n. d	n. d
11	横浜-2-2	n. d	n. d	n. d	n. d
12	横浜-2-3	n. d	n. d	n. d	n. d
13	横浜-3-1	n. d	n. d	n. d	n. d
14	横浜-3-2	n. d	n. d	n. d	n. d
15	横浜-3-3	n. d	n. d	n. d	n. d
16	横浜-4-1	n. d	n. d	n. d	n. d
17	横浜-4-2	n. d	n. d	n. d	n. d
18	横浜-4-3	n. d	n. d	n. d	n. d

に対するモノクローナル抗体を含むカラムにより前処理すると、試料中の Af. が選択的に得られる。したがって 2-4-1) あるいは 2-4-2) の何れのミニカラム法も、この前処理操作でとうもろこし由来成分の妨害を受けることなく容易に肉眼で Af. の蛍光が確認できた。食品中のマイコトキシンの汚染が限られた部分

に発生したかびに起因するため、汚染実態の解明に多数の箇所から採取した試料による分析が要求されている。この様な数多い試料のスクリーニング試験として以上の前処理は期待できる方法と思われる。肉眼による確認限界は Af. 20 ppb.

3. EIA 分析

とうもろこしに Af. 50 ppb を添加した試料を 4.2 により処理して得られた TLC あるいは HPLC 用の検液はそのままでは EIA 用の検液には適さなかった。これらの検液は 375 倍あるいは 1870 倍に希釈することにより EIA 分析が可能になった。分析結果は TLC 結果より僅かに高い値を示した。

4. 実態調査

USA 産の輸入とうもろこしと市販のとうもろこし加工品中の Af. 調査結果は Table 4, 5 に示すとおりであった。市販の Sweet corn (USA) は TLC 上に Af. 様の蛍光物質が見られたが 4.4 による確認の結果 Af. 類似蛍光物質であった。

ま と め

1. 抽出溶媒

アセトニトリルによる抽出手段は品種の違い数種のとうもろこしに添加した Af. を 70% 以上回収できた。

2. 簡易分析

検液をあらかじめアガロースゲルに結合した Af. モノクローナル抗体を含むカラムで前処理することで、とうもろこし中の Af. のミニカラムによる迅速分析を可能にした。肉眼による検出限界は 20 ppb.

Table 5. Results of the surveillance of aflatoxins contamination in commercial cornproducts

No.	商 品 名	製造年月日	調査結果	製 造 者
1	コーンフレーク (チョコレート)	63.11.11	n. d	日本食品
2	コーンフレーク (コーンフレーク)	63.10. 3	n. d	日本食品
3	コーンフレーク (シュガー)	63.11.12	n. d	日本食品
4	コーンフレーク (コーンフロースト)		n. d	日本ケロッグ
5	コーンフレーク (シュガーボン)		n. d	日本ケロッグ
6	コンスターチ		n. d	日清製粉
7	コンスターチ		n. d	昭和製粉
8	スイートコーン (顆粒)	63.11.18	n. d	U. S. A
9	スイートコーン (顆粒)	62. 9.22	n. d	U. S. A
10	スイートコーン (顆粒)		n. d	U. S. A
11	スイートコーン (顆粒)		n. d	U. S. A
12	コーンスープ		n. d	アオハタ
13	コーンスープ		n. d	アオハタ
14	コーンカップ	63.10.14	n. d	日世

3. 実態調査

USA 産輸入とうもろこし18検体中横浜検疫所扱いの試料1検体に Af. B₁ が検出したが許容限量以下であった。市販のとうもろこし加工品に Af. 汚染食品はなかった。

文 献

1) 第22回食衛学会要旨, 12 (1971)

- 2) 五十畑ら: 食衛誌, 17, 193 (1976)
- 3) 五十畑: 防菌防微誌, 4, 15 (1976)
- 4) 五十畑ら食衛誌, 18, 48 (1977)
- 5) 第45回分析化学会液クロ研究会要旨 (1979)
- 6) 五十畑ら: 衛生試験, 101, 38 (1983)
- 7) 五十畑ら: 衛生試験, 104, 138 (1986)
- 8) 第23回全化協要旨, 62 (1986)
- 9) 五十畑ら: 衛生試験, 105, 93 (1987)
- 10) 厚生省食品衛生課長通知, 環食128号 (1971)

ICP 発光分光法の分光干渉に関する検討と市販 ミネラルウォーターの分析への応用

米谷民雄・内山貞夫・斎藤行生

Examination of Spectral Interference in ICP-Atomic Emission Spectrometry and Metal Analysis on Commercially Available Natural Mineral Water

Tamio MAITANI, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO

To investigate the spectral interference on ICP-atomic emission spectrometer (AES), the concentrations of 41 elements were measured when 42 standard solutions (1000 ppm) of a single element were introduced. Interference over 10 ppm was observed in 16 couples of elements out of 1681 examined and over 2 ppm in 54 couples. The concentrations of six elements (Ca, Mg, Na, S, Si, Sr) in 10 kinds of commercially available natural mineral water were determined simultaneously with the ICP-AES.

(Received May 31, 1989)

飲料水に対する関心が高まり、また昭和61年に食品衛生法が一部改正¹⁾され、ミネラルウォーターが加熱殺菌なしに販売できるようになった結果、内外の多数のミネラルウォーターが市場に出回っている。このミネラルウォーターの性質の多くは、溶解している金属などのイオンの種類と量により決まると考えられ、その元素量に基づいたおいしさの指標も提案されている²⁾。

元素の分析法として近年登場した ICP 発光分光法³⁾は多元素同時分析が可能ならえ、S や P の分析法としても優れている。しかし一方で分光干渉がしばしば問題となる。多元素同時分析型 ICP 発光分析装置においては、各機器ごとに測定可能な元素とさらには測定波長が異なるため、その分光干渉は各機器ごとに異なる。本研究では、今回購入した米国製 ICP 発光分析装置における分光干渉等のデータを収集し、あわせて、市販ミネラルウォーター中に含まれる6元素

(Ca, Mg, Na, S, Si, Sr) の多元素同時分析を行った。

実験方法

1. 試薬および検体

金属標準溶液は和光純薬製原子吸光分析用標準液 (1000 ppm) を使用した。ただし P は同社製光電用リン標準液 (1 mg/ml) を、S は容量分析用 N/10 硫酸を用い、I および C の標準液はそれぞれ特級のヨウ化カリウムおよび尿素を用いて調製した。分光干渉の実験では、各標準液をそのまま単独で用いた。定量用には、10 ppm の混合標準液を、0.1N 硝酸溶液として調製した。検体は都内で購入したナチュラルミネラルウォーター10種 (外国産6, 国産4) である。

2. 測定

用いた ICP 発光分析装置は真空多元素同時分析型の米国 Thermo-Jarrell Ash 社製 ICAP-61 (41元素分の受光部を装備) で、Ar ガス流量 17 l/min, RF

ワー 1.1 kw, 試料導入速度 1.5 ml/min, 測定点コイル上 16 mm, の条件で測定を行った。

結果および考察

1. 分光干渉についての検討

上記装置で測定可能な41元素および炭素が各々1000 ppm 存在した時に, 他の元素の測定波長でおよぼす分光干渉を調べた。10 ppm 以上の分光干渉が認められた元素の組み合わせを Table 1 に示す。その他にも 2 ppm 以上の干渉が 54 例認められた。全体として, 2 ppm 以上の干渉が認められた例は 70 例あり, 調べた元素の組み合わせ (1681例) のおよそ 4% に相当した。それらの中には実際は分光干渉によるのではなく, 金属標準液にもともと不純物として含有されていた場合もあるかもしれない。今後, 純度の高い標準液を調製するか, 又は他の方法により, さらに詳細に検討する必要があると考えられた。

2. 物理干渉についての検討

各検体について, Y 添加内標準法により検討を行った。すなわち各検体に 100 ppm の Y 標準液 (約 0.1N 硝酸溶液) 200 μ l および濃硝酸 50 μ l を加えて 5 ml

とし, その溶液中の Y 濃度を測定した。それらの測定値が 0.1N 硝酸に Y を加えた時の測定値とほぼ等しかったことから, 物理干渉の補正は必要ないと判断された。

3. 添加回収実験

国産のミネラルウォーター 1 種 (Table 2 の No. 8) に, 対象 6 元素を 2 ppm の濃度で添加して回収率を調べた。各元素の添加回収率は 92% (Ca) から 102% (Sr) の範囲であった。

4. 測定結果

上記の検討結果および肉眼で検体に混濁を認めなかったことから, 灰化操作は行わず, 標準液と酸濃度を合わせるために検体 5 ml に濃硝酸 50 μ l を加えて, 元素濃度の測定を行った。Table 2 に測定結果を示す。

Table 2 の元素濃度と分光干渉についての検討結果から, 今回選択した元素の測定に関しては, 分光干渉は問題とならないと考えられた。外国産ミネラルウォーター中の元素濃度は広範囲にわたっていたが, 一般に Ca と Mg の多い硬水が多かった。一方, 日本の土壌は Ca が少ないため, 国産のミネラルウォーター

Table 1. Observed Spectral Interference*

Interfering element (1000 ppm)	Interfered element	ppm	Wavelength (nm)
Al	As	22	193.7
As	Cd	12	228.8x2
Ge	As	45	193.7
I	P	111	178.2
Mn	Au	14	242.8
Mo	In	11	230.6
Pd	Se	16	196.0
Pt	As	343	193.7
	Cr	11	267.7
V	Al	23	308.2
	As	19	193.7
	Be	78	313.0
	Te	16	214.3
W	As	16	193.7
Y	Ca	95	317.9
Zn	W	24	213.9x2

* When a standard solution (1000 ppm) of the element in the first column was introduced and the concentration of the element in the second column was measured at the wavelength in the last column, the concentration in the third column was obtained.

Table 2. Concentrations of Six Elements in Natural Mineral Water (ppm)

	Imported						Domestic			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ca	10	73	185	34	85	44	28	23	15	20
Mg	7	25	37	9	53	9	1	5	1	6
Na	9	6	4	5	54	2	25	17	2	9
S	2	4	98	3	7	3	24	2	3	15
Si	10	5	3	3	7	1	6	11	4	21
Sr	0.06	0.36	1.2	0.25	0.43	0.16	0.04	0.12	0.07	0.10

中の Ca 濃度は外国産にくらべ低かった。Sr 濃度は Ca 濃度と相関していた。

Na, S, Si 濃度に関しては、少なくとも今回購入した検体では、国産と外国産でそれほど大きな差は認められなかった。

Table 1 には示されていないが、C の As に対する分光干渉はよく知られている。本実験でも 1000 ppm の C (尿素を使用) は、As の測定波長 193.7 nm において、As 濃度として 0.2 ppm の干渉を与えた。そのため、今回のように灰化処理をしない場合には、As の測定値は信頼できない。事実、予試験的に測定を行ったスパークリングミネラルウォーターでは、食品衛生法での検出限界の概数 (無水亜硫酸として 0.2 ppm)⁴⁾ をはるかに超える、4 ppm という見かけ上の数値が得られた。しかし As の波長プロフィールをと

っても As のピークは検出できず、短波長側 (C の発光線側) に向かって測定強度の上昇が認められたのみであった。

以上のように、新しく導入された ICP 発光分析装置について、分光干渉等の基礎データを収集し、またミネラルウォーター中の元素の測定に応用した。

文 献

- 1) 厚生省令第35号および厚生省告示111号 (1986.5.31)
- 2) S. Hashimoto *et al.*: *J. Ferment. Technol.*, **65**, 185 (1987)
- 3) V. A. Fassel, R. N. Kniseley: *Anal. Chem.*, **46**, 1110A (1974)
- 4) 厚生省公衆衛生局長通知 衛発第423号 (1958.5.12)

金属製調理用器具中のアンチモンならびにその他の重金属濃度について

石綿・肇・杉田たき子・義平邦利

Antimony and Other Heavy Metals in Metallic Kitchenware

Hajimu ISHIWATA, Takiko SUGITA and Kunitoshi YOSHIHIRA

The antimony in metallic kitchenware was determined. The content of this element in metals used for the production or repairing of utensils, containers and packaging which come in contact with foods is regulated and should be less than 5% in under the Japanese Food Sanitation Law. In eight metallic samples, antimony was detected in solder used for the production of a can for green tea and an eggbeater. The contents were 1.30% in the former and 1.90% in the latter. No antimony was detected in solder used for a cookie cutter. A sample of solder used for electric work, not for food utensils, contained 0.81% of antimony. In other metallic utensils which come in contact with food such as aluminum foil, a brass spoon, a stainless steel fork, a wire netting, and an iron rock for vegetable color stabilizing, antimony was not detected at a 0.05% detection limit. A qualitative test using rhodamine B also showed positive results in only three solder samples. Lead concentrations in solder used for the kitchenware were from 39.3 to 51.3%. These concentrations were higher than the limit (20%) of lead content by the Law. No cadmium was detected in any samples.

(Received May 31, 1989)

食品衛生法では、“アンチモンを5%以上含む金属をもって器具および容器包装を製造又は修理してはならない”と規定されている¹⁾。アンチモンはハンダの一成分として、通常、1~2.5%添加されている。

今回、ハンダをはじめとして、いくつかの金属製器具・容器包装中のアンチモンの試験を行う機会があったので原子吸光法による測定結果を報告する。また、参考までにそれらの金属製品中の鉛をはじめとする重金属の定量を行ったので併せて報告する。

方 法

1. 試 料

次に示す試料を用いた。これらの試料は東京都内および横浜のデパートで購入した。

1. ハンダ（茶筒の胴部の接着に用いられていたもの）
2. ハンダ（泡立て器の柄と先端部の接着に用いられていたもの）
3. ハンダ（クッキーの形抜き器の胴部の接着に用いられたもの）
4. ハンダ（電気工事などに使用されるもの）
5. アルミニウムはく（家庭用アルミフォイル）
6. 真鍮（大型スプーン）
7. ステンレス（フォーク）
8. 金網（餅焼き網）
9. 鉄塊（漬物の色の安定化のために用いられるもの）

工事用ハンダは食品用品に用いられるものではなく、参考までに行ったものである。

2. 装置および試薬

a) 装置

フレーム式原子吸光光度計：AA-630S（島津製作所）

b) 試薬

アンチモン標準溶液：原子吸光用（1000 ppm，片山化学工業）

その他の重金属の標準溶液：原子吸光用（1000 ppm，和光純薬工業）。

ローダミンB：工業用（保土谷化学工業）

3. 検液の調製方法

試料1の茶筒，試料2の泡立て器，試料3の型抜き器は，胴部に使用されているハンダをカッターナイフを用いて，本体にキズをつけないようにそと削り落とした。試料4の電気工事用ハンダは，食品用品に用いるものではないが，ハンダの一例として試験を行った。これは，中心部にペーストが入っているため，ア

セトンで洗浄してペーストを除いたものを試料として用いた。

試料9を除く各試料は，約0.1gを清秤し，分解フラスコに入れ，硝酸5mlおよび塩酸5mlを加えた。弱く加熱して試料を溶解した。試料9の鉄塊では，初めに重量を測定し，硝酸：塩酸混液（1：1）10mlに浸漬した。数分後に鉄塊を取り出し乾燥後，重量を測定し，溶解した重量を算出した。

これらの溶液をさらに加熱し，完全に溶解したのち，水で100mlとし，検液とした。硝酸：塩酸混液（1：1）10mlについて同様に処理してブランク試験に用いた。

4. アンチモンおよびその他の重金属の測定法

検液をそのまま用いた。別に，標準溶液を適宜希釈して検量線を作成し，検液の吸光度から各金属の濃度を求めた。

原子吸光法による各金属の測定条件は衛生試験法²⁾の方法によった。

5. 回収率

検液5mlに1000ppmアンチモン標準溶液100μlを加え測定を行い，回収率を求めた。

6. ローダミンBによるアンチモンの定性試験³⁾

一定量の検液を濃縮し，飽和シュウ酸アンモニウム溶液5mlを加え，さらに加熱して硝酸を除き，水で定容とした。この液100μlに硫酸（1→2）および10%ヨウ化カリウム溶液をそれぞれ100μlずつ加えた。これに，ベンゼン1mlを加えかくはんした。ベンゼン層0.5mlを分取し，0.2%ローダミンB溶液100μlを加えかくはんし，ベンゼン層の赤色の呈色を観察した。

結果および考察

1. アンチモンの回収率

検液に20ppmとなるようにアンチモンを添加したときの回収率はTable 1に示すように96.1~102.6%であり，共存する金属の影響は見られなかった。

2. 試料中のアンチモン含量

試料中のアンチモン含量をTable 1に示す。本条件におけるアンチモンの検出限界は検液中で0.5ppm，すなわち，試料中で0.05%（0.5mg/g）である。アンチモンは茶筒および泡立て器に用いられていたハンダと工事用ハンダのみに認められ，形抜き器に用いられていたハンダおよびその他の試料では検出されなかった。ハンダ中のアンチモン含有量は，茶筒用で1.30%，泡立て器用で1.90%，また，工事用では0.81%であった。食品衛生法によるアンチモンの使用限度は5%で

Table 1. Contents of antimony in metallic utensils in contact with food and recovery tests

Sample	Antimony content	Recovery
	(%)	(%)
Solder (tea can)	1.30	100.0
Solder (eggbeater)	1.90	102.6
Solder (cookie cutter)	nd	101.3
Solder (for electric work)	0.81	100.4
Aluminum foil	nd	97.0
Brass spoon	nd	96.1
Stainless steel fork	nd	102.2
Wire net	nd	96.9
Iron rock	nd	101.3

nd: less than 0.05 %

あり、本試験に用いた金属製品はいずれもアンチモンに関する限り食品衛生法適合品であった。

原子吸光法でアンチモンを定量する場合、特異性を高めるために、トリオクチルフォスフィンオキシド (TOPO) を用いてキレートとし、メチルイソブチルケトン (MIBK) で抽出したものについて測定が行われる⁴⁾が、今回用いた試料では検液を直接測定しても TOPO-MIBK 法によっても結果に差異は見られなかった。

3. アンチモンの定量におよぼす他の金属の影響

通常、ハンダは鉛60%、錫40%に対し、アンチモンの添加量は1~2.5%である。このように大量の鉛および錫中に少量のアンチモンが存在するときには、回収率に影響がなくとも定量値に影響することが考えられる。そこで、ハンダ中に高濃度に含有されている鉛、錫および銅の1000 ppm 溶液についてアンチモンの測定条件下で影響をみた。本実験条件においては、試料約100mgを溶解して100 ml としているため、1000 ppm という濃度は、試料が単一の金属からできていることに相当する。この実験の結果、これらの金属は、1000 ppm 存在してもアンチモンの測定に対する干渉はまったくなかった。この結果および前述の回収率から考察して大量に共存している金属類がアンチモンの定量に影響をおよぼす可能性はまったくないと考えられる。

なお、食品衛生法には、ポリエチレンテレフタレート¹⁾の溶出試験の測定項目の1つとしてアンチモンがある¹⁾。実験法はヨード・L-アスコルビン酸試液を用い、330 nm で吸光度を測定する方法が規定されている。

しかし、鉛や錫を含む検液ではアンチモンの測定にプラスの大きな妨害がみとめられた。425 nm で測定⁴⁾した場合には、1000 ppm までの鉛は結果に影響しなかった。検液中に500 ppm 以上の錫の存在によってプラスの妨害が認められた。

4. ローダミンBによるアンチモンの定性試験

現在ではアンチモンは原子吸光度法が用いられるが、衛生試験法にはローダミンBを用いる方法も解説されている⁶⁾。そのため、補足実験として行ったものである。定性試験の結果をTable 2に示す。ベンゼン層の呈色は4種類のハンダのうち3種類に認められ、他の試料では認められなかった。なお、1000 ppm の鉛および錫は本反応では呈色しなかった。この結果、ローダミンBによる方法でもハンダ中にアンチモンが存在することが確認された。

5. その他の重金属の定量

同一試料についてアンチモン以外の重金属についても測定を行った。その結果をTable 3に示す。

食品用品として用いられる金属は、純粋なものではなく、ほとんどの場合、合金が用いられている。ハンダについては既にのべたが、真ちゅうでは、通常、亜鉛30~40%と銅60~70%、ステンレス鋼では鉄のほか、クロム11~27%およびニッケル0~22%などである。そのほかにも各種金属などが合金の種類や用途の目的に応じて微量から数パーセントの濃度で添加されている。このような合金中の微量金属の分析を行う場合は、高濃度に存在する成分による妨害に注意する必要があるが、ここで測定した各金属は1000 ppm までは相互に測定を妨害しなかった。

Table 2. Qualitative test of antimony using rhodamine B

Sample	Color developing
Solder (tea can)	+
Solder (eggbeater)	+
Solder (cookie cutter)	-
Solder (for electric work)	+
Aluminum foil	-
Brass spoon	-
Stainless steel fork	-
Wire net	-
Iron rock	-

No color was developed with lead and tin at 1,000 ppm.

Table 3. Heavy metals other than antimony in the metallic samples

Metals (mg/g)	Zn	Pb	Cr	Cu	Cd	Sn	Ni
Detection limit (mg/g)	0.5	0.5	0.5	0.2	0.02	50	0.2
Solder (tea can)	1.1	518	nd	3.2	nd	472	0.2
Solder (eggbeater)	nd	496	nd	3.1	nd	508	nd
Solder (cookie cutter)	nd	393	nd	11.4	nd	632	nd
Solder (for electric work)	nd	457	nd	0.8	nd	571	nd
Aluminum foil	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Brass spoon	370	nd	nd	613	nd	nd	nd
Stainless steel fork	nd	nd	169	nd	nd	nd	1.7
Wire net	16.5	nd	0.7	nd	nd	nd	0.2
Iron rock	nd	nd	nd	0.7	nd	nd	nd

食品衛生法では原材料一般の規格の4で、“器具若しくは容器包装の製造または修理に用いるハンダは、鉛を20%以上含有してはならない。”と規定されている¹⁾。試験に供したハンダでは鉛を39.3~51.8%含有しており、いずれも食品衛生法による規格に適合していなかった。その他特徴的な結果としては、鉛と錫はハンダのみに認められ、また、いずれのハンダも銅を含有していること、試験に供したステンレス鋼製品ではクロムが16.9%に対しニッケルが1.7%であったこと、餅焼き網では亜鉛が1.65%含まれており、メッキによるものである可能性が高いこと、カドミウムはいずれの金属製品からも検出されなかったことなどである。

ま と め

器具・容器包装に用いられる金属製品中のアンチモンおよびその他の重金属（亜鉛、鉛、クロム、銅、カドミウム、錫、ニッケル）の定量を原子吸光法により

行った。試料とした調理器具に用いられていたハンダ3検体、アルミニウム、真ちゅう、ステンレス製品各1検体、鉄製品2検体、および参考までに工事用ハンダ1検体を用いた。アンチモンはハンダのみに認められ、濃度は1.90%以下であった。鉛および錫の共存は特に妨害しなかった。ローダミンBによる定性試験もハンダのみに陽性を示した。鉛はハンダでは39.3~51.8%であったが、他の試料では認められなかった。また、カドミウムは全例で認められなかった。

文 献

- 1) 食品衛生法告示20号 (1982)
- 2) 日本薬学会編：衛生試験法注解，p.2，金原出版 (1680)
- 3) 石館守三：微量定性分析，p.191，南山堂(1966)
- 4) 日本薬学会編：衛生試験法注解，p.424，金原出版 (1980)
- 5) 同上，p.578，金原出版 (1980)
- 6) 同上，p.51，金原出版 (1980)

食品添加物、亜塩素酸ナトリウムおよび次亜塩素酸 ナトリウムの確認試験法の検討

神蔵美枝子・佐藤恭子・合田幸広・義平邦利

Modified Method for the Identification of Sodium Chlorite and Sodium Hypochlorite as Food Additives

Mieko KAMIKURA, Kyoko SATO, Yukihiro GODA and Kunitoshi YOSHIHARA

New methods for the identification of sodium chlorite and sodium hypochlorite were proposed. Especially, spectrophotometric method was found to be especially distinctive and effective for the identification of both food additives (Figs. 1~3).

(Received May 31, 1989)

食品添加物としての亜塩素酸ナトリウムは漂白剤として、また、次亜塩素酸ナトリウムは殺菌料として、それぞれ使用基準を定めて使用されている。その使用目的は両添加物の特性である酸化作用に基づき、食品を漂白あるいは殺菌することにある。しかし、亜塩素酸ナトリウムは次亜塩素酸ナトリウムよりも効力が優れているなどの利点があるため、本添加物を次亜塩素酸ナトリウムと称して販売するケースも見られるという。この原因のひとつに、両添加物の現在の確認方法では、その識別が困難であることがある。そこで、両者の確認方法につき検討を行った。

実験方法

1. 試料

亜塩素酸ナトリウム：食品添加物，含量84.23%

次亜塩素酸ナトリウム：食品添加物，12%溶液（有効塩素）

2. 試薬および試液

すべて特級品を用いた。

リン酸緩衝液 (pH 8) 第1液：リン酸二ナトリウム ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 23.88 g を量り，水を加えて溶かして 1000 ml とする。

第2液：リン酸一カリウム (KH_2PO_4) 9.07 g を量り，水を加えて溶かして 1000 ml とする。

第1液50容量と第2液7容量とを混和し，両液を用いて pH 8 に調整する。

その他の試液はすべて第5版食品添加物公定書によった。

3. 装置

自記分光光度計：島津紫外-可視分光光度計
UV-240

4. 確認試験法の検討

検討事項の概略を以下に示す。

- 1) 塩酸による変化を観察する。
- 2) 硫酸酸性で過マンガン酸カリウムによる変化を観察する。
- 3) アルカリ性でヨウ化カリウムとデンプンによる変化を観察する。
- 4) スペクトル特性を調べる。

実験結果および考察

1. 呈色等による確認試験

1) 実験方法 4. 1) において，亜塩素酸ナトリウムは，試料の水溶液の濃度と塩酸 (1+3) の添加量によって黄色ガス (ClO_2 ガス) の発生の度合ならびに呈色 (黄褐色) に若干の差が見られた。

種々検討した結果，試料溶液の濃度は 1+20 (3.5~5%) とし，塩酸 (1+3) の添加量は 5 ml とした。なお，試料溶液の pH は約10であった。

また，次亜塩素酸ナトリウムは有効塩素 4.0% 以上と規定されているが，通常12%程度の製品もあるため，両濃度の試料について検討した。本添加物の試料の着色 (わずかに黄色) は濃度によって若干の差が認められた。無色のガス (Cl_2 ガス) の発生によって生ずる泡立ちは，塩酸の添加量によって異なるが，検討の結果，塩酸 (1+3) の添加量を 5 ml とした。なお，反応後の液の色は，わずかに黄色を呈した。本品の12%溶液の pH は12.6であった。

2) 実験方法 4. 2) は、亜塩素酸ナトリウムの酸化性を利用する方法で、過マンガン酸カリウムは還元され、固有の赤紫色が消失することにある。この試験における試料溶液 (1→20) の採取量は 5 ml, 試薬の濃度は過マンガン酸カリウム溶液が 1+300, 硫酸が 1+20 とし、添加量は前者が 0.1 ml 後者が 1 ml とした。この試験で、過マンガン酸カリウムの赤紫色は消え、液の色は黄色となった。

次亜塩素酸ナトリウムは、4% および 12% 溶液ともに過マンガン酸カリウムの赤紫色は変わらなかった。しかし、12% 溶液では、試料が黄色を呈するため、過マンガン酸カリウムを添加した溶液の色は褐色がかった赤紫色を呈した。

なお、亜塩素酸ナトリウム (1+20) 溶液と 4% 次亜塩素酸ナトリウムの 1:1 混液は、この反応によって過マンガン酸カリウムの赤紫色が消えて帯褐黄色を呈し、直ちに白黄色のガスを発生した。

3) 実験方法 4. 3) の反応は、ヨウ化カリウムがアルカリ性で次亜塩素酸ナトリウムによって酸化されてヨウ素を遊離し、デンプン試液で青色を呈することにある。しかし、亜塩素酸ナトリウムはこの反応でヨウ素を遊離せず、したがって、デンプン試液によって、青色を呈さない。

種々検討した結果、本試験において試験溶液は水酸化ナトリウム溶液 0.4+1000(0.01N) を加えることにより、pH を約 11 に調整した。また、デンプン試液による呈色を濃青色とするために、次亜塩素酸ナトリウムによって遊離するヨウ素量を、わずかに黄色を呈する程度にとどめるために、試験溶液の濃度を 0.1+100、ヨウ化カリウム試液の添加量を 0.2 ml とした。

亜塩素酸ナトリウムは本試験における条件で呈色しないが、ヨウ化カリウム試液の添加量を 3 ml と多くすると、汚紫色を呈した。

上記 2) と同様の 1:1 混液はヨウ化カリウム試液の添加により黄色となり、デンプン試液によって濃青色を呈した。

以上の試験方法のほかに、硫酸第一鉄・チオシアン酸アンモニウムによる呈色では、亜塩素酸ナトリウムがロダミン鉄の赤褐色を呈するのに対し、次亜塩素酸ナトリウムは黄色を呈するにとどまるなどの結果を得た。

2. 吸収スペクトルによる方法

亜塩素酸ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウムは pH 8 の溶液中、100 ppm 濃度で Fig. 1 に示すようなスペクトルが得られた。Fig. 2(A) は pH 8 における 200 ppm 溶液のそれぞれのスペクトルと両者の 1:1 混液のそれを示した。いずれも良好なスペクト

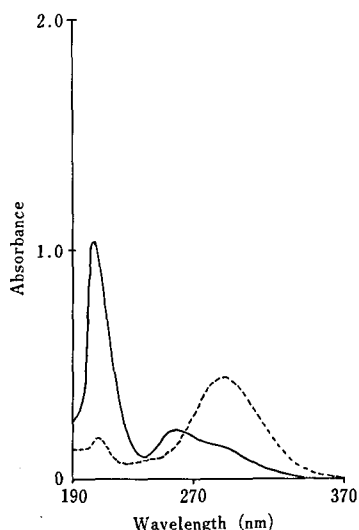


Fig. 1. UV-Absorption spectra of sodium chlorite and sodium hypochlorite in phosphate buffer solution at pH 8.0

Substance: — Sodium chlorite
 - - - Sodium hypochlorite

Concentration: 100 ppm

Reference: Phosphate buffer solution at pH 8.0

Instrument: Shimadzu UV-visible Recording Spectrophotometer UV-240

ルが得られ、また、混液では波長 290 nm 付近に次亜塩素酸ナトリウムに由来する吸収極大が認められ、260 nm 付近には亜塩素酸ナトリウムに由来すると考えられる shoulder が観察された。

しかし、pH が酸性側に傾くと、たとえば pH 6 では Fig. 2-(B) に示すように、亜塩素酸ナトリウム溶液の吸収極大波長は変わらないものの、次亜塩素酸ナトリウム溶液では吸収の極大が 235 nm 付近に移動し、pH 8 のスペクトルと大きく相違した。また、1:1 混液のスペクトルでは、波長 230~260 nm における両者の特異な吸収が認められなかった。

吸収極大波長は、亜塩素酸ナトリウムが 207~208 nm(140 ppm), 210 nm(280 ppm), 260~261 nm(140 ppm) に、次亜塩素酸ナトリウムが 206~207 nm(4.2%), 205 nm(12%), 292~293 nm(4.2% および 12%) にあった。

3. 吸光比について

2. で示した両添加物のそれぞれ二つの波長における吸光度の比は両物質の特徴を表す 1 つと考えられるため、その比を求めた。その結果、亜塩素酸ナトリウムの 207 nm/260 nm の吸光度の比は 4.5~4.7、次亜塩素酸ナトリウムの 205 nm/293 nm の吸光度の比は 0.54~0.56 であった。

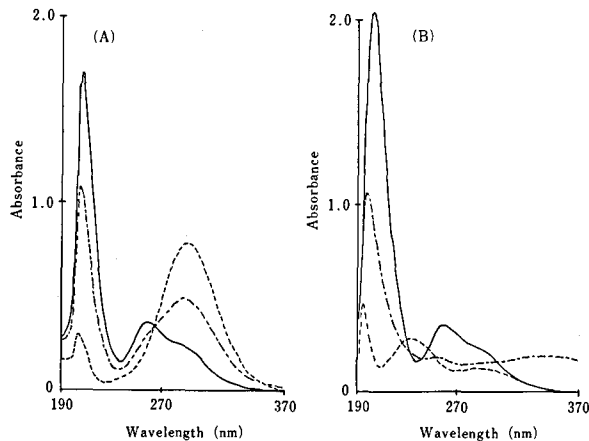


Fig. 2. UV-Absorption spectra of sodium chlorite, sodium hypochlorite and their mixtures in phosphate buffer solutions at pH's 8.0 (A) and 6.0 (B)

Substance: — Sodium chlorite (NaClO₂), 200 ppm
 - - - Sodium hypochlorite (NaClO), 200 ppm
 - · - Mixture of NaClO₂ + NaClO (1 : 1)

Condition: Refer to Fig. 1

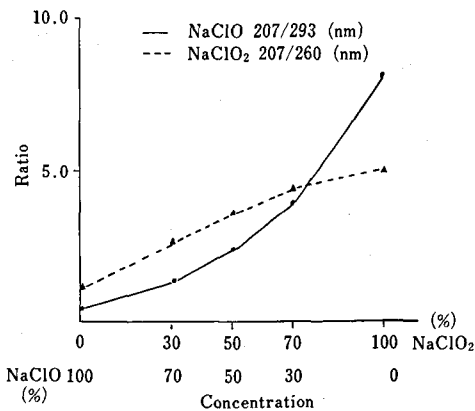


Fig. 3. Ratio of absorbances at absorption maxima of sodium chlorite (NaClO₂) and sodium hypochlorite (NaClO) in phosphate buffer solution at pH 8.0

4. 亜塩素酸ナトリウムと次亜塩素酸ナトリウム混液の吸光比について

両添加物の種々な濃度の混液における吸光度の比は Fig. 3 に示したように、亜塩素酸ナトリウムでは次亜塩素酸ナトリウムが添加されると徐々にその比の値は減少した。また、次亜塩素酸ナトリウムについては、亜塩素酸ナトリウムの添加量の増加とともにその比の

値は増大した。したがって、吸光比の値から両添加物の混合の有無を知ることができると考えられる。

5. 亜塩素酸ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウムの確認試験法(案)

食品添加物公定書の通則27によれば、確認試験は添加物を確認するのに役立つ試験であり、イオンの反応、官能基の反応、物理定数などについて試験するとある。これらの点を参考として、以上の検討結果から次に示すような確認試験の方法(案)を設定した。これらの試験法の適用により、今まで、その識別が困難とされた両添加物の確認が可能となると考えられる。

亜塩素酸ナトリウム

Sodium Chlorite (NaClO₂)

確認試験(1) 本品の水溶液 (1+20) 5 ml に塩酸 (1+3) 5 ml を加えるとき、黄色のガスを発生し、液は黄褐色を呈する。

(2) 本品の水溶液 (1+20) 5 ml に過マンガン酸カリウム溶液 (1+300) 0.1 ml を加え、これに硫酸 (1+20) 1 ml を加えるとき、液の赤紫色は消える。

(3) 本品の水溶液 (1+100) 2 ml にリン酸緩衝液 (pH 8) 100 ml を加えた液は波長 206~210 nm および 259~262 nm に極大吸収部がある。

(4) 本品は、ナトリウム塩の反応を呈する。

次亜塩素酸ナトリウム

Sodium Hypochlorite (NaClO)

確認試験(1) 本品 5 ml に塩酸 (1+3) 2 ml を加えるとき、ガスを発生して泡立つ。

(2) 本品の水溶液 (0.1+100) 5 ml に水酸化ナトリウム溶液 (0.4+1000) 1 ml およびヨウ化カリウム試液 0.2 ml を加えるとき、液は黄色となり、これにデンプン試液 0.5 ml を加えるとき、液は濃青色を呈する。

(3) 本品の水溶液 (1+25) 4 ml にリン酸緩衝液 (pH 8) 100 ml を加えた液は波長 205~208 nm および 291~294 nm に極大吸収部がある。

(4) 本品は、炎色反応の試験を行うとき、黄色を呈する。

結 論

亜塩素酸ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウムの確認試験の方法(案)を設定した。特に、吸収極大波長による場合は両添加物を特徴づけることにおいて極めて有効であると考えられる。

また、両添加物の二つの吸収極大波長を用いて求められる。それぞれの吸光比は、両添加物に対する固有の値であり、両者を識別できる指標として用いられると思われ、さらに両添加物が混合された可能性の有無をも鑑識することが可能であると考えられる。

文 献

- 1) 第5版食品添加物公定書, 116, 258 (1986) 厚生省

医薬品の一般名称検索システムについて

橋場茂子・竹中祐典・中館正弘

Development of the Database on Nonproprietary Names of Drugs

Shigeko HASHIBA, Yusuke TAKENAKA and Masahiro NAKADATE

This paper describes the outline of the database of nonproprietary names of drugs and the characteristics of its online search system. The database includes the records of officially authorized names by WHO, International Nonproprietary Names (INN), and those by Japanese Government, Japanese Accepted Names (JAN). The INN file is merged with the JAN file. The online retrieval system is designed to enable search for drugs by generic names adopted on an international level and a national level in both English and Japanese. It is operated with INQ (DBMS) in the NEC ACOS-6 computer. Data from INN are updated once a year, and those from JAN are added whenever the official announcement of newly approved drugs are published in Yakumu-Koho (official pharmaceutical gazette).

(Received May 31, 1989)

はじめに

医薬品の適切な使用の面から医薬品の名称を国際的に統一すべきであるという提案は今世紀の初めからあった。この提案は世界保健機関 (WHO) に受け継がれ、1950年に WHO は米、英、仏、北欧の委員の協力のもとに国際一般名 (International Nonproprietary Names: INN)¹⁾ の使用を勧告し、この勧告に基づいて1955年に INN の選定のための諸原則が定められた。以来、その諸原則に従って INN を選定することが国際的に慣例化し、わが国は中央薬事審議会の医薬品

特別部会の下に医薬品名称調査会を設置し、また WHO の諸原則の中に定められた一般名命名規則に準拠して医薬品の一般名を選定している。

この一般名は Japanese Accepted Names (JAN) と呼ばれ、アメリカの United States Adopted Names (USAN)、イギリスの British Approved Names (BAN) 等と並び国際的に利用されている。JAN のリストは昭和49年3月に「医薬品研究」の資料3として始めて発行され²⁾、その後選定されたものは逐次、同誌に追補1 (昭和50年) —12 (昭和63年) として公表されている。一方、INN を与えられた医薬品の数は

6000を超え、毎年新たに約200の医薬品に proposed INN(p-INN) が付与され、WHO Drug Information に公示され、その名称に対する数ヶ月間の異議申し立て期間を経た後に recommended INN(r-INN) として正式に決定されるという手続きがとられている。これは、国際的に使用されている商品名との類似性による混乱を避けるために行われているものである。このような状況のもとに、WHO は INN リストの処理にコンピュータシステムを導入し、従来の冊子体の累積リストに代わり、INN 磁気テープの利用を勧めている。わが国も数年来、この磁気テープを入手し、厚生省統計情報部の大型コンピュータにより出力して利用してきた。

一方、当化学物質情報部では、前記 JAN の累積リストならびに名称調査会がその都度の選定作業で定めた JAN をもとに JAN ファイルを作成、保管してきた。今回、JAN 選定作業の合理化を目的として、JAN ファイルと WHO の提供する磁気テープとの結合による新しいデータベースシステムを構築した。本システムにおいては、今後の命名を容易にするため、重要なデータ項目として INN の選定の際に使用される医薬品の薬理作用と化学構造の類似関係に基づくシステム(同じ薬理作用を持つ医薬品の一般名に与えられる一定の語幹)を付与³⁾し、さらに化学構造からの検索を可能とするために Wiswesser Line Notation(WLN) による化学構造を入力した。

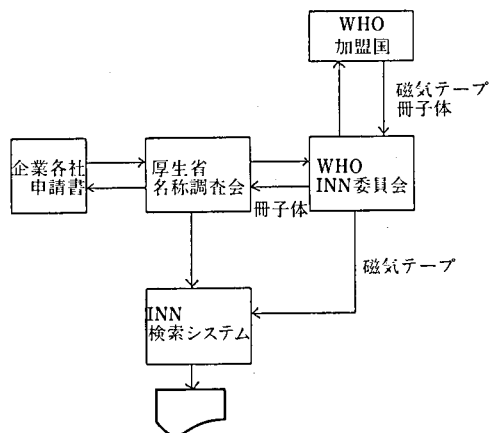


Fig. 1. Flow-scheme of naming process for JAN and INN

1. 従来使用してきたシステムの概要

1.1 INN および JAN 選定の概念図

INN および JAN の選定手続きのフローを Fig. 1 に示す。

1.2 INN 磁気テープの内容

WHO テープは、申請番号、リスト番号、5ヶ国語による一般名称、分子式、CAS 登録番号等で構成されているが、各レコードの規格を Table 1 に、その出力例を Table 2 にそれぞれ示す。

1.3 JAN ファイルの内容

Table 1. Specification of the WHO tape

Each record contains the following data:

Request No.	4 characters
INN proposed list number	2 characters
INN recommended list number	2 characters
INN in Latin	40 characters
INN in English	40 characters
INN in French	40 characters
INN in Russian	40 characters
INN in Spanish	40 characters
National abbreviation, where national names is identical to the INN	25 x 5 characters
National abbreviation and name:	
Abbreviation	5 characters
National name	66 characters
Molecular parenthesis	1 character
Molecular formula	56 characters
CAS registry number	9 characters
Marketing status	2 characters

Table 2. Output of the data (WHO tape)

1	473	C0010101	HYDRALAZINE	HYDRALAZINE	HYDRALAZINE
			Г И Д Р А Л А Э Н И		HYDRALAZINA
			BP DCF IP JP NFN NF USP		
			BAN HYDRALAZINE		
		C6-H8-N4			86544
2	473	C0020101	METHARBITALUM	METHARBITAL	METHARBITAL
			М Е Т А Р Б И Т А Л И		METHARBITAL
			USP METHARBITAL		
		C9-H14-N2-O3			50113

Table 3. Specification of the JAN file

ID Number	5 characters
申請 number	7 characters
INN Name	40 characters
INN name (和名)	40 characters
CAS registry Number	9 characters
J-RN	10 characters
Pr-Re	7 characters
JAN Japanese name	50 characters
JAN English name	45 characters
化学名(英名)	300 characters
化学名(和名)	512 characters
商品名(和名)	40 characters
商品名(英名)	40 characters
会社名(和名)	40 characters
会社名(英名)	40 characters
薬効(日本語)	40 characters
薬効(英語)	64 characters
承認日	20 characters

JAN ファイルは、申請番号、INN の英名と和名、JAN の英名と和名、化学名の英名と和名、化学構造の WLN 線形表示、ステム、商品名、会社名、薬理作用、薬効、承認日等で構成されているが、各レコードの規格を Table 3 に示す。

2. 新たに構築した医薬品一般名称データベースの概要

WHO のテープは1987年4月現在5357件の INN が登録されている。今回、Table 1 に示したデータ項目のうち、ラテン語名、フランス語名、ロシア語名、スペイン語名等を除く5項目をデータベースに入力した。一方、当部が所有する JAN ファイルは既にわが国で承認された約700件の JAN について18項目のデータが入力されている。

今回の2種類のファイルのデータを厚生省統計情報部の大型コンピュータ NEC ACOS-6 のディスクに JAN 英名をキーにしてデータを投入して結合し、

合計700件の一般名称について、21項目からなるデータを含む医薬品一般名称検索システムを作成した。なお、全項目にデータが入力されているのは JAN 名のある700件で、その他の WHO テープからの名称については6項目だけが入力されている。

本システムは、データベース管理システム(DBMS)として INQ(Information Query)⁵⁾を用い、データの更新、データの検索が可能である。また、本システムは、統計情報部と当所を結ぶ専用回線を通じて NEC 5200 Mark II を端末機として、データの入力、検索が可能になっている。

2.1 データ項目

以下に、本データベースのデータ項目の概略を示す。2番目の()は項目の省略名であり、3番目は、サブファイル名である。

(1) Request No. (RQ)(WHO)

WHO が INN の申請がなされた時点で付けている通し番号。

(2) PR-RN(PR)(WHO)

PR は、WHO Chronicle に発表された p-INN のリスト番号を表している。後の2桁は WHO Chronicle に発表された r-INN のリスト番号を表している。

(3) INN(INN)(WHO)

WHO が医薬品の一般的名称であることを認めた重複のない名称。

(4) 分子式 (WF)(WHO)

WHO のテープに入力されている分子式 (Hill 方式)。

(5) CAS-RN(RN)(WHO)

普通2つのハイフンをはさんで最大5桁-2桁-1桁の数字であらわされ、物質ごとに特有の番号を持っているが、ここでは2つのハイフンを省略し、最大8桁の数字からなっている。

(6) 申請 No. (SN) (JAN)

厚生省審査課によって製造承認の申請があった時点で付与された番号で、はじめの2桁は昭和の年号を表す。その数字が01または02である場合は、それ以前のものゝをさす。

7) J-RN(JRN) (JAN)

INN はほとんどのものは基本となる塩基に対して付与されるが、JAN は実際に使用されている塩あるいはエステル形になったものが多い。したがってINN と JAN が一致しない場合には JAN の CAS-RN を付与してある。

(8) JAN(JN) (JAN)

中央薬事審議会名称調査会で定めたわが国の医薬品の一般名称。

(9) JANE(JE) (JAN)

上記 JAN の英名。

(10) 薬効 (JDE) (JAN)

保険薬辞典 (62年5月版) での薬効分類。

(11) 薬効 e (DE) (JAN)

上記薬効の英名。

(12) 会社名 (JMK) (JAN)

薬品の先発製造許可申請会社名。

(13) 会社 e (MK) (JAN)

上記会社名の英名。

(14) 商品名 (JTR) (JAN)

薬品の商品名または販売名。

(15) 商品名 e (TRN) (JAN)

上記商品名の英名。

(16) 承認日 (DAY) (JAN)

業務公報に発表された承認日を昭和 (S.) の日付と西暦年号を () 内に入れた。

(17) CHEM(CHM) (JAN)

名称調査会により IUPAC 命名規則に基づいて定められた化学名 (英名)。

(18) 化学名 (JC) (JAN)

上記 CHEM の和名。

(19) WLN(WL) (JAN)

化合物の構造線型表記 (4-(3)参照)。

(20) システム (ST) (JAN)

システムは化学構造や薬理学的に同種の群に共通に使用している語幹で、現在約50種のシステムが公表されている。

(21) 薬理作用 (PH) (JAN)

おもに WHO が発行するシステム表の付表による薬理作用の分類によった。

2.2 本データベースによる検索例

コマンドを入力して下さい

```
?? R JE<'Z$'
696件ありました
?? SAVE 1
?? R INN EQ '$AZEPAM &'/1
18件ありました
```

```
.....0001.....
REQ-NO 2692
PR-RE 2210
INN BROMAZEPAM
分子式 C14-H10-BR-N3-O
CAS-RN 1812302
申請 NO 49-28
J-RN
JAN プロマゼパム
JANe BROMAZEPAM
商品名 ○○○○
商品名 e x x x x x x x
会社名 ○○○○
会社 e x x x x x
薬効 117 精神神経用剤
薬効 e PSYCHOPHARMACOLOGIC
DRUGS
承認日 S.51.08.20 (1976)
CHEM 7-BROMO-5-(2-PYRIDYL)-1H-
1,4-BENZODIAZEPINE-2-(3H)-
ONE
化学名 7-プロモ-5-(2-ピリジル)-1H-1,4-
ベンゾジアゼピン-2(3H)-オン
WLN T67 GMV JN IHJ CE K-BT6NJ
システム -AZEPAM
薬理作用 ANXIOLYTIC SEDATIVES
```

*****指定コマンドが終了しました。*****

*****INN KENSAKU SYSTEM END*****

Fig. 2. Example of the data retrieval and output data

本データベースによる検索例として、日本で承認された医薬品、すなわち JAN のあるものの中で、INN の語尾に azepam の付いている名称を検索した例を示す。最初に JAN 全体の集合を作り、その集合について INN の語尾に azepam (システム: -azepam) のある名称を検索する。Fig. 2 に、その出力の一部を示す。

考 察

本データベースは、医薬品の一般名称に関する21の検索項目を持つため、多方面、例えば化学名、化学構造、システム、分子式などからの検索が可能であるので、今後の名称付与等に有効に機能すると思われる。以下に、問題点等を示す。

(1) 1つの INN に対して、複数個の JAN (塩ある

いはエステルなど)が存在する場合があります、WHO テープの内容項目は単一項目であるが、JAN は繰り返す項目とせざるを得ない場合がある。

(2) JAN のあるもの、すなわち名称調査会が昭和45年に発足して以来申請承認された薬品は800件ならずであり、この中にはそれ以前に許可された薬品が相当数含まれている。また現在製造を中止しているもの、販売を中止している薬品(承認日の後ろにD,P)も何件かある。この中にINNをもたない薬品が1割近く含まれ、これらの名称は、このファイルから脱落している。これらの脱落した名称は、テープの内容項目およびINNに付属するシステム、薬理作用は省いて1枚のフロッピーディスクにまとめてある。

(3) WLN 構造線形表記の利用

現在は、化合物の構造をコンピュータの画面上でグラフィカルに表現する技術が進み、大方はその方向に移行しつつある。しかし、本データベースでは短時間に入力および検索ができるWLN(Wiswesser Line Notation)線形表記⁴⁾の方法をとった。この表記はアルファベットと数字およびブランク、ハイフン、&, スラッシュの記号によって構造を表すものであり、正確な表記から結合表を派生させることができる。ただし、基礎的な規則についての知識をもち、記号をみて構造式を再現する必要がある。したがって一般性がないので、将来は構造式がそのままの形で表せるビジュアルな表示が望ましい。

おわりに

医薬品の一般名称検索システムは、日本語と英語の

両方を使って作成したファクトデータベースで、データ項目がほぼ埋まっている医薬品名は約700件である。

今後INNの更新は1年に1度、WHOが作成した新しいテープにより行われ、JANについては、新たに承認された医薬品が業務公報に発表された時点で入力される予定である。

これらのデータに加えて、ビジュアルな化学構造表記、あるいは副作用データの追加等ができれば、さらに有効に利用出来るようになると思われる。

WHOは最近INNのコンピュータ処理をさらに検討する諮問グループを設置しわが国もこれに参加することになった。本システムの設計思想が国際的に評価され、さらに他システムからの付加価値を得、国際的に斉合性のある、より有用性の高いシステムに発展することが期待されている。

終りに、本システム構築に関し終始ご指導ご協力をいただいた厚生省統計情報部の八谷恵子、永田千寿子両氏に感謝致します。

文 献

- 1) Agathe Wehrli: 医薬品研究, 14, 25 (1983)
- 2) 財団法人日本公定書協会: 医薬品研究資料3 (1974)
- 3) 竹中祐典: 薬学図書館, 32, 147 (1987)
- 4) 平山健三, 佐々木慎一監訳, 工藤喜弘ほか訳: WLN 化学構造式の線型表記法, p.275, 南江堂
- 5) 橋本昌幸, 後藤龍男, 竹内 憲: 情報管理, 20, 127 (1977)

国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control 871)

小室徹雄・四方田千佳子・木村俊夫

Lysozyme Reference Standard (Control 871) of the National Institute of Hygienic Sciences

Tetsuo KOMURO, Chikako YOMOTA and Toshio KIMURA

A candidate for the Lysozyme Reference Standard (Control 871) of the National Institute of Hygienic Sciences was prepared. Purity of the standard material examined electrophoretically was more than 99.5%. Lysozyme potency of the standard material was assayed turbidimetrically using dry-cells of *Micrococcus luteus* as a substrate and compared with that of the Lysozyme Reference Standard (Control 865). Potency of the standard material was in satisfactory agreement with that of the standard and was defined as 1 mg [potency] per mg.

(Received May 31, 1989)

国立衛生試験所第11回リゾチーム標準品 (Control 871) を製造したので報告する。

1. 力価測定

リゾチーム標準品原料 (生化学工業㈱) の力価を第10回リゾチーム標準品 (Control 865) を対照として、次に示す定量法-1 および定量法-2 によって測定した。

1.1 試薬

(1) リン酸塩緩衝液 (pH 6.2)

日本薬局方外医薬品成分規格¹⁾に記載された方法にしたがって調製した。

(2) 基質液

Micrococcus luteus の乾燥菌体 (生化学工業㈱) を用いて、日本薬局方外医薬品成分規格¹⁾に記載された方法にしたがって調製した。

1.2 定量法1

試料 (標準品原料) および標準品 (Control 865) をデシケーター (シリカゲル) で2時間減圧乾燥し、その約 50mg (力価) に対応する量を精密に量り、それぞれに pH 6.2 のリン酸塩緩衝液を加えて正確に 100 ml とする。この液 2 ml ずつを正確に量り、pH 6.2 のリン酸塩緩衝液を加えてそれぞれ正確に 100 ml とする。両液から、2 ml (低用量) および 3 ml (高用量) ずつを正確に量り、pH 6.2 のリン酸塩緩衝液を加えてそれぞれ正確に 50 ml とした液をそれぞれ低用量試料溶液、高用量試料溶液、低用量標準溶液およ

Table 1. Activities of the material for lysozyme standard

Exp. No.	Activity[mg(potency)]	
	Method-1	Method-2
1	0.987	1.037
2	0.998	1.041
3	0.961	1.012
4	0.947	0.988
5	0.957	1.000
6	0.969	1.018
7	0.987	1.018
8	0.954	0.997
9	0.971	0.997
10	0.942	0.984
11	0.942	0.984
12	0.950	0.997
13	0.950	0.997
14	0.982	1.020
15	0.982	1.020
16	1.011	1.060
17	1.011	1.060
Mean ± S.D.	0.971 ± 0.023	1.014 ± 0.024

び高用量標準溶液とする。以下、基質液を用いて既報²⁾の定量法-1の方法にしたがってそれぞれの力価を測定した。

1.3 定量法2

日本薬局方外医薬品成分規格¹⁾に記載された定量法にしたがって測定した。

Table 2. Amino acid composition of the material for lysozyme standard

Amino acid	Number of amino acid residues per mole		
	Material (Control:865)	Standard (Control:871)	Theoretical ⁴⁾
Lys	6.0	6.1	6
His	1.0	1.0	1
Arg	11.4	11.4	11
Asp	20.5	20.7	21
Thr*	6.9	6.8	7
Ser*	9.1	9.1	10
Glu	5.0	5.1	5
Pro	2.1	2.2	2
Gly	12.1	12.1	12
Ala	12.4	12.4	12
Cys	1.6	1.5	8
Val	5.8	5.8	6
Met	2.0	2.0	2
Ile	5.7	5.7	6
Leu	8.0	8.0	8
Tyr	3.0	3.2	3
Phe	3.1	3.1	3

* uncorrected

1.4 定量結果

定量法-1 および定量法-2 にしたがって求めた試料 1mg 中のリゾチーム量 [mg (力価)] を Table 1 に示した。それぞれの方法で17回繰り返し実験した結果から、いずれの測定方法によっても、今回のリゾチーム標準品原料の 1mg は 1mg (力価) のリゾチームを含有することが示された。

2. アミノ酸組成分析

アミノ酸組成の分析は、Spackman らの方法に準じた既報³⁾の定量法にしたがって行った。リゾチーム標準品原料のアミノ酸組成は、シスチンを除いて文献値⁴⁾とよく一致した。また、第10回リゾチーム標準品 (Control 865) の組成値ともよく一致していることを認めた (Table 2)。

3. 純度試験

リゾチーム標準品原料の純度をポリアクリルアミドゲル電気泳動法により検討した。電気泳動法は Reisfeld らの方法⁵⁾にしたがった。7.5% ポリアクリルアミドスラブゲルを作成し、本原料 3.12 μ g~500 μ g を泳動させた結果、Fig. 1 に示したようにサンプルの量が 100 μ g 以上の場合に陰極側に弱いバンドが認められた。不純物の量は原体のバンドの濃さから判断しておおよそ 0.5% 以下であったことから、本原料の純度は 99.5% 以上であることが示された。

4. 乾燥減量

リゾチーム標準品原料およびリゾチーム標準品の約 200mg を精密に量り、105°C で 2 時間乾燥した。この条件でのリゾチーム標準品原料およびリゾチーム標準品の乾燥減量はそれぞれ 1.96% (S. D.: ± 0.70 , n=3) および 3.11% (S. D.: ± 0.39 , n=3) であった。

ま と め

リゾチーム標準品原料の力価は、定量法-1 で 0.971 ± 0.023 mg (力価)、定量法-2 では 1.014 ± 0.024 mg (力価) であり、両方法による結果はよく一致した。定量値のバラツキに関しても両者間には差が認められ

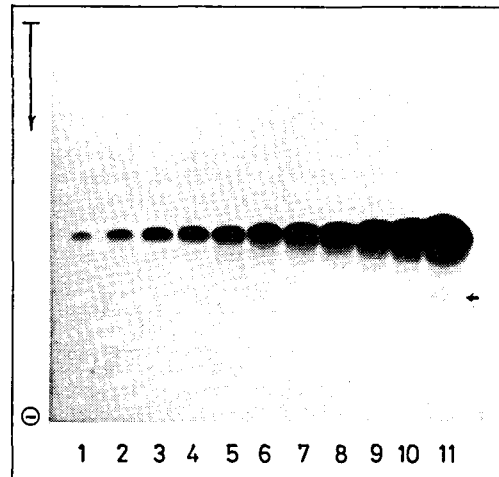


Fig. 1. Polyacrylamide gel electrophoresis of the standard material

7.5% acylamide gel was used. Applied amounts (μ g) of the material were as follows; lanes: 1=3.12, 2=6.3, 3=12.5, 4=18.8, 5=25, 6=50, 7=75, 8=100, 9=150, 10=200, 11=500. Arrow indicates a site of weak band produced by the impurity substance.

なかった。標準品原料のアミノ酸組成は標準品 (Control 865) の組成と差がなく、理論値ともよく一致した。また、その純度はポリアクリルアミドゲル電気泳動により検討した結果 99.5% 以上であった。これらの結果から、本標準品原料をリゾチーム標準品 (Control 871) とし、その 1mg はリゾチーム 1mg (力価) を含むものと定めた。

文 献

- 1) 日本薬局方外医薬品成分規格, (1986, 厚生省薬務局審査課監修)
- 2) 谷本 剛ら: 衛生試験, 96, 98 (1978)
- 3) 谷本 剛ら: 衛生試験, 102, 127 (1984)
- 4) R. E. Canfield: *J. Biol. Chem.*, 238, 2691 (1963)
- 5) R. A. Reisfeld *et al.*: *Nature*, 195, 281 (1962)

日本薬局方ヘパリンナトリウム標準品 (Control 871) の共同検定

四方田千佳子・長谷川隆一・小室徹雄・岡田敏史・木村俊夫

Collaborative Study of Japanese Pharmacopoeia Heparin Sodium
Reference Standard (Control 871)Chikako YOMOTA, Ryuichi HASEGAWA, Tetsuo KOMURO,
Satoshi OKADA and Toshio KIMURA

Heparin Sodium Reference Standard for Japanese Pharmacopoeia (JP) is replaced with new material derived from porcine mucosa. The material was dissolved in water, distributed to vials and freeze-dried. The anticoagulant activity of the freeze-dried product was determined in collaboration with four laboratories employing JP method. The weighted mean potency of 101 assays was 1515 international units per vial, and this value was adopted for the potency of new JP Heparin Sodium Reference Standard (Control 871). By the antiheparin test of protamine sulfate, 0.712 mg of the new standard was neutralized by 1 mg of protamine sulfate. Molecular weight distribution of this standard was also measured by means of gel permeation chromatography and compared with those of the former reference standard and bovine heparin.

(Received May 31, 1989)

日本薬局方 (JP) ヘパリンナトリウム標準品 (Control 731 シリーズ) の残部が僅少となったのでロットの更新を行った。前回の場合と同様に、国際単位との厳密な整合性を図るためいくつかの試験室による共同検定によりその力価を決定することとした。また、使用に当たっての秤量誤差を少なくするため、1バイアル中に一定単位が含まれるような凍結乾燥品とすることとした。共同検定は清水製薬(株)、(株)ミドリ十字、小玉(株)に参加をお願いし、当所を含めた4ヵ所で行った。試料は1988年3月各試験室あてに送付し、5月にその結果を集計した。この標準品はJP硫酸プロタミンおよび同注射液の抗ヘパリン試験の標準品としても用いられるので、プロタミンとの対応量についても測定した。また、分子量を測定し、前回の標準品およびウシ肺由来のヘパリンとの比較を行った。

試験方法

1. 標準品原料

Novo Industry A/S (デンマーク) 製のブタ腸粘膜由来ヘパリンナトリウムを、ノボ薬品株式会社を通じて入手した。当社による試験成績は次の通りであった。pH: 6.9, 全窒素: 2.26% (乾燥物として), 乾燥減量: 3.6%, 強熱残分: 38.9% (乾燥物として), 含量: 189, 国際単位/mg。

当所による試験結果は次の通りであった。旋光度: +49.6° (n=2, 20°C, C=0.0024, 水), 乾燥減量: 5.36% (n=3, 60°C, 五酸化リン, 減圧, 4時間), 水分: 5.37% (n=4, 電量法)。

2. 対照標準品

第4回国際標準品 (ブタ腸粘膜製, 1988年, 1780国際単位/アンブル) を使用した。

3. 小分け充填

(株)ミドリ十字により以下の方法で行われた。すなわち原料約 27g を 1 ml 中に乾燥物 (水分量を5.4%として換算) 8mg を含むように水に溶かし、メンブランフィルター (0.45 μ) でろ過し、その 1.0 ml ずつを無色の 3 ml バイアルに分注し、凍結乾燥した。当社によるこの凍結乾燥品の試験成績は次の通りであった。性状: 白色の粉末, 乾燥減量: 0.6%, 内容物の重量偏差: 0.064% (n=10, 平均 7.75mg, 変動係数 0.83)。

4. 抗凝血活性の測定

JP ヘパリンナトリウムの定量法を準用した。但し、標準品として国際標準品を対照として試験を行った。

5. 硫酸プロタミン中和力試験

JP 硫酸プロタミンの抗ヘパリン試験を準用した。硫酸プロタミンは JP 標準品を用いた。

6. GPC (Gel Permeation chromatography) に

よる分子量の測定

カラムは TSK3000PW を用い、0.5M NaCl を溶離液として流速 0.5 ml/min で GPC を行った。ポンプは島津 LC-6A, 検出器は東ソー製 RI-8 型示差屈折計を使用した。分子量標品は昭和電工(株)製ブルラン P-5(M_w : 5300), P-10(M_w : 12000), P-20(M_w : 20800), P-50(M_w : 46700), P-100(M_w : 95400), P-200(M_w : 194000) を用いた。試料は 8 mg/ml の水溶液とし 10 μ l ずつ注入した。

試験結果

1. 抗凝血活性

4ヶ所の試験室で合計 101 回の検定が行われた。その結果を Table 1 に示す。得られた力価の範囲は 1480 から 1578 単位にわたって分布していた。試験室別の算術平均値は、試験室 A 1506 ($n=21$), B 1512 ($n=10$), C 1497 ($n=10$), D 1528 ($n=28$) であった。試験室間で大きな差は見られなかったため、101 回の検

Table 1. Results of collaborative study for the material for heparin sodium reference standard (Control 871)

Exp No.	Lab.	potency (u/vial)	L	w ($\times 10^3$)	Exp No.	Lab.	potency (u/vial)	L	w ($\times 10^3$)	Exp No.	Lab.	potency (u/vial)	L	w ($\times 10^3$)
1	A	1,553	0.0280	26	35	C	1,516	0.0324	19	69	D	1,543	0.0210	46
2	A	1,530	0.0100	205	36	C	1,482	0.0131	119	70	D	1,541	0.0340	18
3	A	1,530	0.0200	51	37	C	1,528	0.0162	78	71	D	1,545	0.0350	17
4	A	1,503	0.0150	91	38	C	1,483	0.0200	51	72	D	1,526	0.0172	69
5	A	1,513	0.0190	57	39	C	1,578	0.0442	10	73	D	1,504	0.0146	96
6	A	1,488	0.0140	104	40	C	1,510	0.0150	91	74	D	1,513	0.0190	57
7	A	1,508	0.0140	104	41	C	1,532	0.0212	46	75	D	1,510	0.0078	336
8	A	1,480	0.0310	21	42	D	1,521	0.0170	71	76	D	1,537	0.0131	119
9	A	1,502	0.0110	169	43	D	1,522	0.0290	24	77	D	1,510	0.0188	58
10	A	1,486	0.0140	104	44	D	1,545	0.0200	51	78	D	1,497	0.0166	74
11	A	1,525	0.0150	91	45	D	1,537	0.0200	51	79	D	1,507	0.0183	61
12	A	1,517	0.0140	104	46	D	1,540	0.0430	11	80	D	1,514	0.0132	117
13	A	1,497	0.0140	104	47	D	1,521	0.0200	51	81	D	1,543	0.0133	116
14	A	1,513	0.0140	104	48	D	1,517	0.0230	39	82	D	1,487	0.0189	57
15	A	1,492	0.0210	46	49	D	1,517	0.0180	63	83	D	1,509	0.0206	48
16	A	1,497	0.0280	26	50	D	1,531	0.0330	19	84	D	1,521	0.0181	62
17	A	1,509	0.0210	46	51	D	1,528	0.0310	21	85	D	1,526	0.0158	82
18	A	1,498	0.0150	91	52	D	1,516	0.0120	142	86	D	1,522	0.0141	103
19	A	1,497	0.0140	104	53	D	1,555	0.0210	46	87	D	1,520	0.0197	53
20	A	1,484	0.0100	205	54	D	1,509	0.0330	19	88	D	1,512	0.0221	42
21	A	1,505	0.0110	169	55	D	1,565	0.0220	42	89	D	1,494	0.0207	48
22	B	1,514	0.0080	320	56	D	1,530	0.0160	80	90	D	1,520	0.0182	62
23	B	1,483	0.0178	65	57	D	1,530	0.0160	80	91	D	1,530	0.0191	56
24	B	1,493	0.0154	86	58	D	1,529	0.0190	57	92	D	1,513	0.0169	72
25	B	1,493	0.0154	86	59	D	1,552	0.0150	91	93	D	1,521	0.0147	95
26	B	1,487	0.0140	104	60	D	1,520	0.0190	57	94	D	1,506	0.0135	112
27	B	1,507	0.0105	186	61	D	1,520	0.0440	11	95	D	1,513	0.0165	75
28	B	1,507	0.0105	186	62	D	1,531	0.0200	51	96	D	1,540	0.0155	85
29	B	1,513	0.0234	37	63	D	1,543	0.0220	42	97	D	1,520	0.0111	166
30	B	1,489	0.0136	111	64	D	1,536	0.0190	57	98	D	1,526	0.0106	182
31	B	1,483	0.0178	65	65	D	1,534	0.0140	104	99	D	1,537	0.0118	147
32	C	1,482	0.0258	31	66	D	1,538	0.0120	142	100	D	1,530	0.0136	111
33	C	1,493	0.0321	20	67	D	1,519	0.0130	121	101	D	1,523	0.0166	74
34	C	1,515	0.0228	39	68	D	1,524	0.0160	80					

Table 2. Milligrams of heparin material for JP Reference Standard (Control 871) neutralized by protamine sulfate

lot of blood	A	B	C	D
1	0.696	0.711	0.719	0.719
2	0.696	0.711	0.719	0.719

定結果を統合し、重み付き平均を算出することとした。算出に当たって χ^2 検定を行ったところ、5%の危険率では均一性が否定されたので、semi-weighted mean を算出し、1515単位という値が得られた。この値の持つ信頼限界の幅は1512~1519単位と優れたものであり、したがって今回の標準品1バイアル1515単位と決定した。

2. 硫酸プロタミン中和力試験

清水製薬㈱により行われた結果を Table 2 に示す。硫酸プロタミン 1mg を中和するのに要するヘパリンナトリウムの量で示した。試験に用いる血液のロットを変えて各2回、計8回の測定では、平均 0.712mg であった。前回の標準品 (Control 731) での値 0.751 mg¹⁾ と比較して大差はなく JP 硫酸プロタミンの抗ヘパリン試験の標準品としても使用できることが確認された。

3. GPC によるヘパリン標準品の分子量

プルラン分子量標品による分子量修正曲線を Fig. 1 に示した。今回のヘパリン標準品原料、前回標準品 (Control 731) および参考としてウシヘパリン (第2回国際標準品 1958年) の GPC クロマトグラムを Fig. 2 に示した。各 GPC ピークを溶出時間にして、24秒ごとに等分し、それぞれの溶出時間におけるベースラインからの高さ (H_i) を測定して、次式により重量平均分子量 (M_w)、数平均分子量 (M_n) および分散比 M_w/M_n を求めた。

$$M_w = \frac{\sum M_i^2 N_i}{\sum M_i N_i}$$

$$M_n = \frac{\sum M_i N_i}{\sum N_i}$$

ここで、 $N_i = H_i/M_i$ で M_i は各溶出位置に対して修正曲線から読み取った分子量である。得られた値を Table 3 に示した。今回の原料の平均分子量は前回標準品に比べやや小さかったが、GPC クロマトグラムは前回標準品のものとはほぼ一致し、分散比も同程度であった。ウシヘパリンはこれら2種の日本薬局方標準品に比べ分子量は小さく分散比が大きかった。ウシヘパリンはブタヘパリンよりも分子量が小さいと報告³⁾ されているので、妥当な結果と考えられた。

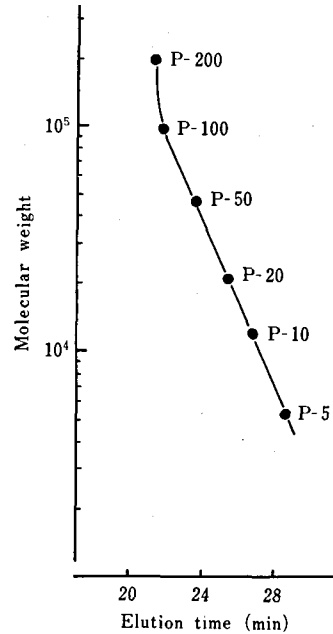


Fig. 1. Semilogarithmic calibration curve of molecular weight for pullulan

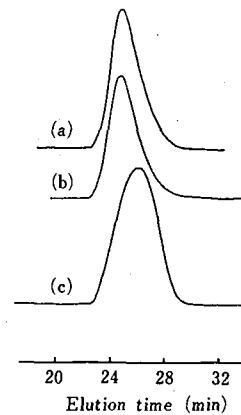


Fig. 2. Gel permeation chromatograms of heparin samples

(a) Materials for JP Reference Standard (Control 871), (b) JP Reference Standard (Control 731), (c) bovine heparin

Table 3. Molecular weights of heparin samples measured by gel permeation chromatography

sample	M _w	M _n	M _w /M _n
Material for JP reference standard (control 871)	24,500	19,800	1.24
JR reference standard (control 731)	26,300	20,700	1.27
Bovine heparin	20,900	15,700	1.33

結 論

今回入手したヘパリンナトリウム標準品の原料を用い、バイアル中に充填、凍結乾燥した製品について101回の検定の結果から、本品1バイアルは1515単位(国際単位)を含むことを認めた。また、硫酸プロタミンの中和力試験およびGPCの結果から、今回の標準品の性質が前回のそれと大きな差がないことが確認できたので、これを日本薬局方標準品 (Control 871) とし、昭和63年8月から配布を開始した。

本標準品を製造するに当たり、多大のご協力をいただいた清水製薬(株)、(株)ミドリ十字、小玉(株)、ノボ薬品(株) (順不同) に謝意を表します。

文 献

- 1) 川村次良ら：衛生試報, 94, 90 (1976)
- 2) United States Pharmacopeia XXI, p.1169, "Design and analysis of biological assays", C. I. Bliss: *Drug Standard*, 24, 33 (1956)
- 3) G. H. Barlow: *Seminar in Thrombosis and Hemostasis*, 11, 26 (1985)

国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 871)

田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫

Ergocalciferol Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences

Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA

The Ergocalciferol Reference Standard (Control 871) for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained: melting point, 115.9°C; infrared spectrum, same as the Japanese Pharmacopoeia Standard "Ergocalciferol Standard (Control 851)"; absorbance, E_{1cm}^{1%} (265 nm) = 464.8; optical rotation, [α]_D²⁰ = +104.7°; thin-layer chromatography, same as the Japanese Pharmacopoeia Standard; high-performance liquid chromatography, contaminants were not detected; assay, 101.2%.

On the basis of those results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (control 871).

(Received May 31, 1989)

第十一改正日本薬局方 (JP XI) エルゴカルシフェロールの確認試験、定量法に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品 "エルゴカルシフェロール標準品 (Control 871)") を製造したので報告する。その品質の評価に当たっては、第一製薬(株)および日本ロシエ(株)の協力を仰いだ。

1. 原 料

第一製薬(株)を通じてフィリップス社において、窒素置換したアンプルに小分けされたものを購入した。

2. 参照物質および試薬

米国薬局方標準品および日本薬局方エルゴカルシフェロール標準品 (Control 851) を対照に試験を行った。試薬は特級品を用いた。

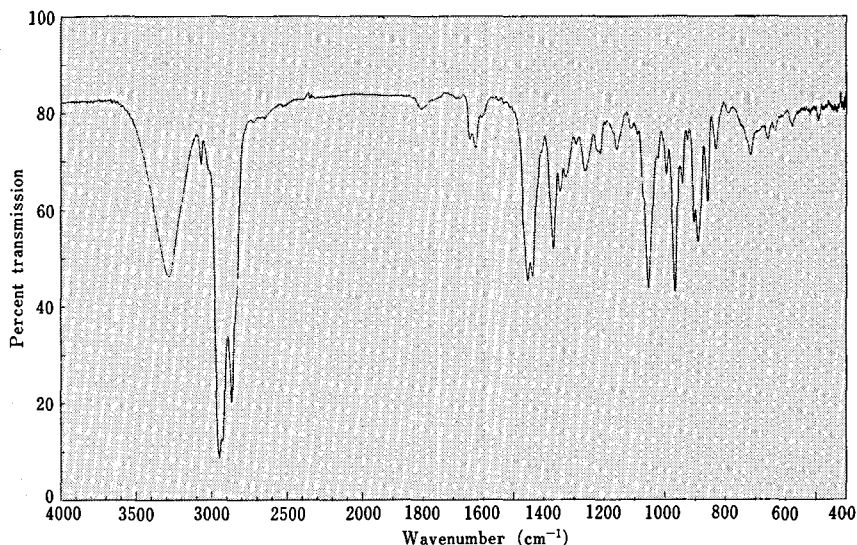


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Ergocalciferol Reference Standard (Control 871)

3. 装置

日本分光 IR-700 型赤外分光光度計, メトラー AE-240 型上皿電子天秤, 日本分光 U-best-50 型自記分光光度計, ユニオン PM-201 型旋光計, 宮本理研製 Model PA-10S 型融点測定器, 島津 LC-5A 型液体クロマトグラフ装置, 島津 SPD-2A 型波長可変 UV モニター, 島津 C-R3A 型クロマトバックを用いた。

4. 試験方法

特に記するもの以外は, JP XI の一般試験法および医薬品各条“エルゴカルシフェロール”の試験法を準用した。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験: 薄層板; メルク社製プレコーテッド板シリカゲル60 (厚さ 0.25 mm), 展開溶媒; シクロヘキサン・ジエチルエーテル (1:1), 試料溶液; 原料および標準品 0.010 g をとり, クロロホルム 5.0 ml を加えて溶かし試料溶液とした。方法および検出法; 試料溶液の 1.0~10 μ l をシリカゲル薄層板に窒素ガスを吹きつけながらスポットし, 暗所で約 15cm 展開した後, 薄層板を取り出し, 風乾した。これに濃硫酸を均等に噴霧した後, 100°C で5分間加熱し, 直ちに原点以外の異種スポットを認めない試料のスポット量 (μ g) を求めた¹⁾。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 原料および標準品約 30mg ずつを精密に量り, それぞれをイソオクタンに溶かし, 正確に 50 ml とする。この液 10 ml ずつを正確に量り, 移動相を加えて 50 ml とし試料溶液とした。この液 10 μ l につき, 次

の条件で液体クロマトグラフ法を行った²⁾。

操作条件

検出法; 紫外吸光度計 (測定波長: 254 nm)

カラム; chemcosorb 5-Si (ϕ 4.0 mm \times 150 mm)

移動相; ヘキサン・*n*-アミルアルコール混液

(997:3)

流量; 1 ml/min

カラム温度; 20°C

検出感度; 試料注入量の 1/100 に相当する量を注

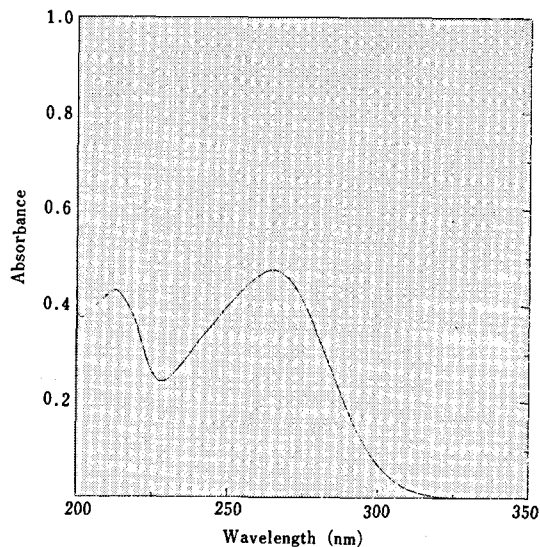


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Ergocalciferol Reference Standard (Control 871)

Table 1. Analytical results of the material for Ergocalciferol Reference Standard (Control 871)

Testing items	N. I. H. S.	Lab. A	Lab. B
Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$	+104.7°	—	—
Melting Point	115.9°C	116.1°C	114.9°C
Purity Tests			
1) TLC single spot ^{A)} detection limit	—	75 μ g 0.075 μ g	100 μ g —
2) HPLC impurity(%)	0.0%	0.0%	0.0%
$E_{1cm}^{1\%}$ (265 nm)	464.8	473	464
Assay HPLC(%)	101.2% ^{B)}	100.1% ^{C)}	99.9% ^{C)}

A) Applied amount which shows single spot.

B) Assay in terms of JP Reference Standard (Control 851).

C) Assay in terms of USP Reference Standard.

入し、得られた主ピークの高さが記録紙の Full scale の約10%の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整した。

試料溶液の0.05%以上のピーク面積を計算した。

5. 試験結果

1) 性状：白色の結晶で、においはない。

2) 赤外吸収スペクトル：Fig. 1 に示す。

日本薬局方標準品 (Control 851) と同一の吸収スペクトルを示す。

3) 紫外吸収スペクトル：Fig. 2 に示す。極大波長は $\lambda_{max}=265$ nm であった。

4) その他の試験成績を Table 1 に示す。

なお、前記両社の品質管理部における試験成績を同表に示した。

結 論

標準品原料として入手したエルゴカルシフェロールを米薬局方標準品、日本薬局方標準品と比較検討し

た。薄層クロマトグラフ法では、各々の間に著しい差異は見られなかった。液体クロマトグラフ法による純度試験においても、不純物は検出されず、また、液体クロマトグラフ法での定量試験では、日本薬局方標準品の含量を100.0%とした時、原料の含量は101.2%であった。

これらの成績より、今回入手した標準品原料は、国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認め、Control 871 として昭和63年6月から配布を開始した。

終わりに、標準品の製造にあたり協力いただいた日本ロシュ(株)ならびに第一製薬(株)に感謝致します。

文 献

- 1) 勝井五一郎, 江沢敏一, 秋田吉三郎, 吉田継親: 医薬品研究, 16, 499 (1985)
- 2) 勝井五一郎, 大久保一衛: 医薬品研究, 15, 625 (1984)

国立衛生試験所コレカルシフェロール標準品 (Control 871)

田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫

Cholecalciferol Reference Standard (Control 871) of National
Institute of Hygienic Sciences

Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA,
Satoshi OKADA and Toshio KIMURA

Cholecalciferol Reference Standard (Control 871) for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The following analytical data were obtained: melting point, 86.3°C; infrared spectrum, same as the Japanese Pharmacopoeia Standard "Cholecalciferol Standard (Control 851)"; absorbance, $E_{1\text{cm}}^{1\%}(265\text{ nm})=474.5$; optical rotation, $[\alpha]_D^{20}=+110.0^\circ$; thinlayer chromatography, same as the Japanese Pharmacopoeia Standard; highperformance liquid chromatography, contaminants were not detected; assay, 100.7%.

On the basis of those results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (control 871).

(Received May 31, 1989)

第十一改正日本薬局方 (JP XI) コレカルシフェロールの確認試験, 定量法に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) "コレカルシフェロール標準品 (Control 871)" を製造したので報告する。その品質の評価に当たっては, 第一製薬㈱および日本ロシュ㈱の協力を仰いだ。

1. 原料

第一製薬株式会社を通じてフィリップス社において, 窒素置換したアンプルに小分けされたものを購入した。

2. 参照物質および試薬

米国薬局方標準品および日本薬局方コレカルシフェロール標準品 (Control 851) を対照に試験を行った。試薬は特級品を用いた。

3. 装置

日本分光 IR-700 型赤外分光光度計, メトラー AE-240 型上皿電子天秤, 日本分光 U-best-50 型自記分光光度計, ユニオン PM-201 型放射計, 宮本理研製 Model PA-10S 型融点測定器, 島津 LC-5A 型液体クロマトグラフ装置, 島津 SPD-2A 型波長可変 UV モニター, 島津 C-R3A 型クロマトパックを用いた。

4. 試験方法

特に記すものの他は, JP XI の一般試験法および医薬品各条 "コレカルシフェロール" の試験法を準用し

た。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法: 薄層板; メルク社製プレコート板シリカゲル 60 (厚さ 0.25 mm), 展開溶媒; シクロヘキサン・ジエチルエーテル (1:1), 試料溶液; 原料および標準品 0.010 g をとり, クロロホルム 5.0 ml を加えて溶かし試料溶液とした, 方法および検出法; 試料溶液の 1.0~10 μl をシリカゲル薄層板に窒素ガスを吹きつけながらスポットし, 暗所で約 15 cm 展開した後, 薄層板を取り出し, 風乾した。これに濃硫酸を均等に噴霧した後, 100°C で 5 分間加熱し, 直ちに原点以外の異種スポットを認めない試料のスポット量 (μg) を求めた¹⁾。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 原料および標準品約 30mg ずつを精密に量り, それぞれをイソオクタンに溶かし, 正確に 50 ml とする。この液 10 ml ずつを正確に量り, 移動相を加えて 50 ml とし試料溶液とした。この液 10 μl につき, 次の条件で液体クロマトグラフ法を行った²⁾。

操作条件

検出法; 紫外吸光度計 (測定波長: 254 nm)
カラム; chemcosorb 5-Si (ϕ 4.0 mm \times 150 mm)
移動相; ヘキサン・*n*-アミルアルコール混液 (997:3)
流量; 1 ml/min
カラム温度; 20°C

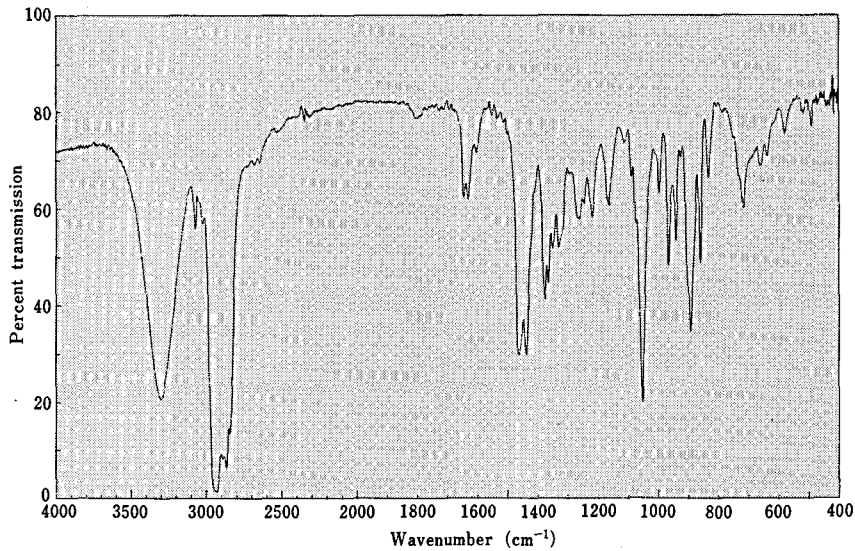


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Cholecalciferol Reference Standard (Control 871)

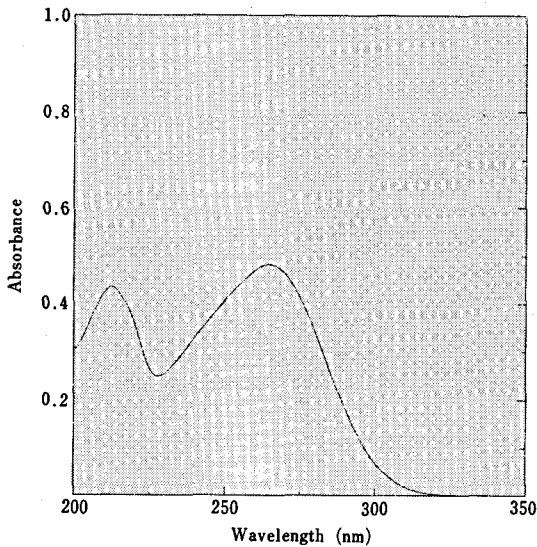


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Cholecalciferol Reference Standard (Control 871)

検出感度；試料注入量の1/100に相当する量を注入し，得られた主ピークの高さが記録紙の Full scale の約10%の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整した。

試料溶液の0.05%以上のピーク面積を計算した。

5. 試験結果

- 1) 性状：白色の結晶で，においはない。
 - 2) 赤外吸収スペクトル：Fig. 1 に示す。
- 日本薬局方標準品 (Control 851) と同一の吸収スペ

クトルを示す。

3) 紫外吸収スペクトル：Fig. 2 に示す。極大波長は $\lambda_{\max}=265 \text{ nm}$ であった。

4) その他の試験成績を Table 1 に示す。

なお，前記両社の品質管理部における試験成績を同表に示した。

結 論

標準品原料として入手したコレカルシフェロールを米国薬局方標準品，日本薬局方標準品と比較検討した。薄層クロマトグラフ法では，各々の間に著しい差異は見られなかった。液体クロマトグラフ法による純度試験においても，不純物は検出されなかった。液体クロマトグラフ法での定量試験では，日本薬局方標準品の含量を100.0%とした時，原料の含量は，100.7%であった。

以上の結果より，今回入手した標準品原料は，国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）に適した品質を有することを認め，Control 871 として昭和63年9月から配布を開始した。

終わりに，標準品の製造にあたりご協力いただいた日本ロシュ(株)ならびに第一製薬(株)に感謝いたします。

文 献

- 1) 勝井五一郎，江沢敏一，秋田吉三郎，吉田経親：医薬品研究，16，499 (1985)
- 2) 勝井五一郎，大久保一衛：医薬品研究，15，625 (1984)

Table 1. Analytical results of the material for Cholecalciferol Reference Standard (Control 871)

Testing items	N. I. H. S.	Lab. A	Lab. B
Optical rotation $[\alpha]_D^{20}$	+110.0°	—	—
Melting Point	86.3°C	85.4°C	84.6°C
Purity Tests			
1) TLC single spot ^{A)}	—	75 µg	100 µg
detection limit	—	0.10 µg	—
2) HPLC impurity(%)	0.0%	0.0%	0.0%
$E_{1cm}^{1\%}$ (265 nm)	474.5	484	469
Assay HPLC(%)	100.7% ^{B)}	99.9% ^{C)}	99.5% ^{C)}

A) Applied amount which shows single spot.

B) Assay in terms of JP Reference Standard (Control 851).

C) Assay in terms of USP Reference Standard.

国立衛生試験所吉草酸ジフルコルトロン標準品 (Control 871)

田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫

Diflucortolone-21-Valerate Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences

Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA,
Satoshi OKADA and Toshio KIMURA

Diflucortolone-21-valerate was tested for the preparation of "Diflucortolone-21-valerate Reference Standard (Control 871)". Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 0.05%; infrared spectrum, 1745, 1727, 1667, 1625, 1611, 1169 cm^{-1} ; ultraviolet spectrum, $\lambda_{\text{max}}=239 \text{ nm}$; absorbance, $E_{1cm}^{1\%}(239 \text{ nm})=348.8$; optical rotation, $[\alpha]_D^{20}$: +100.8°; melting point, 203.2°C; thin-layer chromatography, three contaminants were detected; high-performance liquid chromatography, two contaminants were detected; fluorine, 8.06%.

On the basis of those results, this material was authorized as the National Institute of Hygienic Sciences Reference Standard (Control 871).

(Received May 31, 1989)

国立衛生試験所吉草酸ジフルコルトロン標準品 (Control 871) を製造したので報告する。

1. 原料

ジオキサソ・シクロヘキサソ混液およびメタノールを用いて再結晶し、精製したもので、日本シェーリング(株)より購入した。同社による試験成績は次の通りである。赤外吸収スペクトル: 1747, 1730, 1667, 1624, 1609 および 1168 cm^{-1} に吸収を認めた。吸光度: $E_{1cm}^{1\%}(239 \text{ nm})$ 346(1mg, メタノール, 100 ml)。

旋光度: $[\alpha]_D^{20}$: +100.1°(0.2g, ジオキサソ, 10 ml, 100 mm)。融点: 203°C。乾燥減量: 0.05%。強熱残分: 秤量し得ず。薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験: 4個の不純物。液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 面積百分率法により 99.38%。

2. 参照物質および試薬

試薬は特級品を用いた。

3. 装置

日本分光 IR-700 型赤外分光光度計, メトラー AE-240 型上皿電子天秤, 日本分光 Ubest-50 型自記分光光度計, ユニオン PM-201 型旋光計, 宮本理研製 Model PA-10S 型融点測定器, 島津 LC-6A 型液体クロマトグラフ装置, 日本分光 UVIDEC 100-2 型波長可変 UV モニター, 島津 C-R6A 型クロマトパックを用いた。

4. 試験方法

特に記するもの以外は, JP XI の一般試験法の試験を準用した。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験: 薄層板; メルク社製プレコートッド板シリカゲル60 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒; (1) シクロヘキサン・アセトン混液 (3:2), (2) シクロヘキサン・酢酸エチル混液 (1:1), 試料溶液; 標準品原料 0.050 g をクロロホルム 5 ml に溶かした。方法および検出法; 試料溶液の 3~30 μ l をシリカゲル薄層板にスポットし, 約 15 cm 展開した後, 薄層板を取り出し, 風乾した。これを (A) 紫外線 (主波長 254 nm) 照射法, (B) アルカリ性ブルーテトラゾリウム試液発色法により観察した。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 原料 0.015 g 相当にメタノールを加えて溶かし 10 ml とした。その 10 μ l を HPLC に注入した。

操作条件

検出法; 紫外吸光度計 (測定波長: 254 nm)

カラム; Inertsil ODS (4.6 ID \times 250 L mm)

移動相; メタノール・水混液 (4:1)

流量; 0.7 ml/min

カラム温度; 室温 (約 25 $^{\circ}$ C)

検出感度; 試料注入量の 1/100 に相当する量を注入し, 得られた主ピークの高さが記録紙の Full scale の約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整した。さらに, この条件で, 試料溶液注入量の 1/2000 に相当する量を注入した時, 得られたピークの面積が必ず検出されるように Analytical parameter を設定した。試料溶液の 0.05% 以上のピーク面積を計算した。

5. 試験結果

- 1) 性状: 白色の結晶で, おおいはない。
- 2) 赤外吸収スペクトル: 臭化カリウム錠剤法で測定した原料の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。1745, 1727, 1667, 1625, 1611 および 1169 cm^{-1} に吸収を認めた。
- 3) 紫外吸収スペクトルおよび吸光度: 原料 1 mg をメタノール 100 ml に溶かしたときの紫外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。波長 239 nm に吸収の極大を示した。吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (239 nm): 348.8 (1 mg, メタノール, 100 ml)。
- 4) 乾燥減量: 0.05% (0.5 g, 105 $^{\circ}$ C, 3 時間, 減圧)
- 5) 旋光度: $[\alpha]_D^{20}$: +100.8 $^{\circ}$ (0.2 g, ジオキサン, 100 ml)

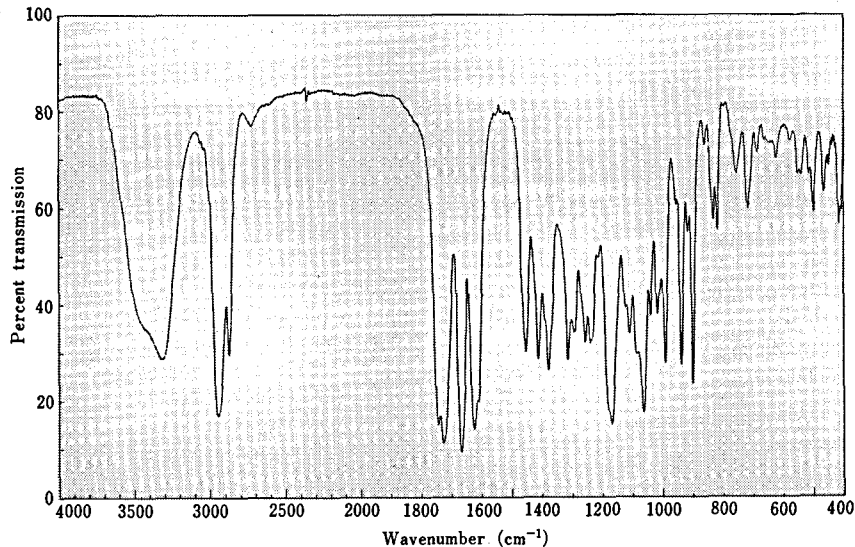


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Difluocortolone-21-valerate Reference Standard (Control 871)

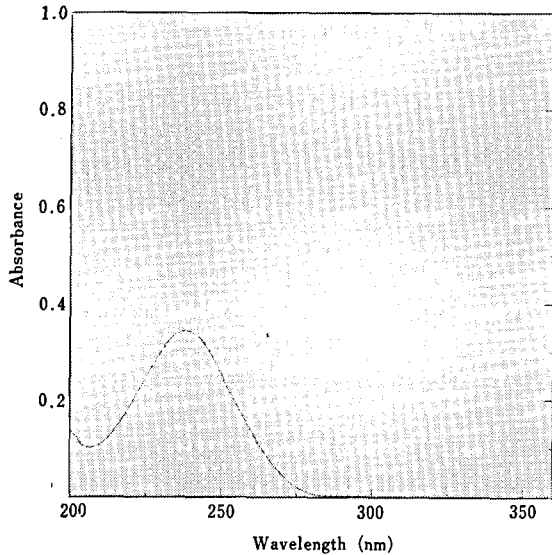


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Diflucortolone-21-valerate Reference Standard (Control 871)

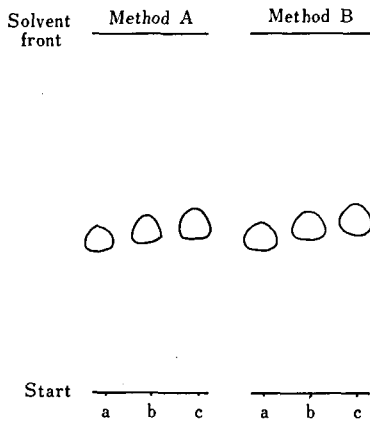


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of reference standard for Diflucortolone-21-valerate

Conditions: solvent system, cyclohexane-acetone (3 : 1); detection, method A (ultraviolet light at 254 nm), method B (blue tetrazolium reagent).

a, b, c: 200 μ g, 250 μ g, 300 μ g

- 6) 融点: 203.2°C (n=5, 変動係数, 0.2)
 7) TLC 法による純度試験: 展開溶媒 (1) および (2) で展開した結果をそれぞれ Fig. 3 および Fig. 4 に示す。展開溶媒 (1) では、不純物は検出されなかった。検出限界は、(A) 法で 0.07 μ g, (B) 法で 0.06 μ g であった。展開溶媒 (2) では、紫外線検出

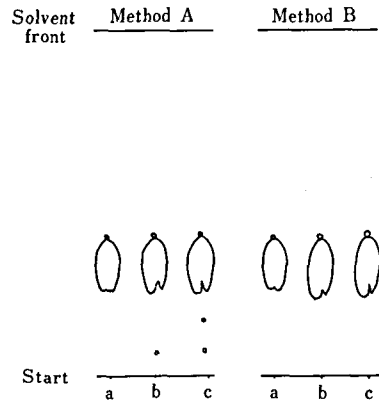


Fig. 4. Thin-layer chromatogram of reference standard for Diflucortolone-21-valerate

Conditions: solvent system, cyclohexane-ethyl acetate (1 : 1); detection, method A (ultraviolet light at 254 nm), method B (blue tetrazolium reagent).
 a, b, c: 200 μ g, 250 μ g, 300 μ g

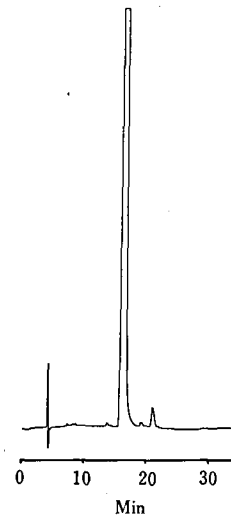


Fig. 5. High-performance liquid chromatogram of reference standard for Diflucortolone-21-valerate

Conditions: column, Inertsil ODS (4.6 \times 250 mm); mobile phase, mixture of methanol and water (4 : 1); flow rate, 0.7 ml/min; detection wavelength, 254 nm.

法により、3個の不純物が検出された。検出限界は、(A) 法, (B) 法ともに 0.06 μ g であった。

8) HPLC 法による純度試験: クロマトグラムを Fig. 5 に示す。不純物ピークは2個認められた。全ピーク面積の総和を100%としたとき、標準品原料の吉

草酸ジフルコルトロン含量は99.43%であった。

9) フッ素含量：日本薬局方一般試験法“酸素フラスコ燃焼法”のフッ素の定量操作法により試験を行ったところ、フッ素含量は理論値7.94%に対し8.06% (n=5, 変動係数, 0.13) であった。

結 論

標準品原料として入手した吉草酸ジフルコルトロンが標準品として適当か否かを検討した。その結果、各種試験の結果は良好であった。HPLCによる純度試験では2個の不純物ピークを持ち、面積百分率法では99.43%であった。

これらの試験成績により今回入手した標準品原料は、国立衛生試験所標準品に適した品質を有することを認め、Control 871として昭和63年10月より配布を開始した。終わりに、標準品を製造するに当たりご協力いただきました日本シェーリング㈱に感謝いたします。

国立衛生試験所シアノコバラミン標準品 (Control 871)

田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫

Cyanocobalamin Reference Standard (Control 871) of National Institute of Hygienic Sciences

Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA

Cyanocobalamin was tested for the preparation of "Cyanocobalamin Reference Standard (Control 871)". Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 11.6%; infrared spectrum, same as that of Cyanocobalamin Reference Standard (Control 861); thin-layer chromatography, two contaminants were detected; high-performance liquid chromatography, seven contaminants were detected; assay, 99.9% by JP XI method and 100.2% by HPLC method in terms of J. P. Reference Standard (Control 861), respectively.

On the basis of those results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 871).

(Received May 31, 1989)

第十一改正日本薬局方 (JP XI) シアノコバラミン、同注射液の定量に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “シアノコバラミン標準品 (Control 871)” を製造したので報告する¹⁾。

1. 原料

萬有製薬㈱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 861)、試薬は特級品を用いた。

3. 装置

日本分光 IR-700 型赤外分光光度計、メトラー AE-240型上皿電子天秤、日本分光 U-best-50 型自記分光

光度計、島津 LC-6A 型液体クロマトグラフ装置、島津 SPD-6A 型波長可変 UV モニター、島津 SCL-6A システムコントローラー、島津 C-R4A 型クロマトパックを用いた。

4. 試験方法

特に記するもの他は、JP XI の一般試験法および医薬品各条 “シアノコバラミン” の試験法を準用した。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験：薄層板；メルク社製プレコート板シリカゲル60 (厚さ, 0.25 mm)、展開溶媒；(A) プロパノール・ホ・10%アンモニア水混液 (7:2:1)、(B) ｵｰﾌﾞﾀﾞﾉｰ

ル・水・クロロホルム・酢酸・メタノール (25:11:10:9:5), 試料溶液; 乾燥物に換算したとき 5mg に相当する量の未乾燥原料および日本薬局方標準品 (Control 861) を 1 ml のメタノールに溶かした。方法および検出法; 試料溶液の 10~40 μ l をシリカゲル薄層板にスポットし, 約 15 cm 展開した後, 薄層板を取り出し, 風乾した。これに裏面より光を照射して観察した。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 原料および日本薬局方標準品 (Control 861) それぞれ 20mg 相当に水 5 ml を加えて溶かし, その 20 μ l を HPLC に注入した。

操作条件

検出法; 紫外吸光光度計 (測定波長: 361 nm)

カラム; マイクロボンダパック C₁₈ (3.9×150 mm)

移動相; アセトニトリルと 0.1M リン酸緩衝液 (pH 3.0) の混合液。ただし, 0 から 8 分まではアセトニトリル 11%, 8 分から 35 分までは 11% から 60% まで直線的に増加させ, その後 60% に維持した。

流量; 1.0 ml/min

カラム温度; 30°C

検出感度; 試料注入量の 1/100 に相当する量を注入し, 得られた主ピークの高さが記録紙の Full scale の約 10% の高さになるように検出器の出

力あるいは記録計の感度を調整した。さらに, この条件で試料溶液注入量の 1/2000 に相当する量を注入した時, 得られたピークの面積が必ず検出されるように Analytical parameter を設定した。

試料溶液の 0.05% 以上のピーク面積を計算した。液体クロマトグラフ (HPLC) 法による定量法: 原料および日本薬局方標準品 (Control 861) それぞれ約 13mg を精密に量り, これを内標準溶液に溶かして 50 ml とし, この 20 μ l を HPLC に注入した。

内標準溶液はパラヒドロキシン安息香酸 90mg を水に溶かし, 2000 ml とする。

操作条件

検出法; 紫外吸光光度計 (測定波長: 278 nm)

カラム; マイクロボンダパック C₁₈ (3.9×150 mm)

移動相; アセトニトリル・0.1M-リン酸緩衝液 (pH 3.0) 混液 (12:88)

流量; 1.0 ml/min

カラム温度; 30°C

5. 試験結果

- 1) 性状: 暗赤色結晶性の粉末で, においはない。
- 2) 赤外吸収スペクトル: 臭化カリウム錠剤法で測定した原料の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。これは, 日本薬局方標準品 (Control 861) の赤外吸収スペクトルとよく一致した。

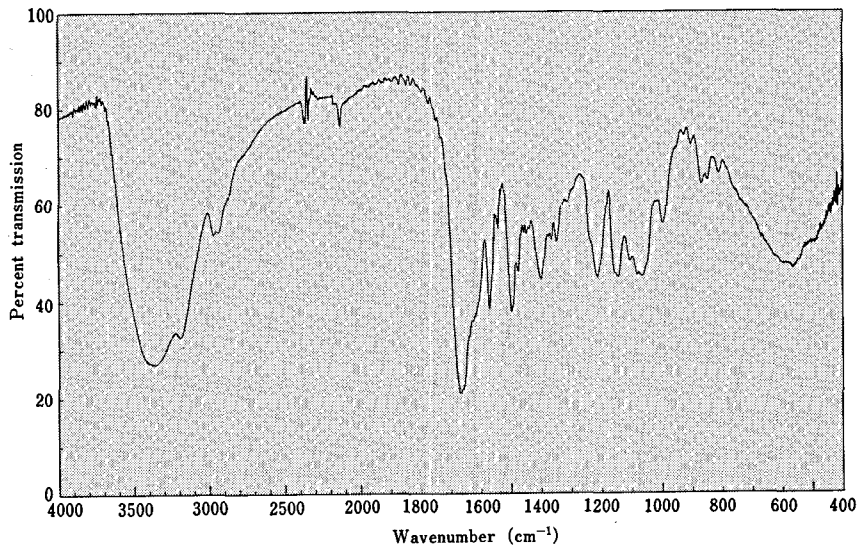


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Cyanocobalamine Reference Standard (Control 871)

3) 紫外および可視吸収スペクトル：原料 20.86 mg (乾燥物換算量 18.43mg) を水 1000 ml に溶かしたときの紫外および可視スペクトルを Fig. 2 に示す。Fig. 2 でも明らかなように、278 nm, 361 nm, 549 nm に吸収極大をもち、それぞれの波長における吸光度を A_1 , A_2 , および A_3 とするとき、 A_1/A_2 は 0.55, A_3/A_2 は 0.31 (n=5) であった。

4) 乾燥減量：11.63% (0.05 g, 減圧 5 mmHg 以下, 五酸化リン, 100°C, 4 時間)

5) TLC 法による純度試験：展開溶媒 (A) および (B) で展開した結果をそれぞれ Fig. 3 および Fig. 4

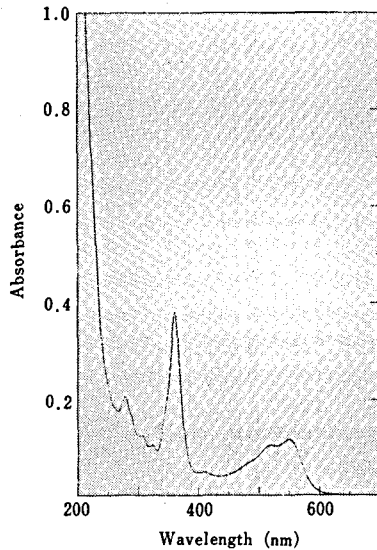


Fig. 2. Ultraviolet and visible spectrum of the material for the Cyanocobalamin Reference Standard (Control 871)

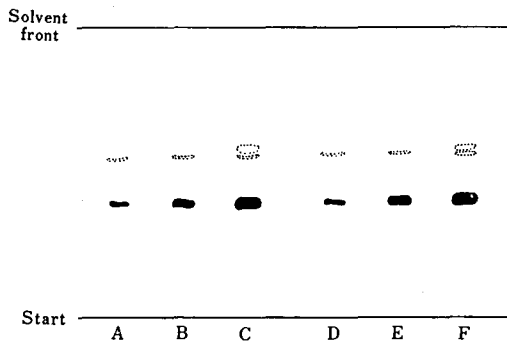


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of reference standard for Cyanocobalamin

solvent system: n-propanol-water-10% ammonia (7 : 2 : 1). A, B, C: material 50 µg, 100 µg, 200 µg. D, E, F: Japanese Pharmacopoeia Standard 50 µg, 100 µg, 200 µg

に示す。不純物スポットを明確に検知できるようにプレートの裏面より光を照射して観察した。原料の 200 µg の塗布で溶媒 (A) で 2 個, 溶媒 (B) で 1 個の不純物スポットが認められた。不純物の数は、日本薬局方標準品 (Control 861) と同じであった。

5) HPLC 法による純度試験：クロマトグラムを Fig. 5 に示す。不純物ピークは標準品 (Control 861) で 8 個, 原料で 7 個認められた。全ピーク面積の総和

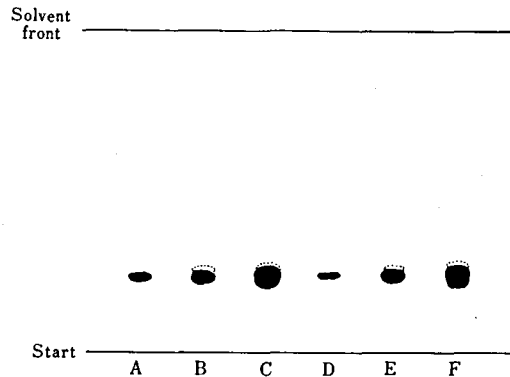


Fig. 4. Thin-layer chromatogram of reference standard for Cyanocobalamin

solvent system: n-butanol, water, chloroform, acetic acid, and methanol (25 : 11 : 10 : 9 : 5). A, B, C: material 50 µg, 100 µg, 200 µg. D, E, F: Japanese Pharmacopoeia Standard 50 µg, 100 µg, 200 µg

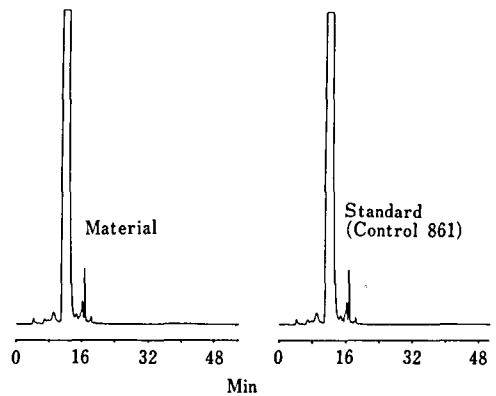


Fig. 5. Chromatograms of reference standards for Cyanocobalamin

Conditions: column, µBondapak C₁₈ (3.9 × 150 mm); column temp., 30°C; flow rate, 1.0 ml/min; detection, 361 nm; mobile phase, A mixture of acetonitrile and 0.1M phosphate buffer (pH 3.0) was used. An acetonitrile concentration in the mobile phase was 11% for the first eight minutes, and then linearly changed from 11% to 60% for twenty-seven minutes, and 60% acetonitrile level was maintained.

を100%としたとき、標準品および標準品原料のシアノコバラミン含量はそれぞれ98.5%および98.6%であった。

6) 定量：標準品原料は、JP XI 法および HPLC 法により標準品 (Control 861) と比較するとき、99.9% (n=5, 変動係数, 0.5) および 100.2% (n=4, 変動件数, 0.7) であった。

結 論

標準品原料として入手したシアノコバラミンを日本薬局方標準品 (Control 861) と比較検討した。その結果 JP XI で採用している各種試験の結果は良好であった。しかし、HPLC による純度試験では標準品 (Control 861) および原料はそれぞれ8個および7個

の不純物ピークを持ち、面積百分率法では98.5%および98.6%であった。標準品 (Control 861) に対する定量値は100.2%であった。

これらの試験成績により今回入手した標準品原料は、国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認め、Control 871 として昭和63年11月より配布を開始した。終わりに、標準品を製造するに当たりご協力いただいた萬有製薬㈱に感謝いたします。

文 献

- 1) 太田美矢子, 木村俊夫, 田中 彰: 衛生試験, 105 84 (1987)

国立衛生試験所トコフェロール標準品 (Control 881)

田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫

Tocopherol Reference Standard (Control 881) of National Institute of Hygienic Sciences

Masakazu TANANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA, Satoshi OKADA and Toshio KIMURA

Tocopherol was tested for the preparation of "Tocopherol Reference Standard (Control 881)". Analytical data obtained were as follows: infrared spectrum, same as Tocopherol Reference Standard (Control 851); absorbance, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (292 nm) = 73.7; thin-layer chromatography, contaminants were not detected until 12.5 μg ; high-performance liquid chromatography, six contaminants were detected; assay, 100.4%.

On the basis of those results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 881).

(Received May 31, 1989)

第十一改正日本薬局方 (JP XI) トコフェロールの確認試験および定量法に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) "トコフェロール標準品 (Control 881)" を製造したので報告する、

1. 原 料

エーザイ㈱において、分子蒸留により精製し、窒素気流下で褐色アンブルに約 0.15 g を小分け充填したものである。同社による試験成績は次の通りである。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験: 37.5 μg まで異種スポットなし。液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験: 不純物量 1.9%。吸光

度: $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (292 nm) 75.5 (0.01 g, 無水エタノール, 200 ml)。定量: 100.2% (対日本薬局方標準品)。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方標準品 (Control 851) を対照に試験を行った。試薬は特級品を用いた。

3. 装 置

日本分光 IR-700 型赤外分光光度計, メトラー AE-240 型上皿電子天秤, 日本分光 U-best-50 型自記分光光度計, 島津 LC-6A 型液体クロマトグラフ装置, 島津 SPD-6A 型波長可変 UV モニター, 島津 C-R6A 型クロマトパックを用いた。

4. 試験方法

特に記するもの以外は、JP XI の一般試験法および医薬品各条“トコフェロール”の試験法を準用した。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験：薄層板；メルク社製プレコート板シリカゲル60 (厚さ、0.25 mm)，展開溶媒；トルエン，試料溶液；原料および日本薬局方標準品 (Control 851) 0.010 g をとり，ヘキサン 2.0 ml を加えて溶かし試料溶液とした。方法および検出法；試料溶液の 2.5~10 μ l をシリカゲル薄層板にスポットし，約 15 cm 展開した後，薄層板を取り出し，風乾した。これに濃硫酸を均等に噴霧した後，110°C で15分間加熱し，直ちに白色光下で観察した¹⁾。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験：原料および日本薬局方標準品 (Control 851) 約 0.02 g ずつを量り，それぞれを無水エタノールに溶かし，正確に 5 ml とし，試料溶液とした。この液 20 μ l につき，次の条件で液体クロマトグラフ法を行った。

操作条件

検出法；紫外分光光度計 (測定波長：292 nm)

カラム；ULTRON N-C18. L (ϕ 4.6 mm \times 150 mm)

移動相；メタノール・水混液 (49:1)

流量；0.8 ml/min

カラム温度；室温 (約 25°C)

検出感度；試料注入量の 1/100 に相当する量を注入し，得られた主ピークの高さが記録紙の Full

scale の約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整した。さらに，この条件で，試料溶液注入量の 1/2000 に相当する量を注入した時，得られたピークの面積が必ず検出されるように Analytical parameter を設定した。

試料溶液の 0.05% 以上のピーク面積を計算した。

5. 試験結果

1) 性状：赤褐色澄明の粘性の液ではない。

2) 赤外吸収スペクトル：液膜法 (NaCl 板) により測定した標準品原料の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。これを，日本薬局方標準品と比較するとき，両者の吸収は同一波長のところで認められ，それらの吸収強度は等しかった。

3) 紫外吸収スペクトルおよび吸光度：吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (292 nm)：73.7 (0.01 g，無水エタノール，200 ml)。紫外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。

4) TLC 法による純度試験：クロマトグラムを Fig. 3 に示す。この方法による検出限界は，0.06 μ g であった。

原料および日本薬局方標準品ともに，12.5 μ g まで異種スポットは認められなかった。50 μ g 塗布すると，原料で 3 個，標準品で 4 個の不純物スポットが認められた。

5) HPLC 法による純度試験：クロマトグラムを Fig. 4 に示す。

不純物ピークは標準品 (Control 851) で 4 個，原料

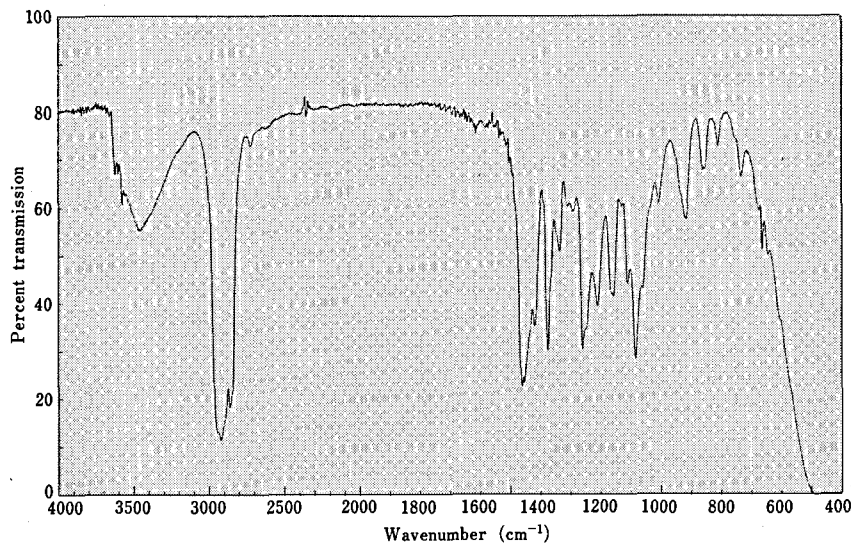


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Tocopherol Reference Standard (Control 881)

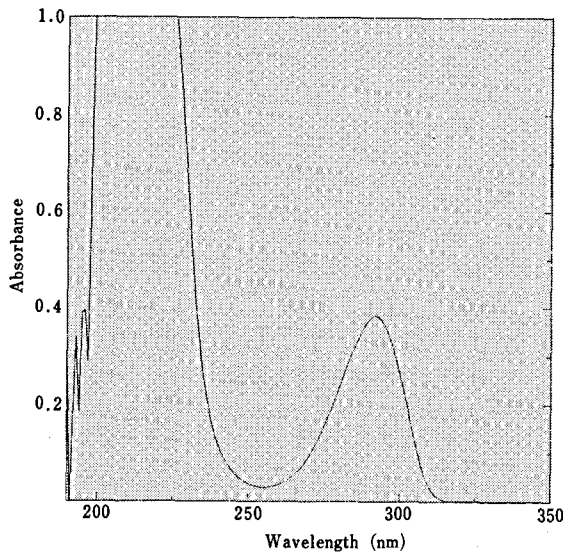


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Tocopherol Reference Standard (Control 881)

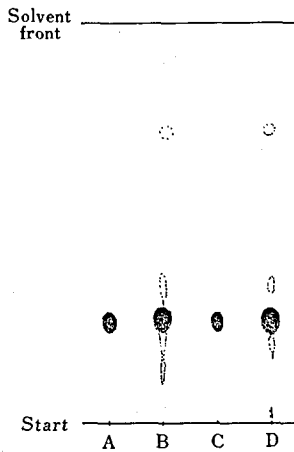


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of Tocopherol
A, B: material 12.5 µg, 50.0 µg. C, D: Japanese Pharmacopoeia Standard 12.5 µg, 50.0 µg

で6個認められた。全ピーク面積総和を100%としたとき、標準品および標準品原料のトコフェロール含量はそれぞれ97.7% (n=3, 変動係数, 0.00) および97.9% (n=3, 変動係数, 0.02) であった。

6) 定量: 標準品原料は, JP XI 法により標準品

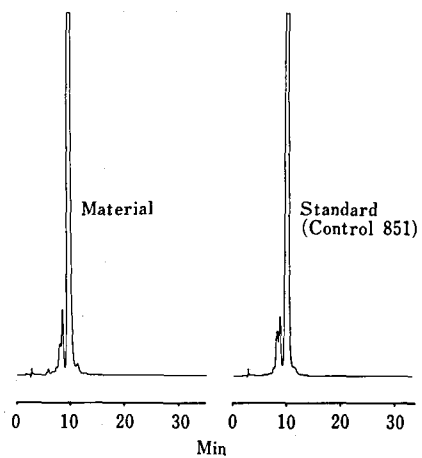


Fig. 4. High-performance liquid chromatogram of reference standard for Tocopherol

Conditions: column, ULTRON N-C18. L (4.6 × 150 mm); mobile phase, mixture of methanol and water (49 : 1), flow rate, 0.8 ml/min; detection wavelength, 292 nm.

(Control 851) と比較するとき, 100.4% (n=4, 変動係数, 0.4) であった。

結 論

標準品原料として入手したトコフェロールの品質を日本薬局方標準品 (Control 851) と比較検討した。その結果 JP XI で採用している各種試験の結果は良好であった。HPLC 法による純度試験では標準品および原料はそれぞれ4個および6個の不純物が検出された。面積百分率法による含量は97.7%および97.9%であった。原料の前回標準品に対する定量値は, 100.4%であった。これらの試験成績により今回入手した標準品原料は, 国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認め, Control 881 として平成元年6月から配布を開始した。終りに, 本標準品を製造するに当り多大のご協力をいただいたエーザイ(株)に感謝いたします。

文 献

- 1) 勝井五一郎, 大前雅彦, 江沢敏一, 江沢 総: 医薬品研究, 16, 506 (1985)

国立衛生試験所プレドニゾロン標準品 (Control 871)

岡田敏史・広重律子・田中正一・村井真美・徳永裕司・木村俊夫

Prednisolone Reference Standard of National Institute of Hygienic Sciences

Satoshi OKADA, Ritsuko HIROSHIGE, Masakazu TANAKA, Mami MURAI,
Hiroshi TOKUNAGA and Toshio KIMURA

Prednisolone reference standard for the Japanese Pharmacopoeia was prepared. The quality of raw material was examined and compared with the previous reference standard (Control 821). Analytical data for this substance were as follows: loss on drying, 0.04%; melting point, 234.1°C (decomposition); optical rotation, $[\alpha]_D^{20} +100.2^\circ$; UV spectrum, $\lambda_{max} = 243 \text{ nm}$; absorptivity, $E_{1\%}^{1\text{cm}}(243 \text{ nm}) = 415$; IR spectrum, 1711, 1655, 1612, 1111, 899 cm^{-1} ; one impurity was detected by TLC and high-performance liquid chromatography (HPLC), respectively; assay by HPLC, 100.1%.

Based on the above results, this raw material was authorized as the Reference Standard of National Institute of Hygienic Sciences.

(Received May 31, 1989)

第十一改正日本薬局方「プレドニゾロン」および「プレドニゾロン錠」の確認試験および定量法に用いられる¹⁾国立衛生試験所プレドニゾロン標準品を製造したので報告する。

1. 原料

ベンゼン・メタノール混液およびアセトンを用いて再結晶を繰り返し、精製された標準品原料を三共(株)より購入した。同社における薄層クロマトグラフ(TLC)法による純度試験の結果によれば、微量スポット1個および極微量スポット2個を認めている。また、液体クロマトグラフ(HPLC)法を用いた面積百分率による純度試験により0.05%以上の不純物ピーク1個を認めている。また、HPLC法による日局標準品を用いた定量試験により99.8%の値が得られた。

2. 参照物質および試薬

日局標準品(Control 821)を対照に試験を行った。TLC用標準品として国立衛生試験所ヒドロコルチゾン標準品および酢酸プレドニゾロン標準品を用いた。試験に必要な試薬および溶媒は特級品または相当品を用いた。

3. 装置

真空恒温乾燥器 DP-22 (ヤマト科学), 融点測定器 Model PA-10S (宮本理研工業), 旋光計 PM-201 (ユニオン技研), 自記分光光度計 Ubest-50 (日本分光), 赤外分光光度計 IR-700 (日本分光)を用いた。また、液体クロマトグラフ装置は島津製作所製のボン

ブ LC-5A, 検出器 SPD-2A, データ処理装置 C-R3A を用いた。

4. 試験方法

特に記すものの他はJP XIの「プレドニゾロン」の試験法にしたがった。

TLC法における純度試験においてはメルク社製のプレコート薄層板シリカゲル60 F₂₅₄(250 μm , 20 \times 10 cm , 層厚 0.25 mm)を用いた。また、他のステロイド標準品としてヒドロコルチゾンの他に酢酸プレドニゾロンも用いた。展開溶媒には(a)ジオキサン・シクロヘキサン混液(4:3)および(b)ベンゼン・メタノール混液(9:1)を用いた。検出は紫外線(254 nm)またはアルカリ性ブルーテトラゾリウム試液による発色によって行った。

HPLC法においては日局記載の順相系による分析に替えて逆相系による分析を行った。操作条件は以下のとおりである。

カラム: Inertsil ODS-2 (5 μm , 4.6 ID \times 150 L mm)

移動相: メタノール・水 (50:50)

流量: 0.5 ml/min

検出: 紫外吸光光度計 (243 nm)

温度: 25°C

検出感度は試料溶液注入量の1/100に相当する量を注入し、得られた主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約10%の高さになり、かつ試料溶液を1/2000

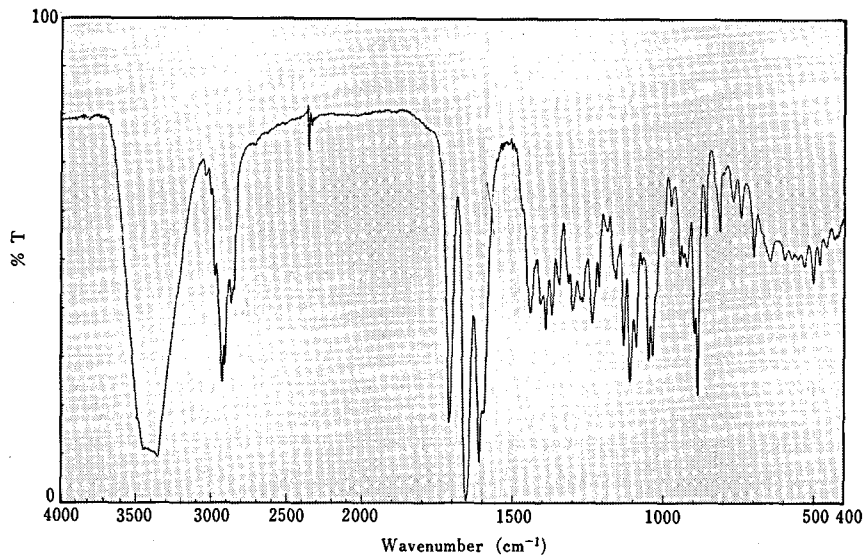


Fig. 1. Infrared spectrum for prednisolone reference standard (KBr tablet)

に希釈して得られる主ピークの面積が必ず検出されるようにデータ処理装置の感度調整を行った²⁾.

5. 試験成績

- 1) 性状：白色の結晶性粉末ではない。
- 2) 融点：234.1°C (分解)
- 3) 旋光度： $[\alpha]_D^{20} = +100.2^\circ$ (乾燥後, 0.1 g, ジオキサン, 10 ml, 100 mm)
- 4) 乾燥減量：0.04% (0.2 g, 105°C, 3時間, 減圧)
- 5) 紫外吸収スペクトルおよび吸光度：メタノール中 243 nm に極大吸収を有する (Fig. 2)。吸収スペクトルの形は日局標準品のスペクトルと一致した。吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 415$ (243 nm, メタノール) であり、同時に測定した日局標準品の $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 416$ であった。

6) 赤外吸収スペクトル：プレドニゾロンには3種の結晶多形の存在することが報告されている³⁾。乾燥した試料につき臭化カリウム錠剤法により赤外吸収スペクトルを測定するとき、日局標準品との間に微妙なスペクトルの差異が観察された。これは日局標準品がエタノールより再結晶された精製品であるのに対し、今回の原料はアセトンより再結晶されたものであり、赤外吸収スペクトルの差異は結晶多形にもとづくものと推定された。そこで、それぞれを酢酸エチルに溶解後、酢酸エチルを蒸発し、残留物について同様に試験をおこなった結果、日局標準品のスペクトルに完全に一致し、1711, 1655, 1612, 1111, 899 cm^{-1} にプレドニゾロンの特性吸収を認めた (Fig. 1)。

7) TLC 法による純度試験：原料および日局標準

品の50または100 μg 、ヒドロコルチゾンおよび酢酸プレドニゾロンの2.5 μg をスポットして得られた結果を Fig. 3 に示した。なお、Fig. 3 は紫外線による検出の結果であり、ブルーテトラゾリウムによる発色法は検出力がやや劣る。

ジオキサン・シクロヘキサン溶媒系では、 $R_f = 0.39$ に主スポットを、 $R_f = 0.45$ に微量の不純物スポットを認めたが、これ以外に不純物は認められなかった。また、ヒドロコルチゾンの $R_f = 0.44$ 、酢酸プレドニゾロンの $R_f = 0.64$ であることから原料および日局標準品における $R_f = 0.45$ の不純物スポットはヒドロ

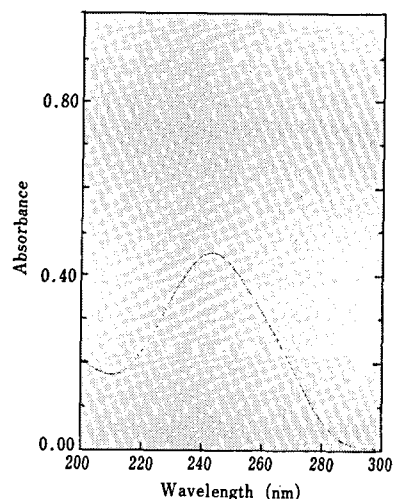


Fig. 2. Ultra-violet absorption spectrum for prednisolone reference standard in methanol

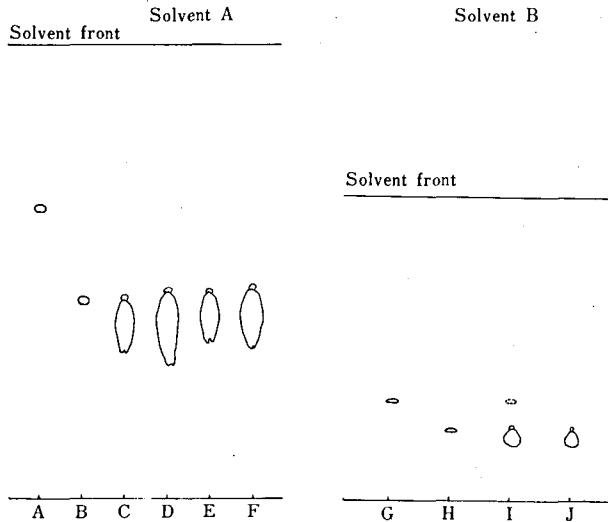


Fig. 3. Thin-layer chromatograms for Prednisolone Reference Standard by two solvent systems

Solvent A: Developed by dioxane-cyclohexane mixture (4 : 3) and detected by UV light. A: Prednisolone acetate 2.5 μ g, B: Hydrocortisone 2.5 μ g, C and D: Japanese Pharmacopoeia Reference Standard 50 and 100 μ g, E and F: Raw material 50 and 100 μ g.

Solvent B: Developed by benzene-methanol mixture (9 : 1) and detected by UV light, G: Prednisolone acetate 2.5 μ g, H: Hydrocortisone 2.5 μ g, I: Japanese Pharmacopoeia Reference Standard 100 μ g, J: Raw material 100 μ g.

コルチゾンによるものと推定される。また、原料と日局標準品は同一のパターンを示した。

ベンゼン・メタノール系では紫外線により検出するとき $R_f=0.20$ に主スポットを、 $R_f=0.23$ に微量のヒドロコルチゾンを検出した。なお、日局標準品では酢酸プレドニゾンの R_f に近い $R_f=0.32$ の位置に極微量の不純物1個が検出された。

8) HPLC 法による純度試験および定量：

純度試験 約 10mg の原料を正確に量り、メタノール 10 ml に溶解して試料溶液とし、この液 10 μ l を注入し純度試験をおこなった。クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示した。

保持時間18.3分の位置に不純物ピーク1個が検出されたが、主ピークと完全に分離することはできなかった。この結果、面積百分率より原料の純度は 99.65% ($n=4$, $RSD=0.04\%$) と決定された。なお、TLC 法で検出されるヒドロコルチゾンは保持時間18.3分の不純物ピークに相当する。

定量 日局標準品を標準とし、*p*-アセトトルイジン を内標準として原料中のプレドニゾン含量を測定した結果、100.1% ($n=5$, $RSD=0.13\%$) と推定された。

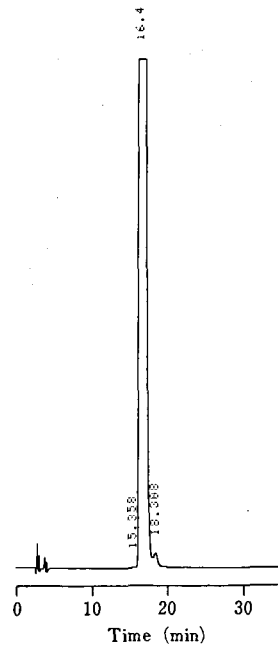


Fig. 4. High-Performance Liquid Chromatogram for Prednisolone Reference Standard

Column: Inertsil ODS-2 (5 μ m, 4.6 ID \times 150 Lmm), Mobile phase: Methanol-water mixture (50 : 50), Flow rate: 0.5 ml/min, Detection: 243 nm.

結 論

標準品原料として入手したブレドニゾロンを日局標準品と比較検討した結果、国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）に適した品質を有することを認めた。

終わりに、標準品製造にあたりご協力いただきまし

た三共併に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生省編：第十一改正日本薬局方（1986）
- 2) 木村俊夫，網川延孝，中守律夫：医薬品研究，17，143（1986）
- 3) 大場琢磨，小山良子：衛生試験，84，1（1966）

国立衛生試験所塩酸ピリドキシソ標準品（Control 871）

岡田敏史・広重律子・田中正一・村井真美・徳永裕司・木村俊夫

Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 871)
of National Institute of Hygienic Sciences

Satoshi OKADA, Ritsuko HIROSHIGE, Masakazu TANAKA, Mami MURAI,
Hiroshi TOKUNAGA and Toshio KIMURA

The raw material of pyridoxine hydrochloride was examined for the preparation of "Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard". Analytical data for the sample were as follows: loss on drying is 0.01%; pH 2.94; melting point 205.2°C (decomposition); IR spectrum same as the Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 801); TLC indicates no impurities; nitrogen is 6.77% (Theoretical value 6.81%); and assay 99.5% by non-aqueous titration, 99.8% by UV spectroscopy, and 100.2% by measuring chloride ion.

Based on the above results, this raw material was authorized to be Reference Standard of National Institute of Hygienic Sciences.

(Received May 31, 1989)

第十一改正日本薬局方（JP XI）「塩酸ピリドキシソ注射液」の定量に用いる国立衛生試験所塩酸ピリドキシソ標準品（日本薬局方標準品）を製造したので報告する。

1. 原 料

第一製薬（株）より購入した。同社による試験成績は以下のとおりである：pH 2.77，融点 205°C，乾燥減量 0.005%，強熱残分 0.005%，赤外吸収スペクトル 日局標準品に一致，窒素 6.82%，定量（1）非水滴定法 99.9%，（2）吸光度法 100.1%，（3）塩素測定法 99.8%。

2. 参照物質および試薬

参照物質として日本薬局方塩酸ピリドキシソ標準品（Control 803）および元素分析用アンチピリン標準品（キシダ化学）を用いた。試薬類は特級品または特級相当品を用いた。また，薄層クロマトグラフには蛍光剤入りのプレコーテッド薄層板シリカゲル 60 F₂₅₄（10

×20 cm，層厚 0.25 mm，メルク社）を用いた。

3. 装 置

真空恒温乾燥器 DP 22（ヤマト化学），融点測定器 Model PA-10S（宮本理研工業），精密 pH メーター E 510（メトローム），自記分光光度計 Ubest-50（日本分光），赤外分光光度計 IR-700（日本分光）を用いた。また，液体クロマトグラフ装置は島津製作所製のポンプ LC-5A，検出器 SPD-2A，データ処理装置クロマトバック C-R3A を，元素分析装置は柳本製作所製の CHN コーダーを用いた。

4. 試験方法

特に記すもの以外は JP XI の「塩酸ピリドキシソ」の試験法を準用した。

5. 試験成績

- 1) 性状：白色の結晶性粉末ではない。
- 2) pH: 2.94 (1→50)
- 3) 融点：205.2°（分解）

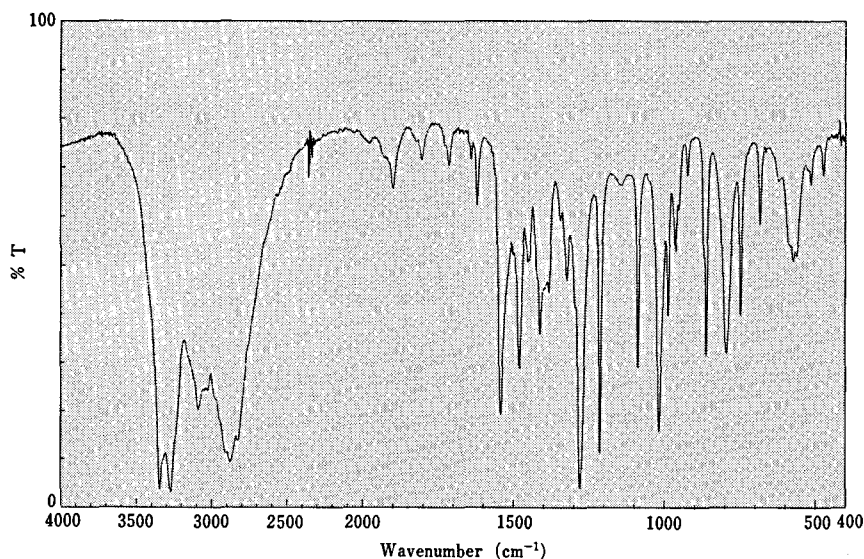


Fig. 1. Infrared Spectrum for pyridoxine hydrochloride reference standard (KBr tablet)

4) 乾燥減量：0.01% (1g, 減圧, シリカゲル, 4時間)

5) 赤外吸収スペクトル：臭化カリウム錠剤法を用いて赤外吸収スペクトルを測定した。その結果、日局標準品 (Control 803) と同一のスペクトルが得られた (Fig. 1)。塩酸ピリドキシンの特性吸収波数は 3344, 3272, 1544, 1279, 1214, 1018 cm⁻¹ であった。

6) 薄層クロマトグラフ：日局標準品および原料を乾燥し、その約 20mg を精密に量り、メタノール 2 ml を加えて溶解し、標準溶液および試料溶液とする。標準溶液および試料溶液の希釈溶液 (1/4~1/100) をあらかじめ作製しておき、それらの 10~20 μl を薄層板にスポットする (0.1~200 μg)。次に、ジオキサン・アセトン・アンモニア水混液 (45/45/10) を展開溶媒として約 10cm 展開した後、風乾する。紫外線 (254 nm) を照射し、生じたスポットを観察する。Fig. 2 に示したように原料、標準品とも 200 μg のスポットによっても不純物スポットは観察されなかった。また、本法の検出限界は 0.2 μg であった。

7) 窒素：乾燥試料の約 2.5~3mg を精密に量り、元素分析装置を用いて窒素の定量をおこなった。装置の感度校正用標準品としてはアンチピリンを用いた。その結果、窒素含量 6.77% (理論値 6.81%) を得た。

8) 定量

(a) 非水滴定法：JP XI 塩酸ピリドキシンの定量法を準用する。原料約 250mg を精密に量り、0.1N 過塩素酸を用いて非水滴定をおこなった結果、99.5%

の値を得た。

(b) 吸光度法：JP XI 塩酸ピリドキシン注射液の定量法を準用し、日局標準品を対照として吸光度法により定量をおこなった。その結果、99.8%の定量値を得た。

(c) 塩素測定法：乾燥原料の約 75mg を精密に量り、水 30 ml を加えて溶かし、クロム酸カリウムを指示薬として 0.1N 硝酸銀を用いて滴定した。その結果、100.2%の定量値を得た。

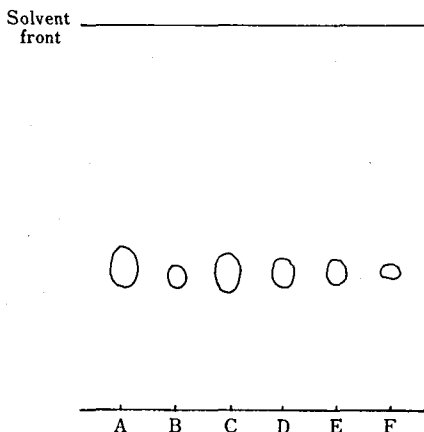


Fig. 2. Thin-layer chromatogram for pyridoxine hydrochloride reference standard

A, B: Japanese pharmacopeia reference standard of 200 and 25 μg, respectively. C, D, E, F: Raw material of 200, 100, 50, and 25 μg, respectively. Developed by dioxane-acetone-ammonia (28%) mixture (45/45/10) and detected by UV light (254 nm)

新たに標準品原料として入手した塩酸ピリドキシンを日局標準品 (Control 803) と比較検討した結果、国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品

質を有することが認められた。

終わりに、本標準品の製造にあたりご協力いただきました第一製薬㈱に深謝いたします。

国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control 881)

田中正一・広重律子・村井真美・徳永裕司・岡田敏史・木村俊夫

Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 881) of National Institute of Hygienic Sciences

Masakazu TANAKA, Ritsuko HIROSHIGE, Mami MURAI, Hiroshi TOKUNAGA,
Satoshi OKADA and Toshio KIMURA

Tocopherol acetate was tested for the preparation of "Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 881)". Analytical data obtained were as follows: infrared spectrum, same as Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 851); absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284 nm) = 43.7; thin-layer chromatography, contaminants were not detected; high-performance liquid chromatography, one contaminant was detected; assay, 100.0%.

On the basis of those results, this material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 881).

(Received May 31, 1989)

第十一改正日本薬局方 (JP XI) 酢酸トコフェロールの確認試験、純度試験および定量法に用いる国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) "酢酸トコフェロール標準品 (Control 881)" を製造したので報告する。

1. 原料

ユーザイ株式会社において、分子蒸留により精製し、窒素気流下で褐色アンブルに約 0.15 g を小分け充填したものである。同社による試験成績は次の通りである。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験：37.5 μg まで異種スポットなし。液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験：不純物量 0.9%。吸光度： $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (284 nm) 42.9 (0.01 g, 無水エタノール, 100 ml)。定量：100.0% (対日本薬局方標準品)

2. 参照物質および試薬

日本薬局方酢酸トコフェロール標準品 (Control 851) を対照に試験を行った。試薬は特級品を用いた。

3. 装置

日本分光 IR-700 型赤外分光光度計、メトラー AE-240 型上皿電子天秤、日本分光 U-best-50 型自記分光光度計、島津 LC-6A 型液体クロマトグラフ装置、日本分光 UVIDEC 100-2 型波長可変 UV モニター、

島津 C-R6A 型クロマトパックを用いた。

4. 試験方法

特に記するもの以外は、JP XI の一般試験法および医薬品各条 "酢酸トコフェロール" の試験法を準用した。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験：薄層板；メルク社製プレコート板シリカゲル 60 (厚さ, 0.25 mm)、展開溶媒；トルエン、試料溶液；原料および日本薬局方標準品 (Control 851) 0.010 g をとり、ヘキサン 2.0 ml を加えて溶かし試料溶液とした。方法および検出法；試料溶液の 2.5~10 μl をシリカゲル薄層板にスポットし、約 15 cm 展開した後、薄層板を取り出し、風乾した。これに濃硫酸を均等に噴霧した後、110°C で15分間加熱し、直ちに白色光下で観察した¹⁾。

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験：原料及び日本薬局方標準品 (Control 851) 0.02 g ずつを量り、それぞれを無水エタノールに溶かし、正確に 5 ml とし、試料溶液とした。この液 20 μl につき、次の条件で液体クロマトグラフ法を行った。

操作条件

検出法；紫外吸光光度計 (測定波長：284 nm)

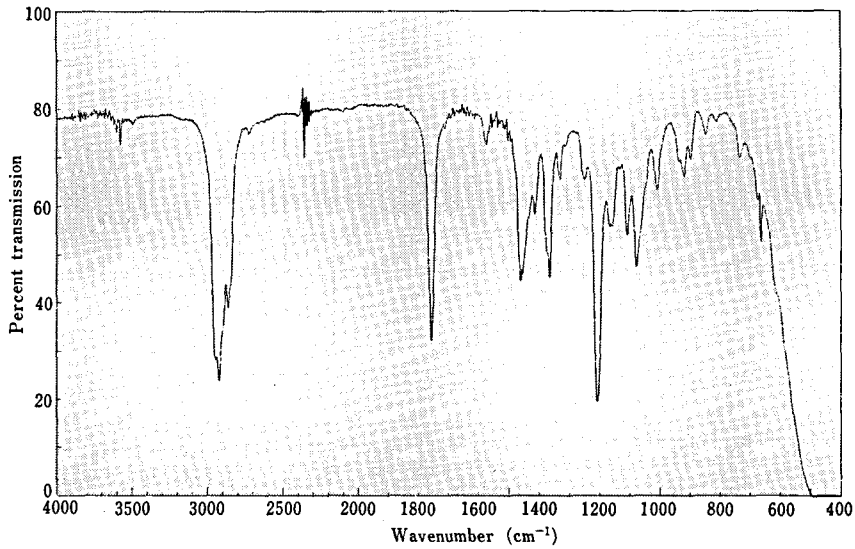


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 881)

カラム; ULTRON N-C18. L (ϕ 4.6 mm \times 150 mm)

移動相; メタノール・水混液 (49:1)

流量; 0.8 ml/min

カラム温度; 室温 (約 25°C)

検出感度; 試料注入量の 1/100 に相当する量を注入し, 得られた主ピークの高さが記録紙の Full scale の約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整した。さらに, この条件で, 試料溶液注入量の 1/2000 に相当する量を注入した時, 得られたピークの面積が必ず検出されるように Analytical parameter を設定した。

試料溶液の 0.05% 以上のピーク面積を計算した。

5. 試験結果

1) 性状: 無色透明の粘性の液ではない。

2) 赤外吸収スペクトル: 液膜法 (NaCl 板) により測定した標準品原料の赤外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。これを, 日本薬局方標準品 (Control 851) と比較するとき, 両者の吸収は同一波長のところで認められ, それらの吸収強度は等しかった。

3) 紫外吸収スペクトルおよび吸光度: 吸光度 $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (284 nm): 43.7 (0.01 g, 無水エタノール, 100 ml). 紫外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。

4) TLC 法による純度試験: クロマトグラムを Fig. 3 に示す。この方法による検出限界は 0.05 μg であった。

原料は, 50 μg まで不純物は認められなかった。日

本薬局方標準品 (Control 851) は 37.5 μg まで異種スポットは認められず, 50 μg で 1 個の不純物スポットが認められた。

5) HPLC 法による純度試験: クロマトグラムを Fig. 4 に示す。

不純物ピークは標準品 (Control 851) で 3 個, 原料で 1 個認められた。全ピーク面積の総和を 100% としたとき, 標準品および標準品原料の酢酸トコフェロール含量はそれぞれ 98.6% (n=2) および 99.3% (n=5,

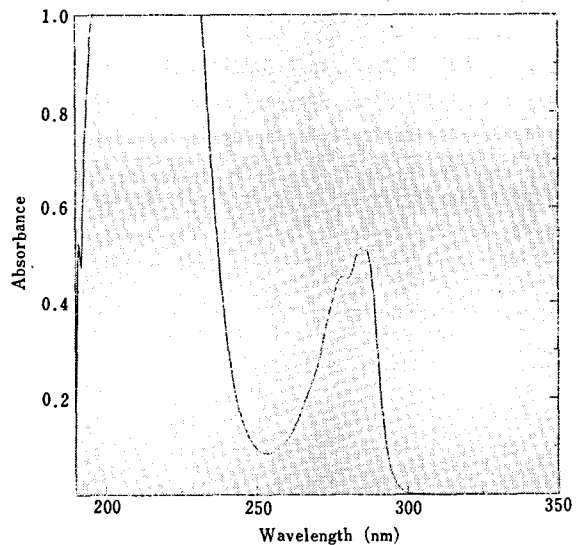


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 881)

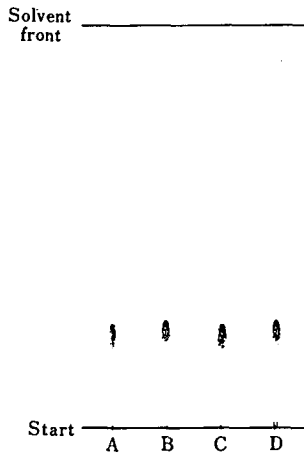


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of Tocopherol Acetate

A, B: material 37.5 μ g, 50.0 μ g. C, D: Japanese Pharmacopoeia Standard 37.5 μ g, 50.0 μ g

変動係数, 0.01) であった。

6) 定量: 標準品原料は, JP XI 法により標準品 (Control 851) と比較するとき, 100.0% (n=4, 変動係数, 0.3) であった。

結 論

標準品原料として入手した酢酸トコフェロールの品質を日本薬局方標準品 (Control 851) と比較検討した。その結果 JP XI で採用している各種試験の結果は良好であり, 特に, 定量値はよく一致した。TLC 法による純度試験では, 不純物量が, 0.1% 以下と推定された。HPLC 法による純度試験では1個の不純物ピ

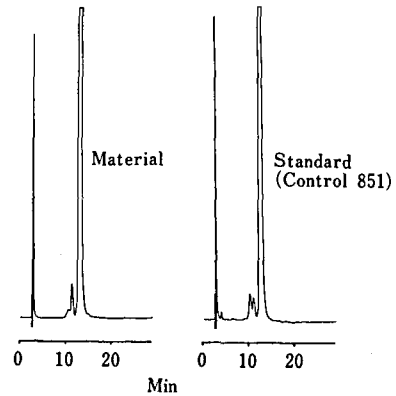


Fig. 4. High-performance liquid chromatogram of reference standards for Tocopherol Acetate
Conditions: column, ULTRON N-C18. L (4.6 \times 150 mm); mobile phase, mixture of methanol and water (49:1); flow rate, 0.8 ml/min; detection wavelength, 284 nm

ークが検出され, 面積百分率法による原料の純度は 99.3% と推定された。

これらの試験成績により今回入手した標準品原料は, 国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) に適した品質を有することを認め, Control 881 として平成元年2月より配布を開始した。終りに, 本標準品を製造するに当り多大のご協力をいただいたエーザイ株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) 勝井五一郎, 大前雅彦, 江沢敏一, 江沢 総: 医薬品研究, 16, 506 (1985)

業 務 報 告

Annual Reports of Divisions

昭和63年度業務概況

所 長 谷 村 顕 雄

1. 組織改正

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、当所の業務、組織の見直しについて、将来計画委員会を中心として検討、作業が進められてきた。その結果、平成元年5月29日付をもって組織の改正を行った。

行政研究機関としての当所の役割と性格は従来から明確にされており、現在においても当所の責務と厚生行政への貢献度にはいささかの变化もないが、社会の需要の変化に伴って、業務の対象、手段および到達目標は大きく変化している。

今回の改正の基本的な考え方として、当所の責務を全職員が明確に認識し、増大する業務に適切に対処すること、他方ますます学際化する新規業務に備えて、当所の保有する人的、物的能力を効率よく発揮し得る点に集約した点である。

これらの考えに基づき、本所を、行政対対象部門、研究支援基礎部門および生物試験安全性評価部門に大別し、大阪支所に検定検査、標準品製造部門を集約することとした。

まず、行政対対象部門は行政依頼の各試験研究を薬品や食品等の『物』で分離し、薬品部、生物薬品部、生薬部、療品部、環境衛生化学部、食品部および食品添加物部の7部から構成された。

また、研究支援基礎部門は、有機化学部、機能生化学部、代謝生化学部、衛生微生物部および化学物質情報部の5部をもって構成され、他部門各部に対して試験研究の支援を行うものとし、化学物質情報部を除き、分野別に分離・整理を行った。

生物試験安全性評価部門は毒性部、薬理部、病理部

および変異遺伝部で構成される。

年々増加する生活環境関連物質、あるいはハイテク産業の発展、生命工学の進歩等人間を取り囲む環境は著しく変化しているため、当部門はこれらの新しい毒性データの需要に対応することを目標としている。

また、当所の責務である安全性評価研究業務についても質的、量的に大きな変化が求められている。このような状況にあつて、迅速かつ効率的に対応すべく、化学物質安全性総合評価部門の新設に努力しているところである。以上のように部門別整理を明確化することにより、最新の知識、技術の導入がより効果的となり、行政研究はもとより国際協力にも対応し得る組織機構に改められたものである。

2. 厚生科学会議

昭和63年9月厚生科学会議（厚生大臣の私的諮問機関）から「厚生科学研究の基盤確立とブレイクスルーのために」と題する最終報告書が発表された。

この報告書は昭和62年8月同会議から発表された中間報告に続くもので、同報告書は其中で、『厚生省は21世紀を展望し中長期戦略として、厚生科学研究の基盤確立とブレイクスルーを目指すべきである』と言及している。

すなわち、試験研究機関の強化充実を図るためには、試験研究機関内に研究の企画調整体制、評価体制を確立するほか、研究費、人員の確保に努め、研究者の研究環境の改善に努めるべきである。また、各試験研究機関相互の情報交流、研究者の活発な交流、民間活力の有効活用、優秀な研究者の養成、確保、および細胞、遺伝子等の生物資源の確保・供給の円滑化等の研究支援体制の強化を図るべきである。

また、中長期的には米国 NIH 等外国の研究機関を参考に試験研究機関の在り方を検討すべきであり、時代の要請に弾力的に対応していくために試験研究機関の大胆な統廃合の検討も必要とされている。

これらの問題について、さらに検討するため、63年10月「国立試験研究機関等将来構想検討会」（座長山村雄一）が発足し、本年7月末には中間報告が発表される予定である。

なお、厚生科学研究を推進するための組織として、63年10月厚生省大臣官房に厚生科学課が設置されたが、今後とも研究の企画・評価体制の整備等に努めていくべきであるとしている。

3. 移転関係

政府は昭和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、国の研究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、これを受けて各省庁は昭和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第二次の選定作業が行われ、同年6月に制定された「多局分散型国土形成促進法」に基づき、同年7月、79機関の移転が閣議決定されたところである。当所においても移転対象機関とされたことから、現在、移転先地の選定を鋭意検討中であるが、これら移転対象機関については、本年8月までに移転先地を決定することが「国の機関等移転推進連絡会議」において決議されている。

4. 国際協力関係

国産協力関係では、WHOの国際化学物質安全評価計画(IPCS)、国連環境計画/世界保健機構(UNEP/WHO)等への参画のほか、これら専門家会議への参加等、積極的に国際協力に努めているところである。

また、技術援助関係では、国際協力事業団等から、医薬品食品品質管理プロジェクト等に係わる技術指導要請に応え、フィリピン、インドネシア等5カ国に対し、延18人を当所から派遣した。また、多数の国からの技術指導要請により、研修員64人の受け入れを行った。

5. 全国衛生化学技術協議会

全国衛生化学技術協議会第25回年会は、9月21、22日北海道立衛生研究所および札幌市衛生研究所の共催により、札幌市で開催され、当所からは『食品汚染物質モニタリングにおける最近の動向』（齋藤行生食品部長）などが発表された。

総務部

部長 水越 浩二
前部長 志多 良介

1. 組織

昭和63年度は、新たな組織は認められなかったが、平成元年度組織定員要求において、安全性生物試験研究センター毒性部に評価研究室の新設が認められたほか、本所を行政対応対象部門、研究支援基礎部門および生物試験安全性評価部門に、また、大阪支所を検定検査・標準品製造部門として整理するとともに、一部の部の名称および所掌事務の変更が認められた（元年5月29日施行）。

2. 定員

昭和62年度末の定員は286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名の定員削減により、昭和63年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)46名、行政職(二)30名、研究職204名、計282名となった。

なお、平成元年度は、先に述べた評価研究室の定員として研究職1名(室長6ヵ月)の増員が認められている。

3. 予算

昭和63年度の予算の概要は以下のとおりであった。

(1) 一般予算

予算額は、2,744,318千円で前年度に比較して△0.94%の減額となった。

増額、減額の主な内容としては ①標準品製造費4品目追加による増額1,994千円 ②動物飼育員のメンテナンスへの振替(1名)に伴う増額3,531千円 ③対ガン10ヶ年総合戦略経費の減額△27,000千円 ④国家検定一部廃止に伴う減額△66,265千円等が挙げられる。

また、新規予算としては、情報活動運営費のコンピュータ導入費(3ヶ月)6,855千円が認められた。

(2) 移替予算

予算額は、170,306千円で前年度に比較して0.18%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1課題(高速液体クロマトグラフィーを適用した放射性医薬品の品質試験法の開発に関する研究6,277千円)、国立機関公害防止等試験研究費において2課題(①先端技術産業にかかる環境汚染物質による脳、神経機能に対する影響の評価法に関する研究9,605千円 ②動物実験結果から化学物質の低濃度暴露時のヒ

別紙		昭和63年度予算額			
事	項	昭和62年度 (A)	昭和63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		2,770,475	2,744,318	△26,157	
(項)厚生本省試験研究所					
国立衛生試験所運営費		2,566,562	2,557,266	△ 9,296	
人 件 費		1,771,435	1,781,389	9,954	
人 当 経 費		7,409	7,431	22	
一般事務経費		40,625	40,055	△ 570	
研 究 費		218,585	218,209	△ 376	
特別研究費		16,078	15,767	△ 311	1. 生活関連諸物質に含まれる微量有害成分の体内動態ならびに毒性発現機構に関する研究 (6,631千円) 2. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究 (9,136千円)
標準品製造費		12,598	14,592	1,994	
安全性生物試験研究センター運営費		204,768	201,402	△ 3,366	
薬用植物栽培試験場運営費		96,102	93,632	△ 2,470	
情報活動運営費		13,169	20,024	6,855	
施設管理事務経費		21,125	27,097	5,972	
対がん10か年総合戦略経費		89,999	62,999	△27,000	
受託研究費		56,555	56,555	0	1. 生体微量物質(遺伝子, 酵素, ホルモン)の分離技術の開発 (7,800千円) 2. 動植物細胞を用いた宿主・ベクター系の開発 (4,000千円) 3. 医薬品等の高感度・高性能安全性等評価試験方法の開発 (12,200千円) 4. 新開発食品の精製と安全性評価技術の開発 (8,318千円) 5. 高分子材料と薬理活性をもつ物質との総合技術の開発 (14,237千円) 6. 高分子材料の有効性・安全性評価となる試験法の開発 (10,000千円)
乱用薬物基礎研究費		18,114	18,114	0	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)血清等製造および検定費		162,073	95,808	△66,265	
医薬品等の国家検定および検査費					
一般事務経費		12,415	12,415	0	
事 業 費		149,658	83,393	△66,265	
(項)厚生本省試験研究施設費					
国立衛生試験所施設整備費		41,840	91,244	49,404	11号館電気設備改修工事 (91,244千円)
[移替予算]					
(組織)厚生本省試験研究機関		170,003	170,306	303	
(項)国立原子力試験研究費		91,051	77,387	△13,664	
(項)放射能調査研究費		2,175	2,000	△ 175	
(項)国立機関公害防止研究費		76,777	90,919	14,142	
計		2,940,478	2,914,624	△25,854	

トに対する影響を推定するための毒物動態学研究(27,736千円)が認められた。

なお、昭和63年度事項別予算額は別紙のとおりである。

4. 施設整備状況

昭和63年度の施設整備の概要は以下のとおりであった。

(1) 11号館電気設備改修工事(施設整備費91,244千円)を行った。

(2) 2号館トタン屋根塗装工事(各所修繕費(特別修繕)3,051千円)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

国家検定医薬品のうち、ブタ精製インシュリン亜鉛水性懸濁注射液およびブタ精製中性インシュリン注射液の2品目が昭和63年4月1日から国家検定より削除となった。(昭和63年3月29日厚生省告示第104号)

この結果、検定品目は8品目から6品目となった。

(2) 標準品交付規定の一部改正

当所が製造し、申請者に交付している医薬品標準品は、昭和63年10月1日より4品目追加されたことにより、医薬品標準品は73品目となった。(昭和63年10月1日、厚生省告示第251号)

6. その他

昭和63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。

(元3.31.付)

辞職 竹中 祐典(化学物質情報部長)

辞職 葵 一八(種子島薬用植物栽培試験場長)

合成化学研究部

部長 神谷 庄造

概要

昭和63年度の研究業務ならびに医薬品および医薬品添加物の各種基準の作成にかかわる行政研究業務は、昨年に引き続き順調に進展した。

部長は昭和63年度科学技術振興調整費による重点基礎研究(研究課題:各種難病治療のための化学療法剤候補化合物の設計と合成に関する研究)により、トルコ国アンカラ市で開催された第4回国際医薬品製造学シンポジウムに出席し、上記の研究ならびにわが国のGMP実施の現状について報告した。

当部が昭和62年度補正予算により購入した400MHzおよび300MHzの核磁気共鳴スペクトル装置につい

ては、数度の講習会を開催し、現在、化学系の部で活発に利用されており、当所の研究に大いに役立っている。兩大機器の購入に当たり御尽力いただいた関係者の方々に御礼申し上げる。

当部の研究業務について以下に報告するが、従来通り、部長および室長は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、審議会、検討会、薬剤師国家試験などに参画し、貢献することができた。

平成元年5月29日付をもって、合成化学研究部は有機化学部に改称された。

研究業績

有用(有害)化学物質は生体内に取り込まれた後、酸化反応や還元反応を受け、その代謝過程における活性中間体の生成、有用(有害)作用の発現、さらに抱合反応などの解毒および排泄と進むことになる。当部ではこの活性中間体と想定される物質の各種化学指標(パラメーター)を求め、この化学指標と活性発現機構と生理活性の程度を示す生理活性指標と、三者の相関より、特定化学物質の有用(有害)性を評価できることを目的として研究を行っている。

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

昨年度に引続き、汚染空气中に存在するニトロアレン類(ニトロ化多環芳香族化合物)の化学反応性を、それらの変異原性、細胞毒性および癌原性との関連において研究を行っている。本年度は、これらのニトロアレン類の生体内酸化代謝体としてのキノン体の生成を予想し、ニトロピレン、ニトロベンツ(a)ピレンなどのキノン体の合成を行い、さらにこれらのキノン体の酸化還元電位を調べ、この化合物群における化学指標の有用性を確立した。現在、これらのニトロアレン・キノン体について、哺乳動物培養細胞による染色体異常試験については変異原性部において、また、生体内の代謝については医化学部において検討が行われている。(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BHA(ブチルヒドロキシアニソール)の発癌実験により、BHAがラット胃前がんを発生させることが報告されている。

当部では、ここ三年間BHAの毒性発現機構に関する有機化学的研究を行っている。

本年度は、BHAの代謝産物の一つである α -ブチル-1,4-ベンゾキノン(BQ)と、SH酵素モデルとしてのSH化合物との反応を検討した。SH化合物と

しては、チオフェノール (TP), N-アセチルシステイン (N-Ac-Cys), グルタチオン (GSH) などを用いた。すなわち、BQ は TP と速やかに反応して相当する反応位置の異なる二種のマイケル付加体を与える。BQ と N-Ac-Cys との反応においても相当する二種のマイケル付加体を与える。ここに得られたマイケル付加体について、活性酸素発生能の指標となる酸化還元電位を測定した。現在、この還元特性の化学指標としての有用性を検討中である (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見出された数種の新反応の反応機構について、これらの新反応の生体内で起きる可能性も含め研究をおこなっている。抗腫瘍性ニトロソ尿素誘導体の生体分解機構については、すでにその活性中間体がジアゾニウム化合物とイソシアナート化合物であることを証明したが、無極性溶媒中の分解反応によって生成する多くの化合物は、単にラジカル反応機構によってのみでは説明できないので、さらに検討中である。

1-アリル-1-ニトロソ-3-(2-ピリジルメチル) 尿素誘導体が高収率で、2,4-ジヒドロ-1,2,4-トリアゾール-3-オン環に閉環する新反応を見出した。2,4-ジヒドロ-1,2,4-トリアゾール-3-オン環系は他の合成法では合成出来ないもので、この環系の合成法として有用である。

iv) 有用な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持つプロキラル化合物を用いた不斉合成は、いくつかの利点を有し、光学活性体を得るための有用な合成戦略である。

本年度は、種々の天然物の合成中間体となり得る対称ジケトン²の C₂ 対称なキラルジオールによる不斉アセタール化反応を検討したところ、それぞれのジアステレオマーが十分応用可能な選択性をもって生成することを見出した。

2. 生理活性物質の作用発現機構に関する研究

i) 重機能性化学官能基を有する化合物の合成研究
一分子中に二つ以上の活性な化学官能基を有する化合物は、特に化学療法剤の候補化合物として有望な化合物群であるが、安定な化合物を合成することは困難な場合が多い。今回は重機能性化合物としてシアノトリアツェン誘導体を4種合成することができた。

ii) 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、これらを用いて各種の酵素および各種の酸化剤に対する安定性、特に加水分解も検討し、速度論的解析を行った。

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、規格および試験法ならびに各種の作成要綱の作成を行った。

「日本薬局方外医薬品成分規格」(局外規)については、本年度は、医薬品原料 640 品目、医薬品添加物 84 品目、計 724 品目よりなる新版の「日本薬局方外医薬品成分規格 1989」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」の改訂を行うとともに新たに「日本薬局方外医薬品成分規格 構造式表示要綱」を作成し、公表した (厚生科学研究)。

各種の医薬品基準の英文版作成のための英文作成要綱を、東西両技術委員会の協力のもとに、目下、部長 (委員長) の原案について検討が行われている。同時に英用語集の作成も行われている。

県衛生研究所および県業務担当部門より、6 件の局外規関連承認業務にかかわる問い合わせがあり、これに回答した。

薬 品 部

部 長 武 田 寧

概 要

昭和63年度も前年度に引き続き、医薬品の品質確保と新開発医薬品の評価のための試験および研究を実施した。徐放性製剤をはじめとする放出調節剤の開発が近年盛んになり、これらの新剤形医薬品の新医薬品製造 (輸入) 承認申請も増加しつつあることをふまえ、新剤形医薬品の薬剤学的評価法に関する研究の進展に努めるとともに、医薬品の品質評価の基礎ともなる医薬品分析や医薬品乱用防止に資するための乱用性薬物の分析法に関する研究も推進した。

昭和63年度には、ヒューマンサイエンス振興財団より流動研究員として岸田晶夫氏が派遣された。また、科学技術振興調整費重点基礎研究による招へい外国人研究者として、Dr. Jennifer B. Dressman (University of Michigan) が平成元年1月から3月まで当部に滞在し、共同研究を行った。

業務成績

1. 特別審査試験

新薬109件, 殺虫剤5件, およびかぜ薬・解熱鎮痛薬30件, 合計144件について試験した。

2. 一斉取締試験

リン酸ピリドキサル錠(26品目), ヒドロクロチアジド含有製剤(11品目), リン酸ジヒドロコデイン含有シロップ剤(93品目), およびリボフラビン含有ビタミン剤(113品目)について試験した。

3. 特別行政試験

あへんの試験105件(国産あへん45件, 輸入あへん60件), 偽和医薬品の試験1件, および医薬部外品の品質試験1件を実施した。

4. 標準品の製造

向精神薬分析用標準品として2,5-ジメトキシアンフェタミン(DMA)20gおよび2,5-ジメトキシ-4-エチルアンフェタミン7gを合成し, 薬務局麻薬課に供給した。

5. 国際協力

国際協力事業団による技術協力事業である, フィリピン国食品薬品検定センタープロジェクトの巡回指導, ならびにチュニジア国薬品品質管理プロジェクトの事後調査および機材修理に協力した。国際厚生事業団の発展途上国保健福祉開発企画推進検討委員会医薬品部会に参画するとともに, 同事業団の事業であるアジア諸国薬事行政官研修およびアジア諸国麻薬行政官研修の実施に協力した。

6. その他

日本薬局方改正, 日本薬局方外医薬品成分規格作成, 殺虫剤指針改訂, 地方衛研技術者講習会, GMP関連立ち入り調査等に協力した。

研究業績

1. 医薬品の分析法に関する研究

医薬品分析の自動化に関し, ラボラトリーロボットによる混合製剤の自動分析法を検討し, ビタミン製剤の分析に応用した。生薬含有解熱鎮痛剤の試験法を検討した。有機塩基塩酸塩の非水滴定法として, 過塩素酸存在下の加熱により塩酸を除去し, 逆滴定する方法の改良操作法を確立した(公定書協会)。鎮うん薬の高速液体クロマトグラフ法による迅速分析法を検討した(薬務局監視指導課)。熱帯病治療薬の試験規格について検討した(薬務局経済課)。分析条件の最適化について, 液体クロマトグラフィの分離条件の最適化を行い, 分析精度を確認した。

2. 日本薬局方の規格および試験方法に関する研究

日局収載製剤に溶出試験を適切に設定するための基

礎資料を整備する目的で, 市販製剤について溶出性の実態調査を行うとともに, 各国薬局方の溶出試験規格の統計学的な比較および評価を行った(厚生科学研究, 薬務局安全課)。一般試験法のケトン・イソプロパノール・第三ブタノール試験法およびアルコール数試験法の改正について検討した。

3. 医薬品の有効性・安全性に関する薬剤学的研究

インドメタシン坐剤のバイオアベイラビリティに関し, インドメタシンおよびポリエチレングリコールが吸収促進作用を示すことを明らかにした。Population pharmacokineticsによる生物学的同等性評価における固定要因および変動要因について検討した。市販マレイン酸クロルフェニラミン徐放性製剤について生物薬剤学的評価における*in vitro-in vivo*相関性を明らかにするとともに, 生物学的同等性評価に用いられるパラメーターの有用性について統計学的に評価した(HS財団受託研究)。

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, 現行安定性試験基準の加速試験法について統計学的評価を行った。医薬品の光学異性体の分解性に及ぼすシクロデキストリンおよびリボソームの影響を反応速度的に検討した。不均一系医薬品の分解性に関し, 固体状態における分解に及ぼす微量水分の影響を明らかにするとともに, 微量水分の計測法に関する基礎的検討を行った。生分解性高分子製剤における高分子の分解性に関し, ポリ乳酸, ポリ-β-ヒドロキシ酪酸等の高分子マトリックスの分解性を検討し, 分解促進剤による分解制御マトリックスの設計を行った(HS財団受託研究)。

5. 麻薬および依存製薬物に関する研究

毛髪中の乱用薬物の検出法に関し, GC/MS法による毛髪中のモルヒネおよびその代謝物の検出法を確立し, 乱用歴と毛髪中の濃度分布の相関を検討した(乱用薬物鑑定法整備研究, 薬務局麻薬課)。生体中の乱用薬物のイムノアッセイに関し, ELISA法によるモルヒネの分析法を確立した。このELISA法をモルヒネ投薬中のがん患者のドラッグモニタリングに利用し, 最低有効血中濃度を検討した。電気化学検出液体クロマトグラフ法によるコカインの微量検出法について検討した。喫煙による薬物乱用に関し, 覚せい剤の喫煙により生成する薬理活性物質のラット尿中代謝物を検討した。コカイン成分の液体クロマトグラフ法による分析法を検討した。

生 物 化 学 部

部 長 田 中 彰

概 要

平成元年4月1日付で押沢正技官は生活衛生局企画課生活化学安全対策室室長補佐として転出し、業務局安全課より小林哲技官が当部へ配置換えとなった。また棚元憲一主任研究官（衛生微生物部）の併任は4月1日解除された。また昭和63年4月以来当部へ留学していた周玉さん（北京市薬品検査所）は平成元年2月26日に帰国した。

短期海外出張として第12回アジア薬剤師会連合（FAPA）学術大会（インドネシア，63.9.10～9.20）に部長が出席した。また早川室長は医療用ペプチドおよび蛋白質の製剤化，送達，標的指向化に関する国際集会（米国，63.10.22～11.1）に出席した。

平成元年5月29日から生物化学部は生物薬品部に改称された。

業務成績

1. 一斉取締試験

ウロキナーゼ製剤10件について試験を行い，すべて含量規格に適合した。

2. 特別審査試験

酵素製剤など14件について試験を行った。

3. その他

第12改正日本薬局方に伴う業務（業務局安全課），医薬品原料および添加物の規格整備に関する検討，医薬品の標準化に関する調査研究（厚生科学研究費，業務局審査第二課），細胞培養医薬品の品質確保に関する基準作成およびQ&Aならびに英文版作成の協力（業務局審査第一課），バイオ医薬品の品質確保に関する啓蒙活動への協力（日本製薬団体連合会，HS財団，近畿バイオインダストリー振興協会），第11改正日本薬局方追補の一般試験法に関する解説および啓蒙（日本薬剤師会，私立大学薬剤学教官会議，日本薬局方懇談会）。

研究業績

1. 医薬品の規格および試験法に関する研究

i) ウロキナーゼ製剤の合成基質を用いた定量法について検討した。

ii) トロンピン製剤の新定量法の開発に関する基礎的検討を行った。

iii) 新合成基質を用いた塩化リゾチームの定量法の確立と，その製剤分析への適用性について検討した。

iv) ホルモン等の *in vitro* assay 法の基礎的研究として，ニワトリ胚芽細胞の軟骨細胞への分化におよぼすヘパリンの作用を検討した。

v) 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）として，各血栓溶解剤の標準的な力価試験法の施行案を確立し，各社製品への適用可能性について検討して，さらに改良を加え，標準的試験法とした。

2. 医薬品の有効性および安全性に関する研究

i) ハイブリッド形成蛋白質製剤の有効性と安全性に関する研究

ハイブリッド化リゾチームの酵素化学的特性について検討した。

ii) 標識化合物と細胞工学的手法の利用による医薬品，生活関連物質等のアレルギー感受性およびその安全性評価法の確立に関する研究（原子力試験研究費）。

確立したIgE抗体法を利用して，即時型アレルギー抗原の検索や感受性予知試験に関する検討を行った。

iii) 多形核白血球（PMNs）機能の分子機構ならびに各種薬剤の有害作用発現に関する生化学的研究

PMNsのチトクロム b_{558} の精製および蛋白質化学的研究，脂肪酸によるPMNsの活性化，各種抗炎症剤によるPMNs機能への影響に関する生化学的検討を行った。

iv) 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検討（厚生科学研究費，大沢班）

前臨床安全性の観点からバイオ医薬品に適切な評価技術に関する基礎的検討を行った。

v) 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

遺伝子工学的に新たに作製した数種のヒト生長ホルモン誘導体を用いて，その構造と活性相関について検討した。

vi) 組換えDNA技術を応用して生産される蛋白性医薬品の活性型の効率的分離，精製技術の開発（HS財団受託研究費）。

還元剤および変性剤で還元・変性された蛋白質溶液から変性剤等を除去することなく直接還元できる条件について検討した。

vii) 医薬品生産に用いられる動物細胞に関する基礎的研究（厚生科学研究費，豊島班）

医薬品生産基材としての安全性の観点から適切な動物細胞のあり方について検討した。

viii) 組換えDNA医薬品の開発手法に関する研究（厚生科学研究費，野島班）。

組換え医薬品開発の現状と問題点について検討した。

3. 生体内活性物質の作用機序に関する研究

i) アルドース還元酵素阻害剤の構造活性相関に関する研究

X線構造解析から得られた構造活性相関に基づいて、新規阻害剤をデザインし、その合成と阻害効果について検討した。また生薬エキスから阻害活性をもつ有効成分を単離し、その本質を明らかにした。

ii) 各臓器におけるアルドース還元酵素の役割に関する研究

ラットおよびイヌの腎臓におけるアルドース還元酵素 (ARD) の分布をしらべ、本酵素を単離後、その酵素化学的、物理化学的性状および阻害剤に対する感受性などを明らかにした。またヒト精巣中の ARD の性状を明らかにし、ARD 阻害剤に対する感受性を検討した。

ガラクトース血症ラットの水晶体における ARD の活性量、ガラクトール産生量の変動およびこれによぼす ARD 阻害剤の影響について検討した。さらにラット胎児水晶体の ARD 量への糖尿病の影響について検討した。

iii) セルロプラスミンに関する研究

セルロプラスミンの生理的機能および作用機序の解明に必要な Fe^{3+} の特異的定量法の確立について検討した。

iv) 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 細胞の生長ホルモン (GH) 受容体の糖部分について検討した。また各種生長因子によるラット皮膚線維芽細胞の増殖抑制因子としてのグルココルチコイドの構造活性相関について検討した。

v) 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究 (特別研究)

各種ホルモンによる肝細胞の GH リセプターの消長に関する基礎的検討を行った。

4. 放射性医薬品に関する研究

^{99m}Tc -アルブミンの純度試験として、高速液体クロマトグラフィーの適用を意図して、分析条件の基礎的検討を行った。

5. 生体内モデル反応の開発に関する研究

フェニルブタゾンモデル化合物として、モノオキシゲナーゼによる酸化反応を簡単な有機試薬によって一行程で目的の代謝物を選択的に得る最適条件を見出した。

放射線化学部

部長 寺尾 允 男

概要

昭和63年度の研究業務として、前年度に引き続き、主として、1)免疫担当細胞の機能に関する研究、2)生体膜の機能に関する研究、3)イムノアッセイ等を用いる超微量検出法の開発、4)依存性薬物の生物学的研究、5)抗体遺伝子の構造に関する研究、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おこなった。

米国 NIH に一年間の予定で留学中であった手島玲子技官は昭和63年6月に帰国した。また鈴木和博技官は昭和63年8月から平成元年1月までの半年間、厚生省厚生科学課に外向(併任)した。平成元年4月1日から、新規採用の斉藤嘉朗技官が配属となった。HS 財団流動研究員、水沢左衛子氏および田中東一氏は平成元年3月31日をもって退職した。

なお、放射線化学部は平成元年5月29日付をもって廃部となり、部員は全員、新たに設置された機能生化学部に配置換となった。

研究業績

1. 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、脱顆粒反応におけるタンパクリン酸化反応の関与について検討してきているが、プロテインキナーゼCが好塩基細胞の Ca^{2+} の動態にも関連していることを明らかとした。

2. 生体膜の構造と機能に関する研究

i) ヒトリンパ球培養細胞株 IM9 の細胞膜に存在するヒト生長ホルモン受容体の機能の解析を行い、この受容体が IM9 細胞の増殖に関与していることを明らかにするとともに、受容体の動態についても検討を加えた(科学技術振興調整費、科学技術庁振興局)。

ii) ヒト成長ホルモンが IM9 細胞の受容体に結合すると、直ちに 55KD のタンパクのリン酸化が特異的に促進されることが明らかとなり、*in vitro* でのホルモン活性測定の指標となり得ることが示唆された(特別研究、厚生省)。

3. 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63年度にはスコボラミンに対するモノクローナル抗体を調製し、その抗原特異性等の性質を明らかとした。さらに、こ

の抗体を用いるイムノアッセイ法を確立した（国立機関原子力試験研究費，科学技術庁原子力局）。

ii) 食品汚染物質としてマイコトキシンの超微量分析法開発を目的として，ニパレノールおよびツェラレノンに特異的なモノクローナル抗体を調製し，これらの抗体を用いた，各々のマイコトキシンの RIA 法および ELISA 法による分析法を開発した（国立機関原子力試験研究費，科学技術庁原子力局）。

4. 依存性薬物の生物学的研究

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のアゴニスト依存的リン酸化反応について検討した（文部省科研費，文部省）。

5. 抗体遺伝子の構造に関する研究

抗ステロイド抗体産生ハイブリドーマを用いて，各々の抗体の変換領域のアミノ酸配列を，遺伝子の塩基配列および，抗体のN末端付近のアミノ酸配列から推定した（国立機関原子力試験研究費，科学技術庁原子力局）。

6. 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を行うため，これまで得られた16種の抗ヒト成長ホルモンモノクローナル抗体の抗原認識部位について，ヒト成長ホルモンを構成するペプチドを化学合成し，検討した（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持つと思われる物質の検索および分離を行った（HS 財団受託研究費）。

iii) ヒビ内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を行った（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研究，薬理的研究および薬物動態学的研究を行った。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。

4月1日付で鎌倉浩之技官が新規採用され，生薬部に配置された。

関田（節）主任研究官は HS 財団国際共同研究事業

により，8月29日～9月10日にわたり，北京，四川省，河南省に出張し，各医薬管理局を訪れ，研究連絡を行い，生薬栽培地を見学した。

日中医学協会笹川医学奨学生張伯崇主管薬剤師（甘粛省薬品検査所）は1年間の研修を終え，9月下旬帰国した。

国際協力事業団による保険医療協力事業に基づき，Mr. Bambang Mursito（インドネシア共和国国立薬品食品品質管理試験所）が伝統薬についての研修のため来部し，9月下旬から翌年3月下旬まで滞在した。

中国政府からの研修留学生馬建平講師（上海中医学院）は1年間の研修予定で10月30日に来部し，中国産生薬の薬理活性を研究している。

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25件）について審査を行った。

研究業績

1. 生薬および生薬製剤の規格試験法の基礎研究

i) 生薬の規格試験法の研究

前年度に引き続き，局方生薬（ハンゲ，ソヨウ，エンゴサク，ウイキョウ，チモ，バクモンドウ）の品質評価法について生薬材料学的検討を行った。

ラオス産ベルベリン含有植物 *Coscinium usitatum*, *Caesalpinia sappan*, ならびに塩化ベルベリン製剤中の塩化ベルベリンの含量を測定した。

ii) 漢方製剤の薬剤学的研究

ラットにベルベリンを経口投与し，血漿中のベルベリン濃度を経時的に HPLC を用いて測定するため，ベルベリンの血漿からの抽出条件および HPLC の測定条件を検討した。ベルベリンの血漿濃度が $0.2 \mu\text{g/ml}$ 以上の範囲で測定出来る条件を確立した。

iii) 生薬の薬物動態学的研究

漢方処方用いられるマオウ中に含まれるアルカロイド類の体内動態に関する研究に着手した。本年度は，関連アルカロイド類の HPLC での定量法の検討およびそれらの合成を行った。

2. 植物資源の医薬的利用に関する研究

i) 薬用植物の化学的品質評価

カノコソウ属植物の優良系統選択を目的として，テルペン系多成分を分析した。その結果，植物的に二つのグループに分類できることがわかった。

ビンロウジとダイフクヒは，共に同じ植物基原の漢薬であり，両者の成分的比較に着手した。

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 *Zingiber cassumunar* 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生充進の抑制などの抗炎症作用を認め、この活性成分はエーテルおよびヘキサン可溶画分へ順次移行した。

iii) 繁用生薬の成分検索とその生物活性の研究

中国産川芎の phthalide 成分を検索し、Ligustilide 二量体5種を単離し構造解析を行った。これらのうち新化合物2種は、Diels-Alder 結合型の spiro 二量体と構造決定した。

中国産川芎に含有される tetramethylpyrazine および中国産川芎と当帰にそれぞれ含有される ferulic acid のラット子宮に対する作用を検討した。両化合物は子宮の自発運動を抑制した。また、両者には併用の増強作用が認められた。

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

植物のバイオテクノロジーでは不可欠なオーキシンの分析法を開発し、生産物中でのその残留量を測定した。

紫根と黄連およびこれらのカルスより得られた前者ではエーテルエキス、後者では水エキスはそれぞれに含有される総シコニン系色素量および総ベルベリン系アルカロイド量を基準として等しい用量を投与した場合、それぞれほぼ同程度の薬理効力（前者では肉芽形成促進作用、後者では肉芽形成抑制作用）を示した（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

北京、成都、鄭州、洛陽、上海各地の栽培地および市場の中国産生薬32種68検体を収集し、筑波薬用植物栽培試験場佐竹元吉場長、中国薬品生物制品検定所李九丹研究員と共同で同定作業を行った（HS 財団受託研究費、国際共同研究事業）。

3. 天然有害物質の化学的研究

i) マイコトキシンの検索・分離・同定・構造決定および生物活性の検討

マウス骨髄性白血病由来 M₁ 細胞の生育阻害を指標として、Jamu 植物および香辛料から分離した真菌代謝産物のスクリーニングを行い、*Aspergillus flavipes*, *Arthrimum*, *Emericella* 等10種に活性を見出し、活性成分の分離を行っている（特別研究）。

ii) オゴノリ類海藻の生物活性成分の研究

チリー産オゴノリから単離された新成分につき、生物活性の報告について調査した。

療 品 部

部長 中村 晃 忠

概 要

医療用具の安全性に関わる生物試験や基準および審査、家庭用品の基準など、どの分野においても国際的整合性というものが求められていることを痛感させられる。極端ないい方をすると、少しでも早く、多少は系統的な研究をし、それに基づいて考え方を打出した国が他の国その考え方を強制することができるのではないか。そういう意味でも、我々の研究も断片的なものでなく、系統だったものであるべきだし、常に、そこから何がいえるかを自身に問い欠ける必要があろう。勿論、本当は泥縄でなく、評価に必要な研究に金と人を事前に十分に投入すべきであるが、また、日本が不公正だといわれる理由の一つは判断のルールを文字で示すことが少ないか、あるいは、それが非常に遅れることにあるように思われる。研究論文にしても、考え方にしても、publish すること、他者に問いかけることの重要性を感じる。

こんな事情の反映でもあるのであろう。ガイドラインの作製という仕事が多くなった。

人事では、菊地寛技官が昭和63年7月1日付で退職された。30年を超える地道な努力に感謝をささげる。平成元年2月末から1年間の予定で土屋利江・家庭用品第二室長はスイス国ベルン大学に出張。同4月1日、伊佐間和郎技官が採用され、療品室に配属された。

業務成績

1. 家庭用品関係

年度計画に従って、アクリル酸エチル、ベンジルブチルフタル酸エステル、2,2'-イソブチリデンビス(4,6-ジメチルフェノール)の分析試験法を作成した。

家庭しみ抜き剤中のベンゼンの基準分析法を作成した。

研究業績

1. 赤眼症候群原因物質の構造研究

キシランのアセテートは活性物質ではないこと、グルコースが基本的な糖部分で一部が酸化された構造を持つオリゴ糖のアセチル化合物が活性を持つこと、および、ウサギによる赤眼発現活性試験と *in vitro* の細胞毒性試験が相関することを明らかにした。

2. ポリウレタンフィルム of 埋入組織反応に関する研究

4,4'-diphenylmethanediisocyanate (MDI), poly-

(tetramethyleneglycol) (PTMG), 1,4-butanediol (BD) を原料とした分子量の異なるセグメント化ポリウレタンの1年間の埋入実験結果がまとまった。フィルムからの溶出物の細胞毒性と変異原性および化学組成を調べ、埋入後のフィルムの変化をGPCやFT-IR/ATRで調べた。以上のデータはポリウレタンの埋入発癌を理解し、今後の実験計画を立てる上に大いに役に立った(HS 財団受託研究費、合成化学研究部、毒性部、変異原性部、民生科学協会と共同)。

3. 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系のポリウレタンで、PTMGの分子量を変化させると同時に、電子線による短時間の大量照射の効果を検討した結果、かなりの強度のエラストマーが得れた。また、透析器のポッティング材の γ 線照射によるMDAの生成を調べた(原子力試験研究費、科学庁技術原子力局)。

4. 医療用具の規格・基準の改正に関する研究

輸液用プラスチック容器の透明性の試験方法について検討した。

5. 医療用具の毒性評価法に関する研究

天然ゴム製品の短期の組織炎症反応と細胞毒性、および含有化学質との相関を明らかにした(病理部、民生科学協会と共同)。

6. 家庭用品による接触皮膚炎の原因究明に関する研究(原因製品/原因化学物質)。

1) ボールベアリング/2-ヒドロキシエチルメタクリレート

2) 運動靴/p-tertチルフェノール・ホルムアルデヒド樹脂

3) 線香の煙/オーラミン

7. 接触皮膚炎の原因究明の方法論に関する研究

1) 製品からの抽出物で感作したモルモットに抽出物の各種クロマトによる分画物をパッチして感作原を探索する方法を開発し、DCブランド黄色セーターによるカブレの原因物質がホスゲン-2,5-ジクロロフェニルヒドРАЗオンであることを明らかにした。

2) ニッケルによる感作をリンパ球幼弱化で検出する方法の改良を試みた(特別研究費、原子力試験研究費、科学技術庁原子力局、毒性部と共同)。

8. 催奇形試験の*in vitro*化に関する研究

1) ヒト胎児から樹立されたhuman embryonic palatal mesenchymal cellの増殖度を指標とするアッセイ系を確立した(特別研究費、変異原性部、生薬部、熊本大学と共同)。

2) BHTの催奇形性に関する*in vitro*試験につい

て(食品等試験検査費、医化学部と共同)。

3) マウス胎仔培養細胞による*in vitro*催奇形性試験について(生薬部、医化学部、明治薬科大学と共同)。

9. 情報理論のクロマトグラフィーへの応用に関する研究

新しく開発した関数FUMIを用いてクロマトグラフィーを最適化する方法を研究し、ピークの分離度と分析時間の最適化の方法論を示した(薬品部と共同)。

10. スペクトル画像自動読みとり法に関する研究

プロトンNMRデータベースへ新データを追加するについて、デジタイザーによる手動式データ読み込み方法に代えて、スキャナーによる自動画像処理法を適用して精度よく自動的にデータを読み取る方法の開発を試みた。

11. 各種のガイドライン関係研究

1) 医薬品等に用いられるフロン代替品に関する研究(厚生科学研究費、薬品部、毒性部と共同)。

2) 医療用具および医用材料の毒性試験体系の確立に関する研究(厚生科学研究費、日本バイオマテリアル学会などと共同)。

3) 供血者用膜型血漿分離器の品質、性能ならびに臨床の評価に関するガイドラインに関する研究(厚生科学研究費、東京女子医科大学などと共同)。

4) 歯科材料の安全性および有効性試験ガイドライン作成に関する研究(厚生科学研究費、東京医科歯科大学などと共同)。

5) 化学物質のリスクアセスメントのガイドラインに関する研究(厚生科学研究費、病理部、毒性部、公衆衛生院と共同)。

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続い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リストの作成、水道原水中の化学物質の動態に関する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作成への協力、化粧品製剤の成分試験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。

武田部長は国際協力事業団による技術協力事業の一環として実施中のフィリピン国食品薬品検定センタープロジェクトに対する研修計画の打合わせのためマニラに出張した(昭和63年8月3日~17日)。

業務成績

1. 空気関係

前年度に引続き東京都内3ヶ所の国設自動車排ガス測定所で各種自動測定機器を用いて大気汚染物質(一酸化炭素, 一酸化窒素, 二酸化窒素, 窒素酸化物, 二酸化硫黄, オゾン, ホルムアルデヒド, メタン, 非メタンおよび全炭化水素, 浮遊粒子状物質)ならびに交通量の常時測定を実施した(環境庁大気保全局自動車公害課)。

2. 化粧品関係

1) 一斉取締試験

植物エキスを含有する化粧水に用いられている防腐剤(パラオキソ安息香酸類)の試験を実施した(234件)(薬務局監視指導課)。

2) 特別行政試験

口紅を対象にタール色素, 紫外線吸収剤および防腐剤の試験を実施した(2件)(薬務局監視指導課)。

3) 化粧品種別許可基準

種別許可制度の導入に伴う許可基準作成のための成分リストおよび規格作成に必要な国内外の関係公定書を調査し, それを基にして種別許可基準との整合性を図るなど第3次化粧品種別許可基準の策定に協力した(薬務局審査二課)。

4) 化粧品原料規格作成

化粧品原料の品質確保のための原料規格の作成に協力した(50品目)(薬務局審査二課)。

3. 水質関係

1) 水道原水中特定化学物質の調査を地方自治体試験研究機関および水道事業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)。

2) 水道水源への汚染が問題となっている微量有機物について分析方法を検討した(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) 有機塩素系化合物の個人暴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) 前年度に引続き, 二酸化窒素, 二酸化硫黄, ホルムアルデヒドのパッシブサンプラーの検討を行った。

3) 粒子状ホルムアルヒドの定量法を検討した。

4) 室内外空気中のベンツ(a)ピレン, ベンツ(a)アントラセン等の実態を調査した。

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²³⁴U, ²³⁵U, ²³⁸Uを分析するとともに, Pu, Uの同時分析法を検討した(放射能調査研究, 科学技術庁)。

3. 化粧品等の原料規格整備に関する研究

1) 化粧品類に使用される色素の規格整備

化粧品類のタール色素を始めとする色素を規定した昭和41年の省令を, その後の科学技術の水準に照して改善すべき項目および追加すべき項目につき, 省令別表Iグループ収載色素を対象として調査研究を実施した(厚生科学研究, 薬務局審査二課)。

4. 化粧品成分等の分析法に関する研究

1) 化粧品成分の簡易迅速分析法の確立に関する研究

ジャンパーおよびリンス中のトリクロサン, トリクロロカルバニド, ケーソンCG, グルコン酸クロロヘキシジンなどの高速液体クロマトグラフィーによる分析法を確立した, さらに, ホルムアルデヒドの分析法に関して分担研究を実施した(厚生科学研究, 薬務局監視指導課)。

2) X線回折装置による粘土性および繊維状鉱物の分析法に関する研究

タルク中に混在するアスベストの計測に影響を及ぼすと考えられる金属石けん・ミスチン酸亜鉛の影響につき検討した。

3) ホルムアルデヒド徐放性防腐剤の分析法に関する研究

ホルムアルデヒドを徐々に遊離して防腐効果を示すとされるイミダゾリジニル尿素の高速液体クロマトグラフィーによる分析法を検討した(特別研究, 厚生省)。

4) 酸化染毛剤の分析法に関する研究

(1) 代表的な酸化染料であるパラフェニレンジアミンと修正剤であるカテコールの反応生成物およびその生成条件につき高速液体クロマトグラフィーを用いて検討した。

(2) 汎用酸化染料30種につき製品に対する薄層クロマトグラフィーによる同定法を検討した。

5. 水道用薬品または水道用品に関する研究

1) 水道用塗膜防水材の安全性を検討するため今回はエポキシ樹脂の溶出可能性物質について研究した(生活衛生局水道環境部水道整備課)。

2) 水道用資機材の安全評価システムに関する研究: 水道用に広く使われている資機材の安全性を評価

するためのシステムについて検討した（生活衛生局水道環境部水道整備課（水道技術管路センター））。

3) 給水、配管における衛生学的安全性の評価：ビル等で問題になっている給水、配管に伴う赤水などの衛生問題について検討した（生活衛生局企画課）。

6. 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濃縮方法について研究した（国立機関公害防止等試験研究，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：カチオン系高分子凝集剤の毒性について研究した（国立機関公害防止等試験研究，環境庁企画調整局環境研究技術課）。

3) 飲料水および大気中の発ガン物質汚染に関する研究：飲料水の発がん物質の汚染実態の解明（厚生省がん研究，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（生活衛生局水道環境部水道整備課（日本水道協会））。

7. 環境汚染物質の衛生化学的研究

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（国立機関公害防止等試験研究，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

多難な1年であった。

昨年度、米国コーンベルトで発生した早魃の我が国への影響は輸入トウモロコシのかび毒検査の強化という形で現われた。そのなかで米国との情報交換が能率的に行われ、それらは輸入トウモロコシ検査の充実化に役立った。

また、昨年度末に起ったチリ産ブドウへのシアン化合物注入事件では、国立衛生試験所における輸入ブドウ中のシアン化合物の緊急分析法の確立、および厚生省生活衛生局による現地査察、の両面施策により、この問題の早期解決をみた。さらに同じ頃、チェルノブィル原発事故に基づく放射能汚染地域、某国在住の日本人の食生活の安全性を確認するための特別検査も行われた。また、農薬、特にポスト・ハーベスト農薬規

制に関する諸問題にも直面し、対応への第一歩を踏み出した。

人事面では、ほぼ5年間にわたり、良くその職責を果たしてきた石坂孝厚生技官は平成元年3月31日付で退職した。また、平成元年4月1日付で、米谷民雄主任研究官が食品添加物室長として転出し、村山三徳厚生技官が新たに採用された。又同日付で、茨城県水海道保健所より根本了厚生技官が着任しそれぞれ新業務に励むことになった。

平成元年1月5日より同年3月5日迄の2ヶ月間、オーストリア獣医学化学研究所より Dr. Wolf-Dister Rausch が、昭和63年度科学技術振興調整費による重点基礎研究の為に来日し、食品部、薬理部、機能生化学部（放射線化学部）、および東京大学薬学部において共同研究を行った。

また、1年間にわたり（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 大学より来日し、食品に関するバイオテクノロジー分野で研究を共にした Dr. A. Powell がその任務を終えて帰国した。

平成元年5月より平成元年10月まで、Mrs. Amelita P. Manalansan (Bureau of Food and Drug, Philippines) がフィリピン共和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し、主として農薬分析に関する研修を受けることになった。

鈴木隆第一室長はフィリピン共和国食品医薬品検定センタープロジェクトに係る技術移転のためにマニラ（昭和63年10月14日～12月13日および平成元年1月7日～1月26日）に出張した。

豊岡利正技官は微量分析法のシステム化に関する研究のためにカンサス大学 (Center for Bioanalytical Research) へ出張（平成元年3月1日～平成2年2月28日）した。

齋藤は、保健関連環境モニタリングに関する専門家会議（昭和63年9月12日～9月16日、世界保健機関本部）に出席のためジュネーブに出張した。

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（38件）、輸入魚介類中の合成抗菌剤（2件）、輸入食品中の EDB 等の農薬（21件）（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、トリクロロエタン、ディルドリンおよびアフラトキシン B₁ の分析を実施（生活衛生局食品保健課）。

② 食品等の規格基準の設定等に係る試験検査

(i) 寒天中のホウ素化合物およびカード食品中の重金属分析

(ii) 電解質飲料中の重金属分析

(iii) 健康食品中のゲルマニウム分析(生活衛生局食品保健課)。

③ 輸入食品の安全性確保に関する研究: 輸入食品中の放射能検査について(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および実態

① 食品の7農薬の分析法の設定(生活衛生局食品化学課)。

② 魚介類中のトリフェニル錫化合物類の分析法の設定(生活衛生局乳肉衛生課)。

③ 先端技術産業に係る環境汚染物質の拡散予測とモニタリング手法の開発に関する研究(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)。

④ 生活環境における発がん関連物質への暴露実態の総合的把握と評価に関する研究(対がん十年総合戦略研究)。

⑤ 指定化学物質等の環境経由での人体摂取量評価手法の開発に関する研究(化学物質総合安全対策調査研究, 大森班)。

⑥ 輸入果実中のEDBの分布につき検討を加え分析結果の変動原因を明かにした。

⑦ 輸入食肉中の有機塩素系農薬およびクロルピリホスの簡易分析法, 特にドライカラム法を用いる脱脂法につき検討を行った。

⑧ バレイショ組織培養初期の試料中の α -ソラニンおよび α -カコニンのHPLCによる同時分析の確立

⑨ ブドウ果汁中のシアンの定量法(生活衛生局食品保健課)。

2. 生体反応

① カドミウム-メタロチオネインを静脈(マウス)へ投与した場合の腎障害発現について検討

② カルシウムとストロンチウム投与時の臓器(マウス)中の亜鉛-チオネインの動きにつき検討を加えた。

3. マイコトキシン

① 輸入トウモロコシ中のアフラトキシン分析法の簡易化(生活衛生局食品保健課)。

4. 食品の機能と安全性

① 天然食品とバイオテクノロジー食品との成分上の異同を種々の成分について比較検討した(生活衛生局食品保健課)。

② ペンズピレンの代謝に及ぼす食品の影響につい

て検討した。

5. 照射食品

① 柑橘類の γ 線照射の有無判別法および健全性に関する研究(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)。

6. 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110万件に達し, 衛生行政のためにアウトプットし作表したデータを全国各地研へ提供した。また日常食中の汚染物摂取量調査を行い全国11機関のデータ解析を行った(生活衛生局食品保健課)。

② 魚介類中の有機錫関連化合物の実態調査研究(生活衛生局乳肉衛生課)。

食品添加物部

部長 義平 邦利

概要

従来の当部の主な業務である化学的合成添加物と食品用器具・容器包装に関する試験・検査・研究業務に加えて, 天然添加物に関する本格的な業務が開始され, まず表示制度がなかった天然添加物のリスト作成作業を進行中である。バイオテクノロジー利用による食品添加物の生産とその化学的安全性評価法の基礎研究は当初の目的を終了し, 新たに第2期の研究を計画中である。

人事面では, 40年以上の長きにわたって, 当部の発展に尽力された神蔵美枝子室長は平成元年3月31日付をもって, 定年退職された。また, 後任には食品部の米谷民雄主任研究官が平成元年4月1日付をもって食品添加物第3室長に発令された。小池紀子非常勤職員が退職し, 平成元年4月1日付で渡辺啓恵非常勤職員が採用された。また, 昭和63年8月31日付でHS財団より派遣されていた奥山恵美氏は退職し, 平成元年4月1日付でHS財団より岩上敏氏が流動研究員として派遣された。

山崎社技官は科学技術庁長期在外研究員として, 米国ペンシルバニア州立大学へ一年間の予定で出張中である。

義平は日米の食品添加物摩擦に関する技術的問題に係わる打ち合せ, 調査のために米国FDA等に出張した(昭和63年8月21日~8月28日), また, フィリピン国食品医薬品検定センタープロジェクト機材供与策定会議のためフィリピンに出張した(昭和63年12月1日~12月9日)。

外国よりの研修生としては、Mr. Syahrial Tahir (インドネシア、昭和63年9月26日～平成元年3月24日)が食品添加物一般について研修を行った。

業務成績

1. 製品検査

食用色素：検査件数 302 件，合格 302 件

不合格 0 件

2. 規格，基準作成

(1) ワイン中のフェロシアン化合物を，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で定量するための最適条件について検討し，定量法を確立した。また，この方法を用いて，市販のワイン中のフェロシアン化合物を定量した（食品添加物規格基準設定費，厚生省生活衛生局食品化学課）。

(2) 食用青色 2 号の付随色素につき，HPLC による分離，精製条件を検討した（食品添加物規格基準設定費，厚生省生活衛生局食品化学課）。

(3) タール色素中の重金属試験法につき，試料の前処理の方法の検討を行った（食品添加物規格基準設定費，厚生省生活衛生局食品化学課）。

(4) 亜塩素酸ナトリウム，次亜塩素酸ナトリウムにつき，滴定による分別定量試験法を検討した（厚生省科学研究費補助金，厚生省生活衛生局食品化学課）。

(5) 金属製調理器具およびそれらに用いられるハンダ 9 検体についてアンチモン，鉛等について分析を行った（食品等規格基準設定費，厚生省生活衛生局食品保健課）。

(6) 学校給食用メラミン樹脂製食器 18 検体について，3 種類の温度条件におけるメラミンの溶出試験を行った（食品等試験検査費，厚生省生活衛生局食品化学課）。

3. 特別行政試験

グリチルリチン酸の塩類について確認するため食品添加物公定書の試験法およびイオンクロマトグラフィーを用い検討を行った。また，甘草抽出エキス中のグリチルリチン酸の形態等について高速液体クロマトグラフィーおよびイオンクロマトグラフィーにより検討した（食品添加物規格基準設定費，厚生省生活衛生局食品化学課）。

4. 海外技術援助

インドネシアよりの研修生に対し，食用タール色素の確認試験，純度試験，定量法の研修を行った。

研究業績

1. 天然添加物の規格設定に関する研究

(1) 天然抗酸化剤である米ぬか抽出物および天然ビタミン E に関して植物名（和名，ラテン名）成分につ

いて検索を行った（厚生科学研究費，厚生省生活衛生局食品化学課）。

(2) 天然由来のグルコン酸の摂取量について，季節による変動原因を明らかにした（食品添加物規格基準設定費，厚生省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

(1) コチニール色素原料より溶媒抽出を行い，新規化合物を含む数種の副色素成分の単離，構造決定を行った（食品添加物規格基準設定費，厚生省生活衛生局食品化学課）。

(2) 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の抽出法を検討した（食品添加物安全性評価試験費，生活衛生局食品化学課）。

(3) アカネ着色料の原料植物である西洋アカネの乾燥根より色素成分を単離同定した。その化合物を用いて変異原性試験を行い，化学構造と変異原活性の相関について検討した（天然添加物安全性評価試験費，生活衛生局食品化学課）。

(4) 天然香料であるコーヒー抽出物の HPLC による分析ならびに変異原性試験を行った（天然添加物安全性評価試験費，生活衛生局食品化学課）。

(5) 食用赤色 3 号および 105 号中の無機ヨウ化物についてイオンクロマトグラフィーを用いて定量を行った（厚癌研）。

(6) モルモット多形核白血球由来の 5-リボキソゲナーゼについてタール色素の与える影響を検討した（国立機関原子力研究費，科学技術庁原子力局）。

(7) 食品添加物の安全性評価指導としての *in vitro* 生体関連反応として，ウサギ血小板を用いた PAF-antagonist 活性測定法を検討した（厚生省特別研究費）。

(8) 生体膜の酸化に対するクロロフィル関連化合物の影響について，培養細胞 3 種（ラット初代培養肝細胞，マウス BALB-3T3 細胞，C3H マウス皮膚繊維芽細胞 L-929）とウサギ赤血球を用いて検討を行った。C3H マウス皮膚繊維芽細胞 L-929 で膜の損傷と酸化の指標物質である低級炭化水素生成量との相関性を認めた。各種クロロフィル関連化合物のなかでピロフェオホルバイド a が最も高く，次に，フェオフォルバイド a であったが，フェオフィチン類にも若干の作用があることがわかった。

(9) ブチルヒドロキシアニソール (BHA) の催奇形性試験のため，そのゴマ油中での安全性について検討した。また，ラットにおける BHA の体内分布について調べるため，生体試料中よりの微量定量法の開発を行った（食品添加物安全性評価試験費，生活衛生局食

品化学課).

3. 食品添加物の有用性等に関する研究

(1) 漂白, 保存等の目的で用いられている亜硫酸塩類について, 有用性の観点から特性, 効果, 用途, 使用状況, 各国における規制, 有害作用等について調査した(食品添加物有用性調査費, 厚生省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

(1) 前年度に引き続き, 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前年度と同様に, 詳細な解析を行った(食品等試験検査費, 厚生省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

(1) 標識化合物を利用する食品汚染物の分析法の開発研究

カンゾウ培養細胞の長期培養(33日間)における, 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)の取り込みについて調べた(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁原子力局).

(2) バイオテクノロジーを用いた食品および添加物の安全性に関する研究

セイヨウアカネ形質転換細胞について培地に添加された金属の取り込みについて調べた(HS財団).

セイヨウアカネ形質転換細胞の色素成分についての検討を行った(HS財団).

昨年度に引き続き, セイヨウアカネ形質転換細胞の培養における植物ホルモン, しょ糖濃度の影響について検討した. 植物ホルモンとして2,4-Dを培地に添加すると増殖は阻害された. 植物ホルモン無添加培地で, しょ糖濃度12%としたとき, 増殖は最も促進された(HS財団).

(3) トランスジェニック植物を用いた新生理活性物質の研究

ステビア(*Stevia rebaudiana* Bertoni)に*Agrobacterium rhizogenes*を感染させ, 毛状根(形質転換細胞)を樹立した. 各種条件下で培養した毛状根の成分分析を行い, steviosideは存在せず, その前駆体のsteviolbiosideが存在することが明らかとなった(科学技術振興調整費).

6. ニトロソ化合物に関する研究

(1) 各種食品に亜硝酸を作用させたときの総N-ニトロソ化合物, および総ニトロソアミドの生成量について, 前年度にひきつづき, さらに多種類の食品についての検討を行った. また, ニトロソアミドの生成が

みられた食品についてはpH, 時間, 亜硝酸濃度をいろいろ変えて検討した(厚生省がん研究費, 国立がんセンター運営部).

7. 器具, 容器包装に関する研究

(1) 紙製品の衛生性を確保する目的で, PCB, ホルムアルデヒド, 揮発性成分, 無機イオン, 蛍光物質について測定を行った(厚生省科学研究費, 厚生省生活衛生局食品保健課).

(2) メラミン樹脂製食器から溶出するホルムアルデヒドに対するメラミンのモル濃度比は平均で約15であり, 加熱抽出を繰り返すことにより1.6~1.8で一定となることをあきらかにした(食品等試験検査費, 厚生省生活衛生局食品化学課).

(3) フェノール樹脂から溶出するフェノールの公定試験法について検討した. 肉眼観察による沈澱生成の判定結果の数値化を試み, 4-アミノアンチピリン法による定量結果との比較を行った.

(4) 食品中のテトラメチルサクシニトリルの分析法を開発し, プラスチック包装された食品への応用を試みた.

衛生微生物部

部長 三瀬 勝利

概要

本年度は, 当部で数年間続いていた職員の入退所はみられなかった. 昭和63年秋, 一戸正勝室長はインドネシア国立医薬品食品研究所に1か月間出張し, 研究指導を行い, 技術移転に貢献した. また, 昭和63年度より, 厚生省・ヒューマンサイエンス財団によるエイズ医薬品候補スクリーニング研究班が発足し, 事務局が当部におかれた. 当所, 予研, 大阪府衛研など8地研と共同で, エイズ医薬品候補のスクリーニング研究が行われている.

業務成績

1. 一斉取締試験

i) X線造影剤92検体について, 大腸菌群, 緑膿菌, および黄色ブドウ球菌の各試験を行ったが, いずれも陰性であった.

ii) 鎮咳去痰薬92検体について生菌数試験を, 279検体について, 大腸菌群, 緑膿菌, および黄色ブドウ球菌の各試験を行った. 生菌数で2件の不適品が認められたが, 他には不適品は認められなかった.

2. 特別行政試験

微生物農薬であるBT剤3検体について, 下痢毒素

試験を行った。

3. 規格・基準試験など。

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、規格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）、および食鳥の微生物制製に関する調査・研究（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) 真菌症に関する研究

急性骨髄性白血病に合併して発病したムコール症の二例について、病原真菌の分類・同定を行った。いずれも日本では初めての症例である。また、沖縄・九州に患者発生が報告されている黒黴の病原菌 *Hortaea* が長崎県の海水に潜在していることを明らかにした。

ii) マイコトキシンなど真菌が生産する有毒物質に関する研究

インドネシア産伝承薬からアフラトキシン汚染を確認した。痙攣性マイコトキシンである paxilline, aflatrem, aflavinine, paspalinine などを産生する真菌 *Emericella*, *Aspergillus flavus* から新規のインドールジテルペン類化合物を単離し、その化学構造を確定した。

iii) 生理活性を有する有用真菌代謝産物の探索
子囊菌類 *Neocosmospora* について免疫抑制剤シクロスポリンの産生を報告した。

iv) 生活環境における真菌の研究

土壌から好ケラチン性皮膚糸状菌、好アンモニア性真菌を分離・同定した。水質環境調査から、新属 *Calceomyces* が発見された。室内塵中のアレルギー性真菌を調査した。

v) フザリウムに関する研究

1983年、北海道十勝地方で大発生した赤カビ病コムギ穀粒より、多数の赤カビ病原菌 *Fusarium graminearum* を分離し、化学分析により、デオキシニバレノール (DON) を検出した。また、DON とともに前駆体の 3Ac DON を生産する菌株と、DON, 15Ac DON を生産する菌株の存在することを明らかにした。分離菌をビニールハウスに育成させたコムギに接種して、病原性を検討するとともに、罹病コムギ中に存在する DON などトリコテセン系マイコトキシンの分析を行ったほか、チオファネート系農薬の散布効果を検討した。

2. 細菌に関する研究

i) 腸内細菌の制限酵素に関する研究

腸内細菌より迅速に制限酵素産生菌を見出す方法を改良し、*Salmonella thompson* と *Escherichia coli* 044 より、遺伝子操作に有用と思われる制限酵素を見出した。

ii) エンドトキシンに関する研究

サルモネラや大腸菌の変異株由来のラベル化エンドトキシンを肝実質細胞と培養すると 3-ヒドロキシン脂肪酸とトリグリセリドが上清中に遊離した。脂肪酸はエンドトキシンの活性発現に必須の構成成分であるところから、脱アシル化によるエンドトキシンの無毒化に、肝細胞が大きく関与していることが強く示唆された。

iii) セレウス菌に関する研究

約 2000 の生肉、肉製品、肉製品添加物における *Bacillus cereus* (セレウス菌) の汚染実態調査を行った。その結果、生肉では 6.6% の、肉製品では 18.3% の汚染が発見された。汚染レベルは肉では比較的 low、1g 当たり 10^2 以下であった。一方、肉製品添加物では、汚染レベルが高く、1g 当たり 10^2 から 10^4 であった。添加物のうちでは、塩と砂糖を除く、蛋白、澱粉、着色料に高頻度に *B. cereus* が検出された。肉製品の品質確保のためにも、添加物への *B. cereus* 汚染を効果的に阻止することが肝要である。

iv) その他

イカヤサバなどの海産物に腐敗酵母や細菌を接種する腐敗実験が行われ、揮発性塩基窒素量や pH、集落形成単位などが調べられた（大阪支所・食品部と共同）。また、人工腎臓装置の品質確保に関する研究、トランスフォーメーション実験系を使用した発癌物質のスクリーニング研究、および細菌における可動遺伝子に関する研究が行われた。

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、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行い、食品中の発がん関連物質のトキシコキネティクスの研究を担当した。また、今年度より、国立機関公害防止等試験研究として、動物実験結果から化学物質の低濃

度暴露時のヒトに対する影響を推定するための毒物動態学的研究を開始した。

人事面では、最上知子技官が化学技術庁の長期在外研究員として、8月14日より1年の予定で、カナダのアルバータ大学医学部脂質および脂質蛋白質研究グループの Vance 教授のもとへ脂質代謝に関する研究のため出張した。また、短期海外出張では第一室森本和滋室長が IPCS のジメチルホルムアミドの環境保健クライテリア作成のためのタスクグループ会議に出席のため、西ドイツのボルスブルク(3月13日~17日)に出張した。

平成元年3月末には、STA フェローシップによる客員研究員として、英国雇用省健康安全部の Dr. Lynn Drummond が来日し、平成2年3月まで、ジネトロピレンの代謝研究に従事することとなった。

また、厚生省組織規程の改正に伴い、平成元年5月29日より、部名が代謝生化学部に改称された。

研究業績

1. 食品添加物の安全性に関する生化学的研究(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

1) オルトフェニルフェノール(OPP)およびそのナトリウム塩(OPP-Na)に関する研究

PBQの膀胱上皮細胞DNA損傷についてF344ラットの性差を比較したところ、発がん感受性の低い雌でも雄と同程度のDNA損傷作用を認めた。

また、OPPの遊離型代謝物の一つである水酸化体について安定性を調べ、尿中では経時的に変化すること認めた。

2) 安息香酸に関する研究

¹⁴C-安息香酸ナトリウム塩およびカリウム塩をラットに高用量、低用量で経口投与し、経時的血中濃度変化、6および48時間後の体内分布、尿・糞・呼気等への排泄を調べた。

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5種をF344ラットに投与し標的臓器である前胃上皮細胞DNAへの損傷を調べたところ、キノン体がDNA損傷作用を低濃度でも有していることがわかった。

4) ブチルヒドロキシトルエン(BHT)に関する研究

BHTには*in vitro*試験系での催奇形性は認められなかった。

2. 家庭用品の安全性に関する生化学的研究(家庭用品試験検査費, 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

F344ラットにアクリル酸エチルを強制経口投与し、発がん標的臓器である前胃上皮細胞DNAの損傷作用を調べたが、本化合物には遺伝子損傷作用が無いことがわかった。

2) ベンジンブチルフタル酸エステルに関する研究
代謝に関する文献調査を行った。また、ベンジルブチルフタル酸エステルの同族体として、メチルベンジルフタル酸よりオクチルベンジルフタル酸の合計8化合物の合成を行った。

3) アクリル酸に関する研究

本化合物の代謝に関する文献調査を行った。

3. 既存化学物質の安全性に関する生化学的研究(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

尿、脳中代謝物の定量法を検討し、用量-反応性を調べた。

2) ケルセンの代謝に関する研究

マウスにおけるケルセンの体内動態に関するデータを速度論的に解析した。低用量領域での線形性が予測された。

3) TBTOに関する研究

TBTOの代謝および生化学的試験に関する文献調査を行い、問題点を考察した。

4. 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

脂環族一級アミンはウサギ肝ミクロソームでヒドロキシルアミンにも代謝されることを、代謝物をアセチル化することにより確認した。

2) 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での分解反応はNADPHを必要とするMFOの寄与が大きいことが判明した。

5. 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

A/Jマウスに¹⁴C-ウレタンを投与し、肝臓と肺臓DNAの付加物量を調べた。

2) 遺伝子損傷およびその修復に関する分子機構の研究

BHAのキノン誘導体のDNA損傷作用を比較すると、ブチルキノン(BQ)のベンジルチオールとの付加体もBQと同程度かそれ以上の作用が認められ、酸化還元電位の強度とよく一致し、活性酸素発生を經由し

でのDNA損傷であることが示唆された。

6. 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（厚生省科学研究費・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の研究

BHAの用量をF344ラットに強制経口投与し、前胃中で生成するBQ様物質の用量-反応評価を行った。ウレタンをマウスに投与し、呼気中排泄、体内分布を測定し、その用量-反応評価を行った。

7. 動物実験結果から化学物質の低濃度暴露時のヒトに対する影響を推定するための毒性動態学的研究（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）。

クロルデン、ケルセン、ウレタン、ムスクキシレンの血中濃度・尿中排泄等に関するデータを速度論的に解析し、その用量-反応評価を行った。

8. リスクアセスメント手法等の改善と確立等に関する研究（厚生省科学研究費、生活衛生局生活化学安全対策室）。

化学物質の安全性をより正確に評価するためのトキシコキネティクスの試験の意義を考察し、トリクロロエチレンに関する代謝試験結果を速度論的解析を行い、用量-反応評価を検討した。

化学物質情報部

部長 神 沼 二 真
前部長 竹 中 祐 典

概 要

国際化学物安全性計画（IPCS）への協力も8年目を迎え、わが国がその作成に当たった環境保健クライテリア「フェンバレレート」、「ベルメトリン」および「d-フェノスリン」の原案を最終的に検討するわが国では初の東京タスクグループ（専門家会議）を昭和63年7月4日から8日にかけて、わが国を始め8カ国からの18人の専門家の参加のもとに当所講堂で開催した。直接ドラフトの作成に関与した所内外の研究者はいうにおよばず、全所的規模ならびに厚生省関連部門の温かい協力により成功裡にこの初の国際会議を終えることができた。

平成元年3月31日付で、竹中祐典部長が退職し、平成元年5月1日付で、神沼二真部長が就任した。昭和63年4月1日付で、會田喜崇主任研究官が安全性生物試験研究センター毒性部から配置換えに、また山本都

主任研究官が食品添加物部との併任になった。

業務成績

1. 国際有害化学物質登録制度（IRPTC）

(1) IRPTC 法規制情報ファイル作成への協力として、日本の化学物質規制データ20件（308物質）の変更、追加または削除の通報を行った。

(2) 照会一回答サービスについては、当所から17件、IRPTCより12件、その他3件計32件の質問および回答に関する業務を行った。

(3) 昭和63年度IRPTC国内協力委員会を平成元年1月25日に開催し、IRPTC関連業務の年次報告と関連する当所の情報活動（国際化学物質安全性カード計画、化学物質毒性試験現況リストの作成）および関連機関の情報活動として、日本食品衛生協会の事業と化学物質安全・情報センターの「化審法既存化学物質リスト」データベースの紹介が行われた。

2. 国際化学物質安全性計画（IPCS）

(1) 昭和63年7月4日から8日まで、当所が作成した環境保健クライテリア「フェンバレレート」、「ベルメトリン」および「d-フェノスリン」の原案についての国際的な専門家会議（タスクグループ）を当所講堂において開催し、最終的な検討を加え、安全性の評価作業を行った。

(2) 健康安全性指針（HSG）「磷酸トリスジプロモプロピル」の原案作成に着手し、その文献調査ならびに執筆者の選定を行い、池田良雄（元当所センター長）、松本哲夫（東京医科歯科大学）、池田庸（慈恵会医科大学）、小林和雄（食品農薬薬品安全性評価センター）および当所の戸部満寿夫センター長、田中彰生物化学部長、福岡正道生物化学部長室長の各原案検討委員に分担執筆を依頼した。

(3) 当所が作成した環境保健クライテリア「マイコトキシン」の原案についての専門家会議が昭和63年9月にロンドンで開催され、最終的な検討を加えて、安全性の評価作業を行った。

(4) 当所で作成した環境保健クライテリア「デルタメスリン」、「テトラメスリン」および他機関作成の1品目（サイハロクリン）の原案についての専門家会議が昭和63年10月24日から28日までジュネーブにおいて開催され、最終的な検討を加え、安全性の評価を行った。

(5) 環境保健クライテリア「フェニトロチオン」に関する原案に必要なデータの追加を行い、第一次原案を完成し、IPCSに送付した。

(6) FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会による30年余におよぶ安全性評価活動を総括したIPCSの環境保健クライテリア「食品添加物の安全性評価の原

則」を所内外の専門家の協力により翻訳し出版した。

3. オンライン検索と情報誌発行

システム別の利用件数は、Dialog 301件、JOIS 38件、CIS 14件、STN 11件、Data-Star 5件、およびBRS 3件で、総利用件数は327件で昨年度より約20%利用が増加している。Dialogでの使用ファイルの内訳は生物医学系データベース(MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, CANCERLIT, NIOSH, IRL)の利用が全体の約50%、化学系データベース(CAS, CHEMNAME, その他)の利用が全体の約30%を占めている。検索方法の変化としてはDial Indexを使っている予備的検索を実施するケースが増えており、結果としてより多くのデータベースにアクセスしている。

情報室ニュースは、No. 52, 53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

(1) 図書係業務

昭和63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	15,551千円	(14,174千円)
国内雑誌	1,314	(1,104)
内外図書	1,461	(1,310)
製本費	951	(951)
	19,277	(17,539)

この他に、受託研究費(細胞バンク)に係わる文献購入費から1,069千円を図書購入費に充当した。

外来閲覧者は、120名、外部からの文献複写依頼は44カ所から275件であった。

(2) 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106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. バイオロジカルデータベース作成・検索システムに関する研究

昨年度VAX Station IIで作動するためのプログラムの変更を行ったが、本年度はさらに若干のプログラムの変更を行い、一応データベースシステムとして完成した。なお、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(変異原性部、薬理部、病理部と共同)。

2. 化学物質設計支援のための知識ベースシステムの開発に関する研究

昨年度行った「毒性予測知識ベースシステム」のテストシステム構築に引き続き、本年度はバイオロジカルデータベースと結合したVAX上の予測システムを

構築した。本システムは、データベース中のデータと化学構造を利用し、統計処理、本年度は判別分析を用いて変異原性などの予測を行うものである(科学技術振興調整費、変異原性部、病理部と共同、科学技術庁振興局情報課)。

3. 農業に関するデータベースの作成と利用

「農業の安全性評価データベース」にFAO/WHO合同農業残留専門家委員会により評価されたADIとその根拠となるデータを入力した。また、本データベースの国際的な利用の可能性についてIPCSの担当官と協議した。

4. リスクアセスメント手法などの改善と確立に関する研究

当所に於て本年度より5ヵ年計画で開始された標記研究の一環として、本年度は関係各部(7部)での標記研究に必要な情報の種類、これに関連する情報の収集、加工および蓄積方法に関して検討した。特に、一般毒性に関するデータについてのバイオロジカルデータベースの利用方法を検討した。

5. 化学物質の安全性評価

「食品添加物のアレルギー性に関する調査研究」

FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会のA(1)リストに記載されているわが国で未指定の食品添加物15品目について安全性に関する文献要約集を作成した。また、昭和60年度より行ってきた本研究のために開発した情報検索手法について総括した(厚生科学研究、食品部、毒性部、医化学部、食品添加物部、東京大学薬学部と共同、厚生省生活衛生局食品化学課)。

6. 安全性評価手法に関する研究

「実験動物の吸入(経気道)による急性毒性試験法に関する研究」

実験動物を用いた化学物質の吸入毒性評価については曝露方法、曝露濃度の管理など技術的に解決すべき問題があり、また得られた試験データの評価に関しても検討すべき課題が多くある。化学物質の吸入毒性を適切に評価するための指針作成を目標として基礎的検討に必要な情報を収集し、検討を加えた(厚生科学研究、安全性生物試験研究センター、東京歯科大学、東京女子医科大学、三菱化成工業(株)、日本海事検定協会と共同、厚生省薬務局安全課)。

安全性生物試験研究センター

センター長 戸部 満寿夫

動物舎改修の影響を受け、多少の遅滞は止むを得な

いところであったが、昭和63年度も例年通り、厚生省をはじめ環境庁、科学技術庁、文部省および労働省からの研究業務あるいは助成研究がほぼ順調に遂行された。

本年度は海外との交流が特に際立つ年であった。当方からは3名の留学生を別として、国外の学会や会議の参加者は計15名、延べ30回におよんだ。海外からの滞在者も6ヶ国から7名を数えた。特に、米国環境保健衛生研究所との“環境化学物質の毒性諸問題に関する会議”では化学物質の毒性試験実施のプライオリティ、試験方法、データ評価を含む広範な毒性関連問題について多角的に討議し、関連領域の現状認識や将来計画についても多くの成果が得られた。また、副次的に双方の理解が深まったことにより、今後の協力態勢に計り知れない弾みを得たと考えている。

昭和53年に、毒性データの供給を目的として設置されたセンターも満10歳を迎えた。関係者各位の多大の努力によって所期の目的は十分達せられたと信ずるものであるが、これを機に、過去を振り返る老人趣味は措いて、将来を見据える必要があろう。

昭和63年に凶らずも本所の移転問題が生じた。これを千載一遇の好機として把え、研究体勢の進展を考える必要もあろう。恐らく究極的に、人間が造ったものの後始末は人間がやらなければならない、と考えている。この意味で、安全性の研究対象は人が創造活動を止めない限り続くであろう。

63年度で認められた評価室の新設が、大きな進展の小さな一歩になることを期待したい。

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12カ所、審査第二課担当分2カ所および生活化学安全対策室担当分化学物質 GLP 審査1カ所に当部から8名の室長および主任研究官が参加した。

海外からの研修生としては、韓国国立安全性研究所の朴 漢秀氏が第4室で昭和63年10～11月、同じく同所の祭 甲龍氏が動物管理室で、昭和63年10～12月まで、中国湖北省薬品検験所の黄 芒莉氏が第3室で昭和63年9～10月まで、それぞれ毒性学全般に渡っての実習を行った。

長年に渡って動物飼育の業務を担当された浅貝美津江厚生技官、石坂アサ厚生技官が、平成元年3月31日付をもって退官された。

第1室の安原加寿雄研究員、高田幸一研究員、第2室の関田清司研究員、松本清司研究員が平成元年4月1日付で、それぞれ主任研究官に昇任した。鎌田栄一主任研究官は、昭和63年10月から化学物質審査官として生活衛生局生活化学安全対策室に勤務し、化審法関係の仕事に週1回従事している。

黒川雄二部長は、昭和63年9月11～20日まで、米国 NIEHS で開かれた IPCS の参加機関機関長会議、平成元年1月29日～2月3日まで米国ハワイ州コナ島で行われた環境化学物質の毒性諸問題に関する米国環境保健衛生研究所との会議および平成元年2月19日～3月2日までフランスの IARC で開かれた発癌性モノグラフ作成会議に出席した。松本清司主任研究官は、昭和63年7月中国北京で開かれた国際免疫異常動物学会に出席、発表を行った。同主任官は平成元年3月学位（医学博士）を取得した。

研究業績

1. 科学技術庁：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

1) 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および多世代試験を終了した。

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ラットによる慢性毒性試験を開始した。さらに塩素処理ポリアクリルアミドのラットによる亜急性毒性試験を行った。

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）

ウサギを用いた注射剤の局所刺激性試験法を確立した。

2) 乱用薬物鑑定法整備研究（薬務局麻薬課）

毛髪中乱用薬物鑑定法を確立するため、サルを用いてモルヒネとヘロインに関する実験を行った。

3) リスクアセスメント手法等の改善と確立に関する研究（生活衛生局生活化学安全対策室）。

短期毒性試験法の長期毒性予測性に関する研究を毒性部の既存データを用いて行った。

4) 組織および血清に接触する医療用具に用いる材料の前臨床試験のガイドライン作成(薬務局審査一課)。上記に係わるガイドラインの作成を行った。

5) 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研究(薬務局審査一課)。上記に係わるガイドラインの作成を行った。

6) 食品の規格試験法に関する検討(生活衛生局食品衛生課)。

寒天中のホウ素濃度についての検討を行った。

7) 実験動物の吸入(経気道)による急性毒性試験法に関する研究(薬務局安全課)。

マウスを用いてアンモニアの急性吸入毒性試験を行った。

8) 紫外線吸収剤の配合基準設定に関する研究(薬務局審査二課)。

紫外線吸収剤に関する欧米の状況調査および個々の成分に関する毒性等の文献収集を行った。

9) 薬品等に用いられるフロンの代替品に関する研究(薬務局審査二課)。

代替品の為の毒性試験(PAFT, Program for Alternative Fluorocarbon Toxicity Testing)の概要と現在使用されている主なフルオロカーボン類の安全性について調査した。

10) 化粧品原料および化粧品の安全性試験項目設定のための基礎研究(薬務局審査二課)。

新規化粧品材料申請に際しての9項目のガイドライン設定を検討した。

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) ミョウバンとコチニールの相乗毒性

ラットによる慢性毒性試験を継続中である。

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

鉱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継続中である。

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) テトラプロモビスフェノールA

マウスによる発がん性試験を継続中である。

b) 2,2'-メチレンビス-(4-メチル-6-tert-ブチルフェノール)

ラットによる慢性毒性試験を継続中である。

c) 2,2'-イソプロチリデンビス(4,6-ジメチルフェ

ノール)

ラットによる急性毒性試験を行った。

2) 既存化学物質

a) ジイソプロピルベンゼン

ラットによる発癌性試験を継続中である。

b) ジベンテンダイマー

ラットによる急性毒性試験を行った。

c) クロロサイクロヘキサン

ラットによる28日間反復投与試験を行った。

7. 厚生省:生活衛生局,水質試験検査費

1,3-ジクロロプロピオン酸の28日間反復投与試験を行った。

8. 厚生省:乱用薬物試験研究費(薬務局麻薬課)

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

今年度は,クリーンラボの工事が完成し,サルを用いる精神依存性実験の開始の為の諸検討を行った。

9. 厚生省:癌センター企画調整室,がん研究助成金

変異原性を持たない物質による動物発がんとその評価

非変異原物質であるが発がん性を示す物質(特にペルオキシゾーム増殖剤)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,安全性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継続した。

11. がん研究振興財団助成金

活性酸素を介する発がん機構に関する研究

臭素酸カリウムおよびペルオキシゾーム増殖剤について実験を行った。

薬 理 部

部 長 高 仲 正

概 要

昨年度より継続した4,10号館動物飼育施設の改修により,whole animalを用いる試験・研究は一部計

画変更を余儀なくされたが、数年前より推進してきた *in vitro* を中心とした試験・研究は、細胞電気生理を加えて、順調な成果をあげた。今年度は8課題について研究を終了し、新たに5課題について研究を開始した。なお、経常研究以外では、厚生省9、環境庁1、科学技術庁2、文部省1、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。

末梢薬理研究室井上和秀技官は4月1日付で主任研究官に昇格し、8月1日付でライフサイエンス室併任を解かれた。生化学薬理研究室川西徹技官は、科学技術庁長期在外研究員として米国カリフォルニア州立大学パークレイ校生理解剖学部生理学教室 R. Y. Tsien 教授のもとで、細胞の機能変化とカルシウム動態の解析研究を終了し、10月31日帰国した。同技官は、12月1日から1年間の予定で、ノースカロライナ大学医学部細胞生物学・解剖学教室 J. J. Lemasters 教授のもとで、画像記録および解析装置付顕微鏡システムを用いて化学物質の細胞毒性試験法の開発研究を行うため、1年間の予定で出張した。短期海外出張は、高仲：FAO/WHO 残留農薬合同会議（ローマ、9月17日～30日）、環境化学物質の毒性諸問題に関する米国環境衛生研究所との会議（ハワイ、1月29日～2月3日）、田中室長：GLP 査察（オランダ、ベルギー、10月1日～16日）、藤森室長：GLP 査察（デンマーク、11月7日～17日）、大野室長：東南アジア・西太平洋薬理学会（北京、6月30日～7月14日）、米国毒性学会（アトランタ、2月26日～3月6日）、井上主任研究官：米国神経科学会（トロント、11月11日～21日）、日米非エネルギー科学技術研究計画による毒性研究の打合わせ（米国、2月26日～3月19日）の延8件であった。また、国内 GLP 査察には延5名が参加した。

外国からの研修生としては、Dra. Srikandi Djajalaksana さん（インドネシア共和国国立薬品食品品質管理試験所、62年8月31日より2年間）、黄 芒莉さん（中華人民共和国湖北省薬物試験所、11月1日より2月28日まで4か月間）がそれぞれ後世代影響研究室において催奇形性試験の技術と結果の評価について研修を行った。

業務成績

一般依頼試験として、輸液用プラスチック容器試験用対照プラスチック移植試験1件を行い、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) 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（重点基礎研究，科学

技術庁）

本年度で研究を終了した。

ii) 肝遊離細胞を用いた化学物質の毒性発現機構の解明に関する研究（厚生科学研究，厚生省）

iii) 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

iv) 各種化合物の培養神経機能に及ぼす影響に関する研究

v) 医薬品の平滑筋細胞機能に及ぼす影響に関する研究（単離平滑筋細胞における交感神経伝達物質の作用）（科学研究費補助金，文部省）

vi) 心筋および心筋細胞を用いた化学物質の障害発現機構に関する研究

vii) 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）

本年度で研究を終了した。

viii) 肝以外の臓器における薬物代謝酵素の特性に関する研究

ix) ニトロソアミン類の臓器障害性および毒性発現機序に関する研究（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）

本年度で研究を終了した。

x) 薬用資源植物の確保、開発および利用（生薬の循環系における薬理作用に関する研究）（受託研究）

本年度で研究を終了した。

xi) 覚醒剤等の中枢作用に関する行動薬理学的研究

xii) 発達期における薬物感受性の変化に関する行動薬理学的研究（小児医療研究，厚生省）

本年度より3年計画で研究に着手した。

xiii) 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）

本年度で研究を終了した。

xiv) バイオロジカルデータベース作成・検索システムの研究

本年度で研究を終了した。

2. 医薬品等の後世代に及ぼす影響に関する研究

i) ジチオカルバメート系化合物の赤血球障害性と胎児毒性に関する研究

本年度で研究を終了した。

ii) ステロイドホルモン剤の男性化作用に関する研究

iii) 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）

iv) 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対策室)

v) 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,生活衛生局生活化学安全対策室)

3. 有効性・安全性評価のための化学技術開発に関する研究

i) 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査法の確立に関する研究(国立機関公害防止等試験研究,環境庁)

ii) 培養肝細胞を用いた安全性検査法の確立に関する研究(受託研究)

iii) トランスジェニック植物を用いた新生理活性物質の研究(科学技術振興調整費,科学技術庁)

本年度より3年計画で研究に着手した。

iv) 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究(新生仔における行動発達試験法の検討)(特別研究,厚生省)

本年度より3年計画で研究に着手した。

v) リスクアセスメント手法の改善と確立に関する研究(厚生科学研究,生活衛生局,生活化学安全対策室)本年度より5年計画で研究に着手した。

vi) 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研究(厚生科学研究,厚生省)

単年度の研究を終了した。

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4月1日付で今井田克己腫瘍病理研究室長が着任し,同じく高橋智香子腫瘍病理研究室技官が4月1日付で採用された。

本年度,林裕造部長は以下のように海外に出張した。アメリカで行われたILSI「加齢性病変の研究企画会議」(昭和63年6月23日~28日),ストックホルムでの「遺伝毒性物質のリスクマネジメントに関するシンポジウム」(昭和63年10月1日~13日),アメリカで行われた「日米食品化学パネル」(昭和63年11月6日~13日),アメリカでのILSI総会(平成元年1月19日~28日),スイスのJECFAの会議(平成元年1月29日~2月10日),アメリカでの「日米癌協力事業セミナー」(平成元年2月21日~26日)に出席し意見交換を行った。高橋道人一般病理研究室長はアメリカで開かれた「環境化学物質の毒性諸問題に関する米国環境保健衛生研究所との会議」に出席した(平成元年1月29日~

2月3日),前川昭彦病理組織診断室長はルクセンブルクで開催された「腎毒性に関するワークショップ」に出席した(昭和63年4月24日~5月1日),また同室長は西ドイツで開催された「日独環境保護技術協力パネル(環境化学物質の健康への影響)」に関するワークショップに出席し意見交換を行った。今井田克己腫瘍病理研究室長は,スイスで行われたIPCS Task group 会議に出席(昭和63年10月22日~10月30日),また日米非エネルギー科学技術研究計画に基づく年次計画としてアメリカに出張し,NIEHS,NIH等を訪問し意見交換を行った(平成元年3月5日~18日)。

研究業績

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為のリスク評価

B. ヒトがん発生に関する要因の基礎的・臨床的研究

1) 発がんに関する物質の強度の検討

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) 膀胱発がんの修飾要因

E. ヒトがん一次予防の疫学的研究

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. 発がん促進とその抑制に関する研究

B. ヒト個体および集団の発がんリスクの推定

1) 内因性発がん促進/抑制要因の検討

C. ヒト発がん促進要因の検出とそのリスク評価

1) 胃がん発生の促進要因の研究

3. 文部省科学研究費補助金関係

A. 化学発がん過程における細胞形質発現の推移とその安定化

1) 実験膀胱がんの発生過程における形質発現の特異性

- B. 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
- C. 発がんにおける酸素ラジカルの関与
 - 1) 酸素ラジカルを媒介とする化学発がんに関する研究
- 4. 厚生科学研究費（特別研究事業）国庫補助
 - A. 医療用具および医用材料の毒性試験体系の確立に関する研究
 - 1) *in vivo* 試験に関する研究
- 5. 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. ビロリン酸カリウムの慢性毒性ならびにがん原性試験
 - B. タンニン酸の慢性毒性ならびにがん原性試験

変 異 原 性 部

部 長 石 館 基

概 要

前年度に引き続き、食品添加物その他の生活関連物質につき、微生物を用いる突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験ならびに、マウスを用いる小核試験を担当してきた。微生物を用いる変異原性試験においては、特に、従来 Ames テストに使用されてきた菌株を改良し、バイオテクノロジーを導入して、環境汚染物質として知られるニトロアレーン類および芳香族アミン類に対する高感受性菌株を新しく樹立することができた。現在、フィンランドより Dr. P. Einestö を招へいし、共同研究を実施中である。染色体異常試験においては、日米間の協力研究の一環として、米国 NTP で採用されている試験法と本邦の試験法ガイドラインに起用されている手法との比較研究を行い、多大の成果を得ることができた。さらに、小核試験に関しては、フローサイトメトリーを応用する新しい手法の開発を行っており、このために、昨年10月より、当研究室の林真主任研究員はフィンランド環境保健研究所に1年間の予定で出向している。

対がん10カ年総合戦略に基づく厚生省細胞バンク事業は本年度で5年目を迎えるが、その運営は順調に運び、その業績は各種学会から高く評価されている。特に、細胞株に関する品質管理を徹底することによって、従来使用されてきた細胞株のいくつかのものに重要な取り違いのある可能性を指摘することができたことは幸いである。

昨年8月より、タイの国立衛生研究所より、1年間

の契約で Suwanna Charunut 女史を、さらに、9月より、中国衛生研究所より黄茉莉女史を研修生として迎えた。また、同年8月、微生物変異研究室の能美健彦技官は、米国 MIT での2年間の留学を終え帰国した。本年3月能美技官は JICA 協力事業の一環としてインドネシアに1ヶ月半出向した。同月、ヒューマンサイエンス財団リサーチレジデントして名古屋市立大学より羽倉昌志博士を迎えた。部長は、本年2月、ハワイにおける「環境化学物質の毒性諸問題に関する米国 NIEHS 研究所との会議」に参加、細胞変異研究室の祖父尼俊雄室長は日米協力事業のため3週間、米国 NTP 関連研究機関を訪問し、研究の打ち合せを行った。細胞バンクのリサーチレジデントとして、過去3年間協力を願った川瀬雅子博士は、昨年12月に退所された。行政業務、試験研究業務ならびに研究生の指導等に多忙を極めたが、この間、各種学会に合計18題の発表を行い、また、国内外の学術雑誌に合計11題の論文を発表することができた。なお、目下、当部で行われた約700種類の化学物質に関する変異原性試験データ集を作製中である。

平成元年5月29日に、変異原性部は変異遺伝部に改称された。

研究業績

1. 食品添加物の変異原性に関する研究
 - 10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. γ 線照射した柑橘類の変異原性に関する研究
 - γ 線照射したグルコース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6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) 動物実験結果から化学物質の低濃度暴露のヒトに対する影響を推定するための毒物動態学的研究。4種のニトロビレンによる哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を行った（環境庁、国立機関公害防止等試験研究費）。
 - 3) 既存化学物質5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) 2種のチャイニーズハムスター細胞株, CHLとCHO, を用いて染色体試験における感受性を比較した(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

9種の高分子医用材料抽出物についてサルモネラ菌による変異原性試験を行った。

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(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

小核誘発における投与回数の影響について検討を行った。

7. 活性酸素の染色体異常誘発機構に関する研究

スーパーオキシドラジカルを発生するといわれているメナジオンに対する耐性細胞を樹立し染色体異常誘発性について検討した。

8. 照射食品の安全性に関する研究

照射グルコースより生成するグルコソニン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、クローン遺伝子の塩基配列を決定した。

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ンドのアグリコンであるステビオールの変異誘発作用についてプラスミドDNAを用い検討した。

11. 医療用具および医用材料の毒性試験体系の確立における変異原性試験の適用について検討した。

12. 変異原性試験のデータベース

遺伝子突然変異試験の結果についてデータファイルを作製した。

13. 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に、バイオロジカルデータベースを利用して、統計処理による毒性予測システムを構築した。

14. リスクアセスメント手法等の改善と確立等に関する研究。変異原性試験のデータの定量的評価と国際的比較(生活衛生局生活化学安全対策室)。

15. 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およぼす影響を、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。

16. 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63年度末までの収集細胞株は600株, 昭和63年度中の作製アンプル数は約3000本, 供給アンプル数は2500本であった。供給件数は増加の傾向にあり平成元年度は3000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った。

大阪支所

支所長 伊 阪 博

昭和62年度第3・四半期以降、新たにインスリン製剤の国家検定・検査および標準品の製造業務を開始し、これらの業務は昭和63年中に本格化したほか、製品検査、一斉取締試験、輸入食品検査および特別行政試験などをほぼ例年みの件数で処理している。これらの業務のほか、特別研究、国立機関公害防止等試験研究、食品等・家庭用品等試験検査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年度から継続の(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は第I期が終了し、平成元年度以降の第II期が予定されている。

大阪支所各別別に以下詳述するような内容のものが採りあげられ、それぞれに成果をあげている。

庶務課人事異動は昭和63年11月1日付で大野昭彦庶務課長が退職し、後任課長に豊田芳男事務官（薬務局経済課流通調査官）が発令された。平成元年3月31日付で津田直孝庶務課長補佐〔庶務・業務係長併任〕が定年退官された。同職後任に高田正義事務官（総務部庶務課庶務係長）が平成元年4月1日付で昇任発令された。また同日付で酒井正行庶務課会計係長が総務部会計課施設係長に、後任に瀧田秀生事務官（総務部庶務課厚生係）が昇任発令された。

薬 品 部

部 長 木 村 俊 夫

概 要

第3年次を迎えた高分子材料および超ろ過膜に関するHS財団の受託研究を前年度に引き続き行い、学会等に発表した。62年度から開始したヒトインスリン製剤の国家検定・検査および標準品製造業務は大きく増加した。

平成元年4月1日付で宮崎玉樹技官が採用となった。

平成元年2月20日から同3月24日まで、インドネシア国医薬品食品品質管理プロジェクトの研修生としてSyahrial Tahir氏が標準品に関する研修を行った。また、現在フィリピン国食品医薬品検定センタープロジェクトの研修生としてNazarita Lanuza氏が3月13日から8月11日までの予定で標準品および機器分析の研修を行っている。

平成元年5月29日から部名を薬品試験部と改称することとなった。

業務成績

1. 国家検定

ヒトインスリン製剤が93件で、全品合格であった。

2. 国家検査

ブドウ糖注射液が134件、インスリン製剤が3件で全品合格であった。

3. 一斉取締試験

d-およびdl-マレイン酸クロルフェニラミンを含有する内服固形製剤11件および副腎皮質ステロイドを含有する点眼剤（液剤）21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11件（岡山県5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

26品目、計4528個の標準品を製造した。

6. その他

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。また、第12改正日局のための原案の作成を行った。

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) 日本薬局方収載のニコチン酸注射液、複方ビタミンB散の液体クロマトグラフ法およびプロゲステロンの吸光度測定法による新しい定量法をそれぞれ確立し、改正案を作成、提案した（薬務局安全課）。

i-2) 日本薬局方アセトアミノフェン、エテンザミド、ブリミドンの3品目への吸光度測定法の適用を検討した。現行の窒素定量法による方法との比較および必要な標準品の試製とその評価を行い、新法を確立した（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ために、新たに回転カラム法を考案し市販徐放性インドメタシンカプセルについて回転バスケット法、パドル法、フロー法との比較を行った。この新しい方法では徐放性製剤としての溶出挙動をより明確に表現できることを見出した（HS財団受託研究費）。

ii-2) 日局収載のアザチオプリン錠ほか8品目の錠剤について溶出試験設定のための基礎的な検討および実態調査を行い、試験規格の検討を行った（厚生科学研究、薬務局安全課）。

iii) 標準品の品質規格の設定に関する研究

平成元年度告示予定のエストリオール、酢酸クロルマジノン、メストラノール、メチルジゴキシン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、リン酸ベタメタゾンナトリウムの各標準品についてその品質規格の検討を行った。

2. 医薬品と高分子物質の相互作用に関する研究

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

エビ甲殻から調製したキトサンの酢酸塩を用いて調製した膜に、種々の難溶性薬物、水溶性薬物およびたん白質を内包させ、膜からの放出挙動を調べた。また、動物体内に埋没させたキトサン膜およびキトサン再アセチル膜の分解性について検討した（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

酢酸セルロースの逆浸透モジュールの除去性能の変

化について2年間にわたり継続的に調べた結果、ほぼ初期の除去性能を維持していることが認められた。膜の除去性能低下の指標物質としてのヒスタジンの膜透過機構を関連物質を含めて検討した結果、膜への吸着の増加と膜内での拡散速度に大きく依存していることが明らかとなった(HS 財団受託研究費)。

iii) 電気泳動法の生物化学的応用に関する研究

iii-1) インスリン製剤の純度試験法を改良するための検討を行った。

iii-2) インドネシア国研修生の S. Tahir 氏との共同研究で、牛および豚肉の電気泳動法による簡易判別法を検討した。

iii-3) デオキシコロール酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いて4℃で細菌内毒素(LP S)をR型およびS型に分画し、それぞれのウサギにおける発熱活性およびLAL凝固活性を調べた。単位重量当り比較するとき、R型はどちらの活性においてもS型よりも有意に強いことを明らかにした。

iv) 血漿たん白と薬物の立体特異的結合に関する研究

ラット体内におけるβ-ブロッカー各光学異性体の分布容積が異なることから、α₁-酸性糖たん白(AGP)との相互作用を推定し、ラット血液からAGPを分離、精製し、ビンドロールほか3種のβ-ブロッカーについてそれぞれのR体およびS体との親和性を平衡透析法により調べた。各β-ブロッカーの異性体はラットAGPとそれぞれ固有の結合を示す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関する食品分析の指導」のため、フィリピンに出張した(昭和63年7月7日~10月6日)。

海外泰秀室長は、「プロスタグランジンの生化学的研究」のため、米国ケンタッキー州立大学に出張中である(昭和63年8月25日~平成元年8月24日)。

平成元年2月15日付で、稲森一美研究補助員が当部を退職し、大阪大学病院薬剤部に転職し、平成元年4月1日付で、柿内雅研究補助員が新規採用された。

平成元年5月29日から部名を食品試験部と改称することとなった。

業務成績

1. 製品検査

食用タール色素446検体について検査した。上記以外に、食品添加物部の実験室修理期間中(昭和63年4月22日~6月15日)の89検体は検査不可能なため、当部で行った。したがって本年度行った検査総数は535検体となった。いずれも不合格はなかった。

2. 輸入食品検査

農産物(ラーメン、マンゴー、漬物等)38検体の安息香酸、ソルビン酸、二酸化イオウ、サイクラミン酸、BHT、着色料等73試験項目を検査した。

水産物(エビフライ)2検体の着色料2試験項目、畜産物(ビーフ)1検体の亜硝酸、ソルビン酸、水分活性、着色料等の4試験項目、缶詰詰め(アワビ、高麗人参)10検体の酸化防止剤、EDTA、二酸化イオウ等の15試験項目、酒精飲料(ワイン)3検体のエチレングリコール、メタノール、安息香酸等の4試験項目を実施した。

本年度の総検体数は54件、総試験項目は98であった。

3. 特別行政試験

農産物中のエディフェンホス、トリクロロホン、ジスルホトンおよびホルモチオンの一斉分析法を作製した(生活衛生局食品化学課)。

4. 研修について

神戸および大阪農林規格検査所技官各1名ずつの研修を3カ月(昭和63年10月1日~12月28日)、摂南大学薬学部研究員1名の研修5カ月(平成元年3月6日~8月31日)、日本油料検定協会技術者1名の研修を6カ月(平成元年4月1日~10月21日)、国際協力事業団輸出入食品検査技術研修生7名(昭和63年11月7日~11日)および農業利用コースの研修生7名(平成元年4月24日~28日)の講義および実験指導を行った。

研究業績

1. 食品・添加物などの安全性に関する研究

i) 食品中の添加物の分析法に関する研究

酒、ミリン等の液体食品中のリゾチーム(天然添加物・保存料)の定量法を作製した。4-メチルウンベリヘリル-N,N',N''-トリアセチル-β-キトトリオサイド(基質)にリゾチームが作用することによって生成する4-メチルウンベリフェロン(強蛍光物質)を蛍光検出器付HPLCで定量する方法を作製した(厚生化学研究費、生活衛生局食品化学課)。

ii) 食品添加物の一日摂取量に関する研究

昨年に引き続き、地方衛研11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。

今年は加工食品中のB群添加物(アミノ酸、ビタミン、有機酸のような天然にも存在するもの)140品目

の春夏期での日本人の1人1日摂取量を測定し、57～59年度での秋冬期での測定結果と比較した。当部はグリセリン脂肪酸エステル、硝酸および亜硝酸を分担した。グリセリン脂肪酸エステルの1日総摂取量は3.95mgとなった。硝酸および亜硝酸の前処理には、除蛋白剤を必要としないモルカット法を採用し、硝酸はイオンクロマトグラフ法を用いることにより、迅速かつ高感度の測定が可能となった。硝酸および亜硝酸の1日総摂取量は各々43.89mg, 1.49mgとなった。前回のB群総摂取量(140品目)10,003.7mg(天然由来のもの含む)に比し、今回は998.6mgとなり、類似した値が得られた(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

各種食用タール色素中の硫酸根の測定法について検討した。現在使用されている活性炭は、ロットナンバーごとに硫酸根の吸着および溶出能が異なることが明らかになった。また従来行われてきた比濁測定法とイオンクロマト法について比較検討を行い、イオンクロマト法の方が再現性、感度の点で優れていることを明らかにした。

iv) 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(天然由来含有量)値の調査を行った。

今年に硝酸および亜硝酸について調査した。まず試験法について検討し、除蛋白剤を用いない限外濾過する両者の統一前処理法を作製し、亜硝酸は比色で、硝酸はイオンクロマト法を用いる簡易分析法を作製し、これらの方法を用いて生鮮食品82種, 加工食品121種について調査した。硝酸の生鮮食品中含有量(mg/kg)は、野菜類(1.5-7080), 豆類(3-1030), 果実類(ND-168), いも類(3.5-140)の順となり、加工食品では海藻類(5.5-8330), 漬物類(2.6-2200)と高い値を示した。亜硝酸の含有量は生鮮食品中では野菜類(ND-35), 豆類(ND-5), 加工食品では漬物類(ND-39), 海藻類(ND-13.5)等であった(厚生科学研究費, 生活衛生局食品化学課)。

v) 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

8種殺ダニ剤(Kelthane, Chlorobenzilate, Chloropropylate, Phenisobromolate, Chlorfenson, Tetradi-fon, Benzomate および Amitraz)のりんご, なし, いちご, いよかん, きゅうり, 緑茶, 玄米および大豆からの系統的分析法を作製した。

試料をアセトン抽出し、アセトンを留去後、n-ヘキ

サン-酢酸エチル混液(80:20)で再抽出し、キシレン置換後、フロリジルカラムによる精製に付し、n-ヘキサン・酢酸エチル(70:30)で溶出・濃縮後、ECD-GCあるいは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. 食品添加物の有効性に関する研究

昨年に引き続き、亜塩素酸ナトリウム(NaClO_2)および次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)の品質保持作用を検討した。魚類に対してはいずれも著名な効果は認められなかったが、野菜に対しては、 NaClO_2 は NaClO よりもはるかに強い抗菌作用を示し、褐変防止作用も認められた。

3. 食品中の有害作用物質に関する研究

前年度の調査結果より、過酸化水素(H_2O_2)含有量の最も高かったレギュラーコーヒーおよびインスタントコーヒーについて H_2O_2 の生成機構を検討した。その結果、コーヒー生豆中には H_2O_2 は存在せず、コーヒー生豆を焙煎することにより H_2O_2 の前駆物質が生成し、ついで水または熱湯で浸出することにより前駆物質より H_2O_2 が生成されることが明らかになった。またコーヒー生豆成分の焙煎・浸出による H_2O_2 生成の有無を調べた結果、コーヒー酸, クロロゲン酸および蔗糖から H_2O_2 が生成されることを証明した。

4. 陸水域における環境変異原物質の動態に関する研究

昨年度は当部で開発した改良Dean-Stark蒸留法を用いて水道水および水道原水中の汚染物質の補集および同定をおこなってきたが、含有量が微量で同定できないものが多く認められたので、今年に同一方法を用いて河川および浄水場の底質試料について検討した。

その結果、各所の底質試料から多くの化合物をGC上で確認し、それらのGC/MSによる同定を行った。クロロベンゼン類や多環芳香族化合物などの変異原性物質が検出された。また昨年度の水道水および水道原水と今年度のそれらの底質試料との間に相関性が認められた。

薬理微生物部

部長 川崎 浩之進

概要

前年度に引き続きインスリン製剤の国家検定, 検査およびブドウ糖の国家検査ならびに標準品製造を行ったが、さらに昭和63年10月告示のエンドトキシン標準品の製造も行った。

人事面では昭和63年8月1日付で、横浜市立大学医学部薬理学教室講師であった天野博夫薬学博士を迎え、当部の研究面もやっと整備され、軌道に乗りはじめた様に思われる。

平成元年5月29日から部名を生物試験部と改称することとなった。

業務成績

国家検定としてインスリン製剤93件、国家検査としてブドウ糖注射液134件、インスリン製剤3件、特別行政試験としてKN補液2件、生理食塩液、マルトース注射液、ニソリM注各1件(各々発熱性物質試験のみ)および輸入食品細菌試験としてビーフジャーキー1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

日局11に収載されている各種注射薬を集め、そのうち14品目について、あらかじめ本法を適用し得るか否かを知ることを目的に、本法に対する阻害あるいは促進作用の有無をゲル化法、ゲル化時間分析法および合成基質法を用いてチェックすることにより検討した。半合成中性インスリンを除いて、3つの方法とも反応阻害を検出した。しかし最大有効希釈まで希釈するとフルオレセインナトリウム、50%グルコース、デヒドロコロール酸の3品目を除いて、3方法の全てにおいて反応阻害は認められなくなった。上記3品目についてはゲル化法以外に他の2方法を活用しなければならないことを明らかにし、ゲル化法以外にこれら2方法をも局方に収載する必要があることを示した(HS財団受託研究費)。

2. 細菌性発熱物質(ET)の構造と作用機序に関する研究

i) ETの物理的性状と生物活性の相関性に関する研究

RO, UF膜による水製造の段階で認められたETが高圧にさらされた時一時的に活性を失い、常圧にもどすと1~2日ごに活性を回復する現象について、高圧のみの影響が否かを知るために、ETを10 kg/cm²の高圧で処理したところ、水製造時と同様に高圧処理によってLAL活性が可逆的に不活化されることを認めた。このような現象はETにおける新しい物性研究の糸口ともなる興味深い発見である(HS財団受託研究費)。

ii) ETと脳プロテオリピドの相互作用におよぼす有機錫の影響

脳プロテオリピドと有機錫との相互作用を知る目的で、その実験基礎として塩化トリブチル錫(TBT)をウサギに投与し環境温度を変化させるとウサギの体温

調節機能の障害がおこることを認めた。ウサギにおけるTBT投与の影響と脳プロテオリピドとの関連について検討を加えている。

iii) 溶連菌発熱性外毒素(SPE)によるETの毒性増強の作用機序に関する研究

SPEが脾細胞に作用してMφ活性化因子(MAF)の産生を誘導し、そのMAFを介してMφにET反応性の増強を伴う活性化をもたらすこと、さらにこのMAFは*in vivo*でETの致死毒性を増強する効果を有すること等を明らかにした。これらの結果から、SPEによるET致死毒性の増強機序にはMφの活性化が、内毒素反応の増強をもたらす要因として大きく関与していることを示唆した。

3. 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) 胎仔毒性に関連する生化学的指標を検索することを目的とし、これまで研究した胎仔特異蛋白(α -フェトプロテイン)とも関連する神経伝達物質受容器などの糖蛋白に注目し、アセチルコリン・レセプターなどの糖蛋白は糖鎖のキャリアーであるDolicholの燐酸化物の量に律速されていることから、ラットの筋小胞体のDolicholkinaseの活性について検討し、筋小胞体におけるDolicholkinaseの存在を証明し、さらに脳または肝由来のDolicholkinaseとは金属要求性やカルモデュリンの効果などにおいて差があることを明らかにした。

b) エタノールによる胎仔毒性と臍帯血管の収縮性との関連について実験の基礎をかためるため、ラットの妊娠日令を追って臍帯血管を調べ、観察可能な妊娠日令について検討した。

4. 薬用植物およびその製剤の生物評価に関する研究

小柴胡湯、五苓散、当帰芍薬湯、白虎加人参湯、香薷散、葛根湯、黄連解毒湯、大承気湯の8種の漢方薬について、エンドトキシンによる発熱家兎における解熱効果を調べたところ、当帰芍薬湯および大承気湯に解熱効果を認めた。

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料等の安全性評価に関する研究

受託研究第3年度において、RO, UF膜は原水が高濃度に細菌およびETに汚染されていない限り、それらを完全に除去し得る能力をもつが、微量のリークがあっても生菌数試験およびLALテストによって高分子膜モジュールの安全性は厳密に評価し得ることを明らかにした。またET標準品の力価をアメリカ標準品(EC-5)との対比によって、8 EU/ng/mlと規定しリ

ムルステストを日局11に追補収載することが出来、注射用水その他におけるETチェックの公式試験法となし得た(HS財団受託研究費)。

6. 先端技術産業に係る環境汚染物質による脳・神経機能に対する影響の評価法に関する研究

1) 環境汚染物質による体温調節機能障害に関する研究

体温調節機能における障害性の検索が、脳神経機能の障害性の指標として用い得るか否かを、2)における研究との関連において明らかにしようとした。

ウサギに各種錫化合物および有機溶剤を投与し、環境温を常温(25℃)、低温(6℃)、高温(35℃)と変化させ、体温を測定したところ、二酸化ジブチル錫、塩化トリブチル錫、ビス(トリブチル錫)オキシド、塩化トリメチル錫、塩化トリエチル錫、トリフェニル錫等に体温調節機能の障害性を認めた。しかしテトラブチル錫、三塩化メチル錫、無機の塩化錫には認められなかった。この結果有機錫のアルキル基の数と種類が障害作用の因子であることを示した。一方有機溶剤ではその作用が認められなかった。

また脳内ドーパミンは塩化トリブチル錫の投与により視床下部において有意の増加を認め、体温調節機能の障害性との関連を認めた(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)。

2) 環境汚染物質の脳神経機能障害の行動薬理学的検索方法に関する研究

ラットに塩化トリブチル錫を投与すると、自発運動量を低下させ、条件回避反応の学習も阻害することを示し、体温調節機能の障害性とも対応することを明らかにした。さらに血液および臓器内錫濃度の経時変化の検索により、脳内濃度が血中濃度より高くなり、脳へも多量の移行があることを示し、上記各実験結果を裏付けた(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)。

7. 生体関連反応指標の有意判定に関する研究

化学物質の皮膚組織に対する安全性評価の動物実験の代替法の検索を目的とし、Mφの培養系における形態学的変化、グルコース消費量、貪食能、活性酸素産生能等、活性の指標の測定法における基礎的検討を行った(特別研究、厚生省)。

北海道薬用植物栽培試験場

場 長 畠 山 好 雄

概 要

薬用植物栽培・品質評価指針検討会議においてマニ

ュアルを作成する対象植物90品目が選定されたので、栽培研究はこの線に沿って行うこととした。

海外出張については、畠山が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、甘肅、内蒙古、8月28日～9月11日)を訪問した。

業務成績

1. 種子交換

採種	234種	(筑波試験場へ送付)
受入	64件	398種
分譲	41件	102種

2. 指導業務

ケンの講習会が7月に名寄市で開催され、耕作者に対し講習を行った。栽培指導については、名寄・下川・網走・伊達・美深等の各担当者、栽培組合に対して行った。

研究業績

1. ケシ

アヘン収量および収量構成要素に対する栽植密度の影響を調べたところ、単位面積収量は、10a当り5000～19000株の範囲では、密植ほど多収を示し、特に第1回収量はその傾向が顕著であった。

構成要素のうち、有効歩合は第1回では疎密に関係なく100%に近いが、第2、3回では密植での減少が著しい。1果当りアヘン重量は今年は栽植密度の影響を受けなかった。

2. ホソバオケラ

種球の大きさを30, 60, 90, 120gの4水準とし、4年間に亘る生育経過を調べた。1株全生重は1～3年生では直線的に増加し、4年目はほとんど増加せず、根茎の肥大も全く同様の傾向を示した。

根茎重と相関の高いのは頭花数・草丈であり、茎数、葉数では低かった。

3年生における根茎重は種球30g区が小さく、他の3区はほとんど差が見られないため、種球は60gが適当と推論した。

3. 野生薬用植物

モッコウについては、移植と直播の生育および収量を調べる目的で行った。移植2年生では1株当り13枚前後の葉を分化し、各葉とも出葉後35～40日で伸長を完了する。一方、直播1年生では1株当り約10枚の葉を分化した。

単位面積当りの収量は移植2年生46～53kg、直播1年生11kg/100m²であった。

ギョウジャニンニクについては、在来系統6種について栽植密度反応を調べているが、1年目の生育では栽植密度の影響が見られなかった。1年目の単位面積

当り鱗茎収量は株数に支配されており、その相関係数は名寄系 $r=0.998$, 佐幌系 $r=0.959$ であった。

筑波薬用植物栽培試験場

場長 佐竹元吉

概要

昭和63年10月1日付で庶務課の森永修次郎課長が退職され、後任に総務部より、阿部秀雄会計課長補佐が昇任し、平成元年4月1日付で庶務課の藤井厚美係長が本所に転任し、総務部の六角順一事務官が係長に昇任した。

本年度は、従来の継続業務に加えて、昭和63年度国際流動基礎研究(省際研究)(科学技術庁振興調整費)による「トランスジェニック植物を用いた新生理活性物質の研究」(研究リーダー:下村室長)が開始され、農林水産省(生物資源研究所)、文部省等(筑波大学・千葉大学・東京大学・静岡県立大学)、厚生省(予研)の研究者が国内で最初の省間の併任辞令で研究が行われた。この研究のため、ペルーのアマゾン大学のフランクリン・アヤラ教授が昭和63年10月25日から3ヶ月間植物分類学的な研究のため来日し、平成元年2月1日から1年間アメリカのコネル大学のクリスチン・フランケメント研究員が民族植物学的研究のため来日して研究している。また、平成元年5月16日から3ヶ月間、カナダのグエルフ大学のアンドリュウ・パウエル研究員が遺伝子の導入に関する研究のため来日した。この他、所内では薬理部、衛生微生物部、食品添加物部とも共同研究を行っている。

長寿関連基礎研究の国際共同研究の「日中薬用植物・生薬の品質確保および利用に関する研究」は今年で終了するので、これに関する公開研究セミナー(平成元年2月22日)を開催した。

平成元年3月2、3日の両日、本所において、場長会議・薬用植物栽培試験場業務打合せ会議が開催され、所長、副所長、総務部長および生薬部長の列席により、意義ある論議が交わされ、省際研究員のクリスチン・フランケメント氏により「コカノキ葉の研究」の特別講演があった。

昭和63年4月より1年間、直轄研究所連絡協議会筑波問題特別委員会の補佐官として、佐竹場長が谷村所長を補佐した。

海外出張は飯田室長がヒューマンサイエンス振興財団の日中国際共同研究事業の一環として、中国(甘粛、内蒙古)(8月28日~9月11日)の山地での現地調査

を行い、佐竹場長が同研究の打合せのため、中国(北京)(平成元年1月10日~15日)に出張した。

研修生として、ネパールの王立植物園のクベル・マラ氏を昭和63年7月1日から平成元年3月31日まで国際協力事業団の海外技術研究員として受け入れ、飯田室長が指導を行った。

昨年度の昭和63年3月29日薬用植物栽培環境制御実験棟(165.51m²)が竣工完成し、今年度より試験的な運転が開始された。

業務成績

種子の保管数

種子貯蔵庫	(205種類)	645缶
交換用種子	(2039種類)	(1988, 1989年)
入手種子数	180件	794種
分譲種子数	200件	4010種
種子目録配付数	76ヶ国	416機関

研究業績

I. 薬用植物の栽培に関する研究

1) ミシマサイコとムラサキ

薬用植物の生産性と品質の関係を明らかにするため、多肥料区と貧栄養区を作り、特性調査を行った。土性を大きく火山灰土、赤土、砂土で検討した。

ミシマサイコの草丈は無肥区では抽苔株が少なく、草丈、根重とも小さかった。施肥区ではほとんど抽苔し、草丈、根重が大きかった。しかし根朽病の発生は施肥区に多く発生した。

ムラサキでは火山灰土での草丈は施肥区100.8cmに比べて、無肥区は73.7cmであり1本の根重は施肥区で24.04gに対して、無肥区は7.83gと軽いものであった。

ミシマサイコの炭ソ病防除薬剤の検討を行ったところ、Zボルドー、オーソサイドおよびトップジンMがやや有効であったが、散布回数、濃度の検討が必要である。

2. ハブソウ

個体選抜系統の特性を明らかにして、収量性のある系統の選抜育種を行った。母集団から選抜された6種類(白花と黄花の開花時期の異なるもの)の特徴は草丈は晩生種が高く分枝は中生種が多く、さや数は白花中生種が多く種子の100粒重は黄花晩生種が重い結果が得られた。今後、地域適性の検討を行う予定である。

II. 組織培養に関する研究

1) Riプラスミドによる形質転換細胞の研究

Agrobacterium rhizogenes (Riプラスミドを保持)を用いて毛状根の誘導率を高めるために acetosyringone, syringaldehyde および sinapinic acid を添加

したところ、ベラドンナ、タンジン等では有効であったが、トコンやセイヨウアカネではあまり効果が認められなかった。

2. 不定器官培養による物質生産

a) トコン

増殖法の効率化と育種法を開発する目的で、茎切片より不定芽を形成させる方法を検討した。最適の培養条件では1切片あたり40本の不定芽が得られた。この不定芽は発根し、土壌での培養が容易であった。

また、不定根よりの不定芽の形成率は暗黒下で高い率を示した。この不定芽は直接、土壌への移植が可能であった。

クローン増殖された植物のアルカロイド含量は、種子島と筑波（温室と圃場）での含量を比較してみると筑波栽培株が高い値を示した。

b) ホウノウソウ

中国産のホウノウソウの不定根を用いて、hyoscyamine から scopolamine への生合成の中間体といわれている 6 β -hydroxyhyoscyamine を定量して、アルカロイドの生合成系を検討した。不定根を6週間培養したところ、scopolamine は増加しなかったが、6 β 体と hyoscyamine は増加した。

Ⅲ. 薬用資源植物の開発研究

ペルー・アマゾンの薬用植物の研究としてイキトスの民間薬、Icoja Negra (*Unonopsis* sp.) の樹皮の成分を検索したところ、ヘキササン分画から3種類の化合物（アモルヒン系アルカロイド）を単離同定した。逆転写酵素阻害作用の活性の高い区は水溶性分画であった。なお、この研究に関連して、アマゾン・ペルーの材料を入手して、省際研究として総合的に検討を行っている。

伊豆薬用植物栽培試験場

場 長 西 孝三郎

概 要

本年度、一般国道の特定交通安全施設整備工事（歩道の新設）が行われ、當場敷地（正門の北側部分）の9.2m²が建設省へ所管換（渡）となった。海外出張は西が昭和63年7月30日～8月14日、植物資源調査のため中華人民共和国の新疆・ウイグル自治区へ、また昭和63年11月27日～12月4日、日本生薬研究者第八次訪中国のメンバーとして海南島へ出張した。

業務成績

1. 種子交換

採種 121種（筑波試験場へ送付）

内訳	野生植物	44種
	標本植物	58種
	温室植物	19種
受入	18件	85種
分譲	26件	110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った。

研究業績

1. ミシマサイコ

i) 伊豆・箱根地区に自生するミシマサイコの染色体数の確認。

昨年新たに見つかった自生地（入間）の株と未確認であった長者ヶ原、矢倉岳の株について染色体数を観察し、いずれも2n=26であることを確認した。

ii) 在来種とメリクロン種の肥料反応

1/2000フルポットを使用し、施肥量と施肥方法の試験を行った。その結果、主根重と細根重は施肥方法により有意差が認められ、メリクロン種は在来種に比べ追肥の効果が顕著であった。また、各試験区での標準偏差値はメリクロン種で小さく個体間のバラツキの小さいことと、メリクロン種は在来種に比べいゆる耐肥性の大きくなることが明らかとなった。

iii) 在来種とメリクロン種の個体変異について

昭和62年4月より栽培を行ってきた在来種とメリクロン種の2年生株を昭和63年11月にそれぞれ30株ずつ掘り取り下記の項目につき比較検討した。

①茎径 メリクロン種は在来種に比べ有意にバラツキが小さい（5%）。しかし平均値においては両種に差は認められない。

②根頭部径 メリクロン種は在来種に比べ明らかにバラツキが小さく（1%）、平均値は在来種に比べメリクロン種が小さい。

③根乾燥重量 メリクロン種は在来種に比べ明らかにバラツキが小さい（1%）が、平均値においては両種に差はない。

④エタノールエキス含量 バラツキは両種に差はないが、平均値においてはメリクロン種が在来種に比べ明らかに大きい（1%）。

⑤サイコサポニン含量 バラツキ、平均値ともに両種に差はない。

⑥サイコサポニン総量 メリクロン種は在来種に比べ明らかにバラツキは小さい（1%）が、平均値は両種に差はない。

2. ステビア

前年度に引き続き薬剤による倍数性植物の簡易検定法を確立するため、本年度は2, 3, 4倍体についてエチレンビスジチオカルバミン酸アンモニウムの葉面塗布試験を行った。塗布後3時間で変化が現れ始め、6時間後には各倍数体間に明らかな差が認められた。

2倍体は0.025%溶液で、3倍体は0.25%溶液でかつ変が認められ、ステビアの倍数性植物の簡易検定は可能であると判断した。

3. ナガバクコ

中国、新疆産の寧夏枸杞 (*Lycium barbarum* L.) を供試し、本年度より新規にコルヒチン処理による倍数性育種をスタートした。

供試種子を滅菌後、1/2MS培地に播種し、発芽後0.01~0.50%のコルヒチン培地に植換えた。1週間処理後再び1/2MS培地にもどし、根、地上部を2週間伸長させた後鉢上げした。気孔の観察はスンプ法により行い、染色体の観察は根端押しつぶし法により行った。コルヒチン濃度の高い区(0.3, 0.5%)ではすべて枯死し、0.01%の低濃度区では染色体数に変化は認められなかった。しかし、0.03~0.1%区では4倍体および同一株に2倍体と4倍体が共存するいわゆるキメラの株が確認された。気孔の大きさは無処理区に比べいずれも処理区で大きく、1mm²当りの気孔の数は無処理区に比べ処理区ではいずれも少ないことが確認された。

和歌山薬用植物栽培試験場

場長 野口 衛

概要

昨年に厚生省薬務局審査第二課を中心に薬用植物栽培・品質評価指針作成検討委員会が発足したのをきっかけに、全国的に薬用資源の国内生産と品質確保の動きが強まっている。当場は、有効成分含量を高める新しい生薬の栽培法、調製加工法の開発とその化学的品質評価法を確立し、併せて生薬標準品の製造を行うべく、実験室、分析機器の整備を行い、また実験補助員一名を雇い上げ、各栽培試験場よりの検体の加工ならびに分析の依頼を受け入れている。

海外出張としては、野口衛は、7月17日より8日間、米国ユタ州ソルトレーク市にて国際天然物討論会に参加し、“漢方製剤の品質確保に関する基本問題”について講演した。また、8月25日より3日間ソウルに出張し、韓国薬剤学会主催のシンポジウムにて、“漢方製剤の理化学的品質評価について”というテーマで特

別講演を行った。

施設面では、植物の植付け面積を増やすため、とくに低地で水の被りやすい圃場540m²に和歌山県より提供された畑土を客土し、圃場整備を行った。また、生薬材料の菌数を下げる洗浄法の開発を目的に、超音波洗浄装置を導入した。

さらに、平成元年4月19日、衛生行政セミナーのフィールド・トリップの外国行政機関専門家20名の見学を受け入れたことも、当試験場にとって新しい経験であった。

業務成績

1. 種子交換

採種	142件	
受入	12件	
分譲	13件	21種

2. 指導業務

行政対応として県薬用植物普及研究会に参加、また野口衛は県薬務課主催のシンポジウム「薬草栽培と地域活性」の司会をつとめた。また川辺町まちづくり研究会にカンキツ類果実乾燥品を用いる郷土土産品を作成、提供した。

団体見学者、外部依頼講習は14回、参加者は延べ860名、薬草問合わせ件数は86件で、その内訳は、種苗依頼23、転作品目照会ならびに栽培法21、薬効問合せ16、植物鑑定11、製造加工法11件となっている。

研究業績

1. キキョウの栽培と調製に関する研究

(1) 強制土壌通気栽培について

川砂、山砂、赤土、粘土質畑土、砂性畑土を暗渠配水管を敷設した梓試験区に入れ、その一部に土壌改良剤を施す。種子を20×20cm間隔に蒔き、間引いて一区16本に仕上げる。8月より暗渠配水管を通して土壌中に空気を送り込み(28L/min, 5hr/day)、秋に植物を掘上げ、草丈、地上重、花実数、根長、根重、根頭径を測定した。

その結果、根重は、通気区でいずれの土壌でも高い値が得られた。また、土壌改良剤は、蒴果、地上重、根重を含めた植物体の増収にプラスの効果が認められた。

土壌三相については、土壌通気により液相が増加した。土壌硬度は通気により減少した。また、土壌中肥料の残留量はいずれの区でも大きな相違は認められなかった。以上の結果から、土壌通気による根重増大は、通気により土壌中で微細な管状構造が形成、保持され、そこへ水分が浸透するためであると推定された。

本法は、根類薬用植物の収量増大を図る新しい栽培

法とみなし得る。

(2) PX ならびに散水の効果について

土壌改良剤の植物体増収効果は、先に述べたとおりである。また、9, 13, 17時に散水した区では、生根の重量、皮去り乾燥加工による歩留りは、対照に比べてともに高い値を示した。

(3) 試作キキョウの品質試験

当場で試作したキキョウは、市販輸入キキョウにくらべて色が白く、緻密で形も大きく、外観的に良質なものと判定された。日本薬局方にしががったエキス含量試験、サポニン含量試験においても両者はほとんど相違がなく、灰分のみ、試作品が日本薬局方の限度をわずかながら越えるやや高い値を示した。しかし、皮を剥いているので土砂の混入は起こり得ず、土壌中の無機塩類が根中に取り込まれたと考えられる。

2. キジツの調製と評価に関する研究

アマナツ、タノウラ、ナツダイダイ、ハッサクの未熟果実より製造した枳実の調製法とフラボノイド含量の関係を検討した。その結果、温風乾燥によりフラボノイドの約10%が分解し、果実の直径が増大するとフラボノイド含量は減少した。しかし、局方の限度値4.5cm以上では、含量に大きな変化は認められなかった。保存一年で枳実のフラボノイド含量は減少するが、とくに細切したものでその割合は大きい(約40%)。

また、フラボノイドの組成はいずれの種類も同じで、精油成分もハッサクに一部のセスキテルペン系炭化水素が認められなかった以外は共通であり、さらに、ヒスタミン遊離抑制作用にも大きな差異は認められなかった。

以上の実験の結果、ハッサクは、他のダイダイ区のものと同様にキジツ原料として使用可能と判断された。

3. ミシマサイコの栽培法に関する研究

和歌山でミシマサイコを実地栽培する場合の最適条件を検討するため、栽培期間、地上部の刈り込みの根重ならびにサポニン含量に及ぼす影響を検討した。

まず、鶏糞、堆肥、化成肥料(N, P, K, 3:2:3), 20, 70, 4 kg/a を施した圃場の一部に土壌改良剤PX (5 kg/a) を施し、4, 10, 11, 12月に播種、株間7 cmの千鳥形に間引き、二年生については地上部を50あるいは70cmに刈り込み、6, 11月に圃場2aから100本を掘上げ、根を水洗、温風乾燥、その内10本を細切りし、HPLCで分析した。

その結果は以下のとおりである。

1) 栽培期間が長くなると根重は増加するが、生存株は減少した。また、一年生の春蒔き秋取りは秋蒔き秋取りに比べて根重は低いが、面積当りの収量は高く

なった。

2) 二年生の根重は一年生に比べて4倍以上になるが、面積当りの収量は2倍以下であった。また、二年生の春取りと秋取りで根重はあまり変わらず、植物丈を短くすると根重はやや大きくなるが、面積当りの収量は減少した。

3) 根のサイコサポニン含量は個体ごとに大きく変化し、根重と正の相関を示すグループと負の相関を示すグループに分かれた。また、サイコサポニン含量は、二年生では一年生に比べて低くなるが、地上部を刈り込むと高い値を示した。

4) 二年生春取りのものは、根重は秋取りとあまり差はないが、サポニン含量は低い値を示した。また、サイコサポニンaとdの個体当たりの含量には高い相関が認められた。

5) 伊豆産種子より得た植物は、地上部が黒変し、開花結実しなかった。根重は大きく、サポニン含量も高い値を示したが、収量は良くなかった。

4. 生薬の調製加工法に関する基礎的検討

カラスビジャクは北海道試験場より分与された球根を用いた。ポウフウ、オウゴンは当場保存種子を一アールあたり硫酸カリ、過リン酸石灰、硫酸各2, 5, 5 kg, 土壌改良剤PX 6 kg, パーク堆肥700 kgを施した圃場に春と秋に植え付け、秋に収穫した。ジャクヤクとポタンは近くの農家で栽培した五年生根、カクコンは、日高川岸辺に自生したものを冬に掘上げた。ドクダミ、ゲンノショウコは標本園栽培品を用いた。

〔結果〕

1) ジャクヤクは、皮付きと金属タワシで皮を剥いたものをそのままあるいは湯通しし、天日あるいは温風乾燥したところ、皮を剥ぎ温風乾燥したものではおおむね色は薄く、湯通ししたものあるいは皮去り後天日乾燥したものはわずかに着色した。ただし、株によっては乾燥中にやや赤色を帯びるものがあった。

2) カラスビジャクの球根の皮を竹べらで剥ぎ、そのままあるいは湯通しした。また水、1.7%食塩水に2日間浸したところ、球根は、水に浸すと膨潤し、腐敗臭を与えたが、食塩水では変化はなかった。これらを天日乾燥すると表面がやや着色するが、温風乾燥では白色で緻密に仕上がった。

3) オウゴンは、皮付きではやや温風乾燥しにくいですが、タワシで皮を剥ぐと、かなり乾燥し易くなる。但し、表面はややくすんだ色となる。一方、金属タワシで皮を剥ぐと容易に乾燥し、緻密で鮮やかな黄色となる。

一年生では根が細く、二年生で生薬に用いられる程

度に成長した。

4) ボウフウは、葉柄残基を一部残し温風乾燥したところ、キキョウ、オウゴン程ではないがやや乾燥しにくく、根の太さは一年生ではやや細く、二年生が良かった。

5) ボタンは、根に縦に切れ目を入れ芯を抜き取り、温風乾燥した。乾燥は容易で、側根があると芯が抜けにくい。

6) カッコンは、厚さ約1.5cmの縦切りあるいは斜め横切りとし、そのままあるいは3日間水に晒した後、天日あるいは温風乾燥した。水に晒さないで濃茶色に仕上がった。繊維が堅いため、縦切りのほうが調製しやすい。

なお、カッコンのフラボノイド含量は、水に晒すとわずかに減少し、また天日乾燥に比べて温風乾燥の方が高い値を示すが、これは、温風では乾燥時間が短縮されるため、フラボノイドの加水分解が進行しにくいためと思われる。

7) ドクダミは初夏に、またゲンノショウコは初夏と秋に二回刈り、天日あるいは日陰干したところ、いずれも天日干しのほうが色が良かった。

5. その他の植物の栽培試験

カミツレ、防虫菊、アカシヤジオウ、アミガサユリ、トウキ、リンドウ、ニンジン等の苗を植え付け、成長を観察した。また、ゲンノショウコはビニールマルチングを施すと成長が促進された。

6. 発芽試験

薬用植物の発芽率を検討し、栽培の基礎資料とすることを目的に、4月23日に種子100粒を圃場に蒔き、毎日発芽したものの数を調べて取り除き、50日間観察、あわせて気温(6,18時,最高,最低,平均),地下5cmの温度ならびに湿度を測定した。

その結果、発芽の早いものは比較的発芽率も高く、発芽の遅いものは発芽率も低くなり、また、6,18時とも、気温と地下5cmの温度にはあまり大きな差は見られなかった。

7. ウコンのクルクミンの分析

種子島栽培試験場において異なる栽培条件で栽培、乾燥された根300検体について、クルクミンを薄層クロマトグラフィー-デンシトメトリーで分析した。

現在、データを解析中であり、近日中に発表の予定である。

種子島薬用植物栽培試験場

場長事務取扱 谷 村 頭 雄

前 場 長 葵 一 八

概 要

当場に着任してから現在まで、砂質土からなる当場の地力維持保全と、さらには防風林造成策を実施して、構内の環境美化と圃場の整備を行い、概ね薬用植物の栽培・育成研究を、円滑に推進し得る条件整備がほぼできたと思われている。とくに本年は、降雨による土壌表面流去水から土壌侵蝕防止と、流去水を干ばつ時の灌がい用水とするため、構内の二ヶ所(ビニール棟の側とNo.2圃場の一角)に、15t・30tの水槽を設置した。

以上、経年的に場内整備を進めてきたために、庁舎の全面改築・圃場整備により試験研究推進上の基盤ができたので、今後は薬用植物の多収および品質向上につながる、研究成果の実効が期待できる。

なお、「業務報告」の作成は葵一八前場長が担当した。

業務成績

1. 種子交換

採種	166種	(筑波試験場へ送付)
内訳	自生植物	117種
	導入植物	49種
受入	16件	54種
分譲	5件	10種

2. 薬用植物の自生地調査

熊本県上屋久町「口永良部島」のガジュツ栽培の現地調査を行った結果、本島のガジュツ単収および精油含量は、種子島・屋久島産のガジュツよりも、高収量および高品質であることが明らかとなった。その要因としては、堆きゅう肥の多施と気候条件との好影響とが関与しているものと思われた。つまり本島の農業は畜産(和牛繁殖飼養形態による堆きゅう肥生産)と、ガジュツ生産とが農家経営の中に、安定・生産の形で定着している事を知った。このことは、今後における薬用植物の農家経営上の補完結合作目としての位置づけを示唆している好事例であるといえよう。

3. その他

研究資料として、当場における「過去20年間の累積気象表(1966年~1985年)」を印刷・製本して、島内の公的行政・研究機関に配布し、薬用植物の安定生産化を図る参考資料とすることにした。

研究業績

1. ウコンの栽培に関する研究（屋久島で実施）

i) 植え付け時期試験

屋久島のように局地的に気象の寒暖差のある地帯では、比較的気象条件が安定した5月中旬植えで、翌春の4月収穫であれば、根茎の寒害もなく単収増が期待できる。

ii) 栽植密度試験

比較的軽しゅう土壌で、耕起の容易な地帯では、畦幅80cm×株間20cmの密植で、a当たり625株程度の栽植密度が適正であると思われた。

iii) 施肥量試験

施肥量(kg/a)としては、基肥にN 0.5, P 1.5 K 0.9 追肥に1回目 N 0.25, K 0.3, 2回目に N 0.5, K 0.5の化学肥料と、堆きゅう肥 400程度の加用が望ましい。

2. ウコンの栽培に関する研究（以下の全研究課題とも当场で実施）

i) 種根茎の大小と植付深度との関係

種子島産ウコン・インドネシア産ウコンとも、種根茎の大きいものは、小さいもの比べて多収であった。また、種子島産ウコンは、植付け深度を増すにつれ減収するが、インドネシア産ウコンは、種根茎の大小に関係なく、深度20cmが多収であった。

ii) 栽植密度と堆きゅう肥施用量との関係

種子島産ウコン・インドネシア産ウコンとも、堆きゅう肥増施の効果が認められた。両種とも1株当たり根茎収量は、株間競合のすくない疎植が多収であるが、単収は植付株数の多い密植が多収である。

iii) 堆きゅう肥施用量の検討

種子島産ウコンでは、a当たり堆きゅう肥400kgまでは増収するが、それ以上の多施では減収傾向を示した。しかし、インドネシア産は、施肥量間に有意差がなく、種子島産ウコンに比べて施肥感応性が低いことを認めた。

3. クミスクチンの栽培に関する研究

i) 栽植密度とN施肥量との関係

本種は、既往の試験結果からもN肥料に対する感応性が高いことを認めた。この試験でもN増施の効果が認められたが、3N以上の施用になると、定植時の幼苗が「肥料焼け」の現象で欠株を生じ易くなる。したがって、3N・密植（畦幅80cm×株間20cm）が適正なる組合せであると思われた。

4. その他

i) 薬用植物に対する灌水およびマルチ効果の検討

増収比（総根茎重/種根茎）でみると、ガジュツは灌水およびマルチ効果が高い。また、種子島産ウコンは灌水効果が高く、インドネシア産ウコンは無処理区に比べて、灌水・マルチ効果を認めた。

ii) 薬用植物に対する日照量制限の検討

増収比でみると、種子島産ウコン・インドネシア産ウコンとも、日照量制限50%程度では、根茎収量におよぼす悪影響は認められない。しかし、ガジュツは日照量制限によって根茎収量は低減することを認めた。

iii) 食用カンナの栽培

当场で食用カンナを試作した結果、4月中～5月上旬植付けで、翌春3月以降に収穫すれば、根茎収量および根茎中のデンプン含量も高いことを認めた（「農業および園芸」誌に投稿中）。

Release Rate of Indomethacin from Commercial Witepsol Suppositories and the Bioavailabilities in Rabbits and Pigs

Nobuo AOYAGI, Nahoko KANIWA, Yasushi TAKEDA, Mitsuru UCHIYAMA, Fumitomo TAKAMURA* and Yasumasa KIDO*: *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 4933(1988)

汎用されている村西法, 透析チューブ法により市販インドメタシン油脂性坐剤の放出速度について検討したところ, 両者は全く異なる結果を示した. 家兎, 豚における坐剤のバイオアベイラビリティとの相関性はいずれの場合も村西法より透析チューブ法で高く, 動的条件より静的条件の試験法の方が, 直腸内における坐剤の放出挙動をよく反映した試験法であることが示唆された.

* (財) 畜産生物科学安全研究所

Gastric Emptying Rates of Drug Preparations. I. Effects of Size of Dosage Forms, Food and Species on Gastric Emptying Rates

Nahoko KANIWA, Nobuo AOYAGI, Hiroyasu OGATA* and Akira EJIMA: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 11, 563(1988)

マーカーとしてアセトアミノフェン, アスピリン, リン酸ピリドキサールを含有する, 大きさの異なる製剤を使用して, ヒト, ビーグル犬における製剤の胃内容排出速度 (GER) を測定した. 小さい製剤ほど GER は速く, また, どの大きさの製剤も食後服用で GER は低下した. 顆粒以上の大きさの製剤の GER は, 食後投与において, ヒトに比較しビーグル犬では著しい低下がみられ, 生物学的同等性試験のモデル動物としてのビーグル犬の使用は限定されることがわかった.

* 明治薬科大学

Gastric Emptying Rates of Drug Preparations. II. Effects of Size and Density of Enteric-Coated Drug Preparations and Food on Gastric Emptying Rates in Humans

Nahoko KANIWA, Nobuo AOYAGI, Hiroyasu OGATA*¹, Akira EJIMA, Hajime MOTOYAMA*² and Hirotsune YASUMI*²: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 11, 571(1988)

アスピリンをマーカー薬物として含有する大きさ (径 1, 4, 8mm) と比重 (1.29, 1.92) の異なる腸溶

性製剤を調整し, これらを用いてヒトにおける胃内容排出速度 (GER) を測定した. 空腹時, 食後投与のいずれでも大きさと GER との間には有意の相関性が認められたが, 比重の影響は認められなかった. GER におよぼす食餌の影響は顆粒において小さかった.

*¹ 明治薬科大学

*² フロイント産業(株)研究所

ラボラトリーロボットによるアジマリン錠含量均一性試験の自動化の試み

香取典子, 青柳伸男, 武田寧: *分析化学*, 37, 633 (1988)

ラボラトリーロボットにより市販の 50 mg アジマリン錠の含量均一性試験と重量偏差試験を同時に行うシステムを開発した. システムはロボット, 天秤, スターラー, 超音波洗浄装置, 分注装置および HPLC 装置などにより構成し, 錠剤中のアジマリンは HPLC により定量した. システムの分析精度は RSD. 18% であり試験に十分適用可能な精度が得られた. また, 他の自動化法との比較を行い, システムの問題点について論じた.

Statistical Evaluation of Non-isothermal Prediction of Drug Stability. II. Experimental Design for Practical Drug Products

Sumie YOSHIOKA, Yukio ASO and Mitsuru UCHIYAMA: *Int. J. Pharm.*, 46, 121(1988)

製剤の安定性予測法としての非等温法の信頼性をモンテカルロ法によって検討し, 等温法と比較した. 線形および非線形の昇温プログラムを用いた. 実験誤差として薬物含量の測定誤差と温度制御誤差を考慮した. 速度論パラメータとして 25 および 40°C における使用期間を推定した. 適当な昇温プログラムを用いた非等温法は, 分解速度が Arrhenius 式から外れる場合には, 等温法より信頼性の高い推定値を与えることなどの特徴が明らかにされた. 得られたコンピュータシミュレーションの結果に基づいて, 広範囲の使用期間を示す種々の製剤の安定性予測に適用できる非等温法の実験デザインを提示した.

Application of Gel Permeation Chromatography-Low Angle Laser Light Scattering System to Kinetic Study on Degradation of Bioerodible Polymers

Sumie YOSHIOKA, Kazuo IWAKI, Yuzuru HAYASHI, Yukio ASO, Yasushi TAKEDA and Mitsuru UCHIYAMA: *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4951 (1988)

生体内で分解し消失する生体内分解性高分子の分解について速度論的検討を行うために有用なゲルパーミエーション-低角度レーザー光散乱光度計システムのデータ解析ソフトウェアを開発した。ポリ-L-グルタミン酸の酵素的分解に適用した結果、経時的に変化する分子量分布に関する情報を迅速かつ簡便に得ることができた。エンドペプチターゼである α -キモトリプシンとエキソペプチターゼであるカルボキシペプチターゼBによる分解を検討した結果、それぞれ異なるパターンでの分子量分布変化が観察され、異なる分解機構を明示することができた。その差異はコンピュータシミュレーションによっても確認され、データ解析ソフトウェアの信頼性が裏付けられた。生体内分解性高分子の分解性評価に有用であると考えられる。

Stability of Vitamin K₁ in Commercial Tablets

Sumie YOSHIOKA, Yukio ASO and Yasushi TAKEDA: *Yakuzaigaku*, **48**, 251 (1988)

市販されているビタミン K₁ 錠の安定性を検討し、安定性試験において注意すべき問題点の考察を行った。製剤の安定性を評価する際には、品質が規格値内の値を維持する期間を表す使用期間のほか、製剤の分解性の指標としてある一定の分解を示すのに要する期間を表す使用期間を考察する必要があることが示された。また保存の初期において速い分解を示す製剤や、規格値の上限まで過剰量の薬物が仕込まれた製剤の安定性を評価する場合、薬物の残存量の測定ばかりでなく、分解生成物の定量が必要であることが示された。

Usefulness and Limitations of Nonisothermal Prediction of Drug Stability

Sumie YOSHIOKA, Yukio ASO and Yasushi TAKEDA: *J. Pharmacobio-Dyn.*, **12**, s-21 (1989)

医薬品製剤の安定性予測における非等温法の有用性と限界をモンテカルロ法で検討し、その結果をビタミンAの市販製剤で検証した。使用期間の推定値の偏りおよび分散は昇温プログラムの種類に大きく依存した。非等温法は等温法とは異なり、一回の実験によって2個の速度論パラメータが得られるという利点を有するが、分解速度がArrhenius式に従う場合には等温法より分散の大きい推定値を与えることが示された。しかし、ビタミンAのシロップ剤および注射剤で観察されたゼロ次分解速度はArrhenius式から外れることが示

され、このような場合には非等温法の方が、等温法より信頼性の高い推定値を与えることが示された。非等温予測法の利点と限界が明らかにされ、それに基づいて、非等温法の有用な活用法を提示した。

Epimerization and Hydrolysis of Etoposide Analogues in Aqueous Solution

Yukio ASO, Yuzuru HAYASHI, Sumie YOSHIOKA, Yasushi TAKEDA, Yasuhiro KITA*, Yoshifumi NISHIMURA* and Yoji ARATA*: *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 422 (1989)

エトポシドとその同族体のエピマー化および加水分解反応をアルカリ性水溶液中において速度論的に検討し、置換基の反応性におよぼす影響を明らかにした。エトポシドのようなトランス-ラクトンはシス-ラクトンにエピマー化したが、トランス-オキシ酸には加水分解しなかった。シス-ラクトンはシス-オキシ酸に加水分解した。トランス-ラクトンのエピマー化反応は4位の糖置換基、4'位のメトキシ基の存在により促進され、4位の水酸基の立体配置の影響を受けた。シス-ラクトンの加水分解反応は4位の糖置換基の存在により抑制され、4'位のメトキシ基の存在により促進された。4位の水酸基の立体配置はシス-ラクトンの加水分解反応に影響を与えなかった。¹H-NMRのデータから、エトポシドの構造はアグリコンに比べ大きな歪を有するトランス-ラクトンであることが示唆された。糖置換基の導入によるトランス-ラクトンのエピマー化反応の促進は糖置換基がトランス-ラクトンを不安定化するためと考えられた。糖置換基の導入によるシス-ラクトンの加水分解の抑制はかさ高い糖置換基の立体障害によるものと考えられた。

* 東京大学薬学部

「注射用水」の製法に超る過法を追加したことによる一般的な留意事項

石橋無味雄：月刊薬事，**30**，2309 (1988)

JP 11追補の「注射用水」の製法に超る過法が追加されたので、病院などにおいて超る過法を用いて「注射用水」を製する場合の留意点および注射用水の製造に関するバリデーションについて解説を加え、さらに試験法について解説した。

注射用水の製造に関するバリデーション概要 (その1)

石橋無味雄：Pharm. Tech. Japan, **4**, 928 (1988)

注射用水の原水、製造設備、製造工程および製品に関

するバリデーションの方法および意義をバリデーションの目的、対象から前処理設備関係まで解説した。

注射用水の製造に関するバリデーション概要(その2)

石橋無味雄: *Pharm. Tech. Japan*, 4, 1051(1988)

(その1)に続き、バリデーションの方法および意義を注射用水製造設備関係、注射用水供給設備関係、試験方法(導電率試験、生菌数試験、エンドトキシン試験、不溶性微粒子試験、有機体炭素測定法)および品質管理記録などの保管方法について解説した。

Simplex Optimization of Reaction Conditions with an Automated System

Rieko MATSUDA, Mumio ISHIBASHI and Yasushi TAKEDA: *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 3512(1988)

ラボラトリーロボットを用いて、反応条件を自動的に最適化するシステムを、ヒドロキシルアミン、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミドとカルボン酸の反応の最適化に応用した。最適化のアルゴリズムは modified super-modified simplex 法を用いた。最適化するパラメーターの数を4としても、速やかに最適条件が検索された。

Totally Automated Robotic System for Liquid Chromatographic Analysis of Solid Dosage Formulations with the Aid of a Reduced Kalman Filter

Rieko MATSUDA, Yuzuru HAYASHI, Mumio ISHIBASHI and Yasushi TAKEDA: *J. Chromatogr.*, 438, 319(1988)

ラボラトリーロボットを用いた製剤全自動分析システムを作成した。製剤からの試料溶液の抽出はロボットにより自動的に行われ、HPLCにより分析される。試料を短い時間間隔でHPLCに注入し、検出器からの信号をカルマンフィルターにより解析してピーク分離を行った。このような方法により、分析時間を大きく短縮することが可能となる。このシステムにより、ジアゼパム錠の含量均一性試験を行った。

One-Dimensional Kalman Filter in a Robot System for Total Analysis of Solid Dosage Formulations

Yuzuru HAYASHI, Rieko MATSUDA, Sumie YOSHIOKA and Yasushi TAKEDA: *Anal. Chim.*

Acta, 209, 45(1988)

Anal. Chim. Acta, 212, 81(1988)で考案した1次元 kalman filter と *J. Chromatogr.*, 438, 319(1988)で開発したロボットを用いた自動分析システムを組合せた。これをクレマスチン固形製剤の定量分析に応用した。

An One-Dimensional Kalman Filter for Peak Resolution

Yuzuru HAYASHI, Sumie YOSHIOKA and Yasushi TAKEDA: *Anal. Chim. Acta*, 212, 81(1988)

クロマトグラフィーのピーク分離を、行列を用いないで1次元で行える Kalman filter を考案した。

An Information Theory of Chromatography I. Evaluation of Analytical Systems by Means of FUMI

Rieko MATSUDA, Yuzuru HAYASHI, Mumio ISHIBASHI and Yasushi TAKEDA: *J. Chromatogr.*, 462, 13(1989)

クロマトグラフィーのピークの Shannon の情報量(相互情報量)を表すスカラー関数 FUMI (フミ) を考案した。FUMI を用いて、*J. Chromatogr.*, 407, 59(1987)で行った実験を批評した。

An Information Theory of Chromatography II. Application of FUMI to the Optimization of Overlapped Chromatograms

Rieko MATSUDA, Yuzuru HAYASHI, Mumio ISHIBASHI and Yasushi TAKEDA: *J. Chromatogr.*, 462, 23(1989)

第I部で考案した関数 FUMI を用いて、overlapped chromatography における注入間隔を最適化する方法を開発した。この方法により、*Anal. Chim. Acta*, 202, 187(1987) および *J. Chromatogr.*, 411, 95(1987)における実験の最適化をシミュレーションにより行った。

Confirmation of Cannabis Use II. Determination of Tetrahydro cannabinol Metabolites in Urine and Plasma by HPLC with ECD

Yuji NAKAHARA, Hitoshi SEKINE*¹ and C. Edger COOK*²: *J. Anal. Toxicol.*, 13, 22(1989)

電気化学検出法(ECD)を用いた高速液体クロマトグラフィー(LC)により、尿および血漿中の 4⁹-tetrahydrocannabinol(THC) およびその代謝物、11-nor-THC-9-carboxylic acid(THC-COOH) と 11-hydroxy-THC(11-OH THC) の定量法を検討した。生体

試料は Sep Pak C₁₈ による固相抽出後、内部標準物質として *n*-octyl-*p*-hydroxybenzoate を用いて、LC/ECD で定量した。LC は、C₈ 逆相カラム (25cm × 4.6 mm)、移動相: CH₃CN/MeOH/0.01M H₂SO₄ (35:15:50)、流速: 1.8 ml/min、設定電圧: 1.1V で分析した、THC-COOH および 11-OH THC の検出限界は 0.5 ng/ml であり、10~500 ng/ml の範囲での CV 値 (n=10) は 2.19-5.91% であった。この方法を用いて、THC 投与の家兎の尿中の THC 代謝物の排泄を調べたところ、投与 216 時間後まで検出可能であった。本法を用いた、大麻使用被疑者の尿分析 23 例の結果についても考察した。

*1 埼玉県警察科学捜査研究所

*2 Research Triangle Institute(USA)

Confirmation of Cannabis Use III. Simultaneous Quantitation of Six Metabolites of Δ⁹-Tetrahydrocannabinol in Plasma by High-performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection

Yuji NAKAHARA and C. Edgar COOK*: *J. Chromatogr.*, 434, 247(1988)

血漿中の THC の 6 種の主な代謝物-11-nor-THC-9-carboxylic acid, 11-hydroxy-THC, 8β-hydroxy-THC, 8α-hydroxy-THC, 8β, 11-dihydroxy-THC, 8α, 11-dihydroxy-THC-の回収法と同時定量法を高速液体クロマトグラフィー (HPLC)/電気化学検出を用いて検討した。血漿からの抽出は、CH₃CN-pyridine (10:1) を用いて、除蛋白と生体成分マトリックスからの溶出を行い、THC 代謝物を定量的に回収することができた。HPLC 分析は C₈ 逆相カラム (25 cm × 4.6 mm) を用いたとき、移動相の組成と 6 種の代謝物の保持率 (K') の関係を調べ、CH₃CN/MeOH/0.01 M H₂SO₄ (35:15:50) の場合が最良の分離を示すことを見出した。本法を用いて血漿中 5~100 ng/ml の 6 種の代謝物の同時、高精度定量法を確立した。

* Research Triangle Institute(USA)

Electrochemical Label for High-Performance Liquid Chromatography I. β-Naphthoquinone-4-Sulfonate as an Electrochemical Labeling Reagent of Amines

Yuji NAKAHARA, Akiko ISHIGAMI and Yasushi TAKEDA: *J. Chromatogr.*, 489, 371(1989)

高速液体クロマトグラフィーによる高感度、高選択

分析を目的として、電気化学検出 (ECD) のためのラベル化剤の開発を行った。第 1 報として、β-naphthoquinone-4-sulfonate (BNQS) がアンフェタミン類の ECD ラベル化剤として非常に有効であることを報告した。1, 2 級アミンは NaHCO₃ 存在下で、容易に BNQ 誘導化され、これが OV (vs Ag/AgCl) における還元モードで極大の応答を示すことを見出した。検出限界は、10 pg/injection 以下であった。本報を用いて、21 種のアンフェタミン類似化合物の HPLC 分析を行い、クロマト上良好な分離が得られるとともに、数ピコ mole レベルの高感度分析が可能になった。

β-Naphthoquinone Sulfonate as Electrochemical Labeling Reagent for High Sensitive LC Analysis of Amphetamine-like Drugs in Biological Fluids

Yuji NAKAHARA and Yasushi TAKEDA: *Chromatographia*, 27, 363(1988)

新しい電気化学検出用アミン類のラベル化剤-β-naphthoquinone-4-sulfonate (BNQS)-を用いて、生体試料中のアンフェタミン類緑化合物の高感度分析法を確立した。BNQS は尿、血液 (血清、血漿)、唾液などの生体試料中のアミン類を直接ラベル化が可能であること、60°C、30 分でほぼ定量的にラベル化が進み、生体試料 50 μl で、1 μg/ml まで定量が可能となった。さらに、試料の前抽出を行えば、生体試料 10 ng/ml 以下の検出まで可能であった。これにより、電気化学検出/高速液体クロマトグラフィーを用いて生体試料中のアンフェタミン類の簡便、迅速かつ高精度の分析が可能であることを示した。本法により、毛髪中のメタンフェタミンの検出、定量にも応用できることも示した。

Preparation of Monoclonal Antibodies against Methamphetamine

Takashi USAGAWA*, Minoru NISHIMURA*, Taizo UDA* and Yuji NAKAHARA: *J. Immunol. Methods*, 119, 111(1989)

免疫マウスの脾臓細胞とマイロマ細胞を還流して、ハイブリドマからメタンフェタミン-BSA に対する 15 種のモノクローナル抗体を単離した。これら 15 種のモノクローナル抗体は、メタンフェタミン類緑化合物に対し、さまざまな交差反応性を示したが、そのうちの 1 つの抗体は、メタンフェタミンのみに対し高い特異性を示した。これを用いて、生体試料中のメタンフェタミンの検出のために選択性の高い ELISA 法を確

立した。MAの検出限界は、約20 ng/mlであった。

* 宇部興産(株)

毛髪分析による薬物使用歴の推定

中原雄二：ファルマシア，24，1034(1988)

近年，注目を集めている毛髪分析による薬物乱用歴の推定に関する研究とその問題点を総説した。主な表題は以下のとおりである。1. はじめに，2. 毛髪の伸長と薬物の取り込み，3. 毛髪中の薬物の抽出法と分析法，4. 毛髪中の薬物濃度と表面汚染，5. 薬物投与量と毛髪中薬物濃度の関係，6. 毛髪分析による薬物使用歴の推定，7. 尿分析と毛髪分析の比較，8. おわりに。

「徐放性製剤(経口投与製剤)の設計および評価に関するガイドライン」について

武田 寧：医薬品研究，19，777(1988)

昭和63年3月11日薬審1第5号通知により公表された徐放性製剤のガイドラインについて，その意図，適用上の留意点を中心に解説した。

第11改正日本薬局方の追補 一般試験法の改正点

田中 彰：月刊薬事，30，2297(1988)

第11改正日本薬局方の追補が，昭和63年10月1日に公布施行されたことに伴い，新たに導入されたアミノ酸クロマトグラフ法，エンドトキシン試験法，浸透圧測定法および超ろ過法について解説を行った。また一部改正された試験法についても，その背景について簡単な説明を行った。

加硫促進剤N-cyclohexyl-2-benzothiazyl Sulfenamide(CBS)のラットによる吸収，分布，代謝および排泄

足立 透，田中 彰，山羽 力：Radioisotopes，38，255(1989)

加硫促進剤 N-cyclohexyl-2-benzothiazyl sulfenamide(CBS)のラットにおける代謝を¹⁴C-CBSを用いて調べた。経口投与後3日間で大部分の放射能は尿および糞へ排泄されたが，胆汁への排泄はわずかであった。CBSの尿中主代謝物としてcyclohexylamineおよび2-mercaptobenzothiazoleが確認された。また特に親和性の顕著な臓器，組織は認められなかった。

Urinary Metabolites contributing to Testicular Damage induced by Butylbenzyl Phthalate

Hiroharu MIKURIYA, Isao IKEMOTO* and Akira

TANAKA: Jikeikai Med. J., 35, 403(1988)

フタル酸系可塑剤の butylbenzyl phthalate (BBP) を 3.6 mmole/kg/day の割合で，雄性ウィスター-今道系ラット(体重約200g，8週令)に一週間連続投与して起こる精巣萎縮のメカニズムを解明するため，BBPの代謝物である monobutyl phthalate(MBP) と monobenzyl phthalate(MBzP) をそれぞれ BBP と同じ割合で，ラットに一週間投与した。その結果 MBzP は精巣萎縮を起こさず，MBP は対照群と有意な差で精巣萎縮を惹起することがわかった。BBP によるラット精巣萎縮の主原因は，代謝物のうち MBP であることが判明した。尿中の MBP と MBzP の排泄比は約 5:3 であることが明らかになった。

* 東京慈恵会医科大学

第12回アジア薬剤師会連合(FAPA)学術大会報告「薬局方部会」

田中 彰：日本薬剤師会雑誌，40，1280(1988)

FAPAの薬局方部会で，2日間にわたって講演された15の学術発表の内容について，簡単な説明と紹介を行った。一般の薬品分析にはかなり液体クロマトグラフィが使われるようになったが，アジア諸国の伝統生薬の成分の検索には依然として薄層クロマトグラフィが用いられることが多いのが特徴といえる。

Radioactivity(放射能)の用語について

田中 彰：医薬品研究，20，570(1989)

Radioactivity(放射能)という用語が日本国内の学術書，報告書などで誤った訳語「放射活性」としてかなり広く用いられていることについて，これら誤用の原因について論及し，正しい「放射能」という言葉を今後使うことを提言した。

Human Erythrocyte Aldose and Aldehyde Reductase

Toshihiro NAKAYAMA*, Tsuyoshi TANIMOTO and Peter F. KADOR*: Prog. Clin. Biol. Res., 290, 265(1989)

ヒト赤血球から2種のNADPH-依存性還元酵素を単離した。この2種の酵素は分子量約38kDの単量体であり，基質特異性，硫酸イオンや塩素イオンの影響などの酵素化学的諸性質や免疫学的性質から，一方はアルドース還元酵素であり，他方はアルデヒド還元酵素であった。両酵素はuMのオーダーで種々のアルドース還元酵素阻害剤(ARI)によって強く阻害された。ヒト赤血球には分子量約70kDの非常に不安定なNAD

PH-依存性還元酵素も存在し、この酵素はグリセアルデヒドに特異的に作用した。糖尿病で赤血球にソルビトールが蓄積するが、ARIの投与でこれが減少するのは、赤血球中のアルドース還元酵素の阻害によるものであることが示された。

* National Institutes of Health, U. S. A.

酵素製剤の定量試験法 (第V報)

塩化リゾチームの定量試験法の改良について

川崎ナナ, 谷本 剛, 田中 彰: 医薬品研究, 19, 1007 (1988)

日本薬局方外医薬品成分規格(局外規)では、塩化リゾチームの定量法として溶菌法を規定している。しかし、従来の試験法には、測定上いくつかの問題点が含まれており、使用する分光機器によっては定量法が適用できない場合が生じている。そこで、局外規の定量試験法が有する問題点を具体的に指摘し、その改良法について検討した。

Structure-Activity Relationship of Aldose Reductase Inhibitors based on X-Ray Crystal Structure of Oxazolecarbamates Derivatives

Toshimasa ISHIDA*, Yasuko IN*, Hirofumi OHISHI*, Daisuke YAMAMOTO*, Masatoshi INOUE*, Chiaki TANAKA*, Yoko UENO*, Yoshirou OHMOMO*, Nana KAWASAKI, Akira TANAKA and Tsuyoshi TANIMOTO: *Mol. Pharmacol.*, 34, 377(1988)

アルドース還元酵素阻害剤 (ARI) の阻害活性に必要な原子や立体構造を知る目的で、化学構造は類似しているが、阻害活性の大きく異なる11種のオキサゾール系ARIのX線構造解析を行った。X線解析で得られた分子構造がエネルギー的に安定であることは理論的エネルギー計算からも確認された。強力なARIにおいては立体構造的な相関性が高かった。定量的構造活性相関の解析により、オキサゾール系ARIにおいては、オキサゾール環C-5位のコンフォメーション、双極子モーメント、疎水性などが強い阻害活性の発現に重要であった。

* 大阪薬科大学

合成基質 *p*-Nitrophenyl Penta-*N*-acetyl- β -chit-*o*pentaoside を用いたリゾチーム測定法とその製剤への適用性について

押沢 正, 横田椅江, 福田秀男, 谷本 剛, 田中 彰: 医薬品研究, 19, 943 (1988)

p-Nitrophenol の発色に基づく標記の合成基質を用いたリゾチームの新測定法のための測定条件を検討し、その塩化リゾチーム製剤への適用性について考察した。

本法は設定した条件下で 50 μ g までのリゾチームを極めて再現性よく測定でき、先に報告した 4-methylumbelliferyl tetra-*N*-acetyl- β -chitotetraoside を基質とする方法に比べ、感冒薬類を含む複合剤にも適用できるなどの利点のあることがわかった。また、20製剤について検討した結果、同時に測定した従来法の濁度法(基質, *M. lysodeikticus*)の値より少し低めの値が得られる傾向を示すことが明らかとなり、この原因について検討したところ、製剤中に含まれる賦形剤以外の未知の物質によることを示唆する結果が得られた。

Tris(2,3-Dibromopropyl) Phosphate Nephrotoxicity in the Rat: Histological and Biochemical Changes in Renal Components by 13 C-NMR Spectra

Masamichi FUKUOKA, Akira TANAKA, Tsutomu YAMAHARA*, Katsushi NAITO, Koichi TAKADA, Kazuo KOBAYASHI*² and Masuo TOBE: *J. Appl. Toxicol.*, 8, 411(1988)

トリス(2,3ジブロムプロピル)フォスフェートを 286.8 μ mol/kg 体重の割合で、単回経口投与し、右の腎臓は 13 C-NMRを測定した後、生化学的検査に用い、一方左の腎臓は固定後、病理組織的に観察した。尿管上皮細胞の核濃縮は24時間後に、壊死は2日目に観察された。 13 C-NMR測定結果は、シアル酸およびイノシトールが障害のマーカーになることが判明し、シアル酸は第1日目に減少を、またイノシトールは7日目に増加を示した。そのほか腎臓中のLAP, GPT, およびLDHに変化が観察された。

*1 医薬品先端技術振興会

*2 食品農医薬品安全性評価センター

紫外線と老人性白内障水晶体の着色現象について

友田燦夫*, 河崎一夫*, 山口照英: *ファルマシア*, 24, 691 (1988)

老人性白内障水晶体の着色物質がキサントマチンではないかとの仮説のもとに、着色過程の化学反応について考察した。

* 金沢大学医学部

Presence of Cytochrome b_{558} in Guinea Pig Alveolar Macrophages-Subcellular Localization and Relationship with NADPH Oxidase

Teruhide YAMAGUCHI and Mizuho KANEDA*: *Biochim. Biophys. Acta*, **933**, 450(1988)

モルモット肺マクロファージは、好中球と同じく活性酸素生成能をもつが、その生成酵素の活性基の一つと考えられている cytochrome b_{558} の肺マクロファージの細胞内局在と活性酸素生成活性との関連について報告した。

* 東京都臨床医学総合研究所

Purification and Some Properties of the Small Subunit of Cytochrome b_{558} from Human Neutrophils

Teruhide YAMAGUCHI, Takao HAYAKAWA, Mizuho KANEDA*¹, Katsuko KAKINUMA*¹ and Akira YOSHIKAWA*²: *J. Biol. Chem.*, **264**, 112 (1989)

白血球活性酸素生成酵素の活性基一つと考えられている cytochrome b_{558} をヒト好中球より精製し、そのタンパク質化学的な性質について検討した。

*¹ 東京都臨床医学総合研究所

*² 埼玉県赤十字血液センター

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3)

早川堯夫：*Pharm. Tech. Japan*, **4**, 789(1988)

バイオテクノロジー医薬品に関する EC 共同体およびカナダにおけるレギュレーションの現状とその科学的根拠、欧米の代表的な企業サイドからのこの問題に関する見解などを詳細に紹介した。

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4)

早川堯夫：*Pharm. Tech. Japan*, **4**, 943(1988)

バイオテクノロジー医薬品に関する米国のレギュレーションの背景およびその内容、すなわち、1) 一般原則、2) 製造工程のコントロールの重要性、3) 安全性、4) 有効性、5) 生産物の解析、品質保証などについて解説した。

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5)

早川堯夫：*Pharm. Tech. Japan*, **4**, 1205(1988)

前報に引き続き、米国におけるバイオ医薬品のレギュレーションの内容のうち、6) 動物細胞基材を医薬品生産に使用することに伴う問題点、7) 前臨床試験、8) 臨床試験、9) FDA 内における組織的拡充と製

薬企業その他関係機関との交流、10) 今後の課題などについて解説した。また、欧米諸国のレギュレーションの現状とわが国のそれとを比較考察し、わが国での今後のあり方について言及した。

医薬品生産とバイオテクノロジー

早川堯夫：化学と薬学の教室（バイオテクノロジー特集号）、65 (1988)

医薬品生産手段としてのバイオテクノロジー、バイオ医薬品の開発状況、バイオテクノロジーにより生産された有用物質が医薬品になるまでの必要な試験、研究などについて解説した。

組換えインターフェロンの化学

早川堯夫：*Clinical Neuroscience*, **6**, 1049 (1988)

インターフェロン- α , β , γ についてそれぞれの遺伝子レベルでの相違、蛋白化学的諸性質、生物学的諸性質、医薬品としての適用などについて解説した。

バイオテクノロジー医薬品の非臨床試験のポイント

早川堯夫：臨床薬理, **20**, 347 (1989)

バイオテクノロジー医薬品の非臨床試験のポイントとして、1) 製造方法の明確化とその妥当性、一定性に関する詳細な情報の提供、2) 目的生産物の構造決定、同一性、均一性、純度、生物活性などに関する詳細な検討、3) 外来性の有害因子および不純物混入のチェック、4) 多彩な生理作用の理解とその機構解明のための基礎データの蓄積、5) 生産物の特性臨床適用法をふまえたケース・バイ・ケースによる非臨床生物試験の実施、6) 特性を反映した規格および試験方法の設定などが重要であることを示した。

バイオテクノロジー応用医薬品：特性、品質評価のための解析法 (その1)-同一性、均一性、純度の試験法とタンパク質部分の一次構造解析法について一

早川堯夫, 山口照英, 新見伸吾, 内田恵理子, 押沢正：医薬品研究, **20**, 281 (1989)

1) 製法および物性面からみたバイオ医薬品の特徴と品質評価との関連、2) 目的産物の同一性、均一性の確認、純度の検定方法としての電気泳動法、HPLC法、免疫化学的方法、生物学的的方法、3) 目的産物のタンパク質部分の構造・組成解析法としての、アミノ酸組成分析、末端アミノ酸分析、ジスルフィド結合の位置の決定、ペプチド分析、アミノ酸配列分析法などについて詳細に解説した。

Morphine Enhances the Phosphorylation of a 58 kDa Protein in Mouse Brain Membranes
Kunisuke NAGAMATSU, Kazuhiro SUZUKI, Reiko TESHIMA, Hideharu IKEBUCHI and Tadao TERAO: *Biochem. J.*, 257, 165 (1989)

マウス脳P₂膜画分を用いて、モルヒネ、エンケファリンなどのアゴニストの存在下³²P-γ-ATPを用いてリン酸化反応を行ったところ、非存在下に比べ58 kDaのモルヒネ受容体タンパクのリン酸化が促進されること、アンタゴニストのナロキソンはリン酸化を特異的に抑制することを見出した。単離したモルヒネ受容体のリン酸結合アミノ酸を調べたところ、大部分セリンであった。

Calcium Influx in a Single Rat Basophilic Leukemia Cell as Revealed with a Digital Imaging Fluorescence Microscope

Koichi KATO*¹, Mamoru NAKANISHI*¹, Yoji ARATA*¹, Reiko TESHIMA, Tadao TERAO and Hiroshi MIYAMOTO*²: *J. Biochem.*, 102, 1 (1987)

蛍光顕微鏡像の画像処理法によって、抗原刺激後のラット好塩基球の単一の細胞へのカルシウムイオンの流入を観察した。抗原刺激後、37°Cで約10秒の時間の遅れ(タイムラグ)の後にカルシウムイオンはすみやかに細胞内に流入した。一方、多数の細胞の浮遊液を抗原で刺激すると、遅滞時間の後にゆっくりと蛍光強度が増大した。これは、カルシウム流入のタイムラグが細胞間で異なっている結果であり、個々の細胞でのカルシウムの流入は非常にすみやか(1秒以内)に起っていることがわかった。

*¹ 東京大学薬学部

*² 新技術開発事業団

Amino Acids and Peptides. XXI. Synthesis of N-Terminal Heptapeptide of Mammalian Metallothionein(MT)

Yoshio OKADA*¹, Shin IGUCHI*¹, Shigeru NAKAYAMA*¹, Yutaka KIKUCHI*², Masachika IRIE*², Jun-ichi SAWADA, Hidehara IKEBUCHI and Tadao TERAO: *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 3614 (1988)

メタロチオネインのN端ヘプタペプチドを合成し、免疫学的性質を検討した。

*¹ 神戸学院大学薬学部

*² 星薬科大学

Production and Characterization of High-Affinity Monoclonal Antibodies against Morphine

Jun-ichi SAWADA, Noppavan JANEJAI, Kunisuke NAGAMATSU and Tadao TERAO: *Mol. Immunol.*, 25, 937 (1988)

モルヒネに対するモノクローナル抗体を調製し、その親和性およびモルヒネ類縁体との反応性を明らかにした。

A Murine Monoclonal Anti-Metallothionein Autoantibody Recognizes a Chemically Synthesized Amino-Terminal Heptapeptide Common to Various Animal Metallothioneins

Yutaka KIKUCHI*¹, Naruhito WADA*¹, Masachika IRIE*¹, Hideharu IKEBUCHI, Jun-ichi SAWADA, Tadao TERAO, Shigeru NAKAYAMA*², Shin IGUCHI*² and Yoshio OKADA*²: *Mol. Immunol.*, 25, 1033 (1988)

メタロチオネインに対するIgMクラスの自己抗体を産生するハイブリドーマ株を樹立した。このモノクローナル抗体は、種々の動物のメタロチオネインに共通なN端ヘプタペプチドと反応した。

*¹ 星薬科大学

*² 神戸学院大学薬学部

ICIP. 免疫毒性試験法の有効性評価に関する国際共同研究計画の発足

澤田純一, 寺尾允男: トキシコロジーフォーラム, 5, 555 (1988)

免疫毒性試験法に関する最近の動向を解説し、試験法の有効性評価の国際共同研究計画(ICIP)に関する紹介を行った。

Cholagogic Action of the Essential Oil Obtained from *Curcuma xanthorrhiza* ROXB.

Yukihiro OZAKI and Oei Ban LIANG*: *Shoyakugaku Zasshi*, 42, 257 (1988)

クスリウコンはインドネシアにおいて民間で利胆薬として用いられているが、その薬理研究の報告はほとんどない。同じショウガ科植物のウコンは利胆作用があり、その活性成分として精油中の*p*-tolylmethylcarbinolが報告されている。これらのことから、クスリウコンの根茎の水蒸気蒸留により得られた精油の胆汁分泌増加作用および活性成分をラットを用い検討した。精油の経口投与により持続する胆汁分泌増加作用が認

められたので、活性成分をシリカゲルカラムクロマトグラフおよび TLC を用い分離、精製し、機器分析により d-camphor を同定した。このことから、精油により起こされた胆汁分泌増加作用は含有される d-camphor が関与することが明らかとなった。また、この利胆作用の作用特性として、胆汁中の総胆汁酸を酵素法で測定して、一部胆汁酸依存性の胆汁分泌増加であることを明らかにした。

* バンドン工科大学

インドネシア産ショウガ科植物の胆汁分泌増加作用の検討

尾崎幸紘 a, d Soekeni SOEDIGDO*: 生薬, 42, 333 (1988)

インドネシアで民間薬として黄疸、胆石の治療に使用されている4種類のショウガ科植物の胆汁分泌増加作用を麻酔下のラットを用いて検討した。これらショウガ科植物の根茎のメタノールエキスは経口投与により持続する胆汁分泌の増加作用を示した。これら植物の中でウコンおよびクスリウコンは利胆作用を示すことが知られているが、他の2種類のショウガ科植物もほぼ同程度の胆汁分泌の増加作用を示した。この胆汁分泌の増加作用には、含有される精油成分が主として関与することが示唆された。また、これらショウガ科植物の中で *Zingiber cassumunar* の効力が強いことが示唆された。

* バンドン工科大学

Antiinflammatory Effect of Mace, Aril of *Myristica fragrans* HOUTT., and Its Active Principles

Yukihiro OZAKI, Soekeni SOEDIGDO*, Yoke Rosina WATTIMENA* and Asep Gana SUGANDA*: *Japan. J. Pharmacol.*, 49, 155 (1989)

ニクズクの仮種皮であるメースはインドネシアで民間薬として芳香性健胃薬、鎮痛薬、リウマチの治療薬として用いられている。この使用目的から抗炎症作用が期待されるので抗炎症作用およびその活性成分を検討した。抗炎症作用は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を指標とした。メースのメタノールエキスの経口投与により抗炎症作用が認められ、この活性はエーテル、ヘキサン可溶画分へ移行した。さらに活性成分をシリカゲルカラムクロマトグラフ、TLC を用い分離、精製し、機器分析により myristicin を同定した。また、この化合物はマウスでの酢酸誘発 writhing を抑制し鎮痛作

用を示した。これらのことから、メースによる抗炎症作用は含有される myristicin によることが明らかとなり、この物質は鎮痛作用も示すことが明らかとなった。

* バンドン工科大学

インドネシア産伝承薬から分離された *Aspergillus flavus* 菌株のアフラトキシン生産性

成田紀子, 鈴木明子, 宇田川俊一, 関田節子, 原田正敏, 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*: マイコトキシン, 27, 21 (1988)

1986年に収集したインドネシア Jamu 植物、香辛料79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。分離した103株中30株にAF生産性が認められ、このうち10株は100 ppm 以上のAFB₁を生産する強力な株であった。さらに、AFBのみでなくAFGグループを多量に生産する3株が特に注目され、菌学的性質を検討した結果、いずれも小型菌核を多数形成する *A. flavus* 非典型株であった。本菌株は、最近東南アジアの畑地土壤に分布していることが報告されており、今後食品汚染での注意が必要である。

* 神戸市環境保健研究所

インドネシア産伝承薬のアフラトキシン汚染

田中敏嗣*, 長谷川明彦*, 山本進*, 青木伸實*, 戸矢崎紀紘*, 松田良夫*, 宇田川俊一, 関田節子, 成田紀子, 鈴木明子, 原田正敏: マイコトキシン, 28, 33 (1988)

インドネシア伝承薬79検体からアフラトキシン (AF) 生産性 *Aspergillus flavus* 30株が検出されたことをマイコトキシン, 27, 21 (1988) に報告した。そこでこれらの試料を対象にAF汚染の実態をHPLC法により検討した結果、Selasi biji (*Ocimum basilicum* L.) から AFB₁ 7 ng/g, B₂ 1 ng/g, kenari (*Canarium amboinense* HOCHR.) から AF B₁ 10 ng/g, B₂ 1 ng/g が検出された。

* 神戸市環境保健研究所

Isolation and Structures of Two New Indoloditerpenes Related to Aflavinine from a Microsclerotium Producing Strain of *Aspergillus flavus*

Koohi NOZAWA*, Setsuko SEKITA, Masatoshi HARADA, Shun-ichi UDAGAWA and Ken-ichi KAWAI*: *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 626 (1989)

Aspergillus flavus 非典型株の形成する小型菌核における代謝産物を検討した。小型菌核の CH_2Cl_2 エキスをHPLCを用いて分離したところ強い歪れん性を示す aflatrem, aflavinine, paspalinine, dihydroxyaflavinine および新規化合物A (プリズム晶, mp 161~162°C, $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{NO}_2$), B (プリズム晶, mp 146~148°C, $\text{C}_{28}\text{H}_{39}\text{NO}_2$) を得た。各種スペクトルデータならびにX線解析により, A は monohydroxy aflavinine, B は monohydroxyisoflavinine と構造決定した。

* 星薬科大学

漢方エキス製剤の分析について(I)

原田正敏, 荻原幸夫^{*1}, 鹿野美弘^{*2}, 赤堀 昭^{*3}, 市尾義昌^{*4}, 三浦 浩^{*5}, 鈴木英世: 医薬品研究, 19, 852 (1988)

医療用漢方エキス製剤の品質確保の基準が示され, それを充足する品質の製剤が市場に導入された。この方法論の一層の充実を目指して, 厚生科学研究(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, 昭和60~62年度)が実施された。本研究では, 規格設定が難しい処方について, 指標成分の選定と試験法の開発を遂行し, ほぼ全処方につきその達成をみた。ここでは, その内容の前半を解説するとともに, 最近までに発表された漢方処方の分析法をレビューした。

^{*1} 名古屋市立大学薬学部

^{*2} 北海道薬科大学

^{*3} 小太郎漢方製薬(株)研究所

^{*4} (株)津村順天堂医薬品開発部

^{*5} 鐘紡(株)漢方研究所

漢方エキス製剤の品質評価のための指標成分の選択について

鈴木英世: *Pharm. Tech. Japan*, 5, 41 (1989)

医療用漢方エキスの製造工程における品質管理は, 成分分析によって行われるようになった。その際, 配合生薬の成分から選ばれた指標物質が用いられる。しかし, 生薬は非常に多成分系であり, 指標物質の選択は難しい。指標物質の問題について実例を示しながら考えてみた。まず, ケイヒの70% MeOHエキス, 煎剤(水溶液)および煎剤濃縮エキス中の主要成分をHPLCと比較して, 指標物質を選択した。次に, この指標物質を漢方処方の五苓散の品質管理に使用できる可能性を検討した。これらの例から, 指標物質の問題だけでなく, 分析方法や成分利用率などの問題点を解説した。

半夏・蘇葉・蘇子の品質

西本和光: 現代東洋医学, 9, (2), 59 (1988)

半夏およびその偽品である水半夏について形態的鑑別を述べた。また, 蘇葉にはアカジソ, アオジソの系統があるが, 色とは精油成分が必ずしも相関しないので, 精油分析によりペリラルデヒドを主成分とするものを選別使用し, フリルケトン類を含むものは好ましくないことを紹介した。

延胡索・茴香の品質

西本和光: 現代東洋医学, 9, (3), 75 (1988)

中国産延胡索の原植物学名が数度かえられている。この学名改訂の経緯を整理して紹介した。また, 中国産と韓国産の形状的差異についても言及した。茴香は産地が多地域に分散しているもので, 天産物の常として, その品質は産地, 特に有名な産地によって決ってしまうことを紹介した。

知母・麦門冬の品質

西本和光: 現代東洋医学, 9, (4), 74 (1988)

中国産および韓国産知母の形状を紹介した。麦門冬については, 昔あった日本産はなく中国産が現市場品であること, その原植物および類似植物, さらに漢方処方でこれと組合せ配合される生薬などについても紹介した。

藜本・唐川芎の品質

西本和光: 現代東洋医学, 10, (2), 88 (1989)

藜本, 遼藜本, 唐川芎は形状がやや類似した漢薬であり, その精油成分組成をcapillary column OV-225 Bを用いたガスクロマトグラフ法で分析した。その結果, 遼藜本は国産の川芎に, また, 唐川芎は国産の当帰に精油組成が類似しているという知見を得た。

安全性・副作用(I)——古典における処方運用の基準と注意

原田正敏: 現代東洋医学, 9, (2), 86 (1988)

漢方処方(方剤)の安全性と副作用は, 特にそのエキス製剤が医療に繁用されるようになったため, あまり, それに馴染みのない医療従事者が使うことを考えると, なお, 一層重要な関心事項となる。漢方処方の使い方は『傷寒論』を初めとする古典に詳細に記載されており, 副作用に対する注意も入念に書かれ, 可能なかぎりの安全性を確保する。このような副作用とそれを回避する方法論は, いまや, 倫理性的の見地から意図的には決して再試験されない貴重な内容を持つ。こ

ここでは、この方法論について解説した。

安全性・副作用(II)——薬理・毒性的検討

原田正敏：現代東洋医学，9，(3)，105(1988)

前号の記事内容を受けて、処方安全性を医療用漢方エキス製剤の「使用上の注意」に基づき、薬理・毒性的の見地から検討した。併せて、配合生薬単味と薬物併用についての検討を行った。内容は、電解質代謝に対する影響、過敏症発現、諸器官系における副作用発現、妊娠時の服用注意、漢方製剤同士の併用、漢方処方と現代的医薬品との併用の注意と仕方、甘草、大黃、附子、麻黄の使用時の注意、毒性的研究の紹介などである。

漢方処の薬効分類——くすりを選ぶために

原田正敏：現代東洋医学，9，(4)，104(1988)

現代的医薬品は適切な薬効群に分類されて使用される。これは、できるだけ薬理作用に基づいて医薬品を使うことが合理的であるという医薬品の使用法の考えと通ずる。一方、漢方処方については、その薬効分類がなく、したがって、それに基づく使用がない。いわゆる、漢方術語にある“症”に従って処方を使うのを処方使用の方法としている。しかし、医療用漢方製剤や一般用漢方製剤には、その効能・効果が現代的言葉で提示されている。この表現を見ると、その多くの処方、適切な現代的薬効群に分類することが可能であることを示す。ここでは、一般用漢方製剤210処方のうちの200処方について、それぞれの効能・効果に基づき、鎮咳去痰薬、精神神経用薬、婦人薬など31薬効群に分類した。

薬物治療学よりみた漢方処方——薬理学的見方との対比

原田正敏：現代東洋医学，10，(1)，100(1989)

薬理学は薬物と生体との相互作用を研究する学問である。この場合の薬物は単一成分であることから始まり、そのレベルでの情報を基に順次複数の混合物(配合剤)となっていく。この意味で、漢方処方は極めて複数の成分からなる配合剤とみなされるので、薬理学からの見方をすると、極めて複雑な要素を取り扱うことになる。一方、薬物治療学は個々の薬物を使って、疾病の治療の方法を研究する学問である。この線に沿って漢方処方をみると、経験的なレベルで(なかには薬理学的レベルのものもある)、漢方処方は薬物治療学的内容を持つ。この辺りのことを漢方処方の基礎的薬理データとともに解説した。

“良い”生薬について

原田正敏：漢方の臨床，36，(1)，191(1989)

化学薬品は公定書あるいはそれに準ずる規格書に記載されたものであれば、すべて同質のものと見なされ、ロット間で特に等級差はない。これに対して、生薬は同じ局方品であっても、市場では、ロットにより等級を付けて区別されるのが常套である。このことは、常に“良い”生薬とは——という問題を提起している。生薬の品質について、公的には区別を付けないこと、市場では区別を付けていることの実情に対する解釈を、医薬品のロットの均一性という視点より行った。

放射線滅菌ならびに高圧蒸気滅菌されたポリウレタン中の4,4'-ジアミノジフェニルメタン(MDA)の分析について

新谷英晴，中村晃忠：人工臓器，18，127(1989)

熱可塑性ポリウレタン(PU)中の4,4'-ジアミノジフェニルメタン(MDA)の定量法を確立し、放射線ならびに高圧蒸気滅菌したときのMDA生成とPUフィルムからメタノールおよび血清へのMDAの溶出について検討した。使用したPUは次の2系統である。すなわち、PU-1-3: 4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネート(MDI)とポリテトラメチレングリコール(PTMG)のポリマー; PU-4-6: MDI-PTMGプレポリマーを、1,4-ブタンジオールで鎖延長したポリマーである。放射線滅菌(10 Mrad)以下の場合、PU-1-3およびPU-4-6ともにMDAの生成は見られなかった。他方、高圧蒸気滅菌(121°C, 30分)の場合、PU-4-6ではMDA生成は認められなかったのに対し、PU-1-3ではMDAの生成が認められた。PU-1-3のフィルムから血清に溶出するMDAの量はメタノールへの溶出量とほぼ同じ程度であった。

評価と基準—医用材料の前臨床試験について

中村晃忠：生体材料，7，46(1989)

医用材料の前臨床試験、特に毒性試験の位置付けと各国のガイドラインに関する動向、および日本での標準化の進行状況を記した。

Gas Chromatographic Determination with Electron Capture Detection of Residual Ethylene Oxide in Intraocular Lenses

Hiroshi KIKUCHI, Akitada NAKAMURA and Kusuo TSUJI: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71, 1057(1988)

ECD/GCを用いた感度のよい眼内レンズ(IOL)中

の残留エチレンオキシド(EO)の分析法を開発した。IOLをプロピレンオキシド(PO: 内部標準物質)を含有したエタノール中に浸漬し、臭化水素酸を滴加し、バイアル瓶中で 50°C, 24hr 加熱して EO を溶出させると同時にエチレンプロモヒドリン(EBH)に変換し、POからの変化体のプロピレンプロモヒドリン(PBH)とEBHをECD/GCによって定量する方法である。検出限界は約 2 ppmである。分析操作の細部の検討結果を記した。

新しい感度のよい分析法(ECD/GC法)による市販眼内レンズ中の残留エチレンオキシドの分析調査について

中村晃忠, 菊地 寛, 辻 楠雄: *IOL*, 3, 4 (1989)

ECD/GC を利用した感度のよいエチレンオキシド(EO)分析法を開発し, それを利用して市販眼内レンズ(IOL)の残留EOの調査を行った。また, 従来から用いられてきたヘッドスペース法との相関についても検討した。この分析法は1枚のIOL中の2 ppm以上のEOを定量することができる点がヘッドスペース法より優れており, ECD/GC法とヘッドスペース法による分析値は良い一致を示した。11社より提供された110検体のIOLを分析したところ, 6検体が25 ppmをオーバーした。

Human Embryonic Cell Growth Assay for Teratogens with or without Metabolic Activation System Using Microplate

Toshie TSUCHIYA, Atsuko MATSUOKA, Setsuko SEKITA, Takuzo HISANO*, Atsusi TAKAHASHI and Motoi ISHADATE, Jr: *Teratog. Carcinog. Mutag.*, 8, 265 (1988)

催奇形性の *in vitro*試験法として, ヒト胎児から樹立された human embryonic palatal mesenchymal (HEPM) cell の増殖度を指標として, マイクロプレートでアッセイする系を確立した。また, 代謝的活性化系の導入も検討した。

本法での, 種々の制ガン剤の 50% 阻害濃度 (IC₅₀) は 0.001~10 µg/ml の広範囲におよんだ。Mycotoxin である sterigmatocystin 類縁体についてアッセイした結果, いずれも比較的低濃度で阻害活性を示し, 催奇形性作用が示唆された。

本法は代謝的活性化についても感度高く, 少量の検体を用いて簡便に試験できることが判明した。

* 熊本大学薬学部

手術用手袋と消毒薬による接触皮膚炎

柴田啓子*, 白井俊和*, 井澤洋平*, 鹿庭正昭: 皮膚, 29 (増刊第3号), 46 (1987)

外科医2名が手術用手袋と消毒薬によるアレルギー性皮膚炎を生じた。そのうちの1名は加硫促進剤由来のアミンの piperidine, diethylamine に陽性であった。そこで, 外科医21名, 看護婦47名, 看護助手9名にパッチテストを行ったところ, 高い陽性率を示した。

* 社会保険中京病院

炎症後脱色素斑を生じた水中眼鏡皮膚炎の2例

関東裕美*, 小野田 進*, 細野久美子*, 伊藤正俊*, 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 皮膚: 30 (増刊第4号), 132 (1988)

水泳教室で水中眼鏡を使用した2人の男性において, 左右の眼の周りに紅斑を繰返した後, 脱色素斑を生じた。ゴム添加剤, 白斑惹起物質および水中眼鏡についてパッチテストを実施するとともに, 水中眼鏡の分析を行い, 原因物質の究明を行った。

* 東邦大学医学部付属病院

Para-tert-butylphenol formaldehyde resin (PT-BPFR)によるアレルギー性接触皮膚炎

生野麻美子*, 江副和彦*, 鹿庭正昭, 小嶋雄茂: 皮膚, 30 (増刊第5号), 83 (1988)

同じブランドのテーピングテープによって足に接触皮膚炎を生じた2つの事例について原因を究明した。その結果, テープの粘着性を高めるために配合したアルキルフェノール樹脂の PTBPFR がテープ中に含まれており, しかもパッチテストで陽性を示したことから, 原因物質であることが確認できた。

* 埼玉県済生会川口総合病院

家庭用品による接触皮膚炎の原因化学物質の追求(第6報): 手術用ゴム手袋中の老化防止剤および加硫促進剤

鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 白田俊和*, 柴田啓子*, : 衛生化学, 33, 140 (1987)

市販の手術用ゴム手袋中のゴム添加剤(老化防止剤, 加硫促進剤)の分析を行った。その結果, 老化防止剤としてフェノール系化合物, 加硫促進剤としてジチオカーバメート(DTC)系化合物が含まれていた。

病院関係者に対して, その病院で使用している手術用ゴム手袋をパッチテストした結果, 製品間で陽性率に差があること, DTC系化合物, なかでも zine dimethyldithiocarbamate (ZDMC) を含む製品が最も高

い陽性率を示した。

これらの結果から、DTC系化合物、特にZDMCが手術用ゴム手袋による接触皮膚炎の原因物質として注目された。

* 社会保険中京病院

Phosgene(2,5-dichlorophenyl)hydrazone, a New Strong Sensitizer

Shigeo KOJIMA and Junko MOMMA: *Contact Dermatitis*, 20, 235 (1989)

1989年に発生した黄色綿セーターによる接触皮膚炎事故の原因物質の一つがホスゲン(2,5-ジクロロフェニル)ヒドラゾンであることを明らかにした。事故品のアセトン抽出物を用いて感作モルモットを作成した。このモルモットに、抽出物やそのクロマト画分をパッチして、陽性反応を示す画分を選び出し、アレルゲンを抽出物から分離した。アレルゲンを含む画分をGC-MSで分析したところ、ホスゲン(2,5-ジクロロフェニル)ヒドラゾンが検出された。この化合物は黄色色素が次亜塩素酸ナトリウムと反応してできたものであり、①脂溶性が高く、皮膚を透過し易い上に、②代謝を受けなくてもそのままの形で表皮たんばくのアミノ基やチオール基などと結合し易いなど、典型的な感作性物質と考えられた。そこで、この化合物を別途合成し、感作モルモットおよび事故品の布のパッチで感作されたボランティアにパッチしたところ、いずれも強い陽性反応を示したことから、ホスゲン(2,5-ジクロロフェニル)ヒドラゾンが今回の事故の原因物質であることがわかった。

Effect of Cadmium on Vitamin D-Non-stimulated Intestinal Absorption in Rats

Masanori ANDO, Sachiko MATSUI, Hideto JINNO and Mitsuharu TAKEDA: *Toxicology*, 45, 1 (1987)

Cdは腸管からの能動的Ca吸収を阻害する。そこで、腸管Caの能動輸送に関与しているCa binding蛋白とCdとの相互作用を検討するため、*in vivo* および *in vitro* の系での binding蛋白の挙動を検討した。Cdの連続経口投与したラットの十二指腸を摘出し反転腸管によるCaの能動輸送をみると対象群に比較して低下していることを認めた。また、正常ラットを用いた *in vitro* による腸管Ca能動輸送の実験でもCdの添加でCa吸収が抑制することが観察された。そこで、腸管Caの binding蛋白におよぼすCdの影響について検討するため Sephadex G-100によるゲルろ過を行った。

正常およびCd投与ラットの腸管粘膜上清に⁴⁵Caを加えてCa-binding量をみると正常ラットに比べて、Cd投与ラットの腸管上清中のCa-binding量は明らかに減少していた。そこで、Ca-binding蛋白とCdとの相互作用をみるため、⁴⁵Ca-binding蛋白と¹⁰⁹Cd-binding蛋白の相違について Sephadex G-100によるゲルろ過およびCM-Sephadexを用いて検討した。その結果、Sephadex G-100によるゲルろ過パターンではCaもCdも同程度の分子量の蛋白であることがみられたが、CM-Sephadexによる分画では全く異なった溶出パターンを示した。このことより、腸管におけるCdのCa吸収阻害は腸管Ca-binding蛋白にCdが結合したのではなく、CdはCa-binding蛋白の合成過程に影響を与えることが考えられた。

Generation of Hypophosphatemia in Rats by Continuous Oral Administration of Cadmium
Masanori ANDO, Sachiko MATSUI, Hideto JINNO, Yasuyoshi SAYATO and Mitsuharu TAKEDA: *Toxicology*, 53, 1 (1988)

CdによるCa代謝異常の解明の一環として血清CaおよびPの変化をCa代謝に関与する種々の調節因子(副甲状腺ホルモン投与(PTH)、副甲状腺ホルモン摘出(PTX)、活性型ビタミンD投与(VD)など)で負荷することによって検討した。Cdの連続経口投与したラットの血清Caは正常ラットのそれと同程度のレベルであった。しかし、血清Pは正常なラットに比較して著しく低下していることを認めた。そこで、Cdラットに副甲状腺ホルモン投与、副甲状腺ホルモン摘出、活性型ビタミンD投与などの負荷を与えたところ、血清Caの変化は正常ラットにおける変化とほとんど同様なパターンを示した。これに対して、血清PはCd投与群でPTHの投与によって低下し、PTXによって上昇することを認めた。このことより、Cdによる低リン血症は二次的な副甲状腺ホルモン亢進症であることが示唆された。

化粧品の迅速分析法—4—

「防腐殺菌剤を含有する化粧品の迅速分析法」

木嶋敬二, 齊藤恵美子: 月刊薬事, 31, 1213 (1989)

本試験法は歯磨類, 化粧品類, クリーム乳液類(いわゆる一般基礎化粧用クリーム)および洗髪用化粧品類(シャンプー)中のパラオキソ安息香酸エステル類(メチル, エチル, イソプロピル, プロピル, ブチルの各エステル, 安息香酸およびサリチル酸の分析に適用できる方法である。各製品タイプ別に試験溶液を調

製し、逆相HPLC (カラム: ODS系シリカゲル, 移動相 ①メタノール・0.05Mリン酸二水素ナトリウム・0.05Mリン酸水素二ナトリウム (60:20:20) + 塩化セチルトリメチルアンモニウム (最終濃度 0.0025M) ②アセトニトリル・水 (30:70) + 臭化テトラアミルアンモニウム (最終濃度0.1%), 検出波長240 nm, 添加回収率も良好で化粧品中の防腐殺菌剤の分析に有用な方法であると思われる。

Isolation of Toxins from Natural Blue-green Algae and Unicellular Cultured *Microcystis aeruginosa*

Hideto JINNO, Masanori ANDO, Sachiko MATSUI and Mituharu TAKEDA: *Environ. Toxicol. Chem.*, 8, 493 (1989)

閉鎖系水域では最近の富栄養化に伴ってアオコの発生が深刻な問題となっている。このアオコの中には毒性物質を産生する種類も報告されている。そこで、毒性を産生するアオコの毒性物質の生成と自然界におけるアオコ毒性物質と培養アオコの毒性物質との比較を行った。培養アオコの毒性物質の生成を DEAE-cellulose カラムを用いて検討したところ、少なくとも5つの毒性物質が生成していることがみられ、そのLD₅₀はアオコ乾燥重量として85 mg/kg 以下の非常に強い毒性を有することを認めた。また、自然界のアオコ中で産生された毒性物質は5つのうちのF-IIの1物質しか生成しないことを認めた。

化粧品およびその関連成分の分析

木嶋敬二: 日本化粧品科学会誌, 13, 17 (1989)

化粧品の成分は数千種類の物質が使用されているといわれている。原料別にも油脂, 炭化水素, 界面活性剤などの基剤を初め微量に添加する防腐殺菌剤, 香料, ビタミンなど多量にわたっている。したがって、製品分析法は繁雑で長時間を要したが近年、高速液体クロマトグラフィーなど機器分析がこの分野にも応用され簡便で迅速な方法が報告されるようになった。ここでは著者らが最近報告した化粧品中の紫外線吸収剤, 水銀化合物の分析法を中心に1985年以降の文献の中からタール色素, シリコン誘導体, 香料などを選んで解説を加えたものである。

Determination of Tri-n-butyltin and Di-n-butyltin Compounds in Yellowtails

Kumiko SASAKI, Takashi SUZUKI and Yukio SAITO: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 41, 888

(1988)

魚体中のトリブチルスズとジブチルスズを酸性下, エーテル・ヘキサン抽出し, アルキル化後, シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い, FPDガスクロマトグラフィーにより定量する方法を開発し, プリの両化合物による汚染実態を調査した。天然魚, 養殖魚いずれからも両化合物が検出された。トリブチルスズの濃度は赤肉, 肝臓で高く, 白肉ではその約1/2であった。ジブチルスズは肝臓にトリブチルスズの2~3倍多く, 0.025~3.7 µg/g 含まれていたが, 白肉には少なかった。両化合物の各部位における濃度, あるいは各部位における両化合物濃度間には0.86~0.99の高い相関性が認められた。

Nephrotoxicity of Intravenously Injected Cadmium-metallothionein: Critical Concentration and Tolerance

Tamio MAITANI, Francis E. CUPPAGE* and Curtis D. KLAASSEN*: *Fundam. Appl. Toxicol.*, 10, 98 (1988)

カドミウム-メタロチオネインをマウスに静脈内投与した時の腎障害を調べた。一回投与では投与量0.2 mg Cd/kg 以上で障害が認められた。腎中カドミウムの臨界濃度は, 10 µg Cd/g 湿重量と推定された。腎障害の認められた用量では, 投与後4, 12時間において臨界濃度をこえるカドミウムが腎に存在したが, 24時間後には10 µg/gにまで減少した。一方, 全用量を4回に分けて投与した場合には, 腎中カドミウム濃度が30 µg/gに達しても腎障害は認められず, 耐性現象が認められた。

* University of Kansas Medical Center

発根・発芽法によるγ線照射グレープフルーツの検知法の研究

内山貞夫, 今野聖子*, 豊岡利正, 河村葉子, 斉藤行生: 食衛誌, 30, 152 (1989)

グレープフルーツ種子の発根・発芽によるγ線照射の有無を短期間に判定するため, インドール-3-酢酸とジベレリン酸を添加し, 発根と発芽を促進させ, 判定時間を短縮させた。処理後の播種実験では, 対照群が1週間前後で発根し根長を伸ばしたが, 実用線量の50 krad に照射群では発根時期が遅れ, 10 mm以上の根長を有するものは皆無であった。実験開始12日後の10 mm以上根の出現率は, 対照群で30%, 照射群で0%を示し, 発芽率は16日後で対照群20%, 照射群0%を示し, その後も照射群では発芽はなかった。よって

本法による γ 線照射の判定は10mm以上根が出現しないことと発芽停止によった。30 krad 照射群でも同様な結果を示したことから、本法は低線量照射グレイプフルーツの特異的検知法として有用である。一方、穀物種子の発芽能力テストとして使用される TTC 活性測定をグレイプフルーツ種子に応用したが、照射による TTC 活性の変化はなかった。

* 共立薬科大学

γ 線照射のグレイプフルーツ中の β -ピネンおよび発芽に与える影響

内山貞夫, 長島きみよ*, 河村葉子, 斉藤行生: 食衛誌, 29, 395 (1988)

γ 線照射グレイプフルーツの検知法を検討する目的で、照射によるグレイプフルーツ中の β -ピネン量の変化と発芽への影響を調べた。グレイプフルーツ中の β -ピネンは γ 線照射に対して分解しやすい精油成分の一つと報告されているが、本実験においては30~200kradで照射しても分解しなかった。50kradで照射したグレイプフルーツを10°C, 2か月間保存しても、 β -ピネン量に変化はなかった。 β -ピネン自体は比較的 γ 線照射に対して安定であり、1 Mrad 照射しても分解しないことから、検知法への利用の可能性は低かった。一方発根への影響は少ないものの、発芽に対しては30 krad 照射群でも抑制され、発芽を指標とする検知法の可能性は高かった。

* 共立薬科大学

Some Problems with 1,2-Dibromoethane Residue Analysis

Takashi SUZUKI, Takashi ISHIZAKA, Kumiko SASAKI and Yukio SAITO: *J. Agric. Food Chem.*, 37, 564 (1989)

輸入果実中の EDB 含有量について調査を行った。各ロットから各々9個の個体を抽出し、その EDB 含有量を調査した結果、その標準偏差は、マンゴーで最高100, 最低で41%であり、またパパイアでは最高90, 最低で27%であった。また均一化するために30秒間ホモジナイズしたところ EDB 含有量は11~15%の減少を示した。グレイプフルーツを種子、皮、果肉と分離したのち、EDB 含有量を測定したところ、種子で極めて高く(最高2550 ppb)、皮では低く(最高3.97 ppb)、そして果実では無視し得る程度(最高0.51 ppb)であった。

オーストラリア産輸入肉中の残留農薬について

鈴木 隆, 石坂 孝, 佐々木久美子, 斉藤行生, 福田 裕: 食衛誌, 30, 48 (1989)

各種肉類中の有機塩素系農薬およびクロールピリホスの分析法について検討した結果、有機塩素系農薬およびクロールピリホスの脱脂精製法として10%含水シリカゲルによるドライカラム法、引続き行うフロリジルミニカラムクロマトグラフィーが極めて有効であることが判明した。

オーストラリア産輸入肉の実態調査の結果、ディルドリンについて暫定基準値0.2 ppmを越えるものが1件見出された以外は基準値を越えたものは存在しなかった。調査した4種類の肉の中で牛肉と羊肉とはほぼ同様な残留傾向を示したが、馬肉では有機塩素系農薬による汚染が若干高い傾向にあることが判明した。

A Half-embryo test for Identification of Gamma-irradiated Grapefruit

Yoko KAWAMURA, Sadao UCHIYAMA and Yukio SAITO: *J. Food Sci.*, 54, 379 (1989)

種子の発芽が γ 線照射により抑制されることを用い、さらに改良した照射グレイプフルーツの検知法の検討を行った。非照射グレイプフルーツ種子の発芽は種皮の除去、胚の摘出、さらに half-embryo (幼根および一子葉のみ)の調製により期間が極めて短縮され、再現性も良好となった。Half-embryoでは6日以内に芽の伸長がみられた。そこでグレイプフルーツに照射を行ったところ、15 krad以上の照射では half-embryo の根の生長が抑制され、芽の伸長は見られなかったが、5 krad照射あるいは非照射の場合は根、芽ともにすみやかに生長した。カリフォルニアおよびフロリダ産マーシュホワイト種およびカリフォルニア産ルビーレッド種において一致した結果が得られ、また照射後8週間経過しても貯蔵による変化は全く見られなかった。以上より half-embryo の芽の伸長を指標とした half-embryo test は迅速かつ再現性よく照射グレイプフルーツを検知することができ、極めて有用な方法である。

High-performance Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Analysis of α -Solanine and α -Chaconine in Potato Plants Cultured *in vitro*

Kayoko KOBAYASHI, Andrew D. POWELL, Masatake TOYODA and Yukio SAITO: *J. Chromatogr.*, 462, 357 (1989)

馬鈴薯植物体中の有毒グリコアルカロイド α -ソラ

ニンと α -チャコニンを HPLC を用いて分析する方法を確立した。組織 1g からメタノールで 2 回抽出を行ない、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、さらに Sep pak C₁₈ で精製した後、HPLC で定量した。

HPLC 条件はカラム： μ Bondapak NH₂、移動相：エタノール-アセトニトリル-リン酸二水素カリウム水溶液 (3:2:1)、流速 1.5 ml/min、検出：205 nm。本法における添加回収率は、ソラニンが 91.4%、チャコニンが 98.8% であった。

本法は組織培養初期に少量しか得られない検体を分析する手段として開発した。

Amorphous Formation of 9, 3''-Diacetylmidecamycin through Mixed Grinding

Toyomi SATO*¹, Mayumi ISHIWATA*¹, Satoru NEMOTO, Hiroyuki YAMAGUCHI*¹, Toshiyuki KOBAYASHI*¹, Keiji SEKIGUCHI*² and Yasuyuki TSUDA*²: *Yakuzai gaku*, 49, 70 (1989)

非晶質化の目的で、9, 3''-diacetylmidecamycin (MOM) の結晶体をポリビニルピロリドン、ポリビニルピロリドンおよびヒドロキシプロピルメチルセルロースなどの添加剤とともに振動ミルを用いて粉碎した。このようにして得られた生成物について示差走査熱量分析 (DSC)、粉末 X 線回折および偏光顕微鏡により検討した。その結果、添加剤との混合粉碎により結晶単独で粉碎した場合に比べ MOM の非晶質固体が容易に得られた。また、安定性および DSC の測定結果より、二つの異なった非晶質状態の存在が示唆された。

*¹ 明治製菓 (株)

*² 北里大学薬学部

Amorphous Formation of 9, 3''-Diacetylmidecamycin by Freeze Drying and through Grinding

Toyomi SATO*¹, Mayumi ISHIWATA*¹, Satoru NEMOTO, Hiroyuki YAMAGUCHI*¹, Toshiyuki KOBAYASHI*¹, Keiji SEKIGUCHI*² and Yasuyuki TSUDA*²: *Yakuzai gaku*, 48, 296 (1988)

9, 3''-diacetylmidecamycin (MOM) の非晶質固体を得る方法として凍結乾燥法および粉碎法について検討を行った。凍結乾燥は、MOM のジオキサン溶液を用いて行った。粉碎は、添加剤を加えずに振動ミルを用いて行った。凍結乾燥された MOM は、完全な非晶質固体の物理化学的特性を示したのに対し、粉碎された MOM は、20 時間粉碎後も完全な非晶質状態とはなら

なかった。凍結乾燥された MOM は、スプレードライ法により得られた MOM の非晶質固体とほぼ同様な溶解性を示し、結晶体の約 10 倍の値を示した。

*¹ 明治製菓 (株)

*² 北里大学薬学部

食品用容器包装からの溶出成分の分析——特にホルムアルデヒドについて

石綿 肇, 義平邦利: *ジャパン・フード・サイエンス*, 27, (10), 56 (1988)

ホルムアルデヒドは吸入によりラットやマウスに偏平上皮ガンが認められることから、食品中や容器包装から溶出するホルムアルデヒドが問題視されている。そこで、食品衛生法およびその他の方法によるホルムアルデヒドの分析法、それらの方法の比較、試料への応用性について総説した。さらにヒトに対するホルムアルデヒドの供給源やメラミン樹脂からの溶出などについても言及し、解説した。

Effects of Food Components and Additives of the Formation of Nitrosamides

Miyako YAMAMOTO, Takashi YAMADA, Kunitoshi YOSHIHARA, Akio TANIMURA and Isao TOMITA*: *Food Additives Contam.*, 5, 289 (1988)

ニトロソアミドの生成におよぼす食品成分および食品添加物の影響について検討した。その結果、ウレア類、ウレタン類、アミド類等と亜硝酸からのニトロソアミドの生成はクエン酸により促進された。メチル尿素のニトロソ化はカルボキシル基のある化合物により促進される傾向がみられた。またこの反応は、チオール化合物、ポリフェノール類、アルコール類、dl- α -トコフェロールなどにより阻害された。

* 静岡県立大学薬学部

第 5 版食品添加物公定書英文版作成について

義平邦利, 山本 都: *食品衛生研究*, 38, 59 (1988)
第 5 版食品添加物公定書の英文版作成にあたっての経過、用いた用語集や基本文型について解説した。

Determination of Tetramethylsuccinonitrile in Food Containers and Packaging Made of Plastics

Hajimu ISHIWATA, Takiko INOUE, Miyako YAMAMOTO and Kunitoshi YOSHIHARA: *J. Agric. Food Chem.*, 36, 1310 (1988)

プラスチックモノマーの重合促進剤アゾビスイソブチロニトリル(AIBN)の分解物であるテトラメチルサクシノニトリル(TMSN)の定量を18種の合成樹脂76製品について行い、AIBNの使用実態について検討を行った。TMSNは溶媒抽出、水蒸気蒸留、留液からの溶媒抽出の順で抽出し、GC-NPDで定量した。確認はGC検液をHPLCで精製しGC-MSによった。TMSNはABS, MABS, PMMA, PAN, PSF, PVCの6種類の樹脂合計10検体に認められた。PMMAでは最も高頻度(3/4検体)に、また、MABSでは最高濃度(134.4 ppm)が検出された。

Comparative Studies on the Determination of Formaldehyde by the Acetylacetone and 4-Amino-3-hydrazino-5-mercapto-1, 2, 4-triazole Methods

Takiko SUGITA, Hajimu ISHIWATA and Kunitoshi YOSHIHARA: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 29, 273 (1988)

ホルムアルデヒドの定量法であるアセチルアセトン(AA)法と4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1, 2, 4-トリアゾール(AHMT)法とについて、ホルムアルデヒド樹脂の溶出試験への応用の観点から比較検討した。AHMT法の感度はAA法に比べ2.1倍高かったが、ホルムアルデヒドに対する特異性ではAA法が10~100倍高かった。両方法は100 ppmまでの尿素、フェノール、メラミンによって影響を受けなかった。AHMTはホルムアルデヒド溶液の溶媒および反応時の室温の影響を受けた。メラミン樹脂製食器を4%酢酸で80℃あるいは95℃で30分間処理した液について両方法でホルムアルデヒドを定量したところ、結果には差は無かった。

Aluminum Levels in Food-Simulating Solvents and Various Foods Cooked in Aluminum Pans

Takiko INOUE, Hajimu ISHIWATA and Kunitoshi YOSHIHARA: *J. Agric. Food Chem.*, 36, 599 (1988)

アルミニウム製調理用器具から食品疑似溶媒および食品中へのアルミニウムの移行について検討した。アルミニウム製品としてアルマイト処理および表面無処理のナベを、食品疑似溶媒としては水、4%酢酸、5%炭酸水素ナトリウムを、また食品としてはうどん、トマトジュース、ラーメンを用いた。溶出条件は、20℃/24時間、煮沸/10分、煮沸/2時間とした。アルミニウムの溶出濃度は、水では煮沸/2時間で表面無処理

ナベから0.04 ppmが最高であった。酸性およびアルカリ性溶媒ではアルミニウムの溶出は大きくなり、最高501 ppmを示した。表面処理ナベでは無処理のものに比べ約半分の溶出濃度であった。食品を表面無処理ナベで10分間煮沸したとき、アルミニウムの移行濃度はうどんではnd、トマトジュースでは3.6 ppm、ラーメンでは3.8 ppmであった。

Some Properties of Nitrosation-Accelerating Substance(s) in Sodium Chondroitin Sulfate

Takashi YAMADA and Miyako YAMAMOTO: *衛生化学*, 34, 495 (1988)

市販のコンドロイチン硫酸ナトリウムの中の不純物は、第二アミンと亜硝酸からのニトロソアミン生成を強く促進する。限外ろ過膜DIAFLO YCO 5でろ過すると、ニトロソ化促進活性(NAA)の約70%はそのろ液中に回収された。限外ろ過およびSephadex G-10によるクロマトグラフィーの結果、NAAを示す主な物質の分子量は数百であることがわかった。この物質は亜硝酸と反応し、徐々にその活性を失う。また、ニトロソアミンの促進物質であることがよく知られているチオシアン酸と相加的に働く、ニトロソメチル尿素の生成は促進しない。

グリチルリチン酸のナトリウム塩、アンモニウム塩および甘草抽出エキスの試験法等について

義平邦利, 神蔵美枝子, 山田 隆, 石綿 肇, 武田 由比子, 川崎洋子, 山本 都, 合田幸広, 佐藤恭子: *食品衛生研究*, 39, (3), 7 (1989)

グリチルリチン酸の塩類について確認するため、食品添加物公定書の試験法およびイオンクロマトグラフィー(IC)を用い検討を行った。また甘草抽出エキス中のグリチルリチン酸の形態等についても高速液体クロマトグラフィーとICを組み合わせて検討を行った。

Anthraquinones from *Rubia tinctorum*

Yoko KAWASAKI, Yukihiro GODA and Kunitoshi YOSHIHARA: *Jap. J. Pharmacol.*, 42, 166 (1988)

*Rubia tinctorum*から3種のアントラキノンを新しく単離し構造決定を行った。このうちノルダムナカンタールは本植物の主成分のひとつであることを明らかにした。

イオンクロマトグラフィーによる食用タール色素中の塩化物および硫酸塩の定量

合田幸広, 高野寿子, 佐藤恭子, 神蔵美枝子, 義平

邦利: 食衛誌, 29, 325 (1988)

食用タール色素中の塩化物および硫酸塩の定量に、ノンサプレッサー方式のイオンクロマトグラフィー(IC)の応用を試みた。陰イオン交換型カラムと電気伝導度検出器を用い、色素水溶液(1 mg/ml)を直接ICに供した。国立衛生試験所標準品を用いた、NaClとNa₂SO₄の添加回収実験では、すべての食用タール色素について、両塩ともほぼ100%の回収率を得た。次に、食品添加物公定書に定められている滴定法とIC法を比較検討した結果、IC法の方がより良好な回収率でかつ、測定精度の高い方法であることが明らかとなった。また、食用タール色素アルミニウムレーキ中の水溶性塩化物および硫酸塩の定量にも本法を応用したところ、良好な結果を得た。

遺伝子組換え技術関連食品の安全性評価

谷村顕雄, 三瀬勝利: 食品衛生研究, 38, (11), 121 (1988)

食品分野における遺伝子組換え技術の応用と将来の展望, および遺伝子組換え関連食品の安全性評価について論じた。

Rapid Method for Detection of Restriction Endonuclease-producing Strains in Enteropathogenic Bacteria

Michiko MIYAHARA and Katsutoshi MISE: *Anal. Chim. Acta*, 213, 273 (1988)

腸内細菌より迅速かつ簡便に制限酵素産生菌を見出す方法を改良した。本方法を使って、207のサルモネラより27の制限酵素が、93のエルシニアより12が、10の大腸菌より1の制限酵素産生菌が検出された。サルモネラより、興味のある次の制限酵素が検出された。*S. thompson*より Sth I (Kpn I の isoschizomer), *S. infantis*より Sin I (Ava II の isoschizomer), そして *S. bareilly*より Sba I (Pvu II の isoschizomer) の産生が検出された。*Yersinia enterocolitica*より Yen I (Pst I の isoschizomer), そして大腸菌 NS11より Eco044 Iが見い出された。Eco044 Iは新型制限酵素と期待されるが、現在精製中である。

酵母および細菌を単独又は混合接種した魚介類における揮発性塩基窒素の経日変化

小島満子, 外海泰秀, 高木加代子, 伊藤蒼志男: 食衛誌, 30, 19 (1989)

酵母 *Candida lipolytica*, 細菌 *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas fluorescens* を滅菌魚介

類ホモジネートに単独または混合接種し、5°C, 15°C, 25°C で1週間保存した場合の生菌数, pH値, 揮発性塩基窒素(VBN)の生成量を経日的に測定した。*C. lipolytica*の生菌数は細菌2菌種のそれらより2~3オーダーも低かったが、*C. lipolytica*によって生成されたVBN量は*S. epidermidis*によって生成されたそれよりは極めて高く、*P. fluorescens*によって生成されたそれと近似していた。*C. lipolytica*によるVBN値は25°C保存では早くも2日目に70 mg-N/エビ100 g, 7日目には233 mg-N/エビ100 gに達した。また*C. lipolytica*は細菌との混合接種試料中においても優勢に増殖し、3週間保存後には細菌よりも高い生残性を示した。

The Decomposition of Fats in Mackerel Homogenates Inoculated with Yeasts or Bacteria

Yasuhide TONOGAI, Michiko KOBATAKE, Kayoko TAKAGI and Yoshio ITO: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 30, 138 (1989)

酵母または細菌を滅菌鯖試料に単独接種し、25°Cで7日間培養した後の試料中の遊離脂肪酸およびグリセリド構成脂肪酸量をガスクロマトグラフィーで測定することにより、酵母または細菌の脂肪分解率を調べた。また同一試料について総揮発性塩基窒素(VBN)を測定し、脂肪分解率との比較も行った。酵母の中では *Candida lipolytica*, 細菌の中では *Pseudomonas fluorescens* が大きな脂肪分解ならびにVBN値を示したが、*Bacillus subtilis*の場合VBN値は大きいも脂肪分解率は小さく、菌種により試料の腐敗パターンが異なっていた。

Time Courses for Viable Counts, pH and Total Volatile Basic Nitrogen in Squid Homogenates (*Ommastrephes bartrami*) Inoculated with Spoilage Yeast or Bacteria

Michiko KOBATAKE, Yasuhide TONOGAI and Yoshio ITO: *J. Food Prot.*, 51, 971 (1988)

滅菌イカホモジネートに腐敗酵母 *Candida lipolytica* と腐敗細菌 *Pseudomonas fluorescens* を接種し、腐敗実験を行った。腐敗酵母によって生成された揮発性塩基窒素量は、腐敗の目安とされている30 mg-N/100 gをはるかに越え、15°C培養の7日目で、112 mg-N/100 g, 25°C培養の7日目では215 mg-N/100 gに達した。酵母を接種したイカホモジネートは腐敗細菌 *P. fluorescens* を接種した場合と同様に組織が軟化し、アンモニア臭が発生した。また、pH値も経日的に上昇した。イカホモジネートにおける *P. fluorescens* の

定常期の菌数は 10^9 cfu/gであり、*C. lipolytica*のそれは $10^7 \sim 10^8$ cfu/gであったが、後者の細胞 $(2-5) \times (4-22) \mu\text{m}$ は前者のそれよりは大きく、揮発性塩基窒素の生成量は両者ともほぼ同程度であることが認められた。

Uptake and Deacylation of Bacterial Lipopolysaccharide in Cultured Rat Hepatocytes

Ichiro FUKUDA*¹, Ken-ichi TANAMOTO and Shiro KANEGASAKI*²: *Prog. Clin. Biol. Res.*, 272 (Bacterial endotoxins), 185 (1988)

エンドトキシンが生体内に入ったときにどのような形の生体の防御機構により無毒化されて行くのかを探るため、ラットの肝実質細胞におけるラベルしたエンドトキシンの脂肪酸の変化を *in vitro* で調べた。ラベル化エンドトキシンはサルモネラ、および大腸菌の種々の変異株を用い、多糖部分、リビドAのグルコサミン部分、脂肪酸部分を各々特異的にラベルしたものを合成で調整した。肝実質細胞はS型エンドトキシンは取り込まないが、R型エンドトキシンを時間、用量依存的に取り込んだ。さらに肝細胞との培養によりその上清中に脂溶性の物質が遊離してくることがわかった。この物質は48時間でプラトーに達する。この物質を二次元薄層クロマトで分離したところフリーの3-ヒドロキシル脂肪酸とトリグリセリドであることが判明した。脂肪酸は、多彩なエンドトキシンの活性発現に必須の構成成分であることから、このような脱アシル化反応は肝細胞がエンドトキシンの無毒化に大きく関与していることを示唆している。

*¹ 東北大学医学部

*² 東京大学医科学研究所

エンドトキシン研究の最近の進歩

——リビドAの構造と生物活性——

棚元憲一：臨床と微生物，16，58 (1989)

近年エンドトキシンの化学的研究、および構造と活性相関の研究はリビドAの化学合成の成功などによって飛躍的に発展した。ここではその概略を筆者の仕事を中心に解説するとともに、それを踏まえて臨床面でのエンドトキシンの意義と疾患に対する基礎的なアプローチの可能性を探ってみた。

Pathogenicity and Mycotoxigenicity of *Fusarium* spp. in Wheat

Masakatsu ICHINOE, Hisashi KAMIMURA*¹,

Shinzo KOIZUMI*² and Hajime KATO*²: *Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol., Spec. Issue*, 1, 208 (1988)

1983年、北海道十勝地方はコムギ生育期の後半に多雨、低温となる異常気象に遭遇し、同地方にコムギの赤カビ病が大発生した。圃場より収集したコムギ穀粒より多数の赤カビ病菌の *Fusarium graminearum* を分離し、さらに穀粒の化学分析によりデオキシニパレノール (DON) を検出した。 *F. graminearum* および畑での立毛穂より分離した *Gibberella zeae* (*F. graminearum* のテレオモルフ) の単孢子分離菌株の培養試験の結果、DON とともに前駆体の 3Ac DON を生産する菌株と DON, 15Ac DON を生産する菌株とが存在することを明らかにした。分離菌をビニールハウス内に生育させたコムギに接種して病原性を検討するとともに、収穫した罹病コムギ穀粒中に存在する DON などトリコテセン系マイコトキシンの分析を行ったほか、チオファネート系農薬の散布効果を検討した。

*¹ 東京都立衛生研究所

*² 農林水産省農業研究センター

マイコトキシン生産菌の生態

一戸正勝：微生物，4，462 (1988)

IUPAC (国際純正応用化学連合) 第7回マイコトキシンとファイトキシンに関する国際シンポジウムが1988年8月に東京で開催された。本稿はこのシンポジウムにおける招待講演者による発表内容を中心にマイコトキシン生産菌についての研究の最近の進歩を紹介したもので、アメリカ、ニュージーランド、カナダ、タイおよび日本におけるマイコトキシン生産菌の生態を論じた発表6編のほか、ポスター展示課題12編につき解説した。

食品原料のカビ汚染-カビ毒生産菌の生態を中心に

一戸正勝：フードケミカル，4，25 (1988)

カビ毒 (マイコトキシン) を生産する菌類の加害がもたらす有毒物質の汚染対策をたてようとする立場から、食品原料におけるカビの生態につき解説を行った。圃場性菌類、貯蔵性菌類、植物病原菌、好乾性菌類、好湿性菌類、高温性菌類、耐熱性菌類などの具体例につき概説したうえで、国産ムギ類のカビ分布、国産および輸入落花生のカビ分布につき紹介した。国産ムギ類ではフザリウム毒素類 (トリコテセン類およびゼアラレノン) の汚染、輸入落花生のアフラトキシン汚染の対策にはカビ毒生産菌の生態学的理解が重要であることを強調した。

Comparison of P⁺-Active and -Inactive *pro-1* Homologues from Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells

W. Karol DOWJAT*, Cao YA*, Kunio NAGASHI-MA*, Ayako SAKAI and Nancy H. COLBURN*: *Molecular Carcinogenesis*, 1, 33 (1988)

ヒト鼻咽腔癌細胞株 (CNE2) より分離された11の *pro-1* 相同遺伝子のクローンについて、1) 腫瘍プロモーター誘導性の悪性トランスフォーメーション感受性を賦与する能力 (P⁺-活性) の有無、2) 分子構造、3) マウス *pro-1* 遺伝子との相同性や CNE2 *pro-1* 遺伝子のクローン相互の相同性を調べた。制限酵素地図とサザンブロットの結果から CNE2 *pro-1* 遺伝子のクローンは、構造上3種に分類することができ、3種とも P⁺-活性を有していた。マウス *pro-1* プロンプとのハイブリッド形成法により、各 CNE 2 *pro-1* クローンの制限酵素地図上のマウス *pro-1* と相同性を有する部分を特定した。トランスフェクション法により、P⁺-活性は、マウス *pro-1* と相同性を有する部分に存在することも明らかになった。P⁺-活性を有する最小断片は、2,6-kbpで、*Eco* RI-*Sst* I 断片であった。マウス *pro-1* と相同な CNE 2 *pro-1* クローンのなかにただ1つ P⁺-不活性なクローンが見い出され、その構造の研究の結果、P⁺-活性なクローンと P⁺-不活性なクローンとの構造上の違いは、塩基配列の大きな変化ではなく、2,3個の塩基の変化であることが示唆された。

* 米国立癌研究所

食品の細菌数測定法としてのスパイラル・プレーティング法の評価

和田正道*¹、斉藤文一*²、武政二郎*³、真野 覚*⁴、水谷 宏*⁵、五十嵐英夫*⁶、小沼博隆：食衛誌，28，311 (1987)

食品の生菌数および大腸菌群数測定にスパイラル法を用いることができるかどうかを評価することを目的に、7カ所の検査機関において6種類の食品を用いて標準法 (混釈法) と比較した。

その結果、生菌数では両方法の測定値および精度には有意差は認められなかった。大腸菌群数では、有意差が認められた。しかし標準法単独で比較しても有意差が認められた。

以上の結果から、スパイラル法は生菌数測定には使用できるものと考えられる。また、大腸菌群数測定は両方法とも有意差が認められたことから、むしろ検査用培

地の開発、改良が望まれる。

*¹ 長野県衛生公害研究所

*² 日本食品分析センター

*³ 日本油料検定協会

*⁴ 鹿光生物科学研究所

*⁵ キュービー (株)

*⁶ 東京都立衛生研究所

Incidence and Population of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Raw Milk from Milking to Milk Plant

Kunihiko SHINAGAWA*¹, Kiyoshi TANABAYASHI*¹, Yoshiaki KOGURE*², Naonori MATUSAKA*¹ and Hirotaka KONUMA: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50, 1060 (1988)

健康乳牛の各分房 (164検体)、個乳 (68検体)、酪農家 (150検体) および乳処理場に搬入される各運搬車 (タンクローリー、193検体) から採取した生乳 (総計575検体) の黄色ブドウ球菌汚染について調査した。

その結果、乳牛各分房別に採取した生乳では13.1%。各個体別では51.5%。酪農家別では34.7%。そして各タンクローリー車から採取したものでは94.3%と高率に本菌の汚染が認められた。これらの汚染菌数はほとんどが10¹~10³/mlであったが、乳牛個体 (分房) によっては10⁴/ml以上のものも認められた。また、生乳から分離した黄色ブドウ球菌142株中52株 (36.6%) がエンテロトキシンを産生した。

コアグラセ型では、7型 (27.5%)、2型 (22.5%)、3型 (18.3%) が多くみられた。

*¹ 岩手大学農学部

*² 小岩井乳業 (株)

Occurrence of *Bacillus cereus* in Meat Products, Raw Meat and Meat Product Additives

Hirotaka KONUMA, Kunihiko SHINAGAWA*¹, Masakazu TOKUMARU*², Youichi ONOUE*³, Sumio KONNO*⁴, Norio FUJINO*⁵, Tamotsu SHIGEHISA*⁶, Hiroshi KURATA, Yoshihiro KUWABARA*⁷ and Carlos A. M. LOPES*⁸: *J. Food Prot.*, 51, 324 (1988)

食肉の *Bacillus cereus* 汚染実態を調べる目的で、日本国内6カ所の県における屠殺場、食肉製造所および小売店から採取した食肉および副原材料、1963検体について調査した。

その結果、*B. cereus* の汚染率は生肉では6.6%に対し、食肉製品では18.3%であった。汚染菌数はいず

れも $10^2/g$ 以下であった。しかしながら、食肉製品に使用する香辛料、動物蛋白質の汚染菌数は $10^2 \sim 10^4/g$ と高かった。

以上の結果から、*B. cereus*の主な汚染源は、副原材料であると考えられた。

*1 岩手大学農学部

*2 埼玉県衛生研究所

*3 神奈川県衛生研究所

*4 仙台市衛生試験所

*5 岩手県衛生研究所

*6 日本ハム(株)中央研究所

*7 日本女子栄養大学

*8 University Estadual Paulista-UNESP-Brazil

Enumeration of Aerobic Spore-Formers and *Bacillus cereus* in Meat Product Additives

Kunihiro SHINAGAWA*¹, Hirotaka KONUMA, Masakazu TOKUMARU*², Jiro TAKEMASA*³, Masayuki HASHIGIWA*⁴, Tamotsu SHIGEHISA*⁵ and Carlos A. M. LOPES*⁶: *J. Food Prot.*, **51**, 648 (1988)

食肉製品に使用する副原材料(香辛料, 調味料, タンパク質, 澱粉, 食塩, 砂糖および天然色素) 225 検体について, 生菌数, 芽胞菌および *Bacillus cereus* を調べた。

その結果, 香辛料, 調味料, タンパク質, 澱粉から芽胞菌および *B. cereus* が検出された。

以上の結果から, 食肉製品の微生物学的品質を向上させるためには, 副原材料中の微生物を減少させる方法を開発することが必要であると考えられた。

*1 岩手大学農学部

*2 埼玉県衛生研究所

*3 日本油料検定協会

*4 小林桂(株)

*5 日本ハム(株)中央研究所

*6 University Estadual Paulista-UNESP-Brazil

Studies on Fungal Products. XVI. New Metabolites Related to 3-Methylorsellinate from *Aspergillus silvaticus*

Nobuo KAWAHARA*, Koohei NOZAWA*, Shoichi NAKAJIMA*, Shun-ichi UDAGAWA and Ken-ichi KAWAI*: *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 398 (1988)

不完全菌類 *Aspergillus silvaticus* からはすでに数種類の二次代謝産物が報告されているが, 本報では Raulin-Thom 培地を用いて液体培養し, 培養液を塩化メチレンで抽出, 新規の代謝産物として ethyl 3-methylorsellinateほか3種類と既知の二次代謝産物

として *Emericella quadrilineata* から分離報告された quadrilineatin が得られた。今回, 化学構造を明らかにしたオルセリン酸誘導体は本菌の生産する抗真菌活性を示す silvaticol 生合成の前駆体と考えられる。

* 星薬科大学

Studies on Fungal Products. Part 17. Isolation and Structures of Novel Indoloditerpenes, Emindoles DA and DB, from *Emericella desertorum*: X-Ray Molecular Structure of Emindole DA Acetate

Koohei NOZAWA*, Shoichi NAKAJIMA*, Ken-ichi KAWAI* and Shun-ichi UDAGAWA: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1689 (1988)

子囊菌類 *Emericella desertorum* CBS 653.73 株の菌体へキサン抽出物から痙攣性マイコトキシン paxilline などと合せて, 2種類のインドールジテルペン骨格を有する新規二次代謝産物 emindole DA ($C_{28}H_{39}NO$), emindole DB ($C_{28}H_{39}NO_2$) を単離し, その化学構造を ^1H-NMR , $^{13}C-NMR$ スペクトル, X線結晶解析などにより決定した。両者とも indoloditerpene であり, paxilline の生合成に関係深い。

* 星薬科大学

Studies on Fungal Products. Part 19. Isolation and Structure of a Novel Indoloditerpene, Emindole SA, from *Emericella striata*

Koohei NOZAWA*, Mari YUYAMA*, Shoichi NAKAJIMA*, Ken-ichi KAWAI* and Shun-ichi UDAGAWA: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2155 (1988)

子囊菌類 *Emericella striata* の菌体アセトン抽出物から, インドールジテルペン骨格を有する新規二次代謝産物 emindole SA ($C_{28}H_{39}NO$) を単離し, その化学構造を ^1H-NMR , $^{13}C-NMR$ スペクトルなどにより決定した。Emindole SA は別に *E. desertorum* から分離された emindole DA の diastereoisomer であり, 痙攣性マイコトキシン paxilline の産生に対する生合成経路と合せて emindole 類の生合成経路をも推定し図示した。

* 星薬科大学

Isolation and Structures of Indoloditerpenes, Possible Biosynthetic Intermediates to the Tremorgenic Mycotoxin, Paxilline, from *Emericella striata*

Koohei NOZAWA*, Shoichi NAKAJIMA*, Ken-ichi KAWAI* and Shun-ichi UDAGAWA: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2607 (1988)

子囊菌類 *Emericella striata* の菌体アセトン抽出物から、痙攣性マイコトキシン的一种 paxilline 関連化合物として新規二次代謝産物 dehydroxypaxilline ($C_{27}H_{33}NO_3$) と emindole SB ($C_{25}H_{39}NO$) を単離し、その化学構造を 1H -NMR, ^{13}C -NMR スペクトルなどにより決定した。また、これらの代謝産物のほか、麦角菌の1種 *Claviceps paspali* の成分 paspaline が *E. striata* の同一菌株から分離されたことは、paxilline の生合成に関連して興味深い知見である。

* 星薬科大学

Three *p*-Hydroxybenzoic Acid Derivatives from *Talaromyces derxii*

Koohei NOZAWA*¹, Masaki TAKADA*², Shun-ichi UDAGAWA, Shoichi NAKAJIMA*² and Ken-ichi KAWAI*²: *Phytochemistry*, 28, 655 (1989)

さきに新種として報告した子囊菌類 *Talaromyces derxii* (アナモルフ: *Penicillium derxii*) の二次代謝産物を研究し、*p*-hydroxybenzoic acid の新規誘導体3種類を単離、その化学構造を明らかにした。これらの代謝産物は培養ろ液の塩化メチレン抽出物として得られ、主代謝産物は4-[(3-methyl-2-butenyl)oxy]benzoic acid であった。本物質のメチルエステルは昆虫に対する強い幼若ホルモン活性を示すことが報告されている。

*¹ 星薬科大学

*² 東洋醸造(株)

A Dioxopiperazine Derivative from *Penicillium megasporum*

Koohei NOZAWA*, Shun-ichi UDAGAWA*, Shoichi NAKAJIMA* and Ken-ichi KAWAI: *Phytochemistry*, 28, 929 (1989)

生理活性を有する真菌の二次代謝産物を探索中、不完全菌類に属する日本未記録種 *Penicillium megasporum* の分離株から新規の dioxopiperazine 誘導体が単離された。本物質を megasporizine と命名し、その化学構造を明らかにした。Megasporizine はカビ米培養の塩化メチレン抽出物として得られ、この抽出物からは既知の二次代謝産物として physcion, asperphenamate, penicillic acid も同時に検出された。Megasporizine はフェニールアラニンとロイシンから誘導される dioxopiperazine 代謝産物としてきわめてまれな例

である。

* 星薬科大学

Isolation of 2-Acetylamino-3-hydroxy-4-methyloct-6-enoic Acid, a Derivative of the "C₉-Amino Acid", Residue of Cyclosporins, Produced by the Fungus *Neocosmospora vasinfecta* E. F. Smith

Hiromitsu NAKAJIMA*¹, Takashi HAMASAKI*¹, Kaoru NISHIMURA*¹, Tohru KONDO*¹, Yasuo KIMURA*¹, Shun-ichi UDAGAWA and Sadao SATO*²: *Agric. Biol. Chem.*, 52, 1621 (1988)

Neocosmospora vasinfecta の培養ろ液より N-アセチルアミノ酸 (mp 162~163°C, $C_{11}H_{19}NO_4$) を単離し、NMR 分析などによって 2-aceto-amino-3-hydroxy-4-methyloct-6-enoic acid と同定した。本代謝産物のアミノ酸部分の平面構造は、免疫抑制剤シクロスポリンの "C₉-アミノ酸" のそれと一致したので、X線構造解析を行い、立体的にも同じであることを証明した。以上のことから、さらに *Alternaria kikuchiana* (ナン黒斑病菌) に対する抗菌活性を指標にして抽出を試み、2.0 mg/l の収量でシクロスポリンAを単離した。

*¹ 鳥取大学農学部

*² 三共(株)分析代謝研究所

Calceomyces, a New Genus of the Xylariaceae with Shoe-shaped Ascospores

Shun-ichi UDAGAWA and Seiichi UEDA*: *Mycotaxon*, 32, 447 (1988)

長崎県内の水質環境調査を行ったところ、1987年1月に西山水源地の活性汚泥から子囊菌類の新種と考えられる真菌が発見された。本菌はマメザヤタケ科 (Xylariaceae) に属し、その子嚢胞子は靴形、表面に網目の隆起があり、発芽スリットが認められる。また、アナモルフとして *Nodulisporium* も同時に形成され、既知の Xylariaceae のいずれにも類似菌が見出されないことから新属新種として *Calceomyces lacunosus* の学名を付し、記載、形態を図示した。

* 長崎県北工業試験場

A New Species of *Arthroderma* from Japanese Soil

Shun-ichi UDAGAWA, Hitoshi KUBO*¹ and Hideomi SHIBAKI*²: *Mycotaxon*, 33, 283 (1988)

北海道全域の種々の地点から土壌試料約1000点を採

取し、hair-baiting法を用いて好ケラチン性真菌の分離を行った。その結果、皮膚糸状菌とともに *Arthroderma* (子囊菌類 *Arthrodermataceae*) の新種が1986年5月に中川郡中川町の土壌から発見された。本菌はホモトリックで、アナモルフは *Chrysosporium* 型、子嚢胞子は無色～淡黄色、円盤状、 $1.5\sim 2\times 1\sim 1.5\mu\text{m}$ 、類似種である *A. curreyi*, *A. ciferrii* よりも小形である。

*1 旭川医科大学

*2 芝木皮膚科医院

Emericellopsis sphaerospora and *Kernia peruviana*, Two New Soilborne Cleistothecial Ascomycetes

Shun-ichi UDAGAWA and Kouhei FURUYA*: *Mycotaxon*, 33, 291 (1988)

生理活性物質を生産する有用真菌の探索を目的として、土壌に尿素を施与し、出現する好アンモニア性子嚢胞類の分離を行った。その結果、閉子嚢殻を形成する2種類の子嚢菌が新種として分離された。

Emericellopsis sphaerospora は黒色、球形、翼状の幅広い隆起と短い刺状の突起のある子嚢胞子を形成し、*Acremonium*型のアナモルフが認められる。千葉県成田市の土壌から分離された。

Kernia peruviana は淡赤褐色、亜球形～三角形、楕円形の子嚢胞子を形成し、*Scopulariopsis* 型のアナモルフがみられる。ペルー国イキトス付近の土壌から分離された。

以上の2種について記載し、形態を図示した。

* 三共(株)醸酵研究所

A New Species of *Phialophora*

Tokio IWATSU*¹, Shun-ichi UDAGAWA and Noritsuna TOYAZAKI*²: *Mycotaxon*, 32, 439 (1988)

室内生活環境の公衆衛生学的研究の一環として、室内塵中の真菌相の実態調査を行ったところ、大阪府吹田市の集合住宅から1984年4月に採集した試料中に *Phialophora* に属する一新種が発見された。分離に用いた培地は DG-18 寒天培地である。その後、まったく同じ真菌が名古屋市の乾燥食品からも分離された。

菌学的性質は *Phialophora* 属の *Phialophora* Sect. と *Catenulata* Sect. の中間を示し、*P. intermedia* と命名した。集落は羊毛状、灰オリーブ色、フィアライドは $6\sim 15\times 2\sim 3.5\mu\text{m}$ 、分生子は楕円形、 $4\sim 6\times 1.5$

$\sim 2.5(-3.5)\mu\text{m}$ 、粘塊状になったり、連鎖したりする。

*¹ 岩津皮膚科医院

*² 神戸市環境保健研究所

海水から分離された *Hortaea werneckii* について

岩津都希雄*, 宇田川俊一: 真菌誌, 29, 142 (1988)

黒癬は手掌などの角質の厚い部位に褐色斑として生じる表在性真菌症で、熱帯および亜熱帯に多い疾患とされていたが、1983年本邦ではじめて2例の患者が沖縄で発見され、報告された。以来、沖縄、鹿児島、熊本各県で患者が発生し、本症の原因菌 *Hortaea werneckii* が本邦の自然界に生息するものと推測されるにいたった。本報では長崎県下県郡美津島町(対馬)の海浜で採取した海水から本菌を分離したので、その形態的性状、生理的性状を調べ報告した。海水からの分離株は黒癬患者から分離された *H. werneckii* の標準株によく一致した。

* 岩津皮膚科医院

変敗プリンより分離した食品汚染菌 *Arthrimum phaeospermum*

坪内春夫*, 山本勝彦*, 坂部美雄*, 宇田川俊一: 名古屋市衛生研究所報, 34, 57 (1988)

昭和61年4月に苦情食品として市内の保健所から持込まれた市販プリンを検査したところ、不完全菌類に属する真菌 *Arthrimum phaeospermum* が分離同定された。本菌は世界的に広く分布し、農産物、土壌、空気などから検出されているが、加工食品からの分離記録は少なく、加熱殺菌されたリンゴジュースの汚染品からの1件にすぎない。そこで、分離菌の生育温度範囲、生育に対する水分活性、糖類の資化性、耐熱性などを試験した。今回の苦情食品については生残したカビが加熱加工後から流通・販売段階にいたる間の低温での増殖によるものと思われる。

* 名古屋市衛生研究所

新マイコトキシン Emestrin によるマウスの急性毒性

寺尾 清*¹, 伊藤恵美子*¹, 宇田川俊一, 河合賢一*², 野沢幸平*²: マイコトキシン, 27, 31 (1988)

子嚢菌類 *Emericella striata* の産生するマイコトキシン emestrin (EMS) について雄 ICR マウス腹腔内に投与し LD₅₀ 値を求めたところ、17.7 mg/kg (24 hr), 13 mg/kg (48 hr) であった。また、EMS の標的臓器は心臓、肝臓およびリンパ組織であった。18 mg/kg 投

与で 24 hr 経たマウスに肝臓の小葉中心部に典型的な中心性壊死がみられた。また、投与後 24 hr 以上経た大部分の動物に胸腺のリンパ球の壊死、細網上皮細胞の変性、重量軽減、脾臓の萎縮、白色ろ胞および赤色髄からのリンパ球の消退が著しかった。腎臓の尿細管上皮の空胞変性もみられた。

*1 千葉大学真核微生物研究センター

*2 星薬科大学

生活環境中の病原真菌

宇田川俊一：薬局, 39, 781 (1988)

ヒトの生活環境中には種々の潜在的な病原性真菌が認められる。最近、わが国では高齢化社会を迎え、免疫機能の低下した成人病患者が増加し、生活環境中の日和見菌による感染が問題視されるようになった。自然環境（土壌、水圏、植物）、室内環境、食品においてそれぞれに常在する病原性真菌の種類と危害性を述べ、疫学上の対策を強く喚起した。

カビによる食中毒——その現状と対策——

宇田川俊一：日本医師会雑誌, 99, 1915 (1988)

アフラトキシン、トリコテセンなどのマイコトキシンによる食中毒の現状を解説し、輸入食品の安全性について論議した。また、輸入農産物を原料として製造される加工食品を対象にマイコトキシン汚染の問題と、最近における食品の製造・流通面での変革ともなるカビ苦情食品増加の原因を指摘した。

Mycotoxicoses—The Present Problems and Prevention of Mycotoxins—

Shun-ichi UDAGAWA: *Asian Med. J.*, 31, 599 (1988)

わが国における食中毒についてカビが原因微生物とされた過去の症例を述べ、輸入食品におけるアフラトキシン汚染と国内農産物に発生する *Fusarium graminearum* が産生するトリコテセン類での食中毒をまとめて紹介した。さらに現在東南アジアなど熱帯地方から輸入されている食品原材料でのマイコトキシン汚染の実例を示して、その予防対策上の諸問題を考察した。

Urinalysis for Detection of Chemically Induced Renal Damage (3) —Establishment and Application of Radioimmunoassay for Lysozyme of Rat Urine

Hisayuki OHATA*, Terumasa HASHIMOTO*, Kazutaka MOMOSE*, Atushi TAKAHASHI and

Tadao TERAQ: *Arch. Toxicol.*, 62, 60 (1988)

化学物質による腎尿細管障害を早期に、高感度で検索する方法を開発する目的で、尿中リゾチームの微量定量に応用するためのリゾチームのラジオイムノアッセイ法を確立させた。また、数種の腎毒性誘発物質の少量を投与したラットの尿中のリゾチームの定量にこのアッセイ法を応用し、良好な成績を得た。

* 昭和大学薬学部

Characterization of Skin-surface Lipids from the Monkey (*Macaca fascicularis*)

Tomoko NISHIMAKI-MOGAMI, Ken-ichiro MINEGISHI, Atushi TAKAHASHI, Yasushi KAWASAKI, Yuji KUROKAWA and Mitsuru UCHIYAMA: *Lipids*, 23, 869 (1988)

サルの皮脂は主にコレステロールエステル、長鎖脂肪酸と1,2-ジオールのエステル、および長鎖脂肪酸とイソ吉草酸の1,2-ジオールエステルからなっていた。構成脂肪酸、ジオールともに長鎖であり、ほとんどが飽和で、イソおよびアンチイソの分枝構造を持つものが多かった。これらの結果は皮脂合成の種特異性を示している。

Investigation of the Specificity of O⁶-alkylguanine-DNA-alkyltransferase

Anthony E. PEGG*, Kazushige MORIMOTO and M. Eileen DOLAN*: *Chem.-Biol. Interact.*, 65, 275 (1988)

O⁶-alkylguanine-DNA-alkyltransferase (AGT) の基質としてDNAのほかには二本鎖構造を有する t-RNA 中の O⁶-methyl G も修復するか否かを調べた。メチル化 t-RNA は *E. coli* t-RNA と [methyl-³H] 1-methyl-1-nitrosourea を反応して調製した。AGT は大腸菌およびヒト結腸腫瘍由来細胞 (HT29) の抽出液を用いた。AGT による t-RNA 中の O⁶-methyl G の修復速度はきわめて遅く、2~11 ユニットの AGT 添加ではほとんど修復されず、1700 ユニットの AGT の添加でようやく 0.4 pmol の O⁶-methyl G が修復された。In vivo における AGT の消費にはほとんど RNA 中の O⁶-alkyl G の寄与はなく、DNA 中の O⁶-alkyl G のみと考えて良いことが明らかとなった。

* 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

Alkylation of DNA in F344 Rat Thymus Following Administration of 1-n-Propyl-1-

nitrosourea *in vivo* and Comparison of O⁶-alkylguanine-DNA-alkyltransferase Activity in Thymus from F344 and Long-Evans Rats *in vitro*

Kazushige MORIMOTO, Akira TANAKA, Tsutomu YAMAHA and Atsushi TAKAHASHI: *Carcinogenesis*, 9, 853 (1988)

1-*n*-Propyl-1-nitrosourea (PNU)はF344ラットに高頻度で胸腺リンパ腫を誘発する、PNUの発癌機構を調べる目的で [*n*-propyl-2, 3-³H] PNU (100 mg/kg)をF344ラットに腹腔内投与し、1時間後の胸腺と骨髄細胞を集めフェノール法にてDNAを精製し、DNA付加物を調べた。胸腺において 7-*n*-propylguanine (7-*n*-PrG)と O⁶-*n*-propylguanine (O⁶-*n*-PrG)が検出された。O⁶-*n*-PrG/7-*n*-PrGの比は0.35と *in vitro*で得られた比の1/2程度であり、胸腺にも O⁶-*n*-PrGの修復酵素が存在することが示唆された。一方、骨髄からはこれら付加物は検出されなかった。PNUの発癌感受性の高いF344ラットと胸腺リンパ腫の発生低いLong-Evansラットの O⁶-alkylguanine-DNA-alkyltransferase (AGT)活性を胸腺と肝臓で測定すると、F344ラットの胸腺における活性はLong-Evansのその約半分と低かった。標的臓器DNAのアルキル化のされやすさとAGT活性の低さが胸腺リンパ腫発生の重要な因子となっていることがわかった。

新薬開発のための薬物代謝と体内動態の国際的標準化

森本和滋: *Pharm. Tech. Japan*, 4, 1309 (1988)

神戸で開かれた第2回国際薬物動態学会 (IInd ISSX)でのラウンドテーブルディスカッション「新薬開発のための薬物代謝と体内動態の国際的標準化」の内容を紹介した。基調演説と特別討論で講演した9名のパネルメンバーの話の内容、一般討論において討議された内容を整理して、新薬開発のための代謝動態試験の様々な問題点と各国の現状および国際的標準化に向けてのEC諸国、米国、東欧、日本などの姿勢について比較し考察した。

Oxidative Deamination of Alicyclic Primary Amines by Liver Microsomes from Rats and Rabbits

Hideo KUREBAYASHI, Akira TANAKA, Tsutomu YAMAHA and Atsushi TAKAHASHI: *Xenobiotica*, 18, 1039 (1988)

脂環族一級アミン類 (cyclopentylamine, cyclohe-

xylamine, cycloheptylamine, 1- and 2-aminoindan, 1- and 2-aminotetralin)は、ミクロソーム中で Type IIの差スペクトルを示すが、Type Iの差スペクトルも隠されている)のウサギおよびラット肝ミクロソームの脱アミノ化活性の種差を調べた。一般に、脱アミノ化活性のラットにはほとんどないと考えられていた。今回、ラット肝ミクロソームでも脱アミノ化が起こることを、特に速い α -amine類では分子状酸素18のケトン体への取り込みで証明した。しかし、ラットの活性はウサギと比べて低く、*in vivo*の代謝データと矛盾しない。また、生成した脱アミノ体の中で、ケトンに対するアルコールの比率は、ラットおよびウサギともに cyclohexanol, 2-indanol, 2-tetralolで高かった。

Kinetic Deuterium Isotope Effects on Deamination and N-Hydroxylation of Cyclohexylamine by Rabbit Liver Microsomes

Hideo KUREBAYASHI: *Arch. Biochem. Biophys.*, 270, 320 (1989)

脂環族一級アミンのウサギ肝ミクロソームにおける脱アミノ反応とN水酸化反応は1酸化炭素の阻害を受け、シトクロムP-450依存の反応と考えられる。この脱アミノ化でカルビノールアミン中間体を生成する際、アミノ基の α 位のC-H結合の切断が起こる。この反応における重水素同位体効果を検討するため、 α -D-cyclohexylamineとcyclohexylamineの脱アミノ化反応とN水酸化反応の生化学速度論的解析を行った。重水素置換の影響は、脱アミノ化反応の半減(小さい同位体効果)とN水酸化反応の増加という1種のmetabolic switchingを観察した。これから、脱アミノ反応におけるP-450活性部位での1級アミンの段階的酸化経路を考察した。すなわち、 α 位のC-H結合の直接的開裂というより、N原子の1電子酸化によるアミニウムイオンラジカルを経由し、その脱プロトン化でカーボンラジカルが生じ、ヘム近傍の活性OHと反応してカルビノールアミンを生成するという経路を推定した。

Synthesis of α -Deuterium-Labelled Cyclohexylamine and Its Deamination Rabbit Liver Microsomes

Hideo KUREBAYASHI, Masamichi FUKUOKA, and Akira TANAKA: *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 1097 (1989)

ミクロソームでのシクロヘキシルアミンの脱アミノ化反応における同位体効果を検討するため、cyclohexanone oximeをLiAlD₄で還元して重水素置換体を

合成し、H-, ^{13}C -NMR およびマスペクトルで、アミノ基の α 位の水素が99%以上重水素で置換されていることを確認した。このアミンをウサギ肝ミクロソーム、NADPH 存在下でインキュベートし、経時的に直線性のある30分までに生成したケトンおよびアルコールの和を基にして求めた脱アミノ化反応の速度比は $k_H/k_D=2$ であった。酸化剤として NaIO_4 ならびに NaClO_2 を使用した場合もほぼ同様の値であった。

Effect of Quinidine on the Hepatic Uptake of Digoxin in Guinea Pigs

Kazuho OKUDAIRA, Yasufumi SAWADA*, Yuichi SUGIYAMA*, Tatsuji IGA* and Manabu HANANO*: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 12, 24 (1989)

肝灌流系、肝遊離細胞系を用いてジゴキシンは肝臓へ能動輸送系により取り込まれることを報告した。さらにキノジンはその取り込みを阻害することを明らかにし、臨床で報告されているジゴキシナーキノジン薬物間相互作用の一因となりうることを示した。

* 東京大学薬学部

Effect of Basic Drugs on the Hepatic Transport of Cardiac Glycosides in Rats

Kazuho OKUDAIRA, Yasufumi SAWADA*, Yuichi SUGIYAMA*, Tatsuji IGA* and Manabu HANANO*: *Biochem. Pharmacol.*, 37, 2949 (1988)

強心配糖体の肝臓への取り込みが種々の塩基性薬物により阻害されることを示した。使用した塩基性薬物はアラニンの輸送、細胞の生存率には影響を与えなかったが、CCP存在時の細胞の酸素消費量を減少させた。取り込み阻害機構は、酸化的リン酸化の過程の阻害による可能性が示唆された。

* 東京大学薬学部

Biochemical Studies on Phthalic Esters V. Comparative Studies on *in vitro* Hydrolysis of Di-*n*-butyl phthalate Isomers in Rats

Terue TAKAHASHI and Akira TANAKA: *Arch. Toxicol.*, 63, 72 (1989)

ジ-*n*-ブチルフタレートおよびそのモノエステルによるラットにおける精巢傷害と、それら化合物の代謝との関連性を明らかにする目的で、ジ-*n*-ブチルフタレートおよびその位置異性体について、ラット臓器酵素による*in vitro*での加水分解を調べた。用いた臓器酵素では、いずれも基質特異性が認められ、*in vivo*の生物活性と*in vitro*での代謝との間に関連性のあ

ることが示唆された。

化学物質の安全性にかかわる情報について

中館正弘：環境情報科学, 18, 52 (1989)

有害化学物質と環境汚染に関する特集の一環として、安全性評価に必要な情報の種類、情報の収集に関連する文献データベース、ファクトデータベースの利用について概説した。

Promoting Effect of Peroxisome Proliferators in Two-stage Rat Renal Carcinogenesis

Yuji KUROKAWA, Naoko TAKAMURA, Yuko MATSUSHIMA, Takayosi IMAZAZA and Yuzo HAYASHI: *Cancer Letters*, 43, 145 (1988)

雄F344ラットに*N*-エチル-*N*-ヒドロキシエチルニトロサミン (EHEN) を2週間投与してイニシエーションを行った。その後、ペルオキシゾーム増殖剤 (クロフィブレート、シンフィブレート、ジエチルヘキシルフタレート) を24週間投与して腎プロモーター作用を検討した。その後、ジエチルヘキシルフタレート投与後で腎細胞癌発生等の有無の上昇があり、腎のプロモーター作用を有すると結論された。

有機リン農薬中毒に対するPAM, アトロピン使用の現状

戸部満胞夫, 降寿 強, 松本清司：中毒研究, 1, 47 (1988)

農薬中毒の解毒法の研究の一環として、有機リン系農薬 (フェニトロチオン、マラチオン、トリクロルフォン、EPN およびジクロルボス等) による中毒に対するパムおよびアトロピンによる治療効果を検討する目的で、296の病院を対象にアンケート調査を行った。得られた回答の中からパムとアトロピンを大量に使用している例を選びそれらの治療効果についての解析を加えた。パムあるいはアトロピンが有機リン系農薬中毒に対してどの程度有効であったかについては即断できなかったが、農薬中毒患者に対する処置の現状の概略を知ることができた。

Polychlorinated terphenyls (PCTs) 投与マウスの口蓋裂とその成因に関する研究

金子豊蔵：応用薬理, 36, 309 (1988)

“油症”の原因物質、PCBs類似の化学構造、性質、用途を持つ polychlorinated terphenyls (PCTs) をマウスへ長期投与すると副腎の肥大を起し、PCBs がマウスの血中 corticosterone (CS) 量を上昇させるこ

とから PCTs による口蓋裂が PCTs の胎仔への直接作用ではなく、CS より口蓋細胞増殖を抑制すると考え、口蓋裂発生の種差、系統差をラットおよび2系統のマウスで検討し、CS 関与の可能性について検討した。

PCTs により Slc : ddY マウスで強い口蓋裂形成作用を認め、妊娠14日目血漿 CS 量は著明に上昇したが、PCTs の胎仔移行は極めて少量で用量関係がなかった。PCTs 投与時の母体血漿 CS 量は、口蓋裂誘発 CS 皮下投与血漿レベルの約 1/4 であった。PCTs 投与妊娠マウスの妊娠10日目に副腎摘出を行っても口蓋裂発生は抑制できず、副腎摘出時の母体血漿、胎仔、胎盤の CS 量は妊娠 14 日目より著しい増加を示した。11- β -Hydroxylase を抑制し、11-deoxy CS からの CS 合成を阻害する metyrapone を PCTs 投与妊娠マウスに処置すると口蓋裂発生は抑制された。

これらのことから、PCTs によるマウス胎仔の口蓋裂の発生に CS が関与し、PCTs により増加した CS のうち、胎仔・胎盤での CS 合成が関与する事を示した。

ベルオキシゾーム増殖剤経口投与によるラット肝 DNA 中の 8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成

高木篤也、佐井君江、梅村隆志、長谷川隆一、黒川雄二、葛西 宏* : 医学のあゆみ, 149, 65 (1989)

ある種のベルオキシゾーム増殖剤はラット、マウスに肝発癌性を有するが変異原性は認められない。その発癌機序としてベルオキシゾーム増殖に伴う細胞内過酸化水素の増加による DNA の酸化物傷害が考えられているが、*in vivo* では現在まで明らかでない。そこで雌 F344 ラットにアルミニウムクロフィブレイト、シンフィブレイト、ジエチルヘキシルフタレイトをそれぞれ 2.5, 1.0, 7.5 g/kg 体重/day の投与量で8日関連強強制経口投与し、肝、腎 DNA 中の活性酢酸によって生じる損傷塩基の一つである、8-Hydroxydeoxyguanosine レベルを測定した。その結果3種の化合物によりいずれも肝で有意の増加が認められたが腎では認められなかった。このことから肝 DNA は酸素ラジカルにより損傷を受けていることが明らかとなり、ベルオキシゾーム増殖剤による肝発癌に活性酸素が関与していることが示唆された。

* 国立ガンセンター生物

Fast and Slowly Inactivating Components of Ca-channel Current and Their Sensitivities to Nicardipine in Isolated Smooth Muscle Cells

from Rat vas Deferens

Ken NAKAZAWA, Hiroshi SAITO* and Norio MATSUKI*: *Pflügers Arch., Europ. J. Physiol.*, 411, 289 (1988)

ラット精管平滑筋のカルシウム・チャンネルに subclass が存在するか否かを検討するため、単離平滑筋細胞を用い、パッチ・クランプ法 (whole cell voltage-clamp) により膜電流を測定した。移動電荷としては 10.8 mM Ba を用いた。脱分極パルスで活性化されたバリウム電流は二つの時定数に従い不活性化された。早い成分、遅い成分の不活性化・活性化の電位依存性はほぼ同一であった。カルシウム拮抗薬であるニカルジピン感受性においては差が認められ、遅い成分は早い成分より25倍感受性が高かった。このことは、この細胞に2種類のカルシウム・チャンネルが存在することを否定するものではないが、むしろ、1種類のチャンネルが存在し、ニカルジピンが不活性化状態に選択的に作用すると解釈した方が妥当であると考えられた。

* 東京大学薬学部

Muscarinic Stimulation of Calcium Influx and Norepinephrine Release in PC12 Cells

Kazuhide INOUE and James G. KANIMER*: *J. Biol. Chem.*, 263, 8157 (1988)

ムスカリニック・アセチルコリン刺激によって、ある種の細胞では、神経伝達物質のカテコールアミンを放出するが、その機序については明らかにされていない。我々は PC12 細胞を用いて、このメカニズムを明らかにすべく検討した結果、ムスカリニック刺激により特殊のカルシウム・チャンネルが開き、ここから流入したカルシウムによりノルエピネフリンの放出が起こることが判明した。また、この放出作用とカルシウムインフラックスは、GTP 結合蛋白を ADP-リボシル化してその機能を阻害する百日咳毒素により、用量依存的に抑制されることが認められ、ムスカリニック刺激反応特異的カルシウム・チャンネルが GTP 結合蛋白によって制御されていることが示唆された。

* Food and Drug Administration, USA

A Slow Calcium-dependent Chloride Conductance in Clonal Anterior Pituitary Cell

M. A. ROGAWSKI*, Kazuhide INOUE, S. SUZUKI* and J. L. BARKER*: *J. Neurophysiol.*, 59, 1854 (1988)

脳下垂体前葉腫由来細胞クローン GH3 はホルモン

レスポンスの研究に広く用いられている細胞であるが、我々は未だ報告されていない特殊のクロライド・カレントを発見し、その性質について明らかにした。すなわち、このクロライド・カレントはカルシウム依存性であり、細胞膜に1秒間以上の強い脱分極電位ステップを与えたときに初めて発現する。本研究では、whole cell recordingによりカレントを記録したために、カレントは自然に衰退し、いわゆるランダウンを示した。これはサイトゾル中のファクターが消失したためと考えられたので、さまざまな物質を調べた結果、GTP およびその非水解性類似物でのみ維持することができた。

* National Institutes of Health, USA

Aminopyrine Metabolism by Multiple Forms of Cytochrome P-450 from Rat Liver Microsomes: Simultaneous Quantitation of Four Aminopyrine Metabolites by High-Performance Liquid Chromatography

Susumu IMAOKA*, Kazuhide INOUE and Yoshiko FUNAE*: *Arch. Biochem. Biophys.*, 265, 159 (1988)

ラット肝臓におけるアミノピリン (AM) の代謝の結果生成される4種の代謝物を同時に定量できるHPLC法を用い、精製したP-450分子種それぞれで再構成代謝系を組み、いずれの代謝物と精製P-450とが関係が深いかを明らかにした。AMの水酸化体は、主としてフェノバルビタールタイプ (PB) のP-450で代謝された結果生成される代謝物であり、アミノピリン疹というアレルギー反応との関係が疑われているものであるが、精製P-450のうちPB-4およびPB-5と呼ばれる分子種が、代謝活性が高かった。

* 大阪市立大学医学部

Effects of Various Inducers on Activities of Cytochrome P-450-mixed Function Oxidases and Aflatoxin B₁ Activation in Microsomes of Hamster Livers

Momoko SUNOUCHI, Morio FUKUHARA*, Yasuo OHNO and Akira TAKANAKA: *J. Toxicol. Sci.*, 13, 193 (1988)

シリアンゴールデンハムスターの肝におけるアフラトキシン B₁ の代謝活性化と、薬物代謝酵素系におよぼす誘導剤の効果について検討した。アフラトキシン B₁ の代謝活性は、メチルコラントレン、 α -ナフトフラボンおよびベンゾ (a) ピレン処置により、それぞ

れ無処置群の2460, 1380および450%と強く誘導された。これに対してフェノバルビタール処置では、アフラトキシン B₁ の代謝活性はあまり誘導されず、インサフロールとエタノール処置では変化が見られなかった。各群の肝ミクロゾーム分画において、アフラトキシン B₁ の代謝活性と、アフラトキシン B₁ に対して強い代謝活性化能を有するチトクロム P-450 (P-450_{AFB}) の含有量との間に相関関係が認められた。種々の基質を用いて薬物代謝活性を検討した結果、ハムスターでは、ラットと異なり、ベンゾ (a) ピレンの代謝活性がメチルコラントレン型の誘導剤による誘導を受けなかった。以上のことから、ハムスターではアフラトキシン B₁ の代謝活性とベンゾ (a) ピレンの代謝活性に対する誘導剤の効果が、ラットなどで従来報告されている結果と著しく異なることが明らかとなった。

* 国立公衆衛生院

Preparation and Characterization of Monoclonal Antibodies Against a Form of Hamster Liver Cytochrome P-450 Highly Specific to Aflatoxin B₁

Momoko SUNOUCHI, Yukio ISHIMI*, Keinosuke MIZOKAMI, Morio FUKUHARA*², Akira TAKANAKA, Fumio HANAOKA*¹ and Masa-atsu YAMADA*¹: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 31, 441 (1988)

メチルコラントレン処置したシリアンゴールデンハムスターの肝より分離・精製したチトクロム P-450 に対するモノクローナル抗体を作製した。この特異抗体を用いた免疫化学的検索の結果、アフラトキシン B₁ を強く代謝活性化するチトクロム P-450 分子種は、無処置およびフェノバルビタール処置したハムスターの肝にはあまり認められず、メチルコラントレン処置したハムスターにのみ多く存在することが明らかとなった。また、このチトクロム P-450 分子種はメチルコラントレン処置したラット、ウサギ、モルモットおよびスンスムリナスには認められなかった。以上のことから、アフラトキシン B₁ に対して強い代謝活性化能を有するチトクロム P-450 分子種は、ハムスターにおいてメチルコラントレンによってのみ強く誘導される特異な分子種であり、アフラトキシン B₁ の毒性に深くかかわっていることが明らかとなった。

*¹ 東京大学薬学部

*² 国立公衆衛生院

初代培養肝細胞における化学物質代謝

広田晃一, 大野泰雄: 栄養学雑誌, 46, 155 (1988)

初代培養肝細胞の培養法と培養によるその性質の変化を, 薬物代謝に焦点を当て, 解説した。また, 化学物質の薬物代謝誘導能試験法としての初代培養肝細胞系の使用について考察した。

遊離肝細胞における毒性研究

鈴木良典*, 大野泰雄: *Mitsubishi Kasei R & D Review*, 2, 102 (1988)

遊離肝細胞を用いた化学物質の試験法について解説した。また, 鎮咳剤として使われているコデインに強い細胞毒性があることを遊離肝細胞を用いて示し, モルヒネの場合と同様の機構で毒性が発現することを示した。

* 三菱化成(株)総合研究所

Comparative Evaluation of Different Pathways for the Liver Toxicity of Morphine Using Freshly Isolated Hepatocytes

Yasuo OHNO, Kunisuke NAGAMATSU, Toru KAWANISHI, Hideharu IKEBUCHI, Tadao TERAO and Akira TAKANAKA: *Biochem. Pharmacol.*, 37, 2862 (1988)

ラットから調製した遊離肝細胞を用いて, モルヒネの代謝と毒性に関与する酵素について検討した。モルヒネの代謝によるノルモルヒネの生成は, チトクロム P-450 の関与する薬物代謝酵素を阻害するメチラポンで強く抑制されたが, グルクロン酸抱合体やグルタチオン抱合体の生成はメチラポンでは抑制されず, モルヒネ脱水素酵素阻害作用を有するナルトレキソンにより抑制された。一方, モルヒネによる遊離肝細胞毒性はメチラポンではほとんど抑制されないが, ナロキソンやナルトレキソンにより強く抑制された。これらの結果から, モルヒネの肝毒性発現に対するチトクロム P-450 の関与は少なく, 主としてモルヒネ 6-脱水素酵素を介して起こることを明らかにした。

厚生科学における国際研究協力

沢 宏紀*井上和秀: 厚生科学の指標, 35, 3 (1988)

従来我が国は, 欧米先進諸国からの技術導入を行い, それを基礎として産業の発展, 社会の近代化を図ってきた。その結果, 多くの分野で我が国の科学技術水準は欧米のレベルに達し, 一部では追いぬかんとしている。一方経済的には世界の GNP の一割を占めるまで

に発展し, 世界からは応分の貢献をすべく迫られている。今後我が国は, 科学技術の分野では独創的かつ基礎的な研究を推進し積極的な国際協力を実施し, もって国際社会に貢献すべきであろう。また我が国は類例のない高齢化社会を迎えようとしており, これに対応した保健医療体制が必要となるが, これには高度の医学・生物学領域の国際交流がなければ実現不可能な状況である。実りある研究交流を実施するために, まず厚生科学領域の国際協力の現状を概観した。

* 厚生省

発ガン性試験の現状とその評価

林 裕造, 佐藤秀隆: *フードケミカル*, 3, 56 (1988)

食品添加物是不特定多数のヒトが意図せずに一生にわたって摂取する化学物質である。その意味で, 発がん性をはじめとする生体障害の評価に際し, 医薬品や産業化学物質に比べて, 食品添加物に対してリスクをより重視する厳しい対応が要求される。がん研究の進歩にともない, 化学物質による発がんの多様性が認識され, ヒトにおける危険度の観点から動物試験結果を解釈する過程になると, 不確定の要因が余りにも多い事が知られるようになった。以上の点をふまえ, 本稿では食品添加物を対象とする発がん性試験の方法ならびに試験結果の解釈に関する現時点における一般的な考え方を述べた。

Experimental Protocol for Reproductive Toxicity Testing on Drugs

Yuzo HAYASHI, Satoru TANAKA: *Exp. Pathol.*, 32, 2 (1988)

薬物に対するガイドラインは, 国立あるいは国際的機関からいくつか発表されてきた。各国ごとのガイドラインは原則的には同様なものではあるが, 詳細には国ごとに微妙に異なり, 例えば同様の試験のくりかえしが必要となる等, 不都合も生じている。したがって, 国際的な協調が必要となってくる。そこで, 薬物の催奇形性試験法のガイドラインについて, 日本, アメリカ, イギリス, EC 間での相違, 特に奇形学, 発生学, 毒性学, 病理学そして疫学的見地に基づいた各国間のガイドラインの相違について検討し, 未だ解決されていない問題点について指摘した。

Co-carcinogenic Effect of Retinyl Acetate on Forestomach Carcinogenesis of Male F344 Rats Induced with Butylated Hydroxyanisole

Ryohei HASEGAWA, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO, Yuzo HAYASHI: *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 79, 320 (1988)

BHA のラット前胃に対する発癌性は報告されているが、今回はその病変に対して retinyl acetate (RA) がどのように作用するかを検索した。F344 ラットに1% または2% の BHA を投与し、同時に RA を飲料水中に混じて投与した。その結果 BHA 群 3/20 (15%), BHA+RA 群 9/15 (60%) に前胃の強度過形性病変の発生が認められた。また、RA の投与濃度を0.05, 0.1, 0.2, 0.25% にすると、投与濃度に依存した過形性病変の発生が確認された。乳頭腫の発生は BHA 群 17%, BHA+RA 群 10% であり、RA のみではこれらの病変はみられなかった。以上の結果より、RA は BHA の前胃腫瘍発生過程において相乗作用を示すことが明らかとなった。

抗悪性腫瘍剤 医薬品の安全性試験成績の評価とヒトへの外挿 (4)

大澤伸昭, 高橋道人: トキシコロジーフォーラム, 11 (3), 279 (1988)

近年、化学療法により癌患者の延命効果が期待できるようになるにつれて、抗悪性腫瘍剤の慢性毒性あるいは発癌性の問題が重要視されるようになってきた。抗悪性腫瘍剤の特性を毒性試験成績と臨床における副作用との関連で論じた。

1. はじめに
2. 抗癌剤の毒性の特徴とヒトへの予見性
3. 抗癌剤のヒトにおける副作用と動物における毒性試験成績との関連
4. 抗癌剤の発癌について
5. おわりに

抗悪性腫瘍剤の副作用は、その薬効に直結する作用によることが多い点で他の医薬品と異なり、動物実験からの予見が可能なが多い。さらにその作用機序から発癌性をもつものも少なくない。今後、疫学的な研究とともに慢性、特に発癌性の情報に注目していく必要がある。

Study for Tumor-initiating Effect of Acetaminophen in Two-stage Liver Carcinogenesis of Male F344 Rats

Ryohei HASEGAWA, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Ja June JANG* Katsumi YAMASHITA, Shigeaki SATO, Michihito TAKAHASHI,

Yuzo HAYASHI: *Carcinogenesis*, 5, 755 (1988)
Acetaminophen (APAP) のラット肝発癌におけるイニシエーション作用について検索を行った。APAP はラットに 1g/kg b.w. の濃度で10回胃内投与するか、もしくは2/3肝部分切除の24時間後に0.5g/kg 単独投与し、その後0.1% の phenobarbital を飲料水に混じて12週間投与しプロモーション処理をした。肝の胎盤型 glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巢を計測すると、10回投与群で単一の陽性細胞を含めると陽性細胞巢の増加がみられたものの、単一の陽性細胞の肝発癌における意義は不明であった。この濃度の APAP は肝に小葉中心性の壊死を起こした。³²P-ポストラベル法により DNA 付加体の有無を検索したところ、APAP の活性代謝物と DNA を作用させると DNA 付加体が確認されたものの、APAP 投与後のラット肝には DNA 付加体は検出されなかった。以上の結果より、APAP はラット肝発癌におけるイニシエーション作用はないことが示された。

* Korea Cancer Center Hospital, Seoul, Korea

ACI, F344, Wistar および Donryu 系各ラットにおける自然発生腫瘍性および非腫瘍性病変

前川昭彦, 小野寺博志: *J. Toxicol. Pathol.*, 1, 13 (1988)

発癌性試験の対照群として用いた ACI/N, F344/DuCry, Slc: Wistar および NRC: Donryu の各ラットについて自然発生腫瘍性および非腫瘍性病変を比較検討した。検索したすべての系統のラットにおいて、内分泌臓器、性器や乳腺は自然発生腫瘍が最も好発した臓器であったが、腫瘍の臓器分布、組織型や発生頻度には系統により差がみられた。これら腫瘍に加え、低頻度ながら種々の臓器にいろいろな腫瘍の発生がみられ、また腎、肝や心等を中心に非腫瘍性病変が散見された。自然発生腫瘍の組織像や頻度、特徴的な非腫瘍性病変からみて Donryu ラットは他の三系統のラットとはかなり異なっていた。ACI ラットも精巣腫瘍の発生が高い事を除けば F344, Wistar ラットとは異なっていた。これに対し、F344 および Wistar ラットの間には自然発生腫瘍の臓器分布や組織型、非腫瘍性病変等に差異は見られなかった。

各種加熱分解生成物、食品成分物質、抗腫瘍薬および金属化合物の皮膚二段階モデルにおける作用
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, 宮川義史: *J. Toxicol. Pathol.*, 1, 39 (1988)

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、5種類の食品関連物質、4種類の抗腫瘍薬についてそのイニシエーション作用を検索した。腫瘍発生率をフィッシャーの直接確率法で検定したところ、Trp-P-1/TPA, AF-2/TPA 群で有意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, AF-2/TPA, BHA/TPA, MeAαA/TPA 群の各群で DMSO/TPA 群とのあいだに有意差を認めた。

SENCAR マウスを用いたマウス皮膚二段階発癌モデルを用い、ZnCl₂, CdCl₂·2^{1/2} H₂O, NiCl₂·6H₂O, HgCl₂, CrCl₃·6H₂O, H₃AsO₄ の6種類の金属塩についてプロモーション作用を検索した。DMBA/重金属塩群ではいずれの群でも実験期間を通じ腫瘍発生は認められなかった。また、acetone/重金属塗布群でも腫瘍の発生を認めなかった。

X線照射ならびに食塩投与ラットに生じた動脈炎の経時的变化

渡辺敦光*, 高橋忠照*, 中川義基*, 伊藤明弘*, 梶原博毅, 古川文夫, 高橋道人: *J. Toxicol. Pathol.*, **1**, 81 (1988)

ラットの胃部に 10 Gy の X線を 3 日間隔で 2 回照射し、その後 10% の食塩添加食を投与した。X線照射だけの群では血圧が実験期間を通じ、100~131 mmHg であったが、X線照射後、食塩食を与えた群では 2 週目; 134, 23 週目; 148, 30 週目; 300 mmHg 以上と著しく上昇していた。また、この群では 9 週目より、胃漿膜下織の小動脈にフィブリノイド壊死が出現し、23 週以降では筋層や粘膜下織の小動脈におよんだほか、漿膜下織の中動脈にも変化が見られた。30 週目ではさらに胃粘膜内の小動脈に波及した。X線照射だけの群では漿膜下織の中動脈に線維性肥厚が照射後 2 週目からみられたが、フィブリノイド壊死の出現は見られなかった。今回の結果は X線で誘発された血管病変が食塩によって増強され、血圧の上昇によりさらに悪化させたものと考えられた。

* 広島大学原医研

High Susceptibility of an Analbuminemic Congenic Strain of Rats with an F344 Genetic Background to Bladder Cancer and its Possible Mechanism

Masakazu TAKAHASHI*, Seigo SHUMIYA*, Akihiko MAEKAWA, Yuzo HAYASHI, Sumi NAGA-

SE*: *Jpn. J. Cancer Res. (GANN)*, **79**, 705 (1988)

F344 ラット由来の無アルブミンラット (F344 alb) の N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) に対する感受性を検討した。F344 alb は BBN の膀胱発癌に対しきわめて感受性が高かった。F344 alb および F344 ラットにおける膀胱癌発生率はそれぞれ雄で 94% (15/16) および 31% (5/16)、雌で 100% (16/16) および 19% (3/16) であった。0.05, 0.1 および 0.3% の濃度の BBN を飲料水として 2 週間与え、BBN の代謝物である BCPN の膀胱内の量を測定した結果、F344 ラットに比べ F344 alb ラットで著明な増加がみられ、この増加はラットアルブミンの存在により抑制された。

* 佐々木研究所

Induction of Lung Tumors and Peritoneal Mesotheliomas in F344 Rats Given Intra-gastric N-propyl-N-nitrosourea and Histochemical, Immunohistochemical, and Ultrastructural Characteristics of Induced Mesotheliomas

Toshiaki OGIU*, Hiroko FUKAMI*, Akihiko MAEKAWA: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **114**, 259 (1988)

N-Propyl-N-nitrosourea (PNU) の 500 mg/kg を胃ゾンデを用いて F344 ラットに一回または分割投与し、その発癌性、標的臓器を検討した。雄に於いては肺腺腫/腺癌を筆頭に腹膜中皮腫や前胃腫瘍の発生がみられた。前胃腫瘍は 500 mg/kg 一回投与ではみられず、分割投与 (100 mg × 5) 群で最も高率にみられたが、他の腫瘍では投与方法の違いははっきりしなかった。これに対し、雌では雄より発生頻度は低いものの肺および前胃の腫瘍発生がみられたが、中皮腫は 1 例も認められなかった。PNU 投与により、雄ラットに高率にみられた中皮腫について組織化学的、免疫組織化学的および電顕的に観察を行った。

* 愛知がんセンター

発癌物質のヒト癌発生に対する評価

林 裕造: 図説臨床 [癌] シリーズ, **22**, 38 (1988)
環境発癌物質のヒトに対するリスクは、従来、職業癌、医原性癌に代表される一部のヒト集団に限られると思われていたが、疫学的調査の結果、全ヒト集団におよんでいる可能性が強くなり、癌一次予防の対策を考える上で発癌リスクを正しく評価しなければならない。そこで評価法自身の検討を行った。現在用いられ

ている評価法としては単純評価、質的評価、量的評価さらに総合評価と多要因影響に分けて考えることができる。質的評価として発癌関連物質をさらに一次発癌物質、二次発癌物質そしてプロモーターに分けることができる。これらの評価法をもとに現在までに知られている発癌物質について評価してみても、依然として職業癌、医原性癌および地域性癌に関連する要因に限られる。今後は極めて微量な多種類の発癌物質が同時的、または継続的に与えられた場合、生体に対してどのような発癌影響をもたらすかについての系統的な研究が必要となろう。

食塩と胃癌

高橋道人: 図説臨床〔癌〕シリーズ, 22, 18 (1988)

胃癌の発生においてその第一の影響因子として指摘されているのが食塩である。塩蔵品などのように食塩で加工した食品を多量に摂取することと、胃癌の発生率との間に関連性があるという指摘は古くからなされていた。国別に脳卒中と胃癌の死亡率をみると、相関性がありその原因として食塩の摂取との関連が指摘されている。

実験的に検討してみると食塩には胃癌の発癌イニシエーターを増強する働きがあるほか、二段階発癌モデルでプロモーター作用があることが判明した。

胃粘膜は分泌される粘液で保護されているが、粘液にとっては塩分には極めて弱く、食塩が摂取されると粘液関門が簡単に破壊され胃粘膜を傷つけることになるほか、発癌物質にも曝されやすくなる。

日常生活において食塩の摂取をできうる限り減らすことが、胃癌の予防において極めて重要である。

エトキシキンおよび酢酸レチニールによるラット腎乳頭壊死および石灰化の増強要因

下地尚史, 長谷川良平, 古川文夫, 豊田和弘, 今沢孝喜, 佐藤秀隆, 高橋道人, 林 裕造: *J. Toxicol. Pathol.*, 1, 185 (1988)

ラット腎乳頭壊死および石灰化が2種の化合物の併用投与により増強されるか否かを検索した。胃発癌物質であるMNNGとNaClをラットに8週間同時投与後 ethoxyquin(EQ)を32週間投与すると、強度の腎乳頭部壊死ならびに石灰化が認められた。一方、EQ単独投与群にも同様の病変を認めたものの、その程度は軽度であった。次に、BHAとretinyl acetate(RA)をラットに52週間投与すると、腎乳頭部に同様の病変が認められ、それはBHAの濃度に依存した変化であった。しかし、BHAの単独投与群に病理組織学的

変化は認められなかった。以上の結果によりラット腎乳頭の病変は2種の化合物によって増強され、さらにその病変の出現は2段階で進展する可能性があること、また、2種以上の化合物が相乗作用を示すことが明らかにされた。

Carcinogenicity Study of Tetramethylthiuram Disulfide (Thiram) in F344 Rats

Ryohei HASEGAWA, Michihito TAKAHASHI, Fumio FURUKAWA, Kazuhiro TOYODA, Hidetaka SATO, Ja June JANG*, Yuzo HAYASHI: *Toxicology*, 51, 155 (1988)

農薬として使用されている tetramethylthiuram disulfide (thiram) の F344 ラットに対する発癌性試験を行った。実験は雌雄各々150匹のラットを3群に分け、thiramを0, 0.05, 0.1%の濃度で基礎飼料に混じて104週間投与した。実験期間中食餌摂取量に差はみられなかった。すべての動物は実験開始後112週で屠殺剖検した。0.1%投与群では特に雌において体重増加の抑制がみられ、血清学的異常値から雄の肝機能障害が推察されたが、病理組織学的にそれを裏付ける所見は得られなかった。病理組織学的には雌雄とも自然発生の白血病の発生頻度が投与濃度に応じて抑制されたのと、雌の甲状腺腫と下垂体腺腫の発生の抑制がわずかにみられた以外に、投与群に腫瘍発生はみられなかった。以上の結果より、thiramにはF344ラットにおいて発癌性はないことが示された。

* Korea Cancer Center Hospital, Korea

Carcinogenicity and Organ Specificity of *N*-trimethylsilyl-methyl-*N*-nitrosourea (TMS-MNU), *N*-neopentyl-*N*-nitrosourea (neo PNU), and *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) in Rats

Akihiko MAEKAWA, Hiroshi ONODERA, Jun KANNO, Kyoko FURUTA, Takaharu NAGAOKA, Asashi TODATE, Yuko MATSUSHIMA, Toshinari OHHARA Yutaka and KAWAZOE*: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 114, 473 (1988)

N-Trimethylsilylmethyl-*N*-nitrosourea (TMS-MNU) およびその炭素同族体である *N*-neo-pentyl-*N*-nitrosourea (neo PNU) の発癌性および標的臓器を *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) のそれと比較した。これら三種のニトロソ尿素はその構造が類似するも、その化学的性質が互いに異なるものである。検体は何れもオリーブ油に溶解し、胃ゾンデによりF344ラットに20週間経口投与された。TMS-MNU およ

び MNU は前胃をはじめ、神経系や肺に発癌性を示したが、TMS-MNU と MNU ではその標的臓器に僅かながら違いがみられた。一方、neo PNU は発癌性を示さなかった。これらの結果は、これらニトロソ尿素の発癌性はアルキル基の構造に大きく関係すると共に、標的臓器の違いはそれらの化学的性質の相違による体内分布の違いに関係している事を示している。

* 名古屋市立大学薬学部

環境化学物質による発癌の病理——第一次予防の病理学的基礎——

林 裕造: 日病会誌, 77, 3 (1988)

癌を含め疾病あるいは病態の発生要因には内因と外因とがあり、外因には生物学的要因、物理的要因および化学的要因に分けられる。そのうち化学的要因は近年特に重視されるようになり、環境化学物質の曝露と癌の発生との関連性が益々重要視されるようになってきている。本稿では過去 10 年間、国立衛生試験所で行われた動物実験の結果を中心に、環境化学物質の発癌影響に関する病理学的研究の現状と癌一次予防への将来課題について述べ、特に、生活環境の具体的な改善およびライフスタイルの修正とともに、その目的に沿った新しい研究知見を不特定多数の個人、個人集団および関連行政機関に正しく伝達することも癌一次予防の達成のために必要であることを述べた。

Risk Assessment of Environmental Carcinogens

Yuzo HAYASHI: *J. Toxicol. Sciences*, 13, 247 (1988)

環境化学物質による発癌のリスクアセスメントをする場合の現時点ならびに将来の問題点を毒性病理学的観点から述べた。まず、環境発癌物質を classical (primary) carcinogen と secondary carcinogen とに分類し、さらに promoter の概念を取り入れて、分類し、基礎的なデータを積み重ね、リスクアセスメントの基礎的資料とする。そして、まず、障害性確認 hazard identification、曝露評価 exposure assessment、発癌性強度の評価 dose response assessment を経て、最後にリスク判定 risk characterization を行う。一方、classical carcinogen のリスクアセスメントとしては実質安全量 (virtually safe dose) が重要なデータとなる。今後の課題として、疫学的調査結果と実験事実との間の矛盾を解決するためには多要因の複合曝露による発癌影響の検討が重要な課題となろう。

RecA-mediated Cleavage Activates Umu D for Mutagenesis: Mechanistic Relationship Between Transcriptional Derepression and Posttranscriptional Activation.

Takehiko NOHMI, John R. BATTISTA*, Lorry A. DODSON* and Graham C. WALKER*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 1816 (1988)

大腸菌の *umuD/C* 遺伝子は、紫外線や化学物質によって起こる突然変異の誘発に必須の役割を果たすと考えられている。*umuD/C* は DNA に傷害が起きた際に誘導される SOS 遺伝子の一つであり、その発現は RecA と LexA により調節されている。UmuD 蛋白質は、LexA および lambda, 434, P22, phi 80 などバクテリオファージのリプレッサーの C-末端側と、アミノ酸配列上のホモロジーを持つ。この事から私たちは、SOS 反応の際に UmuD が Cys²⁴-Gly²⁵ 部位で、LexA の開裂とよく似た機構により分解されるものと予想した。Site-directed mutagenesis 法を用いることにより、1) Cys-Gly 部位での開裂は UmuD の活性化反応であること、2) 開裂後に生ずる C-末端側ポリペプチドが UmuD の活性フラグメントであることを明らかにした。大腸菌の突然変異誘発における、活性型 ReCA の役割について討論した。

* Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology

A Proposed Battery of Tests for the Initial Evaluation of the Mutagenic Potential of Medicinal and Industrial Chemicals

Motoi ISHIDATE, Jr.: *Mutation Res.*, 205, 397 (1988)

医薬品、化学工業製品の変異原性を調べる第一次評価方法として、どのような試験法の組合せが有効であるかを検討した。微生物を用いる遺伝子突然変異試験、は乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、マウスを用いる小核試験の意義と限界について討論した。

遺伝毒性変異原性試験による生活関連物質の安全性評価

石館 基: トキシコロジーフォーラム, 11, 304 (1988)

生活関連物質の安全性評価を行う上での変異原性試験の意義、特に発癌物質の検出を行う上での意義について論じた。

Micronucleus Tests in Mice on 39 Food Additi-

ves and Eight Miscellaneous Chemicals

Makoto HAYASHI, Michiko KISHI*, Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDATE, Jr.: *Fd Chem. Toxic.*, 26, 487 (1988)

合成食品添加物32種, 天然添加物7種, トリハロメタン3種, 歯科用フッ素化合物2種, 殺虫剤1種, およびその他からなる合計47種の化合物についてマウスを用いる小核試験を実施した。これらのうち, 臭素酸カリウムなど5種の化合物は, 1回の腹腔内投与で小核の誘発が観察された。さらに, 臭素酸カリウムは経口投与によっても明らかな陽性結果を示した。1回投与で陰性であった化合物については, 4回あるいは5回投与試験を追加したがいずれも小核の誘発は認められなかった。

* 神奈川県衛生研究所

マウス小核試験の統計処理

林 真, 祖父尼俊雄, 石館 基: トキシコロジフォーラム, 11, 526 (1988)

小核試験は染色体異常誘発性を *in vivo* で検討するための試験法として広く用いられている。この小核試験の結果を評価するための統計学的処理法はいろいろ提案されているが確立した方法はない。結果を評価するための重要な要素として, 自然状態での反応のレベルと比較して有意な差があるかどうかの判定とともに, 用量依存性があるかどうかを判定することがあげられる。ここではこれら2つの要素を組み入れた手法を提案した。また, 第一種の過誤の確率および統計学的検出力について, 本手法と他のいくつかの手法の比較をモンテ・カルロ シミュレーション法によって検討した。さらに, 著者の研究室で実際に行った食品添加物を主とする47種の化合物の小核試験結果を各手法を用いて判定し, 経験に基づく判定も含め比較検討した。

Mutagenicity to Bacteria, Cultured Cells, and Rodents of the Human Carcinogen Chlornaphazine

J. ASHBY*¹, C. LOQUET*², M. ISHIDATE, Jr., R. D. CALLANDER*¹ and R. ALBANESE*¹: *Environ. Mol. Mutagen.*, 12, 365 (1988)

ヒトに癌原性を示す chlornaphazine (CN) はサルモネラに対して変異原性を示すことが確認された。しかも予想に反して, 肝 S9mix 共存下で, より強い活性を発揮した。CN は, またチャイニーズハムスター培養細胞に対しても 2.5 µg/ml 以上の濃度で染色体異常誘発性を示した。さらに, 骨髄を用いる小核試験

では, 500 mg/kg 以上の用量で明らかな陽性となることがマウスとラットで観察された。マウスでは造血抑制が認められたが, 投与後24時間でも小核の出現が見られた。小核の出現率は, マウスよりラットの方が高かった。今回の結果は, ヒトに対する癌原物質が標準的な *in vitro* および *in vivo* 変異原性試験で容易に検出される一つの実例である。

*¹ ICI PLC, England

*² CIT, France

食品添加物の変異原性試験成績 (その9)

—昭和62年度厚生省試験研究費による—

石館 基, 滝澤行雄*¹, 坂部美雄*², 石崎陸雄*³, 渡辺重信*⁴, 館 正知*⁵, 竹本和夫*⁶: トキシコロジフォーラム, 11, 663 (1988)

厚生省生活衛生局食品化学課より, 日本食品添加物協会を通じて配布された食品添加物十数種(天然添加物9種を含む)について, 枯草菌を用いる Rec-assay, サルモネラを用いる Ames テスト, チャイニーズハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験を行った。その結果, 4種の天然添加物が Rec-assay および染色体異常試験で弱いながら陽性であった。Ames テストでは, いずれも陰性であった。また, 過去の *in vitro* 変異原性試験の結果からさらに *in vivo* で検討する必要があると判断された食品添加物17種についてマウスを用いる小核試験を実施したが, 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

*⁶ 埼玉医科大学

変異原性と活性酸素

祖父尼俊雄, 石館 基: 蛋白質核酸酵素, 33, 2830 (1988)

活性酸素による変異原性の誘発に関して, 主に哺乳類細胞での染色体異常誘発を中心に概略した。電離放射線による染色体異常誘発ではヒドロキシルラジカルが重要な関わりをもっており, 光照射ではヒドロキシルラジカル, 過酸化水素の関与が考えられる。スーパーオキシド発生系での染色体異常誘発については, キサンチン酸化酵素の系ではスーパーオキシドから不均化反応で生成される過酸化水素が, パラコートではスーパーオキシドが重要な役割を演じている。過酸化水素による染色体異常誘発でのヒドロキシルラジカルの

関与を含め、活性酵素との関わりが考えられている主な変異原についてとりあげた。

46, XX Male より培養樹立化した JTC-17 細胞の HeLa マーカーについて

品川保弘, 片岡英子, 水沢 博, 野村信夫^{*1}, 山田弘生^{*2}, 山田堅一郎, 沼田光弘, 佐々木梢^{*3}, 難波正義^{*3}: 組織培養, 15, 135 (1989)

わが国で樹立された細胞株の中には記載と異なったものがあることがかねてより指摘されてきたところであるが、正面から取り上げられることはあまりなかった。細胞バンクではわが国におけるより高度の研究を支援するためにはこうした状況を早急に改善する必要があるとの判断で、アイソエンザイム分析, DNA フィンガープリント分析などの手法を用いて疑問のある細胞について、確認作業を急いでいる。こうした状況のなかで、JTC-17 細胞株が HeLa 細胞と同じものであることを証明したことを報告したのが本論文である。アイソエンザイム分析により、JTC-17 細胞のグルコース 6 リン酸脱水素酵素の移動度が HeLa のそれと一致し、DNA フィンガープリントもまた両者で一致した。さらに、JTC-17 細胞の染色体中には HeLa 特異的のマーカー染色体の存在も確認した。

*1 日本獣医畜産大学

*2 ヤクルト中央研究所

*3 川崎医科大学

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)

細胞バンクの実務のなかでマイコプラズマの汚染をいかにして防止するかは重要な課題である。そのためには、確実なマイコプラズマの検出手段を把握しなければならず、細胞バンクにおいては設立以来様々な検討を加えてきた。本論文では、マイコプラズマを直接培養する方法, DNA 特異的な色素 (Hoechst 33258) による染色法, DNA プローブを用いた分子生物学的な検出法, および代謝毒性を利用した検出法の各方法について感度, 検出スペクトラムの点から検討を加えた。その結果, 色素による染色法が比較的高感度に検出出来ることを確認したが, マイコプラズマに対する特異性は低いため, 他の培養法などと組み合わせるこ

とが望まれることを示した。

* 発酵研究所

Isolation and Characterization of Ras-Transfected BALB/3T3 Clone Showing Morphological Transformation by 12-O-Tetradecanoyl-Phorbol-13-acetate

Kiyoshi SASAKI*, Hiroshi MIZUSAWA and Motoi ISHIDATE: *Japanese J. Cancer Res.*, 79, 921 (1988)

遺伝子のひとつとして知られる癌遺伝子がマウス正常細胞の形質転換を誘発する機構を調べた。ウィルス由来 v-ras 遺伝子を導入したマウス BALB/3T3 細胞のうち ras 遺伝子が導入された細胞が複数分離され、その多くは必ずしも形質転換を生じてはいなかった。これらの細胞株を分離し、代表的な細胞について (Bhas 42) 性質を調べた。この細胞はサザンブロットハイブリダイゼーション法により ras 遺伝子は染色体 DNA の中に組み込まれていることが確認された。また、この細胞をコンフルエントの状態まで増殖させても形質転換は生じなかったが、典型的な発癌プロモーターとして知られる TPA を添加することにより速やかに形質転換が誘導されることが形態学的に確認され、細胞も分裂を開始しほぼ同調的に細胞数は倍加した。しかし、この変化は可逆的であり、細胞を回収し、低濃度で再度培養することにより変化した形質はもとに戻った。こうした事実から、ras 遺伝子は細胞の形質を転換する能力を潜在的に保持しているが、転換した形質を安定に長期間維持するにはさらに別の要因が必要であることが示唆された。

* 食品薬品安全センター-奏野研究所

Analysis of Salmonella Lipopolysaccharides by Sodium Deoxycholate-polyacrylamide Gel Electrophoresis

Tetsuo KOMURO and Chris GALANOS*: *J. Chromatogr.*, 450, 381 (1988)

LPS をデオキシコール酸ナトリウム (DOC) あるいはドデシルリウ酸ナトリウム (SDS) 存在下でポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (PAGE) により分析した。S 型 LPS の 2 次元電気泳動は、SDS 存在下の場合、一次元電気泳動で得られるバンドがさらにいくつかに分かれるという異常な泳動像を示した。しかし、DOC 存在下の場合、二次元電気泳動では単一バンドから成る対角線上に並ぶ泳動像が得られ、分離が完全

に行われているという結果を得た。DOC-PAGE は SDS-PAGE より LPS の化学的不均一性を調べる場合には優れていることを示した。

*1 マックスプランク免疫生物学研究所

Structural Requirements of Lipid A Species in Activation of Clotting Enzymes from the Horseshoe Crab, and the Human Complement Cascade

Haruhiko TAKADA*¹, Shozo KOTANI*^{1,5}, Shigenori TANAKA*², Tomohiko OGAWA*¹, Ichiro TAKAHASHI*¹, Masachika TSUJIMOTO*¹, Tetsuo KOMURO, Tetsuo SHIBA*³, Shoichi KUSUMOTO*³, Naoto KUSUNOSE*³, Akira HASEGAWA*⁴ and Makoto KISO*⁴: *Eur. J. Biochem.*, **175**, 573 (1988)

Lipid A の構造活性相関を合成 Lipid A およびその関連化合物を用いて検討した。Limulus 活性に関して、新たに開発した色素法は従来のゲル化法よりも感度が優れていた。この色素法により得られる合成 Lipid A 関連化合物の Limulus 活性は、発熱活性との相関性において従来のゲル化法により得られる結果よりもよりよく相関した。補体活性化機構は、色素法における Limulus 活性および発熱活性発現に要する分子構造要求性とはまったく異なっていた、等の結果を得た。

*1 大阪大学歯学部

*2 生化学工業株式会社

*3 大阪大学理学部

*4 岐阜大学農学部

*5 大阪医療短期大学

Novel Ring Expansion of Cyclopentanones to Seven Membered Rings

Masakazu TANAKA, Hiroshi SUEMUNE* and Kiyoshi SAKAI*: *Tetrahedron Letters*, **29**, 1733 (1988)

カルボニル基の保護として、エチレングリコール/BF₃ の条件による保護基の導入は極めて頻用される一般反応であるが、今回シクロペンタノンの α 側鎖の C₃ 位にカルボニル基を有するジケトンには、上記のアセタール化の条件で容易に環開裂と同時に環拡大を起こし 7 員環を与える事を見いだした。そこで、本法を 5, 7-縮合環骨格を有すブルネソールの合成に応用した結果、従来の方法が 20 行程近くを必要とするのに比較し僅かに 9 行程と極めて合成行程を短くすることができ、

しかも立体選択的に合成することができた。

* 九州大学薬学部

高速液体クロマトグラフ法によるインスリンの定量 (第 5 報) ヒトインスリン含有注射液への応用

徳永裕司, 太田美矢子, 押沢 正, 福田秀男, 福岡正道, 田中 彰: 医薬品研究, **20**(3), 661 (1989)

液体クロマトグラフ (HPLC) 法による注射液中のヒトインスリン (HIS) の定量について検討した。HPLC 条件は、4×250 mm のカラムに Li-Chrosorb RP-18 を充填したものを、移動相に 20 mM 硫酸ナトリウムを含む 0.1M リン酸塩緩衝液 (pH 3)・アセトニトリル混液 (71:29)、流量 1 ml/min、カラム温度 40°C、検出波長 210 nm を用いた。アセトニトリル量の数%の増加は HIS の保持時間を大きく減少させた。カラム温度の上昇は HIS の保持時間は大きくした。検量線は HIS の 1~6 単位の範囲で原点を通る直線性を示した。防腐剤の *m*-クレゾール、メチルパラベン は定量に妨害しなかった。市販の注射液 16 種類について HPLC 法と bioassay での定量値を比較したところ両者の間に有意の差は認めなかった。

逆浸透膜の性能評価に適する指標物質の検索

村井真美, 柴田 正, 岡田敏史, 木村俊夫: 医薬品研究, **20**(3), 613 (1989)

逆浸透 (RO) 膜の有機物に対する除去性能の変化を鋭敏に検知し得る指標物質の検索を行った。RO 膜は酢酸セルロース (CA)、ポリアミドおよびポリビニルアルコールの 3 種類の平膜を使用し、次亜塩素酸ナトリウム溶液に浸漬して劣化を加速し、種々の有機物と塩化ナトリウム (無機塩類の指標物質) に対する除去率の変化を測定し比較した。その中ではヒスタジンの除去率の低下は最も著しいものであった。このヒスタジンの指標物質としての有用性は CA の中空糸モジュールにおいても同様に示された。また、ヒスタジンの CA 膜透過挙動について若干の検討を行い、ヒスタジンが膜性能の変化を鋭敏にとらえ得る原因について考察した。

改良ランキン装置を用いた輸入雑豆中の遊離シアンおよびシアン配糖体の分別定量法

中村優美子, 外海泰秀, 長谷川ゆかり, 田辺弘也*, 伊藤誉志男: 衛生化学, **34**, 139 (1988)

改良ランキン装置を用いた通気蒸留法による簡便且高感度のシアン定量法を開発した。本法では、粉末試料 0.2 g を用い、0°C で 20 分さらに 50°C で 2 時間通気

蒸留して、遊離型シアンと結合型（配糖体）シアンを分別捕集し、クロルシアンを生成させ、ヘッドスペース法により ECD-GLC で定量する。本法によるシアンの定量限界は1試験管あたり 0.1 µg であり、サルタニ豆のような輸入雑豆の場合は酵素添加は不要と考えられた。本法により輸入ライマ豆、バター豆、サルタニ豆のシアン含有量を測定したところ、以前に報告されている値とほぼ同じであり、本法は輸入豆のシアン含有量の測定に十分用い得ることが示された。

* 相模女子大学

Metabolism of Alginic Acid and Its Salts and Their Effects on Serum Concentrations of Na, K and Ca in the Rat

Yumiko NAKAMURA, Yasuhide TONOGAI, Yukari HASEGAWA and Yoshio ITO: 食衛誌, 29, 240 (1988)

アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カリウム、アルギン酸およびアルギン酸カルシウムの水溶液あるいは懸濁液 90.4 mg/kg（日本人のアルギン酸およびその塩類の1日摂取量の50倍量）をラットに経口投与してアルギン酸の代謝および Na, K, Ca バランスに及ぼす影響を調べた。アルギン酸の糞中排泄量および胃腸内含有量の時間的変化については塩類の違いによる差は認められなかった。また、いずれのアルギン酸類も血清 Na, K, Ca バランスに顕著な影響をおよぼさなかった。

パラオキシ安息香酸エステル類の有効性について

中村優美子, 長谷川ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 食衛誌, 38(9), 89 (1988)

日本で食品添加物として許可されているパラベン類は、パラオキシ安息香酸エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルの5種のみであり、その使用基準も醤油など一部の食品に限定されている。しかし、米国ではメチルパラベンはプロピルパラベンとともに、食品への添加が広く認められている。そこで、メチルパラベンを含むパラベン類の物理化学的特性、使用実態、代謝・毒性、抗菌作用、有効性について、従来の報告をもとにまとめ、食品添加物としての有効性について考察を加えてみた。

Determination of Ethylene Dibromide in Tropical Fresh Fruits Using Dean-Stark Apparatus and ECD-gas Chromatography

Yumiko NAKAMURA, Yukari HASEGAWA, Ya-

suhide TONOGAI, Minoru HANAFUSA*, Hideaki HIROSE*, Yoichi TAHARASAKO* and Yoshio ITO: *J. Food Protect.* 51, 727 (1988)

日本に輸入された果物中の EDB 残留量について、Dean-Stark 蒸留装置を用い ECD-GLC で定量した。EDB をパイナップル果肉に 0.1 ppm 添加した場合の回収率は 98.1% であった。マンゴー果肉を用いて室温保存 (25°C)、冷蔵保存 (7°C)、冷凍保存 (-20°C) の各場合の EDB 残存量の変化を調べたところ、冷凍保存でのみ EDB 残存量が 6 日間にわたって変化しなかった。また、1987年に日本に輸入されたグレープフルーツ、パイナップル、マンゴー、レモン果肉、果皮、種子中の EDB 残存量を部位別に測定した。

ガスクロマトグラフィーによる食品中の9種トリアジン系除草剤の同時分析法

外海泰秀, 長谷川ゆかり, 中村優美子, 伊藤誉志男: 衛生化学, 34, 421 (1988)

9種トリアジン系除草剤（プロメトン、プロバジン、アトラジン、シマジン、プロメトリン、アメトリン、シメトリン、ジメタメトリン、メトリブジン）の同時分析法を開発した。試料をアセトンにて抽出した後 10% 食塩水を加え、ジクロロメタンで再抽出した。有機層を濃縮してフロリジルカラムクロマトグラフィーによる精製を行った。100 ml のヘキサノン-エーテル混液で洗浄した後に 50 ml のエーテル-酢酸エチル混液で溶出することにより 9種の除草剤全てが定量的に回収された。溶出液を濃縮して FID-GC にて定量した。ニンジン、オレンジ、大豆、玄米に添加した 9種除草剤の回収率は 62.4~92.6% であり、検出限界は 0.05 ppm であった。

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

柴田 正, 辻 澄子, 稲森一美, 伊藤誉志男: 粧技誌, 22(4), 190 (1988)

第4級アミンのテトラ-*n*-オクチルアンモニウムヒドロキシド (TOAH) を用いて化粧品中の各種着色料をイオンペア抽出し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いる簡易定量法を確率した。

口紅をベンゼンに加熱溶解し、冷後希硫酸および TOAH を加え、ベンゼン層に色素を抽出する。ついで有機層からテトラフェニルホウ素ナトリウム溶液を加え、水層に逆抽出し遊離型色素としたのち、HPLC (カラム: Zorbax C-8, 移動相: 1/30M リン酸緩衝液 (pH 6.0) -メタノール (4:1), (3:2) および (2:

3) を用いて定量した。本法による各種色素の添加回収率は80%以上であった。

プロトン化クルクミン発色法による食品中のホウ酸の簡易迅速定量法

辻 澄子, 小川俊次郎*, 柴田 正, 伊藤誉志男:
食衛誌, 30, 14 (1989)

食品中のホウ酸を直接, 2-エチル-1, 3-ヘキサジオール (EHD) でキレート抽出した後, 非水条件下でクルクミン発色によるホウ酸の簡易迅速定量法を確立した。試料中のホウ酸は酸性下で5% EHD 含有のヘキサソクサン-酢酸ブチル (4:1) 溶液で抽出した。抽出液の一定容量にクルクミン水酢酸溶液および濃硫酸を加えて発色させた後, 過剰のプロトン化クルクミンを水で分解し, アセトンで希釈して比色定量を行った。殻付き冷凍えび, 塩蔵くらげ, 寒天, 牛乳, 豆乳およびワインにホウ酸を10, 100および500 $\mu\text{g/g}$ 添加したときの回収率はいずれも97.0%以上であった。検出限界は0.3 $\mu\text{g/g}$ であった。

* 京都薬科大学

輸入果物中のエチレンプロマイド, Ethylene dibromide (EDB) 残留分析について

中村優美子, 長谷川ゆかり, 外海泰秀, 花房 実*, 廣瀬英昭*, 田原迫洋一*, 伊藤誉志男: 日本食品工業学会誌, 36, 142 (1989)

1986~1987年に大阪空港に輸入されたマンゴーおよびパパイヤを用いて果肉中の EDB 残留分析に関する検討を行った。パパイヤ果肉中の EDB の回収率は98%以上であった。冷凍保存により果肉中の EDB 残留量の減少が6日後においても認められず, クロスチェックが可能になると考えられた。ロットごとあるいはカートンごとにマンゴーをサンプリングする場合, 個体によるばらつきが認められた。マンゴーのサイズが大きいほど, 部位別では種子で EDB 残留量が高い傾向があった。さらに, 1987年4~6月に大阪府下で購入した市販輸入果物の EDB 残留分析を行った。

* 大阪空港検疫所

パラオキシ安息香酸類の有効性と安全性について

中村優美子, 外海泰秀, 長谷川ゆかり, 伊藤誉志男:
フレグランスジャーナル 2月号, 46 (1989)

パラベン類はパラヒドロキシ安息香酸のエステルであり, 化粧品の保存料として広く用いられている。投与されたパラベン類はただちに吸収・代謝・排泄さ

れ, 通常毒性のないことがさまざまな投与方法で実証されている。パラベン類は人の皮膚に対して刺激性も監感作用もなく, 現行の使用法では化粧品添加物として安全である。

亜塩素酸ナトリウムの細菌, 酵母および真菌9菌種に対する抗菌作用の検討

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男:
粧技誌, 22, 245 (1989)

細菌5種, 酵母3種および真菌1種に対する亜塩素酸ナトリウム (NaClO_2) の抗菌作用を, 次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) を対照として検討した。 *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus* および *E. coli* を NB 培地に接種し, NaClO_2 または NaClO を添加して, 25°C で14日間培養した。その結果 NaClO_2 の抗菌作用は NaClO より強いことが判明した。一方 YM 培地に接種した *C. lipolytica*, *C. albicans*, *Tr. cutaneum* および *A. niger* に対する NaClO_2 の抗菌作用は NaClO よりも弱かった。液体培地中での残存性を検討した結果, NaClO が非常に速やかに減少するのに対して NaClO_2 は7日間残存することが判明した。また各々の抗菌作用は, NaClO_2 は静菌的であり, NaClO は殺菌的であることが示唆された。

Dean-Stark 蒸留法による環境水中微量有機汚染物質の分析

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男:
衛生化学, 34, 508 (1988)

環境水中の微量有機汚染物質を分析する簡便な方法を開発した。5~10Lの試料水を Dean-Stark 蒸留装置により2時間蒸留し, 5 ml の *n*-ヘキサン溶液とした。122種類の汚染物質標準品の添加回収実験の結果, クロロベンゼン, フタル酸エステル類, 有機硫黄化合物のような脂溶性の高い物質の回収率は少数の例外を除いて70%以上であった。しかし有機リン系あるいはカルバメート系農薬, フェノール等水溶性の高い化合物はほとんど回収されなかった。本法の応用として, 河川水および水道水を濃縮して GC/MS, ECD-GC, HPLC により分析したところ, フタル酸エステル類, テルペン類などが河川水より, また低沸点有機ハロゲン化合物が水道水よりそれぞれ検出された。

The Decomposition of Fats in Mackerel Homogenates Inoculated with Yeasts or Bacteria

Yasuhide TONOGAI, Michiko KOBATAKE, Kayoko TAKAGI and Yoshio ITO: 食衛誌, 30, 138,

(1989)

酵母5菌種および細菌4菌種を滅菌サバ肉ホモジネートに単独接種し、25°で7日間培養後の遊離脂肪酸およびグリセリド構成脂肪酸量をGCで測定し、脂肪分解率を比較した。また総揮発性塩基窒素(VBN)量も測定し、脂肪分解率との比較を行ったところ、酵母中では *Candida lipolytica*、細菌中では *Pseudomonas fluorescens* が大きな脂肪分解ならびに VBN 値を示したが、*Bacillus subtilis* の場合、VBN 値は大きいながら脂肪分解率は小さかった。酵母 *C. lipolytica* は細菌 *P. fluorescens* に匹敵する腐敗活性を示した。

Teratology Study of Diethylene Glycol Mono-*n*-butyl Ether in Rats

Makoto EMA, Takafumi ITAMI and Hironoshin KAWASAKI: *Drug Chem. Toxicol.*, 11, 97(1988)

Diethylene glycol mono-*n*-butyl ether (DEGMB) のラット次世代に対する影響を検討した。DEGMB 0.04, 0.2 または 1% を含む飼料を妊娠0日から20日まで与えた。それぞれの群の DEGMB の平均摂取量は 25, 115 および 633 mg/kg/day であった。いずれの DEGMB 投与群でも妊娠中の母体重増加は対照群に比べて有意に低かったが、摂餌量低下や一般症状の変化はみられなかった。胚および胎仔死亡率、生存胎仔の数、性比および体重、胎盤重量には、DEGMB 投与群と対照群との間に差はみられなかった。胎仔の外表面、骨格および内臓検査の結果、DEGMB の催奇形性を示す知見は得られなかった。DEGMB 投与ラットから得た仔は、いずれの群とも良好な発育を示した。以上の結果から、DEGMB はラット次世代の出生前および出生後の発育に悪影響をおよぼさないことが示唆された。

Teratology Study of Tween 60 in Rats

Makoto EMA, Takafumi ITAMI, Hironoshin KAWASAKI and Seizaburo KANOH: *Drug Chem. Toxicol.*, 11, 249 (1988)

Tween 60 のラットに対する催奇形性を検討した。Tween 60 0.1, 1.0 または 10% を含む飼料を妊娠7日から14日まで与えた。それぞれの群における Tween 60 摂取量は 99, 960 および 7693 mg/kg/day であった。生存胎仔の数、性比および体重には、各投与群と対照群との間の差はみられなかった。胎仔の外表面、骨格および内臓検査においても催奇形性を示す知見は得られなかった。以上の結果から、Tween 60 はラット次世代の出生前発育に悪影響をおよぼさないことが示

唆された。

Effects of Acute Nicotine on Catecholamine Turnover in Various Rat Brain Regions

Hiro AMANO, Yoshio GOSHIMA*¹, Noriko AKE-MA*¹, Hiroshi UEDA*², Takao KUBO*¹ and Yoshimi MISU*¹: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 12, 18 (1989)

ラット脳内の8部位において、カテコラミン代謝回転におよぼすニコチンの急性効果を検討した。

ニコチン 0.4 mg/kg は、ドパミンβ水酸化酵素阻害剤フサリン酸 80 mg/kg の投与により誘発される中脳のアドレナリン含有量の減少を増強した。

海馬においてニコチン 1 mg/kg はチロシン水酸化酵素阻害剤α-メチルパラチロシン 400 mg/kg によるノルアドレナリン含有量の減少を増強したが、一方同時に誘発されるドパミン含有量の減少は逆に抑制した。

ニコチンは脳の諸部位のカテコラミン代謝回転に対して部位特異的に影響を与えるものと考察される。

*¹ 横浜市立大学医学部

*² 京都大学薬学部

Nicotine-induced Regional Changes in Brain Noradrenaline and Dopamine Turnover in Rats

Takao KUBO, Hiro AMANO, Kiyoyasu KURAHASHI* and Yoshimi MISU*: *J. Pharmacobio-Dyn.*, 12, 107 (1989)

ラット脳内の種々の部位のカテコラミン代謝に対するニコチン投与の影響およびニコチン性受容体遮断薬の併用効果を検討した。

ニコチン 1 mg/kg は、後頭皮質、海馬、線条体、視床下部、視床、中脳、橋/延髄、小脳においてノルアドレナリン代謝物3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルエチレングリコール含有量を増大させ、同時に視床下部、視床、橋/延髄のドパミン代謝物ジヒドロキシフェニル酢酸含有量を増大させた。これらの作用はメカミラミン前処置によって消失したがヘキサメソニウムによっては影響を受けなかった。以上の成績より、全身投与したニコチンは中枢のニコチン性受容体に作用して脳内諸部位のカテコラミン代謝回転を亢進するものと考察される。

* 横浜市立大学医学部

Dolichol Kinase in Rat Sarcoplasmic Reticulum Membrane Preparations

Takafumi ITAMI, Robert L. MUECK* and Roy W. KEENAN*: *Biochim. Biophys. Acta*, 960, 374 (1988)

ラット下腿の骨格筋の筋小胞体に Dolichol kinase (EC 2. 7. 1. 108) が存在することを明らかにした。この酵素はリン酸ドナーとして CTP に特異性があり、ATP, GTP および UTP ではほとんど活性がみられない。二価の金属 Ca^{2+} , Zn^{2+} および Mg^{2+} で同程度に活性化されるが Mn^{2+} では活性化されなかった。 Ca^{2+} の活性化に Calmodulin は影響しなかった。至適 pH は 7~8 であった。骨格筋の Dolichol の含有量は低いことが知られているが、筋小胞体のこの酵素の活性は他の臓器(脳, 肝)の活性に匹敵する高い値を示した。このことは骨格筋にはドリコールのリン酸化や蛋白の糖結合能において十分に高い Capacity があることを示している。

* Department of Biochemistry, The University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas, USA

血中エンドトキシン (エンドトキセミア)

加納晴三郎*, 川崎浩之進, 小川義之, 伊丹孝文:
ファルマシア, 24, 251 (1988)

感染症などの場合、血流中にエンドトキシンが存在する状態をエンドトキミアと呼び、症状として発熱、頻脈、呼吸促進、呼吸性アルカローシス、末梢血管の拡張、尿量増大、血圧低下などを呈し、さらに進行すればショック症状を起こすこともまれではない。このようにエンドトキセミアは、エンドトキシンが血中に出現してさまざまな循環障害を起こす一連の症候群であり、エンドトキシンの検出法としての Limulus test の応用によって確立された概念である。本稿ではエンドトキセミアを理解するために、エンドトキシンの化学、生体作用、エンドトキシンの検出法 (Limulus test) ならびにエンドトキシンにかかわる症候群等について解説的に述べた。

* 和歌山県立医科大学

製造用水に対するリムルス試験の制度化

川崎浩之進: 防菌防微, 17, 221 (1989)

第11改正日本薬局方に、リムルス試験のゲル化法のみがエンドトキシン試験法として新しく追補収載された。各条には注射用水のみが現在記載されている。

この「水」の製造に関して超ろ過法が用いられ製造工程および品質管理にエンドトキシン試験法が用いられることとなった。

本稿では、これまで整備されていなかったリムルス試験を制度化して局方に収載するために、各種の問題点について検討したところを解説したものである。すなわち反応の特異性、反応に対する阻害あるいは促進作用、エンドトキシン標準品の設定およびその力価、対照標準エンドトキシンの力価の検定法、使用器具、エンドトキシン試験用水、LAL 試薬、LAL の力価や試験方法等について述べた。

生薬資源の研究 (第3報) 栽培木香の品質について
米田誠典*, 須磨一夫*, 山形悦子*, 畠山好雄, 熊谷健夫: 生薬誌, 43, 59 (1989)

北海道の栽培木香は日本薬局方の規格に適合し、市場の雲南木香と外部・内部形態、成分ともよく一致するので、生薬として十分応用できるものである。

* 大阪大学

Production of Emetic Alkaloid by *in vitro* Culture of *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard
Daisuke TESHIMA*, Kayo IKEDA, Motoyoshi SATAKE, Toshinobu AOYAMA* and Koichiro SHIMOMURA: *Plant Cell Rep.*, 7, 278 (1988)

トコン (*Cephaelis ipecacuanha*) の茎頂培養により増殖した茎葉の葉切片を、2,4-D, IAA, NAA, Kin 添加 MS 培地に植え付けカルスおよび不定根を誘導した。培養物中のトコンアルカロイド (エメチン, セファエリン) 含量を、HPLC にて定量した。培養根は、エメチン, セファエリンの生産が認められ、とくに、液体培養を行っている不定根では、温室栽培を行っている親植物の根に匹敵する生産量が認められた。一方、カルス中には、ごくわずかな量のアルカロイドが認められただけであった。

* 九州大学医学部付属病院薬剤部

Clonal Propagation of *Cephaelis ipecacuanha*
Kayo IKEDA, Daisuke TESHIMA*, Toshinobu AOYAMA*, Motoyoshi SATAKE and Koichiro SHIMOMURA: *Plant Cell Reports* 7, 288 (1988)

トコン (*Cephaelis ipecacuanha* A. Richard) の茎頂培養を行っている茎葉の節切片を、NAA-BA (0.01~3.5 mg/l) 添加 B5 培地に植え付け約 5 本の茎葉を得た。得られた茎葉は、IAA および NAA 添加 1/2 MS および B5 培地で培養して発根させ、土壌に移植した。再生植物、親植物、培養物中のトコンアルカロイド (エメチン, セファエリン) を TLC および HPLC にて分析した。温室で7ヶ月間栽培した再生

植物は、親植物に匹敵するアルカロイド含量を示した。

* 九州大学医学部付属病院薬剤部

Simultaneous Determination of Emetine and Cephaelin in Ipecac Syrup

Daisuke TESHIMA*, Kayo IKEDA, Koichiro SHIMOMURA and Toshinobu AOYAMA*: *Chem. Pharm. Bull.*, **37**(1), 197 (1989)

トコンシロップの主成分であるエメチン、セファエリンの簡便な同時定量法を開発した。トコンシロップを、蒸留水で希釈し、逆相カラムの HPLC に注入すると、エメチン、セファエリンに相当するピークが認められた。これらのピークを分取し、EI-MS により、エメチン、セファエリンが、分離されていることを確認した。

* 九州大学医学部付属病院薬剤部

植物組織培養——培地の調製法

下村講一郎: 化学と生物, **26**, 386 (1988)

植物組織増長の基本である培地について、Murashige-Skoog 培地を例に培地調製の手順および注意点について述べた。また、植物生長調節物貯蔵液の調製、種々の培地の調製、培地固型化剤および培養器についても合わせて紹介した。

Analusis of Saponins of Wild *Panax Ginseng*

Hiroyuki YAMAGUCHI*¹, Hiromichi MATSURA*², Ryoji KASAI*², Osamu TANAKA*², Motoyoshi SATAKE, Shigeki KATSUKI, Hiroshi KOHDA*², Hiromasa IZUMI*³, Mariko NUNO*⁴, Susumu ISODA*⁵, Junzo SHOJI*⁵, Katsumi GOTO*⁶: *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4177 (1988)

チョウセンニンジンの栽培品と中国および日本の野性状態の植物を成分的な比較をおこなった。ニンジンサポニンの中性および酸性の成分組成を高速液体クロマトグラフィと二次元の薄層クロマトグラフィで比較してみたが栽培と野性には顕著な差は認められなかった。ただニンジンサポニンのギンセノサイド RO が中国の野性のもの(野参)の根茎と毛根に特別に多く含まれていた。

*¹ 湧永薬品中央研究所

*² 広島大学医学部薬学科

*³ 東京薬科大学

*⁴ 帝京大学薬学部

*⁵ 昭和大学薬学部

*⁶ 京都薬科大学

Studies on the Saponins of *Lonicera Japonica* THUNB

Hideaki KAWAI*, Masanori KUROYANAGI*, Kaoru UMEHARA*, Akira UENO*, Motoyoshi SATAKE: *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4769 (1988)
スイカズラ (*Lonicera Japonica*) の地上部から 12 種類のトリテルペンサポニンが単離された。これらの 4 種は新化合物であった。これらのサポニンの中の mono desmides は強い溶血活性が認められたが bis desmoside は弱い活性であった。

* 静岡県立大学

国内のオケラ属 (*Atractylodes* Dc.) 植物について 後藤勝実*¹, 泉 宏昌*², 布万里子*³, 香月茂樹*⁴, 磯田 進*⁵, 神田博史*⁶, 佐竹元吉: 生薬学雑誌, **42**, 51 (1988)

オケラ属植物の根茎は生薬として、白朮および蒼朮として用いられている。古くから蒼朮として用いられてきたホソバオケラが佐渡に残存していた。このホソバオケラ (*Atractylodes lancea*) と在来のおケラ (*Atractylodes japonica*) の国内での分布と両種とその交配種の成分を明らかにした。

*¹ 京都大学附属薬用植物園

*² 東京薬科大学薬用植物園

*³ 帝京大学薬学部附属薬用植物園

*⁴ 北里大学薬学部附属薬用植物園

*⁵ 昭和大学薬用植物園

*⁶ 広島大学医学部附属薬用植物園

枳実の調製と評価に関する研究 (第1報) 乾燥法の成分組成に及ぼす影響

細田勝子, 野口 衛, 薬誌, **108**, 1008 (1988)

生薬枳実の調製法を確立するため、ダイダイ、ナツダイダイ、タノウラ、カラタチ、ハッサク、ウンショウ等 8 種のカンキツ類未熟果実を二分し、天日ならびに 50°C 以下の温風乾燥を行い、両者の品質を比較した。その結果、温風乾燥品は外皮が濃い緑色で匂いが強く、フラボノイド含量も天日乾燥品に比べて高い値を示した。また、このフラボノイドは、肉厚の果皮のうち白色部分に多く存在し、植物ごとに種類、量に、特徴があるため、枳実のフラボノイドの含有量ならびに組成の分析により、原植物の推定が可能になる。

薬のきた道進む道 II

野口 衛: 薬学図書館, **33**, 165 (1988)

古代東西両洋の本草書神農本草経、ギリシャ本草に

収載される動物性生薬を比較し、効能の共通性について考察した。また、中国医学＝傷寒論医学の発展の歴史と現代医学との関連、医学理論としての特長について考察した。

薬のきた道進む道 III

野口 衛：薬学図書館，34，18（1989）

古代中国の本草書“神農本草經”は単味生薬を用いる治療法を示したものであり、また、ほぼ同時代の“傷寒論医学”は生薬配合薬を用いた治療医学書である。この両者の関係について考察し、これら薬物についての現代科学研究＝臨床医学的、薬理学的、薬剤学的研究の致違点について明らかにした。

「薬草栽培と地域活性」シンポに参加して

野口 衛：現代東洋医学，10，116（1989）

和歌山県における薬用植物栽培の進め方を明らかにするため開催された同名テーマのシンポジウムより、行政代表の県薬務課長と県山村産業試験場技術者、製薬会社代表、生薬生産者、県農協代表、学識経験者の5名の話題提供者の報告と会場での討論を記録したものである。

キキョウの栽培と調製に関する研究，I

肥料，水分，土壤温度の成長におよぼす影響

細田勝子，野口 衛：生薬，43，記載予定

リン，チッソ，カリを含む肥料と土壤改良剤の併用

は植物の成長を促進したが、圃場を透明、不透明ビニルシートでマルチングした場合には肥料の効果は表れず、逆に、無肥料区においては、土壤温度、土壤水分が植物体の成長に大きな影響を与えることが明らかとなった。キキョウを直植えすると一年生で十分薬用のものが得られるが、苗を移植すると根は枝分かれし、乾燥根重も直植えの50%程度に減少した。また、白花種と紫花種では、前者のほうが、やや根重は大きくなった。生根はそのままでは非常に乾燥しにくい、高圧水を吹付けて皮を剥いで温風乾燥すると、白色で緻密な製品に仕上げることができた。なお、エキス量、サポニン含量、灰分は、輸入品と試作品で大きな相違は認められなかった。

枳実の調製と評価に関する研究（第2報）

成分含量に影響を及ぼす要因の解析

細田勝子，野口 衛：薬誌，109，560（1989）

カンキツ類未熟果実を二分し放置すると、フラボノイドは少しずつ分解し、温風乾燥により、生試料中の約90%のフラボノイドが保持された。また、枳実を一年放置すると、その中のフラボノイドは約60%に減少した。さらに、同一時期に採取したものでも、果実の直径が大きくなるとフラボノイド含量は小さくなった。フラボノイドのみならず精油成分においても八朔とその他のカンキツ類には大きな相違は認められず、八朔は枳実原料として使用できると判断された。

青柳伸男, 鹿庭なほ子: 生物学的同等性試験の統計解析, p. 51~78, 生物学的同等性試験と溶出試験, p. 79~98, 生物学的同等性試験と動物試験, p. 99~124, 徐放性製剤の評価方法, p. 178~192, 生物学的同等性試験をめぐる一問一答, p. 193~196, 生物学的同等性試験の解析プログラム, p. 197~226, **医薬品のバイオアベイラビリティと生物学的同等性試験**, 緒方宏泰, 鮫島政義編

薬業時報社 (1989)

中原雄二ほか著: 麻薬とは, p. 3~21, **依存性薬物情報シリーズ No. 3**—「あへん」, 依存性薬物情報班編
京文社 (1988)

谷本 剛ほか著: **獣医学大辞典**
チクサン出版社 (1989)

Takao HAYAKAWA: Current regulatory situation in Japan, pp. 152~156, **Biotechnologically Derived Medical Agents: The Scientific Basis of Their Regulation**, Ed. J. L., Gueriguian, V. Fattorusso, D. Poggiolini
Raven Press, New York (1988)

原田正敏, 鈴木英世: 総論, p. 1~5, 「**繁用生薬の成分定量**」, 原田正敏編
廣川書店 (1989)

鈴木英世: 生薬成分定量用標品についての純度検討, p. 381~392, 「**繁用生薬の成分定量**」, 原田正敏編
廣川書店 (1989)

野口 衛, 鈴木英世: マオウ (麻黄) アルカロイドの順相高速液体クロマトグラフィー, p. 337~343, 「**繁用生薬の成分定量**」, 原田正敏編
廣川書店 (1989)

石綿 肇: 食品用プラスチック製品の衛生規格と試験法, p. 29~49, **プラスチック成形材料衛生認定グレード便覧**
合成樹脂工業新聞社 (1989)

三瀬勝利著: 制限酵素, その基礎と医学細菌学への応用, p. 1~38, 「**医学細菌学**」, 4巻, 三輪谷俊夫監修

薬根出版 (1989)

松谷佐知子, 関根靖彦, 大坪久子, 大坪栄一: 細菌染色体上に存在する挿入因子 (IS) の単離とその利用, p. 224~231, 「**核酸シグナル実験マニュアル**」, 柳田充弘, 高浪 満, 大井龍夫編
講談社サイエンティフィック (1989)

一戸正勝: 呼吸器疾患に關与する真菌類の生態, p. 3~16, 「**吸入性抗原——主として喘息の病因として**」, 宮本昭正ら編
メディカルトリビューン (1988)

安藤正典, 松本清司, 會田喜崇, 笹野秀雄*¹, 佐藤親房*², 森 幸夫*³, 矢野 洋*⁴, 木村繁夫*⁵, 野津幹男*⁶, 中岡忠老*⁶: **水道とアスベスト**
社団法人日本水道協会 (1989)

- *¹ 東京都立衛生研究所
- *² 東京都水道局水質センター
- *³ 千葉県水道局
- *⁴ 神戸市水道局
- *⁵ 久留米広域上水道企業団
- *⁶ 日本水道協会

林 祐造, 竹中祐典, 関沢 純, 小島康平* 監訳: p. 254, **食品添加物の安全性評価の原則**
薬事日報社 (1989)

* 麻布大学

池田正之*¹, 及川紀久雄*², 中館正弘, 中塚晴夫*³, 橋本芳一*⁴, 山内文雄*⁵: p. 576, **環境化学物質要覧**
丸善株式会社 (1988)

- *¹ 京都大学
- *² 新潟薬科大学
- *³ 東北大学
- *⁴ 慶応義塾大学
- *⁵ 三菱化成安全科学研究所

降矢 強: 一般毒性試験, p. 40~46, 「**医・歯科用バイオマテリアルの安全性評価法**」, 佐藤温重, 桜井靖久編
サイエンスフォーラム (1987)

降矢 強, 松本清司, 落合敏秋ほか著: 「**実験動物の基礎と技術・1総論**」, 日本実験動物協会編
丸善株式会社 (1988)

堀内茂友, ほか執筆: 実験動物施設における「滅菌消毒作業マニュアル」標準操作手順, 前島・浦野・佐藤・八神編

ソフトサイエンス社 (1988)

John R. BATTISATA, Takehiko NOHMI, Charoline E. DONNELLY and Graham C. WALKER: Cellular functions for UV and chemical mutagenesis in *Escherichia coli*, p. 388~393, **Radiation Research**, Eds, E. M. Fielden, J. F. Fowler, J. H. Hendry and D. Scott, Taylor and Francis Ltd., London (1987)

Takehiko NOHMI, John BATTISTA and Graham C. WALKER: RecA-mediated cleavage activates UmuD for its role in UV and chemical mutagenesis, p. 349~354, **DNA Repair and Mutagenesis**, Eds, R. E. Moses and W. C. Summers, Amer. Soc. Microbiol., Washington, D. C. (1988)

John R. BATTISATA, Takehiko NOHMI, Charoline E. DONNELLY and Graham C. WALKER: Role of UmuD and UmuC in UV and chemical mutagenesis, p. 455~459, **Mechanisms and Consequences of DNA Damage Processing**, Eds, P. C. Hanawalt and E. C. Friedberg, A. R. Liss, Inc., New York (1988)

John R. BATTISTA, Takehiko NOHMI, Charoline E. DONNELLY and Graham C. WALKER: A new dimension to SOS regulation, **Gene Expression and Regulation: The legacy of Luigi Gorini**, Eds, M. Bissell, G. Deho, G. Sironi, A. Torriani, Elsevier Press, Milan (1988)

John R. BATTISTA, Takehiko NOHMI, Charoline E. DONNELLY and Graham C. WALKER: Amino acid similarities to other proteins offer insights into roles of UmuD and UmuC in mutagenesis, **Genome** (1988)

水沢 博: 細胞バンク, p. 300~308, **組織培養の技術**, 日本組織培養学会編 朝倉書店 (1988)

水沢 博: 種同定のためのアイソザイム分析, p. 86~92, **組織培養の技術**, 日本組織培養学会編 朝倉書店 (1988)

T. SOFUNI *et al.*: Cytogenetic Study of the Offspring of Atomic Bomb Survivors, Hiroshima and Nagasaki, p. 166~183, **Cytogenetics**, Eds., G. Obe, A. Basler, Springer-Verlag, Berlin (1987)

Makoto HAYASHI, Toshio SOFUNI and Motoi ISHIDA, Jr.: The Micronucleus Test in Mutagen Sensitive MS/Ae Mice, p. 165~169, **Evaluation of short-term tests for carcinogens, vol. 1**, Eds., J. Ashby *et al.*, Cambridge University Press (1988)

祖父尼俊雄: 染色体異常の生成機構および異常の分類と判定, p. 16~37, **化学物質による染色体異常アトラス**, 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編 朝倉書店 (1988)

林 真: 染色体異常試験のための統計処理法, p. 47~51, **化学物質による染色体異常アトラス**, 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編 朝倉書店 (1988)

石館 基: 変異原性試験法ガイドラインの国内外の動向, p. 52~61, **化学物質による染色体異常アトラス**, 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会編 朝倉書店 (1988)

四方田千佳子: 生体高分子—多糖—, p. 166~187, **生体コロイド研究法**, 嶋林三郎ほか編 広川書店 (1989)

Yoshio ITO Ed.: Daily Intakes of Food Additives in Japan—Determination of Food Additive Residues in Food (1976~1985)—, **Food Chemistry Division Environmental Health Bureau**, Ministry of Health and Welfare Tokyo (1988)

本間尚治郎, 畠山好雄: 「北の薬用植物」, 名寄市教育委員会 市立名寄図書館 (1988)

佐竹元吉編：「けし植物図譜」, p.115, 厚生省薬務局
麻薬課監修
第一法規 (1989)

野口 衛著：マオウアルカロイドの順相高速液体ク
マトグラフィー, p.337~343, 禁用生薬の成分定量,
原田正敏編
広川書店 (1989)

第11改正日本薬局方追補 英文翻訳要綱の作成：神谷庄造

昭和63年4月厚生省薬務局安全課に報告。

日本薬局方外医薬品成分規格 原案作成要綱改訂版の作成：神谷庄造，伊阪 博，網川延隆*¹，坂下 隆*²，矢谷幸三*²

厚生科学研究(昭和61年4月～昭和63年3月)，昭和63年8月厚生省薬務局審査第二課に報告。

*¹ 東京医薬品工業協会・技術委員会

*² 大阪医薬品協会・技術研究委員会

日本薬局方外医薬品成分規格 構造式表示要綱の作成：神谷庄造，網川延孝*¹，矢谷幸三*²

厚生科学研究(昭和62年4月～昭和63年3月)，昭和63年8月厚生省薬務局審査第二課に報告。

*¹ 東京医薬品工業協会・技術委員会

*² 大阪医薬品協会・技術研究委員会

日本薬局方外医薬品成分規格1989の作成：神谷庄造，伊阪 博，田中 彰，武田 寧，原田正敏，戸部満寿夫，石館 基，網川延孝*¹，矢谷幸三*²

厚生科学研究費(昭和62年4月～昭和63年3月)，昭和63年8月厚生省薬務局審査第二課に報告。

*¹ 東京医薬品工業協会・技術委員会

*² 大阪医薬品協会・技術研究委員会

局方製剤の品質規格設定に関する研究—市販製剤の溶出試験による実態調査：青柳伸男，鹿庭なほ子，香取典子，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63年3月～平成元年3月)，平成元年4月厚生省薬務局安全課に報告。

熱帯治療薬の開発研究：武田 寧，石橋無味雄，松田りえ子

厚生科学研究(昭和63年4月～)，平成元年3月10日研究班長に報告。

塩酸クロルプロマジン，ペルフェナジンまたは塩酸ペルフェナジン含有製剤の迅速分析法：松田えり子，石橋無味雄，武田 寧

医薬品迅速分析法等作成(昭和63年4月～平成元年3月)，昭和63年10月厚生省薬務局監視指導課に報告。

乱用薬物鑑定法整備研究—毛髪中のモルヒネの分析：中原雄二，鳥峯望彦，高橋一徳，武田 寧

乱用薬物鑑定法整備研究(昭和63年7月～平成元年3月)，平成元年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

フェネチルアミン類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63年9月～平成元年3月)，平成元年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，石上暁子

厚生科学研究(昭和63年9月～平成元年3月)，平成元年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

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*¹，朝長文弥*²，鈴木徳治*³，網川延孝*⁴，矢谷幸三*⁵

厚生科学研究(昭和62年4月～昭和63年3月)，昭和63年5月厚生省薬務局安全課に報告。

*¹ 日本薬剤師会

*² 北里大学病院・薬剤部

*³ 千葉大学薬学部

*⁴ 東京医薬品工業協会

*⁵ 大阪医薬品協会

体外診断用医薬品の標準化に関する調査研究：田中彰

厚生科学研究(昭和63年1月～昭和63年3月)，昭和63年5月厚生省薬務局審査第二課に報告。

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：大沢利昭*¹，笠原 忠*²，豊島

聡*¹，高橋道人，田中 悟，松本清司，早川堯夫
厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省薬務局審査第一課に報告。

*¹ 東京大学薬学部

*² 自治医科大学

医薬品生産に用いられる動物細胞に関する基礎的研究：豊島 聡*¹，大沢利昭*¹，小池克郎*²，早川堯夫，松橋 直*³，山内一也*⁴，山崎修道*⁵，吉池邦夫*⁵，吉田光昭*²

厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元

年3月厚生省薬務局審査第一課に報告。

- *1 東京大学薬学部
- *2 癌研究会癌研究所
- *3 虎の門病院沖中記念成人病研究所
- *4 東京大学医科学研究所
- *5 国立予防衛生研究所

組換え DNA 医薬品の開発手法に関する研究：野島庄七*1, 赤松 稔*2, 小池克郎*3, 杉浦 昭*2, 寺尾允男, 早川堯夫, 松橋 直*4

厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省薬務局審査第一課に報告。

- *1 帝京大学薬学部
- *2 国立予防衛生研究所
- *3 癌研究会癌研究所
- *4 虎の門病院沖中記念成人病研究所

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および品質確保に関する研究(医薬品開発研究用試薬等研究班)：沢田純一

厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省薬務局経済課に報告。

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*1, 岡田 稔*2, 鈴木堯*3, 西川洋一*4, 藤田正雄*5, 永井吉澄*6

厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省薬務局審査第二課に報告。

- *1 東京薬科大学
- *2 (株)津村順天堂
- *3 建林松鶴堂(株)
- *4 東京医薬専門学校
- *5 (株)ウチダ和漢薬
- *6 三国(株)

一般用医薬品の評価方法に関する研究：名尾良憲*1, 伊藤宗元*2, 佐谷圭一*3, 戸部満寿夫, 原田正敏
厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省薬務局審査第二課に報告。

- *1 東京都社会保険支払基金
- *2 慶応健康相談センター
- *3 アスカ薬局

医薬品等に用いられるフロンの代替品に関する研究：中村晃忠, 鹿庭正昭, 青柳伸男, 金子豊蔵
厚生科学研究費補助金(昭和63年度), 平成元年3月厚生省薬務局審査第二課に報告。

医療用具および医用材料の毒性試験体系の確立に関する研究：戸部満寿夫, 中村晃忠, 中林宣男*1, 大塚塚磨*2, バイオマテリアル学会標準化委員会
厚生科学研究費補助金(昭和63～平成2年度), 平成元年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 日本医療用プラチック協会

血液製剤の将来需給体系のあり方に関する研究(供用者用膜執血漿分離器の品質, 性能ならびに臨床の評価に関するガイドライン)：清水 勝*1, 秋沢忠男*2, 阿岸鉄三*1, 伊藤和彦*3, 井上 昇*4, 風間睦美*5, 関口定美*6, 竹村周平*7, 田村 真*8, 伴野丞計*9, 中村晃忠, 山崎善弥*10

厚生科学研究費補助金(昭和63年度), 平本元年3月厚生省生物製剤課に報告。

- *1 東京女子医科大学
- *2 昭和大学
- *3 京都大学
- *4 社会保険中央病院
- *5 帝京大学
- *6 北海道赤十字血液センター
- *7 京都府立医科大学
- *8 東北大学
- *9 日本赤十字社
- *10 東京大学

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：佐藤温重*1, 石川達也*2, 中村晃忠, 小嶋茂雄, 新谷英晴, 田口国雄*3
厚生科学研究費補助金(昭和61～63年度), 平成元年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

DC ブランド黄色セーターによる接触皮膚炎の原因物質に関する研究：小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 中村晃忠, 佐藤道夫, 門馬純子, 中路幸男, 黒川雄二
家庭用品等試験検査費(昭和62年6月～昭和63年10月), 昭和63年10月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

P-tert-butylphenol formaldehyde resin の分析法：鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄
家庭用品等試験検査費(昭和62年4月～昭和63年3月), 昭和63年7月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室へ

報告.

家庭用有機溶剤中のベンゼンの分析法：五十嵐良明，鹿庭正昭，小嶋茂雄
家庭用品等試験検査費(昭和62年4月～昭和63年3月)，昭和63年9月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室へ報告。

Butylated hydroxytoluene (BHT) の催奇形性に関する *in vitro* 試験について：土屋利江，中村晃忠，高橋 淳
食品等試験検査費(昭和63年9月～平成元年5月)，平成元年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

国設自動車排出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，浅田 誠，武田明治
調査報告(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年7月環境庁大気保全局自動車公害課に報告。

化粧品等に使用する色素の規格整備に関する研究：武田明治，木嶋敬二
厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年4月厚生省薬務局審査第二課に報告。

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：木嶋敬二，齊藤恵美子，武田明治
厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年4月厚生省薬務局審査第二課に報告。

水中のエチレンジプロマイドの試験方法：武田明治，安藤正典，関田寛，神野透人
食品等試験検査費(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

水中のアクリロニトリルの試験方法：武田明治，安藤正典，関田寛，神野透人
食品等試験検査費(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

水道用塗膜防止材の安全性に関する研究：武田明治，安藤正典，関田 寛，神野透人
食品等試験検査費(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課

に報告。

水道用資機材の安全評価システムに関する研究：武田明治，安藤正典，関田 寛，神野透人
厚生省科学研究費(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

給水，配管における衛生学的安全性の評価に関する研究：武田明治，安藤正典，関田 寛，神野透人
厚生省科学研究費(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省生活衛生局企画課に報告。

カプタフォールの残留分析法：宮原 誠，鈴木 隆，齊藤行生
食品等試験検査費(昭和63年12月～平成元年2月)，平成元年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品中に残留する構系農薬の分析法の設定：鈴木 隆，宮原誠，齊藤行生
食品等試験検査費(昭和63年1月～3月)，昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

昭和62年度輸入農産物の残留農薬実態調査：鈴木 隆，宮原 誠，齊藤行生
食品等試験検査費(昭和63年1月～3月)，昭和63年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

電解質飲料(新形態食品)中の金属分析：米谷民雄，内山貞夫，齊藤行生
食品等試験検査費(昭和62年4月～62年12月)，昭和62年12月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

健康食品中のゲルマニウムの分析試験：米谷民雄，内山貞夫，齊藤行生
行政対策費(昭和62年12月～63年1月)，昭和63年1月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

輸入食品の安全確保に関する調査研究：岩島 清，大久保 隆*，亀谷勝昭，米谷民雄，齊藤行生
食品等試験検査費(昭和63年10月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

* 国立公衆衛生院

寒天中のホウ素化合物分析試験：米谷民雄，内山貞夫，齊藤行生

食品等試験検査費(昭和63年11月～平成元年3月), 平成元年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

寒天中のホウ素の吸収排泄実験: 米谷民雄, 内山貞夫, 齊藤行生, 鈴木幸子, 小川幸男, 鎌田栄一, 金子豊蔵, 黒川雄二

食品等試験検査費(昭和63年11月～平成元年3月), 平成元年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

カード食品(新形態食品)中の有害金属分析: 米谷民雄, 内山貞夫, 齊藤行生

食品等試験検査費(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

市販健康食品中のゲルマニウムの分析: 米谷民雄, 内山貞夫, 齊藤行生

行政対策費(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

ブドウ果汁中のシアンの定量法: 内山貞夫, 河村葉子, 窪木諤子*, 齊藤行生

食品等試験検査費(平成元年3月), 平成元年3月31日厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

* 日本食品衛生協食品衛生研究所

食品添加物の有用性等に関する調査—亜硫酸塩の有効性等について: 義平邦利, 山本 都

厚生科学研究(昭和63年10月～平成元年3月), 平成元年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およ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*

食品添加物安全性評価費(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

* 国立公衆衛生院

天然添加物の分析法等に関する調査, 研究: 川崎洋子, 合田幸広, 義平邦利

厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年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: 川崎洋子, 黒柳正典*, 義平邦利

厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年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

タール色素およ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*2, 植松洋子*2, 栗飯原景昭*2, 福原克治*2, 宮崎典子*2

食品等試験検査費(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年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

食品添加物分析法の改良: 義平邦利, 神蔵美枝子, 風間成孔*1, 広門雅子*1, 植松洋子*1

*1 東京都立衛生研究所

食品化学物質の国際規格化に対応するための調査—安定化二酸化塩素の本体究明と分析法の確立(亜塩素酸ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウムの分別定量法の検討): 義平邦利, 神蔵美枝子, 武田由比子, 川崎洋子, 合田幸広

厚生省委託研究(昭和63年8月～平成元年3月), 平成元年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 壮, 合田幸広, 佐藤恭子, 小池紀子

食品等試験検査費(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年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: 義平邦利, 合田幸広, 山崎 壮, 山田 隆

食品等試験検査費(昭和63年4月～63年10月), 平成元年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

学校給食用メラミン樹脂製食器からのメラミン溶出とF/M比: 義平邦利, 石綿 肇, 井上たき子

食品添加物安全性再評価等試験検査費(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

金属製調理用器具からの金属の溶出等について: 石綿肇, 井上たき子, 義平邦利

食品等規格設定費(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

紙製品具の衛生確保に関する研究：石綿 肇，井上たき子，風間成孔*¹，馬場二夫*²，辰濃 隆*³
厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

*¹ 東京都立衛生研究所

*² 大阪市立環境科学研究所

*³ 日本食品衛生協会食品衛生研究所

グリチルリチン酸のナトリウム塩，アンモニウム塩および甘草抽出エキスの試験法等について：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，合田幸広，佐藤恭子
食品添加物規格基準設定費(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3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，和田正道*⁵，丹野憲二*⁶
厚生科学研究(昭和62年～平成元年3月)，平成元年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 長野県衛生公害研究所

*⁶ 日本食品分析センター

食品の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年度～平成元年3月)，平成元年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

食鳥の微生物制御に関する調査研究：勝部泰治*¹，小沼博隆，石月要平*²，伊藤隆夫*³，小久保弥太郎*⁴，品川邦汎*⁵，徳丸雅一*⁶，仁科徳啓*⁷，渡邊昭宜*⁸
厚生科学研究(昭和63年～平成元年3月)，平成元年4月厚生省生活衛生局肉肉衛生課に報告。

*¹ 日本大学農獣医学部

*² 新潟県衛生公害研究所

*³ 岩手県衛生研究所

*⁴ 東京都衛生研究所

*⁵ 岩手大学農学部

*⁶ 埼玉県衛生研究所

*⁷ 静岡県衛生環境センター

*⁸ 国際学院短期大学

昭和62年度地域し尿適正処理調査報告書，糖尿病および高血圧症に関する調査：嶺岸鎌一郎
厚生省委託研究費(昭和63年2月～63年4月)，昭和63年5月生活衛生局水道環境部環境整備課浄化槽対策室に報告。

ブチル・ベンジル・フタル酸の代謝試験報告(文献調査)：嶺岸鎌一郎，高橋昭江，最上知子，高橋 惇
家庭用品等試験検査費(昭和62年9月～平成元年3月)，平成元年4月生活衛生局家庭用品安全対策室に報告。

ブチル・ベンジル・フタル酸の代謝試験報告(その一)：嶺岸鎌一郎，高橋昭江，最上知子，高橋 惇
家庭用品等試験検査費(昭和62年9月～平成元年3月)，平成元年4月生活衛生局家庭用品安全対策室に報告。

ケルセンの生体内動態に関する実験データをファルマコキネティクスモデルを用いて解析する方法の開発研究：奥平和穂，高橋 惇
既存化学物質委託費(昭和63年3月～平成元年4月)，平成元年4月生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

ビストリブチルスズオキシド(TBTO)の代謝試験に関する報告書：高橋 惇
既存化学物質委託費(昭和63年8月～平成元年4月)，平成元年4月生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

ブチルヒドロキシアニソール(BHA)とその代謝物の安全性に関する生化学的研究：森本和滋，高橋 惇
食品等試験検査費(昭和62年9月～平成元年5月)，平成元年5月生活衛生局食品化学課に報告。

ブチルヒドロキシトルエン(BHT)の催奇形性に関する *in vitro* 試験について：土屋利江，中村晃忠，高橋 惇
食品等試験検査費(昭和63年9月～平成元年5月)，平成元年5月生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物のアレルギー性に関する調査研究：竹中祐典，関沢 純，内山貞夫，高橋昭江，山本 都，松本清司，紅林秀雄，大沢利昭*
厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年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

実験動物の吸入(経気道)による思性毒性試験法に関

する研究：西村正雄*1, 戸部満寿夫, 関沢 純, 香川順*2, 加藤正信*3, 八十川欣勇*4, 高久 悟*1

厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省薬務局安全課に報告。

*1 東京歯科大学

*2 東京女子医科大学

*3 三菱化成工業

*4 日本海事検定協会

リスクアセスメントに必要な情報の収集方法の確立と情報の収集・管理：竹内祐典, 中館正弘, 會田喜崇, 加納直子

厚生科学研究(昭和63年9月～平成元年4月), 平成元年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

乱用薬物鑑定法整備に関する研究：関田清司, 堀野光, 落合敏秋, 松本清司, 川崎 靖, 降矢 強, 黒川雄二

厚生科学研究(昭和63年6月～平成元年1月), 平成元年3月厚生省薬務局麻薬課に報告。

タール色素の毒性に関する研究(1)赤色262号および青色1号のマウスでの経皮毒性について(2)赤色226号および青色1号のウサギに対する経皮一次刺激性について：堀内茂友, 児玉幸夫, 戸部満寿夫
厚生科学研究(昭和63年11月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省薬務局審査二課に報告。

照射グレープフルーツの安全性に関する研究—マウスによる慢性毒性試験—：落合敏秋, 堀野 光, 松本清司, 関田清司, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫
国立機関原子力試験研究(昭和63年4月～平成元年3月), 昭和63年9月科学技術庁原子力局技術振興課に報告。

γ線照射した柑橘類等の毒性に関する研究(その3)—ラットによる慢性毒性試験—：川崎 靖, 関田清司, 松本清司, 落合敏秋, 堀野 光, 安原加寿雄, 佐井君江, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫
国立機関原子力試験研究(昭和63年4月～平成元年3月), 昭和63年9月科学技術庁原子力局技術振興課に報告。

農薬中毒の解毒剤に関する研究：松本清司, 降矢 強, 戸部満寿夫

厚生科学特別研究(昭和63年4月～昭和63年7月),

昭和63年7月厚生省に報告。

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

既存化学物質の毒性の調査試験(昭和63年4月～昭和63年5月), 昭和63年6月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

健康食品の安全性に関する研究：落合敏秋, 堀野 光, 松本清司, 関田清司, 川崎 靖, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫

食品等試験検査費(昭和62年7月～平成元年3月), 昭和63年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

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：長谷川隆一, 川崎 靖, 内藤克司, 門馬純子, 齊藤 実, 中路幸男, 黒川雄二

国立機関公害防止等試験研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

トリス(2-クロロエチル)ホスフェイトの雌マウスにおける経皮発癌性ならびに慢性毒性に関する研究：吉本濱子, 安原加寿雄, 門馬純子, 高田幸一, 齊藤 実, 黒川雄二, 戸部満寿夫
家庭用品等試験検査(昭和57年10月～昭和63年6月), 昭和63年9月厚生省生活衛生局企画課に報告。

p-sec-Butylphenolの毒性に関する研究—ラットによる慢性毒性試験—：川崎 靖, 関田清司, 松本清司, 落合敏秋, 中路幸男, 内田雄幸, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫
既存化学物質の毒性の調査試験(昭和63年4月～昭和63年6月), 昭和63年6月厚生省生活衛生局企画課に報告。

変異原性を持たない物質による動物発癌とその評価：高木篤也, 梅村隆志, 佐井君江, 長谷川隆一, 金子豊蔵, 黒川雄二

厚生省がん特別研究(昭和63年4月～平成元年3月), 平成元年4月国立がんセンター企画室に報告。

2-(4-morpholiniothio) benzothiazole の毒性に関する研究：鎌田栄一, 金子豊蔵, 鈴木幸子, 池田康和,

安原加寿雄，戸部満寿夫，黒川雄二
既存化学物質の毒性の調査試験（昭和58年11月～昭和63年12月），昭和63年12月厚生省生活衛生局企画課に報告。

注射剤の局所障害性に関する研究：落合敏秋，堀野光，松本清司，関田清司，川崎 靖，降矢 強，黒川雄二，戸部満寿夫
厚生科学研究（昭和63年4月～昭和63年12月），昭和63年12月厚生省薬務局安全課に報告。

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研究・毒性評価研究班：松本清司
厚生科学研究（昭和63年4月～平成元年3月），平成元年3月厚生省薬務局審査一課に報告。

実験動物の吸入による急性毒性試験に関する研究：鎌田栄一，黒川雄二，金子豊蔵，鈴木幸子，小川幸男
厚生科学研究（昭和63年9月～平成元年1月），平成元年4月厚生省薬務局安全課に報告。

食品（寒天）の規格試験法に関する検討・寒天中のホウ素の吸排泄実験（食品部と共同）：鈴木幸子，小川幸男，鎌田栄一，金子豊蔵，米谷民雄（食品部）
厚生科学研究（昭和63年5月～平成元年3月），平成元年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

リスクアセスメント手法等の改善と確立に関する研究：小川幸男，金子豊蔵，鈴木幸子，鎌田栄一，黒川雄二
厚生科学研究（昭和63年9月～平成元年3月），平成元年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

ジペンテンダイマーの急性毒性試験に関する研究：小川幸男，金子豊蔵，鈴木幸子，鎌田栄一，斉藤 実，戸部満寿夫，黒川雄二
既存化学物質の毒性の調査試験（平成元年2月～平成元年3月），平成元年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

医薬品等に用いられるフロンの代替品に関する研究—代替フロンの毒性問題—：金子豊蔵
厚生科学研究（平成元年1月～平成元年3月），平成元年4月厚生省薬務局審査二課に報告。

2,2'-Methylenebis (4-methyl-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，中浦慎介，高仲 正
家庭用品等試験検査費（昭和62年9月～63年10月），平成元年5月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

注射剤の局所障害性に関する研究，筋肉組織傷害性試験法（血清クレアチンホスホキナーゼ活性測定法）：中浦慎介，田中 悟，川島邦夫，高仲 正
厚生科学研究（昭和63年5月～平成元年3月），平成元年4月厚生省薬務局安全課に報告。

医薬品の基礎研究分野における研究交流の在り方についての研究：大野泰雄，高仲 正
厚生科学研究（昭和63年3月～平成元年3月），平成元年4月厚生省薬務局経済課医薬品先端技術振興室に報告。

リスクアセスメント手法等の改善と確立等に関する研究（薬理・生化学的 *in vitro* 試験法のリスクアセスメントへの応用に関する研究）：大野泰雄，井上和秀，高仲 正
厚生科学研究（昭和63年4月～平成元年3月），平成元年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

医療用具および医用材料の毒性試験体系の確立に関する研究：高橋道人，古川文夫
厚生科学研究（昭和63年4月～平成元年3月），平成元年3月厚生省薬務局審査第二課に報告。

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：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63年10月～平成元年3月），平成元年6月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

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—（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，能美健彦，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63年10月～平成元年3月），平成元年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，能美健彦，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(63年5月～63年9月)，平成元年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，能美健彦，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(63年4月～63年7月)，平成元年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(63年6月～63年12月)，平成元年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，能美健彦，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(63年6月～63年9月)，平成元年5月厚生省薬務局審査2課に報告。

細胞の収集，品質管理，供給などの運営：水沢 博，川瀬雅子，佐々木澄志，石館 基
がん研究受託研究(63年4月～平成元年3月)，平成元年3月がん研究振興財団に報告。

培養細胞株ニュースレター発行：水沢 博，石館 基
がん研究受託研究(63年4月～平成元年3月)，63年9月(No. 8)，平成元年1月(No. 9)，平成元年3月(No. 10) 研究機関に配布。

局方製剤の品質規格の設定に関する研究：小室徹雄，四方田千佳子
厚生科学研究(昭和63年4月～平成元年3月)，平成元年3月厚生省薬務局安全課に報告。

残留農薬の多成分分析法の確立「エディフェンホス，

トリクロロホン，ジスルホトンおよびホルモチオンの一斉分析法」：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63年9月～平成元年4月)，平成元年4月厚生省生活衛生局食品科学課に報告。

残留農薬の多成分分析法の確立「8種殺ダニ剤の一斉分析法」：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63年11月～平成元年5月)，平成元年6月厚生省生活衛生局食品化学課に報告(予定)。

食品由来成分の含有量実態調査研究「食品中の硝酸および亜硝酸の含有量実態調査について」：辻 澄子，柴田 正，伊藤誉志男

食品等試験検査費(昭和63年9月～平成元年4月)，平成元年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

輸入食品の安全確保に関する調査研究「韓国産即席麺中のポリソルベートの分析法の作製，イギリス産ビスケット中のカロチノイド系色素の分析，アメリカ産ワインクーラー中の保存料の分析」：長谷川ゆかり，中村優美子，外海泰秀，伊藤誉志男
厚生科学研究費(昭和62年1月～昭和63年8月)，平成元年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「生鮮魚類ならびに野菜に対する亜塩素酸ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウムの品質保持作用」：長谷川ゆかり，中村優美子，外海泰秀，伊藤誉志男

食品等試験検査費(昭和63年5月～昭和63年10月)，平成元年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

日本人の食品添加物の1人1日摂取量実態調査研究「B群物質の加工食品中での1人1日摂取量実態調査研究」：辻 澄子，柴田 正，伊藤誉志男

食品等試験検査費(昭和63年6月～昭和63年10月)，平成元年6月厚生省生活衛生局食品化学課に報告(予定)。

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「各種食用タール色素の硫酸塩試験法の検討」：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63年5月～平成元年2月)，平成元年6月厚生省生活衛生局食品化学課に報告(予定)。

天然添加物の分析手法などに関する研究「液体開品中のリゾチームの蛍光分光検出器付 HPLC を用いた分析法の開発」：柴田 正，辻 澄子，伊藤誉志男
厚生科学研究費（昭和 63 年 8 月～平成元年 3 月），平成元年 3 月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

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，石館基，古谷 力*¹，田端 守*²
厚生科学研究補助金総括研究費（昭和63年 4 月～平成元年 3 月），平成元年 3 月厚生省薬務局第二課に報告。

*¹ 北里大学

*² 京都大学

神谷庄造, 宮原 誠, 宮田直樹, 山口健太郎*: 1-Aryl-1-nitroso-3 (2-pyridylmethyl) urea の 2-Aryl-5-(2-pyridyl)-2,4-dihydro-1,2,4-triazol-3-one への閉環反応

日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

* 昭和大学

末吉祥子, 丹野雅幸, 神谷庄造: N-アリアル-N-ニトロ尿素類の分解 C-ニトロ体の生成について

日本薬学会第109年会 (1989.4.4)

丹野雅幸, 末吉祥子, 神谷庄造: 非酸性下におけるN-アリアル-N-ニトロ尿素類のトランスニトロ化

日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

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 (2)

日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

福原 潔, 宮田直樹, 神谷庄造: ニトロアレーンの化学: ニトロピレンキノンおよびニトロベンツ(a)ピレンキノンの合成

日本薬学会第109年会 (1989.4.4)

宮田直樹, 宮原 誠, 神谷庄造: ベンゾキノン誘射体の酸化還元特性: RS 置換基のおよぼす影響について

日本薬学会第109年会 (1989.4.4)

青柳伸男: 徐放性製剤の設計および評価に関するガイドラインについて

第13回製剤セミナー (1988.7.23)

青柳伸男, 鹿庭なほ子, 香取典子, 武田 寧: 局方医薬品製剤の品質規格設定に関する研究—市販製剤の溶出試験による実態調査

第25回全国衛生化学技術協議会 (1988.9.22)

香取典子, 奥平和穂, 青柳伸男, 武田 寧, 小川典之*, 浜田哲雄*: 市販マレイン酸クロルフェニラミン徐放錠の放出速度とバイオアベイラビリティ

日本薬学会第109年会 (1989.4.4)

* 興和(株)

鹿庭なほ子, 青柳伸男, 武田 寧, 緒方 宏泰* NONMEM による生物学的同等性評価の pharmacokinetic model 依存性

日本薬学会第109年会 (1989.4.4)

* 明治薬科大学

吉岡澄江, 阿曾幸男, 武田 寧: 非等温法による安定性予測の利点および限界

第7回製剤の開発と評価シンポジウム (1988.9)

吉岡澄江, 岩本和夫, 武田 寧: 生分解性高分子の分解性評価法としての GPC-LALLS システムについて

日本薬剤学会第4年会 (1988.9)

伊豆津健一, 吉岡澄江, 武田 寧: 酵素製剤の安定性の DSC による検討

日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

吉岡澄江, 伊豆津健一, 阿曾幸男, 世古義則, 谷本剛, 武田 寧: タンパク質変性の速度論と酵素製剤の安定性

日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 武田 寧: 光学活性な医薬品の分解性におよぼすシクロデキストリン, ホスファチジルコリン等の影響

日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

岸田晶夫, 伊豆津健一, 吉岡澄江, 武田 寧, 内山充: 逆相ミセルを用いたポリ乳酸マイクロスフェアへのタンパク質の包含

日本薬学会第109年会 (1989.4.6)

石橋無味雄, 松田りえ子, 武田 寧, 川村元一, 田中竜夫*: 有機塩基のハロゲン化水素酸塩の非水滴定

日本薬学会第108年会 (1988.4.5)

* 昭和薬大

石橋無味雄, 松田りえ子, 武田 寧: 硝酸ビスマスを用いる非水滴定法の検討

第25回全国衛生化学協議会年会 (1988.9.22)

林 譲, 阿曾幸男, 吉岡澄江, 武田 寧, 喜多康浩*, 西村善文*, 荒田洋治*: エトポシドの加水分解とコン

フォメーション

日本薬学会第108年会 (1988. 4. 5)

* 東京大学薬学部

松田えり子, 石橋無味雄, 武田 寧: ラボラトリー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108年会 (1988. 4. 4)

林 譲, 松田りえ子: クロマトグラフィーの情報量 I. 相互情報量を表す関数 FUMI の導出

日本分析化学会第37年会 (1988. 10. 2)

松田りえ子, 林 譲, 石橋無味雄, 武田 寧: クロマトグラフィーの情報量 II. HPLC の最適化への FUMI の応用

日本分析化学会第37年会 (1988. 10. 2)

林 譲, 松田りえ子: 液体クロマトグラフィーの情報理論 I. 情報測度 FUMI を用いた最適化理論

第32回液体クロマトグラフ研究会 (1989. 1. 25)

松田りえ子, 林 譲, 石橋無味雄, 武田 寧: 液体クロマトグラフィーの情報理論 II. FUMI を用いた移動相条件の最適化

第32回液体クロマトグラフ研究会 (1989. 1. 25)

中原雄二, 石上暁子: クラック吸煙によるコカインの吸引効果と分解物の生成について

日本法中毒学会第7年会 (1988. 6. 10)

Y. NAKAHARA, A. ISHIGAMI, Y. TAKEDA, β -Naphthoquinone Sulfonate as Electrochemical Labeling Reagent for High Sensitive HPLC Analysis of Amphetamine-Like Drugs in Biological Fluids.

17th International Symposium on Chromatography, Wien, Austria (1988, 9. 25).

島峯望彦, 高橋一徳, 中原雄二, 武田 寧: 薬物使用歴推定のための毛髪分析 I. 覚醒剤乱用者の毛髪中の薬物濃度分布と乱用歴の関係

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

高橋一徳, 島峯望彦, 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トータルモルヒネの定量

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

宇田泰三*, 伊藤幸勝*, 宇佐川 崇*, 西村 *実, 中原雄二*: モルヒネのモノクロナール ELISA 法の開発と血中モルヒネのドラッグモニタリング

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 4)

* 宇野興産

中原雄二, 島峯望彦, 武田 寧: 毛髪中のモルヒネおよびその代謝物の HPLC による定量

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 4)

関根 均*, 中原雄二: BNQ ラベル化法による唾液中の覚せい剤メタンフェタミンおよびその代謝物の HPLC 分析

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

* 埼玉県科学捜査研究所

T. NAKAYAMA*, T. TANIMOTO and P. F. KADOR*: Purification and properties of human red cell aldose and aldehyde reductase

4th International Workshop on Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism, Gifu (1988. 7. 6)

* National Institutes of Health

川崎ナナ, 谷本 剛, 田中 彰: 塩化リゾチームの定量試験法の改良について

第25回全国衛生化学技術協議会年会 (1988. 9. 22)

赤木好男*, 照林宏文*, 岡本庄之助*, 高橋幸男*, 辻俊明*, 松本康宏*, 伴 由利子*, 川崎ナナ, 谷本 剛: ラットガラクトース白内障の発症・進展について

第54回日本中部眼科学会 (1998. 12. 3)

* 京都府立医科大学

辻 俊明*, 高橋幸男*, 松本康宏*, 横井則彦*, 照林宏文*, 赤木好男*, 糸井素一*, 川崎ナナ, 谷本 剛: 新しいアルドース還元酵素阻害剤 (FE-74366) の効果

1. ラットガラクトース白内障予防効果

第54回日本中部眼科学会 (1988. 12. 3)

* 京都府立医科大学

赤木好男*, 辻 俊明*, 高橋幸男*, 松本康宏*, 照林宏文*, 伴 由利子*, 川崎ナナ, 谷本 剛: ガラクト

一ス血症による先天性白内障

第54回日本中部眼科学会(1988.12.3)

* 京都府立医科大学

赤木好男*, 照林宏文*, 池部均*, 辻俊明*, 松本康宏*, 伴由利子*, 川崎ナナ, 谷本剛: ラットガラクトース白内障の発症・進展について

第15回白内障研究会(1989.1.20)

* 京都府立医科大学

Akira TANAKA: On the supplement to the Pharmacopoeia of Japan (JP XI)

The 12th Asian Congress of Pharmaceutical Sciences, Bali, Indonesia (1988.9.15)

上田正山*, 町田豊平*, 田中彰, 大石幸彦*, 倉内洋文*, 木戸晃*: 新しい腎スキャン剤 ^{99m}Tc-DMP の基礎的検討

第31回日本腎臓学会総会(1988.10.13)

* 東京慈恵会医科大学

大石幸彦*, 町田豊平*, 上田正山*, 木戸晃*, 吉越富久夫*, 望月篤*, 田中彰*: 腎不全患者に対する腎シンチグラフィ—新しい腎スキャン剤 Dimer-captopropionic acid の評価—

第31回日本腎臓学会総会(1988.10.14)

* 東京慈恵会医科大学

福岡正道, 周玉, 谷本剛, 田中彰, 池本庸*, 町田豊平*: 精巢障害に関する研究 その2, Dibutyl phthalate (DBP) によるラット睾丸萎縮について

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

* 東京慈恵会医科大学

田中彰, 福岡正道, 御厨祐治*, 池本庸*, 町田豊平*: 精巢障害に関する研究 その3, Butylbenzyl phthalate (BBP) によるラット精巢障害について

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

* 東京慈恵会医科大学

川崎ナナ, 谷本剛, 田中彰: ラット精巢アルドース還元酵素およびアルデヒド還元酵素の精製とその性状

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

谷本剛, 川崎ナナ, 田中彰, 赤木好男*: ラットに

おけるガラクトース白内障の発症・進展に伴うアルドース還元酵素活性およびポリオール蓄積量の変動

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

* 京都府立医科大学

太田美矢子, 周玉, 谷本剛, 田中彰: ラット腎臓のアルドース還元酵素およびアルデヒド還元酵素の精製とその性質

日本薬学会第109年会(1989.4.6)

T. HAYAKAWA: Current regulatory situation in Japan with respect to the quality control of therapeutic peptides and proteins

Banbury Center (Cold Spring Harbor Laboratory) Symposium on Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Delivery, Targeting (1988.11.24)

早川亮夫: バイオテクノロジー医薬品の非臨床試験におけるポイント

第9回日本臨床薬理学会(1988.11.11)

内田恵美子, 早川亮夫, 田中彰, 森川実*¹, 西川諭*², 西田好孝*², 上杉晴一*², 上村春樹*³, 池原森男*⁴: 成長ホルモン受容体によるホルモンの構造認識と活性発現

第61回日本生化学会(1988.10.4)

*¹ 東京免疫薬理研究所*² 大阪大学薬学部*³ 長崎大学熱帯医学研究所*⁴ 蛋白質工学研究所森川実*¹, 杉本整治*², 内田恵理子, 横尾義春*², 早川亮夫, 西川諭*³, 上村春樹*³, 西田好孝*³, 上杉晴一*³, 池原森男*⁴: 脂肪細胞分化因子としての成長ホルモンの構造と活性発現

第39回タンパク質構造討論会(1988.10.8)

*¹ 東京免疫薬理研究所*² 協和発酵工業東京研究所*³ 大阪大学薬学部*⁴ 蛋白質工学研究所山口照英, 早川亮夫, 飯塚久雄*¹, 山現行男*²: 好中球 cytochrome b₅₅₈ の諸性質について

日本生化学会大会(1988.10.4)

*¹ 埼玉日赤研究所*² 東京都臨床研

友田燁夫*¹, 山口照英, 柿沼カツ子*², 河崎一夫*¹:
老人性白内障水晶体の褐色物質生成メカニズムについて

日本生化学会大会 (1988.10.5)

*¹ 金沢大医学部

*² 東京都臨床研

山本行男*, 山口照英, 平沼昭義*, 西川義尚*: 新し
い白血球表層糖蛋白 SGP140 の存在様式について
第41回日本細胞生物学会大会 (1988.11.18)

* 東京都臨床研

山口照英, 早川堯夫, 山本行男*, 佐藤功栄*: 脂肪酸
によるヒト好中球の活性化について—活性酸素生成お
よび細胞骨格について

第18回日本免疫学会総会 (1988.11.14)

* 東京都臨床研

友田燁夫*, 福田龍二*, 山口照英, 白沢栄一*, 白尾
悦子*, 河崎一夫*: 老人性白内障水晶体の着色化機構
について

第15回水晶体研究会 (1989.1.20)

* 金沢大医学部

白尾悦子*, 友田燁夫*, 福田龍二*, 山口照英, 河崎一
夫*: 褐色白内障の着色機構 3-hydroxy-kinurenine
およびその誘導体の関与について

第93回日本眼科学会 (1989.5.11)

* 金沢大医学部

手島玲子, 佐藤道夫, 沢田純一, 池淵秀治, 一戸正勝*,
寺尾允男, 平井和人*: モノクローナル抗体を用いた
酵素免疫測定法による穀類中 ニバレノールの定量法
の検討

日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

* 日本医科大学

池淵秀治, 手島玲子, 佐藤道夫, 田中東一, 川瀬雅子,
沢田純一, 一戸正勝, 寺尾允男, 平井和人*: Zearal-
enone に対するモノクローナル抗体の調製と性質につ
いて

日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

* 日本医科大学

永松国助, 鈴木和博, 寺尾允男: オピエイト受容体の
フォトアフィニティーラベルについて

日本薬学会第109年会 (1989.4.6)

R. TESHIMA, E. BERENSTEIN* and R. P. SIRAGA-
NIAN*: Phosphorylation of the high affinity IgE
receptor on rat basophilic leukemia cells.

Federation of American Society for Experimental
Biology, USA (1988.5.4)

* National Institute of Health, USA

手島玲子, E. BERENSTEIN* and R. P. SIRAGANI-
AN*: 高親和性イムノグロブリン E (IgE) 受容体の
リン酸化反応

日本薬学会第109年会 (1989.4.6)

* 米国 NIH

鈴木和博, 池淵秀治, 寺尾允男: ホルポールエステル
によるヒト成長ホルモン受容体の Internalization

第61回日本生化学会 (1988.10.4)

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: モノクローナル抗体を用いたメタ
ロチオネインの Post-labeling RIA による定量

第61回日本生化学会 (1988.10.4)

*¹ 星薬科大学薬学部

*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) N 端部ペプチドの合成と,
それらの免疫学的性質について

第38回日本薬学会近畿支部大会 (1988.11.16)

*¹ 神戸学院大学薬学部

*² 星薬科大学薬学部

沢田純一, 水沢左衛子, 寺尾允男, 内藤守啓*, 黒沢
良和*: マウス抗ステロイドモノクローナル抗体の可
変領域の一次構造

第18回日本免疫学会 (1988.12.15)

* 藤田学園保健衛生大学医学部

水沢左衛子, 沢田純一, 寺尾允男, 内藤守啓*, 黒沢
良和*: マウス抗ステロイドモノクローナル抗体の可
変領域の一次構造

第11回日本分子生物学会(1988.12.20)

* 藤田学園保健衛生大学医学部

菊池 裕, *入江昌親*, 丹野雅幸, 末吉祥子, 神谷庄造, 石丸幹二, 下村謙一郎, 沢田純一, 寺尾允男: スコポラミンに対するモノクローナル抗体の調製ならびにその性質

日本薬学会第109年会(1989.4.6)

* 星薬科大学薬学部

原田正敏: チョウトウコウ(釣藤鈎)の成分と薬理
第21回日本薬剤師学術大会(1987.11.12)

鈴木英世, 張 伯崇, 原田正敏, 飯田 修, 佐竹元吉: Valeriana 属植物の成分分析とその比較

日本生薬学会第35回年会(1988.9.16)

S. SEKITA, M. HARADA, K. UMEHARA*, M. KURO-YANAGI*, S. UDAGAWA: Screening test using mouse myeloid leukemia (MI) cells for detection of bioactive metabolites producing fungi isolated from traditional herbal drugs and spices in Indonesia

7th International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins (1988.8.19)

* 静岡県立大学薬学部

関田節子, 華偉 義*: 中国産川芎 *Ligusticum chuanxiong* より得られた Ligustilide 二量体の構造

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

* 天津中葯研究所

尾崎幸紘, 原田正敏*, 菅 忠三*, 吉岡利紘*, 森本梯次郎: 組織培養生成物の有効性の評価——紫根および黄連を例として——

日本薬学会第109年会(1989.4.4)

* 三井石油化学工業(株)生物工学研究所

中村晃忠: 評価と基準—医用材料の前臨床試験について

日本バイオマテリアル学会創立10周年記念大会(1988.11.9)

中村晃忠, 菊池 寛, 辻 楠雄: 眼内レンズに残留す

るエチレンオキサイドの分析法の開発と市販製品の調査

第3回日本眼内レンズ学会(1988.7.2)

Akitada NAKAMURA: Guidelines for preclinical toxicity evaluation of biomaterials

The 3rd Japanese-French Biomedical Technologies Symposium (1989.5.5)

佐藤道夫, 水町彰吾, 新谷英晴, 辻 楠雄, 中村晃忠, 川崎 靖, 松本清司: 透析器中の眼障害惹起物質について

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

水町彰吾, 小嶋茂雄, 中村晃忠: プラスチック材料の溶出液の濁りおよびプラスチック容器の透明性試験について

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

早川律子*¹, 竹内康弘*², 小嶋茂雄: 2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)による職業性接触皮膚炎

第38回日本アレルギー学会総会(1988.9.28)

*¹ 名古屋大学医学部付属病院分院

*² 名古屋大学医学部

小嶋茂雄, 門馬純子: DC ブランド黄色セーターによる接触皮膚炎の原因物質の検討—2—原因物質の化学構造ならびに次亜塩素酸ソーダ処理による黄色色素からの原因物質の生成——

第13回パッチテスト研究班学術大会(1988.12.4)

小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 中村晃忠, 佐藤道夫, 門馬純子, 中路幸男, 黒川雄二: 黄色セーターによる接触皮膚炎の原因物質の追求

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 中村晃忠: テーピングテープによる接触皮膚炎事例の検討—アルキルフェノール樹脂の確認—

第25回全国衛生化学技術協議会(1989.9.22)

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠: 家庭用有機溶剤中のベンゼンの分析—基準作成へむけてのクロスチェックの試み—

第25回全国衛生化学技術協議会(1988.9.22)

鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 生野麻美子*: **P-tert-butylphenol formaldehyde resin (PTBPFR) によるアレルギー性接触皮膚炎**
日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

* 埼玉県済生会川口総合病院

五十嵐良明, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠: **家庭用有機溶剤中のベンゼンの分析**
日本薬学会第109年会 (1989. 4. 6)

新谷英晴, 中村晃忠: **放射線滅菌ならびに高圧蒸気滅菌されたポリウレタン中の 4,4'-ジアミノジフェニルメタン (MDA) の分析について**
第26回日本人工臓器学会大会 (1988. 9. 8)

中村晃忠, 新谷英晴, 菊池 寛, 水町彰吾, 辻 楠雄: **ポリウレタンのガンマ線照射による変化について**
第17回医用高分子シンポジウム (1988. 6. 7)

Hideharu SHINTANI, Akitada NAKAMURA: **Production of a carcinogen, 4,4'-methylenedianiline, from polyurethane during sterilization**
1989 Pittsburgh Conference (1989. 3. 10)

土屋利江, 飯尾利弘*, 高橋 淳: **血清試料中の催奇形性物質のモニター法について**
第28回日本先天異常学会 (1988. 7. 14)

* 昭和薬科大学

Toshie TSUCHIYA, Setsuko SEKITA, Kiyotaka KOYAMA*, Shinsaku NATORI*, Atsushi TAKAHASHI: **In vitro teratogenicity testing of chaetochromin A, chaetochromin D and ustilaginoidin A, bis(naphtho- γ -pyrone) using cultures of mouse embryonic cells**
7th International Symposium on Mycotoxins and phycotoxins, Tokyo, Japan (1988. 8. 19)

* Meiji College of Pharmacy, Japan

松村年郎, 亀谷勝昭, 武田明治, 長田英二*¹, 村松学*²: **冬期一般家庭における室内汚染 (1)**
第29回大気汚染学会 (1988. 11. 11)

*¹ 電気化学計器(株)

*² 東京都衛生局

松村年郎, 亀谷勝昭, 武田明治, 武田浩昭*¹, 村松学*²: **冬期一般家庭における室内汚染 (2)**
第29回大気汚染学会 (1988. 11. 11)

*¹ 純正化学(株)

*² 東京都衛生局

松村年郎, 亀谷勝昭, 滝口秀昭, 武田明治, 村松学*: **室内におけるオゾン濃度について**
第29回大気汚染学会 (1988. 11. 11)

* 東京都衛生局

松村年郎, 滝口秀昭, 亀谷勝昭, 武田明治: **4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1, 2, 4-トリアゾール試薬を用いた空気中のホルムアルデヒド自動計測器について**

第29回大気汚染学会 (1988. 11. 11)

木嶋敬二, 齊藤恵美子, 武田明治, 八角一郎*: **染毛剤の分析 (VI)—HPLC による p-phenylenediamine と phenol 類の反応績体の分析—**
日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

* 北里大学衛生学部

木嶋敬二, 齊藤恵美子, 渡辺四男也*, 鈴木明治*, 石野正蔵*, 原田裕文*, 廣田 博*, 永山富雄*, 岩倉良平*, 澤村邦夫*, 西島 靖*, 平松 功*, 中田興亜*: **化粧品試験法 酸化染毛剤**
日本薬学会第109年会 (1989. 4. 4)

* 日本薬学会 衛生試験法部会 化粧品専門委員会

木嶋敬二: **化粧品の迅速簡易分析法—紫外線吸収剤, 口紅中のタール色素, 水銀化合物—(解説)**
日本化粧品学会第13年会 (1988)

関田 寛, 神野透人, 安藤正典, 武田明治: **水道水中微量物質の濃縮方法の定量的解析**
日本薬学会第108年会 (1989. 4. 5)

神野透人, 関田 寛, 安藤正典, 武田明治: **水道水中ベンツ(a)ピレンの塩素処理生成物の変異原性**
日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

宮原 誠, 鈴木 隆, 齊藤行生: **食品中の有機リン系農薬の一元分析について**
日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 18)

石坂 孝, 鈴木 隆, 齊藤行生: プケルスズおよびフェニルスズ化合物の同時分析法について

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 17)

宮原 誠, 宮田直樹, 神谷庄造: ニトロソ基の転移反応-N-ニトロソジフェニル尿素類から C, N, O, S へー
日本薬学会第109年会 (1989. 4. 4)

内山貞夫, 飯村右子*, 河村葉子, 齊藤行生: 照射グレープフルーツ中の脂肪酸, アミノ酸, タンパク等成分に関する考察

日本食品衛生学会第57回学術講演会 (1989. 5. 17)

* 共立薬科大学

五十嵐敦子, 齊藤行生: 有機塩素系化合物の食品・人体汚染について—母乳を指標として—

第25回全国衛生化学技術協議会年会 (1988. 9. 22)

齊藤行生: 食品汚染物質モニタリングにおける最近の動向

第25回全国衛生化学技術協議会年会 (1988. 9. 21)

米谷民雄, 井上清嗣, 内山貞夫, 齊藤行生: カルシウムとストロンチウムを投与した時の臓器中金属濃度と亜鉛-チオネイン量

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

五十畑悦子, 豊田正武, 齊藤行生, 梅村隆志, 金子豊蔵: ラットにおける Sterigmatocystin (Stg.) の体内挙動

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 6)

小林加代子, A. D. POWELL, 豊田正武, 齊藤行生: 組織培養馬鈴薯における Alkaloid 含量の変動について

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 6)

石綿 肇, 杉田たき子, 義平邦利: 食品用品の材質と移行に関する研究 III. 各種合成樹脂製品中のテトラメチルサクシニトリルの定量と確認

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 17)

杉田たき子, 石綿 肇, 義平邦利, 前川昭男*1: メラミンの衛生化学的研究 IV・市販メラミン樹脂製食器からの溶出物について

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 17)

*1 東京農業大学

石綿 肇, 杉田たき子, 義平邦利: 食品用品の材質と移行に関する研究 IV. フェノールの検出に用いられる二種類の試験法の比較

日本食品衛生学会第57回学術講演会 (1989. 5. 17)

河村太郎*1, 石綿 肇, 中岡正吾*2, 辰濃 隆*3: 家庭用品試験法・器具・玩具試験法メラミン

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 4)

*1 横浜市衛生研究所

*2 神奈川県衛生研究所

*3 日本食品衛生協会

神蔵美枝子, 義平邦利, 富田 勲*: 水溶性酸性色素の高速液体クロマトグラフィーによる分離, 検出および定量

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 18)

* 静岡薬科大学

川崎洋子, 合田幸広, 義平邦利: 天然色素の研究 VII 西洋アカネ成分中の変異原性物質について (2)

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 18)

佐藤恭子, 奥山恵美, 義平邦利: 天然色素の研究 VIII ハイビスカス色素について

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 18)

川崎洋子, 合田幸広, 義平邦利: 天然色素の研究 IX 西洋アカネ成分中の変異原性物質について (3)

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

佐藤恭子, 山崎 壮, 義平邦利, 下村講一郎, 鎌田博*1, 小関良宏*2, 中村幹夫*3: 天然色素の研究 X 西洋アカネ (*Rubia tinctorum* L.) の毛状根培養における植物ホルモン等の影響

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

*1 筑波大生物

*2 東京大学教養学部

*3 三栄化学工業(株)

合田幸広, 鈴木淳子, 義平邦利, 黒柳正典*: 天然色素の研究 XI コチニールの色素成分について

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

* 静岡県立大学薬学部

合田幸広, 斎藤恭子, 佐藤恭子, 神蔵美枝子, 義平邦利: イオンクロマトグラフィーによる食用赤色3号および105号中のヨウ化物の定量について

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988.11.18)

鈴木淳子, 渡辺啓恵, 合田幸広, 酒井綾子, 神蔵美枝子, 義平邦利: 天然由来のグルコン酸の摂取量調査に関する研究

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988.11.17)

神蔵美枝子, 武田由比子, 川崎洋子, 合田幸広, 佐藤恭子, 鈴木淳子, 小池紀子, 義平邦利: グリチルリチン酸の摂取量に関する研究 (第2報)

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988.11.17)

山田 隆, 山崎 壮, 合田幸広, 義平邦利, 橋本恭介*: ワイン中のフェロシアン化物の分析

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988.11.17)

* 農林水産省横浜農林規格検査所

山本 都, 義平邦利, 谷村顕雄: 亜硝酸処理した食品中のニトロソアミドについて

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988.11.17)

武田由比子, 井上和秀, 豊田正武, 義平邦利: 生体膜の酸化に対するクロロフィル関連化合物の影響について

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988.11.18)

合田幸広, 佐藤恭子, 義平邦利: イオンクロマトグラフィーによる添加物の分析IV—カンゾウエキス中のグリチルリチン酸とカチオン組成について

日本食品衛生学会第57回学術講演会 (1989.5.19)

神蔵美枝子: 食用色素の衛生化学的研究

日本食品衛生学会第57回学術講演会 (1989.5.19)

佐藤恭子, 山崎 壮, 義平邦利: 培養植物細胞中の微量金属について—セイヨウアカネ毛状根等について

日本食品衛生学会第57回学術講演会 (1989.5.19)

Michiko MIYAHARA, Katsutoshi MISE, Michiko MATSUI and Tsutomu KAWANISHI: Purification and Characterization of New Restriction Endonucleases in *Salmonella* Species of Kangaroo Origin

112th Meeting of Society for General Microbiology, Reading, England (1988.12.13~15)

宮原美知子, 三瀬勝利, 松井道子, 河西 勉*: カンガルー肉由来サルモネラからの制限酵素の分離と精製

日本薬学会第109年会 (1989.4.4)

* 日食協研

宮原美知子, 三瀬勝利, 箕輪由理*1, 太田睦美*1, 鈴木 昭*1, 工藤泰雄*2: *Salmonella infantis* と *Salmonella thompson* の制限酵素の解析

日本食品衛生学会第57回学術講演会 (1989.5.18)

*1 北里大学

*2 東京都立衛生研究所

Katsutoshi MISE and Michiko MIYAHARA: Usefulness in the epidemiology of food poisoning cases of detection of specific restriction endonucleases and their genes in enteropathogenic bacteria

United States—Japan Cooperative Program on Development and Utilization of Natural Resources Symposium, Chevy Chase, MD, U. S. A. (1988.11.2)

A. YOSHIMURA*1, M. SHIRAI*2, T. IDEURA*1, S. KOSHIKAWA*1, I. FUKUDA*3, K. TANAMOTO, S. KANEGASAKI*4, J. SHIGA*5 and W. MORI*5: Organ distribution of ³H-endotoxin in rats with CCl₄-induced liver injury

International Symposium on Endotoxin, Jichi Medical School, Tochigi, JAPAN (1988.5.11)

*1 昭和大学藤が丘病院

*2 香川医科大学

*3 東北大学医学部

*4 東京大学医科学研究所

*5 東京大学医学部

Masakatsu ICHINOE, Hisashi KAMIMURA*1, Shinzo KOIZUMI*2 and Hajime KATO*2: Pathogenicity and mycotoxigenicity of *Fusarium* species in wheat.

5th. International Congress of Plant Pathology, Kyoto (1988.8.22)

*1 東京都立衛生研究所

*2 農林水産省農業研究センター

Masakatsu ICHINOE, Kazuo SUYAMA*¹ and Hisashi KAMIMURA*²: **Isolation and mycotoxin production of *Fusarium* species from dry rot diseased potato tubers.**

6th. International *Fusarium* Workshop, Tsukuba (1988. 8. 30)

*¹ 東京農業大学農学部

*² 東京都立衛生研究所

Hajime KATO*, Shinzo KOIZUMI*, Nobuo HAYASHI*, Reiichi YOSHINO*, Hajimu KOMADA* and Masakatsu ICHINOE: **Scab of wheat and barley in Japan.**

6th. International *Fusarium* Workshop, Tsukuba (1988. 8. 30)

* 農林水産省農業研究センター

Hideharu IKEBUCHI, Reiko TESHIMA, Tadao TERAQ and Masakatsu ICHINOE: **Preparation and characterization of monoclonal antibodies to the *Fusarium* mycotoxin, Nivalenol.**

Symposium: Cellular and Molecular Mode of Action of Selected Microbial Toxins in Foods and Feeds, Washington, D. C. (1988. 11. 2)

尾崎寿司*¹, 朝倉征雄*¹, 小沼博隆, 中村博臣*², 仲西寿男*³, 村瀬 稔*³: **食品中のサルモネラの迅速検出キット, Q-TROL の評価**

食品衛生微生物研究会第9回学術講演会(1988. 10. 22)

*¹ 大洋漁業株式会社中央研究所

*² 長瀬産業株式会社

*³ 神戸市環境保健研究所

梅迫誠一*¹, 小沼博隆, 今野純夫*², 和田正道*³, 徳丸雅一*⁴, 品川邦汎*⁵: **食品中のサルモネラ検出法について. 1. 市販キットの有用性について**

日本食品衛生学会第57回学術講演会 (1989, 5, 18)

*¹ 奈良県衛生研究所

*² 仙台市衛生試験所

*³ 長野県衛生公害研究所

*⁴ 埼玉県衛生研究所

*⁵ 岩手大学農学部

小沼博隆, 梅迫誠一*¹, 今野純夫*², 和田正道*³, 徳丸雅一, *⁴品川邦汎*⁵: **食品中のサルモネラ検出法について. 2. 市販キット活用による自動化の検討**

日本録品衛生学会第57回学術講演会 (1989. 5. 18)

*¹ 奈良県衛生研究所

*² 仙台市衛生試験所

*³ 長野県衛生公害研究所

*⁴ 埼玉県衛生研究所

*⁵ 岩手大学農学部

酒井綾子: **トランスフォーメーション実験系におけるTPA発癌物質検出率の向上**

第47回日本癌学会総会 (1988. 9. 21)

Ayako SAKAI: **Effects of Several Food Additives on the Two-Stage Transformation of BALB 3T3 Cells,**

IIInd International Conference on Mechanisms of Anti-mutagenesis and Anticarcinogenesis, Ohito, Japan (1988. 12. 5)

天前豊明*, 松谷佐知子, 大坪栄一*: **挿入因子 IS 630 の特異的性質——特定の部位への転移と転移の際の標的部位の欠失**

第11回日本分子生物学会年会 (1988. 12. 23)

* 東京大学応用微生物研究所

天前豊明*, 松谷佐知子, 大坪栄一*: **挿入因子 IS 630 の特異的部位への転移**

日本農芸化学会1989年度大会 (1989. 4. 3)

* 東京大学応用微生物研究所

法月克弘*, 鈴木明子, 成田紀子, 宇田川俊一: **ムコール症原因菌数種における抗真菌剤の薬剤感受性について**

日本医真菌学会第32回総会 (1988. 10. 7)

* 東洋ビューティサブライド

岩津都希雄*¹, 宇田川俊一, 千葉直彦*², 三木礼子*²: **急性骨髄性白血病に合併した *Cunninghamella* 感染症の1例: 原因菌の菌学的検討**

日本医真菌学会第32回総会 (1988. 10. 8)

*¹ 岩津皮膚科医院

*² 山梨県立中央病院

庄司昭伸*¹, 依藤時子*², 中川浩一*², 濱田稔夫*², 巽 陽一*³, 橋本孝二*³, 戸矢崎紀紘*⁴, 宇田川俊一: **急性骨髄性白血病に合併した *Cutaneous Mucormy-***

cosis の 1 例

日本医真菌学会第32回総会 (1988.10.8)

*1 大阪回生病院

*2 大阪市立大学医学部

*3 大阪市立十三市民病院

*4 神戸市環境保健研究所

高鳥浩介*1, 伊藤信子*1, 宇田川俊一, 信太隆夫*2:

屋内にみる空中浮遊真菌とハウスダストの真菌

日本医真菌学会第32回総会 (1988.10.8)

*1 食品薬品安全センター秦野研究所

*2 国立相模原病院

野田徳朗*, 市来善郎*, 鹿野由起子*, 前田 学*, 森俊二*, 澤村治樹*, 宇田川俊一: アスペルギルスが検出された爪郭炎の一例

日本医真菌学会第32回総会 (1988.10.8)

* 岐阜大学医学部

堀江義一*, 宇田川俊一: *Neocosmospora* 属の分類学的研究

日本菌学会第32回大会 (1988.11.13)

* 千葉県立中央博物館

高田正樹*, 宇田川俊一: 数種のホモタリックな *Neurospora* について

日本菌学会第32回大会 (1988.11.13)

* 東洋醸造(株)リサーチセンター

戸矢崎紀紘*, 松田良夫*, 宇田川俊一: 室内発生塵の菌類叢

日本菌学会第32回大会 (1988.11.13)

* 神戸市環境保健研究所

小山清隆*, 井浦毅一*, 名取信策*, 宇田川俊一: 数種の *Chaetomium* 属菌類のマイコトキシンの産生

第28回マイコトキシン研究会 (1989.1.20)

* 明治薬科大学

中島廣光*1, 濱崎 敏*1, 木村靖夫*1, 宇田川俊一, 堀江義一*2: 植物病原菌 *Neocosmospora vasinfecta* の生産する生理活性物質 (第3報)

日本農芸化学会1989年度大会 (1989.4.3)

*1 鳥取大学農学部

*2 千葉県立中央博物館

堀江義一*1, 宮治 誠*2, 西村和子*2, 宇田川俊一: 土壌より分離した *Emericella* 2種について

日本菌学会第33回大会 (1989.5.7)

*1 千葉県立中央博物館

*2 千葉大学真核微生物研究センター

岩津都希雄*1, 宇田川俊一, 畑井喜司雄*2: シマアジの真菌症原因と思われる新黒色不完全菌

日本菌学会第33回大会 (1989.5.7)

*1 岩津皮膚科医院

*2 日本獣医畜産大学

Yoshikazu HORIE*1, Shun-ichi UDAGAWA and Makoto MIYAJI*2: Distribution of Sterigmatocystin-producing *Emericella* in Soil.

7th International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Tokyo, Japan (1988.8.18)

*1 千葉県立中央博物館

*2 千葉大学真核微生物研究センター

Shun-ichi UDAGAWA, Setsuko SEKITA and Masatoshi HARADA: Two Dematiaceous Hyphomycetes Isolated from Traditional Herbal Drugs in Indonesia, as New Producers of Citrinin.

7th International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Tokyo, Japan (1988.8.18)

Hiromitsu NAKAJIMA*, Takashi HAMASAKI*, Yasuo KIMURA* and Shunichi UDAGAWA: Biologically Active Metabolites Produced by the Fungus *Neocosmospora vasinfecta* E. F. Smith.

7th International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Tokyo, Japan (1988.8.19)

* 鳥取大学農学部

Toshitsugu TANAKA*, Shun-ichi UDAGAWA and Setsuko SEKITA: Distribution of Atypical and Toxicogenic *Aspergillus flavus* in Indonesian Spices and Herbs.

5th International Congress of Plant Pathology, Kyoto, Japan (1988.8.21)

* 神戸市環境保健研究所

森本和滋, 福岡正道, 長谷川良平, 田中 彰, 高橋 惇, 林 裕造: OPP-Na の尿中キノン代謝物のラッ

ト膀胱上皮細胞 DNA 損傷作用
第47回日本癌学会総会 (1988.9.21)

T. SHIBTYA*, H. MATSUDA*, Y. ISHIHARA*, N. HORIYA*, T. HARA* and K. MORIMOTO: **Enhancing effects of O⁶-methylguanine on MNU- and ENU-induced external malformations in mice**
IInd International Conference on Mechanisms of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis, Ohito, Japan (1988, 12, 6)

* 食品医薬品安全センター

森本和滋, 辻 和彦, 高橋 惇, 宮田直樹, 神谷庄造: **ラット前胃上皮細胞における DNA 損傷の検出 (2) BHA およびその代謝関連化合物について**
日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

高橋昭江, 佐藤道夫, 森本和滋, 福岡正道, 土屋利江, 高橋 惇: **オルトフェニルフェノールナトリウム (OPP-Na) のラットにおける代謝について**
日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

奥平和穂, 清水比奈子, 森本和滋, 高橋 惇: **ウレタンのトキシコキネティクスの研究 (1) ¹⁴C-ウレタンの体内動態, DNA との結合**
日本薬学会第109年会 (1989.4.4)

紅林秀雄, 田中 彰, 高橋 惇: **マイクロソームによる酸化的脱アミノ反応. VI-脂肪酸一級アミンの同位体効果を中心として**
第61回日本生化学会大会 (1988.10.5)

紅林秀雄, 嶺岸謙一郎, 高橋 惇: **リン酸トリエステルの代謝 (III) Tri-cresyl phosphate' の in vitro における代謝**
日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

会田喜崇, 高田幸一, 小林和雄*¹, 内田雄幸, 安原加寿雄, 鈴木康雄*², 吉本濱子, 門馬純子, 中路幸男, 黒川雄二, 戸部満寿夫: **トリプロモメタン, ジプロモクロロメタン, プロモジクロロメタンの慢性毒性に関する研究**
日本毒科学会学術年会 (1988.8.4)

*¹ 食品農医薬品安全性評価センター

*² 薬効開発研究会 東松山研究所

Seiji MATSUMOTO, Tsuyoshi FURUYA, Yuji KUROKAWA, Katsuko SUDOU*¹ and Kiyoshi SUZUKI*²: **Characteristics of the KSN indred mouse Strain: Self-perpetuating nude mouse.**

6th IWIDA, Biejing, China (1988.7.5)

*¹ 東京大学医科学研究所

*² 東京医科大学

門馬純子, 中路幸男, 黒川雄二, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 中村晃忠: **DC ブランド黄色セーターによる接触皮膚炎の原因物質の検討-1**

—モルモットによる原因物質の検索—

第13回パッチテスト研究班総会 (1988.12.3)

高木篤也, 門馬純子, 会田喜崇, 吉本濱子, 佐井君江, 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) (MBEBP) のラット体重増加抑制作用について**
第15回日本毒科学会学術年会 (1988.8.4)

梅村隆志, 高田幸一, 佐井君江, 河村葉子, 内山貞男, 鎌田栄一, 小川幸男, 若菜雅美, 鈴木幸子, 金子豊蔵, 黒川雄二: **p-Dichloro benzene (p-DCB) によるラット腎毒性発現の性差に関する研究**
第15回日本毒科学会学術年会 (1988.8.4)

川崎 靖, 関田清司, 松本清司, 落合敏秋, 内田雄幸, 中路幸男, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫: **p-sec-Butylphenol の毒性に関する研究**
第15回日本毒科学会学術年会 (1988.8.4)

会田喜崇, 高田幸一, 小林和雄, 内田雄幸, 安原加寿雄, 鈴木康雄, 吉本濱子, 門馬純子, 中路幸男, 黒川雄二, 戸部満寿夫: **トリプロモメタン, ジプロモクロロメタン, プロモジクロロメタンの慢性毒性に関する研究**
第15回日本毒科学会学術年会 (1988.8.5)

高木篤也, 佐井君江, 梅村隆志, 黒川雄二, 葛西 宏*: **ペルオキシゾーム増殖剤経口投与によるラット肝の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の生成**
第17回日本環境変異原学会 (1988.11.4)

* 国立がんセンター

佐井君江, 高木篤也, 梅村隆志, 黒川雄二, 葛西 宏*: **腎発癌剤によるラット腎の 8-hydroxydeoxyguano-**

sine (8-OHdG) 生成の検討

第17回日本環境変異原学会 (1988. 11. 4)

* 国立がんセンター

落合敏秋, 松本清司, 関田清司, 川崎靖, 降矢 強,
黒川雄二, 戸部満寿夫, 紙谷辰雄*: スナネズミの血
液形態学的検査値について

第35回日本実験動物学会総会 (1988. 5. 19)

* (財)化粧品検査協会

松本清司, 降矢 強, 黒川雄二, 須藤カツ子*1, 鈴木
潔*2: KSN マウスの血液形態学的検査値

第35回日本実験動物学会総会 (1988. 5. 19)

*1 東京大学医科学研究所

*2 東京医科大学

佐井君江, 高木篤也, 黒川雄二, 葛西 宏*, 西村
暹*: ベルオキシゾーム増殖剤経口投与の腎プロモ
ーター作用および肝, 腎における 8-ヒドロキシグアノ
シン (8-OHdG) の産生について

第47回日本癌学会 (1988. 9. 20)

* 国立がんセンター

泉 啓介, 岩川正徳*, 大塚 久*, 佐井君江, 高木篤
也, 黒川雄二: Possible carcinogenic activities of
D-galactosamine in rat liver

第47回日本癌学会 (1988. 9. 20)

* 徳島大学医学部

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障害について

第4回毒性病理学会 (1988. 2. 6)

酒井健夫*, 児玉幸夫, 長尾壮七*, 堀内茂友: ナキウ
サギ Pika (*Ochotona rufescens rufescens*) の皮膚
一次刺激反応

日本獣医学会第107回学会 (1988. 4. 1)

* 日本大学農獣医学部

杉浦彰彦*, 山町佳央*, 水谷泰明*, 児玉幸夫, 堀内
茂友: 特殊化学物質実験動物施設の紹介第1報

日本実験動物技術者協会第4回 (1988. 2. 25)

* 三協ラボサービス

降矢 強: 食品照射研究開発基本計画で報告された健
全性試験結果について

第24回日本食品照射研究協議会特別演題 (1988. 11. 28)

Yuko HARASAWA*, Masa-aki KIMURA*, Yasuo
OHNO, Shigehiro HAYASHI*: Endotheliumdepend
ent relaxation to bradykinin (BK) but not ace
tylcholin (ACh) in porcine coronary artery

The 2nd Annual Meeting of Federation of Amer
ican Societies for Experimental Biology, Las
Vegas (1988. 5. 4)

* アップジョン筑波総合研究所

Susumu IMAOKA*, Kazuhide INOUE, Yoshihiko
FUNAE*: Aminopyrine metabolism of multiple
forms of cytochrome P-450 from rat liver mic
rosomes

The 11th International ISSX Meeting; ISSX-88
"Xeno-biotic Metabolism and Disposition", Kobe
(1988. 5. 16)

* 大阪市立大学医学部

Yasuo OHNO, Yoshinori SUZUKI*, Kunisuke NA
GAMATSU, Akira TANAKA: Morphine 6-dehyd
rogenase mediated hepatotoxicity of codeine

The 5th Southeast Asian and Western Pacific
Regional Meeting of Pharmacologists, Beijing
(1988. 7. 6)

* 三菱化成総合研究所

川島邦夫, 中浦禎介, Srikandi DJAJALAKSANA*,
田中 悟, 高仲 正: Norethindrone の男性化作用
に対する ethinylestradiol の協力作用

第28回日本先天異常学会学術集会 (1988. 7. 15)

* National Quality Control Laboratory of Drug
and Food, Indonesia

Kunio KAWASHIMA, Srikandi DJAJALAKSANA*,
Shinsuke NAKAURA, Satoru TANAKA and Akira
TAKANAKA: Synergic effect of estrogen on viri
lizing activity of gestagen in female rat fetuses

The 8th International Congress of Endocrinology,
Kyoto (1988. 7. 20)

* National Quality Control Laboratory of Drug
and Food, Indonesia

広田晃一, 川西 徹, 簾内桃子, 大野泰雄, 高仲 正, 加藤隆一: 初代培養肝細胞における薬物代謝酵素系の変動に関するメチラボンの効果
第15回日本毒科学会学術年会 (1988.8.4)

中沢憲一, 藤森観之助, 井上和秀, 関田節子, 高仲 正: モルモット摘出心房標本におけるセンキュウエキスの収縮力・心拍数におよぼす影響
第79回日本薬理学会関東部会 (1988.10.15)

福原守雄*, 坂口雅弘*, 井上 栄*, 古川文夫, 簾内桃子, 高橋道人, 高仲 正: アフラトキシン B₁ に高い特異性をもつハムスター肝チトクローム P-450 分子種について——その組織分布と毒性における役割——
第19回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム (1988.10.28)

* 国立公衆衛生院

Yasuo OHNO, Yoshiko OKAMOTO, Koichi HIROTA, Momoko SUNOUCHI, Akira TAKANAKA: Effects of dichlorobenzenes on freshly isolated rat liver and kidney cells
Nineteen Eighty-nine Annual Meeting of Society of Toxicology, Atlanta (1989.3.3)

井上和秀, 藤森観之助, 中沢憲一, 高仲 正: 白あり防除薬クロルデン (CD) の作用機序
第62回日本薬理学会総会 (1989.3.26)

中沢憲一, 斉藤 洋*, 松木則夫*: ラット精管単離筋細胞におけるカルシウム遺伝子関連ペプチド (CGRP) のカルシウムチャンネル電流におよぼす作用
第62回日本薬理学会総会 (1989.3.26)

* 東京大学薬学部

簾内桃子, 広田晃一, 大野泰雄, 高仲 正, 福原守雄*: 種々の誘導剤によるハムスター肝ミクロゾームにおける薬物代謝酵素系の変動
日本薬学会第109年会 (1989.4.5)

* 国立公衆衛生院

大野泰雄, 岡本佳子, 広田晃一, 簾内桃子, 高仲 正: ジクロロベンゼン類の肝遊離細胞毒性に対する薬物代謝酵素誘導剤の影響
日本薬学会第109年会 (1989.4.6)

広田晃一, 川西 徹, 簾内桃子, 大野泰雄, 高仲 正: *In vitro* 初代培養肝細胞における MC 型薬物代謝誘導剤の影響
第80回日本薬理学会関東部会 (1989.6.10)

長谷川良平, 高橋道人, 林 裕造: OPP-Na の尿中代謝物によるラット膀胱粘膜の増殖性変化
第77回日本病理学会総会 (1988.5.25)

岡宮英明, 長谷川良平, 佐藤秀隆, 高橋道人, 林 裕造: 胆汁酸代謝物によるラット肝ペルオキシゾームの増生
第77回日本病理学会総会 (1988.5.25)

高橋道人, 長谷川良平, 岡宮英明, 林 裕造: ラット膵の腺房細胞腫瘍発生における大豆粗製トリプシンインヒビターの促進作用
第77回日本病理学会総会 (1988.5.25)

菅野 純, 長谷川良平, 前川昭彦, 春日 孟, 林 裕造: ヨード欠乏食による甲状腺発癌の促進
第77回日本病理学会総会 (1988.5.25)

佐藤秀隆, 高橋道人, 林 裕造, 菅野 純: 甲状腺発癌に対するアミトールの促進作用
第77回日本病理学会総会 (1988.5.25)

内藤善哉*, 佐藤秀隆, 長谷川良平, 高橋道人, 林 裕造: マウス肺腫瘍発生における高脂肪食の促進作用
第77回日本病理学会総会 (1988.5.25)

* 日本医科大学

宮川義史*, 佐藤秀隆, 高橋道人, 林 裕造: 皮膚二段階発癌モデルにおける DMBA の用量反応
第77回日本病理学会総会 (1988.5.25)

* 日本たばこ生物実験センター

林 裕造: 環境化学物質による発癌の病理——癌一次予防の病理学的基礎——
第77回日本病理学会総会 (1988.5.26)

今井田克己, 立松正衛*, 萩原昭裕*, Joao Lavro V. de CAMARGO*, 柴田雅朗*: 胆嚢癌における胃形質発現の免疫組織化学的ならびに酵素組織化学的検索
第77回日本病理学会総会 (1988.5.26)

* 名古屋市立大学

高橋道人：精巢毒性

第7回日本アンドロロジー学会 (1988.6.24)

S. REHM*, J. M. WARD*, G. SINGH*, S. L. KATYAL* and M. TAKAHASHI: **Origin of papillary lung tumors in the mouse from alveolar type II cells and in syrian golden hamsters from bronchiolar clara cells as shown by immunocytochemistry.** 8th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (1988.8.1)

* National Cancer Institute, U. S. A.

豊岡利正*, 鈴木 隆*, 斉藤行生*, 古川文夫, 高橋道人, 林 裕造, 今井一洋*: **チオール・ジスルフィドの高感度同時分析法の開発と生体試料への応用** 生体成分の分析化学シンポジウム名城大学 (1988.9.22)

* 東京大学

古田京子, 阿部 弘, 古川文夫: **扁平な臓器切片の連続包埋法**

第12回実験動物病理組織技術懇話会 (1988.10.1)

古川文夫: **動物実験における酵素抗体法の実際一特に手技とその問題点について一**

第12回実験動物病理組織技術懇話会 (1988.10.1)

K. IMAIDA: **Wide-spectrum initiation models as new medium-term bioassay systems for carcinogens.**

Japanese Cancer Association Symposium, (1988.10.5)

Y. HAYASHI: **Risk assessment of environmental carcinogens: Present status and future perspectives.**

Japanese Cancer Association Symposium, (1988.10.7)

古川文夫: **動物実験における酵素抗体法の実際一特に手技とその問題点について一**

第8回関西実験動物病理組織技術懇話会 (1988.11.5)

林 裕造: **発癌物質の安全性評価**

第15回日本毒科学会学術年会 (1988.8.4)

谷川廣行*, 三井雅之*, 島崎一郎*, 前川昭彦, 小野寺博志, 黒川雄二: **臭素酸カリウム投与によるラット腎近似尿管の eosinophilic body 発現における性差について**

第15回日本毒性学会学術年会 (1988.8.5)

* 森下製菓業研究所

宇和川 賢*, 津田洋幸*, 今井田克己, 高橋 智*, 伊東信行*: **ラット多重癌モデルによる各種臓器発癌物質の中期検索法についての検討**

第15回日本毒科学会学術年会 (1988.8.5)

* 名古屋市立大学

中村 厚*¹, 山口修司*¹, 務台 衛*¹, 津田洋幸*¹, 今井田克己, 伊東信行*¹, 李 榮純*²: **ラット肝前癌病変を指標とした中期発癌検索法による高麗人参抽出物, 酸化防止剤, 高脂血症治療剤および染料の発癌修飾作用の検索**

第15回日本毒科学会学術年会 (1988.8.5)

*¹ 名古屋市立大学

*² ソウル大学

小野寺博志, 松島裕子, 永岡隆晴, 外館あさひ, 前川昭彦, 林 裕造: **低用量エチルニトロソウレタン (ENUR) のラットにおける発癌性に関する研究**

第47回日本癌学会総会 (1988.9.20)

務台 衛*, 今井田克己, 倉田 靖*, 長谷川良平*, 広瀬清信*, 伊東信行*: **ラット肝発癌における低用量発癌物質の複合投与による相乗作用**

第47回日本癌学会総会 (1988.9.20)

* 名古屋市立大学

前川昭彦, 小野寺博志, 松島裕子, 永岡隆晴, 外館あさひ, 林 裕造: **ラット肝2段階発癌におけるフェノバルビタールのプロモーション作用に関する用量—— 相関**

第47回日本癌学会総会 (1988.9.21)

高橋道人, 岡宮英明, 古川文夫, 佐藤秀隆, 長谷川良平*¹, 下地尚史, 張 子俊*², 林 裕造: **ラット胃癌発生に対する低用量食塩のプロモーター作用**

第47回日本癌学会総会 (1988.9.21)

*¹ 名古屋市立大学

*² ソウル大学

柴田雅朗, 田中 光*, 広瀬雅雄*, 今井田克己, 白井智之*: 種々の臓器発癌に対する異なった濃度でのBHA同時投与による効果
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

* 名古屋市立大学

永岡隆晴, 小野寺博志, 外館あさひ, 松島裕子, 前川昭彦, 林 裕造: 6-Mercaptoprine (6-MP) の F344 ラットにおける癌原性試験
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

外館あさひ, 小野寺博志, 松島裕子, 永岡隆晴, 林裕造: コハク酸-ナトリウムの F344 ラットにおける癌原性について—
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

古田京子, 佐藤秀隆, 古川文夫, 高橋道人, 長谷川良平, 林 裕造: オルトフェニルフェノールナトリウム(OPP-Na)の癌原性試験における膀胱発癌の用量-反応関係
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

森本和滋, 福岡正道, 長谷川良平*, 田中 彰, 高橋惇, 林 裕造: OPP-Na の尿中キノン代謝物のラット膀胱上皮細胞 DNA 損傷作用
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

* 名古屋市立大学

加藤俊男*, 今井田克己, 立松正衛*, 萩原昭裕*, 伊東信行*: 肝 GST-P 陽性巢のステレオロジーと三次元的再構築による検討
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

* 名古屋市立大学

古川文夫, 高橋道人, 長谷川良平*, 佐藤秀隆, 岡宮英明, 下地尚史, 林 裕造: ハムスター実験肺癌におけるタウロコール酸ナトリウムのプロモーター作用の検討
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

* 名古屋市立大学

岡宮英明, 古川文夫, 高橋道人, 下地尚史, 今井田克己, 林 裕造: 4-NQO マウス肺腫瘍発生における3-メチルフランのプロモーター作用
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

下地尚史, 長谷川良平*, 古川文夫, 張 子俊, 今井田克己, 高橋道人, 林 裕造: 蛋白同化経ロステロイド剤 Oxymetholone の肝発がんプロモーター作用の検討
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

* 名古屋市立大学

佐藤秀隆, 高橋道人, 古川文夫, 長谷川良平, 福岡正道, 宮川義史*, 林 裕造: OPP 代謝物の皮膚二段階発癌モデルにおける作用について
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

* 日本たばこ生物実験センター

山口修司*, 小木曾 正*, 今井田克己, 立松恵子*, 広瀬雅雄*: ラット DMH および MNU 多臓器発癌に対する天然酸化防止剤の作用
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

* 名古屋市立大学

菅野 純*¹, 佐々木澄志*², 水澤 博, 石館 基, 林裕造, 春日 孟*¹: v-H-ras 導入非形質転換 BALB 3T3 細胞株 (Bhas 42 細胞) の腫瘍原性について
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

*¹ 東京医科歯科大学

*² 食品薬品安全センター薬野研究所

内田英二*, 恩田昌彦*, 内藤善哉*, 会田邦晴*, 山中洋一郎*, 笹島耕二*, 西 恵吾*, 徳永 昭*, 田尻孝*, 江上 格*, 浅野伍朗*, 古川文夫, 高橋道人: 肺癌におけるエストロゲンおよびその関連物質の病理学的検討
第47回日本癌学会総会(1988.9.21)

* 日本医科大学

今井田克己, 朝元誠人*, 高橋 智*, 長谷川良平*, 小木曾 正*, 伊東信行*: D-Galactosamine および部分肝切除の併用による新しい中期発癌試験法の開発
第47回日本癌学会総会(1988.9.22)

* 名古屋市立大学

福島昭治*, 萩原昭裕*, 今井田克己, 白井智之*, 鈴木 実*, 伊東信行*: ラット多重癌モデルによる発癌促進ないし抑制要因の解析
第47回日本癌学会総会(1988.9.22)

* 名古屋市立大学

長谷川良平*1, 下地尚史, 古川文夫, 福岡正道, 葛西宏*2, 高橋道人, 林 裕造: OPP-Na ラット尿中代謝物による膀胱発癌イニシエーション作用の検索
第47回日本癌学会総会 (1988.9.22)

*1 名古屋市立大学

*2 国立ガンセンター

古川文夫, 高橋道人, 豊田和弘, 今井田克己, 岡宮英明, 篠田和俊, 林 裕造: 加齢によるハムスター降ラ氏島の各種内分泌細胞の変化
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.27)

篠田和俊, 岡宮英明, 今沢孝喜, 下地尚史, 古川文夫, 今井田克己, 高橋道人: 精巢毒性の解析における病理学的手法の検討—BrdU 免疫組織化学およびランタン・トレーサー法の有用性—
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.27)

豊田和弘, 古川文夫, 岡宮英明, 児玉幸夫, 堀内茂友, 高橋道人: ラットの長期動物試験における白内障の発生について
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.27)

永岡隆晴, 小野寺博志, 外館あさひ, 前川昭彦, 林裕造: いわゆる Gonadal stromaltumor とと思われるラット精巢腫瘍の2例
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.27)

外館あさひ, 小野寺博志, 永岡隆晴, 前川昭彦, 林裕造: F344/DuCrj ラットにおける自然発生腫瘍一年代およびロットの違いによる腫瘍発生の変動—
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.27)

岡宮英明, 古川文夫, 今沢孝喜, 下地尚史, 篠田和俊, 豊田和弘, 高橋道人: ラット胃に発生した腺毛細胞性囊胞の2症例
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.27)

今沢孝喜, 岡宮英明, 篠田和俊, 小野寺博志, 今井田克己, 高橋道人, 林 裕造: 分析型走査電子顕微鏡を用いたラット膀胱結石の表面構造の観察およびその構成元素の分析
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.27)

下地尚史, 高橋智香子, 古田京子, 今井田克己, 高橋

道人, 林 裕造: 実験的肝線維化: hydroxyproline 量のラット肝の各葉における差に関する検討
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.28)

小野寺博志, 永岡隆晴, 外館あさひ, 前川昭彦, 林裕造: フェニルブタゾンの賢・甲状腺発癌に対するプロモーション作用
第5回日本毒性病理学会 (1989.1.28)

N. SHIMOJI, H. OKAMIYA, R. HASEGAWA*, K. IMAIDA, M. TAKAHASHI, N. ITO*, Y. HAYASHI: Freezing initiation of bladder carcinogenesis promoted by sodium ophenylphenate (OPP) of rat urinary bladder
28th Annual Meeting of Society of Toxicology (1989.3.2)

* 名古屋市立大学

T. NOHMI, J. R. BATTISTA*, L. A. DODSON* and G. C. WALKER*: RecA-mediated cleavage of UmuD and its significance in UV mutagenesis in *Escherichia coli*
Boston Mutagenesis Meeting (1988.4)

* Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology

渡辺雅彦: ニトロアレーン, 芳香属アミンに高感受性を示す *Salmonella typhimurium* の新しい変異原性試験菌株
大気汚染研究協会関東支部がん, 変異原性部会講演会 (1988.7.15)

渡辺雅彦, 能美健彦, 石館 基: ニトロアレーン, 芳香属アミンに高感受性を示す *S. typhimurium* TA98, TA100 の新しい誘導株の樹立
日本環境変異原学会第17回大会 (1988.11.4)

松井道子, 松井恵子, 能美健彦, 水沢 博, 石館 基: ステピオールにより誘導されたサルモネラ突然変異のプラスミッド DNA を用いる解析
日本環境変異原学会第17回大会 (1988.11.5)

能美健彦: RecA に依存した大腸菌 UmuD の開裂反応とその生理的意義
第3回遺伝的組換えとその制御ワークショップ (1988.11.20)

能美健彦, J. R. BATTISTA*, L. A. DODSON* and G. C. WALKER*: *RecA* に依存した大腸菌 *UmuD* 蛋白質の活性化

第11回日本分子生物学会年会 (1988.12.22)

J. R. BATTISTA*, T. NOHMI and G. C. WALKER*: **Similarities to T4 DNA polymerase accessory proteins suggest possible roles for UmuD and UmuC in UV and Chemical mutagenesis**

Second International Conference on Mechanisms of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis (1988.12.8)

* Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology

T. NOHMI, J. R. BATTISTA*, V. IGRAS*, W. SUN* and G. C. WALKER*: **Antimutagenesis effects of *umuD* mutant plasmids: Isolation and characterization of *umuD* mutants unable to promote UV mutagenesis in *Escherichia coli***

Second International Conference on Mechanisms of Antimutagenesis and Anticarcinogenesis (1988.12.5)

* Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology

能美健彦: バイオテクノロジーによる高感度簡易試験法の開発

ヒューマンサイエンス基礎研究事業昭和63年度官民共同プロジェクト研究成果シンポジウム (1986.1.25)

G. C. WALKER*, T. NOHMI, C. E. DONNELLY* and J. R. BATTISTA*: **Analyses of roles of UmuD and UmuC in UV and chemical mutagenesis**

Joint Meeting of the American Society for Cell Biology and the American Society for Biochemistry and Molecular Biology (1989.1.29)

* Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology

祖父尼俊雄, 川瀬雅子, 水沢 博, 石館 基: 核内倍加 (endoreduplication) にみられた染色体異常の生成について

染色体学会第39回年会 (1988.9.29)

松岡厚子, 宮田直樹, 祖父尼俊雄, 石館 基: BHA

およびその代謝物の *in vitro* 染色体異常誘発性について

日本環境変異原学会第17回大会 (1988.11.4)

沢田 稔, 祖父尼俊雄, 石館 基: 活性酸素発生系における染色体異常誘発性 VI. Mena dione 抵抗性細胞の分離とその利用

日本環境変異原学会第17回大会 (1988.11.4)

祖父尼俊雄, 松岡厚子, 沢田 稔, 石館 基, Michael D. Shelby*: **CHL および CHO 細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験の比較—米国 NTP 計画との協力研究**

日本環境変異原学会第17回大会 (1988.11.5)

* NIEHS, USA

林 真ほか (小核試験共同研究グループ): 小核試験における投与経路の差

日本環境変異原学会第17回大会 (1988.11.5)

水沢 博: 細胞バンク業務の実際

日本組織培養学会第61回大会, ワークショップ (1988.5.19)

水沢 博, 川瀬雅子, 吉田東歩*, 竹内昌男*: **DNA プローブを利用した細胞培養汚染マイコプラズマの検出**

日本マイコプラズマ学会 第15回大会, シンポジウム (1988.5.21)

* 発酵研究所

渡辺英子, 品川保弘, 野村信夫*, 水沢 博: **DNA フィンガープリント法を用いた細胞株の同定**

第11回日本分子生物学会第11回大会 (1988.12.20)

* 日本獣医畜産大学

小室徹夫, 四方田千佳子, 木村俊夫: **徐放性製剤の溶出試験法に関する研究**

日本薬学会第109年会

稲田捷也*, 鈴木美幸*, 高橋和彦*, 田中重則*, 田村弘志*, 小室徹夫, 吉田昌男*: **血漿の新過塩素酸処理法とエンドトキシン特異的測定法を用いた血中エンドトキシン測定法**

* 岩手大学

四方田千佳子, 小室徹雄, 木村俊夫: キトサン膜からの薬物放出挙動

第38回日本薬学会近畿支部大会 (1988. 11. 6)

四方田千佳子, 小室徹雄, 木村俊夫: キトサンの対イオンの活量計数と薬物の相互作用について

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 6)

村井真美, 岡田敏史, 木村俊夫: 逆浸透膜の性能評価に適する指標物質の検索 II

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 6)

村井真美, 長谷川隆一, 岡田敏史, 木村俊夫: α_1 -酸性糖蛋白に対する β -ブロッカーの立体特異的結合

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 4)

徳永裕司: 液体クロマトグラフ法による軟膏およびクリーム中のフルオロメトロンおよび酢酸デキサメタゾンの定量

第25回全国衛生化学技術協議会 (1988. 9. 22)

徳永裕司, 田中正一, 村井真美, 岡田敏史, 木村俊夫: 液体クロマトグラフ法による点眼液中の糖質コルチコイドの定量

第38回日本薬学会近畿支部大会 (1988. 11. 6)

Kiyoshi SAKAI*, Masakazu TANAKA, and Kozo ODA*: Novel ring cleavage and ring expansion. Its application to the synthesis of (+)-Bulnesol IUPAC 88 Kyoto 16th International Symposium on the Chemistry of Natural Products (1988. 5. 31)

* 九州大学薬学部

徳永裕司, 宮本由香里, 岡田敏史*, 木村俊夫: 液体クロマトグラフ法によるニコチン酸注射液中のニコチン酸の定量

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 4)

* 大阪薬科大学

田中正一, 南雲紳史*, 酒井 浄*: 新規環形成反応を基本にしたトリコディエンの合成研究

第5回日本薬学会九州支部大会 (1988. 12. 3)

* 九州大学薬学部

田中正一, 末宗 洋*, 酒井 浄*: 新規環変換反応—

1. 環拡大反応と(±)-ブルネソールの合成

日本薬学会第108年会 (1989. 4. 6)

* 九州大学薬学部

宮尾義浩*, 田中正一, 末宗 洋*, 酒井 浄*: 新規環変換反応—2. 単環性ケトンからピシクロエノンの新規合成ルート

日本薬学会第108年会 (1989. 4. 6)

* 九州大学薬学部

田浦ゆかり*, 田中正一, 舟越和久*, 酒井 浄*: キラルなロジウム錯体を用いる立体選択的閉環反応

日本薬学会第108年会 (1989. 4. 4)

* 九州大学薬学部

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男: FTD-GC による食品中9種トリアジン系除草剤の同時分析法

第25回全国衛生化学技術協議会年会 (1988. 9. 22)

浜野 孝*, 三ツ橋幸正*, 青木伸實*, 山本 進*, 辻澄子, 伊藤誉志男: 食品中のコンドロイチン硫酸ナトリウムの酵素による分析法

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 17)

* 神戸市環境保健研究所

辻 澄子, 柴田 正, 伊藤誉志男, 江崎真澄*¹, 伊藤勝彦*², 佐瀬勝利*³: イオンクロマトグラフィーによる食品中の硝酸および亜硝酸の定量

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 17)

*¹ 大阪空港検疫所

*² 神戸検疫所

*³ 大阪検疫所

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 大島辰之*: 市販生鮮魚類および野菜に対する亜塩素酸ナトリウムの品質保持作用

日本食品衛生学会第56回学術講演会 (1988. 11. 17)

* 日本油料検定協会

中村優美子, 外海泰秀, 長谷川ゆかり, 伊藤誉志男: アルギン酸とその塩類のラットにおける代謝および血清 Na, K, Ca 濃度におよぼす影響

日本栄養・食糧学会第27回近畿支部大会 (1988. 11. 19)

中村優美子, 長谷川ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男, 大島辰之*¹, 小林一博*², 若林哲子*³: 8種の殺ダニ剤の系統的分析法について

日本薬学会第109年会(1989.4.5)

*¹ 日本油料検定協会

*² 神戸農林規格検査所

*³ 大阪薬科大学

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男: **Dean-Stark 蒸留装置および GC/MS ライブラリーサーチシステムを用いる底質中微量有機化合物の検索**
日本薬学会第109年会(1989.4.5)

小原一雄*, 岡田直子*, 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤誉志男: コーヒー中の過酸化水素の測定法についての検討

日本食品衛生学会第57回学術講演会(1989.5.17)

* (財)日本食品分析センター大阪支所

辻 澄子, 柴田 正, 伊藤誉志男, 小原一雄*, 岡田直子*: コーヒー中の過酸化水素生成機構についての検討

日本食品衛生学会第57回学術講演会(1989.5.17)

* (財)日本食品分析センター大阪支所

内堀伸健*¹, 川田 誠*¹, 小林建夫*¹, 鈴木 宏*¹, 室井順子*², 鈴木由記子*², 兼田 登*², 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤誉志男: 各種食品中の過酸化水素の実態調査研究

日本食品衛生学会第57回学術講演会(1989.5.17)

*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

兼田 登*¹, 若林和子*¹, 長谷幸子*¹, 井出重明*², 藤原一也*², 鈴木 宏*², 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤誉志男: 各種食品中の硝酸および亜硝酸の実態調査研究
日本食品衛生学会第57回学術講演会(1989.5.17)

*¹ 灘神戸生活協同組合商品検査センター

*² 日本生活協同組合連合会商品検査センター

長谷川ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 単独接種細菌および酵母ならびに市販生鮮食品中の一般細菌に対する亜塩素酸ナトリウムの抗菌作用
日本防菌防学会第16回年次大会(1989.5.22)

柴田 正, 辻 澄子, 伊藤誉志男, 慶田雅洋*¹, 浅居良輝*², 野田克彦*³, 荒木一晴*⁴: 食品中の天然添加物であるリゾチームの蛍光分析法の開発

酵素法による食品分析研究会平成1年度講演会(1989.5.24)

*¹ ネッスル

*² 雪印乳業

*³ 明治乳業

*⁴ 森永乳業

Makoto EMA, Asefa GEBREWOLD*, Bella T. ALTURA* and Burton M. ALTURA: **Alcohol-induced vascular damage of brain can ameliorated by administration of magnesium.**

5th International Magnesium Symposium, Kyoto(1988.8.9)

* Dept. of Physiology, State Univ. of New York Health Science Center at Brooklyn

Makoto EMA, Asefa GEBREWOLD*, Bella T. ALTURA* and Burton M. ALTURA*: **Magnesium salts can ameliorate cerebral vascular damage induced in brain by administration of alcohol: Gender-liked differences.**

Federation of American Societies for Experimental Biology 73rd Annual Meeting, New Orleans(1989.3.20)

* Dept. of Physiology, State Univ. of New York Health Science Center at Brooklyn

天野博夫, 久保孝夫*, 三須良実*: **ラットの血中 Neuropeptide Y の由来と上腸間膜動脈灌流標本におけるシナプス後交感神経伝達促進作用**

第79回日本薬理学会関東部会(1988.10.15)

* 横浜市立大学

村井敏美, 小川義之, 川崎浩之進: **A群溶血性レンサ球菌の産生する発熱性外毒素による大腸菌内毒素の致死毒性増強作用機序について**

第106回日本獣医学会(1988.11.13)

川崎浩之進: **製造用水に対するリムルス試験の制度化各種製造用水で考慮すべき課題に関するシンポジウム**—特に日本薬局方追補に関連して—
日本防菌防学会(1989.2.10)

小川義之：パイロジェンの不活化

各種製造用水で考慮すべき課題に関するシンポジウム
一特に日本薬局方追補に関連して—日本防菌防黴学会
(1989. 2. 10)

川崎浩之進：リムラステストと医療用具の発熱性物質
試験への応用

日本医療用プラスチック協会講演会 (1989. 2. 14)

畠山好雄：北方系薬用植物の栽培研究

第39回日本東洋医学会学術総会 (1988. 6. 12)

畠山好雄：薬用植物と農作物

第26回日本育種学会，日本作物学会北海道談話会シン
ポジウム (1988. 8. 10)

香月茂樹，畠山好雄，姉帯正樹*，山岸 喬*：ホソバ
オケラの栽培について

日本生薬学会北海道支部第12例回 (1988. 6. 4)

* 北海道立衛生研究所

嵯峨 均*，角谷治夫*，松下貴子*，石丸英彦*，寺山
泰郎*，下村講一郎，池田嘉代，佐竹元吉：Duboisia

毛状根培養によるトロパンアルカロイドの生産

日本植物組織培養学会，第1回植物組織培養コロキウ
ム (1988. 7. 19. 20)

* ライオン株式会社第一応用研

池田嘉代，下村講一郎：トコンの組織培養に関する研
究 5，茎切片からの不定芽形成

日本生薬学会第35回年会 (1988. 9. 16)

広瀬 誠*1，名取信策*1，下村講一郎，池田嘉代，石
丸幹二，佐竹元吉，尙培根*2：泡囊草 (Physochlainaphysaloides) の root culture によるトロパンアルカ
ロイド生産

日本生薬学会第35回年会 (1988. 9. 17)

*1 明治薬科大学

*2 中国医学科学院薬用植物資源開発研究所

石丸幹二，下村講一郎，佐竹元吉，鎌田 博*2，須藤
浩*1，長谷川由紀*2，松永祐士*2，竹本 平*2：センブ
リ毛状根の培養とその成分

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

*1 筑波大学

*2 鐘紡佛生化学研究所

池田嘉代，下村講一郎，佐竹元吉，石丸幹二，澤田純
一，寺尾允男：ELISA 法を用いたケジギタリス選抜
法について

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

広瀬 誠*，名取信策*，下村講一郎，池田嘉代，石丸
幹二，佐竹元吉：Physochlaina physaloides の毛状
根および不定根の特性

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

* 明治薬科大学

下村講一郎，池田嘉代，鎌田 博*，小笠原健*：薬用
植物への外来遺伝子導入法の開発(1) レポーター遺伝
子の利用

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

* 筑波大学遺伝子実験センター

米光 裕*，持田俊二，*下村講一郎，佐竹元吉：ロベ
リア毛状根培養によるアルカロイド生産

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

* 津村研究所

岡村信幸*，藤井明子*，辻川正彦*，八木 晟*，下村
講一郎，北澤 尚：Tanshinone 関連化合物の HPLC
による定量分析

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

* 福山大学薬学部

菊池 裕，入江昌親，丹野雅幸，末吉祥子，神谷庄造，
石丸幹二，下村講一郎，沢田純一，寺尾允男：スコポ
ラミンに対するモノクローナルおよびポリクローナル
抗体の調製ならびにその性質

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 6)

佐藤恭子，山崎 壮，奥山恵美，義平邦利，下村講一
郎，鎌田 博*，小関良宏**，中村幹夫***：天然色素
の研究Ⅹ，セイヨウアカネ (Rubiatinctorum L.) の
毛状根培養における植物ホルモン等の影響

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

飯田 修，長南明夫，浜野朋子*，安田一郎*：ムラサ
キの生育とシコニン類含量におよぼす温度の影響

日本生薬学会第35回年会 (1988. 9. 16)

* 東京都立衛生研究所

江崎勝司, 佐竹元吉, F. AYALA, 楠見武徳*¹, 柿澤寛*¹, 神田博史*², 糸川秀治*³: ペルー産生薬の研究 (II)

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 6)

*¹ 筑波大学化学系

*² 広島大学総合薬学科

*³ 東京薬科大学

糸川秀治*¹, 市原淑立*¹, 小嶋浩史*¹, 竹谷孝一*¹, 佐竹元吉, Mario MOTIDOME*²: 南米産薬用植物 *Croton cajucara* の樹皮の成分

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 4)

*¹ 東京薬科大学

*² サンパウロ大学

細田勝子, 野口 衛, 玉置克己, 本下哲央, 八田真義: 薬用植物の栽培と調製に関する研究 第4報

シマサイロについて

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

細田勝子, 野口 衛, 小早川真: 薬用植物の栽培と調製に関する研究第3報 紀州産キジツの品質評価について

日本薬学会第109年会 (1989. 4. 5)

細田勝子, 野口 衛: 紀州産かんきつ類より製したキジツの品質

第11回生薬分析討論会 (1988. 11. 15)

Mamoru NOGUCHI, Katsuko HOSODA: Precipitation Reaction of Berberine with Glycyrrhizin in Aqueous Solution

International Congress on Natural Products Research, Park City, U. S. A. (1988. 7. 17)

所員の研究、試験および検査に関する発表者とする「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63年に行った演題は次のとおりである。

第304回(昭和63年4月12日)

1. 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
環境衛生化学部 ○滝口 秀 昭
松村 年 郎
亀谷 勝 昭
2. 食品中のオルトリン酸の含有量調査
大阪支所食品部 辻 澄子
3. キトサン膜からの薬物放出性に及ぼす膜の酵素分解の影響
大阪支所薬品部 四方田 千佳子
4. TCEP 投与によるマウスの発癌性試験
毒 性 部 高田 幸一
5. *p-sec-Butylphenol* の毒性に関する研究
毒 性 部 川崎 靖
6. ムスカリン性アセチルコリン受容体刺激による神経伝達物質放出の新しい機序
薬 理 部 井上 和秀
7. 活性酸素発生系における染色体異常誘発—ソフトX線による検討—
変異原性部 ○祖父尼 俊雄
沢田 稔
石館 基

第305回(昭和63年5月10日)

1. コンピューターシミュレーションによる試験規格の同等性の評価
薬 品 部 香取 典子
2. メラミン樹脂製食器における問題点とホルムアルデヒド及びメラミンの移行について
食品添加物部 石綿 肇
3. ミクロソームの酸化的脱アミノ反応—シクロヘキシルアミンにおける重水素同位体効果—
医 化 学 部 紅林 秀雄
4. モルヒネに対するモノクローナル抗体の調整及び性質
放射線化学部 ○沢田 純一
永松 国助

5. メタロチオネインに対するモノクローナル抗体の性質
放射線化学部 ○菊池 裕
沢田 純一
池 湧 秀治

6. ハムスターにおけるチトクロームP-450-Iの組織・器管内分布について

—モノクローナル抗体を用いて—

- 薬 理 部 ○藤内 桃子
病 理 部 古川 文夫
高橋 道人

第306回(昭和63年6月14日)

1. Half-embryo Test による照射グレープフルーツの判別について
食 品 部 河村 葉子
2. 逆浸透膜の性能評価における指標物質の検索
大阪支所薬品部 村井 真美
3. マウウの肺腫瘍発生における高脂肪食の促進作用
病 理 部 ○岡宮 英明
松岡 千明
佐藤 秀隆
古川 文夫
豊田 和弘
高橋 道人
林 裕造
4. 胆汁酸代謝物によるラット肝ペルオキシゾームの増生
病 理 部 ○今沢 孝喜
豊田 和弘
佐藤 秀隆
古川 文夫
高橋 道人
林 裕造
5. Valeriana 属植物の品質に関する研究
生 薬 部 ○張 伯崇
鈴木 英世
原田 正敏
筑波薬用植物栽培試験場 佐竹 元吉
6. クスリウコンの抗炎症作用およびその活性成分
生 薬 部 尾崎 幸紘

第307回(昭和63年7月12日)

1. スナネズミの血液形態学的検査について

毒性部 落合敏秋

2. 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

大阪支所食品部 外海泰秀

3. 初代培養肝細胞における薬物代謝酵素の誘導

薬理部 広田晃一

4. ラット臍の腺房細胞腫瘍発生における大豆粗製トリプシンインヒビターの促進作用

病理部 ○古川文夫

豊田和弘

岡宮英明

今沢孝喜

下地尚史

今井田克己

篠田和俊

高橋道人

5. フェニルブタゾンの腎、甲状腺発癌に対するプロモーション作用について

病理部 ○小野寺博志

松島裕子

永岡隆晴

外館あさひ

窪田友子

前川昭彦

林裕造

6. ラット臍ラ氏島腫瘍発生におけるコーチゾンアセテートのプロモーター作用の検索

病理部 ○下地尚史

長谷川良平

今井田克己

林裕造

第308回(昭和63年9月13日)

1. 酵素を用いた不斉合成
—カルババネム類の合成—

合成化学研究部 栗原正明

2. 細胞株同定のための新しい方法論の検討

変異原性部 ○渡辺英子

品川保弘

水澤博

3. 2,2'-メチレンビス(4-エチル-6-tert-ブチルフェノール)(MBEFP)のラット体重増加抑制作用について

毒性部 高木篤也

4. 黄体ホルモン剤の男性化作用に対する卵胞ホルモン剤の協力作用

薬理部 川島邦夫

第309回(昭和63年10月11日)

1. エトポシド類の安定性—水溶液におけるエビマー化及び加水分解反応の速度論的検討—

薬品部 ○阿曾幸男

林譲

吉岡澄江

2. オビエートレセプターのリン酸化反応について

放射線化学部 ○永松国助

鈴木和博

3. 放射線滅菌による医療用ポリウレタンの物性変化について

療品部 ○新谷英晴

菊池寛

辻楠雄

中村晃忠

4. A群溶血性連鎖球菌の産生する発熱性外毒素による大腸菌内毒素の致死毒性増強機序について

(I) 血中の生化学的毒性指標による基礎的解析

大阪支所薬理微生物部 村井敏美

5. KSN マウスの血液形態学的検査値

毒性部 松本清司

6. トリプロモメタン, ジプロクロロメタン, プロモジクロロメタンの慢性毒性に関する研究

化学物質情報部 会田喜崇

第310回(昭和63年11月8日)

1. 放射線滅菌ならびに高圧蒸気滅菌されたポリウレタン中の発癌物質, 4,4'-ジアミノジフェニルメタン(MDA)の分析について

療品部 ○新谷英晴

中村晃忠

2. ビタミンA製剤の安定性試験において例示された非等温予測法の特性について

薬品部 ○吉岡澄江

阿曾幸男

3. 正常及び糖尿病雄ラットの生殖器系臓器におけるポリオール経路

生物化学部 ○川崎ナナ

谷本剛

4. ラット前胃上皮細胞におけるDNA損傷の検出

医化学部 森本和滋

5. ラセミビンドロールの血中挙動に対する細菌内毒の影響について

毒性部 長谷川隆一

6. コハク酸-ナトリウムの亜急性毒性及び癌原性試験について

病 理 部 ○外 館 あさひ
小野寺 博 志
松 島 裕 子
永 岡 隆 晴
前 川 昭 彦

祖父老 俊 雄

合成化学研究部 宮 田 直 樹

5. RecA に依存した大腸菌 UmuD の開裂反応とその生理的意義

変 異 原 性 部 能 美 建 彦

6. 動物倫理規定の現況と衛試試案

安全センター毒性部 ○戸 部 満寿夫
降 矢 強

第 311 回 (昭和63年12月13日)

1. 食品中亜硫酸の比色定量法の確立

大阪支所食品部 柴 田 正

2. モノクローナル抗体を用いた穀類中ニバレノールの酵素免疫測定法の検討

放射線化学部 ○池 潤 秀 治
手 島 玲 子
沢 田 純 一

衛生微生物部 一 戸 正 勝

療 品 部 佐 藤 道 夫

日 本 医 大 平 井 和 人

3. Di-n-butyl phthalate isomers に対するラット臓器酵素のエステラーゼ活性について

医 化 学 部 高 橋 昭 江

4. モノオキソゲナーゼモデル反応の開発

一二、三の反応例について一

生 物 化 学 部 田 中 彰

5. 6-Mercaptopurine の亜急性毒性および癌原性試験について

病 理 部 ○永 岡 隆 晴
小野寺 博 志
松 島 裕 子
外 館 あさひ
前 川 昭 彦

第 312 回 (平成元年1月10日)

1. 市販生鮮魚類および野菜に対する亜鉛素酸ナトリウムの品質保持作用

大阪支所食品部 長谷川 ゆかり

2. 食品中の有機燐系農薬の一斉分析について

一柑橘類およびバナナ一

食 品 部 宮 原 誠

3. 高親和性 Immunoglobulin E 受容体のリン酸化反応について

放射線化学部 手 島 玲 子

4. BHA およびその代謝物の *in vitro* 染色体異常誘発性について

変 異 原 性 部 ○松 岡 厚 子

第 313 回 (平成元年2月14日)

1. イオンクロマトグラフィーによる食用赤色3号および105号中のヨウ化物の定量について

食品添加物部 ○合 田 幸 広
佐 藤 恭 子
神 蔵 美 枝 子
義 平 邦 利

2. モノクローナル抗体を用いたメタロチオネインの POST-LABELINGRIA 法による定量

放射線化学部 ○菊 池 裕
沢 田 純 一

3. *In vitro* assay 系を用いた催奇形性の宿主経由試験について

療 品 部 土 屋 利 江

4. ニッケル遅延型アレルギーの *in vitro* 試験について

療 品 部 ○五 十 嵐 良 明
土 屋 利 江
毒 性 部 門 馬 純 子

5. ニトロアレンの還元特性と変異原性との相関について

合成化学研究部 福 原 潔

6. 活性酸素発生系における染色体異常誘発性—Menadione 抵抗性細胞の分離とその利用—

変 異 原 性 部 ○沢 田 稔
祖父尼 俊 雄

7. ベルオキシゾーム増殖剤経口投与によるラット肝の8-ヒドロキシデオキソキソアノシン (8-OH-dG) の生成

毒 性 部 左 井 君 江

8. 精巣毒性の解析における病理学的手法の検討—BrdU 免疫組織化学およびランタン・トレーサー法の意義—

病 理 部 ○篠 田 和 俊
岡 宮 英 明
今 沢 孝 喜
下 地 尚 史

古川 文 夫
今井田 克 己
高橋 道 人

石 館 基
NIEHS(USA) Michael D. Shelby

第314回 (平成元年3月14日)

1. 脂質の光酸化に対するクロロフィル分解物の影響
について

食品添加物部 ○武田 由比子
義平 邦 利

2. マウス抗ステロイドモノクローナル抗体の可変領
域の一次構造

放射線化学部 ○水 沢 左衛子
沢 田 純 一

3. CHL および CHO 細胞を用いる *in vitro* 染色
体異常試験の比較: 米国 NTP 計画との協力研究

変異原性部 ○祖父老 俊 雄
松 岡 厚 子
沢 田 稔

4. p-Dichlorobenzene (p-DCB) によるラット腎毒
性発現の性差に関する研究

毒 性 部 ○梅 村 隆 志
食 品 部 河 村 葉 子

5. 実験的肝線維化: Hydroxyproline 量のラット肝
の各葉における差に関する検討

病 理 部 ○高 橋 智香子
下 地 尚 史

矢 沢 る り

古 田 京 子

今 沢 孝 喜

高 村 直 子

今井田 克 己

6. 抗酸化剤 BHA の代謝および発癌機序
—その有機化学的探索, その1—

合成化学研究部 宮 田 直 樹

支 所 例 会

第93回 (昭和63年6月13日)

1. 新規環拡大反応とその周辺
(置換5員環の立体選択的合成と7員環への環拡大を中心として)
薬 品 部 田 中 正 一
2. Dean-Stark 蒸留装置を用いる環境水中の有機化合物の分析
食 品 部 長 谷 川 ゆ かり
3. 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
食 品 部 外 海 泰 秀

第94回 (昭和63年7月18日)

1. 液体クロマトグラフ法による軟膏及びクリーム中のフルオロメトロン及び酢酸デキサメタゾンの定量
薬 品 部 徳 永 裕 司
2. ラットにおける Tween 60 の催奇形試験
薬 理 微 生 物 部 江 馬 真
3. 自らの学研のすすめ
支 所 長 伊 阪 博

第95回 (昭和63年9月12日)

1. 逆浸透膜の性能評価における指標物質の検索
薬 品 部 村 井 真 美
2. A群溶血性連鎖球菌の産生する発熱性外毒素による大腸菌内毒素の致死毒性増強機序について
(1) 血中の生化学的毒性指標による基礎的解析
薬 理 微 生 物 部 村 井 敏 美
3. 日本人の食品添加物1日摂取量実態調査研究

—食品中の食品添加物残存量測定による調査研究のまとめ—

食 品 部 伊 藤 誉 志 男

第96回 (昭和63年10月24日)

1. ラットの血中 Neuropeptide Y の由来とシナプス後交感神経伝達促進作用
薬 理 微 生 物 部 天 野 博 夫
2. アスコルビン酸含有清涼飲料水中の H_2O_2
食 品 部 辻 澄 子
3. 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
薬 品 部 岡 田 敏 史

第97回 (昭和63年11月24日)

1. アルギン酸とその塩類のラットにおける代謝及び血清 Na, K, Ca 濃度におよぼす影響
食 品 部 中 村 優 美 子
2. キトサン膜の酵素分解性及び内包薬物の放出
薬 品 部 四 方 田 千 佳 子
3. 筋小胞体の Dolichol Kinase 活性
薬 理 微 生 物 部 伊 丹 孝 文

第98回 (昭和63年12月20日)

1. 徐放性製剤の溶出試験法に関する考索
薬 品 部 小 室 徹 雄
2. 非経口薬のリムルス試験
薬 理 微 生 物 部 小 川 義 之
3. 食品中亜硫酸の比色定量法の確立
食 品 部 柴 田 正

 特別講演会

昭和63年6月8日

「血液伝播ウイルスの性状と血液試料の取扱法」について

国立予防衛生研究所 HB 抗原室長

吉原 みな子

平成元年1月18日

「植物ウイルス CAMY の逆転写酵素による DAN 合成の分子機構」について

農林水産省農業生物資源研究所

分子育種部長 池田 稜 衛

昭和63年9月12日

「炎症反応の解析と薬物制御機構」について

東北大学薬学部教授

鶴藤 丞

平成元年2月16日

「エイズウイルス、特に SIV を中心として」について

国立予防衛生研究所霊長類センター

向井 鏡三郎

昭和63年10月21日

「プレオマイシンの生物応答を有機化学で語る」について

東京大学薬学部教授

大野 雅二

平成元年3月10日

「RNA 腫瘍ウイルスの生物学」について

東京大学医学部教授

吉倉 廣

昭和63年11月24日

「細胞特異的接着材料の分子設計」について

東京女子医学大学付属医用工学研究施設講師

片岡 一則

平成元年3月15日

「肝炎ウイルスと肝発癌」について

(財) 癌研究会・癌研究所

部長 小池 克郎

 支所所内講演会

昭和63年10月4日

「最近の血液事情について」について

岡山県赤十字血液センター

副センター長 石居 昭夫

昭和63年度に行った主な研究課題

Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1988

特別研究 (厚生省)

1. 生活関連諸物質に含まれる微量有害成分の体内動態ならびに毒性発現機構に関する研究 (合成, 生薬, 環境, 食品, 衛微, 医化学, 変異原, 支所食品)
Disposition and toxicological mechanism of toxic trace compounds in the environment and foodstuffs
2. 生活関連反応指標の有意性判定に関する研究 (生物, 放射線, 療品, 食添, 薬理, 病理, 支所薬微)
Study on *ex vivo* and *in vitro* systems for the measurement of biological effects of drugs and chemicals

国立機関原子力試験研究費 (科学技術庁)

1. 標識化合物を用いた化粧品安全性試験法の開発研究 (合成, 放射線, 環境, 食添, 薬理)
Development of an assay system for evaluation of the safety of cosmetics by using radiolabeled compounds
2. 薬用植物の優良品種の選抜法の開発研究 (合成, 放射線, 筑波)
Study on bleeding of medicinal plants by using radioimmunoassay
3. 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, 放射線, 療品, 医化学)
Utilization of labeled compounds and cell technology for the development of *in vitro* sensitization tests for drugs and chemicals
4. 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, 衛微, 筑波)
Development of analytical methods for food contaminants by using radiolabeled compounds
5. 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
Study on identification and wholesomeness of γ -irradiated citrous fruits
 - (1) 柑橘類等の γ 線照射の有無判別法に関する研究 (食品)

Study on identification of γ -irradiated citrous fruits

- (2) γ 線照射した柑橘類の毒性に関する研究 (毒性)
Toxicological studies on γ -irradiated grapefruits
- (3) γ 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 γ -irradiated citrous fruits
6. 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)
Study on improvement of radioimmunoassay by genetic engineering
7. 新医用高分子材料の放射線滅菌による血液適合性の变化に関する研究 (療品)
Research on hemocompatibility changes of biomedical polymers by γ -ray sterilization
8. 高速液体クロマトグラフィーを適用した放射性医薬品の品質試験法の開発に関する研究 (生物)
Study on the development of assay methods of radiopharmaceuticals by high-performance liquid chromatography

放射能調査研究費 (科学技術庁)

環境試料中の天然放射性核種の調査に関する研究 (環境)
Study on the determination of natural radioactive nuclides in environmental samples

科学技術振興調整費 (科学技術庁)

1. 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
 - (1) 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変換に関する研究 (放射線)
Study on the functional modification of growth hormone receptors of human lymphocytes by biochemical methods
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 毒性予測知識ベースシステムの開発 (情報, 変異原)

Development of a knowledge based system for toxicity prediction using structure-activity relationship (SAR) of chemical substances

3. 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, 放射線, 変異原, 生物)

Study on methods for the detection of pathogenic bacteria and their toxic substances using recombinant DNA technology

4. 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)

Study on organ specific toxicity using recently established freshly isolated cells

5. トランスジェニック植物を用いた新生理活性物質の研究 (筑波)

Research on the production of new biologically active compounds by transgenic plants

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. 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索法の確立に関する研究 (薬理)

Study in the assessment of putative potential toxicity of environmental pollutants at low doses using culture systems

3. 先端技術産業に係る環境汚染物質による脳・神経機能に対する影響の評価法に関する研究 (支所薬理微, 毒性, 薬理)

Evaluation methods for the effects of environmental pollutants on brain and neuronal functions

4. 実験動物結果からの化学物質の低濃度暴露時のヒトに対する影響を指定するための毒物動態学的研究 (合成, 放射線, 医化学, 変異原)

Estimation of risk to humans by extrapolation from low dose animal data: Toxicokinetics studies

5. 公共用水域の保全に係る高分子凝集剤の評価に関する研究 (環境, 毒性)

Evaluation of polyelectrolytes to the ambient water quality conservation

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

7. 先端技術産業に係る環境汚染物質の拡散予測とモニタリング手法の開発に関する研究 (食品)

Study on the diffusion process and monitoring method of pollutants related to high technology industries

厚生科学研究費補助金 (厚生省)

1. 食品中の発癌関連物質の実態究明と安全性評価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. サルによる静脈内自由摂取装置を用いる多剤乱用薬物の精神依存性に関する研究 (センター長)

Study on psychological dependence of abused drugs with intravenous self-administration instruments in monkeys

3. 医療用具及び医用材料の毒性試験体系の確立に関する研究 (センター長, 療品, 病理, 変異原)

Study on establishing guidelines for pre-clinical toxicity evaluation of medical devices and biomaterials

4. 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

5. 日本薬局方製剤の品質規格の設定に関する研究 (薬品, 支所薬品)

Study on standards of drug formulations in Japanese Pharmacopoeia

6. 医薬品の標準品に関する調査研究 (生物, 支所薬品)

Survey and research on Reference Standards of drugs

7. 日本薬局方外生薬の品質確保に関する研究 (生薬, 筑波)

Study on maintenance in quality of crude drugs not listed in the Japanese Pharmacopoeia

8. 医薬品等に用いられるフロンの代替品に関する研究 (療品)

Investigation of alternatives for chlorofluoro-

- carbons used in pharmaceutical preparations and other products
9. 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 components of cosmetics
 10. 食品中の残留農薬規制に関する国際比較研究 (食品)
Comparison of international residual pesticide regulation
 11. 人工腎臓装置等の品質確保に関する研究 (衛徴)
Study on the quality assurance of hemodialysis apparatus as sterile medical devices
 12. 生活環境における発がん関連物質の曝露実態の総合的把握と評価に関する研究 (食品)
Assessment of exposure of man to carcinogens and related chemicals in the environment
 13. 難病の疾患モデル調査 (変異原)
Investigation of malignant disease models
 14. 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及び品質確保に関する研究 (センター長, 生薬, 放射線, 変異原, 筑波)
Study on quality control of medicine produced by application of plant tissue culture
 15. 医薬品生産に用いられる動物細胞に関する基礎的研究 (生物)
Study on quality control of mammalian cell substrates for drug production
 16. 一般用医薬品の評価方法に関する研究 (センター長, 生薬)
Study on the methodology for evaluation of proprietary drugs
 17. モデル医療機関における GCP の実施手法に関する研究 (センター長)
Research on the procedures for GCP in Japan
 18. リスクアセスメント手法等の改善と確立等に関する研究 (センター長, 療薬, 食品, 医化学, 情報, 毒性, 薬理, 病理, 変異原)
Study on risk assessment for ohemical exposure
 19. 高齢者薬物療法の総合的研究 (薬品)
Study on dosage forms suitable for elderly patients
 20. 熱帯病治療薬の開発研究 (薬品)
Study of therapeutic medicine for tropical diseases
 21. がん末期医療の在宅ケアのための疼痛管理に用いている麻薬製剤に関する研究 (薬品)
Chemical study on narcotic maintenance for cancer pain
 22. 畜水産食品の有害物質の分析法及び汚染実態に関する研究 (食品)
Study on the establishment of analytical method for toxic substances in fish and livestock products and fact-finding survey on pollution
 23. 医療における日本薬局方の役割に関する研究 (副所長, 生物)
Study on roles of pharmaceuticals in the Pharmacopoeia of Japan in medical treatment
 24. 受託試験施設で行われる医薬品の安全性試験の適正化に関する研究 (センター長)
Questionnaire on the present status of contract laboratories in Japan
 25. 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
 26. フェネチルアミン類の尿中代謝産物に関する研究 (薬品)
Study on urinary metabolites of phenethylamines
 27. 組換え DNA 医薬品の開発手法に関する研究 (生物)
Study on quality control and standardization of recombinant DNA drugs
 28. 紫外線吸収剤の配合基準設定に関する研究 (毒性)
Study on the establishment of a combination standard of UV absorbent
 29. 化粧品等に使用する色素の規格整備に関する研究 (環境)
Study on the standards for colors of cosmetics
 30. 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研究 (生物, 毒性, 薬理, 病理)
Study on biological effects of biotechnologically produced medicines
 31. 医薬品原料および添加物の規格整備のための研究 (合成, センター長, 薬品, 生物, 生薬, 変異原, 支所長)

- Study on standards for pharmaceutical ingredients and additives of drugs not listed in the Japanese Pharmacopoeia
32. 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)
Study on establishment of guidelines for safety and effectiveness of dental materials
33. 実験動物の吸入 (経気道) 急性毒性試験法に関する研究 (センター長, 情報)
Improvement of animal test for acute inhalation toxicity
34. 食品添加物のアレルギー性に関する調査研究 (情報, 毒性, 食品, 食添, 医化)
Survey on toxicological and biochemical literatures on some food additives listed in the FAO/WHO(A1) food additive list
35. 血液製剤の将来需給体系のあり方に関する研究 (療品)
Study on establishing guidelines for quality, performance and clinical evaluations of donor-plasmapheresis devices
36. 新開発食品等に関する調査研究 (副所長)
Regulatory issues on newly developed food-stuffs
37. 食品中の有害物質等の実態に関する研究 (食品, 毒性, 支所食品)
National survey of pollutants in foods
38. 医薬品の基礎研究分野における研究交流の在り方についての研究 (薬理)
Study on the collaboration in basic research for the development of drugs
39. 天然添加物の分析法等に関する調査研究 (食添, 支所食品)
Study on analysis of natural food additives
40. 新しい日米科学に関する研究 (センター長)
Toxicology program under the US-Japan non-energy research cooperation
41. 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 municipal water supply
42. 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
43. BHA 代謝産物の変異原性試験 (変異原)
Mutagenicity study on metabolites of BHA
44. ステビオサイドの変異原性試験 (変異原)
Mutagenicity study on stevioside
45. 既存化学物質の変異原性に関する研究 (変異原)
Mutagenicity study on existing chemicals
46. 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 an analytical method for natural toxic compounds in imported foods
47. 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)
Development of a data-base for harmful substances in foods
48. 紙製器具の衛生確保に関する研究 (食添)
Fundamental study on quality control of paper products in contact with food
- 科学研究費補助金 (文部省)**
1. 遺伝子資源としての本邦保有微生物株の収集, 同定と情報整理に関する研究 (衛徴)
Collection and identification of Japanese microorganisms for the gene bank and collation of microbial culture [information for database
 2. 発がんにおける酸素ラジカルの関与 (病理)
Effects of oxygen radicals on carcinogenesis
 3. 単離平滑筋細胞における交感神経伝達物質の作用 (薬理)
Effects of sympathetic neurotransmitters on freshly isolated single smooth muscle cells
 4. 微生物の遺伝子突然変異データベース (変異原)
Microbial gene mutation data base
- がん研究助成金 (厚生省)**
1. 非変異原性発がん物質の発がん機構における活性酸素の関与に関する研究 (毒性, 食品)
Involvement of active oxygen in the carcinogenic mechanism of non-mutagenic carcinogens
 2. 消化器発がんの修飾要因 (病理)
Modification of gastro-intestinal carcinogenesis in animals
 3. 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 study for regulation of environmental carcinogens
 4. 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 (病

理)

Setup of a information network for cancer in reference to clinico-epidemiological studies on primary and secondary cancer prevention

5. 飲料水及び空気の発がん物質汚染の定量的解析
=水中ベンツ(a)ピレンの塩素処理時における
変異原性物質の研究(環境)

Study on quantitative analysis of carcinogenic pollutants in drinking water and atmosphere-
Elucidation of carcinogenic pollutants in drinking water

6. 生体高分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

7. 食品中に含まれるN-ニトロソ化合物前駆体に関する研究(所長, 食添, 薬理)

Study on the endogenous formation of carcinogenic N-nitroso compounds and nitrosatable compounds in food

8. ヒトがん発生に関する要因の基礎的, 臨床的研究(病理)

Correlative experimental and clinical studies on development of human cancer

9. 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

10. 化学物質による加齢性病変の発現に関する研究(病理)

Study on chemical-induced age-related lesions in animals

食品添加安全性再評価費

1. 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 pyrophosphate in rats

2. タンニン酸の慢性毒性ならびに癌原性試験(病理)

Chronic toxicity and carcinogenicity study of tannic acid 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)

Study on an identification method of abused drugs—Hair analysis for monitoring drug abuse history

2. 昭和63年度タール色素毒性研究(センター長)

Study on the tar dye

3. 発達期における薬物感受性の変化に関する行動薬理学的研究(薬理)

Behavioral pharmacological study on variation of drug-sensitivity in the developmental stage

水道等試験検査費

水道水中エチレンジブロマイド, アクリロニトリルの分析方法の開発(環境)

Establishment of analytical methods for ethylenedibromide and acrylnitrile

乱用薬物基礎研究費

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(センター長, 毒性, 薬品, 合成, 放射)

Study on dependence, behavior and biological effects of drug abuse especially multi-drug abuse

家庭用品等試験検査費

p-tert-ブチルフェノールホルムアルデヒドレジジン(ノボラック型)のラットに対する催奇形性試験(支所薬徴)

Teratology study of p-tert-butylphenol formaldehyde resin (Novolak type) in rats

食品等試験検査費

1. 食品添加物の有効性に関する研究(食添, 支所食品)

Study on efficacy of food additives

2. 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

3. 食品由来成分の含有量実態調査研究(支所食品)

Investigation on content of compounds found in natural foods

4. 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 methods for food colors

5. 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 in market basket studies in Japan

その他

水道水中の多環芳香族炭化水素の分析方法と塩素処理生成物の挙動に関する研究(環境) 日本

水道協会

Study 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

(1) 微量生理活性物質の探索, 分離精製技術の開発

A. 組換え DNA 技術を応用して生産される蛋白性医薬品の活性型の効率的分離, 精製技術の開発 (生物)

On development of effective isolation and purification techniques for obtaining 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)

Study on survey methods of biologically active substances—Application of monoclonal antibodies—

C. 腸内細菌からの制限酵素を含む遺伝子操作関連試薬の開発 (衛徴)

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 retrovirus in the baboon and preparation of monoclonal antibodies against its protein components

3. 動植物細胞を用いた宿主・ベクター系の開発

(1) 形質転換薬用植物細胞による有用物質の生産の研究 (筑波)

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)

Study on *in vitro* assay methods for drug efficacy and safety using the 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 a test method for evaluating the safety of substances from 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 highly sensitive mutagenicity tests for 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)

Study on standardization of pharmacological assay 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おけるバイオテクノロジーの利用と生産物の化学的安全性評価法の開発に関する研究

Study on production by biotechnology and development of an analytical method for evaluating safety of food products and additives

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 plant tissue culture products

B. 天然食品とバイオテクノロジー食品と成分上の異同識別に関する研究 (食品)

Analytical discrimination of the com-

ponents 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

2. 高分子材料と薬用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 polymer matrices

B. 徐放性製剤の設計および評価技術の確立に関する生物薬剤学的研究 (薬品, 支所薬品) Biopharmaceutical study on the design and evaluation of prolonged-release dosage forms

(3) 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 (薬理)

Study on simulation of human drug metabolism by combination of cytochrome P-450s and their immobilization

5. 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)

Study on preclinical safety evaluation method for polymer materials for implants: *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 Limulus test and its application for 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. 放出調整製剤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

ヒューマンサイエンス振興財団エイズ医薬品開発推進事業

1. エイズ医薬品候補スクリーニング研究 (衛微, 合成, 生薬, 筑波, 生物, 放射線)

Preliminary screening for antiviral AIDS drugs

対がん十カ年総合戦略研究事業

1. 食品中の発がん関連物質の実態の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 method for safety evaluation and exposure assessment of potential carcinogens 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

対がん十カ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 the 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 for 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63年度の検定検査等の処理状況は次のとおりである。

国家検定は4月1日、「ブタ精製インシュリン亜鉛水性懸濁注射液」および「ブタ精製中性インシュリン注射液」の2品目が国家検定品目から削除され、総処理件数では前年度に比べて183件（66.30%）の減少となった。

国家検査は、総処理件数で前年度に比べて35件（20.35%）の減少となった。

製品検査は48件（6.08%）、一斉取締試験は89件（15.72%）、それぞれ前年度より増加となり、特別審査試験は79件（34.96%）、輸入食品検査は1,118件（86.13%）、特別行政試験は27件（24.77%）、それぞれ前年度より減少となった。

検定検査等8項目の総処理件数は下表のとおり2,133件で、前年度に比べて1,303件（37.92%）の減少となった。

区 分	昭和63年度の処理件数					
	東 京		大 阪		合 計	
国 家 検 定	(0)	0件	(93)	93件	(93)	93件
国 家 検 査	(0)	0	(137)	137	(137)	137
製 品 検 査	(302)	302	(535)	535	(837)	837
特 別 審 査 試 験	(178)	147	(0)	0	(178)	147
特 別 行 政 試 験	(76)	76	(6)	6	(82)	82
一 斉 取 締 試 験	(623)	623	(32)	32	(655)	655
輸 入 食 品 検 査	(134)	126	(99)	54	(233)	180
一 般 依 頼 試 験	(2)	2	(0)	0	(2)	2
合 計	(1,315)	1,276	(902)	857	(2,217)	2,133

() 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63年度国家検定品目別月別判定別件数実績表	299頁
○昭和63年度国家検査品目別月別判定別件数実績表	299頁
○昭和63年度製品検査月別判定別件数実績表	300頁

○昭和63年度特別審査試験月別判定別件数実績表	302頁
○昭和63年度輸入食品検査月別判定別件数実績表	302頁
○昭和63年度特別行政試験実績表	306頁
○昭和63年度一斉取締試験判定別件数実績表	306頁

昭和63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	大阪	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ヒトインシュリン注射液	大阪	—	—	—	1	—	1	2	—	2	2	—	2	2	—	2	1	—	1
ヒトインシュリン水性懸濁注射液	大阪	—	—	—	1	—	1	2	—	2	4	—	4	1	—	1	8	—	8
半合成ヒトインシュリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	1	—	1	2	—	2	1	—	1	1	—	1	2	—	2	1	—	1
半合成ヒト中性インシュリン注射液	大阪	—	—	—	2	—	2	1	—	1	2	—	2	2	—	2	2	—	2
半合成ヒト結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	—	—	—	2	—	2	2	—	2	—	—	—	2	—	2	—	—	—
計		2	—	2	8	—	8	8	—	8	9	—	9	9	—	9	12	—	12

昭和63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		
ブドウ糖注射液	大阪	4	—	4	23	—	23	18	—	18	18	—	18	6	—	6	14	—	14	
内訳	内容量 100 ml 未満	大阪	—	—	—	15	—	15	8	—	8	10	—	10	3	—	3	9	—	9
	内容量 100 ml 以上	大阪	4	—	4	8	—	8	10	—	10	8	—	8	3	—	3	5	—	5
結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
無晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
計		4	—	4	25	—	25	18	—	18	18	—	18	6	—	6	14	—	14	

月別判定別件数実績表

10 月			11 月			12 月			1 月			2 月			3 月			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
2	—	2	—	—	—	3	—	3	1	—	1	1	—	1	2	—	2	17	—	17
—	—	—	1	—	1	3	—	3	—	—	—	3	—	3	2	—	2	25	—	25
2	—	2	1	—	1	1	—	1	4	—	4	1	—	1	1	—	1	18	—	18
2	—	2	3	—	3	2	—	2	—	—	—	—	—	—	4	—	4	20	—	20
2	—	2	—	—	—	1	—	1	2	—	2	—	—	—	1	—	1	12	—	12
8	—	8	5	—	5	10	—	10	7	—	7	5	—	5	10	—	10	93	—	93

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
10	—	10	9	—	9	9	—	9	1	—	1	13	—	13	9	—	9	134	—	134
2	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	4	2	—	2	53	—	53
8	—	8	9	—	9	9	—	9	1	—	1	9	—	9	7	—	7	81	—	81
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
10	—	10	9	—	9	10	—	10	1	—	1	13	—	13	9	—	9	137	—	137

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
44	—	44	29	—	29	32	—	32	26	—	26	18	—	18	17	—	17	302	—	302
52	—	52	32	—	32	45	—	45	14	—	14	32	—	32	42	—	42	535	—	535
96	—	96	61	—	61	77	—	77	40	—	40	50	—	50	59	—	59	837	—	837

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	15	—	15	25	—	25	15	—	15	13	—	13	15	—	15	147	—	147
2	—	2	15	—	15	25	—	25	15	—	15	21	—	21	15	—	15	178	—	178

月別判定別件数実績表 (No.1)

10 月				11 月				12 月				1 月				2 月				3 月				合 計				試験件数	
合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計	合 格	不 合 格	無 判 定	計		
4	3	9	16	—	—	—	—	2	2	—	4	2	2	—	4	1	—	—	1	—	—	—	—	63	13	18	94	100	
—	—	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	3	16	17	5	38	73	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	2	—	—	—	—	2	—	—	2	2	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	2	2	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11	1	18	30	32	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	5	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	7	10	15

昭和63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
添 加 物	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
酒 精 飲 料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	1	2	—	—	—	2	—	—
飲 酒 精 原 料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
清 涼 飲 料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
そ の 他 の 飲 料	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器 具 容 器 包 装 お も ち ゃ	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
上 記 い ず れ に も 属 さ な い も の	東京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	大阪	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
東 京	32	—	15	47	18	—	—	18	4	3	12	19	—	1	—	1	10	—	—	10	1	3	—	4
大 阪	1	—	6	7	6	5	—	11	11	7	—	18	—	6	—	6	2	—	—	2	—	1	3	4
合 計	33	—	21	54	24	5	—	29	15	10	12	37	—	7	—	7	12	—	—	12	1	4	3	8

昭和63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	5	薬品部(2) 支所薬理微生物部(3)
	2. 医療用具の試験について	2	療品部
	3. 輸液製剤の試験について	2	支所薬理微生物部
	4. 化粧品試験について	2	環境衛生化学部
	5. 医薬部外品の試験について	7	薬品部
	6. 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	1	
麻薬課	輸入生あへんのモルヒネ含有率試験	60	薬品部
児童家庭局母子衛生課	スキムミルク中の放射性核種の分析について	2	食品部
鹿児島県林業試験場	フザリウム菌の同定について	1	衛生微生物部
合 計		82	東 京 76件 大 阪 6件

昭和63年度一斉取締試験判定別件数実績表

区 分	合 格	不 合 格	無 判 定	計
東 京	602	16	5	623
大 阪	32	0	0	32
合 計	634	16	5	655

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

(平成元年6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	塩酸ピリドキシニン	200mg入 1本	18,400	塩酸ピリドキシニン注射液の定量法
7	エンドトキシニン	2 μ g入 1本	13,900	注射用水のエンドトキシニン試験
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	ジゴキシニン	20mg入 1本	11,900	ジゴキシニン、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単位入 1本	28,400	血清性性腺刺激ホルモン、注射用血清性性腺刺激ホルモンの定量法
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
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、同ナトリウムの定量法
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、プレドニゾンの純度試験
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	ジギトキシニン	50mg入 1本	11,800	ジギトキシニ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	ジゴキシニン	50mg入 1本	11,600	ジゴキシニ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	酒石酸水素エビネフリン	50mg入 1本	10,200	エビネフリン、ノルエビネフリン、同注射液の純度試験
24	酒石酸水素ノルエビネフリン	50mg入 1本	11,400	エビネフリン、ノルエビ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	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	バ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	トロンピン	500単位入 2本	29,500	トロンピンの定量法
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パ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パ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パ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	ブレドニゾン	100mg入 1本	11,900	ブレドニゾンの確認試験, 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	イソフェニ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 (医薬品等試験用標準品)

(平成元年6月1日現在)

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
			円	
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 10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	リン酸プレドニゾンナトリウム	100mg入 1本	10,300	リン酸プレドニゾ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

国立衛生試験所標準品（色素試験用標準品）

（平成元年6月1日現在）

	標準品名	包装単位	価 格	使 用 目 的
1	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
2	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
3	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
4	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
5	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
6	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
7	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
8	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
9	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
10	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
11	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
12	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
13	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
14	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
15	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
16	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
17	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
18	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
19	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
20	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
21	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
22	ニューコクシン	1g入 1本	2,600	食品、医薬品、化粧品および製剤中のニューコクシンの確認試験
23	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
24	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
25	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
26	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

国立衛生試験所標準品（色素試験用標準品）

（平成元年6月1日現在）

	標準品名	包装単位	価 格	使 用 目 的
27	ブリリアントブルー FCF	1g入 1本	2,800 ^円	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
28	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
29	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
30	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
31	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
32	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
33	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
34	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
35	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
36	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
37	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63年度国立衛生試験所標準品出納状況

(医薬品等試験用標準品)

標準品名	前年度末 在庫数量	製造数量	売払数量	自家消費等 数量	年度末 在庫数量	備考
	個	個	個	個	個	
アスコルビン酸	27	314	194		147	
安息香酸エストラジオール	21	0	2	4	15	
インスリン	177	0	50	7	120	
ウロキナーゼ	130	88	171	9	38	
エストラジオール	39	0	11		28	
エストロン	39	0	0		39	
エルゴカルシフェロール	10	100	88		22	
塩酸チアミン	98	200	213	1	84	
塩酸チアミン液	67	0	13		54	
塩酸ピリドキシン	149	350	346	1	152	
エンドトキシン	0	400	341		59	
カリジノゲナーゼ	92	250	221	4	117	
含糖ペプシン	26	80	55		51	
吉草酸ジフルコルトロン	0	50	0	2	48	
吉草酸ベタメタゾン	2	70	22		50	
ギトキシン	13	0	3		10	
血清性性腺刺激ホルモン	124	0	62		62	
コハク酸トコフェロール	110	0	62		48	
コハク酸ヒドロコルチゾン	32	0	6		26	
コレカルシフェロール	58	77	126	1	8	
酢酸コルチゾン	71	0	4		67	
酢酸デキサメタゾン	49	0	1		48	
酢酸トコフェロール	57	487	412		132	
酢酸ヒドロコルチゾン	101	0	64	1	36	
酢酸プレドニゾン	73	0	25	1	47	
シアノコバラミン	58	362	299		121	
ジギタリス	16	0	0		16	
ジギトキシン	68	0	19		49	
ジゴキシン	63	0	34		29	
酒石酸水素エピネフリン	66	0	2		64	
酒石酸水素ノルエピネフリン	22	0	7		15	
G-ストロファンチン	26	0	0		26	
胎盤性性腺刺激ホルモン	101	100	196		5	
チロジン	72	150	162		60	
デキサメタゾン	29	50	20		59	
デスラノイド	71	0	5		66	
トコフェロール	46	241	201		86	
トリアムシノロン	37	0	2		35	
トリアムシノロンアセトニド	24	0	7		17	
トロンビン	29	70	85	1	13	
ニコチン酸	38	0	12		26	
ニコチン酸アミド	70	160	177	1	52	
脳下垂体後葉	54	0	25		29	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	66	54	15		105	

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	
薄層クロマトグラフ用バルミ チン酸レチノール	96	55	34		117	
パラアミノベンゾイルグルタ ミン酸	50	0	11		39	
ヒアルロニダーゼ	20	0	5	1	14	
ヒドロクロチアジド	36	0	2	2	32	
ヒドロコルチゾン	121	0	43	1	77	
フルオンノニド	33	0	5		28	
フルオンノロンアセトニド	20	0	11		9	
フルオロメトロン	49	0	0	1	48	
フルドロキシコルチド	50	0	0		50	
ブレドニゾロン	14	50	57		7	
プロゲステロン	35	0	1	4	30	
プロピオン酸テストステロン	26	0	0	5	21	
プロピオン酸ベクロメタゾン	48	0	0		48	
ベタメタゾン	70	0	7	1	62	
ヘパリンナトリウム	19	100	76		43	
マレイン酸エルゴメトリン	110	0	18	3	89	
メトトレキサート	33	0	1		32	
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 ファピリジン, ワニリン)	46	0	20		26	
葉酸	49	70	108		11	
酪酸ヒドロコルチゾン	50	0	0		50	
ラナトシドC	74	0	13		61	
リゾチーム	319	200	353	12	154	
リボフラビン	117	400	355	1	161	
硫酸プロタミン	55	0	9		46	
リン酸ヒスタミン	104	0	31		73	
リン酸ヒドロコルチゾンナト リウム	0	0	0		0	
リン酸ブレドニゾロンナト リウム	0	0	0		0	
ルチン	34	0	9		25	
レセルピン	16	0	8		8	
計	4,215	4,528	4,937	64	3,742	

(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	74		1		73	
アシッドレッド	0				0	
アゾルビンエキストラ	83				83	
アマランス	465		8		457	
インジゴ	130				130	
インジゴカルミン	0				0	
エオシン	116		1		115	
エリスロシン	0				0	
オイルエローAB	217				217	
オイルエローOB	227				227	
オイルオレンジSS	223				223	
オイルレッドXO	202				202	
オレンジI	274		1		273	
オレンジII	155		1		154	
ギネアグリーンB	67				67	
サンセットエローFCF	0				0	
タートラジン	0				0	
テトラクロルテトラブロムフル オレセイン	149				149	
テトラブロムフルオレセイン	110				110	
トルイジンレッド	76				76	
ナフトールエローS	143		2		141	
ニューコクシン	0				0	
パーマネントオレンジ	28				28	
ハンサエロー	73				73	
ファストグリーンFCF	17		1		16	
ファストレッドS	196				196	
ブリリアントブルーFCF	0				0	
フルオレセイン	187				187	
フロキシソ	346		4		342	
ボンソーR	247		1		246	
ボンソーSX	148		1		147	
ボンソー3R	156		1		155	
リソールルビンBCA	360				360	
レーキレッドC	384				384	
レーキレッドCBA	120				120	
レーキレッドDBA	159				159	
ローズベンガル	0				0	
計	5,132		22		5,110	

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。そのほか誌上发表、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。
 - 誌上发表：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。
 - 誌上发表：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し、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿〆切期日までに図書館宛に提出する。
5. 原稿の審査：図書委員会は提出された原稿の採否および分類を決定する。また、必要ならば字句や表現の部分的な訂正、図表の書き直しなどを求める。

執 筆 規 定

1. 文 体：現代かなづかい、新送りがな、ひらがなまじり口語文とし、簡潔で理解しやすい表現にする。原稿の語句の統一を計るため、原則的に「日本薬局方記載の手引」に従う。ただし用語例に関しては「衛生試験所報告記載の手引」による。止むを得ぬ学術用語以外は当用漢字を用いる。必要ならば全文を外国語で書いてもよい。
 - なお、外国文はタイプライター（ダブルスペース）で打つこと。
 - また、原稿は楷書ペン書きおよびワードプロセッサ書きにする。
 2. 学 術 用 語：学会の慣例に従う。文中では物質はその名称を記し、化学式は用いない。例えば塩酸と書き、HCl としない。また、化学名を英語で書く場合、文中では原則として小文字で始める。
 3. 略記、略語、記号：次の例示のほかは学会の慣例に従う。また、物質名あるいは分析法などを略記するとき、和文、英文とも最初は正式な名称とともに示す。例えば、イソニコチン酸(INA)、示差熱分析法—ガスクロマトグラフィー (DTA-GC) と書き、(以下 INA と略す) などとしない。
- 3.1 単位のべき指数表記には、次の記号を用いる。

テ	ラ (tera)	10 ¹²	T	ミ	リ (milli)	10 ⁻³	m
ギ	ガ (giga)	10 ⁹	G	マイクロ	(micro)	10 ⁻⁶	μ
メ	ガ (mega)	10 ⁶	M	ナ	ノ (nano)	10 ⁻⁹	n
キ	ロ (kilo)	10 ³	k	ピ	コ (pico)	10 ⁻¹²	p
デ	シ (deci)	10 ⁻¹	d	フェムト	(femto)	10 ⁻¹⁵	f
セ	ンチ (centi)	10 ⁻²	c	ア	ト (atto)	10 ⁻¹⁸	a

3・2 物理量, 化学量, 物性などの単位および定数の記号または略号は, 次に掲げるものを用いる.

メートル	m	度(セルシウス)	°C	parts per billion	ppb
マイクロメートル	μm	ケルビン度	K	モル濃度	M
ナノメートル	nm	キュリー	Ci	規定濃度	N
(mμ を用いない)		カウント毎分	cpm	旋光度	α
オングストローム	Å	(cps は用いない)		吸光度	A
平方メートル	m ²	ラド	rad	水素イオン指数	pH
アール	a	レム	rem	pK 値	pK
リットル	l	レントゲン	R	ミハエリス定数	K _m
(L を用いない)		サイクル	cycle	R _f 値	R _f
ミリリットル	ml	回毎分	rpm	保持時間	t _g
(cc を用いない)		ヘルツ	Hz	50%致死量	LD ₅₀
マイクロリットル	μl	キャンデラ	cd	50%有効量	ED ₅₀
(l を用いない)		ルクス	lx	経口投与	p. o.
立方メートル	m ³	ダイン	dyn	静脈投与	i. v.
グラム	g	気圧	atm	腹腔投与	i. p.
マイクログラム	μg	トル	Torr	皮下投与	s. c.
(γ を用いない)		水銀柱ミリメートル	mmHg	筋肉投与	i. m.
時	hr	毎センチメートル	cm ⁻¹	標準偏差	S. D.
分	min	(カイザー)		標準誤差	S. E.
秒	sec	融点	mp		
(時間は複数でも s をつけない)		分解点	mp(dec.)		
アンペア	A	沸点	bp	紫外吸収	UV
ボルト	V	凝固点	fp	赤外吸収	IR
オーム	Ω	比重	d	核磁気共鳴	NMR
ガウス	G	屈折率	n	電子スピン共鳴	ESR
エルステッド	Oe	重量パーセント	%	旋光分散	ORD
ジュール	J	容量/重量パーセント	v/w%	円偏光二色性	CD
カロリー	cal	parts per million	ppm	マスペクトル	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
 イタリアック体——例: 学名など Papaver somniferum L.
 スモールキャピタル=====例: 著者名など Masato ASAHINA

7. 報文, ノート, 資料の記載要領:

7・1 記載順序: 7・2~7・5 の順に書く.

7・2 題名, 著者名: 次の例に従い, 表紙(用紙1枚全部)をこれに当てる.

例: 医薬品の確認試験法に関する研究(第2報)
 鎮痛剤のクロマトグラフィー
 用賀 衛・世田一郎・東京子

Studies on the Identification of Drugs II
 Chromatographic Methods for the Analgesics
 Mamoru YOGA, Ichirō SETA and Kyōko AZUMA

7・3 英文要旨: 論文の内容を簡潔にまとめ, タイプライターで打つ. 参考のため別紙に書いた和文を文献の次に添える.

7・4 本文: 新しいページから書き始める. 本文のスタイルは特に規定しないが, 内容の重複を避ける. 凸版にする図, または原稿用紙に書き切れない表がある場合, それらのそう入位置に若干の余白を設け, 図表の番号を明記する.

7・5 文献: 本文の引用箇所の右肩に^{3), 2, 5), 1-4)}のように記し, 終わりに文献として引用順に書く.

雑誌名は Chemical Abstracts 及び日本化学総覧の略記法による. 外国雑誌名はイタリ

ック体で表し、単行本は書名を省略しない。

- 例：1) 神蔵美枝子, 谷村顕雄: 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)

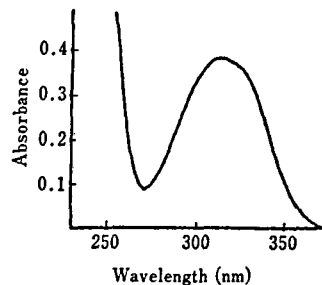


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard" (20 μ g/ml) (コピーにタイプ)

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、本文中のその入ページを記す。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

平成元年度図書編集委員

内山 充	武田 寧	神沼 二真
松田 りえ子	太田 美矢子	関田 節子
新谷 英晴	斉藤 恵美子	宮原 誠
武田 由比子	栗原 正明	鈴木 和博
高橋 昭江	宇田川 俊一	長谷川 隆一
小野田 欽一	今井田 克己	能美 健彦
伊丹 孝文	橋場 茂子	遠山 中夫
二野宮 総子		

衛生試験所報告 第107号

平成元年 11月25日 印刷
平成元年 11月30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 サンヨー印刷株式会社
東京都文京区小石川2-25-12-903