

# 衛生試験所報告

第 110 号

平成 4 年

---

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

No.110 1992

---

国立衛生試験所

衛生試験所  
Eisei Shikenjo Hokoku

# 衛生試験所報告

第 110 号

平成 4 年

---

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

No. 110 1992

Published by  
National Institute of Hygienic Sciences  
Tokyo, Japan

---

国立衛生試験所

## 目 次

## 報 文

- 覚せい剤検体起源解明に関する研究 (第1報)  
 覚せい剤原料と覚せい剤の光学組成の関係……………木倉瑠理・島峯望彦・中原雄二・寺尾允男…… 1  
 THE METABOLISM OF 1,6-DINITROPYRENE IN RAT HEPATOCYTES  
 ……………Lynn Drummond, Yasuo Ohno, Kazushige Morimoto,  
 Kiyoshi Fukuhara, Naoki Miyata and Atsushi Takahashi…… 7  
 アカゲザル静脈内自己投与法によるメチルエフェドリン, カフェイン単独または併用時の  
 強化効果の比較検討……………関田清司・落合敏秋・大野圭子・村上 治・  
 若狭芳男・鶴沢耕二・降矢 強・黒川雄二……15  
*p-tert*-Butylphenolformaldehyde resin のラットにおける催奇形性に関する研究  
 ……………田中亮太・宇佐見 誠・川島邦夫・高仲 正……22  
 F344 ラットを用いた diheptyl phthalate の 28 日間反復強制経口投与毒性試験  
 ……………松島裕子・小野寺博志・三森国敏・前川昭彦・黒川雄二・高橋道人……26  
 F344 ラットにおける pentaerythritol の 28 日間反復投与毒性試験  
 ……………林 修次・豊田和弘・古田京子・畝山智香子・川西 徹・今井田克巳・高橋道人……32  
*N*-nitrosobis(2-oxopropyl) amine 投与ハムスターの臍および肝の急性変化における細胞  
 増殖活性の検討……………榎並倫宣・古川文夫・三井雅之・吉村博之・今沢孝喜・西川秋佳・高橋道人……37  
 1,1-Bis(*t*-butylperoxy)3,3,5-trimethyl cyclohexane のマウスにおける 13 週間  
 亜慢性毒性試験……………三井雅之・古川文夫・鈴木順子・榎並倫宣・西川秋佳・高橋道人……42  
 反復投与毒性試験における暴露期間と無作用量について……………會田善崇・鎌田栄一・中館正弘……48  
 ケシの花芽分化と発育について (第2報)  
 日長時間および温度の影響……………柴田敏郎・三浦忠一・島山好雄……53
- ノ ー ト
- 数種の罹病薬用植物より分離された糸状菌……………佐藤豊三・松橋正仁・飯田 修……60
- 資 料
- 向精神剤の同定に関する研究 (第8報)  
 興奮剤 Anfepramone, Cathinone, N-Ethylamphetamine, Fenethylamine, Fenproporex  
 および Mefenorex 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……67  
 アセトニトリルの環境保健クライテリアの作成: ドラフト完成までの道のり  
 ……………森本和滋・齊藤牧江・逸見雅貴子・山本美智子・神沼二真……73  
 輸入鶏肉中の残留ナイカルバジンの分析……………村山三徳・桜井裕之・多田善彦・内山貞夫・斎藤行生……78  
 生分解性プラスチックの衛生指標に関する基礎的検討……………石綿 肇・杉田たき子・武田明治……80  
 プラスチック製食器に含有される鉛とカドミウムの溶出試験  
 ……………細貝 猛・伊藤澄夫・多田善彦・桜井裕之・杉田たき子・石綿 肇・武田明治……83  
 ポリスチレン製食器中の揮発性物質と溶出物の分析  
 ……………伊藤澄夫・細貝 猛・桜井裕之・多田善彦・杉田たき子・石綿 肇・武田明治……85  
 エイズ医薬品候補スクリーニング研究 III, 1990 年度報告  
 ……………大竹 徹・森 治代・森本素子・上羽 昇・国田信治・松田良夫・松山雅子  
 秋吉京子・野呂新一・佐藤七七朗・桜田教夫・藤田宣哉・石崎 徹・神村紀子  
 吉田幸雄・小野哲郎・大友信也・森下高行・小林慎一・三宅恭司・石原佑武  
 磯村思无・齊藤隆行・小田和正・松崎 稔・関根大正・大貫奈穂美・貞升健志  
 大田健爾・三木 隆・小林伸好・野口有三・千々和勝己・甲斐麻美子・高橋克己  
 三瀬勝利・牛島廣治・清水博之・運天先和・北村 敬・徳永 徹……88

1991 年度に IPCS よりコメント依頼のあった環境保健クライテリア第一次ドラフトについて .....	関沢 純・森本和滋・斎藤牧江・近藤那江.....91
IPCS の環境保健クライテリア (Environmental Health Criteria) 作成における問題点と その解決策について.....	関沢 純.....95
図書目録のデータベース化について .....	楊 学坤・関沢 純.....102
国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control 911) .....	石光 進・泉 若江・村井真美・小松裕明・小室徹雄・岡田敏史.....104
国立衛生試験所塩酸ピリドキシン標準品 (Control 911) .....	泉 若江・小松裕明・石光 進・岡田敏史.....107
国立衛生試験所トコフェロール標準品 (Control 911) .....	泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史.....110
国立衛生試験所プレドニゾロン標準品 (Control 911) .....	泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史.....113
国立衛生試験所 <i>d</i> -カンフル標準品 (Control 911) および <i>dl</i> -カンフル標準品 (Control 911) .....	泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史.....116
国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control 911) .....	泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史.....119
単味イブプロフェン内服固形製剤における品質評価 .....	宮崎玉樹・四方田千佳子・岡田敏史・小室徹雄.....122
輸入食品中の銅クロロフィルおよび銅クロロフィリンナトリウムの分析法に関する検討 .....	津村ゆかり・中村優美子・外海泰秀・伊藤誉志男.....124
平成 3 年度における食用タール色素製品検査より算出した生産量 .....	柴田 正・木村美加・川本礼子・辻 澄子・伊藤誉志男.....128
国立衛生試験所標準品 (色素標準品) ニューコクシン標準品について .....	川本礼子・木村美加・辻 澄子・柴田 正・伊藤誉志男.....131
国立衛生試験所標準品 (色素標準品) アシッドレッド標準品について .....	木村美加・川本礼子・辻 澄子・柴田 正・伊藤誉志男.....132
国立衛生試験所標準品 (色素標準品) インジゴカルミン標準品について .....	辻 澄子・川本礼子・木村美加・柴田 正・伊藤誉志男.....134
GC-MS (SIM) および蛍光検出器付き HPLC による柑橘果実および果汁中の収穫後 使用農薬の分析結果 .....	外海泰秀・津村ゆかり・中村優美子・伊藤誉志男.....135
Determination of Organophosphorus Pesticides in Imported Foods by FPD-GC and GC-MS .....	Yasuhide Tonogai, Yukari Tsumura, Yumiko Nakamura, Yoshio Ito, Yoshinori Watanabe, Yukihiko Shiomi.....140
業務報告 .....	145
誌上発表 .....	191
単行本 .....	251
行政報告 .....	255
学会発表 .....	263
衛試例会 .....	290
平成 3 年度に行った主な研究課題 .....	296
国家検定および検査等の処理状況 .....	305
国立衛生試験所標準品 .....	310
衛生試験所報告第 110 号キーワード索引 .....	319

## CONTENTS

## Originals

Ruri Kikura, Mochihiko Shimamine, Yuji Nakahara and Tadao Terao: Studies on Origin of Illicit Methamphetamine I. The Relationship of Enantiomeric Compositions between Methamphetamine and Its Raw Material (Ephedrine) .....	1
Linn Drummond, Yasuo Ohno, Kazushige Morimoto, Kiyoshi Fukuhara, Naoki Miyata and Atsushi Takahashi: THE METABOLISM OF 1,6-DINITROPYRENE IN RAT HEPATOCYTES .....	7
Kiyoshi Sekita, Toshiaki Ochiai, Keiko Ohno, Osamu Murakami, Yoshio Wakasa, Koji Uzawa, Tuyoshi Furuya and Yuji Kurokawa: Studies on Reinforcing Effects of Methylephedrine, Caffeine and Their Mixture with Intravenous-Self Administration in Rhesus Monkeys .....	15
Ryota Tanaka, Makoto Usami, Kunio Kawashima and Akira Takanaka: Studies on the Teratogenic Potential of <i>p-tert</i> -Butylphenolformaldehyde Resin in Rats .....	22
Yuko Matsushima, Hiroshi Onodera, Kunitoshi Mitsumori, Akihiko Maekawa, Yuji Kurokawa, Michihito Takahashi: Twenty-eight Day Repeated Dose Toxicity Test of Diheptyl Phthalate in F344 Rats .....	26
Shuji Hayashi, Kazuhiro Toyoda, Kyoko Furuta, Chikako Uneyama, Toru Kawanishi, Katsumi Imaida, Michihito Takahashi: Twenty-eight-day repeated dose toxicity test of pentaerythritol in F344 rats .....	32
Tomonori Enami, Fumio Furukawa, Masayuki Mitsui, Hiroyuki Yoshimura, Takayoshi Imazawa, Akiyoshi Nishikawa, Michihito Takahashi: Studies on Cell Proliferation Activities in Acute Toxic Lesions in the Liver and Pancreas of Hamsters Treated with <i>N</i> -Nitrosobis(2-oxopropyl) amine .....	37
Masayuki Mitsui, Fumio Furukawa, Junko Suzuki, Tomonori Enami, Akiyoshi Nishikawa and Michihito Takahashi: 13-Week Subchronic Toxicity Study of 1,1-Bis( <i>t</i> -butylperoxy) 3,3,5-trimethyl Cyclohexane in Mice .....	42
Yoshitaka Aida, Eiichi Kamata, Masahiro Nakadate: A Study of the Relationships Between Exposure Periods and No-Effect Doses in Repeated Dose Toxicity Tests .....	48
Toshiro Shibata, Tadakazu Miura and Yoshio Hatakeyama: Flower Bud Differentiation and Development of Opium Poppy ( <i>Papaver somniferum L.</i> ). II. Effects of Daylength and Temperature .....	53
<b>Notes</b>	
Toyozo Sato, Masahito Matsuhashi and Osamu Iida: Fungi Isolated from Diseased Medicinal Plants .....	60
<b>Technical Data</b>	
Mochihiko Shimamine, Kazunori Takahashi and Yuji Nakahara: Studies on the Identification of Psychotropic Substances. VIII. Preparation and Various Analytical Data of Reference Standard of Some Stimulants, Amfepramone, Cathinone, <i>N</i> -Ethylamphetamine, Fenethylamine, Fenproporex and Mefenorex .....	67
Kazushige Morimoto, Makie Saitoh, Akiko Hemmi, Michiko Yamamoto and Tsuguchika Kaminuma: Preparation of the First Draft of Environmental Health Criteria for Acetonitrile: Production Process of the Draft .....	73
Mitsunori Murayama, Hiroyuki Sakurai, Yosihiko Tada, Sadao Uchiyama and Yukio Saito:	

Determination of Nicarbazin in Imported Chicken .....	78
Hajimu Ishiwata, Takiko Sugita and Mitsuharu Takeda: Food Hygienic Indexes on Biodegradable Polymers .....	80
Takeshi Hosogai, Sumio Ito, Yoshihiko Tada, Hiroyuki Sakurai, Takiko Sugita, Hajimu Ishiwata and Mitsuharu Takeda: Migration Test of Lead and Cadmium from Plastic Wares in Contact with Food.....	83
Sumio Ito, Takeshi Hosogai, Hiroyuki Sakurai, Yoshihiko Tada, Takiko Sugita, Hajimu Ishiwata and Mitsuharu Takeda: Determination of Volatile Substances and Leachable Components in Polystyrene Food Contact Wares .....	85
Tohru Ohtake, Haruyo Mori, Motoko Morimoto, Noboru Ueba, Nobuharu Kunita, Yoshio Matsda, Masako Matsuyama, Kyoko Akiyoshi, Shinichi Noro, Nanao Sato, Norio Sakurada, Nobuya Fujita, Tohru Isizaki, Noriko Kamimura, Yukio Yoshida, Tetsuro Ono, Nobuya Ohtomo, Takayuki Morishita, Shinichi Kobayashi, Takashi Miyake, Yuichi Ishiwara, Shin Isomura, Takayuki Saito, Kazumasa Oda, Minoru Matsuzaki, Hiromasa Sekine, Nahomi Ohnuki, Kenji Sadamasu, Kenji Ohta, Takashi Miki, Nobuyoshi Kobayashi, Yuzo Noguchi, Katsumi Chijiwa, Mamiko Kai, Katsumi Takahashi, Katsutoshi Mise, Hiroshi Ushijima, Hiroyuki Shimizu, Sakikazu Unten, Takashi Kitamura and Tohru Tokunaga: Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs. III. Report on fiscal year 1990 .....	88
Jun Sekizawa, Kazushige Morimoto, Makie Saito, Tomoe Kondo: First drafts of Environmental Health Criteria circulated for comments IPCS in 1991-1992 .....	91
Jun Sekizawa: Problems and Their Solutions in Preparation of Environmental Health Criteria Documents of IPCS .....	95
Xunkun Yang, Jun Sekizawa: Development of a Database for Registration of Journals in the Library of NIHS .....	102
Susumu Ishimitsu, Wakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu, Tetsuo Komuro and Satoshi Okada: Lysozyme Reference Standard (Control 911) of National Institute of Hygienic Sciences.....	104
Wakae Izumi, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada: Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 911) of National Institute of Hygienic Sciences.....	107
Wakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada: Tocopherol Reference Standard (Control 911) of National Institute of Hygienic Sciences.....	110
Wakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada: Prednisolone Reference Standard (Control 911) of the National Institute of Hygienic Sciences.....	113
Wakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada: <i>d</i> -Camphor Reference Standard (Control 911) and <i>dl</i> -Camphor Reference Standard (Control 911) of the National Institute of Hygienic Sciences.....	116
Wakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada: Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 911) of the National Institute of Hygienic Sciences .....	119
Tamaki Miyazaki, Chikako Yomota, Satoshi Okada and Tetsuo Komuro: Quality Tests of Ibuprofen preparations .....	122
Yukari Tsumura, Yumiko Nakamura, Yasuhide Tonogai and Yoshio Ito: Studies on the Analysis of Copper Chlorophyll and Sodium Copper Chlorophyllin in Imported Foods .....	124

---

Tadashi Shibata, Mika Kimura, Reiko Kawamoto, Sumiko Tsuji and Yoshio Ito: Estimated Production of Coal-tar Dyes (including Dye Aluminum Lakes) Based on Official Inspections in 1991 .....	128
Reiko Kawamoto, Mika Kimura, Sumiko Tsuji, Tadashi Shibata and Yoshio Ito: Studies on “New Coccine Standard”, for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences .....	131
Mika Kimura, Reiko Kawamoto, Sumiko Tsuji, Tadashi Shibata and Yoshio Ito: Studies on “Acid Red Standard”, for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences .....	132
Sumiko Tsuji, Reiko Kawamoto, Mika Kimura, Tadashi Shibata and Yoshio Ito: Studies on “Indigo Carmine Standard”, for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences .....	134
Yasuhide Tonogai, Yukari Tsumura, Yumiko Nakamura, Yoshio Ito: Analytical Results of Post-harvest Pesticides in Citrus Fruits and Fruits Juices by GC-MS (SIM) and HPLC with Fluorescent Detector .....	135
Yasuhide Tonogai, Yukari Tsumura, Yumiko Nakamura, Yoshio Ito, Yoshinori Watanabe and Yukihiro Shiomi: Determination of Organophosphorus Pesticides in Imported Foods by FPD-GC and GC-MS .....	140
<b>Annual Reports of Divisions .....</b>	<b>145</b>
<b>Summaries of Papers Published in Other Journals .....</b>	<b>191</b>
<b>Title of Scientific Books .....</b>	<b>251</b>
<b>Scientific Reports to Governmental Agencies .....</b>	<b>255</b>
<b>Titles of Speeches at Scientific Meetings Seminars .....</b>	<b>263</b>
<b>Seminars .....</b>	<b>290</b>
<b>Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1991 .....</b>	<b>296</b>
<b>Survey of the Results of National Tests .....</b>	<b>305</b>
<b>Reference Standards Prepared by National Institute of Hygienic Sciences .....</b>	<b>310</b>
<b>Subject Index .....</b>	<b>319</b>

覚せい剤検体起源解明に関する研究 (第1報)  
覚せい剤原料と覚せい剤の光学組成の関係

木倉瑠理・島峯望彦・中原雄二・寺尾允男

Studies on Origin of Illicit Methamphetamine I.  
The Relationship of Enantiomeric Compositions between  
Methamphetamine and Its Raw Material (Ephedrine)

Ruri Kikura, Mochihiko Shimamine, Yuji Nakahara and Tadao Terao

In order to elucidate the relationship of enantiomeric compositions between methamphetamine (MA) and its raw materials, ephedrine (EP) enantiomers, commercial EP samples and MA samples prepared from them were analyzed by HPLC using GITC-prelabeling. The GITC derivatives were separated on ODS column using methanol-water-acetic acid (45 : 54 : 1) at a flow rate of 1.2 ml/min for EP and tetrahydrofuran-water-acetic acid (29 : 70 : 1) at a flow rate of 1 ml/min for MA. The chromatographic conditions resulted in such a good separation of four EP and two MA enantiomers that 1/1000 enantiomeric impurities could be detected and discriminated from the major enantiomer with good reproducibility. Moreover, it was demonstrated that the asymmetric center at  $\alpha$ -position of amino group was entirely retained throughout the reductive reaction of the EP samples, and that the MA samples inherited the enantiomeric character from the EP samples used. This method was applied to discriminative analysis of MA samples seized in Japan.

**Keywords** : enantiomeric analysis, methamphetamine, ephedrine, chiral reagent, HPLC

(Received May 31, 1992)

## はじめに

メタンフェタミン (MA) は日本の薬物乱用問題の主流となっている薬物であり、覚せい剤取り締まり法により厳しく規制されている。現在、日本で乱用されている不法覚せい剤の大部分は、台湾、韓国などからの密輸により供給されていると考えられているが、覚せい剤原料や覚せい剤自身の流れは正確には把握されておらず、覚せい剤の供給を根本から断ち切ることは困難となっている。

MA 検体の履歴を知るには、検体の性質と混在する不純物を調べ、異同識別の根拠とすることが最も妥当な方法である。混在する不純物として考えられるのは、密造に使用した薬品や化学反応副生成物が精製不十分のため検体に残る場合と、意図的に添加したり希釈したりするために検体に含まれる場合がある。覚せい剤検体中の有機不純物としては過去に多くのものが報告<sup>1-5)</sup>されているが、これらは同

じ密造所で製造されても、製造者、日時などにより変動するものであり、それらに左右されない化学的因子を分析する必要がある。

MA の製法には様々な方法が用いられるが、現在日本で乱用されている不法覚せい剤の原料はそのほとんどがエフェドリン (EP) であると考えられている。水酸基を還元することにより、*l*-EP および *d*-プソイドエフェドリン (*d*-psEP) からは *d*-MA, *d*-EP および *l*-psEP からは *l*-MA が合成されるが、その際 N の  $\alpha$  位の炭素原子の不斉性は合成された MA に保持されると考えられる。従って、検体の光学純度を測定すれば、原料物質の光学純度を推定することができ、検体の起源を識別するうえで有用な情報の1つとなると思われる。

そこで、まず国内および国外で製造された EP や psEP およびそれらを用いて合成した MA について、キラール試薬 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl isothiocyante (GITC) を用いた HPLC



による光学異性体分析を行い、原料と覚せい剤の光学組成対を分類し、その相関関係を調べた。また、この方法を押収覚せい剤の起源の識別に応用した。

## 実験方法

### 1. 実験材料

EPは国内外の製造メーカーより得た14種類(そのうち国内より得た3種類の*l*-EPについては各6ロット)を用いた(Table 1)。麻黄細末は、ツムラ製、内蒙古産、大連産のものを用いた。覚せい剤は、国内で押収された検体計11種類およびVics Inhaler 鼻炎用吸入薬を用いた。また、種々の光学組成のEPを調製する際には、大日本製薬の*l*-EP原末(純度100%)およびAldrich社の*d*-EP原末(純度100%)を用いた。

2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl isothiocyanate (GITC 和光純薬工業)およびその他の試薬は市販試薬特級品を用いた。

### 2. 覚せい剤の合成方法

覚せい剤の合成は次に示す方法により行った。*d*-および*l*-塩酸EPの水溶液(20 mg/ml)を*d*:*l*=1:999, 2:998, 3:997, 5:995, 7:997, 10:990, 50:50, 990:10, 993:7, 995:5, 997:3, 999:1の光学純度となるように混合し、EPの総量を50 mgとし、57%ヨウ化水素酸7.5 mlと赤リン130 mgを加え、3時間、50℃にて還流した。冷後、メタノールで容器を洗い込みながらろ過して赤リンを取り除き、50℃でシロップ状になるまで減圧濃縮

した。溶液に10 N水酸化カリウム水溶液を加え強アルカリ性として、エーテル20 mlで3回抽出した。エーテル層を合わせて、10%塩酸(20 ml, 10 ml, 10 ml)で3回逆抽出し、水層を合わせて減圧乾固したのち、残渣を水50 mlに再溶解して試料溶液とした。

### 3. 麻黄細末からのEP類の抽出

ツムラ製、大連産および内蒙古産の麻黄細末100 mgに、5 N塩酸/メタノール(1:20)を1.5 ml加え、1.5時間超音波抽出を行った。溶液をろ過し、減圧乾固したのち、水1 mlに溶解し、エーテル1 mlで3回洗浄を行った。水相をろ過後、減圧乾固し、エタノール1 mlで2回浸出、ろ過を行い、ろ液を合わせ、再び減圧乾固した。残渣を水1 mlに溶解し、これをGITC誘導体化の試料とした。

### 4. Vics Inhaler 鼻炎用吸入薬からの*l*-MAの抽出

Vics Inhalerはアメリカにおいて鼻炎用吸入薬として市販されている医薬品であり、50 mgの*l*-MAが1パック中のスポンジに含有されている。抽出法としては、まず薬剤がしみこましているスポンジ0.1 gを切り取り、5 N塩酸/メタノール(1:20)を加え、3分間、3回超音波抽出を行った。抽出液を合わせ、窒素気流下で蒸発乾固し、3 mlの水に溶解して、3 mlのエーテルで2回洗い、水層の300  $\mu$ lをGITC誘導体化の試料とした。

### 5. 分析法

光学異性体分析は、試料をキラル試薬GITC

Table 1. The ephedrines used for this study

種類	製造会社	検体数	備考
<i>l</i> -Ep	アルプス薬品	6	ロット番号 9B182K, 9B183K, 9B184K, 8G75K, 9L21, 9L138K
	富士薬品	6	ロット番号 CL123, CL129, IK112, JK121, JM196, KM200
	大日本製薬	6	ロット番号 783, 784, 791, 792, 793, 794
	Rodia	1	香港で販売
	—	1	香港で押収
	—	1	香港で押収
	—	1	中国で販売
	Sigma	1	香港で販売
	Sigma	1	ドイツで販売
<i>d</i> -Ep	富士薬品	1	研究試験用提供品
	Fulka	1	ドイツで販売
<i>dl</i> -Ep	Aldrich	1	アメリカで販売
<i>l</i> -psEp	Sigma	1	アメリカで販売
<i>d</i> -psEp	Aldrich	1	アメリカで販売

でジアステレオマー誘導体とし、HPLCを用いて行った。各種分析条件は次に示す通りである。

### ① GITC誘導体化

Noggleらの方法<sup>6,7)</sup>に従い、試料を0.5 mg/mlの水溶液とし、その1 mlに1 N水酸化ナトリウム水溶液500  $\mu$ lを加え1 mlのクロロホルムで抽出した。有機層を綿栓ろ過したのち、2.5 mg/mlのGITCクロロホルム溶液500  $\mu$ lを加え室温で30分間反応させた。反応液を窒素気流下で蒸発乾固し、メタノール500  $\mu$ lに溶かしてHPLCの試料とした。

なお各々の光学組成比は、インテグレーターを用いて*d*体および*l*体のHPLCのピーク面積比で表した。

### ② 装置

HPLC：島津製作所（LC-6A型送液ポンプ、SCTO-6A型カラムオープン、SIL-6B型オートインジェクター、SPD-6A型UV検出器、クロマトパックC-R5A）

### ③ 測定条件

#### i) EP分析用

カラム：Inertsil ODS-2（ガスクロ工業4.6 $\times$ 250 mm）、温度：45 $^{\circ}$ C、流速：1.2 ml/min、移動相：メタノール-水-酢酸（45：54：1）、injection：10  $\mu$ l、測定波長：254 nm

#### ii) MA分析用

カラム：Inertsil ODS-2（ガスクロ工業4.6 $\times$ 150 mm）、温度：40 $^{\circ}$ C、流速：1.0 ml/min、移動相：テトラヒドロフラン-水-酢酸（29：70：1）、injection：10  $\mu$ l、測定波長：254 nm

## 結果

### 1. EPおよび覚せい剤の光学異性体の

#### 分離分析法

EPおよび覚せい剤の光学組成の測定は実験法に示した方法で行った。Fig. 1に各条件における*d*、*l*-EP、*d*、*l*-psEPおよび*d*、*l*-MAのHPLCクロマトグラムを示す。

当初、移動相にテトラヒドロフラン-水-酢酸（29：70：1、MA用）を用いて分析したところ、Fig. 1Aに示すように*l*-psEP、*d*-psEP、*l*-EP、*d*-EP、*d*-MA、*l*-MA（保持時間：12.9、14.2、15.4、18.0、26.9、29.2 min）の順に溶出した。しかし、この条件では、*d*-psEPとGITCのピークが重なり、正しい量的関係が得られなかった。そこで、EPの異性体のみ分離には異なる条件（移動相：メタノール-水-酢酸=45：54：1）で分析したところ、*l*-EP、*d*-psEP、*d*-EP、*l*-psEPの順に溶出し（保持時間：28.9、38.9、41.4、44.2 min）、良好な分離が得られた（Fig. 1B）。

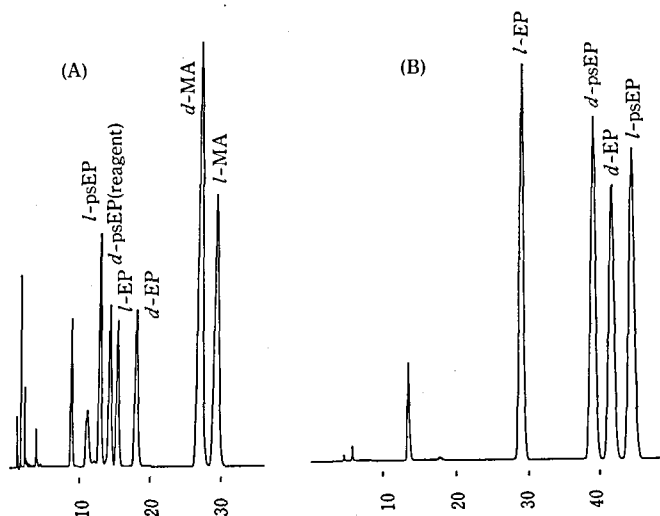


Fig. 1. HPLC analysis of GITC-derivatized mixtures of

(A) *dl*-psEP, *dl*-EP and *dl*-MA

HPLC mobile phase; THF : H<sub>2</sub>O : AcOH (29 : 70 : 1)

(B) *dl*-psEP and *dl*-EP

HPLC mobile phase; MeOH : H<sub>2</sub>O : AcOH (45 : 54 : 1)

## 2. 異なる任意の光学組成比に調製した

### EP から合成した覚せい剤の光学純度

EP から MA を合成した場合、EP の光学組成が MA の光学組成に正確に反映されているかどうか調べるために、種々の光学組成比をもつ EP を調製し、前に示した方法で MA を合成した。そして、得られた MA の光学組成を測定し、原料と生成物の光学組成を比較した。その結果、EP の光学組成は正確に MA の光学組成に保持されており、*l*-EP の比率に対して *d*-MA の比率をプロットした時の回帰直線は  $Y = -0.01 + 1.00 X$  であり、相関係数は  $r = 1.00$  であった。Fig. 2 に EP の *l/d* 比の対数値を横軸に、MA の *d/l* 比の対数値を縦軸にとって図示した。このことから、この反応において、N の  $\alpha$  位の不斉炭素は影響を受けず、完全に保持されることが実証された。

なお、Fig. 3 に *d/l* 比を 999:1 および 1:999 に調製した EP とそれらから合成した MA の HPLC クロマトグラムを示す。1000 分の 1 の微量の光学不純物を含む場合も明確に、再現性よく確認、定量された。

## 3. 製造会社、製造ロットの異なる EP 原末の光学組成およびそれらから合成した覚せい剤の光学組成の測定

国内外より得た 14 種類の EP および psEP 原末について（そのうち国内より得た 3 種類の *l*-EP については各 6 ロット）、HPLC により光学組成を測定した。また、それより合成した MA の光学組成を測定して、覚せい剤原料と覚せい剤の光学組成対を 5 つのグループに分類した。Table 2 にその結果を示す。

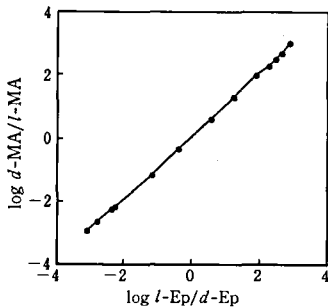


Fig. 2. Relationships of enantiomeric compositions between starting materials (EP) and products (MA)

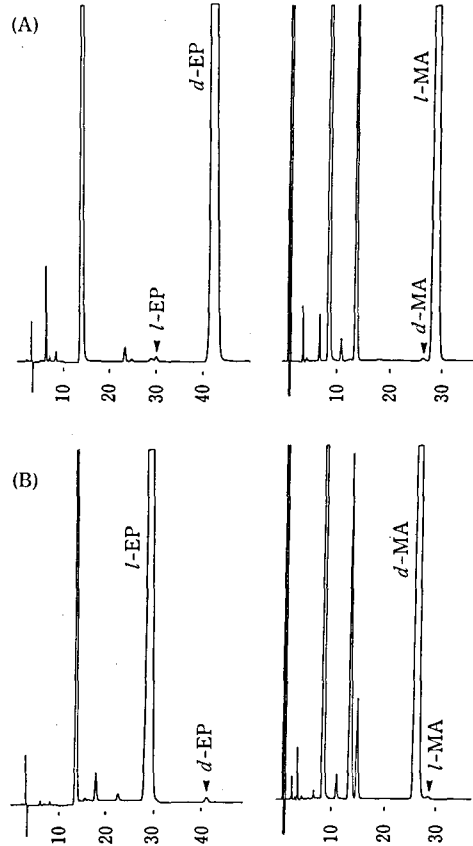


Fig. 3. HPLC analysis of GITC-derivatized starting materials (EP; left) and products (MA; right)

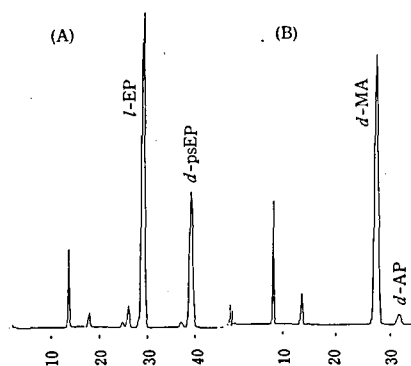
- (A) *l*-EP : *d*-EP (1 : 999) and MA synthesized  
 (B) *l*-EP : *d*-EP (999 : 1) and MA synthesized

## 4. 3種類の麻黄細末より合成した覚せい剤の光学組成

ツムラ製、大連産、内モンゴ産の 3 種類の麻黄細末から EP を抽出し、その光学組成を測定するとともに、それより MA を合成し、その光学組成を測定した。Fig. 4 に代表例として内モンゴ産の麻黄の抽出物とそれらから合成した覚せい剤の HPLC クロマトグラムを示す。いずれの麻黄においても *l*-EP が主アルカロイドであり、ついで *d*-psEP が含有されていた。麻黄細末から合成した覚せい剤は、ほとんどが *d*-MA であるが、*d*-AP (保持時間: 31.2 min) の混在が特徴であり、EP からの合成覚せい剤とは明確に識別が可能である。

Table 2. Enantiomeric composition analysis of starting materials (EP) and products (MA)

	Enantiomeric Composition of Ep (%)				
	<i>l</i> -Ep	<i>d</i> -psEp	<i>d</i> -Ep	<i>l</i> -psEp	
アルプス薬品 <i>l</i> -EP	100				→ $d$ -MA 100 %
富士薬品 <i>l</i> -EP	100				
大日本製薬 <i>l</i> -EP	100				
Rhodia <i>l</i> -Ep (HK)	100				
HK A	100				
HK B	100				
Chaina <i>l</i> -Ep	100				
Aldrich <i>d</i> -psEp (USA)		100			
Sigma <i>l</i> -Ep (HK)	99.9		0.1		→ $d$ -MA <100 %
Sigma <i>l</i> -Ep (German)	98.6		0.3	1.1	
<i>dl</i> -Ep (USA)	49.6		50.4		→ $d$ -MA =50 %
Sigma <i>l</i> -psEp (USA)	<0.1		0.1	99.9	→ $l$ -MA <100 %
富士薬品 <i>d</i> -EP			100		→ $l$ -MA 100 %
Fulka <i>d</i> Ep (German)			100		

Fig. 4. HPLC analysis of GITC-derivatized (A) EP extracted from *Ephedra Herb* (Inner Mongolia) and (B) MA synthesized

### 5. 押収覚せい剤検体の光学組成の測定

11種類の覚せい剤検体および Vics Inhaler について光学組成を測定したところ、11検体のうち10検体はいずれも100%の *d*-MA であり、そのうち7検体より原料と思われる *l*-EP が検出された。残る1検体のみは *d/l* 比が50%の *dl* 体であった。また、Vics Inhaler から抽出した MA の光学組成は、*l*-MA が98.8%、*d*-MA が1.2%であった。Fig. 5 に検体の代表的な HPLC クロマトグラムを示す。

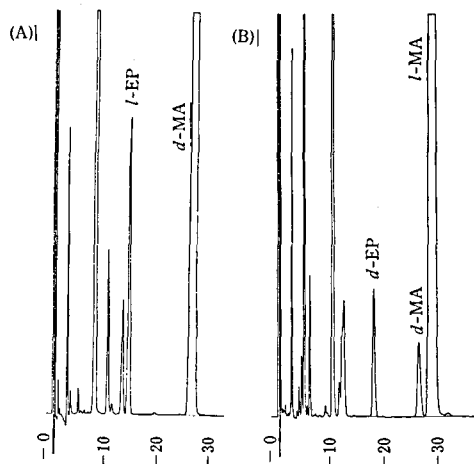


Fig. 5. HPLC analysis of GITC-derivatized samples seized in Japan.

- (A) MA sample seized  
(B) Extract of Vics Inhaler.

### 考 察

アジアにおける覚せい剤密造の主流である EP から MA の製造は、N の  $\beta$  位の水酸基の還元的脱離反応である。この反応において、N の  $\alpha$  位の不斉炭素の立体配位は変化しないと考えられたが、*d/l*

比を任意に調製した14種類のEPから合成したMAの光学組成はほぼ完全に保持されることを実験的に証明した。さらに、不純物として含有される光学異性体の確認限界を検討し、主成分の光学異性体に対し、不純物が1000分の1存在しても再現よく確認できる方法が確立できた。

国内外から入手した14種類のEPおよびpsEP原末とそれより合成したMAの光学組成を測定して、覚せい剤原料と覚せい剤の光学組成対を5つのグループに分類できた。また、押収覚せい剤検体について光学純度を測定した結果、多くの場合予想していたよりも光学純度が高く、11種類のうち10種類が光学純度100%の*d*-MAであった。この結果からもわかるように、現在日本で乱用されている覚せい剤はそのほとんどが光学純度100%の*d*体であり、その原料は光学純度100%の*l*-EPであることが推測される。しかし、今回分析に供した検体は密輸されている覚せい剤のほんの一部であり、今後はさらに検体の数や種類を増やして検討する必要がある。

#### 文 献

- 1) Barron, R. P., Kruegel, A. V., Moore, J. M. and Kram, T. C.: Identification of impurities in illicit methamphetamine samples. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **57**, 1147~1158 (1974)
- 2) Kram, T. C. and Kruegel, A. V.: The identification of impurities in illicit methamphetamine exhibits by gas chromatography/mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Forensic Sci.*, **22**, 41~52 (1976)
- 3) Lambrechts, M. and Rasmussen, K. E.: Leucokart-specific impurities in amphetamine and methamphetamine seized in Norway. *Bull. Narc.*, **36**, 47~57 (1984)
- 4) Noggle, F. T., Clark, C. R., Davenport, T. W. and Ccker, S. T.: Synthesis, identification and acute toxicity of  $\alpha$ -benzylphenethylamine and  $\alpha$ -benzyl-*N*-methylphenethylamine. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **68**, 1213~1222 (1985)
- 5) Allen, A. C. and Kiser, W. O.: Methamphetamine from ephedrine: I. chloroephedrine and Aziridines. *J. Forensic Sci.*, **32**, 953~962 (1987)
- 6) Noggle, F. T. Jr., DeRuiter, J. and Clark, C. R.: Liquid chromatographic Determination of the enantiomeric composition of methamphetamine prepared from ephedrine and pseudoephedrine. *Anal. Chem.*, **58**, 1643~1648 (1986)
- 7) Noggle, F. T. Jr. and Clark, C. R.: Resolution of some enantiomeric amines of forensic interest by high-performance liquid chromatography. *J. Forensic Sci.*, **31**, 732~742 (1986)

## THE METABOLISM OF 1,6-DINITROPYRENE IN RAT HEPATOCYTES

Lynn Drummond\*, Yasuo Ohno, Kazushige Morimoto,  
Kiyoshi Fukuhara, Naoki Miyata and Atsushi Takahashi

This paper reports investigations using hepatocytes to study the metabolism and DNA binding of the environmental contaminant, 1,6-dinitropyrene. Since 1,6-dinitropyrene is not believed to be mutagenic *per se*, metabolites were synthesized and the metabolism of 1,6-dinitropyrene was subsequently studied in rat hepatocytes. The mode of activation of dinitropyrenes is reduction of one of the nitro groups. Nitroreduction has been shown previously to be oxygen sensitive and therefore the effect of oxygen on the metabolic pattern and DNA binding was investigated by comparing results from aerobic and anaerobic conditions. The binding of [<sup>14</sup>C]1,6-dinitropyrene equivalents to rat hepatocyte DNA was increased by 15% in the presence of oxygen. Although there was little difference in the rate of 1,6-dinitropyrene metabolism, with or without O<sub>2</sub>, there was a difference in the metabolic pattern. Under anaerobic conditions there was an increase in the level of the terminal reduction product 1-amino-6-nitropyrene.

**Keywords:** 1,6-dinitropyrene; hepatocyte; nitroreduction; DNA binding

(Received May 31, 1992)

### Introduction

Dinitropyrenes have been identified in airborne particulates and in diesel exhaust emissions<sup>1,2</sup>. Rosenkranz<sup>11</sup> reported that 30~80% of the mutagenic activity of extracts of the particulate fraction of diesel engine emissions was due to dinitropyrene derivatives.

1,6-Dinitropyrene (1,6-DNP) is one of the most potent mutagens known in *Salmonella* bacterial assays<sup>3,4</sup>. It has also been shown to be an extremely potent genotoxicant in the primary cultures of both rat and human hepatocytes<sup>5</sup>. The carcinogenic activity of 1,6-DNP has been shown in the mouse, rat and hamster<sup>6-8</sup>.

The main route of human exposure to dinitropyrenes is thought to be by inhalation. Occupational exposure to diesel exhaust has been implicated in the development of human lung cancer<sup>9,10</sup>. Sato *et al.*<sup>11</sup> have reported

the carcinogenicity of 1,6-DNP when administered by inhalation to animals. A number of nitroreductases present in lung can catalyze the reduction of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's)<sup>12</sup>. The microsomal enzyme NADPH-cytochrome P-450 reductase and the cytosolic enzymes, xanthine oxidase, DT-diaphorase and aldehyde oxidase can reduce nitro compounds to the reactive hydroxylamine derivative<sup>13-16</sup>. Some nitroreductases (NADPH-cytochrome P-450 reductase and xanthine oxidase) are inhibited by oxygen<sup>17</sup> and it is therefore important to consider the effect on 1,6-DNP metabolism in hepatocytes under both aerobic and anaerobic conditions.

Dinitropyrenes are not mutagenic *per se* and require activation by nitroreductases to mutagenic species (Fig. 1). It has been suggested that these nitroreductases contribute to the formation of the potent mutagens which result from dinitropyrenes<sup>18</sup>. The reduction of the first nitro group of 1,6-DNP involves the transfer of two electrons whereas 1-nitropyrene and 1,3-DNP depend on classi-

\* Correspondence to: Dr. L. Drummond, Health and Safety Executive, 403 Edgware Road, London NW2 6LN, UK

cal nitroreductases which involve the transfer of a single electron<sup>19,20</sup>. No structural feature has yet emerged which correlates with the carcinogenicity of dinitropyrenes. This is in contrast with PAH's which require a bay region and nitrosamines which depend on an unsubstituted carbon next to the *N*-nitroso moiety for activation<sup>21</sup>. In nitro-PAH's the orientation of the nitro substituent with respect to the aromatic ring has been found to correlate with the direct-acting mutagenic activity in *S. typhimurium*<sup>22,23</sup>. If the nitro substituent adopts a conformation co-planar with the aromatic ring, such as in 1-nitropyrene, the extent of direct acting mutagenicity appears to be related to the reduction potential of the nitro-PAH<sup>24</sup>. When the nitro substituent adopts a conformation that is perpendicular or nearly perpendicular to the aromatic ring, for example 6-nitrobenzo[a]pyrene, little or no direct acting mutagenicity is observed. Although theoretically dinitropyrenes may be metabolised both oxidatively and reductively, only metabolites resulting from nitro reduction have been detected<sup>25</sup>. As shown in Fig. 1, 1,6-dinitropyrene is sequentially reduced to 1-nitroso-6-nitro-

pyrene, *N*-hydroxyamino-6-nitropyrene and 1-amino-6-nitropyrene, which is then acetylated to 1-acetylamino-6-nitropyrene.

The activation of 1,6-DNP to a DNA-binding species has been shown in rat liver cytosol to be *via* nitroreduction to the *N*-hydroxy metabolite followed by acetyl coenzyme A (AcCoA) dependent *O*-acetylation to reactive *N*-acetoxylamines. In the presence of AcCoA there is an increase in the binding of reactive 1,6-DNP intermediates increases to DNA<sup>18,26</sup>. In rabbit lung, however, the activation of 1,8-DNP to reactive species which bind to DNA does not depend on AcCoA acetylation<sup>27</sup>. Previous investigations of the metabolism, mutagenicity and carcinogenicity of the environmental contaminant, 1,6-dinitropyrene have reported *in vitro* studies using bacteria or microsomes.

This paper presents studies which investigate the metabolism of 1,6-DNP in rat hepatocytes under aerobic and anaerobic conditions. The use of hepatocytes is particularly valuable in that the cells are physiologically and metabolically capable and usually reflect with reasonable accuracy conditions and events, for example, metabolic activations,

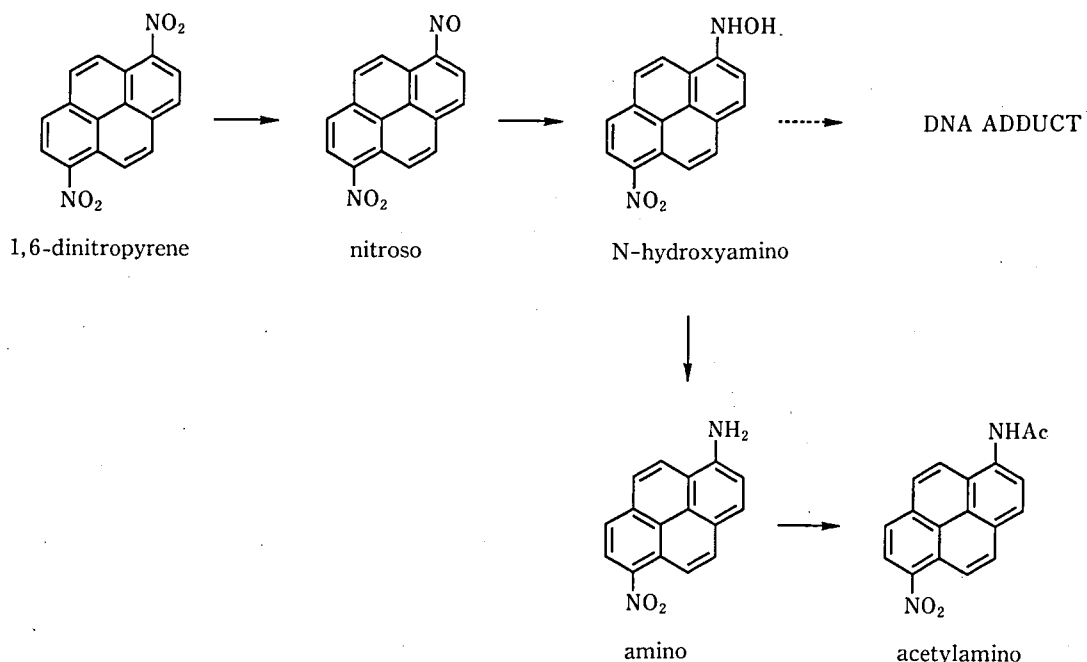


Fig. 1. Possible metabolic and activation pathways of 1,6-dinitropyrene. See text for discussion

→ represent single transformation

- - - - - represents multiple transformations

that are likely to occur in the intact liver<sup>29</sup>). The extent of DNA binding is compared when the hepatocytes are incubated under aerobic and anaerobic conditions. This paper also discusses the results with respect to the metabolism and DNA binding studies previously reported *in vivo*.

## Materials and methods

### Materials

1,6-Dinitro[4,5,9,10-<sup>14</sup>C]pyrene (55 mCi/mmol) was purchased from Chemsyn, Lenexa, KS. High pressure liquid chromatography (HPLC) analysis indicated a radiochemical purity of >98%.  $\beta$ -Glucuronidase and Sulfatase were purchased from Sigma Chemical Co., St. Louis, MO. The HPLC standard for 1,6-DNP was purchased from Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI. The metabolites of 1,6-DNP were synthesized as described below. All other reagents used were of the highest analytical standard.

### Synthesis of 1-amino-6-nitropyrene

A mixture containing dinitropyrene isomers (1,3- 1,6- and 1,8-) (66 mg, 0.23 mmol) was dissolved in tetrahydrofuran (50 ml) and ethanol (50 ml). A solution of sodium hydrogen sulphide (300 mg/10 ml water) was added slowly to the mixture of dinitropyrenes. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hr. Formation of the amino-nitropyrenes was followed by thin layer chromatography (dichloromethane: hexane, 2:1). The solution was evaporated *in vacuo* and the residue redissolved in dichloromethane (200 ml), washed with water (100 ml  $\times$  3) and dried over sodium sulphate. The solvent was removed *in vacuo* and the mixture checked by high pressure liquid chromatography (HPLC) (5  $\mu$ m silica column; hexane: dichloromethane, 60:40; 4 ml/min; uv at 254 nm). The isomers of amino-nitropyrene were isolated by open column chromatography (silica gel). Elution of the separate isomers was achieved by using dichloromethane: hexane (2:1) and the separate 1-amino-nitropyrenes were obtained. The structure of 1-amino-6-nitropyrene was confirmed from its NMR spectrum (<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)): 8.76 (d, H<sub>5</sub>, J=9.60 Hz), 8.66 (d, H<sub>7</sub>, J=8.60 Hz), 8.20

(d, H<sub>4</sub>, J=9.60 Hz), 8.19 and 8.04 (d, H<sub>9</sub> and H<sub>10</sub>, J=9.20 Hz), 8.15 (d, H<sub>3</sub>, J=8.40 Hz), 8.02 (d, H<sub>8</sub>, J=8.60 Hz), 7.47 ppm (d, H<sub>2</sub>, J=8.40 Hz).

### Synthesis of 1-acetylamino-6-nitropyrene

Acetic anhydride (2 ml) and pyridine (1 ml) were added to 1-amino-6-nitropyrene (30 mg) and the solution left at room temperature overnight. The residual acetic anhydride and pyridine was removed *in vacuo*. The purity of the resultant 1-acetylamino-6-nitropyrene was checked by HPLC and was found to be >99%.

### Instrumentation

HPLC was conducted with a Waters 600 pump, Waters 490 UV monitor, Waters 712 WISP autoinjector, Pharmacia 100SR fraction collector and Waters 741 data module. Radioactivity was counted using an Aloka 673 Liquid Scintillation Counter (5 min counting time). NMR spectra were recorded with a Varian VXR400S spectrometer. The proton resonance shifts were measured relative to tetramethylsilane and expressed in ppm.

### Hepatocyte treatment

Hepatocyte preparations were prepared from male F344 rats (~180 g, aged 8~10 weeks) by the whole liver perfusion method<sup>29</sup>. Viability of the cells was assessed by trypan blue exclusion and was found to be greater than 95%. The cells were diluted with Krebs - Henselite buffer (NaCl 119.0 mM; KCl 4.77 mM; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.19 mM; MgSO<sub>4</sub> 2.4 mM; NaHCO<sub>3</sub> 25.0 mM; CaCl<sub>2</sub> 2.59 mM; Hepes 12.5 mM) pH 7.4, to a final concentration of 2  $\times$  10<sup>6</sup> cells/ml. 1,6-Dinitro[4,5,9,10-<sup>14</sup>C]pyrene was dissolved in dimethyl sulphoxide (DMSO) (0.21 mg/ml, to give a final concentration of 0.5% DMSO in the incubation mixture). Incubations (20 ml; 1.05  $\mu$ g 1,6-Dinitro[4,5,9,10-<sup>14</sup>C]pyrene/ml) were carried out in rotating round bottomed flasks in a water bath at 37°C. Aerobic incubations were performed under constant aeration with a mixture of O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (95:5, v/v). Anaerobic incubations were carried out under an atmosphere of nitrogen. Aliquots (2  $\times$  2 ml) were taken from the incubation mixtures at 1, 10, 30 and 60 minutes. The viability of the cells and the pH of the suspension was not



significantly changed after the incubation period. A sample (20  $\mu$ l) was also analyzed for radioactivity to check recovery (>90%). In one set of samples the reaction was stopped and protein precipitated by the addition of methanol (4 ml) to the mixture followed by centrifugation (3000 rpm  $\times$  10 min). The supernatant was then extracted with chloroform (4 ml) and the chloroform extractable metabolites and unmetabolised 1,6-DNP (75~95% of radioactivity) were analyzed by HPLC. The compounds were separated using a  $\mu$ Bondapak C18 column (5  $\mu$ m, 3.9 mm  $\times$  15 cm, Waters Associates, Milford, MA), elution with 80% methanol/water at a flow rate of 1.25 ml/min. UV absorbance was measured at 254 nm and fractions were collected for radioactivity measurements at 0.25 min intervals for 4.5 min, then at 0.5 min intervals. The identity of these metabolites was confirmed by co-elution with synthetic standards. The DNA binding levels were measured as described below. The second set of samples was centrifuged and the cells and supernatant stored separately. This supernatant was treated with  $\beta$ -glucuronidase (500 units/ml)/sulfatase (200 units/ml), 37°C for 16 hr and then treated as above. Appropriate controls were included as described by Caldwell *et al* (30).

#### Covalent binding to hepatocyte DNA

DNA was isolated by a standard method<sup>31</sup>. The DNA content was assayed by the micro fluorometric technique of Kissane and Robins<sup>32</sup>. Binding levels were determined by liquid scintillation counting.

### Results

1,6-Dinitropyrene and its chloroform extractable metabolites were separated by reverse phase HPLC under the conditions described previously. Three compounds of interest eluted with retention times of 2.8, 3.4 and 5.4 mins. These compounds co-chromatographed with reference samples of 1-acetylamino-6-nitropyrene, 1-amino-6-nitropyrene and 1,6-DNP, respectively. Detection and quantitation was by UV detection and radioactivity counting, respectively. No other radiolabelled peaks were detected (Fig. 2).

Fig. 3 shows the decrease in free 1,6-DNP and the increase in the total chloroform extractable metabolite concentration with increasing incubation times, under both aerobic and anaerobic conditions. There does not appear to be any significant difference in the decrease in the parent compound at incuba-

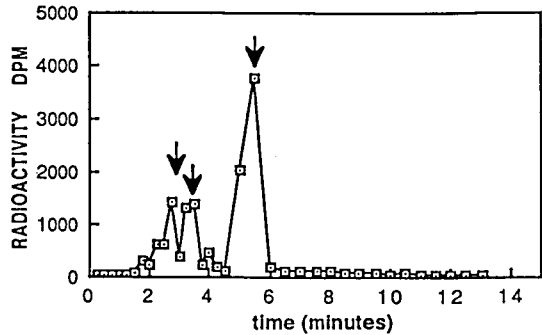


Fig. 2. HPLC chromatogram of metabolites formed after incubating (1hr), 1,6-dinitro [4,5,9,10-<sup>14</sup>C]pyrene with rat hepatocytes

Arrows indicate retention times of standard compounds, 1-acetylamino-6-nitropyrene (2.8 min), 1-amino-6-nitropyrene (3.4 min) and 1,6-dinitropyrene (5.4 min), respectively.

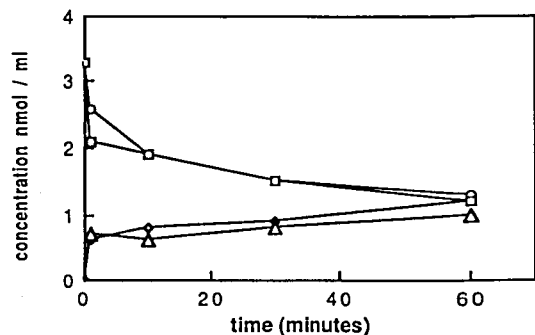


Fig. 3. Time course for depletion of 1,6-dinitropyrene and the formation of chloroform extractable metabolites

- represents 1,6-dinitropyrene under aerobic conditions
- represents 1,6-dinitropyrene under anaerobic conditions
- ◇— represents chloroform extractable metabolites under aerobic conditions
- △— represents chloroform extractable metabolites under anaerobic conditions

The results are expressed as the mean of two experiments

tions up to 1 hr. Approximately 50% of the 1,6-DNP remained unmetabolised and unbound to hepatocyte macromolecules after 1 hr incubations, with or without oxygen. The time course for the appearance of 1-amino-6-nitropyrene is shown in Fig. 4. The formation of the terminal reduction product, 1-amino-6-nitropyrene, is linear with increasing incubation time under both aerobic and anaerobic conditions. The rate of formation of the metabolite is however different in the presence and absence of oxygen. After an incubation time of 1 hr, the concentration of 1-amino-6-nitropyrene in the anaerobic hepatocyte incubation mixture is two-times the concentration measured in the aerobic incubation mixture.

$\beta$ -Glucuronidase/Sulfatase treatment of the supernatant did not significantly increase the radioactivity or the concentration of chloroform-extractable metabolites. The radioactivity measured in the aqueous fraction of the aerobic and anaerobic samples after chloroform extraction (with and without  $\beta$ -Glucuronidase/Sulfatase treatment) varied from 2% (of total radioactivity) at time 1 min., to 10% after 1 hr incubation. The concentration of any DNP derived metabolites which may be present, were too low to be detected and identified.

The time course for the binding of 1,6-DNP-derived radiolabel to DNA is shown in Table 1. DNA binding increases with increasing incubation time. The extent of DNA binding is slightly higher (15%) in the presence of oxygen.

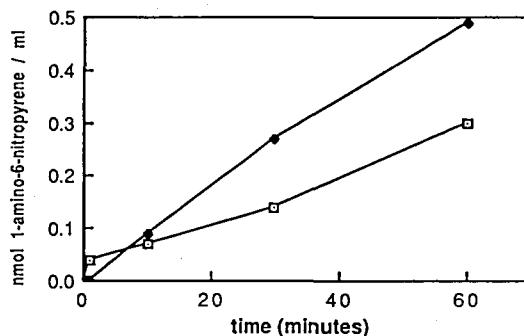


Fig. 4. The concentration of 1-amino-6-nitropyrene after incubation of rat hepatocytes with 1,6-dinitropyrene under aerobic and anaerobic conditions

—□— represents 1-amino-6-nitropyrene (aerobic conditions)

—◆— represents 1-amino-6-nitropyrene (anaerobic conditions)

The results are expressed as the mean of two experiments.

## Discussion

This paper presents studies which investigate the biotransformation and DNA binding of 1,6-dinitropyrene in rat hepatocytes. We have examined and compared both the metabolism and DNA binding in the presence and absence of oxygen. The results from the present studies show that 1,6-DNP is metabolised in rat hepatocytes to two stable metabolites which were identified as 1-amino-6-nitropyrene and 1-acetylamino-6-nitropyrene. There was no evidence to suggest that further reduction to diaminopyrene took place, nor

Table 1. Binding of [ $^{14}$ C]1,6-DNP equivalents to hepatocyte DNA

time (minutes)	pmol 1,6-DNP equivalents/mg DNA	
	aerobic	anaerobic
1	0.87	0.22
10	1.63	2.49
60	8.90	7.45

The results are expressed as the mean of two samples.

was there any evidence for an oxidation pathway for the metabolism on 1,6-DNP. Since hepatocytes contain a full complement of metabolising enzymes and co-factors, metabolism can proceed to the end-products. It was therefore not possible to detect the intermediate reduction product 1-nitroso-6-nitropyrene, which has been identified as a precursor in microsome and bacterial cell studies<sup>25</sup>). Under aerobic conditions, the presence of oxygen decreased the formation of 1-amino-6-nitropyrene (Fig. 4).

Nitroreduction of certain compounds has been previously shown to occur preferentially under anaerobic conditions<sup>33,34</sup>). Wilcox *et al.*<sup>35</sup>) have suggested that two enzymes are involved in the reduction of dinitropyrenes. The first, stimulated by NADH/NADPH and nitrogen results in conversion of the 1,6-DNP to a mutagenic form (*N*-hydroxyamine). The second enzyme catalyses further reduction and has enhanced activity in the absence of oxygen. The results presented here support the suggestions that the enzymes involved in the nitroreduction of 1,6-DNP are affected by oxygen but are not completely inhibited by oxygen. The effect is shown in the metabolic pattern, since in the absence of oxygen there is an increase in the concentration of 1-amino-6-nitropyrene however, the total amount of metabolites and the rate of disappearance of 1,6-DNP was not affected by the presence or absence of oxygen (Fig. 3). This suggests that there was also an effect on the other metabolite which was identified in the chloroform extract. This metabolite co-chromatographed with authentic 1-acetylamino-6-nitropyrene. Under aerobic conditions the amount of radioactivity in the fraction corresponding to 1-acetylamino-6-nitropyrene increased compared with the level measured in the absence of oxygen. As can be seen from Fig. 3 the total chloroform extractable metabolite concentration rapidly increases at the beginning of the incubation period. Less than 5% of this radioactivity is due to 1-amino-6-nitropyrene. This suggests that there is either a compound which co-elutes with 1-acetylamino-6-nitropyrene or that there is an alternative metabolic route

for the formation of 1-acetylamino-6-nitropyrene other than through the precursor 1-amino-6-nitropyrene, shown in Fig. 1. It is also possible that the acetylation of the amino-nitropyrene is increased in the presence of oxygen. Alterations in the mobile phase did not result in resolution of any other radiolabelled peak.

The DNA adduct which is formed, both *in vitro* and *in vivo*, from the activation of 1,6-DNP has been previously identified to be *N*-(deoxyguanosin-8-yl)-1-amino-6-nitropyrene<sup>18,25</sup>). The studies reported in this paper suggest that DNA binding increases by about 15% in the presence of oxygen (Table 1). This may be due to the fact that in the absence of oxygen the enzymes involved in the nitroreduction of 1,6-DNP have enhanced activity and metabolism to 1-amino-6-nitropyrene occurs readily. Aerobic conditions may stimulate another metabolic pathway, for example, ring oxidation, resulting in the increased binding of reactive intermediates to the hepatocyte DNA. This mechanism has been suggested for the metabolism of 1,8-DNP in rabbit lung<sup>27</sup>). Djuric *et al.*<sup>18</sup>) investigated the effect of nitroreductase induction on DNA binding by nitropyrenes and found that only a slight increase in DNA binding was observed *in vivo* after the induction of nitroreductases. This suggests that there are additional factors which control the extent of DNA binding. The acetylation of the reactive *N*-hydroxyamino intermediate has been shown to be an important step in the formation of the DNA adduct<sup>25</sup>). The AcCoA dependent activation of dinitropyrenes could have significant implications with respect to the metabolism of 1,6-DNP *in vivo*. The results reported here show that binding to DNA increase with incubation time (Table 1) and that after 1 hr incubation under anaerobic or aerobic conditions, the binding is 7.45 and 8.90 pmol/mg DNA, respectively. These results correlate with the DNA binding levels reported previously for *in vitro* studies<sup>18,27</sup>). Djuric *et al.*<sup>18</sup>) reported that the DNA binding of 1,6-DNP (5.8 µg/ml), catalyzed by rat liver cytosol, was 5 pmol/mg DNA (-AcCoA) and 52 pmol/

mg DNA (+AcCoA). The DNA binding of 1,8-DNP metabolites in rabbit lung (0.23  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) has been studied by Tee *et al.*<sup>27)</sup> They have shown that DNA-bound metabolites are 6.1 and 14.8 pmol/mg DNA, under anaerobic and aerobic conditions, respectively. *In vivo* studies<sup>18)</sup> with 1,6-DNP (i.p., 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) report levels of binding of 0.70 pmol/mg DNA in the lung and up to 1.97 pmol/mg DNA in the liver of rats.

In conclusion, we have reported that 1,6-dinitropyrene is metabolised in rat hepatocytes to 1-amino-6-nitropyrene and 1-acetyl-amino-nitropyrene. The presence of oxygen does not appear to affect the rate at which 1,6-DNP is removed from the incubation mixture. However the percentage composition of the mixture with respect to the metabolites is dependent on whether the incubations are carried out under aerobic or anaerobic conditions. The presence of oxygen in the incubation mixture results in a decrease in the amount of 1-amino-6-nitropyrene. DNA binding is increased by 15% under aerobic conditions. The changes in the metabolic patterns and the subsequent effect on the formation of the DNA adduct suggests that in rat hepatocytes the rate determining step is after the initial reduction steps and is not controlled by the function of the nitroreductase enzymes. It is possible that the formation of the DNA adduct is a function of the extent of the *O*-acetylation of the reactive *N*-hydroxyamino intermediate.

#### Acknowledgements

L. Drummond is an awardee of a fellowship from the Science and Technology Agency (STA), an administrative organ of the Government of Japan.

L. Drummond wishes to thank the Health and Safety Executive, in particular Professor J. G. Firth, for granting special leave to enable her to study at the National Institute of Hygienic Sciences, Tokyo.

#### References

- 1) Rosenkranz, H. S.: Direct-acting mutagens in diesel exhausts: magnitude of the problem. *Mutat. Res.*, **101**, 1~10 (1982)
- 2) Tokiwa, H., Kitamori, S., Nakagawa, R., Horikawa, K. and Matamala, L.: Demonstration of a powerful mutagenic dinitropyrene in airborne particulate matter. *Mutat. Res.*, **121**, 107~116 (1983)
- 3) Mermelstein, R., Kiriazides, D. K., Butler, M., McCoy, E. C. and Rosenkranz, H. S.: The extraordinary mutagenicity of nitropyrenes in bacteria. *Mutat. Res.*, **89**, 187~196 (1981)
- 4) Rosenkranz, H. S. and Mermelstein, R.: The genotoxicity, metabolism and carcinogenicity of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Env. Sci. Health*, **C3**, 221~272 (1985)
- 5) Butterworth, B. E., Earle, L. L., Strom, S., Jirtle, R. and Michalopoulos, G.: Induction of DNA repair in human and rat hepatocytes by 1,6-dinitropyrene. *Mutat. Res.*, **122**, 73~80 (1983)
- 6) Tokiwa, H., Otofujii, T., Horikawa, K., Kitamori, S., Otsuka, H., Manabe, Y., Kinouchi, T., and Ohnishi, Y.: 1,6-dinitropyrene: mutagenicity in *Salmonella* and carcinogenicity in BALB/c mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, **73**, 1359~1363 (1984)
- 7) Ohgaki, H., Hasegawa, H., Kato, T., Negishi, C., Sato, S. and Sugimura, T.: Absence of carcinogenicity of 1-nitropyrene, correction of previous results, and demonstration of carcinogenicity of 1,6-dinitropyrene in rats. *Cancer Lett.*, **25**, 239~245 (1985)
- 8) Takayama, S., Ishikawa, T., Nakajima, H. and Sato, S.: Lung carcinoma induction in Syrian golden hamsters by intratracheal instillation of 1,6-dinitropyrene. *Jpn. J. Cancer Res.*, **76**, 457~461 (1985)
- 9) Howe, G. R., Fraser, D., Lindsay, J., Presnal, B. and Yu, S. Z.: Cancer mortality (1965~1977) in relation to diesel fume and coal exposure in a cohort of retired railway workers. *J. Natl. Cancer Inst.*, **70**, 1015~1019 (1983)
- 10) Higgins, G. R.: Epidemiological research on the relationships to exposure of diesel emissions and the development of respiratory cancer. Meeting report. *Prev. Med.*, **12**, 465~469 (1983)
- 11) Sato, S., Ohgaki, H., Takayama, S., Ochiai, M., Tahira, T., Ishizaka, Y., Nagao, M., Sugimura, T.: Carcinogenicity of dinitropyrenes in rats and hamsters. *Dev. Toxicol. Environ. Sci.*, **13**, 271~277 (1986)
- 12) Gram, T. E.: The metabolism of xenobiotics by mammalian lung. In "Extrahepatic Metabolism of Drugs and Other Foreign Compounds." Gram, T. E. (ed), SP Medical and Scientific Books, New York, pp. 159~209

- (1980)
- 13) Wolpert, M. K., Althaus, J. R. and Johns, D. G.: Nitroreductase activity of mammalian liver aldehyde oxidase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **185**, 202~213 (1973)
  - 14) Wang, C. Y., Behrens, B. C., Ichikawa, M. and Bryan, G. T.: Nitroreduction of 5-nitrofuranyl derivatives by rat liver xanthine oxidase and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-cytochrome c reductase. *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 3395~3404 (1974)
  - 15) Mason, R. P. and Holtzman, J. L.: The mechanism of microsomal and mitochondrial nitroreductase. Electron spin resonance evidence for nitroaromatic free radical intermediates. *Biochemistry*, **14**, 1626~1632 (1975)
  - 16) Rase, B., Bartfai, T. and Ernster, L.: Purification of DT-diaphorase by affinity chromatography. Occurrence of two subunits and nonlinear Dixon and Scatchard plots of the inhibition by anticoagulants. *Arch. Biochem. Biophys.*, **172**, 380~386 (1976)
  - 17) Peterson, F. J., Mason, R. P., Hovsepian, J. and Holtzman, J. L.: Oxygen-sensitive and -insensitive nitroreduction by *Escherichia coli* and rat hepatic microsomes. *J. Biol. Chem.*, **254**, 4009~4014 (1979)
  - 18) Djuric, Z., Fifer, E. K., Yamazoe, Y. and Beland, F. A.: DNA binding by 1-nitropyrene and 1,6-dinitropyrene *in vitro* and *in vivo*: effects of nitroreductase induction. *Carcinogenesis*, **9**, 357~364 (1988)
  - 19) Klopman, G. and Rosenkranz, H. S.: Structural requirements for the mutagenicity of environmental nitroarenes. *Mutat. Res.*, **126**, 227~232 (1984)
  - 20) Eddy, E. P., McCoy, E. C., Rosenkranz, H. S. and Mermelstein, R.: Dichotomy in the mutagenicity and genotoxicity of nitropyrenes: Apparent effect of the number of electrons involved in nitroreduction. *Mutat. Res.*, **161**, 109~111 (1986)
  - 21) Rosenkranz, H. S.: Predicting the carcinogenic potential of environmental nitropyrenes. *Environ. Molec. Mutagen.*, **10**, 149~156 (1987)
  - 22) Vance, W. A. and Levin, D. W.: Structural features of nitroaromatics that determine mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. *Environ. Mutagenesis*, **6**, 797~801 (1984)
  - 23) Fu, P. P., Chuo, M. W., Miller, D. W., White, G. L., Heflich, R. H. and Beland, F. A.: The orientatin of the nitro-substituent predicts the direct-acting bacterial mutagenicity of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutat. Res.*, **143**, 173~181 (1985)
  - 24) Klopman, G., Tonucci, D. A., Holloway, M. and Rosenkranz, H. S.: Relationship between polarographic reduction potential and mutagenicity of nitroarenes. *Mutat. Res.*, **126**, 139~144 (1984)
  - 25) Djuric, Z., Potter, D. W., Heflich, R. H. and Beland, F. A.: Aerobic and anaerobic reduction of nitrated pyrenes *in vitro*. *Chem. Biol. Interactions*, **59**, 309~324 (1986)
  - 26) Djuric, Z., Fifer, E. K., and Beland, F. A.: Acetyl coenzyme A-dependent binding of carcinogenic and mutagenic dinitropyrenes to DNA. *Carcinogenesis*, **6**, 941~944 (1985)
  - 27) Tee, L. B. G., Minchin, R. F. and Ilett, K. F.: Metabolism of 1,8-dinitropyrene by rabbit lung. *Carcinogenesis*, **9**, 1869~1874 (1988)
  - 28) Butterworth, B. E., Ashby, J., Bermudez, E., Casciano, D., Mirsalis, J., Probst, G. and Williams, G.: A protocol and guide for the *in vitro* rat hepatocyte DNA repair assay. *Mutat. Res.*, **189**, 113~121 (1987)
  - 29) Moldeus, P., Hogberg, J. and Orrenius, S.: Isolation and use of liver cells. In "Methods in enzymology, LII, biomembranes", Fleischer, S. and Packer, L. (ed), Academic Press, New York, pp.60~71 (1978)
  - 30) Caldwell, J., Hutt, A. J., March, M. V. and Sinclair, K. A.: Isolation and characterization of amino acid sugar conjugates of xenobiotic carboxylic acids. In "Drug metabolite isolation and determination". Reid, E. and Lppard, J. P. (ed), Plenum Publishing Corporation, England, pp. 161~179 (1983)
  - 31) Martin, C. N. and Gamer, R. C.: Covalent binding *in vitro* and *in vivo*. In "Biochemical Toxicology, a practical approach", Snell, K. and Mullock, B. (ed), IRL Press Oxford, England, pp.109~126 (1987)
  - 32) Kissane, J. M. and Robins, E.: The fluorometric measurement of deoxyribonucleic acid in animal tissues with special reference to the central nervous system. *J. Biol. Chem.*, **233**, 184~188 (1958)
  - 33) Rosenkranz, H. S. and Speck, W. T.: Mutagenicity of metronidazole: Activation by mammalian liver microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **66**, 520~525 (1975)
  - 34) Rosenkranz, H. S. and Speck, W. T.: Activation of nitrofurantoin to a mutagen by rat liver nitroreductase. *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 1555~1556 (1976)
  - 35) Wilcox, P., Danford, N. and Parry, J. M.: The genetic activity and metabolism of dinitropyrenes in eucaryotic cells. In "Mutagens in our environment", Alan R. (ed), Liss Inc., New York, pp. 249~258 (1982)

アカゲザル静脈内自己投与方法によるメチルエフェドリン、カフェイン単独  
または併用時の強化効果の比較検討

関田清司・落合敏秋・大野圭子・村上 治・若狭芳男\*<sup>1</sup>  
鶴沢耕二\*<sup>2</sup>・降矢 強・黒川雄二

Studies on Reinforcing Effects of Methylephedrine, Caffeine and Their  
Mixture with Intravenous-Self Administration in Rhesus Monkeys

Kiyoshi Sekita, Toshiaki Ochiai, Keiko Ohno, Osamu Murakami,  
Yoshio Wakasa \*<sup>1</sup>, Koji Uzawa\*<sup>2</sup>, Tuyoshi Furuya and Yuji Kurokawa

The reinforcing effects of methylephedrine hydrochloride (ME), anhydrous caffeine (CA) and their mixture (ME+CA) were studied by the intravenous cross self-administration experiment and by the progressive ratio experiment in four male rhesus monkeys each. In the intravenous cross self-administration experiment, ME, CA and ME+CA were found to have reinforcing effects. Self-administration rates above the level of cocaine, a typical reinforcing drug, were not observed in ME or CA alone, but observed in their mixture (120+126 $\mu$ g/kg/inj.: M dose or 480+504  $\mu$ g/kg/inj.: H dose). The minimum reinforcing doses were 120  $\mu$ g/kg/inj. (M dose) for ME, 126  $\mu$ g/kg/inj. (M dose) for CA, and ME 30  $\mu$ g+CA 32  $\mu$ g/kg/inj. (L dose) for the mixture. Vomiting was observed during the session in monkeys which showed higher self-administration rates of ME and the mixture, and decreases in the rates were observed in these animals on the next day. One animal at H dose of the mixture, which showed a high self-administration rate on both the 1st and 2nd days, died after the end of the session on the 2nd day. In the progressive ratio experiment, the final ratios at 120  $\mu$ g/kg/inj. of ME, 126  $\mu$ g/kg/inj. of CA and the mixture of ME 120  $\mu$ g+CA 126  $\mu$ g/kg/inj. were almost equal to or less than that of saline (negative control). Thus, these drugs didn't show reinforcing effects at the above levels. However, a reinforcing effect was observed in three out of four monkeys administered 1920  $\mu$ g/kg/inj. of ME, 2016  $\mu$ g/kg/inj. of CA, and the mixture of ME 1920 and CA 2016  $\mu$ g/kg/inj. In one of the monkeys, the final ratio of the mixture was higher than cocaine, ME, or CA alone. These results suggest that ME and CA have reinforcing effects and may interact with each other resulting in enhancement of the combined reinforcing effect.

**Keywords**: reinforcing effect, intravenous self-administration, methylephedrine, caffeine, rhesus monkey

(Received May 31, 1992)

緒 言

一部の市販鎮咳去痰剤の乱用が報告され、新たな薬物乱用問題として注目されている<sup>1-6)</sup>。本剤はリン酸ジヒドロコデイン (DC), dl-メチルエフェドリン (ME), 無水カフェイン (CA) およびクロロフェニラミン (CP) を成分として含有する配合剤であり、薬理作用や依存性発現について配合成分の

相互作用の面からの検討がなされている<sup>7-15)</sup>。依存性についてはアヘンアルカロイドである DC が主体であり、他の成分がその依存性を修飾しているとする報告<sup>7-10,14)</sup>、自発運動増加などの行動薬理作用は CA が中心であるとする報告<sup>12,13)</sup>、また、覚せい剤原料であり、覚せい剤と構造が類似していることから精神作用の主因は ME であるとする見解も多く見られる<sup>1-6)</sup>。

一方、薬物の被乱用性の最も重要な要因は精神依存性に有ると言われており、サル薬物自己投与試験法による薬物の強化効果の検索は精神依存性を検索

\*<sup>1</sup> 財実験動物中央研究所前臨床研究部

\*<sup>2</sup> 三協ラボサービス(株)

するうえで、特に有用な方法とされている。この方法により、DCは強化効果を有し、DCの強化効果はME、CP、CAのいずれかひとつの併用では増強されず、これらの3種を同時併用した場合に増強されるとする報告がなされている<sup>7)</sup>。このことは、DC以外の薬物間の相互作用でそれらの薬物の強化効果が増強する可能性も示唆している。

そこで、覚せい剤原料でもあり鎮咳去痰剤の乱用による精神障害の原因として可能性が疑われているME<sup>6)</sup>と、中枢神経作用を有し鎮咳去痰剤の行動薬理学作用の主因として考えられているCA<sup>12,13)</sup>を選び、サル静脈内自己投与法による交差摂取実験<sup>16)</sup>および比率累進実験<sup>16)</sup>において、それぞれ単独の場合とこれらを併用した場合の強化効果を比較した。

### 材料および実験方法

#### 1. 動物

日本クレアおよびC. S. K実験動物(株)より購入、飼育していた中国産のオスアカゲザル (*Macaca Mulatta*) 8頭、年齢4~5歳を使用した。

#### 2. 実験環境

室温25±2℃、湿度55±5%、明暗12時間(照明:7時から19時)に調節された動物室内に設けられた、薬物自己投与実験専用個別ケージ(W 800×D 950×H 900 mm)にサルを金属性の自在アームおよびハーネスで繫留して実験を行った。餌は1日1回船橋農場製のサル飼育用固型飼料約100gと副食としてリング1個を与えた。水はケージ内に設けられた自動給水装置より自由に摂取させた。

#### 3. 薬液の調製

dl-塩酸メチルエフェドリン (ME, アルプス薬品工業)、無水カフェイン (CA, 片山化学) 塩酸コカイン (武田薬品工業) は生理食塩液 (局方) に溶解して用いた。

#### 4. 実験方法

##### 1) 静脈内交差摂取実験

若狭ら<sup>7)</sup>の報告を参考に、MEの単位用量(1回に摂取される用量)を480, 120および30 μg/kg/inj.とし、CAを市販薬剤と同じ1:1.05(504, 126, 32 μg/kg/inj.)の割合で混合したME+CA(混合)の3用量(高用量:H用量, 中用量:M用量, 低用量:L用量)および単剤の各用量について試験した。

手術により、静脈内にカテーテルを留置した4頭のアカゲザルを薬物自己投与専用ケージに繫留し、

実験に先立ち、ケージ内に設けられたレバースイッチを押すと薬液がカテーテルを介し一定容量注入される方法(FR1:レバーを1回押すと薬液が1回注入、薬物摂取可能時間:3時間/日、摂取可能時間は赤色燈で提示)により生理食塩液とコカインを摂取させ、前者では低い摂取が、後者では高い摂取が見られるまで訓練を行った。

実験ではまず強化標準薬であるコカイン(単位用量60 μg/kg/inj.)を3日間、次に生理食塩液を3日間、次に被験薬を3日間、毎日3時間ずつ摂取(FR1)させる行程をくり返した。各被験薬についてはまず混合のH, M, L用量、ついでME, CAについて同様にH用量から順次試験し、薬物の1日の摂取回数を記録した。なお、薬液容量はいずれも0.25 ml/kg/inj.とし、注入速度は約23 sec/mlとした。

##### 2) 比率累進実験

交差摂取実験と同様に静脈内にカテーテル留置した4頭のサルを、あらかじめコカインを用いて薬液1回の摂取にレバー押し100回を要するスケジュール(FR100)に習熟させた。実験は1頭当たり12あるいは16回の試行からなり、各試行は7日間のFR100による自由摂取期間(FR100期間)およびFR100から始まって薬液摂取に必要なレバー押し回数が摂取ごとに $\sqrt{2}$ 倍ずつ増加し、サルが摂取を放棄するまでの比率累進期間(PR期間)からなつた。FR100期間およびPR期間のいずれにおいても摂取後15分のタイムアウトを設けた。PR期間では、前回摂取から48時間を経過しても次の摂取に必要なレバー押し回数の半分に達しなかった場合、あるいは72時間を経過しても次の摂取に必要なレバー押し回数に達しない場合にサルが薬物摂取を放棄したとみなし、最終摂取時のレバー押し比をもってPR期間の成績(最終比)とした。試行の種類および順序はTable 1に示す通りである。薬液の注入容量および速度は交差摂取実験と同じとした。

## 結 果

### 1. 静脈内交差摂取実験

標準薬コカイン60 μg/kg/inj.は4頭いずれのサルでも高頻度に摂取され1日3時間の平均摂取回数は最低のサルで89.3±14.7, 最高で110.0±11.0であった。これに対して、生理食塩液の平均摂取回数は最高で14.8±6.0, 最低で13.9±7.8とコカインに比べ明らかに低かった。Fig. 1~4に個々のサ

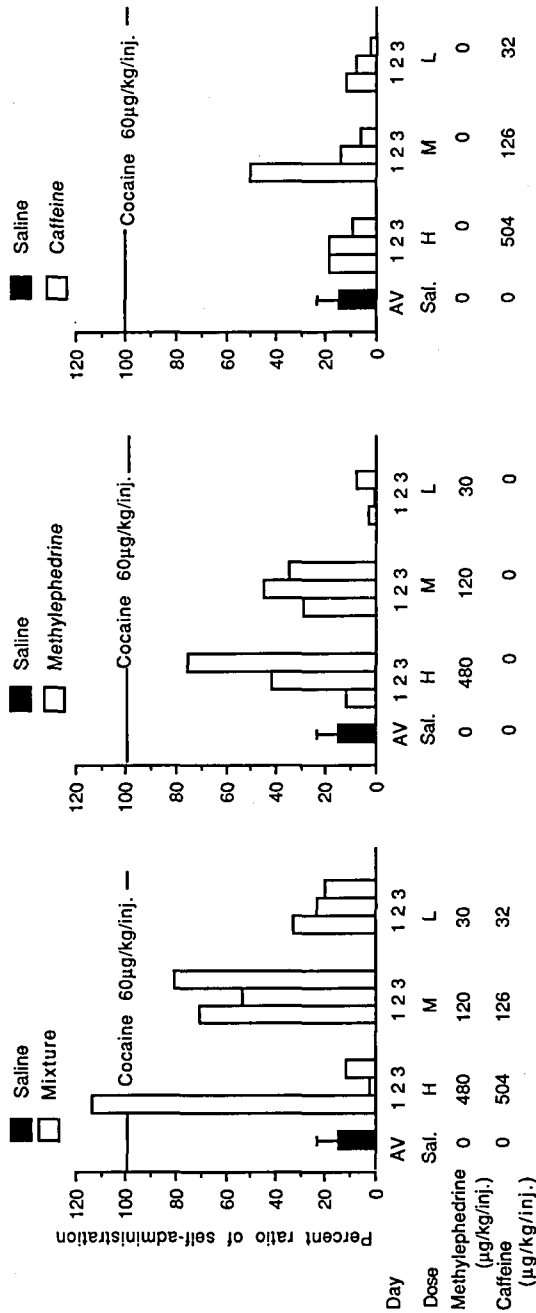


Fig. 1. Intravenous cross-self administration test of methylphenedrine, caffeine and their mixture in monkey (No. 20)

ルでの生理食塩液, ME, CA および混合の1日当りの摂取回数をコカインの1日平均摂取回数を100としたときの百分比で示した。

1) No. 20 (Fig. 1) : 平均生理食塩液摂取は  $15.1 \pm 8.4\%$  であった。混合では, H用量1日目でコカインを上回る摂取が見られたが, 2および3日目では生理食塩液を下回った。また, 1日目の試行中(約80回摂取後)に白色泡沫様の嘔吐物が見られた。M用量の3日間でも  $53.4 \sim 80.6\%$  と生理食塩液を明らかに上回る摂取が見られた。L用量の3日間の値は約20~30%の範囲を示した。MEでは, コカインを上回る摂取は見られなかった。しかし, H用量の2, 3日目およびM用量の3日間で生理食塩液を明らかに上回る摂取が見られた。CAでは, M用量の1日目に生理食塩液を明らかに上回る摂取が見られた。

2) No. 21 (Fig. 2) : このサルでは, 混合のH用量の2日目までの試行においてコカインを大きく上回る摂取がみられ, 2日目の試行終了2時間20分後に死亡した。死亡は実験者が2つ隣のケージのサルを捕獲網で捕獲しているときに起き, サルは突然横になり後肢の痙攣を示し数分内に死亡した。また, 2日間とも試行中(1日目75回, 2日目110回摂取後頃)に白色泡沫様の嘔吐物が観察された。

3) No. 22 (Fig. 3) : 平均生理食塩液摂取は  $16.4 \pm 6.6\%$  であった。混合では, M用量の1および2

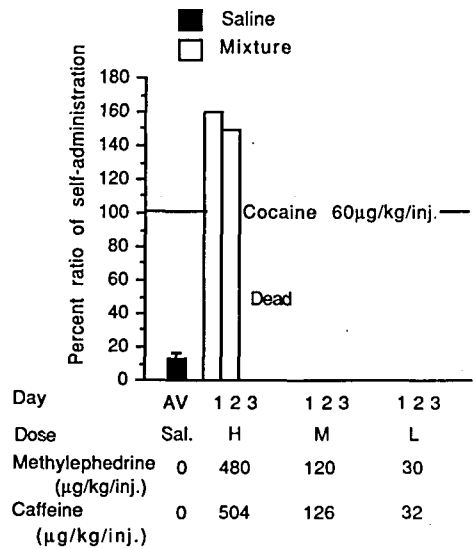


Fig. 2. Intravenous cross-self administration test of methylphenedrine, caffeine and their mixture in monkey (No. 21)



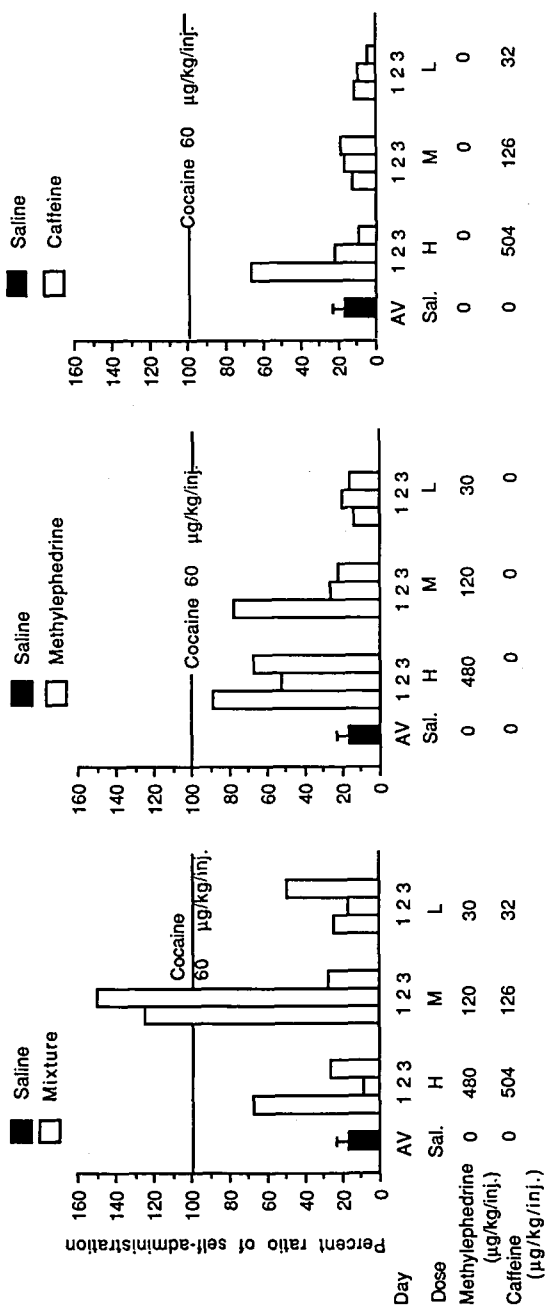


Fig. 3. Intravenous cross-self administration test of methylphenedrine, caffeine and their mixture in monkey (No. 22)

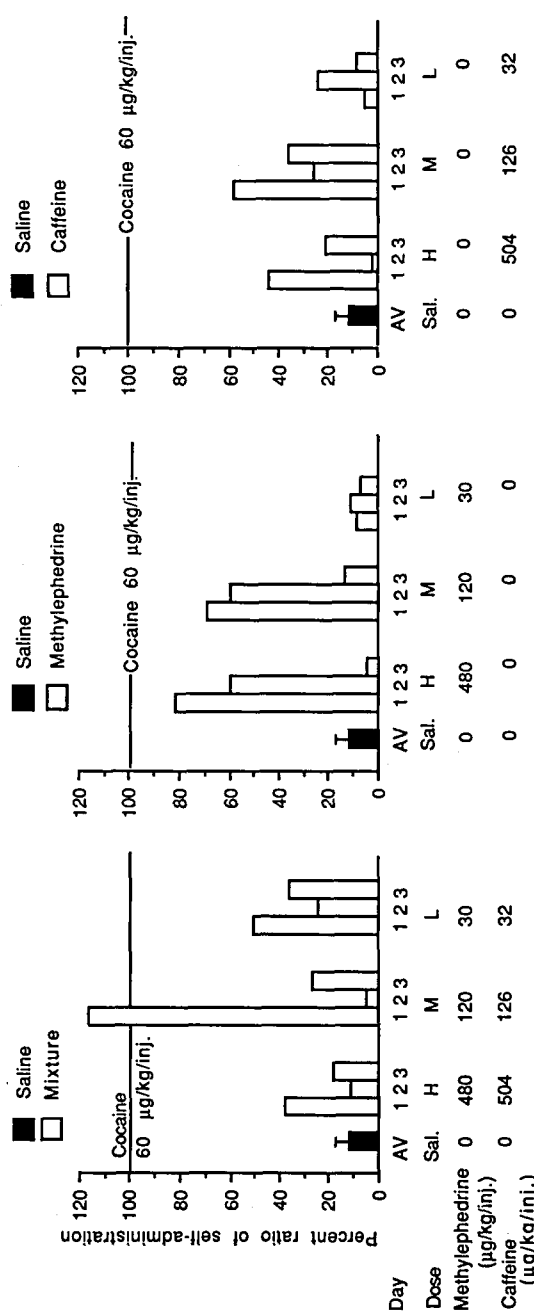


Fig. 4. Intravenous cross-self administration test of methylphenedrine, caffeine and their mixture in monkey (No. 23)

日目にコカインを上回る高い摂取が、またH用量の1日目およびL用量の3日目に生理食塩液を明らかに上回る摂取が認められた。H用量の1日目の試行中(摂取53回後)には白色泡沫様の嘔吐物も認められた。MEでは、H用量で3日間とも生理食塩液よりも明らかに高い摂取を示した。1日目の試行(80回摂取)終了30分後には少量の嘔吐物が観察された。また、M用量の1日目でも77.6%と高い摂取を認めた。CAでは、H用量の1日目で生理食塩液を明らかに上回る摂取が見られた。この他の試行では摂取は4.4~22.1%であり、生理食塩液とほとんど差は認められなかった。

4) No.23(Fig.4)：平均生理食塩液摂取は11.6±5.6%であった。混合では、M用量の1日目でコカインを上回る摂取が、またH用量の1日目、M用量の3日目およびL用量の3日間で生理食塩液を上回る摂取が観察された。MEでは、HおよびM用量の1および2日目に生理食塩液を明らかに上回る摂取が見られ、H用量では40~50回摂取後に大量の白色泡沫様の嘔吐物が観察された。L用量では生理食塩液を上回るような成績は認められなかった。CAでは、H用量の1および3日目、M用量の3日間およびL用量の2日目で生理食塩液を明らかに上回る傾向を示した。

## 2. 比率累進実験

実験結果をTable 1に示した。コカインでは、いずれのサルでもFR 100期間の1日平均摂取回数はおおよそ40~60回であった。PR期間の最終比は1900(No.49, 試行7回目)~7610(No.40, 試行1回目)であった。また生理食塩液では、FR 100期間の1日平均摂取回数はおおよそ0.5~13回、最終比は100~1130であった。このようにコカインでは生理食塩液より高い最終比が得られた。

1) No.40：M用量でのME、CAおよび混合のFR 100期間およびPR期間の成績は生理食塩液と同程度か、それを下回るものであった。4H用量での最終比はME、CAおよび混合のいずれも生理食塩液の値を軽度ながら上回る傾向を示した。しかしながら、混合による最終比の増加は認められなかった。

2) No.43：M用量では、いずれの被験薬も最終比は生理食塩液と同じか、それ以下であった。しかしながら、4H用量では生理食塩液の最終比が670および800であるのに対してMEで1600、CAで800および混合で3810と、MEおよび混合では

高い最終比を示し、また混合による最終比の増加も認められた。

3) No.49：各被験薬ともM用量では、FR 100期間およびPR期間の成績において生理食塩液と明かな差は認められなかった。4H用量では、各被験薬とも最終比は生理食塩液よりも、またM用量よりも軽度ながらも高値を示す傾向が認められた。このように単位用量の増加による強化効果の増強傾向が見られたが、混合による最終比の明かな増加は認められなかった。

4) No.50：このサルについては、ME、CAおよび混合の各々について3用量を試験した。M、Hおよび4H用量のいずれの試行でも摂取回数および最終比は、生理食塩液以下あるいは同程度であり、強化効果は認められなかった。特に4H用量の試行ではFR 100での摂取の維持が困難な場合も見られた。

## 考 察

動物実験での薬物精神依存性の検索には、自己投与試験法により薬物の強化効果を検索する方法が一般的に行われている。特にサルでの薬物自己投与法による交差摂取実験は強化効果の有無の検索に、また比率累進実験は強化効果の強さを見る上で有用な実験法とされている<sup>16)</sup>。

静脈内交差摂取実験(Fig.1)で、ME、CAおよび混合のいずれも、生理食塩液の摂取回数を上回る試行日がみられ、強化効果が認められた。いずれのサルでも混合では、単独摂取では見られないコカインを上回る回数の摂取が見られた。また、単独の場合には強化効果を示さないL用量でも、混合では強化効果が認められた。強化効果を示す最小単位用量はMEおよびCAではそれぞれ120および126 μg/kg/inj.、ME+CAでは30+32 μg/kg/inj.と考えられ、併用による強化効果の変化が強く示唆された。また、各被験薬ともHあるいはM用量では、1日目あるいは2日目に高い摂取が見られた場合でも、その後の試行日には摂取回数が生理食塩液と同じ程度まで低下する傾向を示し、薬物の過剰摂取によると考えられる摂取パターンを示した。薬物の過剰摂取は高い摂取回数を示した日に一部で嘔吐が認められたことから示唆された。

混合のH用量の1例では、2日目の試行後に死亡が見られた。このサルではコカインの摂取回数を明らかに上回るような極めて高い摂取が2日間とも

Table 1. Progressive ratio experiment by intravenous self-administration of methylephedrine, caffeine and their mixture in rhesus monkeys

Monkey No.	M DOSE									
	Drug Unite Dose	Cocaine $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Saline $\text{ml}/\text{kg}/\text{inj.}$	Methylephedrine $120 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Caffeine $126 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Mixture	Saline $\text{ml}/\text{kg}/\text{inj.}$	Mix./ Me. ratio	Mix./ Ca. ratio	
No.40	No. of inj.*	$37.7 \pm 5.0$ (1)	$13.0 \pm 5.4$ (2)	$0.6 \pm 0.5$ (5)	$6.7 \pm 3.2$ (3)	$3.1 \pm 1.4$ (4)	$1.5 \pm 0.6$ (6)	5.50	0.47	
	Final ratio**	7610	950	280	1130	480	800	1.71	0.42	
No.43	No. of inj.	$42.0 \pm 2.8$ (1)	$9.0 \pm 1.9$ (2)	$3.0 \pm 1.4$ (4)	$4.1 \pm 5.0$ (5)	$8.9 \pm 4.9$ (3)	$1.8 \pm 1.3$ (6)	2.95	2.14	
	Final ratio	3200	670	570	670	800	340	1.40	1.19	
No.49	No. of inj.	$37.2 \pm 4.1$ (1)	$8.3 \pm 2.9$ (2)	$1.0 \pm 1.4$ (4)	$1.6 \pm 0.8$ (5)	$4.7 \pm 6.9$ (3)	$0.5 \pm 0.6$ (6)	4.71	3.00	
	Final ratio	2260	400	120	280	100	100	0.83	0.36	
No.50	No. of inj.	$59.3 \pm 4.6$ (1)	$8.4 \pm 4.9$ (2)	$1.8 \pm 1.6$ (3)	$1.9 \pm 2.2$ (4)	$0.3 \pm 0.5$ (5)	$3.0 \pm 1.8$ (6)	0.13	0.13	
	Final ratio	3200	400	170	100	240	240	1.41	2.40	

Monkey No.	H DOSE									
	Drug Unite dose	Cocaine $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Saline $\text{ml}/\text{kg}/\text{inj.}$	Methylephedrine $480 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Caffeine $504 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Mixture	Saline $\text{ml}/\text{kg}/\text{inj.}$	Mix./ Me. ratio	Mix./ Ca. ratio	
No. 50	No. of inj.	$53.2 \pm 6.9$ (7)	$8.4 \pm 5.7$ (8)	$3.3 \pm 2.2$ (9)	$2.9 \pm 2.5$ (10)	$4.6 \pm 4.8$ (11)	$1.67 \pm 0.52$ (12)	1.39	1.59	
	Final ratio	7610	480	280	200	280	100	1.00	1.41	

Monkey No.	4H DOSE									
	Drug Unite dose	Cocaine $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Saline $\text{ml}/\text{kg}/\text{inj.}$	Methylephedrine $1920 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Caffeine $2016 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{inj.}$	Mixture	Saline $\text{ml}/\text{kg}/\text{inj.}$	Mix./ Me. ratio	Mix./ Ca. ratio	
No.40	No. of inj.	$31.8 \pm 4.2$ (7)	$7.0 \pm 1.4$ (8)	$6.5 \pm 3.0$ (11)	$8.0 \pm 4.6$ (9)	$2.4 \pm 0.8$ (10)	$7.7 \pm 0.8$ (12)	0.37	0.30	
	Final ratio	5380	950	1900	1350	1600	1130	0.84	1.19	
No.43	No. of inj.	$40.8 \pm 3.3$ (7)	$10.0 \pm 7.8$ (8)	$8.2 \pm 4.5$ (10)	$5.7 \pm 2.8$ (11)	$7.7 \pm 4.0$ (9)	$1.71 \pm 2.0$ (12)	0.94	1.35	
	Final ratio	2260	670	1600	800	3810	800	2.38	4.76	
No.49	No. of inj.	$51.8 \pm 1.6$ (7)	$0.8 \pm 0.8$ (8)	$6.0 \pm 5.1$ (10)	$3.1 \pm 2.8$ (11)	$6.0 \pm 7.1$ (9)	$0.8 \pm 0.8$ (12)	1.00	1.91	
	Final ratio	1900	170	570	400	670	280	1.18	1.68	
No.50	No. of inj.			$1.5 \pm 1.5$ (13)	$0.6 \pm 1.1$ (14)	$0.4 \pm 0.5$ (15)	(Cocaine) (16) $53.7 \pm 9.5$	0.29	0.75	
	Final ratio			140	200	86	6400	0.61	0.43	

\* Average daily self-administrations in the FR100 period (Mean  $\pm$  SD). \*\* The ratio attained for the last dose in the progressive ratio period. Numbers in parenthesis mean trial order in each monkey

認められており、過剰摂取が死因と考えられた。このサルでのME+CAの3時間の摂取量は問題となった市販の鎮咳去痰剤の約40 ml/kgに相当した。この結果はマウスにMEおよびCAを含む合剤を1回経口投与したところ死亡が見られたとする用量とその投与経路は異なるが一致した<sup>12)</sup>。

強化効果の強さを検討した比率累進実験 (Table 1) では、交差摂取実験においてM用量以上の実験の一部で過剰摂取の影響と見られる状態が観察されたこと、および単剤での強化効果を示す最小単位用量はM用量と考えられたので、単位用量を交差摂取実験でのM用量を用いて最初に実験した。すなわち、MEおよびCAでは120および126 μg/kg/inj.、混合ではME 120+CA 126 μg/kg/inj.とした。この用量での最終比は生理食塩液と同じか、それ以下であり強化効果は見られなかった。そこで、単位用量をM用量の16倍 (H用量の4倍) に増量し実験したところ、各被験薬とも4例中3例に強化効果が認められ、単位用量の増加による強化効果の増強が示唆された。また、このうちの1例では混合における最終比はコカインの最終比を上回るものであり、強い強化効果と併用による強化効果の増強が示唆された。

鎮咳去痰剤の精神依存性については、比率累進実験<sup>7)</sup>、薬物弁別学習法<sup>9)</sup>やplace preference test<sup>14)</sup>の結果から配合成分中のアヘンアルカロイドであるジヒドロコデインがその主体であり、これを他の配合成分が修飾していると考えられている。本実験の結果はこれらの考えを否定するものではないが、鎮咳去痰剤や感冒剤などの配合成分として広く用いられているMEおよびCAで強化効果が認められたこと、MEとCAの混合により強化効果の修飾や増強が示唆されたこと、最近ME+CAの混合液がメタンフェタミンに完全般化したとする報告<sup>15)</sup>がなされていることなどを考え合わせると、医薬品の乱用や精神依存性を考える上でこれらの配合成分の含有は重要なことと思われる。

謝辞：本研究にご助言を賜った、飼実験動物中央研究所前臨床研究部柳田知司部長に深謝致します。

## 文 献

1) 田川不知夫, 永田俊彦, 井上令一: エフェドリンを含有する市販喘息薬の濫用により分裂様症状を呈した1例. 臨床精神医学, 12, 227~232

(1983)

2) 谷 直介, 金子聖三郎, 南田節子, 三木秀樹, 葉賀 弘: ブロン依存の臨床的検討. アルコール研究と薬物依存, 19, 205~210 (1984)

3) 大谷 茂, 金杉和男, 直井一文, 宮崎知博, 小宮山徳太郎: 幻覚症状を呈したブロン液乱用の1症例. アルコール研究と薬物依存, 22, Suppl., S206~207 (1987)

4) 齊藤 学, 永野 潔: 咳き止めシロップ乱用の臨床症状と治療について. アルコール研究と薬物依存, 22, Suppl., S208~209 (1987)

5) 永野 潔, 水沢都加佐, 齊藤淳, 吉田芳子, 奥平謙一: 市販性鎮咳剤の乱用について. アルコール研究と薬物依存, 22, Suppl., S210~211 (1987)

6) 日米薬物依存シンポジウム実行委員会: “日米薬物依存シンポジウム'90—コカインと覚せい剤をめぐって—”. 麻薬・覚せい剤乱用防止センター, 東京 (1991)

7) 若狭芳男, 柳田知司: 薬物依存性に関する研究 (第50報) リン酸ジヒドロコデインの強化効果に及ぼす鎮咳去痰剤配合成分の影響. 日薬理誌, 88, 98P, (1986)

8) 渡辺 譲, 高橋正克, 金戸 洋: 市販鎮咳去痰剤エスエスブロン液Wの耐性および依存性に関する研究—ジヒドロコデインに対する配合成分の相互作用—. アルコール研究と薬物依存, 21, 205~215 (1986)

9) 山本経之, 植木昭和: 配合剤としてみた鎮咳去痰薬の薬物弁別特性. 薬物・精神・行動, 7, 167~168 (1987)

10) 鈴木 勉, 吉田恵美子, 吉井利郎, 小池洋子, 三澤美和, 柳浦才三: Dihydrocodeineの身体依存形成および鎮咳作用に対するnoscipinおよびchloropheniramineの影響. 薬物・精神・行動, 8, 337~343 (1988)

11) Ando, K., Hironaka, N. and Yanagita, T.: Studies on drug dependence (Report 54)—Discriminative stimulus properties of the ingredients of antitussive syrup in methamphetamine-trained rats. *The Jan. J. Pharmacol.*, 49, suppl., 148P, (1989)

12) 栗原 久, 田所作太郎: 鎮咳去痰剤およびその配合成分の相互作用に関する行動薬理的検討 I. マウスの移所運動活性およびレバー押し型非連続回避反応に及ぼす効果. アルコール研究と薬物依存, 24, 417~429 (1989)

13) 栗原 久, 田所作太郎: 鎮咳去痰剤およびその配合成分の相互作用に関する行動薬理的検討 II. マウスの移所運動活性に及ぼす反復投与の効果およびメタンフェタミン感受性の修飾. アルコール研究と薬物依存, 24, 430~438 (1989)

- 14) Suzuki, T., Masukawa, Y. and Misawa, M.: Drug interaction in the reinforcing effects of over-the-counter cough syrups. *Psychopharmacology*, **102**, 438-442 (1990)
- 15) Ando, K. and Yanagita, T.: Effects of an Antitussive mixture and its constituents in rats discriminating methamphetamine from saline. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **40**, 783-788 (1992)
- 16) 柳田知司: 薬物依存, 行動毒性. "毒性試験講座 8", pp. 74-103, 地人書館, 東京 (1990)

*p-tert*-Butylphenolformaldehyde resin のラットにおける  
催奇形性に関する研究

田中亮太・宇佐見誠・川島邦夫・高仲 正

Studies on the Teratogenic Potential of *p-tert*-  
Butylphenolformaldehyde Resin in Rats

Ryota Tanaka, Makoto Usami, Kunio Kawashima and Akira Takanaka

*p-tert*-Butylphenolformaldehyde resin, an adhesive, was given orally to pregnant Wistar rats by stomach intubation at the dose levels of 250, 500 and 1000 mg/kg body weight during days 7 to 17 of gestation, and the effects of the compound on dams and fetal developments were examined.

No changes in general conditions, maternal body weight, food consumption, numbers of corpora lutea and implantation ratio were observed. There was no evidence of an increase in fetal death or of malformation attributable to the treatment with *p-tert*-butylphenolformaldehyde resin in any of dose levels examined.

It was concluded that *p-tert*-butylphenolformaldehyde resin has no teratogenic effect in rats.

**Keywords** : *p-tert*-butylphenolformaldehyde resin, teratogenicity, adhesive

(Received May 31, 1992)

著者らは、家庭用品に用いられている化学物質の安全性評価の一環として、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<sup>1-3)</sup>およびゴム類の加硫促進剤<sup>4-7)</sup>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系接着剤等に使用されている *p-tert*-butylphenolformaldehyde resin (BPR) の妊娠母体および胎児発生に対する影響をラットを用いて検索したので、その成績を報告する。

BPR については催奇形性をはじめ毒性に関する報告はない。

### 実験方法

BPR は、日立化成工業㈱の製品を用いた。BPR は水にほとんど溶解しないため、ゴマ油 (日本薬局方、宮沢薬品㈱, Lot. No. IJ-2) に溶解して投与し

た。投与量は、妊娠ラットを用いた予備試験の成績を参考にし、妊娠母体に毒性徴候が認められない 1000 mg/kg を最高用量とし、以下公比 2 で除し 500 mg/kg および 250 mg/kg の 3 段階とした。

動物は、ウイスター系ラット (日本チャールスリバー、雄 13 週齢、雌 12 週齢) を用いた。動物の飼育環境は温度 25±2℃、相対湿度 55±5%、換気回数 15 回/hr、明暗交代 12 時間 (明期 6:00~18:00) とした。

妊娠ラットを得るために、未産雌を雄と同居させ、翌朝膣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 1 匹ずつ収容し、固形飼料 (オリエンタル酵母, MF) および水道水を自由に摂取させた。

各群 20 匹の妊娠ラットに、胎児の器官形成期を含む妊娠 7 から 17 日まで、BPR の 1000 mg/5 ml/kg, 500 mg/5 ml/kg および 250 mg/5 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ゴマ油 5 ml/kg を同様に経口投与した。

妊娠ラットについては、毎日一般状態を観察し、体重および摂餌量を測定した。

すべての妊娠ラットは妊娠 20 日にエーテル麻酔下で子宮を摘出し、黄体数、着床数、死亡胎児数および生存胎児数を調べた。生存胎児については外表異常の検査を行い、性別を調べ体重を測定した。各母体当たり約 1/3 の生存胎児についてはブアン液で固定したのち、頭部および腹部については Wilson の粗大切片法<sup>9)</sup>で、胸部については西村の顕微解剖法<sup>9)</sup>で内部器官の異常の検査を行った。残りの約 2/3 の生存胎児については 90%エタノール液で固定したのち、Dawson の方法<sup>10)</sup>にしたがってアリザリンレッド染色骨格標本を作製し、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、母体体重、摂餌量および胎児体重については、Bartlett の等分散検定を行い、5%有意水準で分散が等しい場合は一元配置分散分析を行った。分散が等しくない場合と、黄体数、着床数、生存胎児数、性比、異常発生率および骨化数については Kruskal-Wallis の順位和検定を行った。対照群との有意差検定は、危険率 5%および 1%で Dunnett 法または Tukey 法を用いて行った。また、死亡率および着床率については  $\chi^2$  検定を行い、危険率 5%および 1%で対照群との有意差検定を行った。

## 実験成績および考察

### 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、観察期間を通じて対照群を含む各投与群に死亡例および一般状態の変化は認められなかった。

妊娠期間中におけるラットの体重の推移を Fig. 1 に示した。妊娠期間を通じ、各群の体重はほぼ同様に推移し、対照群と各 BPR 投与群との間に有意差は認められなかった。

摂餌量については図示しなかったが、妊娠期間を通じて、対照群と各 BPR 投与群との間に有意差は認められなかった。

妊娠ラットの帝王切開成績を Table 1 に示した。黄体数、着床数および着床率とも対照群と BPR 各投与群との間に有意な差は認められなかった。

### 2. 胎児に及ぼす影響

Table 2 に示した通り、平均生存胎児数、性比、胎児体重および胎児死亡率とも対照群と BPR 各投与群との間に有意な差は認められなかった。

生存胎児の外表検査において、曲尾が対照群に 1 例および 250 mg/kg 群に 2 例観察されたが、発生率に有意差は認められなかった。500 および 1000 mg/kg 群では、外表に異常を有する胎児は 1 例も観察されなかった (Table 2)。

胎児の内部器官の検査成績を Table 3 に示した。胸腺の頸部残留が対照群を含む各群に 11~13 例観察された。左臍帯動脈が対照群に 2 例、250 mg/kg に 3 例および 1000 mg/kg 群に 1 例観察された。しかし、これらの異常は自然発生的にも観察される異常であり<sup>11,12)</sup>、BPR 投与により発生頻度が有意に

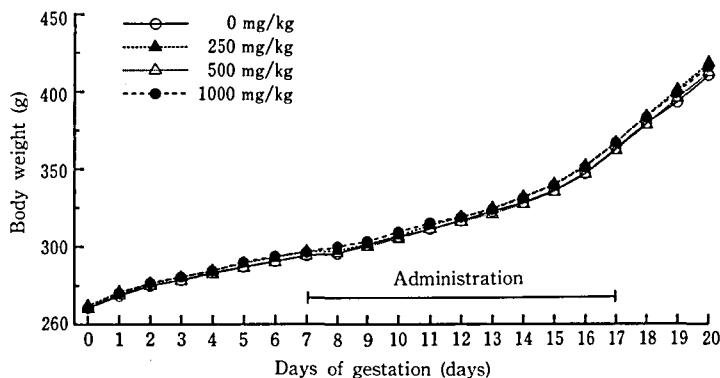


Fig. 1. Effect of oral administration of BPR on body weight of pregnant rats

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

Dose (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of dams	20	20	20	20
No. of dead dams Mortality (%)	0 0	0 0	0 0	0 0
No. of corpora lutea ( mean±S.D. )	341 (17.1±2.5)	337 (16.9±1.8)	332 (16.6±2.3)	337 (16.9±1.9)
No. of implants ( mean±S.D. )	293 (14.7±3.8)	295 (14.8±2.7)	320 (16.0±2.3)	316 (15.8±2.7)
Implantation ratio (%)	87.1	87.9	96.3	93.3

Implantation ratio (%) is given as the average from each dam.

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

Dose (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of dams	20	20	20	20
No. of implants	293	295	320	316
No. of live fetuses ( mean±S.D. )	276 (13.8±3.8)	286 (14.3±2.8)	308 (15.4±2.6)	300 (15.0±2.5)
Sex ratio (%) ( male/female )	104.4 (141/135)	93.2 (138/148)	116.9 (166/142)	96.1 (147/153)
Body weight (g)				
Male ( mean±S.D. )	3.86±0.34	3.93±0.24	3.86±0.19	3.97±0.21
Female ( mean±S.D. )	3.71±0.30	3.72±0.22	3.64±0.17	3.77±0.25
No. of dead implants	17	9	12	16
Early death	15	9	12	16
Late death	2	0	0	0
Mortality (%)	5.9	3.3	3.8	4.7
No. of dams with dead implants only (%)	0	0	0	0
No. of fetuses with external malformation	1 <sup>a)</sup>	2 <sup>a)</sup>	0	0

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

a) Kinky tail

高くなるという成績は得られなかった。

胎児の骨格検査成績を Table 4 に示した。骨格奇形として、頸椎椎弓の形成不全が対照群を含む各群に 6~14 例観察された。また、座骨の形成不全が対照群に 3 例、250 および 1000 mg/kg 群にそれぞれ 2 例、恥骨の形成不全が 250 および 1000 mg/kg 群にそれぞれ 1 例観察された。肋骨の欠損が 500 および 1000 mg/kg 群にそれぞれ 1 例、肋骨の結節形成が対照群を含む各群に 2~3 例、波状肋骨が対照群に 6 例、250 mg/kg 群に 2 例および 1000 mg/kg 群に 4 例、胸椎椎体の癒合が 1000 mg/kg 群に 1 例、仙椎前の椎骨が 25 個の胎児が 500 mg/kg 群に 4 例観察された。しかし、いずれの骨格奇形の発生率に

おいても対照群と BPR 各投与群との間に有意差は認められなかった。

骨格変異として、頭頂間骨の異常(骨化不全)が 250 および 500 mg/kg 群にそれぞれ 1 例、上後頭骨の異常(骨化不全)が対照群を含む各投与群に 6~15 例観察された。舌骨の異常(骨化不全)が対照群を含む各投与群に 25~52 例、頸椎肋骨が対照群を含む各投与群に 2~7 例、胸椎椎体の異常(二連球状、分離)が対照群を含む各投与群に 6~15 例、胸骨分節の異常(変形、分離、欠損)が対照群を含む各投与群に 3~5 例観察された。また、短小肋骨が 1000 mg/kg 群に 1 例、腰椎肋骨(痕跡状を含む)が対照群を含む各投与群に 17~27 例、腰椎椎

Table 3. Effect of oral administration of BPR to pregnant rats on internal organ development of the fetuses

Dose (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of dams	20	20	20	20
No. of fetuses examined	93	98	102	105
No. of fetuses with internal malformations	15 (14.1)	15 (14.1)	13 (11.6)	12 (10.2)
Thymic remnant in the neck	13 (12.1)	12 (11.3)	13 (11.6)	11 (9.2)
Persistent left umbilical artery	2 (2.0)	3 (2.8)	0 (0.0)	1 (1.0)

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

Table 4. Effect of oral administration of BPR to pregnant rats on skeletal development of the fetuses

Dose (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of dams	20	20	20	20
No. of fetuses examined	183	188	206	195
No. of fetuses with skeletal malformations	19(10.2)	18(9.1)	10(5.1)	9(5.0)
Hypoplasia of cervical arch	13(6.9)	14(7.1)	7(3.5)	6(3.3)
Hypoplasia of ischium	3(1.6)	2(1.1)	0	2(1.3)
Hypoplasia of pubis	0	1(0.5)	0	1(0.6)
Absence of ribs	0	0	1(0.4)	1(0.5)
Modulation of ribs	3(1.6)	2(1.1)	2(1.2)	2(1.3)
Wavy ribs	6(3.4)	2(1.0)	0	4(2.4)
Fusion of thoracic centrum	0	0	0	1(0.5)
25-pre-sacral vertebrae	0	0	4(1.7)	0
No. of fetuses with variations	71(38.2)	79(42.0)	82(39.4)	64(34.3)
Varied interparietal bone	0	1(0.6)	1(0.4)	0
Varied supraoccipital bone	15(8.2)	6(2.8)	8(4.0)	8(4.6)
Varied hyoid	44(22.9)	52(26.7)	45(21.4)	25(13.6)
Cervical ribs	4(2.1)	2(0.9)	7(3.1)	4(1.9)
Varied thoracic centrum	6(3.6)	6(3.4)	15(7.1)	14(7.2)
Varied sternbrae	3(1.5)	4(2.9)	5(2.3)	4(2.0)
Short ribs	0	0	0	1(0.5)
Lumber ribs	18(9.7)	25(14.2)	17(8.8)	27(14.2)
rudimentary	18(9.7)	22(12.7)	17(8.8)	23(12.1)
extra	0	3(1.5)	0	5(2.7)
Varied lumber centrum	0	0	1(0.5)	0
Ossification state (average number)				
Metacarpi	7.0	7.0	7.0	7.0
Metatarsi	8.0	8.0	8.0	8.0
Sacro-caudal vertebrae	7.5	7.5	7.6	7.6

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

体の異常(変形)が500 mg/kg群に1例観察された。しかし、いずれの骨格変異の発生率においても対照群とBPR各投与群との間に有意差は認められなかった。一方、サリチル酸などの催奇形物質を妊娠ラットに投与した場合、腰椎肋骨の発生頻度が増加することから<sup>13,14)</sup>、腰椎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、本試験では腰椎肋骨の発生がBPR投与によって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中手骨、中足骨および仙・尾椎骨の骨数を調べて判定したが、いずれの骨数においても対照群とBPR各投与群との間に有意差はなく、BPR投与の影響は認められなかった。

以上、本実験条件下においてBPRは、妊娠母体に影響を及ぼさず、催奇形性もないと考えられた。

## ま と め

BPRの250, 500および1000 mg/kgを妊娠ラットに胎児の器官形成期を含む妊娠7から17日まで毎日1回強制経口投与し、妊娠母体および胎児発生に及ぼす影響を検索した。

1) 妊娠母体について、いずれの投与群においても、一般状態、体重変化、摂餌量および帝王切開成績に明らかな変化は認められなかった。

2) 胎児発生について、いずれの投与群においても生存胎児数、性比、胎児重量および胎児死亡率に有意な変化は認められなかった。また、外表、内部器官および骨格の検査においてもBPR投与によると考えられる異常例は観察されなかった。

以上、p-tert-butylphenolformaldehyde resinは、



妊娠母体に影響は及ぼさず、ラット胎児の発生に対して催奇形性はないものと考えられた。

### 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) Nakaura, S. *et al.*: *J. Toxicol. Sci.*, 8, 339 (1983)
- 6) Nakaura, S. *et al.*: *J. Toxicol. Sci.*, 10, 252 (1985)
- 7) 石井浩之ら：衛生試報, 109, 37 (1991)
- 8) Wilson, J. G.: "*Teratology-Principles and techniques*" edited by Wilson, J. G. and Warkany, J., pp.262, The University of Chicago Press, Chicago and London (1965)
- 9) 西村耕一：先天異常, 14, 23 (1974)
- 10) Dawson, A. B.: *Stain Technol.*, 1, 123 (1926)
- 11) 亀山義郎ら：先天異常, 20, 25 (1980)
- 12) Morita, H. *et al.*: *Cong. Anom.*, 27, 147 (1987)
- 13) Tanaka, S. *et al.*: *Cong. Anom.*, 13, 73 (1973)
- 14) 安田峰生, 前田広由：先天異常, 13, 25 (1973)

### F344 ラットを用いた diheptyl phthalate の 28 日間 反復強制経口投与毒性試験

松島裕子・小野寺博志・三森国敏  
前川昭彦・黒川雄二・高橋道人

### Twenty-eight Day Repeated Dose Toxicity Test of Diheptyl Phthalate in F344 Rats

Yuko Matsushima, Hiroshi Onodera, Kunitoshi Mitsumori,  
Akihiko Maekawa, Yuji Kurokawa and Michihito Takahashi

A twenty-eight day repeated oral dose toxicity test of diheptyl phthalate (DHP) was carried out in male and female F344 rats at the dose levels of 0, 0.2, 1 and 5 g/kg/day. All rats in each group, consisting of 5 males and 5 females, received a daily intragastric administration of DHP for 28 days. Additional two groups of animals exposed to dose levels of 0 and 5 g/kg were used for investigation of subsequent recovery for 2 weeks.

No animals died during the administration period. Inhibition of body weight gain was observed in both sexes of the 5 g/kg group. Blood biochemistry revealed significant increases in albumin and A/G ratio in males of the groups treated with 0.2 g/kg or more, and in albumin and total protein in females treated with 1 g/kg or more. In the 5 g/kg group, BUN, GOT, GPT, ALP and Zn was increased in males, and GOT in females. The increases in GOT, GPT and ALP were also observed in males of the 1 g/kg group. Increases in liver and kidney weights were noted in both sexes treated with 1 g/kg or more and in males of the 5 g/kg group, respectively. Testicular weight was decreased in the 5 g/kg group. On histopathological examination, swelling and necrosis of hepatocytes were found in males of the 1 and 5 g/kg groups. Males of the 5 g/kg group showed atrophy of the seminiferous tubules accompanied with loss of spermatogenesis. In the recovery group, similar changes were detected in the testis, but some of the seminiferous tubules showed slight regenerative changes. In males of the 5 g/kg group, there was a decrease of eosinophilic bodies in the kidney proximal tubular epithelium.

Based on the results of the present study, it was concluded that the no-observed-effect-level of DHP is less than 0.2 g/kg/day.

**Keywords** : Diheptyl phthalate, testis, rat

(Received May 31, 1991)

## はじめに

Diheptyl phthalate (DHP) はフタル酸エステルの一種で、di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) と同様、塩化ビニル樹脂の可塑剤としてレザー、フィルム、シート、壁紙、雑貨、塗料等の広い分野で使用されている。DEHP はラットに精巣障害を引き起こし<sup>1)</sup>、さらに肝がんを発生させることが知られている<sup>2)</sup>。一方、DHP の毒性に関する報告は少なく、4 週間以上の反復投与についてのデータとしては 1000~10000 ppm の DHP をラットに 90 日間混餌投与した試験が報告されている。それによると、10000 ppm 群では肝の重量増加、空胞変性等の病変がみられたが、精巣障害についての報告はなされていない<sup>3)</sup>。また、DHP の代謝物である monoheptyl phthalate の変異原性は *Escherichia coli* および *Salmonella typhimurium* (TA 100, TA 98) のいずれにおいても陰性であることが報告されている<sup>4)</sup>。

今回著者らは、DHP の安全性を調べる目的で、28 日間反復強制投与毒性試験を実施したので報告する。

## 材料および方法

**被験物質：**DHP (diheptyl phthalate, C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>(COOC<sub>7</sub>H<sub>15</sub>)<sub>2</sub>, CAS No. 3648-21-3) は分子量 362.5、無色、無臭、水に不溶の液体である。三菱瓦斯化学㈱より購入したものを検体として用いた。

**動物および飼育環境：**5 週齢の F344/DuCrj 系 SPF ラット [日本チャールスリバー㈱] を購入し、1 週間の順化期間後試験を開始した。

動物はセミバリアーシステムで飼育し、CRF-1 固型飼料 [オリエンタル酵母㈱] と飲料水としてイオン交換水を自由に摂取させた。

**投与量設定予備試験：**本試験に先立ちその用量を決定するために、雌雄 4 匹ずつのラットにオリーブ油に溶解した DHP 0, 1, 4 および 16 g/kg を 14 日間反復強制経口投与した。なお、対照群には溶媒のオリーブ油を同様に投与した。

全群とも試験期間終了まで生存した。体重は全投与群とも対照群と同じ伸び率を示したが、一般所見では 16 g/kg 群において軟便と行動の軽度不活発がみられた。剖検では、雄 16 g/kg 群の胸腺に出血がみられ、病理組織学的には雄 16 g/kg 群の肺に出血巣と精巣精細管の重度萎縮、基底膜肥厚と間細胞の

過形成がみられた。

以上の結果より、本試験での投与量は 5 g/kg を最高として、0, 0.2, 1 および 5 g/kg 群を設定した。

**28 日間反復強制経口投与毒性試験：**雌雄各 30 匹のラットを各群 5 匹よりなる 6 群に分け、DHP をオリーブ油に溶解し 0, 0.2, 1 および 5 g/kg の用量でラット 1 匹当たり 1.5 ml 前後となるように調製して、1 日 1 回、28 日間反復強制経口投与した。なお、対照群には溶媒のオリーブ油を同様に投与した。さらに、0 および 5 g/kg 群については 2 週間休薬させる回復群 (雌雄 5 匹/群) を設けた。体重は週 2 回、摂餌量は週 1 回測定した。初回投与日は 1 日目とした。

**尿検査：**投与 24 日目に各群から任意に 2~3 匹を代謝ケージに収容し、24 時間採尿、計量した。さらに、尿中の亜鉛 (Zn) を原子吸光度計にて測定した。26 日目においては、投与 1 時間半後に強制排尿させ、尿検査用試験紙 (マイルス三共) を用い、ウロビリノーゲン、潜血、ビリルビン、ケトン体、ブドウ糖、蛋白、pH を測定した。

**血液学および血液生化学的検査：**試験終了日である 28 日目 (回復群は 42 日目) の前日から、動物を一夜絶食後エーテル麻酔下にて開腹し、腹部大動脈から採血した。血液学的検査には多項目自動血球計測装置 (Sysmex M-2000 : 東亜医用電子社) を用いて、赤血球数、白血球数、血小板数を測定するとともに血液塗抹標本を作製して、白血球分画を調べた (血液細胞自動分析装置、立石電気)。血液生化学的検査では、各群から採取した血液を遠心分離機にて 1000 rpm 10 分間遠心分離し、得られた血清を凍結保存した。全動物についてアルブミン (Alb)、総蛋白 (TP)、アルブミン/グロブリン (A/G) 比、総コレステロール (T-Cho)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (CRN)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、カルシウム (Ca)、リン (P)、Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)、Glutamic pyruvic transaminase (GPT)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、 $\gamma$ -グルタミールトランスペプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)、アルカリホスファターゼ (AIP)、コリンエステラーゼ (ChE) を、また一部の動物については亜鉛 (Zn) の測定を行った。

**臓器重量および病理組織学的検索：**試験終了日である 28 日目 (回復群は 42 日目) に全生存動物を屠殺剖検した。解剖時には脳、唾液腺、胸腺、肺、心、

脾, 肝, 副腎, 腎臓, 精巣について重量を測定し, これらの臓器とともに, その他の臓器・組織を中性ホルマリンで固定し, 通常の方法にてパラフィン包埋・HE染色を施し, 病理組織学的に検索した. なお, 精巣についてはブアン固定を行った.

**統計処理:** 尿検査における定性分析値については Mann Whittney U 検定を用いた. 体重, 血液学的検査, 血液生化学的検査値および臓器重量の結果は, 各群の分散比を 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 の方法により検定した. 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 型で, また例数が異なれば Scheffe 型でそれぞれ対照群と各投与群間との有意差検定を行った.

結 果

**一般症状および生存率:** 雌雄全群とも試験終了時まで全例生存した. 投与期間中, 雌雄の 5 g/kg 群において, 刺激に対する感受性の軽度鈍化が認められたことを除き, 投与に起因すると思われる行動異常等はみられなかった. その他の所見として, 全群において下痢はみられなかったものの雌雄の 5 g/kg 群では肛門周囲の汚れがみられた.

**体重:** 雌雄ともに 5 g/kg 群において, 投与 5 日

目より有意な体重増加抑制がみられた (Fig. 1).

**飼料摂取量:** 雄では全投与群が, 雌では 1 および 5 g/kg 群が, 対照群に比し有意 ( $p < 0.05$ ) に増加した (Table 1).

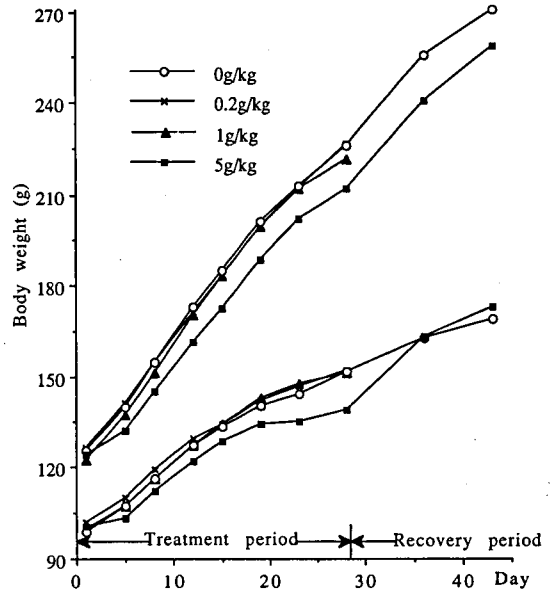


Fig. 1. Growth curves in F344 rats treated orally with DHP for 28 days and after a recovery period for 14 days

Table 1. Mean values of body weight, diet intake, urine volume and total Zinc (Zn) content in urine in F344 rats treated orally with DHP and after a recovery period for 14 days

Dose (g/kg)	No. of rat examined	Body weight (g)	Diet intake (g/rat/day)	Urine volume (ml)	Zn in urine (ppm)
<b>Ma l e s</b>					
0	5	217.3±17.1	10.58±0.17	2.6±1.34	0.62±0.19
0.2	5	226.4±13.2	11.19±0.25*	2.5±0.7	0.69±0.19
1	5	221.1±14.1	11.69±0.53*	4.0±1.56	0.73±0.23
5	5	207.1±9.2*	13.70±1.36*	5.7±2.83	0.78±0.45
recovery 0	5	270.9±4.4	13.16±1.84	-	-
recovery 5	5	258.7±10.7	14.33±1.39	-	-
<b>F e m a l e s</b>					
0	5	147.3±9.6	7.50±0.53	4.9±1.63	0.60±0.25
0.2	5	152.2±3.8	8.15±0.04	4.9±0.71	0.50±0.09
1	5	150.9±5.2	8.54±0.27*	8.0±1.93	0.78±0.25
5	5	129.5±24.4	8.97±0.69*	8.3±2.08	0.63±0.11
recovery 0	5	168.8±3.0	8.95±1.47	-	-
recovery 5	5	173.3±4.5	10.75±0.97	-	-

Each value represents mean ± S.D.

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

-: Not measured.

**尿検査：**尿中の総 Zn 量は雌雄ともに有意な変動は示さなかった (Table 1)。尿中のケトン体は、雄 1g/kg 群において対照群に比し強陽性を示す個体が有意に増加したが、5g/kg 群においては有意な変動は示さなかった。雌では、全群とも陰性であった。尿蛋白は、雄 0.2 および 1g/kg 群において強陽性を示す個体が有意に増加したが、5g/kg 群においては有意ではなかった。雌では、対照群との間に差は認められなかった。

**血液学および生化学的検査：**血液学的検査では、投与群において対照群に比べいくつかの項目が有意な変動を示したが、いずれも用量相関性ははっきりしなかった。

有意な変動を示した血液生化学的検査値を Table 2 に示した。雄において、アルブミンおよび A/G 比が 0.2 g/kg 以上の群で、総蛋白が 1g/kg 以上の群で有意に上昇した。これらはいずれも用量相関的に上昇していた。BUN および Zn は 5g/kg 群で、GOT、GPT および ALP 活性は 1g/kg 以上の群で、LDH 活性は 1g/kg 群で上昇した。これらの検査値のうち、5g/kg 回復群では BUN、GOT および LDH 活性が上昇したが、A/G 比および ALP 活性は有意に減少した。雌においては、アルブミンおよび総蛋白は 1g/kg 以上の群で、A/G 比は 1g/kg

群で上昇した。GOT と LDH は 0.2 および 5g/kg 群で上昇した。5g/kg 回復群では、いずれの検査値にも有意差は認められなかった。

**絶対および相対臓器重量：**雄においては、肝の絶対および相対重量の有意な増加が 1g/kg 以上の群でみられた。腎は 5g/kg 群で絶対および相対重量が増加し、精巣は 5g/kg 群で絶対および相対重量が減少した。5g/kg 群における肝と精巣の重量の変化は、2 週間の休薬後も依然として認められた。雌においては、肝の絶対および相対重量が 1g/kg 以上の群で増加し、腎は 5g/kg 群の相対重量が増加した。5g/kg 群における肝重量の増加は、2 週間の休薬後も依然として認められた (Table 3)。

**病理組織学的検索：**投与群において特に顕著に認められた所見は雄 5g/kg およびその回復群に見られた精細管の萎縮であった。その他投与に関連する変化が肝と腎に見られた。

**精巣：**5g/kg 群では、すべての精細管が萎縮し、セルトリ細胞および一部の精祖細胞を残すのみで、精母細胞、精子細胞および精子はまったく認められなかった。また、精細管基底膜肥厚および間細胞のび慢性過形成が認められた (Photo 1)。0.2 および 1g/kg 群においては著変は認められなかった。5g/kg 回復群においては同様に精巣精細管の萎縮が

Table 2. Serum biochemistry in F344 rats treated with DHP for 28 days and after a recovery period for 14 days

Item	28 day dosing test (g/kg)				14 day recovery test (g/kg)	
	0	0.2	1	5	0	5
No. of rats examined	5	5	5	5	5	5
<b>Male</b>						
Albumin (g/dl)	4.34±0.05	4.6±0.19*	4.86±0.15**	5.28±0.22**	4.62±0.08	4.48±0.15
T. protein (g/dl)	5.84±0.15	5.98±0.26	6.04±0.11*	6.24±0.24*	6.32±0.15	6.44±0.13
A/G	2.94±0.15	3.34±0.11**	4.16±0.47**	5.58±0.68**	2.72±0.08	2.32±0.11**
BUN (mg/dl)	13.26±1.0	14.34±1.64	14.26±0.51	21.34±13.59*	18±1.35	20.72±1.48*
Zn (mg/dl)	128.4±7.16	-	-	162.6±3.05**	-	-
GOT (IU/l)	84.2±8.35	74.2±18.58	114.6±11.93**	103.2±13.26*	66±6.82	75.6±0.89*
GPT (IU/l)	38±9.03	41±3.81	65.8±20.15*	63.6±17.94*	33.4±1.14	35.8±3.42
LDH (IU/l)	1491±349.4	1035.4±1115.3	2560.4±459*	1583.4±274.33	771.2±395.22	1691.8±146.7**
ALP (IU/l)	679.6±22.24	697.2±22.78	767.4±37.8**	750.4±38.75**	413.6±22.24	358±1.00**
<b>Female</b>						
Albumin (g/dl)	4.34±0.09	4.38±0.11	4.92±0.23**	5.36±0.48**	4.36±0.15	4.36±0.11
T. protein (g/dl)	5.6±0.14	5.66±0.15	5.96±0.3*	6.28±0.31**	5.96±0.15	6.18±0.19
A/G	3.48±0.22	3.46±0.21	4.74±0.3*	6.29±2.29	2.74±0.11	2.54±0.18
BUN (mg/dl)	12.6±1.57	12.14±1.5	12.58±1.09	14.96±3.41	17.38±2.45	17.8±2.52
GOT (IU/l)	64.8±5.0	79.2±12.6*	84.6±21.34	94.2±3.7**	62.6±4.4	59.2±4.5
GPT (IU/l)	33±4.69	36.8±5.17	34±2.24	56.6±29.99	32±3.54	29±1.87
LDH (IU/l)	226.6±141	1103.6±500.5*	1147±839.8	1333.2±715.1*	315±206.1	422.2±175.6
ALP (IU/l)	485.6±36.2	469±33.22	530±43.7	573.8±123.1	306.2±26.7	293.4±32.7

Each value represents mean ± S.D.

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

-: Not measured.

Table 3. Absolute and relative organ weights in F344 rats treated with DHP for 28 days and after a recovery period for 14 days

Item	28 day dosing test (g/kg)				14 day recovery test (g/kg)	
	0	0.2	1	5	0	5
No. of rats examined	5	5	5	5	5	5
Absolute weight						
Male						
Liver	5.640±0.459	6.584±0.486	8.140±0.798**	9.412±0.824**	7.120±0.590	8.120±0.406*
Kidney	1.450±0.110	1.548±0.077	1.617±0.131	1.702±0.113*	1.749±0.101	1.743±0.076
Testis	2.703±0.093	2.585±0.196	2.588±0.100	0.663±0.067**	2.970±0.206	0.859±0.053*
Female						
Liver	3.756±0.297	4.200±0.183	5.209±0.324**	6.470±0.359**	3.979±0.194	4.527±0.142*
Kidney	1.041±0.061	1.079±0.032	1.123±0.053	1.111±0.104	1.079±0.035	1.148±0.0731
Relative weight						
Male						
Liver	2.596±0.008	2.920±0.110	3.680±0.220**	4.558±0.500**	2.627±0.182	3.218±0.110*
Kidney	0.700±0.000	0.700±0.000	0.720±0.040	0.800±0.070*	0.640±0.050	0.680±0.040
Testis	1.240±0.090	1.160±0.050	1.180±0.080	0.320±0.040**	1.100±0.120	0.320±0.040**
Female						
Liver	2.550±0.105	2.759±0.063	3.458±0.154**	5.114±0.799**	2.357±0.080	2.613±0.070**
Kidney	0.700±0.000	0.720±0.040	0.740±0.050	0.880±0.080**	0.660±0.050	0.680±0.040

Each value represents mean ± S.D.

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

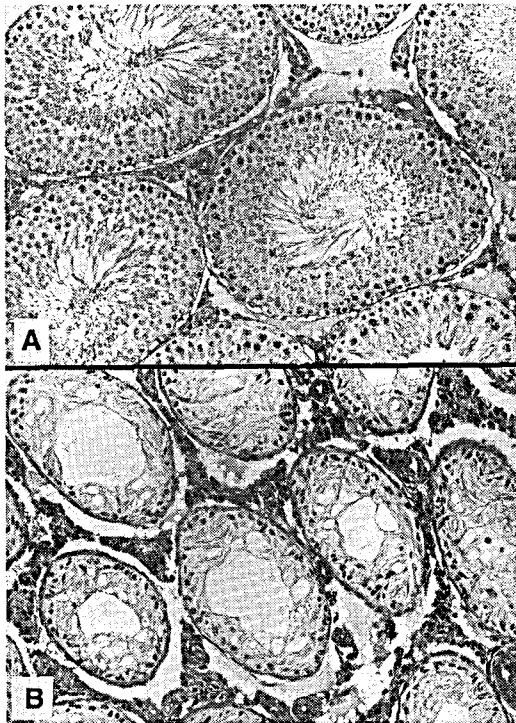


Photo. 1. Microscopic photographs of the rat testis. H-E stain.  $\times 200$ .

A : Control group. Normal structure.

B : Group treated with 5 g/kg body weight for 28 days. Note seminiferous tubules consisting of only Sertoli cells with complete loss of germinal cells.

見られたが、一部の精細管では精祖～精母細胞が出現していた。

肝：雄の1および5g/kg群で肝細胞腫大，中心静脈周囲の肝細胞の類壊死あるいは限局性肝細胞壊死が認められた。一部においては，明瞭な壊死巣や脂肪変性がみられた。腫大肝細胞の細胞質はエオジン好染性であり，曇りガラス状を特徴としていた。

腎：雄の5g/kgおよびその回復群で好酸性小体の減少がみられたが，その他には腎障害を示唆する所見はみられなかった。

## 考 察

本試験の雌雄の1g/kg以上の投与群においては，肝の絶対および相対重量が有意に増加した。血液生化学的検査では雄の1g/kg以上の群においてGOTおよびGPTの上昇がみられ，雌では5g/kg群でGOTの上昇がみられた。また，病理組織学的には雄の1g/kg以上の群で肝細胞腫大，肝中心静脈周囲肝細胞の類壊死または壊死がみられ，DHPの肝障害性が示唆された。一方，雌においてはこのような肝の形態所見ははっきりせず，本化合物による肝病変には性差が存在するものと推察された。フタル酸エステル投与による肝腫大および肝重量増加は既に多々報告されており，さらにDEHPはperoxisome proliferatorであり，肝発がん物質として作用することが報告されている<sup>2)</sup>。DHPの構造およ

び代謝は DEHP と類似し<sup>5,6)</sup>、また、本試験でみられた肝病変は DEHP および他のフタル酸エステルで認められた所見とほぼ同様であることより DHP も peroxisome proliferator であると考えられた。

血液生化学的検査において、雌雄 1 g/kg 以上の群ではアルブミンや総蛋白の増加がみられた。アルブミンは主に肝細胞で生産されている。したがって、肝実質細胞障害がある場合、その機能低下によりアルブミンは減少するはずである。検体投与に伴う体重増加抑制に起因する血液濃縮による見かけの上昇の可能性も考えられるが、血液検査ではそのような濃縮傾向はみられず、認められたアルブミンの増加の原因は明確にすることができなかった。

雄の 5 g/kg 群においては、腎重量が有意に増加し、血液生化学的検査においても BUN が顕著に上昇したことから、同群における腎機能障害の発現が考えられた。しかし、病理組織学的検索では、同群で好酸性小体の減少がみられた以外には特に腎障害を示唆する所見はみられなかった。一方、DEHP の亜慢性毒性試験では腎重量の増加および BUN の上昇、さらに腎の尿細管上皮の混濁変性および細胞質の崩壊や壊死がこれまでも多々報告されており<sup>9)</sup>、今回の試験では病理組織学的には腎傷害を示唆する所見は見られなかったが、DHP を長期投与することにより DEHP と同様の所見が出現するものと推察する。

フタル酸エステルの精巣毒性については、これまで多数報告されている<sup>1)</sup>。しかしながら、DHP の毒性に関するこれまでの報告では 2.6 g/kg/日の 4 日間の経口投与<sup>7)</sup>、また 10000 ppm を 90 日間投与<sup>3)</sup> (およそ 700~800 mg/kg/日) および今回の試験においても 1 g/kg 群では精巣障害がみられなかった。一方、5 g/kg 群では重篤な精巣毒性がみられ、組織学的には DEHP で報告されている精巣毒性の所見とほぼ同様であった。フタル酸エステルの精巣毒性の原因として Zn の精巣からの流失が指摘されている<sup>17)</sup>。今回の試験では精巣中の Zn 量は測定して

いないが、血液中の Zn が増加していることから、精巣からの Zn の流失の可能性も考えられた。しかし、これについてはさらなる検討が必要であろう。病理組織学的には 5 g/kg 回復群においてもなお精細管の萎縮がみられたが、一部の精細管で精祖~精母細胞が出現していることから、5 g/kg を 28 日間投与することによって誘発された精巣障害においては精祖細胞までは障害されないものと考えられた。

以上の結果から、本試験条件下における NOEL は 0.2 g/kg/日未満と判定された。

## 文 献

- 1) Gangolli, S. D.: Testicular effects of phthalate esters. *Environ. Health Perspect.*, **45**, 77~84 (1982)
- 2) Warren, J. R., Lalwani, N. D. and Reddy, J. K.: Phthalate esters as peroxisome proliferator carcinogens. *Environ. Health Perspect.*, **45**, 35~40 (1982)
- 3) Industrial BIO-TEST Laboratories: "90-day subacute oral toxicity study with DHP in albino rats", pp. 1~234, IBT NO. 621~05509 (1975)
- 4) Yoshikawa, K., Tanaka, A., Yamaha, T. and Kurata, H.: Mutagenicity study of nine mono-alkyl phthalates and a dialkyl phthalate using salmonella typhimurium and escherichia coli. *Fd. Chem. Toxicol.*, **21**, 221~223 (1983)
- 5) 大場琢磨, 鈴木康雄, 大森義仁, 桑村 司, 山羽力, 田中 彰, 小田島成和, 石館 基, 前川明彦: 医療用塩化ビニル樹脂の可塑剤フタル酸エステル. *衛生試報*, **93**, 1~25 (1975)
- 6) Sato, M., Adachi, T., Tanaka, A. and Yamaha, T.: Biochemical studies on phthalic esters. IV. metabolism of diheptyl phthalate in rats. *Drug Metab. Disp.*, **12**, 517~522 (1984)
- 7) Foster, P. M. D., Thomas, L. V., Cook, M. W. and Gango, S. D.: Study of the testicular effects and changes in zinc excretion produced by some n-alkyl phthalates in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **54**, 392~398 (1980)

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

林 修次・豊田和弘・古田京子・畝山智香子  
川西 徹・今井田克己\*・高橋道人

## Twenty-eight-day repeated dose toxicity test of pentaerythritol in F344 rats

Shuji Hayashi, Kazuhiro Toyoda, Kyoko Furuta, Chikako Uneyama,  
Toru Kawanishi, Katsumi Imaida\* and Michihito Takahashi

A twenty-eight-day repeated dose toxicity test of pentaerythritol at dose levels of 1000 or 0 mg/kg/day was carried out in male and female F344 rats. Thirteen animals of each sex were divided into 2 groups with 7 rats receiving pentaerythritol treatment and 6 rats served saline as control. All groups received an i.g. administration daily for 28 days. As to serum biochemical and hematological examinations, there were no serious differences between the pentaerythritol-treated rats and the control rats. On histopathological examination, no specific changes were observed in the pentaerythritol-treated rats. Based on these results, the no-observed-effect level of pentaerythritol can be concluded to be more than 1000 mg/kg/day.

**Keywords :** pentaerythritol, twenty-eight-day repeated dose toxicity test, F344 rat

(Received May 31, 1992)

## はじめに

Pentaerythritol (PE, CAS No: 115-77-5,  $C_5H_{12}O_4$ ) は, Fig. 1 に示す構造式を有する分子量 136.15 の化合物で, 吸湿性がなく空气中で安定な白色粉末であり, 樹脂の原料, 界面活性剤, 化粧品等に広く用いられている。毒性試験としては, 現在までに Ames 法による変異原性試験<sup>1)</sup>, 経口投与急性毒性試験<sup>2)</sup>, ラットの 90 日間経口投与試験<sup>2)</sup> が実施されているが, それらによれば, PE には変異原性がなく, マウスの  $LD_{50}$  値は 25500 mg/kg, モルモットの  $LD_{50}$  値は 11300 mg/kg であるとされている。また, 連続投与においては混餌 5.0% 濃度で下痢および盲腸の拡張が出現した程度であったと報

告されている。

今回, F344 系雌雄ラットを用いて化審法ガイドラインに従い, 28 日間反復投与試験を実施し, その毒性の有無について検索した。

## 実験材料および方法

5 週齢の F344 系ラット雌雄各 13 匹を日本チャールスリバー社より購入し, 1 週間馴化させたのち, 雌雄とも 2 群に分け, PE 投与群は 7 匹, 対照群は 6 匹とした。実験は温度  $24 \pm 1^\circ C$ , 湿度  $55 \pm 5\%$ , 換気回数 18/hr (オールフレッシュ), 蛍光灯照明 12 時間 (7~19 時) に制御されたバリエーションシステムの飼育室で行った。動物はソフトチップ (三共ラボサービス) を床敷としたプラスチックケージ内に収容し, 固型飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母) および飲料水 (水道水) を自由摂取させた。

予備的検討により PE の毒性が低いことが判明したため化審法毒性試験法の限度試験に該当すると判断し, 用量として 1000 mg/kg のみを選び, 雌雄とも対照群と 1000 mg/kg の 2 群とした。

検体は三菱瓦斯化学製の PE (純度 96.4%) を用いた。PE は蒸留水に溶解させて 10% 溶液とし, ラ

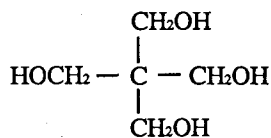


Fig. 1. Chemical structure of pentaerythritol

\* 名古屋市立大学医学部第一病理

ット用金属製胃ゾンデを用い、10 ml/kg の容量を 1 日 1 回、28 日間連続経口投与した。なお、対照群には溶媒の蒸留水を同様に投与した。投与後全動物の一般状態を連日観察し、体重は 3 日毎に、摂餌量は週に 1 回、定期的に測定した。最終投与日の夕刻に尿を採取し、尿検査用試験紙（マルチスティックス：マイルス三共）を用い pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血およびウロビリノーゲンの各項目について半定性試験を行った。その後一晩絶食させ、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動物を屠殺剖検した。血液学的検査は自動血球計測装置（東亜医用電子社、M-2000）にて赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、MCV、MCH、MCHC の各項目について実施した。また、血清生化学的検査は分離した血清を凍結後、GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ（AIP）、 $\gamma$ -GTP、総ビリルビン、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 比、尿素窒素（BUN）、クレアチニン、カルシウム（Ca）、無機リン（P）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、クロール（Cl）の各項目について（株）エスアールエル（SRL）に依頼し実施した。

剖検時、肉眼的な観察を行ったのち、諸臓器および組織を摘出、精査し、脳、下垂体、唾液腺、胸腺、心臓、肺、腎臓、副腎、脾臓、肝臓、精巣および卵巣の重量を測定した。上記の臓器および組織に加え、眼球、ハーゲ腺、脊髄、胸骨、大腿骨、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節、副鼻腔、気管、食道、甲状腺、舌、大腿筋、精巣上体、精囊腺、前立腺、子宮および陰を 10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定した。固定臓器は通常の方法によりパラフィン包埋して薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施し、病理組織学的な検索を行った。

体重、摂餌量、血液学的検査、血清生化学的検査および臓器重量の結果については、分散分析を行った後、*t*-検定法で有意差検定を行った。

## 結 果

### 1. 一般状態、体重、摂餌量

全試験期間を通じて、死亡例は認められなかった。また、いずれの群の動物においても一般状態の異常は認められなかった。

雌雄動物の平均体重推移を Fig. 2 に、平均摂餌

量を Table 1 に示した。雌雄とも実験期間中の体重および摂餌量に群間の有意差は認められなかった。

### 2. 血清生化学的所見

雌雄動物の検査項目結果を Table 2 に示す。

一般的に、検査を行った各項目において大きな変動は認められなかった。ただし、軽度な変化ではあったが統計学的には、雄においてアルカリフォスファターゼ値の低下 ( $P < 0.01$ )、また雌においては GOT、尿素窒素、ナトリウムおよびクロール値の上昇が認められた ( $P < 0.05$  または  $P < 0.01$ )。

### 3. 血液学的所見

雌雄動物の血液学的検査の結果を Table 2 に、また白血球百分比を Table 3 に示した。

血液学的検査については統計学的に雌において MCV の増加および MCHC の減少が認められたが ( $P < 0.01$ )、雄においてはこれらの変化は全く認められなかった。また、白血球百分比については雌雄ともに有意な差は認められなかった。

### 4. 尿検査所見

雌雄動物の尿検査の結果を Table 4 に示した。

Table 1. Food intakes in rats treated orally with pentaerythritol (PE)

Group	No. of animals	Food intake (g/day/animal)		
		2W	3W	4W
<b>Male</b>				
Control	6	16.1	16.9	16.8
PE-1000mg/kg	7	16.0	16.6	16.3
<b>Female</b>				
Control	6	11.4	10.4	11.1
PE-1000mg/kg	7	11.0	11.5	11.2

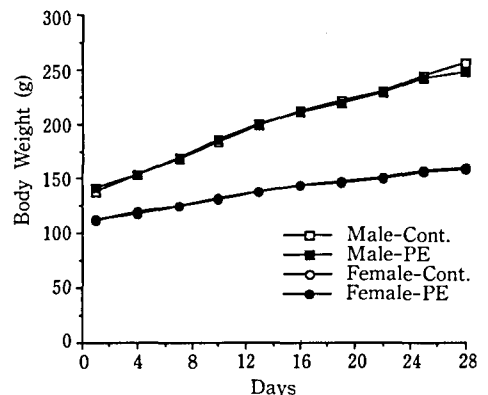


Fig. 2. Growth curves in rats treated orally with or without pentaerythritol (PE)



雌雄とも各項目に群間の有意差は認められなかった。

### 5. 剖検所見

雌雄を通じて臓器・組織の肉眼的変化は認められ

Table 2. Serum chemistry and hematology data for rats treated orally with pentaerythritol (PE)

Item	Male		Female	
	Control	PE-1000mg/kg	Control	PE-1000mg/kg
Effective No. of animals	6	7	6	7
<b>Serum chemistry</b>				
GOT(IU/l)	103±8.3	110±18.4	60.5±2.8	73.9±7.1**
GPT(IU/l)	39.8±1.47	40.9±3.85	33.7±3.3	34.3±4.5
ALP(IU/l)	539±18.3	505±16.5**	368±35.7	360±25.1
γ-GTP(IU/l)	—	0.14±0.38	0.33±0.52	0.29±0.49
T-bilirubin(mg/dl)	0.07±0.05	0.03±0.05	—	—
T-cholesterol(mg/dl)	56.8±2.04	54.9±4.85	85.5±7.0	80.6±9.3
Cholinesterase(IU/l)	1.50±0.55	3.00±2.16	3.00±2.45	2.57±1.27
T-protein(g/dl)	6.45±0.08	6.40±0.13	5.97±0.24	6.11±0.19
Albumin(g/dl)	4.65±0.11	4.70±0.13	4.47±0.20	4.50±0.12
A/G	2.62±0.16	2.80±0.22	3.00±0.20	2.79±0.11
BUN(mg/dl)	20.7±1.40	20.1±1.00	16.5±1.53	19.7±1.81**
Creatinine(mg/dl)	0.43±0.05	0.47±0.05	0.37±0.05	0.44±0.08
Ca(mg/dl)	10.2±0.08	10.1±0.17	10.4±0.29	10.2±0.20
P(mg/dl)	7.70±0.46	7.77±0.33	6.92±0.46	7.09±0.48
Na(mEQ/l)	145±0.8	145±1.1	144±0.8	147±1.3**
K(mEQ/l)	4.82±0.15	4.64±0.28	3.82±0.26	4.17±0.46
Cl(mEQ/l)	104±1.5	104±1.6	107±1.4	109±1.3*
<b>Hematology</b>				
Erythrocyte( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )	991±42.1	1036±111	948±39.7	974±25.9
Hemoglobin(g/dl)	16.5±0.57	17.1±1.85	16.1±0.62	16.4±0.48
Hematocrit(%)	54.3±2.26	56.6±6.39	51.0±1.96	52.9±1.37
MCV(fl)	54.8±0.41	54.6±0.32	53.7±0.34	54.3±0.31**
MCH(pg)	16.7±0.16	16.6±0.15	17.0±0.20	16.8±0.24
MCHC(g/dl)	30.5±0.28	30.3±0.24	31.6±0.23	31.0±0.33**
Leukocyte( $\times 10^2/\mu\text{l}$ )	42.0±4.90	48.3±6.87	41.8±6.37	42.3±8.40
Platelet( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	105±6.3	110±15.9	102±4.7	98±8.7

Data represent mean values±S.D.

— : Not detectable.

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

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

Table 3. Analysis of leukocyte for rats treated orally with pentaerythritol (PE)

Group	No. of animals	Leukocytes (%)					
		Band	Segment	Eosinophil	Basophil	Lymphocyte	Monocyte
<b>Male</b>							
Control	6	0	24.5	0.6	0	74.5	0.3
PE-1000mg/kg	7	0.4	19.4	0.7	0	78.6	0.9
<b>Female</b>							
Control	6	0.3	13.5	1.1	0	85.0	0.2
PE-1000mg/kg	7	0	18.0	0.9	0	80.8	0.3

Table 4. Urinalysis in rats treated orally with pentaerythritol (PE)

Group	No. of animals	pH			Protein				Urobilinogen	Occult blood	Bilirubin	Keton body	Glucose
		6	7	8	-	±	+	++	+++	normal	-	±	-
<b>Male</b>													
Control	6	6			1 4 1				6	6	6	6	6
PE-1000mg/kg	7	3 4			2 4 1				7	7	7	7	7
<b>Female</b>													
Control	6	3 2 1			2 4				6	6	6	6	6
PE-1000mg/kg	7	4 3			4 3				7	7	7	7	7

Table 5. Absolute organ weights in rats treated orally with pentaerythritol (PE)

Item	Male		Female	
	Control	PE-1000mg/kg	Control	PE-1000mg/kg
Effective No. of animals	6	7	6	7
	(g)			
Body weight	237±9.8	232±6.5	145±9.3	148±7.8
Brain	1.93±0.05	1.90±0.07	1.79±0.06	1.76±0.06
Pituitary	0.009±0.001	0.009±0.001	0.011±0.001	0.011±0.001
Saliv. glands.	0.40±0.05	0.43±0.02	0.31±0.02	0.29±0.03
Thymus	0.32±0.05	0.30±0.04	0.27±0.03	0.27±0.03
Lung (R)	0.62±0.06	0.60±0.06	0.48±0.04	0.46±0.03
Lung (L)	0.33±0.03	0.30±0.01	0.24±0.02	0.24±0.01
Heart	0.80±0.06	0.83±0.03	0.56±0.04	0.56±0.06
Spleen	0.50±0.02	0.50±0.02	0.38±0.04	0.36±0.05
Liver	7.11±0.30	7.08±0.37	3.98±0.21	4.02±0.24
Adrenal (R)	0.022±0.005	0.026±0.013	0.025±0.002	0.023±0.004
Adrenal (L)	0.025±0.006	0.025±0.005	0.026±0.003	0.026±0.004
Kidney (R)	0.86±0.03	0.85±0.04	0.56±0.04	0.56±0.05
Kidney (L)	0.86±0.05	0.87±0.03	0.56±0.05	0.56±0.05
Testis (R)	1.46±0.17	1.38±0.03	—	—
Testis (L)	1.44±0.05	1.41±0.04	—	—
Ovary (R)	—	—	0.046±0.007	0.049±0.005
Ovary (L)	—	—	0.047±0.006	0.051±0.013

Data represent mean values ± S.D.

なかった。

## 6. 臓器重量

雌雄動物の絶対臓器重量を Table 5 に示した。雌雄とも各臓器重量に群間の有意差は認められなかった。

## 7. 病理組織学的所見

**心臓：**対照群の雄 1 例および PE 群の雄 1 例で右心室心内膜近隣の筋層に小壊死巣およびマクロファージを主体とする細胞浸潤が認められた。

**骨髄：**PE 投与群の雌 1 例に、造血領域の軽度な減少が認められた。

上記以外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

PE の 1000 mg/kg をラットに 28 日間強制経口投与した結果、血液学的および血清生化学的検査値において、統計学的に雄でアルカリフォスファターゼ値の低下、また雌で GOT、尿素窒素、ナトリウムおよびクロール値の上昇ならびに MCV の増加および MCHC の減少が示された。GOT は一般的に肝障害の有効な指標として用いられており、この値の上昇と同時に GPT、アルカリフォスファターゼ等の値が上昇した場合肝障害が強く疑われるが、今回

はこれらの値に変動はなく、肝にもなんら病理組織学的な変化は認められなかった。また、尿素窒素については、その上昇の主な原因として、腎障害、組織蛋白の異化亢進、蛋白摂取量の増加、消化管出血、脱水等が挙げられる<sup>3)</sup>。しかしながら、PE群の体重推移、摂餌量は対照群と差がなく、病理組織学的にもそれらの変化を裏付ける所見は認められなかった。ナトリウムおよびクロール値の上昇については、Cl/Na比は対照群とほぼ同値であったことから酸・塩基平衡の不均衡による病態は生じておらず、また病理組織学的検索の結果、腎の形態変化も認められなかった。MCVの増加については、赤血球数およびヘマトクリット値が対照群とほぼ同値であったことから、正常値の変動範囲内の変化であると考えられる。MCHCの減少についても、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値が対照群とほぼ同値であったことから、正常値の変動範囲内の変化と考えられる。これらの変動には統計学的に有意差が認められたものの、雌雄に共通した変化は全く認められなかった。さらに、病理組織学的にこれらの変化を裏付ける所見が認められなかったことなどから、今回認められた血液学的および血清生化学的検査値の変動はPE投与と直接的な関連はないものと思われる。

病理組織学的な変化として、PE群および対照群の雄各1例で心筋の小壊死巣および細胞浸潤が認められた。この変化は通常散見される程度のものであり、PE投与によるものではないと考えられる。また、PE群の雌1例に骨髄の造血領域の軽度な減少が観察された。この動物は白血球特にリンパ球が減少しており、その原因は不明であったが、PE投与との関連はないものと考えられる。

以上の結果、PE 1000 mg/kg投与群の雌雄いずれにおいてもPE投与によると思われる有意な変化が認められなかったことから、本試験条件下におけるPEの無影響量(Non-observed Effect Level: NOEL)を1000 mg/kg以上と判断した。

## 文 献

- 1) H. Shimizu, Y. Suzuki, *et al.*: *Jpn. J. Ind. Health*, **27**, 400 (1895)
- 2) M. L. Keplinger: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **6**, 351 (1964)
- 3) 河合 忠, 玄番昭夫, 屋形 稔: "LABORATORY MEDICINE 異常値の出るメカニズム", pp. 108, 医学書院 (1985)

N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine 投与ハムスターの  
膵および肝の急性変化における細胞増殖活性の検討

榎並倫宣・古川文夫・三井雅之・吉村博之  
今沢孝喜・西川秋佳・高橋道人

Studies on Cell Proliferation Activities in Acute Toxic Lesions in the Liver and  
Pancreas of Hamsters Treated with N-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine

Tomonori Enami, Fumio Furukawa, Masayuki Mitsui, Hiroyuki Yoshimura,  
Takayoshi Imazawa, Akiyoshi Nishikawa and Michihito Takahashi

Histopathology and cell proliferation activities in acute toxic lesions in the liver and pancreas of female Syrian hamsters given a S.C. injection of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) at a dose of 100 mg/kg, were investigated. Histologically, at one day after administration, hypertrophy and focal necrosis of the hepatocytes were observed, whereas no remarkable changes were seen in the pancreas. At 7 days after administration, when diffuse hypertrophy, vacuolation and necrosis of the hepatocytes, and atypical hyperplasia of the bile duct were seen in the liver, hyperplasia of the pancreatic duct and focal necrosis and vacuolation of the acinar cells were noticed in the pancreas.

Immunohistochemistry for both 5-bromodeoxyuridine (BrdU) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) revealed remarkable increases of cell proliferation activities in the target cells for BOP toxicity, especially at 7 days after BOP treatment.

Meanwhile, the number per nucleus of silver-stained proteins related to nucleolar organizer regions (AgNOR) was significantly increased in the target cells at both 1 and 7 days after BOP treatment.

Thus, in the present study, it was suggested that acute toxic changes in the liver of hamsters treated with BOP precedes those in the pancreas. The speculation that AgNOR may be an indicator recognizing earlier alterations on acute BOP toxicity remains to be examined.

**Keywords:** N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP), acute toxicity, cell proliferation, pancreas, liver

(Received May 31, 1992)

はじめに

N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) は、ハムスターにおいて主に膵臓の導管系に標的性を示すニトロソアミン系の発がん物質である。BOP 投与により膵臓の導管は異形成病変を経て腺癌に至ると考えられ、腫瘍の発生までには約 10 週間を要する<sup>1,2)</sup>。しかし、BOP 投与による急性変化における細胞増殖活性の詳細な検討はなされていない。

近年、細胞増殖活性や腫瘍の悪性度を評価する指標として nucleolar organizer region (NOR) が注目されている。NOR は rRNA をコードしている DNA (rDNA) のループの集合体であり、銀染色

(AgNOR 染色) により核内の顆粒 (AgNOR) として観察され<sup>3,4)</sup>、細胞核当たりの AgNOR 数が細胞増殖活性の上昇にともなって増加することが知られている<sup>5)</sup>。また、最近著者らは、腫瘍の悪性化にともなって不整形の AgNOR が増加することを明らかにした<sup>6)</sup>。本報告では、ハムスターに BOP を投与し、これによって引き起こされる膵臓および肝臓の急性変化を病理組織学的に検索すると同時に、bromodeoxyuridine (BrdU) 免疫染色、proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 免疫染色および AgNOR 染色を用いて諸病変に対する細胞増殖活性の比較検討を行った。

### 実験材料および方法

動物は雌成熟シリアンゴールデンハムスター (SLC) を用いた。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  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$ 、換気回数 18/hr (オールフレッシュ)、12 時間の蛍光灯照明、12 時間の消灯とした。動物はポリプロピレンケージに収容し、床敷はソフトチップ (三共ラボサービス) を用いた。動物には MF 固形飼料 (オリエンタル酵母) および水道水を自由に摂取させた。

実験には 4 匹のハムスターを用い、そのうちの 3 匹に 100 mg/10 ml/kg 体重量の BOP (Ash Stevens Inc.) 溶液を背部皮下に 1 回投与した。23 時間後に 2 匹について 40 mg/10 ml/kg 体重量の BrdU (SIGMA) 溶液を腹腔内投与し、その 1 時間後に屠殺・剖検した。また、他の 1 匹には 120 mg/ml の BrdU 溶液 200  $\mu\text{l}$  を挿填した浸透圧ポンプ (Alzet, Model 2001, ALZA) を外科的に腹腔内に留置して連続標識を行った。その他に溶媒対照を 1 匹設け、同様に BrdU の連続標識の処置を行った。BrdU による連続標識を行った 2 匹は BOP あるいは溶媒投与後 7 日目に屠殺・剖検した。摘出した膵臓および肝臓はユフィックス (サクラ精機) で固定し、常法にしたがって作製した 3  $\mu\text{m}$  の組織切片を H-E 染色により病理組織学的に検索した。免疫染色は抗 BrdU 抗体 (DAKO) および抗 PCNA 抗体 (DAKO) を用い、ストレプトアビジン-ビオチン複合法によって行った。また、AgNOR 染色は Howell らの one-step 法<sup>7)</sup> で行った。膵臓ではラ氏島細胞、膵管上皮細胞および腺房細胞、肝臓では肝細胞および胆管上皮細胞についてそれぞれ 100~400 個の細胞の AgNOR 数を計測し、細胞核当たりの平均 AgNOR 数を算出した。統計学的な検定は Student's *t*-test を用いた。

### 結 果

対照ハムスターと同様に、BOP 投与群においても膵臓および肝臓に肉眼的な著変はみられなかった。病理組織学的には、BOP 投与後 1 日目では膵臓の変化は明らかではなかったものの、投与後 7 日目になると多くの内分泌細胞が毛細血管に沿って索状に配列しているのが観察された (Fig. 1a)。膵管上皮は丈が高くなり、杯細胞の増加、核の極性の乱れが観察され、過形成の像を示した (Fig. 1b)。その周

囲では浮腫および炎症性細胞の浸潤もみられた。また、腺房細胞の巣状壊死が散見され、壊死巣周囲の腺房細胞には空胞変性もみられた (Fig. 1a)。免疫染色では、投与後 1 日目の BrdU 陽性細胞は膵管上皮と腺房細胞に少数認められたのみであった。投

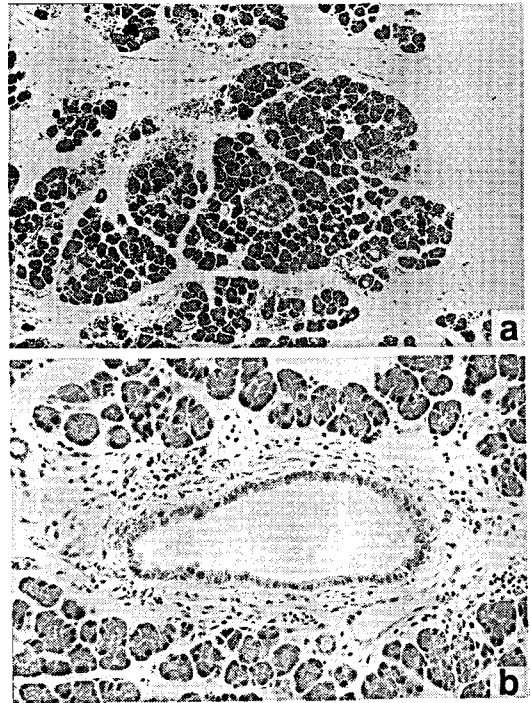


Fig. 1. Histopathology of the pancreas of a hamster sacrificed at 7 days after BOP treatment. H-E stain.

(a) The islet cells show Trabecular patterns in arrangement.  $\times 70$ . (b) Hyperplastic pancreatic ducts.  $\times 160$ .

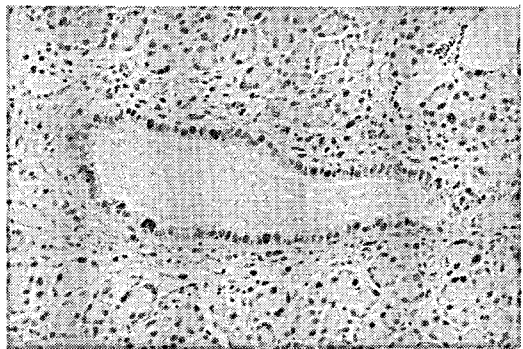


Fig. 2. BrdU immunohistochemistry of the pancreas of a hamster sacrificed at 7 days after BOP treatment. Many positive cells are seen in the ductal and acinar cells.  $\times 160$

与後7日目になるとPCNAおよびBrdUのどちらの染色でも、陽性細胞が膵管上皮と腺房細胞で多数観察され (Fig. 2), さらにPCNA陽性細胞はラ氏島でも散見された。

一方、肝臓では、BOP投与後1日目から肝細胞の肥大が認められ、一部では肝細胞の巣状壊死もみられた (Fig. 3a)。投与後7日目では肝細胞の肥大はより高度になり、び漫性に空胞変性や壊死も観察された。小葉間胆管の上皮は丈が高く、極性も乱れ、核分裂像も散見され、異型的過形成の像を呈した (Fig. 3b, 3c)。また、胆管周囲は炎症性の細胞浸潤を伴い、細胆管の増生が顕著であった。免疫染色を行うと、投与後1日目ではBrdU陽性細胞が胆管上皮に少数観察されたほか、限局性にBrdU陽性の肝細胞が目立つ部分が存在した (Fig. 4a)。投与後7日目になるとPCNAおよびBrdUのどちらの染色でも、陽性細胞が胆管上皮で多数みられたのに対し、肝細胞では明かなBrdU陽性所見はなく少数のPCNA陽性細胞のみみられたのみであった (Fig. 4b)。

対照動物の膵臓における平均AgNOR数はラ氏島、膵管上皮細胞および腺房細胞でそれぞれ2.13, 2.10および2.15個であったのに対し、BOP投与群は投与後1日目ではそれぞれ2.52, 3.51および3.03個、投与後7日目ではそれぞれ2.73, 3.05および3.03個で、いずれも対照に比較して有意に増加していた (Table 1)。また、BOP投与群の膵管上皮細胞のAgNORは対照のそれに比較して、より微細な顆粒状であった (Fig. 5a, 5b)。肝臓においても同様の結果が得られた。すなわち、対照動物の肝細胞および小葉間胆管における平均AgNOR数はそれぞれ1.80および1.93個であるのに対し、BOP投与群は投与後1日目でそれぞれ2.39および2.46個、投与後7日目でそれぞれ2.45および2.82個で、いずれも有意な増加を示した (Table 1)。さらに、BOP投与群における過形成胆管の上皮細胞のAgNORは膵管上皮細胞でみられたのと同様、対照のそれに比べて顆粒がより微細であった (Fig. 5c, 5d)。

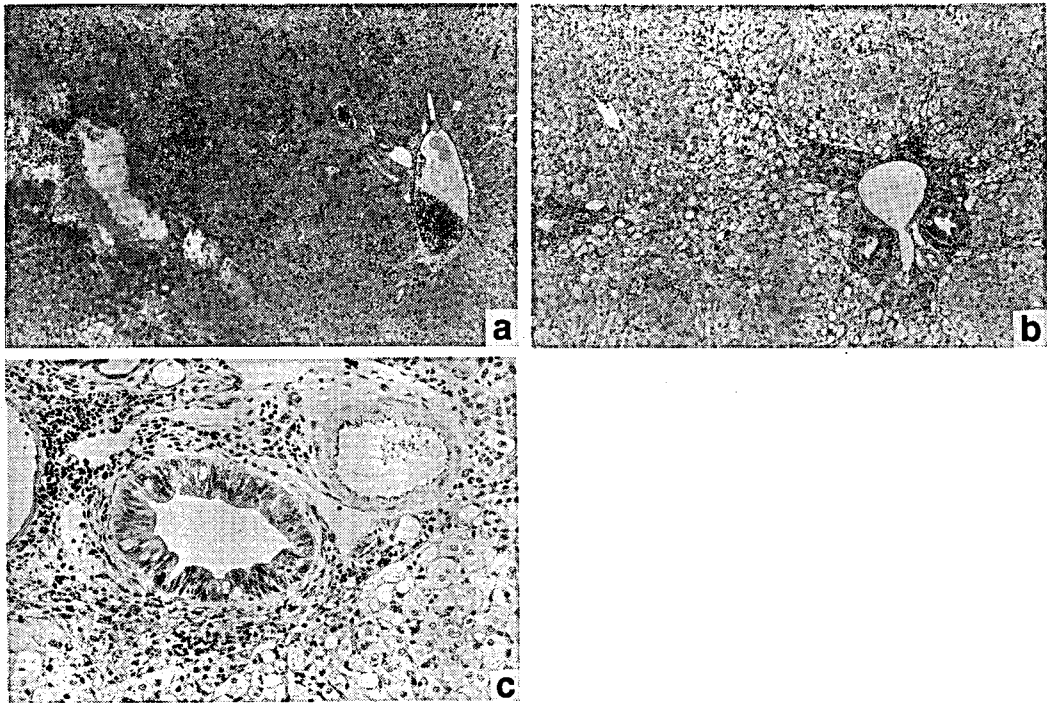


Fig. 3. Histopathology of the liver of a hamster sacrificed at 1 day (a) or 7 days (b and c) after BOP treatment. H-E stain.

(a) Hypertrophy of the hepatocytes and focal liver cell necrosis are seen.  $\times 70$ . (b) Hypertrophy and necrosis of the hepatocytes.  $\times 70$ . (c) Atypical hyperplasia of the bile duct with ductular proliferation.  $\times 160$

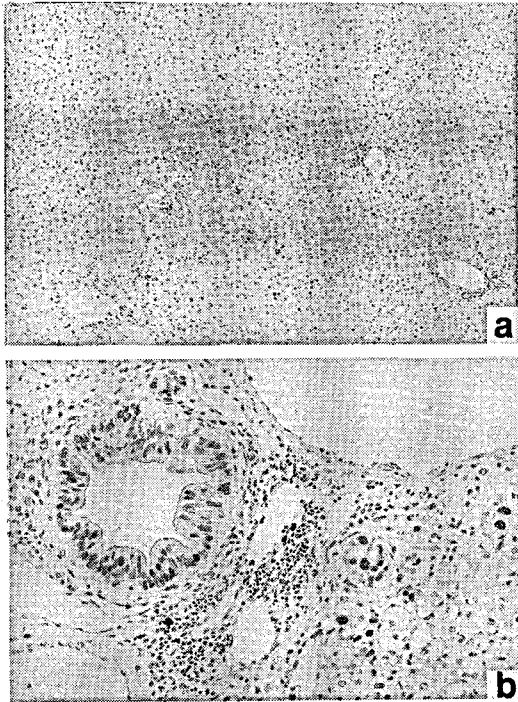


Fig. 4. BrdU immunohistochemistry of the liver of a hamster sacrificed at 1 day (a) or 7 days (b) after BOP administration.

(a) BrdU-positive cells are localized in some areas.  $\times 70$ . (b) Positive cells are evident in the bile duct  $\times 160$

Table 1. Mean number of AgNORs in the liver and pancreas of hamsters treated with BOP

	Groups		
	1 day	7 day	control
<b>Pancreas</b>			
Islet	2.52 $\pm$ 0.95*	2.73 $\pm$ 0.96*	2.13 $\pm$ 0.90
Duct	3.51 $\pm$ 1.50*	3.05 $\pm$ 1.38*	2.10 $\pm$ 0.96
Acinus	2.52 $\pm$ 0.95*	3.03 $\pm$ 1.34*	2.15 $\pm$ 0.89
<b>Liver</b>			
Hepatocyte	2.39 $\pm$ 1.04*	2.45 $\pm$ 0.94*	1.80 $\pm$ 0.85
Ductal cell	2.46 $\pm$ 0.94*	2.82 $\pm$ 1.11*	1.93 $\pm$ 0.84

Mean  $\pm$  SD

\*:  $p < 0.001$  different from control group (Student's *t*-test)

## 考 察

ハムスターに BOP を投与した急性期の病理組織

学的変化は、投与 1 日後に肝細胞の肥大および一部肝細胞の壊死として現われたのに対し、膵臓では明かな変化がみられなかった。投与後 7 日目になると、肝臓と膵臓の両方で組織の変性、炎症などが著明にみられた。

BrdU および PCNA による細胞増殖活性の検索では、投与後 7 日目に膵管および小葉間胆管の過形成を示した部分と膵臓の腺房細胞で活発な再生が起こっていることが示された。また、BrdU 染色では、投与後 1 日目でも軽度ながらも同様の変化が起こっていることが示された。ラ氏島では実験期間を通じて陽性細胞はみられず細胞増殖活性は低いものと判断された。一方、肝臓では投与後 1 日目に限局性に BrdU 陽性肝細胞が目立つ部分があったが、投与後 7 日目では BrdU 陽性細胞はみられず、PCNA 陽性細胞が少数認められるのみであった。さらに、病理組織学的にもほとんどの肝細胞が変性に陥っていることなどを考え合わせると、投与後 1 日目の BrdU 陽性細胞は細胞増殖活性の上昇とは別の要因が関与している可能性が高いと思われる。

細胞核当りの AgNOR 数は BOP 投与後 1 日目、7 日目とも観察した部位すべてで対照群に比べて有意に増加しており、BrdU および PCNA による免疫染色でみた細胞増殖動態とは異なる成績であった。BrdU はチミジンの代わりに核に取り込まれるピリミジンヌクレオシドであり、PCNA は DNA ポリメラーゼの補因子で G<sub>1</sub> 期～S 期に細胞核に現われるポリペプチドであることから<sup>8,9)</sup>、それらの免疫組織化学的陽性像はその細胞が増殖期にあることのかなり強い直接的証拠となる。一方、AgNOR は rDNA のループとともに NOR を形成する好銀性の酸性非ヒストン蛋白の総称で<sup>3)</sup>、AgNOR の染色性は rDNA の転写活性および転写能の指標とされているが<sup>10,11)</sup>、細胞増殖との直接の関連は明らかにされていない。細胞増殖活性の上昇がみられなかった部位で AgNOR 数が増加した理由には次のようなことが考えられる。一つは蛋白合成の活性化である。障害を受けた細胞は回復のために蛋白合成をはじめとしたさまざまな代謝系を活性化する。NOR は rRNA の合成の場であるから蛋白合成が盛んになれば細胞増殖を伴わなくても AgNOR 数は増加する可能性がある。もう一つは核小体の変性である。アクチノマイシン D などの RNA 合成阻害剤、アフラトキシン B<sub>1</sub> やニトロソ化合物などの各種の発がん物質投与や培養細胞への紫外線、放射線の照射

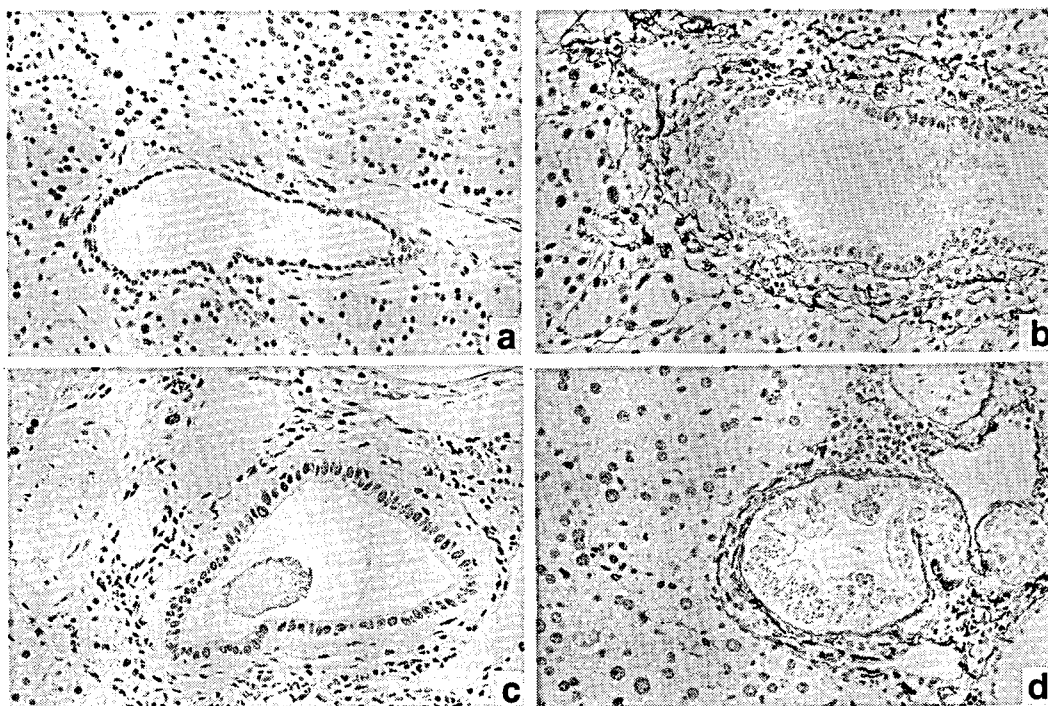


Fig. 5. AgNOR stain of the pancreas (a and b) and liver (c and d) of hamsters  
a and c, control ; b and d, 7 days after BOP treatment. Increase of number of AgNOR in (b) and (c)  
compared with respective control.  $\times 250$

によって核小体に変性することは以前より知られている<sup>12)</sup>。BOPはニトロソアミン系の発がん物質であることから核小体の変性は十分に起こりうると考えられ、これによりAgNOR数が増加した可能性もある。

以上の結果からみて、ハムスターにおけるBOP投与による急性変化は、はじめに肝臓で、次いで膵臓で起こると考えられた。また、このような急性期変化においては、AgNOR数の変動は細胞増殖活性よりも細胞障害の有用な指標になりうる可能性が示唆された。

#### 文 献

- 1) Pour, P. M., Althoff, J., Krüger, F. W. and Mohr, U.: A potent pancreatic carcinogen in Syrian hamsters: N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. *J. Natl. Cancer Inst.*, 58, 1449~1453 (1977)
- 2) Pour, P. M., Althoff, J., Krüger, F. W. and Mohr, U.: Improvement of pancreatic cancer model by modified treatment with N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine. *Cancer Lett.*, 2, 233~238 (1977)
- 3) Fakan, S. and Hernandez-Verdun, D.: The nucleolus and the nucleolar organizer regions (collective review). *Biol. Cell.*, 56, 189~206 (1986)
- 4) Goessens, G.: Nucleolar structure. *Int. Rev. Cytol.*, 87, 107~158 (1984)
- 5) Ploton, D., Menager, M., Jeannesson, P., Himber, G., Pigeon, F. and Adnet, J. J.: Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer regions at the optical level. *Histochem. J.*, 18, 5~14 (1986)
- 6) 古川文夫, 今沢孝喜, 高橋道人: ラット膵腺房細胞腫瘍およびハムスター膵管癌におけるNucleolar Organizer Region (NOR) とその意義. *膵臓*, 6, 343 (1991)
- 7) Howell, W. M. and Blak, D. A.: Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a one-step method. *Experientia*, 36, 1014 (1980)
- 8) Waseem, N. H. and Lane, D. P.: Monoclonal antibody analysis of the proliferating cell



- nuclear antigen (PCNA). Structural conversion and the detection of a nucleolar form. *J. Cell Sci.*, **96**, 121~129 (1990)
- 9) Lee, S. H. and Hurwitz, J.: Mechanism of elongation of primed DNA by DNA polymerase delta, proliferating cell nuclear antigen, and activator 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 5672~5676 (1990)
- 10) Bush, H.: Nucleolar proteins: purification, isolation and functional analysis. In Hnilica, L. S. (ed.), "*Chromosomal Non-histon Proteins*", pp. 233~286, CRC press, Boca Raton, Florida (1984)
- 11) Dimova, R. N., Marlov, D. V., Gajdardjieva, K. C., Dabeva, M. D. and Hadjiolov, A. A.: Electron microscopic localization of silver staining NOR-proteins in rat liver nucleoli upon D-galactosamine block of transcription. *Eur. J. Cell Biol.*, **28**, 272~277 (1982)
- 12) Popp, J. A. and Cattley, R. C.: Hepatobiliary System. In Haschek, W. M. and Rousseaux, C. G. (ed.), "*Handbook of Toxicologic Pathology*", pp. 292, Academic press, New York (1991)

1, 1-Bis(*t*-butylperoxy)3, 3, 5-trimethyl cyclohexane の  
マウスにおける 13 週間亜慢性毒性試験

三井雅之・古川文夫・鈴木順子  
榎並倫宣・西川秋佳・高橋道人

13-Week Subchronic Toxicity Study of 1, 1-Bis(*t*-butylperoxy)  
3, 3, 5-trimethyl Cyclohexane in Mice

Masayuki Mitsui, Fumio Furukawa, Junko Suzuki,  
Tomonori Enami, Akiyoshi Nishikawa and Michihito Takahashi

A 13-week subchronic toxicity study of 1, 1-bis(*t*-butylperoxy)3, 3, 5-trimethyl cyclohexane (TMCH) was performed in male and female B6C3F1 mice by feeding a CRF-1 powder diet containing 0, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0% TMCH, to determine the maximum tolerable dose (MTD) for subsequent carcinogenicity study. Mice were randomly divided into 5 groups, each consisting of 10 males and 10 females.

Eight animals of both sexes in the 4.0% TMCH group died during the early administration period. Suppression of body weight gains was marked in both sexes of the 4.0% and 2.0% TMCH groups as compared with the control group. The mean food consumption in all groups treated with TMCH was lower than that in the control group in a dose-related manner. Hematological examination revealed decreases in the number of erythrocytes, volume of hemoglobin, and values for hematocrit and mean corpuscular volume (MCV) in both sexes of the 4.0% and 2.0% TMCH groups. The relative liver weights of all groups treated with TMCH increased in a dose-related manner, whereas both absolute and relative spleen weights decreased in a dose-dependent manner. Histopathologically, swelling of the hepatocytes was found centrilobularly or diffusely in both sexes of the 1.0, 2.0 and 4.0% TMCH groups, and decrease of the hematopoietic cells in the bone marrow was observed in both sexes of the 2.0 and 4.0% TMCH groups. In addition, atrophy of red pulp and white pulp of the spleen was found in both sexes of the 2% and 4% TMCH groups. Based on these findings, it was concluded that the MTD of TMCH in the diet is 0.5% because the dose level of 1.0% as well as 2.0% and 4.0% proved toxic to some organs such as liver, bone marrow and spleen of treated mice.

**Keywords** : 1, 1-Bis(*t*-butylperoxy)3, 3, 5-trimethyl cyclohexane, B6C3F1 mouse, subchronic toxicity study, hepatotoxicity, hematotoxicity

(Received May 31, 1992)

## はじめに

1,1-Bis(*t*-butylperoxy)3,3,5-trimethyl cyclohexane (TMCH) は、ペルオキシセタール類に属する既存化学物質 (3-2341) で、不飽和ポリエステル樹脂の加熱硬化用触媒、天然ゴムや合成ゴムをはじめ  $\alpha$ -オレフィンポリマー・コポリマーの架橋剤、スチレン等の重合触媒として工業的に使用されているフリーラジカル触媒である。

経口投与による急性毒性試験では LD<sub>50</sub> 値がラットで 12.918 g/kg<sup>1)</sup> であり、Ames 試験では陰性の結果 (未発表データ) が得られている。

今回、著者らは既存化学物質の安全性評価の一環として実施するがん原性試験の予備試験として、マウスにおける亜慢性毒性試験を実施したので報告する。

## 実験材料および方法

### 1. 検体

TMCH (CAS No. 6731-36-8: C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>) は、Fig. 1 に示す化学構造を有する分子量 302、水に難溶、メチルアルコール、クロロホルム、酢酸エチルに可溶の油状物質である。実験には、日本油脂<sup>2)</sup>より入手した TMCH (パーヘキサ 3M: 純度 90% 以上) を用いた。

### 2. 動物および飼育環境

動物は B6C3F<sub>1</sub> 系マウス雌雄各 50 匹を日本チャールスリバー社より 6 週齢にて購入し、1 週間の検査順化ののち、雌雄各群 10 匹ずつ 5 群に配した。

動物飼育は、温度 24±1℃、湿度 55±5%、換気回数 18 回/時間、12 時間照明に維持された動物室にて行い、動物はポリカーボネートケージに 5 匹ずつ収容し、床敷は三協ラボサービス<sup>3)</sup>のソフトチップを用い、週 2 回交換した。

### 3. 実験方法

投与は混餌投与とし、粉末飼料 (CRF-1: 日本チャールスリバー<sup>4)</sup>) を用いて、TMCH 4.0, 2.0,

1.0, 0.5 および 0% 含有飼料を製し、13 週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。一般症状および死亡動物の有無を試験期間中毎日観察し、体重および摂餌量は週 1 回測定した。死亡動物は発見後速やかに、また生存例は投与 13 週後に、エーテル麻酔下にて採血の上、屠殺・剖検した。

諸臓器は肉眼的に観察後、脳、肺、心、脾、肝、腎、副腎、精巣/卵巣および顎下腺の重量を測定した。臓器重量測定臓器に加え、脊髄、三叉神経、舌、食道、胃、小腸、大腸、脾、気管、膀胱、前立腺、精囊腺、精巣上体、子宮、膈、骨(骨髓)、腸間膜リンパ節、下垂体、甲状腺、眼球、皮膚、骨格筋、ハーゲ腺を採取し、10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定し、常法に従い、パラフィン包埋後薄切の上、ヘマトキシリン・エオジン (H.E.) 染色を施し、病理組織学的に観察した。

採取した血液については、自動血球計数装置 (CC-150: 東亜医用電子<sup>5)</sup>) を用いて、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV) および白血球数 (WBC) の測定を行った。

### 4. 統計処理

体重、血液学的検査値および臓器重量は、Bartlett 法にて等分散の検定を行い、等分散の場合には、一元配置分散分析を行い、群間に有意差を認めた時は Scheffe 法にて多重比較検定を行った。不等分散の場合には、Kruskal-Wallis 法を用い、群間に有意差を認めた場合は Scheffe 型検定法を用いて対照群と比較した。

## 結 果

### 1. 死亡の有無および一般症状

各群の死亡動物は、投与期間中に 4.0% TMCH 投与群において雌雄とも各 8 例であり、投与 2 週目までに認められた。その他の動物は試験終了時まで全例生存した。

一般症状としては、投与期間を通じて、雌雄の 4.0 および 2.0% TMCH 投与群において消瘦が観察されたのみで、その他著変は認められなかった。

### 2. 体重推移 (Fig. 2)

雌雄とも TMCH 投与群で用量相関的な体重増加抑制がみられ、特に雌雄の 4.0% TMCH 投与群および雄の 2.0% TMCH 投与群では投与 1 週から 4 週に顕著な体重減少を来し、投与 13 週目に至って

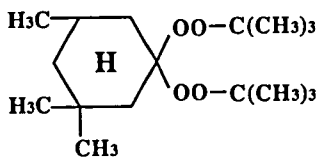


Fig. 1. Chemical structure of 1,1-Bis(*t*-butylperoxy) 3,3,5-trimethyl cyclohexane

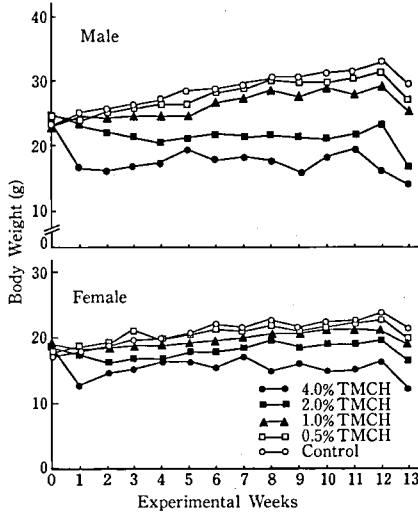


Fig. 2. Growth curves of mice treated with TMCH for 13 weeks

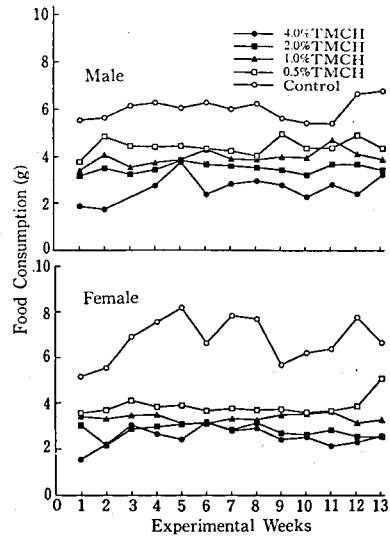


Fig. 3. Food consumption change in mice treated with TMCH for 13 weeks

Table 1. Food consumption and intake of TMCH in mice

Group	Food consumption (g/animal/day)		Daily intake (g/kg/day)		Total intake (g/kg)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
4.0% TMCH	2.78	2.30	6.0	6.5	544	593
2.0% TMCH	3.17	2.56	3.2	3.1	293	283
1.0% TMCH	3.59	3.06	1.5	1.7	136	156
0.5% TMCH	4.02	3.52	0.8	1.0	71	86
Control	5.48	6.17	/	/	/	/

も投与開始時の値に回復しなかった。投与13週後の各群の値をみると、対照群の平均体重値の10%以内の変動幅に留まった群は雌雄とも0.5% TMCH投与群のみであった。

### 3. 摂餌量 (Fig. 3, Table 1)

一般に粉末飼料使用においては正確な摂餌量の把握は難しいが、投与期間中、TMCH投与各群とも対照群に比べ摂餌量は低値を示し、TMCH投与群の1日一匹当たりの平均摂餌量は対照群に比し、雄では約50から75%、雌では35から60%で、雌雄とも摂餌忌避の傾向が認められた。

摂餌量より投与期間中の雌雄各群の平均TMCH摂取量を算出したところ、雌雄間に大きな差はなかった。

### 4. 血液学的検査 (Table 2)

雌雄の2.0% TMCH投与群でRBC, Ht, HbおよびMCVの有意な低下がみられた。また、雄の2.0% TMCH投与群においては、WBCの有意な減少がみられた。

### 5. 臓器重量 (Table 3.1, 3.2)

TMCH投与群の雌雄で肝を除く検索臓器の絶対重量の用量相関的な低下傾向が認められ、雌の肝絶対重量の用量相関的な増加傾向がみられた。また、TMCH投与雌雄各群の脾重量の有意な減少あるいは減少傾向、肝相対重量の有意な増加あるいは増加傾向が用量相関的にみられた。

### 6. 病理学的検査 (Table 4)

生存例では、雌雄とも1%以上のTMCH投与群で小葉中心性の肝細胞腫大がみられ、雄では4.0%

Table 2. Hematological values of mice treated with TMCH for 13 weeks

Sex	Group	Number of Animals	RBC ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	Ht (%)	Hb (g/dl)	MCV (fl)	WBC ( $\times 10^2/\text{mm}^3$ )
Male	4.0% TMCH	(2)	867	37.2	11.9	43.0	22.5
	2.0% TMCH	(10)	755 $\pm$ 233	36.0 $\pm$ 11.2 *	11.8 $\pm$ 3.5 *	47.8 $\pm$ 1.7 **	25.0 $\pm$ 11.6 *
	1.0% TMCH	(10)	960 $\pm$ 62	49.2 $\pm$ 3.2	16.7 $\pm$ 0.8	51.2 $\pm$ 0.9	38.2 $\pm$ 12.1
	0.5% TMCH	(10)	1099 $\pm$ 117	56.4 $\pm$ 6.0	17.0 $\pm$ 0.9	51.5 $\pm$ 0.8	46.8 $\pm$ 11.3
	Control	(10)	1034 $\pm$ 75	52.8 $\pm$ 3.6	17.1 $\pm$ 0.9	51.1 $\pm$ 1.2	46.7 $\pm$ 20.5
Female	4.0% TMCH	(2)	559	24.8	9.0	44.3	13.5
	2.0% TMCH	(10)	972 $\pm$ 71	46.4 $\pm$ 3.2	15.7 $\pm$ 0.9 *	47.7 $\pm$ 0.91 **	23.6 $\pm$ 10.4
	1.0% TMCH	(10)	1026 $\pm$ 186	50.4 $\pm$ 9.2	15.5 $\pm$ 0.7 **	49.2 $\pm$ 1.4	20.1 $\pm$ 2.5
	0.5% TMCH	(10)	977 $\pm$ 78	48.4 $\pm$ 4.4	16.8 $\pm$ 0.7	49.8 $\pm$ 0.5	18.3 $\pm$ 5.2
	Control	(10)	1031 $\pm$ 188	51.6 $\pm$ 10.0	17.1 $\pm$ 0.8	49.9 $\pm$ 0.8	23.5 $\pm$ 9.0

Data represent mean values  $\pm$  S.D.

\* : Significantly different from control values at P<0.05.

\*\* : Significantly different from control values at P<0.01.

Table 3.1. Absolute and relative organ weights of male mice treated with TMCH for 13 weeks

Item	Group				
	4.0% TMCH	2.0% TMCH	1.0% TMCH	0.5% TMCH	Control
Effective No.	2	10	10	10	10
Body Weight	14.15	17.35 $\pm$ 1.64 **	25.59 $\pm$ 1.31 **	27.45 $\pm$ 1.49	28.89 $\pm$ 1.77
Brain	0.48 (3.4)	0.49 $\pm$ 0.02 (2.9 **)	0.52 $\pm$ 0.03 (2.0)	0.52 $\pm$ 0.03 (1.9)	0.49 $\pm$ 0.07 (1.7)
Salivary gl.	0.096 (0.68)	0.14 $\pm$ 0.03 (0.79)	0.21 $\pm$ 0.04 (0.84)	0.24 $\pm$ 0.02 (0.87)	0.24 $\pm$ 0.02 (0.85)
Lung (R)	0.09 (0.64)	0.10 $\pm$ 0.02 (0.57 *)	0.11 $\pm$ 0.03 (0.43)	0.12 $\pm$ 0.01 (0.43)	0.13 $\pm$ 0.02 (0.45)
(L)	0.04 (0.30)	0.05 $\pm$ 0.02 (0.27)	0.05 $\pm$ 0.02 (0.20)	0.06 $\pm$ 0.01 (0.22)	0.06 $\pm$ 0.01 (0.19)
Heart	0.098 (0.69)	0.10 $\pm$ 0.01 (0.58 *)	0.14 $\pm$ 0.02 (0.55)	0.15 $\pm$ 0.02 (0.56)	0.15 $\pm$ 0.02 (0.53)
Spleen	0.013 (0.09)	0.030 $\pm$ 0.007 (0.17 **)	0.073 $\pm$ 0.010 (0.28)	0.087 $\pm$ 0.020 (0.32)	0.088 $\pm$ 0.020 (0.31)
Liver	1.06 (7.5)	1.14 $\pm$ 0.09 (6.6 **)	1.38 $\pm$ 0.13 (5.4 **)	1.38 $\pm$ 0.14 (5.0 **)	1.17 $\pm$ 0.11 (4.0)
Adrenal (R)	0.004 (0.025)	0.003 $\pm$ 0.001 (0.017)	0.003 $\pm$ 0.001 (0.013)	0.003 $\pm$ 0.001 (0.009)	0.003 $\pm$ 0.001 (0.010)
(L)	0.004 (0.025)	0.003 $\pm$ 0.001 (0.018)	0.003 $\pm$ 0.001 (0.013)	0.002 $\pm$ 0.001 (0.009)	0.002 $\pm$ 0.001 (0.008)
Kidney (R)	0.10 (0.72)	0.15 $\pm$ 0.02 (0.86)	0.22 $\pm$ 0.02 (0.84)	0.24 $\pm$ 0.02 (0.87)	0.23 $\pm$ 0.02 (0.81)
(L)	0.11 (0.75)	0.13 $\pm$ 0.01 (0.76)	0.19 $\pm$ 0.01 (0.76)	0.21 $\pm$ 0.02 (0.78)	0.22 $\pm$ 0.02 (0.78)
Testis (R)	0.065 (0.46)	0.088 $\pm$ 0.008 (0.51 **)	0.11 $\pm$ 0.006 (0.42)	0.11 $\pm$ 0.007 (0.41)	0.12 $\pm$ 0.01 (0.40)
(L)	0.069 (0.49)	0.086 $\pm$ 0.009 (0.50 **)	0.11 $\pm$ 0.007 (0.42)	0.11 $\pm$ 0.005 (0.42)	0.11 $\pm$ 0.01 (0.39)

Data represent mean values  $\pm$  S.D.

Relative organ weights are shown in parentheses (%).

\* : Significantly different from control values at p<0.05.

\*\* : Significantly different from control values at p<0.01.

TMCH 投与群で、雌では 2.0% 以上の TMCH 投与群で同様の所見がび漫性に認められた (Photo 1)。また、2.0% 以上の TMCH 投与群で骨髓の造血細胞減少およびうっ血が認められた (Photo 2)。さらに、雄では 2.0% 以上の TMCH 投与群で、雌では 4.0% TMCH 投与群において脾の白脾髄および赤脾髄の萎縮が観察された。その他、雌雄に共通して、チモーゲン顆粒の減少を伴う唾液腺および脾の腺房細胞萎縮が、雄では 2.0% 以上の TMCH 投

与群で、雌では 1.0% 以上の TMCH 投与群で認められた。

死亡例においては、生存例と同様の組織所見が認められた。

## 考 察

本試験において肝重量の増加および肝細胞の腫大が認められ、TMCH の肝への標的性が示唆された。化学構造上、骨格の類似した hexachloro cyclo-

Table 3.2. Absolute and relative organ weights of female mice treated with TMCH for 13 weeks

Item	Group				
	4.0% TMCH	2.0% TMCH	1.0% TMCH	0.5% TMCH	Control
Effective No.	2	10	10	10	10
Body Weight	12.40	16.61±0.95 *	19.03±1.14	19.76±0.76	21.37±1.72
Brain	0.47 (3.8)	0.48±0.02 (2.9 *)	0.51±0.01 (2.0)	0.52±0.01 (2.6)	0.54±0.02 (2.5)
Salivary gl.	0.09 (0.69)	0.11±0.02 (0.68)	0.13±0.02 (0.84)	0.15±0.02 (0.75)	0.16±0.03 (0.73)
Lung (R)	0.08 (0.63)	0.10±0.03 (0.58)	0.12±0.05 (0.65)	0.16±0.06 (0.82)	0.13±0.03 (0.63)
(L)	0.03 (0.27)	0.05±0.02 (0.30)	0.05±0.03 (0.28)	0.09±0.04 (0.43)	0.06±0.02 (0.28)
Heart	0.09 (0.71)	0.10±0.01 (0.58 *)	0.10±0.01 (0.55)	0.11±0.01 (0.57)	0.12±0.01 (0.57)
Spleen	0.020 (0.16)	0.038±0.007 (0.23 **)	0.059±0.009 (0.28)	0.070±0.006 (0.35)	0.074±0.013 (0.34)
Liver	1.33 (10.7)	1.11±0.07 (6.7 **)	1.08±0.10 (5.4 **)	0.98±0.14 (5.0)	0.96±0.10 (4.5)
Adrenal (R)	0.003 (0.024)	0.003±0.001 (0.017)	0.003±0.001 (0.017)	0.004±0.001 (0.021)	0.004±0.001 (0.021)
(L)	0.002 (0.020)	0.003±0.001 (0.020)	0.003±0.001 (0.017)	0.004±0.001 (0.020)	0.004±0.001 (0.016)
Kidney (R)	0.11 (0.86)	0.13±0.01 (0.78 *)	0.15±0.01 (0.84)	0.16±0.01 (0.83)	0.17±0.02 (0.81)
(L)	0.11(0.88)	0.12±0.01 (0.73)	0.14±0.07 (0.71)	0.15±0.01 (0.76)	0.16±0.01 (0.76)
Ovary (R)	0.003 (0.024)	0.005±0.002 (0.028)	0.006±0.001 (0.031)	0.008±0.002 (0.038)	0.008±0.001 (0.036)
(L)	0.003 (0.024)	0.004±0.001 (0.026 *)	0.006±0.001 (0.031)	0.008±0.002 (0.039)	0.009±0.003 (0.043)

Data represent mean values ± S.D.

Relative organ weights are shown in parentheses (%)

\* : Significantly different from control values at p<0.05.

\*\* : Significantly different from control values at p<0.01.

Table 4. Histopathological findings in mice treated with TMCH for 13 weeks

Sex	Organ	Finding	Dose													
			4.0%		2.0%		1.0%	0.5%	0%							
			No. of animals		No. of animals		No. of animals	No. of animals	No. of animals							
Grade			-	±	+	++	-	±	+	++	-	±	+	++		
Male	Salivary gland	atrophy of acinar cells	0	2	0	0	5	5	0	0	10	0	9	0	10	0
	Liver	swelling of hepatocytes, diffuse	0	0	0	2	10	0	0	0	10	0	10	0	10	0
		swelling of hepatocytes, centrilobular	2	0	0	0	0	3	6	1	4	6	10	0	10	0
	Pancreas	atrophy of acinar cells	0	2	0	0	5	2	3	0	10	0	10	0	9	0
	Spleen	atrophy of white and red pulp	0	0	1	1	2	4	2	0	9	0	10	0	9	0
	Bone marrow	decrease in hematopoietic cells	0	0	0	2	0	4	6	0	10	0	10	0	9	0
		congestion	0	1	1	0	4	6	0	0	10	0	10	0	9	0
Female	Salivary gland	atrophy of acinar cells	0	2	0	0	5	5	0	0	8	2	10	0	10	0
	Liver	swelling of hepatocytes, diffuse	0	0	0	2	7	0	1	1	10	0	10	0	10	0
		swelling of hepatocytes, centrilobular	2	0	0	0	2	1	5	1	3	7	10	0	10	0
	Pancreas	atrophy of acinar cells	1	0	1	0	4	4	2	0	6	3	9	0	10	0
	Spleen	atrophy of white and red pulp	0	0	1	0	8	0	0	0	9	0	10	0	10	0
	Bone marrow	decrease in hematopoietic cells	0	0	2	0	1	9	0	0	10	0	10	0	9	0
		congestion	1	1	0	0	7	3	0	0	10	0	10	0	9	0

-: within normal limits, ±: slight, +: moderate, ++: severe

hexaneにおいては、P-450の誘導による肝細胞の腫大が<sup>22)</sup>、また cyclohexanone においては肝細胞の壊死が報告されており<sup>23)</sup>、TMCH 投与により同様の变化が惹起されたものと推察された。また、TMCH は肝に蓄積性を有していることから (未発表データ)、長期の試験においては低用量によって

も肝毒性が発現する可能性が高いものと推察される。本試験の血液学的検査結果より、TMCH 投与群では RBC, Hb, Ht および MCV が減少しており、TMCH 投与により小球性低色素性貧血の状態に陥ったものと推察された。一般に、低色素性貧血の成因としては、主に鉄欠乏が考えられ<sup>4)</sup>、本試験にお

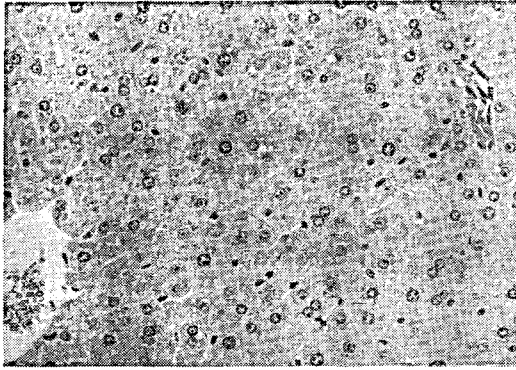


Photo. 1. Diffuse swelling of hepatocytes of a female mouse fed diet containing 4.0% TMCH for 13 weeks. H. E. stain  $\times 100$

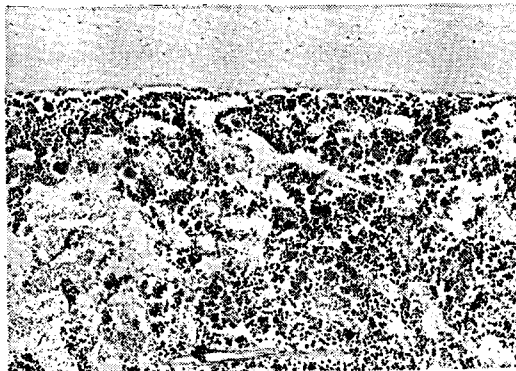


Photo. 2. Decrease of hematopoietic cells and congestion in the bone marrow of a male mouse fed diet containing 4.0% TMCH for 13 weeks. H. E. stain  $\times 40$

いても 1 日一匹当たりの摂餌量を考慮すると、摂餌忌避が強く認められており、低栄養に起因した鉄欠乏が想定される<sup>5)</sup>。しかし、RBC 等の変動は、雌に比し雄で強い傾向が認められるにもかかわらず、体重当たりの摂餌量には雌雄間に差がみられないこと、一般に貧血時に造血亢進が認められるべき骨髄および脾で逆に造血細胞の減少や脾の萎縮がみられ、さらに雄においては血液学的に WBC の減少が認められたことから、低栄養による鉄欠乏は推定要因の一つではあるが主因とは考え難い。したがって、これらの所見は、TMCH の骨髄細胞毒性による一連の変化であると考えられた。また、肝の障害も認められており、肝機能低下に基づく鉄結合蛋白生成減少なども一因となったものと推察された。化学構造上、TMCH の母骨格である cyclohexane について

は DNA 障害作用<sup>6)</sup>、類似構造をもつ cyclohexanone では染色体異常惹起<sup>7)</sup>が報告されている。これらの報告を勘案すると、TMCH の骨髄毒性は、DNA 障害に基づく可能性が示唆されるが、生理状態において細胞増殖活性の高い消化管粘膜および精巣等に病理組織学的に著変を認めなかったことから、直接の DNA 障害のみならず、その他の機序も関与している可能性がある。

本試験では、WBC の変動が雄でのみ用量相関性にみられ、骨髄細胞の減少および脾の萎縮も雄において強く認められた。しかし、体重当たりの摂餌量並びに TMCH 平均摂取量において雌雄間の差はあまり顕著ではないことから、摂餌量の差あるいは TMCH 摂取量の差に起因するものではなく、TMCH の骨髄毒性には性差が存在する可能性が示唆された。

その他、膵腺房細胞の萎縮および顎下腺の萎縮は、雌雄に同程度認められたが、炎症性的変化等が付随していなかったことから、これらの所見は摂餌忌避による低栄養に起因する機能的な変化と推察された。

以上、本試験結果から TMCH の主たる毒性標的臓器は、肝および骨髄と考えられた。その毒性機序については明らかではないが、TMCH が肝への蓄積性を有していることから、より長期の毒性試験においては蓄積毒性により、より低濃度での毒性発現が推定される。また、本試験における毒性の発現用量は 1% 以上であり、摂餌忌避の影響はあるものの体重増加抑制が対照群の 10% 以内にある用量が 0.5% のみであることより、がん原性本試験の最高投与用量としては、0.5% が妥当であると判断された。

## 文 献

- 1) 化学工業日報社：“10889 の化学商品”，pp. 466, 化学日報社，東京（1989）
- 2) Haschek, W. M. and Rousseaux, C. G.: “Handbook of Toxicologic Pathology”, pp. 295, Academic Press, Inc. (1991)
- 3) Lijinsky, W. and Kovatch, R. M.: Chronic toxicity study of cyclohexanone in rats and mice. *J. Natl. Cancer Ins.*, **77**, 941~949 (1986)
- 4) 高橋日出彦：“くすりと毒性”，pp. 196~198, 南江堂，東京（1973）
- 5) Berner, J. J.: 疾患と臨床検査，pp. 268, 医歯薬出版，東京（1988）
- 6) Kubinski, H., Gutzke, G. E. and Kubinski, Z. O.: DNA-cell-binding (DCB) assay for suspected carcinogens and mutagens. *Mutat.*

Res., 89, 95~136 (1981)  
7) IARC: "IARC monographs on the evaluation

of carcinogenic risks to humans", Vol. 47, pp.  
157~169, IARC, Lyon (1989)

## 反復投与毒性試験における暴露期間と無作用量について

會田喜崇・鎌田栄一・中舘正弘

### A Study of the Relationships Between Exposure Periods and No-Effect Doses in Repeated Dose Toxicity Tests

Yoshitaka Aida, Eiichi Kamata and Masahiro Nakadate

In the risk assessment of chemicals to humans, it is a very important step to determine no-observed-adverse-effect-levels (NOAEL) or lowest-observed-adverse-effect-levels (LOAEL) from animal experiments.

Recently, short-term screening tests, such as 28-day repeated dose toxicity test, are carried out in accordance with the regulative guidelines for the safety evaluation of chemicals. However, many problems still remain in the risk assessment to human based on short-term toxicity studies. For this reason, we studied the relationships between the exposure periods and NOAELs or LOAELs in repeated dose toxicity tests using available test results of 18 halogenated compounds.

The ratios between each NOAEL or LOAEL of short-term tests (14, 28 days, 13 weeks and 6 month) and those of long-term tests (longer than one year) were calculated on the basis of same animal species, route and toxic effect. From this study, it was considered that exposures above 13 weeks were needed to satisfy the present safety factor considerations for setting an acceptable daily intake (ADI).

**Keywords** : exposure period, NOAEL, LOAEL, safety factor, uncertainty factor

(Received May 31, 1992)

## はじめに

医薬品、農薬、化粧品原料、食品添加物、家庭用化学物質、環境汚染化学物質等、多種多様な化学物質が我々の周囲に存在している。現在、有害性影響に関するファクトデータベースである RTECS<sup>1)</sup>には約11万物質が収載されており、毎年更新されている。しかし、毒性を評価するための十分なデータがある化合物は限られており、多くの物質は有害性評価のために毒性試験の実施が求められている。一般に、ヒトでの安全性を確保するための ADI (Acceptable daily intake) は、ラットあるいはマウスを用いた慢性毒性試験の NOEL (NOAEL あるいは LOAEL) を根拠に安全係数 (不確定係数) を考慮し算出されるが、慢性毒性試験の成績がない場合は、亜急性毒性試験のデータを基に、さらに安全係数を付与して ADI が算出される場合もある。

また、OECD の毒性試験ガイドライン<sup>2)</sup>によれば、一回の毒性試験に数百匹の動物を使用しなければならない。このため、多くの物質の毒性を明らかにするためには、試験の簡素化が必要であり、同時に動物愛護に関する世論の高まりにより使用される動物数の削減も求められている。しかし、毒性試験の簡素化あるいは使用動物数の削減により、毒性試験結果の信頼性が低下することも考えられる。今回、著者らは短期毒性試験に基づく化学物質の安全性評価の際に用いられている安全係数を配慮し、試験法の簡素化に伴う適切な暴露期間について、既存の毒性試験データを用い検討した。

## 実験方法

### 1. 検索資料および被験化合物

18 のハロゲン化合物を選択し、これらの化合物の連続投与による毒性試験の成績を U. S. Depart-

ment of Health & Human Servicesが発行している Toxicological Profile シリーズより選び出し、必要な情報を抽出した<sup>3~19)</sup> (Table 1)。この資料は米国政府機関の作成している化学物質の安全性評価文書であり、既存の毒性試験成績について、毒性試験報告中に記載のあるすべての毒性影響について分類し、その分類ごとに NOAEL あるいは LOAEL を評価している。

### 2. 動物および投与経路

上記文書中のラットあるいはマウスを用いた毒性試験で、投与経路は経口投与（強制、混餌、飲水）あるいは吸入暴露の連続投与の成績を用いた。

### 3. 毒性影響

NOAEL あるいは LOAEL の根拠として選択された毒性影響は上記 Toxicological Profile が分類した毒性影響のうち、安全係数を用いてヒトでの ADI を評価し得るものとして肝、腎、血液、神経系、消化管、呼吸器系、循環器系、体重に対する影響を選択し、催奇形性、生殖毒性、発がん性の成績は除いた。

Table 1. Chemicals and the references

Chemicals	References
Chloromethane	3)
Chloroethane	4)
1,1-Dichloroethane	5)
1,1-Dichloroethylene	6)
1,2-Dichloroethylene	7)
1,2-Dichloropropane	8)
1,1,1-Trichloroethane	9)
1,1,2-Trichloroethane	10)
2,4,6-Trichlorophenol	11)
1,1,2,2-Tetrachloroethane	12)
Carbon tetrachloride	13)
Pentachlorophenol	14)
Hexachlorobenzene	15)
Bromodichloromethane	16)
Dibromochloromethane	17)
Tribromomethane	17)
Chlordane	18)
Toxaphene	19)

### 4. 暴露期間分類

一年以上の連続暴露を長期暴露と位置づけ、米国毒性試験計画の試験指針で決められている暴露期間の 14 日間および 13 週間、OECD の毒性試験指針および我が国の化審法で定められている暴露期間の 28 日間、ならびに 6 カ月間を暴露期間の分類の基準とし、14 日間暴露には 5 日から 14 日、28 日間暴露には 3 週から 7 週、13 週間暴露には 10 週から 16 週、6 カ月間暴露には 22 週から 30 週間暴露の毒性試験をそれぞれ分類した。また、同一化合物、同一動物種、同一投与経路で、長期暴露の成績と各暴露期間の成績が共に存在した試験系を抽出し、各暴露期間のサンプル数とした。以後、本文中では各暴露期間を、14 日、28 日、13 週、6 カ月および長期暴露と表現する (Table 2)。

### 5. 分析方法

上記化合物の毒性試験成績で同一化合物、同一動物種、同一投与経路で、長期暴露の成績と各暴露期間の成績を抽出し、両者の NOAEL あるいは LOAEL の比を求め (Fig. 1)、この比について安全係数との比較、NOAEL と LOAEL、マウスとラット、経口投与と吸入暴露の比較を行った。なお、各分類の比較にはフィッシャーの確率計算法を用いて検定を行った。

### 分析結果

既存の毒性試験成績を上記資料より検索し、各暴露期間に分類した。28 日および 6 カ月暴露試験の成績が少なく、この暴露期間に分類されるサンプル

Table 2. Number of samples in each exposure period

Exposure period	group	No. of samples
5 - 14 days	14 days	73
3 - 7 weeks	28 days	13
10 -16 weeks	13 weeks	89
22 - 30 weeks	6 months	8
more than 52 weeks	long-term	117

Assumption :

Same chemical, route of exposure, animal and toxic effect

Calculation formula :

$$\frac{\text{NOAEL (or LOAEL) for 14 days, 28 days, 13 weeks, 6 months}}{\text{NOAEL (or LOAEL) for long-term study}}$$

Fig. 1. Calculation method for the ratio between short-term study and long-term study of NOAEL or LOAEL



も分析に十分な数が得られなかった。このような条件下で以下の分析を試みた。

### 1. 全資料を合わせた分析結果

ラット、マウスの経口投与および吸入暴露による長期暴露のNOAEL、LOAELとその他の暴露期間のNOAEL、LOAELそれぞれの比を計算したすべての結果を基に分析した。長期暴露試験に対する各暴露期間のNOAELあるいはLOAELの比を検討した結果、全体の95% (174/183) が10倍以下であり、そのうち87% (159/183) が3倍以下であった。また、14日間暴露ではその比が10倍を超えるものが11.0% (8/73)、28日間暴露では7.7% (1/13) みられたが、13週および6カ月間暴露のグループではともにNOAELあるいはLOAELの比が10倍を超える成績はみられなかった。また、13週暴露の成績ではその比が3倍以下が82% (73/89)、6カ月暴露では100% (8/8) と高率にみられた。長期暴露試験のNOAELあるいはLOAELよりも小

さい値、すなわち、その比が1以下の場合が6カ月暴露の成績で62.5%、13週暴露の成績でも31.5%認められた (Table 3, Fig. 2, 3)。

### 2. NOAELとLOAELの比較

上記資料をNOAELとLOAELに分けて分析し、両者の比較を行った。28日および6カ月暴露ではサンプル数が少なく十分な分析が行えなかったため、14日および13週暴露の成績について比較した。この結果、長期暴露と14日および13週暴露のNOAELあるいはLOAELの比は、LOAELとNOAELで一定の傾向を示さず、統計学的な有意差も示さなかった (Table 4)。

### 3. ラットとマウスの比較

NOAELとLOAELの比較と同様に28日および6カ月のサンプル数が少なく、14日、13週暴露の成績で比較した。この結果、長期暴露とこれら14日および13週暴露のNOAELあるいはLOAELの比が、ラットと比べマウスで3倍以下のサンプルが

Table 3. Ratios on NOAEL or LOAEL between long-term and each exposure period study in rats or mice administered by oral or inhalation exposure

Duration of exposure	No. of samples	Distribution of ratio (NOAEL or LOAEL)			
		<1	1 ≤ ~ ≤ 3	3 < ~ ≤ 10	10 <
14 days (5-14 days)	73	15	38	12	8
28 days (3-7 weeks)	13	2	5	5	1
13 weeks (10-16 weeks)	89	28	45	16	
6 months (22-30 weeks)	8	5	3		

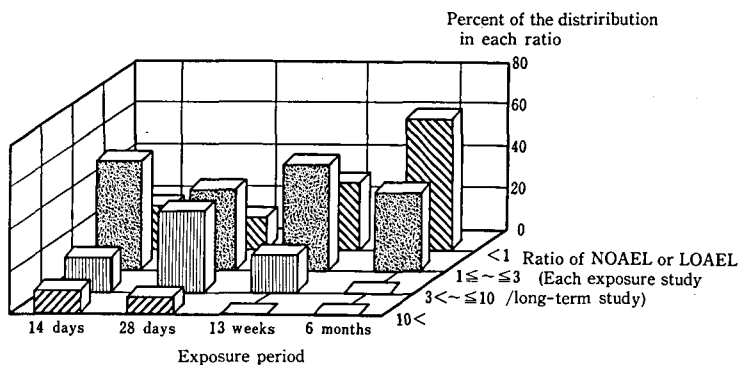


Fig. 2. Distribution of the ratio between long-term and each exposure period study in rats and mice administered by oral and inhalation exposure.

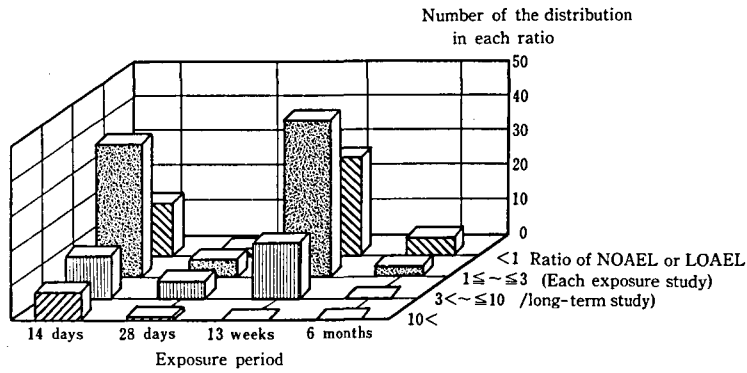


Fig. 3. Ratio of NOAEL or LOAEL between long-term and each study in rats and mice administered by oral and inhalation.

Table 4. Comparison between the ratio of NOAEL and LOAEL in rats or mice administered by oral or inhalation

Exposure period	No. of samples	Distribution of ratio (NOAEL or LOAEL)		
		≤3	3<~≤10	10<
<b>NOAEL</b>				
14 days	41	32	7	2
13 weeks	68	58	10	
<b>LOAEL</b>				
14 days	32	21	5	6
13 weeks	21	15	6	

Table 5. Comparison between test animals administered by oral or inhalation in the ratio of NOAEL or LOAEL

Exposure period	No. of samples	Distribution of ratio (NOAEL or LOAEL)		
		≤3	3<~≤10	10<
<b>Rat</b>				
14 days	25	16	4	5
13 weeks	51	40	11	
<b>Mouse</b>				
14 days	48	37	8	3
13 weeks	38	33	5	

若干多くみられたが、統計学的な有意差は示さなかった (Table 5).

4. 経口暴露と吸入暴露の比較

経口暴露と吸入暴露の成績を比較した場合、統計学的に有意差を示さなかった。しかし、経口暴露の成績では14日および28日間の成績で比が10倍を超えるものが14日暴露で21% (8/38) みられ、吸入暴露では14日および13週暴露ともに長期暴露と比

Table 6. Comparison between routes of administration in the ratio of NOAEL or LOAEL for rats or mice

Exposure period	No. of samples	Distribution of ratio (NOAEL or LOAEL)		
		≤3	3<~≤10	10<
<b>Oral</b>				
14 days	38	21	9	8
28 days	8	5	2	1
13 weeks	48	35	13	
6 months	-			
<b>Inhalation</b>				
14 days	35	32	3	
28 days	5	2	3	
13 weeks	38	35	3	
6 months	8	8		

較し10倍を超えるものはみられなかった (Table 6).

考察および結論

今回著者らは、暴露期間とNOAELあるいは最小有害影響量 (LOAEL) の関係を調べ、リスク評価の際に適用される安全係数の妥当性および効率の良い暴露期間について検討した。

28日および6カ月間に分類される毒性試験の成績が少なく、この暴露期間についての検討は十分とは言えないが、各暴露期間の全体を通して、長期暴露試験に対するNOAELあるいはLOAELの比を検討した結果、95% (174/183) が10倍以下、87% (159/183) が3倍以下であった (Table 1)。また、13週および6カ月間暴露のグループではともにNOAELあるいはLOAELの比が10倍を超える成績はみられなかった。

次に、NOAELとLOAELの比較、NOAELと

LOAELを合わせた集合についてマウスとラットの比較、経口暴露と吸入暴露の比較について検討したところ、何れも有意の差はみられなかった。しかし、経口投与と吸入暴露の比較では、吸入暴露では各暴露期間に対する長期暴露の比が10倍以上のものはみられなかったが、経口投与では2週間暴露で21% (8/38) が10倍以上であった。また、6カ月暴露の成績で62.5%、13週暴露の成績でも31.5%の毒性試験で長期暴露試験のNOAELあるいはLOAELよりも小さい値であった。

化学物質のヒトにおける一日許容摂取量 (ADI) はラットあるいはマウスを用いた長期毒性試験より求められる無作用量 (NOEL, 無有害影響量 (NOAEL)) を安全係数 (不確定係数) で割った値として求められる。安全係数の概念は米国FDAの食品添加物、食品汚染物質あるいは食品混入物の安全性評価に用いられたのが最初であり、その後、各国の政府機関および国際機関でも用いられるようになった<sup>20)</sup>。この際用いられる安全係数はヒトと実験動物間の感受性の差に対して10、ヒトにおける個体差に対して10が与えられる。従って、ヒトでの有害性影響に関するデータより求められたNOELではこの値を10で割り、動物実験の結果より得られたNOELに対してはこの値を100で割って、それぞれADIが決められる。また、短期毒性試験あるいは急性毒性試験の成績より得られたNOELではさらに10の係数を追加する<sup>21-23)</sup>。しかし、用いられた毒性試験の信頼性によってはさらに2から5の係数が付与される場合もある<sup>24)</sup>。

安全係数10が、亜急性毒性の結果からADIを設定する場合に付与されるとすれば、今回の結果からは13週および6カ月暴露では100%、全体を通して95%がこの範囲に入っていた。特に、6カ月暴露ではすべて3倍以下であり、62.5%で長期暴露のNOAELあるいはLOAELよりも低い値であった。しかし、暴露期間の短い14日間暴露では最高40倍、28日間暴露でも20倍を超える例があった。以上の結果、13週暴露では現在の安全係数を用いる評価方法で信頼できる結果が得られると言える。また、6カ月暴露以上の成績ではほぼ長期暴露の実験の成績と同様に評価できるものと考えられる。なお、毒性指標によっては長期暴露の毒性試験よりも13週ならびに6カ月間暴露の毒性試験の結果から得られるNOAELあるいはLOAELの値の方が小さい例も多くみられた。

以上のように、今回行ったハロゲン化合物の分析結果を総合すると、ADIを用いた評価において最も信頼性と効率の高い暴露期間は13週暴露であった。さらに、NOAELとLOAEL、ラットとマウスの比較では明らかな差はみられないことから、評価に際してこれらを区別する必要はないと思われる。また、経口投与では暴露期間の短い14日では最高40倍、28日間暴露でも20倍を超える例があった。しかし、吸入暴露ではどの暴露期間でも10倍を超える例はみられなかった。これは吸入暴露の毒性試験の際に用いられる暴露濃度は、その物質の物理化学的性質により限定されるため、大きなばらつきがみられなかったものと思われる。

## 文 献

- 1) Canadian Centre for Occupational Health and Safety: "RTECS database in CCINFO disc", A2, 91~94 (1991)
- 2) 厚生省生活衛生局企画課: "OECD毒性試験ガイドライン", 薬業時報社 (1991)
- 3) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Chloromethane", TP90/07 (1990)
- 4) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Chloromethane", TP89/07 (1989)
- 5) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for 1, 1-Dichloroethane", TP90/12 (1990)
- 6) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for 1, 1-Dichloroethylene", TP89/11 (1989)
- 7) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for 1, 2-Dichloroethylene", TP90/13 (1990)
- 8) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for 1, 2-Dichloropropane", TP89/12 (1989)
- 9) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for 1, 1, 1-Trichloroethane", TP90/27 (1990)
- 10) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for 1, 1, 2-Trichloroethane", TP89/24 (1989)
- 11) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for 2, 4, 6-Trichlorophenol", TP90/28 (1990)
- 12) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for 1, 1, 2, 2-Tetrachloroethane", TP89/22 (1989)
- 13) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Carbon tetra-

- chloride*", TP89/05 (1989)
- 14) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Pentachlorophenol", TP89/19 (1989)
  - 15) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Hexachlorobenzene", TP90/07 (1990)
  - 16) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Bromodichloromethane", TP89/04 (1989)
  - 17) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Tribromomethane/Dibromochloromethane", TP90/05 (1990)
  - 18) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Chlordane", TP89/06 (1989)
  - 19) U. S. Department of Health & Human Services: "Toxicological Profile for Toxaphene", TP90/26 (1990)
  - 20) Lehman, A. J. and Fitzhugh, O. G.: 100-Fold margin safety. *Assoc. Food Drug of U. S. Q. Bull.*, 18, 35 (1954)
  - 21) Hogan, M. D. and Hoel, D. G.: Extrapolation to man. "Principles and Methods of Toxicology", pp. 711~731, Raven Press, New York (1982)
  - 22) Cotruvo, J. A.: Drinking water standards and risk assessment. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.*, 8, 288~299 (1988)
  - 23) Pontius, F. W.: Toxicology and Drinking water regulations. *J. AWWA.*, 1990, October, 14~17
  - 24) Sidhu, K. S.: Standard setting processes and regulations for environmental contaminants in drinking water: State versus federal needs and view points. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.*, 13, 293~308 (1991)

### ケシの花芽分化と発育について (第2報)

#### 日長時間および温度の影響

柴田敏郎・三浦忠一・畠山好雄

#### Flower Bud Differentiation and Development of Opium Poppy (*Papaver somniferum* L.) II Effects of Daylength and Temperature

Toshiro Shibata, Tadakazu Miura and Yoshio Hatakeyama

We investigated the effect of daylength (from 9 to 15 hours) and cultivation temperature (from about 13 to 25°C) on flower bud differentiation of three strains of *Papaver somniferum* L. cv. *Ikkanshu*, which have been cultivated in Nayoro (Hokkaido), Tsukuba (Central Honshu) and Nagasaki (Kyushu) for the last a few decades.

1. The experiment on the effect of daylength on flowering revealed that the longer the photoperiod was, the earlier flowering occurred.

2. Flower bud differentiation was observed at temperatures of 20°C or less but never at 25°C, and it was more quickly induced at lower temperatures. Furthermore, we also found that the optimum temperature for flower bud development following differentiation was 20°C. From these findings, we reached the conclusion that this species has thermosensitivity.

3. Flower bud differentiation clearly occurred later in the Nayoro strain than in the Nagasaki strain or the Tsukuba strain. This seems to indicate that the Nayoro strain is a different ecological type from other strains.

4. When we compared the size and dry weight of the capsules, which are known to be closely related to opium yield, the capsules of the Nagasaki and Tsukuba strains were considerably smaller and lighter than those of the Nayoro strain. This is attributable to the fact that flower bud differentiation occurred at an early stage before the achievement of sufficient vegetative growth in the Nagasaki and Tsukuba strains.

**Keywords** : *Papaver somniferum*, photoperiod, flowering, thermosensitivity

(Received May 31, 1992)

## 緒言

さきに、著者の一人である畠山は、寒冷地での春播き栽培における花芽分化過程を明らかにし<sup>1)</sup>、暖地(和歌山)での秋播き栽培における花芽形成過程<sup>2)</sup>と比較した。この中で、花芽分化後の子房形成期間が寒冷地での春播き栽培の場合には著しく短く、この違いは花芽の生育が進む過程での温度が関与していることを考察した。花芽の分化・生育に温度が関係することは、トマト<sup>3)</sup>、ナス<sup>4)</sup>、カブ<sup>5)</sup>など多くの作物で知られているが、ケシに関しては明らかにされていない。また、ケシは長日条件下で花芽が分化すると考えられているが<sup>6,7)</sup>、一貫種について日長時間が花芽分化に及ぼす影響について論じた報告は見あたらない。

一般に食用作物では、各地域の気象条件・栽培様式に適応した生態的特長をもつ多くの品種が育成されている<sup>8)</sup>。1937年に選抜された栽培品種一貫種は<sup>9)</sup>、その後全国各地で栽培や保存が続けられており、生態的地方型に分化している可能性もあるが、この点についての研究報告もない。今回著者は、寒冷地および暖地2ヶ所で維持されている一貫種を材料にして、花芽の分化と発育に及ぼす日長ならびに温度の影響について検討したので、その結果を報告する。

## 材料および方法

1. 日長試験：1990年7月に北海道試験場(名寄系)および同年6月に長崎大学薬学部薬草園(長崎系)で採取した一貫種の種子を、1990年12月10日に、黒ボク土約2kgを充てんした1/5000aのワグネルポットに播種した。肥料は1ポット当たり、炭酸カルシウム1.2g、14-4-14化成肥料2g、熔り

ン1.2gを全量基肥として与えた。播種後は温室内で管理し、発芽が完了した同年12月19日より4連型日長箱(自家製)内、15、12、10、9時間日長下で栽培した。

各区とも1ポット当たり1本植え、6反復とし、約10日毎に生育を調査した。日長の調節は、8時間は自然光、それ以上は40w白熱電球にて補光(相対照度60 lux)した。

2. 感温性試験：日長試験の材料に加え、1990年6月に筑波薬用植物栽培試験場(筑波系)で採取した一貫種の種子を、日長試験と同一のポット・土壌・肥料条件下に播種した。試験区分および温度処理はTable 1に示したとおりである。2葉期から7~10日毎に各区5~7個体をサンプリングし、前報<sup>1)</sup>に準じて連続切片を作成し、パラフィン除去後メイヤーのミョウバン・ヘマトキシリンで染色して、

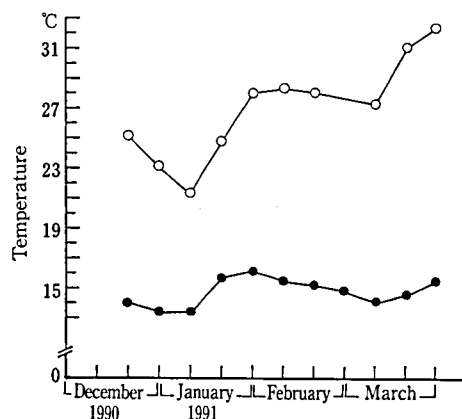


Fig. 1. Mean air temperature at each 10-day period of month in greenhouse during cultivation

○; Maximum, ●; Minimum

Table 1. Experimental design

Plots	Sowing date	Date of temperature treatment <sup>1)</sup> (Period)
15°C	Jan. 14th, 1991	From Jan. 22nd, 1991 to Feb. 19th, 1991 (28 days)
20°C	Feb. 15th, 1991	From Feb. 22nd, 1991 to Mar. 19th, 1991 (25 days)
25°C	Dec. 8th, 1990	From Dec. 14th, 1990 to Jan. 22nd, 1991 (38 days)
Non-treated <sup>2)</sup>	Dec. 8th, 1990	

1) In the growth cabinet under 15 hours photoperiod supplemented by 40w incandescent lamp. Before and after treatment they were cultivated in the greenhouse.

2) cultivated in the greenhouse under 15 hours photoperiod supplemented by 40w incandescent lamp (light intensity was 60 lux). Mean air temperature during cultivation is shown in Fig. 1.

頂芽の花芽分化の過程を顕鏡した。温度処理終了後、各区とも1ポット当たり2本植、3反復にて、40 W 白熱電球で補光した15時間日長下の温室内で栽培した。約10日毎に展開した最上位葉を測定し、開花日を調査したのち、開花後15日目における蒴果の大きさならびに部位別の乾物重を測定した。

結果および考察

1. 日長時間が開花に及ぼす影響 (Fig. 2)

15時間日長下において、長崎系は長日処理後平均85日目に、名寄系は平均132日目に開花した。12時間以下の日長下では、両系統とも137日目ま

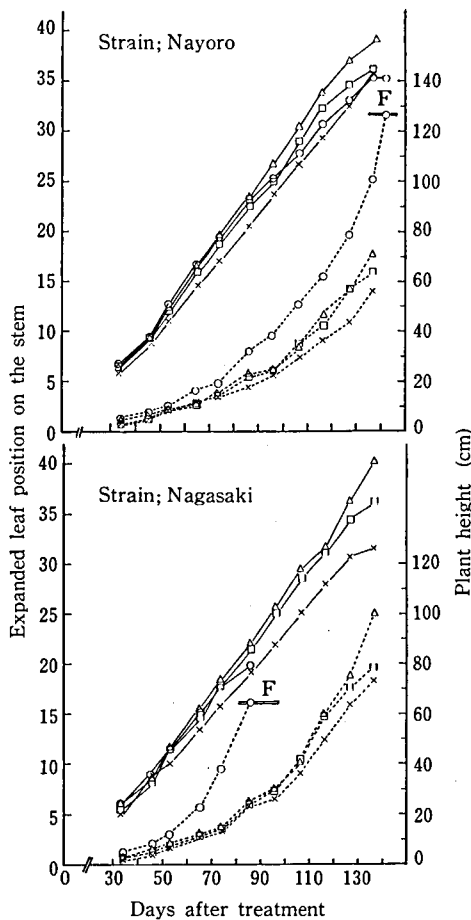


Fig. 2. Effect of daylength on flowering of *Papaver somniferum* L. cv. *Ikkanshu*

— Expanded leaf position on the stem  
 ----- Plant height  
 ○ ; 15 hours photoperiod, △ ; 12 hours,  
 □ ; 10 hours, × ; 9 hours  
 F ; flowering period

では開花に至らなかったが、9時間日長下でも抽苔は認められた。このように、本種は短日条件下でも花芽分化はみられるものの、その反応は極めて緩慢であり、日長が長くなるにつれて開花までの日数が短縮することが明らかになった。また、両系統を比べると、名寄系は長崎系に比べ反応が緩慢であり、花芽分化の早晩に明確な差が認められた。短日条件下で花芽が形成されるイネにおいて、短日処理の効果は累積することが報告されているが<sup>10</sup>、ケシにおける長日処理の累積性については今後の検討課題である。

2. 温度が花芽分化・発育に及ぼす影響

(Table 2, 4, photo 1)

本種は花芽が分化すると葉の分化は停止するので、開花時の分化葉位を調べることで花芽分化時期を推定することができる。名寄系において、15℃区は20℃区および無処理区と比べ有意に早く花芽分化がみられたが、25℃では著しく遅れ温度処理期間中には花芽の分化は認められなかった (Table 2, 4)。無処理区の栽培期間中の温度 (Fig. 1) を考慮すると、名寄系の花芽分化の適温は15℃程度と考えられる。開花までに要した日数は15℃区と20℃区間には差がなく、無処理区では20℃とほぼ同時期に花芽分化がみられたにもかかわらず、開花までに要した日数は20℃に対し有意に長くなっており、分化後の花芽の生育には20℃程度の温度が適していると思われた。長崎系においても名寄系とほぼ同様の傾向がみられた。一方、筑波系においては、無処理区に最も早く花芽の分化がみられ、以下15℃・20℃区の順に遅れ、25℃区では名寄・長崎系同様、温度処理期間中に分化は認められなかった。無処理区の栽培期間中の温度を考慮すると筑波系は15℃以下の温度により感応しやすい系統と考えられる。また、名寄・長崎系同様、分化後の花芽の生育には20℃程度の温度が適していると考えられた。

斉藤らは低温に感応するカブの花芽形成について、低温感応は累積し、途中での高温処理によりその累積効果はある程度打ち消されることを指摘している<sup>5</sup>。本実験において、無処理区の栽培期間 (12月~3月上旬) 中の温室内平均温度は13~28℃の間で推移 (Fig. 1) している。筑波系における無処理区の花芽分化は15℃区よりも有意に早く、また長崎系における無処理区の花芽分化は15℃区と差がなかったことから、両系統ともにより低温条件下で花芽分化は早く進み、分化可能な温度域 (20℃以下)

Table 2. Effect of temperature treatment on young seedlings cultivated in 15 hours photoperiod on flower bud differentiation and growth of *Papaver somniferum* L. cv. *Ikkanshu*

Strain Plots	Days from germination to flowering	Expanded leaf position on the stem at flowering	Plant height at flowering (cm)	Leaf No. at flowering
<b>Nayoro</b>				
15°C	73.2±3.3 <sup>a</sup>	21.6±0.9 <sup>a</sup>	97.4±7.0 <sup>b</sup>	10.2±0.4 <sup>a</sup>
20°C	75.8±5.1 <sup>a</sup>	26.0±1.9 <sup>b</sup>	97.3±10.8 <sup>b</sup>	14.3±3.1 <sup>a</sup>
25°C	107.3±1.9 <sup>a</sup>	32.8±4.0 <sup>b</sup>	101.5±15.3 <sup>b</sup>	12.3±2.5 <sup>b</sup>
Non-treated	95.3±3.3 <sup>b</sup>	27.8±1.1 <sup>b</sup>	78.2±15.6 <sup>a</sup>	12.0±1.0 <sup>ab</sup>
LSD(p=0.05) <sup>1)</sup>	3.87	2.65	16.6	1.90
<b>Nagasaki</b>				
15°C	53.0±2.5 <sup>a</sup>	12.5±0.8 <sup>a</sup>	54.6±6.4 <sup>a</sup>	7.5±1.1 <sup>ab</sup>
20°C	51.5±2.1 <sup>a</sup>	14.0±1.6 <sup>b</sup>	50.9±5.1 <sup>a</sup>	8.5±0.6 <sup>b</sup>
25°C	91.7±1.2 <sup>a</sup>	28.2±0.8 <sup>b</sup>	73.6±3.7 <sup>b</sup>	14.0±1.6 <sup>a</sup>
Non-treated	68.3±2.3 <sup>b</sup>	12.8±1.0 <sup>ab</sup>	56.4±4.6 <sup>b</sup>	7.1±0.4 <sup>a</sup>
LSD(p=0.05)	2.85	1.47	6.3	1.19
<b>Tsukuba</b>				
15°C	52.8±2.4 <sup>a</sup>	12.6±1.1 <sup>b</sup>	53.0±6.4 <sup>b</sup>	7.6±0.9 <sup>b</sup>
20°C	52.5±2.4 <sup>a</sup>	14.0±0.6 <sup>c</sup>	54.0±2.3 <sup>b</sup>	9.2±1.0 <sup>a</sup>
25°C	92.3±1.2 <sup>a</sup>	26.0±1.0 <sup>d</sup>	63.8±7.4 <sup>a</sup>	13.6±1.1 <sup>d</sup>
Non-treated	66.0±2.1 <sup>b</sup>	11.4±0.6 <sup>a</sup>	45.5±2.3 <sup>a</sup>	6.0±0 <sup>a</sup>
LSD(p=0.05)	1.77	1.06	5.8	1.04

Each value is mean of 6 plants ± standard deviation.  
Values with different superscripts are significantly different from each other.  
1) represents least significant difference at 5% level.  
NS; not significant at 5% level.

Table 3. Effect of temperature treatment on young seedlings cultivated in 15 hours photoperiod on growth of *Papaver somniferum* L. cv. *Ikkanshu*

Strain Plots	Size of capsule(cm) <sup>2)</sup>		Dry weight (g/plant) <sup>2)</sup>		
	Diameter	Length	Capsule	Leaf and stem	Root
<b>Nayoro</b>					
15°C	2.78±0.08	5.53±0.37	1.76±0.47	4.37±1.28	0.49±0.19
20°C	2.73±0.55	5.05±0.80	1.63±0.81	4.18±1.37	0.45±0.23
25°C	3.08±0.60	5.50±0.68	1.98±0.75	5.38±2.39	0.62±0.34
Non-treated	2.29±0.39	4.76±0.66	1.07±0.52	3.86±1.44	0.35±0.16
LSD(p=0.05) <sup>1)</sup>	NS	NS	NS	NS	NS
<b>Nagasaki</b>					
15°C	1.82±0.25 <sup>a</sup>	4.15±0.53 <sup>a</sup>	0.68±0.33 <sup>a</sup>	1.22±0.48 <sup>a</sup>	0.11±0.05 <sup>a</sup>
20°C	1.86±0.19 <sup>b</sup>	4.15±0.19 <sup>b</sup>	0.64±0.31 <sup>a</sup>	0.98±0.26 <sup>a</sup>	0.10±0.37 <sup>a</sup>
25°C	2.53±0.26 <sup>b</sup>	5.05±0.44 <sup>b</sup>	1.51±0.35 <sup>b</sup>	3.05±0.69 <sup>b</sup>	0.36±0.11 <sup>b</sup>
Non-treated	1.76±0.23 <sup>a</sup>	3.80±0.33 <sup>a</sup>	0.64±0.11 <sup>a</sup>	1.04±0.34 <sup>a</sup>	0.10±0.06 <sup>a</sup>
LSD(p=0.05)	0.296	0.509	0.312	0.601	0.038
<b>Tsukuba</b>					
15°C	1.71±0.16 <sup>b</sup>	4.05±0.51 <sup>b</sup>	0.56±0.18 <sup>ab</sup>	1.14±0.50 <sup>b</sup>	0.10±0.04 <sup>b</sup>
20°C	1.94±0.15 <sup>b</sup>	4.35±0.40 <sup>b</sup>	0.83±0.16 <sup>b</sup>	1.09±0.13 <sup>a</sup>	0.13±0.03 <sup>b</sup>
25°C	2.23±0.32 <sup>a</sup>	4.82±0.49 <sup>b</sup>	1.15±0.39 <sup>a</sup>	2.33±0.68 <sup>b</sup>	0.23±0.07 <sup>a</sup>
Non-treated	1.39±0.14 <sup>a</sup>	3.32±0.21 <sup>a</sup>	0.40±0.07 <sup>a</sup>	0.57±0.10 <sup>a</sup>	0.04±0.02 <sup>a</sup>
LSD(p=0.05)	0.260	0.540	0.282	0.516	0.058

Notes are the same as those in Table 2.  
2) On the 15th day after flowering.

に達した時の感応が累積して花芽分化に至るものと思われる。一方、名寄系においては無処理区は15°C区よりも遅れていることから、感応効果の累積

が25°C以上の高温で打ち消されたものとも考えられる。以上の結果から、本種は感温性であることが判明した。

Table 4. Effect of temperature treatment on young seedlings cultivated in 15 hours photo-period on apical flower bud differentiation and development of *Papaver somniferum* L. cv. *Ikkanshu*

Temperature treatment Strain	7 days after treatment		14 days after treatment		21 days after treatment		28 days after treatment	
	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage
<b>15°C</b>								
Nayoro	2L <sup>1)</sup>	—	4L	—	6L	ND :5	7~8L	ND :3 A~B:4
Nagasaki	2L	—	4L	A~B:2 B :3	6L	C~D:3 D :1 D~E:1	6~7L	—
Tsukuba	2L	ND:5 <sup>2)</sup>	4L	A~B:1 B :3	6L	C :1 C~D:2 F~G:2	6~7L	G :2 I :1 K :1 L :1
Temperature treatment Strain	7 days after treatment		12 days after treatment		20 days after treatment		25 days after treatment	
	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage
<b>20°C</b>								
Nayoro	2L	—	4~5L	ND :5	7L	ND :5	8L	ND :3
Nagasaki	2L	—	4~5L	ND :5	7L	ND :1 A~B:2 C~D:2 D :1	7L	D~E:2 G :1 G~H:1
Tsukuba	2L	ND:5	4~5L	ND :5	7L	ND :2 A~B:2 C~D:1	7L	—
Temperature treatment Strain	9 days after treatment		14 days after treatment		22 days after treatment		38 days after treatment	
	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage
<b>25°C</b>								
Nayoro	2L	—	3~4L	—	5L	—	10L	ND:5
Nagasaki	2L	—	3~4L	—	5L	—	7~8L	ND:5
Tsukuba	2L	—	3~4L	—	5L	—	7~8L	ND:5

Table 4. (continued)

Temperature treatment Strain	9 days after treatment		14 days after treatment		22 days after treatment		38 days after treatment	
	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage	Seedling age	Flower bud stage
<b>Non-treated</b>								
Nayoro	2L	—	3~4L	—	5L	—	10L	ND :2 A~B:3
Nagasaki	2L	ND:5	3~4L	—	5L	D :5	7~8L	H~I:1 K~L:2 L :2
Tsukuba	2L	ND:5	3~4L	—	5L	B :1 C~D:1 D :3	7~8L	I~J:2 K :1 L :3

1) indicates expanded leaf position on the stem.

2) Numerals indicate number of plants. Capitals indicate degree of apical flower bud differentiation and development, and details of them are as follows. ND: undifferentiated (Photo. 1-1), A: differentiated, B: bud elongated (Photo. 1-2), C: sepal primordia (Photo. 1-3), D: sepal formed, E: sepal elongated, F: sepal elongated further, G: petal primordia (Photo. 1-4), H: petal formed, I: stamen and pistil formed, petal elongated, J: petal elongated further, stamen elongated, K: stamen elongated further, pistil growing, L: stamen elongated further, pistil growing further (Photo. 1-5).

3系統を比べると、名寄系は各温度条件下において、他の2系統よりも花芽分化が著しく遅れることが明らかになり、日長試験においても同様の傾向が認められる。同じ一貫種でも長年寒冷地で維持され

た名寄系は花芽誘導が遅れる生態型に分化していることが明らかである。また、筑波系は、他2系統と比べより低い温度域に感応することが判明したが、これも生態的分化の一つと考えられる。



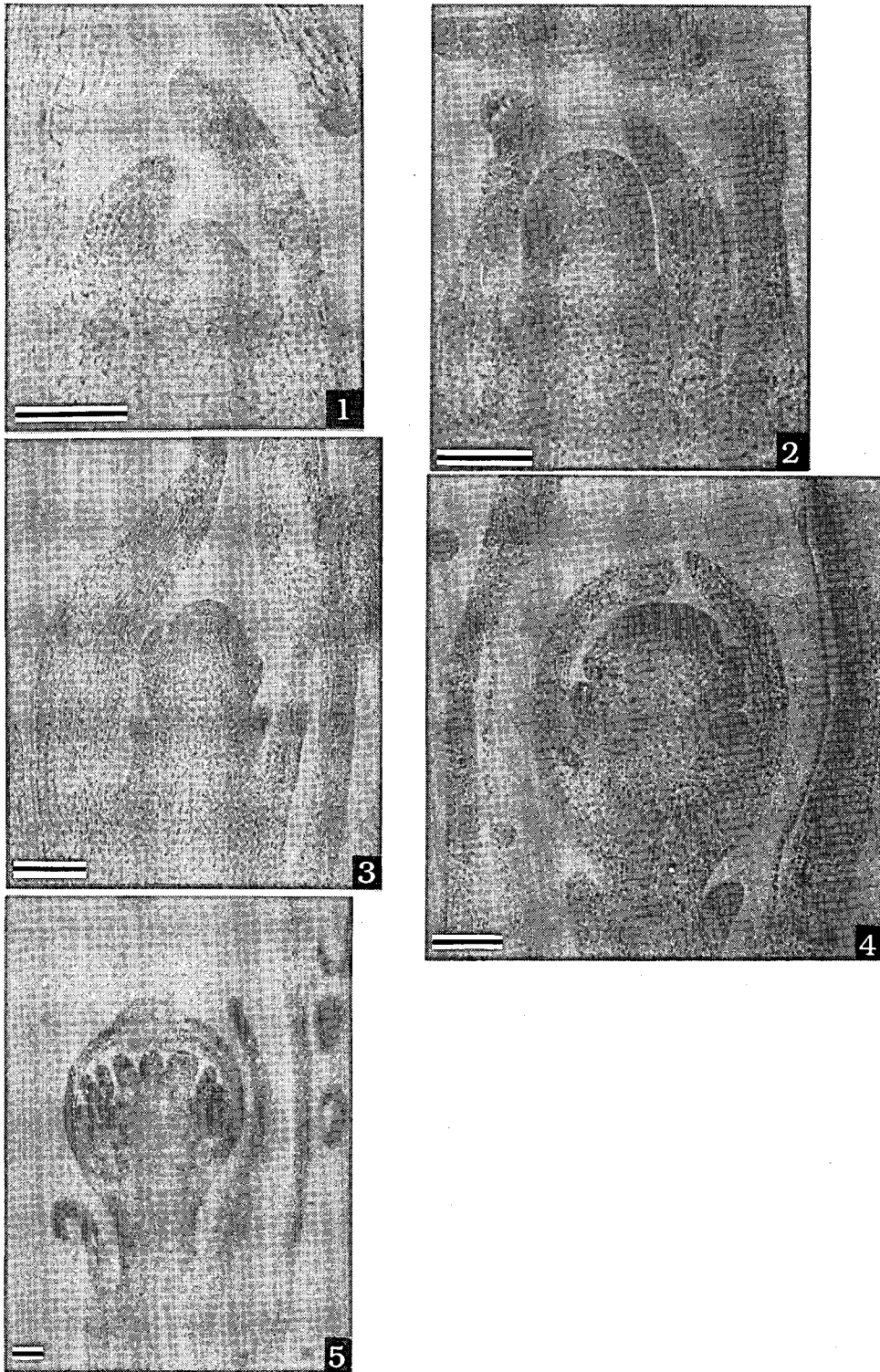


Photo. 1. Differentiation and growth process of apical flower bud

1 ; stage ND, 2 ; stage A~B, 3 ; stage C~D, 4 ; stage G~H, 5 ; Stage L.  
Bars represent 0.1 mm.

### 3. 温度処理が植物体の生育に及ぼす影響

(Table 3)

長崎系において、蒴果の大きさおよび各部位の乾物重は25℃区が最も高く、15℃、20℃および無処理区間には有意差は認められなかった。筑波系では、蒴果の大きさおよび各部位の乾物重は25℃区が最も高く、無処理区が最低で15℃と20℃の間には有意な差は認められなかった。一方、名寄系においては、全調査項目とも各区間に有意差は認められなかったが、25℃区が比較的高い傾向がみられた。また、名寄系は、他の2系統と比べ、すべての温度条件下において、蒴果が大きくかつ各部位の乾物重も高かった。全系統を通じ、蒴果の大きさや各部位の乾物重の多少は、花芽分化時期の早晚と完全に一致し、生殖生長（花芽分化）に入る前の栄養生長期間が長い区ほど、蒴果の大きさや乾物重および莖葉や根の乾物重は大きくなった。蒴果の大きさはアヘン収量と密接な関係にあり、したがってアヘン収量を高めるためには、発芽後栄養生長期間をある程度長く保つ必要があり、それは短日条件下もしくは25℃以上の高温条件下で生育させることにより可能である。

#### 結 論

名寄（北海道）、筑波（本州中部）および長崎（九州）で長年栽培されているケシー貫種について、日長時間（9～15時間）および栽培温度が花芽分化と発育に及ぼす影響を検討した。

1. 日長試験の結果、9時間の短日条件下でも花芽分化はみられるものの反応は極めて緩慢であり、日長時間が長いほど開花までの日数は短縮された。
2. 20℃以下の温度条件で花芽は分化し、より低

温の方が感応しやすかったが、25℃では花芽は分化しなかった。また、分化後の花芽の発育は20℃が適していると考えられた。以上の結果から、本種は感温性であると結論した。

3. 日長および感温性の両試験において、名寄系は他の2系統と比べ明らかに花芽分化が遅れ、その点において異なった生態型に分化していると考えられた。

4. アヘン収量と密接な関係にある蒴果の大きさおよび乾物重は、花芽分化の早晚と完全に一致し、花芽分化前の栄養生長期間が長い条件および系統で高い結果となった。

#### 謝 辞

本研究を行うに当たり、種子のご供与をいただきました長崎大学薬学部大橋裕助教授に感謝致します。

#### 文 献

- 1) 熊谷健夫, 畠山好雄: 衛生試報, **103**, 106 (1985)
- 2) 木下孝三: 衛生試報, **77**, 273 (1959)
- 3) 渡辺慶一, 高橋文次郎, 井上宏明: 日大農獣医学部学術研究報告, **34**, 26 (1977)
- 4) 高橋文次郎, 江口庸雄: 園学雑, **43**, 237 (1974)
- 5) 斉藤 隆, 斉藤秀幸: 園学雑, **60**(別冊1), 316 (1991)
- 6) Mika, K. S.: *Bot. Gaz.*, **116**, 323 (1955)
- 7) Gentner, A., Taylorson, R. and Borthwick, H.: *Bulletin on Narcotics*, **27**, 23 (1975)
- 8) 星川清親: “新編食用作物”, 養賢堂, 東京 (1980)
- 9) 厚生省薬務局麻薬課: “けし植物図譜”, pp.105, 第一法規出版, 東京 (1989)
- 10) Katayama, T.: *Jap. J. Crop. Sci.*, **47**, 249 (1978)

## 数種の罹病薬用植物より分離された糸状菌

佐藤豊三\*1・松橋正仁\*2・飯田 修

## Fungi Isolated from Diseased Medicinal Plants

Toyozo Sato, Masahito Matsuhashi and Osamu Iida

One hundred and forty-four fungal isolates were obtained from diseased *Paeonia albiflora* Pall. var. *trichocarpa* Bung., *Astragalus membranaceus* Bung., *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc., *Ledebouriella seseloides* Wolff and *Bupleurum falcatum* L. which were collected in the test field of Tsukuba Medicinal Plant Research Station, National Institute of Hygienic Sciences. Most of them were identified into 15 genera containing 8 species. Fungal species presumed to be pathogens of the host plants were as follows: *Cladosporium paeoniae*, *Pestalotia paeoniicola*, *Glomerella cingulata*, *Hainesia lythri*, *Guignardia* sp. and *Alternaria* sp. from *P. albiflora*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. and *Neocosmospora vasinfecta* from *A. membranaceus*, *Colletotrichum gloeosporioides* from *L. erythrorhizon*, *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* spp., *Phoma* sp. and *Pyrenochaeta* sp. from *L. seseloides*, and *Fusarium* sp., *Alternaria alternata*, *Phyllosticta* sp., *Phoma* sp., *Phomopsis* sp. and *C. gloeosporioides* from *B. falcatum*. Roots of *B. falcatum* were found to be parasitized by *Meloidogyne* sp.

**Keywords** : medicinal plant, fungi, *Meloidogyne* sp.

(Received May 31, 1992)

## 緒言

わが国では多種多様の薬用植物が栽培、利用されているにもかかわらず、それらの病害に関する研究は立ち遅れており、まとまった成書も出版されていない。薬用植物の病害の実態を調査し、その病原を明らかにすることは、適切な防除対策を講じる上で不可欠であるばかりではなく、わが国における当該分野の遅れを取り戻す上でも重要である。

著者らは国立衛生試験所筑波薬用植物栽培試験場において薬用植物の病害を調査すると同時に、罹病植物の試料を採集し、糸状菌を中心に病原菌の分離と同定を試みた。本報告はその結果の概要を取りまとめたものである。

## 材料および方法

## 1. 材料の採集と糸状菌の分離

1991年9月5日、国立衛生試験所筑波薬用植物

栽培試験場の試験圃場において、病変の見られたシャクヤク (*Paeonia albiflora* Pall. var. *trichocarpa* Bung.), キバナオウギ (*Astragalus membranaceus* Bung.), ムラサキ (*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.), ボウフウ (*Ledebouriella seseloides* Wolff) およびミシマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) を採集し病徴を記録した。

採集品は水道水中で洗浄したのち、地下部はさらに中性洗剤を少量添加した水溶液中で十数分間超音波洗浄槽を用いて洗浄し、脱イオン水ですすいだ。表面の水分が蒸発したのち、病変部周辺を1辺、数~10 mmの薄片に切り出して70%エタノールに数秒間、約5%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に数分間浸漬して表面殺菌を行い、それを分離用平板培地上に静置し、室温、散光下に置いて培養した。連日分離平板を観察し、置床試料より伸長してきた糸状菌を順次斜面培地に移植して雑菌の混入の有無を確認したのち、各斜面培養物を分離菌株とした。また、置床試料および分離平板上に糸状菌の胞子が形成された場合、針で胞子を釣り上げ新しい分離平板に移して培養し、生育した菌叢の先端部を斜面培地に移

\*1 農林水産省農業環境技術研究所

\*2 秋田県病害虫防除所

植して分離菌株とした。分離培地として、ストレプトマイシン 50~200 ppm をそれぞれ加えた 1/2 ジャガイモ・ニンジン寒天 (PCA) 培地、三浦培地 (LCA) および馬鈴薯煎汁寒天 (PDA) 培地の他、ストレプトマイシン 500 ppm 加素寒天 (WA) を用いた。分離菌株の斜面培地には馬鈴薯煎汁寒天 (PDA) 培地を用いた。

## 2. 分離菌の観察と同定

病斑などの病変の見られた植物組織を上記の洗浄処理ののち、剃刀刃を用いて薄片にし、ラクトフェノールコットンブルー液で封入して顕微鏡観察を行った。また、線虫の寄生によると予想された根のゴールを水中でほぐして内部より虫体を取り出し、実体顕微鏡および光学顕微鏡で形態観察を行った。

分離平板上および置床組織片上に形成された糸状菌の子実体や孢子等を分離と同時にメス等でかき取り、ラクトフェノールで封入し、顕微鏡観察および大きさの測定等を行った。また、斜面培地上で子実体形成や孢子形成が認められたものについても同様に封入、観察を行った。一部の子のう殻や分生子殻は凍結ミクロトームで切片として観察した。得られた観察結果と測定値を既報のものと比較検討し、属・種の同定を行った。

なお、採集した罹病植物の乾燥さく葉標本および得られた分離菌株はすべて農林水産省農業環境技術研究所に保管されている。

## 結 果

### 1. 病 徴

ミシマサイコの側根、細根のゴールを除いて、採集された植物の病斑部の組織内には糸状菌の菌糸が観察された。各植物で観察された病徴は以下のとおりであった。

**シャクヤク**：葉では輪紋をもつ褐色の円形ないし、不整形の斑点が葉縁および葉身内部に発達していた。葉の表側の病斑周囲に紫褐色の変色部を有し、葉裏の病斑上に多数の分生子が形成され、すす~かび状に見えた。茎や葉柄では中心部が黒く、周囲が赤紫褐色の紡錘形ないし長楕円形の病斑が形成されていた (Fig. 1)。

**キバナオウギ**：主根の一部が褐色または黒褐色に腐敗し陥没していた (Fig. 2)。

**ムラサキ**：葉が湾曲し、葉縁から暗褐色に枯れ込み、葉身部に小型の穴が複数あいていた。被害の著しい場合は枝の先端部から落葉し、枝が黒く枯れ込

んでいた (Fig. 3)。

**ボウフウ**：地際の葉柄基部および生長点付近が水浸状に褐変腐敗していた。主根先端の脱落した株で主根の導管褐変が見られた (Fig. 4)。

**ミシマサイコ**：葉では葉身に灰~黒色の不整形小斑が形成され、葉縁が同様に変色して枯れていた。茎では中央が灰黒色の赤紫褐色長楕円斑が形成され、その上にまれに淡橙色の分生子塊が形成されていた (Fig. 5)。主根、地際部の皮層部が暗褐色に腐敗していた。側根に直径 1~2 mm のゴール (こぶ) が多数着生していた (Fig. 6)。

### 2. 分離菌の同定

上記 5 種の植物から合計 144 株の糸状菌が分離され、8 種を含む 15 属が同定された (Table 1)。その詳細は以下のとおりである。なお、糸状菌学名に続く [ ] 内に分離源を、また、( ) 内に代表的な菌株番号を記した。

**シャクヤク**：茎葉から 6 属に類別される 37 株および未同定の 1 株が分離され、4 種が判明した。

1) *Cladosporium paeoniae* Pass.<sup>1-3)</sup> [葉, 茎] (S-1~3, 6, 7)：菌叢はち密でオリーブ褐色、分生子柄は基質より立ち上り淡褐~オリーブ褐色で樹枝状に分枝し、125~205×3~4 μm、分生子は単細胞か 2~3 細胞、広楕円形、長楕円形、とっくり形、淡褐~オリーブ褐色で出芽により連鎖し、連鎖は分枝していた。分生子の大きさは 5~10×3~5 μm。

2) *Pestalotia paeoniicola* Tsukamoto et Hino<sup>4)</sup> [葉] (S-9, 10)：菌叢は綿毛状、所々に黒色液滴状の分生子塊が形成され、分生子は紡錘形、5 細胞、両端細胞は無色、中央 3 細胞は黄褐色、先端に 3~4 本、基端に 1 本の毛状付属糸をもっていた。大きさは 28~32×6~8 μm。

3) *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. et Schrenk (*Colletotrichum gloeosporioides* Penzig)<sup>5)</sup> [葉, 茎] (S-8, 9)：菌叢は灰オリーブ色あるいは黒色でち密に盛り上がっていた。子のう殻は黒褐色、球~亜球形ないし首の短いフラスコ形。子のうは無色、8 孢子を内包し、こん棒~円筒形。子のう孢子はやや湾曲した長楕円形ないし鎌形、単細胞、無色、大きさは 14.5~16×5~6 μm、分生子は単細胞、無色、円筒形、両端が丸いか基部がやや尖り、大きさは 11.5~17×4.5~6 μm。

4) *Hainesia lythri* (Desm.) Hoehn.<sup>6)</sup> [葉] (S-11)：菌叢は気中菌糸の発達が乏しく淡褐色で、褐~赤褐色の小点が多数生じていた。この小点は盃状

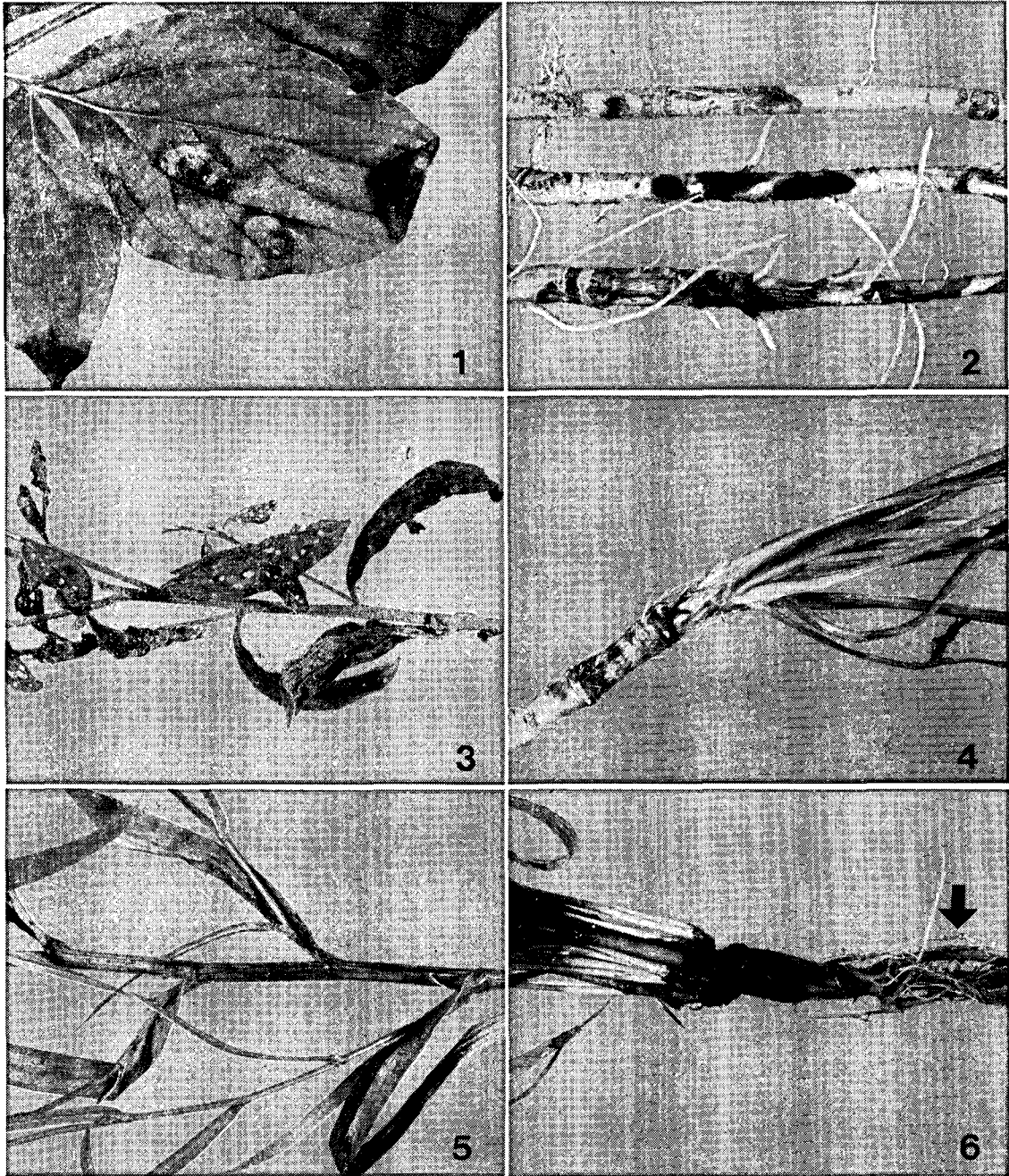


Fig. 1. Lesions on upper surface of leaflets of *Paeonia albiflora*

Fig. 2. Symptoms on main roots of *Astragalus membranaceus*

Fig. 3. Symptoms on leaves of *Lithospermum erythrorhizon*

Fig. 4. Symptoms on foot of *Ledebouriella seseloides*

Fig. 5. Symptoms on a stem and leaves of *Bupleurum falcatum*

Fig. 6. Symptoms on a foot and upper part of roots of *B. falcatum*, and its root galls (arrow) caused by *Meloidogyne* sp.

Table 1. Fungi isolated from diseased medicinal plants

Host plant	Source of isolation	Fungus isolated	Number of isolates
<i>Paeonia albiflora</i> var. <i>trichocarpa</i>	leaf, stem	<i>Cladosporium paeoniae</i>	13
	leaf	<i>Pestalotia paeonicola</i>	1
	leaf, stem	<i>Glomerella cingulata</i> ( <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> )	6
	leaf	<i>Hainesia lythri</i>	10
	leaf	<i>Guignardia</i> sp. ( <i>Phyllosticta</i> sp.)	3
	leaf, stem	<i>Alternaria</i> sp.	4
	stem	Unidentified	1
		(subtotal	
<i>Astragalus membranaceus</i>	root	<i>Fusarium</i> sp. ( <i>oxysporum</i> ?)	3
	root	<i>Fusarium</i> sp. ( <i>solani</i> ?)	3
	root	<i>Rhizoctonia</i> sp. ( <i>solani</i> ?)	3
	root	<i>Rhizoctonia</i> sp. (binucleate?)	2
	root	<i>Neocosmospora vasinfecta</i>	1
	(subtotal		12)
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	leaf, stem	<i>Nigrospora oryzae</i>	8
	leaf	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	7
	leaf, stem	<i>Fusarium oxysporum</i>	4
	leaf	Unidentified	2
	(subtotal		21)
<i>Ledebouriella seseloides</i>	foot	<i>Rhizoctonia</i> sp. ( <i>solani</i> ?)	4
	root	<i>Fusarium</i> sp. ( <i>oxysporum</i> ?)	8
	foot, root	<i>Fusarium</i> sp.	3
	foot	<i>Phoma</i> sp.	1
	root	<i>Cladosporium</i> sp.	1
	foot	<i>Pyrenochaeta</i> sp.	1
	foot, root	Unidentified	10
	(subtotal		28)
<i>Bupleurum falcatum</i>	stem	<i>Fusarium</i> sp. ( <i>oxysporum</i> ?)	13
	leaf, stem	<i>Alternaria alternata</i>	6
	leaf	<i>Nigrospora oryzae</i>	1
	leaf	<i>Phyllosticta</i> sp.	1
	leaf	<i>Phoma</i> sp.	16
	stem, root		
	leaf	<i>Phomopsis</i> sp.	2
	leaf	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	6
	(subtotal		45)
Total			144

の分生子果で、そこから多量の分生子が淡褐色の粘液状に形成されていた。分生子は船形、単細胞、無色で基端がやや尖り、大きさは  $6-9 \times 1.8-3 \mu\text{m}$ 。

5) *Guignardia* sp. (*Phyllosticta* sp.)<sup>5)</sup> [葉] (S-12)：菌叢はち密で培地上に盛り上がり、黒色を呈していた。子のう殻は暗褐色、壺球形で、子のうは

円筒～こん棒形、小型のばち～棒形の不動精子が子のう殻周辺部に多数観察された。分生子は広楕円～倒卵形で、先端に1本のひも状付属糸をもち、単細胞、無色、大きさは $9.5\sim 11.5\times 6\sim 7\mu\text{m}$ 。

6) *Alternaria* sp.<sup>7)</sup> [葉, 茎] (S-4, 5) : 菌叢は暗褐～灰褐色、氣中菌糸の生育旺盛。分生子は褐色、石垣状多細胞、洋ナシ～倒こん棒形で分生子柄上に連鎖していた。連鎖は分枝することもあった。

キバナオウギ : 主根から11株が分離され、3属に類別された。そのうち1株の種が判明した。

1) *Rhizoctonia* sp.<sup>7)</sup> [主根] (0-6, 7) : 菌糸の生育は早く、菌叢が淡褐～褐色の菌株と乳白色のものが得られた。前者は *R. solani*, 後者は2枝性の *Rizoctonia* 属菌と思われる。どちらも直径数mmの菌核を形成していた。菌糸は太く、主軸に対してほぼ直角の分枝を伸ばしていた。

2) *Fusarium* sp.<sup>7)</sup> [主根] (0-1～5) : 菌糸が白～淡褐色で、緑褐色のスポロドキアを多数形成する菌株と菌糸が白色で紫褐色ないし淡紫色に培地が染まり、乳白色の中～大型のスポロドキアを形成するものが得られた。小型分生子柄の長さと同様の状態から前者は *F. solani*, 後者は *F. oxysporum* と思われる。

3) *Neocosmospora vasinfecta* E. F. Sm.<sup>8)</sup> [主根] (0-8) : 氣中菌糸は白色で、菌叢裏面は褐色、菌叢上に赤～赤褐色の小粒が散生していた。この小粒は子のう殻で、亜球形、孔口部は乳頭状に突出し、直径約 $450\mu\text{m}$ 。内部に円筒～こん棒形の8胞子性子のうが複数あり、成熟子のう胞子は橙黄色の塊となり、子のう殻孔より噴出する。子のう胞子は黄金色、広楕円～卵形で、厚膜、表面は明瞭な凹凸を有し、大きさは $14\sim 16\times 10\sim 11.5\mu\text{m}$ 。

ムラサキ : 茎葉から21株が分離され、2株を除いて4属に類別され、その内の7株については2種に同定された。

1) *Nigrospora oryzae* (Berk. et Br.) Petch<sup>9)</sup> [葉, 枝] (M-1～3) : 菌叢は白～灰色で生育は早かった。分生子は柄の先端に孤生し、亜球～半球形、黒～黒褐色単細胞、大きさは $14\sim 16\times 11.5\sim 15\mu\text{m}$ 。

2) *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyd. et Hans.<sup>5,7)</sup> [葉, 茎] (M-4, 5) : 氣中菌糸は白～紫褐色で、培地は赤褐～暗褐色に着色した。大型分生子は三日月形、多細胞、小型分生子は短い分生子柄先端に擬頭状に集積し、単細胞、無色、楕円形。

3) *Colletotrichum gloeosporioides* Penzig<sup>9)</sup> [葉]

(M-6) : 菌叢は灰オリーブ色で、黒色の小塊が培地上に形成された。分生子は円筒形、長楕円形、無色、単細胞で大きさは $13.5\sim 15\times 5\sim 6\mu\text{m}$ 。子のう殻は形成されなかった。

ボウフウ : 地際部より14株、主根部より14株が分離され、10株を除いて5属に類別された。

1) *Fusarium* spp.<sup>7)</sup> [地際, 主根] (B-1～7) : キバナオウギで分離されたものと同様に、菌叢には明色と暗色の2タイプが認められた。

2) *Rhizoctonia* sp.<sup>7)</sup> [地際] (B-11) : キバナオウギで分離された暗色の系統によく似ており、暗褐色の菌核形成が盛んであった。菌糸の幅は約 $8\mu\text{m}$ で、おそらく *R. solani* と思われる。

3) *Phoma* sp.<sup>7)</sup> [地際] (B-8) : 菌叢表側は白色で小黑点が無数に形成された。裏面は暗灰褐色。小黑点は分生子殻で亜球形、褐色、頂部に孔口が見られた。分生子は小型、単細胞、無色、広楕円～楕円形。

4) *Cladosporium* sp.<sup>7)</sup> [主根] (B-10) : シヤクヤクより分離された同属菌とほぼ同様であるが、分生子柄、分生子の形態が異なっていた。

5) *Pyrenochaeta* sp.<sup>7)</sup> [地際] (B-9) : 菌叢は表側が灰色、裏側は黒色で、培地表面に小黑点を同心円上に形成していた。この小黑点は分生子殻で褐～黒褐色、孔口部が突出した亜球～偏球形、孔口部周辺に暗褐色の剛毛を多数有していた。分生子は広楕円形、卵形、単細胞、無色で、大きさは $5\sim 6\times 3\sim 3.5\mu\text{m}$ 。

ミシマサイコ : 茎葉から37株、地際部、主根より7株が分離され、7属に類別された。

1) *Fusarium* sp.<sup>7)</sup> [茎, スポロドキア] (S-10～12) : キバナオウギやボウフウで分離された *Fusarium* 属菌とほぼ同じ。大型分生子の大きさは $21\sim 40\times 4\sim 6\mu\text{m}$ で、隔壁数は2～5。

2) *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler<sup>9)</sup> [茎, 葉] (S-9) : 菌叢および分生子の形態はシヤクヤクの分離株に類似し、分生子の大きさは $19\sim 55\times 8\sim 14\mu\text{m}$ で、隔壁数は2～7。

3) *Phyllosticta* sp.<sup>7)</sup> [葉] (S-2) : 分生子殻等の形態はシヤクヤクの分離株とほぼ同様で、分生子の大きさは $10\sim 11.5\times 6\sim 7\mu\text{m}$ 。

4) *Phomopsis* sp.<sup>7)</sup> [葉] (S-3) : 菌叢表側は白色で、灰～黒色、円～不整形の子座が散生し、その上に乳白色の分生子滴が漏出していた。分生子は長楕円形～紡錘形で大きさ $6.5\sim 8.5\times 1.5\sim 2.5\mu\text{m}$

の $\alpha$ 型と、釣針〜ひも形で大きさ $15\sim 25\times 1\sim 1.5\ \mu\text{m}$ の $\beta$ 型の2種類が形成され、どちらも無色、単細胞。

5) *C. gloeosporioides*<sup>5)</sup> [葉] (S-13, 14)：諸形態はムラサキの分離株とほぼ同じで、分生子の大きさは $13\sim 15.2\times 5.5\sim 7\ \mu\text{m}$ 。

6) *Phoma* sp.<sup>7)</sup> [茎, 葉, 地際] (S-4, 5, 7)：菌叢表側は淡褐色で小黑点散生, 裏側は暗褐色で培地は黄褐色に染まった。小黑点は分生子殻で亜球〜偏球形, 頂部に1孔口を有し, 褐色で直径約 $100\sim 125\ \mu\text{m}$ 。分生子は楕円〜卵形, 単細胞, 無色で大きさは $3\sim 5\times 2\sim 2.5\ \mu\text{m}$ 。

7) *N. oryzae*<sup>9)</sup> [葉] (S-1)：諸形態はムラサキから分離されたものとほぼ同じであった。

8) *Meloidogyne* sp. [側根, 細根ゴール]：ゴール組織内に雌の虫体が確認された。

## 考 察

文献<sup>1-3, 10)</sup>に基づいて、観察された病徴および分離・同定された糸状菌から各植物の病害が以下の様に推定された。

**シャクヤク**：*Cladosporium paeoniae*による斑葉病<sup>1-3)</sup> (Leaf blotch)<sup>7)</sup>, *Pestalotia paeoniicola*による褐色斑点病 (Brown leaf spot)<sup>3)</sup>, *Glomerella ciu-gulata* (*C. gloeosporioides*)による炭そ病 (Anthracnose)<sup>1, 3)</sup>, *Alternaria* sp.による斑点病<sup>3)</sup> (Leaf spot)<sup>7)</sup>が推定されるが、病徴から斑葉病である可能性が最も高い。この他に *Hainesia lythri* および *Guignardia* (*Phyllosticta*) sp. が分離されたが、前者は Sutton and Gibson (1977)<sup>6)</sup> によればボタン (*Paeonia suffruticosa*) の他、多くの植物の寄生菌であるという。なお、本菌は日本における新産種である。後者はシャクヤクの葉に Leaf spot を起こすことが米国において報告されている<sup>10)</sup>。

**キバナオウギ**：*Fusarium oxysporum* はオウギの萎凋病 (Fusarium wilt) を起こすとされ<sup>3)</sup>, *F. solani* は多くの植物の根腐れを引き起こす病原菌として知られている<sup>1, 2)</sup>。 *Rhizoctonia* sp. はオウギの病原菌としては未報告であるが、多くの植物の根に被害を与える土壌病原菌であり<sup>1, 2)</sup>, オウギにも根腐れを起こす可能性がある。 *Neocosmospora vasinfecta* はわが国では、ネムノキの苗立枯病やグイズ株枯病などの土壌病害を引き起こすことが報告されている<sup>8)</sup> ことから、キバナオウギに見られた病徴に関係している可能性があり、キバナオウギは本菌の

新宿主と思われる。

**ムラサキ**：同定された3種の糸状菌が起こすムラサキの病害は報告されていないが、それらの中で観察された病徴を現す病原菌として最も可能性の高いのは *C. gloeosporioides* であり、他の2種は宿主の死滅組織上に腐生的に生息している可能性が高い。

**ポウフウ**：ポウフウに関する病害の報告が見当たらないが、 *Cladosporium* sp. 以外の5種が病気を起こす可能性は十分考えられる。

**ミシマサイコ**：本試料の生育不良状態は根こぶ線虫 (*Meloidogyne* sp.) によるものと推定される。葉の一部の斑点は *C. gloeosporioides* による炭そ病 (Anthracnose)<sup>3, 11)</sup> と思われる。また、その他の斑点は *Phoma* sp. による褐色斑点病 (Brown leaf spot)<sup>3)</sup> と思われる。 *Fusarium* sp. が茎上の病斑上にスポロドキアを形成する例が観察されたところから、茎の病斑の原因となっている可能性がある。さらに、 *Phyllosticta* および *Phomopsis* 属菌も茎葉に加害し得る糸状菌と考えられる。

以上の推測を確認するために、今後分離菌株を用いてそれぞれの宿主に接種試験を行う予定である。

## 謝 辞

有害線虫類の同定は農林水産省農業環境技術研究所の水久保隆之氏にお願いした。厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 日本植物病理学会：“日本有用植物病名目録”，第1巻，第3版，pp. 492，東京 (1990)
- 2) 岸 國平編：“作物病害事典”，pp. 943，全国農村教育協会，東京 (1988)
- 3) 李 銀鍾ら：“原色薬用作物病害図鑑”，pp. 210，大韓民国農業技術研究所，水原 (1991)
- 4) 塚本永治，日野隆之：日植病報，**21**，181 (1956)
- 5) von Arx, J. A.: “The Genera of Fungi sporulating in Pure Culture”，pp. 424 J. Cramer, Hirschburg (1974)
- 6) Sutton, B. C. and Gibson, I. A. S.: *Descr. Path. Fungi and Bact.* No. 535 (1977)
- 7) Barnett, H. L. and Hunter, B. B.: “Illustrated Genera of Imperfect Fungi”，pp. 218, Macmillan Pub. Co., London (1987)
- 8) Udagawa, S.: *Trans. mycol. Soc. Japan*, **4**, 121 (1963)
- 9) Ellis, M. B.: “Dematiaceous Hyphomycetes”，pp. 608, CMI, Kew (1971)
- 10) Farr, D. F. et al.: “Fungi on Plants and Plant Products in the United States”，pp. 1252, APS



- Press, St. Paul (1989)
- 11) 飯田 修, 佐竹元吉, 一戸正勝, 箕浦修介, 岡田  
稔, 三橋 博: ミシマサイコの炭疽病に関する

研究, 第1報発生状況について, 日本生薬学  
会第34回年会, 58 (1987)

## 向精神剤の同定に関する研究 (第8報)

興奮剤 Amfepramone, Cathinone, *N*-Ethylamphetamine, Fenethylline, Fenproporex および Mefenorex 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. VIII.  
Preparation and Various Analytical Data of Reference Standard of  
Some Stimulants, Amfepramone, Cathinone, *N*-Ethylamphetamine,  
Fenethylline, Fenproporex and Mefenorex.

Mochihiko Shimamine, Kazunori Takahashi and Yuji Nakahara

The Reference Standards for amfepramone, cathinone, *N*-ethylamphetamine, fenethylline, fenproporex and mefenorex were prepared. Their purities determined by HPLC were more than 99.5%. For the identification and determination of these six drugs, their analytical data were measured and discussed by TLC, UV, IR, HPLC, GC/MS and NMR.

**Keywords** : reference standard, stimulant, anorexic

(Received May 31, 1992)

## はじめに

平成2年8月麻薬取締法を改正し、新たな麻薬35種および向精神薬73種の規制を大幅に取り入れた麻薬および向精神薬取締法を施行した。

著者らは、行政の要請を受けて、麻薬に指定された向精神薬の標準品の製造、分析法の整備、尿中代謝物の検出法の研究等を行っている。前報では3種のメチレンジオキシアンフェタミン系の幻覚剤について報告<sup>1)</sup>したが、今回は、わが国で麻薬および向精神薬取締法で規制されている興奮剤の中で、欧米で主に食欲減退剤として使用されている6種の興奮剤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。

## 薬物の来歴

## 1. Amfepramone (Diethylpropione)

Diethylpropioneはcathinoneの*N,N*-ジエチル誘導体の構造をもち、アンフェタミンと同様の作用を有す中枢興奮剤である。このものは、商品名Amfepramoneといい、肥満の治療薬(diet pill)として、1日最大75mg経口で用いられる。慢性使

用すれば、アンフェタミン精神病をもたらす。耐性は急速に現われ、長期使用すれば、精神的依存を生じる。

## 2. Cathinone

Cathinoneは天然のカート葉(*Catha edulis*)に含まれるアルカロイドであり、化学合成によっても得ることができる。カチノンは中西部アフリカに生育するカート葉に含まれ、原住民はカート葉をかんで(chewing)乱用する。覚せい剤に構造が類似しているとともに、薬理作用も類似しており、覚醒、興奮作用があり、空腹、疲労を忘れる。

3. *N*-Ethylamphetamine

*N*-Ethylamphetamineは食欲減退剤としてわずかにベルギー、香港、スイスなどで用いられているが、それほどポピュラーな薬物ではない。密売市場でもメタンフェタミンの代替品として売られることがある。覚醒、興奮作用はメタンフェタミンと大差はない。

## 4. Fenethylline (Captagon)

Fenethyllineは興奮剤としてドイツなど広く欧州でCaptagonの商品名で用いられている。体内で代謝されアンフェタミンが生成するため、連用すると

依存が生じ、乱用されるようになる。副作用としては心悸亢進、めまいがみられ、1日1g(常用量の10倍)を使用すると精神異常状態が現われた例もある。

### 5. Fenproporex

Fenproporexは食欲減退剤として1972年にスイスで開発された薬物である。フェネチリンと同様に体内で代謝されアンフェタミンが生成するため、連用すると依存が生じる。現在は欧州各国の他ブラジル、チリなど南米で用いられている。

### 6. Mefenorex

Mefenorexは肥満の治療薬として開発された交感神経興奮剤である。食欲減退効果としてアンフェタミンの10分の1以下の作用活性を持ち、急性毒性は弱いが、連用すると、口渇き、頭痛、発汗、吐き気などをもよぼす。ラロッシュ社からPondinilの商品名で販売されており、欧州、メキシコで用いられている。

## 実験の部

### 1. 標準品の製造

Amfepramoneは、Hydeらの方法<sup>2)</sup>で、2-bromopropiophenone(Aldrich)とdiethylamineの反応により合成した。純度はHPLC-UV(254nm)で99.8%以上である。

Cathinoneは、Berrangらの方法<sup>3)</sup>で、塩酸*dl*-phenylpropanolamine(和光純薬)をformyl化後、酸化と加水分解をへて合成した。純度はHPLC-UV(254nm)で99.8%以上である。

*N*-EthylamphetamineはEvdokimoffの方法<sup>4)</sup>で、benzyl magnesium chlorideと*N*-ethyl-methylamineから合成した。純度はHPLC-UV(254nm)で99.5%以上である。

Fenethylamineは、Kohlstaedtらの方法<sup>5)</sup>で、7-(2-chloroethyl)theophylline(Aldrich)とamphetamineから合成した。純度はHPLC-UV(254nm)で99.8%以上である。

Fenproporexは、Kohlstaedtらの方法<sup>5)</sup>で、3-chloropropionitrileとamphetamineから合成した。純度はHPLC-UV(254nm)で99.8%以上である。

Mefenorexは、Beschkeらの方法<sup>6)</sup>で、3-chloro-1-propanolとamphetamineから合成した。純度はHPLC-UV(254nm)で99.8%以上である。

以下、これらのものを標準品として用いた。

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 1040 M

ダイオードアレイ検出システム

GC/MS: 横河 HP 5890 A (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 F<sub>254</sub>, メルク社製)に約10μl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<sub>4</sub>OH=100:1.5

ii) CHCl<sub>3</sub>: methanol: conc. NH<sub>4</sub>OH  
=27:3:0.1

iii) CHCl<sub>3</sub>: acetone: methanol: conc.  
NH<sub>4</sub>OH=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

各試料のメタノール溶液を適宜希釈して用いた。

### 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2μlをクロマトグラフに注入した。カラムはInertsil ODS(5μ, 150×4.6mm), 移動相はA液: 1/10M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: methanol: CH<sub>3</sub>CN=85:7.5:7.5, B液: CH<sub>3</sub>CNを用い、0~9minはA液100%, 9~15minはB液を0→40%のグラジエント, 15min以後はA:B=60:40とし、流速は1ml/min, カラム温度は40°C, 検出波長は210nm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1μlをクロマトグラフに注入した。

#### (1) 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0.2mlを加え、55°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のち、

酢酸エチル0.1 mlに溶解し、試料溶液とする。

## (2) 測定条件

測定条件を下に示す。

カラム：10 m×0.25 mm i.d. 100% dimethyl-siloxane capillary column (OV-1 bonded, ガスクロ工業製)

注入：Splitless, 150°C

測定温度：60°C (0.5 min)-20°C/min-250°C

キャリアガス：ヘリウム (16 Kpa)

## 3.5. 赤外吸収スペクトル

各試料約1 mg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 (塩酸塩) 約10 mgをCDCl<sub>3</sub> (1% TMSを含む) 1 mlに、塩酸cathinoneは1% TMSを含むCDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD (1:1) 1 mlに、fenethyllineはその塩酸塩が難溶なため遊離塩基として1 mlのCDCl<sub>3</sub>に溶解し、試料溶液とする。

## 試験成績

### 1. 性状および融点

Amfepramone·HClは白色結晶状粉末で、融点は177°C (lit.<sup>7)</sup> 175°C, lit.<sup>7)</sup> 168°C), cathinone·HClは白色結晶状粉末で、融点は189~190°C (lit.<sup>3)</sup> 189~190°C), *N*-ethylamphetamine·HClは白色結晶状粉末で、融点は147~148°C [(lit.<sup>7)</sup> 155~156°C (*d*-form)], fenethylline·HClは白色結晶状粉末で、融点は223~225°C (lit.<sup>5)</sup> 227~229°C), fenproporex·HClは白色結晶状粉末で、融点は150~

151°C (lit.<sup>5)</sup> 146°C), mefenorex·HClは白色結晶状粉末で、融点は129~130°C (lit.<sup>6)</sup> 128~130°C)であった。

### 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。

いずれの溶媒系でもfenproporexとmefenorexの識別は困難であったが、他の4種のものとは明らかに識別可能であった。

### 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。amfepramoneとcathinoneの吸収曲線は他の4種のものと同様に差があり、両者は似ているが、吸収極大にわずかに差があり、UVでの確認に有効である。*N*-ethylamphetamine, fenproporex, mefenorexの3種はいずれも一置換ベンゼンのスペクトルであり、それぞれは差が認められない。

### 4. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

Fig. 1のクロマトグラムが示すように、amfepramone, cathinone, *N*-ethylamphetamineの順に溶出し、20分以内に良好な分離が得られた。Table 3にそれぞれの保持時間を示す。

### 5. ガロクロマトグラフ質量分析 (GC/MS)

6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。

#### ① 遊離塩基

*N*-Ethylamphetamine, fenethylline, fenproporex および mefenorex のいずれの場合にもベース

Table 1. Thin layer chromatographic data of six drugs

Compound	<i>R<sub>f</sub></i>		
	Solvent		
	1)	2)	3)
Amfepramone	0.82	0.73	0.73
Cathinone	0.67	0.49	0.52
<i>N</i> -Ethylamphetamine	0.58	0.38	0.35
Fenethylline	0.71	0.62	0.48
Fenproporex	0.78	0.70	0.67
Mefenorex	0.76	0.67	0.66

Solvent: 1) methanol : conc. NH<sub>4</sub>OH = 100 : 1.5

2) CHCl<sub>3</sub> : methanol : conc. NH<sub>4</sub>OH = 27 : 3 : 0.1

3) CHCl<sub>3</sub> : acetone : methanol : conc. NH<sub>4</sub>OH = 15 : 12 : 3 : 0.1

Table 2. UV data of six drugs

Compound	$\lambda_{\min}^{\text{MeOH}}$		$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$	
	nm	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	nm	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$
Amfepramone	218	72	249	476
			285*	46
Cathinone	217	75	246	630
			273	55
<i>N</i> -Ethylamphetamine	228	1.5	253	7.2
			255	4.0
			262	3.5
Fenethylline	245	53	275	230
Fenproporex	229	1.1	253	6.3
			255	5.7
			262	5.2
Mefenorex	229	1.7	253	6.1
			255	5.5
			262	5.1

\* Shoulder

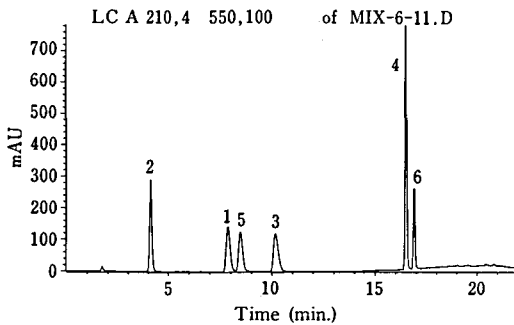


Fig. 1. HPLC chromatogram of six drugs

1. Amfepramone, 2. Cathinone,
3. *N*-Ethylamphetamine, 4. Fenethylline,
5. Fenproporex, 6. Mefenorex

Table 3. Retention times of six drugs

Compound	RT (min)
Amfepramone	7.85
Cathinone	4.10
<i>N</i> -Ethylamphetamine	10.16
Fenethylline	16.49
Fenproporex	8.46
Mefenorex	16.89

Table 4. Retention times and principal peaks of six drugs by GC/MS

	RT (min)	Base peak (m/z)	Principal peaks (relative abundance, %)
Amfepramone	base 4.86	100	205(M <sup>+</sup> , 0.1), 44(32.7), 77(19.2), 72(15.4), 42(12.8), 51(12.1)
Cathinone	base 3.79	44	149(M <sup>+</sup> , —), 51(14.0), 77(13.1), 42( 8.3), 50( 7.1), 56( 5.6)
	TFA- 4.32	105	245(M <sup>+</sup> , —), 77(58.5), 51(25.9), 69(19.5), 50( 9.8), 106( 7.8)
<i>N</i> -Ethylamphetamine	base 3.03	72	163(M <sup>+</sup> , 0.1), 44(43.9), 91(15.1), 42( 7.8), 65( 7.4), 73( 5.0)
	TFA- 4.45	168	259(M <sup>+</sup> , —), 140(41.9), 91(29.1), 118(25.3), 69(14.0), 70(12.2)
Fenethylline	base 10.90	250	341(M <sup>+</sup> , 0.4), 207(34.1), 70(16.0), 91(15.3), 251(14.5), 42( 6.7)
	TFA- 11.05	346	437(M <sup>+</sup> , 26.4), 91(86.2), 319(79.7), 166(63.8), 289(32.3), 118(31.5)
Fenproporex	base 8.61	97	188(M <sup>+</sup> , —), 56(59.0), 91(16.5), 68( 9.5), 65( 7.9), 42( 6.4)
	TFA- 9.34	193	284(M <sup>+</sup> , —), 56(84.1), 140(67.3), 118(57.7), 91(49.7), 54(40.4)
Mefenorex	base 5.07	120	211(M <sup>+</sup> , —), 44(34.1), 122(33.2), 41(19.6), 91(18.4), 121( 7.1)
	TFA- 5.96	216	307(M <sup>+</sup> , —), 41(49.6), 140(53.1), 91(47.4), 118(36.2), 218(31.8)

ピークイオンは  $M^+ - 91$  で、 $\beta$  解裂により生成した  $[\text{CH}_3\text{CH}=\text{NR}_2]^+$  である。amfepramone, *N*-ethylamphetamine および fenproporex は  $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ ,  $\text{NH}=\text{CHCH}_2\text{CN}$  のイオンがそれぞれ認められた。

## ② TFA 誘導体

TFA 誘導体のマススペクトル (EI) を Fig. 2 に示す。解裂経路は主に二経路である。まず  $\beta$  解裂によりアミン部分 (amfepramone:  $m/z$  100, cathinone:  $m/z$  44, *N*-ethylamphetamine:  $m/z$  72, fenethylline:  $m/z$  250, fenproporex:  $m/z$  97, mefenorex:  $m/z$  120) とベンジル部分とに解裂する経路, 他の経路は  $M^+$  から  $\text{CF}_3\text{CONHR}$  の脱離によりスチレン様イオン (*N*-ethylamphetamine, fenethylline, fenproporex, mefenorex:  $m/z$  118) とするルートである。これらの解裂様式を基に類縁物質の確認, 同定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)

6種の化合物のKBr錠による赤外吸収スペクトルを Fig. 3 に示す。相互の異同識別に用いることができる。

## 7. 核磁気共鳴スペクトル (NMR)

6種の化合物のプロトンケミカルシフト ( $\delta$ ppm) の帰属を Table 5 に示す。重クロロホルムに難溶性の塩酸 Fenethylline を除き塩酸塩で測定した。Amfepramone および cathinone の NMR は他のものとは明確な違いが見られる。それらの C-2 プロトンは C-1 のカルボニルの影響で他のものより約 2 ppm 低磁場にシフトしている。また、ベンゼンプロトンはそれぞれが非等価であるため, ortho, meta, para のすべてが分離した。一方, 他の4種のは 7.3 付近にベンゼンプロトンが見られ, ベンジルプロトン (2H) がそれぞれ分離し, NH が 9~10 ppm に見られた。

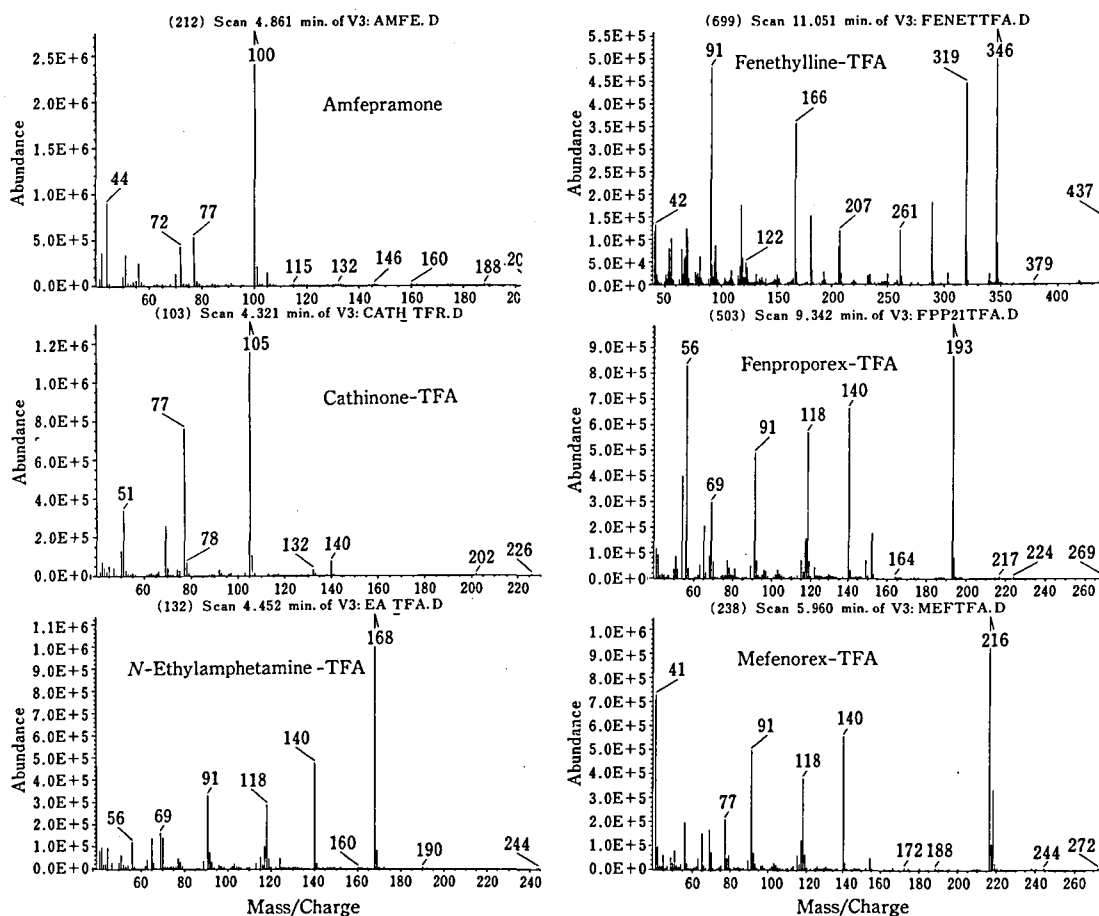


Fig. 2. Mass spectra of six drugs

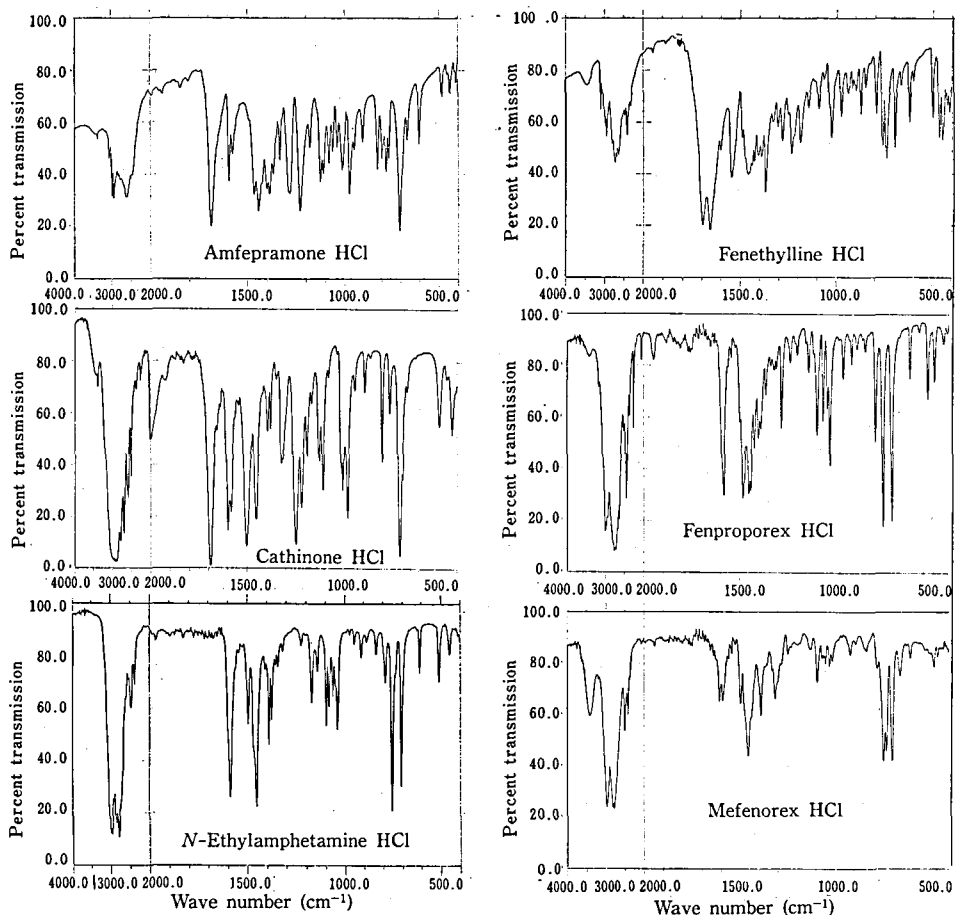


Fig. 3. IR spectra of six drugs

## 結 論

本資料は麻薬および向精神薬取締法で規制されている Amfepramone, Cathinone, *N*-Ethylamphetamine, Fenethylamine, Fenproporex および Mefenorex の標準品の製造に基づき, 6 種の化合物の各種分析データを整理した。さらに, 鑑定の際の参考資料として利用し易いように, 相互の識別のためにデータの解析を行った。

## 文 献

- 1) 島峯望彦, 高橋一徳, 中原雄二: 向精神剤の同定に関する研究 (第7報) 幻覚剤 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) および 5-Methoxy-3,4-methylenedioxyamphetamine (MMDA) の標準品製造と各種分析データ, 衛生試験報, 108, 118~125 (1990)
- 2) Hyde, J. F., Browing, E., Adams, R.: Synthetic Homologs of *d, l*-Ephedrine. *J. Am. Chem. Soc.*, 22, 2287~2292 (1928)
- 3) Berrang, B. D., Lewin, A. H., Carroll, F. I.: Enantiomeric  $\alpha$ -Aminopropiophenone (Cathinone): Preparation and Investigation. *J. Org. Chem.*, 47, 2643~2647 (1982)
- 4) Evdokimoff, V.: Reactions of organomagnesium compounds with aliphatic azomethines and with hexamethylenetetramine. I. *Chem. Abst.*, 42, 2586 (1948) *Gazz. chim. ital.*, 77, 318~326 (1947)
- 5) Kohlstaedt, E., Klingler, K. H.: Basically substituted alkylxanthine derivatives. *Chem. Abst.*, 57, 5933 (1966) *Ger.* 1, 123, 329
- 6) Beschke, H., Klingler, K. H., Schlichtegroll, A. V., Schuler, W. A.: Haloalkyl amines. *Chem. Abst.*, 64, 19486 (1966) *Ger.* 1, 210, 873
- 7) "Clarke's Isolation and Identification of

Table 5. Proton magnetic resonance of six drugs

Drugs	Solvent	X	chemical shift (ppm)						aromatic	NH
			C-1	C-2	C-3	C-1'	C-2'	C-3'		
Amfepramone HCl	A	—	—	5.26	1.86	3.19	1.47	—	ortho ; 7.55 para ; 7.70 meta ; 7.95	—
Cathinone HCl	B	—	—	5.05	1.57	—	—	—	ortho ; 7.61 para ; 7.69 meta ; 8.02	3.32 4.70
N-Ethylamphetamine HCl	A	—	2.88 3.36	3.59	1.40	3.10	1.58	—	7.27	9.72
Fenethylamine (base)	A	theophylline	2.60	2.87	1.03	3.01	4.29	—	7.18 7.45(purineH)	3.40(NCH <sub>3</sub> ) 3.59(NCH <sub>3</sub> )
Fenproporex HCl	A	CN	2.88 3.35	3.35	1.39	3.50	3.29	—	7.30	10.05
Mefenorex HCl	A	Cl	2.89 3.40	3.57	1.39	3.17	2.51	3.70	7.29	9.84

A ; CDCl<sub>3</sub>, B ; CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD (1 : 1)*Drugs*, 2nd Ed., The Pharmaceutical Press, London (1989)8) "*Merck Index*", 11th Ed., Merck & Co., Inc., Rahway, USA (1989)

アセトニトリルの環境保健クライテリアの作成：ドラフト完成までの道のり

森本和滋・斎藤牧江・逸見雅貴子  
山本美智子・神沼二真Preparation of the First Draft of Environmental Health Criteria  
for Acetonitrile: Production Process of the DraftKazushige Morimoto, Makie Saitoh, Akiko Hemmi,  
Michiko Yamamoto and Tsuguchika Kaminuma

Acetonitrile is a high-polarity aprotic organic solvent used in DNA synthesizers, HPLC, and electrochemistry. In addition, it is used larger amounts at petrochemical companies and pharmaceutical firms.

Preparation of an Environmental Health Criteria (EHC) monograph for acetonitrile was started in 1986, and its first draft except the environmental section was completed on June 21, 1991. The environmental section has been prepared by Dr. S. Dobson (ITE/UK). The first draft was circulated to EHC Contact Points for comment in March 1992.

Key words : acetonitrile, Environmental Health Criteria, draft preparation

(Received May 31, 1992)



## 1. はじめに

IPCSの活動の中で最も歴史があり重視されているのが環境保健クライテリア (Environmental Health Criteria, EHC) の刊行である<sup>1)</sup>。1976年から現在までに129冊が出版されている。

アセトニトリルは極性が高く、水にも有機溶媒にもよく混合するすぐれた中性溶剤であり、各種の溶剤、有機合成原料、石油化学工業における抽出などに使われている<sup>2)</sup> (Table 1)。また、最近バイオテクノロジーの分野での需要も高く、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) やDNA合成、電気化学などの分野での使用も急激に増大し、研究室におけるアセトニトリルの不足が問題となっているほどである<sup>3)</sup>。

この化合物は女性のマニキュア除去剤 (Nail Remover) としても使用されており、小児がもてあそぶうちに死亡した例<sup>4)</sup>や、自殺の手段として用いられた例も報告されている<sup>5,6)</sup>。アセトニトリルは酸化されcyanohydrinを経由してシアンが生成することにより毒性が発現する<sup>7,8)</sup>。このように使用頻度が高く、毒性が認められる<sup>2)</sup>化合物のEHCを作成することは、ヒトへの健康、労働衛生や産業医学、さらには環境影響の面からも重要である。

本報告は、1990年報告者の一人 (森本) がアセトニトリルのEHCドラフトの作成作業を引き継いで以後の完成までの経過を文献up-datingを中心

に、さらに今後のEHC作成の作業過程の参考資料とすべく、EHC作成の過程における国際協力の実際やモノグラフ作成上の様々な問題点などについてまとめたものである。

## 2. プレリミナリードラフトの作成

1986年 (当時化学物質情報部第一室長であった) 中館室長が中心になってEHC作成が開始された。まず、文献調査ならびに執筆者の選定が行われ、橋本和夫博士 (金沢大学医学部) および山内文雄博士 (三菱化成安全科学研究所) に執筆を依頼した (Table 2)。原稿は翌年にはかなり集まったが、諸々の障害が発生して作業の継続が困難となり、以後3年ほどは進行がストップした状態にあった。1990年1月報告者の一人 (森本) が資料を引き継ぎドラフトの内容について検討したところ、以下のことが問題点として明らかとなった。

### (1) 課題として残されている項目

#### a. 原稿をこれから作成する必要のある章

- 7章 Effects on organisms in the environment
- 10章 Evaluation of human health risks and effects on the environment
- 11章 Previous evaluation by international bodies

#### b. 原稿の重複している箇所の編集

二人の執筆者によって作成された2, 3, 4, 5章の編集。

Table 1. Main use patterns of acetonitrile

Extraction of fatty acids, animal and vegetable oils, fish liver oils
Extraction of unsaturated petroleum hydrocarbons
Solvent for polymer spinning and casting
Moulding of plastics
Removal of tars, phenols and colouring matter from petroleum hydrocarbons
Purification of wool resin
Recrystallization of steroids
Starting material for synthesis of chemicals
DNA synthesizer and sequencer
Physicochemical investigation
Medium for promoting reactions
Solvent in non-aqueous titrations
Non-aqueous solvent for inorganic salts
High pressure liquid chromatographic analysis
Catalyst and component of transition-metal complex catalysts
Extraction and refining of copper and by-product ammonium sulphate
Stabilizer for chlorinated solvents
Perfume manufacture
Pharmaceutical solvents

Table 2. A list of contributors of EHC on Acetonitrile

## 1) Responsible Scientist

Dr. M. Nakadate(NIHS, Tokyo, from March 1987 to Sep. 1989)  
 Dr. K. Morimoto(NIHS, Tokyo, from Oct. 1989 to the present)

## 2) Preparation of the draft

Professor K. Hashimoto(School of Medicine, Kanazawa Univ.)  
 : Chapter 1,2,3,4,5,6,8,9, and 10.  
 Dr. F. Yamauchi(Mitsubishi-Kasei Institute of Toxicological  
 and Environmental Sciences)  
 : Chapter 2,3,4,5.  
 Dr. K. Morimoto(NIHS)  
 : Chapter 2,3,4,5,6,8,11.

## 3) Review of the document

Prof. K. Hashimoto(Kanazawa Univ.) : All chapters.  
 Dr. A. Takanaka(NIHS) : Chapter 8(Teratogenicity).  
 Dr. A. Nakamura(NIHS) : Chapter 2.  
 Dr. T. Sofuni(NIHS) : Chapter 8(Genotoxicity).  
 Dr. J. Sekizawa(NIHS) : Chapter 4.  
 Dr. K. Morimoto(NIHS) : All chapters.

## 4) Typing and other secretarial assistance

Ms. M. Saitoh(NIHS).  
 Ms. A. Hemmi(NIHS).  
 Ms. M. Yamamoto(NIHS).

## c. 毒性部門の記述の編集

## d. 未収集文献の調査と収集

## e. 1987年からの up-dating

## (2) 得られた方策

a. 7章についてはわが国において環境部門の執筆者を見出すことが困難なため、IPCS本部のマネージャー M. Mercier 博士に相談した(1990年9月)結果、先に陰イオン界面活性剤の執筆を依頼した<sup>9)</sup>英国の Institute of Terrestrial Ecology の S. Dobson 博士が執筆を引き受けてくれることになった(1991年1月)。

10章については橋本教授を金沢に訪問し(1990年8月)、執筆の依頼をしたところ了承を得、同年11月作成原稿を受領した。

b. 2章 Identity, physical and chemical properties, analytical method は2名の原稿の記述より必要な文章を選び、執筆規定<sup>10)</sup>に従って編集し直した。

3章 Sources and human and environmental exposure も2章と同様の作業を行った。

4章 Environmental transport, distribution and transformation は一部文章の位置の変更と挿入作業を行った。

5章 Environmental levels and human exposure も2章と同様の作業を行った。

c. 8章 Effects on experimental animals and in vitro test system を執筆規定に従って小項目に分けた。また、10章にあった Structure-toxicity relationships は本章に移動した。

d. 引用文献145件のうち68件が未収集であった。そのうちの31件の文献は収集できたが、残りの文献については国内での入手が困難なため執筆者に存在の有無を問い合わせた。

## e. 1987年～1990年3月の文献検索の結果

Medline	71件
Chemical Abstracts	59件

## Toxline 70件

がニトリル関連の文献であったが、オフラインプリントにより書誌事項を検討したところ、ほとんどはアセトニトリルではなく、また内容的には生化学実験の試薬の一つとして使われているものが多かった。

新たに追加した文献としては、Super Nail Off (<98%アセトニトリル)を15~30 ml 摂取して死亡した生後16カ月の子供の例<sup>9)</sup>、遺伝毒性が陰性と考えられていたアセトニトリルが弱いながらマウスの小核試験で陽性を示した Schlegelmilch らの報告<sup>11)</sup>、アセトニトリルからシアンへの酸化的代謝に関するラット分離肝細胞<sup>8)</sup>、ラットミクロソーム<sup>12)</sup>、精製シトクロム P-450 IIE1<sup>13)</sup>、およびラット鼻腔組織<sup>14)</sup>を用いた報告であり、以上6件をモノグラフに必要な文献として追加した。

## 3. 原案検討委員会

1990年3月7日プレリミナリードラフトを完成し、この検討を専門分野 (Table 2) にしたがって各委員に依頼した。本委員会は4月15日国立衛生試験所で行われた。その会議で得られた提案については議事録に記した<sup>15)</sup>。

## 4. 第1次ドラフトの完成と IPCS 担当者との協議

1991年6月21日第1次ドラフトが完成し IPCS 本部に送付した。協力者のリストは Table 2 に示した (但し、山本については送付以降の協力)。

8月下旬には171件の引用文献を IPCS 本部に送付した。

1991年9月16~17日 IPCS 本部の担当者 B. Chen 博士および P. G. Jenkins 博士とドラフトの内容について協議したところ、内容・英文ともにこれでよいと承認された。また、英国の S. Dobson 博士からも7章の原稿が到着しており、第1次ドラフトとしてはほぼ完成していた。なお、内容については担当者と37ヶ所について原著論文と対照しながらその内容を再確認した。代表的なものは以下に示した。

## (1) Table の一部修正

Table 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26 についてオリジナルペーパーを見ながら当地で作業が終了。

## (2) Evaluation human health risks and effects on the environment の再編集

本件については帰国後橋本教授と協議の上再編集を行った。

## (3) IPCS が行った Medline を用いた検索 (1991. 1~9) より、追加を必要とする文献の選択

新たに追加する文献として6件を選んだ。そのうち、Osgood らの報告<sup>16~18)</sup>は、50000 ppm と高濃度ではあるがアセトニトリルを *Drosophila* に曝露すると aneuploidy が誘発されたという遺伝毒性陽性の結果であり、先の小核試験陽性の報告<sup>11)</sup>と合わせて重要と思われる。また、アセトニトリル摂取事故の報告として、Super Nail Off 56 ml を摂取して自殺を図った39歳の婦人の血中シアン、チオシアン濃度の経時追跡<sup>9)</sup>、3歳の子供の Nail Remover 摂取事故<sup>19)</sup>、2歳の子供の Glue Remover 摂取事故<sup>20)</sup>を重要な文献と判断して追加文章を IPCS 本部に10月11日送付した。

## 5. 各国供覧

第1次ドラフトの完成後、各国供覧が IPCS のフォーカルポイントを通じて行われるが<sup>21)</sup>、本化合物のドラフトは1992年3月5日に7月30日を締切として世界各国に配布された<sup>22)</sup>。

## 6. タスクグループ会議

IPCS ワークプランによると11月23~27日に会議が予定され、1993年後半には発刊が予定されている<sup>23)</sup>。

## 7. おわりに

本ドラフトの完成には7年間にわたる作成作業を通じて終始中心になって協力を惜しまれなかった橋本和夫教授の熱意と励ましに負うところが大きかった。また、山内文雄博士にも多忙の折りにもかかわらず原案作成においてお骨折りを頂いた。誌上を借りて両先生の御尽力に感謝の意を表します。

3年間の本ドラフト作成作業を通じて、陰イオン界面活性剤の作成において感じたこと<sup>9)</sup>と重複することであるが、原稿の依頼日および受領日の記録、原稿が受領日までに入手出来ない場合のそれ以後の対応の記録、IPCS との交信記録、委員会資料のファイリング等作業自体の記録を残すことの必要を改めて痛感した。

## 文 献

- 1) 森本和滋: WHO: 国際化学物質安全性計画 IPCS. 水質汚濁研究, 14, 426~431 (1991)
- 2) 橋本和夫: アセトニトリルの毒性. 産業医学,

- 33, 463~474 (1991)
- 3) Borman, S.: Acetonitrile shortage hurts research laboratories. *Chem. Eng. News*, March 26, 15 (1990)
  - 4) Caravati, D. and Litovitz, T.: Pediatric cyanide intoxication and death from an acetonitrile-containing cosmetic. *J. Am. Med. Assoc.*, **260**, 3470~3473 (1988)
  - 5) Jaeger, A., Tempe, J. D., Porte, A., Stoeckel, L. and Mantz, J. M.: Acute voluntary intoxication by acetonitrile. Abstracted. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **41** (Supple II), 340 (1977)
  - 6) Turchen, S. G., Cspi, B. R., Manoguerra, A. S., Abat, P. and Whitney C.: Severecyanide poisoning from the injection of an acetonitrile-containing cosmetic. *Am. J. Emerg. Med.*, **9**, 264~267 (1991)
  - 7) Silver, E. H., Kuttub, S. H., Hasan, T. and Hassan, M.: Structural considerations in the metabolism of nitriles to cyanide *in vivo*. *Drug Metab. Dispos.*, **10**, 495 ~498 (1982)
  - 8) Freeman, J. and Hayes, E. P.: The metabolism of acetonitrile to cyanide by isolated rat hepatocytes. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **8**, 263~271 (1987)
  - 9) 森本和滋, 加納直子, 神沼二眞: 陰イオン界面活性剤を対象とした環境保健クライテリアの作成. 衛生試報, **109**, 83~87 (1991)
  - 10) IPCS: "Revised Guidelines for the Preparation of Environmental Health Criteria Monographs", WHO, Geneva (1990)
  - 11) Schlegelmilch, R., Krug, A. and Wolf, H. U.: Mutagenic activity of acetonitrile and fumaronitrile in three short term assays with special reference to autoinduction. *J. Appl. Toxicol.*, **8**, 201~209 (1988)
  - 12) Freeman, J. J. and Hayes, E. P.: Microsomal metabolism of acetonitrile to cyanide. Effects of acetone on and other compounds. *Biochem. Pharmacol.*, **37**, 1153~1159 (1988)
  - 13) Feerman, D. E. and Cederbaum, A. I.: Role of cytochrome P-450 IIE1 and catalase in the oxidation of acetonitrile to cyanide. *Chem. Res. Toxicol.*, **2**, 359~366 (1989)
  - 14) Dahl, A. R. and Waruszewski, B. A.: Metabolism of organonitriles to cyanide by rat nasal tissue enzymes. *Xenobiotica*, **19**, 1201~1205 (1989)
  - 15) 森本和滋: "アセトニトリルのEHCの原案検討委員会議事録", pp. 2, 化学物質情報部 (1991)
  - 16) Osgood, C., Zimmering, S. and Mason, J. M.: Aneuploidy in *Drosophila*, II. Further validation of the FIX and ZESTE genetic test systems employing female *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, **259**, 147~163 (1991)
  - 17) Sehgal, A., Osgood, C. and Zimmering, S.: Aneuploidy in *Drosophila*, III. Aneuploidogens inhibit *in vitro* assembly of taxol-purified *Drosophila* microtubules. *Environ. Mol. Mutagen.*, **16**, 217~224 (1990)
  - 18) Osgood, C., Bloomfield, M. and Zimmering, S.: Aneuploidy in *Drosophila*, IV. Inhalation studies on the induction of aneuploidy by nitriles. *Mutation Res.*, **259**, 165~176 (1991)
  - 19) Geller, R. J., Ekins, B. R. and Iknioian R. C.: Cyanide toxicity from acetonitrile-containing false nail remover. *Am. J. Emerg. Med.*, **9**, 268~270 (1991)
  - 20) Kurt, T. L., Day, L. C., Reed, W. G. and Gandy, W.: Cyanide poisoning from glue-on nail remover. *Am. J. Emerg. Med.*, **9**, 271~272 (1991)
  - 21) 森本和滋, 逸見雅貴子, 神沼二眞: EHCの第1次ドラフトへのコメント提供業務に関する若干の改善. 衛生試報, **109**, 88~92 (1991)
  - 22) IPCS: "EHC for acetonitrile 1st draft", pp. 1~129 (1992)
  - 23) IPCS: "Workplan of the central unit of IPCS for the period 1992-1993" (1992)

## 輸入鶏肉中の残留ナイカルバジンの分析

村山三徳・桜井裕之\*・多田善彦\*・内山貞夫・斎藤行生

## Determination of Nicarbazin in Imported Chicken

Mitsunori Murayama, Hiroyuki Sakurai\*, Yoshihiko Tada\*  
Sadao Uchiyama and Yukio Saito

The confirmation and quantitative analysis of nicarbazin (NCZ) in imported chickens were made by high performance liquid chromatography equipped with a photodiode array detector. The results showed that 1 out of 7 chicken samples contained over 30 ng/g of NCZ. The concentrations of NCZ varied from 10 to 120 ng/g according to the parts of the NCZ positive chicken samples.

**Keywords :** chicken, nicarbazin, high performance liquid chromatography, photodiode array detector  
(Received May 31, 1992)

## 緒 言

ナイカルバジン (NCZ) は家禽類に用いられる抗原虫剤で、残留性が高いため、国内における使用は減少しているが、輸入品からまれに検出されることがある。NCZが検出された輸入鶏肉のうち、検出値が常法<sup>1,2)</sup>において規定された定量下限 (30 ng/g) 前後の検体について再検査を行った結果を報告する。

## 実 験 方 法

## 1. 試 料

平成3年に輸入された鶏肉のうち、残留NCZ量が30 ng/g前後であった7検体。

骨付き腿肉 Lot 1~3  
骨付き手羽肉 Lot 4, 5  
ブロック肉 Lot 6, 7

## 2. 試 薬

NCZ: 大日本製薬(株)製, 98%以上

アセトニトリル: 和光純薬工業(株)製, 液体クロマトグラフ用

他は試薬特級を用いた。

## 3. 装 置

高速ホモジナイザー: Biotron 製, Biotron

高速液体クロマトグラフ: 東ソー(株)製, コントロ

ーラー SC-8010, ポンプCCPM, UV検出器 UV-8010; 大塚電子(株)製, 多波長検出器 MCPD-3600; (株)日立製作所製, オートサンプラー 655A-40

## 4. 方 法

合成抗菌剤の一斉分析法 (一斉法)<sup>1,3)</sup> およびナイカルバジンのみを目的とした個別分析法 (個別法)<sup>2)</sup> に従った。

## 結果および考察

鶏肉中NCZの定量結果をTable 1に示した。一斉法では2回、個別法では3回繰り返し分析を行い、

Table 1. Concentrations of nicarbazin in imported chicken

Sample Lot No.	Nicarbazin (ng/g)	
	Method A <sup>a)</sup>	Method B <sup>b)</sup>
1	trace <sup>c)</sup>	trace <sup>c)</sup>
2	trace	trace
3	N.D. <sup>d)</sup>	N.D. <sup>d)</sup>
4	trace	trace
5	63	trace
6	N.D.	N.D.
7	trace	30

a) Simultaneous determination method<sup>1,3)</sup>.

b) Individual determination method<sup>2)</sup>.

c) 3-30 ng/g.

d) Less than 3 ng/g.

\* 横浜検疫所輸入食品検疫検査センター

平均値を求めた。データの変動はいずれも±5%以内であった。同時に添加回収実験 (10, 30 ng/g 添加) を行ったが、その結果は、一斉法では回収率 60~71%, 個別法では回収率 81~86% であった。一斉法のデータは常法に従い回収率により補正した。Lot 5, 7 以外は両方法ともに同様の結果が得られた。また、多波長検出器による UV スペクトル測定の結果、試料中から検出された化合物の吸収スペクトルが NCZ 標準品と一致することが確認された。

Lot 5 は骨付き手羽肉で、骨を除いた可食部が 1 検体につき 7~10 g の試料であり、5 検体分の肉を約 0.5 cm 角に切り、よく混合したのち、検査に供した。Lot 7 は脂質層と筋肉層とが明確に分かれたブロック肉であり、3 ブロックが同一 Lot として送付されてきたので、それぞれの脂肪層、筋肉層を均等に採り、約 0.5 cm 角に切り、よく混合したのち、検査に供した。しかしながら、分析結果に差がある原因として、Lot 5 では個体差、Lot 7 では個体差に加えて組織により NCZ 残留量に差があるのではないかと考え、Lot 5 は手羽肉 1 検体ごとに、Lot 7 は 3 ブロックをそれぞれ脂肪層、筋肉層に分けて一斉法により分析を行った。Lot 5 は 7 検体を分析した結果、10, 25, 27, 28, 91, 112, 120 ng/g であり、平均値 59 ng/g、相対標準偏差 80% と個体差が大きいことがわかった。また、Lot 7 は検体数が少ないので明確な判定は下せないが、Table 2 に示したように、脂肪、筋肉間での差は認められず、Lot 5 と同様に個体差が大きいことがわかった。

今回検査した鶏肉のうち、平均して 30 ng/g を越える NCZ が確認されたのは Lot 5 の 1 検体のみであった。しかしながら、常法<sup>1,2)</sup> に規定された定量

Table 2. Variation of residual Nicarbazin in the same lot sample

Sample Lot No.	Nicarbazin (ng/g)	
	Muscle	Fat
7-1	9	13
7-2	35	46
7-3	40	23
Mean	28	27
RSD(%) <sup>a)</sup>	61	63

a) Relative standard deviation.

下限以下と判定された検体でも、試料採取部位によっては 30 ng/g 以上の NCZ を含むことがあるので、試料採取の際には可能なかぎり多くの部位より採取し、完全に均一化したのちに分析する必要がある。また、検体中の有害物質の濃度分布に大きな偏りがある系において、すべてを平均化して安全性を評価することは適切ではない場合があると考えられるので、毒性学的な研究を含めて今後さらに検討を加えるべきであろう。

## 文 献

- 1) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課：合成抗菌剤の一斉分析法，衛乳 105 号平成 2 年 12 月 21 日 (1990)
- 2) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課編：“畜水産食品中の残留物質検査法”，pp. 165~168，中央法規出版 (1990)
- 3) 村山三徳，内山貞夫，齋藤行生：段階溶出高速液体クロマトグラフィーによる畜水産物中の残留合成抗菌剤の迅速一斉分析法，食衛誌，32，155~160 (1991)

## 生分解性プラスチックの衛生指標に関する基礎的検討

石綿 肇・杉田たき子・武田明治

## Food Hygienic Indexes on Biodegradable Polymers

Hajimu Ishiwata, Takiko Sugita and Mitsuharu Takeda

Current specifications for food packaging made of polyolefine plastics were applied to biodegradable plastics. No lead and cadmium were detected in any biodegradable plastic samples with the exception of bacterial cellulose, which contained trace amounts of lead and cadmium. Potassium permanganate consumption amount was less than the current specification level for polyofines. Sugars leached from bacterial cellulose was  $22 \pm 1 \mu\text{g}$  per  $100 \text{ cm}^2$  as glucose, and amino acids leached from poly- $\gamma$ -methylglutamate films was  $8 \pm 3 \mu\text{g}$  per  $100 \text{ cm}^2$  as glutamic acid.

**Keywords :** biodegradable polymer, hygienic, index monomer

(Received May 31, 1992)

## 緒 言

プラスチック製品については、ゴミ処理の問題や環境汚染の問題がクローズアップされている。生分解性プラスチックは理論上これらの問題を解決することが可能である。既に現在では、生分解性プラスチックは工業製品の部品に留まらず、食品用品への応用も一部試行されている。既存のプラスチック製食品用品については、食品衛生法により規格基準が定められているが、生分解性プラスチックについては製品そのものが試作の域を出ず、衛生性に関する研究は端緒に着いたばかりである。

今回、生分解性プラスチックの衛生試験として現行のプラスチック規格のうち材質試験として鉛およ

びカドミウム含量を、また溶出試験として過マンガン酸カリウム消費量を測定し、現行規格値との比較を行った。さらに、一部の試料について遊離モノマーの測定を行った。

## 実 験 方 法

## 1. 試 料

今回用いた試料およびその組成を Table 1 に示した。これらの試料は食品用品に加工成形されたものではなく、試験的に作製された試験片またはシートなどである。

## 2. 試 薬

次に示す試薬を用いた。

硫酸：有害金属測定用、和光純薬

Table 1. Composition of biodegradable plastic samples

Sample	Composition	Contents(%)	Description
1) PHV/PHB	3-hydroxyvalerate	12.5	test piece
	3-hydroxybutylate	87.5	
	triacetin	(10.0)	
	boron nitride	(1.0)	
2) PCL	polycaprolactone	50.0	sheet
	calcium carbonate	50.0	
3) BC	bacterial cellulose	100.0	material flake sheet
4) PA	poly- $\gamma$ -methylglutamate	100.0	material powder film

Contents in parentheses indicate percent to the polymer blend.

塩酸：有害金属測定用，和光純薬

硝酸：有害金属測定用，和光純薬

ニンヒドリン：アミノ酸自動分析用，和光純薬

鉛標準溶液：原子吸光分析用，和光純薬

カドミウム標準溶液：原子吸光分析用，和光純薬

0.1 N 過マンガン酸カリウム溶液：容量分析用，和光純薬

その他の試薬は特級を用いた。

### 3. 試液

次に示す方法により試液を調製した。

#### 1) アンスロン試液

アンスロン 200 mg を硫酸 100 ml に溶解した。

#### 2) クエン酸緩衝液

クエン酸一水塩 21.01 mg に水を加えて 200 ml とした。これに 1 N 水酸化ナトリウム溶液約 200 ml を加えて pH 5.0 とし，水で 500 ml とした。

#### 3) ニンヒドリン試液

ニンヒドリン 2.5 g をメチルセロソルブ 50 ml に溶解し，これに 0.01 M シアン化カリウム水溶液 5 ml をメチルセロソルブで 250 ml とした液を加えた。

### 4. 器具，装置および測定条件

1) Kurabo メンブランフィルター水系 13A，ポアサイズ 0.45  $\mu$ m

2) 島津分光光度計 UV-240。

3) 島津原子吸光光度計 Model AA-630S。測定はフレイムレスで行い，波長は鉛で 283.3 nm，カドミウムで 228.8 nm，原子化は前者で 1400 $^{\circ}$ C，3秒，後者で 1100 $^{\circ}$ C，3秒。

4) Thermo-Jarrell Ash 社 ICP 発光分析装置 Model ICAP-61。測定条件は，周波数は 27.12 MHz，出力は 1.1 kw，冷却およびキャリアーガスはアルゴン。

### 5. 材質試験法

試料 2.5 g を採り，硫酸 1 ml を加え，硫酸の白煙が出なくなるまでバーナーを用いて弱火で加熱した。その後，電気炉を用いて 450 $^{\circ}$ C で加熱，灰化した。灰化終了後，残留物に塩酸 5 ml を加え，水浴上で蒸発乾固した。残留物を 0.1 N 硝酸に溶解して 10 ml とした。残留物が溶解しない場合はメンブランフィルターでろ過したのち 10 ml とした。この液を原子吸光および ICP 測定用試験溶液とした。

### 6. 溶出試験法

1) 試料の表面積を測定したのち，表面積 1 cm<sup>2</sup> あたり溶出用液が 2 ml となるように，60 $^{\circ}$ C に加温した水を加えた。60 $^{\circ}$ C で 30 分間抽出を行ったのち，

溶出液をフラスコに移した。この液を過マンガン酸カリウム消費量測定用試験溶液とした。

2) 試料 0.2 g を採取し，水 10 ml を加え，60 $^{\circ}$ C で時々かくはんしながら 30 分間加温した。その後，3,000 rpm で 10 分間遠心沈澱し，上清をメンブランフィルターでろ過して抽出液を得た。これを遊離糖および遊離アミノ酸定量用試験溶液とした。

### 7. 過マンガン酸カリウム消費量

三角フラスコに試験溶液 100 ml を採り，硫酸 (1 → 3) 5 ml を加え，さらに 0.01 N 過マンガン酸カリウム溶液 10 ml を加え，加熱して 5 分間煮沸する。次いで，加熱をやめ，直ちに 0.01 N シェウ酸ナトリウム溶液 10 ml を加えて脱色したのち，0.01 N 過マンガン酸カリウム溶液で微紅色が消えずに残るまで滴定する。別に同様な方法で空試験を行い，次式により過マンガン酸カリウム消費量を求めた<sup>1)</sup>。

過マンガン酸カリウム消費量

$$= (a-b) \times 1000 / 100 \times 0.316$$

a : 本試験の滴定量 (ml)

b : 空試験の滴定量 (ml)

### 8. 遊離糖の定量

アンスロン硫酸発色法<sup>2)</sup>によった。すなわち，試験溶液 2 ml に氷冷下でアンスロン試液 4 ml を加え，かくはんした後，沸騰水浴中で 5 分間加熱した。急冷後，626 nm で吸光度を測定し，可溶性糖質をグルコースとして算出した。

### 9. 遊離アミノ酸の定量

ニンヒドリン発色法<sup>3)</sup>によった。すなわち，試験溶液 1 ml にクエン酸緩衝液 0.5 ml，ニンヒドリン試液 1.2 ml を加え，かくはんした後，沸騰水浴中で 15 分間加熱した。急冷後，60% (V/V) エタノール 3 ml を加えた後，570 nm で吸光度を測定し，総アミノ酸をグルタミン酸として算出した。

## 実験結果

### 1. 鉛およびカドミウムの濃度

試料中の濃度を Table 2 に示す。両金属ともに一部の試料で検出限界に近い濃度で認められた他は，フィルム，原末ともに検出されなかった。なお，現行食品衛生法では，材質中の鉛およびカドミウムの濃度は 100 ppm 以下とされている。

Bacterial cellulose では，灰化終了後多量の灰分が残存した。この時，0.1 N 硝酸可溶部 (試験溶液) についての ICP による測定では，原末材質中に 1000 ppm を超える金属としてカルシウムとマグ



Table 2. Heavy metals in material and consumption of potassium permanganate in extract

Sample	Pb (ppm)	Cd (ppm)	KMnO <sub>4</sub> consumption (ppm)
PHV/PHB	nd <sup>*1</sup>	nd <sup>*2</sup>	7.4
PCL	nd	nd	3.4
BC (powder)	nd	0.026±0.002	
(sheet)	nd	nd	2.2
PA (flake)	0.05±0.10	0.007±0.009	
(film)	nd	nd	2.4

mean±S.D., n=3

\*1: less than 0.01 ppm

\*2: less than 0.001 ppm

Table 3. Migration of monomers from some biodegradable plastic products and their material compounds

Sample	Migration (mean±S.D., n=3)	
	µg/g	µg/100cm <sup>2</sup>
BC (powder)	362± 8	377± 8*
(sheet)	44± 4	22± 1
PA (flake)	144±65	59±27*
(film)	20± 8	8± 3

The monomers from BC were calculated as glucose and those from PA were calculated as glutamic acid.

\* The calculated value when equivalent weight of material is processed to 100cm<sup>2</sup> sheet or film.

ネシウムが、500 ppmを超える金属としてアルミニウムと亜鉛が、また 100 ppmを超える金属として鉄とナトリウムが検出された。従って、灰分の大部分はカルシウム、マグネシウム、アルミニウム、亜鉛などから成り立っているものと考えられる。0.1 N 硝酸不溶部について重量を測定したところ、不溶性灰分量は試料重量の 6.9±0.2%であった。

## 2. 過マンガン酸カリウム消費量

現行食品衛生法<sup>1)</sup>では、過マンガン酸カリウム消費量は、ホルムアルデヒドを製造原料とする合成樹脂製品を除き、10 ppm 以下とされている。今回試験を行った試料の過マンガン酸カリウム消費量は、2.2 ppm から 7.4 ppm の範囲であり、いずれも規格値を下まわった。

## 3. モノマーの溶出について

Bacterial cellulose からの遊離糖の溶出と poly-γ-methylglutamate からのアミノ酸の溶出について測定した。フィルムは 1g 当たりの溶出量と 100

cm<sup>2</sup> 当たりの溶出量を示した。原末では 1g 当たりの溶出量と共にフィルムにした時の 100 cm<sup>2</sup> 当たりの溶出相当量とを示した (Table 3)。

Bacterial cellulose の原末では 1g 当たり 362 µg の糖を遊離したが、フィルムでは 44 µg であった。また、poly-γ-methylglutamate では、原末では 1g 当たり 144 µg のアミノ酸を遊離したのに対し、フィルム成形品では 1g 当たり 20.0 µg であった。フィルムでは 100 cm<sup>2</sup> 当たりに換算すると、溶出モノマーは各々 22 µg, 8 µg に相当した。poly-γ-methylglutamate の抽出液のニンヒドリン発色液の吸収スペクトル極大値は、原末、フィルムともにグルタミン酸のそれに比べ、5 nm ほど短波長側にあった (Fig. 1)。なお、アンスロン反応におけるグルコースとセロビオースの吸収極大値は共に 626 nm であった。

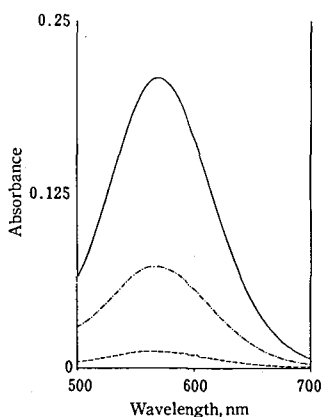


Fig. 1. Absorption spectra of the reaction mixtures of ninhydrin with glutamic acid or leachable compounds obtained from poly- $\gamma$ -methylglutamate

— : glutamic acid  
 ---- : material powder  
 - · - : film

定されている規格のうち、材質試験として鉛およびカドミウム、溶出試験として過マンガン酸カリウム消費量について調査を行った。また、成形前の原未を入手できたものについてはフィルム成形品とともにモノマーの溶出試験も併せて行った。

今回行った範囲に限ってはいずれの試料も食品衛生法の規格に適合していた。特に鉛とカドミウム濃度は痕跡程度であり、既存プラスチックと同等以上の衛生性を有していると考えられる。一方、モノマーに関しては bacterial cellulose からは遊離の糖が、また、poly- $\gamma$ -methylglutamate からはアミノ酸の溶出が認められたが、フィルム製品からの溶出量は、前者ではグルコースとして  $0.22 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、後者ではグルタミン酸として  $0.08 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  にすぎなかった。bacterial cellulose では多量の灰分を含有していたが、その主成分はマグネシウム、カルシウム、アルミニウム、亜鉛などであると考えられた。

現段階では試料そのものの入手が困難であるが、今後、さらに多くの種類の生分解性プラスチックについてモノマーや添加剤について試験を重ねる必要がある。

## 考 察

現時点では、生分解性プラスチックの定義も明確ではなく、食品用品として汎用されている製品もわずかである。今回は工業用部品に用いられる製品や試作品等入手可能な試料について、食品衛生法で規

## 文 献

- 1) 厚生省告示第20号 (1982年2月16日)
- 2) 福井作蔵：“還元糖の定量法”，p. 47, 東京大学出版会 (1969)
- 3) 日本化学会編：“実験化学講座23”，pp. 126-130, 丸善 (1964)

## プラスチック製食器に含有される鉛とカドミウムの溶出試験

細貝 猛\*・伊藤澄夫\*・多田善彦\*・桜井裕之\*  
 杉田たき子・石綿 肇・武田明治

### Migration Test of Lead and Cadmium from Plastic Wares in Contact with Food

Takeshi Hosogai\*, Sumio Ito\*, Yoshihiko Tada\*, Hiroyuki Sakurai\*  
 Takiko Sugita, Hajimu Ishiwata and Mitsuharu Takeda

Release of lead and cadmium from plastic tableware was examined. Samples were treated with 2 ml of 4% acetic acid or 0.1N HCl per  $\text{cm}^2$  of the surface area at  $60^\circ\text{C}$  or  $95^\circ\text{C}$  for 30 min. No migration of lead and cadmium from samples containing up to 391 ppm lead or 6863 ppm cadmium was observed.

**Keywords** : food contact ware, plastics, lead, cadmium

(Received May 31, 1992)

非食品用プラスチック製品には顔料や安定剤として鉛塩やカドミウム塩が添加される場合があるが、食品に使用されるプラスチック製器具・容器包装は、食品衛生法により材質中の鉛とカドミウム含量は100 ppm以下<sup>1)</sup>、溶出する重金属は硫化ナトリウム法により測定したとき、鉛として1 ppm以下と規定されている<sup>2)</sup>。そこで、現在市販されている製品中の鉛およびカドミウム含量を調査するとともに、今回入手することのできた100 ppmを超える鉛またはカドミウムを含有するプラスチック製食器からのこれらの金属の溶出の可能性について検討を行った。

## 実験方法

### 1. 試料

市販のプラスチック製食器および輸入時に食品衛生法違反品とされたもの。

### 2. 試薬および装置

鉛およびカドミウム標準溶液：原子吸光分析用1000 ppm溶液 (和光純薬)。

硫酸および硝酸：有害金属測定用 (和光純薬)、塩酸および酢酸：試薬特級 (和光純薬)。

原子吸光光度計：Shimadzu AA-630S (島津製作所)

### 3. 試料の灰化

食品衛生法による方法によった。すなわち、試料を水で洗浄したのち、その約1gを精秤した。これに少量の硫酸を加え、直火上で加熱して硫酸を蒸発させたのち、電気炉を用いて450°Cで1夜加熱した。灰化終了後、0.1 N硝酸10 mlを加え、残留物を溶解して原子吸光測定用検液とした。別に、試料1gに100 ppm鉛およびカドミウム標準用液をそれぞれ1 ml加え、試料と同様に処理して回収率をみた。

### 4. 試料からの金属の抽出

水洗した試料の表面積1 cm<sup>2</sup>当たり2 mlとなるように抽出溶液 (4%酢酸または0.1 N塩酸) を注ぎ、60°Cまたは95°Cで30分間加熱した。この液を溶出金属測定用検液とした。

### 5. 鉛およびカドミウムの定量

検液中の鉛およびカドミウムは各々283.5 nm,

Table 1. Lead and cadmium in plastic wares for food packaging and their migration

No.	Sample	Resin	Color	Material test		Migration test								
						Condition 1			Condition 2			Condition 3		
						Pb	Cd	HM	Pb	Cd	HM	Pb	Cd	HM
						(ppm)								
1	Lunch box	PS	Red	5	0.4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	Ice-bar	ABS	White	nd	0.4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	Spoon	PS	White	nd	0.6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4	Tray	PS	White	nd	0.9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5	Siphon*	PS	Yellow	nd	2623.9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6	Grater*	PS	Red	nd	6862.8	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
7	Cup*	PP	Yellow	391	5774.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
8	Board*	PS	Yellow	245	8.9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
9	Board	PS	Red	nd	25.6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
10	Spoon	PS	Green	nd	26.6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
11	Fork	PS	Red	47	9.7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
12	Muddler*	PS	Gray	119	7.4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
13	Ice box	PE	Green	5	nd	nd	nd	nd						
14	Ice box	PE	White	2	nd	nd	nd	nd						
15	Ice box*	PE	Yellow	475	nd	nd	nd	nd						

\*: offended article

nd: less than 1 ppm for Pb or 0.1 ppm for Cd in the material and migration solution

HM, heavy metals; PS, polystyrene; ABS, acrylonitril-butadiene-styrene;

PP, polypropylene

Conditions: 1, 4% acetic acid, 60°C for 30 min; 2, 4% acetic acid, 95°C for 30 min;

3, 0.1N HCl, 95°C, 30 min

\* 横浜検疫所

228.8 nm で吸光度を測定し、別に作成した検量線により定量値を求めた。

実験はすべて2回繰り返して行い、結果は平均値で示した。

### 結果および考察

材質中の鉛およびカドミウムの濃度を Table 1 に示す。市販品では鉛およびカドミウムの濃度は規格値以内であり、最も高濃度のもので鉛で5 ppm、カドミウムで0.1 ppmであった。

違反品では鉛の最高値は391 ppm、カドミウムでは6862 ppmであった。また、同一製品で鉛、カドミウムともに規格値を超えるものが1例あり、規格適合品でも20 ppmを超える鉛またはカドミウムを含有している製品もあった。

これらの試料について公定法によって溶出試験(4%酢酸を用い、60℃で30分間処理)を行ったところ、鉛、カドミウムともに溶出は認められなかった。そこで、負荷条件下での溶出試験を試みた。すなわち、浸出用液として4%酢酸または0.1 N 塩酸を用い、95℃で30分間加熱した。しかし、いずれの試料からも鉛、カドミウムの浸出用液中への移行は共に認められなかった(鉛0.5 ppm未満、カド

ミウム0.1 ppm未満)。また、この時、検液への着色料の移行は認められなかった。

これら3種の溶出条件で得られた検液について公定法である硫化ナトリウム法<sup>2)</sup>による重金属の測定を行ったがいずれも陰性(1 ppm未満)であった。

今回試験を行った試料のうち、鉛またはカドミウムを100 ppm以上含有する製品の材質はポリスチレン、ポリプロピレンおよびポリエチレンであり、食器の材質ポリマーとしては最も一般的なものである。従って、これらのポリマー中に規格値以内の鉛、カドミウムが含有されていても通常の溶出条件下で移行が起こる可能性はほとんど無いものと考えられ、現行規格値で充分衛生性は保たれる。しかしながら、今回得られた結果は、限られた試料についてのみであり、さらに多種のポリマーについて検討する必要がある。

終わりに、試料の入手にご協力いただいた各位に感謝いたします。

### 文 献

- 1) 厚生省告示第20号(1982年2月16日)
- 2) 厚生省：“第五版食品添加物公定書”，p. 21 (1986)

## ポリスチレン製食器中の揮発性物質と溶出物の分析

伊藤澄夫\*・細貝 猛\*・桜井裕之\*・多田善彦\*  
杉田たき子・石綿 肇・武田明治

### Determination of Volatile Substances and Leachable Components in Polystyrene Food Contact Wares

Sumio Ito\*, Takeshi Hosogai\*, Hiroyuki Sakurai\*, Yoshihiko Tada\*  
Takiko Sugita, Hajimu Ishiwata and Mitsuharu Takeda

Material and migration tests of food-contact plastic wares made of polystyrene were carried out. The average concentration of volatile substances (sum of toluene, ethylbenzene, isopropylbenzene, *n*-propylbenzene, and styrene) in materials was  $861 \pm 692$  ppm. Styrene was observed in 95% of 19 samples.  $\alpha$ -Methylstyrene, which is one of the material compounds of polystyrene, was detected in one sample. Release of volatile substances into *n*-heptane was not observed at the detection limits of 0.1 ppm.

**Key words** : food contact ware, polystyrene, monomer, volatile substance

(Received May 31, 1992)

## 緒 言

食品用器具・容器包装に用いられるポリスチレン製品は、材質中に含まれるトルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼン、*n*-プロピルベンゼンおよびスチレンの含量が揮発性物質として規定されており、これらの合計は5000 ppm以下とされている<sup>1)</sup>。今回、ポリスチレンおよびポリスチレン系プラスチック製食器中の揮発性物質を測定する機会があり、併せて一部の試料について溶出試験として、これらモノマーの移行、蒸発残留物、過マンガン酸カリウム消費量等について測定を行ったので報告する。

## 実験方法

### 1. 試料

ポリスチレンおよびスチレン系樹脂製器具・容器包装。国産品は都内のマーケットで購入し、輸入品は横浜および成田検疫所より分与を受けた。

### 2. 装置

i) ガスクロマトグラフ：Hewlett-Packard 5710Aに20% PEG-20M/60-80 mesh Chomosorb W (AW-DMCS)を内径2 mm、長さ1.8 mのガラスカラムに充填したものを装着した。検出器はFIDを用いた。温度設定は、注入口200°C、カラム100°C、検出器200°Cとした。キャリアガスは窒素を用い、流速は30 ml/minとした。

ii) 天秤：Sartorius R106-P

### 3. 材質中の揮発性物質の定量

感度を高めるため試料の採取量を倍量とした他は公定法<sup>1)</sup>によった。すなわち、試料1 gにジメチルホルムアミドを加えて溶解したのち、1000 ppmシクロペンタノール/ジメチルホルムアミド溶液1 mlを加え、ジメチルホルムアミドで20 mlとした。この液をガスクロマトグラフィー用試験溶液とした。この液3  $\mu$ lをガスクロマトグラフに注入し、得られたクロマトグラムから各揮発性成分のピーク面積を算出した。別に求めた検量線よりその濃度を求めた。

### 4. 材質中の $\alpha$ -メチルスチレンの定量

試料1 gを塩化メチレンに溶解し20 mlとした。この液をガスクロマトグラフィー用試験溶液とした。この液について揮発性物質の定量と同様に処理し、

$\alpha$ -メチルスチレンを定量した。

### 5. 溶出試験

公定法<sup>1)</sup>によった。試料の表面積1 cm<sup>2</sup>当たり2 mlの食品疑似溶媒を用い、60°Cで30分間加熱した。ただし、*n*-ヘプタンを用いた場合は室温(27°C)で60分間放置した。この液を抽出液とした。

i) *n*-ヘプタンを用いた抽出液中の揮発性物質：抽出液3  $\mu$ lをガスクロマトグラフに注入し、以下材質の場合と同様に処理した。

ii) 蒸発残留物の測定：抽出液100 mlを水浴上で蒸発乾固したのち、105°Cで2時間乾燥した後、蒸発残留物の重量を測定した。

iii) 過マンガン酸カリウム消費量：水を用いた抽出液100 mlについて0.01 N過マンガン酸カリウム溶液で滴定を行い、過マンガン酸カリウム消費量を求めた。

iv) 重金属：4%酢酸を用いた抽出液について硫酸ナトリウム法<sup>2)</sup>によって測定した。

## 実験結果

### 1. 材質中の揮発性物質

結果をTable 1に示した。食品衛生法に規定されている揮発性物質<sup>1)</sup>であるトルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼン、*n*-プロピルベンゼンおよびスチレンの検出頻度は、それぞれ、53%、58%、26%、11%および95%であった。揮発性物質の合計量は、最低24 ppm、最高2838 ppm、平均 $\pm$ S.D.は861 $\pm$ 692 ppmであった。モノマーの種類と量について、国産品と輸入品との間に特異的な差異は認められなかった。また、既報の結果<sup>2-4)</sup>との間にも特筆すべき差異はなかった。これらの試料を塩化メチレンに溶解して $\alpha$ -メチルスチレンの測定を行ったが、ABS製品1例で101 ppm検出された以外、他のいずれの試料中にも認められなかった。

### 2. 溶出物の測定

一部の試料について溶出試験を行った (Table 2)。

揮発性物質は*n*-ヘプタンには移行せず (検出限界：溶出溶液中各々0.1 ppm)、4%酢酸による重金属の溶出も認められなかった (1 ppm以下)。水または*n*-ヘプタンにより抽出した蒸発残留物も検出感度 (10 ppm) 以下であった。過マンガン酸カリウム消費量は0.5 ppm以下であった。水、4%酢酸、*n*-ヘプタンによる色剤の溶出は認められなかった。

従って、これらの試料については試験の範囲にお

\* 横浜検疫所

Table 1. Volatile substances in polystyrene products in contact with food

No.	Sample	Material	Volatile substances					$\alpha$ -MS	
			TO	EB	i-PB	n-PB	ST		Total
(ppm)									
1	Cup	PS	24	nd	nd	nd	nd	24	nd
2	Spoon	PS	44	188	163	145	617	1157	nd
3	Tray	PSF	40	nd	nd	nd	496	536	nd
4	Tray	PSF	55	nd	nd	nd	832	887	nd
5	Tray	PSF	62	185	nd	nd	464	711	nd
6	Spoon	PS	30	40	nd	nd	529	598	nd
7	Container	PS	31	24	nd	nd	391	446	nd
8	Faucet	PS	30	58	nd	nd	700	788	nd
9	Ice-bar	ABS	nd	nd	nd	nd	1413	1413	nd
10	Sheet	ABS	222	nd	22	nd	1444	1688	101
11	Sheet	MABS	25	243	84	nd	1458	1809	nd
12	Lunch box	PS	nd	nd	nd	nd	274	274	nd
13	Nozzul	PS	nd	274	209	117	448	1048	nd
14	Grater	PS	nd	103	61	nd	2674	2838	nd
15	Board	PS	nd	28	nd	nd	446	474	nd
16	Board	PS	nd	39	nd	nd	120	159	nd
17	Spoon	PS	nd	27	nd	nd	766	793	nd
18	Fork	PS	nd	nd	nd	nd	620	620	nd
19	Muddler	PS	nd	nd	nd	nd	103	103	nd

nd: not more than 20 ppm

TO: toluene, EB: ethylbenzene, PB: propylbenzene, ST: styrene,  $\alpha$ -MS:  $\alpha$ -methylstyrene, PS: polystyrene, ABS: acrylonitrile-butadiene-styrene resin, MABS: methylmethacrylate-acrylonitrile-butadiene-styrene resin, PSF: polystyrene form

Table 2. Release of monomers and some other substances from polystyrene products

No.	Sample	Monomers in n-heptane extract (ppm)					Evaporation residue (ppm)		KMnO <sub>4</sub> consumption (ppm)
		TO	EB	i-PB	n-PB	ST	Water	n-Heptane	
3	Tray	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.3	
6	Spoon	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
9	Ice-ber	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.5	
12	Lunch box	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.4	
Detection limit		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	10	10	0.1

Samples were the same as shown in Table 1.

Extraction conditions: water, at 60°C for 30 min; n-heptane, at 27°C for 1 hour

いては食品衛生法による規格値を十分に下回っていた。

#### 文 献

1) 厚生省告示第20号 (1982年2月16日)

2) 厚生省：“第五版食品添加物公定書”. pp. 20~21 (1986)

3) 小野研一, 堺敬一：宮城衛研年報. 57, 95(1980)

4) 東京都衛生局：“東京都食品機動監視班先行調査報告書昭和60年版”. p. 40 (1985)

## エイズ医薬品候補スクリーニング研究

## III. 1990年度報告

大竹 徹\*1・森 治代\*1・森本素子\*1・上羽 昇\*1・国田信治\*1・松田良夫\*2  
 松山雅子\*2・秋吉京子\*2・野呂新一\*3・佐藤七七朗\*3・桜田教夫\*3・藤田宣哉\*4  
 石崎 徹\*4・神村紀子\*4・吉田幸雄\*4・小野哲郎\*5・大友信也\*5・森下高行\*6  
 小林慎一\*6・三宅恭司\*6・石原佑弐\*6・磯村思无\*6・斉藤隆行\*7・小田和正\*7  
 松崎 稔\*7・関根大正\*8・大貫奈穂美\*8・貞升健志\*8・太田健爾\*8・三木 隆\*8  
 小林伸好\*9・野口有三\*9・千々和勝巳\*10・甲斐麻美子\*10・高橋克己\*10・三瀬勝利  
 牛島廣治\*11・清水博之\*11・運天先和\*11・北村 敬\*11・徳永 徹\*11

## Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs. III.

## Report on fiscal year 1990

Tohru Ohtake\*1, Haruyo Mori\*1, Motoko Morimoto\*1, Noboru Ueba\*1  
 Nobuharu Kunita\*1, Yoshio Matsuda\*2, Masako Matsuyama\*2, Kyoko Akiyoshi\*2  
 Shinichi Noro\*3, Nanao Sato\*3, Norio Sakurada\*3, Nobuya Fujita\*4  
 Tohru Ishizaki\*4, Noriko Kamimura\*4, Yukio Yoshida\*4, Tetusuro Ono\*5  
 Nobuya Ohtomo\*5, Takayuki Morishita\*6, Shinichi Kobayashi\*6, Takashi Miyake\*6  
 Yuichi Ishiwara\*6, Sin Isomura\*6, Takayuki Saito\*7, Kazumasa Oda\*7  
 Minoru Matsuzaki\*7, Hiromasa Sekine\*8, Nahomi Ohnuki\*8, Kenji Sadamasu\*8  
 Kenji Ohta\*8, Takashi Miki\*8, Nobuyoshi Kobayashi\*9, Yuzo Noguchi\*9  
 Katsumi Chijiwa\*10, Mamiko Kai\*10, Katsumi Takahashi\*10, Katsutoshi Mise  
 Hiroshi Ushijima\*11, Hiroyuki Shimizu\*11, Sakikazu Unten\*11  
 Takashi Kitamura\*11 and Tohru Tokunaga\*11

Preliminary screening for antiviral AIDS drugs has been carried out using three different *in vitro* assay systems. Among 106 samples tested, five were found to inhibit the growth of HIV *in vitro*. Two of five have a hopeful sign, as the range of effective doses of the samples is wide.

**Keywords :** AIDS, Anti-HIV drugs, Giant cell, HIV, Microplate methods.

(Received May 31, 1992)

## はじめに

エイズウイルス感染者の正確な数は不明であるが、すでに米国やアフリカを中心に、一千万人の感染者がいるのではないかとわれている。数年の潜伏期を経て発症に至り、発症者のほとんどは5年以内に

死に至るといわれている<sup>1,2)</sup>。エイズ患者を対象とする医薬品はAZT<sup>3)</sup>など少数のものが知られているものの、効力や副作用の点で問題が多く、決定的な治療薬は見出されていない<sup>4)</sup>。日本における患者数も次第に増加傾向をたどっており、世界的なエイズの流行は人類の前途に暗影をなげかけている。

エイズ治療薬の開発を目的として、昭和63年度から厚生省とヒューマンサイエンス振興財団が中心となりエイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究班が発足した。研究班では医薬品メーカーから提供された生薬抽出物や化学合成物などについて、国立衛生試験所、国立予防衛生研究所、北海道立衛生研

\*1 大阪府公衆衛生研究所・\*2 神戸市環境保健研究所・\*3 北海道立衛生研究所・\*4 京都府衛生公害研究所・\*5 大分県環境研究センター・\*6 愛知県衛生研究所・\*7 神奈川県衛生研究所・\*8 東京都立衛生研究所・\*9 横浜市衛生研究所・\*10 福岡県衛生公害センター・\*11 国立予防衛生研究所

究所など10 地方衛生研究所から成る研究班で、候補物質のスクリーニング研究を行った。平成2 年度は106 サンプルが提出され、このうち5 サンプルが陽性を示した。いずれも未知のものであった。

### 実験方法

スクリーニングはMT-4 細胞のHIV-1 感染による細胞障害性の抑制を指標としたマイクロプレート法を使用した。本法で活性を認められたものは、生細胞数測定法もしくは巨細胞形成抑制法で抗HIV 活性の確認を行った。実験の詳細は前報<sup>9)</sup>に記した通りである。

### 結果

マイクロプレート法で試験された合計106 サンプル中抗HIV 活性を示した5 サンプルの有効濃度、最小毒性濃度、および化合物をTable 1 に示した。特許とのからみがあり、具体的な化合物名を記載す

ることは、申し合わせにより禁じられている。これら106 サンプルは参加企業10 社から提供されたものであり、国立予防衛生研究所と各地方衛生研究所で抗HIV 活性が調べられた。Table 1 の5 サンプル中2 サンプル(検体番号900423, 900436)は薬用植物抽出物である。他の3 サンプル(検体番号900447, 900466, 900498)はそれぞれ核酸アナログ、合成化合物、放線菌生産物である。

代表的な例として、Table 2 と3 に検体番号900436 と900498 のマイクロプレート法の結果を示す。また、Table 4 に検体番号900436 の巨細胞形成抑制試験の結果をかかげる。いずれにおいてもHIV ウイルス増加抑制が明らかに認められる。検体番号900498 の巨細胞形成抑制試験はなされていない。

### 考察

Table 1 にまとめられているように、提供された

Table 1. Effective doses and minimum cytotoxicity doses of chemicals which showed anti-HIV activities *in vitro* (microplate assay with MT-4 cells infected with HIV-1)

Sample No.	Effective doses ( $\mu\text{g/ml}$ )	Minimum cytotoxicity doses ( $\mu\text{g/ml}$ )	Chemicals	Company
900423	250	>250	Extract of medicinal plant	D
900436	62.5 - 250	$\geq 500$	Extract of medicinal plant	D
900447	250	$\geq 500$	Nucleic acid analogue	F
900466	7.8	$\geq 15.6$	New chemical	H
900498	0.005 - 0.1	$\geq 0.2$	Product of ray fungi	J

Table 2. Anti-HIV activities of sample no. 900436 with microplate assay method

Tube no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	UC	IC
Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	500	250	125	62.5	31.3	15.6	7.8	3.9	2.0	1.0	0.5		
5 days incubation													
Cytotoxicity	×	◎	◎	◎	◎	◎	○					◎	○
CPE		-	-	±	++	++	++	++	++	++	++	-	++

UC, uninfected control; IC, infected control. CPE, cytopathogenic effect.

Cytotoxicity: ◎, cells grew well as in UC; ○, growth of cells was partially inhibited by the chemical added; ×, growth of cells was completely inhibited by the chemical added.

CPE: ++, CPE was observed as in IC; +, CPE was partially observed; -, CPE was not observed.



Table 3. Anti-HIV activities of sample no. 900498 with microplate assay method

Tube no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	UC	IC
Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	5	2.5	1.2	0.6	0.3	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005		
3 days incubation													
Cytotoxicity	×	×	×	○	○	○	○	○	○	○	○	⊙	○
CPE				-	-	-	-	-	-	-	±	-	+
6 days incubation													
Cytotoxicity	×	×	×	×	×	○	○	○	○	○	○	⊙	○
CPE						-	-	-	-	-	±	-	++

UC, uninfected control; IC, infected control. CPE, cytopathogenic effect.

Cytotoxicity: ⊙, cells grew well as in UC; ○, growth of cells was partially inhibited by the chemical added; ×, growth of cells was completely inhibited by the chemical added.

CPE: ++, CPE was observed as in IC; +, CPE was partially observed; -, CPE was not observed.

Table 4. Anti-HIV activities of sample no. 900436 with multinucleated giant cell formation inhibition assay

Tube no.	1	2	3	4	5	6	UC	FC
Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	500	250	125	62.5	31.3	15.6		
Cytotoxicity	○	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙
	-	-	-	+	++	++	-	++

UC, unfused control; FC, fused control.

Cytotoxicity: ⊙, growth of cells was observed as in UC; ○, growth of cells was partially inhibited.

Giant cell: ++, multinucleated giant cells were formed as in FC; +, formation of giant cells was partially inhibited by the chemical added; -, giant cells were not observed at all.

106 サンプル中5 サンプルに、*in vitro* の試験で抗 HIV 活性が認められた。いずれもこれまで抗 HIV 活性が試験されていないものと思われる。これらのもののうちでも、検体番号 900436 と 900498 は、有効濃度の幅が広いところから特に有望と思われる。900436 は巨細胞抑制試験も陽性であった。900436 は薬用植物から抽出されたものであり、900498 は放線菌から生産されたものである。残りの陽性を示した3 検体は、有効濃度の幅は非常に狭い。エイズ医薬品候補とはなりえないが、今回の発見が契機となり、類似化合物などの抗 HIV 活性に関する研究が発展することを期待したい。

このように第一次スクリーニングとはいえ、前々年度、前年度に続き、新しい有望な抗 HIV 医薬品候補物質が発見されたことは、一つの大きな結果と言って良いであろう。

#### 文 献

- 1) Gottlieb, M. S., Jeffries, D. J., Mildvan, D., Pinching, A. J., Quinn, T. C. and Weiss, R. A.: "Current topics in AIDS. Vol. I". John Wiley & Sons, Chichester (1987)
- 2) Bridge, T. P., Mirsky, A. F. and Goodwin, F. K.: "Psychological, neuropsychiatric, and sub-

- stance abuse aspects of AIDS*". Raven Press, New York (1988)
- 3) Mitsuya, H., Weinhold, K. J., Furman, P. A., Clair, M. H. St., Lehrman, S. N., Gallo, R. C., Bolognesi, D., Barry, D. W. and Broder, S.: "3'-Azido-3'-deoxythymidine (BWA5090): "An antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-cell lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro." Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 7096-7100 (1985)
- 4) Dalgleish, A. G. and Weiss, R. A.: "AIDS and New Viruses". Academic Press, London (1990)
- 5) 三木 隆, 大貫奈穂美, 新開敬行, 藪内 清, 小野哲郎, 大友信也, 松田良夫, 松山雅子, 秋吉京子, 大竹 徹, 森 治代, 森本素子, 上羽 昇, 国田信治, 藤田宣哉, 石崎 徹, 神村紀子, 永田久紀, 森下高行, 小林慎一, 三宅恭司, 石原佑弼, 磯村思无, 斎藤隆行, 小田和正, 松崎 稔, 桜田教夫, 佐藤七七朗, 野呂新一, 三瀬勝利, 牛島広治, 清水博之, 大野田秀樹, 北村 敬, 徳永徹: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, I. 1988年度報告, 衛生試験, 108, 128~131 (1990)

## 1991年度にIPCSよりコメント依頼のあった環境保健クライテリア 第一次ドラフトについて

関沢 純・森本和滋・斎藤牧江・近藤那江

### First drafts of Environmental Health Criteria circulated for comments by IPCS in 1991~1992

Jun Sekizawa, Kazushige Morimoto, Makie Saito and Tomoe Kondo

Summaries of first drafts of Environmental Health Criteria (EHC), which were circulated for comments by IPCS in the period of 1991~1992, were presented. EHC drafts on 14 compounds and one methodology were received in this period.

**Keywords** : Environmental Health Criteria, Comment on the draft

(Received May 31, 1992)

#### 1. はじめに

国際化学物質安全性計画 (IPCS) の主要な活動の一つである環境保健クライテリア (EHC) の作成にあたり, 情報の充実と内容の完成度を確保する手法の一つとして各国の関連専門機関や研究者に第一次ドラフトを回覧しコメントを求めるステップがある<sup>1,2)</sup>.

1991年度には Table 1 に示す EHC の第一次ドラフトがコメントのために回覧されてきた。以下に記した内容はコメント依頼のために所内で配布した資料に記したドラフトの要約をまとめたものである。1991年1月から1992年4月の間にIPCSよりコメントを求められたEHCドラフトは化学物質に関するもの14件, 方法論に関するもの1件であった。なお, 今年5月までに出版されたEHCは本誌

「IPCSの環境保健クライテリア作成における問題点とその解決策について」<sup>3)</sup>のTable 3に示した。

#### 2. コメントを依頼されたEHCドラフトの要約

以下に示した要約は主としてIPCSより送られてきたEHCドラフト中のSummaryの部分进行参考にして作成した。化学物質の安全性評価や安全性評価方法論の開発に関心のある人々の参考になるに、またIPCSのEHC作成の現況を知って頂くために紹介することにした。なお, (1)~(3)は森本が, (4)~(5)は関沢が森本からこの仕事を引き継いで記したものである。なお, 以下の要約中では化合物の名称だけでは, どのような物質か不明となる可能性が高い物質については化学名やCAS Registry Numberを並記した。しかし, 単一の化合物でなくCAS Registry Numberが付与されていない場合はこれを記し

Table 1. First drafts of EHC circulated for comments by IPCS (1991.1~1992.4)

Title	Date*	Comment
1,3-Dichloropropene(1,2-Dichloropropane), (D-D)	1991. 1.30	1 comment
Alpha-Cypermethrin	1991. 2.27	
Carbaryl	1991. 4. 2	
2-Nitropropane	1991. 4.19	1 comment
Principles for evaluating chemical effects on the aged population	1991. 4.22	2 comments
Polybrominated biphenyl	1991. 7. 1	
Benzene	1991. 8.26	1 comment
Partially halogenated chlorofluorocarbons (Ethane derivatives)	1991. 7. 4	
Cadmium	1991.11. 2	2 comments
Benomyl	1991.12.24	
Carbendazim		
Methyl bromide	1992. 2.14	
Hexachlorobutadiene		
Hydroquinone		
Acetonitrile	1992. 4.21	

\* Dates on which the drafts were received

ていない。

#### (1) 高齢者への化学的影響評価の原則

本ドラフトは、高齢者に対する環境化学物質の影響に関する知識について総説し、ヒトの健康に対するリスクを評価するための利用可能なモデルを評価することを目的として作成された。引用文献の総数は708件にのぼっている。環境化学物質の曝露によって引き起こされる特定の反応を若者と高齢者で比較したり、加齢のプロセスで環境化学物質に暴露される場合におけるある特定の臓器や組織における機能に対するインパクトを調べて比較している。この分野の研究は毒性学(Toxicology)と老人学(Gerontology)の両方の学問が協力することが大切なことを強調している。

本文は5章から構成され、

- 1章 Scope of the problem
- 2章 Structural and physiological changes in the aged
- 3章 Basis of altered sensitivity to environmental chemicals
- 4章 Approaches to examine the effects of chemicals on the aged population
- 5章 General conclusions

このうち5章の結論を紹介すると、

1) 高齢者は形態学、生理学、生化学、代謝の特徴が青年や成人とは異なっている。

2) 化学物質の高齢者への反応は青年や成人のそれとは異なっている。

3) 高齢者は環境に対する反応が異なっている。

4) 高齢者は環境化学物質に対する急性と慢性曝露の特別なリスクを有している。

5) 慢性の病気の頻度は加齢とともに増加するが、国が異なると高齢者の病気の頻度は異なっており、その原因を突き止めれば防御も可能かと思われる。

6) 動物モデルがヒトの健康への影響を外挿するのに有効な手法と考えられる。現状では *in vitro* の方法はまだ充分には利用されていない。

今後必要な研究分野としては、

- 1) 加齢の根本的なメカニズムの解明
- 2) 加齢の過程で環境因子のインパクトを評価するための有用なバイオマーカーの探策研究
- 3) 高齢生物に対する毒性とがん原性のデータの蓄積
- 4) 加齢の影響に及ぼすファーマコキネティクスの研究
- 5) 加齢の動物モデルの開発
- 6) 加齢に注目した疫学の研究

#### (2) Polybrominated biphenyls (PBBs)

CAS Registry Number: 82865-89-2 (混合物であるため主成分2, 2', 3, 3', 4, 4'-Hexabromobiphenylsを一例として示した)。

PBBsは209の誘導体が理論上可能であり、現在101の誘導体がCASに登録されている。PBBsは室温で固体であり、水には難溶で、有機溶媒には可溶である。本化合物は合成繊維やプラスチックの難燃剤として、1970年代初期に使用され、米国での生産量は1970~1976年の7年間に6000tと推定される。PBBsの環境汚染の報告は、1973年夏~1974年5月までの米国でのミシガン事件の結果としての水系の汚染、動物への汚染、ヒトへの汚染等の報告を中心に記述されている。動態試験では、胃腸管からの吸収は容易であり、脳、副腎、脂肪組織などに蓄積性が高い。2, 2', 4, 4', 5, 5'-Hexabromobiphenylのラット脂肪組織における半減期は69週間で、ヒトの脂肪組織では7.5年とさらに長い。主代謝物は水酸化体であり、主として胆汁を通して排泄される。動物への急性毒性は低い(ラットの場合、 $LD_{50} > 1 \text{ g/kg}$ )。毒性としては肝臓肥大、胸腺重量の減少が認められ、また内分泌系にも影響し、投与量に依存して血清チロキシンの減少やステロイドホルモン濃度に変化を与えた。PBBsは *in vitro* と *in vivo* の遺伝毒性試験では陰性であった。発がん性はラットの慢性毒性試験において肝臓の腫瘍性結節を生成し、肝臓に発がん性を有していることが示唆された。これらの作用がプロモーター作用なのか、イニシエーターとプロモーターの共同作用によるものかは不明である。また、弱い催奇形性もある。ヒトへのPBBsの急性毒性の報告は無いが、ミシガン州住民のコホート研究から、肝機能への影響、神経症状、免疫機能の顕著な変化などの報告がある。

### (3) Benzene

CAS Registry Number: 71-43-2

Benzeneは無色透明の液体で、広範な化学工業製品の原料として用いられ、また一般溶剤、抽出剤などとしても用いられている。*in vitro* における遺伝毒性は陰性であるが、*in vivo* においては染色体異常、姉妹染色分体交換試験、小核試験などは陽性である。

実験動物を用いた毒性試験では、急性毒性は経口投与で $LD_{50}$ が3300 mg/kgと弱い。白血球減少、貧血、血小板数減少などの造血障害、がん原性、免疫毒性および神経毒性が認められる。ヒトへの影響については労働現場における吸入曝露の事例を中心

に記述されている。骨髄の造血機能障害、免疫毒性、神経毒性、そして疫学データから発がん性が疑われているが、発症までに27年以上の曝露期間を要することやベンゼンの単独曝露のデータが無いなどの理由により結論は出ていない。従って、ヒトへ評価についての文章はタスクグループ会議で作成されることになっている。

### (4) Benomyl

CAS Registry Number: 17804-35-2

CAS Chemical Name: Methyl[1-[(butylamino)carbonyl]-1H-benzimidazol-2-yl]carbamate

Benomylは、黄褐色の結晶でBenzimidazole系の殺カビ剤として広く用いられている。1988年の世界の使用量は約1700tと見積もられている。水に難溶であるが、水溶液中・植物体内・土壤中で*n*-Butyl isocyanateとMBC (Carbendazim)に分解する。動物体内ではMBCはさらに酸化され5-OH体(5-HBC)になる。Benomyl, MBC, 5-HBCは動物体内に蓄積しない。食品中の残留レベルは米国・日本の調査結果ではADI以下の摂取量になると評価されている。Benomylはある種の魚類と藻類・土壤微生物(カビ類)に影響を及ぼすが、他の環境中生物には影響を及ぼさない。実験動物への急性毒性は低いが、ヒトへの感作性の報告がある。BenomylおよびMBCは細胞のMicrotubuleのレセプターに結合し染色体の不分離や異数性を起こすが、このことが殺カビ剤としての作用機構と考えられている。ラットの精子形成の減少およびマウスにおける肺がんの増加がみられたが、これらの影響はヒトにおいては見られず、現状の使用においてはこの面のヒトのリスクは認められないとされている。

### (5) Carbendazim

CAS Registry Number: 10605-21-7

CAS Chemical Name: Methyl 1 H-benzimidazol-2-ylcarbamate

Carbendazimは白色の結晶でBenzimidazole系の殺カビ剤として広く用いられている。1988年の世界の使用量は約3600tと見積もられている。水に難溶であり、環境中では安定で(水中の半減期は750日)、底質、土壤に強く結合する。動物体内では5-HBC(5-hydroxy体)を経て極性の高い代謝物に代謝されて排泄され蓄積しない。ラットとマウスの肝のEpoxide hydrolase,  $\gamma$ -Glutamyl-transpeptidase, Glutathione-S-transferaseを誘導する。Carbendazimの環境中での動態および環境中生物

への影響については Benomyl を参照。Carbendazim の作用機作とヒトへの影響についても Benomyl を参照。

#### (6) Hexachlorobutadiene

CAS Registry Number: 87-68-3

Hexachlorobutadiene は無色の液体で Chlorinated hydrocarbons 製造の副産物として生成する。塩素化プラントで塩素含有ガスの回収やある種の炭化水素の除去に用いられ、またジャイロスコープ、熱交換機、水圧機などに、また溶剤、中間体、くん蒸剤などとしても用いられている。廃棄や開放での使用により環境中に放出され、生体内に蓄積する。経口摂取における吸収は速やかであり、腎臓が主たる標的器官である。刺激性と感作性を有し、変異原性、ラットでの発がん性も観察されている。

#### (7) Hydroquinone

CAS Registry Number: 123-31-9

Hydroquinone は水に可溶性の白色結晶で、還元力を有し Semiquinone, Quinone に可逆的に酸化されうる。Hydroquinone は生体内に見出されるのみならず、還元剤、抗酸化剤として多量に製造される。Hydroquinone は腸管、皮膚より速やかに吸収され、*p*-Benzoquinone に代謝され抱合により解毒される。生体内のさまざまな構成成分と反応する。雄ラット尿細管細胞の過形成、腺腫、雌ラットの単核球白血病、雌マウスの肝腺腫が観察されている。ヒトでは高濃度のダストや蒸気により眼刺激や視障害が見られた。吸入により肺機能の低下が曝露労働者の間で見られた。

#### (8) Methyl bromide

CAS Registry Number: 74-83-9

Methyl bromide は常温で無色の気体で水に溶けないが、他の溶剤にはよく溶ける。Methyl bromide は液化ガスとして使われ、土壌のくん蒸剤として用いられる時には臭覚による検出の目的で 2% Chloropicrin が添加される。他のくん蒸剤においては 67% までの Chloropicrin が添加される場合や 100% Methyl bromide のこともある。海洋からも Methyl bromide は生成するが、くん蒸剤としての使用が主たる曝露源である。ある種の果物（ナッ

ツ）やチーズは Methyl bromide や臭素を蓄積する。急性の神経症状、行動毒性がヒトの吸入曝露の場合に見られる。臭素イオンは体内の塩素イオン、沃素イオンの働きを攪乱すると考えられる。Methyl bromide の作用機作の詳細は不明であるが SH 酵素や DNA、蛋白のメチル化が考えられている。規制の強化にもかかわらず、くん蒸時における労働災害の症例は後を絶たないとされている。

### 3. タスクグループ会議の検討を終えたドラフト

#### (9) Cadmium

カドミウムについては 1989 年に第一次ドラフトが IPCS より送られてきた際に各部に供覧し、それぞれ専門分野に関連してコメントをお願いし、その結果はすでにタスクグループ会議の検討にかけられた。今回は以下の事情により最終ドラフトを入手したのであらためて案内した。

カドミウムに関する EHC ドラフトの作成は、1980 年頃に着手された。その後、ドラフトの内容についてスウェーデンの研究者グループと日本の研究者の間で鋭い対立があつてなかなか最終ドラフトに至らなかった。また、わが国の厚生省と環境庁は米に含まれるカドミウム濃度の基準との関係で本ドラフトの内容に強い関心を持っていた。1989 年 11 月末にようやくタスクグループ会議が開かれた。通常の場合はタスクグループ会議後は、議長と事務局が会議の結果を踏まえて編集し、印刷に回されるはずであるが、本ドラフトについてはもう一度 1991 年 11 月 27 日～28 日に米国で事務局会合がもたれることになり、この会合に出席予定の重松逸造博士宛に最終ドラフトが送られてきたものである。

### 文 献

- 1) 森本和滋・逸見雅貴子・神沼二真：EHC の第一次ドラフトへのコメント提供業務に関する若干の改善、衛生試報, 109, 88～92 (1991)
- 2) 関沢 純：IPCS の環境保健クライテリア (Environmental Health Criteria) 作成における問題点とその解決策について、衛生試報, 110, 95～102 (1992)

## IPCSの環境保健クライテリア (Environmental Health Criteria) 作成における問題点とその解決策について

関沢 純

### Problems and their Solutions in Preparation of Environmental Health Criteria Documents of IPCS

Jun Sekizawa

Problems and solutions in preparing Environmental Health Criteria (EHC) documents for IPCS (International Programme on Chemical Safety) are summarized. Selection of target chemicals, information search, appointment of appropriate drafters, selection and evaluation of data, use of proprietary data, scientific and English editing, organization of international expert meetings, coordination and secretarial works were the important factors in the preparation of EHCs. The elucidation of the process of risk assessment of chemicals in the EHC preparation will be helpful in preparing other criteria documents.

**Keywords** : Environmental Health Criteria, Safety evaluation, Criteria document

(Received May 31, 1992)

#### 1. はじめに

地球環境の保護が多くの人々の注意を集めるようになってきた。地球環境の現状を分析し、今後について有効な対策をたてる上で基礎となる科学的データの蓄積は必須である。しかし、このための努力は地味で高い専門性とたいへんな労力を要するものである。この成果をまとめ人々の共有の財産として提供する仕事の意義は大きい。わが国ではこのような総合された科学的な情報の提供を公的に行うシステムは一部の例外を除いてほとんど見当たらない。

化学物質の安全性評価についての国際協力で重要な位置を占める国際化学物質安全性計画 (*International Programme on Chemical Safety* : IPCS) に、国立衛生試験所は日本の参加機関として積極的に協力を行ってきた。IPCSは1972年の「ストックホルム国連人間環境会議」で出された勧告、すなわち“人が今後ますます曝露されることになる種々の環境汚染物質の有害な影響について早期に警告、防止し、人の健康への危険性を評価するための計画を推進すること”を実行する機関として1980年に発足した<sup>1,2)</sup>。化学物質の安全性評価モノグラフとしての環境保健クライテリア (*Environmental Health Criteria* : EHC) の作成はIPCSの活動の主要な柱

の一つである。わが国におけるEHCの原案(ドラフト)作成は国内外の多くの専門家の労を惜しまぬ協力に支えられてきた。総合的かつ信頼性の高い化学物質についての安全性評価資料(クライテリア文書)としてのEHCの作成において築き上げられてきた方法論と経験は、化学物質の安全性評価と情報の利用に関心をもつ人々にとり大きな参考になると思う。EHC作成にかかわってきた一人として、作成をとおして得られた成果と問題点をまとめておくことは著者の責務と考える。

#### 2. IPCSの化学物質安全性資料

IPCSはクライテリア文書としてのEHCの他に、安全性の指針を簡潔に要約した安全衛生ガイド (*Health and Safety Guide* : HSG)、リスク管理に必要なデータをまとめた国際化学物質安全性カード (*International Chemical Safety Cards* : ICSC) などの化学物質の安全性に関連した資料を目的、内容、対象に応じて発行している (Table 1)<sup>1,2)</sup>。これら化学物質安全性資料のそれぞれの意義と役割については別の機会に論じたい。なかでもEHCは化学物質の健康と環境に及ぼす影響の評価における総合性、信頼性の高さ、国際的有用性においてユニークな位置を占めている<sup>1)</sup>。

Table 1. Chemical safety documents published by IPCS (early 1992)

Document	Content	Reader	Publication
Environmental Health Criteria (EHC)	Summary of scientific evaluations (100-200 pages)	Researcher Government Chemical industry	135 titles
Health & Safety Guide (HSG)	Summary of safety guidelines (20 pages)	Government Chemical industry	67 titles
International Chemical Safety Card (ICSC)	Chemical safety data (2 pages)	Shop floor administrator	350 cards* (493 cards)

\* 350 cards (original English version) were published by Commission of European Communities. 493 cards (Japanese version) will be published by Kagaku-Kogyo-Nippo soon.

Table 2. Layout of an Environmental Health Criteria document for a chemical or group of chemicals

1. SUMMARY, CONCLUSIONS AND RECOMMENDATION FOR FUTURE RESEARCH
2. IDENTITY, PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES, ANALYTICAL METHODS
3. SOURCES OF HUMAN AND ENVIRONMENTAL EXPOSURE
4. ENVIRONMENTAL TRANSPORT, DISTRIBUTION AND TRANSFORMATION
5. ENVIRONMENTAL LEVELS AND HUMAN EXPOSURE
6. EFFECTS ON ORGANISMS IN THE ENVIRONMENT (MICROBES, PLANTS, INSECTS, BIRDS, MAMMALS)
7. KINETICS AND METABOLISM
8. EFFECTS ON EXPERIMENTAL ANIMALS AND <i>IN VITRO</i> TEST SYSTEMS
9. EFFECTS ON HUMANS
10. EVALUATION OF HUMAN HEALTH RISKS AND EFFECTS ON THE ENVIRONMENT
11. RECOMMENDATIONS
12. PREVIOUS EVALUATIONS BY INTERNATIONAL BODIES
13. REFERENCES

### 3. EHCの目的と内容

EHC作成の目的は以下のとおりである。

(1) 人の健康と環境に化学物質が及ぼす影響を評価する上で必要な全ての分野の科学的知識を簡潔に総括する。

(2) 総括に基づいて安全性の評価を行う。

(3) 評価結果とデータを各国の環境政策や有害物質対策を立案する行政官、関連分野の研究者、業界や環境と保健に関心を持つ他の人々に提供する。

従って、EHCは単にある化学物質についての文献レビューの寄せ集めまたは最新の研究成果に基づいた学術的総説ではない。安全性評価については科学的分析と総合の結果を示すが、具体的な基準値や対策は各国の事情に委ねる。

EHCはTable 2に見られるように、環境汚染の影響評価にかかわる全ての情報を総合的に提供する。すなわち、EHCの記述内容はこれら個々のデータ

の要約と、総合的な安全性の評価、今後必要な研究や調査についての勧告をまとめることになっている。記述すべき内容についてはここ10年余のEHC作成の歴史の中で改善が加えられ、以下の諸点について留意することが要求されるように変化してきている。すなわち、環境中生物への影響評価の重視、過去の国際機関による評価内容の明記、毒性データについて可能であれば無影響量の明記などが挙げられる。

1992年初めまでに130巻余(年平均10巻以上)のEHCが発行されている(Table 3)。Table 4にはこれまでわが国においてドラフト作成を担当または協力したEHC 18巻(うち著者は13巻を担当)のタイトルを示す。

### 4. EHCの作成の基本と手順

IPCSはEHC作成の目的と体裁について、われわれのケースも含むこれまでの経験を踏まえ幾たび

Table 3. List of Environmental Health Criteria series

No	Title	No	Title
1.	Mercury		freshwater) biotoxins
2.	Polychlorinated biphenyls and terphenyls	38.	Heptachlor
3.	Lead	39.	Paraquat and diquat
4.	Oxides of nitrogen	40.	Endosulfan
5.	Nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds	41.	Quintozene
6.	Principles and methods for evaluating the toxicity of chemicals	42.	Tecnazene
7.	Photochemical oxidants	43.	Chlordecone
8.	Sulfur oxides and suspended particulate matter	44.	Mirex
9.	DDT and its derivatives	45.	Camphechlor
10.	Carbon disulfide	46.	Guidelines for the study of genetic effects in human populations
11.	Mycotoxins	47.	Summary report on the evaluation of short-term tests for carcinogens
12.	Noise	48.	Dimethyl sulfate
13.	Carbon monoxide	49.	Acrylamide
14.	Ultraviolet radiation	50.	Trichloroethylene
15.	Tin and organotin compounds	51.	Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals
16.	Radiofrequency and microwaves	52.	Toluene
17.	Manganese	53.	Asbestos and other natural mineral fibres
18.	Arsenic	54.	Ammonia
19.	Hydrogen sulfide	55.	Ethylene oxide
20.	Selected petroleum products	56.	Propylene oxide
21.	Chlorine and hydrogen chloride	57.	Principles of toxicokinetic studies
22.	Ultrasound	58.	Selenium
23.	Lasers and optical radiation	59.	Principles for evaluating health risks from chemicals during infancy and early childhood
24.	Titanium	60.	Principles and methods for the assessment of neurotoxicity associated with exposure to chemicals
25.	Selected radionuclides	61.	Chromium
26.	Styrene	62.	1,2-Dichloroethane
27.	Guidelines on studies in environmental epidemiology	63.	Organophosphorus insecticides : A general introduction
28.	Acrylonitrile	64.	Carbamate pesticides : A general introduction
29.	2,4-Dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)	65.	Butanols: four isomers
30.	Principles for evaluating health risks to progeny associated with exposure to chemicals during pregnancy	66.	Kelevan
31.	Tetrachloroethylene	67.	Tetradifon
32.	Methylene chloride	68.	Hydrazine
33.	Epichlorohydrin	69.	Magnetic Fields
34.	Chlordane	70.	Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food
35.	Extremely low frequency fields		
36.	Fluorine and fluorides		
37.	Aquatic (marine and		

かの改定を重ねて作られた執筆の指針<sup>2)</sup>を備えており、これに準拠して作成を進めるように示されている。本報でも記すように作成過程で遭遇した問題の解決のために改善の提案をすることはもちろん可能である。

Fig. 1には、EHC作成の手順を示した。まず第

一に、専門家の協議に基づいてIPCSが作成した優先物質リスト<sup>2)</sup>を参考にして、各国の参加機関 (Fig. 1の“PI”)が関心を持つ物質または品目を自主的に選択する。参加機関はIPCSと協議して決められた品目について第一次ドラフトを作成する。第一次ドラフトはIPCSの本部 (Fig. 1の“CU”)に



Table 3. (continued)

No	Title	No	Title
71.	Pentachlorophenol		residues in food
72.	Principles of studies on diseases of suspected chemical etiology and their prevention	105.	Selected mycotoxins: ochratoxins, trichothecenes, ergot
73.	Phosphine and selected metal phosphides	106.	Beryllium
74.	Diaminotoluenes	107.	Barium
75.	Toluene diisocyanates	108.	Nickel
76.	Thiocarbamate pesticides : A general introduction	109.	Summary report on the evaluation of short-term tests for carcinogens
77.	Man-made mineral fibers	110.	Tricresyl phosphate
78.	Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea and propylenethiourea	111.	Triphenyl phosphate
79.	Dichlorvos	112.	Tri- <i>n</i> -butyl phosphate
80.	Pyrrrolizidine alkaloids	113.	Fully halogenated chloro-fluorocarbons
81.	Vanadium	114.	Dimethylformamide
82.	Cypermethrin	115.	2-Methoxyethanol, 2-ethoxyethanol, and their acetates
83.	DDT and its derivatives	116.	Tributyltin compounds
84.	2,4-Dichloroacetic acid (2,4-D)	117.	Methyl isobutyl ketone
85.	Lead	118.	Inorganic mercury
86.	Mercury	119.	Principles and methods for the assessment of nephrotoxicity associated with exposure to chemicals
87.	Allethrins	120.	Hexachloro-cyclopentadiene
88.	Polychlorinated dibenzo- <i>para</i> -dioxins and dibenzofurans	121.	Aldicarb
89.	Formaldehyde	122.	<i>n</i> -Hexane
90.	Dimethoate	123.	$\alpha$ and $\beta$ -Hexachloro-cyclohexane
91.	Aldrin and dieldrin	124.	Lindane
92.	Resmethrins	125.	Platinum
93.	Chlorophenols other than pentachlorophenol	126.	Partially halogenated chlorofluorocarbons
94.	Permethrin	127.	Acrolein
95.	Fenvalerate	128.	Chlorobenzenes other than hexachlorobenzene
96.	<i>d</i> -Phenothrin	129.	Isobenzan
97.	Deltamethrin	130.	Endrin
98.	Tetramethrin	131.	Diethylhexyl phthalate
99.	Cyhalothrin	132.	Trichlorfon
100.	Vinylidene chloride	133.	Fenitrothion
101.	Methylmercury	134.	Cadmium
102.	1-Propanol	135.	Cadmium-environmental aspects
103.	2-Propanol		
104.	Principles for the toxicological assessment of pesticide		

Table 4. Environmental Health Criteria drafts prepared in Japan

No	Title	No	Title
79	Dichlorvos *1,2	105	Selected mycotoxins
82	Cypermethrin *1,2	110	Tricresyl phosphate
87	Allethrins *1	111	Triphenyl phosphate
92	Resmethrins *1	112	Tri- <i>n</i> -butyl phosphate
94	Permethrin *1	132	Trichlorfon *1
95	Fenvalerate *1	133	Fenitrothion *1
96	<i>d</i> -Phenothrin *1	-	Acetonitrile *3
97	Deltamethrin *1	-	LAS and related compounds *3,4
98	Tetramethrin *1	-	Ethylene dibromide (EDB) *3,4

\*1 Draft prepared by the author

\*2 Part of the draft prepared by the author

\*3 Not yet published

\*4 Preparation of the draft was taken over by the author

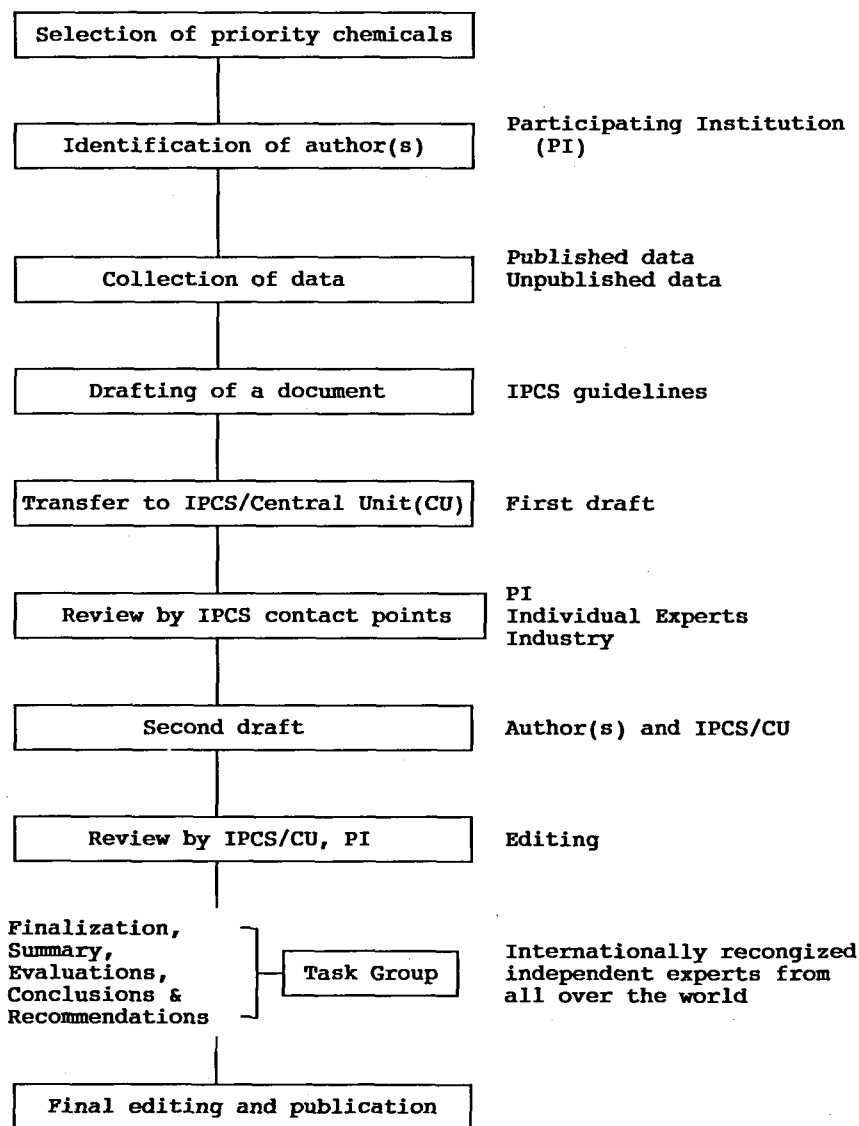


Fig. 1. Development of an Environmental Health Criteria

より各国の関連機関と専門家に回覧され、記述内容の間違いの有無や適切さについてチェックされ、必要に応じて追加、削除すべきデータの提案も含めたコメントが寄せられる<sup>4,5)</sup>。コメントを検討して、参加機関とIPCS (CU) が協力し第二次ドラフトを作成する。最終的に国際的な専門家会議 (タスクグループ会議) により内容が吟味されるとともに、総括、安全性評価、今後必要な調査研究についての勧告が付け加えられて完成する。

### 5. EHC 作成上の問題点と解決

EHC 作成過程において現れた問題点とその解決

策の要点を以下にまとめた。解決策の多くは現在のわれわれのドラフト作成、および執筆指針の改定にも反映されている。

#### 5.1 対象物質、テーマの選択について

(1)優先物質リスト<sup>2)</sup>だけでなく、各国の政府機関などで作られたクライテリア文書があればそれらも参考にすること、(2)国内でドラフト執筆を担当できる適切な専門家がいること、(3)EHC 作成に必要な情報がそろっていること、(4)国内外における関心の高さなどが挙げられる。これまでの経験から、実際的には(1)と(2)が決定的に重要であった。

## 5.2 情報収集と選択について

EHCの章構成 (Table 2) を見てわかるように広範囲の情報を網羅的に収集し、その中から目的に添った情報を選択しなければならない。

オンライン文献検索で得られる公表されたデータだけでなく、未公表のデータをいかに広く収集することも重要なポイントの一つである。特に著者が担当した農薬については、安全性評価上重要な慢性毒性や発がん性のデータ、野外散布による残留分析データなどの多くは企業データまたは政府機関のデータとして公表されておらず、オンライン検索では見出せないため、最初の原稿では“データなし”とされていた。しかしながら、FAO/WHO 合同残留農薬会議 (JMPR) の報告にはこれらのデータが引用されその要約が掲載されていた。しかも JMPR による一日許容摂取量 (ADI) 設定の根拠データの約 8 割はそのような未公表データであった。そこで、著者は IPCS の担当官と協議し、未公表データの利用可能性について提案した。その結果、当初 IPCS は公表文献のみに基づいて EHC を作成することを原則としていたが、国際農薬工業連盟 (GIFAP) と協議し、協定を結ぶことにより農薬メーカーから一定の条件のもとに未公表データを提供してもらうことになった。情報を総合した結果に基づき評価を行うという目的を達成する上で、上記の改善のもつ意味はたいへん大きかった。

## 5.3 執筆者の選任について

EHC 作成において最も重要な鍵の一つである。過去、過度に所内の専門家に分担執筆を依頼したケースがあったが、その労力に対して報酬を支給できないこと、原稿提出期限が守られない時に催促が困難となる場合が生じたなどの問題があった。従って、対象物質につき強い関心を持ちつつ、EHC の作成に協力してもらえらる専門家を所内外を問わず広く探すことが望ましい。

## 5.4 ドラフト作成の責任者について

実際的に最も重要な鍵の一つである。このことについては、ドラフト作成の始めから完成まで責任をもってその進行を管理してゆける人を担当者として選任しなければならない。わが国で担当した EHC の中には完成までに 10 年以上かかり、その中で数度にわたって担当者が交代した例があった。この場合には前任者から後任者へ引用文献の有無や所在などについての引き継ぎが適切に行われなかった、分担執筆に協力された専門家との連絡が長期にわたり

途絶えてしまったなどの問題が生じた。

また、特定の人に担当を集中させることは過度の負担を強いるだけでなく、ドラフトの完成をいたずらに遅らせる結果となるので避けるべきである。著者がこの仕事に参加してすぐ、前年度に作成が開始された 8 件の合成ピレスロイド系農薬、ならびにその年度に作成を開始した 3 件の有機リン系農薬、合計の 11 件の EHC ドラフトの作成を担当することになった。このため、一件のドラフトであれば一年程度で完成できたと思われるのに、相当の努力を重ねても全ての第一次ドラフトを完成させるのに数年を要する結果となった。

## 5.5 記述の仕方について

記述は安全性評価に必要な具体的事実と数値を簡潔に、例えば毒性試験については用量-反応関係がわかるように記すなど基本的な要件を各執筆者に確認しておくことが重要である。わが国において最も早く作成を開始した“LAS and related compounds”では、分担執筆者によっては EHC 作成の目的が正しく理解されていなかったためか、読み物的な原稿を作成したり、引用文献を正しく記述していなかった場合があり、後々まで修正やチェックに大きな手間を必要とすることになった<sup>6)</sup>。

また、体裁を執筆指針に照らして統一する。数値を含めて記述に誤りがないか検討し、英文も意味がとりにくい部分は直す。これらのステップが十分に検討されていることが、後のタスクグループ会議で内容の討議が満足に行えるための前提となった。

## 5.6 完成までの時間について

第一次ドラフトの完成までには、さまざまな理由により多くの年月を要したが、上述したように各ステップにおいて改善を図ることにより相当短縮できるものと考えられる。特にドラフト作成開始時に、協力される専門家を含め EHC 作成の目的、手順、原稿提出期限を含め完成に到るスケジュールについてよく確認しておく必要がある。

また、著者がドラフト作成を担当した合成ピレスロイド系農薬のドラフト 8 件について IPCS より米国 EPA によるレビューを要求されたことがあった。結果的には「たいへん優れた内容であり、追加、訂正の必要なし」との回答を得たが、回答を待つために一年を要した。しかし、われわれの作成したドラフトについて確信をもつことができた。

## 5.7 第二次ドラフトの作成について

第一次ドラフトの完成に数年も要した時には、第

二次ドラフト作成の際に内容の大幅なアップデートが必要となった。1~2週間の間に第一次ドラフトに対して寄せられた数百件のコメントと引用文献を読み、それぞれの英文要約をまとめることを余儀なくされ、第二次ドラフトの頁数が第一次ドラフトの倍近くなったケースもある。

### 5.8 タスクグループ会議について

タスクグループ会議は EHC の国際的性格および、各国政府の影響からのリスク評価の独立という重要な機能をあわせもっている。それらは出席者の人選と専門性において担保されている。タスクグループ会議の主要な目的はドラフトの全体についてその内容を検討するとともに、ドラフトの最も重要な部分である総括と評価を作成し完成させることにある。会議に出席する専門家は、EHCの対象物質について深い知識をもった人、化学、環境、毒性、人への影響のそれぞれの分野の人、安全性評価作業の経験をもった人である必要がある。必要に応じて関連機関（国際がん研究機関：IARC、世界中毒情報センター、企業データを会議のために提供するメーカーの代表など）がオブザーバーとして参加する。内容の検討のためにはドラフトに引用された全ての文献は追加データの引用文献を含め会議の場に用意されていなければならない。議長、ドラフト編集責任者（ライター）、IPCS 担当官は会議事務局を構成しドラフトの完成に責任をもつ。事務局は会議の議論を踏まえて、要約とそれに基づく安全性の評価、今後必要な研究と対策の勧告の原案を作成し、最終日に会議出席者の討議を経て採択する。事務局は EHC が発行されるまでの編集、校正に責任をもつ。

著者は数回の会議でライターを務めたが、ある会議ではフランスの農薬メーカーが自社開発の農薬についてダンボール箱いっぱいのデータを持ち込み、データの追加を次々に要求したため、これらデータのチェックに連日深夜から早朝まで要したことがあった。このため、以後はドラフト作成対象物質のメーカーには、第一次ドラフトの各国供覧の段階での内容の検討を保証するとともに、その段階でのコメントの提出を励行させるように IPCS に提案した。

### 5.9 データのアップデートについて

すでに発刊された EHC に関し新たに重要な知見が得られた時には、関係部分を中心にした追補の巻がつけられる (Table 3 の No. 1 と No. 86, No. 3 と No. 85 を参照)。

## 6. まとめ

今日、化学物質の安全性評価に関して各国や国際機関で多大の労力が払われている<sup>7)</sup>。このようにして得られた情報の国際的な共有と活用が緊要であることはいうを待たない。

わが国においても化学物質に関連した規制を行い各種の基準を設ける上で、行政が専門家による綿密な検討を依頼するシステムが作られている。そこでは化学物質の安全性評価に関連した最新の科学技術の成果を適用した審議がなされているはずである。しかし、検討過程で用いられている方法論や手法について公表された例はあまりない。その理由の一つとしては、化学物質の科学的なリスク評価と、技術的可能性、費用負担などを考慮するリスク管理のプロセスがかなりの程度混在しているからかも知れない。国内においてもしかりであるが、国際的な基準のハーモナイゼーションが強く叫ばれる現在、各国はその規制の科学的根拠について説得力をもって関係者に具体的に説明できなければならなくなってきた。本報告では化学物質のリスク評価およびこれに連なるリスク伝達プロセスの要件の解明を念頭におき、クライテリア文書の一つである EHC の作成をとおして遭遇した問題点とその解決策について記した。

## 謝 辞

合成ピレスロイド系農薬、有機リン系農薬および LAS と関連化合物のドラフト作成にあたっては IPCS の Jager 博士と各タスクグループ会議のメンバー、住友化学工業㈱の宮本純之博士、松尾昌季博士、九州大学の江藤守総博士、東京農大の山本出博士、ライオン㈱の大場健吉博士、武井玲子さん、東京都の若林明子博士、川崎市の吉川サナエさんおよび国立衛生試験所の多くの専門家にたいへんお世話になった。ここに記し感謝する。

## 文 献

- 1) 関沢 純：国際化学物質安全性計画の環境保健クライテリアにみるリスク評価、公害研究, 21 (2), 59~66 (1991)
- 2) 国立衛生試験所化学物質情報部：“化学物質の安全性評価についての国際協力 10 年のまとめ”, pp. 271 (1991)
- 3) IPCS: “Revised guidelines for the preparation of Environmental Health Criteria monographs”, pp. 12, 23 November 1990

- 4) 関沢 純, 森本和滋, 齊藤牧江, 近藤那江: 1991年度にIPCSよりコメント依頼のあった環境保健クライテリア第一次ドラフトについて, 衛生試験, 110, 91~94 (1992)
- 5) 森本和滋, 逸見雅貴子, 神沼二真: EHCの第一次ドラフトへのコメント提供業務に関する若干の改善, 衛生試験, 109, 88~92 (1991)
- 6) 森本和滋, 加納直子, 神沼二真: 陰イオン界面活性剤を対象とした環境保健クライテリアの作成, 衛生試験, 109, 83~87 (1991)
- 7) ECETOC: "Existing Chemicals: Literature Reviews and Evaluations (August 1991)", Technical Report No. 30(4), pp. 210(1991)

## 図書目録のデータベース化について

楊 学坤・関沢 純

### Development of a Database for Registration of Journals in the Library of NIHS

Xunkun Yang and Jun Sekizawa

A database for registration and management of journals in the library of NIHS was developed using dBASE III PLUS software. The database was shown to be useful in searching for journals subscribed in the various divisions of NIHS and for those already expired. Additional data related to accounting on and arrangement of journals will help management of the library.

**Keywords** : database, registration of journals, searching for journals

(Received May 31, 1992)

## はじめに

国立衛生試験所図書室の蔵書数は1991年末現在43600冊余りで、そのうち書籍(単行本)は約8100冊、雑誌は約35800冊である。図書室の専任職員は二人、他に非常勤職員一人である。本図書室では貸し出し業務の他に図書室および各部で購入されている学術雑誌の登録、各部へのコンテンツサービス(目次コピーの配布)、他図書館との間での相互複写サービスなどを行っている。さらに、国立衛生試験所の年報として発行されている衛生試験所報告の編集事務を行っている。図書室ではこれまで毎年その年に購入している図書の目録をキーワードを用いて作成し、配布してきた。著者らは図書室の管理とサービスの向上を目指してパソコンのデータベースソフトウェアdBASE III PLUSを利用した図書目録データベースを試作したので報告する。

dBASE III PLUSは代表的なリレーショナル型データベースソフトとして国内外でこれまで最も広く使われている。入力可能なレコード数とレコード

長、フィールド数の制限が事実上ないこと、対話型のシンプルなコマンド体系のほかに比較的容易なプログラム作成機能も備えているなどの特徴がある。データは直接Lotus 1-2-3のような表、計算ソフトにとりこんでデータ解析やグラフ作成も可能である。なお、本システムは現在図書室が進めている情報整備の準備であり、以下で述べるシステムがそのまま現在実用化されているものでないことをお断りしておく。

## 目 的

図書目録データベース作成の目的は以下のようである。

### 1.1 新しく購入した雑誌の登録

図書目録データベースの作成により雑誌の新規購入開始または一部の雑誌の購入中止に対応し、目録の修正、追加が容易となり常に最新の目録を整備できる。

### 1.2 目的に応じた雑誌の検索とリスト化

利用者による多角的な検索項目による必要な図書

の検索が可能となる。例えば部毎の購入雑誌の検索などの作業も dBASE III PLUS を利用し効率的に行える。

1.3 図書館間の相互貸借への支援

他の図書館との相互貸し出し業務に際し、図書目録データベースを用いて最新の所蔵図書を確認、知らせることができる。

1.4 雑誌の総合的な一括管理の基礎

図書、雑誌の管理だけでなく、会計上の計算を含めた事務の総合的な一括管理のための基礎とすることができる。

1.5 作業能率の向上

図書の管理のため、いくつかの毎年の繰り返し作業が軽減され利用者サービスの向上にもつながる。

方 法

2.1 所蔵の雑誌を整理、登録

これまで行ってきた毎年の目録作成の作業として、所蔵雑誌を整理、登録、チェックし、データベースに登録する目録の正確さを期した。入力されるデータの正確であることがデータベースの要めであることはいままでもない。この時点ではキャノワードを用いて入力がなされていた。

2.2 目録の作成

図書室および各部に所蔵している雑誌をこれまでどおり、和雑誌と洋雑誌に分類しそれぞれの目録を作成した。これら目録には誌名、巻号、所蔵年、継続状況等を登録した。なお、和雑誌と洋雑誌はそれぞれ雑誌名のアルファベット順に配列した。

2.3 データベースの設計

2.2 のようにして作成された目録データをキャノワード→MS-DOS 変換ソフトによりテキストとし、さらに、このテキストを簡便なプログラムによりデータベース入力データとして編集した。図書目録データベースの構造を Table 1 のように設計した。

Table 1. Structure of the journal file\*

Field	Type	Width	Description
name	character	45	name of journal
year	"	50	volume (period) of journal
start	"	10	first volume (period)
last	"	10	last volume (period)
division	"	20	name of division

\* This file is for the journals written not in Japanese

結果と考察

Table 2 に入力したデータの例を示す

図書目録データベースのいくつかの応用例を以下に示す。

Table 3 には部別の収蔵雑誌を検索した結果の出力例を示す。

Table 4 には 1989 年に購入を中止した雑誌の検索した結果の出力例を示す。

今後以下のような項目を追加することで本データベースをさらに有用なものとするのであろう。すなわち、雑誌の受入れの頻度 (月刊, 季刊, 年刊), より詳細な分類 (例えば専門別の分類を入力する), 書庫における配架位置, 購入年月日, 購入先, 出版社, 価格などが考えられる。このような内容を加えることによって図書の総合的な管理が容易になると期待される。また, dBASE III PLUS のデータは, 例えば Lotus 1-2-3 のような表, 計算ソフトにデータをとりこめるので, データの統計的処理やグラフの作成も可能であり, 会計処理や図

Table 2. Example of data in the database

Field	Data
name	Abstracts of Mycology
year	1(1967)-12(1978)
start	1(1967)
last	12(1978)
division	Microbiology*

\*Written in Japanese in the database

Table 3. Example data belonging to a division in NIHS

Names of journals in a division
Acta Endocrinologica
Acta Pharmacologica et toxicologica
Journal of Reproduction and Fertility
Neurobehavioral Toxicology and Teratology
Pharmacology, Biochemistry and Behavior
Pharmacological Reviews
Pharmacology and Toxicology

Table 4. Journals which were expired for collection in 1989

Name of Journal
Bulletin de la Societe Chimique de France
Bulletin of the World Health Organization
FDA Consumer
Immunology Abstracts
Interlending and Document Supply <Interlending Review>
International Journal of Applied Radiation and Isotopes
Journal of Clinical Pharmacology
Journal of High Resolution Chromatography and Chromatography
Methods in Information in Medicine
Naturwissenschaften
Occupational Safety and Health Report
Online

書室の活動紹介の一助にも使うことができる。

**謝辞** 本研究に御指導を賜りました化学物質情報部神沼二真部長に深謝致します。また、色々と御協力いただきました図書係遠山中夫および笹子久美子

の両氏、およびMS-DOS テキストデータをデータベース入力用データとして編集するためのプログラムを用意して下さいました化学物質情報部の五十嵐貴子さんに感謝致します。

#### 国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control 911)

石光 進・泉 若江・村井真美  
小松裕明・小室徹雄・岡田敏史

#### Lysozyme Reference Standard (Control 911) of National Institute of Hygienic Sciences

Susumu Ishimitsu, Wakae Izumi, Mami Murai,  
Hiroaki Komatsu, Tetsuo Komuro and Satoshi Okada

A candidate for the "Lysozyme Reference Standard (Control 911)" 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 drycells of *Micrococcus luteus* as a substrate and compared with that of the Lysozyme Reference Standard (Control 872). Potency of the standard material was in satisfactory agreement with that of the standard and was defined as 1 mg [potency] per mg.

**Keywords** : lysozyme, electrophoretical examination, potency, NIHS Reference Standard

(Received May 31, 1992)

国立衛生試験所第12回リゾチーム標準品 (Control 911) を製造したので報告する。

#### 1. カ価測定

リゾチーム標準品原料 (生化学工業株) のカ価を第11回リゾチーム標準品 (Control 872) 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<sup>1)</sup>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 (生化学工業株) を用いて、日本薬局方外医薬品成分規格<sup>1)</sup>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 872) をデシケータ (シリカゲル) 中で2時間、減圧乾燥し、その約 50 mg (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び高用量標準溶液とする。以下、基質液を用いて既報<sup>2)</sup>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<sup>3)</sup>に記載された定量法にしたがって測定した。

### 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 1 mg 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 15 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 1 mg は 1 mg (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<sup>3)</sup>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<sup>4)</sup>とよく一致した。また、第 11 回リゾチーム標準品 (Control 872) 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<sup>5)</sup>の方法にしたがった。7.5% ポリアクリルアミドゲルを作成し、本原料 2.5  $\mu$ g ~ 500  $\mu$ 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  $\mu$ g 以上の場合に陽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 (Control 872) の約 200 mg 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

Table 1. Activities of the material for Lysozyme Reference Standard

Exp. No.	Activity [mg(potency)]	
	Method-1	Method-2
1	1.003	0.973
2	1.027	1.024
3	1.055	0.986
4	1.037	0.984
5	0.953	0.967
6	1.002	0.990
7	0.988	0.963
8	0.976	0.973
9	1.013	1.018
10	1.027	1.032
11	1.037	1.067
12	1.017	0.998
13	1.022	1.004
14	0.938	1.004
15	1.009	0.994
Mean $\pm$ S.D.	1.007 $\pm$ 0.031	0.998 $\pm$ 0.027

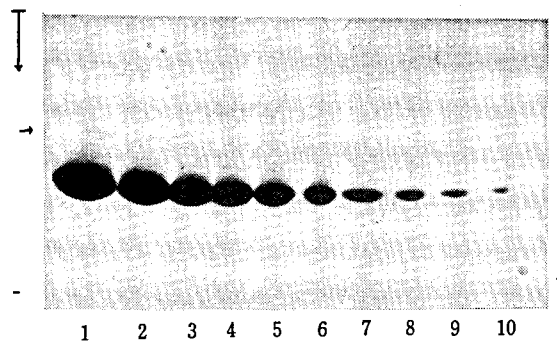


Fig. 1. Polyacrylamide gel electrophoresis of the standard material

7.5% acrylamide gel was used. Applied amounts ( $\mu$ g) of the material were as follows; lanes: 1=500, 2=300, 3=200, 4=150, 5=100, 6=50, 7=20, 8=10, 9=5, 10=2.5. Arrow indicates a site of weak band produced by the impurity substance.

原料およびリゾチーム標準品の乾燥減量はそれぞれ 2.20% (S.D.:  $\pm$ 0.25%, n=3) および 3.01% (S.D.:  $\pm$ 0.75%, n=3) であった。



Table 2. Amino acid composition of the material for Lysozyme Reference Standard

Amino acid	Number of amino acid residues per mole		
	Material (Control:911)	Standard (Control:872)	Theoretical <sup>4)</sup>
Lys	5.8	5.8	6
His	1.2	1.1	1
Arg	11.3	11.2	11
Asp	20.5	20.6	21
Thr‡	6.7	6.8	7
Ser‡	9.8	9.6	10
Glu	5.2	5.2	5
Pro	2.2	2.1	2
Gly	12.1	12.1	12
Ala	11.8	11.8	12
Cys	2.4	2.5	8
Val	6.0	5.9	6
Met	2.2	2.2	2
Ile	5.9	5.8	6
Leu	8.1	8.1	8
Tyr	3.2	3.2	3
Phe	3.0	3.0	3

‡ uncorrected

## ま と め

リゾチーム標準品原料の力価は、定量法-1で  $1.007 \pm 0.031$  mg (力価)、定量法-2では  $0.998 \pm 0.027$  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なかった。標準品原料のアミノ酸組成は標準品 (Control 872) 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 911) とし、その 1 mg はリゾチーム 1 mg (力価) を含むものと定めた。

## 文 献

- 1) 厚生省薬務局審査第二課監修：日本薬局方外医薬品成分規格, pp. 135 (1991)
- 2) 谷本 剛, 福田秀男, 木村俊夫, 山羽 力：国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control 831). 衛生試験報, **102**, 127~129 (1984)
- 3) 小室徹雄, 四方田千佳子, 木村俊夫：国立衛生試験所リゾチーム標準品 (Control 871). 衛生試験報, **107**, 145~147 (1989)
- 4) Canfield, R. E.: Peptides derived from tryptic digestion of egg white lysozyme. *J. Biol. Chem.*, **238**, 2691~2697 (1963)
- 5) Reisfeld, R. A., Lewis, U. J. and Williams, D. E.: Disk electrophoresis of basic proteins and peptides on polyacrylamide gels. *Nature*, **195**, 281~283 (1962)

## 国立衛生試験所塩酸ピリドキシン標準品 (Control 911)

泉 若江・小松裕明・石光 進・岡田敏史

Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 911) of  
the National Institute of Hygienic Sciences

Wakae Izumi, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

The raw material of pyridoxine hydrochloride was examined for preparation of the "Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard". Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 0.00%; pH, 2.87; melting point, 204.6°C (decomposition); infrared spectrum, same as Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 879); thin-layer chromatography, no impurities were detected; assay, 100.0% by non-aqueous titration and 100.0% by UV spectrophotometry.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 911).

**Keywords :** pyridoxine hydrochloride, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard  
(Received May 31, 1992)

第十二改正日本薬局方「塩酸ピリドキシン注射液」の定量試験に用いられる国立衛生試験所標準品(日本薬局方標準品)「塩酸ピリドキシン標準品(Control 911)」を製造したので報告する。

#### 1. 原 料

標準品原料は第一製薬(株)より購入した。同社による試験成績は次のとおりである。

pH: 2.76, 融点: 204.9°C, 乾燥減量: 0.002%, 強熱残分: 0.003%, 窒素: 6.79%, 赤外吸収スペクトル: 日局標準品に一致, 定量: (1)非水滴定法; 100.3%, (2)吸光度測定法; 100.2%, (3)塩素測定法; 100.6%

#### 2. 参照物質および試薬

日本薬局方塩酸ピリドキシン標準品(Control 879)を対照に試験を行った<sup>1)</sup>。試薬は特級品または特級相当品を用いた。

#### 3. 装 置

ヤマト科学 DP22 型真空恒温乾燥器, 宮本理研工業 PA-20S 型融点測定器, 日本分光 Ubest-50 型自記分光光度計, 日本分光 IR-700 型赤外分光光度計を用いた。また, 液体クロマトグラフは島津製作所製の LC-6A 型ポンプ, SPD-6A 型検出器, C-R6A 型データ処理装置を用いた。

#### 4. 試験方法

特に記すもののほかは, 日局「塩酸ピリドキシ

ン」の試験法および一般試験法を準用する。

#### 1. 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ィド薄層板シリカゲル 60F<sub>254</sub> (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒: ジオキサン・アセトン・アンモニア水混液 (45:45:10), 検出: 紫外線照射法 (254 nm)。

#### 2. 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

あらかじめ乾燥させた本品および日局標準品約 3.7 mg ずつを量り, それぞれをメタノール 2 ml に溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。これらの液 15  $\mu$ l につき, 次の条件で分析を行った。

#### 操作条件

検出器: 紫外吸光度計 (波長: 240 nm)

カラム: Inertsil ODS (4.6 mm $\phi$  × 150 mmL)

移動相: 0.05 M リン酸二ナトリウム溶液 (pH 3.6)・メタノール混液 (4:1) に 1-オクタンスルホン酸ナトリウムを 0.1% の割合で加える。

流 速: 0.8 ml/min

カラム温度: 35°C

検出感度: 試料注入量の 1/100 に相当する量を注入するとき, 得られる主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。さらに, こ

の条件で、試料溶液注入量の1/2000に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が必ず検出されるように分析パラメーターを設定する。

#### 5. 試験結果

- 1) 性状：白色の結晶性粉末ではない。
- 2) pH：2.87 (1→50)
- 3) 融点：204.6℃ (分解)
- 4) 乾燥減量：0.00% (1g, 減圧, シリカゲル, 4時間)
- 5) 紫外吸収スペクトルおよび比吸光度：本品の0.02 M 酢酸ナトリウム溶液の紫外吸収スペクトル

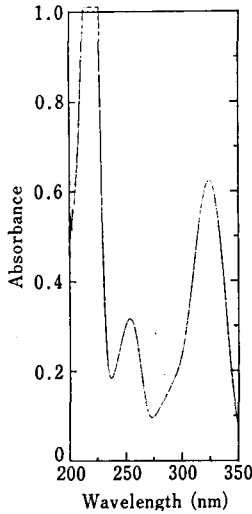


Fig. 1. Ultraviolet spectrum of the material for Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 911)

を測定するとき、波長 324 nm 付近に吸収の極大を認めた。極大吸収波長における比吸光度  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (324 nm) = 359.4 (1.6 mg, 0.02 M 酢酸ナトリウム, 100 ml)。紫外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

6) 赤外吸収スペクトル：本品および前回標準品の赤外吸収スペクトルを臭化カリウム錠剤法により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収を認めた。赤外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。塩酸ピリドキシンの特性吸収波数は 3322, 1544, 1280, 1216, 1019  $\text{cm}^{-1}$  であった。

7) TLC 法による純度試験：本品を乾燥し、その約 20 mg を正確に量り、0.02 M 酢酸ナトリウム 1 ml を加えて溶かし、試料原液とする。試料原液を希釈し (1/40~1/200)、濃度の異なる数種の試料溶液を調製する。別に、標準品 10 mg を量り、0.02 M 酢酸ナトリウム 0.5 ml を加えて溶かし、標準溶液とする。これらの液 1~10  $\mu\text{l}$  (0.1~200  $\mu\text{g}$ ) を薄層板にスポットし、試験方法に記載の方法で展開する。得られた結果を Fig. 3 に示した。試料および標準品とも 200  $\mu\text{g}$  のスポット量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  $\mu\text{g}$  であった。

8) HPLC 法による純度試験：液体クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示す。試料溶液、標準溶液とも不純物ピークは認められず、本品の純度は 100% と推定される。前回標準品についても同一条件での純度試験を行った結果、不純物ピークは検出され

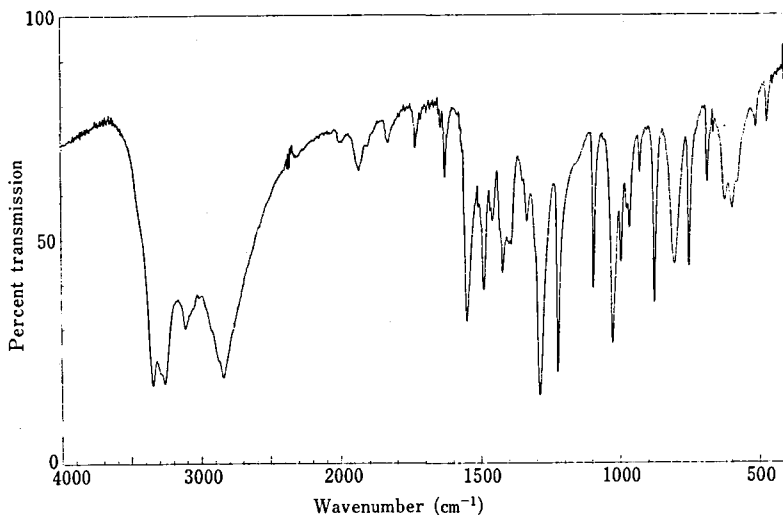


Fig. 2. Infrared spectrum of the material for Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 911)

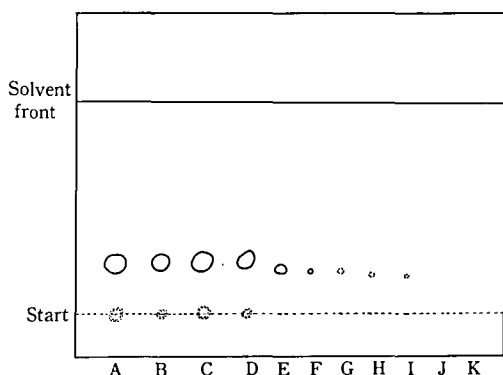


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of the material for Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 911)

Solvent system : dioxane-acetone-28% ammonia (45 : 45 : 10).

A, B : Cont. 879, 200, 100 $\mu$ g ;

C, D, E, F, G, H, I, J, K : material 200, 100, 2.5, 1, 0.5, 0.25, 0.2, 0.15, 0.1  $\mu$ g, respectively.

なかった。

9) 定 量

(a) 非水滴定法：日局「塩酸ピリドキシン」の定量法を準用し、本品約 200 mg を精密に量り、0.1 N 過塩素酸を用いて非水滴定を行った結果、 $100.0 \pm 0.07\%$  (n=3) の定量値が得られた。

(b) 吸光度測定法：日局標準品を対照として吸光度測定法により定量試験を行った結果、 $100.0 \pm 0.10\%$  (n=3) の値が得られた。

結 論

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) として十分な品質を有する

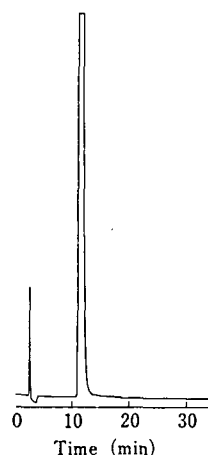


Fig. 4. High-performance liquid chromatogram of the material for Pyridoxine Hydrochloride Reference Standard (Control 911)

Conditions : column, Inertsil ODS (5  $\mu$ m, 4.6 mm $\phi$   $\times$  150 mmL); mobile phase, 0.05 M sodium hydrogenphosphate buffer (pH 3.6)-methanol-sodium 1-octanesulfonate (4 : 1 : 0.005); flow rate, 0.8 ml/min; column temp., 35 $^{\circ}$ C; detection wave length, 240 nm.

ことが認められたので、Control 911 としてその製造・配布を開始した。

終わりに、標準品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。

文 献

- 1) 岡田敏史, 広重律子, 田中正一, 村井真美, 徳永裕司, 木村俊夫：国立衛生試験所塩酸ピリドキシン標準品 (Control 871), 衛生試報, **107**, 168 ~ 170 (1989)

国立衛生試験所トコフェロール標準品 (Control 911)

泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史

Tocopherol Reference Standard (Control 911) of  
the National Institute of Hygienic Sciences

Wakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu,  
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

The raw material for tocopherol was tested for preparation of the "Tocopherol Reference Standard (Control 911)". Analytical data obtained were as follows: infrared spectrum, same as Tocopherol Reference Standard (Control 881); absorptivity,  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (292nm) = 75.5; thin-layer chromatography, no impurities were detected up to 50.0 $\mu$ g; high performance liquid chromatography (HPLC), four impurities were detected; assay, 100.7% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 911).

**Keywords** : tocopherol, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1992)

第十二改正日本薬局方「トコフェロール」の確認試験および定量法に用いられ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 911)” を製造したので報告する。

### 1. 原料

標準品原料はエーザイ(株)より購入した。同社において、分子蒸留法により精製され、窒素気流下で褐色アンブル中に約0.15g量が小分け充填されたものである。同社による試験成績は次のとおりである。

薄層クロマトグラフ (TLC) 法による純度試験: 37.5 $\mu$ g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1.8%。吸光度:  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (292 nm) 75.3 (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

日本薬局方トコフェロール標準品 (Control 881) を対照に試験を行った。試薬は特級品または特級相当品を用いた。

### 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 型自記分光光度計を用いた。また, 液体クロマトグラフは島津製作所製の LC-6A 型ポンプ, SPD-6A 型検

出器, C-R6A 型データ処理装置を用いた。

### 4. 試験方法

特に記すもののほかは, 日局「トコフェロール」の試験法および一般試験法を準用した。

#### 1) TLC 法による純度試験

薄層板: メルク社製プレコートッド薄層板シリカゲル 60 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒: トルエン, 試料溶液および標準溶液: 原料および標準品 0.010 g をとり, ヘキサン 2.0 ml を加えて溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。操作法および検出法: 試料溶液および標準溶液の 2.5~10 $\mu$ l をシリカゲル薄層板にスポットし, 約 15 cm 展開したのち, 風乾する。薄層板に濃硫酸を均等に噴霧したのち, 110 $^{\circ}$ C で 15 分間加熱し, 直ちに白色光下で観察する<sup>1)</sup>。

#### 2) HPLC 法による純度試験

原料および標準品約 0.02 g ずつを量り, それぞれを無水エタノール 3.5 ml に溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。これらの液 10 $\mu$ l につき, 次の条件で分析を行った。

操作条件

検出法: 紫外吸光光度計 (波長: 292 nm)

カラム: ULTRON N-C18L

(4.6 mm $\phi$  × 150 mmL)

移動相：メタノール・水混液 (9 : 1)

流量：0.8 ml/min

カラム温度：40℃

検出感度：試料注入量の 1/100 に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約 10% の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。さらに、この条件で、試料注入量の 1/2000 に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が必ず検出されるように分析パラメーターを設定する。

5. 試験結果

- 1) 性状：黄色澄明の粘性の液で、においはない。
- 2) 赤外吸収スペクトル：本品および標準品の赤外吸収スペクトルを液膜法 (NaCl 板) により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められた (Fig. 1)。
- 3) 紫外吸収スペクトル：日局の方法で調製した本品のエタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長 292 nm に吸収の極大が認められた。極大吸収波長における比吸光度  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (292 nm) : 75.5 (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：薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。試料溶液、標準溶液とも 50  $\mu\text{g}$  まで異種スポットは認められなかった。本法による検出限界は、0.08  $\mu\text{g}$  であった。
- 5) HPLC 法による純度試験：液体クロマトグラムを Fig. 4 に示す。試料溶液、標準溶液ともほぼ同一の保持時間のところに 4 個の不純物ピークが

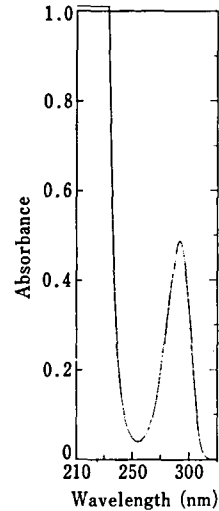


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Tocopherol Reference Standard (Control 911)

検出された。面積百分率法による不純物の総量は原料で 1.5%、標準品で 1.6% と推定され、前回標準品とはほぼ同品質の原料であることが確認された。

- 6) 定量：前回標準品を対照に HPLC 法により、本品の定量を行うとき、 $100.7 \pm 0.2\%$  ( $n=3$ ) の定量値が得られた。

結 論

標準品原料として入手したトコフェロール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

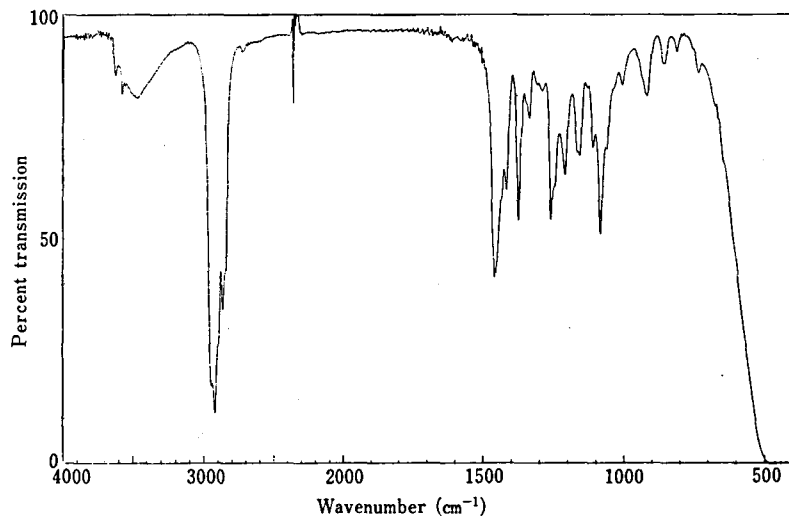


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Tocopherol Reference Standard (Control 911)

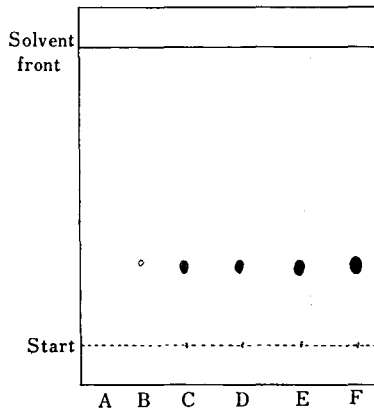


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of the material for Tocopherol Reference Standard (Control 911)

Solvent system : toluene

A, B, C, D, E, F : material 0.06, 0.08, 12.5, 25, 37, 5, 50  $\mu$ g, respectively.

(日本薬局方標準品)として十分な品質を有することが認められ、Control 911として製造・配布を開始した。

終わりに、標準品製造にあたりご協力いただきましたエーザイ(株)に深謝いたします。

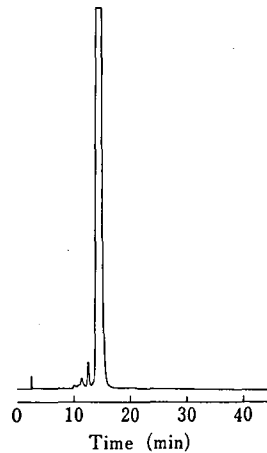


Fig. 4. High-performance liquid chromatogram of the material for Tocopherol Reference Standard (Control 911)

Conditions : column, ULTRON N-C18L (4.6 mm $\phi$   $\times$  150 mmL); mobile phase, water-methanol (1 : 9); flow rate, 0.8 ml/min; column temp., 40 $^{\circ}$ C; detection wave length, 292 nm.

## 文 献

- 1) 勝井五一郎, 大前雅彦, 江沢敏一, 江沢 総 : トコフェロール, 酢酸トコフェロールおよびコハク酸トコフェロール標準品に関する研究. 医薬品研究, 16, 506~514 (1985)

## 国立衛生試験所プレドニゾロン標準品 (Control 911)

泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史

Prednisolone Reference Standard (Control 911) of  
the National Institute of Hygienic SciencesWakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu,  
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

Prednisolone was tested for preparation of the "Prednisolone Reference Standard (Control 911)". The quality of raw material was examined and compared with the previous Reference Standard (Control 872). Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 0.10%; melting point, 233.2°C (decomposition); optical rotation,  $[\alpha]_D^{20} + 98.77^\circ$ ; UV spectrum,  $\lambda_{\max} = 243\text{nm}$ ; absorptivity,  $E_{1\text{cm}}^{1\%}(243\text{nm}) = 413.5$ ; IR spectrum, 1711, 1612, 1110, 888 $\text{cm}^{-1}$ ; one impurity was detected by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), respectively; assay, 100.1% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 911).

**Keywords** : prednisolone, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1992)

第十二改正日本薬局方「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㈱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%以下の不純物ピーク2個が認められている。また、日局標準品を対照とする液体クロマトグラフ (HPLC) 法による定量試験により99.9%の値が得られている。

### 2. 参照物質および試験

日局標準品 (Control 872) を対照に試験を行った。TLCによる純度試験においては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。試薬は特級品または特級相当品を用いた。

### 3. 装 置

ヤマト科学 DP-22 型真空恒温乾燥器, 宮本理研工業 PA-20S 型融点測定器, 日本分光 DIP-370 型旋光計, 日本分光 Ubest-50 型自記分光光度計, 日本分光 IR-700 型赤外分光光度計を用いた。また、液体クロマトグラフは島津製作所製の LC-6A 型ポンプ, SPD-6A 型検出器, C-R6A 型データ処理装置を用いた。

### 4. 試験方法

特に記すもののほかは、日局「プレドニゾロン」の試験法および一般試験法を準用した。

#### 1) TLC 法による純度試験

薄層板：メルク社製プレコーテッド薄層板シリカゲル 60F<sub>254</sub> (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒：(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), 検出：紫外線 (254 nm) 照射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。

#### 2) HPLC 法による純度試験

日局収載の順相系による分析に代えて逆相系による分析を行った。HPLC の分析条件は以下のとおりである。



## 操作条件

検出法：紫外吸光度計（波長：243 nm）

カラム：Inertsil ODS-2 (4.6 mmφ×250 mmL)

移動相：アセトニトリル・水混液 (27:73) に酢酸とトリエチルアミンをそれぞれ0.5%および1.0%の割合で加える。

流速：0.7 ml/min

カラム温度：35℃

検出感度：試料注入量の1/100に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約10%の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。さらに、この条件で、試料注入量の1/2000に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が必ず検出されるように分析パラメーターを設定する。

## 5. 試験結果

- 1) 白色の結晶性粉末ではない。
- 2) 融点：233.2℃（分解）
- 3) 旋光度  $[\alpha]_D^{20}$ ：+98.8°（乾燥後，0.1 g，ジオキサン，10 ml，100 mm）
- 4) 乾燥減量：0.10%（0.5 g，105℃，3時間，減圧）
- 5) 紫外吸収スペクトルおよび吸光度：本品のメタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長243 nm付近に吸収の極大が認められた（Fig. 1）。極大吸収波長における比吸光度  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ：413.5（243 nm，メタノール）。

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<sup>1)</sup>。乾燥した試料および標準品の赤外吸収スペクトルを臭化カリウム錠剤法により測定し、両者のスペクトルを比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認め、結晶多形の影響は観察されなかった。本品の赤外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。

7) TLC法による純度試験：本品および日局標準品の50または100 μg，ヒドロコルチゾンの1 μg および酢酸プレドニゾロンの0.5 μg をスポットし、2種の溶媒系で展開し、UV照射法（254 nm）によ

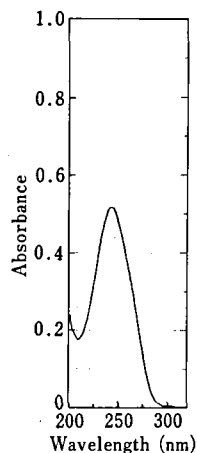


Fig. 1. Ultraviolet spectrum of the material for Prednisolone Reference Standard (Control 911)

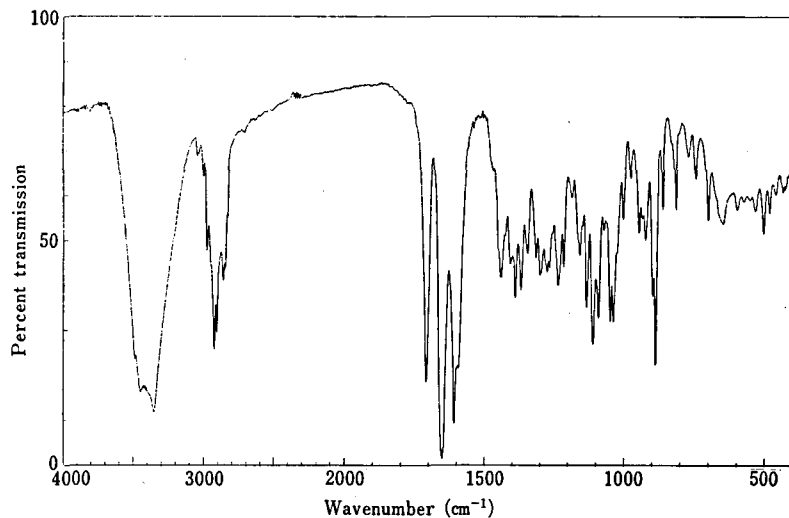


Fig. 2. Infrared spectrum of the material for Prednisolone Reference Standard (Control 911)

り観察した結果を Fig. 3, 4 に示した。ベンゼン・メタノール混液では  $R_f$  値が小さく ( $R_f$  0.09), 展開溶媒として不十分であった。いずれの展開溶媒系においても微量の不純物スポット 1 個が検出され、 $R_f$  値よりヒドロコルチゾンと推定された。また、本品と日局標準品の薄層クロマトグラムに差異は認められなかった。

なお、本法の検出限界は  $0.1 \mu\text{g}$  であり、検出法、展開溶媒、ステロイドの種類による差異は認められなかった。

8) HPLC 法による純度試験および定量：

純度試験 本品  $4.7 \text{ mg}$  を正確に量り、移動相  $10 \text{ ml}$  に溶解して試料溶液とし、この液  $10 \mu\text{l}$  を注入して得られた液体クロマトグラムの一例を Fig. 5 に示した。保持時間  $21.3 \text{ 分}$  に不純物ピーク 1 個が検出されたが、主ピークとの完全分離は困難であった。この不純物は保持時間からヒドロコルチゾンと推定され、TLC による純度試験の結果とも一致する。面積百分率法より求められる不純物量は  $0.05 \%$  ( $\text{RSD}=0.01\%$ ,  $n=6$ ) と推定される。

定量 日局標準品を対照とし、けい皮酸を内標準として HPLC 法により定量試験を行った結果、

$100.1\%$  ( $n=9$ ,  $\text{RSD}=0.35\%$ ) の試験成績が得られた。

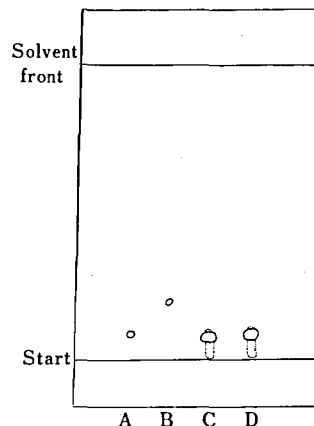


Fig. 4. Thin-layer chromatogram of the material for Prednisolone Reference Standard (Control 911)

Solvent system : benzene-methanol

A : Hydrocortisone  $1 \mu\text{g}$ ,

B : prednisolone acetate  $0.5 \mu\text{g}$ ,

C, E : material, previous Reference Standard  $100 \mu\text{g}$ , respectively.

Detection : UV ( $254 \text{ nm}$ ).

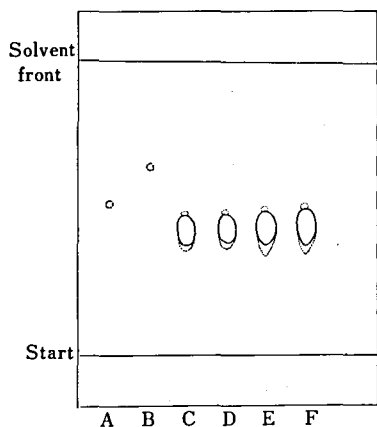


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of the material for Prednisolone Reference Standard (Control 911)

Solvent system : dioxane-cyclohexane (4 : 3)

A : Hydrocortisone  $1 \mu\text{g}$ ,

B : prednisolone acetate  $0.5 \mu\text{g}$ ,

C, E : material  $50, 100 \mu\text{g}$ ,

D, F : previous Reference Standard  $50, 100 \mu\text{g}$ , respectively,

Detection : UV ( $254 \text{ nm}$ ).

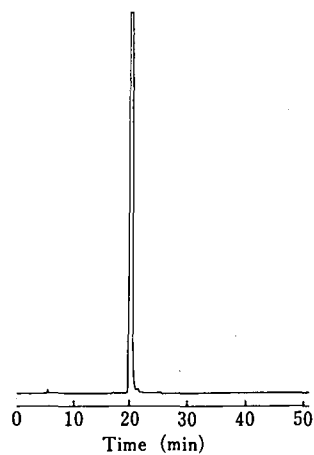


Fig. 5. High-performance liquid chromatogram of the material for Prednisolone Reference Standard (Control 911)

Conditions : column, Inertsil ODS-2 ( $4.6 \text{ mm}\phi \times 250 \text{ mmL}$ ); mobile phase, acetonitrile-water-acetic acid-triethylamine (27 : 73 : 0.5 : 1); flow rate,  $0.7 \text{ ml/min}$ ; column temp.,  $35^\circ\text{C}$ ; detection wavelength,  $243 \text{ nm}$ .

## 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）として十分な品質を有することが認められたので、Control 911として製造・配布を開始した。

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㈱に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 大場琢磨, 小山良子: 赤外吸収スペクトルの医薬品試験における応用 (第16報) 局方医薬品の polymorphism に関する研究 (その2). 衛生試験報, 84, 1~4 (1966)

国立衛生試験所 *d*-カンフル標準品 (Control 911) および  
*dl*-カンフル標準品 (Control 911)

泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史

*d*-Camphor Reference Standard (Control 911) and *dl*-Camphor Reference Standard (Control 911) of the National Institute of Hygienic Sciences

Wakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu,  
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

The raw materials of *d*-camphor and *dl*-camphor were examined for preparation of the “*d*-Camphor Reference Standard” and “*dl*-Camphor Reference Standard”. Analytical data obtained were as follows: ultraviolet spectrum,  $\lambda_{\max}=290\text{nm}$ ; infrared spectrum, 2958, 1742, 1045 $\text{cm}^{-1}$ ; optical rotation,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+42.7^{\circ}$  (*d*-camphor),  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=-0.3^{\circ}$  (*dl*-camphor); melting point, 180 $^{\circ}\text{C}$  (*d*-camphor), 179 $^{\circ}\text{C}$  (*dl*-camphor); gas-chromatography (GC), one impurity was detected in *d*-camphor and three impurities in *dl*-camphor; assay, 99.5% (*d*-camphor), 99.5% (*dl*-camphor) by GC.

Based on the above results, these raw materials were authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 911).

**Keywords** : *d*-camphor, *dl*-camphor, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1992)

第十二改正日本薬局方「*d*-カンフル」および「*dl*-カンフル」の定量法に用いる国立衛生試験所標準品（日本薬局方標準品）“*d*-カンフル標準品 (Control 911)” および “*dl*-カンフル標準品 (Control 911)” を製造したので報告する。

### 1. 原 料

大正製薬㈱より供与された。

### 2. 試 薬

日局 *d*-カンフル標準品 (Control 902) および *dl*-カンフル標準品 (Control 902) を対照物質として用いた<sup>1)</sup>。試薬は特級品または特級相当品を用いた。

### 3. 装 置

日本分光 Ubest-50 型自記分光光度計, 日本分光 IR-700 型赤外分光光度計, 宮本理研工業 PA-20S 型融点測定器, 日本分光 DIP-370 型旋光計を用いた。また, ガスクロマトグラフは島津製作所製の GC-8A 型およびデータ処理装置 C-R6A 型を用いた。

### 4. 試験方法

特に記すもののほかは, 日局「*d*-カンフル」, 「*dl*-カンフル」の試験法および一般試験法を準用した。

ガスクロマトグラフ法による純度試験: 原料約 0.040 g を精密に量り, エタノールに溶かして正確

に 2 ml とし、試料溶液とする。この液 2  $\mu$ l につき、次の条件でガスクロマトグラフ法による純度試験を行った。

操作条件

カラム：内径 3.2 mm、長さ 3 m のガラス管にポリエチレングリコール 20 M を、酸およびジメチルジクロロシラン処理した 180~250  $\mu$ m のガスクロマトグラフ用ケイソウ土に 10% の割合で被覆した充填カラム (10% PEG 20M Chromsorb WAW-DMCS (60/80 Mesh), ガスクロ工業)。

カラム温度：110 $^{\circ}$ C

キャリアーガス：窒素

流量：*d*-および *dl*-カンフルの保持時間が約 13 分になるように調整する。

検出器：水素炎イオン化検出器

検出感度：試料注入量の 1/100 に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの高さが、フルスケールの約 1/10 になるように記録計の感度を調整する。さらに、この条件で試料注入量の 1/2000 に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が必ず検出されるように分析パラメーターを設定する。

### 5. 試験結果

1) 性状：無色の結晶性の粉末で、特異な芳香があり、味はわずかに苦い。

2) 紫外吸収スペクトル：*d*-および *dl*-カンフル約 0.120 g を精密に量り、それぞれエタノールを加えて正確に 50 ml とし、エタノールを対照に紫外吸収スペクトルを測定した結果、波長 290 nm 付近に吸収の極大を示した。極大吸収波長における比吸光度、 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (290 nm) は *d*-体で 2.04, *dl*-体で 2.05 であった。紫外吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

3) 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、*d*-体、*dl*-体とも波数 2958, 1742, 1045  $\text{cm}^{-1}$  付近に特性吸収が認められた。また、*d*-、*dl*-体とも吸収波数とその強度は標準品の吸収スペクトルと一致した。赤外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。

4) 旋光度  $[\alpha]_D^{20}$  (0.2 g, 無水エタノール, 100 mm)：*d*-体, +42.7 $^{\circ}$ ；*dl*-体, -0.3 $^{\circ}$

5) 融点：*d*-体, 180 $^{\circ}$ C；*dl*-体, 179 $^{\circ}$ C

6) ガスクロマトグラフ法による純度試験：*d*-カンフルでは面積百分率 0.05% 以上の不純物 1 個が検出され、不純物量 0.55% と推定された。保持時間から不純物の種類は *d*-カンフル標準品のそれ

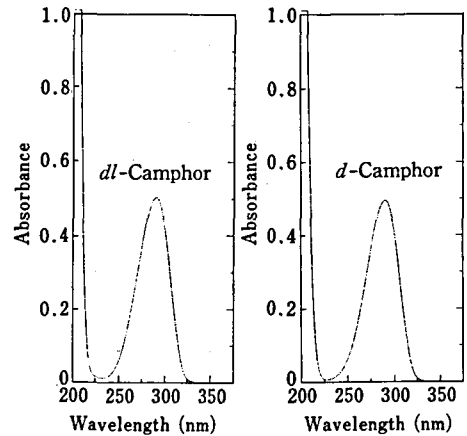


Fig. 1. Ultraviolet spectra of the materials for *d*-Camphor Reference Standard (Control 911) and *dl*-Camphor Reference Standard (Control 911)

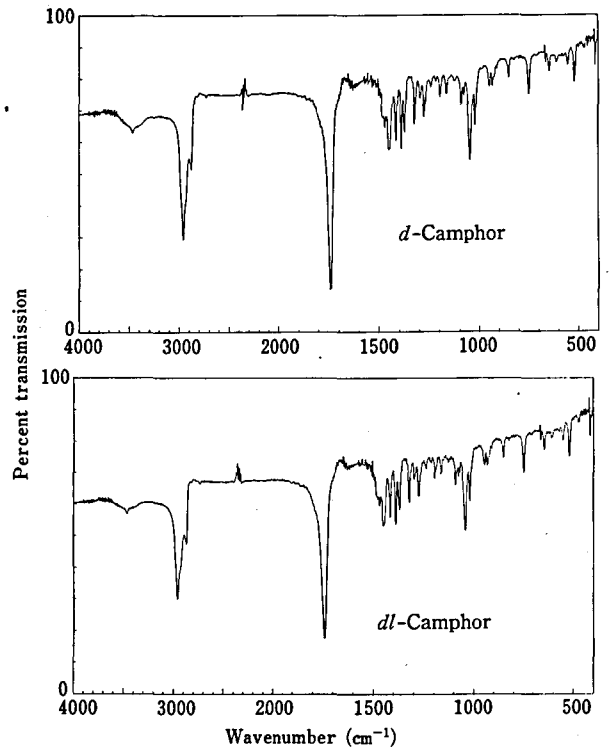


Fig. 2. Infrared spectra of the materials for *d*-Camphor Reference Standard (Control 911) and *dl*-Camphor Reference Standard (Control 911)

と同一物と推定された。標準品の不純物量は0.36%と推定された。

一方、*dl*-カンフルでは面積百分率0.05%以上の不純物3個が検出され、不純物総量は0.77%と推定された。保持時間から不純物の種類は*dl*-カンフル標準品の不純物と同一物であると推定された。標準品の不純物総量は0.46%と推定された。

なお、本純度試験はカラム温度110℃で行われたが、前回標準品原料の純度試験は130℃で行われた。試験結果に直接影響するものではないが、再現性および主成分と不純物の分離性を考慮するとカラム温度130℃とする方がよいと思われる。

ガスクロマトグラムの一例をFig. 3に示す。

7) 定量：日局標準品を対照にガスクロマトグラフ法により定量するとき、*d*-カンフルでは99.5±0.01% (n=4)、*dl*-カンフルでは99.5±0.01% (n=3)の定量値が得られた。なお、定量法におけるガスクロマトグラフ法の操作条件は純度試験の方法を準用し、内部標準溶液にはサリチル酸メチルの無水エタノール溶液(1→25)を用いた。

## 結 論

新たに標準品原料として入手した*d*-カンフルおよび*dl*-カンフルを日局標準品(Control 902)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)として十分な品質を有することが認められたので、Control 911としてそれぞれの製造・配布を開始した。

終わりに、本標準品の製造にあたり、ご協力いた

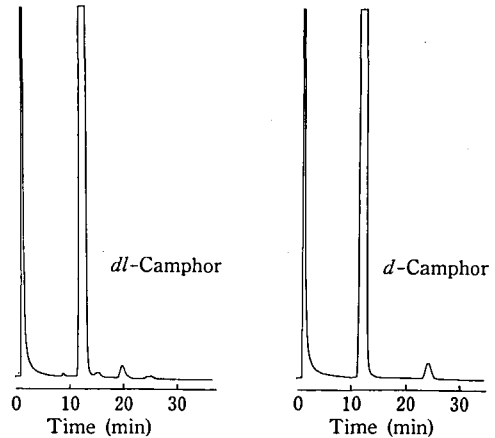


Fig. 3. Gas-chromatograms of the materials for *d*-Camphor Reference Standard (Control 911) and *dl*-Camphor Reference Standard (Control 911)

Conditions: column, 10% PEG 20M on Chromosorb WAW-DMCS (60/80 mesh), 3.2 mm $\phi$  × 3 m; column temp., 110℃; carrier gas, nitrogen; detector, FID.

いただきました大正製薬(株)に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 村井真美, 寛 華子, 小松裕明, 石光 進, 岡田敏史: 国立衛生試験所*d*-カンフル標準品(Control 901) および *dl*-カンフル標準品 (Control 901), 衛生試験, 109, 176~178 (1991)

## 国立衛生試験所酢酸トコフェロール標準品 (Control 911)

泉 若江・村井真美・小松裕明・石光 進・岡田敏史

Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 911) of  
the National Institute of Hygienic SciencesWakae Izumi, Mami Murai, Hiroaki Komatsu,  
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

The raw material for tocopherol acetate was tested for preparation of the "Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 911)". Analytical data obtained were as follows: infrared spectrum, same as Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 881); absorptivity,  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (284nm) = 43.5; thin-layer chromatography, no impurities were detected up to 50.0  $\mu\text{g}$ ; high performance liquid chromatography (HPLC), two impurities were detected; assay, 100.3% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Standard (Control 911).

**Keywords** : tocopherol acetate, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1992)

第十二改正日本薬局方「酢酸トコフェロール」の確認試験および定量法に用いられ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 911)」を製造したので報告する。

### 1. 原 料

標準品原料はエーザイ(株)より購入した。同社において、分子蒸留法により精製され、窒素気流下で褐色アンプル中に約0.15 g量が小分け充填されたものである。同社による試験成績は次のとおりである。

薄層クロマトグラフ(TLC)法による純度試験：37.5  $\mu\text{g}$ 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1.0%。吸光度： $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (284 nm) 43.5 (0.01 g, 無水エタノール, 100 ml)。定量：100.3% (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 881) を対照物質とした。試薬は特級品または特級相当品を用いた。

### 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型自記分光光度計を用いた。また, 液体クロマトグラフは島津製作所製のLC-6A型ポンプ, SPD-6A型検

出器, C-R6A型データ処理装置を用いた。

### 4. 試験方法

特に記すもののほかは, 日局「酢酸トコフェロール」の試験法および一般試験法を準用した。

#### 1) 薄層クロマトグラフ法による純度試験

薄層板：メルク社製プレコーテッド薄層板シリカゲル60 (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒：トルエン, 試料溶液および標準溶液：原料および標準品0.01 gをとり, ヘキサン2.0 mlを加えて溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。操作法および検出法：試料溶液および標準溶液2.5~10  $\mu\text{l}$ を薄層板にスポットし, 約15 cm展開したのち, 風乾する。濃硫酸を均等に噴霧したのち, 110°Cで15分間加熱し, 直ちに白色光下で観察する<sup>1)</sup>。

#### 2) 液体クロマトグラフ法による純度試験

原料および標準品約0.02 gずつを量り, それぞれを無水エタノール2.5 mlに溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。これらの液10  $\mu\text{l}$ につき, 次の条件で分析を行った。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (波長：284 nm)

カラム：ULTRON N-C18L

(4.6 mm $\phi$ ×150 mmL)

移動相：メタノール・水混液 (95 : 5)

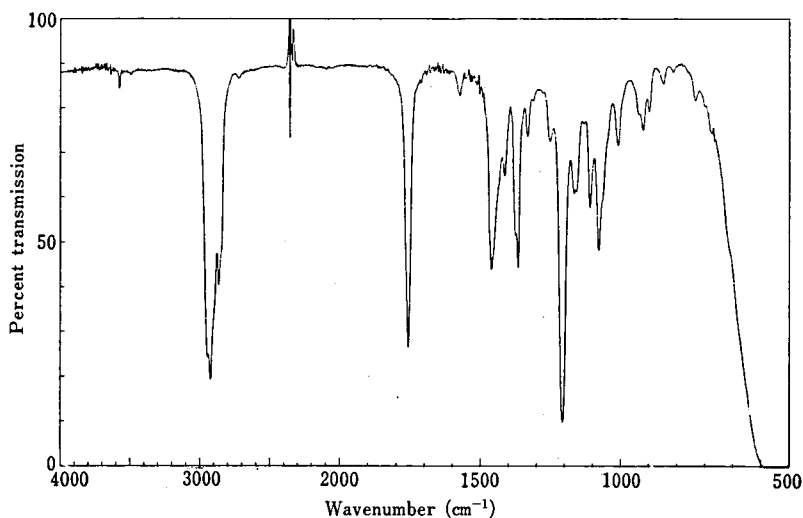


Fig. 1. Infrared spectrum of the material for Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 911)

流量：0.6 ml/min

カラム温度：40℃

検出感度：試料注入量の1/100に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約10%の高さになるように検出器の出力あるいは記録計の感度を調整する。さらに、この条件で、試料注入量の1/2000に相当する量を注入するとき、得られる主ピークの面積が必ず検出されるように分析パラメーターを設定する。

### 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、日本薬局方標準品の吸収スペクトルと比較するとき、同一波数のところに、ほぼ同一強度の吸収を認めた。

3) 紫外吸収スペクトルおよび比吸光度：本品のエタノール溶液の紫外吸収スペクトルを測定するとき、波長 284 nm 付近に吸収の極大を認めた。極大吸収波長における比吸光度  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  (284 nm) = 43.5 (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) 薄層クロマトグラフ法による純度試験：試料溶液および標準溶液とも、スポット量 50  $\mu\text{g}$  まで異種スポットは認められなかった。また、本法による検出限界は 0.05  $\mu\text{g}$  であった。薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。

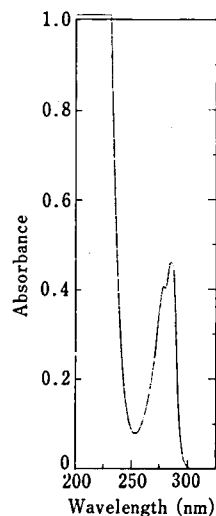


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the material for Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 911)

5) 液体クロマトグラフ法による純度試験：液体クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示す。試料溶液、標準溶液とも面積百分率 0.05% 以上の不純物ピーク 2 個が認められた。保持時間から 2 個の不純物は両者で同一のものと推定された。面積百分率から推定される不純物総量は原料で 1.0%、標準品で 1.1% と推定された。

6) 定量：現行標準品を対照に液体クロマトグラフ法による定量試験を行った結果、 $100.30 \pm 0.01\%$  ( $n=4$ ) の値が得られた。なお、定量試験における

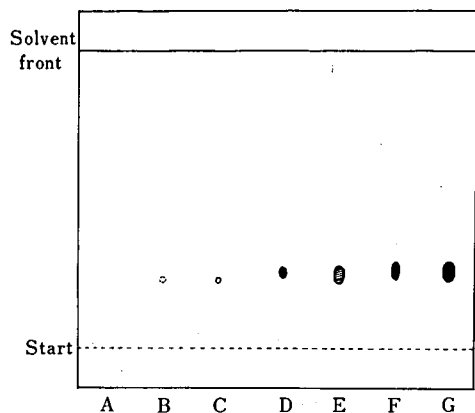


Fig. 3. Thin-layer chromatogram of the material for Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 911)

Solvent system : toluene.

A, B, C, D, E, F, G : material 0.03, 0.05, 0.07, 12.5, 25, 37.5, 50 $\mu$ g, respectively.

液体クロマトグラフ法の操作条件は純度試験の方法を準用した。

### 結 論

酢酸トコフェロール標準品原料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）として十分な品質を有することを認め、Control 911 として製造・配布を開始した。

終わりに、標準品製造にあたりご協力いただきましたエーザイ(株)に深謝いたします。

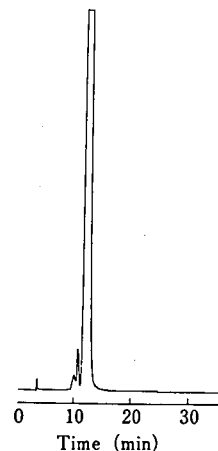


Fig. 4. High-performance liquid chromatogram of the material for Tocopherol Acetate Reference Standard (Control 911)

Conditions : column, ULTRON N-C18L (4.6 mm $\phi$   $\times$  150 mmL); mobile phase, water-methanol (5 : 95); flow rate, 0.6 ml/min; column temp., 40 $^{\circ}$ C; detection wave length, 284 nm.

### 文 献

- 1) 勝井五一郎, 大前雅彦, 江沢敏一, 江沢 総 : トコフェロール, 酢酸トコフェロールおよびコハク酸トコフェロール標準品に関する研究. 医薬品研究, 16, 506~514 (1985)



## 単味イブプロフェン内服固形製剤における品質評価

宮崎玉樹・四方田千佳子・岡田敏史・小室徹雄\*<sup>1</sup>

## Quality Tests for Ibuprofen Preparations

Tamaki Miyazaki, Chikako Yomota, Satoshi Okada and Tetsuo Komuro\*<sup>1</sup>

Ibuprofen preparations were tested with a view to checking their quality by physical methods such as determination, disintegration and dissolution tests. These studies were carried out on 48 kinds of commercial ibuprofen preparations. The drug content of each preparation was measured by spectrophotometry (264nm), and the values were in the range of 90-110%. In the disintegration tests of 36 tablets, a few tablets of two preparations failed to disintegrate completely after 60 minutes. However the number of such tablets was within the limit specified in JP. The dissolution test described in the USP monograph was also applied to the 36 tablets, and it was found that 9 tablets failed the test provision that over 70% of the tablets must be dissolved within 30 minutes.

**Keywords :** Ibuprofen preparations, disintegration test, dissolution test

(Received May 31, 1992)

イブプロフェンは非ステロイド系の解熱鎮痛抗炎症薬であり、現在国内では多数のメーカーによって細粒剤、顆粒剤、錠剤および坐剤として合わせて60以上の製品が製造されている。そこで、医薬品等一斉取締り試験の対象として単味のイブプロフェン経口製剤を取り上げ、品質評価試験を行った。主薬の定量、崩壊試験および溶出試験について検討したところ、溶出試験において若干の問題点が見出されたので報告する。

## 実験方法

## 1. 試料

平成2年度の医薬品等一斉取締り試験として収去された単味のイブプロフェン内服固形製剤を用いた。収去数は48検体で、その内訳は錠剤(200mg/Tab, 100mg/Tab, 75mg/Tab)が36検体、顆粒剤(200mg/g)が7検体、細粒剤(500mg/g, 200mg/g)が5検体であった。

## 2. 定量試験

製剤中のイブプロフェンの定量は吸光度測定法により行った。吸光度測定は、日本分光Ubest-50型分光光度計により行った。

錠剤は20個以上をとり、糖衣錠の場合は水で糖

衣を除去し、乾燥後、総重量を精密に量り、乳鉢中で粉砕し、試料とする。各試料につきイブプロフェン約1000mgに対応する量を精密に量り、メタノール100mlを加えて振り混ぜ、ろ過する。ろ液が濁っている場合には、さらにミリポアフィルター(0.45 $\mu$ m)によりろ過する。ろ液2mlを正確に量り、メタノールを加えて正確に50mlとし、試料溶液とする。別に、イブプロフェン標準品(USP RS)50mgを精密に量り、メタノールを加えて溶かし、正確に50mlとする。この液8mlにメタノールを加えて正確に20mlとし、標準溶液とする。

試料溶液および標準溶液の波長264nmにおける吸光度 $A_T$ および $A_S$ を測定し、試料中のイブプロフェン含量を求める。

$$\begin{aligned} & \text{イブプロフェンの量 (mg)} \\ & = \text{標準品の量 (mg)} \times A_T / A_S \end{aligned}$$

## 3. 崩壊試験

イブプロフェン錠はすべて剤皮を施した錠剤であったため、日局に準じ、第1液(pH1.2)で試験を行った。ただし、崩壊の遅かったものについては試験液を水として再試験を行った。また、試験中は継続的に錠剤を観察し、崩壊時間を測定した。

装置：恒温槽付錠剤崩壊試験器(富山産業㈱)  
(補助盤使用)

\*<sup>1</sup> 大阪赤十字病院

#### 4. 溶出試験

イブプロフェン錠は日局未収載のため、溶出試験は USP "Ibuprofen Tablet" の溶出試験法にしたがい、回転バスケット法 (150 rpm) により行った。装置：自動溶出試験システム (富山産業㈱) 試験液：リン酸塩緩衝液 900 ml (pH 7.2, 37°C)

#### 結果と考察

##### 1. 定量試験

単味イブプロフェン製剤 48 検体中のイブプロフェンの定量値は表示量に対し 90~110% の範囲内にあり、全検体とも承認時の含量規格に適合していた (Table 1)。

##### 2. 崩壊試験

第 1 液では、錠剤 36 検体のうちほとんどが 30 分以内に崩壊したが、60 分以内に 6 錠すべての崩壊が認められない例が、2 検体で観察された。しかし、この場合でも日局に従って新たに 6 錠をとって再試験を行ったところ、規格に適合した。この 2 検体につき、さらに試験液を水に替えて再試験を試みた結果、各検体の崩壊時間は第 1 液と水との間で大きな差は認められず、各錠剤とも中酸性領域での崩壊性はほぼ一定であることが明かとなった。

##### 3. 溶出試験

イブプロフェン錠 36 検体の溶出試験の結果を整理すると、A~E の 5 種の溶出パターンに分類される (Fig. 1)。大部分は A、または B のパターンを示し、C、D、E は各 1 検体ずつで観察された。パターン A では薬物は試験開始後、ただちに溶出したが、B および C ではラグタイムがみられ、一定時間後に急速な溶出がみられた。一方、パターン D、E では、徐放剤的な放出挙動がみられ、特に E の場合には 70% 溶出に約 15 時間を要した。

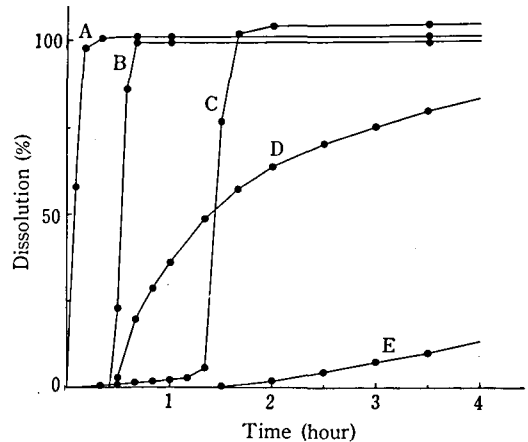


Fig. 1. Dissolution profiles of ibuprofen tablets

#### 4. 溶出試験と崩壊試験の関係

崩壊試験および溶出試験を行った 36 錠剤について崩壊時間と 70% 溶出時間 (平均値) の関係を Fig. 2 に示した。崩壊時間が 60 分を超える錠剤を含む 2 検体では、崩壊時間のばらつきが大きいので、60 分以内に崩壊した錠剤についての崩壊時間とばらつきの範囲を示した。なお、Fig. 2 中の A~E は、Fig. 1 で代表的な溶出パターンとして選んだそれぞれの錠剤の位置を示している。崩壊時間と 70% 溶出率の関係を比較すると、崩壊時間の早い A 付近の錠剤では溶出はほぼ崩壊律速と見なせるが、B 付近のものでは、溶出時間がほぼ同じものでも崩壊時間にかなり差が見られた。また、D のように崩壊が速く溶出が遅い傾向のものも見られ、E での特異な溶出の遅延は崩壊試験からは予測できないものであった。

USP XXII のイブプロフェン錠の溶出試験規格によれば、30 分以内に表示量の 70% 以上が溶出すべきとされている。Fig. 2 に USP の規格値を矢印で

Table 1. Contents of ibuprofen in preparations

Sample No.	Content (%)	Sample No.	Content (%)	Sample No.	Content (%)	Sample No.	Content (%)
1	107.7	13	98.6	25	101.9	37	96.7
2	98.8	14	93.1	26	100.7	38	97.8
3	94.0	15	101.4	27	101.3	39	102.4
4	100.2	16	100.4	28	101.9	40	99.3
5	98.4	17	106.3	29	102.6	41	99.1
6	104.0	18	102.2	30	100.4	42	100.0
7	103.6	19	104.0	31	100.7	43	94.2
8	98.7	20	104.3	32	105.6	44	94.9
9	104.6	21	95.0	33	105.6	45	103.8
10	101.3	22	102.9	34	102.0	46	95.7
11	105.3	23	103.4	35	100.5	47	109.5
12	99.6	24	102.3	36	100.9	48	98.0

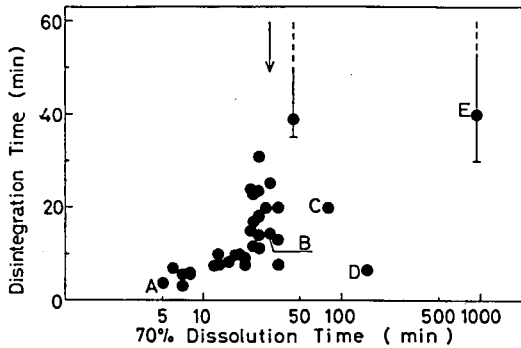


Fig. 2. Relationship between 70% dissolution time and disintegration time

示したが、今回試験対象とした錠剤中この規格に適合しないものが36検体中9検体含まれることになる。

現在、イブプロフェン錠は日局未収載であり、溶出試験の公定規格は定められていない。ここに報告したような製剤試験によりとらえられる製剤間の差は、必ずしも *in vivo* での薬物動態の差を反映するものとはいえないが、溶出試験におけるばらつきはかなり大きなものであり、統一的な溶出試験規格の設定が必要な製剤であると考えられた。

### 輸入食品中の銅クロロフィルおよび銅クロロフィリンナトリウムの分析法に関する検討

津村ゆかり・中村優美子・外海泰秀・伊藤誉志男

#### Studies on the Analysis of Copper Chlorophyll and Sodium Copper Chlorophyllin in Imported Foods

Yukari Tsumura, Yumiko Nakamura, Yasuhide Tonogai and Yoshio Ito

The analysis of copper chlorophyll (CuCh) and sodium copper chlorophyllin (CuCh-Na) in imported foods was carried out. Standards of CuCh and CuCh-Na were examined by ultraviolet and visible spectrophotometer. CuCh gave absorption maximum around 650 nm, while CuCh-Na gave around 630 nm. Imported sweets and liqueurs were homogenized and extracted with ethyl acetate. These extracts also gave absorption maxima absorbance around 650 nm or 630 nm. The results suggested that a distinction between CuCh and CuCh-Na in foods was possible by spectrophotometry.

Visible spectrophotometric quantitation was also tried. However the estimated levels of CuCh or CuCh-Na in the samples by this method did not meet with those by atomic absorption spectrometry.

**Keywords :** copper chlorophyll, sodium copper chlorophyllin, visible spectrum, atomic absorption spectrometry

(Received May 31, 1992)

### 緒 言

食品添加物である銅クロロフィル (CuCh) および銅クロロフィリンナトリウム (CuCh-Na) は、クロロフィル a と b との混合物のマグネシウムを銅に置換し、極めて安定な緑色素としたもので、前者は油溶性、後者は水溶性である。これらは、こ

ろ、野菜類または果実類の貯蔵品、チューインガム、みつ豆缶詰またはみつ豆合成樹脂製容器包装詰中の寒天にのみ使用が許可されている。「食品中の食品添加物分析法」<sup>1,2)</sup>によれば、CuCh および CuCh-Na は原子吸光度法により銅として定量し、必要があれば定数を乗じて CuCh もしくは CuCh-Na 量を算出することとされているが、これらを確

認する方法は記載されていない。

今回著者らは、違反してCuChまたはCuCh-Naが使用されていた輸入食品について、原子吸光用試験液調製過程の酢酸エチル溶液を用い、両者のスペクトルを同一の溶媒中で比較することを初めて試みた。可視部のスペクトル分析によりCuChとCuCh-Naを分別または同定する可能性については、両者の溶解性が異なるためこれまで検討されていなかった。検討の結果、CuChおよびCuCh-Naの定性に関して若干の知見を得たので報告する。

### 実験材料および方法

#### 1. 試料

オランダ産ゼリー菓子（緑色）、スペイン産チョコレート菓子（多色混合の中から緑色のものを選別）およびフランス産リキュール（緑色）。

#### 2. 標準品、試薬

銅クロロフィル：

A 片山化学製（緑色油状）

B 食品分析センターより分与されたもの（緑色油状）

C 国立衛生試験所食品添加物部より分与されたもの（緑色粉末）

銅クロロフィリンナトリウム：

A 東京化成製（暗緑色粉末）

B 国立衛生試験所食品添加物部より分与されたもの（暗緑色粉末）

硝酸：有害金属測定用

メチルイソブチルケトン：原子吸光分析用

その他の無機試薬、溶媒類：特級品

#### 3. 試験液調製方法

「食品中の食品添加物分析法」(1982年版)<sup>1)</sup>の方法に基づいて次の操作法により試験液を調製した。

1) ゼリーおよびチョコレートは40gを採り水160mlおよび塩酸溶液(1N)20mlを加えて約80℃の水浴上で加温して溶解し、酢酸エチル80mlを加えてホモジナイズした。リキュールは40gを採り、水160ml、塩酸溶液(1N)20mlおよび酢酸エチル80mlを加えた。これらを5分間機械振とうして有機層を分取した。乳化した場合は遠心分離(10分間、3000rpm)により分離した。水層に酢酸エチル80mlを加えて抽出する操作をさらに2回行い、合わせた有機層を無水硫酸ナトリウムにより脱水した。これを約5mlまで減圧濃縮し、メスフラスコ中に移して酢酸エチルで洗い込み正確に20ml

とした。この10mlを分取して2)以下の操作を行った。また、残った試験液をスペクトル測定用試験液とした。

2) 1)において分取した10mlの酢酸エチル溶液を磁製するつばに移し、水浴上で酢酸エチルを揮散させ、電気炉に移し、450~500℃で12時間加熱して灰化した。灰分は少量の水で潤し、塩酸溶液(3N)10mlを加えて加温して溶かした。冷却したのち、クエン酸二アンモニウム溶液(1→4)10mlおよびブロムチモールブルー試液2滴を加えて溶液の色が緑色になるまでアンモニア水を加え、中和した。この液に水を加えて約100mlとし、硫酸アンモニウム溶液(2→5)10mlおよびジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム溶液(1→10)10mlを加えて振り混ぜた。数分間放置したのちメチルイソブチルケトン20mlを正確に量って加え、機械振とうし、メチルイソブチルケトン層を分取し、原子吸光分析用試験液とした。

#### 4. 銅標準液の調製方法

銅標準液(和光純薬工業製、原子吸光分析用、1000ppm)1mlを正確にとり、水を加えて正確に100mlとした。その0、2、4および6mlを正確にとり、クエン酸二アンモニウム溶液(1→4)10mlおよびブロムチモールブルー試液2滴を加え、以下

3. 試験液調製方法の「溶液の色が緑色になるまで」以降の記載をそれぞれ準用し、検量線用標準液とした(これらの液1mlはそれぞれ銅0、1、2および3μgを含む)。

#### 5. 測定条件

1) 紫外可視部分光光度法

機種：日立製作所製自記分光光度計U-3210

スキャン範囲：900~250nm

スキャンスピード：300nm/min

2) 原子吸光光度法

機種：ジャーレル・アッシュ製AA-845

分析波長：324.7nm

スリット幅：0.34nm

ガス流量：アセチレン1.5l/min, 空気8l/min

カソード電流：10mA

### 結果および考察

#### 1. 標準品の純度

CuChおよびCuCh-Naは乾燥蚕ふんまたは乾燥アルファルファ等のクロロフィルを抽出しそのマグネシウムを銅に置換して製造するものであるため、

市販品の純度は一定ではない<sup>5)</sup>。本実験に用いた CuCh 標準品にも油状のものと粉末状のものがあリ、各々の組成は同じではないと考えられた。そこで、各標準品の青色部の極大吸収波長の吸光度および銅含量を測定した。水溶性の CuCh-Na についても試料溶液と同じ溶媒で吸光度を測定するため、酸性水溶液を酢酸エチルで抽出しそれを試験液とした。スペクトル例を Fig. 1, 2 に、結果を Table 1 に示した。極大吸収波長は CuCh では 647~650 nm, CuCh-Na では 624~630 nm の範囲内にあった。しかし、吸光度係数および銅含量は標準品によって差があった。従って、以後標準品としては国立衛生試験所食品添加物部より分与された CuCh および CuCh-Na を用いることとした。

## 2. スペクトル分析による定性

CuCh および CuCh-Na の分別または定性の方法として「食品中の食品添加物分析法」<sup>2)</sup>には、異なる液性における溶媒抽出により両者を分別する方法

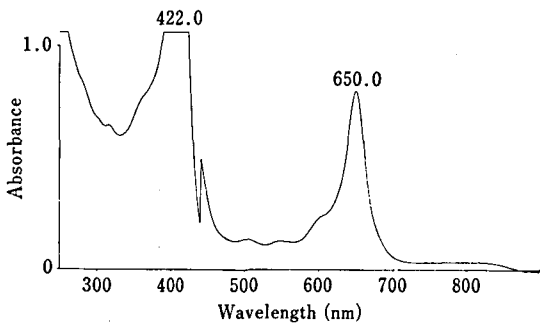


Fig. 1. Ultraviolet and visible spectrum of CuCh standard

CuCh standard: B in Table 1, concentration: 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , solvent: ethyl acetate.

が記載されており、牛山ら<sup>6)</sup>は薄層クロマトグラフィーを用いる定性法を報告している。しかし、スペクトル分析を用いてより簡便な分別および定性が可能ではないかと考え、試料の酢酸エチル抽出液の極大吸収波長  $\lambda_{\text{max}}$  を測定した。スペクトル例を Fig. 3, 4 に、結果を Table 2 に示した。試料液の  $\lambda_{\text{max}}$  の値は 2 群に分かれ、 $\lambda_{\text{max}}$  が 626 nm であったチョコレートは CuCh-Na を、649 nm 以上であったゼリーおよびリキュールは CuCh を含有すると推定された。このように、酢酸エチル抽出液を用いてスペクトル分析を行えば CuCh および CuCh-Na の簡易な分別が可能であると考えられるが、試料の成分による  $\lambda_{\text{max}}$  の変動等を把握するため、さらに試料数を増やした分析を検討中である。

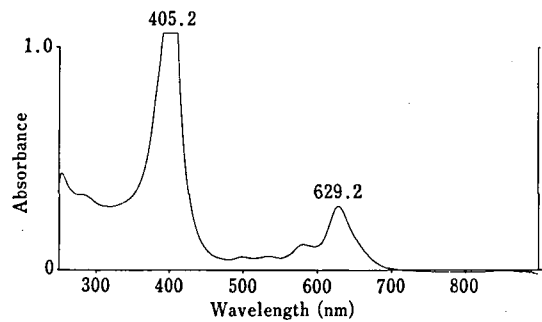


Fig. 2. Ultraviolet and visible spectrum of CuCh-Na standard

Acidic solution of CuCh-Na standard was extracted with ethyl acetate.

CuCh-Na standard: A in Table 1, concentration: 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , solvent: ethyl acetate.

Table 1. Physical properties of copper chlorophyll and sodium copper chlorophyllin standards

Standard	Origin	$\lambda_{\text{max}}$ (nm) <sup>a)</sup>	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$ <sup>a)</sup>	Cu (%) <sup>b)</sup>	Purity (%) <sup>c)</sup>
CuCh	A	648.4	10.9	0.73	10.7
CuCh	B	650.0	39.9	— <sup>d)</sup>	— <sup>d)</sup>
CuCh	C	647.2	109.7	2.13	31.4
CuCh-Na	A	629.2 <sup>e)</sup>	57.5 <sup>e)</sup>	— <sup>d)</sup>	— <sup>d)</sup>
CuCh-Na	B	624.4 <sup>e)</sup>	26.7 <sup>e)</sup>	1.80	19.5

a) Solvent: ethyl acetate.

b) Organic copper was determined by atomic absorption spectrometry.

c) Purity of standards was calculated from the copper contents.

d) Not determined.

e) Aqueous solution of CuCh-Na was acidified and extracted with ethyl acetate.

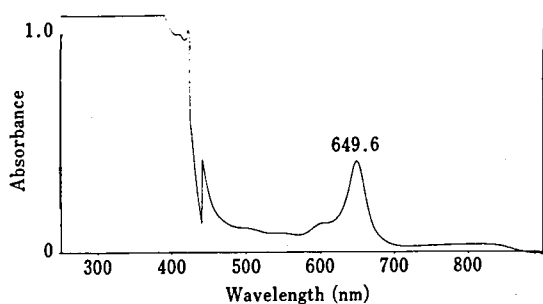


Fig. 3. Ultraviolet and visible spectrum of liqueur extract

Twenty grams of sample was extracted with ethyl acetate.

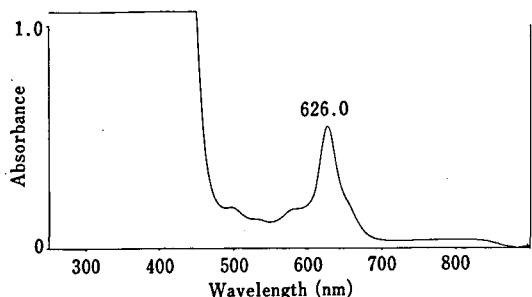


Fig. 4. Ultraviolet and visible spectrum of chocolate extract

Twenty grams of sample was extracted with ethyl acetate.

Table 2. Wave length of maximum absorbance of sample solutions

sample	$\lambda_{\max}$ (nm)	Supposed compound
Jelly 1	663.2	CuCh
Jelly 2	653.2	CuCh
Jelly 3	655.6	CuCh
Jelly 4	664.4	CuCh
Chocolate	626.0	CuCh-Na
Liqueur	649.6	CuCh

Each sample was extracted with ethyl acetate.

### 3. 原子吸光分析およびスペクトル分析による定量

「食品・食品添加物等規格基準」<sup>7)</sup>は食品中のCuChまたはCuCh-Naの使用量を銅含量として規制しており、「食品中の食品添加物分析法」<sup>2)</sup>も原子吸光による銅量測定をCuChおよびCuCh-Naの測定法としている。しかし $\lambda_{\max}$ における吸光度によるこれらの定量も可能ではないかと考え、銅量による測定値との比較を行った。その結果をTable 3に示した。CuChについてもCuCh-Naについても、スペクトル分析で吸光度より算出した濃度は、原子吸光分析で銅量から求めた濃度の1.5から2.7倍と高くなった。その原因としては試料由来成分による吸収または深色作用が考えられる。以上のように、今回検討した範囲では、吸光度法をCuChおよびCuCh-Naの定量に用いる試みはうまくいかなかった。

Table 3. Comparison between Contents of copper chlorophyll and sodium copper chlorophyllin in imported foods obtained by the two methods

Sample	Compound	Calculated concentration (ppm)		B/A
		by AAS <sup>a)</sup> (A)	by absorbance <sup>b)</sup> (B)	
Jelly 1	CuCh	4.4	9.1 <sup>c)</sup>	2.1
Jelly 2	CuCh	7.5	11.7 <sup>c)</sup>	1.6
Jelly 3	CuCh	5.5	8.6 <sup>c)</sup>	1.6
Jelly 4	CuCh	4.6	9.1 <sup>c)</sup>	2.0
Chocolate	CuCh-Na	7.4	20.0 <sup>d)</sup>	2.7
Liqueur	CuCh	3.8	3.8 <sup>c)</sup>	1.5

a) Calculated from the Cu contents.

b) Calculated from the absorbance at 650 nm (CuCh) or 630 nm (CuCh-Na).

c) Used standard was CuCh C in Table 1.

d) Used standard was CuCh-Na B in Table 1.

## 謝 辞

標準品を提供いただいた国立衛生試験所食品添加物部ならびに日本食品分析センター大阪支所の方々に深謝します。

## 文 献

- 1) 厚生省環境衛生局食品化学課編：“食品中の食品添加物分析法”，pp. 527～530 講談社，東京 (1982)
- 2) 厚生省生活衛生局監修：“食品衛生検査指針食品中の食品添加物分析法”，pp.174～176，日本食品衛生協会，東京 (1989)
- 3) 谷村顕雄，藤井正美，義平邦利，伊藤蒼志男，城照雄監修：“食品中の食品添加物分析法解説書”，pp. 321～326，講談社，東京 (1992)
- 4) 日本薬学会編：“衛生試験法注解”，pp. 512～545，金原出版，東京 (1990)。
- 5) 石館守三，谷村顕雄監修：“第5版食品添加物公定書解説書”，pp. D643～D649，廣川書店，東京 (1987)
- 6) 牛山博文，西島基弘，安田和男，上村 尚，田端節子，二島太一郎：食品中の銅クロロフィル及び銅クロロフィリン分析法。食衛誌，27，417～420 (1986)
- 7) 食品・食品添加物等規格基準 (抄) 抜粋。食衛誌，33，80 (1992)

## 平成3年度における食用タール色素製品検査より算出した生産量

柴田 正，木村実加，川本礼子，辻 澄子，伊藤蒼志男

## Estimated Production of Coal-tar Dyes (including Dye Aluminum Lakes) Based on Official Inspections in 1991

Tadashi Shibata, Mika Kimura, Reiko Kawamoto,  
Sumiko Tsuji and Yoshio Ito

The total number of official inspection of coal-tar dyes and their lakes from April in 1991 to March 1992 was 835.

The quantity which passed inspection amounted to 240 tons in Japan.

The official production of color dyes each month in summarised in Table 1 and that by various manufactures in Table 2.

The food coal-tar dye produced in the largest quantity was Food Yellow No. 4, occupying 44.6% of the total during this period.

**Keywords** : food color, coal-tar dye, official inspection, production

(Received May 31, 1992)

わが国では12種の食用タール色素が食品衛生法施行規則別表第2の食品添加物として指定されており，その販売等に当たって製品検査が必要とされている。

製品検査申請書には申請数量 (300 kg までを1件とする) が記載される。これら製品検査に申請された色素のうち一部は乳児用玩具の染色，医薬品の印字，試薬等他の用途に用いられるが，大部分は食品添加物として使用されている。

わが国における食用タール色素の製品検査はすべて大阪支所食品試験部で行われている。従って，申請数量の総計はわが国で食品添加物として使用され

る食用タール色素製造量を推定するひとつの統計値と考えられる。

平成3年4月1日から平成4年3月31日までに申請された835検体について各色素別，各月別および各製造社別の許可数量統計を作成した。

各色素の月別許可量を表1に，また各色素の製造社別許可量を表2に示した。

1990年度 (前年度) と比較すると総量では238トンから240トンとわずかに増加した。

各色素別では製造量の多いものから食用黄色4号，食用赤色102号，食用黄色5号，食用赤色3号，食用青色1号であり，前年度と順位は変わらなかった。

表1 平成3年度 食用色素月別許可量

食用色素名	平成3年度												平成2年度			
	申請月												合計	色別比率(%)		
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月				
赤色2号	200	900	500	---	600	---	---	300	---	900	---	300	3800	1.58	3619.75	1.52
赤色3号	2100	600	750	600	900	900	2600	1125	---	---	1204.925	600	13079.925	5.49	9840	4.12
赤色40号	---	100	---	20	---	335	---	---	45	---	---	---	500	0.21	120.7	0.05
赤色102号	4800	2100	3900	3600	6900	3080	4200	3300	3300	3000	3604.95	3300	44184.95	18.39	44834	18.78
赤色104号	600	1200	900	50	300	100	---	---	600	---	109.95	---	4159.95	1.73	4200	1.76
赤色105号	300	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	300	0.12	0	0
赤色106号	1380	600	760	320	350	680	620	620	160	760	460	460	6850	2.85	6110	2.56
黄色4号	11700	4800	8700	7300	10500	10800	9300	7500	7500	5700	8110	6600	103089	42.92	110330	46.22
黄色5号	5100	2700	3000	2400	2700	3000	4800	3000	3000	4500	4500	3000	42405	17.65	38020	15.93
青色1号	1200	1000	500	900	500	600	600	600	500	400	509.825	900	8609.825	3.58	9240	3.87
青色2号	300	159	---	---	---	---	---	---	---	300	---	300	1359	0.57	1101	0.46
赤色2号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0
赤色3号レーキ	---	---	300	200	300	---	300	300	300	300	---	---	2000	0.83	1280	0.54
赤色40号レーキ	---	65	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	65	0.03	0	0
黄色4号レーキ	---	600	300	---	300	---	900	---	---	900	---	300	3600	1.50	3600	1.54
黄色5号レーキ	300	600	600	300	600	600	---	---	600	200	300	---	4400	1.83	3000	1.26
青色1号レーキ	---	300	---	300	300	---	---	---	---	300	---	---	1500	0.62	2600	1.09
青色2号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	300	---	300	0.12	800	0.34
合計	28080	15724	20510	15980	24250	19495	23620	17430	17430	17260	19099.65	15460	240202.65	....	....	....
月別比率(%)	11.69	6.55	8.54	6.06	10.10	8.12	9.83	7.26	7.19	7.95	7.95	6.44	9.69	100	....	....
前年度合計	10560	20210	33440	16210	22490	24295	20060	17660	17660	25100	8560	19520	20140	....	238695.45	....
月別比率(%)	4.42	8.47	14.01	6.79	9.61	10.18	8.40	7.40	7.40	10.52	3.59	8.18	8.44	....	....	100

(単位：Kg)



表2 平成3年度 食用色素製造社別許可量

(単位: Kg)

食用色素名	製造社名										平成3年度		平成2年度		
	A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	I社	J社	K社	合計	製造社別比率(%)	合計	製造社別比率(%)
赤色2号	1700	900	300	600	300	---	---	---	---	---	---	3800	1.58	3619.75	1.52
赤色3号	7075	---	600	1200	2400	1800	4,925	---	---	---	---	13079.925	5.49	9840	4.12
赤色40号	300	---	65	135	---	---	---	---	---	---	---	500	0.21	120.7	0.05
赤色102号	15000	5700	3900	15000	1200	3000	4,950	300	80	---	---	44184.95	18.39	44834	18.78
赤色104号	150	---	---	2700	100	900	9,950	---	---	300	---	4159.95	1.73	4200	1.76
赤色105号	---	---	---	---	---	300	---	---	---	---	---	300	0.12	0	0
赤色106号	2160	300	300	3300	600	190	---	---	---	---	---	6850	2.85	6110	2.56
黄色4号	43379	10800	8400	37200	600	2700	10	---	---	---	---	103089	42.92	110330	46.22
黄色5号	22005	3300	3300	9000	4500	300	---	---	---	---	---	42405	17.65	38020	15.93
青色1号	4700	300	300	3000	---	---	9,825	---	---	300	---	8609.825	3.58	9240	3.87
青色2号	459	---	300	600	---	---	---	---	---	---	---	1359	0.57	1101	0.46
赤色2号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0
赤色3号レーキ	1500	---	200	300	---	---	---	---	---	---	---	2000	0.83	1280	0.54
赤色40号レーキ	65	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	65	0.03	0	0
黄色4号レーキ	3300	---	---	300	---	---	---	---	---	---	---	3600	1.50	3600	1.54
黄色5号レーキ	3500	---	300	600	---	---	---	---	---	---	---	4400	1.83	3000	1.26
青色1号レーキ	1500	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1500	0.62	2600	1.09
青色2号レーキ	300	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	300	0.12	800	0.34
合計	107093	21300	17965	73935	9700	9190	39,65	300	80	300	300	240202.65	---	---	---
製造社別比率(%)	44.58	8.87	7.48	30.78	4.04	3.83	0.02	0.12	0.03	0.12	0.12	---	100	---	---
前年度合計	99850	20950	20100	77721	11770	7351	19,75	200	134	300	0	---	---	238695.45	---
製造社別比率(%)	42.83	8.78	8.42	32.56	4.93	3.08	0.01	0.08	0.06	0.13	0	---	---	---	100

色素別製造量では、第1位の食用黄色4号が110トン（46.2%）から103トン（42.9%）とわずかに減少し、第2位の食用赤色102号は44.8トン（18.9%）から44.2トン（18.4%）と変わらず、食用黄色5号は38.0トン（15.9%）から42.4トン（17.7%）と増加した。

製造社別では製造量の多い順にA, D, B, C, E, F社であり、平成2年度と順位に変動はなかった。

また、製造量ではA社が107.1トン（44.6%）と

最も多く、ついでD社73.9トン（30.8%）、B社21.3トン（8.9%）、C社18.0トン（7.5%）であった。

## 文 献

- 1) 柴田 正, 木村実加, 川本礼子, 辻 澄子, 伊藤 誉志男: 平成2年度における食用タール色素製品検査より算出した生産量. 衛生試報, 109, 178~181 (1991)

## 国立衛生試験所標準品（色素標準品）ニューコクシン標準品について

川本礼子・木村実加・辻 澄子・柴田 正・伊藤誉志男

### Studies on "New Coccine Standard" for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences

Reiko Kawamoto, Mika Kimura, Sumiko Tsuji,  
Tadashi Shibata and Yoshio Ito

The "New Coccine Standard (C.I. 16255)" for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences was prepared. The content of this Dye Standard determined by the titanium trichloride method was 97.5% on the average.

The ultraviolet-visible absorption and infrared spectra of the Dye Standard were also measured.

**Keywords :** new coccine, dye, standard, titanium trichloride method.

(Received May 31, 1992)

食用、医薬品および化粧品色素として用いられるニューコクシンの確認試験または定量に用いられる標準品としてニューコクシン標準品を製造したので、それらの試験成績を報告する。

#### 実験装置

自記分光光度計U-3210（日立）、赤外分光光度計IR-700（日本分光）、自動電位差滴定装置E665-E686（メトローム）、カール・フィシャー水分計MKA-210（京都電子）。

#### 原 料

キリヤ化学㈱より購入した。

#### 試験方法

特に記するものの他は、食品添加物公定書食用赤色102号の試験項目<sup>1)</sup>を準用した。

水分量：試料を15 mmHgの減圧下24時間乾燥したのち、200 mgを精秤し、カールフィシャー水分計で自動滴定した。

塩化物：外海らの自動電位差滴定法<sup>2)</sup>に従って行った。

硫酸塩：柿内らの濁度法<sup>3)</sup>に従ってメルク製活性炭(2186)を用いて行った。

#### ニューコクシン標準品 (C.I. 16255<sup>4)</sup>) 試験結果

性状：暗赤色粉末。

確認試験：食品添加物公定書中確認試験の項(1)~(3)までの試験に適合する。極大吸収長508 nm (0.02 M 酢酸アンモニウム溶液)。

吸収スペクトル：Fig. 1に示す。

赤外吸収スペクトル：Fig. 2 (KBr法)に示す。

純度試験 (1) 水不溶物：0% (1%水溶液)。

(2) 塩化物：0.09%。

(3) 硫酸塩：0.01%。

(4) 重金属：2 μg/g (Pbとして)。

(5) ヒ素：0.05 μg/g (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として)。

(6) 他の色素：0.01%水溶液0.05 mlについて食

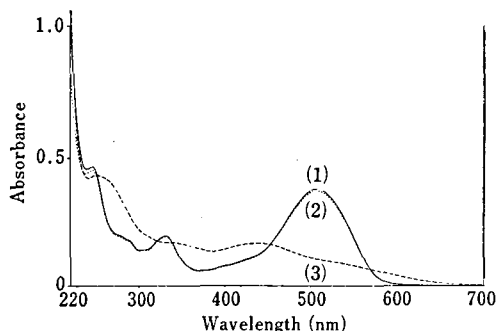


Fig. 1. Absorption spectra of New Coccine Standard

Curve (1) : 0.02 M AcONH<sub>4</sub> soln.  
 (2) : 0.1 N HCL soln.  
 (3) : 0.1 N NaOH soln.  
 conc. 10 mg/L

品添加物公定書に規定する方法でニューコクシン以外のスポットを認めない。

水分量 : 0.67% (200 mg, 硫酸デシケーター 15 mmHg, 24 時間)。

含量 : 97.5% (1 g, 硫酸デシケーター 15 mmHg, 24 時間乾燥後三塩化チタン法)。

### 結 論

標準品原料として入手したニューコクシンの品質を検討した。その結果は良好であった。

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(色素標準品)に適した品質を有することを認め、平成4年6月から配布を開始する。

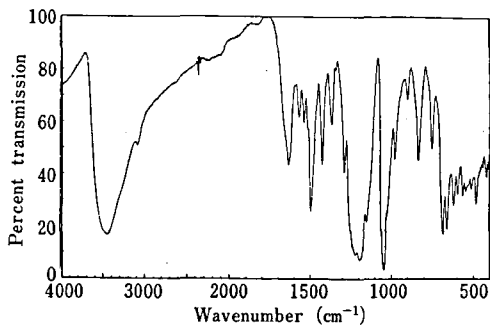


Fig. 2. Infrared spectrum of New Coccine Standard

終わりに、本標準品を製造するに当り多大のご協力をいただいたキリヤ化学(株)に感謝いたします。

### 文 献

- 1) 石館守三, 谷村顕雄監修: “第5版食品添加物公定書解説書”, pp. D469~D474, 廣川書店, 東京 (1987)
- 2) 外海泰秀, 野村幸雄, 吉田由美子, 栗山加代: 昭和44年度におけるタール色素の製品検査について(第2報) タール色素の製品検査方法の簡素化の試み. 衛生試験, 88, 134~139 (1970)
- 3) 柿内 雅, 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤誉志男: タール色素中の硫酸塩定量における活性炭の問題点. 衛生試験, 108, 114~117 (1990)
- 4) Society of Dyers and Colourists: “Colour Index”, 3rd ed., Vol. 4, American Association of Textile Chemists and Colorists (1971)

### 国立衛生試験所標準品(色素標準品)アシッドレッド標準品について

木村実加・川本礼子・辻 澄子・柴田 正・伊藤誉志男

#### Studies on “Acid Red Standard” for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences

Mika Kimura, Reiko Kawamoto, Sumiko Tsuji,  
Tadashi Shibata and Yoshio Ito

The “Acid Red Standard (C.I. 45100)” for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences was prepared. The content of this Dye Standard determined by the titanium trichloride method was 96.4% on the average.

The ultraviolet-visible absorption and infrared spectra of the Dye Standard were also measured.

**Keywords :** acid red, dye, standard, titanium trichloride method.

(Received May 31, 1992)

食用、医薬品および化粧品色素として用いられるアシッドレッドの確認試験または定量に用いられる標準品としてアシッドレッド標準品を製造したので、それらの試験成績を報告する。

#### 実験装置

自記分光光度計 U-3210 (日立), 赤外分光光度計 IR-700 (日本分光), 自動電位差滴定装置 E665-E686 (メトローム), カール・フィシャー水分計 MKA-210 (京都電子)。

#### 原料

ダイワ化成(株)より購入した。

#### 試験方法

特に記するものの他は、食品添加物公定書食用赤色 106 号の試験項目<sup>1)</sup>を準用した。

水分量：試料を 15 mmHg の減圧下 24 時間乾燥した後、200 mg を精秤し、カールフィシャー水分計で自動滴定した。

塩化物：外海らの自動電位差滴定法<sup>2)</sup>に従って行った。

硫酸塩：柿内らの濁度法<sup>3)</sup>に従ってメルク製活性炭 (2186) を用いて行った。

#### アシッドレッド標準品 (C.I. 45100<sup>4)</sup>) 試験結果

性状：紫褐色粉末。

確認試験：食品添加物公定書中確認試験の項(1)~(4)までの試験に適合する。極大吸収長 566 nm (0.02 M 酢酸アンモニウム溶液)。

吸収スペクトル：Fig. 1 に示す。

赤外吸収スペクトル：Fig. 2 (KBr 法) に示す。

純度試験 (1) 水不溶物：0% (1%水溶液)。

(2) 塩化物：0.01%。

(3) 硫酸塩：0.00%。

(4) 重金属：①クロム；1.5  $\mu\text{g/g}$  (Cr として)

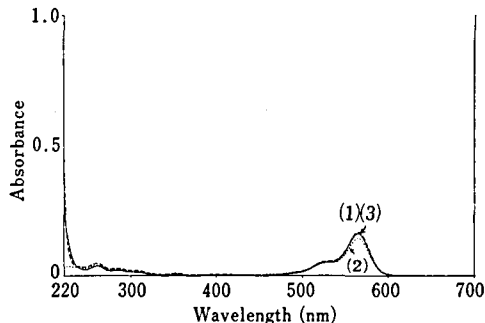


Fig. 1. Absorption spectra of Acid Red Standard Curve (1) : 0.01 M AcONH<sub>4</sub> soln.

(2) : 0.1 N HCL soln.

(3) : 0.1 N NaOH soln.

conc. 10 mg/L

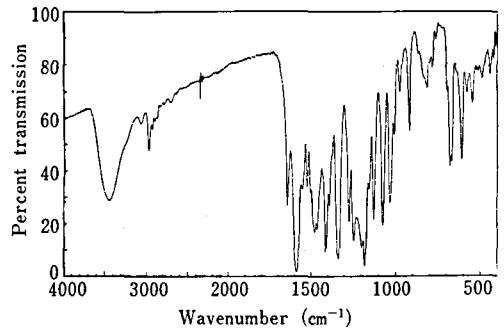


Fig. 2. Infrared spectrum of Acid Red Standard

②マンガン；2.0  $\mu\text{g/g}$  (Mn として) ③その他の重金属；3.0  $\mu\text{g/g}$  (Pb として)。

(5) ヒ素：0.03  $\mu\text{g/g}$  (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として)。

(6) 他の色素：0.01%水溶液 0.05 ml について食品添加物公定書に規定する方法でアシッドレッド以外のスポットを認めない。

水分量：0.58% (200 mg, 硫酸デシケーター 15 mmHg, 24 時間)。

含量：96.4% (1g, 硫酸デシケーター 15 mmHg, 24 時間乾燥後三塩化チタン法)。

#### 結 論

標準品原料として入手したアシッドレッドの品質を検討した。その結果は良好であった。

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（色素標準品）に適した品質を有することを認め、平成 4 年 6 月から配布を開始する。

終わりに、本標準品を製造するに当り多大のご協力をいただいたダイワ化成(株)に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) 石館守三, 谷村頭雄監修：“第 5 版食品添加物公定書解説書”, pp. D482~D485, 廣川書店, 東京 (1987)
- 2) 外海泰秀, 野村幸雄, 吉田由美子, 栗山加代：昭和 44 年度におけるタール色素の製品検査について (第 2 報) タール色素の製品検査方法の簡素化の試み. 衛生試報, 88, 134~139 (1970)
- 3) 柿内 雅, 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤啓志男：タール色素中の硫酸塩定量における活性炭の問題点. 衛生試報, 108, 114~117 (1990)
- 4) Society of Dyers and Colourists: “Colour Index”, 3rd ed., Vol. 4, American Association of Textile Chemists and Colorists (1971)

国立衛生試験所標準品（色素標準品）インジゴカルミン標準品について

辻 澄子・川本礼子・木村実加・柴田 正・伊藤誉志男

Studies on "Indigo Carmine Standard" for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences

Sumiko Tsuji, Reiko Kawamoto, Mika Kimura,  
Tadashi Shibata and Yoshio Ito

The "Indigo Carmine Standard (C.I. 73015)" for the Dye Standard of the National Institute of Hygienic Sciences was prepared. The content of this Dye Standard determined by the titanium trichloride method was 97.0% on the average.

The ultraviolet-visible absorption and infrared spectra of the Dye Standard were also measured.

**Keywords :** indigo carmine, dye, standard, titanium trichloride method.

(Received May 31, 1992)

食用、医薬品および化粧品色素として用いられるインジゴカルミンの確認試験または定量に用いられる標準品としてインジゴカルミン標準品を製造したので、それらの試験成績を報告する。

**実験装置**

自記分光光度計 U-3210 (日立), 赤外分光光度計 IR-700 (日本分光), 自動電位差滴定装置 E665-E686 (メトローム), カール・フィシャー水分計 MKA-210 (京都電子)。

**原料**

三栄化学工業(株)より購入した。

**試験方法**

特に記するもの以外は、食品添加物公定書食用青色2号の試験項目<sup>1)</sup>を準用した。

水分量：試料を 15 mmHg の減圧下 24 時間乾燥したのち、200 mg を精秤し、カール・フィシャー水分計で自動滴定した。

塩化物：外海らの自動電位差滴定法<sup>2)</sup>に従って行った。

硫酸塩：柿内らの濁度法<sup>3)</sup>に従ってメルク製活性炭 (2186) を用いて行った。

**インジゴカルミン標準品(C.I. 73015<sup>4)</sup>)試験結果**

性状：暗紫青色粉末。

確認試験：食品添加物公定書中確認試験の項(1)~(4)までの試験に適合する。極大吸収波長 612 nm (0.02 M 酢酸アンモニウム溶液)。

吸収スペクトル：Fig. 1 に示す。

赤外吸収スペクトル：Fig. 2 (KBr 法) に示す。

純度試験 (1) 水不溶物：0.00% (1%水溶液)。

(2) 塩化物：0.00%。

(3) 硫酸塩：0.00%。

(4) 重金属：①鉄：4.5 μg/g (Feとして) ②その他の重金属：3.0 μg/g (Pbとして)。

(5) ヒ素：0.05 μg/g (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として)。

(6) 他の色素：0.005%水溶液 0.05 ml について食品添加物公定書に規定する方法でインジゴカルミン以外のスポットを認めない。

水分量：0.56% (200 mg, 硫酸デシケーター 15

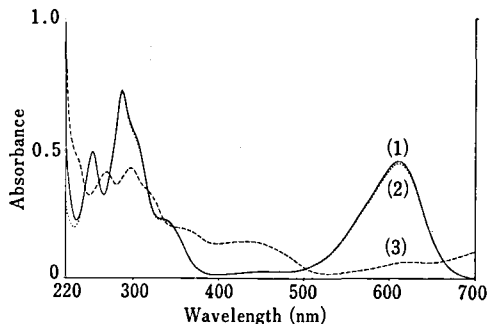


Fig. 1. Absorption spectra of Indigo Carmine Standard

Curve (1) : 0.02 M AcONH<sub>4</sub> soln.

(2) : 0.1 N HCL soln.

(3) : 0.1 N NaOH soln.

conc. 10 mg/L

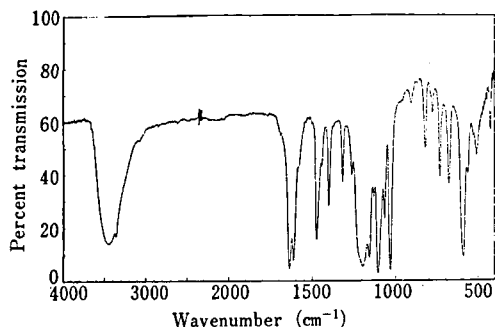


Fig. 2. Infrared spectrum of Indigo Carmine Standard

mmHg, 24 時間)。

含量：97.0% (1g, 硫酸デシケーター 15 mmHg, 24 時間乾燥後三塩化チタン法)。

### 結 論

標準品原料として入手したインジゴカルミンの品質を検討した。その結果は良好であった。

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 (色素標準品) に適した品質を有することを認め、平成 4 年 6 月から配布を開始する。

終わりに、本標準品を製造するに当り多大のご協力をいただいた三栄化学工業㈱に感謝いたします。

### 文 献

- 1) 石館守三, 谷村顕雄監修: “第 5 版食品添加物公定書解説書”, pp. D512~D516, 廣川書店, 東京 (1987)
- 2) 外海泰秀, 野村幸雄, 吉田由美子, 栗山加代: 昭和 44 年度におけるタール色素の製品検査について (第 2 報) タール色素の製品検査方法の簡素化の試み. 衛生試報, 88, 134~139 (1970)
- 3) 柿内 雅, 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤啓志男: タール色素中の硫酸塩定量における活性炭の問題点. 衛生試報, 108, 114~117 (1990)
- 4) Society of Dyers and Colourists: “Colour Index”, 3rd ed., Vol. 4, American Association of Textile Chemists and Colorists (1971)

## GC-MS (SIM) および蛍光検出器付き HPLC による柑橘果実および 果汁中の収穫後使用農薬の分析結果

外海泰秀・津村ゆかり・中村優美子・伊藤啓志男

### Analytical Results of Post-harvest Pesticides in Citrus Fruits and Fruits Juices by GC-MS (SIM) and HPLC with Fluorescent Detector

Yasuhide Tonogai, Yukari Tsumura, Yumiko Nakamura and Yoshio Ito

Determination of 6 kinds of post-harvest pesticides (DP, OPP, TBZ, 2,4-D, Imazalil and Benomyl) in citrus fruits and fruits juices was carried out by GC-MS (SIM) and HPLC with fluorescent detector. DP for 16 samples, OPP for 27 samples, TBZ for 12 samples, 2,4-D for 10 samples, imazalil for 20 samples and Benomyl for 4 samples were detected in total 32 samples.

**Keywords** : post-harvest application, GC-MS, HPLC

(Received May 31, 1992)

### はじめに

日本では、平成 2 年度において、輸入レモンから収穫後使用 (ポストハーベスト) 農薬である 2,4-D やイマザリルが検出され大きな社会問題となった<sup>1,2)</sup>。著者らは、従来より抗菌剤 (防かび剤) と

して使用されているジフェニール (DP), オルトフェニルフェノール (OPP) およびチアベンダゾール (TBZ) を含め、2,4-D, イマザリルおよびベノミルの輸入柑橘中の一斉分析法を作成し、前報<sup>3)</sup>で報告した。ここでは本法を用いて輸入届出品および市販の柑橘ならびに柑橘果汁製品についての農薬残

留実態調査を行った結果を報告する。

## 実験方法

### 1. 試料

レモン、オレンジ、グレープフルーツおよび柑橘果汁製品は、1991年1月から2月に神戸港および横浜港に陸揚げされたものから無作為に抽出して試料とした。また、市場調査のため、1990年9月下旬から10月上旬に大阪近郊の小売店で購入した柑橘類も試料とした。

### 2. 試薬、試液および装置

農薬標準品、各種試薬、試液および装置は前報<sup>3)</sup>と同じものを用いた。

### 3. 試験溶液の調製法

#### A) DP, OPP, 2,4-Dの分析

前報<sup>3)</sup>と同様、Scheme Aに示したように、酸性条件下で同時抽出して試験溶液を作成し、いずれもGC-MSのSIM法で測定した。

#### B) イマザリル, TBZ, ベノミルの分析

前報<sup>3)</sup>と同様、Scheme Bに示したように、塩基

性下で同時抽出して試験溶液を作成し、イマザリルはGC-MSのSIM法、TBZおよびベノミルはHPLC法で測定した。

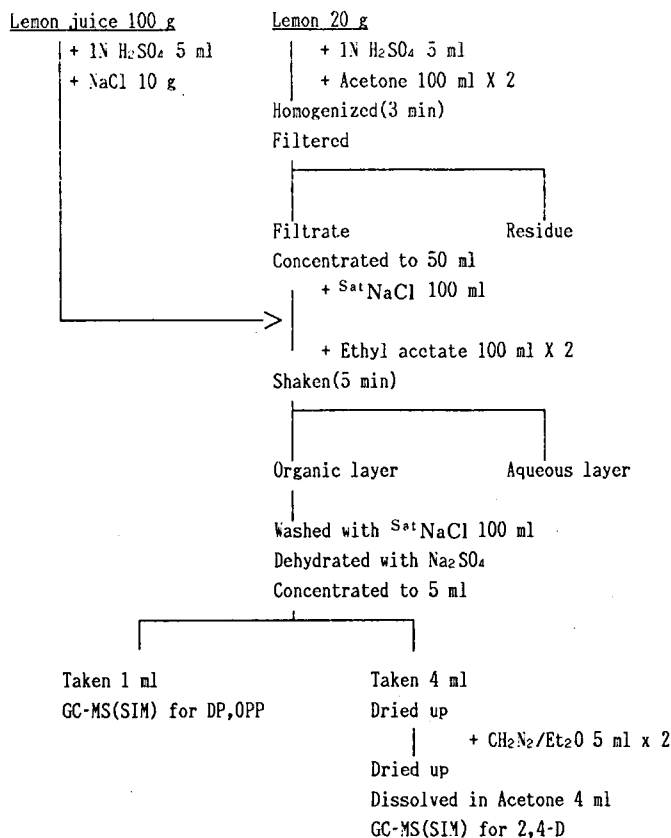
### 4. 測定条件

GC-MS (SIM) および HPLC 条件は前報<sup>3)</sup>と同じ。

## 結果および考察

輸入届出品または市販のレモン 14 検体、オレンジ 3 検体、グレープフルーツ 3 検体、レモン果汁製品 12 検体について、本法による 6 農薬の残留実態調査を行った。柑橘果実は果皮、果肉に分けて測定し、重量換算により全果中の農薬濃度を算出した。レモンジュースは果汁含量 10~100% のものを用いた。

レモンの調査結果を Table 1 に示した。国産レモンからは 6 農薬ともまったく検出されなかったが、輸入レモンではすべての試料から何らかの農薬が検出された。各農薬は大部分が果皮に存在し、果肉からは微量検出されたにすぎなかった。



Scheme A. Analytical method for DP, OPP and 2,4-D in fruit and fruit juice

Table 1 Contents of post-harvest pesticides in lemon

No.	Origin (Country)	Part	Contents of residual pesticides (ppm)					
			DP	OPP	2,4-D	Imazalil	TBZ	Benomyl
1	Yokohama (U.S.A.)	Peel	0.004	0.18	0.25	4.53	3.19	ND
		Substance	0.004	0.02	ND	ND	ND	ND
		Whole	0.004	0.07	0.08	1.93	1.04	ND
2	Yokohama (U.S.A.)	Peel	0.038	1.27	0.07	ND	4.72	ND
		Substance	ND	ND	ND	ND	0.43	ND
		Whole	0.014	0.48	0.02	ND	2.04	ND
3	Kobe (U.S.A.)	Peel	0.113	0.18	0.15	1.63	0.73	0.10
		Substance	ND	0.02	0.05	0.11	0.27	0.03
		Whole	0.029	0.06	0.11	0.08	0.40	0.04
4	Kobe (U.S.A.)	Peel	0.086	0.20	0.23	0.03	0.60	ND
		Substance	ND	0.02	0.06	0.02	0.10	ND
		Whole	0.029	0.08	0.11	0.02	0.27	ND
5	market (domestic, Ehime)	Peel	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Substance	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Whole	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	market (domestic, Wakayama)	Peel	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Substance	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Whole	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	market (domestic)	Peel	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Substance	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Whole	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	market (domestic)	Peel	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Substance	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Whole	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	market (U.S.A.)	Peel	0.012	2.20	0.06	4.78	ND	ND
		Substance	ND	0.04	ND	0.24	ND	ND
		Whole	0.004	0.84	0.04	1.93	ND	ND
10	market (U.S.A.)	Peel	ND	7.66	0.06	4.33	0.03	ND
		Substance	ND	0.13	ND	0.93	ND	ND
		Whole	ND	2.75	0.02	2.11	0.01	ND
11	market (U.S.A.)	Peel	ND	1.66	0.03	3.55	ND	ND
		Substance	ND	0.05	ND	ND	ND	ND
		Whole	ND	0.62	0.01	1.25	ND	ND
12	market (U.S.A.)	Peel	ND	0.76	0.06	3.05	ND	ND
		Substance	ND	0.05	ND	0.19	ND	ND
		Whole	ND	0.28	0.02	1.11	ND	ND
13	market (U.S.A.)	Peel	0.153	6.74	0.06	6.42	ND	ND
		Substance	0.012	ND	ND	0.33	ND	ND
		Whole	0.061	2.36	0.02	2.46	ND	ND
14	market (New Zealand)	Peel	6.511	0.04	ND	ND	ND	ND
		Substance	0.225	0.01	ND	ND	ND	ND
		Whole	3.083	0.02	ND	ND	ND	ND

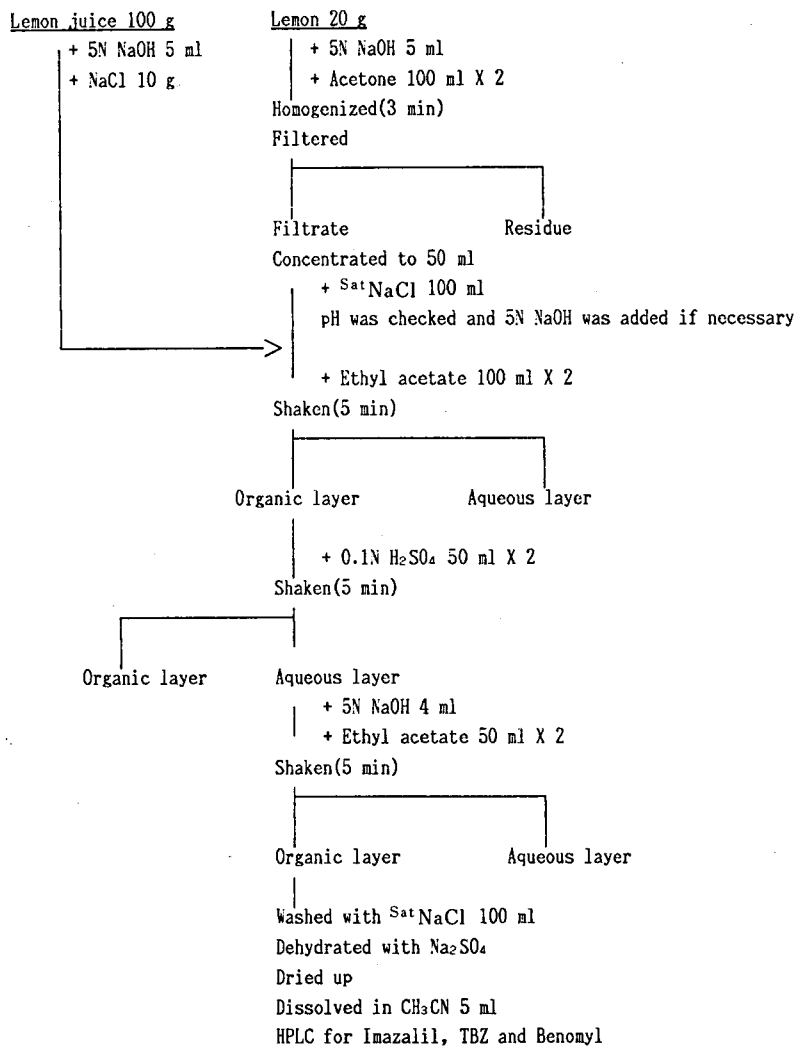
ND: not detected, detection limits for each compound are as follows;

DP: 0.005 ppm for fruit, 0.001 ppm for fruit juice;

OPP, 2,4-D, TBZ, Benomyl: 0.01 ppm for fruit, 0.002 ppm for fruit juice;

Imazalil: 0.05 ppm for fruit, 0.01 ppm for fruit juice.





Scheme B. Analytical method for Imazalil and TBZ in fruit and fruit juice

Table 2. Contents of post-harvest pesticides in oranges

No.	Origin (Country)	Part	Contents of residual pesticides (ppm)					
			DP	OPP	2,4-D	Imazalil	TBZ	Benomyl
1	Yokohama (U.S.A.)	Peel	0.250	2.93	ND	ND	2.50	ND
		Substance	0.028	0.02	ND	ND	Tr.*	ND
		Whole	0.080	2.26	ND	ND	1.91	ND
2	Kobe (U.S.A.)	Peel	1.139	3.01	ND	10.58	0.32	ND
		Substance	0.009	0.04	ND	0.58	0.27	ND
		Whole	0.298	0.80	ND	3.13	0.29	ND
3	market	Peel	0.078	0.08	ND	2.02	1.09	4.56
		Substance	0.006	ND	ND	0.08	0.03	ND
		Whole	0.022	0.02	ND	0.58	0.31	1.30

\* 0.01 ppm ≤ Tr. < 0.03 ppm

ND : not detected, detection limits are shown in Table 1

オレンジの調査結果を Table 2 に示した。2,4-D 以外の 5 農薬が、全部または一部の検体から検出された。

グレープフルーツの調査結果を Table 3 に示した。オレンジと同じく 2,4-D 以外の 5 農薬が、全部または一部の検体から検出された。

レモンジュースの調査結果を Table 4 に示した。すべての検体より OPP が検出され、DP, 2,4-D, イマザリル, TBZ が一部の検体より検出された。ペノミルはどの検体からも検出されなかった。

なお、GC により農薬が検出されたものについては、GC-MS による確認を行った。

Table 3. Contents of post-harvest pesticides in grapefruits

No.	Origin (Country)	Part	Contents of residual pesticides (ppm)					Benomyl
			DP	OPP	2,4-D	Imazalil	TBZ	
1	Yokohama (U.S.A.)	Peel	1.192	2.57	ND	ND	5.00	ND
		Substance	0.038	0.01	ND	ND	ND	ND
		Whole	0.336	0.65	ND	ND	1.25	ND
2	Kobe (U.S.A.)	Peel	ND	0.03	ND	ND	ND	0.03
		Substance	ND	0.03	ND	ND	ND	ND
		Whole	ND	0.03	ND	ND	ND	0.01
3	market	Peel	0.154	ND	ND	0.24	2.16	0.48
		Substance	ND	ND	ND	0.06	0.20	0.03
		Whole	0.044	ND	ND	0.07	0.62	0.14

ND : not detected, detection limits are shown in Table 1.

Table 4. Contents of post-harvest pesticides in lemon juices

No.	Ratio of juice	Origin (Country)	Contents of residual pesticides (ppm)					Benomyl
			DP	OPP	2,4-D	Imazalil	TBZ	
1	5 % <sup>1</sup>	Yokohama (U.S.A.)	ND	0.011	ND	ND	ND	ND
2	100 %	Kobe (U.S.A.)	0.001	0.157	0.005	0.01	ND	ND
3	100 %	market	ND	0.003	ND	ND	0.021	ND
4	100 %	market (U.S.A.)	0.013	0.079	ND	0.490	ND	ND
5	40 %	market	0.005	0.041	ND	0.040	0.104	ND
6	30 %	market	0.001	0.005	ND	0.147	ND	ND
7	11 % <sup>2</sup>	market (Australia)	ND	0.013	ND	0.099	ND	ND
8	10 %	market (U.S.A.)	ND	0.009	ND	0.124	ND	ND
9	10 %	market (Italy)	ND	0.037	ND	ND	ND	ND
10	10 %	market	ND	0.004	ND	0.090	ND	ND
11	10 %	market	ND	0.007	ND	0.007	ND	ND
12	10 %	market (U.S.A.)	ND	0.003	ND	0.049	ND	ND

<sup>1</sup> 5 % of orange juice was mixed.

<sup>2</sup> 89% of apple juice was mixed.

ND : not detected, detection limits are shown in Table 1.

本報でとりあげた6農薬のわが国における規制では、DP、OPPおよびTBZは食品添加物としての規格が定められており、それぞれの柑橘類における使用基準は70 ppm、10 ppmおよび10 ppmとなっている。調査の結果これらについてはいずれも基準値以下であった。また、その他の農薬について残留基準は定められておらず、環境庁の定める登録保留基準に、2,4-Dは米に0.2 ppm、ベノミルは柑橘類に0.7 ppmと定められている。これらのうちオレンジのNo.3についてのみ基準値を超えるものが見られた。

#### ま と め

輸入届出品および市販の生鮮柑橘、ならびに柑橘果汁製品32検体の実態調査を行ったところ、DP

が16検体から0.001~3.083 ppm、OPPが27検体から0.003~2.75 ppm、2,4-Dが10検体から0.005~0.11 ppm、イマザリルが20検体から0.007~10.58 ppm、TBZが12検体から0.01~2.04 ppm、ベノミルが4検体から0.01~1.30 ppmの範囲で検出された。

#### 文 献

- 1) 外村 晶, 神山美智子: "ポストハーベスト農薬-アメリカ調査報告書-", 日本子孫基金, (1989)
- 2) 小若順一: "ポストハーベスト農薬汚染", 家の光協会 (1990)
- 3) 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 伊藤誉志男: 食衛誌, 33, 23~30 (1992)

### Determination of Organophosphorus Pesticides in Imported Foods by FPD-GC and GC-MS

Yasuhide Tonogai, Yukari Tsumura, Yumiko Nakamura,  
Yoshio Ito, Yoshinori Watanabe\* and Yukihiro Shiomi\*\*

Organophosphorus pesticides in 47 agricultural products imported at the Yokohama and Kobe Quarantine Station in 1990 were determined by FPD-GC and identified by GC-MS. Chlorpyrifosmethyl, malathion and fenitrothion were found in wheat (0.03-0.69 ppm), chlorpyrifosmethyl and fenitrothion in soy bean (0.02-1.03 ppm), chlorpyrifosmethyl in cherry (0.12-0.17 ppm), chlorpyrifosmethyl in pumpkin (0.07-0.15 ppm), chlorpyrifosmethyl and malathion in corn (0.15-1.38 ppm).

**Keywords:** post-harvest application, organophosphorus pesticide, imported food, gas chromatography

(Received May 31, 1992)

#### Introduction

Since the production and circulation of foods have become international, the import of agricultural products from foreign countries to Japan has increased year by year. Nowadays, Japan imports more than 50% of its total food consumption. Under this situa-

tion, safety of imported foods become a major concern for consumers. The post-harvest pesticides applied for agricultural products, especially for grains, have given rise to much discussion.

Grains may be stored for periods of several weeks to several years before consumption or processing. Hence, many kinds of pesticides are used to reduce the possibility of losses caused by insects and pathogens during this period amount of residual pesticides in foods due to post-harvest application have tended to become greater than those due to pre-harvest application. Various reports have

\* Yokohama Quarantine Station: 1-1 Kaigan-dori, Naka-ku, Yokohama 231

\*\* Kobe Quarantine Station: 1-1 Toyahama-cho, Hyogo-ku, Kobe 652

revealed that several kinds of pesticides have been detected from imported agricultural products and processed products found on the Japanese market<sup>1-7)</sup>

The Japanese Food Sanitation Law, however, prescribes no regulation with respect to residual pesticides resulting from post-harvest application. Therefore, such a regulation should be established as soon as possible. Now, the Ministry of Health and Welfare, intends to establish Japanese standards for unregulated pesticides and to survey the residual amount of those pesticides in imported foods. Since the authors are concerned with the chemical analysis of imported foods and organophosphorus pesticides which are widely used in agricultural products, we made a surveillance of organophosphorus pesticides in foods imported at the Yokohama and Kobe Quarantine Stations in 1990 in order to contribute to the establishment of a regulation

for post-harvest pesticides.

### 1. Materials and Methods

Imported wheat, soy bean, corn, pumpkin, onion, melon, cherry, etc., were used as sample. Pesticide standards and GC conditions used for the determination of pesticides were the same as those in the previous<sup>8)</sup> report.

GC-14A gas chromatograph-QP-2000 mass spectrometer (Shimadzu Co. Ltd.) fitted with DB-210 capillary column (J & W Scientific; 0.25 mm I.D×30 m, film thickness 0.25 μm) was used. Operating conditions of mass spectrometer were as follows; electron impact ionization, voltage of 70 eV trap current of 300 μA, source temperature of 250°C, EM gain of 1.9, scanning range of 40-400 m/z, and scanning cycle of 1 sec. Outline of the preparation procedure of test solutions for GC and GC-MS analysis was shown in Fig. 1, which was the same as those described in the

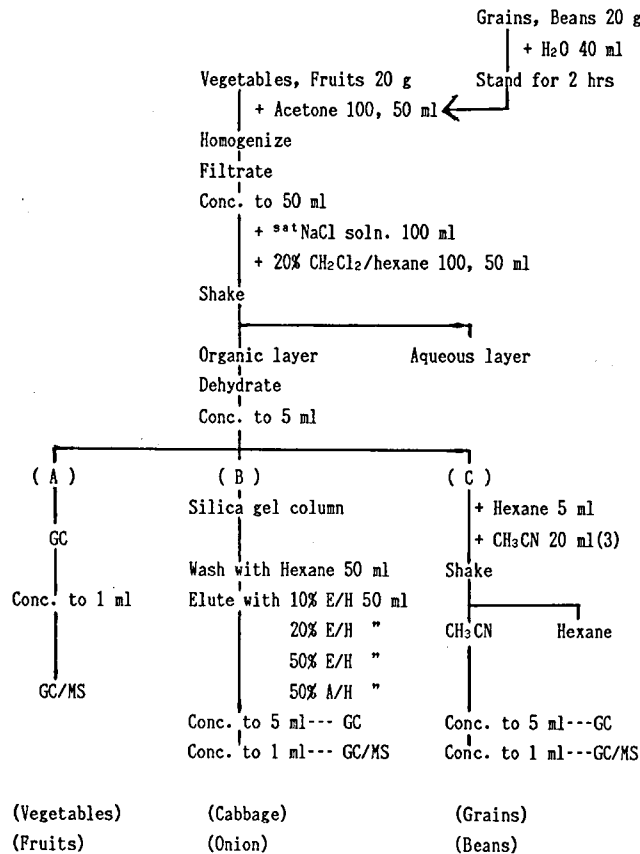


Fig. 1. Schematic diagram for the preparation of test solutions

E/H : Ether/Hexane, A/H : Acetone/Hexane

previous paper<sup>8)</sup> except for the use of GC-MS.

## 2. Results and Discussion

Organophosphorus pesticides used in 47 kinds of agricultural products imported at the Yokohama and Kobe Quarantine Station in 1990 were determined by FPD-GC<sup>8)</sup>. All the pesticides detected by GC, were confirmed by GC-MS.

Results of the surveillance are summarized in Tables 1 and 2. In wheat samples, chlorpyrifosmethyl (15/18), malathion (7/15), and fenitrothion (3/15) were found. In soy bean samples, chlorpyrifosmethyl (2/5) and fenitrothion (1/5) were found. In all of 4 cherry samples, chlorpyrifosmethyl were found. In

pumpkin samples, chlorpyrifosmethyl (4/5) were found. In both of 2 corn samples, chlorpyrifosmethyl and malathion were found.

It this time, the Japanese Government has no standards for the residual amount of chlorpyrifosmethyl in any foods, nor for malathion and fenitrothion in wheat and corn. Japanese standards for the residual amount of fenitrothion and malathion in soy bean are 0.2 ppm and 0.5 ppm, respectively.

## References

- 1) Hanai Y. and Iguchi, Y.: Measurements of pesticides in imported farm products. *J. Department of Environmental Engineering*

Table 1. Contents of residual pesticides in foods imported to Yokohama or Dobe Quarantin Station from January till March in 1990

Food	Country	Residual pesticide	(ppm)
Wheat	USA	Chlorpyrifosmethyl	0.21
		Malathion	0.07
Wheat	Canada	Chlorpyrifosmethyl	0.07
Wheat	Australia	Chlorpyrifosmethyl	0.18
Wheat	USA	Chlorpyrifosmethyl	0.69
		Malathion	0.13
Wheat	USA	Chlorpyrifosmethyl	0.02
Wheat	USA	Chlorpyrifosmethyl	0.40
Wheat	USA	Chlorpyrifosmethyl	0.14
		Malathion	0.04
Wheat	Canada	None	ND
Wheat	Canada	None	ND
Wheat	Australia	None	ND
Soy bean	USA	Chlorpyrifosmethyl	1.03
		Fenitrothion	0.02
Soy bean	Canada	Chlorpyrifosmethyl	0.05
Soy bean	China	None	ND
Soy bean	Canada	None	ND
Soy bean	Canada	None	ND
Corn	S. Africa	Chlorpyrifosmethyl	0.15
		Malathion	1.38
Corn	S. Africa	Chlorpyrifosmethyl	0.43
		Malathion	0.36
Pumpkin	USA	Chlorpyrifosmethyl	0.15
Pumpkin	USA	Chlorpyrifosmethyl	0.10
Pumpkin	USA	Chlorpyrifosmethyl	0.07
Pumpkin	USA	None	ND
Pumpkin	Mexico	Chlorpyrifosmethyl	0.04
Onion	Taiwan	None	ND
Onion	USA	None	ND
Melon	Mexico	None	ND
Melon	New Zealand	None	ND
Water melon	New Zealand	None	ND
Grape	Chiri	Chlorpyrifosmethyl	0.02
Cabbage	Taiwan	None	ND

ND : not detected (less than 0.01 ppm)

Table 2. Contents of residual pesticides in foods imported to Yokohama Quarantine Station from April till November in 1990

Sample	Country	Date	Residual pesticide	(ppm)
Wheat	USA	May 17	Chlorpyrifosmethyl	0.37
			Malathion	0.31
Wheat	USA	Jun. 9	Chlorpyrifosmethyl	0.53
			Malathion	0.03
			Fenitrothion	0.04
Wheat	USA	Jun. 14	Chlorpyrifosmethyl	0.27
			Malathion	0.31
Wheat	USA	Aug. 29	Chlorpyrifosmethyl	0.08
			Malathion	0.27
Wheat	Australia	Jun. 8	Chlorpyrifosmethyl	0.12
			Fenitrothion	0.03
Wheat	Australia	Oct. 19	Chlorpyrifosmethyl	0.05
			Fenitrothion	0.09
Wheat	Canada	Nov. 16	Chlorpyrifosmethyl	0.05
Wheat	Canada	Nov. 19	Chlorpyrifosmethyl	0.05
Cherry	USA	Jul. 4	Chlorpyrifosmethyl	0.17
Cherry	USA	Jul. 5	Chlorpyrifosmethyl	0.12
Cherry	USA	Jul. 5	Chlorpyrifosmethyl	0.14
Cherry	USA	Jul. 6	Chlorpyrifosmethyl	0.14
Coffee	Peru	Apr. 28	Chlorpyrifosmethyl	0.19
Lemon	Spain	May 9	None	ND
Kiwi	New Zealand	May 14	Chlorpyrifosmethyl	0.38
			Fenitrothion	0.04
Banana	Philippine	May 18	Chlorpyrifosmethyl	0.35
			Fenitrothion	0.05
Burdock	Taiwan	May 25	Chlorpyrifosmethyl	0.28
Asparagus	Philippine	May 29	Chlorpyrifosmethyl	0.30

ND : not detected (less than 0.01 ppm)

*Science and Technology, Yokohama National University*, 16, 29~35 (1989)

- 2) Nagayama, T., Maki, T., Kan K., Iida, M., Kawai, Y. and Nishima, T.: The residual circumstances of organophosphorus pesticides in imported cereals and the behavior of pesticide during the manufacture of wheat flour. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 30, 438~443 (1989)
- 3) Okuzawa, Y., Nakajima, H., Ito, K., Mito, K., Furuta, K., Sakagami, M. and Funayama, Y.: Residue of agricultural chemicals in imported vegetables and fruits. *Food Sanitation Research*, 40(6), 91~96 (1990)
- 4) Kawamura, Y., Takeda, A., Uchiyama, M., Sakai, K. and Ishikawa, H.: Organophosphorus pesticides in flour. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 21, 70~74 (1980)
- 5) Kawamura, Y., Takeda A. and Uchiyama, M.: Analysis of organophosphorus insecticides in fresh cherries imported from USA. *Eisei Shikenjo Hokoku*, 99, 133~134 (1981)
- 6) Saito, I., Oka, N., Takahashi, H. and Uno, K.: Analysis of residual malathion and its decomposed product in wheat. *Bull. Public Health Labo. of Aichi*, 32, 55~61 (1982)
- 7) Konishi, Y. and Yoshida, S.: Studies on daily intake of organophosphorus pesticides (malathion, fenitrothion) and their sources. *J. Japanese Soc. of Nutri. and Food Sci.*, 40, 375~380 (1987)
- 8) Tonogai, Y., Nakamura, Y., Hasegawa, Y., Fujiwara, M. and Ito, Y.: Simultaneous determination of 29 kinds of organophosphorus pesticides in foods by FPD-GC with capillary column. *EISEI KAGAKU*, 36, 349~357 (1990)

# 業 務 報 告

## Annual Reports of Divisions

### 平成 3 年度 業務 概要

所 長 内 山 充

#### 内外の動向

平成3年度は、ソビエト連邦の解体という、生涯にめったに経験することがないような世界情勢の変化の年であったが、同時に、科学技術発展と地球あるいは人間環境との調和が緊急の課題として世界的に重視されるようになってきたことも大きな変化と言える。国内でも、科学技術会議からの18号答申『新世紀に向けてとるべき科学技術の総合的基本方策について』（平成4年1月）と、それに基づいて改正された政府の『科学技術政策大綱』には、重点施策として科学技術と人間・社会との調和が第一に挙げられている。

国民の健康に大きな影響をもつ医薬品や食品・環境中の多くの化学物質の、安全性と有効性に関する理論的および実験的な試験研究を遂行し、行政と協力して国民の保健衛生の向上と生活環境の安全を確保するという当所本来の業務は、まさに科学技術と人間との調和を目的としたものであり、ますます重要性を増している。

これら業務の能率的な遂行には、人材の確保、研究基盤の強化、社会的要求への対応等を可能にする適切な組織と計画が必要であるが、そのためには諸内外からの評価を十分に参考にすることが必要である。本年度は、厚生科学会議の研究評価部会による本所への訪問評価を始め、所内研究評価委員会による業務評価も行われた。そこで示された客観的な理解と指摘は今後の業務の運営上の有益な示唆となる。

昨年度より進みつつある創薬基礎科学の振興計画については、当所の特徴と役割を生かすべく昭和58年以來の行革大綱に基づき実施しつつある当所

独自の見直し構想に沿って、将来計画の中に取り込み検討中である。平成4年度より始まるファルマドリーム21計画に盛られた基礎科学、評価科学および基盤技術に関する研究には積極的に対応することとしたい。

このような現状と将来の動向について、所員全体と直接意見の交換をする場として、本年より年2回程度定期的に『全所集会』を行うこととした。また、所内で得られた研究業務のうち公にフィードバックすべき問題については、機会をとらえて広報活動を行い、国立研究機関の責任を果したいと考えている。

#### 業務の推移

当所が内外より期待され要望されている業務は、安全性、有効性および品質の評価科学（レギュラトリーサイエンス）と、それに結び付く基礎研究である。本年も、医薬品、食品およびその他の多くの生活関連化学物質を対象に、先導的技術の応用と、基盤的知識や情報の蓄積に配慮しつつ、多くの業務実績を重ねることができた。

特に最近の特徴としては、いろいろな意味で業務の中に国際化の影響が大きく現れて来ていることである。本所の研究成果は、直接、間接に行政施策に反映され、国民生活の向上に役立っているが、最近では独り我が国のみならず広く世界各国の生活環境あるいは行政施策を考慮して評価科学を推進することが必要である。各種の国際会議に専門家として出席した職員は延べ46名に及んでいる。所内のすべての分野において、先進諸国の同じ職責にある研究者との連絡や討議が今後さらに活発となることであろう。

医薬品分野では、医薬品承認審査の技術的資料に関わる国際調和(略称 ICH)が本年度から具体的に開始され、品質と安全性に関して本所からも会議への参加やガイドラインの検討あるいはそれらに関連した基礎実験等、かなりの参画が見られた。日本薬局方は本年より、随時追補を公布して内容の近代化と国際化を進めることとなったが、標準品の拡充やバイオテクノロジー医薬品への対応等、当所の研究成果がその大きな支えとなっている。薬用植物については、伝統薬の見直しと資源保存の観点から国内外の関心がとみに高まっており、さらに地球環境問題にまでも関連が生じる勢いにある。一方、医療用具に関しては昨年来行政需要も高まり、規格と安全性評価に必要な実験室的検討と、それに基づくガイドラインの設定に多くの貢献がなされた。

食品・環境分野では、残留農薬に関する食品基準の大幅な設定に伴う技術支援が特筆される。それは輸入食品や農薬のポストハーベスト施用に対処する実験室的検討とも関連している。10月から開設された横浜検疫所の輸入食品検疫検査センターには、食品部と食品添加物部の室長が交替で化学課長を併任して指導に当たることとなり、同時に同センターの検査官の研修も当所で行われた。水道水質の基準見直しと、それに伴う検査方法の確立は、国内向けの全面的な技術的検討はもとより、同時に進行しつつある国際的な会合への参加をも含め、本年の重要な業務であった。

安全性評価分野に関しては、OECDを中心とする既存化学物質の安全性点検計画への参加をはじめ、安全性試験法の開発と標準化、国としてのリスクアセスメント手法とその基準の確立が、本所に課せられた緊急の責任であることを自覚し、これまで数年間にわたり整備拡充して来た安全性評価体制の成果を世に問うべく、最終的な段階の努力をしつつある。来るべき製造物責任の概念導入を前に、安全性評価法の国際調和と国内へのフィードバックを当面の目標としている。

情報部門では国際有害化学物質登録制度(IRP-TC)や国際化学物質安全性計画(IPCS)の我国における中心としての機能を果たすことができた。特に最近 IRPTC 機能の行政上の重要性が再認識され、さらに IPCS の第3の事業である国際化学物質安全性カードの作成が順調に進展しつつあるが、これまでと同様に、この面でも大きな貢献がなされた。

以上、各分野における主として行政対応の代表的

な業務の動向を紹介したが、この他行政上のさまざまな問題に対処して行われた多くの業務が後記の『行政報告』の部にリストされている。そしてそれらを支える各種の基礎研究は『誌上発表』の部に見られる200編を越える原著となっているので参照されたい。

#### 国内外の技術協力

当所の業務と密接に関係し、常に連携を保ちながら試験研究を行っている地方衛生研究所あるいは薬事指導所との交流討議の場としての『全国衛生化学技術協議会』の第28年会が、平成3年10月8~9日に広島県衛生研究所の主催で広島県民文化センターで開催された。海佐年会長のもと有意義な討論、発表が行われ、当所からも多くの職員が参加し盛会であった。

薬用植物の栽培について基盤の向上と当所の研究成果の還元を意図し、7月11日に『薬用植物栽培技術フォーラム』を筑波の国際交流センターで開催した。多くの熱心な参会者の要望もあり、今後毎年開催する予定である。

昨年に引き続き化学物質の安全性評価に関心のある各界の研究者に国際的な動向を紹介する目的で、1月17日に『ケミカルセイフティフォーラム』を目指した講演会を虎ノ門パストラルで開催した。次年度からは正式にフォーラムとして発足できると考えている。

発展途上国に対する技術協力は、フィリピン食品医薬品局の試験検査指導やブラジル、中国等との伝統薬についての協力等を行い、諸外国よりの研究員20名を受け入れ、同時に延べ12名の職員を派遣した。

#### 移転関係

既に決定している東府中の米軍基地後への移転に向け、所内の移転計画本部の各部会の検討と平行し、関係各省庁、東京都および府中市との交渉を進めており、現在のところ平成8年度の移転を計画している。一方大阪支所も昨年度の報告のとおり移転対象機関に指定されたが、平成3年度末現在まで処理方針については未定である。



## 総 務 部

部 長 桐 原 清 司

## 1. 定 員

平成2年度末の定員は277名であったが、第7次定員削減計画に基づき行政職(□)2名、研究職1名、計3名の定員削減により、平成3年度末の定員は、指定職2名、行政職(→)45名、行政職(□)23名、研究職204名、計274名となった。

## 2. 予 算

平成3年度の子算の概要は次のとおりである。

## (1) 一般予算

予算額は、3,207,690千円で前年度に比較して8.06%の増額が図られた。

増額、減額の主な項目としては、

- ①研究費（試験研究費の単価アップに伴う増）  
3,485千円
- ②標準品製造費（7品目追加による増）  
5,511千円
- ③施設整備費の増  
19,395千円
- ④総合化学物質安全性研究費の増  
68,128千円

等が挙げられる。

また、新規予算については、移転調査検討費として作図料および移転先地の関係機関等に対する連絡・調整に必要な経費が、2,657千円認められた。

## (2) 移替予算

予算額は、169,006千円で前年度に比較して0.19%の減額となった。

新規課題としては、国立機関原子力試験研究費において2課題（①標識化合物を利用した新しいエンドトキシン微量定量法の開発とエンドトキシン疾患の診断法の確立に関する研究9,962千円、②創薬のための微量生理活性蛋白質の探索とその構造および機能解析における放射性多重標識化の活用に関する基礎的研究8,016千円）、国立機関公害防止等試験研究費において1課題（有機スズ化合物の海域環境中における動態の解明に関する研究17,413千円）が認められた。

なお、平成3年度事項別予算額は別紙のとおりである。

## 3. 施設整備状況

平成3年度の施設整備の概要は以下のとおりであった。

- (1) 大阪支所機器分析室増築工事

## 別紙

## 平成3年度予算額

事 項	平成2年度 (A)	平成3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	2,968,555	3,207,690	239,135	
(項)厚生本省試験研究所	2,809,722	3,048,988	239,266	
人 件 費	1,911,120	2,044,245	133,125	
人 当 経 費	7,704	7,674	△ 30	
一般事務経費	41,716	42,928	1,212	
研 究 費	226,041	229,526	3,485	
特 別 研 究 費	16,195	16,120	△ 75	1. 医薬品の適正な評価を志向した光学異性体に関する基礎研究 (6,733千円) 2. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究 (9,387千円)
標準品製造費	21,401	26,912	5,511	
安全性生物試験研究センター運営費	204,782	205,062	280	
薬用植物栽培試験場運営費	103,074	105,631	2,557	
情報活動運営費	41,864	41,962	98	
施設管理事務経費	45,161	64,556	19,395	
対がん10か年総合戦略経費	58,411	58,448	37	

事	項	平成2年度 (A)	平成3年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
		(千円)	(千円)	(千円)	
受託研究費		90,694	93,428	2,734	1. ニューロトロフィック・ ファクター等の分離技術お よび機能の解析技術の開発 (9,321千円) 2. 疾病の発生に影響を及ぼ す遺伝子の探査技術および 機能の解析技術の開発 (4,142千円) 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 (15,494千円) 4. 新開発食品の有用性・安 全性評価技術の開発 (10,333千円) 5. バイオテクノロジーによ り生産される医薬品の標準 化と試験法開発 (8,293千円) 6. 形質転換薬用植物資源の 開発, 育成および利用 (6,251千円) 7. 高分子材料と薬理活性を もつ物質との総合技術の開 発 (15,515千円) 8. 高分子医薬品の化学修飾 による有用性増幅 (8,253千円) 9. 医用(高分子)材料の安 全性評価法に関する研究 (10,615千円) 10. 免疫・食細胞系による生 体防御機構の解明 (2,060千円) 11. 代謝・解毒・内分泌機能 と生体防御機構の解明 (3,151千円)
乱用薬物基礎研究費		18,572	18,724	152	薬物乱用, 特に市販配合剤乱 用時の依存性形成能とその薬 物動態ならびに生体に及ぼす 影響に関する研究 (18,724千円)
総合化学物質安全性研究費		22,987	91,115	68,128	
移転調査検討費		0	2,657	2,657	
(項)血清等製造および検定費		98,304	98,390	86	
一般事務経費		12,785	12,819	34	
事業費		85,519	85,571	52	
(項)厚生本省試験研究所施設費		60,529	60,312	△ 217	大阪支所機器分析室増築その 他工事 (60,312千円)
[移替予算]					
(組織)厚生本省試験研究機関		169,329	169,006	△ 323	
(項)国立機関原子力試験研究費		87,143	93,493	6,350	
(項)放射能調査研究費		1,926	0	△ 1,926	
(項)国立機関公害防止等試験研究費		80,260	75,513	△ 4,747	
計		3,137,884	3,376,696	238,812	

\* 予算額については両年度とも当初予算額

(施設整備費 25,991 千円)

- (2) 種子島薬用植物栽培試験場農具庫改築工事  
(施設整備費 34,321 千円)
- (3) 伊豆薬用植物栽培試験場温室ガラス補修工事  
(各所修繕費 (特別修繕) 3,031 千円)

#### 4. 国家検定等品目の改正

##### (1) 国家検定品目の追加

当所が検定することとされている国家検定品目に、新たに「生成成ヒト中性インスリン注射液」他2品目が追加された(平成3年10月4日厚生省告示第185号)。

この結果、当所の試験に係る国家検定品目は、3品目から6品目となった。

##### (2) 国立衛生試験所標準品交付規定の一部改正

医薬品標準品「アセトアミノフェン標準品」他4品目ならびに色素標準品「アルラレッドAC標準品」を追加した(平成4年3月17日厚生省告示第96号)。

これにより、当所が交付している医薬品標準品は合計94品目、色素標準品は合計38品目となった。

## 薬 品 部

部 長 寺 尾 允 男

### 概 要

平成3年度においては、医薬品の品質試験、製剤評価、ならびに麻薬および依存性薬物に関する研究を中心に試験および研究を実施した。医薬品の品質に関する研究では、医薬品の分析法の確立およびそのための基礎的研究ならびに日本薬局方の規格、試験法に関する研究を中心に行った。製剤の評価に関する研究では、主として生物学的同等性に関連する要因の研究および生物学的同等性試験ガイドラインの改正にむけて必要な試験研究ならびに製剤中での医薬品の物理的、化学的安定性を支配する因子の解析を行った。麻薬および依存性薬物の研究では、主として薬物の分析法の確立ならびに生体試料からの薬物の分析法の確立について検討した。

平成3年度には、科学技術庁 STA フェローとして Dr. C. G. Jordan (アイルランド) が一年間在籍し研究に従事し、また Mr. Sri Harsodjo Wijono Soewandi (インドネシア) が約3ヶ月間分析機器の取り扱いについての研修を行った。

### 業務成績

#### 1. 特別審査試験

新薬 114 件、かぜ薬 26 件、殺虫剤 2 件、合計 142 件について試験した。

#### 2. 一斉取締試験

アセトアミノフェン坐剤 (7 件)、点眼剤 (143 件)、ジアゼパムの内服固形製剤 (28 件) について試験した。

#### 3. 特別行政試験

ドノレスト 50 およびドノレスト 100 製剤の「規格および試験方法」に基づく試験 (4 件)、あへん中モルヒネ含量試験 (国産あへん 26 件、輸入あへん 72 件、合計 98 件)。

#### 4. 標準品の製造

1-メタンフェタミン (15g)、*l*-アンフェタミン (15g)、メチルアミノレックス (15g)、*dl*-メタンフェタミン (15g)、メフェノレックス (15g)、6-アセチルモルヒネ (15g)。

#### 5. 国際協力

Mr. Sri Harsodjo Wijono Soewandi (インドネシア) の研修に協力した (国際協力事業団、平成4年1月18日から同年3月25日まで)。

#### 6. その他

日本薬局方改正 (薬務局安全課)、日本薬局方外医薬品成分規格集改正 (薬務局審査課)、地方衛研技術者講習会 (薬務局監視指導課) および JIS 改正 (通産省) に協力した。

### 研究業績

#### 1. 医薬品の分析法に関する研究

ベンゾジアゼピン系向精神薬8種のHPLCによる分析法を検討し、それら医薬品の迅速分析法(案)を作成した。

アルベンダゾール製剤の規格および試験方法を開発するとともに、熱帯病治療薬の国内供給を図るため、ラリアムおよびチベラールの規格および試験方法を検討し、品質管理を行った。

また、カルボン酸化合物分析用蛍光標識試薬の開発を行い、遊離脂肪酸および光学活性カルボン酸化合物を用い、それら試薬の有用性について検討した。

#### 2. 日本薬局方の規格および試験方法に関する研究

日本薬局方一般試験法「吸光度測定法」における波長および透過率の校正法としてフィルターを用いる簡易な方法の検討を行い、改正案の作成を行った。また、ヒ素試験法の「検液の調製法」において、ヒ

素の回収率を向上させるため、エタノール中の硝酸マグネシウム濃度の検討などを行い、良好な回収率を得る条件を見出した。

電量滴定を用いる医薬品の定量法を確立するため、平成3年度において、高い電流効率を得るための電解セルおよび電極の材質などの検討を行った。

### 3. 医薬品の有効性、安全性に関する薬剤学的研究

イヌでは食後投与の徐放錠からのアセトアミノフェンの吸収がわるいことから、速やかな胃排出が示唆される結果が得られた。また、坐剤においてインドメタシンは難溶性薬物の吸収を促進するが、バイオアベイラビリティには影響しないことを明らかにした。その他、物性の異なる数種の薬物の皮膚吸収性を予測するインビトロ試験法を考案した。

各国の生物学的同等性試験に関して比較検討を行い、我国のガイドラインは統計的評価法に検討の余地があるものの、インビトロ試験の活用において他国より優れていることが明らかとなった。

代替フロン123, 134aの化学的安定性、金属容器腐食性について検討し、これらの観点からは代替フロンとして使用可能であることを明らかとした。

### 4. 医薬品の物理・化学的安定性に関する研究

カリクレインカプセル、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ散剤、プロメライン錠剤、 $\alpha$ -キモトリプシンバックル等の酵素製剤を用い、加速試験による有効期間の推定法の有用性を長期保存試験との比較により検討した。

製剤中の水分含量および水分子の運動性が主薬の加水分解に及ぼす影響についてセファロチン製剤を用いて検討し、その関係を明らかにした。

$\beta$ -ガラクトシダーゼや乳酸脱水素酵素などのタンパク質の凍結乾燥による失活に対する各種添加剤の安定化効果について検討した結果、添加剤の非晶性が安定化効果の重要な要因となることが明らかとなった。

シュガーエステルを用いた逆相ミセル法によりスーパーオキシドディスムターゼなどのタンパク質をポリ乳酸マイクロスフェアに安定に内包できることを明らかにした。

### 5. 麻薬および依存性薬物に関する研究

毛髪へのコカインおよびその代謝物の排泄をラットで調べたところ、コカインに比べ代謝物であるベンゾイルエクゴニンおよびエクゴニンメチルエステルは極めて少量しか排泄されないことが明らかとな

った。

医薬品デプレニールと覚せい剤の使用者を尿分析から識別する方法を開発した。尿からデプレニール使用者では*l*-メタンフェタミンが、覚せい剤使用者からは*d*-メタンフェタミンが検出される。

カンナビノイド系向精神薬4種、ベンゾジアゼピン系向精神薬10種の分析マニュアルを作成するとともに、コカイン使用の化学的証明法の標準化と使用の判定のためのガイドラインを提案した。

毛髪中の覚せい剤およびその代謝物の研究、ならびに光学異性体分析による覚せい剤検体の起源解明のための研究を行った。

## 生物薬品部

部長 早川 堯夫

### 概要

生物薬品の品質確保およびその評価技術の開発ならびにこれに関連する生物化学的研究を中心に業務を遂行した。微生物由来組換え医薬品分野での学問・技術の進歩や評価技術の進歩を反映したガイドラインの改訂や細胞培養医薬品の本質、有効性、安全性の観点からみた品質確保に必要な科学的コンセプトの提示を行った。また、従来動物を用いたバイオアッセイ (*in vivo* bioassay) を必要とした生物薬品について品質向上や測定技術の進歩を反映したより合理的な *in vitro* 法や理化学的試験法などの代替法の開発に関する検討を開始した。その特性上 *in vivo* bioassay を必要とする糖鎖含有タンパク質製剤等のより簡便で高精度な試験法の開発や標準化に関する研究も成果を挙げつつある。公定書医薬品のより適切な試験法開発や迅速分析法の開発も一定の成果を得た。診断用医薬品の品質確保に関連する業務が拡大してきた。生体関連物質の特性解析および生体機能や生体内活性物質の作用機序の解明などに関する生物化学的研究はいずれも当部の科学技術上のバックボーンを形成する基礎研究であるが、これらをいかに生物薬品の品質確保およびその評価技術の開発や生物薬品の有用性確保に活用、結実させていくかを絶えず心がける必要性を痛感する。以上の点をふまえて業務展開の拡充発展を図って行けば、国内における優良な医薬品開発や国際的ハーモナイゼーションにおいてより充実した科学的貢献を果たすことが可能になってくると思われる。

人事面では、平成3年11月1日付けで福田秀男第一室長が退官され、後任に森本和滋化学物質情報部第一室長が発令された。福田前室長は33年8ヶ月の長きにわたりホルモンおよび酵素製剤に関する研究や品質評価・管理等の業務を中心に多大の貢献をされた。また、平成4年5月1日付けで徳永裕司有機化学部主任研究官が当部に配置替えとなった。平成3年7月25日付けでHS財団国内流動研究員として山口高正博士が派遣され、平成4年3月31日付けで藤村久子博士が派遣を解かれた。

短期海外出張は以下のとおりであった。早川部長：医薬品承認申請に係わる技術的資料の国際的調和に関する国際会議（ICH）出席および好中球機能に関する共同研究打ち合せ（ベルギー、スイス、平成3年11月3～11日）；医薬品規制基準の国際的動向に関する米国薬学会国際ワークショップ出席（米国、平成4年3月31日～4月5日）、山口室長：第2回国際炎症学会出席（イタリア、平成3年10月6～12日）。

#### 業務成績

##### 1. 特別審査試験

新薬31件およびかぜ薬・解熱鎮痛薬8件、合計39件について試験した。

##### 2. その他

第13改正日本薬局方に伴う業務（薬務局安全課）、日本薬局方外医薬品成分規格検討委員会、原体・添加物小委員会（薬務局審査課）、医療用モノクローナル抗体の製造と管理のために必要な事項草案作製協力（WHO）、組換えヒト成長ホルモンの比活性決定および新規国際標準品設定のための国際共同検定（WHO）、バイオテクノロジー応用医薬品の品質・安全性の評価等に関する啓蒙活動への協力（HS振興財団、日本公定書協会、日本抗生物質学術協議会）。

#### 研究業績

##### 1. 医薬品の規格および試験法に関する研究

i) オキシシン製剤のHPLC法による定量に関する基礎的検討を行った。

ii) 局外規塩化リゾチームの定量法に関してその操作性および精度の改良を行い、迅速分析法を作成した。

iii) インスリンEIAキット間のばらつき原因物質として、検体中のIGFの影響について検討した。

iv) バイオテクノロジーにより生産される医薬品の標準化と試験法の開発に関して、エリスロポエチ

ン（EPO）の新バイオアッセイ法において測定指標としている溶剤剤抵抗性細胞の特性解析を行い、この細胞が未熟な網状赤血球であることを明らかにし、新測定法の妥当性を裏付けた（HS財団受託研究費）。

v) 組換えヒトインスリン製剤の定量法をHPLC法で行うための諸条件を検討した（厚生科学研究費補助金、薬務局監視指導課）。

vi) バイオテクノロジー応用医薬品のわが国の規制を科学的に見直し、製造方法、物性、品質・規格等の評価項目や基準に関して必要な改定や具体的記載等の対応策を検討した（厚生科学研究費補助金、薬務局新医薬品課）。

##### 2. 医薬品の有効性と安全性に関する生物化学的研究

i) 多形核白血球機能の分子機構ならびに各種薬剤の有害作用発現に関する生化学的研究の一環として、HL60細胞の多形核白血球への分化におけるチトクロームb<sub>558</sub>の発現について検討した。また、dicyclohexylcarbodiimide（DCCD）によるヒト多形核白血球の活性化におけるタンパク質リン酸化の関与について検討した。

ii) ヒト成長ホルモンのループ領域にある活性部位のアミノ酸変換体を作成し、活性発現への関与を検討し、Arg64の正電荷が受容体結合に関与する可能性が示唆された。

iii) 免疫・食細胞系による生体防御機構の解明に関する研究として、ヒト多形核白血球の活性酸素生成酵素の活性化におけるタンパク質リン酸化の役割について、フォスファターゼの強力な阻害剤であるcalyculin Aを用いて検討した（HS財団受託研究費）。

iv) タンパク質のPEG化による安定化機序について検討した。ハイブリッド形成法および遺伝子工学的的方法によるγ-グルタミルトランスベプチダーゼの性状改変について検討した（HS財団受託研究費）。

v) リピドAモノクローナル抗体を用いてエンドトキシンの酵素免疫測定法の確立を行った（HS財団受託研究費）。

vi) 組織プラスミノゲン活性化因子の生物学的安定性に及ぼすPEG化の影響を検討した（国立機関原子力試験研究費、科学技術庁）。

vii) 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究として、マクロファージの食食能および活性酸素生

成活性の測定指標の検索を行った(特別研究)。

### 3. 生体内活性物質の作用機序に関する研究

i) ヒトアルドース還元酵素の活性中心領域に存在する Lys 263 を位置特異的変異法で他のアミノ酸残基に置換し、それらの酵素化学的性質を検討することによって、Lys 263 の役割を明らかにした。

ii) 糖尿病合併症と組織内アルドース還元酵素量との相関を明らかにするために、組織内アルドース還元酵素量の酵素免疫測定法を確立した(厚生科学研究費補助金、保健医療局疾病対策課)。

iii) ヒト腎臓におけるアルドース還元酵素の分布およびその性質について検討した。

iv) 関節炎患者の関節液中のタンパク質非結合性鉄を測定したところ、炎症部位において生じていると予想されるスーパーオキシドや pH の低下に伴い増加することが確認された。

v) 成長ホルモンにより脂肪細胞に分化する細胞を用いて成長ホルモン添加後におこるタンパク質リン酸化を検討したところ、34 kD 付近の膜タンパク質の顕著なリン酸化が認められた。

vi) ホルモン等の作用発現に関与する諸因子に関する研究の一環として、各種ホルモンおよび栄養因子による成長ホルモン受容体の消長の調節機構について、阻害剤を用いた結合実験等により解析を行った。

vii) 創薬のための微量生理活性タンパク質の探索とその構造解析および機能解析における放射性多重標識化の活用に関する基礎的研究として、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)による前骨髄性白血病細胞の好中球への分化促進に関与する因子の探索を行った(国立機関原子力試験研究費、科学技術庁)。

### 4. 放射性医薬品に関する研究

i) 尿中代謝物の<sup>99m</sup>テクネチウム標識体を製造し、それぞれのラット体内分布を検討した。

## 生 薬 部

部長 佐竹元吉

### 概 要

昨年度に引き続き、主として生薬の規格・試験法の基礎研究および生薬・生薬成分、天然有害物質の化学的研究、薬理学的研究および薬物動態学的研究を行った。また、組織培養生成物の医薬品開発を志向しての基礎研究も行った。検定検査として特別審

査および丸剤の崩壊試験の一斉取締試験を行った。HS財団からの国際共同研究事業として、薬理部、薬用植物栽培試験場および企業との共同で中国の3機関と2期6年間の研究を終了した。

海外出張は、小野技官が食品衛生協会の派遣要請により平成3年5月7日から5月12日まで米国ワシントンD.C.に出張し、世界保健機関(WHO)主催による会議、「有毒油誘発症候群(TOS)および好酸球増多・筋肉痛症候群(EMS)に関するワークショップ：両症候群の発症原因の対比づけについての検討」にオブザーバーとして出席した。この会議で、米国、スペイン、英国、ドイツ各国で行われたEMSあるいはTOSの原因究明のための疫学的・病理学および毒性学的研究の成果および各国の今後の対応についての議論を聴取し、さらに日本側のEMS原因究明委員会の研究の進行状況などにつき、各国の研究者と議論および必要な情報交換を行った。鈴木室長は平成3年6月23日より6月30日まで生薬および生薬製剤に関するワークショップに参加のため台湾台北に出張した。尾崎室長は中国山西省医薬研究所の招待により、平成3年8月9日より8月17日まで山西省太原に出張し、黄耆討論会での講演および医薬研究所での研究交流を行った。関田主任研究官は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により、国家医薬管理局の招きで平成3年9月1日より9月10日まで中国に出張し、紫根の野生地の見学および天津薬物研究院での研究交流を行った。佐竹部長は厚生省の要請により平成3年10月18日から10月22日まで、北京で開催されたWHOおよび中華人民共和国国家中薬管理局主催の国際伝統医薬大会(北京'91)に参加し、伝統医薬に関する北京宣言の作成に携わった。

研究者および研修生の受け入れは、JICAの要請でブラジル農業牧畜公社湿潤熱帯農牧研究センターのSergio De Mello Alves氏を薬用植物の化学分析法の研修(平成3年4月1日~5月6日)に、Irenice Alves Rodrigues氏を薬用植物の分類学的研修(平成3年10月14日~12月18日)に、Sebastiano Huhn氏をコショウのオレオレジンの実用化の研修(平成4年4月21日~5月15日)のために受け入れた。韓国農村振興庁の要請で安永燮氏を生薬成分の分離および定量の研修(平成3年9月2日~12月26日)のために受け入れた。ペルーのサンマルコス大学の依頼でFlores Julia Diana氏をペルー生薬成分の構造決定の研究のために平成4年4月1日

より1年間受け入れた。中国政府の依頼で、当部で平成2年7月2日から1年半の予定で中国産生薬の薬理作用の検討を行っていた上海第二医科大学講師の胡国慶氏は、平成3年12月28日に研究を修了した。JICAの依頼でインドネシアのSri Harsodjo Wijono Soewandi氏を生薬成分分析および分析機器の研修(平成3年11月25日~平成4年1月18日)のため受け入れた。富山県からの依頼で富山県薬事研究所の横田洋一技官を動物生薬のFT-IRを用いた分析法の研究(平成4年1月27日~2月7日)のため受け入れた。

#### 業務成績

##### 1. 特別審査

従来と同様、生薬または漢方エキス剤を含む製剤(かぜ薬16件)について審査を行った。

##### 2. 一斉取締試験

丸剤の崩壊試験(156件)を行った。今回の検体の中には判定困難なものも見られた。このことは丸剤(生薬製剤)の崩壊試験に関して、伝承薬の品質を保持した試験の改良等の必要性が示唆された。

#### 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・試験法の基礎研究

生薬の定性および定量における特徴と問題点を整理した。特に生薬の標準物質については、日本と中国の現状を調査した。結晶中の水分含量について、今回はグリチルリチン酸アンモニウムを取上げて検討した。また、動物性生薬の取引についてはワシントン条約の規制を受けるものがあり、確認試験法を整理していく必要性が生じた。そこで、牛黄、熊胆、鹿茸等について、FT-IR法やTLC法の適用を検討している。

###### ii) 漢方製剤の薬剤学的研究

甘草および黄連、また両者を含む漢方処方の水抽出エキスをラットに経口投与し、両生薬の有効成分と考えられるglycyrrhizic acidおよびberberineの血漿中濃度の経時変化を測定し、薬理作用発現との関係を検討している。

市販の同一処方エキス製剤でいろいろな色調のものが見られ、それらにつき主に色調を検討した。ほとんどの抽出エキスは同様な吸光パターンを与え、その原因は製剤方法の違いによることが明らかとなった。

###### iii) 生薬の薬物動態学的研究

マオウ含有アルカロイドの一種である(-)-ノル

エフェドリンおよびその光学異性体の静脈投与後の体内動態について検討した。主な組織中の濃度推移の解析の結果、組織分布に立体選択性が見られた。光学活性体単独投与時とラセミ体投与時の体内動態の違いは、(-)-体の薬効が関与していると思われる。

##### 2. 植物資源の医薬的利用に関する研究

i) 有用な薬理活性をもつ新たな植物の探索とその利用

ブラジル産 *Arrabidaea chica* の成分検索を行い、carrajurin, isocarajuretine を単離同定した。

###### ii) 繁用生薬の成分検索とその生物活性の研究

川芎および当帰の薬理研究として、中国産の川芎に含まれるtetramethylpyrazine および川芎と当帰に含まれるferulic acidの抗炎症作用の作用様式を検討した。

両化合物の経口投与によりカラゲニン誘発浮腫、酢酸誘発色素透過性亢進および肉芽形成の抑制による抗炎症作用が認められ、両者は炎症過程の早期と遅い過程にわたり抑制作用を示すことが明らかとなった(HS財団、国際共同研究事業)。

iii) バイオテクノロジーによる薬用植物生成物の医薬利用に関する研究

黄連またはその培養カルスを配合した処方を煎じる際の溶出特性を調べるために、薬効成分berberineの煎液中への移行率を検討した。両者はカットとカルスと形態が異なるため移行率は一致しなかったが、移行率を考慮して処方中の配合量を設定することにより、カルスを生薬の代替として用いることが可能と思われる。

同等量のberberineを含有する黄連と培養カルスの水抽出エキスにそれぞれ甘草エキスを併用してラットに経口投与し、投与後の血漿中のberberine濃度を経時的に比較検討した。両者のberberineの血漿中濃度の経時変化はほぼ同様の挙動を示した。また、両者のberberineの最高血中濃度は両者の単独投与群と比較すると若干高かった(HS財団受託研究費)。

###### iv) 薬用資源植物の確保、開発および利用

中国産の硬紫根、軟紫根および日本で市販されている硬紫根のエーテル抽出エキスのラットでの肉芽形成作用に及ぼす作用を検討した。これらエキスは肉芽形成促進作用を示し、その効力は日本の市販の硬紫根、中国産硬紫根、中国産軟紫根の順であった。この肉芽形成促進作用の発現には、エキスの主成分

であるシコニン系色素成分中の光学異性による相違はあまり影響がなかった (HS財団, 国際共同研究事業)。

茯苓の栽培品と天然品の相違点を明確にする目的で含有成分の解析を行った。日本産, 中国産, 韓国産, 北朝鮮産の32種の試料のNMR測定により3 $\beta$ -hydroxylogan-7,9(11), 24-trien-21-oic acidの含有量に差を見出した。また, 同化合物の含有量と菌核内部の色調との間に相関性が認められた。なお, 成分である多糖含量については栽培品と天然品で差は認められなかった (HS財団, 国際共同研究事業)。

v) 菌類生薬の活性成分検索と化学的分類に関する研究

中国産マボツの成分検索を行い, 塩化メチレン抽出エキスよりエルゴステロールおよびその関連化合物数種を単離した。また, *Emericella nidulans*の米培地酢酸エチルエステル抽出エキスより新化合物5'-acetyl-3'-deoxyadenosineを単離・構造決定した。

### 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

*Aspergillus versicolor*株の新規成分5'-hydroxy-averantineならびに関連代謝産物についてAmes試験, 染色体異常試験を行い変異原性を認めた。

ii) 大量照射によって生成する有害物質の有機化学的解明に関する研究

糖類に高線量照射を行った際に生成する化合物をHPLCを用いて分離し構造解析を行った。(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

iii) L-TryptophanによるEMS発症問題に関する原因究明のための動物実験

1989年に米国で, 健康栄養食品として販売されていたL-Tryptophanを含む製剤の大量摂取が原因と思われる中毒事件が多発した。患者には好酸球の異常な増加 (eosinophilia) および四肢骨格筋の強度の筋肉痛 (myalgia) が共通に見られ, EMS症候群 (eosinophilia myalgia syndrome) と名付けられた。このEMSの発症原因を探るため, 本年度は事故を起こした当該ロットのL-Tryptophanおよびその主な夾雑物である peak E と名付けられた物質をラットに長期連続経口投与し, EMS様の症状の発現が見られるか否かを検討した。

健康なラット, 副腎を摘除したラットおよびメチ

ラボンの投与により副腎皮質機能障害を起こしたラットを用い, それぞれに事故品L-Tryptophanあるいは peak E+試験級L-Tryptophanを3週間連続経口投与した。毒性部および病理部の協力を得て好酸球数, 骨髄細胞の病理像, 下肢骨格筋の病理像, および肺・心臓・肝臓・脾臓・腎臓・腸間膜リンパ節各臓器の病理像を観察した。その結果, 上記3種の処置を行った動物とも, 事故品L-Tryptophanまたは peak Eの投与によってはEMS様の症状は発現せず, 上記項目に関する限り, 実験動物を使つての事故品L-TryptophanによるEMS症状の再現は困難であることが分かった。

一方, 東京大学医学部保健栄養学教室の協力を得て血中アミノ酸パターンを分析した結果, 事故品L-tryptophanを投与した動物の血漿中にもみ特異的に出現する構造未知のピーク (Xと命名), および逆にこの動物にのみ欠如する他の未知ピーク (Yと命名) の存在が明らかとなった。さらに, これらのピークの出現は, 主要な夾雑物でありEMSの原因物質と考えられている peak Eの投与とは全く無関係であった (生活衛生局食品保健課)。

## 療 品 部

部 長 中 村 晃 忠

### 概 要

平成4年4月1日付けで, 中村恵三主任研究官の厚生省医療機器開発課との併任が解除された。また, 叶多謙蔵理化学試験室長が停年退職された。同5月1日付けで, 中村恵三主任研究官が退職され, 同日付けで, 新谷英晴主任研究官が理化学試験室長に就任した。中国薬品生物製品検定所・Xi Tingfei博士のHS流動研究員派遣の1年延長が認められた。

家庭用品安全性点検の見直し作業が, 厚生省, 療品部, 毒性部の間で進められ, 試験項目および試験体制を大幅に変更することとなった。これに伴い, 試験品目選定, 試験計画策定などを検討するための「家庭用品試験計画委員会」と試験結果を評価するための「家庭用品試験評価委員会」を所内に設置し, その事務局は療品部に置くこととした。

林譲主任研究官は, 平成3年8月から1年間の予定で, 「情報理論とその分析化学への応用に関する共同研究」のためにVirginia Commonwealth大学Rutan教授のもとに滞在中である。



## 業務成績

### 1. 医療用具関係

手術用ゴム手袋・ピンホール試験および引っ張り試験 (10 品目)；ディスプレイザブル注射筒・シリコーン油定量 (5 品目) を実施した (一斉取締り試験, 薬務局監視指導課)。

### 2. 家庭用品関係

新たな試験実施計画に従って, 次の試験を実施した。

分析試験法作成: hexachloroethane, benzylacetate, zinc dimethyldithiocarbamate.

細胞毒性試験: styrenated phenols, *N, N*-diethanolamine, *N, N*-diphenylthiourea, zinc dibutyldithiocarbamate (家庭用品等試験検査費, 生活衛生局)

### 3. 標準化とハーモナイゼーション

前年に引き続いて, 中村は国際標準化機構・技術委員会 (ISO/TC) 194「医療用材料・用具の生物学的評価」に参加した (Zermatt, CH 1991.6; Arlington, USA, 1991.10)。

## 研究業務

### 1. ポリウレタン材料の埋入組織反応に関する研究

a) オリゴマーの量 (多い, 普通, 少ない) と, b) 材料の性質 (平滑フィルム, フォーム状) を変えた計 6 種類のポリウレタンを製造し, それらをラット皮下に 2 年間埋植した。埋植局所の腫瘍発生率とオリゴマー量との間に相関は見られなかった。しかし, 化学組成, オリゴマー量が同じであっても, 材料の形態を平滑フィルムからフォーム (微小な穴がある) に変えると, 局所の腫瘍発生時期は 6~9 ヶ月遅れると同時に, 腫瘍発生率も有意に減少した。全身性の腫瘍に関しては検査中である (HS 財団受託研究費, 毒性部と共同)。

### 2. ポリウレタンの生体内変化に関する研究

ポリウレタン (PU) の生体内劣化・分解はごく表面から起こると推定されるので, 支持体フィルムに PU を薄く被覆し, これを動物皮下に埋植して, 一定期間毎に薄膜 PU の変化を種々の手段で調べることにした。予備実験として, 支持体の選択と被覆条件の設定, および動物体内での被膜のはがれの有無の検討を行い, これらの条件を確立した (厚生科学研究費補助金)。

### 3. ポリウレタン・ハードセグメントのモデル化合物とポリエーテル化合物の相互作用に関する研究

昨年に引き続いて, diphenylmethane-4,4'-diurethane (モデル化合物) と各種ポリエーテル (PTMG, PEG, PPG) との相互作用を主に IR スペクトル測定によって調べた。その結果, それぞれのポリエーテルはモデル化合物と固有の比で共有混合物を作ることが明らかとなった。また, これらの固有の共有組成はセグメント化ポリウレタンの抗血栓性と密接な関連があることが分かった。

### 4. 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

ある種の透析器ポッティング剤のガンマ線照射によって生成する変異原性物質については, 硬化剤のアミンの照射物由来が疑われるデータが得られた (国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

### 5. 赤眼症候群の原因物質の構造に関する研究

ヨーロッパで起きた事例の原因物質は, 日本での事例と異なることが明らかとなった。日本の事例の原因物質の中に, 針葉樹キシラン由来の 4-methoxyglucuronoxyllose 構造が確認された。

### 6. 歯科用レジン中の残存モノマーなどの定量と細胞毒性に関する研究

常温重合および加熱重合型 PMMA レジン中のメチルメタクリレート (MMA) などの残留量を定量するとともに, それらの各種溶媒への溶出挙動を調べた。レジンの細胞毒性は常温重合型の方が強く, それは MMA 以外の親水性な物質によると推定された (厚生科学研究費補助金)。

### 7. 医用材料の細胞毒性試験に関する研究

ポリウレタンに zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) 等を種々の濃度に混ぜて作った標準陽性対照材料を用いて, 各種の標準的細胞毒性試験方法の得失を比較した。その結果, コロニー法が感度, 定量性, 簡便性のいずれにおいても優れることを確認した。

また, これらの標準材料を用いて, a) 眼粘膜刺激性, b) 筋肉組織刺激性, c) 皮膚刺激性の *in vivo* 反応と細胞毒性 (*in vitro*) との相関関係を調べた結果, いずれもよい相関があった。また, 各組織の刺激への感度の違いを同じ標準材料セットで比較したところ, 感度は眼粘膜 > 筋肉組織 > 皮膚の順に高いことが分かった。

### 8. 遅延型アレルギーの *in vitro* 試験法の確立に関する研究

Local lymph node assay (LLNA) の改良と適用について検討した。金属イオンを試験する場合に

は、皮膚透過性をよくするために、DMSOを溶媒として用いるのがよかった。有機化合物であるゴム薬品(TMTD, MBT, IPPD, ZDEC)の場合には、アセトン・オリーブ油を用いて検討したが、LLNAでの感作強度はIPPD>TMTD>MBT>ZDECであって、*in vivo*試験や臨床経験のそれと一致した。さらに、通常はマウスを使用するLLNAにラット、モルモットを使えないかを金属イオンについて検討したところ、モルモットでは個体差が大きいので適当ではないが、ラットは使えることが分かった(特別研究)。

#### 9. 催奇形性試験の*in vitro*化に関する研究

レチノイド5種のラット全胚培養系およびラット胚芽細胞培養系での活性パラメーターと*in vivo*最少催奇形発現投与量はよく相関し、*in vitro*系の有用性が立証された。また、ラット胚細胞分化系を用いて1-nitropyreneとその類縁体を試験したところ、本化合物は、ニトロ基の還元あるいはピレン環の酸化によって、より強い分化阻害物質となる可能性があることが分かった(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)。

#### 10. 家庭用品による接触皮膚炎の原因究明に関する研究(家庭用品等試験検査費)

我々の長年の地道な努力によって、接触皮膚炎学会では分析結果を伴った接触皮膚炎研究報告が当り前となった。今年も以下の事例に取り組んだ(原因製品/原因物質)。

- 1) 油性マーキングペン/*p*-tert-butylphenol-HCHO樹脂(PTBP-FR)
- 2) 革靴/PTBP-FR
- 3) 双眼鏡ゴム部分/ZDMC
- 4) ネル寝衣/Naphthol AS-D
- 5) ズック靴/dimethylamine (DMA)
- 6) 手術用ゴム手袋/ZDMC, DMA
- 7) 指サック/MBT, MBTS
- 8) 色素注入/無機・有機色素
- 9) エポキシ系塗料/*m*-xylylenediamine

#### 11. 接触アレルギーのデータベース化に関する研究

接触アレルギーのデータベースシステムは、化学物質、パッチテスト、製品の3部構成とされた。その中で、当部は化学物質関連情報の一部の入力を担当した(日本接触皮膚炎学会等と共同)。

#### 12. 抗菌防臭加工剤の安全性評価に関する研究

表記加工が各種製品に施されるようになってきた。

地方自治体および衛生研究所と共同してデータベース作成に踏み出した。また、掃除機紙パック中のビッグアノイド系およびイミダゾール系抗菌剤の分析法を確立し、調査を行った。さらに、紙オムツ等に使われる可能性のあるドデシルジアミノエチルグリシン類(Tego 51)の分析法を検討した。

#### 13. 各種ガイドライン関係

##### 1) 医用材料および医療用具の基礎的毒性試験のガイドライン

平成2年度までで終了した厚生科学研究の成果として、本ガイドライン(案)が公表され、コメントを求めている最中である。また、ISO/TC 194等との国際調和を考慮し、英訳を行った。

##### 2) 歯科材料の化学的・生物学的評価法のガイドライン作成に関する研究(厚生科学研究費補助金、薬務局医療機器開発課;東京医科歯科大学などと共同)。

##### 3) リスクアセスメント手法の確立等に関する研究(厚生科学研究費補助金、生活衛生局;毒性部などと共同)。

## 環境衛生化学部

部長 小嶋 茂雄

### 概要

環境関連分野では、各種の空気汚染物質の分析法の検討、これらの汚染物質への個人暴露量の測定法の検討や実態調査、ならびに水道水質基準の全面的な見直しへの協力、基準の改定に伴って試験項目が大幅に増加するとともに基準値が厳しくなるのに対処するための試験検査方法の開発、水道水中に存在する種々の化学物質の安全評価のための手法の検討などを行った。

化粧品関連分野では、新粧外規、医薬部外品原料規格の作成、ならびに界面活性剤、油脂などの規格整備に関して薬務局審査課と協力した。また、昨年度に引き続き、医薬部外品の迅速試験法や化粧品の安全性評価法の確立のための研究を行った。さらに、ヘアリキッドの一斉取締り試験を実施した。

国際協力の面では、小嶋茂雄部長は、WHO飲料水水質ガイドライン改訂に関する会議(農薬パートII, 平成3年9月2日~6日)に出席のため、フランスに出張した。また、6種類のハイドロクロロフルオロカーボン(エタン誘導体)のIPCS/EHC作

成のタスクグループ会議（平成3年9月30日～10月7日）に出席のため、英国に出張した。

木嶋敬二室長は、国際化粧品学会に出席のため、フィンランドに出張し、併せて、パリ大学のWeppierre博士ならびにウェールズ大学のMarkes博士を訪問して、化粧品の安全性を確保するための培養細胞を用いるインビトロ試験法の開発に関して協議した（平成3年9月7日～19日）。また、安藤正典室長は、WHO飲料水水質ガイドライン改訂に関する会議（消毒副生成物、平成3年6月10日～14日）に出席のため、米国に出張した。

外国からの研修生としては、中国唐山市衛生防疫所の邢大栄氏が、平成3年7月～12月の半年間、水道水に係わる基準策定手法、分析方法の開発あるいは問題点の解明などについて、第3室において研修された。また、今年度も水道事業体職員の研修（平成3年4月～平成4年3月）を行った。

#### 業務成績

##### 1. 空気関係

前年度に引き続いて、東京都内3ヵ所の国設自動車排出ガス測定所において、各種自動計測器による大気汚染物質（一酸化炭素、一酸化窒素、二酸化窒素、二酸化硫黄、オゾン、ホルムアルデヒド、メタン、全炭化水素および浮遊粒子状物質）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) 一斉取締り試験

ヘアリキッド6品目について試験を実施した（薬務局監視指導課）。

###### 2) 化粧品原料規格の作成

化粧品原料の品質確保のため、新規原料規格（30品目）の作成を薬務局審査課と協力して行った。

###### 3) 「新粧外規」の作成

化粧品原料基準外成分規格（粧外規）を種別許可基準の枠組みから外し、全面的な見直しを行って、化粧品原料基準（粧原基）と対をなす、いわゆる「新粧外規」に再編成することを前提に、薬務局審査課と協力して、原料カテゴリーごとに規格項目、試験方法の統一を図った。

###### 4) 医薬部外品原料規格（外原規）の作成

パーマメントウェーブ用剤の原料規格の作成に協力した（薬務局審査課）。

##### 3. 水質関係

###### 1) 特定化学物質の調査

水道原水中の特定化学物質の調査を地方自治体試験研究機関および水道事業者との協力の下に実施した（生活衛生局水道環境部水道整備課）。

###### 2) 分析方法の開発

水道水水質基準の全面的な改定により、試験項目が大幅に増加するとともに、多くの試験項目について基準値がかなり厳しくなるのに対処するため、GC-MS法やイオンクロマト法など一斉分析法の導入を中心とした試験検査方法の開発を行った（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) 学校環境衛生に関する調査研究

東京都内の学校（小・中・高校の計5校）において、冬季に、教室内の紫外線、照度、換気量、浮遊細菌、落下細菌、二酸化炭素、一酸化炭素、二酸化窒素、ホルムアルデヒドおよび浮遊粒子状物質などの実態調査を実施した。

###### 2) 化学物質の個人暴露量に関する調査研究

二酸化窒素、ホルムアルデヒドおよびパラジクロロベンゼンの3物質について、学童、学生、サラリーマン、主婦などを対象に個人暴露量の実態調査を行った。同時に、生活行動時間や使用暖房器具の調査、さらには呼吸器疾患に関するアンケート調査を行い、個人暴露量との関連性を検討するための基礎的なデータの収集を行った。

###### 2. 空気汚染物質の分析法に関する研究

1) 呼吸器疾患に関連する汚染物質の分析法に関する研究

分子拡散の原理に基づいた二酸化窒素とホルムアルデヒドの同時測定を目的としたパッシブサンプラーの検討を行った。

###### 2) 空気中の防虫剤の分析法に関する研究

パラジクロロベンゼンおよびクロルピリホスについて、アクティブならびにパッシブサンプラーを用いた分析法の検討を行った。

###### 3) 自動計測器の改良に関する研究

ホルムアルデヒドの自動計測器（アセチルアセトン法）について、主として二酸化硫黄による妨害の除去の観点から、吸収発色液の改良を行った。

3. 化粧品および医薬部外品の規格ならびに試験法に関する研究

###### 1) 医薬部外品成分の迅速分析法に関する研究

医薬部外品中の塩酸ピリドキシン、アスコルビン

酸およびその誘導体, ならびに蛋白分解酵素 (パペイン, パチルスズブチリプロテアーゼ) の試験法を確立した (厚生科学研究費補助金, 薬務局監視指導課, 東京都立衛生研究所と共同)。

2) 化粧品用界面活性剤・油脂等の規格整備に関する研究

化粧品に用いられる界面活性剤, 油脂などについて, 品質像の明確化, 機器分析法の導入など, 規格作成に関する研究を行った (厚生科学研究費補助金, 薬務局審査課, 東京都立衛生研究所と共同)。

4. 化粧品の安全性評価法に関する研究

1) 皮膚適用化学物質の生体影響評価に関する研究

化粧品中の防腐剤, 界面活性剤などによる生体影響を評価する手法の確立を目的として研究を行った。すなわち, 3種のホルムアルデヒドドナー型防腐剤について, その経時安定性やホルムアルデヒド放出量について検討するとともに, マクロファージの活性酸素産生を指標とした *in vitro* の毒性試験法についても検討を行った (HS 財団受託研究費, 大阪支所と共同)。

2) 化粧品の安全性を予測する評価技術に関する研究

昨年度に引き続き, 化粧品成分 (カチオン系界面活性剤, 油性原料) が皮膚に与える影響を, ラットやモルモットの剥離皮膚および培養表皮モデルを用いて, 指標物質の透過量から評価した (国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

3) 培養表皮モデル系の作製に関する研究

ラット胎児表皮由来細胞株 (FRSK), トランスウェルコラーゲンなどを用いて, 実際の皮膚に近いモデル系の作製を試みた。

4) 紫外線照射で生成する活性酸素種による 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の生成と分解に関する研究

光増感物質 (ローズベンガル, メチレンブルーなど) の存在下で白色電球を照射した場合の deoxyguanosine からの 8-OHdG の生成挙動ならびに各種のスクベンジャーの影響などについて検討した。

5. 水道用薬品または水道用品に関する研究

1) 水道用品等の規格設定に関する研究

水道工事に使用されるエポキシ樹脂塗料の安全性を確保するため, 塗膜からのエピクロロヒドリンの溶出試験方法について検討した (生活衛生局水道環境部水道整備課)。

2) 水道用資機材の安全評価に関する研究

管更正工用エポキシ樹脂塗料の規格について検討した (生活衛生局水道環境部水道整備課, 日本水道協会)。

6. 水利用に関する衛生化学的研究

1) 飲料水および大気中の発がん物質汚染に関する研究

飲料水中の低沸点有機ハロゲン化合物の分析を行い, その結果と WHO による個々の化合物についての発がんリスクの評価を基にして, この飲料水を飲み続けた場合の発がんリスクについて評価を試みた (厚生省がん研究助成金, 国立がんセンター運営部)。

7. 環境汚染物質の衛生化学的研究

1) 先端技術産業で用いられる希土類等の生体影響の評価法に関する研究

テルビウム連続経口投与によるラットの腸管からのカルシウムおよびリンの吸収阻害について, *in vivo* ならびに *in vitro* で検討を行った (国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁)。

2) 公共用水域における開放系使用化学物質の動態ならびにその分解生成物の安全性等に関する研究  
農薬の発がん性について文献調査を行い, その結果に基づいて農薬による発がんのリスクに関して考察した (国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁)。

3) 水道水中の揮散性有機化合物の分析方法に関する研究

パージトラップ/キャピラリー GC/MS 法による一斉分析法の開発を行った (生活衛生局水道環境部水道整備課, 日本水道協会)。

## 食 品 部

部 長 齋 藤 行 生

### 概 要

平成3年11月末に横浜検疫所輸入食品・検疫検査センターが開設され, 新しい体制下, 輸入食品等の検査が従来にも増して活発に行われるようになった。それに先立って食品部では平成3年5月より10月にかけて, 食品添加物部と協同で, 横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター要員技術者 (理化学課, 7名) の研修を行った。さらに, 豊田正武室長 (平成3年10月1日~平成4年3月31日) および内山貞夫室長 (平成4年4月1日~8月31日) が, 主とし

て技術面の支援のために横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター理化学課長を併任することとなった。この期間中、食品部が特に大きく関わり合った理化学試験業務としては、輸入食品中の農薬の検査、および輸入食品の安全性上大きな問題となったワイン中のメチルイソチオシアネートの検査等である。

人事面では、河村葉子主任研究官が、平成3年4月以来、大臣官房厚生科学課併任官としてその任にあっていたが、6ヵ月間にわたる職責を果たし10月任期満了となり食品部第2室に完全復帰した。

宮原誠主任研究官は、植物中の抗がん性成分に関する研究のため、米国ノースカロライナ州立大学(K. H. Lee 教授)へ1年間の予定で出張した(平成3年9月5日~平成4年9月4日)。

松田りえ子主任研究官は、情報理論に基づく農薬分析に関する研究発表(ピッツバーグカンファレンス)のためにニューオーリンズに出張した(平成4年3月6日~3月16日)。斎藤は、汚染物質暴露調査に関する会議(WHO主催)のため、旧東ドイツ領、パートエルスターに出張した(平成3年10月28日~11月8日)。

#### 業務成績

##### 1. 輸入食品検査

食肉、養殖魚介類中の合成抗菌剤(8件)(生活衛生局乳肉衛生課)

米、野菜中の農薬(フェルバム、ジラム、ジコホール、グアザチン)20件(生活衛生局食品化学課)

##### 2. 特別行政試験

①食品中の有害物質調査に伴う検査としてイタリアワイン中のメチルイソチオシアネートの分析法の設定を行った(生活衛生局食品保健課)。

##### ②ハチミツによる食中毒原因成分の究明

食品中の有害物質調査に伴う検査として、ハチミツによる食中毒原因成分(アコニチン)の究明を行った(生活衛生局食品保健課)。

#### 研究業績

##### 1. 食品中の有害物質

##### ①食品中の残留農薬の分析

1) 葉菜、根菜および穀類中のジコホールの分析上の問題点を明らかにし、新しい分析法を確立した。

2) ワイン中のイソチオシアネートの分析法を確立した(生活衛生局食品保健課)。

3) 合成抗菌剤の一斉分析法につき、新たに分析対象を増やすことをめざして検討を行った(生活衛生局乳肉衛生課)。

4) 輸入鶏肉中の残留ナイカルバジンに関する研究(生活衛生局乳肉衛生課)。

5) 輸入豚肉中の残留テトラサイクリン系化合物に関する研究(生活衛生局乳肉衛生課)。

6) 残留農薬の分解・代謝に関する研究(厚生科学研究費補助金、生活衛生局食品化学課)。

7) 農産物中のメトラクロールの簡易分析法を確立した(生活衛生局食品化学課)。

8) 有機リン系農薬の一斉分析法の開発(生活衛生局食品化学課)。

9) 豆腐製造におけるポストハーベスト農薬の移行消長(生活衛生局食品化学課)。

##### ②輸入雑豆中のシアン化合物

調理加工程におけるシアン配糖体の減衰に関する研究を行った(生活衛生局食品保健課)。

③先端技術産業におけ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(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)。

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(対がん十ヵ年総合戦略研究事業)。

⑤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—淡水生物を用いる生態環境有害成分の検知に関する研究—(厚生科学研究費補助金、生活衛生局生活化学安全対策室)。

⑥有機スズ化合物の海域環境中における動態(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)。

##### 2. 生体反応・毒性・分析

ラットを用いて海産物中の有機スズ化合物の酸化代謝物(13種)を詳細に検討した。これらの結果は、生態環境中で、有機スズ化合物は単にトリブチルスズ化合物がジブチル体、更にモノ体と変化するばかりでなく別の複雑な行程を經由することを示し、生理活性を発揮するかもしれない。この結果は有機スズ化合物の運命を知るうえに貴重なデータを提供したといえる(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)。

##### 3. 食品照射

1)  $\gamma$ 線照射した黒コショウ、白コショウおよびトウガラシ中のメタノール可溶成分の変化(国立機関原子力試験研究費、科学技術庁、生活衛生局食品保健課)

2) 発芽法を用いる照射米判別法の検討および最適判別指標の決定。

##### 4. 天然有害物質

1) トマト中の有毒アルカロイド、トマチンの含有量と熟度との関係を明らかにした。また、ジャガイモ中の有毒アルカロイドであるソラニン、およびチャコニンが、ジャガイモの部位により濃度に違いがあることを見出した。

2) ハチミツによる食中毒原因成分の検索法を確立し、原因成分、アコニチンを同定した。

#### 5. 調査研究

①全国からの集計モニタリングデータは、135万件に達した。得られたデータの一部は衛生行政のためにアウトプットし、全国の地研に提供した。また、日常食中の汚染物摂取量調査を行い、全国10機関のデータの解析を行った。

これらのデータの一部はWHOにも送付されている(生活衛生局食品保健課)。

②輸入食肉・養殖魚介類中の残留有害物質モニタリングのための精度管理(厚生科学研究費補助金、生活衛生局乳肉衛生課)。

③畜水産食品中の残留物質の検査法に関する調査研究。合成抗菌剤の一斉分析法の検討(厚生科学研究費補助金、生活衛生局乳肉衛生課)。

④ポストハーベスト使用される農薬に関する調査研究—国内外食品中の農薬の実態調査—(厚生科学研究費補助金、生活衛生局食品化学課)。

⑤既存化学物質毒性試験調査—低沸点有機塩素化合物および有機スズ化合物の摂取量調査—(厚生科学研究費補助金、生活衛生局生活化学安全対策室)。

⑥食品の安全性評価の基礎となるデータベース構築に関する研究—汚染物質等のデータの加工、アウトプットおよび利用に関する調査—(厚生科学研究費補助金、生活衛生局食品保健課)。

#### 6. 食品成分の新たな有益性

バイオテクノロジーを用いて作られる食品中の成分の安全性評価方法の開発(HS財団受託研究費)。

### 食品添加物部

部長 武田 明治

#### 概要

当部の主要業務である合成食品添加物、食品用器具・容器包装に関する試験、研究業務に加えて、天然食品添加物のリストの作成、食品衛生法改正に基づく平成3年度の表示に向けての協力および平成4年年度末に向けての食品添加物規格改正のための作

業は完了した。

次いで、合成食品添加物に関して、次期食品添加物規格基準改定に備えた食用色素中の副成色素の規格化のための基礎研究ならびに食品中食品添加物分析法の改良研究および迅速化に関する研究班を組織して着手した。

天然食品添加物に関して、バイオテクノロジーを利用した食品添加物の生産およびそれらの安全性評価に関する化学的手法の開発研究はヒューマンサイエンス振興財団の受託研究により着実に成果を挙げつつある。

器具・容器包装の規格・基準作成のための基礎的研究は、紙、陶磁器およびプラスチック等を素材としたものの食品衛生的検討を加えるとともに、近年注目されている生分解性プラスチック用の素材に対する生分解性等の基礎的検討を加えている。

横浜検疫所内に新設された輸入食品検疫検査センターの食品衛生監視員の研修を5月から8月にかけて実施した。

中国唐山市衛生防疫所の邢大菜氏は6月に当部の研修を終え、次の飲料水の衛生に関する研修のため環境衛生化学部へ移った。

平成2年11月より1年の予定で、日米の食品添加物の分析法の相違点につき研究のため来日していた招聘研究員、米国FDAのDr. Charles R. Warnerは研究を修了し、11月に無事帰国した。

#### 業務成績

##### 1. 規格・基準の作成

(1) 食品添加物の規格・基準の将来における国際化および有効利用の基礎資料収集のための調査の一環として、食品添加物に関する主要成分、分析法および毒性等の文献調査を実施している。本年度はキシリトールおよびポリデキストロースに対して理化学性状、毒性試験結果、諸外国の規格、使用状況および分析法等に関する文献を調査した(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(2) 食品中の食品添加物分析法の改良および新規試験法の開発のために、衛生研究所、厚生省指定機関の協力の下に「食品中の食品添加物分析法」の見直し作業を行い、問題点に対する現状分析を行った(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(3) 陶磁器製調理用具からの鉛の溶出に関する高感度試験法について検討を行った(食品等の規格基準の設定等に係わる試験検査費、生活衛生局食品保

健課)。

(4) スチレンを原料とするプラスチック製食器中の揮発性物質と溶出物の分析を、特に  $\alpha$ -メチルスチレンの材質試験法を中心として実施した(食品添加物安全性再評価等の試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

(5) タール色素およびその製剤に対する新試験法の設定のための基礎調査として、黄色4号および5号に関する文献、他国の規格基準、使用状況等の調査を実施した。

## 2. 食品中の有害金属に関する文献調査

国内産コメのカドミウム汚染と日常食由来のカドミウム摂取量の現状および精白・調理時のコメ中のカドミウムの挙動について文献調査を行った(生活衛生局食品保健課)。

## 3. 食品添加物使用点検調査

魚卵加工品、果汁、調味料の安息香酸、チョコレート類、乾燥果実、果汁、ソース類中のソルビン酸およびコーヒー、茶中の酢酸エチル、菓子中の銅クロロフィルの使用実態の調査を大阪支所食品試験部と共同して実施した(食品添加物使用基準点検整備費, 生活衛生局食品化学課)。

## 研究業績

### 1. 食品添加物の規格基準設定に関する研究

#### 1) 合成添加物

##### (1) 合成食品添加物の副生成物

食用赤色40号の純度規格試験対象の副成色素の中、未確認物質の化学特性および化学構造について検討した。その結果、赤色40号の副成色素5種のHPLCによる同時定量分析が可能になった(食品添加物規格基準設定費, 生活衛生局食品化学課)。

##### (2) 合成食品添加物の迅速分析法

食品中の合成食品添加物の迅速分析法開発の一環として、本年度は合成保存料およびその塩、ソルビン酸およびその塩、デヒドロ酢酸ナトリウム、パラオキシ安息香酸エステル類のHPLCによる分析法を確立した。

#### 2) 天然食品添加物

(1) 将来の天然添加物の規格基準作成および国際的整合性確立のための基礎資料とするため、天然着色料の分析法を西洋アカネ色素および本色素で着色した数種の食品を用いて検討した(食品添加物規格基準設定費, 生活衛生局食品化学課)。

(2) 天然着色料中の有害金属の分析法に関する基礎的検討を行った。本年度は鉛を取り上げ、既存の

分析法(前処理法, 測定法等を含めて5方法)の適用性について、6種の着色料を用いて比較検討した(厚生科学研究費補助金, 生活衛生局食品化学課)。

### 2. 食品添加物の安全性評価に関する研究

#### 1) 合成食品添加物

光照射をした時のキサンテン系食用色素からのハロゲンの遊離について、それに関与する因子の解析を行った。

#### 2) 天然食品添加物

(1) アルミニウムの臓器分布と尿中への排泄に及ぼす共存有機酸の影響について検討した結果、血中の存在状態と密接に関連していることが明らかとなった(食品添加物安全性再評価等の試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

(2) 紅麴変異株由来の新規天然色素について、その構造を決定し、生合成経路について考察した。

(3) アフガニスタン産および中国産カンゾウからのエキス中に含まれる、グリチルリチン酸の含量およびカチオンの組成について比較検討した。

(4) アナトー色素の主色素であるピキシンの構造を決定した。

### 3. 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) バイオテクノロジーにより作出された植物体生産物の同等性に関する評価法開発の一環として、西洋ワサビ毛状根中の辛味成分の同定および定量を行い、母植物のそれ等と比較検討を行った(HS財団受託研究費)。

(2) 植物培養液中に存在する金属や不純物等の安全性解明の一環として、培養液中に存在する有害金属を取り上げ、本年度は代表的有害金属であるヒ素に対する培養細胞や毛状根中での動態を検討した(HS財団受託研究費)。

(3) 西洋ワサビおよびニンジンの毛状根中に含まれるオパインの定量および染色体異常試験を変異遺伝部と共同して実施した(HS財団受託研究費)。

#### 4. 健康食品の安全性に関する研究

(1) L-トリプトファン製品に起因するEMSに関連した国内外資料のまとめを行った(食品等の規格基準の設定等に係わる試験検査費, 生活衛生局食品保健課)。

(2) EMS関連L-トリプトファン製品中の不純物であるピーク5について、HPLCにより分取し、その構造を決定した(厚生科学研究費補助金, 生活衛生局食品保健課)。

## 5. 金属類の安全性に関する研究

血清に添加した金属の存在状態を、HPLC-ICP法およびHPLC-AAS法により解析した。

## 6. 器具・容器包装に関する研究

(1) スチレンを原料とするプラスチック製食器中の揮発性物質と溶出物の分析、特に材質中の $\alpha$ -メチルスチレンの試験法の開発を行った(食品添加物安全性再評価等の試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

(2) 調理器具からの鉛とカドミウムの溶出について、プラスチック素材中含量との相関について検討した、プラスチック製品では素材中に鉛を475 ppm, カドミウムを6863 ppm含有する製品でも溶出(4%酢酸溶液)は認められなかった。

(3) 陶磁器から溶出する鉛の高感度分析法の確立を目的としてICPを用いて検討を行った。また、金属酸化物の溶解性について調査した(厚生科学研究費補助金, 生活衛生局食品保健課)。

(4) 生分解性プラスチックの分解生成物である糖およびアミノ酸の溶出量の測定と糖の定性について研究した(厚生科学研究費補助金, 生活衛生局生活化学安全対策室)。

(5) メラミン樹脂製食器からのモノマーの溶出について、4年間にわたって測定し本年度で終了した。モノマーの溶出が一定となるまでに44.9ヶ月を要した。

(6) ラットではメラミンは小腸で吸収され、尿中に排泄された。吸排泄は指数関数的な変化を示した。しかし、盲腸や大腸にもメラミンは存在し、腸内細菌との共存が明らかとなった。

(7) *Saccharomyces cerevisiae*の増殖はメラミンによって阻害を受ける。その原因の1つとしてメラミンはアンモニアの取り込みを阻害することを明らかにした。

## 有機化学部

部長 宮田 直樹

### 概要

平成3年度の研究業務として、1) 有用生理活性物質の合成および化学反応性に関する研究、2) 有害物質の構造決定および毒性評価に関する有機化学的研究、3) 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究等を行った。特に、福原潔技官らが行った

含窒素多環芳香族ニトロ化合物の合成と化学反応性に関する研究では、新規に合成したニトロアレーンの含窒素誘導体(ニトロアザベンツ[a]ピレン類)が強力な変異原性を有することが明らかになり、環境発がん物質ニトロアレーン類の研究に新たな展開をもたらすものと注目される。また、今年度より、薬品部、生薬部、療品部、食品部等と共同で、特別研究「医薬品の適正な評価を志向した光学異性体に関する研究」が開始された。本プロジェクトを通じて、光学異性体を対象化合物とする研究基盤が充実することが期待される。

人事面では、平成4年4月1日付けで、徳永祐司主任研究官の薬務局審査課課長補佐併任が解除された。

海外出張は、栗原正明技官が、米国ケンタッキー州のケンタッキー大学理学部化学科ワット教授の招聘により特別研究員として平成3年9月30日から一年間の予定で出張中であり、制がん剤タキソールの合成研究を行っている。また、末吉祥子第二室長および丹野雅幸主任研究官が、平成3年10月30日より11月4日まで米国に出張し、ハワイ州コナ市で開かれたWHO主催のニトロソ会議にてNOラジカル発生能を有するN-ニトロソ化合物の合成、化学反応性、および細胞毒性について研究成果を発表した。また、宮田が、平成4年2月17日より28日まで、新しい日米科学技術協力に関する研究の一環として、活性酸素種の関与する毒物化学研究の推進のため、毒性部長谷川室長、病理部西川室長とともに米国に出張し、NIEHS, NIDDK, FDA, カリフォルニア大学等を訪問し研究打ち合わせを行った。

福原潔技官は、当所の共同利用機器400および300 MHz核磁気共鳴装置の管理を担当した。

### 研究業績

1. 有用生理活性物質の合成および化学反応性に関する研究

1) 光学異性体の高選択的合成法を開発する目的で、オレフィンの立体選択的酸化反応を検討し、オキソンを酸化剤とし種々のケトンを酸化補助剤とする酸化反応系がスチレン誘導体を高収率で高選択的にエポキシ化することを明らかにした(特別研究費)。

2) 依存性薬物とレセプターとの相互作用を解析するための分子ツールを合成することを目的とし、前年度に引き続きモルヒネ骨格のC環修飾反応を検討し、6位アジド体およびアミド体の合成を行っ



た(乱用薬物基礎研究費)。

3) 生理活性を有するアミドおよび尿素誘導体の立体配座と化学反応性に関する研究として、各種芳香族ニトロソ尿素の溶液状態における活性化エネルギーを速度論的に解析した。さらに、これらの化合物の結晶状態での構造解析を行い、両状態における配座がほとんど一致することを明らかにした。

4) 生理活性物質におけるラジカル活性種の生成と反応に関する研究として、芳香族 *N*-ニトロソアミドおよび *N*-ニトロソ尿素誘導体の化学反応性の解析を行い、NO ラジカルを遊離しやすい化合物はトランスニトロソ化の反応性も高いこと、また、NO ラジカルを遊離しやすさと殺細胞効果とが相関することを明らかにした。

2. 有害物質の構造決定および毒性評価に関する有機化学的研究

1) 発がん性を示す抗酸化剤の毒性評価に関する有機化学的研究として、クロノクロメトリー法を用いてキノンアニオンラジカルと酸素分子との相互作用を電気化学的に解析し、電子移動の起きやすさが定量的に解析できることを明らかにした(厚生省がん研究助成金)。

2) 毒性評価を目的とした有機化学の新技術の導入に関する研究として、1-ニトロピレンの3位、6位、あるいは8位にシアノ基を導入したニトロピレン誘導体を合成し、還元特性および変異原性をモノ、およびジニトロピレンと比較し、還元特性と変異原性の相関を明らかにした(国立機関公害防止等試験研究費)。

3) 生活環境中の発がん関連物質の究極活性物質の生体内生成の究明と安全性評価法の確立に関する研究の一環として、ハロゲン化ベンゼンの代謝物として予測される種々のハロゲン化ヒドロキノン類を合成し、セミキノンアニオンラジカルの生成しやすさを電気化学的に調べた。更に、アルキルチオールによる還元反応を行い、還元特性におけるハロゲンの置換基効果を明らかにした(対がん十ヶ年総合戦略研究事業)。

4) 含窒素多環芳香族炭化水素類の合成と反応に関する研究として、1-, 4-, および、9-アザフェナンスレンのニトロ化反応を行い、ニトロ化の配向性を明らかにした。

3. 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究

薬物代謝酵素(チトクロム P-450)の酸化反応モ

デル系の設計と反応に関する研究として、ヨードンベンゼン-鉄ポルフィリン錯体系により生成するポルフィリンオキセノイドが、ペンタクロロフェノールをパラおよびオルトクロロフェノールに酸化することを明らかにした。

以上の研究は、その一部を共立薬科大学有機薬化学教室の伊東幸子氏、原幸江氏、昭和薬科大学公衆衛生学教室の岩野睦氏、影山晴秋氏、昭和大学薬学部分析センターの山口健太郎博士、福岡県保健環境研究所の常盤寛博士、神奈川県衛生研究所食品薬品部の大森清美氏、静岡県立大学薬学部の梅原薫博士、および、所内関連各部の協力を得て行った。また、研究の成果は、日本薬学会第112年会(福岡)、日本環境変異原学会第20回大会(東京)、日本がん学会第50回総会(東京)、第5回国際酸素ラジカル会議(京都)、WHO主催国際ニトロソ会議(米国ハワイ)等で発表するとともに、*Chemical Research in Toxicology*, *Mutation Research*等の学会誌、専門誌、および厚生省がん研究助成金による研究報告集、環境庁総合研究プロジェクト別環境保全研究成果集等に公表した。

## 機能生化学部

部長 澤田 純一

### 概 要

平成3年度の研究業務として、免疫担当細胞の機能に関する研究、薬物受容体等の構造と機能に関する研究、イムノアッセイ等を用いる微量検出法の開発、モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究等を行った。また、池淵第二室長を中心にRI管理に関する業務を行ってきた。

### 研究業績

#### 1. 免疫担当細胞の機能に関する研究

(i) 免疫毒性試験法に関する国際共同研究(ICICIS)を毒性部と共同して行った。

(ii) 即時型アレルギー発症機構を解明する目的で、好塩基球細胞の脱顆粒反応時にチロシンリン酸化をうけるタンパク質の解析を行い、また、画像処理装置を用いた細胞内カルシウムイオンの動態に関してもさらに検討を加えた(厚生科学研究費補助金、科学研究費補助金)。

#### 2. 薬物受容体等の構造と機能に関する研究

(i) ヒトリンパ球培養細胞IM-9の細胞膜に存在

するヒト成長ホルモン受容体の機能を解析する目的で、受容体に結合するとの報告があるユビキチンに対するモノクローナル抗体の調製を試み、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ株を樹立した。

(ii) 紫外線照射によるリガンドと受容体の架橋形成を利用した簡易アフィニティラベル法を検討した(国立機関原子力試験研究費)。

(iii) モルヒネ等の作用を分子レベルで解析する系を確立する目的で、オピオイド結合タンパクに対するモノクローナル抗体の調製を試みた(HS財団受託研究費)。

### 3. イムノアッセイ等を用いる微量検出法の開発

(i) 前年度に引き続いて、穀物中のニバレノール、ゼラレノンのイムノアッセイ法による定量を継続して検討した。

(ii) 真菌アレルギーの抗原検出法の開発を目的として、*A. fumigatus* のアレルギー原因抗原の精製および抗原性に関する解析を行った(国立機関原子力試験研究費)。

(iii) 前年度に得られたメタロチオネインに対するモノクローナル抗体の性質を検討した。

### 4. モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究

抗モルヒネ抗体に対するハプテンの結合配向性を明らかにする目的で、ハプテンのUVアフィニティラベリングを行った(国立機関原子力試験研究費)。

## 代謝生化学部

部長 高橋 惇

### 概要

前年度に引き続き、既存化学物質等の代謝試験・研究、代謝試験結果の速度論的解析法に関する研究、発がん関連物質の究極活性物質の生体内生成の究明と安全性評価法の確立に関する研究、薬物受容体の生化学的・薬物動態学的研究などを行った。

人事面では、奥平和穂技官が科学技術庁の長期在外研究員として、米国カリフォルニア大学サンフランシスコ校のベネット教授のもとで薬物代謝に関する研究を行うため、8月28日より1年の予定で出張中である。科学技術特別研究員岩田修永博士はニトロ化合物の酵素化学的還元性および肝薬物代謝酵素の誘導に関する研究に従事し、優れた業績を挙げ、

平成4年3月31日付けで退所した。紅林秀雄主任研究官は平成4年4月から半年の予定で、厚生省大臣官房厚生科学課に出向(併任)中である。

短期海外出張では、紅林秀雄主任研究官が第3回国際薬物動態学会(オランダ国アムステルダム、6月23日~7月7日)に出席した。

### 研究業績

#### 1. 化学物質の安全性に関する代謝生化学的研究

1) ジペンテンダイマーに関する研究(既存化学物質委託費, 生活衛生局生活化学安全対策室)

ジペンテンダイマー投与ラットの糞・尿中の未変化体、酸化体を定量し、高用量の投与で吸収に飽和が見られ、100 mg/kg と 500 mg/kg で糞・尿中への排泄率が逆転することを認めた。

2) ペンタフルオロプロパノールに関する研究(既存化学物質委託費, 生活衛生局生活化学安全対策室)

ペンタフルオロプロパノール投与ラットの尿中へ未変化体と酸化されたペンタフルオロプロピオン酸が排泄されることを明かにし、それらの分離定量法を検討している。

3) 2,4-トルイレンジアミンに関する研究(既存化学物質委託費, 生活衛生局生活化学安全対策室)

2,4-トルイレンジアミンの代謝試験に関する文献調査を行い、代謝試験結果の発がんリスクの評価への応用を試み、リスクの評価へ応用する場合の問題点を整理した。

4) ベンジルブチルフタル酸エステルの代謝生化学的研究(家庭用品等試験検査費, 生活衛生局生活化学安全対策室)

ベンジルブチルフタル酸エステル(BBzP)投与ラットの尿中代謝物として、モノブチルフタレート(MBP)とモノベンジルフタレート(MBzP)およびそれらのグルクロニドが検出され、MBPの方がMBzPより多く排泄され、*in vitro*におけるBBzPの代謝試験結果と一致することが判明した。

#### 2. 異物代謝に関与する酵素等の研究

1) 脂環族1級アミンの酸化的脱アミノ機構の研究

脂環族ケトキシムから脂環族ケトンへの変換は肝上清のアルデヒドオキシダーゼの働きに関連することが判明した。

2) リン酸トリエステル類の代謝に関する研究

Tricresyl phosphateは、マウスおよびウサギ肝ミクロソームにおいて主にジエステル体に代謝され

ることが判明した。

3) ニトロ化合物の酵素化学的還元性と電気化学的還元性との相関性に関する研究

ジニトロナフトレン類の肝酵素による還元性は電気化学的還元性とよく相関することを示した(有機化学部との共同研究)。

4) ムスクキシレンによる肝薬物代謝酵素の誘導に関する研究

ムスクキシレンは肝 cytochrome P450 IA2 と IA1, DT-ジアフォラーゼおよび種々の抱合系代謝酵素の誘導能を有し、ムスクキシレン自体の代謝にも影響を与える可能性が示唆された(薬理部・病理部との共同研究)。

3. 生活環境中の発がん関連物質の究極活性物質の生体内生成の究明と安全性評価法の確立に関する研究(厚生科学研究費補助金、対がん十ヶ年総合戦略研究事業、国立がんセンター運営部企画室)

1) 各種キノンの還元酵素に対する親和性は DT-ジアフォラーゼで最も高く、NADH-b<sub>5</sub>レダクターゼで最も低いこと、また、クロロキノンは酵素反応を受ける前に、中性付近で、NADH あるいは NADPH と速やかに反応することが判明した。

2) ペルオキシゾーム誘導を引き起こす代謝物の究明を目的として、誘導剤の CoA エステルへの活性化反応を検討した。

4. 動物実験結果から化学物質の低濃度曝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(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)

1) 1,6-ジニトロピレンのラットにおける体内動態を検討した。

2) 少量の組織から DNA を収量・純度よく、しかも、簡便に精製する方法を検討した。

3) 実験動物とヒトにおける化学物質の体内動態を比較検討する方法を確立させる目的で、単離肝細胞を用いてウレタンの肝 DNA との結合量を比較するための *in vitro* 実験を実施した(米国 SRI との共同研究)。

5. 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

1) 代謝試験結果の速度論的解析法に関する研究(厚生科学研究費補助金、生活衛生局生活化学安全対策室、大森班)

最近、当部で実施した諸化学物質の体内動態試験結果を速度論解析し、用量依存性を明かにし、化学物質の消失過程の飽和と毒性発現との関係を考察し、

化学物質の安全性を評価するための体内動態試験を実施する場合の問題点を整理した。

2) 代謝試験への生理学的速度論の導入に関する研究(HS 財団受託研究費)

生理学的速度論モデルを構築するための基礎的情報を得るため、異なった経路で代謝される安息香酸塩、ウレタン、ヘキサクロロエタン、ムスクキシレンの体内動態の用量依存性を検討した。また、マイクロダイアリス法の血管および肝臓への適用を試み、無麻酔下、無拘束状態で適用可能であり、*in vivo* における化学物質の体内動態を同一個体で経時的に、簡便に把握する方法として、体内動態試験に応用可能であることを示した(昭和大医学部第一薬理との共同研究)。

6. 薬物受容体の生化学的・薬物動態学的研究

1) 受容体の新簡易フォトアフィニティーラベル法の開発研究(国立機関原子力試験研究費、科学技術庁)

受容体の応用として、モノクローナル抗体を用い、<sup>3</sup>H-モルヒネをフォトアフィニティーラベルすることに成功した。主として、H 鎖にラベルが入る抗体と L 鎖にラベルが入る抗体に分類できた(機能生化学部との共同研究)。

2) 受容体のダウンレギュレーションに関する研究

補体の第3成分のフラグメント C3b<sub>i</sub> に対する受容体(CD11b/CD18)は、発がんプロモーターのオクタ酸でダウンレギュレーションされることが判明した。

衛生微生物部

部長 三瀬 勝利

概要

平成3年11月12~14日東京渋谷で行われた UJNR 有毒微生物部会等の主催による〈第七回有毒微生物国際シンポジウム〉では、三瀬と一戸正勝室長が日本側部会長と実行委員を務めている関係上、当部内外の人々に多大の援助をおおいだ。幸い参加者も多く、盛会のうちに無事終了した。また本年度は腸炎ビブリオから、初めて遺伝子操作に有用な7塩基対認識制限酵素が発見されるなど、当部から質的に優れた論文がいくつか発表されたことは喜ばしいことであった。

## 業務成績

## 1. 一斉取締試験

注射剤(精神剤)21件について無菌試験(細菌試験15件,真菌試験15件)を行った所,いずれも陰性であった。

## 2. 特別審査

合計9件について特別審査試験を行った。

## 3. 規格・基準試験など

バイオ食品の安全性に関する試験,輸入農作物のアフラトキシン汚染と減毒に関する研究,新調理保存方式により自動販売機の衛生管理に関する研究(以上生活衛生局食品保健課),卵のサルモネラ汚染に関する調査研究(生活衛生局乳肉衛生課),無菌性,非発熱性の確認のための各種品質試験の利用等に関する研究(薬務局監視指導課)などが行われた。また,予研や10地研と共同で行われているエイズ医薬品候補スクリーニング研究(厚生省薬務局,HS財団)も継続中である。

## 研究業績

## 1. 可動遺伝子に関する研究

テトラサイクリン耐性トランスポゾン *Tn10* やその主要構成物 *IS10R* は長年にわたってプラスミド上にしか見出されておらず,それらの起源はミステリーとされていた。しかし, *Enterobacter cloacae* MD36 に15コピーの *IS10R* が見出されたのを始めとして, *Shigella sonnei* HW109 や *E. coli* K-12 JM109 などにも複数見出された。これらの知見は *IS10* の起源と進化に有益な示唆を与えるものと考えられる。

## 2. 制限酵素に関する研究

腸炎ピブリオ (*V. parahaemolyticus* K32) より 5'-GCTCTTC-3'(1/4) という今まで未発見の7塩基対認識制限酵素 *Vpa* K32I が発見された。本酵素は IIS 型に属し,安定で特異性の高い遺伝子操作に有用な酵素と考えられる。本酵素の大量製造のために耐熱性ヘモリシン陰性の変異株を分離する研究を遂行中である。また, *E. coli*O128 Ly3 株より, 37℃ で活性の高い *Eco*O128I (*Bst*E II のアイソソマー) が発見された。

## 3. エンドトキシンに関する研究

O1 コレラ菌の LPS の KDO region を過ヨウ素酸化処理およびメチル化分析により解析した結果, phosphorlyl-KDO は7位と8位に置換基を持たないこと, および KDO 分子のリン酸基の置換部位は4位であることが発見された。また, 大腸菌 LPS

R3 core の化学構造を GC/MS 分析, NMR 解析等で検討した結果, 従来の知見とは異なり, R3 core の heptose region の分岐 Hep 分子の7位はさらに Glc NAc により置換されていることが明らかになった。

## 4. 衛生微生物学的調査研究

大西洋産の甲殻類および魚類から *Candida*, *Cryptococcus* 等に属する21菌種103株の酵母が分離され, それらの生育温度域, 異なる温度での蛋白分解能, 腐敗生成物 (TVB-N) 等が調べられた。その結果, 蛋白分解能と TVB-N 生産量に高い相関関係が認められた。また, 野菜や土壤中のセレウス菌や BT 菌の汚染状態の調査研究, 食肉のサルモネラとカンピロバクターの汚染実態調査, ムギ類栽培圃場における *Fusarium* の汚染調査研究などが大規模になされた。

## 化学物質情報部

部長 神 沼 二 真

## 概 要

当部では, 1) 図書室の管理と情報サービス, 2) 化学物質の安全性に関する国際協力, 3) 研究支援のための全所的な情報機能とコンピュータリソースの整備を主たる業務とし, これらの業務を通じて開発, 蓄積されたリソースを用いて基礎研究を展開することを副次的な目標としている。

人事面では, 4月1日付けで, これまで併任であった山本都主任研究官が食品添加物部より転入した。また, 平成3年10月1日付けで森本和滋第1室長が生物薬品部に転出した。この後任には関沢純第2室長が移動し, その後任に中田琴子主任研究官が昇任した。また, 同日付けで非常勤職員としてオンライン検索など全所的な支援サービス業務に携わる大竹千代子氏が着任した。さらに, 4月1日付けで総務部に移動した二野宮総子氏に代わって非常勤職員として図書係の永野悦子氏が採用された。

## 支援業務(業務成績)

## 1. 図書・情報サービス

## (1) 図書室の運営

本年度は, 9タイトルの雑誌の中止と新規購入を行い, 単行本488冊を購入した。この結果, 雑誌334タイトル, 単行本8578冊となった。また所内向けに100タイトルのコンテンツサービスを行った。

文献の相互貸借については、外部から42機関533件の依頼があり、外部へは76機関、1468件を依頼した。

## (2) 情報検索サービス

昨年度に引き続き、図書室においてパソコンを用いたCD-ROMベースのMEDLINE（今年度から図書室で購入）の検索とフロッピー・ディスクによるCurrent Contents (Life Science) の検索のサービスを提供している。また、外部データベースを利用した所内に対する検索サービスも10月より再開した。所全体の利用件数は302件であった。なお、11部がアラートサービスを利用した。

## (3) 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109号を作成し、所員ならびに所外に配布した。

## 2. 化学物質の安全性に関する国際協力

(1) 国際有害化学物質情報登録 (IRPTC) 事業への協力

1991年6月ジュネーブでIRPTC国際ワークショップが開催された（山本主任研究官、五十嵐技官が出席）。この会議でIRPTC法規制データベースに収録されている各国・各国際機関の化学物質に関する法令や規制のデータを全面的に見直すことになった。これに伴い、化審法、環境関係法令など日本の化学物質に関する法令データを見直し、更新データをIRPTCに送付した。

## (2) 国際化学物質安全性計画 (IPCS) への協力

### 1) ドキュメントの作成

「フェニトロチオン」と「トリクロロホン」の環境保健クライテリア (EHC) については、校正と最終チェックのためにIPCSから最終ドラフトが送られてきたので必要な修正・追加作業を行った。

「エチレンジプロマイド (EDB)」のEHCについては、食品部斉藤部長より食品中残留レベルに関する章の原稿を受けとった。また、EDBの安全性を評価する上で重要な発がん性に関する章の分担執筆を新たに日本バイオアッセイ研究センターの松島泰次郎所長に依頼した。

「陰イオン界面活性剤」については、平成3年2月に再度担当者が交替し、平成3年10月に第一次ドラフトの最終検討委員会を開催した。昭和55年に作成を開始したこのドラフトは文献の所在不明が多く大変難航したが、ようやく平成4年3月に第一次ドラフトをIPCSに送付することができた。なお、英国陸棲生態学研究所のS.ドブソン博士が分担執筆

している環境関連の章は、まだ未完成である。

「アセトニトリル」(昭和61年開始)の第一次ドラフトを完成し、平成3年6月にIPCSに送付した。このドラフトはコメントを求めるためにIPCSより平成4年4月、各国に回覧されている。

EHC第1次ドラフトのコメントの協力に関しては10物質、1テーマについて依頼があり、「IPCS-EHCコメント依頼に関するお知らせ」の形で所内に通知し、得られたコメントを国際課を通してIPCS本部へ送付した。このお知らせは通算13号となった。

### 2) IPCSの国際化学物質安全性カードの作成

1991年4月(ブリュッセル)、10月(ベルリン)、1992年3月(ロンドン)の検討会議に山本主任研究官が出席した。また、9名の所外国内委員の協力を得て、日本分担分19物質のカード原案を作成した。また、これまで作成された約500物質のカードを翻訳し、日本語版として出版する計画を進めている。

### 3) その他の活動

IPCSから発行された“Glossary of terms in chemical safety for use in IPCS Publications”を翻訳し、「IPCSの出版物に使われている化学物質安全性用語集」として印刷し、関係者に配布した。

昨年に引き続きIPCSの活動の一環として、林センター長、国際課の協力を得て英国陸棲生態学研究所のS.ドブソン博士、産業医科大学の土屋健三郎学長らを招待して「化学物質の安全性の学際的フォーラムをめざして」と題するシンポジウムを平成4年1月17日虎ノ門パストラル・農林年金会館で開催した。

### 3. コンピュータ環境の整備

昨年度は、全所的なコンピュータシステムの具体的構築に関する基本的な考えをまとめ、年度末の情報委員会に提出した。本年度は、外部とのネットワークを実現し、他部へも電子メールの送受信などの便宜を計った。さらに、インハウスのネットワークの具体案も検討した。また、DNAの塩基配列に関する各種のデータベース、タンパク質の構造に関するデータベース(PDB)などを収集し、利用可能とした。

## 研究業績

1. 毒性予測のためのコンピュータシステムの研究

昨年度は、毒性の予測や、毒性の研究者が必要と

する情報を検索したり生成することができるシステムを構想し、(株)アドイン研究所の協力を得てそのプロトタイプの開発を行った。本年度も、発がん物質のカタロギングとデータベース化を続け、*in vivo* DNA 付加物量に関する過去のデータを検索整理し、O<sup>6</sup>-アルキルチミンと 8-ヒドロキシグアニンの修飾に関するデータ、240 件を蓄積した (一部、厚生省がん研究助成金)。

#### 2. 線虫を用いた安全性試験のためのコンピュータシステムの開発

線虫の胚発生過程実時間での追尾および線虫の匹数の計測と行動の追尾のためのコンピュータシステムの開発を行うとともに、ヒ素化合物の線虫への毒性に関する実験を続けた。

#### 3. 生体分子の構造と機能に関する研究

コンピュータを用いた生体分子の構造と機能の研究の前段階として、*Salmonella typhimurium* のアセチル転移酵素や *C. エレガンス* のタンパク質キナーゼ C の 3 次元構造解析のための準備的研究をスタートした。

#### 4. その他の研究

厚生科学研究費による「残留農薬安全対策総合調査研究」および「医薬品等化学物質の毒性評価のための試験方法と基準の整備に関する研究」を分担した。また、農薬安全性評価情報データベースを用いたリスク評価の研究を行った。

### 安全性生物試験研究センター

センター長 林 裕 造

平成 3 年 4 月 12 日付けで、総合評価研究室が毒性部評価室からセンター所属の省令室として独立し、室長と 2 名の主任研究官が配属された。人事面については病理部室長 1 名の交替があった。業務は全般的に順調に進められ、IPCS, JECFA, JMPR, OECD 等の国際協力事業ならびに国内外における GLP 査察業務についても各部の積極的な協力が得られた。

OECD による高生産量化学物質 (HPVC) の安全性点検事業に関しては、方法論の検討を含めた基礎研究を実施するとともに国内協力研究機関に対する指導を行っている。同事業の推進と相まって、既存化学物質安全性点検システムに係わるシステム化検討事業も着実に展開され、特に、毒性研究分野に

おいて繁用される用語の基準化およびコード化に関する作業は国際的に注目されつつある。

日米科学技術協力事業については、活性酸素、脂質過酸化を媒介とする毒性発現の評価に関する情報交換を目的として、有機化学部、毒性部および病理部から各 1 名の研究員を NIEHS, NIH, FDA 等に派遣した。

平成 3 年 11 月 3~8 日にブルッセル市において、第 1 回 ICH (医薬品登録手続きの国際調整に関する会議) が開催され、林センター長が安全性部門の座長を努め、薬理部大野室長が急性毒性試験の問題点について講演した。リスクアセスメント関連の国際会議について、林センター長が平成 3 年 10 月 8~10 日に EPA および米国健康財団共催による抗酸化剤の会議 (ニューヨーク) において BHA 関連物質の安全性評価に関して講演し、平成 3 年 12 月 16~21 日に IPCS, OECD 共催によるリスクアセスメント手法に関する会議 (ロンドン) に出席した。

### 毒 性 部

部 長 黒 川 雄 二

#### 概 要

平成 4 年 4 月 1 日付けで、当部第 1 室の安原主任研究官が病理部第 3 室に移動し、病理部第 3 室の松島技官が当部第 4 室に入室した。なお、今後安全センター内における病理組織標本の作成、組織学的検索等を病理部において一本化して行おうとする構想があり、平成 5 年 4 月から実行に移される予定である。部内では、第 4 室の大野技官が第 2 室に移動した。タイ国コンカーエン大学生化学部助教授 S. Satarug 博士は、対がん 10 ケ年総合戦略研究事業の外人招聘の研究者として、平成 3 年 6 月から 10 月まで主として津田室長のもとで肝吸虫と体内ニトロソ化に関する研究を行った。韓国梨花女子大学校薬学大学教授 (前学長) の尹恵禎先生が、主として食品と発がんに関する研究のために 4 月から 5 か月間当部に滞在されることとなった。児玉、関田、落合主任研究官、高木技官が学位を取得した。現在、毒性部は 6 室構成で、技術補助員 5 名を含め総勢 29 名である。

梅村技官は平成 2 年 9 月から 1 年間の米国 American Health Foundation での毒性病理組織学研究を無事終えて、平成 3 年 8 月末に帰国した。農

薬検査所の藤田技官が平成3年9月から11月まで毒性試験一般の研修を行った。

海外出張として、OECD関連では、Hazard Assessment Advisory Body(HAAB) および Joint Meeting への出席(黒川部長,平成3年11月16~23日,パリ)。不法麻薬需要削減のための国際会議および米国環境保健科学研究所(NIEHS)訪問(黒川部長,平成4年2月22日~3月1日,米国)。そのほか、国連開発計画(UNDP)により韓国化学研究所で技術指導(降矢室長,平成3年9月13~22日,韓国)、IARC主催によるNitroso Compounds: Biological Mechanisms, Exposures and Cancer Etiologyの会議に出席,研究発表(津田室長,平成3年10月28日~11月2日,ハワイ)、非エネルギー分野における日米科学技術協力事業に関わる意見交換および研究発表(長谷川室長,平成4年2月17~28日)である。

医薬品GLPの査察には14ヶ所へのべ20人,化審法GLPの査察には3ヶ所,3名が出張した。

#### 研究業務

##### 1. 厚生省厚生科学研究費補助金

1) 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い,さらに,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,管理に関するデータベース作成と毒性予測の検討を行った。

2) 医薬品等に用いられるフロン代替品に関する研究(薬務局審査課)

エアゾール式ゼンソク薬の噴射剤代替品として期待されているHCFC-123, HFC-134a, HCFC141bの安全性についてPAFTを中心に文献的な調査を行った。

3) 新規原料配合化粧品安全性評価のための試験法の研究(薬務局審査課)

新規化粧品製造原料に対する安全性試験の中で眼刺激性試験の代替の可能性について検討する目的で,代替法とされる試験法について文献調査を行い, validationの方法について検討した。

4) 歯科材料の化学的,生物学的評価法ガイドライン作成に関する研究(薬務局審査課)

歯科材料の吸入毒性試験,単回投与毒性試験,変異原性試験のガイドライン案について検討した。

5) 生分解プラスチック分解生成物の安全性に関

する研究(生活衛生局生活化学安全対策室)

各種の生分解性および光分解性プラスチックの予測される分解物の安全性について調査研究を行うとともに,アミノ酸重合体およびバクテリアセルロースについて28日間反復投与試験を行った。

2. 厚生省生活衛生局生活化学安全対策室家庭用品試験検査費

##### 1) 家庭用品

###### a) パラジクロロベンゼン

ラットにおける2年間の吸入暴露試験を終了し,病理組織学的検討を継続中である。

###### b) グルタルアルデヒド

ラットにおける急性毒性試験を行い,加齢による影響を検討した。さらに慢性毒性試験を開始した。

##### 2) 既存化学物質

###### a) ジベンテンダイマー

ラットにおける慢性毒性試験を継続中である。

###### b) 5-フッ化プロパノール

ラットにおける慢性吸入毒性試験を継続中である。

###### c) 1,1,2,2-テトラプロモエタン

ラットにおける亜急性毒性試験を継続中である。

###### d) 2,2'-イソブチリデンビス(4,6-ジメチルフェノール)

ラットにおける慢性毒性試験を終了した。

##### 3. 厚生省生活衛生局水質試験検査費

ビストリブチル錫オキシドおよびジエチルヘキシルフタレート毒性について文献調査し報告した。

4. 厚生省がんセンター企画調整室がん研究助成金

環境化学物質による活性酸素の関与した発がんとその修飾;

酸化DNA傷害による発がん機構の解析を行った。

##### 5. 厚生省対がん十カ年総合戦略研究事業

生活環境中の発がん関連物質の究極活性物質の生体内生成の究明と安全性評価法の確立に関する研究腎発がん物質である臭素酸カリウムによる腎の酸化的DNA傷害に対する抗酸化剤の作用について検討した。

##### 6. 厚生省生活衛生局食品化学課健康食品対策室

###### 1) 健康食品の安全性に関する研究

健康食品であるスピルリナとこれに含まれている酸化ゲルマニウムの12カ月間慢性毒性試験を行った。

##### 7. 厚生省乱用薬物試験研究費(薬務局麻薬課)

1) 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  
サル薬物自己投与法によりメチルエフェドリン, カフェインおよびこれらの合剤の強化効果を比率累進試験法により検討した。また, 新たに, コカイン中毒の治療薬の有効性についての検討を開始した。

8. 厚生省医薬品審査等業務庁費(薬務局審査課) タール色素毒性に関する試験

赤色 230 の (1) 号および青色 204 号について皮膚刺激性および急性経皮毒性を調べた。

9. 環境庁国立機関公害防止等試験研究費

希土類元素 (ユーロピウム, ガドリニウム) の 28 日間反復投与毒性試験を行い, 投与元素の体内分布と必須元素に及ぼす影響について ICP-MS を用いて検討した。

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

1) 組成を変えたポリウレタンのラットへの長期埋入実験を継続中である。

2) ポリウレタンの発がん性に及ぼす加令効果を調べるため, 老齢ラットへの長期埋入実験を開始した。

11. 国立機関原子力試験研究費 (科学技術庁)

$\gamma$  線照射された香辛料の毒性試験を実施するに先立ち, 動物が自発的に摂取する量ならびに香辛料そのものの影響を調べるために反復投与試験を開始した。

12. 特別研究「生体関連指標の有為性判定に関する研究」

免疫毒性試験法の確立を目的にサイクロスポリン A の反復投与試験を行った。なお, 本研究は免疫毒性国際共同研究 (ICICIS) 計画とも関連している。

13. 食品添加物の再評価に関する研究 (厚生省生活衛生局食品化学課)

アスコルビン酸ナトリウムと亜硝酸ナトリウムの相乗毒性を調べる目的で亜急性毒性試験を開始した。

## 薬 理 部

部 長 高 仲 正

### 概 要

第二室中澤憲一技官は, 平成 3 年 4 月 1 日付けで主任研究官に昇格した。また, 宮島敦子技官が平成

3 年 4 月 1 日付けで採用になり, 第三室において, 体内生成ニトロ化合物に関する研究等の業務に従事している。

ヒューマンサイエンス振興財団 (HS) 流動研究員として, 平成 3 年 4 月 1 日より第二室において, ニューロサーキット同時多点解析法等を用いる神経性栄養因子とモデュレータの機能評価法の開発に関する研究に従事していた原田伸透博士は十分な業績を挙げ, 平成 4 年 3 月 31 日付けで退所した。また, 郭 新彪博士は前年度に続き第三室において, 医薬品等の高感度・高性能安全性評価法の開発に関する研究に従事している。

科学技術庁流動研究員として平成 3 年 2 月 26 日に来日したパキスタン国 Gomal University 助教授 Muhammad Farid Khan 博士は第三室において, 肝で作られる反応性代謝物に対する防御機構としての血中 GSH に関する研究に従事し, 十分な業績を挙げ, 平成 4 年 3 月 24 日帰国した。

科学技術庁長期在外研究員として, 平成 3 年 3 月 15 日より 1 年間, 米国マサチューセッツ州ハーバート大学医学部細胞・分子生理学教室 Peter Hess 教授のもとで, 細胞外 ATP により活性化されるチャンネルにおけるカルシウムイオンの役割について研究を行っていた中澤憲一主任研究官は, シングルチャンネルについてパッチクランプおよび分子生物学的手法を用いて解析し, 細胞外 ATP 活性化チャンネルがカルシウム依存性のコンフォメーション変化を生じることを明らかにするなど, 多くの業績をあげ, 平成 4 年 3 月 14 日帰国した。また, 井上和秀主任研究官はロンドン大学の招聘により, 新ニューロモデュレータ ATP の受容体脱感作現象の解明について, 解剖・発生生物学教室 G. Burnstock 教授と共同研究を行うため, 9 月 5 日より科学技術庁中期在外研究員として出張し, ATP による薬理・生理作用の不活化および脱感作に関して, 外液 Ca の必要性, Ca 依存性 proteinkinase の関与を示唆する結果等を得て, 平成 4 年 1 月 7 日帰国した。

短期海外出張は, 高仲: 国際シンポジウム「有害化学物質のマネージメントに関する方針と手法」(台北, 4 月 21 日~27 日), 北京医科大学および国立薬品生物制品検定所にて講演 (北京, 5 月 12 日~19 日), FAO/WHO 残留農薬合同会議 (ジュネーブ, 9 月 11 日~27 日), 大野泰雄第三室長: 国際一般名称調査会 (ジュネーブ, 4 月 22 日~27 日), 第 1 回日・米・欧三極医薬品承認審査ハーモナイゼ



ーション国際会議 (ICH) (ブリュッセル, 11月3日~8日), 川島邦夫後世代影響研究室長: 北京医科大学および国立薬品生物制品検定所にて講演 (北京, 5月12日~19日), 化学物質安全性試験の国際的整合性に関する会議 (イギリス, フランス, ドイツ, 9月30日~10月13日) の延べ7件であった。

また, GLP 査察は, 海外へはデンマーク, ハンガリーの2か国へ2名, 国内には延べ7名が参加した。

今年度は8課題について研究を終了し, 新たに10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7, 環境庁1およびヒューマンサイエンス振興財団4課題について研究を行った。

#### 研究業績

##### 1. 医薬品等の薬理作用に関する研究

i) 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

ii) 神経細胞内情報伝達に関する研究

本年度で研究を終了した。

iii) 神経・神経間情報伝達に関する研究

iv) 細胞間情報伝達に及ぼす化学物質の作用に関する研究

本年度で研究を終了した。

v) 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に関する研究 (受託研究)

本年度で研究を終了した。

vi) 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

vii) 薬用植物・生薬の品質確保および利用に関する日中両国共同研究 (受託研究)

本年度で研究を終了した。

viii) 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

本年度で研究を終了した。

ix) 体内生成ニトロソ化合物に関する研究 (厚生省がん研究助成金)

本年度より2年計画で研究に着手した。

x) 農薬の分解・代謝物の生体内運命および化学構造と毒性の相関性に関する研究 (厚生科学研究費補助金, 生活衛生局食品化学課) 本年度より5年計画で研究に着手した。

xi) 農薬の分解・代謝物の安全性評価法研究 (厚生科学研究費補助金, 生活衛生局食品化学課)

本年度より5年計画で研究に着手した。

2. 医薬品等の後世代に及ぼす影響に関する研究  
i) ステロイドホルモン剤の男性化作用に関する研究

本年度で研究を終了した。

ii) ラット胎芽の発育に影響する血清中の因子に関する研究

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) *In vitro* 実験法を用いた化学物質の生殖・発生毒性の検索に関する研究

本年度より3年計画で研究に着手した。

3. 有効性・安全性評価のための科学技術開発に関する研究

i) 強毒性が予想される環境汚染物質等の培養系を用いた低用量安全性検索法の確立に関する研究 (国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁)

本年度で研究を終了した。

ii) 培養肝細胞を用いた安全性検索法の確立に関する研究 (受託研究)

本年度で研究を終了した。

iii) ニューロサーキット同時多点解析法等を用いる神経性栄養因子とモジュレータの機能評価法の開発 (受託研究)

iv) リスクアセスメント手法の改善と確立に関する研究 (厚生科学研究費補助金, 生活衛生局生活化学安全対策室)

本年度で研究を終了した。

v) 新規原料配合化粧品安全性評価のための試験法の研究 (厚生科学研究費補助金, 薬務局審査課)

vi) 既存化学物質安全性点検支援システムの構築に関する研究

vii) 若齢ラットにおける行動薬理試験法の検討

本年度より5年計画で研究に着手した。

viii) 実験動物としてのスキンスのステロイド代謝に関する研究

本年度より3年計画で研究に着手した。

#### 病 理 部

部 長 高 橋 道 人

#### 概 要

病理部第二室長今井田克己技官は平成3年9月30日付で退官し, 名古屋市立大学医学部講師に

転任した。また、第一室長川西徹技官は平成3年10月1日付けで第二室長に配置換えし、代わって平成3年10月1日付けでAmerican Health FoundationのNaylor Dana Instituteより西川秋佳博士が第一室長に就任した。第一室古川文夫技官は平成3年4月1日付けで主任研究官に昇格した。第三室小野寺博志主任研究官は平成4年3月30日に北里大学より医学博士を授与された。

今年度、高橋道人部長は次の様に海外出張した。フランスでの「OECD試験法ガイドライン計画第2回各国代表者会議」に出席し、さらに、米国での「急性毒性の試験法に関するワークショップ」および「眼刺激性試験法のアップデートに関するワークショップ」に出席し、討議した(平成3年9月13日~9月29日)。タイでの「第2回タイ毒性病理学会」に出席し、講演した(平成4年1月15日~1月21日)。

三森国敏室長はドイツでの「IPCSタスクグループ会議」に出席した(平成3年9月16日~9月20日)。古川文夫主任研究官は米国のNIEHSにおける「日米環境化学物質の毒性学的評価法の会議」に出席した(平成3年9月15日~9月26日)。西川秋佳室長は非エネルギー分野における日米科学技術研究計画に基づく年次計画として米国に出張し、NIEHS, NIH等を訪問し意見交換を行った(平成4年2月17日~2月28日)。

#### 研究業績

1. 食品添加物, 農薬, 医薬品等の安全性, 特に発がん性に関する研究(食品等試験検査費)

5種類の化学物質のがん原性試験が終了し, うち2種の物質のがん原性を確認した。さらに, 10種類の化学物質の試験を続行中である。

2. 発がん過程に影響を及ぼす諸因子の研究(厚生省がん研究助成金, 文部省科学研究費補助金)

種々の医薬品, 食品関連物質, 環境化学物質を動物に投与し, 様々な器官および組織の腫瘍発生過程に影響を及ぼす要因について検討した。カルシウムの胃発がん抑制作用, カフェインの両面的な作用, 刺激性下剤の大腸発がん促進作用, プロスタグランジン合成阻害剤と大豆トリプシンインヒビターの膀胱がん発生抑制作用等を見出した。

3. トランスジェニック動物を用いた実験的発がん研究

v-Ha-rasがん遺伝子を有するトランスジェニックマウスを用いた発がん実験を開始した。

4. 動物発がんモデルの確立に関する研究

以下の動物発がんモデルを確立した。

1) Dimethylhydrazineの皮下投与によるハムスターの大腸がん

2) Methylnitrosoureaの腹腔内投与によるハムスターの膀胱がん

3) N-Nitroso-bis(2-oxopropyl)-amineの皮下投与によるウイスター系ラットの肺がん

4) ヒト小児の脳腫瘍モデルとしての, 妊娠ラットへのethylnitrosourea投与によるF1動物の脳腫瘍(ヒューマンサイエンス振興財団共同プロジェクト)

5. 自然発生病変の発生原因に関する研究

以下の点について検討を行った。

1) ラットの組織球性肉腫の由来

2) Donryuラットの子宮内膜がんエストロジェン量との関係

3) B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウスの自然発生リンパ腫の由来

4) WBN/Kob Wistarラットの膀胱および睾丸の自然発生病変の特徴

5) ラットのグリオーマの診断(ヒューマンサイエンス振興財団共同プロジェクト)

6. 化学物質による臓器障害性に関する研究(既存化学物質試験検査費)

毒性データの不十分な既存化学物質4種について, ラットを用いて28日間反復投与毒性試験を行い, 臓器障害性を病理学的に検索した。p-Phenetidine, nitrobenzene, nitroanilineでは高用量でメトヘモグロビン血症が誘発され, nitrobenzene, nitroanilineおよびdiheptyl phthalateでは精巣に精子形成障害が認められた。さらに, nitrobenzeneでは非可逆性の中樞神経障害が誘発された。

7. 生体指標を用いたリスクアセスメントに関する研究

細胞増殖活性, 脂質過酸化およびがん遺伝子の活性化と発がん過程との関連性を検討した。

1) 細胞増殖の指標(特別研究, 厚生科学研究費補助金)

プロモデオキシウリジン取り込み, およびproliferating cell nuclear antigen (PCNA)と核小体形成体関連タンパク(AgNOR)の計測を行い, 細胞増殖の生体指標としての有用性を確認した。

2) 脂質過酸化の指標(厚生科学研究費補助金, 厚生省がん研究助成金)

胃がん修飾因子によりマロンジアルデヒド量が変

動することを明らかにした。

### 3) がん遺伝子の活性化

N-Nitroso-bis(2-hydroxy-propyl)amine 誘発ハムスター膀胱がん過程における Ki-ras の活性化を認めた。

## 8. 病理組織診断用語の標準化に関する研究 (厚生省移替予算)

毒性試験で使用されている病理診断用語の標準化を目指して、毒性病理学に関連する国内の大学、法人、企業の各研究機関の協力のもとに、ラット、マウス、サル、イヌの病理所見に用いる用語の検討をほぼ終えた。

## 9. 化学物質による細胞障害の細胞病理学的研究

### 1) 画像解析法を用いた単一細胞レベルの研究

測定系を構築し、単離肝細胞におけるホルモン反応へのミトコンドリア阻害剤の作用を検討した。

### 2) 蛍光プローブを用いた細胞障害研究法の開発 (厚生科学研究費補助金)

蛍光プローブ JC-1 を用いたミトコンドリア機能障害性試験法を確立した。

### 3) パッチクランプ法を用いた単一細胞レベルの研究

骨髄細胞の細胞内カルシウムイオン濃度変化のメカニズムを検討した。

## 変 異 遺 伝 部

部 長 祖 父 尼 俊 雄

## 概 要

本年度は人事面での異動は少なく、前年度の林真主任研究官の第1室長への昇格に伴い、平成3年10月1日付けで本間正充が第1室の厚生技官として採用された。平成3年10月1日付けで田辺秀之が第3室(細胞バンク)に流動研究員として採用され、流動研究員井上玲が平成4年3月31日で退所した。また、非常勤職員の片岡英子が平成3年12月27日に退所し、平成4年1月7日付けで岡戸清が非常勤職員として採用された。

平成3年4月6日~20日に林第1室長が、米国オーランドで行われた第22回の米国環境変異原学会に出席し、小核試験のワークショップにおいて「日本における小核試験法のガイドライン」と「小核試験の新しい試験法」の2題について発表を行った。平成3年5月4日~15日に能美健彦第2室長

が、イタリアのピサで行われた第3回国際抗変異原会議に出席し、「サルモネラに存在する *umuDC* 遺伝子」について発表を行った。

平成3年5月23日~25日に林第1室長が、東京で行われた毒性研究における生物統計学国際会議に出席し、「変異原性試験における統計学的評価」について発表した。

平成3年5月26日~6月2日に祖父尼俊雄部長が、中国、上海で行われた国際環境変異原/がん原物質会議に出席し、「培養細胞による染色体異常試験の国際共同研究」について発表を行い、引き続き北京の中国薬品生物製品検定所にて講演を行った。平成3年7月3日~4日に祖父尼部長は、東京で行われた国際染色体異常シンポジウムに出席し、「ヒトリンパ球の分裂細胞の集積法」について発表を行った。また、7月8日~10日に京都で行われた国際バイオメディカルエンジニアリング会議に出席し、「小核試験法の自動化」について発表を行った。

平成3年6月12日~17日に水沢博第3室長が、米国で行われた国際組織培養学会で発表するとともに、ATCCを訪問し、細胞の購入とコンピュータシステムなどに関する情報交換を行った。

ヒューマンサイエンス振興(HS)財団助成金にて、第1室鈴木孝昌技官が平成3年2月より米国ヘーゼルトン社に出張していたが、平成3年7月31日にトランスジェニックマウスによる遺伝子突然変異検出法の研究を終えて帰国した。

平成3年10月13日~10月22日にかけて林第1室長が、フランス、リヨンのIARCに赴き、モノグラフ第54巻のための評価作業に携わった。その後、フィンランドのIOHで共同研究の打ち合わせを行い、10月31日に英国のロンドンで開催された英国環境変異原学会のIGG年大会において「新しい染色法を用いる末梢血小核試験」および「日本における小核試験の共同研究」について発表した。

科学技術庁個別重要国際共同研究に基づいて、平成3年11月5日~11月27日までに、米国ローレンス・リバーモア国立研究所より Dr. J. Tucker が来所し、小核試験へ導入する新しいキネトコア染色法について技術指導を行った。これに基づいて、第1室松岡厚子主任研究官が平成3年11月27日~平成4年1月15日に、米国ローレンス・リバーモア国立研究所に出張し、キネトコア染色法に加えて、染色体ペインティング法の新しい技術の修得を行った。

平成3年11月25日~28日に林第1室長が、琵

琵琶湖で行われた第1回水環境中の有害物質の評価と制御に関する国際シンポジウムに出席し、「魚類を用いる小核試験の予備的検討」について発表した。

海外研修生としては、韓国国立保健安全研究所より孫秀姪博士が平成3年12月9日～12月24日に来所し、変異原性試験、特に小核試験法について研修を行った。

平成4年3月13日～26日に祖父尼部長が、米国レノで行われた第23回の米国環境変異原学会に出席し、変異原性試験ガイドラインのワークショップにおいて「日本のガイドライン」について発表するとともに、「培養細胞を用いる染色体異常試験の国際共同研究」について一般発表を行った。

第3室においては、本年度国内外より146細胞株を収集するとともに、4000に近いアンプルを供給した。また、細胞株品質管理法の国内統一マニュアルの作成、培養細胞株データベースの作成などを行った。第2室においても、新しく開発したYG株を国内32アンプル、国外36アンプルを供給し、エームス菌株は国内51アンプル、国外1アンプルを供給した。

#### 研究業績

##### 1. 食品添加物の変異原性に関する研究

6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. 大量照射した食品成分の変異原性に関する研究

$\gamma$ 線照射したグルコースについてマウス末梢血を用いて小核試験を行った(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

##### 3. 水道水中の微量有機化合物の変異原性に関する研究

水道中に含まれる微量有機化合物および関連物質2種について、マウスを用いる小核試験を行った(生活衛生局水道環境部水道整備課)。

4. 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  
ニトロ還元酵素, アセチル転移酵素の両者を導入したサルモネラ試験菌株を作製し, ニトロアレーン系化合物について検討を行った(国立機関公害防止等試験研究費, 環境庁)。

##### 5. マウスを用いる小核試験法に関する研究

ヒトに対するがん原性が知られている, 国際がん研究機構の評価グループ1および2aの化学物質に

ついて小核試験を行った。

##### 6. 実験動物における変異体細胞を指標とした発がん物質暴露量の推定

昨年度に引き続き, 2種類以上の化学物質を同時に投与した場合の相互効果について, マウス末梢血による小核試験法を用いて検討した(厚生省がん研究助成金による総合研究)。

##### 7. 変異原性試験に有用な高感受性テスト細胞の開発に関する研究

O<sup>6</sup>-メチルグアニン DNA メチル転移酵素遺伝子の欠失した *Salmonella typhimurium* 株を作製した(HS財団受託研究費)。

##### 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

培養細胞による染色体異常試験について, 2種のチャイニーズ・ハムスター細胞株, CHLおよびCHOを用いて, 試験プロトコルの比較検討のための国際的な共同研究を引き続き行った(生活衛生局生活化学安全対策室)。

##### 9. 生体外染色体異常試験の精度に関する研究

培養細胞を用いる小核試験について, 3種のモデル化合物を用いて代謝活性化系の導入を検討した(労働省化学物質情報課)。

##### 10. リンパ球の分裂中期細胞集積法に関する研究

ヒトリンパ球の染色体型異常を検出するために染色体ペインティング法の技術的な検討を行った(国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

##### 11. 変異原性試験のための新しい実験材料の開発に関する研究

1) チャイニーズ・ハムスター細胞株CHLにニトロ還元酵素およびアセチル転移酵素の遺伝子導入に成功したが, 導入遺伝子の発現は確認できなかった。

2) 大腸菌のlacZ遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを用いて, *in vivo* 遺伝子突然変異を検出する試験系について技術的な検討を行った。

##### 12. 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

1) *S. typhimurium* より *umuDC* 遺伝子をクローニングし, *samAB* 遺伝子と命名した。

2) ステピオールによって誘発される欠失変異の特異性をPCR法で解析する条件について検討した。

##### 13. 生活環境中の発がん関連物質の究極活性物質の生体内生成の究明と安全性評価法の確立に関する研究

チャイニーズ・ハムスター細胞株 (CHL) より SOD 活性の高まったメナジオン耐性細胞 (MM 1) を分離し、キノン類の染色体異常誘発性について検討した (対がん十カ年総合戦略研究事業、がん研究振興財団)。

14. 化学物質の変異原性に関する情報収集とデータベースの構築

遺伝子突然変異試験, 染色体異常試験および小核試験データの収集を行った。

15. 細胞バンクの運営に関連する基礎的研究

1) 細胞株の収集, 保存, 供給

ATCC から 123 株を購入し, 保存供給を行った。その一部を再培養し, 品質検査を行った後凍結保存した。国内からは 23 株を収集し, 一部の品質検査を実施後凍結保存した。

2) 汚染検査

蛍光染色法および DNA プローブを用いる方法の有効性が示されたので, 保存細胞の品質検査の一環として, マイコプラズマの検索を継続して行った。

3) 細胞株が由来する動物種の確認

DNA RFLP を利用した動物細胞の個別識別法を用い, これまで HeLa 細胞の混入が疑われていたものについて検討した。その結果, ほとんどの細胞が HeLa 細胞そのものであることが確認された。

4) 細胞株データベースの開発

他省庁を含めた細胞株のデータベースがほぼ完成し, 文献数 1500 件, 細胞株数 2300 件のデータを収録した。

## 総合評価研究室

室 長 中 館 正 弘

### 概 要

総合評価研究室は, 平成 3 年 4 月 12 日に安全性生物試験研究センターの省令室として毒性部評価室より独立し, 現在中館室長, 會田主任研究官および鎌田主任研究官の 3 名で構成されている。なお, 鎌田栄一主任研究官は厚生省生活衛生局との併任 (化学物質審査官) となっている。

当室の業務規定は「医薬品, 医薬部外品, 化粧品, 食品関連物質, 家庭用品, 環境化学物質等の業務関連物質に関する安全性試験結果の総合評価およびこれに必要な研究を行う」こととなっており, 安全性生物試験研究センターの各部と連携して化審法に基

づく新規および既存化学物質の安全性評価および現在進行中の OECD 高生産量既存化学物質の安全性点検作業に関する業務を行っており, また, 研究面ではリスクアセスメント手法に関する研究を行っている。

海外出張として, OECD 関連で, 既存化学物質の情報整理と優先物質リスト作成のための専門家会議 (中館室長, 平成 3 年 5 月, ドイツ), 有害物質放出調査に関する専門家会議・化学物質の分類に関する専門家会議・第 17 会合同会合 (中館室長, 平成 3 年 11 月, オーストリア・フランス), 環境暴露評価モデルに関する専門家会議 (會田主任研究官, 平成 3 年 11 月, ドイツ), 有害物質事故対策に関する専門家会議・既存化学物質 (無機化合物) の情報整理と優先物質リスト作成のための専門家会議 (中館室長, 平成 4 年 4 月, フランス・オランダ) の会議に参加した。IPCS 関連では, 健康影響のためのガイドライン値設定に関する原案作成委員会 (鎌田主任研究官, 平成 4 年 1 月, スイス), 国際化学物質安全性カード原案検討委員会 (會田主任研究官, 平成 3 年 10 月, ベルギー) に参加した。また, WHO 関連では, 飲料水水質基準検討会議 (會田主任研究官, 平成 3 年 4 月, ベルギー) に参加した。

医薬品 GLP の査察および化審法 GLP の査察には各々 1 ヶ所, 1 名が出張した。

### 業務成績

OECD の高生産量化学物質安全性点検計画においてわが国が分担している 9 品目に関して既存の情報を検索収集し, 加盟各国からの情報を整理し, 安全性点検のための試験計画を作成し, OECD に報告した。現在これら 9 物質の毒性関連の試験を外部受託機関で行っているが, 結果が出次第安全性生物試験研究センター内でデータの評価作業を行い OECD に報告するとともに必要に応じて各国に提供する。なお, これらの試験データは, 現在構築中の既存化学物質安全性点検体制支援システムに蓄積し, 今後の評価手法の研究に利用する予定である。

また, OECD のクリアリングハウス活動でわが国が分担している 4 物質について, 未公表データを含めて加盟各国からのデータを収集し, 整理して文書として OECD に報告した。

一方, 化審法による新規化学物質の審査および評価においては, 申請データのチェックおよび周辺情報の調査を行っているが, 本年度はスクリーニング毒性 94 物質, 高分子化合物 87 物質, 良分解性物質

45物質の計226物質が申請され、そのうち現在までに26物質が指定化学物質となった。

#### 研究業績

##### 1. リスクアセスメント手法等に関する研究

厚生科学研究費補助金による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の一環として、これまで3年間にわたりリスクアセスメントに必要な情報の種類および収集方法ならびに情報の管理に関して種々のデータベースを作成した。

本年度は、総合評価研究室発足に伴い、新たに短期毒性試験の長期毒性予測性に関する研究として、18種の脂肪族塩素化合物について既存データからの暴露期間と無作用量の関連を検討し、現在用いられている安全係数を考慮すると13週以上の暴露期間が必要なことを明らかにした(厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告)。

##### 2. 生分解性プラスチックの安全性に関する研究

厚生科学研究費補助金により、各種の生分解性および光分解性プラスチックの予測される分解物の安全性について、既存化学物質の情報を検索、収集し、その毒性について検討した(生活衛生局生活化学安全対策室に報告)。

##### 3. 家庭用品の安全性に関する研究

家庭用品試験検査費により、塩化メチレンに関する毒性について既存の情報を収集し、これを整理するとともにその安全性を検討した(生活衛生局生活化学安全対策室に報告)。

##### 4. リスクアセスメントに必要なデータベースの構築に関する研究

先に毒性関連のファクトデータベースであるバイオロジカルデータベースを構築したが、本年度はシステムの一部改良と変異原性試験、催奇形性試験、発がん性試験および反復投与毒性試験の各データを収集し、入力を行った。

OECDの高生産量化学物質安全性点検でのデータ管理と今後の安全性評価手法の研究に利用するために、主として厚生省が外部委託する毒性試験データを管理するためのデータベースとして安全性点検体制支援システムの研究をセンター各部と協力して行っている。本研究は平成2年度にシステムの基本設計を開始し、本年度はシステムの詳細設計、プログラム設計およびプログラムの作成を行い、システムを構築した。今後外部受託機関および厚生省との通信システムの作成と有効性の検証を行いシステムを完成させる。本システムは、データベースとして

の役割以外に種々の統計処理機能を有しており、評価手法の研究等にも利用出来る設計となっている。

##### 5. 毒性予測に関する研究

安全性点検の優先順位設定やリスクアセスメントの種々の場面で毒性の予測が必要となることから、既存のデータを利用し、構造活性相関の手法を用いた毒性予測の検討を行い、エイムス試験に対する予測のための知識ベースシステムを構築した。現在までの検討で90%以上の精度で予測が可能であり、今後他の毒性についても予測出来るシステムとした。

## 大阪支所

支所長 武田 寧

大阪支所は、本年度も昨年同様に支所の役割である検定・検査、標準品製造の業務の実施とともに、業務に関連する分野の研究を行った。支所全体として、検定・検査は、医薬品の国家検定60件、医薬品の国家検査77件、食用タール色素製品検査835件、一斉取締試験40件、輸入食品検査12件、特別行政試験11件について実施し、標準品は医薬品試験用35品目(5210本)、色素試験用3品目(1050本)を製造した。研究については、特別研究1件、国立機関公害防止等試験研究1件、厚生科学研究6件、食品等試験検査研究8件、ヒューマンサイエンス振興財団受託研究3件等について実施した。それらの詳細は、以下の支所各部の業務報告のとおりである。なお、研修指導として、WHOおよびJICA研修生を含め14名の研修指導を行った。

施設に関しては、機器分析室が増築(76m<sup>2</sup>)された。貴重なスペースとして、有効に利用したい。また、支所の運営に関しては、支所研究委員会を再編成し支所内の研究業務環境の改善を図り、将来構想委員会を発足させ創薬基盤研究の推進策について検討した。

なお、大阪支所庶務課の人事異動は次のとおりである。

(4.4.1 付け) 庶務課長補佐、庶務係長併任、業務係長併任 金子英夫

(4.4.1 付け) 会計係長配置換 中島一登

(4.4.1 付け) 採用 吉田健二

(4.4.1 付け) 本所配置換 高田正義(庶務課長補佐)

(4.4.1付) 筑波試験場配置換 瀧田秀生 (会計係長)

## 薬品試験部

部長 岡田敏史

### 概要

HS財団の第2期官民共同プロジェクト研究事業は第3年度に入り、第II分野テーマ2. 高分子材料と薬理活性をもつ物質との総合化技術の研究に二つの副課題で参加し、最終年度の締めくくりを行った。ヒトインスリン製剤の国家検定は4月に4品目削除されたが、10月より新たに3品目が検定対象品目に指定された。新規標準品は7品目を設定した。別に、薬局方標準品の一部(37品目)が平成3年度より(勸)日本公定書協会より製造・配布されることになったため、その品質評価試験を行った。

平成3年6月30日付けで小室徹雄室長が、9月30日付けで村井真美技官が退職した。平成3年10月1日付けで四方田千佳子主任研究官が第1室長に任命された。平成4年4月1日付けで小松裕明技官が主任研究官に昇格し、吉井公彦技官が新たに採用された。

### 業務成績

#### 1. 国家検定

ヒトインスリン製剤が60件で、全品合格であった。

#### 2. 国家検査

ブドウ糖注射液が58件、リンゲル液が1件、薬局方インスリン製剤が18件で全品合格であった。

#### 3. 一斉取締試験

クロフィブラートを含む内服固形製剤17件およびフェノバルビタールまたはヒダントインを含む抗てんかん剤(内服固形製剤)23件につき定量試験を行い、その結果は全品合格であった。

#### 4. 特別行政試験

1) 国内産取納あへん5検体(岡山県)について、モルヒネ含量の定量試験を実施した。

2) (勸)日本公定書協会より製造・配布される日本薬局方標準品37品目の品質評価試験を行った。

#### 5. 標準品製造

33品目について合計4510個の標準品の製造を行った。新規標準品7品目の設定を行った：インドシアニングリーン、*d*-カンフル、*dl*-カンフル、シク

ランデラート、ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム、トルナフタート、メトキサレン。

#### 6. その他

日本薬局方の改正(薬務局安全課)、日本薬局方外医薬品成分規格の作成(薬務局審査課)、ヒトインスリン3製剤の国家検定基準の作成(監視指導課)等に協力した。

### 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) ハロゲンイオンの定量法の統一化に関する研究

日本薬局方の医薬品各条の試験規格中、定量法または純度試験にハロゲンイオンの定量試験の採用されている例が多数見られる。滴定液、溶媒、終点検出法などが様々な組合せで用いられており、これらの滴定系を整理し、統一的な試験法を採用してゆくことが望まれる。滴定液は硝酸銀とし、第3物質の添加は極力避け、電位差法による終点検出による測定の自動化を目標とした。その結果、数品目を除いて統一的な取扱が可能であることを明らかにした(公定書協会)。

##### i-2) インスリン製剤のHPLC試験法の開発研究

動物インスリンは勿論のこと、国家検定におけるヒトインスリン製剤の定量はウサギを用いる生物検定法が採用されている。USP、BPとも既にHPLC法による化学的定量法が採用されており、試験法の国際的調和および動物愛護の観点からも早期に化学的定量法への転換が切望されている。HPLC法の採用にあたってはヒトインスリン標準品が必要となることから、標準品が具備すべき条件(純度、安定性など)、クロマト的ピークと生物活性の対応性の評価法などにつき検討した。HPLC法の採用を具体化するため、ヒトインスリン標準品の設定を進めている(監視指導課)。

##### i-3) 医薬品等に関わる指定検査機関に対する信頼性保証制度の確立に関する研究

医薬品試験規格への機器分析法の大幅な採用と国際的調和が進むなかで医薬品分析用標準品の製造・供給体制の確保が切望されており、第三者機関の設置による供給体制の確立が期待されている。その場合、薬事法に基づく指定検査機関の協力を得て標準品原料の品質評価試験を複数の機関で行い、厳正な品質チェックの行われることが前提となる。指定検

査機関の現状把握と信頼性確保のための方策を探るため「アセトアミノフェン」の統一試験法による品質評価試験を計画し、全国23施設の協力を得て実施した(監視指導課)。

#### i-4) 赤外参照スペクトル集の作成

日本薬局方における医薬品各条の確認試験への機器分析法の大幅な採用が計画されている。赤外吸収スペクトル(IR)法は簡便で確実な物質の確認手段であることから、薬局方への大幅な採用が望まれる。標準IRスペクトルの利用により、標準品の有無にかかわらず医薬品の確認が可能な赤外参照スペクトル集を作成すべく、薬品部と協力して準備を進めている。

#### ii) 標準品の品質規格の設定に関する研究

第12改正日本薬局方の公布に合わせ、*d*-カンフルほか7品目の新規標準品を設定するためそれらの品質規格を定め、原料の品質評価および試験を行い、各標準品の設定を行った。

#### iii) トロパンアルカロイドの二相間分配挙動

薬局方第2部記載のアヘンアルカロイド混合製剤中の硫酸アトロピンなどトロパンアルカロイド類(TrA)の定量は溶媒抽出分離後、シリル化処理し、GC法により行われる。アルカリ条件下での抽出、標準溶液に対する平行操作など抽出分離過程にいくつかの問題があるため、TrAの水/有機溶媒間における分配挙動につき基礎的な検討を行った。

### 2. 医薬品と高分子物質の相互作用に関する研究

#### i) キトサンとその誘導体の高分子特性評価法とその製剤への利用技術に関する研究

キトサンにアルギン酸Na(AlgNa)を添加することにより薬物放出が徐放化される。テオフィリンを含有するモデル錠剤(5% AlgNa)を作製し、ビーグル犬に経口投与後、薬物の血中濃度推移を観察した。この結果、AlgNaの徐放化効果が*in vivo*においても確認された。AlgNaの徐放化機構を解明するため薬物と賦形剤(キトサン、AlgNa)の溶出挙動を同時に観察し、徐放化におけるキトサンおよびAlgNaの役割について考察した。

キトサンと酸性多糖類(CM-キチン、ヒアルロン酸Na)の間で形成されるポリイオンコンプレックスから、安定な膜状成形物が得られる。これらの膜の化学的(pH、イオン強度、溶媒)および酵素的(リゾチーム)安定性について比較検討し、製剤的応用の可能性を探った(HS財団受託研究費)。

#### ii) 低分子化ヘパリンの抗凝固活性の評価方法お

よびその標準化に関する研究

合成基質法による低分子化ヘパリン(LMWH)の抗FXaおよび抗トロンピン(FIIa)活性測定条件の最適化を図り、確立された方法に基づいてLMWH国内標準品の活性評価を行うため、LMWH国際標準品を対照として国内5施設による共同検定を実施した。この結果、LMWH国内標準品に対し抗FXa活性1700IU、抗FIIa活性700IUの値付けをすることができた。

ゲルろ過クロマトグラフ(GPC)法によるLMWHの分子量評価を正しく行うために、NIBSCより分子量標準物質の配布が開始された。これを用いるGPC分析条件を確立し、各種のLMWH製品の分子量と分子量分布を求めることができた。また、この結果を基にしてLMWHとして統一的に取り扱われるべき分子量規格に関する考察を行った(HS財団受託研究費)。

## 食品試験部

部長 伊藤 誉志男

### 概要

辻澄子主任研究官が、「抗酸化相乗剤クエン酸イソプロピルの物理化学的研究」で、平成3年10月、大阪大学より薬学博士号を授与され、さらに、「過酸化水素に関する食品衛生学的研究」で、平成4年5月、日本食品衛生学会より奨励賞を授与された。平成3年9月誘導結合プラズマ発光分光分析装置(ICP)を購入し、準共通機器として第2共通機器室に設置した。

### 業務成績

#### 1. 製品検査

食用タール色素835検体(平成3年4月1日~4年3月30日)について検査を行った。不合格はなかったが、食用赤色102号の塩化物および硫酸塩含有量総和、および食用黄色5号の副色素で規格限度に近いものが数検体認められた。

#### 2. 輸入食品検査

ゼリー5検体の銅クロロフィル、チョコレート1検体の銅クロロフィルと銅クロロフィリンナトリウム、冷凍えび1検体のスルファモノメトキシ、コチニール色素2検体のカルミン酸の確認試験、純度試験、アルミニウムおよびカルシウムの含有量試験、ワイン4検体のサリチル酸を検査した。総検体数は



12 検体、総試験項目は 19 であった。

### 3. 標準品製造

食用赤色 102 号、食用赤色 106 号、および食用青色 2 号の 3 種類、合計 1050 個を製造した。

### 4. 研修について

神戸農林水産・消費技術センター技官 1 名の研修を 3 ヶ月（平成 3 年 1 月 6 日～3 月 25 日）、大阪薬科大学研究員 1 名の研修を 6 ヶ月（平成 3 年 7 月 11 日～12 月 28 日）行った。

神戸港、大阪港および大阪空港の食品監視員 4 名（平成 4 年 3 月 16 日～27 日）、国際協力事業団輸出入食品検査技術コース研修生 4 名（平成 3 年 11 月 11 日～15 日）および農薬利用コース研修生 6 名（平成 4 年 4 月 21 日～24 日）の講義および実験指導を行った。大学特別研究生も含めて総数 23 名の食品衛生に関する研修指導を行った。

## 研究業績

### 1. 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

各種食品中のコチニール色素（カルミン酸）およびラック色素（ラッカイン酸）の水抽出、Sep-pak C 18 精製後、HPLC で定量する方法を作製した（厚生科学研究費補助金、生活衛生局食品化学課）。

また、チョコレート類、乾燥果実果汁、ソース類中のソルビン酸、魚卵加工品、果汁、調味料中の安息香酸、脱カフェインのコーヒーおよび茶中の酢酸エチル、菓子中の銅クロロフィルの分析法等を整備した（食品等試験検査費、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

昭和 57 年に作製したマーケットバスケット方式が古くなったので、時代に相応した新しいものに作り替え、地方衛研 11 機関と協力し調査研究を行った。本年度は一般成人の加工食品中の A 群添加物（純合成型）60 品目について検討し、当部は食用タール色素を分担した。新しくイオンペア HPLC による定量法を開発し、それをを用いて測定した結果、食用タール色素 12 種の 1 日総摂取量は 1.78 mg となり、食用黄色 4 号がその 75%（1.34 mg）を占めた（食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課）。

#### III) 食用タール色素・製剤試験法の改良

サプレッサー方式のイオンクロマトグラフィーを用いた食用タール色素中の塩化物、硫酸塩、臭化物およびヨウ化物の簡易かつ高精度の一斉分析法を開発した（食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課）。

#### IV) 食品由来成分の含有量実態調査研究

昨年度に引き続き安息香酸の含有量について調査した。生鮮食品ではブロッコリー、しいたけ、マッシュルーム、おくらおよびキャベツで 1.1～5.4  $\mu\text{g/g}$  であった。加工食品では乳製品 4.3～26.4  $\mu\text{g/g}$ 、香辛料 ND～147.5  $\mu\text{g/g}$ 、大豆製品 ND～19.7  $\mu\text{g/g}$  であった（食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課）。

### 2. 残留農薬の分析に関する研究

#### I) 農作物中の残留農薬の多成分分析法に関する研究

農作物中の窒素系除草剤 9 種類の GC および HPLC による分析法を比較検討した。FTD-GC ではスエップ、ジウロン、リニュロン、プロピザミドが熱分解し測定不能であり、UV-HPLC ではアラクロールおよびブタクロールが測定不能であった。GC と HPLC を使い分けることにより良好な回収率を得た（食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課）。

#### II) 収穫後使用農薬の農作物における保存、加工および調理での残留量の消長に関する研究

収穫後使用農薬として DP、OPP、TBZ、イマザリル等 8 種を用いたレモンで、マーマレードを加工したところ、最終製品中に DP 95.4%、イマザリル 42.1%、OPP 41.3% および臭素 22.1% が残存した。しかし、他の 4 種農薬は完全に消失した（食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課）。

#### III) 残留農薬基準設定のための分析法に関する研究

チオファネートメチルおよびベノニルの蛍光検出による HPLC 法、イプロジオン、ジクロランおよびキャプタンの FTD および FPD-GC 法、メトキシクロールの ECD-GC 法を設定した。また、プロポキスルおよびメチオカルブの FTD-GC 法、ジラムおよびフェルバムの加水分解物（ジメチルジチオカルバメート）をアルカリ性で抽出し、ベンジルクロリドとの反応物（ジメチルジチオカルバミン酸ベンジル）を FPD および FTD-GC で定量する方法を設定した（食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課）。

#### IV) 農作物中の農薬代謝物および分解物の分析法に関する研究

農作物中の有機リン系農薬である、ジスルホトンとその代謝物（ジスルホトンスルホン、ジメトンチオール、ジメトンチオールスルホン）の FPD-GC

法、バミドチオンとその代謝物（バミドチオンスルホキシド、バミドチオンスルホン）のECD-GCおよびGC-MS (SIM) 法を作製した。両者とも簡易かつ迅速であり良好な回収率を得た（厚生科学研究費補助金、生活衛生局食品化学課）。

### 3. 輸入食品の安全性確保に関する研究

1) 輸入食品検査における高度検査機器利用に関する研究

各種輸入農作物中のカルバメート系農薬9種（アルディカルブ等）と有機リン系農薬30種（フェンスルホチオン等）の一斉分析法を作製し、検疫所の食品監視員への研修と実態調査を行った。また、上記方法と簡易分析法（キャド法）との測定値の相関性について検討した（厚生科学研究費補助金、生活衛生局食品保健課）。

### 4. 食品添加物の有効性に関する研究

アゾルビンおよびキノリンイエローの有効性、安全性生体内代謝機構、分析法、市販品の成分、ヨーロッパでの一日摂取量に関する調査研究を行った（食品等試験検査費、生活衛生局食品化学課）。

### 5. 環境汚染に関する研究

1) 希土類元素の生体影響評価法に関する研究

Dy, Eu, YbおよびYの4種希土類元素をシロネズミに1回静脈内投与し、各臓器での分布、経時変化および体内Ca, Mg, Fe, P含量の変動を調べた。体内蓄積量 ( $\mu\text{g/g}$ ) は、いずれの元素でも脾臓、肝臓、骨、腎臓、肺の順となった。また、血液および肝臓での半減期は各々0.37~6.06時間および12.9~18.0日となり漸次減少した。これらの元素の蓄積量の高い脾臓等では、Ca含有量が高くなる傾向が認められた（国立機関公害防止等試験研究費、環境庁）。

## 生物試験部

部長 川崎 浩之進

### 概要

第一室村井敏美主任研究官は、米国カリフォルニア州スタンフォード大学医学部ラジエーションバイオロジー学教室George M. Hahn教授のもとで、熱ショック蛋白質のサイトカイン分泌促進作用を中心とした研究を行うため、平成3年10月21日より1年間の予定で出張した。また、平成3年9月22日より12月21日までWHOフェローとしてイン

ドネシア National Quality Control Laboratory of Drug and FoodのDr. Herlina Boedhi Setijantiが医薬品ワクチンおよび医療用具のパイロジェン試験に関する研修を行った。

### 業務成績

国家検定としてヒトインスリン製剤60件、国家検査としてブドウ糖注射液58件、リングル液1件、インスリン製剤18件、特別行政試験として輸液製剤アミパレンの発熱性物質試験11件を行い、全品合格であった。他に標準品2品目、計700個の製造を行った。

### 研究業績

#### 1. 発熱物質に関する研究

Limulus testに関する研究

透析器などの医療用具類にリムルステストを適用するに際しての問題点を明らかにするために、手術用ゴム手袋を材料として検討を行った。その結果、現行の薬事法に定められている医療用具基準における試料溶液の高温加熱による調製法ではエンドトキシン (ET) が不活化され、ET汚染の検出を目的とする試験法には不適切であり、化学物質の試験に適している現行の調製法とは別に、18℃程度の低温による調製法を用いるべきこと、ゴム手袋を高温抽出すると遊離してくるリムルス陽性物質は $\beta$ -グルカンであり、ET特異的LAL試薬で試験すべきであること等を明らかにした。

#### 2. 医薬品等の有効性、安全性に関する研究

胎仔毒性の発現に関する研究

胎仔毒性研究の一環としてTributyltin chloride (TBTCI) の毒性について検討し、TBTCIは、ラットの夜間の自発運動とShuttle boxによる条件回避反応の有意の低下を示すことを明らかにした。

Di-*n*-butyltin dichloride (DBT) は、7.5および10.0 mg/kg投与で母体毒性を示したが、母体毒性を示さない5.0 mg/kgでも器官形成期に投与すると、奇形胎仔の発現率が上昇することを明らかにした。また、Butyl benzyl phthalate (BBT) は、妊娠の前半に投与すると胚致死作用を発現したが、妊娠7~16日に与えた群で多くの奇形胎仔が観察され、僅奇形性があることを明らかにした。

3. 薬用植物およびその製剤の生物評価に関する研究

漢方方剤の生物評価の一つとして解熱作用の評価法を確立するために、ETを用いて発熱させたウサギに対する8種の漢方方剤の解熱作用を検討した。

大承気湯、当帰芍薬散料、および小柴胡湯に解熱効果が認められたが、香薷散料、黄连解毒湯、五苓散料、葛根湯および白虎加人参湯には認められなかった。プロスタグランジンの生合成の阻害や、駆瘀血作用との関連性が推定された。

また、胎仔毒性発現の予防とその治療を目的に、ETによるラット胚致死作用に対する薬用人参の抑制効果について検討した。妊娠ラットへETを投与すると胎盤の子宮絨毛間腔に血栓が生じること、また、薬用人参を投与した妊娠ラットではADPによる血小板凝集が阻害されることを明らかにし、薬用人参のETによる血液凝固系の活性化の抑制が、胚致死作用抑制の機作の一つであるとの考えを示した。

4. 高分子等材料の有効性、安全性評価の指標となる試験法の開発

血液と接触する膜およびその材料等の *in vitro* での簡便、迅速、経済的な毒性試験代替法を確立することを目的として、人工腎臓の抽出液についてリムルス試験とウサギ赤血球 ATP 低下作用について検討した。抽出液には ET は検出されなかったが、 $\beta$ -グルカニンが検出された。また、抽出液は赤血球 ATP 低下作用を示した。しかし、 $\beta$ -グルカニンにはこの作用は認められなかったことより、人工腎臓より溶出される化学物質が細胞毒性を示すことが判明した。また、リムルス試験法における反応阻害または促進物質を除去して ET を定量するために、ET 特異的吸着体について検討し、有効であることを示した (HS 財団受託研究費)。

5. 医薬品等の高感度、高性能安全性等評価試験法の開発 (皮膚適用材料の生体影響評価に関する基礎研究)

これまでにウサギ腹腔マクロファージ ( $M\phi$ ) を用いてスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) の産生能の低下を指標とすることにより、各種界面活性剤の細胞毒性がごく短時間に鋭敏に捉えられることを明らかにした。本年度はこの試験法の実用性を高めるためウサギ  $M\phi$  に替えて、より準備、調製の容易なラットの腹腔  $M\phi$  あるいは  $M\phi$  類似の性状を有する株化細胞の適用を試みた。その結果、ウサギ腹腔  $M\phi$  の代わりにラット腹腔  $M\phi$  を用いても、その  $O_2^-$  産生を指標とすることにより各種界面活性剤の細胞毒性が鋭敏に捉えられ、また、その成績はウサギ眼粘膜刺激性試験の成績と高い相関を示すことを明らかにし、この試験法は動物を用いる局所刺激性試験の高感度、高性能代替法として有用な試

験法の一つであることを示した (HS 財団受託研究費、環境衛生化学部と共同)。

6. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究 (細胞レベルでの免疫反応指標の検索)

ラット腹腔  $M\phi$  と肺胞  $M\phi$  について免疫反応指標としての有意性を比較検討し、両  $M\phi$  の基本的な活性の違いを把握することを目的とした。その結果、 $O_2^-$  産生能と IL-1 産生能は両者ともに同じだが、グルコース消費量、食作用、ET 刺激による TNF 産生能は肺胞  $M\phi$  が高く、また、IL-1 および TNF 産生速度も速いことを明らかにし、これら指標の多くについて肺胞  $M\phi$  の方が腹腔  $M\phi$  よりも高い活性を示すことを明らかにした (特別研究、厚生省)。

7. 培養細胞系を用いたペプチドホルモンの *in vitro* バイオアッセイ法の開発

中枢神経系の初期発生に関係する要因を研究しうるアッセイ法を開発することを目的とし、ラット胚より調製した神経上皮細胞の初代培養系を用いて、諸種ペプチドホルモンおよび成長因子類の、細胞増殖および分化に対する影響を観察し、この系が中枢神経系の初期発生に影響する因子の研究に有用であることを明らかにした (厚生科学研究費補助金)。

8. インスリン製剤の HPLC 試験法の開発研究  
インスリン製剤の国家検定における定量法について、現在のバイオアッセイ法の代替として動物を使用せず、より高い精度で迅速に定量できる HPLC 法による定量法の開発を目的とし、インスリンの生物活性を測定するための方法について検討した (厚生科学研究費補助金)。

9. 家庭用品に用いられる化学物質の試験検査 (家庭用品等試験検査費、厚生省生活衛生局生活化学安全対策室)

i) P-tert-ブチルフェノールホルムアルデヒドレジン (ノボラック型) のラットに対する催奇形性に関する研究

ii) P-メチルベンゼンスルホメチルジイオダイドのラットに対する催奇形性に関する研究

iii) グルタルアルデヒドのラットに対する催奇形性に関する研究

いづれも催奇形性を示さないことを明らかにした。

iv) ジメチルジチオカルバミン酸亜鉛のラットに対する催奇形性に関する研究

妊娠ラットに投与して、その影響について検討中である。

## 北海道薬用植物栽培試験場

場長 畠山好雄

## 概要

人事面では、平成4年3月1日付けで、柴田敏郎栽培管理室長が筑波薬用植物栽培試験場栽培研究室長として転任し、後任には同研究室の飯田修室長が就いた。

研究上は、前年度に引き続き、薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培研究を主に行った。また、厚生省麻薬課の委託研究である「生態系農業に基づくけし栽培法の確立に関する研究」および「麻薬原料植物の管理生産システムの開発」についてそれぞれ研究を実施した。

今年度初めての業務としては、厚生科学課の特別研究事業「老年性疾患に用いられる漢方方剤構成生薬の品質改善に関する研究」について、北海道立衛生試験所、同工業試験場、東日本学園大学と共同研究を開始し、主として生薬の調製方法に取り組んだ。同様に、医薬品副作用被害救済・研究振興基金の共同研究あっせん事業第一号として「モッコウの栽培および品質評価」に関する共同研究を当场と国産生薬(株)ならびに三星製薬所とで実施することになり、国立衛生試験所内山充所長との間で契約が交わされた。

## 業務成績

## 1. 種子交換

採取	217種	(筑波試験場へ送付)
受入	40件	124種
分譲	18件	40種

## 2. 指導業務

ケシの講習会が7月26日に名寄で開催され、一般耕作者に対し講習を行った。また、3月19日に留萌市において麻薬撲滅運動の一環として、麻薬植物の講習を行った。

栽培指導は道内各地の他、青森市、岩手県市町村の各担当者に対し実施した。

## 研究業務

## 1. オケラ類

広島大学および東京都立薬用植物園の協力を得て、オケラ類(ソソバオケラ・オケラ・オオバナオケラ)の特性分類調査基準をほぼ作成し終え、評価委員会において検討中である。重要形質10項目を33の形

質に分け、定義・調査方法・状態区分などを決定した。3種の明確な区別点としては、茎太・節数・分岐数・葉形・頭花の高さと幅・萌芽期・開花期などが挙げられる。

ホソバオケラの栽培試験については、作物の補償作用という観点から行っている。

欠株が生じた時の補償作用は茎数より分岐数に強く現れること、この両形質は環境要因の影響を強く受けること、地上部の各形質は株分け1年目から2年目の間に2~5倍に増加することなどが判明した。

## 2. ケシ

経験的には播種期の早い方がアヘン多収穫に結びつくことが知られているが、それを実証するために、終雪直後('91.4.25)から5日毎に6回播種し、収量および収量構成要素の変化を調べた。播種期が遅くなると発芽が悪く、単位面積当り果数の減少となる。有効歩合は播種期に関わりなく高く保たれ、1果当りのアヘン重量は早期播種の方が大きい。アヘン収量は果数・1果当りアヘン重量・有効歩合の高い早期播種が最高を示した。

植物工場で周年栽培を行うための基礎資料として、花芽分化に及ぼす日長時間・温度の影響を調べたところ、長日条件下で花芽分化が促進され、日長が長くなるに従い、開花迄日数が短縮された。また、温度(15~25℃)が低くなるに従い花芽分化が早く起こり、開花迄日数が短縮された。

## 3. モッコウ

摘芯の生育・収量に及ぼす影響を調べた。抽苔は6月頃より始まり、11月まで続いた。摘芯は花茎が10~30cm位伸長した時点で行った。生育当初から不摘芯区に比べ摘芯区の地上・地下部の生育が劣り、抽苔率も低く推移したが、生育の経過は両区ほとんど同様であった。11月5日の調査では初めて摘芯区の地下部乾物重が不摘芯を上回り、摘芯の効果が現れた。成分に対する摘芯の効果は検討中である。

## 4. 生薬の品質改善に関する研究

基源の明らかな品種一ホッカイトウキ・ヤマトトウキ・ナイモウオウギを栽培し、その根を材料として、屋外乾燥を伴う伝統的な調製法を行い、調製過程中的微生物汚染の動態を調べ、また、調製品について化学的品質評価を行った。他方、近代的乾燥機器を利用した調製法について、温度水準を変えて実験を行い、水分変化、品質評価を検討した。調製法の他、品質に影響を与える要因と思われる収穫年数、利用部位についても化学的品質評価を行うと

ともに各品種の薬理活性試験をアンジオテンシン変換酵素・過酸化脂質・ヒスタミン遊離・リンパ球増殖などについて実施した。

## 筑波薬用植物栽培試験場

場 長 西 孝 三 郎

### 概 要

平成3年10月1日付けで薬務局新医薬品課の江崎勝司治験審査官が栽培研究室に就任、また、平成4年3月1日付けで栽培研究室の飯田修室長が北海道試験場の栽培管理室長に異動になり、後任に北海道試験場の柴田敏郎室長が就任、さらに、平成4年4月1日付けで守屋慶二郎庶務課長が退職、後任に原田正雄業務課長補佐が就任、六角順一庶務係長が本所の業務課・業務係長に異動になり、後任に大阪支所・庶務課の瀧田秀生会計係長が就任した。

科学技術振興調整費による総合研究「新しい植物実験系開発のための基盤技術に関する研究（機能分化と形態分化の相関に関する実験系の開発）」は第2年次を迎え、その研究は順調に進展している。

長寿関連基礎研究の国際共同研究「日中薬用植物・生薬の品質の確保および利用に関する研究」は所定の成果をあげ完了した。

外国人研究者の受入れは、日韓科学技術協定の関連で韓国の農村振興廳・湖南作物試験場の朴文洙研究員（平成3年6月20日～平成3年11月19日）が「薬用植物の探索、収集、評価、利用に関する研究」を行った。

また、国際協力事業団からの依頼で、ブラジル・アマゾン農業研究プロジェクト関連の研修員としてブラジル湿潤熱帯農牧研究センターの Sergio De Mello Alves 研修員（平成3年5月7日～平成3年5月30日）、Milton Guilherme Da Costa Mota 研修員（平成3年9月30日～平成3年10月31日）を受入れ、「薬用植物の組織培養に関する技術の修得」のための指導を行った。

平成4年2月27日、28日の両日、筑波試験場で所長、副所長、生薬部長および業務課長出席のもとに業務打合せ会議を開催し、意義ある議論を交わした。また、(株)太田胃散・取締役研究担当兼薬事室長、伊東宏氏を招き「生薬の品質について」の特別講演を催した。

海外出張は、酒井技官が「薬用植物・生薬の品質

確保および利用に関する研究」のため中国（平成3年9月1日～10日）へ、飯田栽培研究室長が「薬用植物の探索・収集に関する研究の技術交流および情報交換」のため韓国（平成3年9月22日～10月5日）へ、下村育種生理研究室長が「薬用植物および香料植物に関するアセアンシンポジウム出席」（平成4年1月31日～2月8日）のためフィリピンに出張した。

### 業務成績

#### 種子保管数

種子貯蔵庫	335 種類	1340 缶
交換用種子数	939 種類	1991 年
入手種子数	135 件	762 種類
分譲種子数	167 件	3284 種類
種子目録配布数	65 カ国	397 機関

### 研究業績

#### 1. 薬用植物の栽培に関する研究

1) ミシマサイコの生育年数別における生育・収量について

前年度に引き続き、黒土、赤土および砂土を充填したコンクリート枠で施肥および無施肥条件下で栽培した4年生根の生育・収量について比較した。その結果、施肥区の病害指数は80%、無施肥区では37%で病害の程度および発生率は施肥区において大であった。一方、株収量は各土壌とも無施肥区より施肥区において大きく、その差は砂土において顕著であった。また、施肥区では赤土が、無施肥区では黒土が最大値を示し、両区とも砂土が最低であった。

#### 2) ムラサキの適性施肥量試験

夏期の乾燥による枯死と秋期の長雨による根腐れで十分な調査はできなかったが、肥料の要求量は生育初期の段階で大きく、追肥の効果はあまり期待できないようである。また、根部の肥大生長は施肥量に比例する傾向を示すが、色素量は施肥量と相関性が認められない。

2. 薬用植物種子の貯蔵温度、貯蔵期間と発芽率について

種子は径52mm、高さ47mmのブリキ缶に入れて封印した後、10℃、-1℃、-20℃の3温度条件下にて貯蔵した。

本年度は16種の植物について貯蔵開始後5年目の発芽調査を行った。アイの10℃およびキバナオウギの全温度下における種子はほぼ発芽力を消失したが、その他の種子では各温度条件とも極端な低下は認められなかった。中でもアマ、アサ、およびカ

ワラケツメイの発芽率は全温度条件とも90%以上の高い発芽率を示した。

### 3. 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

a) *Hyoscyamus albus* 毛状根によるトロパンアルカロイドの生産

最近、日本において単離された *Agrobacterium rhizogenes* MAFF 03-01724 の感染により誘導した *Hyoscyamus albus* 毛状根によるトロパンアルカロイド生産について検討した。3%蔗糖を添加した各培地においてアルカロイド含量が高く、ヒオスチアミンは1/2 MS (3%蔗糖) において約1.4%であった。また、毛状根の生育は  $KNO_3$  を添加した WP (3%蔗糖) 培地において良好な生育を示した。

#### b) *Hyoscyamus albus* 毛状根の成分検索

日本産菌 *Agrobacterium rhizogenes* MAFF 03-01724 の感染により得られた増殖率の非常に良好な毛状根についてアルカロイドを分離した後、 $^1H$  および  $^{13}C$ -NMR, EI-MS, FAB-MS を測定し、それらの構造式を決定した。Piperidone 型アルカロイドは  $[(2\alpha, 2'\beta)-(1,2\text{-ethanediy}) \text{ bis}-(N\text{-methyl-3-piperidone})]$  と同定し、*H. albus* 毛状根より得られたことより *hyalbidone* と命名した。

c) *Lippia dulcis* の毛状根による甘味物質 *hernandulcin* の生産

毛状根を16時間照明下にて培養した結果、緑色毛状根が得られた。2リットルファーメンターを用いて培養し乾燥重量33gの緑色毛状根を得、抽出、精製後 *hernandulcin* を単離、同定した。

培養3週目までは *hernandulcin* の生産は20~60  $\mu\text{g}$  と低い。その後、毛状根の生育とともに生産量の増加が認められ乾燥重量当り260  $\mu\text{g}$  であった。また、0.2~10 mg/l 濃度の *chitosan* の培地への添加は、緑色毛状根における *hernandulcin* 含量を親植物に比べ約5倍増大させた。

2) タンシンの増殖およびタンシノン含量について

試験管内増殖および圃場栽培後のタンシノン類含量について検討した。土壤に移殖した個体は良好な生育を示し、また、1ヶ月以内に部分的に根が赤色を呈した。試験管内におけるタンシノン類の生産は認められなかったが、鉢植後、1週間目の根にはそれらの蓄積が認められた。また、6ヶ月栽培後の株においては、*tanshinone II* (約5 mg/g dry wt.) が主成分であった。一方、*cryptotanshinone* (約1.6

mg/dry wt.) は親植物の約1/3であった。しかしながら、6~20ヶ月の圃場栽培期間におけるタンシノン類の生産は、市場品よりも含量は高く、また安定していた。

## 伊豆薬用植物栽培試験場

場長事務取扱 原田正敏

### 概要

平成3年度の研究業績として、(1)生態系農業に基づくケシ栽培法の確立に関する研究、(2)品質評価指針作成のための栽培試験、(3)コルヒチン処理による倍数性育種に関する研究等を行った。海外出張は、熊谷技官が「日本生薬研究者第十次訪中団」の一員として、平成3年12月4日~12月16日、中国を訪問し、福建省において学術交流を行い、また、沢瀉の生産地、厦門の亜熱帯植物研究所および中薬廠の見学等を行った。

### 業務成績

#### 1. 種子交換

採種 170種 (筑波試験場へ送付)

内訳 野生植物 80種

標本植物 68種

温室植物 22種

受入 6件, 9種

分譲 10件, 24種

#### 2. 薬用植物の自生地調査

前年度と同様、伊豆半島各地の野生植物の植生調査を行った。

### 研究業績

1. 生態系農業に基づくケシ栽培法の確立に関する研究

今年度は、深耕、有機質肥料施用の栽培方法について検討した。試験区は有機カルシウム質土壤改良資材 (商品名: グリーンマイティ) 300 kg/a 施用区、牛糞堆肥 2000 kg/a 施用区で、播種前にトレンチャーで深耕し、圃場作りを行った。発芽開始、開花始め、開花期とも両施用区間に差は認められなかった。一方、さく果重は土壤改良資材区で大きく、1果平均のアヘン収量も土壤改良資材区 0.39 g、牛糞堆肥区 0.30 g で土壤資材資材区の方がやや大きかった。なお、アール当りの乾燥アヘン収量は土壤改良資材区が 318.9 g、牛糞堆肥区が 259.1 g であった。

## 2. 品質評価指針作成のための栽培試験

## ① エビスグサ

伊豆試験場保存種、筑波試験場保存種および下田市吉佐美地区在来種の3系統を供試し、播種期試験を実施した。播種時期は4月5日、4月25日、5月16日および6月6日の4回行った。生育期間(播種期～成熟期までの日数)は供試した3系統とも播種期の早い区ほど長く、その傾向は筑波系統でより明らかであった。登熟日数(開花始め～成熟期までの日数)は伊豆、筑波系統の2系統に比べ、吉佐美系統がやや長い傾向がみられるものの、3系統とも区間差は認められなかった。アール当りの収量は伊豆、吉佐美系統の6月6日区を除くと、明らかな差異は認めがたい。したがって、伊豆地方では4月上旬～5月中旬に播種を行えば良好な生育を示し、収量も40～60 kg/aは可能であることが示唆された。

## ② ケイガイ

ケイガイ栽培に適した播種期、施肥量について明らかにするため、播種期および施肥量試験を実施した。播種期試験では3月26日、4月10日および4月25日に播種を行い、生育・収量について比較したが、収穫時の諸形質、部位別風乾重ともに播種期による差異は小さかった。施肥量試験は化成肥料(10-10-10)をアール当り、2 kg、4 kgおよび8 kg施用した。2 kg/a 施用区は4 kg/a、8 kg/a 施用区に比べて主茎長、第一次分枝長は短く、第二次分枝数、花穂数も少なかった。各部位別の風乾重は2 kg/a 施用区が4 kg/a、8 kg/a 施用区に比べると小さく、葉重、茎重および有効花穂重とも4 kg/a 施用区の1/2程度であった。

## ③ サフラン

栽培法の確立のため、(1)球茎重別試験、(2)覆土試験、(3)腋芽除去試験を実施した。球茎重別試験では露地、室内栽培ともに球茎重が大きくなるほど開花球茎割合は高くなった。また、1球茎当りの雌しべの乾燥重は球茎重が重くなるほど大きくなる傾向があった。

覆土試験では収穫球茎は覆土5 cm区で最も多かったが、収穫球茎平均重は15 cm区で大きく、10 g以上の球茎割合も高かった。腋芽除去試験では腋芽除去しないで植え付けると、収穫球茎は多いが、収穫平均球茎重は小さくなった。

3. コルヒチン処理による倍数性育種に関する研究

ナガバクコについて前年度までに作出した4倍体

株の増殖およびキメラ株からの2x、4x株の分離を行うために7系統の親株とそれらの取り木株について染色体の観察を行った。親株の中ではd-2がほぼ $2n=48$ で4倍体株だった。一方、取り木株は発根はしたものの、移植後の活着が芳しくなく、十分な検体は得られなかったが、現在のところ、①b-4-1株で $2n=48$ のみが観察されており、最も4倍体の可能性が高いと思われる。

## 和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 野 口 衛

## 概 要

野口は、平成3年12月1日～3日、韓国利川地区の人参栽培地調査に出張した。

施設設備面では、分取液クロ、ミクロトーム用凍結装置を新設、耕運機ならびに事務機器としてFax、コピー器を新設あるいは更新し、庁舎外壁、ガラス室の塗装を行った。また、圃場の一部を道路拡張のため川辺町に提供した。

## 業務成績

## 1. 種子交換

採種	89
受入	1
分譲	5件 8種

## 2. 指導業務

野口は、和歌山県薬務課主催の生薬資源開発推進検討委員会の座長として政策、農家の組織作りに協力した他、団体見学ならびに外部依頼計12回、参加者338名に薬草に関する講義、指導を行った。会場への薬草問い合わせ件数は年間33件で、その内訳は種苗依頼7、栽培法2、植物鑑定4、薬効7、調製加工法・分析法その他の情報13件となっている。

## 研究業績

1. ミシマサイコの摘蕾の根取、サイコサポニン含量、根の内部形態に及ぼす効果の検討

摘蕾は、山粘土以外の土壌において根部の収量を有意に増加させ、また、畑粘土では植物地上部収量を増大させたが、それ以外の土壌では地上部収量には影響は示さなかった。また、地上部重、根長は土壌の種類により違いを示したが、それ以外の計測値には有意の差は認められなかった。

摘蕾した植物は次々に新しい蕾を形成し、最終的には、通常は見られない葉腋にまで蕾をつけようと

した。また、摘蕾すると植物は秋から冬に入っても緑色の葉をつけたままで枯れず、生き残った。

各区とも栽培途中で枯れるものが出、粘土質畑土、山粘土では生存株は極端に少なくなったが、摘蕾すると生存株数が有意に増加した。

また、根の内部形態を検索すると、摘蕾により根の直径は大きくなる傾向はあるが対照と有意の差が認められないのに対し、木部の厚さには有意の差が認められた。

ただし、いずれの場合にもサポニン含量には変化はなく、摘蕾は根の品質を変えずに収量を増大する有用な処理法と結論された。

## 2. ミシマサイコの系統による収量の比較

当場産、長崎大学薬学部より導入した宮崎系（野母薬草園）、静岡系（島原薬草園）、奈良よりの導入品の計4種の種子を冬にすじ蒔きあるいは全面蒔きし、常法にしたがって栽培、翌年秋に掘り上げ、内20本について草丈、地上重、根長、根太、根頭径、生根重、乾燥後の根重を測定、また、これとは別に、圃場6m<sup>2</sup>の全株数、総根重量を測定した。その結果、乾燥根の収量には系統間で有意の差が認められ、当場産が最も大きい値を示した。なお、面積当たりの収量より計算した根重はサンプリングした場合より著しく小さくなったが、これは、間引き後に芽を出した成長の遅いものをも含むためと思われる。また、土壤に切り藁をすきこむと、系統によって乾燥根重あるいは根長を増大する効果が認められたが、藁とハトムギの間には、有意の差は認められなかった。

以上の結果から、根収量は、それぞれの地域で栽培を繰り返す環境に馴化した系統で最も高くなるものと推測された。

## 3. シャクヤクの栽培法について

紀州での生産に最適の系統を明らかにするため、北海道薬試より導入した42系統を栽培し、根収量ならびに成分含量を比較した結果、生根収量3kg以上の系統は6種、2kg以下は21種、2~3kgは15種となった。根収量は、1年生に比べて4年生収穫時で5~6倍となり、また、4生根では、春から収穫時までの間に重量が2~2.5倍となり、根の急激に肥大する5月から8月にはペオニフロリン含量は急激に減少した。なお、ペオニフロリン含量は、同一株中では太、中、細根の順に増大するが、中の方がほぼ平均的な値を示した。

根頭部、太、中、細根の割合は系統によりさまざ

まで、根の表面の色は、濃い焦げ茶のものと比較的浅い灰色のものに分かれ、根収量の小さい系統では、根腐れが多く発見された。

なお、対照に用いた西洋種 *Paeonia officinalis* の4年生根収量は3605gであった。

## 4. *Anchusa officinalis* の組織培養生成物中のロズマリン酸の分離法について

*Anchusa officinalis* の組織培養生成物中に高濃度(約5%)に含有されるロズマリン酸(R)の分離法を各種クロマト充填剤を用いて検討したところ、Sephadex LH-20ではRは水で溶出するが、クロマトパターンはあまりきれいではなかった。また、ダイヤイオンでは30% EtOHで溶出するが50% EtOH溶出部にも少し残った。また、アンバーライト XAD-2では水でほぼ溶出するが、わずかに保持され、また、ポリアミドではカラムに吸着したRは50% EtOH, EtOHで一部溶出するが、KOH-EtOHでないと完全には溶出しなかった。一方、ODS-シリカカラムではRは水では溶出しませんが、10% EtOHで溶出し(30% EtOHなら液量少なくてよい)、活性炭では水で大部分溶出するが、30~50% EtOHでだだら出、また、40% EtOHでは最初の分画に出てしまった。

以上の方法を組み合わせてRの分離精製法を確立した。

## 種子島薬用植物栽培試験場

場長代理 香月茂樹

## 概要

前年度に引き続き、薬用植物栽培・品質評価指針作成検討委員会において決定された対象植物を重点に研究を進めている。

施設面については、長年の懸案事項であった農具庫(195m<sup>2</sup>)が認められ、平成3年12月に着工し、翌年3月に竣工、受け渡しとなった。併せて、庁舎の下水工事を行い、今まで自然排水で処置していた生活排水を、農具庫のもの一括して導水処理が可能となり、保健衛生・治水・圃場管理などの面で改善された。

気象面では、台風の接近・通過は4個あり、そのうち8月19日~21日の12号が比較的強く、瞬間最大風速30m/s・期間中の降雨量207mmであったが、植物の傷みが見られた程度で、被害は軽微であ



った。

## 業務成績

### 1. 種子交換

採種 279 種 (筑波試験場へ送付)

内訳 野生種 201 種

栽培種 78 種

受入 43 件 164 種

分譲 29 件 49 種

### 2. 指導業務

中種子町野菜花卉振興方策懇話会が9月30日、1月17日に開催され、答申に向け意見交換を行った。

また、都城市薬用植物資源利用研究会が11月25日・26日、1月20日・21日に開催され、基本計画のための意見交換を行った。

### 3. 薬用植物の自生地調査

前年度と同様、種子島・場内の野生薬用植物の調査を行った。

## 研究業績

### 1. ガジュツ

生育の経時変化を調査した。実際に行われている単年度栽培では、開花は0.3%と極めて稀であった。定植後の初期生育は緩慢であるが、気温の上昇に伴い急速に生育が進んだ。生育株の全株・地下部をスケッチにて記録した。

### 2. ウコン

生育の経時変化を調査した。定植後の初期生育は緩慢であるが、気温の上昇に伴い急速に生育が進んだ。

生育株の全株・地下部をスケッチにて記録した。

### 3. オオバナオケラ

暖地における栽培の可能性を明らかとするため行った。

4月19日に播種したところ、発芽は5月7日に始まり、ほぼ一週間以内に終了した。8月下旬頃から抽苔が始まり、10月以降は伸長生長は停止した。葉数の増加は11月以降停止した。全株中、抽苔株は29.1% (開花株19.7%・未開花株9.4%)、未抽苔株は70.9%であった。根・根茎へのネコブセンチュウの寄生の著しい個体が見られた。生根茎重量と草丈・葉数との関係は未抽苔株<未開花株<開花株という傾向が窺えた。

### 4. センナ

当地における栽培の可能性を明らかとするため試験栽培を行った。

5月27日に播種したところ、発芽は播種後5日目で急速に始まり、14日目にはほぼ極値に達した。莖長は7月から10月にかけて急速に伸長し、分枝において著しかった。葉数(小葉・複葉)は7月から10月にかけて急増した。1複葉における小葉は1~9対で、生育盛期においては7~8対のものが多く、葉面積も大きいものも多く見られた。第1花の開花は7月25日であった。防風対策上、白の寒冷紗(20%遮光)を数日間被覆したところ、落葉・落花(蕾・莢)が促進された(日照量不足、通風不良による蒸れ等が考えられる)。12月中旬にはすべて落葉し、枝梢部1/3~1/2が枯死した。越冬はできなかった。

平成3年度所外研究員等受け入れ名簿

(客員研究員) 5名

平成4年3月31日現在

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
神蔵美枝子	前当所食品添加物部室長	食品添加物部	元. 4. 20		女	
石関忠郁	横国立大客員教授	衛生微生物部	2. 4. 1		男	
上野季彦	東京大医学研究所	食品添加物部	2. 4. 1	4. 3. 31	女	
勝本木元	(財)結核予防会・八王子血液センター 東海大医学部	食品衛生微生物部 食衛食総	2. 5. 1 3. 7. 1		男	

(協力研究員) 2名

大西清方	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	元. 10. 1		男	
佐藤秀隆	(財) 日本食品分析センター	総合評価研究室	3. 7. 1		男	

(流動研究員) 10名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
本波正充	(財) がん研究振興財団	変異遺伝部	元. 4. 1	3. 9. 30	男	
谷上秀久	(財) がん研究振興財団	変異遺伝部	元. 4. 1		男	
井田上	(財) がん研究振興財団	変異遺伝部	3. 2. 1	4. 3. 31	男	
藤原	(財) がん研究振興財団	変異遺伝部	3. 10. 1		男	
藤原	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	2. 4. 1	4. 3. 31	女	
藤原	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	3. 4. 1	4. 3. 31	男	
藤原	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	3. 4. 1	4. 3. 31	男	
藤原	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	3. 4. 1	4. 3. 31	男	
藤原	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	3. 7. 25		男	
藤原	(財) ヒューマンサイエンス振興財団	変異遺伝部	3. 4. 1		男	

(科学技術庁フェロー) 3名

氏名	国籍	所属	受入部	入所	退所	性別
Charles R. Warner	米 国	米国食品医薬品局	食品添加物部	2. 11. 27	3. 11. 26	男
M. Farid Khan	パキスタン	ゴマール大学薬学部	薬理部	3. 3. 1	4. 2. 28	男
C. G. Jordan	アイルランド	ダブリン大学	薬品部	3. 3. 5	4. 3. 4	女

( (財) ヒューマンサイエンス振興財団流動研究員) 4名

郭新彪	中 国	ヒューマンサイエンス振興財団	薬理部	2. 4. 1		男
A. A. Said	エジプト	ヒューマンサイエンス振興財団	生物薬品部	3. 4. 1		男
奚延斐	中 国	ヒューマンサイエンス振興財団	薬理部	3. 5. 9		男
A. A. Olaniy	ナイジェリア	イバダン大学薬学部	薬理部	2. 3. 26	3. 5. 31	男

( (財) がん研究振興財団) 1名

Soisungwan Satarug	タイ	コンカーエン大学	毒性部	3. 6. 5	3. 10. 4	女
--------------------	----	----------	-----	---------	----------	---

(国際協力事業団) 3名

氏名	国籍	所属	受入部	入所	退所	性別
Sergio De Mello Alves	ブラジル	湿潤熱帯農牧研究センター	生薬・食添部	3. 4. 1	3. 5. 6	男
Irenice Alves Rodrigues	ブラジル	湿潤熱帯農牧研究センター	生薬部	3. 10. 14	3. 12. 18	男
Sri Harsodjo Soewandi	インドネシア	食品医薬品品質管理局	生薬部	3. 11. 25	4. 3. 18	男

(WHOフェロー) 3名

Johani B. Napitupulu	インドネシア	薬品食品品質管理試験所	毒性部	3. 7. 4	3. 10. 1	男
H. W. Perera	スリランカ	健康サービス局	衛生微生物部	3. 5. 27	3. 5. 31	男
Herlina Boedhi	インドネシア	薬品食品品質管理試験所	支所生物試験部	3. 9. 24	3. 12. 20	女

(その他) 6名

胡国慶	中 国	上海第二医科大学	生薬部	2. 7. 4	3. 12. 31	男
那大荣	中 国	唐山市衛生防疫站	食品添加物部	2. 7. 6	3. 12. 31	女
楊学坤	中 国	上海中医学研究院	化学物部	2. 10. 22		男
安永燮	中 国	韓国農村振興庁	生薬部	3. 9. 2	3. 12. 26	男
Soo Jung Sohn	韓 国	韓国厚生省安全性研究所	生薬部	3. 11. 18	3. 12. 14	女
朴文洙	韓 国	韓国農村振興庁	変異遺伝部	3. 6. 20	3. 11. 19	男

(研究生) 47名

氏 名	所 属	受 入 部	入所	退所	性別	備 考
佐小吉	信之	病理学	元. 4. 1	3. 9. 30	男	
藤笠村	元裕	腫瘍学	元. 7. 1	4. 3. 31	男	
原博	之剛	食品衛生学	元. 10. 1	4. 3. 31	男	
原間澤	正	薬学部	2. 4. 27	4. 3. 31	男	
相澤	英善	薬学部	2. 6. 1	3. 5. 31	男	
林田	中野	薬学部	2. 6. 1	4. 3. 31	男	
綿	勝	看護専門学校	2. 9. 1	2. 9. 17	女	
菊	敬	看護専門学校	2. 10. 1	2. 10. 1	男	
津	代	理学部	2. 10. 1	2. 10. 1	男	
北	二	理学部	2. 10. 15	3. 10. 14	男	
安	秩	理学部	2. 11. 2	3. 12. 28	男	
不	義	理学部	3. 4. 1	3. 9. 30	男	
萩	介	理学部	3. 4. 8		男	
川	子	理学部	3. 4. 22	3. 5. 31	女	
石	哲	理学部	3. 5. 1	3. 5. 7	男	
山	二	理学部	3. 5. 7	4. 2. 29	男	
伊	子	理学部	3. 5. 7	3. 8. 31	男	
細	三	理学部	3. 5. 7	3. 6. 28	女	
桜	子	理学部	3. 5. 20	3. 6. 20	女	
武	夫	理学部	3. 5. 20	3. 6. 29	男	
多	彦	理学部	3. 5. 20	3. 9. 13	男	
青	久	理学部	3. 5. 20	3. 9. 13	男	
加	生	理学部	3. 5. 20	3. 6. 29	男	
入	太	理学部	3. 5. 20	4. 3. 31	男	
田	之	理学部	3. 6. 3	3. 7. 12	男	
三	哲	理学部	3. 6. 3	3. 11. 30	男	
大	夫	理学部	3. 6. 17	3. 8. 31	男	
伊	岳	理学部	3. 7. 1	3. 9. 13	男	
青	司	理学部	3. 7. 15	3. 8. 31	男	
小	子	理学部	3. 7. 20	3. 8. 31	男	
二	信	理学部	3. 9. 2	3. 10. 31	男	
藤	吾	理学部	3. 9. 2	3. 11. 30	男	
吉	宣	理学部	3. 9. 2	3. 11. 30	女	
坂	之	理学部	3. 10. 1	3. 10. 1	男	
林	彦	理学部	3. 10. 1	3. 12. 28	男	
榎	吾	理学部	3. 10. 1	3. 10. 1	男	
校	宣	理学部	3. 10. 14	3. 11. 8	男	
多	一	理学部	3. 10. 14	3. 11. 8	男	
山	路	理学部	3. 11. 1		女	
横	美	理学部	4. 1. 27	4. 2. 7	男	
柳	一	理学部	4. 2. 1		男	
小	路	理学部	4. 1. 6	4. 3. 25	男	

(実習生) 40名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
雪真晴	子波秋睦子	変環境異	3. 2. 1	4. 1. 31	女	
山野山	明大薬学	遺生化	3. 4. 1	4. 3. 31	女	
野田月	大薬学	伝化学	3. 4. 1	4. 3. 31	女	
藤香	大薬学	部化学	3. 4. 1	4. 3. 31	女	
細川	大薬学	部化学	3. 4. 1	4. 3. 31	女	
根松	大薬学	部化学	3. 4. 18	3. 12. 27	男	
片野	大薬学	部化学	3. 5. 1	4. 3. 31	女	
長来	大薬学	部化学	3. 5. 1	4. 3. 31	女	
掛野	大薬学	部化学	3. 5. 9	4. 2. 29	男	
小原	大薬学	部化学	3. 6. 1	3. 12. 20	女	
伊志	大薬学	部化学	3. 6. 1	4. 1. 31	女	
曾掘	大薬学	部化学	3. 6. 1	4. 3. 31	男	
森飯	大薬学	部化学	3. 6. 1	4. 2. 28	男	
村内	大薬学	部化学	3. 6. 1	4. 2. 28	男	
鈴谷	大薬学	部化学	3. 6. 1	4. 3. 31	女	
中山	大薬学	部化学	3. 6. 1	4. 3. 31	女	
松有	大薬学	部化学	3. 6. 3	4. 1. 31	女	
高森	大薬学	部化学	3. 6. 3	4. 1. 31	女	
木嶋	大薬学	部化学	3. 6. 5	3. 12. 14	女	
原	大薬学	部化学	3. 6. 5	3. 12. 21	女	
	大薬学	部化学	3. 6. 11	4. 2. 15	男	
	大薬学	部化学	3. 6. 19	4. 1. 31	女	
	大薬学	部化学	3. 7. 1	4. 1. 31	男	
	大薬学	部化学	3. 7. 5	4. 1. 11	女	
	大薬学	部化学	3. 8. 5	3. 10. 31	女	
	大薬学	部化学	3. 8. 5	3. 10. 31	女	
	大薬学	部化学	3. 9. 2	3. 12. 28	男	
	大薬学	部化学	3. 9. 17	4. 3. 31	女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1		女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1		女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1		女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1		女	
	大薬学	部化学	4. 2. 1		男	
	大薬学	部化学	3. 7. 11	3. 12. 28	男	
	大薬学	部化学	3. 10. 1	3. 12. 20	女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1	3. 12. 20	女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1	3. 12. 20	男	
	大薬学	部化学	3. 10. 1	3. 12. 20	女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1	3. 12. 20	女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1	3. 12. 20	女	
	大薬学	部化学	3. 10. 1	3. 12. 20	女	

Kaniwa, N., Ogata\*<sup>1</sup>, H., Aoyagi, N., Ejima, A., Takahashi, T.\*<sup>2</sup>, Uezono, Y.\*<sup>2</sup> and Imasato, Y.\*<sup>2</sup>: **Effect of Food on the Bioavailability of Cyclandelate from Commercial Capsules**

*Clin. Pharmacol. Ther.*, 49, 641~647 (1991)

市販シクランデレート・カプセル5銘柄のバイオアベイラビリティを健康成人男子で測定した。5銘柄のカプセルは、生物学的に非同等であることが判明し、最低のバイオアベイラビリティを示したカプセルの吸収量は、最大値を示したカプセルの吸収量の約40%であった。バイオアベイラビリティの最低と最高を示した2銘柄について、バイオアベイラビリティに及ぼす食物摂取の影響を検討したところ、2銘柄とも食後服用の方がバイオアベイラビリティが高く、空腹時服用では、シクランデレートの吸収が不完全であることが判明した。なお、シクランデレートのバイオアベイラビリティの増加は、脂肪に富んだ食物を摂取した方が著しかった。

**keyword** : Cyclandelate, bioavailability, food effect

\*<sup>1</sup> 明治薬科大学

\*<sup>2</sup> 大日本製薬製品研究所

Katori, N., Okudaira, K., Aoyagi, N., Takeda, Y. and Uchiyama, M.: **In Vitro and in Vivo Correlation for Controlled-Release Formulation of d-Chlorpheniramine Maleate**

*J. Pharmacobio-Dyn.*, 14, 567~575 (1992)

徐放性製剤の体内動態を予測し、生物学的同等性の評価を行う上で *in-vitro/in-vivo* 相関性の検討は重要である。そこで、市販 *d*-マレイン酸クロルフェニラミン徐放錠をモデル製剤とし、放出特性およびビーグル犬における体内動態について検討した。

溶出試験の結果、市販徐放錠の放出挙動は銘柄によってかなり大きく異なることが示された。何れの製剤においても攪拌速度、界面活性剤の溶出速度に対する影響はみられなかった。また、1銘柄を除いて、pHの影響もみられなかった。イヌにおけるバイオアベイラビリティは何れの徐放錠も速放性製剤に比べて低かった。deconvolutionにより吸収速度を推定した結果、*in-vivo* での吸収挙動は *in-vitro* での放出挙動と良く相関したが、吸収は何れの製剤においても2~4時間で終了しており、薬物

が充分放出されないうちに、製剤が消化管の吸収部位を通過してしまうことが示唆された。

**keyword** : Chlorpheniramine maleate, controlled release, bioavailability

Yoshioka, S., Izutsu, K., Aso, Y. and Takeda, Y.: **Inactivation Kinetics of Enzyme Pharmaceutical in Aqueous Solution**

*Pharm. Res.*, 8, 480~484 (1991)

$\alpha$ -キモトリプシン、プロメラインおよびカリクレインなどの酵素について、中性領域の水溶液中における失活過程を速度論的に検討した。 $\alpha$ -キモトリプシンとプロメラインは1次速度式に従って失活し、得られた速度定数はアレニウスプロットにおいて直線性を示した。一方、カリクレインは可逆過程と不可逆過程の組み合わせられた速度式で表されたが、その速度定数は同様にアレニウスプロットにおいて直線性を示した。以上の結果から、水溶液中の酵素の失活に関しては、活性-時間曲線が複雑な場合でも適切なモデルを選択し、速度パラメータと温度の関係性を明らかにすることによって、失活速度を予測することが可能であることが明らかになった。

**keyword** : enzyme, inactivation, kinetics

Yoshioka, S., Kishida, A., Izumikawa, S., Aso, Y. and Takeda, Y.: **Base-induced Polymer Hydrolysis in Poly ( $\beta$ -hydroxybutyrate/ $\beta$ -hydroxyvalerate) matrices**

*J. Controlled Release*, 16, 341~348 (1991)

シンナリジンなどの塩基物質を内包した $\beta$ -ヒドロキシ酪酸- $\beta$ -ヒドロキシ吉草酸共重合体 (PHB-PHV) フィルムについて、ポリマーの加水分解と薬物放出性の関係を検討した。ポリマーの分子量分布、フィルムの水分含量およびカルボキシル基量を経時的に測定した結果、ポリマーの加水分解速度は内包塩基の塩基性と内包量に依存することが示された。比較的低い水分含量においてもポリマーの分子量の低下がみられ、その加水分解速度は内包塩基の水に対する溶解度とポリマー/水分係数に支配され、フィルム中の水の拡散速度に関連した。ポリマーフィルム中の薬物放出性は、ポリマーの分解の加速にともなって加速されることが *in vitro* および *in vivo* において明らかにされた。以上の結果から、

生理的条件下では殆ど加水分解しない PHB-PHV マトリックスでも塩基性物質を処方し、ポリマーの分解速度を制御することによって薬物放出性を制御できることがわかった。

**keyword** : poly( $\beta$ -hydroxybutyrate/ $\beta$ -hydroxyvalerate), hydrolysis, release

石橋無味雄, 豊岡利正, 新部 肇, 武田 寧, 寺尾允男: 非水溶液中における有機塩基の塩酸塩の滴定法(その2): 加熱処理法を用いた非水滴定法の検討

医薬品研究, 22, 1107~1111 (1991)

日局の試験方法では、氷酢酸中で有機塩基の塩酸塩を過塩素酸で滴定することが多い。このときに塩酸の滴定に対する妨害を防止するため、試料に過剰の過塩素酸滴定液を加えて試料を溶かした後、この液を加熱することにより塩酸を除去し、塩酸の妨害を受けずに試料と過塩素酸を反応させ、過剰の過塩素酸を酢酸ナトリウムで滴定し、試料を定量する操作方法を検討した。その結果、本方法が日局収載医薬品の試験法とし、じゅうぶんに使用できるとの結果を得た。

**keyword** : hydrochloride, organic base, nonaqueous titration

石橋無味雄, 豊岡利正, 佐藤真奈美, 武田寧, 寺尾允男: アザチオプリン, アロプリノール, イドクスウリジン, エトスクシミド, フルオロウラシル及びメルカプトプリンの定量法の検討

医薬品研究, 23, 58~62 (1992)

日局の0.1Nテトラメチルアンモニウムヒドロキシド容量分析用標準液は、非水滴定用の滴定液にも係わらず10%テトラメチルアンモニウムヒドロキシド水溶液を水で一定容量として調製される滴定液である。そこで滴定液に含まれる水分の影響を検討するため、日局の医薬品のうち、定量に0.1Nテトラメチルアンモニウムヒドロキシド容量分析用標準液を使用している医薬品について、その定量法を検討した。その結果、今回検討した医薬品のうち、アザチオプリン, アロプリノールおよびイドクスウリジンは、水分の影響を受けやすく定量に0.1Nテトラメチルアンモニウムヒドロキシド容量分析用標準液の使用は望ましくないことが明らかになった。また、エトスクシミド, フルオロウラシルおよびメルカプトプリンも完全に水を除いた滴定液で定量す

ることが望ましいと考察された。

**keyword** : hydrochloride, organic base, nonaqueous titration

Toyo'oka, T., Ishibashi, M., Takeda, Y. and Imai, K.\*: 4-(Aminosulphonyl)-2, 1, 3-benzoxadiazole Derivatives as Pre-column Fluorogenic Tagging Reagents for Carboxylic Acids in High-performance Liquid Chromatography *Analyst*, 116, 609~613 (1991)

カルボン酸蛍光標識用として3種の4-aminosulphonyl-2,1,3-benzoxadiazole 誘導体 (ABD-PZ, ABD-AP, ABD-AE) を開発した。これらの試薬は diethylphosphorocyanidate (DEPC) の存在下室温で反応し、蛍光性の誘導体を生成した。ABD-PZのアラキジン酸での反応速度は、ABD-APやABD-AEに比較し遅かったが、生成した誘導体の蛍光強度は最も大きかった。逆相HPLCにより分離後の検出限界は10~50 fmolであった。

**keyword** : Fluorescence analysis, carboxylic acid, HPLC

\* 東京大学医学部附属病院分院

Toyo'oka, T., Ishibashi, M., Takeda, Y., Nakashima, K.\*<sup>1</sup>, Akiyama, S.\*<sup>1</sup>, Uzu, S.\*<sup>2</sup> and Imai, K.\*<sup>2</sup>: Pre-column Fluorescence Tagging Reagent for Carboxylic Acids in High-performance Liquid Chromatography: 4-substituted-7-aminoalkylamino-2, 1, 3-benzoxadiazoles *J. Chromatogr.*, 588, 61~71 (1991)

カルボン酸微量分析用蛍光標識試薬の開発を試み、ベンゾフラザン骨格の4位および7位に異なる置換基を有する4種の化合物 (NBD-PZ, DBD-PZ, DBD-CD, SBD-PZ) を新規合成した。SBD-PZ以外の試薬は活性化試薬の存在下カルボン酸と緩和な条件下反応し、長波長域に蛍光極大波長を有する誘導体を生成した。検討した活性化試薬の中で2,2'-dipyridyl disulfide と triphenyl phosphine の組み合わせが最も効果的であった。一方、誘導体の蛍光強度は DBD-PZ > DBD-CD > NBD-PZ の順に大きかった。13種の飽和脂肪酸混合液を DBD-PZ あるいは DBD-CD で誘導体化後 ODS を用いた逆相 HPLC により分析を試みたところ、linear gradient 法により完全に分離することが出来、検出限界は数 fmol であった。またカルボン酸含有薬物 (プロス

タグランジン、イブプロフェン等)でも同様の感度  
が得られた。

**keyword** : Fluorescence analysis, carboxylic-  
acid, HPLC

\*1 長崎大学薬学部

\*2 東京大学医学部附属病院分院

Toyo'oka, T., Ishibashi, M. and Terao, T.:  
**Fluorescent Chiral Derivatization Reagents  
for Carboxylic Acid Enantiomers in High-  
performance Liquid Chromatography**

*Analyst*, **117**, 727~733 (1992)

カルボン酸光学異性体分析用蛍光標識試薬6種  
(*d*-DBD-APy, *l*-DBD-APy, *d*-NBD-APy, *l*-  
NBD-APy, *d*-ABD-APy, *l*-ABD-APy)を新規に  
開発した。これらの試薬は、2,2'-dipyridyl disulfide  
と triphenyl phosphine の存在下室温で反応し、  
蛍光性のジアステレオマーを生成した。ナプロキセ  
ンとの誘導体の励起、蛍光波長は、470 nm 580 nm  
(DBD-APy の場合)、470 nm 585 nm (ABD-APy  
の場合)、470 nm 540 nm (NBD-APy の場合)で  
あった。蛍光波長はアセトニトリル含量の増加とと  
もに短波長シフトし、蛍光強度は増大した。一方  
pH には影響されず、2-11 の中性付近で高く一定の  
蛍光強度を示した。N-アセチルアミノ酸や抗炎症  
薬の光学異性体は、逆相 HPLC により完全に分離  
され検出限界は 10~30 fmol 程度であった。

**keyword** : Fluorescence analysis, carboxylic-  
acid, HPLC

Nakahara, Y., Takahashi, K.: **Hair Analysis  
For Drugs of Abuse III. Movement and stabi-  
lity of Methoxyphenamine (as a Model Com-  
pound of Methamphetamine) along Hair  
Shaft with Hair Growth**

*J. Anal. Toxicol.*, **16**, 167~172 (1992)

ヒトに投与された薬物が毛髪に排泄された後、毛  
髪中での薬物の動き、薬物のバンドの長さ、薬物の  
安定性、及び投与量と毛髪中薬物濃度の関係などを  
明確にするため、モデル化合物として methoxy-  
phenamine を用い、29 週間にわたり、毛髪を数週  
間毎に定期的に採取し、根元から 1 cm 毎に分画し  
て薬物の頭髪中の移動、濃度、安定性を調べた。そ  
の結果、7 日間投与に相当する薬物バンドは約 5  
mm であり、薬物バンドは約 2.8 mm/week で先端

方向へ移動していった。また、薬物バンドは先端に  
進むほど、薬物濃度が減少傾向を示した。

**keyword** : hair analysis, methamphetamine, drug  
disposition.

Nakahara, Y., Ochiai T. and Kikura, R.: **Hair  
Analysis For Drugs of Abuse V. The facility in  
the incorporation of cocaine and its metabo-  
lites into hair**

*Arch. Toxicology*, **66**, 586~589 (1992)

血中薬物が毛髪へ排泄されるには物性により難易  
があることが推測されている。本報は、コカイン  
(COC) 投与ラットにおいて、COC とその主代謝物  
であるベンゾイルエクゴニン (BE) およびエクゴニ  
ンメチルエステル (EME) の血中 AUC と毛髪中濃  
度を比較し、毛髪への排泄の難易を調べた。その結  
果、5 mg/kg 投与の場合、平均 AUC 比は COC :  
BE : EME = 1 : 4.3 : 3.8 であったが、毛髪中の濃  
度比は、1 : 0.10 : 0.05 であった。この事実から、  
血液から毛髪への排泄は COC は BE や EME の 40  
~77 倍容易であり、物性により著しく異なること  
を実証した。

**keyword** : cocaine, hair analysis, drug disposition

中原雄二, 高橋一徳, 石上暁子, 木倉瑠璃, 島峯  
望彦: **デプレニールとメタンフェタミンの尿中代  
謝物の比較に関する研究 (第 2 報) キラール試薬  
を用いる GC/MS によるデプレニールとメタン  
フェタミン投与のマウス尿中代謝物の光学異性体  
分析**

衛生化学, **37**, 473~479 (1991)

*l*-デプレニール (DPN), *d*-メタンフェタミン  
(MA) および *dl*-MA 投与のマウス尿中の MA と  
その主代謝物のアンフェタミン (AP) の光学組成を  
キラール試薬を用いる GC/MS で分析した。薬物  
をマウスに 0.1~1 mg/kg で腹腔内投与し、尿試料  
を経時的に採取した。固相抽出後、抽出物を TPC  
化して GC/MS で定量した。その結果、*l*-DPN,  
*d*-MA, *dl*-MA の *d/l* 比はおよそ 0, 5, 1 であり、  
3 者の使用が明確に識別できた。尿中の AP/MA  
比も識別要素の 1 つであった。

**keyword** : deprenyl, methamphetamine, enantio-  
meric analysis

木倉瑠璃, 石上暁子, 中原雄二: **デプレニールと**

メタンフェタミンの尿中代謝物の比較に関する研究(第3報) キラール試薬 GITC を用いた HPLC によるマウス尿中代謝物の光学異性体分離分析 衛生化学, 38, 136~141 (1992)

医薬品 *l*-デプレニール (DPN) の使用と、覚醒剤 (MA) の使用とを区別する方法として、GITC 誘導化法を用いる HPLC により、尿中に排泄される薬物の光学組成を分析した。 *l*-DPN, *d*-MA, *l*-MA および *dl*-MA をマウスに 1~10 mg/kg を腹腔内注射し、経時的に採尿した。固相抽出後、抽出物を GITC で誘導化し、HPLC-UV (254 nm) 検出により分析した。その結果、 *l*-DPN の投与と *d*-MA, *dl*-MA の投与は尿中に排泄された未変化の MA の光学組成によりはっきりと識別でき、 *l*-DPN と *l*-MA 投与の識別は尿中の Ap/MA 比の明白な差により識別可能であった。

keyword : deprenyl, methamphetamine, HPLC

関根 均, 中原雄二:  $\beta$ -Naphthoquinone (BNQ) プレラベル化法による唾液中のメタンフェタミンおよびその代謝物の HPLC 分析 衛生化学, 37, 537~541 (1991)

唾液中のメタンフェタミン (MA) およびアンフェタミン (AP) の定量のため、 $\beta$ -ナフトキノンプレラベル化による HPLC 分析法を検討し、少量の唾液試料中のアンフェタミン類を直接誘導化する方法を開発した。100  $\mu$ l の唾液試料を用い、炭酸ソーダ、0.5%  $\beta$ -ナフトキノン-4-スルホン酸、および内部標準物質を加え、40°C、20 分間加温した。この抽出物を HPLC-電気化学検出で分析した。本法を用いて、覚醒剤使用者の唾液試料を分析した結果、使用後少なくとも 31 時間までは MA および AP が 0.1~25  $\mu$ g/ml のレベルで検出された。血液や尿試料と比較して、唾液試料有用性についても論じた。

keyword : methamphetamine, saliva,  $\beta$ -naphthoquinone sulfonate

Hiramatsu, R.\*, Horinouchi, S.\*, Uchida, E., Hayakawa, T. and Beppu, T.\*: The secretion leader of *Mucor pusillus* rennin which possesses an artificial Lys-Arg sequence directs the secretion of mature human growth hormone by *Saccharomyces cerevisiae*

*Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 2052~2056 (1991)

天然のヒト成長ホルモン (HGH) と同じ N 末端

アミノ酸を持つ HGH を酵母で効率よく分泌発現させる目的で、*Mucor pusillus* rennin を分泌リーダーペプチドとして結合し、さらに酵母の KEX 2 プロテアーゼの認識配列である Lys-Arg linker を *M. pusillus* rennin と HGH の間に導入したプラスミドを作成した。この方法により酵母で分泌発現された HGH は天然の HGH と同じ分子量、N 末配列を示し、生物活性 (脂肪細胞分化活性) および二次構造 (CD スペクトル) でも天然の HGH と同等なものをうる事ができた。

keyword : human growth hormone, secretion leader, *Mucor pusillus* rennin

\* 東京大学農学部

Morikawa, M.\*<sup>1</sup>, Sugimoto, S.\*<sup>2</sup>, Yokoo, Y.\*<sup>2</sup>, Niimi, S., Uchida, E. and Hayakawa, T.: Adipogenic activity of fish growth hormones on mouse preadipose 3T3 cells

*Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 801 (1991)

哺乳類の成長ホルモンは 3T3-F442A 細胞を脂肪細胞に分化させる活性を示す。そこで遺伝子工学的に作成したサケ成長ホルモン (sGH) とウナギ成長ホルモン (eGH) について脂肪細胞分化活性を検討したところ、sGH はヒツジ成長ホルモンの 1/15 の活性を示したが、eGH はほとんど活性を示さなかった。

keyword : salmon growth hormone, eel growth hormone, adipose conversion

\*<sup>1</sup> (株)東京免疫薬理研究所

\*<sup>2</sup> 協和発酵工業(株)東京研究所

Nishimura, C.\*<sup>1</sup>, Yamaoka, T.\*<sup>2</sup>, Mizutani, M.\*<sup>2</sup>, Yamashita, K.\*<sup>2</sup>, Akera, T.\*<sup>1</sup> and Tanimoto, T.: Purification and characterization of the recombinant human aldose reductase expressed in baculovirus system

*Biochim. Biophys. Acta*, 1078, 171~178 (1991)

ヒトアルドース還元酵素 (AR) を *Spodoptera frugiperda* 細胞を用いた遺伝子組換え技術で大量生産した。アフィニティークロマトで精製したこの AR は分子量 36 kD、等電点 5.85 で、ヒト筋肉から精製した AR と同じであった。組換えヒト AR の N 末はアセチルアラニンであり、N 末および C 末領域のアミノ酸配列は cDNA の塩基配列から予測された配列と同じであった。基質特異性などの酵



素化学的性質は既知 AR とよく一致した。硫酸アンモニウムは  $K_m$ ,  $k_{cat}$  を上昇させた。種々の AR 阻害剤の IC 50 は他起源 AR での IC 50 とほぼ同じであった。これらの結果は、バキュロウイルス系で発現した AR が構造的、酵素化学的に native ヒト AR と同一であることを示し、この AR が AR 阻害剤の有効性や力価を評価するときの標準酵素となることを示す。

**keyword** : aldose reductase, human recombinant enzyme, baculovirus system

\*1 国立小児病院

\*2 筑波大学医学部

Ohta, M., Tanimoto, T. and Tanaka, A.: **Localization, isolation and properties of three NADPH-dependent aldehyde reducing enzymes from dog kidney**

*Biochim. Biophys. Acta*, **1078**, 395~403 (1991)

イヌ腎臓にはアルドース還元酵素 (AR), アルデヒド還元酵素 (ALR), 高  $K_m$  アルドース還元酵素 (H- $K_m$ -AR) の 3 種の NADPH 依存アルデヒド還元酵素が存在していた。AR および H- $K_m$ -AR は内髄質のみに存在し、ALR は腎の全領域に存在した。3 種の酵素の基質特異性、阻害剤・活性化剤に対する感受性、等電点などの性質はそれぞれ異なっていたが、H- $K_m$ -AR は中性の緩和な条件でインキュベートすることによって AR と同様の酵素化学的性質を示すようになり、等電点も AR と同じになった。イヌ腎臓には AR 様酵素に変換しうる酵素が存在し、この酵素が AR 機能の生体内調節に関与している可能性が示唆された。

**keyword** : NADPH-dependent aldehyde reducing enzyme, aldose reductase, aldehyde reductase

Miyahara, N.\*<sup>1</sup>, Kasugai, Y.\*<sup>1</sup>, Ohmomo, Y.\*<sup>1</sup>, Tanaka, C.\*<sup>1</sup> and Tanimoto, T.: **Synthesis and aldose reductase inhibitory activities of benzyl 2-oxazolecarbamate analogues**

*Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 245~248 (1992)

種々の benzyl 5-phenyl-2-oxazolecarbamate 誘導体を合成し、アルドース還元酵素阻害剤としての構造活性相関について検討した。カルバメイト基は阻害活性に必須であった。C 4 位へのアルキル基の導入は阻害活性を増強した。カルバメイト部分の N-カルボキシメチル基は C 4 位アルキル基と酵素

分子との疎水的相互作用を妨げた。

**keyword** : aldose reductase inhibitor, oxazole derivative, structure-activity relationship

\*1 大阪薬科大学

谷本 剛, 横田 橋江, 福田 秀男, 田中 彰: **塩化リゾチームの局外規定量法の改良**

医薬品研究, **23**, 53~57 (1992)

局外規に収載されている塩化リゾチームの定量法には酵素反応の停止操作が含まれていないので、その操作性や精度がわるい。この点を改良する目的で、リゾチーム反応の停止法を検討した。酵素反応は反応液 4 ml に対して 1 N 塩酸 0.5 ml を添加することによって完全に停止できた。塩酸で反応を停止した反応液の吸光度は室温で 20 時間は安定であった。この結果に基づいて、局外規法を酵素反応停止操作を含む方法に改良した。この改良法は製剤中のリゾチームの定量にも適用できた。

**keyword** : lysozyme, assay of lysozyme, JSPI (Japanese Standards of Pharmaceutical Ingredients)

Yamaoka, T.\*<sup>1</sup>, Matsuura, Y.\*<sup>2</sup>, Yamashita, K.\*<sup>1</sup>, Tanimoto, T. and Nishimura, C.\*<sup>3</sup>: **Site-directed mutagenesis of His-43, His-188 and Lys-263 of human aldose reductase**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **183**, 327~333 (1992)

ヒトアルドース還元酵素 (AR) の触媒作用における 42 His, 188 His, 263 Lys 残基の役割を部位特異的変異法で検討した。42 His → Gln, 42 His → Tyr, 188 His → Gln, 188 His → Tyr の変換は反応力学的パラメータをあまり変化させず、263 Lys → Gln, 263 Lys → Met は基質  $K_m$  値をそれぞれ 60 倍, 14 倍上昇させた。263 Lys → Arg の変換は逆に基質  $K_m$  値を大きく低下した。補酵素の  $K_m$  値はいずれの変換でも僅かに上昇したに過ぎなかった。この結果は 263 Lys が静電的相互作用で基質の結合に関与していることを示唆する。各種変異による AR 阻害剤の阻害定数の変動は一定の傾向を示さず、阻害剤と 263 Lys 残基の物理化学的相互関係が阻害活性発現に大きく関わっていることが推察された。

**keyword** : aldose reductase, site-directed mutagenesis, catalytic action

\*1 筑波大学医学部

\*2 国立予衛衛生研究所

\*3 国立小児病院

Niimi, S., Hayakawa, T., Tanaka, A., Ichihara, A.\*: **Glucose regulation of growth hormone receptors in primary cultured rat hepatocytes** *Endocrinology*, **129**, 2734~2739 (1991)

初代培養ラット肝細胞において成長ホルモン (GH) 受容体の消長に關与している栄養因子を  $^{125}\text{I}$  でラベルした成長ホルモンの結合を調べることにより明らかにした。さらにその作用機構について Scatchard plot 分析, 阻害剤を用いた結合実験などにより調べた。その結果グルコースは肝細胞培養に伴う  $^{125}\text{I}$ -hGH 結合部位数の減少に対して拮抗作用を示し, さらにその作用は蛋白合成および蛋白のグリコシル化を介していることが明らかになった。またその作用機構は同様な作用を持つデキサメタゾンと異なることも示された。

**keyword** : glucose, hepatocytes, growth hormone receptors

\* 徳島大学酵素化学研究センター

Suzuki, H., Suga, C.\*, Morimoto, T.\* and Harada, M.: **Quantitative Analysis of Plant Hormones, Auxins, in Biotechnologically Cultured Products of Medicinal Plants**

*Shoyakugaku Zasshi*, **45**, 137~141 (1991)

バイオテクノロジーによって生産されたオウレンおよびムラサキ細胞中の植物ホルモンの残存量をチェックするために分析法を研究した。特にオーキシンの3-インドール酢酸 (IAA) および  $\alpha$ -ナフチル酢酸 (NAA) に注目し, 分析用試料溶液のクリーンアップ法と逆相系カラムを用いる HPLC 法について検討した。検体を 0.1 N-水酸化ナトリウムで抽出し, 次に水とエーテルによる分配処理を施した。これらの操作で, エマルジョンの生じやすい試料の場合にもその生成を抑えることができた。また検出に蛍光モニターを用いたため, 検体中のオーキシンの検出限界は試料 1 g 採取時 0.01 ppm と高感度となった。オウレンの培養液に 1.9 ppm の NAA を用いた時には, 生産された生細胞中に 0.5 ppm の同オーキシンが残存していた。またオウレンやムラサキの細胞培養で IAA を 1.9 ppm 用いた時には,

培養中に同ホルモンは分解して測定されなかった。

**keyword** : IAA, NAA, biotechnologically cultured product

\* 三井石油化学工業株

鈴木英世, 原田正敏, 村上守一\*<sup>1</sup>, 吉崎正雄\*<sup>2</sup>: **キササゲの調製によるカタルポシド, カタルポール, p-ヒドロキシ安息香酸の成分変動** *医薬品研究*, **22**, 359~367 (1991)

伝統的に利尿の目的で使用されている局方生薬のキササゲとともにトウキササゲ, ハナキササゲおよびアメリカキササゲについて, 調製による成分変動を検討した。対象成分として利尿活性が報告されたカタルポシド (I) およびカタルポール (II) の他 p-ヒドロキシ安息香酸 (III) を扱い, HPLC 法により分析した。その結果, 凍結乾燥法や高周波乾燥法で調製したものは自然乾燥法で調製したものよりも成分 I および II の含量が高かった。また市販のキササゲで各成分は, I : 0.06~1.20%, II : 0.10~0.30%, III : 0.10~0.30% の範囲に分布していた。

**keyword** : catalpa fruit, catalposide, catalpol

\*<sup>1</sup> 富山県薬事研究所

\*<sup>2</sup> 富山医科薬科大学

Kageyoshi Ono and Wayne R. Giles\*<sup>1</sup>: **Electrophysiological effects of calcitonin gene-related peptide in bull-frog and guinea-pig atrial myocytes.**

*Journal of Physiology*, **436**, 195~217 (1991)

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の心筋活動電位および膜電流に対する作用を, モルモットおよびカエルの単離心房筋細胞を用いて電気生理学的に解明した。CGRP は用量依存的に活動電位プラトー相を延長させた。活動電位持続時間はカエルでは CGRP により短縮し, モルモットでは延長した。膜電位固定法により, CGRP はモルモットの電位依存性カルシウム電流 (ICa) を用量依存的に増大させることがわかった。その ED 50 値は  $1.28 + 0.55 \times 10^{-8}$  M であった。ICa の不活性化の時間経過は CGRP により影響されなかった。

遅延性カリウム電流 (IK) は, カエルでは比較的低濃度の CGRP により増大したが, モルモットでは高濃度を要した。CGRP は内向き整流性カリウム電流 (IK1) には影響しなかった。

CGRP の作用を Isoprenaline と比較した結果,

幾つかの重要な相違点が見出された。さらに、CGRPの細胞内作用メカニズムを検討した結果、GTP結合蛋白質(Gs)を介して作用していることが明らかとなった。細胞膜イオン電流に対する上記CGRPの効果は、活動電位波形の変化を十分に説明できる。

**keyword** : CGRP, heart, electrophysiology

\*1 カナダ・カルガリー大学医学部

Ozaki, Y., Kawahara, N. and Harada, M.: **Anti-inflammatory Effect of *Zingiber cassumunar* Roxb. and Its Active Principles**  
*Chem. Pharm. Bull.*, 39, 2353~2356 (1991)

ショウガ科の本薬用植物の根茎は、インドネシアの民間で腹痛、下痢、リウマチの治療、駆虫薬、鎮痛薬、子宮の運動促進として用いられている。この使用目的から本植物に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。本植物の70%メタノールエキスの経口投与により抗炎症作用および鎮痛作用が認められ、この活性はエーテルと水で分配して得られたエーテル画分、ヘキサン画分、さらにシリカゲルカラムクロマトグラフ、TLCにより分離、精製して得られ機器分析により同定した (*E*)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-but-1-ene へ移行した。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、本薬用植物による抗炎症作用および鎮痛作用は本化合物によることが明らかとなった。一方、本薬用植物に同程度に含有されおり、本化合物に化学構造が類似している (*E*)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)butadiene にはこれらの薬理作用は認められなかった。

**keyword** : *Zingiber cassumunar*, antiinflammatory effect, (*E*)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-but-1-ene

Ozaki, Y., Ma, J.-P.\*1, Hu, G.-Q.\*2, Li, Y.-K.\*1, and Harada, M.: **Studies on Mode of Inhibitory Effects of Tetramethylpyrazine and Ferulic Acid on Spontaneous Movement of Rat Uterus in Situ**

*Shoyakugaku Zasshi*, 45, 299~305 (1991)

Tetramethylpyrazine (TMP) は中国産川芎に含有されるアルカロイドの一つであり、ferulic

acid (FA) は中国産川芎および当帰に含有される化合物である。川芎および当帰は中国においてよく配合して使用されており、特に、婦人病の治療に用いられている。以前、我々は TMP および FA はラット子宮の自発運動を抑制し、この抑制作用は相乗的であることを報告した。今回、TMP および FA により起こされるラット子宮自発運動の抑制作用の作用様式を検討した。TMP は主として子宮平滑筋における  $\beta$ -adrenoceptor を直接抑制することにより、また、FA は一部子宮平滑筋の oxytocinreceptor を抑制することにより自発運動の抑制作用を示すことが明らかとなった。また、この作用点の相違により両化合物は相乗的に抑制作用を示すことが考えられた。

**keyword** : tetramethylpyrazine, ferulic acid,  $\beta$ -adrenoceptor inhibition

\*1 上海中医学院薬理学教室, 上海, 中国

\*2 上海第二医科大学, 上海, 中国

Kawahara, N., Sekita, S., Satake, M. and Udagawa, S.\*: **A Nucleoside Derivative From *Emericella nidulans***

*Phytochemistry*, 31, 1409~1410 (1992)

インドネシア産コロハ (*Trigonella foenum graecum*) より分離された *Emericella nidulans* の米培地酢酸エチルエステル抽出エキスより新規核酸関連化合物を単離した。各種スペクトルデータ解析ならびに、同じく本菌株より得られた 3'-deoxyadenosine の選択的アセチル化反応によりその構造を 5'-acetyl-3'-deoxyadenosine と決定した。

**keyword** : *Emericella nidulans*, nucleoside, 5'-acetyl-3'-deoxyadenosine

\* 千葉大学真核微生物研究センター

Nakamura, A., Kawasaki, Y., Takada, K., Aida, Y., Kurokawa, Y., Kojima, S., Shintani, H., Matsui, M., Nohmi, T., Matsuoka, A., Sofuni, T., Kurihara, M., Miyata, N., Uchima, T.\* and Fujimaki, M.\*: **Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long-term subcutaneous implantation into rats**  
*J. Biomed. Mater. Res.*, 26, 631~650 (1992)

Pellethane と構造類似のセグメント化ポリウレタン (PU), シリコーン (sil), およびそれらのブ

レンドフィルムをラット皮下に長期間埋植し、埋植部位での組織反応を調べた。PUの発癌率はsilより有意に高かった。また、総活性反応率(細胞増殖像+前癌性組織像+癌)はフィルム中のPUの割合に応じて増加した。このようなPUによる高活性がPUからの溶出物に起因するかを調べるために、溶出物の変異原性をテストしたが、陰性であった。また、生体内で加水分解して変異原性物質を生成する可能性も考えられるが、*in vitro* 酵素反応では分解は認められなかった。

**keyword**: foreign-body tumorigenesis, polyetherurethane, silicone

\* 民生科学協会研究所

関東裕美\*, 野池尚美\*, 伊藤正俊\*, 露木重明\*, 鹿庭正昭: ゴム手袋による接触皮膚炎  
皮膚, 32(増刊第8号), 72~77 (1990)

眼科医が手術用ゴム手袋によりアレルギー性接触皮膚炎を生じた。患者でのパッチテスト、および患者が使用し、かつパッチテストで陽性反応を示したゴム手袋3種の分析を行い、zinc dimethyldithiocarbamate (ZDMC), zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) が原因化学物質であったことを明らかにした。

**keyword**: allergic contact dermatitis, surgical rubber gloves, dithiocarbamate-type accelerators

\* 東邦大学医学部付属病院

Shono, M.\*, Ezoe, K.\*, Kaniwa, M., Ikarashi, Y., Kojima, S. and Nakamura, A.: Allergic contact dermatitis from para-tertiary-butylphenol-formaldehyde resin (PTBP-FR) in athletic tape and leather adhesive

*Contact Dermatitis*, 24, 281~288 (1991)

4人の女子学生がテーピングテープによって足首にアレルギー性接触皮膚炎を生じた。そのうちの一人は後日スニーカーによって足に接触皮膚炎を生じた。また、靴製造業者が仕事中使用していた皮革用接着剤によって手に接触皮膚炎を生じた。患者でのパッチテスト、およびテーピングテープ、スニーカー、接着剤の分析により、いずれの事例も、para-tertiary-butylphenol-formaldehyde resin (PTBP-FR) が原因化学物質であったことを明らかにした。

**keyword**: allergic contact dermatitis, adhesive,

para-tertiary-butylphenol-formaldehyde resin

\* 済生会川口総合病院

斎藤すみ\*, 平井義雄\*, 池澤善郎\*, 鹿庭正昭: ズック靴による接触皮膚炎の1例

皮膚, 33(増刊第11号), 210 (1991)

女子学生がズック靴を素足ではいたところ、足の甲部にアレルギー性接触皮膚炎を生じた。患者でのパッチテスト、ズック靴の甲部などの化学分析を行い、老化防止剤の styrenated phenol (SP) が原因化学物質の一つとなっていたことを明らかにした。

**keyword**: allergic contact dermatitis, canvas shoes, styrenated phenol

\*<sup>1</sup> 横浜赤十字病院

\*<sup>2</sup> 横浜市立大医学部付属病院

市川素子\*, 早川律子\*, 松永佳世子\*, 荻野泰子\*, 有巢加余子\*, 有馬八重野\*, 鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠: 肝斑様色素沈着を伴ったゴム皮膚炎

皮膚, 33(増刊第11号), 354~363 (1991)

女性が内職で削っていた自動車用の黒色ゴム部品により、顔に色素沈着を伴うアレルギー性接触皮膚炎を生じた。患者でのパッチテスト、および患者が扱っており、かつパッチテストで陽性反応を示したゴム部品の分析を行い、老化防止剤の *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine (IPPD) が原因化学物質であったことを明らかにした。

**keyword**: allergic contact dermatitis, black rubber part for car manufacturing, *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

Shintani, H. and Nakamura, A.: Formation of 4,4'-methylenedianiline in polyurethane potting compound by gamma-ray and autoclave sterilization

*J. Biomed. Matr. Res.*, 25, 1275~1286 (1991)

人工透析器や血しょう分離器の容器とファイバーとの接着に生体適合性が良い熱硬化性ポリウレタン (PU) がポッチング材 (接着材) として用いられている。ポッチング材は複雑な反応工程を経れないため、未反応物の残留が多いと考えられる。さらにPU素材医療用具は使用に先立って滅菌されなければならない。滅菌工程中に毒性化合物の生成の可能性

が考えられる。そこでガンマ線ならびに加熱蒸気滅菌されたポッチング材からの発がん物質4,4'-methylenedianiline(MDA)の溶出の経時変化を調べた。約一箇月の総溶出量として数ppmのMDAが溶出することがわかった。溶出物の逆相クロマトグラム(ECD検出)でMDA以外のピークの溶出が確認され、これらのより親水性化合物のピークの方がMDAのピークより遙に多いことがわかった。  
**keyword**: polyurethane, gamma-ray sterilization, MDA

Shintani, H.: **Solid-phase extraction (SPE) and HPLC analysis of toxic compounds and comparison of SPE and liquid-liquid extraction. I. Analysis of 4, 4'-methylenedianiline in serum. II. Analysis of the components of dental materials**

*J. Liq. Chromatogr., Special Issue on Clinical Analysis*, **15**, 1315~1335 (1992)

医用高分子から血中に溶出する毒性を有する化合物の前処理法を検討した。対象としてポリウレタンからの4,4'-methylene-dianiline(MDA)ならびに歯科材料ポリメチルメタクリレートからの溶出物の固相ならびに液液抽出法を比較検討した。血中塩基性化合物の液液抽出法は、血液をアルカリ性にし、酸性化合物は血液を酸性にして解離を抑制し、非極性有機溶媒で繰り返し抽出している。それでは操作が煩雑で溶媒の消費量も多く、濃縮が必要であり、補集ロスもある。そこで溶媒消費量が少なく、濃縮操作が殆ど要らない固相抽出法を検討した。検討した固相の種類は逆相系である。おもしろい結果として塩基性の化合物の溶出には塩基性のアセトニトリルを、酸性の化合物の溶出には酸性のアセトニトリルを用いたところ良好な結果が得られた。

**keyword**: solid phase extraction, liquid-liquid extraction, pretreatment

Shintani, H. and Nakamura, A.: **Solid phase extraction of a carcinogen, 4, 4'-methylenedianiline, in serum**

*J. Anal. Toxicol.*, **15**, 198~201 (1991)

血中4,4'-methylenedianiline(MDA)の固相抽出法を検討した。C-1, C-2, C-8, シリカでの血中MDAの回収率は悪くそれぞれ56%, 75%, 90%, 12% (n=5, C.V.1.4%以下)で、C-18, フェ

ニル, シクロヘキシルの回収率はほぼ100% (n=5)の満足のいくものであった。C-1, C-2, C-8ならびにシリカの回収率が悪かったことから, van der Waals力とベンゼン環同士のパイパイ相互作用が主要な結合因子であると思われる。固相に結合したMDAの溶出には強塩基性のメタノールを用いた。弱塩基性のMDAを溶出させるのに酸性有機溶媒の方が有利なように思われるが、実際は回収率が悪いという実験結果を得た。それについて更に検討を加えた。その結論として、溶出条件を考えるにあたっては溶出対象物の溶離溶媒における挙動(解離あるいは非解離)のみならずカラムの性質(疎水性あるいは親水性)ならびに遊離シリカの挙動等を同時に考慮する必要があることがわかった。  
**keyword**: solid phase extraction, 4,4'-methylenedianiline, HPLC

Tsuchiya, T., Nakamura, A., Iio, T.\* and Takahashi, A.: **Species differences between rats and mice in the teratogenic action of ethylenethiourea-In vivo/in vitro tests and teratogenic activity of sera using an embryonic cell differentiation system**

*Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **109**, 1~6 (1991)

エチレンチオウレアをモデル化合物として、胚細胞培養法を用いた催奇形性の宿主経由試験および血清中の催奇形性活性を測定する方法を開発した。

これらの方法を用いてエチレンチオウレアで知られている著しい催奇形性発現における種差の原因を明らかにした。

**keyword**: ethylenethiourea, teratogenic activity, serum monitoring

\* 昭和薬科大学

Bechter, R.\*<sup>1</sup>, Terlouw, G. D. C.\*<sup>1</sup>, Tsuchiya, M.\*<sup>1</sup>, Tsuchiya, T. and Kistler, A.\*<sup>2</sup>: **Teratogenicity of arotinoids(retinoids)in the rat whole embryo culture**

*Arch. Toxicol.*, **66**, 193~197 (1992)

最少発現投与量が10万倍(0.003~300 mg/kg)異なる5種のレチノイド化合物を用いて*in vitro*催奇形性試験法であるwhole embryo culture(WEC)と胚細胞培養系での結果を比較した。両*in vitro*系とも*in vivo*との相関性は同程度に高かった( $r > 0.95$ )が、器官培養(WEC)法に比べて、胚細胞

培養法は簡便迅速な方法であり、また、検出感度においても WEC よりも優れていることが判明した。

**keyword** : retinoids, whole embryo, embryonic cells

\*1 Sandoz Pharma Ltd.

\*2 F. Hoffmann-La Roche Ltd.

Ikarashi, Y., Toyoda, K., Ohsawa, N.\*, Uchima, T.\*, Tsuchiya, T., Kaniwa, M., Sato, M., Takahashi, M. and Nakamura, A.: **Comparative studies by cell culture and in vivo implantation test on the toxicity of natural rubber latex materials**

*J. Biomed. Mater. Res.*, 26, 339~356 (1992)

V79 細胞を用いたコロニー法, L929 細胞の寒天重層法および7日間ウサギ筋肉内埋植試験により、天然ゴム材料の細胞毒性と組織毒性を評価した。in vivo 埋植試験では13の病理学的パラメータのうち、炎症領域の幅が最も定量的に組織反応を評価できる指標であった。in vivo と in vitro のそれぞれのパラメータの相関は、コロニー法とは  $\gamma=0.80$ 、寒天重層法の Zone index とは  $\gamma=0.73$ 、Lysis index とは  $\gamma=0.61$  であった。これらの結果より、コロニー法は寒天重層法よりも組織反応をより正確に予測できる方法であることがわかった。

**keyword** : natural rubber latex, cytotoxicity, rabbit muscle implantation

\* (財)民生科学協会研究所

松村年郎, 大塚健二\*<sup>1</sup>, 長田英二\*<sup>2</sup>, 松延邦明\*<sup>3</sup>, 武田明治, 小嶋茂雄: **高速液体クロマトグラフを用いた空気中のホルムアルデヒドの測定法について**

空気清浄, 30(1), 49~54 (1992)

2,4-ジニトロフェニルヒドラジンをしリカゲルに含浸させた捕集剤を作成し、これをガラス管に充填し、サンプラーを作成した。このサンプラーを用いて破過試験、再現性、他の測定法との比較試験等、基礎的検討を行なうと共に、本法を用いて室内外の空気中、自動車排出ガス中のホルムアルデヒドの測定に適用し、その実用性を明らかにした。

**keyword** : formaldehyde, air, HPLC

\*<sup>1</sup> (株)鋼管計測

\*<sup>2</sup> (株)電気化学計器

\*<sup>3</sup> (株)ガステック

Sasaki, K., Ishizaka, T., Suzuki, T., Takeda, M. and Uchiyama, M.: **Organochlorine chemicals in skin lipids as an index of their accumulation in the human body.**

*Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 21, 190~194 (1991)

ヒトの有機塩素農薬への暴露をモニタリングするための非侵襲的手段として皮脂の分析について検討した。顔面から拭き取って集めた皮脂をゲルパーミエーションカラムと硫酸洗浄で精製し、ECD ガスクロマトグラフィーで定量した。皮脂からは *p, p'*-DDE,  $\beta$ -HCH およびクロルデン関連化合物が検出された。DDE および HCH 濃度の体脂肪-皮脂間の相関は高かったが、皮脂中のクロルデン関連化合物の体脂肪との相関はオキシクロルデンを除いて低く、皮脂は体内汚染のみならず、居住環境汚染をも反映することがわかった。沖縄および秋田で採取した皮脂を分析した結果、DDE と HCH は高齢者で高く、クロルデン関連化合物は、沖縄で高かった。

**keyword** : skin lipids, organochlorine pesticides

Sasaki, K., Kawasaki, Y., Sekita, K., Ochiai, T., Takeda, M. and Uchiyama, M.: **Disposition of  $\beta$ -hexachlorocyclohexane, *p, p'*-DDT and trans-chlordane administered subcutaneously to monkeys (*Macaca fascicularis*)**

*Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 22, 25~29 (1992)

環境汚染物質の体内蓄積量を知るための指標として皮脂分析が有用であることを証明するために、サルに表題の3農薬を皮下投与してこれらの農薬およびその代謝物の皮下脂肪、血液および皮脂への分布を投与後21週間にわたって経時的に定量した。代謝物としてオキシクロルデンと *p, p'*-DDE が検出された。これらの化合物の血液および体脂肪中濃度の間には0.83から0.94の高い相関が認められた。体脂肪および皮脂中濃度の間には *p, p'*-DDE を除く4化合物では0.72から0.83の相関が認められたが、*p, p'*-DDE の相関は0.31であり、ヒトにおける値よりも低かった。これらの結果から環境汚染物質の体内蓄積を皮脂が反映していることがわかった。

**keyword** : monkey, organochlorine pesticides, skin lipids

Kijima, K., Takeda, M., Okaya, Y.\*, Takamat-

su, T.\*, Murase, M.\*, Sawamura, K.\*, Nomura, T.\* and Koba, T.: **A study on release of formaldehyde from its-donor type preservatives**  
*Anal. Sci.*, **7**, 913-916 (1991)

ホルムアルデヒド放出型の防腐剤 (Donor) である Dowicil-200 と Glydant XL-1000 は ODS カラムを用いた液クロ-ポストカラム-アセチルアセトン法 (HPLC-PC 法) でフリーのホルムアルデヒドと区別して測ることができる。この方法ではホルムアルデヒドとの分離が困難な Germall 115 もカーボンカラム (移動相: 6mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 2.1) を用いることによって、他の Donor と同時に定量できる。Donor の安定性をアセチルアセトン比色法 (AA 法) と HPLC-PC 法で測定したところ、両者は良く一致した。そこで、化粧品中のホルムアルデヒドの定量法としては HPLC-PC 法が最適な方法ではあるが、化粧品の販売期間を考慮するならば、AA 法はより実用的であり、簡便、迅速な方法であることがわかった。

**keywords**: formaldehyde, formaldehyde-donor, preservatives

\* 日本化粧品工業会

Miyahara, M., Sasaki, K., Suzuki, T. and Saito, Y.: **Expanded coagulating cleanup procedures for simultaneous gas chromatographic determination of organophosphorus pesticides in crops and fruits**

*Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1055-1058 (1991)

柑橘類, バナナ, 大豆, 小麦中の 7 種の有機リン系農薬の簡便な定量法を作成した。抽出はアセトニトリルまたはアセトンで行い、必要ならばヘキサン分配を行った。抽出物はリン酸および塩化アンモニウムを含む溶液により凝固させろ過し、ろ液をジクロロメタンで抽出した。抽出液を濃縮し FPD ガスクロマトグラフィーにより定量した。0.1 および 0.2 ppm を添加した試料からの回収率は 80% 以上であった。検出限界は 0.005 から 0.005 ppm であった。

**keyword**: organophosphorus pesticide, coagulation cleanup method, simultaneous determination

Miyahara, M., Suzuki, T. and Saito, Y.: **Multi-residue method for some pesticides in lanolin by capillary gas chromatography with detec-**

**tion by electron capture, flame photometric, mass spectrometric and atomic emission techniques**

*J. Agric. Food Chem.*, **40**, 64-69 (1992)

医薬品化粧品の原料であるラノリン中の農薬の一斉分析法を検討した。ラノリンは羊の病虫害予防と刈り取った羊毛の防虫に用いる農薬によって汚染されている可能性がある。残留農薬はフロリジルカラムクロマトで精製し、有機塩素系農薬フラクションと有機リン系農薬フラクションに分画した。それぞれのをキャピラリーカラム付の ECD および FPD ガスクロマトグラフィーで定量した。本法による回収率は  $\alpha\beta\gamma$ -BHC, アルドリン, デイルドリン, *p,p'*-DDE, DDD, DDT, ダイアジノン, フェニトロチオンについて 75-110% であった。定量限界は有機塩素系農薬で 0.01-0.05 ppm, 有機リン系農薬で 0.1 ppm であった。本法により数種のラノリン試料を調査したところ、古いラノリンから数種の農薬を検出し、GC-Mass と AED (原子発光検出器) GC により確認した。

**keyword**: lanolin, organophosphorus pesticide, organochlorine pesticide

丸山浩治\*, 鈴木 隆, 斉藤行生: **ガスクロマトグラフィーによる農産物中のメトラクロールの定量**

食衛誌, **32**, 98-103 (1991)

ECD ガスクロマトグラフィーによる、野菜、いも、穀物中のメトラクロールの定量法を確立した。メトラクロールはアセトンで抽出し、アセトニトリル-ヘキサン分配および凝固法により処理し、重層カラムクロマトグラフィー (シリカゲル, フロリジル) および Sep-PakC<sub>18</sub> カートリッジによりクリーンアップを行った。ラディッシュおよびジャガイモは重層カラムクロマトグラフィーのみでクリーンアップが可能であった。定量は ECD ガスクロマトグラフィーで行った。メトラクロール 0.1 ppm を添加した試料からの回収率は 87.0-94.8%, 検出限界は 0.005 ppm であった。調査した 30 試料にはメトラクロールは検出されなかった。

**keyword**: metrachlor, ECD-GC, coagulating method

Matsuda, R., Hayashi, Y., Suzuki, T., Saito, Y. and Jinno, K.\*: **Optimization based on reten-**

**tion prediction and information theory for liquid chromatographic analysis of alkylbenzenes**

*Analytical Letters*, 24, 2083~2091 (1991)

保持予測システムと情報理論に基づいて、逆相液体クロマトグラフィによる6種のアルキルベンゼン分離の最適化を行った。従来の最適化法である分離度に基づく最適条件と、情報理論により選択された最適条件を分析精度と分析効率の観点から比較評価した。情報量による最適化と保持予測を組み合わせることにより、液体クロマトグラフィ分析法の開発を自動化することが可能となった。

**keyword** : optimization, retention prediction, information theory

\* 豊橋科学技術大学

**Matsuda, R., Hayashi, Y., Suzuki, T. and Saito, Y.: Information theory of optimization in chromatography: Optimum peak separation and dependency on peak area**

*Chromatographia*, 32, 233~237 (1991)

隣接する2つのピークの面積が変化する時、最適な分離度はその面積の比により異なる。一方のピーク面積が非常に大きい時は、同程度の面積の時よりも大きな分離が必要であるのは明らかである。微量成分を分析する時には、面積が大きく異なることはよくある。しかし、従来の分離度に基づいた最適化ではこの事は考慮されていない。情報理論により、最適な分離度は最大の情報量を与える物と定義することができる。コンピュータシミュレーションによりピーク的面積比を変化させ最適な分離度を求めた。最適分離度は面積比により大きく変化し、ほぼ同じ面積の時の分離度を1.21とすると、面積比が500で同様の精度を得るには1.57の分離度が必要であることが明らかとなった。

**keyword** : optimization, chromatography, information theory

**Matsuda, R., Hayashi, Y., Suzuki, T. and Saito, Y.: Simplex optimization of liquid chromatography with the function of mutual information as a criterion**

*J. Chromatogr.*, 585, 187~193 (1991)

液体クロマトグラフィの最適化法の1つとして広く行われている simplex 法の評価関数としての情

報量関数 FUMI の有用性を評価した。完全に重なりあったピークが分離して2つのピークとなると、FUMIは増加し、すべてのピークが最も短時間で分離する条件で最大値を与え、simplex を最適値に導くことができる。例として5種の感冒薬の分析例を示した。

**keyword** : simplex optimization, chromatography, information theory

**Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Mathematical structure of chromatographic optimization based on information theory: I. Effect of mobile phase composition on precision**

*Chromatographia*, 31, 367~373 (1991)

液体クロマトグラフィ分析の分析精度を表す情報量  $\phi$  への移動相組成  $x$  の影響を、微分  $d\phi/dx$  を用いて解釈した。微分の符号は  $x$  により変化し、より大きな情報量を得られる方向を示す。またこの符号は不分離ピークを含む時 ( $\phi$ stage) と含まない時 ( $\theta$ stage) では逆転し、二つの段階が存在することがわかった。さらに Snyder の提唱した sensitivity function  $s_j$  を情報理論の立場から考察した。また、液体クロマトグラフィの最適化を非線型計画問題として定式化した。

**keyword** : optimization, chromatography, information theory

**Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Mathematical structure of chromatographic optimization based on information theory: II. Analytical role of chromatographic variables**

*Chromatographia*, 31, 374~380 (1991)

クロマトグラフィにおける変数  $Z$  (カラム長, 移動相組成, 検出条件 etc) の分析精度への影響に基づいて、最適化の過程を2つの段階に分離した。第一の段階ではピーク分離が最も重要であり、ピーク分離度  $R_s$  と情報量  $\phi$  の間には  $\partial\phi/\partial Z = C (\partial R_s/\partial Z)$  という関係が成立する。第二の段階ではすべてのピークは分離され  $\phi$  と  $R_s$  には第一の段階のような関係はなくなる。クロマトグラフィ変数  $Z$  の情報量  $\phi$  と分析効率  $\theta$  へのクロマトグラフィ変数  $Z$  の影響を微分を用いて評価し、2つの段階での  $Z$  の分析的意義を考察した。

**keyword** : optimization, chromatography, information theory



Hayashi, Y., Matsuda, R. and Jinno, K.\*: **Feasible solutions for optimization problems involving unresolved peaks using retention prediction and information theory**

*Chromatographia*, **31**, 554~560 (1991)

多くの不分離ピークを含む系でのクロマトグラムの評価を情報量 FUMI を用いて行った。20 種の PTH-アミノ酸の分離についての移動相組成、カラム長、分析温度の最適化を取上げ、定量的構造保持相関を用いてシミュレーションを行った。この系ではすべてのピークを分離することは出来ないが、FUMI により最も多くのピークが分離する条件を feasible solution として選ぶことが可能であった。

**keyword**: optimization, retention prediction, information theory

\* 豊橋科学技術大学

Kawamura, Y., Suzuki, N., Uchiyama, S. and Saito, Y.: **Germination Test for Identification of Gamma-Irradiated Rice**

*Radiat. Phys. Chem.*, **39**, 203~207 (1992)

照射米の判別法として発芽法の検討を行った。試料は粳付米よりも玄米の方が適しており、培養温度は 30℃ が最適であり培養 3 日後に判定を行った。γ 線照射により発芽後の根の伸長抑制が顕著であったが、芽の伸長抑制は根よりも抵抗性があり、発芽率の抑制は今回の 2 kGy 以下ではみられなかった。根の伸長抑制がおこる臨界線量は 0.15~0.5 kGy で種により若干の差がみられるが 0.5 kGy 以上ではすべての種で抑制が起こり 3 日後の根長は 10 mm 以下であった。また照射 12 ヶ月後においても根の伸長抑制は変わらず、照射の判別は可能であった。以上のように根の伸長抑制を指標とした発芽法が照射玄米の判別法として有用であることを明らかにした。

**keyword**: gamma-irradiated rice, identification test, germination

村山三徳, 内山貞夫, 斎藤行生: **段階溶出高速液体クロマトグラフィーによる畜水産物中の残留合成抗菌剤の迅速一斉分析法**

食衛誌, **32**, 155~160 (1991)

畜水産物に残留する 13 種類の合成抗菌剤の一斉分析法を確立した。試料からアセトニトリルで抽出し、精製はヘキサンとの液-液分配により行った。

測定は HPLC で、段階溶出により一斉スクリーニングを行い、検出された合成抗菌剤について最適な HPLC 条件で定量し、UV スペクトルを測定して定性を行った。本法による各合成抗菌剤の定量下限は 10~50 ppb であり、従来法と比べ迅速、簡便で、精度の高い分析法であった。また研究機関 10 か所において、スルファジミジン、オキシリン酸、ナイカルバジンについて、標準添加試料の分析を行った結果、本法は正確さ、再現性においても優れていた。  
**keyword**: synthetic antibacterials, screening method, collaborative study

村山三徳, 鈴木政雄\*, 滝谷昭司\*: **イオンクロマトグラフィーによる無機医薬品中の陰イオン性不純物の定量**

医薬品研究, **22**, 1112~1121 (1991)

無機医薬品中の陰イオン性不純物の簡便、高感度、迅速定量法を確立した。臭化カリウム、臭化ナトリウム、ヨウ化カリウム、ヨウ化ナトリウム、硫酸マグネシウム、塩化カルシウム、炭酸水素ナトリウムは水に溶解した。次硝酸ビスマス、炭酸リチウムは希硝酸に溶解し、陽イオン交換カラムを通した後、水酸化ナトリウムで中和した。塩化カルシウム、炭酸水素ナトリウム中の微量不純物の定量にはリサイクルイオンクロマトグラフィーを用いた。他は通常のイオンクロマトグラフィーにより測定した。無機医薬品中の臭素、ヨウ素、硫酸、塩素、硝酸、亜硝酸、リン酸イオンを定量することができ、定量下限はそれぞれ 0.6~27 ppm、回収率は 80~100%、相対標準偏差は 0.5~4.7% であった。

**keyword**: ion chromatography, anionic impurity, inorganic drug

\* 東京理科大学

鈴木政雄\*, 村山三徳, 滝谷昭司\*: **リサイクルイオンクロマトグラフィーによる陰イオン性微量不純物分析の基礎的検討**

医薬品研究, **22**, 1122~1129 (1991)

陰イオン性不純物の微量分析のための二種類のリサイクルイオンクロマトグラフシステムについて検討した。両システム共に、通常のイオンクロマトグラフ装置に、目的とする陰イオンを捕集するための濃縮カラム (A 法)、空のループ (B 法) を取り付けた簡単な構成であり、A 法は臭素、硝酸、リン酸、硫酸イオン、B 法は塩素、亜硝酸イオンの分析

に有効であった。本法は通常のイオンクロマトグラフィーと比べて、感度、操作性はほとんど変わらないが、他のイオンの共存許容量が10~20倍高くなった。

**keyword** : recycle ion chromatography, anionic impurity, membrane suppressor

\* 東京理科大学

Toyoda, M., Rausch, W. D.\*<sup>1</sup>, Inoue, K., Ohno, Y., Fujiyama Y.\*<sup>2</sup>, Takagi, K., Saito, Y.: **Comparison of solanaceous glycoalkaloids-evoked Ca<sup>2+</sup> in flux in different types of cultured cells** *Toxic. in Vitro*, 5, 347~351 (1991)

マウス neuroblastoma x ラット glioma hybrid NG 108-15 細胞, マウス皮膚繊維芽細胞 L-929 およびマウス Balb/3T3 細胞を用い, 細胞内遊離 Ca<sup>2+</sup> 濃度に対するジャガイモグリコアルカロイドの  $\alpha$ -チャコニン,  $\alpha$ -ソラニンおよびトマチンの影響を蛍光試薬 Fura-2 により調べた。いずれのアルカロイドも3種細胞に対し濃度依存性のドーズレスポンスを示した。最大反応の50%値 (ED 50) は, NG 108-15, L-929 および Balb/3T3 細胞の場合,  $\alpha$ -チャコニンがそれぞれ 12.0, 10.2, 9.5  $\mu$ M であり,  $\alpha$ -ソラニンが 72, 65, 66  $\mu$ M であった。 $\alpha$ -チャコニンの作用はいずれの細胞に対しても  $\alpha$ -ソラニンより強く, ジャガイモ中毒に於ける  $\alpha$ -チャコニンの重要性が示唆された。

**keyword** : glycoalkaloid, calcium influx, cultured cell

\*<sup>1</sup> Institute for medical chemistry, Austria

\*<sup>2</sup> 北里大学

Maitani, T., Nakajima, S., Xing, D. R., Yoshihira, K.: **HPLC-ICP study of various metals added in vitro to mouse serum**

*J. Pharmacobio-Dyn.*, 14, s-137 (1991)

各種金属を血清に添加した時の金属の存在状態を, ゲルろ過カラムを装着した HPLC-ICP 法を用いて検討した。Ag および Au はメルカプトアルブミンに結合していた。また, Cr, In, V, Y のトランスフェリンへの結合について解析した。正常血清については, C, Ca, Cu, Fe, Mg, P, S, Sr, Zn のクロマトグラムが, 一度の操作で得られた。Ag および Au の存在状態については, HPLC-AAS 法を用いて, さらに定量的に解析した。

**keyword** : HPLC-ICP, Ag, Au

Sato, K., Goda, Y., Yoshihira, K., Noguchi, H.\*: **Structure and contents of main coloring constituents in the calyces of *Hibiscus sabdariffa* and commercial roselle color**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 32, 301~307 (1991)

*Hibiscus sabdariffa* のガク (calyces) 抽出エキス (天然ハイビスカス色素) の中の主色素成分 (1) を単離し, その構造を NMR により, delphinidin 3-[O- $\beta$ -D-xylopyranosyl-1  $\rightarrow$  2)- $\beta$ -D-glucopyranoside] と決定した。さらに市販ハイビスカス色素中の主色素成分も, 単離した標品とフォトダイオードアレイ検出の HPLC の結果を比較することは, 1 であることを明らかにした。また天然および市販ハイビスカス色素中の 1 について, HPLC を用いて定量したところ, それぞれ 1.1 および 0.3% を含まれていた。

**keyword** : natural food colorant, *Hibiscus sabdariffa*, delphinidin-sambubioside

\* 東京大学薬学部

Sato, K., Maitani, T., Yoshihira, K.: **Uptake of arsenic by cultured hairy roots of *Rubia tinctorum* from liquid medium**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 32, 414~419 (1991)

植物組織培養技術によりえられる生産物の安全性について検討するため, セイヨウアカネ (*Rubia tinctorum* L.) 毛状根による液体培地中ヒ素の取り込みを調べた。亜ヒ酸塩添加培地ではヒ酸塩添加培地に比べ, 毛状根の成長は強く阻害された。また, 亜ヒ酸塩は毛状根への移行が速く, 培養1週間で添加したヒ素の90%が毛状根から検出された。毛状根中のヒ素の化学形について HPLC-ICP による分析を行った。亜ヒ酸塩添加培地およびヒ酸塩添加培地のいずれで培養した毛状根でも, ヒ素は亜ヒ酸塩として検出された。毛状根中のヒ素の挙動を調べるため, 毛状根をメタノール抽出したところ, ヒ素はほとんど抽出されなかった。

**keyword** : arsenic, hairy roots, HPLC-ICP

佐藤恭子, 合田幸広, 山崎 壯, 米谷民雄, 義平邦利: **培養根と母植物根への金属の取り込みの比較—セイヨウアカネ及びカンゾウについて—** 食衛誌, 32, 538~542 (1991)

組織培養技術による生産物の安全性の基礎的知見をうるため、セイヨウアカネ (*Rubiatinctorum* L.) とカンゾウ (*Glycyrrhizaglabra* L.) を用い、培養根への金属 (Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Mo, Cu) の取り込みについて、母植物根のそれと比較した。培養根中の金属含量は培養根の種類、植物ホルモンの濃度、組合せにより異なったが、母植物根との違いの方が大きく、培養根中の Mn, Zn, Mo 濃度は母植物根中より 1 桁高かった。培養液中の金属では Cu の移行率が最も高く、Zn, Mo の移行率も高かった。一方、土壌中の金属の移行率では Ca が最も高く、Fe の移行率が著しく低かった。

**keyword** : cultured roots, metal, ICP-AES

佐藤恭子, 岩上 敏, 合田幸広, 山崎 壮, 米谷民雄, 義平邦利: 天然及び合成オーキシンの植物培養細胞への吸収と残留: ヨウシュヤマゴボウ, カンゾウ, セイヨウアカネの培養細胞について 食衛誌, 33, 157~163 (1992)

組織培養技術による生産物の安全性の基礎的知見をうるため、色素産生培養細胞を用い、培地に添加させる auxin の吸収と代謝、残留を検討した。合成 auxin (2,4-D) にはヨウシュヤマゴボウ (*Phytolacca americana* L.) カンゾウ (*Glycyrrhiza glabra* L.) の培養細胞を、天然 auxin (IAA) には、セイヨウアカネ (*Rubia tinctorum* L.) 培養細胞を用いた。培養細胞への 2,4-D の吸収は IAA に比べ速かったが、いずれもその代謝物を含めて添加した 40% 以上が細胞内に残留していた。さらに、IAA は、2,4-D と比べ、代謝が速いことが推定され、長期培養では、かなりの放射活性が細胞残渣画分に移行した。

**keyword** : cultured cells, indole-3-acetic acid (IAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

合田幸広, 渡辺啓恵, 鈴木淳子, 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考察—米中のグルコン酸の保存による含量変化—

食衛誌, 32, 323~327 (1991)

非加工食品中の天然由来物質の摂取量調査の際観察された。第 1 群食品 (穀類他) でのグルコン酸 (GA) の季節による著しい含量変化の原因を解明する目的で、1 群食品の 80% を占める米を用い、収穫年度、保存期間などによる GA 含量の違いを検

討した。産年度別、購入月別では、夏を越す回数が多い程高い傾向があった。また恒温槽を用いた保存実験では、10° で 3 週間後ではほとんど変化が見られなかったが、20° 以上では、顕著に GA 含量が上昇した。米の 20° 以上では長期保存の有無が上記の GA 含量変化の主因である可能性が高い。

**keyword** : daily intake estimation, gluconic acid, non-processed food

Goda, Y., Marnett, L. J.\*: High performance liquid chromatography with electrochemical detection for determination of major malondialdehydeguanine adduct

*Chem. Res. Toxicol.*, 4, 520~524 (1991)

マロンジアルデヒドと DNA の主反応物である M1G 付加物の高感度定量分析法の開発を行った。MDA と反応した DNA を、水素化ホウ素ナトリウムで還元した後、0.1 N 塩酸で加水分解し、遊離してくる水素化 M1G 塩基 (H<sub>2</sub>M1G) を、電気化学検出高速液体クロマトグラフィーで分析する。設定した条件では、H<sub>2</sub>M1G は、グアニン塩基に対して、約 2 万倍高感度であり、また H<sub>2</sub>M1G の定量限界は、100~200 fmol であった。

**keyword** : malondialdehyde, guanine adduct, electrochemical detection

\* Vanderbilt University

義平邦利, 合田幸広, 橋本恭介, 山崎 壮, 山田隆: イオンクロマトグラフィーによるワイン中のフェロシアン化物の分析

食衛誌, 32, 559~563 (1991)

イオンクロマトグラフィー (IC) によるワイン中のフェロシアン化物の定量分析法の検討を行った。改良ランキン装置を用い、試料中のフェロシアン化物を硫酸酸性下、熱分解させ、生じたシアン化水素を、窒素通気によりネスラー管中の 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液に捕集した後、その溶液を直接電気化学検出 IC に供した。ワイン中のフェロシアン化ナトリウム (Na 塩) としての検出限界は、1 ng/ml で、この値は、Na 塩の ADI を考慮した定量目標値より、100 倍高感度であった。また添加回収率は、50~1000 ng/ml の添加範囲で、ワインの赤白、亜硫酸ナトリウム添加無添加をとわず、88~130% と良好な値を示した。

**keyword** : wine, ferrocyanide, modified Rankine

method

Sakamoto, S., Sato, K., Iwakami, S., Goda, Y., Maitani, T., Takeda, M., Yoshihira, K., Saito, T.\* and Kamada, H.\*: **The identification of pungent components in hairy roots and regenerated plants of horseradish (*Armoracia rusticana*)**

植物組織培養, 9, 43~46 (1992)

西洋ワサビ (*Armoracia rusticana*) の毛状根, および毛状根から得られた再分化植物体より, 辛味成分 (1-5) を GC-MS で検出, 同定した。主辛味成分は, 再分化植物体の地上部では, 市販西洋ワサビ根同様, allyl isothiocyanate (2) であり, 毛状根および再分化植物体の根では,  $\beta$ -phenylethyl isothiocyanate (5) であった。

**keyword**: *Armoracia rusticana*, hairy root, isothiocyanates

\* 筑波大学遺伝子実験センター

Sakamoto, S., Kuroyanagi, M.\*, Ueno, A.\* and Sekita, S.: **Triterpenoid saponins from *Sophora subprostrata***

*Phytochemistry*, 31, 1339~1342 (1992)

山豆根 (*Sophorasubprostrata* Radix) より1種の新規化合物を含む6種のトリテルペノイドサポニンを, それぞれそのメチルエステルとして単利し,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  等を用いて構造決定した。新規サポニンの構造は, 3-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-D-galactopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucuronopyranosyl]kuzusapogenol A methyl ester と決定した。

**keyword**: *Sophora subprostrata*, triterpenoidal saponin, kuzusapogenol A

\* 静岡県立大学薬学部

Sakamoto, S., Kofuji, S.\*, Kuroyanagi, M.\*, Ueno, A.\* and Sekita, S.: **Saponins from *Trifolium repens***

*Phytochemistry*, 31, 1773~1777 (1992)

シロツメ草 (*Trifolium repens*) の全草より9種のトリテルペノイドサポニンをメチルエステルとして単利し,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , 化学的手法を用い, 構造を決定した。9種のうち, 5種は新規化合物であり, それぞれ cloversaponins I-V と命名し

た。

**keyword**: *Trifolium repens*, triterpenoid saponins, cloversaponin

\* 静岡県立大学薬学部

馬場二夫, 福田正則\*, 佐々木清司\*, 石綿 肇, 杉田たき子: **食用用紙製機具から溶出する無機イオン**

食衛誌, 32, 142~148 (1991)

キッチンペーパー, 紙コップなど紙製の機具・容器包装材料135の試料から溶出する,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  の陰イオン, ならびに,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  の陽イオン, イオンクロマトグラフを用いて測定した。溶出する陰イオンは  $\text{Cl}^-$  と  $\text{SO}_4^{2-}$  が主体で, 両者はほとんどの試料から溶出した。溶出量は試料1gから平均根で各々393  $\mu\text{g}$ , 467  $\mu\text{g}$  であった。3種の陽イオンの総量は陰イオンとはほぼ対応する量が検出された。辛パルプ使用製品では溶出濃度は低く, 再製紙では高く, かつ, 浸出液の pH はアルカリ性のものが多かった。

**keyword**: food wrapping paper, release, inorganic ion

\* 大阪市立環境科学研究所

Ishiwata, H., Sugita, T., Yoshihira, K., Baba, T.\*: **Determination of Low Levels of Lead and Cadmium Released from Ceramicware into 4% Acetic Acid and Grapefruit Juice**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 32, 168~176 (1991)

米国 FDA が陶磁器製ピッチャーからの鉛の溶出 0.1 ppm 以下 (現行の 1/25~1/50) に既成する提案を出した。そこで浸出液中の低濃度の鉛の定量法を検討した。0.1 ppm 鉛/4%酢酸溶液の10倍濃縮による回収率は 95.7 $\pm$ 6.7% であった。市販ピッチャーからの鉛の溶出は 0.01 ppm 以下であった。4%酢酸またはジュースを用いて浸出温度や時間を変えて溶出傾向を見たところ, いずれの条件下でも溶出濃度と時間との関係は二次指数関係で示された。

**keyword**: ceramic ware, release, lead

\* 大阪市立環境科学研究所

Ishiwata, H., Sugita, T., Kozaki, M.\*, Maekawa, A.\*: **Inhibitory Effects of Melamine on the Growth and Physiological Activities of Some Microorganisms**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 32, 408~413 (1991)

8種9株の微生物を10 mM メラミン含有培地で24時間培養したところ、8株に増殖阻害作用を認めた。*Saccharomyces cerevisiae*では、対照の22.2%の増殖に留まった。メラミンは呼吸阻害作用はなく、菌体からの高分子成分の漏出も認められなかったが、 $\text{Na}^+$ と $\text{K}^+$ の漏出を促進した。アンモニア性窒素の取り込みは2.5 mMのメラミン存在下でも阻害が認められ、メラミンが微生物に対して生理活性を有することを明らかにした。

**keyword** : melamine, *Saccharomyces cerevisiae*, growth inhibition

\* 東京農業大学農学部

Sugita, T., Ishiwata, H., Maekawa, A.\*: **Intestinal Absorption and Urinary Excretion of Melamine in Male Wistar Rats**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 32, 439~443 (1991)

メラミンのラット体内における挙動について検討した。メラミンは胃では吸収されず、小腸で一時指数関数的に吸収された。吸収半減期は27.9分であった。この時の血液および尿中のメラミンの倍增期は各々18.6分、2.9分であった。大腿静脈より投与した場合、一時指数関数的に血中から消失、尿中に排泄された。1%メラミン添加飼料で1週間飼育したとき消化管内のメラミン濃度は胃で最も高く(3040 ppm)小腸では下部となるに従って低くなった。盲腸、大腸でもメラミンは存在し、その濃度は小腸下部(158 ppm)よりやや高かった。

**keyword** : melamine, rat, metabolic fate

\* 東京農業大学農学部

馬場二夫\*, 森田 茂\*, 杉田たき子, 石綿 肇:  
**食品用紙製機具・容器包装からの移行成分の測定**  
生活衛生, 36, 27~32 (1992)

食品に用いられる紙製の機具・容器包装について、水で60°, 30分間またはn-ヘプタンで25°, 1時間抽出し、可溶製成分の分析を行った。測定は特定物質であるホルムアルデヒドの他、pH, 蒸発残留物, UVスペクトル, 揮発生物質など総量測定を目的した項目を選択した。水抽出の場合、ホルムアルデヒドは紙1g当り平均4.2 ppmであった。pHは6.2, 蒸発残留物は2244  $\mu\text{g}$ であった。また、n-ヘプタン抽出液中の蒸発残留物は1648  $\mu\text{g}$ であった。水抽出液のUVスペクトルでは特定の $\lambda_{\text{max}}$ を示す試料

があり、揮発生成成分との相関性が考えられた。

**keyword** : food wrapping paper, release, organic substance

\* 大阪市立環境科学研究所

Ishiwata, H., Sugita, T., Takeda, M.: **Effect of Long-Term Use of Melamine Tableware on the Release of Monomers and Some Other Changes**

*J. Food Hyg. Soc. Japan*, 33, 52~57 (1992)

食堂で使用しているメラミン樹脂製食器からのモノマー(ホルムアルデヒドとメラミン)の溶出、それらのモル濃度比、色素吸着量、水分付着量の変化について4年間にわたり継続して測定した。同一製品を4%酢酸を用い95°で約30分間の処理を繰り返して、この値を指標とした。溶出モノマーのモル濃度比は指標と食堂使用とで最も良く一致した。4%酢酸での処理1回は食堂での6.7ヶ月に相当した。モル濃度比が一定となるのに44.9ヶ月を要した。使用前、3年および4年後の食器について食品衛生法の方法でホルムアルデヒドの溶出を測定したが検出限界(0.1 ppm)以下であった。

**keyword** : melamine ware, deterioration, long-term use

Fukuhara, K., Hakura, A., Sera, N.\*, Tokiwa, H.\* and Miyata, N: **1- and 3-Nitro-6-azabenzopyrene and their N-oxides: highly mutagenic nitrated azaarenes**

*Chem. Res. Toxicol.*, 5, 149~153 (1992)

ベンツ[a]ピレンの6位窒素置換体である新規6-アザベンツ[a]ピレンのニトロ体を合成し、還元特性と変異原性との相関を明らかにした。1-および3-ニトロ-6-アザベンツ[a]ピレンおよびそのN-オキシド体は、6-アザベンツ[a]ピレンのN-オキシド体を濃硝酸でニトロ化し、さらにPBr<sub>3</sub>で脱オキシ化して合成した。変異原性試験の結果、これらのアザニトロ体は、TA98でジニトロベンツ[a]ピレンと同程度の強力な変異原性(36100~396000 rev/nmol)を示すこと、ニトロレクターゼ欠損株(TA98NR)でも変異原性が低下しないこと、活性化にO-アセチルトランスフェラーゼが必要なことが明らかとなった。酸化還元電位を測定した結果、これらの化合物は母核の窒素の電子効果によりニトロ基の一電子目および二電子目の還元性が増加し、

還元代謝活性化が起き易くなっていることが示された。

**keyword** : nitroazabenz[*a*]pyrene, benzo[*a*]pyrene, nitroarene

\* 福岡県保健環境研究所

Sera, N.\*, Kai, M.\*, Horikawa, K.\*, Fukuhara, K., Miyata, N. and Tokiwa, H\* : **Detection of 3, 6-dinitrobenzo[*a*]pyrene in airborne particulates**

*Mutation Research*, 263, 27~32 (1991)

新規に合成した3,6-ジニトロベンツ[*a*]ピレン(3,6-DNBP)を南米チリの気粒子状物質から検出した。3,6-DNBPは、有機溶媒中、UV(312 nm)照射により速やかに分解するが、粒子状物質に吸着した状態ではかなりの期間安定である。また、3,6-DNBPはTA98を用いた変異原性試験で強力な変異原性(137000 rev/nmol)を示したが、TA98/1,8-DNP6では活性が低下し(1300 rev/nmol)、YG1024では活性が10倍以上に増強する(1640000 rev/nmol)ことから、3,6-DNBPではニトロ基がヒドロキシアミノ基に還元的代謝活性化された後のO-アセチル化が毒性発現の律速段階になっていることが示された。

**keyword** : 3,6-dinitrobenzo[*a*]pyrene, benzo[*a*]pyrene, nitroarene

\* 福岡県保健環境研究所

Yamazaki, T., Flores, H. E.\*, Shimomura, K. and Yoshihira, K. : **Examination of steviol glucosides production by hairy root and shoot cultures of *Stevia rebaudiana***

*Journal of Natural Products*, 54, 986~992 (1991)

*Stevia rebaudiana*は、葉に甘味をもつ diterpene である steviol glucosides を含むが、この毛状根を誘導した。毛状根を暗所下培養したが、steviol glucosides は生産されなかった。明所下サイトカインを添加して培養すると、毛状根はカルスに形態変化した。この培養物中に stevioside は検出されなかった。shoot tips を液体培地で明所下初代培養すると、stevioside が生産された。これらの結果から、植物体での steviol glucosides の生合成部位は、葉であり、根ではないことが示唆される。また、*S. rebaudiana* の shoot tips の液体培地での培養は、stevioside の in vitro 生産に有用であると思われる。

**keyword** : stevioside, hairy root, shoot

\* Pennsylvania State University

Kitani, S.\*<sup>1</sup>, Teshima, R., Morita, Y.\*<sup>1</sup>, Ito, K.\*<sup>1</sup>, Matsuda, Y.\*<sup>2</sup> and Nonomura, Y.\*<sup>3</sup> : **Inhibition of IgE-mediated histamine release by myosin light chain kinase inhibitors**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 183, 48~54 (1992)

好塩基球細胞におけるヒスタミン遊離に及ぼすミオシン軽鎖キナーゼの影響を明らかにするために、特異的ミオシン軽鎖阻害剤である wortmannin を用いて、培養ラット好塩基球細胞(RBL-2H3細胞)およびヒト好塩基球細胞からのヒスタミン遊離反応および細胞内カルシウム濃度上昇の影響について検討した。Wortmannin は、容量依存的に、RBL-2H3細胞とヒト好塩基球細胞からのIgEレセプター伝達性のヒスタミン遊離を抑制した。そのIC<sub>50</sub>は、RBL-2H3細胞に対しては20 nM、ヒト好塩基球細胞に対しては、30 nMであった。1 μMの濃度では、ほぼ完全な抑制を示した。RBL-2H3細胞の活性化に伴うカルシウム濃度上昇に関しては、10 μMでも何等影響を及ぼさなかった。これらのことにより、ミオシン軽鎖キナーゼによるミオシン軽鎖のリン酸化は、好塩基球細胞上の高親和性IgE受容体の架橋に伴うカルシウム流入以降ヒスタミン遊離に至るまでの過程に作用することが推定された。

**keyword** : RBL-2H3 cells, human basophiles, wortmannin

\*<sup>1</sup> 東大病院物療内科

\*<sup>2</sup> 協和発酵東京研

\*<sup>3</sup> 東大医学部第一薬理

Sawada, J., Mizusawa, S., Terao, T., Naito, M.\* and Kurosawa, Y.\* : **Molecular characterization of monoclonal anti-steroid antibodies: Primary structures of the variable regions of seven antibodies specific for 17α-hydroxyprogesterone or 11-deoxycortisol and their pH-reactivity profiles.**

*Mol. Immunol.* 28, 1063~1072 (1991)

抗ステロイドモノクローナル抗体の可変領域の塩基配列を決定し、得られたアミノ酸配列を比較検討することにより、ハプテン結合様式を類推した。また、これらの抗体の反応性のpH依存性を検討した。

**keyword** : monoclonal antibody, steroids, variable region

\* 藤田保健衛生大学医学部

Kikuchi, Y.\*, Irie, M.\*, Yoshimatsu, K., Ishimaru, K., Shimomura, K., Satake, M., Tanno, M., Kamiya, S., Sawada, J. and Terao, T.: **A monoclonal antibody to scopolamine and its use for competitive enzyme-linked immunosorbent assay**

*Phytochemistry*, 30, 3273~3276

スコポラミンに対するモノクローナル抗体を調製し、ELISA を利用した免疫測定法に応用した。

**keyword** : scopolamine, monoclonal antibody, enzyme-linked immunosorbent assay

\* 星薬科大学

Okada, Y.\*<sup>1</sup>, Nakayama, S.\*<sup>1</sup>, Iguchi, S.\*<sup>1</sup>, Kikuchi, Y., Irie, M.\*<sup>2</sup>, Sawada, J., Ikebuchi, H. and Terao, T.: **Amino acids and peptides XXXIII. Synthesis of N-terminal epitope peptides of mammalian metallothioneins (MTs)**

*Chem. Pharm. Bull.* 40, 1029~1032 (1992)

メタロチオネインの主要エピトープである N-端ペプチドを化学合成した。

**keyword** : metallothionein, N-terminal peptide, monoclonal antibody

\*<sup>1</sup> 神戸学院大学薬学部

\*<sup>2</sup> 星薬科大学

Iwata, N., Minegishi, K., Suzuki, K., Ohno, Y., Kawanishi, T. and Takahashi, A.: **Musk xylene is a novel specific inducer of cytochrome P-450IA2**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 184, 149~153 (1992)

ラット肝 cytochrome P-450 IA1 と cytochrome P-450 IA2 に及ぼす musk xylene の誘導効果について検討した。実験には、Wistar 系雄性ラットを用い、musk xylene を 50, 100, および 200 mg/kg の用量で 5 日間反復腹腔内投与した。その結果、musk xylene は P-450 IA1 に比べて P-450 IA2 を強く誘導し、50 mg/kg の低用量では P-450 IA2/P-450 IA1 の含量比は約 12 であった。このように、musk xylene は P-450 IA2 に選択的な誘導剤であ

ることが明確になった。

**keyword** : musk xylene, enzyme induction, cytochrome P-450

Minegishi, K., Nambaru, S., Fukuoka, M., Tanaka, A. and Nishimaki-Mogami, T.: **Distribution, metabolism, and excretion of musk xylene in rats**

*Arch. Toxicol.*, 65, 273~282 (1991)

ラットにおける代謝物を同定し、分布を調べた。

**keyword** : musk xylene, metabolism, distribution

Nishimaki-Mogami, T., Tanaka, A., Minegishi, K. and Takahashi, A.: **Effect of sorbic acid feeding on peroxisomes and sorboyl-CoA metabolizing enzymes in mouse liver**

*Biochem. Pharmacol.*, 42, 239~246 (1991)

ソルビン酸による肝ガンの発生は肝グルタチオンレベルの減少に関連することが知られている。ソルビン酸の活性代謝物の生成について検討した。再構成  $\beta$ -酸化酵素系を用いた実験により、ソルビン酸が  $\beta$ -酸化をうけて分解する過程の中間体、3-keto-4-hexenoyl-CoA が非酵素的に SH 化合物と反応することを明らかにした。肝では、ソルビン酸はこの古典的な経路の他に、4 位の二重結合の直接還元にはじまる別の経路でも  $\beta$ -酸化され、この場合には活性代謝物は生成しない。マウス肝臓内での代謝活性化経路の寄与を、両経路の分岐点にあたる酵素、2,4-dienoyl reductase および hydratase 活性を測定することで推定した。15%ソルビン酸食投与により、代謝活性化経路の 2,4-dienoyl hydratase に選択的な誘導が認められ、肝内 SH プールの減少が説明された。同時にベルオキシゾーム誘導も認められることから、共同して引き起こされる酸化ストレスの増大が、遺伝毒性を示さないソルビン酸の発ガン機構に関連するものと推定された。

**keyword** : sorbic acid, beta-oxidation, peroxisomes

Tijburg, L. B. M.\*, Nishimaki-Mogami, T. and Vance, D. E.\*: **Evidence that the rate of phosphatidylcholine catabolism is regulated in cultured rat hepatocytes**

*Biochim. Biophys. Acta*, 1085, 167~177 (1991)

ホスファチジルコリン (PC) 分解の制御機構をコリン欠乏ラット肝細胞を用いて検討した。コリン欠乏肝細胞では培地にコリンを添加すると PC 合成が急速に亢進される。あらかじめトレース量の [ $^3\text{H}$ ]コリンで細胞の PC をラベルしその分解を追跡すると、100  $\mu\text{M}$  コリン添加により PC 分解の速度は約 2 倍に上昇し、同時に主代謝産物のグリセロホスホコリン (GPC) の生成が増加した。 [ $^3\text{H}$ ]メチオニン、 [ $^3\text{H}$ ]グリセロールで PC をラベルしても同様に GPC の生成が増加し、PC 合成の亢進に伴って、ホスホリパーゼ A 経路での PC 分解が促進されることが示された。 *In vitro* での PC 分解を測定したところ、基質として [ $^3\text{H}$ ]PC を加えた際には全く差は認められなかったが、内因性 [ $^3\text{H}$ ]PC の分解はコリン添加細胞のミクロソームで有意に上昇していた。したがって、肝細胞の PC 分解は制御されており、基質の PC 濃度がその調節因子であることが示唆された。

**keyword** : phosphatidylcholine, catabolism, phosphatidylethanolamine

\* university of alberta, canada.

Kondo, S.\*, Haishima, Y. and Hisatsune, K.\*: **Chemical structure of the 2-keto-3-deoxyoctonate (KDO) region of the lipopolysaccharide isolated from O1 *Vibrio cholerae* NIH 41R (Ogawa)**

*Microbiol. Immunol.*, 35, 675~680 (1991)

O1 コレラ菌 LPS の KDO region の構造を、過ヨウ素酸化処理およびメチル化分析により解析した。腸内細菌科 LPS に含まれる KDO は inner core 部分に分岐状 trisaccharide として局在している。一方著者らは、O1 コレラ菌を含むビブリオ科細菌 LPS では少数例を除き KDO の分岐構造が認められず、1 分子の phosphoryl-KDO が多糖部分とリピド A 部分を結合していることをすでに報告しているが、phosphoryl-KDO のリン酸基は遊離・精製過程における酸処理により容易に転移反応を起こすため、その結合部位を決定するには至っていなかった。本研究において、脱リン酸処理した O1 コレラ菌 LPS のメチル化分析により permethylated 5-0-acetyl-KDO 誘導体が、また、過ヨウ素酸化処理後のメタノリシス・アセチル化により peracetylated 1-carboxy methyl-KDH methyl glycoside 誘導体が検出された。すなわち、O1 コレラ菌 LPS に

含まれる phosphoryl-KDO は、その 7 位と 8 位に置換基を持たないこと、および、heptose region との結合部位が 5 位であることが認められたことから、KDO 分子へのリン酸基の置換部位は 4 位であることが明らかになった。

**keyword** : KDO, LPS, *V. cholerae*

\* 城西大学薬学部

Haishima, Y., Holst, O.\* and Brade, H.\*: **Structural investigation on the lipopolysaccharide of *Escherichia coli* rough mutant F653 representing the R3 core type**

*Eur. J. Biochem.*, 203, 127~134 (1992)

大腸菌 LPS R3 core の化学構造を種々の化学分析、GC/MS 分析および NMR 解析により検討した。従来、R3 core の heptose region は、-3(7-O-[Hep $\beta$ ]-Hep $\beta$ (1-3)Hep $\beta$ (1- の分岐状 trisaccharide から成ると報告されていたが、本研究により、分岐 Hep 分子の 7 位は更に GlcNAc $\beta$ により置換されていることが明らかになった。同 core の KDO region は、-5)4-O-[4-O-(KDO $\beta$ )-KDO $\beta$ ]-KDO $\beta$ (2- の分岐状 trisaccharide により構築され、サルモネラ LPS 等と同様の構造を持つことが初めて示された。また、outer core region は、Glc $\beta$ (1-2)Glc $\beta$ (1-2)3-O-[GlcNAc $\beta$ ]-Gal $\beta$ (1-3)Glc $\beta$ (1- の hexasaccharide から成ることが確認され、従来報告されていた構造と一致した。

**keyword** : *E. coli*, LPS, R-core

\* Forschungsinstitut Borstel, FRG

Michiko Kobatake, Nel J. W. Kreger-van Rij\*<sup>1</sup>, M. Teresa, L. C. Placido\*<sup>2</sup>, N. van Uden\*<sup>2</sup>: **Isolation of proteolytic psychrotrophic yeasts from fresh raw seafoods**

*Lett. Appl. Microbiol.*, 14, 37~42 (1992)

大西洋産の甲殻類および魚類から *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Rhodotorula*, *Sterigmatomyces*, *Trichosporon* に属する 21 菌種 103 株の酵母を分離した。分離酵母の (1) 生育温度域、(2) 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 37, 42°C におけるタンパク質分解能、(3) 腐敗の官能試験、(4) 腐敗生成物 (TVB-N) について検討し、さらに (2)、(3)、(4) の相互の関連性について追求した。

*Candida scottii*, *Rhodotorula glutinis*, *Trichosporon pullulans* の 3 菌種は、低温域で、これに対



して *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Trichosporon cutaneum* の3菌種は、高温域で良好に生育する温度特性を示した。すべての株に、タンパク質分解能が認められた。これらの proteolytic yeasts を滅菌サバ試料に単独接種した場合、特に *C. scottii*, *Tr. cutaneum*, *Tr. pullulans*, *C. lipolytica* の4菌種は、強い腐敗臭やネトを産生し、腐敗代謝産物である揮発性塩基窒素 (TVB-N) 量が 82.6~235.0 mg/100 g と増加した。強いタンパク質分解能を示した酵母は、TVB-N 量も多く、両者の間には高い相関性が認められた。

**keyword** : psychrotroph, spoilage, yeasts

\*1 Laboratory of Medical Microbiology, The Netherlands

\*2 Gulbenkian Institute of Science, Portugal

Miyahara, M., Mise, K., Kimizuka, F.\*<sup>1</sup>, Matsumoto, H.\*<sup>2</sup> and Terawaki, Y.\*<sup>2</sup>: **Purification of restriction endonuclease EcoO128I produced by an entero-pathogenic *Escherichia coli* 128Ly3**

*Gene*, 113, 135~136 (1992)

グラム陰性菌からの制限酵素を検索しているが、その中から *Bst*EII のアイソゾマーを病原性大腸菌 O128Ly3 株より産出を検出した。大量培養後にポリエチレンイミン法にて、さらには三種のカラムを使って酵素の精製を行い、性質について検討した。この酵素を *Eco*O128I と命名した。10°C、一週間保存を行っても活性低下は見られなかった。認識切断する配列は 5'-G/GTNACC-3' であり、37°C で最大活性を示すことがわかった。*Bst*EII は 60°C で最大活性を示すので *Eco*O128I はより使いやすい酵素であると思われる。精製収量は湿重量 1 グラムで 300 ユニットの制限酵素 *Eco*O128I を得た。

**keyword** : *E. coli*, *Eco*O128I, restriction endonuclease.

\*1 宝酒造中央研究所

\*2 信州大学医学部

上田成子\*<sup>1</sup>, 桑原祥浩\*<sup>1</sup>, 安形則雄\*<sup>2</sup>, 徳丸雅一\*<sup>3</sup>, 小沼博隆, 品川邦汎\*<sup>4</sup>: **野菜類および土壌における *Bacillus cereus* と *B. thuringiensis* の分布について**

食品と微生物, 7, 177~182 (1991)

88 の野菜圃場から採取した土壌 185 検体とそこ

に生育していた作物 98 検体、およびカット野菜を含む市販野菜類 205 検体を試料として、*B. cereus* および *B. thuringiensis* の汚染実態を調べた。その結果、1) *B. cereus* が、土壌では 91% に、圃場作物では 55% に検出され、その菌数は  $10^2 \sim 10^5$  cfu/g であった。市販野菜からの *B. cereus* の検出は 20% と低く、カット野菜ではさらに低かった。2) *B. thuringiensis* は、土壌から 2 検体、圃場作物から 4 検体および市販野菜から 2 検体に検出されたのみであった。3) 分離菌株の下痢毒産生能を調べたところ、食中毒由来 *B. cereus* と同等以上ものが 37% を占めていた。また、*B. thuringiensis* にも強いものが多く見られた。

**keyword** : *B. cereus*, *B. thuringiensis*, Soil

\*1 女子栄養大学

\*2 名古屋市衛生研究所

\*3 埼玉県衛生研究所

\*4 岩手大学農学部

Tokumaru, M.\*<sup>1</sup>, Konuma, H., Umesako, M.\*<sup>2</sup>, Konno, S.\*<sup>3</sup>, Shinagawa, K.\*<sup>4</sup>: **Rates of *Salmonella* and *Campylobacter* in meats in response to the sample size and the infection level of each species**

*Int. J. Food Microbiol.*, 13, 41~46 (1991)

食肉(豚肉、牛肉)および鶏肉のサルモネラ (*Salmonella*) ならびにカンピロバクター (*Campylobacter*) の汚染実態を定性的および定量的に調べた。その結果、サルモネラは豚肉では 94 検体中 3 検体 (3.2%)、牛肉では 52 検体中 1 検体 (1.9%)、鶏肉では 286 検体中 69 検体 (24.1%) に検出された。そこで汚染率の高かった鶏肉についてサルモネラならびにカンピロバクターを定量的に調べたところ、その汚染菌数は前者ではグラム当たり 1~10 個、後者では 10~100 個のレベルであることを明らかにした。

**keyword** : incidence, infection level, sample size

\*1 埼玉県衛生研究所

\*2 奈良県衛生研究所

\*3 仙台市衛生試験所

\*4 岩手大学農学部

Matsutani, S.: **Multiple copies of IS10 in the *Enterobacter cloacae* MD36 chromosome**  
*J. Bacteriol.*, 173, 7802~7809 (1991)

染色体DNAを変性・再生後S1ヌクレアーゼで処理する方法により、*Enterobacter cloacae* MD36に存在する繰り返し配列を、2本鎖のDNA断片として分離し同定した。繰り返し配列のうちの一つは、これまで、自然界では、プラスミド上でのみ存在が確認されてきたトランスポゾン Tn10 を構成する IS10 right (IS10R) の塩基配列と全く同じであった。*E. cloacae* MD36 の染色体DNAには、以外なことに、15コピーの IS10R が見つかった。Tn10 の中央部分は、1コピー存在した。Tn10 は転移の際に9bpの重複を引き起こすが、*E. cloacae* MD36 のDNA上の IS10R の両端にも9bpの重複が存在した。これらのことは、*E. cloacae* MD36 に存在する IS10R の大部分が、IS10R 単独の転移によるものであり、Tn10 としての転移やDNAの再配列によるものではないことを示している。他の60株の細菌で IS10 の存在を調べたところ、*Shigella sonnei* HH109には9コピー、自然界から分離した2株の *Escherichia coli* にそれぞれ2コピーと4コピー、そして、*E. coli* K-12株のJM109に2コピー見い出された。*E. cloacae* MD36 と *S. sonnei* HH109 の IS10 の全 dam 部位は、メチル化されていた。Tn10 や IS10 の転移は、それらが、供与部位からいったん切り出されて新しい標的部位へ挿入される機構により起き、その際には、トランスポゾンの複製は伴わない。従って、細胞中の IS10 のコピー数は、通常、不変であると考えられる。*E. cloacae* MD36 での IS10 の蓄積は、進化上、興味深い意義をもっている。

**keyword** : evolution, IS10, transposon

Koizumi, S.\*<sup>1</sup>, Komada, H.\*<sup>1</sup>, Kato, H.\*<sup>1</sup>, Yoshino, R.\*<sup>1</sup>, Ichinoe, M. and Hayashi, N.\*<sup>1</sup>: **Isolation of wheat and barley scab pathogens from wheat and barley field soil in Japan**  
*Ann. Phytopathol. Soc. Japan*, 57, 263~267 (1991)

日本におけるムギ類赤かび病菌の土壌中での生存を確かめた。ムギ類の出穂前に全国16カ所の農業試験場のムギ類栽培圃場から土壌試料の送付を受け、これらの試料を植物残渣と土壌にわけた。これらの試料から選択培地により *Fusarium* を分離するとともに、分離菌のコムギ穂に対する病原性を調べた。16カ所中8カ所の土壌から *F. graminearum* が分離され、これらはいずれもコムギ穂に赤かび病症状

を生じた。*F. avenaceum*, *F. nivale* がそれぞれ1カ所の試料から分離され、同様に赤かび病症状を呈した。西日本地域より分離した *F. acuminatum* にもコムギ穂での病原性を認めたことを含めムギ類赤かび病菌は土壌中に生存することを確認した。

**keyword** : *Fusarium*, pathogen survival, wheat and barley scab

\*<sup>1</sup> 国立農業研究センター

Koizumi, S.\*<sup>1</sup>, Kato, H.\*<sup>1</sup>, Yoshino, R.\*<sup>1</sup>, Hayashi, N.\*<sup>1</sup> and Ichinoe, M.: **Distribution of causal Fusaria of wheat and barley in Japan**  
*Ann. Phytopathol. Soc. Japan.*, 57, 165~173 (1991)

1979~87年に全国202地点で採集したムギ類の粒あるいは赤かび病類似の穂から *Fusarium* 菌を分離・同定した。分離株と国立衛試保存菌株について開花盛期のコムギ穂に噴霧接種した。分離273菌株のうちコムギ穂に赤かび病症状を呈したのは *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. acuminatum*, *F. nivale* および *F. tricinctum* であった。コムギ穂に病原性を示す *F. graminearum* は全国各地に分布したが、*F. avenaceum* は北海道と山口県、*F. culmorum* は北海道と岩手県の試料からのみ分離された。本研究により赤かび病病原菌としてわが国では既知の *F. graminearum*, *F. avenaceum* の他にも *F. nivale*, *F. culmorum* が存在することを確認した。

**keyword** : *Fusarium* distribution, scab causal fungi, wheat and barley

\*<sup>1</sup> 国立農業研究センター

森 健\*<sup>1</sup>, 松村万喜子\*<sup>1</sup>, 江部 司\*<sup>1</sup>, 高橋まゆみ\*<sup>1</sup>, 小原共雄\*<sup>1</sup>, 稲垣正義\*<sup>1</sup>, 磯沼 弘\*<sup>1</sup>, 堀江誠一\*<sup>1</sup>, 日比谷一郎\*<sup>1</sup>, 浜本恒男\*<sup>1</sup>, 渡辺一功\*<sup>1</sup>, 池本秀雄\*<sup>1</sup>, 横山利華\*<sup>1</sup>, 横山美貴\*<sup>2</sup>, 絹巻宏\*<sup>2</sup>, 一戸正勝: **イトラコナゾールによる深在性真菌症治療例の臨床的検討**

日本医真菌学会誌, 32, 279~290 (1991)

Triazole系抗真菌剤 itraconazole (ICZ) をカンジダ症およびその疑い4例、組織侵入型アスペルギルス症およびその疑い5例、肺アスペルギローム2例、*Paecilomyces lilacinus* による角膜潰瘍1例の合計12例に投与し、その臨床効果を検討するとともに、検出された *Aspergillus fumigatus* 2株、*P.*

*lilacinus* 1株に対するICZの最少発育阻止濃度、ICZの血中濃度および喀痰中濃度を測定した。

**keyword**: aspergilloma, Candidal infection, itraconazole

\*1 順天堂大学医学部

\*2 東京大学医学部

関沢 純: IRPTC (国際化学物質有害性情報登録)/UNEP (国連環境計画)の環境化学物質データベース

水質汚濁研究, 14(7), 14~18 (1991)

当所の国際協力業務の一環として筆者がデータ提供その他を担当してきたIRPTCの有害化学物質データベースを紹介した。本データベースは環境化学物質の環境中挙動、生物影響など種々の分野にまたがる総合的な情報源である。さらに国連の強味を生かした各国の化学物質規制に関する情報源としてもユニークである。現在パーソナルコンピュータによる検索ソフトの開発が進められているが、今後環境対策の一助としてデータの一層の充実と広範な利用の推進が期待されている。

**keyword**: IRPTC, environmental chemicals, database

関沢 純: IPCS (国際化学物質安全性計画)の環境保健クライテリアにおけるリスクアセスメントから

公害研究, 21(2), 59~66 (1991)

IPCSの環境保健クライテリア(EHC)について紹介するとともに、筆者が作成を担当したEHCを中心にEHCにおけるリスクアセスメントの方法論を実例をとおして検討した。EHCの大きな役割が信頼性の高い安全性評価結果の国際的共有および、研究者、行政、市民、産業界の間のリスクコミュニケーションの基盤を与えるところにあり、現場からのフィードバックにより内容が常にアップデートされていくべきであることを論じた。

**keyword**: IPCS, risk assessment, environmental health criteria

関沢 純: 農薬用化学物質の食品経由摂取によるリスクの評価の試み

日本リスク研究学会誌, 3, 84~89 (1991)

農薬として使用されたことのある化学物質について当所が中心となり20年以上継続して分析結果に

もとづき推計している食品経由の摂取量データと、いくつかの毒性評価指標(ADIおよび発がん性の定量的評価指標)を比較しこれら化学物質の食品中残留によるリスクを推定した。推定結果につき最近の関連科学の進歩により得られている知識をもとにその意義を論じた。

**keyword**: pesticide residue, intake from food, risk assessment

Takada, K., Naito, K., Kobayashi, K.\*1, Tobe, M.\*2, Kurokawa, Y. and Fukuoka, M.: **Carcinogenic effects of bis(2,3-dibromo-propyl)phosphate in Wistar rats**

*J. Appl. Toxicol.*, 11, 323~331 (1991)

雌雄のWistarラットに防炎加工剤Tris-BPの代替物質であるbis(2,3-dibromo-propyl)-phosphate magnesium salt (Bis-BP)を80, 400および2000 ppmの濃度に混じた飼料を2年間投与して、その発癌性を検討した。その結果、雌雄の消化器系に腫瘍が高率に認められた。腫瘍は舌、食道および前胃に乳頭腫、小腸の腺癌、肝臓の腺癌であった。このことから、Bis-BPはTris-BPより強い発癌物質である可能性が示唆された。

**keyword**: bis(2,3-dibromo-propyl)phosphate, flame retardant, GI tract tumor

\*1 食品農薬品安全性評価センター

\*2 メディカル・ビュー

Umamura, T., Takada, K., Ogawa, Y., Kamata, E., Saito, M. and Kurokawa, Y.: **Sex difference in inhalation toxicity of p-dichlorobenzene (p-DCB) in rats**

*Toxicol. Letters*, 52, 209~214 (1990)

p-DCB(500 ppm)を全身暴露チャンバーを用いて雌雄のラットに24時間吸入暴露し、臓器内蓄積量および毒性影響を比較検討した。暴露期間中および暴露終了後24時間後までの血清、肝臓、腎臓および腎臓周囲体脂肪中のp-DCB濃度をガスクロマトグラフィーにより測定した。血清中の濃度は雌雄間に差は認められなかったが、雌の肝臓中の濃度は雄に比べて有意の高値を示し一方、腎臓中濃度は雄が有意の高値を示した。これらの結果は腎障害が雄においてのみ認められ、軽度ではあるが肝障害が雌においてのみ認められた毒性結果と一致した。

**keyword**: p-dichlorobenzene, inhalation, sex

difference

Umemura, T., Sai, K., Takagi, A., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **The effects of exogenous glutathione and cysteine on oxidative stress induced by ferric nitrilotriacetate**

*Cancer Lett.*, 58, 49~56 (1991)

鉄NTAにより引き起こされる酸化障害に対するグルタチオンおよびシステインの影響をラットを用いて検討した。鉄NTA投与により腎臓中のグルタチオン量が減少し、グルタチオンおよびシステインの投与が腎DNA中の8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成を抑制した。この事から鉄NTAにより引き起こされる障害に活性酸素の関与が疑われた。一方、腎脂質過酸化はグルタチオンによってのみ抑制された事から、鉄NTA投与により生じる脂質過酸化とDNAの酸化障害は異なる経路で引き起こされる可能性が示唆された。

**keyword**: ferric nitrilotriacetate, 8-hydroxydeoxyguanosine, oxidative stress

Budroe, J. D.\*, Umemura, T., Angeloff, K.\* and Williams, G. M.\*: **Dose-response relationships of hepatic acyl-CoA oxidase and catalase activity and liver mitogenesis induced by the peroxisome proliferator ciprofibrate in C57BL/6N and BALB/c mice**

*Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 113, 192~198 (1992)

Ciprofibrateを雄のC57BL/6NおよびBALB/cマウスに0.1から250ppmまでの濃度で飼料に混じて投与し、肝臓内のacyl-CoAおよびcatalase活性、肝重量および細胞分裂率を測定した。C57BL/6Nのacyl-CoA活性はBALB/cのそれより高い値を示したが、catalase活性および細胞増殖誘導率では逆に低い値となった。過酸化水素生成に関わる酵素誘導と細胞増殖との相関は認められなかった。

**keyword**: ciprofibrate, mouse peroxisomal enzyme, cell proliferation

\* American Health Foundation, U.S.A.

Matsumoto, K.\*, Ochiai, T., Sekita, K., Uchida, O., Furuya, T. and Kurokawa, Y.: **Chronic toxicity of 2,4,6-Tri-tert-butylphenol in rats**

*J. Toxicol. Sci.*, 16, 167~179 (1991)

2,4,6-Tri-tert-butylphenol (TTBP)のラットによる慢性毒性試験を行った。0, 30, 100, 300および1000ppm TTBP添加ラット用飼料を1群雌雄各40匹からなる5群のWistar系ラットに24ヶ月間与え、6, 12, 18, および24ヶ月目に各種の検査を行った。

その結果、軽度の小球性貧血、肝機能障害、肝臓の巣状壊死が観察され、これらの変化は雄より雌の方が強い傾向にあった。しかし、腫瘍を含め増殖性病変の発生は認められなかった。また、30ppm群ではなんらの変化も見られなかった。

以上のことから、TTBPはラットに対して小球性貧血を伴う、巣状壊死による肝臓障害を誘発するものと結論された。

**keyword**: 2,4,6-tri-tert-butylphenol, hepatotoxicity, chronic toxicity

\* 信州大学医学部

落合敏秋: **覚せい剤代謝に及ぼすエタノールの影響に関する研究**

日法医誌, 46, 32~48 (1992)

覚せい剤(塩酸メタンフェタミン)の代謝にエタノールが及ぼす影響の有無を明らかにするために、雄カニクイザルに覚せい剤とエタノールを1回同時投与またはエタノール4週間連続投与後覚せい剤を投与して、覚せい剤単独投与の場合と血中および尿中の覚せい剤および代謝物濃度を比較した。血中メタンフェタミンの半減期がエタノール投与により短縮する傾向が認められ、代謝物のひとつであるアンフェタミンの血中濃度は低下した。さらに代謝物であるパラヒドロキシメタンフェタミンおよびパラヒドロキシアンフェタミン濃度がエタノールとの1回投与では血中および尿中ともに減少したのに対して、エタノール連続投与後では逆に増加することが認められ、エタノールとの1回同時投与は覚せい剤の代謝を抑制し、連続投与では促進することが明らかになった。

**keyword**: methamphetamine metabolism, crab-eating monkeys, ethanol

関田清司: **スミチオン中毒に対するPAMの有効性に関する実験的研究**

日法医誌, 46, 14~31 (1992)

有機リン系殺虫剤スミチオン(化学名 Fenitrothi-

on, FNT) による致死性急性中毒に対する 2-pyridine aldoxime methiodide (PAM) の有効性を検討する目的で、マウスおよびビーグル犬を用いて実験を行った。FNT の致死性急性中毒に対し PAM は延命効果および救命効果を有しすることが明らかとなった。また、FNT のコリンエステラーゼ阻害に付随するムスカリン様作用の症状に対する PAM の抑制効果が延命および救命効果に重要な役割を演じていることが明らかとなった。

**keyword** : fenitrothion poisoning, ChE activity, PAM

小川幸男, 鈴木幸子, 千葉百子\* : 希土類元素の強制経口投与による胃組織中の元素に及ぼす影響  
*Biomed. Res. Trace Elements*, 2, 167~168 (1991)

希土類元素 (ランタン, イットリウム, ユービウム, ガドリニウム) をラットに一回強制経口投与し, 胃組織中の投与元素および必須元素濃度への影響を検討した。投与元素は胃組織中から高濃度に検出され, 同時にカルシウム, マンガン, 亜鉛濃度の増加が認められた。

**keyword** : rare earth metal, stomach, calcium

\* 順天堂大学医学部

鈴木幸子, 小川幸男, 岸洋子\*<sup>1</sup>, 千葉百子\*<sup>2</sup> : 希土類元素の強制経口投与によるラット大腿骨の元素に及ぼす影響

*Biomed. Res. Trace Elements*, 2, 157~158 (1991)

希土類元素 (ランタン, イットリウム) をラットに 28 日間強制経口投与後およびさらに 2 週間の回復期間後, 大腿骨中ランタン, イットリウムの蓄積量および骨成分元素であるバリウム, カルシウム, 鉄, マグネシウム, ナトリウム, リン, 硫黄, ストロニウム濃度を測定した。投与元素は用量に依存して骨に蓄積され, イットリウムはランタンより多く蓄積した。骨中のバリウムおよびストロニウム濃度の減少, 亜鉛濃度の増加が認められた。

**keyword** : rare earth metal, bone, accumulation

\*<sup>1</sup> 横河電機株式会社

\*<sup>2</sup> 順天堂大学医学部

岸 洋子\*, 鈴木幸子 : ICP-MS による希土類元素の分析

*Biomed. Res. Trace Elements*, 2, 83~84(1991)

従来, 希土類元素の分析法として誘導結合プラズマ発光分光法が多く用いられているが, 生体サンプルのようにマトリックス量が多く, サンプルを少量しか採取できないものについては, 感度に問題が生じている。そこで, 生体中の希土類元素のトレースに誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) を用い, 検討した。ランタン, イットリウムをラットに 28 日間強制経口投与し, その肝臓, 腎臓, 脾臓および大腿骨中の投与元素濃度を測定した。骨のようにマトリックスの多いものでも, 影響を受けずに定量が可能であった。投与元素は用量に依存して各臓器に蓄積され, ランタンは肝臓に, イットリウムは骨, 次いで腎臓に多く蓄積した。

**keyword** : ICP-MS, lanthanum, yttrium

\* 横河電機株式会社

Ohshima, H.\*, Tsuda, M.\*, Adachi, H.\*, Ogura, T.\*, Sugimura, T.\* and Esumi, H.\* : L-Arginine-dependent formation of N-nitrosamines by the cytosol of macrophages activated with lipopolysaccharide and interferon- $\gamma$

*Carcinogenesis*, 12, 1217~1220 (1991)

リポポリサッカライドおよびインターフェロン- $\gamma$  存在下で活性化したマクロファージ (J 774, 1 細胞) から得た細胞質画分によるニトロソ化反応の促進作用を検討した。本細胞画分は L-アルギニンおよび NADPH の共存下で, 種々の二級および三級アミンのニトロソ化を触媒した。このニトロソ化反応は N-メチル-L-アルギニンおよび N-ニトロ-L-アルギニンにより阻害された。このことより L-アルギニンを基質とする一酸化窒素合成酵素の関与が示された。一酸化窒素捕捉剤であるオキシヘモグロビンおよびスーパーオキシサイド デイスミュテースの影響についても検討を加えた。

**keyword** : activated macrophages, nitric oxide synthase, N-nitrosation

\* 国立がんセンター研究所

Sai, K., Umemura, T., Takagi, A., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: The protective role of glutathione, cysteine and vitamin C against oxidative DNA damage induced in rat kidney by potassium bromate

*Jpn. J. Cancer Res.*, 83, 45~51 (1992)

ラット腎発癌剤である臭素酸カリウム ( $\text{KBrO}_3$ ) の投与により生成する8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OH-dG) に対する抗酸化剤投与の影響を検討した。その結果、 $\text{KBrO}_3$  投与による腎の8-OH-dG および過酸化脂質レベルの上昇はグルタチオン (GSH) の処置により効果的に抑制され、一方、GSH の枯渇剤であるジエチルマレートの前処置で無作用量の  $\text{KBrO}_3$  投与においても両者のレベルの上昇がみられた。さらにシステインおよびビタミンCの処置によっても有意な抑制効果が認められた。以上より、 $\text{KBrO}_3$  による腎の酸化的DNA傷害の防御に細胞内GSHが重要であることが明らかとなった。

**keyword** : potassium bromate, 8-hydroxydeoxyguanosine, glutathione

Sai, K., Uchiyama, S., Ohno, Y., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Generation of active oxygen species in vitro by the interaction of potassium bromate with rat kidney cell**

*Carcinogenesis*, 13, 333~339 (1992)

ラット腎発癌剤臭素酸カリウム ( $\text{KBrO}_3$ ) が腎細胞に作用することにより生成する活性酸素種を *in vitro* でのESRおよびケミルミネッセンスの測定により推定した。DMPOを用いたESR測定により、 $\text{KBrO}_3$  と腎細胞との作用でDMPO-OHが生成し、この生成はスカベンジャーの作用様式から一重項酸素由来であることが予想され、さらにTEMPを用いたESRおよびケミルミネッセンス測定により $^1\text{O}_2$ の生成が確認された。また、DMPO-OHは一般的な $^1\text{O}_2$ 発生系で生成することも明らかとした。したがって、 $\text{KBrO}_3$  と腎細胞との反応で生成する活性酸素種は $^1\text{O}_2$ である可能性が最も高いことが示唆された。

**keyword** : potassium bromate, ESR, chemiluminescence

Tanaka, S., Kawashima, K., Naito, K., Usami, M., Nakadate, M., Imaida, K., Takahashi, M., Hayashi, Y., Kurokawa, Y. and Tobe, M.: **Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test (OECD): Familiarization Using Cyclophosphamide.**

*Fundl. Appl. Toxicol.*, 18, 89~95 (1992)

OECD 反復投与毒性および生殖発生毒性スクリーニング試験法の有用性について、毒性既知のシクロホスファミド (CP) を用いて検討した。CPは0, 2, 3, 4, 5あるいは6.7 mg/kgを1群雌雄各12匹の8週齢Sprague-Dawleyラットに毎日強制経口投与した。

体重および摂餌量の有意な低下が雄の6.7 mg/kg および雌の全CP用量で認められた。雌の3, 4, 5および6.7 mg/kg群でそれぞれ1, 3および12匹が妊娠期間中に死亡した。雄では6.7 mg/kgで2匹が死亡した。白血球数の減少および貧血がCP投与群で認められた。病理組織学的検査において、胸腺、脾臓および骨髄の萎縮が認められた。生殖発生毒性について、CP投与群で胚の着床後損失および新生児死亡の用量依存的な増加が認められ、新生児の体重が有意に低値であった。本実験において、CPの催奇形性および授胎能に対する悪影響は検出されなかったが、CPについて報告されている反復投与毒性および生殖発生毒性の殆どのが検出された。したがって、ReproToxは高生産量既存化学物質の反復投与毒性及び生殖発生毒性のためのスクリーニング試験法として有用であると考えられた。

**keyword** : OECD, reproTox, familiarization study

Fukuhara, M.\*<sup>1</sup>, Nagata, K.\*<sup>1</sup>, Mizokami, K., Yamazoe, Y.\*<sup>2</sup>, Takanaka, A. and Kato, R.\*<sup>2</sup>: **Complete cDNA sequence of a major 3-methylcholanthrene-inducible cytochrome P-450 isozyme (P-450<sub>AFB</sub>) of Syrian golden hamsters with high activity toward aflatoxin B<sub>1</sub>**

*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 162, 265~272 (1989)

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臓から精製したP-450分子種 (P-450<sub>AFB</sub>) はアフラトキシンを特異的に活性化する。このP-450<sub>AFB</sub>の完全なcDNA構造を明らかにした。

**keyword** : P-450 isozyme, hamster, cDNA

\*<sup>1</sup> 国立公衆衛生院

\*<sup>2</sup> 慶応義塾大学医学部

Fukuhara, M.\*, Mizokami, K., Sakaguchi, M.\*, Niimura, Y.\*, Kato, K.\*, Inouye, S.\* and Takanaka, A.: **Aflatoxin B<sub>1</sub>-specific cytochrome**

**P-450 isozyme (P-450<sub>AFB</sub>) inducible by 3-methylcholanthrene in golden strain of hamsters**

*Biochem. Pharmacol.* 39, 463-469 (1990)

アフラトキシシン B<sub>1</sub> に特異性の高い P-450 分子種 (P-450<sub>AFB</sub>) がシリアンゴールデンハムスターでメチルコラントレンにより誘導を受けることを示した。  
**keyword** : P-450 isozyme, aflatoxin B<sub>1</sub>, induction

\* 国立公衆衛生院

**Ohno, Y., Hirota, K., Kawanishi, T. and Takanaka, A.: Loss of viability after disulfiram treatment without preceding depletion of intracellular GSH**

*J. Toxicol. Sci.* 15, 63-73 (1990)

ジスルフィラムを遊離肝細胞懸濁液に添加すると一過性に細胞内 GSH が低下するが、その後 GSH 含量は急速に回復し、また徐々に低下していくという 3 相の変化を示した。このジスルフィラムの添加直後の GSH 低下は GSSG の増加を伴っていた。また、これが約 5 nmol/106 cells 以下になった場合には約 1 時間後から細胞の viability が低下したが、細胞内 GSH がそれ以下に低下しなかった場合には viability の低下は全く認められなかった。2 相目の GSH の回復は GSSG の減少と対応しており、また、BCNU で抑制されることから、GSH reductase の関係するものと思われた。

**keyword** : disulfiram, isolated hepatocytes, glutathione

**Nakazawa, K., Fujimori, K., Takanaka, A. and Inoue, K.: Comparison of adenosinetriphosphate- and nicotine-activated inward currents in pheochromocytoma cell**

*J. Physiol. (London)*, 434, 647-660 (1991)

ATP によって惹起される内向き電流の性質とニコチン受容体刺激によって惹起される電流とを PC 12 細胞において比較した。その結果、両者はきわめてよく類似しており、活性化されるカチオンチャンネルはポピュレーションが重なっている可能性が指摘された。しかしながら、イオン選択性ならびにアゴニスト結合部位は明らかに異なる。この報告は ATP 受容体がニコチン受容体ときわめて密接な機能連関にあることを示す画期的なものである。

(付記: この報文では、雑誌社の手違いにより誤った図が掲載されたため、後日、'Erratum' にて訂正した; *J. Physiol. (London)*, 440, 771 (1991).)

**keyword** : ATP, nicotine, PC12

**Nakazawa, K., Inoue, K., Fujimori, K. and Takanaka, A.: Effects of ATP antagonists on purinoceptor-operated inward current in rat pheochromocytoma cells**

*Pflügers Arch. (Europ. J. Physiol.)*, 418, 214-219 (1991)

ATP 誘発電流抑制作用を示す薬物 3 種類を用い、それらの作用機序を比較検討した。その結果、P<sub>2Y</sub> 受容体ブロッカーであるスラミンとリアクティブブルー 2 はいずれも受容体部位において ATP に対して競合的に拮抗すること、d-ツボクラリンはチャンネル部位でイオンの流入を阻害することが示された。ATP 受容体のブロッカーに関してはあまり研究が進んでいないのでこれらの知見は基礎的情報として重要である。

**keyword** : ATP, ATP receptor blockers, d-tubocurarine

**井上和秀, 中沢憲一, 綿野智一, 藤森親之助, 高仲 正: ATP 受容体刺激によるドーパミン放出と膜電位依存性 Ca チャンネル抑制**  
 神経化学, 30, 160-161 (1991)

ATP 受容体刺激によって PC 12 細胞からドーパミン放出が生じるが、その機序の中で同時に惹起される膜電位の脱分極の関与がなぜ無いのかが不明であった。今回の検討により Ca 依存性 Ca チャンネル抑制の可能性が示唆された。すなわち、ATP 刺激によりカチオンチャンネルを介して流入した Ca はドーパミンを放出する一方で、膜電位依存性 Ca チャンネルを抑制し、その結果 ATP により脱分極が生じても Ca チャンネルは活性化されず、したがってドーパミン放出に膜電位依存性 Ca チャンネルは寄与しないことになる。このように、この報告はこれまで不可解であった事柄の一つ明らかにした。

**keyword** : ATP, voltage-dependent Ca channel, dopamine release

**Nakazawa, K., Inoue, K., Ohara-Imaizumi, M., Fujimori, K. and Takanaka, A.: Inhibition of Ca-channels by diazepam compared with that**

### by nicardipine in pheochromocytoma PC12 cells

*Brain Res.*, 553, 44~50 (1991)

最近、マイナートランキライザーのジアゼパムが、ニカルジピン等ジヒドロピリジン誘導体同様に膜電位依存性 Ca チャネルを抑制することが知られてきた。そこで、PC 12 において両者の作用を比較検討した。その結果両者とも脱分極ステップ誘発 Ca 電流を抑制するが、両者の結合部位は異なることが示唆された。これらの知見はマイナートランキライザーの新しい作用機序を提案するという点で非常に興味あるものである。

**keyword** : voltage-gated Ca channel, diazepam, nicardipine

### Ohara-Imaizumi, M., Nakazawa, K., Obama, T., Fujimori, K., Takanaka, A. and Inoue, K.: Inhibitory action of benzodiazepines on dopamine release from PC12 pheochromocytoma cells

*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 259, 484~489 (1991)

最近、マイナートランキライザーのジアゼパムが、ニカルジピン等ジヒドロピリジン誘導体同様に膜電位依存性 Ca チャネルを抑制することが知られてきた。これは神経伝達物質放出を抑制しうること示唆していると考えられたので、PC 12 細胞を用いてカテコールアミン放出に対するベンゾジアゼピン類の影響を検討した。その結果、ベンゾジアゼピン受容体のうち、いわゆる末梢型ベンゾジアゼピン受容体アゴニストが脱分極刺激誘発ドーパミン放出を抑制することが明らかとなった。この報告は、これまで不明であった末梢型ベンゾジアゼピン受容体のシナプス伝達における生理機能の解明に貢献するものである。

**keyword** : peripheral typed-benzodiazepine receptor, catecholamine release, PC 12

### 高島明彦\*<sup>1</sup>, 井上和秀, Kenimer, J. G.\*<sup>2</sup> : PC12 細胞におけるムスカリン受容体を介したノルアドレナリン放出と PI 代謝

*神経化学*, 30, 200~201 (1991)

PC 12 細胞ではムスカリン受容体を刺激することによりノルアドレナリンを放出する一方で、PI 代謝回転が高まる。これらの作用はこれまで同一の受容体を介するものと考えられていたが、両反応を詳

細に検討した結果、両反応は同時に起こる現象であるが、それぞれを司る受容体サブクラスは互いに異なることが示された。この報告は、ムスカリン受容体のシナプス伝達における新しい機能とその機序を説明する上で重要な知見である。

**keyword** : muscarinic receptor, noradrenarine release, PI response

\*<sup>1</sup> 三菱化成生命科学研究所

\*<sup>2</sup> 米国 FDA

### Nakazawa, K., Watano, T., Ohara-Imaizumi, M., Inoue, K., Fujimori, K., Ozaki, Y., Harata, M. and Takanaka, A.: Inhibition of ion channels by hirsutine in rat pheochromocytoma cells

*Japan. J. Pharmacol.*, 57, 507~515 (1991)

漢方薬で高血圧等の処方で使用される釣藤鈎に含まれる成分にヒルスチンがあるが、この薬理作用についてはあまりよく検討されていない。そこで PC 12 細胞を用い、電気生理学および生化学的検討を行った。その結果、ヒルスチンはニコチン受容体刺激によるカテコールアミン放出ならびに内向き電流を用量依存的に抑制した。また、それに対するよりも高濃度では膜電位依存性 Ca チャネル活性をも阻害した。これらの結果は、ヒルスチンの薬理作用の一端を説明するものと考えられた。

**keyword** : hirstine, nicotinic receptor, voltage-gated Ca channel

### Eki, T.\*<sup>1</sup>, Enomoto, T.\*<sup>1</sup>, Masutani, C.\*<sup>1</sup>, Miyajima, A., Takada, R.\*<sup>1</sup>, Murakami, Y.\*<sup>2</sup>, Ohno, T.\*<sup>2</sup>, Hanaoka, F.\*<sup>2</sup>, Ui, M.\*<sup>1</sup>: Mouse DNA primase plays the principal role in determination of permissiveness for polyomavirus DNA replication

*J. Virology*, 65, 4874~4881 (1991)

ポリオーマウイルス (PyV) の宿主特異性を規定していると考えられる DNA 複製の許容因子について、PyV 無細胞複製系を用いて検討した。PyV の宿主であるマウスおよびハムスター細胞の粗抽出液は、PyV 複製系において DNA 複製活性を示したが、ヒト、サルおよび昆虫細胞の粗抽出液は複製活性を示さなかった。PyV large T 高原、非許容細胞 (ヒト、昆虫) の粗抽出液からなる PyV 複製系に、マウス細胞より精製した DNA ポリメラーゼの



$\alpha$ -プライマーゼを加えると、複製活性が得られた。また、マウス DNA プライマーゼは、ヒト細胞粗抽出液からなる系に、単独で複製活性を示したが、昆虫細胞の系には複製活性を示さなかった。以上のことから、PyV の宿主特異性の決定因子として、マウス DNA プライマーゼが重要な役割を果たしていることが示唆された。

**keyword** : DNA primase, DNA replication

\*1 東京大学薬学部

\*2 理化学研究所

Inoue, K., Nakazawa, K., Fujimori, K., Watano, T. and Takanaka, A.: **Extracellular adenosine 5'-triphosphate-evoked glutamate release in cultured hippocampal neurons**

*Neuroscience Lett.*, **134**, 215~218 (1992)

ATP の中枢神経系における生理的意義はほとんど不明である。そこで、ラット海馬神経細胞培養系を用いて電気生理学的手法により、ATP の作用を検討した。その結果、ATP は  $P_{2Y}$  様受容体を刺激し 2 種類の内向き電流を惹起した。そのうち持続的な比較的小さな内向き電流は直接的作用、一過性の大きな電流は間接的作用によると考えられた。後者はグルタミン酸の放出を介する反応であることが薬理的に証明された。これらの結果は ATP が中枢神経系において、神経伝達物質として働く可能性、ならびに老人性痴呆等の記憶・記憶障害の発症原因とも考えられている興奮性神経細胞毒性を惹起する可能性をしめすものとして非常に重要である。

**keyword** :  $P_{2Y}$  receptor, hippocampus, glutamate release

Fujimori, K., Inoue, K., Nakazawa, K., Maekawa, A., Shibutani, M., Takanaka, A.: **Neurochemical and histological analysis of motor dysfunction observed in rats with methyl-nitrosourea-induced experimental cerebellar hypoplasia**

*Neurochem. Res.*, **17**, 223~231 (1992)

メチルニトロソウレアによる運動機能障害の発症機序について、ラットを用いて神経化学的および組織化学的検討を加えた。その結果、メチルニトロソウレア投与により、小脳の神経細胞に萎縮等形態的な障害が強く認められ、その結果機能障害が惹起される可能性が示された。

**keyword** : methylnitrosourea, cerebellum, motor dysfunction

Takeo, S.\*, Taguchi, T.\*, Tanonaka, K.\*, Miyake, K.\*, Horiguchi, T.\*, Takagi, N.\* and K. Fujimori: **Sustained damage to energy metabolism of brain regions after microsphere embolism in rats**

*Stroke*, **23**, 62~68 (1992)

直径 48  $\mu$ m のマイクロスフェア、900 個をラット右内頸動脈に注入し、持続的虚血ラットを作成した。持続的虚血後の(発作)行動スコアおよび海馬を含むラットの脳各部位における ATP、クレアチン磷酸、グルコース、グリコーゲンの経日的変動を 28 日間検討したマイクロスフェア塞栓 1 日後から、右半球の大脳皮質、線条体、海馬において、乳酸の増加と ATP およびクレアチン磷酸の低下が始まり、その変化は 3 日後に最大を示した。以後、徐々に偽手術群に近付き、7 日目には平衡に達したが、有意な変動が 28 日まで続いた。左側も同様変化を示したが、変化の度合いは右脳より小さく、7-14 日目には偽手術群との間に差は無くなった。一方、発作行動スコアは塞栓 1 日後が最大で、以後徐々に低下した。塞栓性虚血は脳に広範囲で、持続的なエネルギー代謝の障害を引き起こす。

**keyword** : brain, ischemia, energy-metabolism

\* 東京薬科大学

Guo, X-B., Ohno, Y., Kawanishi, T., Sunouchi, M. and Takanaka, A.: **Indium inhibits gap junctional communication between rat hepatocytes in primary culture**

*Toxicology letters*, **60**, 99~106 (1992)

微小ガラスピペットを用い、ラットより調製した初代培養肝細胞内に蛍光色素を注入し、その隣接細胞への移動を指標として、gap junction を介した細胞間連絡に対するインジウムの影響を検討した。インジウムは細胞膜の機能やミトコンドリアの機能に影響せず、細胞毒性の認められない用量で細胞間連絡を抑制し、gap junction を構成する蛋白に選択的に作用する可能性が示唆された。

**keyword** : gap junction, indium, cell to cell communication

Ushijima, T.\*<sup>1</sup>, Tsutsumi, M.\*<sup>2</sup>, Sakai, R.\*<sup>3</sup>,

Ishizaka, Y.\*<sup>1</sup>, Takaku, F.\*<sup>3</sup>, Konishi, Y.\*<sup>2</sup>, Takahashi, M., Sugimura, T.\*<sup>1</sup> and Nagao, M.\*<sup>1</sup>: **Ki-ras activation in pancreatic carcinomas of syrian hamsters induced by N-Nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine**

*Jpn. J. Cancer Res.*, 82, 965~968 (1991)

膵発癌物質である N-ニトロソビス(2-ヒドロキシプロピル)アミンによって発生するシリアンゴールデンハムスターの膵管癌の4例にコドン12と13に Ki-ras オンコジーンの活性が認められた。Ki-ras ジーンの変異は、検索した5例のうち4例にポリメラーゼ鎖反応と直接 sequencing 法によって証明された。いずれもその変異はコドン12の第2部位の G が A の変化したもので、アミノ酸レベルの変化でグリシンがアスパル酸に変化していた。この変異は既に報告されている N-ニトロソビス(2-オキソプロピル)アミンによってハムスターに生ずる膵管癌に認められたものと同じであった。

ほとんどのヒトの膵臓癌は膵管由来で、しばしば Ki-ras の活性が認められているが、直接 sequencing 法による証明は多くない。その理由として原因物質の違いや膵臓癌の発育段階の差が考えられるが、これらを明確にする上で動物モデルによる検討が一助となる。

**keyword** : Ki-ras, BHP, pancreatic carcinoma

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター

\*<sup>2</sup> 奈良県立医科大学

\*<sup>3</sup> 東京大学

Miyakawa, Y.\*, Nishi, Y.\*, Kato, K.\*, Sato, H., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Initiating activity of eight pyrolysates of carbohydrates in a two-stage mouse skin tumorigenesis model**

*Carcinogenesis*, 12, 1169~1173 (1991)

12-O-テトラデカノイルフォルボール-13-アセテート (TPA) をプロモーターとして用いたマウス二段階皮膚発癌モデルを用いて8種の炭水化物熱分解物のイニシエーション作用を検討した。熱分解物としてレボグルコサン、レボグルコセノン、フルフラール、5-(ヒドロメチル)フルフラール、グリオキサール、メチルグリオキサール、3-デオキシ-D-グルコサンおよびチアゾリジンを、陽性対照として7,12-ジメチルベンズアントラセンを用いた。その結果、熱分化物単独では腫瘍の発生は認められな

かったのに対し、レボグルコサン、レボグルコセノン、フルフラールおよびチアゾリジン処置後、TPA を処置した群では有意な腫瘍発生頻度の増加が認められ、これらの熱分解物がプロモーション作用を有することが示された。

**keyword** : pyrolysates of carbohydrates, TPA, skin tumorigenesis

\* 日本たばこ

Takahashi, M., Imaida, K., Furukawa, F. and Hayashi, Y.: **Inhibitory effects of soybean trypsin inhibitor during initiation and promotion phases of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced hamster pancreatic carcinogenesis** *Chemically Induced Cell Proliferation*: pp145~154 (1991)

大豆トリプシンインヒビター (SBTI) をラットに摂取させると、膵腺房細胞を刺激し、肥大、増殖をもたらす。長期間投与を続けると膵腺房細胞腫瘍を発生させる。さらに、HAQO をイニシエーション処置してから SBTI を投与すると、前癌病変である好酸性増殖巣が多く発生し、その後膵腺房細胞腫瘍の発生に至る。

一方、ハムスターの膵管癌の発生に対しては異なった作用を示す。SBTI をハムスターに4週間投与し、その間に BOP を投与すると膵管由来の異形成と癌の発生を抑制する。また、BOP を投与してからプロモーション時期に SBTI を投与すると異形成の発生を抑制するほか、膵臓組織に認められる萎縮と脂肪性置換を抑制する。

ヒトの膵臓癌はほとんどが膵管由来であり、ハムスターの膵臓癌と類似しており、SBTI の作用はこれらの発癌過程での修飾と類似するものと思われる。

**keyword** : soybean trypsin inhibitor, BOP, pancreatic carcinogenesis

Imaida, K., Yoshida, J., Uneyama, C., Ogasawara, H., Imazawa, T. and Hayashi, Y.: **Dose-dependent enhancing effects of quinacrine on induction of preneoplastic glutathione S-transferase placental form positive liver cell foci in male F344 rats**

*Carcinogenesis*, 12, 1911~1915 (1991)

抗マラリア剤である quinacrine の肝前癌病変誘発に与える影響を *in vivo* での短期検索法を用いて

調べた。6週齢の雄F344ラットに *N*-nitrosodiethylamine (DEN) 200 mg/kg を腹腔内投与し、2週間後から20, 100, 500 ppm の quinacrine を含む飼料で飼育した。DEN 投与3週間後に2/3肝部分切除を行い、8週で屠殺、解剖し、胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST-P) を指標として肝の前癌病変を検索した。単位面積当たりの GST-P 陽性細胞巢の数および面積は DEN/quinacrine 500 ppm 群で DEN 単独群より有意に増加し、DEN/quinacrine 100 ppm 群でも増加傾向を認めた。quinacrine 20 ppm では対照群と差はなく、quinacrine 500 ppm 単独では病変は見られなかった。さらに電子顕微鏡により quinacrine が用量依存的に肝細胞の脂質封入体を増加させることを示した。

**keyword** : quinacrine, GST-P, rat liver

Maekawa, A.\*, Matsushima, Y., Onodera, H., Shibutani, M., Yoshida, J., Kodama, Y., Kurokawa, Y. and Hayashi, Y.: **Long-term toxicity/carcinogenicity study of calcium lactate in F344 rats**

*Food Chem. Toxicol.*, 29, 589~594 (1991)

食品添加物の一つである乳酸カルシウムについて、F344ラットを用いてその長期毒性・癌原性を検討した。乳酸カルシウムは0 (対照群)、2.5 または5% の濃度で蒸留水に溶解し、飲料水として生後6週齢より2年間、毎日自由に摂取させた。その結果、乳酸カルシウムには癌原性はもちろん、その長期投与に起因するいずれの毒性も認められなかった。

**keyword** : Calcium lactate, F344 rat, Toxicity/carcinogenicity

\* 佐々木研究所

Furukawa, F., Imaida, K., Okamiya, H., Shinoda, S., Sato, M., Imazawa, T., Hayashi, Y. and Takahashi, M.: **Inhibitory effects of soybean trypsin inhibitor on induction of pancreatic neoplastic lesions in hamsters by *N*-nitrosobis(2-oxopropyl)-amine**

*Carcinogenesis*, 12, 2123~2125 (1991)

*N*-nitrosobis(2-oxopropyl)-amine (BOP) 膵二段階発癌モデルにおけるイニシエーション時期に soybean trypsin inhibitor (SBTI) を同時に投与し膵癌発生に対する影響を検索した。実験は雌シリ

アンハムスターに10 mg/kg 体重量の BOP を背部皮下に週1回合計5回投与し、それとほぼ同時期に5% SBTI 含有粉末飼料を5週間与えた (BOP+SBTI)。その他に同様の処置を行った BOP 投与のみの群 (BOP 群)、SBTI のみの群 (SBTI 群) を設け、実験は30週間で終了した。BOP+SBTI 群は BOP 群に比し、異形成総数で有意に減少し、膵癌総数では減少傾向を示した。また、膵癌および異形成の発生率の減少傾向が認められた。さらに、膵外分泌腺に対する BOP の毒性変化を外分泌の萎縮の程度を指標にして検索した結果、BOP の毒性に対し SBTI は保護作用を有することが明らかとなった。

**keyword** : SBTI, BOP, pancreatic carcinogenesis

Sato, M., Shinoda, M., Furukawa, F., Imazawa, T., Yoshimura, H., Mitsumori, K. and Takahashi, M.: **Sequential pathological study of spontaneous testicular degeneration in WBN/Kob rats**

*J. Toxicol. Pathol.*, 4, 165~173 (1991)

自然発生糖尿病ラットである WBN/Kob ラットの精巣における組織学的変化を、7週齢から60週齢まで継時的に検索した。精細管の高度な萎縮は最初に15週齢の2/5例に観察された。初期には萎縮精細管が数個の小集団を形成しているにすぎなかったが、週齢の進行に伴い精細管の萎縮が精巣全体に広がり、40週齢以降では、全精細管のおよそ90% が高度な萎縮性変化を示すに到った。この萎縮性変化は精細胞の消失、基底膜の肥厚を伴った精細管径の減少、軽度な Leydig 細胞の増生に特徴付けられた。BrdU 陽性精細胞数は週齢の進行に伴い減少した。ランタントレーサー法を用いた電子顕微鏡的観察において、Sertoli 細胞間の tight junction により形成されている血液-精巣関門は高度萎縮精細管においても保たれていた。本研究において、WBN/Kob ラット精巣に自然発生する萎縮性病変は糖尿病の発症 (40週齢以降) 前の若齢から認められ、糖尿病との関連性はないものと結論された。

**keyword** : testis, spontaneous degeneration, WBN/Kob rats

Imaida, K., Furihata, C.\*<sup>2</sup>, Tatematsu, M.\*<sup>1</sup>, Yoon, C. H.\*<sup>2</sup>, Furukawa, F., Uneyama, C., Takahashi, M., Ito, N.\*<sup>1</sup> and Hayashi, Y.: **Im-**

**munohistochemical and biochemical identification of pepsinogen isozymes in the hamster lungs: Induction by polychlorinated biphenyls**  
*Toxicol. Pathol.*, **19**, 230~236 (1991)

シリアンゴールデンハムスターの肺組織中にペプシノーゲンイソ酵素の存在を確認した。ラットペプシノーゲン1抗体を用いた免疫組織化学により終末細気管支上皮のClara細胞と思われる細胞がペプシノーゲン陽性であることを示した。この肺組織中のペプシノーゲンイソ型は胃粘膜のものと同じであることをポリアクリルアミドゲル電気泳動によって確認した。またハムスターに500 mg/kgのpolychlorinated biphenyls (PCB)を投与するとペプシノーゲン陽性細胞の数が増加すると共に肺のペプシノーゲン含量が2.8倍に増加することを明らかにした。

**keyword** : hamster, lung, pepsinogen

\*1 名古屋市立大学医学部

\*2 東京大学医科研

Takahashi, M., Hasegawa, T.\*, Furukawa, F., Okamiya, H., Shinoda, K., Imaida, K., Toyoda, K. and Hayashi, Y.: **Enhanced lipid peroxidation in rat gastric mucosa caused by NaCl**  
*Carcinogenesis*, **12**, 2201~2204 (1991)

NaCl投与によるWistarラットの胃粘膜および尿中の過酸化脂質量への影響を検討した。実験はラットに4.0%, 2.0%, 1.0%, 0.5%, 0.25%と0% NaCl添加飼料を5週間与えた。その他に4.0%と0% NaCl添加飼料を与え、同時に飲水中に20 ppmインドメタシンを添加した。胃粘膜組織および尿中のマロンジアルデヒド(MDA)量はNaClの投与量に比例して増加した。また、尿中のMDA量は胃粘膜組織のMDA量に強く相関した。胃底腺組織の細胞増殖活性は4.0%と2.0% NaCl群で有意に増加した。また、4.0% NaCl群で上昇した胃粘膜組織と尿中のMDA量のみならず、細胞増殖活性もインドメタシン投与により抑制された。よって胃発癌プロモーターであるNaClは胃粘膜組織における過酸化脂質量を増加させることが明らかとなった。

**keyword** : lipid peroxidation, rat gastric mucosa, NaCl

\* 佐賀医科大学・地域保健

Nagaoka, T., Onodera, H., Matsushima, Y. and

Maekawa, A.\*: **Two case reports of spontaneous gonadal stromal tumors in rats**

*J. Toxicol. Pathol.*, **4**, 175~181 (1991)

F344/DuCrjおよびSlc:Wistarラットには精巣の間細胞腫(Leydig細胞腫)が高率に自然発生することが知られている。113週齢のF344および103週齢のWistarラットに自然発生した2例の精巣腫瘍は、病理組織学的にこれまでの間細胞腫とは異なり、腺様あるいは索状構造を呈しており、精巣間質腫瘍あるいはセルトリ細胞腫と考えられた。

**keyword** : rat, spontaneous tumor, gonadal stromal tumor

\* 佐々木研究所

Kawanishi, T., Nieminen, A-L.\*, Herman, B.\* and Lemasters, J. J.\*: **Suppression of Ca<sup>2+</sup> Oscillations in Cultured Rat Hepatocytes by Chemical Hypoxia**

*J. Biol. Chem.*, **266**, 20062~20069 (1991)

KCNとヨード酢酸処置によって肝細胞を化学的低酸素状態におき、肝細胞の細胞内遊離カルシウムイオン濃度およびナトリウムイオン濃度への影響を、デジタル化ビデオ蛍光顕微鏡法と蛍光プローブを用いて単一細胞レベルで調べた。細胞内ナトリウムイオン濃度は化学的低酸素状態におくと、すぐに上昇した。一方細胞内カルシウムイオン濃度は、KCNとヨード酢酸処置後30分以上経過した後に上昇した。しかしフェニレフリンあるいはバソプレシン刺激によって生じる細胞内カルシウムイオンのオシレーションはKCNとヨード酢酸処置後一分以内に停止した。フェニレフリンあるいはバソプレシン刺激によるイノシトールリン酸代謝物の生成を測定したところ、KCNとヨード酢酸処置によりこの生成が強力に抑制され、また細胞内アシドーシスもカルシウムオシレーションを抑制した。これらの結果から、化学的低酸素により引き起こされる細胞内ATP量の減少と細胞内アシドーシスにより、カルシウムオシレーションが抑制されるものと考えられた。

**keyword** : calcium ion, hepatocyte, hypoxia

\* University of North Carolina at Chapel Hill

Yamamoto, O.\*, Mitsumori, K., Yoshida, T.\*, Maita, K.\* and Shirasu, Y.\*: **Spontaneous malignant pineocytoma in a female Wistar rat**  
*J. Vet. Med. Sci.*, **53**, 527~529 (1991)

89 週齢の Wistar 系雌ラットに自然発生した非常に稀な松果体腫瘍を病理学的に検索した。腫瘍は松果体付近の被膜にほぼ覆われた血管に富む結節性増殖巣として観察され、明調大型細胞の充実性増殖からなる小葉構造が頻りに認められた。核分裂像の増加、細胞の多形性、出血、壊死等の悪性所見がみられ、腫瘍細胞には分泌顆粒と思われる有芯小胞や接着装置が観察された。以上の所見から本腫瘍は松果体実質細胞由来の悪性松果体細胞腫と考えられた。

**keyword** : pineal gland tumor, rat

\* 勸残留農業研究所

Nishikawa, A., Tanaka, T.\*, Takeuchi, T.\*, Fujihira, S.\* and Mori, H.\*: **The diagnostic significance of lactate dehydrogenase isoenzymes in urinary cytology**

*Br. J. Cancer*, **63**, 819~821 (1991)

膀胱腫瘍に対する細胞学的検索のために採取された尿検体 106 例について、乳酸脱水素酵素(LDH)アイソザイムの分布を検討した。強拡大にて白血球および赤血球をそれぞれ 20 個以上含まない検体を選択し、LDH アイソザイムのパターンを電気泳動にて測定した。パパンコロウ染色標本により、細胞診陰性 68 例、疑陽性 17 例、陽性 21 例と判定された。細胞診陰性例の中に少数の偽陰性例が含まれていたにも拘らず、細胞診陽性例の尿上清中の LDHM 分画は陰性例に比し有意に高く、また偽陰性例のいくつかは LDHM 分画の増加を示した。以上の成績は、尿細胞診における尿中 LDH アイソザイム測定の前併用が、早期癌を含む尿路系腫瘍の検出ばかりでなく、外科手術後の膀胱癌患者の追跡にも有用であることを示唆する。

**keyword** : LDH, isoenzyme, urinary cytology

\* 岐阜大学医学部

Nakashima, N.\*, Mitsumori, K., Maita, K.\* and Shirasu, Y.\*: **Amelanotic melanocytic tumors of the pinna in six F344 rats**

*J. Vet. Med. Sci.*, **53**, 291~296 (1991)

960 匹の 25 カ月齢雌 F344 ラットに発現した 6 例の耳介における発生報告が極めて少ない無色素性黒色腫を病理学的に検索した。腫瘍は腫瘍細胞が束状に配列する紡錘形細胞型とシート状に配列する多形細胞型に分類され、神経鞘腫の形態に類似していた。メラニンの沈着はなかった。免疫組織学的には腫瘍

細胞は S-100 蛋白に弱陽性を示した。電顕的には腫瘍細胞の細胞質にプレメラノソームが多数観察され、隣接する細胞間にデスモゾームを時々認めた。以上の成績より、今まで神経鞘腫と診断されてきたこの種の耳介腫瘍は無色素性黒色腫の可能性が強いことが示された。

**keyword** : amelanotic melanoma, F344 rat

\* 勸残留農業研究所

Imaida, K., Hirose, M.\*, Tay, L., Lee, M. S.\*, Wang, C. Y.\* and King, C. M.\*: **Comparative Carcinogenicities of 1-, 2-, and 4-nitropyrene and structurally related compounds in the female CD rat**

*Cancer Res.*, **51**, 2902~2907 (1991)

N-hydroxy-N-acetyl-1-amino-pyrene, N-acetyl-1-aminopyrene および 1-, 2-, 4-nitropyrene の発癌性を離乳時期の CD 雌ラットを用いて比較検討した。また、1-, 2-, 4-nitro-pyrene を乳腺部位に直接投与する群を設け、乳腺部位での代謝と発癌性を比較した。その結果、4-nitropyrene に最も強い発癌性が見られ、乳腺部位に直接投与した群でも 4-nitropyrene の投与群で有意に乳腺腫瘍の発生が見られ、乳腺部位による代謝活性化が発癌の為には必要であることが明らかとなった。

**keyword** : nitropyren, carcinogenicity, rat

\* Michigan Cancer Foundation, U.S.A.

Imaida, K., Lee, M. S.\*, Wang, C. Y.\* and King, C. M.\*: **Carcinogenicity of dinitropyrene in the weanling female CD rat**

*Carcinogenesis*, **12**, 1187~1191 (1991)

離乳期の雌 CD ラットを用いて、1-nitropyrene, 1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrene の発癌性について検索した。投与方法としては ip または ig とし、週 3 回 4 週間合計 12 回投与した。合計投与量は 1 匹あたり 16  $\mu$ mol であった。実験は投与開始後、78 週目で終了し、発生した腫瘍を病理組織学的に検索した。1,6- および 1,8-dinitropyrene の ip 投与群では Malignant Fibrous Histiocytoma (MFH) のため平均生存期間は 19 週と 38 週であった。また、乳腺腫瘍の有意な発生増加が 1-nitropyrene, 1,3-, 1,8-dinitropyrene の ip 投与群で、また 1,8-dinitropyrene の ig 投与群でそれぞれ認められた。以上の結果より、dinitropyrene には MFH, 乳腺腫

瘍を CD ラットに誘発することが明らかとなった。

**keyword** : dinitropyrene, carcinogenicity, rat

\* Michigan Cancer Foundation, U.S.A.

Wang, C. Y.\*, Imaida, K., Zukowski, K.\*, King, C. M.\*: **Lack of carcinogenicity of 2-aminofluorene, its glucuronide and the glucuronide of N-hydroxy-2-acetylaminofluorene in heterotopicbladder of the rat**

*Cancer Lett.*, 56, 153~157 (1991)

ラットの異所性膀胱 (heterotopic bladder) を用いて benzidine 代謝体の膀胱腫瘍発生の有無を検索した。実験は雄の F344 ラットを用い、異所性膀胱を設置後、次の5種類の化合物を投与した。即ち、溶媒、benzidine (BZ), N'-hydroxy-N-acetylbenzidine, N'-hydroxy-N-acetylbenzidine の N-glucuronide, N'-hydroxy-N-2 aminofluorene の N-glucuronide をそれぞれ 0.5 ml づつ週1回20週間、異所性膀胱に投与した。その後30週間いずれの群も生食のみを投与し、実験期間50週で終了した。その結果、膀胱の移行上皮癌は各群それぞれ 1/39, 1/29, 18/30, 28/28, 24/29 であった。以上の結果より、BZ のヒトの尿路系腫瘍の主な発生原因としては N'-hydroxy-N-acetylbenzidine N'-glucuronide が重要な代謝体であることが示唆された。

**keyword** : benzidine, bladder, carcinogenicity

\* Michigan Cancer Foundation, U.S.A.

Hasegawa, R.\*, Takahashi, S.\*, Imaida, K., Yamaguchi, S.\*, Shirai, T.\* and Ito, N.\*: **Age-dependent induction of preneoplastic liver cell foci by 2-acetylaminofluorene, phenobarbital and acetaminophen in F344 rats initially treated with diethylnitrosamine**

*Jpn. J. Cancer Res.*, 82, 293~297 (1991)

肝の前癌病変である glutathione S-transferase placental form (GST-P) 陽性細胞巢の発生とラット週齢との相関を中期検索法を用いて検索した。F344 雄ラットの6, 26, 46 週齢を用い、それぞれの週齢のラットに単回 200 mg/kg の diethylnitrosamine (DEN) を ip 投与した。2 週後より 0.02% 2-acetylaminofluorene (2AAF), 0.05% phenobarbital (PB), 1.3% acetaminophen (AAP) をそれぞれ粉末飼料中に混じて6週間経口投与した。

いずれの群も DEN の投与後3週の時点で、2/3 部分肝切除を行い、8 週後に屠殺した。肝を免疫組織化学的に GST-P 染色を行い、その陽性巢を画像処理装置を用いて計測すると、2 AAF 群ではいずれの週齢も対照群よりその数と面積ともに増加したが、特に6週齢でもっとも強い増加が見られた。また、PB, AAP 投与群でもその反応は6週齢で最も強くみられた。これらの結果より、中期検索法では6週齢を用いるのが最適であると考えられた。

**keyword** : GST-P-positive foci, hepatocarcinogenesis, Medium-term bioassay

\* 名古屋市立大学医学部

Sawada, M., Sofuni, T. and Ishidate, M. Jr.: **Isolation of a menadione-resistant subclone from Chinese hamster lung (CHL) cells in culture**

*Mutat. Res.*, 249, 7~17 (1991)

CHL 細胞からのメナジオン体制細胞株の分離とその性質について論じた。

**keyword** : cloning, menadione-resistant, Chinese hamster lung cell

Sawada, M., Sofuni, T. and Ishidate, M. Jr.: **Decreased clastogenicity of dinitropyrenes in Chinese hamster lung (CHL) subclone cells with low NADPH-cytochrome P-450 reductase activity**

*Mutat. Res.*, 264, 37~41 (1991)

NADPH-cytochrome P-450 reductase 活性の低い CHL 細胞における染色体異常誘発能の低さについて論じた。

**keyword** : clastogenicity, Chinese hamster lung cell, NADPH-cytochrome P-450 reductase

Hakura, A.\*, Morimoto, K., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Cloning and characterization of the *Salmonella typhimurium* *ada* gene, which encodes O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase**

*J. Bacteriol.*, 173, 3663~3672 (1991)

大腸菌の *ada* 遺伝子は O<sup>6</sup>-メチルグアニン DNA メチル転移酵素 (MTase) をコードしている。MTase は DNA 修復酵素として働くほか、大腸菌のアルキル化剤に対する適応応答の際に、正の調節

因子として働いている。大腸菌の *ada* 欠損株をニトロログアニジン (MNNG) の致死作用, 変異誘発作用に対して抵抗性に遺伝子を *Salmonella typhimurium* TA 1538 からクローニングした。この遺伝子は分子量 39217 の蛋白質をコードしており、この蛋白質はマキシセル法により同定された。クローニングした遺伝子は大腸菌の *ada* 遺伝子とヌクレオチド・レベルで約 70% の相同性を示し、そのプロモーター部位には *ada box* 配列が存在した。これらの結果にも基づき、クローニングした遺伝子をサルモネラの *ada* 遺伝子と考え *ada<sub>ST</sub>* と命名した。大腸菌の *ada* 遺伝子を低コピー・プラスミド上に持つ大腸菌の *ada'-lacZ* 遺伝子の発言は、MNNG 処理により約 40 倍増大したが、*ada<sub>ST</sub>* を低コピー・プラスミド上に持つ大腸菌の *ada'-lacZ* 遺伝子の発言は、同様に処理しても 5 倍程度しか増大しなかった。*Salmonella typhimurium* は MNNG で処理しても適応応答を示さないが、その原因は、*ada<sub>ST</sub>* 遺伝子産物が正の調節因子として働く能力が低い為なのかもしれない。

**keyword**: adaptive response, *Salmonella typhimurium*, O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase

\* エーザイ(株)

Marsh, L.\*<sup>1</sup>, Nohmi, T., Hinton, S.\*<sup>2</sup> and Walker, G. C.\*<sup>2</sup>: **New mutations in cloned *Escherichia coli umuDC* genes: Novel phenotypes of strains carrying a *umuC125* plasmid** *Mutat. Res.*, 250, 183~197 (1991)

*umuDC* は、大腸菌の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な役割をはたしている遺伝子である。*umuDC* 遺伝子をクローニングした pBR 322 プラスミドを、ヒドロキシルアミンで処理することにより、*umuC 125* 変異を持つミュータント・プラスミド pLM 109 を取得した。このプラスミドは *lexA*<sup>+</sup> 株の紫外線に対する致死感受性を増大させた。また、野生型の *umuD* 遺伝子を持つ pBR 322 プラスミドは *lexA* (Def) 株を低温感受性にするが、pLM 109 は *lexA* (Def) 株を低温感受性しない。pLM 109 の *umuC* 遺伝子領域 615 塩基対の配列を決定し、*umuC 125* 変異は 39 番目のアランinがバリンに変わる C → T 変異を持つことを明らかにした。

**keyword**: UV mutagenesis, *umuC 125*, *Escheri-*

*chia coli*

\*<sup>1</sup> Albert Einstein College of Medicine of Yeshiva University

\*<sup>2</sup> Massachusetts Institute of Technology

Ishidate, M. Jr.\*, Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Quantitative evaluation on the genotoxic potency of chemicals**

*J. Toxicol. Sci.*, 16, 83~92 (1991)

遺伝毒性を評価する試験法として、2つの *in vitro* 試験 (遺伝子突然変異試験と染色対異常試験) と1つの *in vivo* 試験の組み合わせが推奨されている。化合物の変異原性の強さには大きな開きがあることから、試験の結果は定量的に評価されねばならない。アセチル転移酵素、ニトロ還元酵素活性が増大したエームス試験用の新しいテスター株を樹立した。YG 1024 株は、尿中に含まれる微量の芳香族アミンの変異原性を鋭敏に検出することができた。抹梢血を用いる小核試験の新しい技術を開発した。毎週強制的に投与すると、ベンゼンの遺伝子に対する蓄積効果が数週間後でもこの方法により検出できた。サイトフローメーターもモニタリングに用いることができる。

**keyword**: genotoxicity tests, micronucleous test, Ames test

\* オリンパス工学, 染色体研究センター

Hayashi, M., Sofuni, T. and Morita, T.\*: **Simulation study in effects of multiple treatments in the mouse bone marrow micronucleus test** *Mutat. Res.*, 252, 281~287 (1991)

マウス骨髄を用いる小核試験における、投与回数の影響を検討するため、単回投与後の経時変化のデータを基に、シミュレーションを行った。モデル化学物質として、マイトマイシン C, 6-メルカプトプリン, アラビノフラノシルシトシンを用いた。その結果、小核の誘発に関しては、それぞれの投与から期待される出現頻度を加算した値となり、骨髄の増殖抑制の指標である多染性赤血球の割合は、指数関数的に影響を受けることが判明した。

**keyword**: micronucleus, simulation, multiple treatment

\*<sup>1</sup> 日本グラクソ(株)

Asita, A. O., Matsui, M., Nohmi, T., Matsuoka,

A., Hayashi, M., Ishidate, M. Jr.\*<sup>1</sup>, Sofuni, T., Koyano, T.\*<sup>2</sup> and Matsushita, H.\*<sup>2</sup>: **Mutagenicity of wood smoke condensates in the Salmonella/microsome assay**

*Mutat. Res.*, **264**, 7~14 (1991)

ナイジェリアで植物の薫製保存等のために用いられている、各種木材の薫油についての変異原性を、ネズミチフス菌を用いる試験系で検討し、植物の種類によって強弱に差のあることが判明した。また、薫油中に含まれる多環芳香族の種類と存在量を分析し、合成品で再構成実験を行ったが、薫油と同程度の変異コロニーの出現頻度は得られなかった。

**keyword**: wood smoke condensates, Ames test, polycyclic aromatic hydrocarbons

\*<sup>1</sup> オリnbパス光学工業(株)

\*<sup>2</sup> 国立公衆衛生院

Lindholm, C.\*<sup>1</sup>, Norppa, H.\*<sup>1</sup>, Hayashi, M. and Sorsa, M.\*<sup>1</sup>: **Induction of micronuclei and anaphase aberrations by cytochalasin B in human lymphocyte cultures**

*Mutat. Res.*, **260**, 369~375 (1991)

労働環境の細胞遺伝学的モニタリングに培養ヒトリンパ球の小核試験が用いられるようになってきた。労働環境における化学物質の暴露を正確に判定するには、リンパ球の培養開始後第1回目と2回目の間で標本を作成する必要がある。観察細胞を精度よく観察するための方法として、サイトカラシンBを用いて2核細胞を形成させる方法が汎用されている。ただし、サイトカラシンB自体に小核や異常分裂を誘発する性質があり、この論文でそれらの実態を明確に示すとともに、ヒトリンパ球小核試験法について考察した。

**keyword**: human lymphocyte, micronucleus, cytochalasin B

\* Inst. Occupational Health, Finland

The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test: **Micronucleus test with mouse peripheral blood erythrocytes by acridine orange supravital staining**: The summary report of the 5th collaborative study by ACSG-MT/JEMS・MMS

*Mutat. Res.*, **278**, 83~98 (1992)

日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会/小核試

験共同研究グループによる第5回共同研究のサマリー論文である。本共同研究の成果が *Mutation Research* 誌の特別号として出版された。本共同研究は、従来のマウス骨髄を用いる小核試験に取って変わる方法として、アクリジンオレンジの超生体染色法による末梢血小核試験法の評価を行った。46機関が酸化し、23種類の化学物質について評価した結果、この新しい方法の有用性が示された。

**keyword**: Micronucleus test, Acridine orange supravital staining, peripheral blood

Iwakura, K.\*<sup>1</sup>, Tamura, H.\*<sup>1</sup>, Matsumoto, A.\*<sup>1</sup>, Ajimi, S.\*<sup>2</sup>, Ogura, S.\*<sup>2</sup>, Kakimoto, K.\*<sup>2</sup>, Matsumoto, T.\*<sup>2</sup> and Hayashi, M.: **Micronucleus assays on 5-fluorouracil and 6-mercaptopurine with mouse peripheral blood reticulocytes**

*Mutat. Res.*, **278**, 131~137 (1992)

日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会/小核試験共同研究グループによる第5回共同研究の一環として行われた研究論文である。モデル化合物として、核酸の類似塩基としてフルオロウラシルとメルカプトプリンについて検討したものである。さらに本論文では、化学物質の処理による骨髄増殖抑制の指標として、I型のI+II+III型に対する比率が適用可能か否かについて検討した結果、その可能性が示された。

**keyword**: 5-fluorouracil, 6-mercaptopurine, micronucleus test

\*<sup>1</sup> 日本新薬(株)

\*<sup>2</sup> 勸化学品検査協会

Kishi, M.\*<sup>1</sup>, Horiguchi, Y.\*<sup>1</sup>, Watanabe, S.\*<sup>1</sup> and Hayashi, M.: **Validation of the mouse peripheral blood micronucleus assay using acridine orange supravital staining with urethane**

*Mutat. Res.*, **278**, 205~208 (1992)

日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会/小核試験共同研究グループによる第5回共同研究の一環として行われた研究論文である。モデル化合物として、ウレタンを用い、アクリジンオレンジ超生体染色を用いる末梢血小核試験の評価をCD-1系統およびBDF1系統のマウスについて行った。末梢血中の小核の出現は骨髄のそれと比較して、約24時間遅れ、投与後約48時間で出現頻度が最高になることが判明した。



**keyword** : urethane, micronucleus test, peripheral blood

\* 神奈川県衛生研究所

Hayashi, M., Kodama, Y., Awogi, T.\*<sup>1</sup>, Suzuki, T., Asita, A. O. and Sofuni, T.: **The micronucleus assay using peripheral blood reticulocytes from mitomycin C- and cyclophosphamide-treated rats**

*Mutat. Res.*, 278, 209~213 (1992)

日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会/小核試験共同研究グループによる第5回共同研究の一環として行われた研究論文である。末梢血中の小核はヒトやラットでは脾臓で異常赤血球として認識され破壊されるので、小核試験の実験材料としては適さないと言われていた。アクリジンオレンジ超生体染色法を用いることにより、網赤血球の幼若度が詳しく分類する事が可能となり、非常に幼若な網赤血球のみを観察対照とすることでラットの末梢血においても小核誘発性の検討が可能であることが示された。

**keyword** : micronucleus test, rat, peripheral blood

\*<sup>1</sup>大塚製薬㈱

Yoshimura, I.\* and Hayashi, M.: **On the use of historical controls in the analysis of laboratory data**

*Statistical Medicine*, 10, 839~841 (1991)

1989年9月にフランスのバリで開催された Statistical Methods in Biopharmacy, Satellite Meeting of the 47th World Session of the International Statistical Institute, Paris のプロシーディングで、毒性関係の試験データを統計学的に解析するために、背景データをいかに有効に利用できるかについて考察した論文である。とくに、マウスを用いる小核試験結果に関しては、背景データが非常に安定しており、これをうまく利用することにより、統計学的な検出力が高まることを示した。

**keyword** : historical control, biostatistics

\* 名古屋大学工学部

Ueda, T.\*, Hayashi, M., Koide, N.\*, Sofuni, T. and Kobayashi, J.\*: **Preliminary examination of the mutagenicity test using embryo cells of rose bitterling, *Rhodeus ocellatus ocellatus***

*Chrom. Inf. Serv.*, 51, 12~14 (1991)

環境汚染、水系汚染の細胞遺伝学的モニタリングの指標として、魚類の胚細胞を用いる方法について検討した。日本の淡水系に広く分布するタイリクバラタナゴを用い、試験溶液中で授精させ、卵黄を取り除いた桑実胚の細胞をばらばらにし、コルチシン処理、低張処理、固定後空気乾燥法で標本を作製した。染色対の構造異常とともに、分裂間期細胞における小核の出現を観察した。その結果、魚類の胚細胞を用いることにより、被検水のモニタリングの可能性が示唆された。

**keyword** : fish, biomonitoring, water pollution

\* 宇都宮大学

Asita, A. O., Hayashi, M., Kodama, Y., Matsuo, A., Suzuki, T. and Sofuni, T.: **Micronucleated reticulocytes induction by ethylating agents in mouse**

*Mutat. Res.*, 271, 29~37 (1992)

アクリジンオレンジ超生体染色法を用いるマウス末梢血小核試験により、エチル化剤の小核誘発性を検討した。6種類のエチル化能を有する化学物質を用いて実験した結果エピクロルヒドリンと臭化エチレンを除く4種に小核誘発性を認めた。その強さは、エチルニトロソ尿素 (ENU) > エチルニトロソグアニジン (ENNG) > エチルメタンサルホン酸 (EMS) > ジエチルサルフェイト (DES) の順であった。また、S値が低いENUとENNGの方がS値の高いEMSやDESよりも低濃度から小核を誘発することが判明した。

**keyword** : ethylating agent, micronucleus, S value

Suzuki, T., Kohda, K.\* and Kawazoe, Y.\*: **Potentiation of bleomycin cytotoxicity by polyhydric alcohols**

*Anticancer Res.*, 10, 97~104 (1990)

哺乳動物由来の培養細胞であるV79およびL1210に対するbleomycin (BLM) の細胞毒性は、グリセロールの添加により著しく増強された。これはBLM誘導体であるpeplomycinとlibromycinにおいても認められたが、adriamycin, neocarzinostatin, paraquat, hydrogen peroxide, N-methyl-N-nitrosoureaなどの細胞毒性物質に対しては効果がみられなかった。BLM誘導体の作用増強

効果はグリセロール以外にも、OH基を2ないし3個以上持つ多価アルコール類についても認められた。 $[^3\text{H}]$ -peplomycinの細胞への取り込みはグリセロールの添加により変化しなかったことより、作用増強のメカニズムとしては取り込みの増大以外の要因が考えられる。Ehrlich腹水癌細胞を委嘱したマウスに対するBLMの延命効果は、グリセロールおよびエリスリトールの併用により有意に増強された。特に低濃度のBLMに対する効果は大きく、BLM単独に比べ、グリセロールで1.82倍、エリスリトールで1.88倍の延命作用が得られた。これらの結果より、癌性腹膜炎や胸膜炎の治療への応用が期待される。

**keyword** : polyhydric alcohol, bleomycin, glycerol

\* 名古屋市立大学薬学部

Suzuki, T., Kohda, K.\* and Kawazoe, Y.\*:  
**Potential of bleomycin cytotoxicity in cultured mammalian cells by high molecular weight polyacrylic acid**

*Anticancer Res.*, 10, 1001~1004 (1990)

培養細胞L1210およびV79に対するbleomycin (BLM)の細胞毒性は、高分子凝集剤として使用されているポリアクリル酸(A-119,分子量900万)により増強された。この効果はBLM誘導体であるpeplomycinとlibromycinにおいても認められたが、他の制癌剤においては認められなかった。また、ポリアクリル酸以外的高分子化合物および、分子量10万以下のポリアクリル酸では効果が認められなかった。 $[^3\text{H}]$ -peplomycinの細胞への取り込みはA-119の添加により変化しなかったことより、作用増強のメカニズムとしては取り込みの増大以外の要因が考えられるが、相乗効果発言のためには、細胞と薬物をvortexミキサーにて攪はんする操作が必須であるということが明らかとなった。攪はん時間の増大とともに効果は高まるが、最初の数秒間の攪はんで急激に効果は現れた。攪はん後すぐに薬物を洗い除いても細胞毒性効果は変化しなかったことより、攪はん時に何か細胞に致死の損傷が起きていると考えられる。

**keyword** : polyacrylic acid, bleomycin, cytotoxicity

\* 名古屋市立大学薬学部

Suzuki, T., Tamai, K.\*, Kodama, Y., Asita, A. O., Matsuoka, A., Sofuni, T., Kurita, M.\*, Ohtsuki, H.\*, Hiwatashi, T.\* and Hayashi, M.:  
**Micronucleus induction in mouse peripheral reticulocytes by 7, 12-dimethylbenz[*a*]anthracene**

*Mutat. Res.*, 278, 169~173 (1992)

アクリジンオレンジ(AO)塗布スライドを用いる末梢血小核試験法について、7, 12-dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA)を用いて、通常の骨髓を用いる小核試験法との比較をふまえて2つの研究機関において独立に検討を行った。CD-1マウスにDMBA 5-80 mg/kgを腹腔内投与し、24, 78, 72, 96, 120時間後に尾部欠陥より微量採血し、AO塗布スライド上にて超生体染色を施し、小核を有する網赤血球の出現頻度を蛍光顕微鏡下にて観察した。同時に骨髓を用いる通常の小核試験法を行い結果を比較したところ、小核を有する幼若赤血球の出現頻度はほぼ同程度であった。小核出現の経時変化は、末梢血中では骨髓中に比べて少し遅れる傾向にあった。また、投与量によっても小核出現のピークまでの時間が若干変化するため、経時的にみたdose-responseは異なった形を示す結果となった。今回の実験で、AO塗布スライドを用いた小核試験法では独立に行われた2機関でのデータの再現性が高かったことから、この方法の有用性が示された。

**keyword** : micronucleus test, 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene, acridine orange

\* 保健科学研究所

Sasaki, K.\*, Mizusawa, H., Ishidate, M. and Tanaka, M.\*:  
**Gene transfer into mammalian cells by rapid freezing**

*In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 27A, 86~88 (1991)

高等動物由来の培養細胞に遺伝子DNAを取り込ませるには、りん酸カルシウム法、高電圧パルス法などが知られている。しかし、双方とも実験への習熟を必要とするため必ずしも容易な方法では無い。今回より容易な方法と凍結融解法を新たに開発した。今回はBALB/3T3細胞を液体窒素で急速凍結した後急速凍結する過程でプラスミッドDNAが取り込まれるかどうか調べた。DNAの細胞への取り込みはpSV2 neoプラスミッドと抗生物質G418体制で観察した。その結果高率にDNAが細胞に取り込まれることがわかった。本方法は他の特別な機器

や習熟を必要としないためより利用しやすい方法であると言える。

**keyword** : gene transfer, pSV 2-neo, BALB/3T3 cells

\* 食品薬品安全センター秦野研究所

Yoshida, T.\*, Yanai, N.\*, Kawase, M., Mizusawa, H. and Takeuchi, M.\*: **Characterization of fastidious stratis of *Mycoplasma hyorhinis* isolated from cell cultures**

*IFO Res. Comm.*, 15, 5-14 (1991)

細胞バンクに寄託された細胞株, F111 と Lovo, より 2 種類のマイコプラズマを分離し (NC-1, NC-2), 汚染防御手段を講じるための一助とする目的で分離したマイコプラズマの性質を調べた。量マイコプラズマとも抗 *M. hyorhinis* 血清に対して反応したが通常のマイコプラズマ培地で増殖しなかった。これらの結果は今回分離した NC-1, NC-2 の 2 種類は fastidious *M. hyorhinis* と同定され次のような性質を持っていることを明らかにした。(1) 今回分離したマイコプラズマは *M. hyorhinis* DBS 1050 と同様生存に培養細胞株 BHK-21 (C13) の抽出物を要求することが示された。(2) 今回分離したマイコプラズマ種から抽出した全蛋白および細胞表面層蛋白の SDS-gel 電気泳動パターンおよび Western blot の結果は *M. hyorhinis* DBS1050 のそれと良く一致していることが示された。これらはすべて *M. hyorhinis* BTS 7 と一致していたが、若干の差異も見られた。(3) 今回分離した 2 種のマイコプラズマの nucleoside phosphorylases は電気泳動度で観察した結果は *M. hyorhinis* DBS 1050 のものとは良く一致していたが、*M. hyorhinis* BTS 7 とは異なっていた。

通常のマイコプラズマ培地で増殖しない種類のマイコプラズマは極めて高感度であるとされている培養法でも検出されないことから、それに変わる方法の開発が必要であることを示唆している。

**keyword** : characterization, mycoplasma, cell culture

\* 助発酵研究所

Honma, M., Kataoka, E., Ohnishi, K., Ohno, T.\*<sup>1</sup>, Takeuchi, M.\*<sup>2</sup>, Nomura, N.\*<sup>3</sup> and Mizusawa, H.: **A new profiling system for cell line identification for use in cell banks in Japan**

*In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 28A, 24-28 (1992)

新しく分離した 3 種類の VNTR タイプの多形性を示す DNA プローブ, ChdTC-15, ChdTC-114, lambdaTM 18 に pYNH 24 を加え 4 種類を組み合わせて培養細胞株の個別識別法を確立した。DNA フィンガープリント法はすでに Jefferys らにより報告され広く使われているが再現性が乏しく安定した利用が困難である。本方法に使用したプローブは Jeffereys の報告した塩基配列に加え、その周辺部分のユニークな塩基配列部分を含むため、安定したサザンプロットハイブリダイゼーションが可能となった。この方法により約 8 本の多形性を示すバンドが安定に検出されることから、個別識別能力は十分であることが示された。実際国内で保存されている多数の細胞株をこの方法で同定したところ核細胞ともユニークなパターンを持つことが明らかとなった。また、これまで HeLa 細胞の混入が疑われていたいくつかの細胞株については明らかに HeLa 細胞と同一のパターンを示した。

**keyword** : human cell lines, identification, DNA profiling

\*<sup>1</sup> 理化学研究所・細胞銀行

\*<sup>2</sup> 助発酵研究所

\*<sup>3</sup> 日本医科大学

Yoshihara, K.\*<sup>1</sup>, Itaya, A.\*<sup>1</sup>, Hironaka, T.\*<sup>1</sup>, Sakuramoto, S.\*<sup>1</sup>, Tanaka, Y.\*<sup>1</sup>, Tsuyuki, M.\*<sup>1</sup>, Inada, Y.\*<sup>1</sup>, Kamiya, T.\*<sup>1</sup>, Ohnishi, K., Honma, M., Kataoka, E., Mizusawa, H., Uchida, M.\*<sup>2</sup>, Uchida, K.\*<sup>2</sup> and Miwa, M.\*<sup>2</sup>: **Poly (ADP ribose) polymerase defective mutant cell clone of mouse L1210 cells**

*Exp. Cell Res.*, 200, 126-134 (1992)

ニトロソグアニジンの連続処理によりポリ ADP リボース (poly ADPR) ポリメラーゼ欠損株をマウス由来 L 1210 細胞から分離することに成功した (C 1-3527)。本細胞株で検出されたこの酵素の活性は親株の 8% であり、酵素の欠損が確認された。さらに、欠損株の粗抽出液を電気泳動した後イミュノプロット法で調べた結果、親株で検出される本酵素に由来する 113 kDa のバンドの欠損が確認された。さらに、欠損株から本酵素を部分精製し、イミュノプロット法により調べた結果、分子量は 108 kDa に減少していたうえ、変異株中での蛋白発現量としても極端に低下していることが明らかになった。ま

た、変異酵素は野生株のそれに比較して熱感受性が大きく増加していた。しかし、NADに対するKm値、マグネシウム要求性、3-aminobenzamideによる活性阻害などは野生株の酵素と類似していることが示された。また、変異細胞株 (C1-3527) は増殖速度が低下し、熱感受性や膜結合性NADase活性の発現は増大していた。さらに、高温下でのPolyADPRポリメラーゼ活性の比率は野生型にくらべて増大していることが示された。

**keyword** : mutant cells, mouse L 1210, poly ADP ribose

\*1 奈良医科大学

\*2 筑波大学

Honma, M. and Ishiyama, I.\*: **Application of DNA fingerprinting to parentage and extended family relationship testing**

*Human Heredity*, 40, 356~362 (1990)

DNAフィンガープリント法が二親等以上の血縁関係の証明にも有効であることを見だし、その利用法と肯定確率を求める式を開発した。ミニサテライトの平均対立遺伝子頻度を $q$ と置くと親子間でのバンドの平均一致率は $P_p = (1+q-q^2)/(2-q)$ 、また他人同士では、 $P_y = q(2-q)$ と算出された。親子の集団でDNAフィンガープリントでの一致するバンドの数は $P_p$ を頻度のパラメータとする二項分布に従うと予想できる。すなわち親子間で $n$ 本中 $r$ 本のバンドが一致する確率( $T_p$ )は $T_p = nCr P_p^r (1-P_p)^{n-r}$ として計算できる。同様に他人間での確率( $T_y$ )は $T_y = nCr P_y^r (1-P_y)^{n-r}$ である。これよりエッセンメラーの式から肯定確率( $W$ )は $W = 1/(1+T_y/T_p)$ として求めることができる。この方法は他のあらゆる血縁関係の推定に応用することができる。MyoプローブによるDNAフィンガープリントをこのような親子鑑定に利用した場合、関係が正しい時に期待できる平均肯定確率は99.6%であった。また、兄弟姉妹、祖父母-孫の関係の推定においてはそれぞれ平均肯定確率99.7%、82.7%が得られた。

**keyword** : DNA fingerprinting, Blood relationship testing, Bayes' theorem

\* 東京大学医学部

Suzuki, T., Sarai, K.\*, Kohda, K.\* and Kawazoe, Y.\*: **Potential of bleomycin cytotoxicity**

by high molecular weight polyacrylic acid. II. Involvement of rapid conformational change of polyacrylate

*Anticancer Res.*, 11, 953~956 (1991)

我々は既に高分子量のポリアクリル酸によってbleomycinの細胞毒性が増強されることを報告したが、この際ポリアクリル酸の構造変化が起きていることが明らかとなった。増強効果発現のためにはVortexミキサーによる撹はん操作に加え、 $Ca^{++}$ 、 $Mg^{++}$ 、 $Ba^{++}$ といった2価金属イオンが存在が必須であることがわかった。このことと対応して、2価金属イオンの存在下撹はんを行うことによりポリアクリル酸の構造変化がおきることが溶液粘度の低下により示された。またこのような構造変化を起こしたポリアクリル酸には、bleomycinの細胞毒性を増強する効果は消失していた。これらの結果より、増強効果発現には撹はん時のポリアクリル酸の構造変化が関与していることが示唆された。

**keyword** : conformational change of polyacrylic acid, bleomycin, divalent cation

\* 名古屋市立大学薬学部

Nakadate, M., Hayashi, M., Sofuni, T., Kamata, E., Aida, Y., Osada, T., Ishibe, T., Sakamura, Y. and Ishidate, M., Jr.: **The Expert System for Toxicity Prediction of Chemicals Based on Structure-Activity Relationship**

*Environmental Health Perspectives*, 96, 77~79 (1990)

我々が先に開発した毒性関連のファクトデータベースであるバイオロジカルデータベースを用い、構造活性相関による毒性予測知識ベースシステムを構築した。本予測システムは、バイオロジカルデータベース、毒性予測知識導出サブシステムおよび毒性予測知識ベースシステムで構成され、予測にはデータベース中のWLN構造標記より得た元素の数と割合、環構造、官能基の数と位置、結合次数等を用い、統計処理には判別分析を用いた。本研究においては、毒性のうちサルモネラ菌を用いる変異原性を対象に8種の子予測式を考え出して、これをKAUSを用いて知識ベース化した。本予測システムでの検証の結果、90%以上の精度でエイムス試験での変異原性を予測できることを明らかにした。

**keyword** : toxicity prediction, expert system, SAR

岡田敏史, 石光 進: 局方収載アミノ酸類のアミノ酸クロマトグラフ法による純度試験

医薬品研究, 23, 179~184 (1992)

アミノ酸クロマトグラフ法が JP XI 追補 (1988) に新たに採用された。本法を 9 種のアミノ酸の純度試験“他のアミノ酸”に適用し、薄層クロマトグラフ (TLC) 法の結果と比較した。JP XI 収載の 7 種のアミノ酸に加えて塩酸アルギニンおよびチロシンについても試験を行ったが、それらは JP XI および JIS 特級規格の市販アミノ酸であった。トリプトファンおよびチロシンを除いた他の 7 種のアミノ酸では 0.3% 以下の微量の類縁アミノ酸が検出された。不純物アミノ酸の種類と量は保持時間とピーク面積より容易に推定された。TLC 法と比較し、アミノ酸クロマトグラフ法の感度は高く、15 倍以上であった。

UV および蛍光検出 HPLC 法によりトリプトファンの純度試験を別に行った結果、アミノ酸クロマトグラフ法および TLC 法で不純物は検出されなかったにもかかわらず、5~6 個の UV 吸収性または蛍光性の不純物が検出された。

**keyword**: amino acid in JP XI, purity test, amino acid chromatography

石光 進, 藤本貞毅\*, 竹原 潤\*, 山本みやび\*, 小原 晃\*: モルモット血清中の *o*-および *m*-Tyrosine 含量に及ぼす銅投与の影響

薬学雑誌, 111, 546~550 (1991)

生体内に過剰量の銅を投与した時の血中の *m*-および *o*-チロシン含量の変動について検討した。モルモットを 0.1% 硫酸銅を含む飲料水で 13 日間飼育した郡と銅無添加郡とを比較したところ、銅投与により血清中の *o*-および *m*-チロシン含量の顕著な増加が認められた。*o*-および *m*-チロシンの生成に関与している水酸化酵素にはほとんど影響を与えなかった。各種臓器中の銅およびアスコルビン酸含量について調べたところ、銅は主に肝臓に蓄積されており、各臓器中のアスコルビン酸含量は低下していた。これらの結果は、生体内における *o*-および *m*-チロシン生成系として水酸化酵素の関与するものの他に、非酵素的な水酸化反応に基づく生成系の存在が推察された。

**keyword**: guinea pig, *o*-tyrosine, *m*-tyrosine

\* 京都薬科大学

Fujimoto, S.\*, Ishimitsu, S., Hirayama, S.\*, Kawakami, N.\* and Ohara, A.\*: Hydroxylation of phenylalanine by myeloperoxidase-hydrogen peroxide system

Chem. Pharm. Bull., 39, 1598~1600 (1991)

ミエロパーオキシダーゼ-過酸化水素系によりフェニルアラニンが水酸化され、*o*-, *m*-, *p*-チロシンが生成した。チロシンの生成は反応時間とミエロパーオキシダーゼ量に依存していた。本反応系に低濃度のクロロイオンを添加すると水酸化生成量が増加するのに対して高濃度では減少した。本反応系およびクロロイオンを添加した系におけるチロシンの生成量はヒドロキシルラジカルおよびスーパーオキシドラジカルの捕捉剤の添加により顕著に抑制された。これらの結果より、フェニルアラニンからチロシンへの水酸化は本反応系から生成したヒドロキシルラジカルによるものと推察した。

**keyword**: myeloperoxidase, *o*-tyrosine, *m*-tyrosine

\* 京都薬科大学

外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 藤原信也\*<sup>1</sup>, 藤井康孝\*<sup>2</sup>, 伊藤誉志男: 農作物中 9 種含窒素系除草剤の GC および HPLC による分析法の比較

衛生化学, 37, 480~488 (1991)

FTD-GC および UV 検出 HPLC 法による農作物中 9 種除草剤の一斉分析法の比較検討を行なった。スエップ, ジウロン, リニューロン, プロピザミドは GC で熱分解して測定不能であった。一方, アラクロール, プタクロールは HPLC で測定不適であった。測定妨害物質については、一般的に GC 法の方が HPLC 法よりも影響が少なかった。柑橘類等共存妨害物の多い農作物については、カラムクロマトグラフィーにより精製すると GC 法では測定可能であったが、HPLC 法では測定不能の場合もあった。

**keyword**: post harvest application pesticide, gas chromatograph-mass spectrometer, high performance liquid chromatography

\*<sup>1</sup> 神戸農林規格検査所

\*<sup>2</sup> 大阪いずみ市民生活協同組合

中村優美子, 津村(長谷川)ゆかり, 外海泰秀, 金本正文\*, 坪井尚弘\*, 村上喜八郎\*, 伊藤誉志男: 希土類元素 (ジスプロシウム, ユーロピウム, イッテルビウムおよびイットリウム) のラットに

### おける経口投与時の排泄について

衛生化学, 37, 418~425 (1991)

Dy, Eu, YbおよびYの塩化物をWistar系雄性ラットに経口投与(1回投与)した場合の代謝を調べた。ラットを実験前一夜絶食し、希土類元素として100 mg/kg(低用量)あるいは1 g/kg(高用量)の5%ブドウ糖溶液を経口投与し、各希土類元素の糞・尿中への排泄および全血、肝臓、脾臓、骨および腎臓への投与量に対する分布率(蓄積率)を調べた。投与した希土類元素は、低用量投与で投与後4日以内に92.0~98.4%が、高用量投与で7日以内に93.9~98.4%がそれぞれ糞中へ排泄された。全ラットの尿中および各臓器からはいずれの希土類元素も検出されなかった。

**keyword**: rare earth elements, oral administration, excretion

\*1(株)京都光研

中村優美子, 津村(長谷川)ゆかり, 外海泰秀, 金本正文\*, 坪井尚弘\*, 村上喜八郎\*, 伊藤誉志男: 希土類元素の生体影響に関する研究(第2報) 静脈内投与時のジスプロシウム(Dy), ユーロピウム(Eu), イッテルビウム(Yb), イットリウム(Y)のラットにおける体内分布および組織学的変化

衛生化学, 37, 489~496 (1991)

Dy, Eu, YbおよびYの塩化物を, ラットに希土類元素として10 mg/kg(低用量)あるいは50 mg/kg(高用量)静脈内投与した場合の, 各希土類元素の組織内分布および臓器組織に対する影響について調べ, 以下の結果を得た。①投与後8日目の希土類元素の主要な蓄積臓器は, 投与した希土類元素の種類および量にかかわらず肝臓, 脾臓および骨であった。②低用量投与では, Yの脾臓および肺臓での濃度および蓄積率およびYbの大腿骨中のYb濃度および骨への分布率が他の元素に比べ高かった。高用量投与ではいずれも, 低用量投与に比べ脾臓への蓄積率が高く, 骨への蓄積率が低かった。③低用量投与では, 脾臓についてはEuおよびYbでは顕著な変化は認められなかったが, Dyでは異物の沈着が, Yでは異物の沈着およびマクロファージ反応が認められた。肝臓では各希土類元素投与による顕著な変化は認められなかった。④高用量投与では, 脾臓は腫脹し, 異物性肉芽腫の形成が認められた。

**keyword**: rare earth elements, intravenous admi-

nistration, spleen

\* (株)京都光研

中村優美子, 津村(長谷川)ゆかり, 外海泰秀, 金本正文\*, 坪井尚弘\*, 村上喜八郎\*, 池辺克彦\*, 伊藤誉志男: 希土類元素の生体影響に関する研究(第3報) 静脈内投与時のジスプロシウム(Dy), ユーロピウム(Eu), イッテルビウム(Yb), イットリウム(Y)のラットにおける体内動態

衛生化学, 37, 497~506 (1991)

Dy, Eu, YbおよびYの塩化物を, ラットに希土類元素として10 mg/kg静脈内投与した場合の糞・尿中への排泄, 血中濃度および臓器内分布(蓄積率)の投与後45日目までの経時変化について調べ, 以下の結果を得た。①希土類元素は徐々に糞中へ排泄され, 7日間の糞中への排泄率は5.4~18.4%であった。Yの糞中排泄率は他に比べて低かった。尿中からは, いずれの希土類元素も検出されなかった。②血中の希土類元素は, いずれもほぼ1日以内に消失し, 特にYの消失速度は他に比べて早かった。③肝臓中の希土類元素の濃度および分布率は投与後8時間目~2日目まで最高であった。脾臓中の希土類元素の蓄積率は, Dy, EuおよびYbでは投与後1日目まで最高となったが, Yは他に比べて数倍以上であり, 経時的に増加した。骨への蓄積率は各群とも経時的に増加傾向を示し, Ybの骨中の蓄積濃度は他より高かった。腎臓および肺臓への各希土類元素の蓄積率は低かった。

**keyword**: rare earth elements, intravenous administration, distribution

\*1(株)京都光研

\*2 大阪府立公衆衛生研究所

外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 伊藤誉志男: かんきつ果実中の収穫後使用される農薬の分析

食衛誌, 33, 23~30 (1992)

かんきつ果実中7種の収穫後に使用される農薬の分析法を確立した。DP, OPP, 2,4-Dは酸性で抽出し, GC-MS(SIM)で測定した。またTBZ, イマザリル, ベノミルおよびsec-ブチルアミンは塩基性下で同時抽出し, 紫外または蛍光検出器付きHPLCで測定した。レモンおよびレモンジュースに7種類の農薬を1 ppm添加したときの回収率は,

それぞれ 60.0~104.8%および 67.3~96.2%であった。また検出限界はそれぞれ 0.005~0.05 ppm および 0.001~0.01 ppm であった。

**keyword** : herbicide, gas chromatography, high performance liquid chromatography

長谷川ゆかり, 外海泰秀, 中村優美子, 伊藤誉志男: ばれいしょの貯蔵及びフレンチフライ加工過程における収穫後使用農薬の消長  
食衛誌, 32, 128~136 (1991)

ばれいしょに収穫後(ポストハーベスト)使用される可能性のある4種の農薬について, 貯蔵または加工過程における消長を, モデル実験によって検討した。ばれいしょに農薬混合溶液を噴霧して13週間室温保存した後の残存率は, ジクロロホス(DDVP) 0.03%, クロロプロファミ(IPC) 37%, クロルピリホス 46%, ピレトリン各成分 2~35%であった。また皮付フレンチフライに加工した後の残存率は, DDVP 0.1%, IPC 1.3%, クロルピリホス 7.7%, ピレトリン各成分 5.9~10.1%であった。なお, これらの農薬は剥皮によって99%以上除去された。

**keyword** : potato, pesticide, post-harvest application

外海泰秀, 長谷川ゆかり, 中村優美子, 柴田 正, 辻 澄子, 伊藤誉志男, 加藤誠哉\*: FPD-GCによる農作物中のジスルホトンおよびトリクロロホンの分析  
食衛誌, 32, 328~335 (1991)

農作物中のジスルホトン(エチルチオメトン)とその酸化代謝物(ジスルホトンスルホン, ジメトンチオール)およびトリクロロホンのFPD-GCによる簡易, 迅速な分析法を作成し, 51農産物について実態調査を行なった。試料にジスルホトンおよびトリクロロホン 0.1 ppm を添加したときの回収率は, 60.4~93.5%であった。これら5農薬の本法による検出限界は, いずれも 0.001 ppm であった。

**keyword** : disulfoton, trichlorfon, pesticide

\* 日本食品分析センター

長谷川ゆかり, 外海泰秀, 中村優美子, 伊藤誉志男: サクランボに収穫後使用した農薬の貯蔵またはシロップ漬加工過程における消長  
食衛誌, 32, 427~433 (1991)

サクランボに3種の農薬を付着させ, 保存及びシロップ漬への加工を行い, 残存性を検討した。キヤプタンは保存期間中及びシロップ漬への加工過程において速やかに減少・消失した。イプロジオンは保存により微減し, 加工により 39.5%となった。ピレトリン成分のうち cinerin II と pyrethrin I は保存による減少率が大きかったが, cinerin I はほとんど減少せず, jasmolin I は増加した。シロップ漬けに加工した場合は, jasmolin I は増加し, それ以外のピレトリン各成分は 51.1~71.7%残存した。

**keyword** : cherries, pesticide, post-harvest application

柴田 正, 辻 澄子, 伊藤誉志男, 宇田川俊一, 鈴木明子, 成田紀子, 風間朗弘, 浅居良輝\*<sup>1</sup>, 佐藤孝義\*<sup>1</sup>, 相良一彦\*<sup>2</sup>, 本田恒男\*<sup>3</sup>, 平城里香\*<sup>3</sup>, 慶田雅洋\*<sup>4</sup>, 岡本勝利\*<sup>5</sup>, 望月悦生\*<sup>6</sup>, 菅沼修\*<sup>6</sup>: ゴータ型チーズの表面処理に使用したナタマイシンとソルビン酸の防かび効果の比較  
食衛誌, 32, 389~401 (1991)

チーズに用いたナタマイシン(NA)およびソルビン酸(SO)の13週までの貯蔵期間における残存性, 浸透性および防かび効果について比較検討した。NAおよびSO浸漬法および皮膜塗布法で添加した。SOは表面から中心部へ浸透したが, Naは表面にとどまった。残存量とかびの発生状況および生菌数を指標に最小有効濃度を算出したところ, NAはSOの1/100濃度で, 皮膜法は浸漬法の1/5濃度で同等の効果を示した。発生した汚染かびの主要菌種を同定した。

**keyword** : natamycin, gouda-type cheese, preservatives

\*<sup>1</sup> 雪印乳業(株)分析部

\*<sup>2</sup> 雪印乳業(株)チーズ研究所

\*<sup>3</sup> 協同乳業(株)応用研究所

\*<sup>4</sup> ネッスル(株)

\*<sup>5</sup> 農林水産省神戸農林規格検査所大阪支所

\*<sup>6</sup> (株)日本国際酪農連盟

辻 澄子, 柴田 正, 小原一雄\*, 岡田直子\*, 伊藤誉志男: コーヒー中の過酸化水素生成要因の検討  
食衛誌, 32, 504~512 (1991)

コーヒー中の過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)をTLCで確認し, 酸素電極法を用いて定量することにより, 生

成要因を検討した。コーヒー浸出液からは  $H_2O_2$  を検出したが、生コーヒー豆からは検出しなかった。ドリップ式ろ過器で調製したコーヒー液はコーヒーメーカーに比較して  $H_2O_2$  含量が高かった。また、コーヒー豆のばい煎度が深くなるに伴い  $H_2O_2$  生成が増加し、光および温度の影響を受けた。コーヒー豆の成分であるショ糖、クロロゲン酸、グリシン、カフェイン、コーヒー酸およびキナ酸から  $H_2O_2$  は検出されなかったが、コーヒー豆と同様に、ばい煎して浸出した液から  $H_2O_2$  が検出された。特にばい煎したコーヒー酸からの  $H_2O_2$  の生成率が他の成分より高かった。

**keyword** : hydrogen peroxide, coffee, caffeic acid

\* (財)日本食品分析センター大阪支所

柿内 雅, 川本礼子, 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤 誉志男: 食用タール色素試験における乾燥減量試験法とカールフィシャー法の比較検討

食衛誌, 32, 434~438 (1991)

食用タール色素における製品検査の1つに乾燥減量試験法がある。この方法は乾燥温度  $135^\circ$  で6時間という長い時間を必要とする。また食用タール色素は吸湿性が大きく、乾燥後デシケーター中で放冷する時の湿度等の条件の差異から測定値バラツキが生じる。一方カールフィシャー法は、常温で短時間に直接水分のみを定量することができる。このことから両試験法の再現性について比較検討を行った。その結果カールフィシャー法の方が空気中の水分の影響も少なく再現性よい結果が得られた。

**keyword** : food coal-tar dyes, loss on drying method, karl-fischer method

山田真記子<sup>\*1</sup>, 宮田政明<sup>\*1</sup>, 中村幹雄<sup>\*1</sup>, 柴田 正, 伊藤誉志男: イオンクロマトグラフィーによる各種タール色素中の塩化物, 硫酸塩, 臭化物及びヨウ化物の同時定量

食衛誌, 32, 548~552 (1991)

サプレッサー方式のイオンクロマトグラフ(IC)を用い、食用タール色素中の塩化物, 硫酸塩, 臭化物及びヨウ化物の同時定量を行った。カラムに中性のポリスチレン樹脂を、移動相にイオンペア試薬を、検出器に電気伝導度検出器を用いた。1000  $\mu\text{g/ml}$  の濃度の食用黄色4号, 食用赤色3号, 同赤色104号, 同青色1号, 及び同青色2号に塩化ナトリウム, 硫酸ナトリウム, 臭化ナトリウム及びヨ

ウ化ナトリウムをそれぞれ10  $\mu\text{g/ml}$  添加したときの回収率は89.6~106.9%と良好であった。また、各種市販食用色素中の上記の4種イオンについて調査したところ、規格のある塩化物及び硫酸塩はいずれの試料も規格に適合した。

**keyword** : coal-tar dyes, ion chromatography, anions

\* 三栄化学工業㈱

宮本文夫<sup>\*1</sup>, 佐伯正信<sup>\*1</sup>, 上条昌弥<sup>\*2</sup>, 神田宏<sup>\*3</sup>, 中岡正吉<sup>\*4</sup>, 西島基弘<sup>\*5</sup>, 伊藤誉志男, 竹下隆三<sup>\*6</sup>: 食品中の合成および天然色素の系統的分画と薄層クロマトグラフィーによる定性

衛生化学, 37, 542~551 (1991)

食品中の食用タール色素11種, その他の合成色素4種および天然色素19種, 合計34種の系統的定性分析法を作成した。溶媒分離およびポリアミドカラムにより各色素を分画・生成後, TLCにより定性を行った。

**keyword** : artificial dyes, natural dyes, polyamide column

\*1 千葉県衛生研究所

\*2 横浜衛生研究所

\*3 横浜市港南保健所

\*4 神奈川県研究所

\*5 東京都立衛生研究所

\*6 東邦大学薬学部

川村吉也<sup>\*1</sup>, 佐藤 猛<sup>\*1</sup>, 久保伸子<sup>\*1</sup>, 赤野裕文<sup>\*1</sup>, 黒沢 尋<sup>\*2</sup>, 中村和夫<sup>\*2</sup>, 天野芳文<sup>\*2</sup>, 伊藤誉志男, 藤巻正生<sup>\*3</sup>: バイオセンサ法による食品中の亜硫酸の測定

食工誌, 39, 233~238 (1992)

亜硫酸測定用バイオセンサ装置を新しく開発し、この装置を用いて各種食品中の亜硫酸の分析法を作製した。食品中の結合型亜硫酸は、硫酸濃度0.5 Nの酸性条件下、 $85^\circ\text{C}$ 、10分間の加熱処理により遊離型亜硫酸として測定した。オレンジジュースに遊離型および結合型標準(グルタルアルデヒド・重亜硫酸付加物)亜硫酸を100  $\mu\text{g/g}$  添加したときの回収率はいずれも94%以上と良好であった。なお、本法での最小検出限界は0.1  $\mu\text{g/g}$  であった。

**keyword** : free  $\text{SO}_2$ , combined  $\text{SO}_2$ , biosensor

\*1 中埜酢㈱

\*2 山梨大学工学部

\*3 東京大学農学部



小川義之, 村井敏美, 川崎浩之進: 赤血球 ATP 量を指標とした医療用具の *in vitro* 毒性試験法の開発

生体材料, 10, 1~8 (1992)

各種の無機金属塩を検体とし, さらに, 人工腎を含む各種医療用具にゴムおよびゴムの加工材料がよく利用されていることから, 手術用ゴム手袋を検体として, ウサギ赤血球 ATP レベルに対する影響と溶血性との相関性の検討を行い, 以下の結果および結論を得た。①医療用具およびその材料の毒性試験の一つである溶血性試験は, 検体が重金属などの場合は, 赤血球細胞膜に対する Tanning 作用のために評価できない場合がある。②赤血球を無機金属塩とインキュベートすると水銀, 鉛, 銅等の生体毒性の強い重金属が, 濃度およびインキュベート時間に依存して細胞内 ATP レベルを著明に低下させた。③ *In vivo* および *in vitro* の試験において毒性を示す手術用ゴム手袋ゴム抽出液も赤血球 ATP レベルを低下させた。④細胞内 ATP レベルを指標とした *in vitro* 毒性試験法は細胞の早期の段階での障害の検出が可能であり, 簡便・迅速かつ経済的な試験法として医療用具の毒性評価はもとより, その他の有害性物質の検索手段としても利用される。

keyword: ATP, hemolysis, medical devices

小川義之, 村井敏美, 川崎浩之進: 医療用具のエンドトキシン試験法—リムルス試験と発熱試験の関係—

防菌防黴, 19, 561~566 (1991)

薬事法により定められている医療用具基準における試料溶液の調製法は, 対象医療用具ごとに各種の加熱温度と加熱時間が記載されている。手術用ゴム手袋を用いて実験を行い以下の結果と結論を得た。①50℃や70℃での長時間の加熱処理あるいは121℃等の高温加熱処理は, 低濃度のエンドトキシン (ET) および乾燥菌体のリムルス活性および発熱活性を不活化させた。従って, 医用材料の試験液の調製にはこのような加熱抽出条件は ET を対象にするのであれば適切ではない。②ゴム手袋試料の高温抽出条件により遊離されるリムルス反応性物質は, ET とは異なる物質 ( $\beta$ -グルカン) であることが, ET に特異的な二種の LAL 試薬による実験結果と加熱による不活化態度により確認できた。③医用材料の ET 試験をリムルス試験法で行うには, ET に特異的な LAL 試薬で試験する必要がある。④材料

自体に由来する化学的発熱物質と汚染 ET を検出するための試料溶液調製法は区別されるべきである。

keyword: endotoxin, medical devices, LAL test

伊丹孝文, 江馬 真, 坂本 純, 細田勝子, 野口衛, 川崎浩之進: 細菌内毒素による発熱ウサギを用いた漢方方剤の解熱作用の検討

薬誌, 112, 129~134 (1992)

8種の漢方方剤 (乾燥エキス) を細菌内毒素 (0.05  $\mu$ g/kg, iv) で発熱させたウサギに経口投与し, 解熱作用を検討した。漢方方剤は0.6~2.0 g/kg を細菌内毒素と同時に投与した。最も強い解熱効果を示したのは大承気湯であった。当帰芍薬散料および小柴胡湯にも効果が認められた。香蘇散料, 葛根湯, 白虎加入参湯, 黄連解毒湯および五苓散料には解熱作用が認められなかった。

keyword: traditional chinese medicine, antipyretic effect, bacterial endotoxin

Ema, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: Spontaneous motor activity of rats after acute exposure to tributyltin chloride

Drug Chem. Toxicol., 14, 161~171 (1991)

Tributyltin chloride (TBTCI) の行動毒性を雄ラットを用いて検討した。TBTCI を腹内投与した後の体重増加は1.6 mg/kg 投与群では変化はなかったが, 3.3 mg/kg 投与群では著しく低下した。自発運動 (SMA) を投与後5日間測定したところ, TBTCI 投与により昼間のSMAには変化はみられなかった。しかし, 投与量に対応した24時間および夜間におけるSMAの著しい低下がみられ, 体重増加を起こさない1.6 mg/kgの投与でもSMAの低下が観察された。以上の結果から, TBTCIはSMAの低下を引き起こすことが明かとなり, また, SMA, 特に夜間のSMAの低下は毒性検出の鋭敏な指標となることが示唆された。

keyword: tributyltin chloride, behavioral toxicity, rat

Ema, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: Behavioral effects of acute exposure to tributyltin chloride in rats

Neurotoxicol. Teratol., 13, 489~493 (1991)

6.3, 12.5, 25.0 または 50.0 mg/kg の tributyltin chloride (TBTCI) を雄ラットに経口投与し,

自発運動 (SMA) および shuttle box を用いた条件回避反応 (CAR) を調べた。体重増加は 50.0 mg/kg 投与群で有意に低下したが、他の群では影響はみられなかった。12.5 mg/kg 以上の投与量では投与量に対応した夜間の SMA の有意の低下が観察された。また、25.0 mg/kg 以上の投与量においては投与量に対応した CAR の有意の低下がみられた。これらの結果から、TBTCI のラットに対する行動毒性が明らかとなり、さらに、SMA は毒性検出の鋭敏な指標になりうることが示唆された。

**keyword** : tributyltin chloride, behavioral toxicity, rat

Ema, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: **Teratogenicity of di-n-butyltin dichloride in rats** *Toxicol. Lett.*, 58, 347~356 (1991)

2.5, 5.0, 7.5 または 10.0 mg/kg の di-n-butyltin dichloride (DBT) をラットの妊娠 7~15 日に経口投与して胚/胎仔への影響を検討した。妊娠ラットの死亡、体重増加の低下および飼料摂取量の低下などの母体毒性が DBT 7.5 および 10.0 mg/kg 投与群で観察されたが、5.0 mg/kg 投与群では観察されなかった。5.0 mg/kg 以上の DBT を投与したとき投与量に対応した奇形胎仔の発現率の上昇が認められた。下顎裂、舌癒合、肋骨癒合、椎骨異常などの奇形が多く観察された。以上の結果から、DBT は母体毒性を示さない投与量でも奇形胎仔を発現させることが明らかとなった。

**keyword** : di-n-butyltin dichloride, teratogenicity, rat

Ema, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: **Effect of period of exposure on the developmental toxicity of butyl benzyl phthalate in rats**

*J. Appl. Toxicol.*, 12, 57~61 (1992)

2.0% の butyl benzyl phthalate (BBP) を含む飼料をラットの妊娠 0~20 日、0~7 日、7~16 日または 16~20 日に与え、胚/胎仔への影響について検討した。妊娠 0~20 日に BBP を与えた群では全ての母体で全胚吸収がみられた。着床前胚死亡率には各群間の差はみられなかった。吸収胚の増加が BBP を妊娠 0~7 日または 7~16 日に与えた群でみられたが、16~20 日に BBP を与えた群ではみられなかった。BBP を妊娠 7~16 日に与えた群では対照群および Pair-fed 群に比べて著しく多くの奇形胎仔

が観察された。この群では 95% 以上の胎仔に口蓋裂が観察された。以上の結果から、BBP の催奇形性が示唆された。

**keyword** : butyl benzyl phthalate, teratogenicity, developmental toxicity

Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>, Hirose, M.\*<sup>2</sup>, Takahashi, K.\*<sup>2</sup>, Koyama, K.\*<sup>2</sup> and Shimomura, K.: **Tannin production in hairy root cultures of *Sanguisorba officinalis* L.**

*Plant Tissue Culture Letters*, 8, 114~117 (1991)

ワレモコウの毛状根を誘導し、その液体培養におけるタンニン類の生産について検討した。ホルモン無添加 1/2 MS 液体培地で培養した毛状根 6 クロウンのうち 5 クローンにおいては sanguinin H-6 が主タンニンであり、残りの 1 クローンにおいては、1,2,3,6-tetra-O-galloyl- $\beta$ -D-glucose と sanguinin H-11 が高含量で生産されていた。

**keyword** : *Sanguisorba officinalis*, tannin, hairy root

\*<sup>1</sup> 佐賀大学農学部

\*<sup>2</sup> 明治薬科大学

Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>, Yonemitsu, H.\*<sup>2</sup> and Shimomura, K.: **Lobetyolin and lobetyol from hairy root culture of *Lobelia inflata***

*Phytochem.*, 30, 2255~2257 (1991)

ロベリア (*Lobelia inflata*) の毛状根から 2 種の新規ポリアセチレン化合物 lobetyolin (9-O- $\beta$ -D-glucopyronosyl-2,10-tetradecadien-4,6-diyne-8,14-diol) と lobetyol (2,10-tetradecadien-4,6-diyne-8,9,14-triol) を単離同定した。

**keyword** : *Lobelia inflata*, hairy root, polyacetylene

\*<sup>1</sup> 佐賀大学農学部

\*<sup>2</sup> (株) ツムラ分子遺伝学研究所

Shimomura, K., Sauerwein, M. and Ishimaru, K.\*: **Tropene alkaloids in the adventitious and hairy root cultures of solanaceous plants**

*Phytochem.*, 30, 2275~2278 (1991)

数種のナス科植物の不定根及び毛状根培養を確立し、それらのトロパンアルカロイド生産について検討した。最も高含量のトロパンアルカロイドは *Hyoscyamus albus* の不定根に認められ、一方、国

産菌で形質転換した *H. albus* の毛状根は非常に生育が良好で、22 日間の培養で 100 ml のフラスコ当たり 5 mg の hyoscyamine が得られた。 *H. niger* では毛状根の方が不定根よりも高含量であった。

**keyword** : adventitious root, hairy root, tropane alkaloid

\* 佐賀大学農学部

Sauerwein, M., Ishimaru, K.\* and Shimomura, K.: **A piperidone alkaloid from *Hyoscyamus albus* roots transformed with *Agrobacterium rhizogenes***

*Phytochem.*, **30**, 2977~2978 (1991)

新規ピペリドンアルカロイド hyalbidone[2 $\alpha$ , 2' $\beta$ -(1,2-ethanediy) bis-(N-methyl-3-piperidone)] を *Agrobacterium rhizogenes* strain MAFF 03-01724 で形質転換した *Hyoscyamus albus* の毛状根から単離同定した。

**keyword** : *Hyoscyamus albus*, hairy root, hyalbidone

\*1 佐賀大学農学部

Sauerwein, M. and Shimomura, K.: **Alkaloid production in hairy roots of *Hyoscyamus albus* transformed with *Agrobacterium rhizogenes***

*Phytochem.*, **30**, 3277~3280 (1991)

*Hyoscyamus albus* の毛状根を誘導しその生育とアルカロイド生産を検討した。1/2 MS および B5 培地では毛状根中のアルカロイド含量は高いが生育不良であり、一方 WP 培地では生育は良好であるが、含量が低かった。KNO<sub>3</sub> を WP 培地に添加すると非常に生育が良好になり、その結果、アルカロイド収量が顕著に増加し、28 日間の培養で 100 ml フラスコ当たり 30 mg 以上のトロパンアルカロイドが得られた。

**keyword** : *Hyoscyamus albus*, hairy root, tropane alkaloid

Shimomura, K., Kitazawa, T., Okamura, N.\* and Yagi, A.\*: **Tanshinone production in adventitious roots and regenerates of *Salvia miltiorrhiza***

*J. Nat. Prod.*, **54**, 1583~1587 (1991)

タンジンの不定根培養を種々の植物ホルモンを添

加した B5 培地を用いて確立した。種々の培養条件下で培養した不定根中の 4 種の主 tanshinone を HPLC にて分析した。最適条件下で培養した不定根には、80 mg/g (乾燥重量) の tanshinone 類が認められた。さらに、圃場で 6 カ月間栽培した組織培養由来株の根には、3~4 年間栽培した市場品よりも高い含量の tanshinone 類が認められた。

**keyword** : *Salvia miltiorrhiza*, root culture, tanshinone

\* 福山大学薬学部

Shimomura, K., Sudo, H.\*, Saga, H.\* and Kamada, H.\*: **Shikonin production and secretion by hairy root cultures of *Lithospermum erythrorhizon***

*Plant Cell Rep.*, **10**, 282~285 (1991)

ムラサキの毛状根培養を確立した。毛状根は、MS 培地では色素を生産しなかったが、RC 培地では多量の色素が生産され、その一部は培地中に放出された。吸着剤を培地に添加すると、shikonin 類の生産が 3 倍に増加した。これらの結果より、XAD-2 樹脂カラムをエアリフト型ファーメンターに接続した装置を考案し、220 日間の shikonin 連続生産に成功した。

**keyword** : *Lithospermum erythrorhizon*, hairy root, shikonin

\* 筑波大学生物学系

Wake, H.\*<sup>1</sup>, Akasaka, A.\*<sup>1</sup>, Umetsu, H.\*<sup>1</sup>, Ozeki, Y.\*<sup>2</sup>, Shimomura, K. and Matsunaga, T.\*<sup>1</sup>: **Enhanced germination of artificial seeds by marine cyanobacterial extract**

*Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **36**, 684~688 (1992)

海洋ラン藻の熱水抽出物を用いた人工種子の改良を行った。ニンジンの体細胞不定胚を 2 種のサイズに分離して人工種子を作製し、その発芽を調べたところ、包埋剤中に 400 mg/l の熱水抽出物含む人工種子では、91% の発芽率を示し、一方、熱水抽出物を含まない人工種子は、35% の発芽率であった。

**keyword** : marine cyanobacteria, artificial seed, *Daucus carota*

\*<sup>1</sup> 東京農工大学工学部

\*<sup>2</sup> 東京大学教養学部

Ishimaru, K.\* and Shimomura, K.: **Shoot regeneration in root and callus cultures of *Hypericum perforatum***

*Plant Tissue Culture Letters*, **9**, 39~42 (1992)

セイヨウオトギリソウの根を照明下ホルモン無添加MS培地で培養すると、固形培地および液体培地において、根から多数のシュートが形成した。得られた再分化植物体は容易に馴化し栽培された。また、0.5 mg/INAAと0.1 mg/lBA添加MS培地で培養したカルスからも多数のシュート形成がみられた。根およびカルス培養はセイヨウオトギリソウの大量増殖に有効である。

**keyword**: *Hypericum perforatum*, shoot formation

\* 佐賀大学農学部

Wake, H.\*<sup>1</sup>, Akasaka, A.\*<sup>1</sup>, Umetsu, H.\*<sup>1</sup>, Ozeki, Y.\*<sup>2</sup>, Shimomura, K. and Matsunaga, T.\*<sup>1</sup>: **Promotion of plantlet formation from somatic embryos of carrot treated with a high molecular weight extract from a marine cyanobacterium**

*Plant Cell Rep.*, **11**, 62~65 (1992)

ニンジンの体細胞不定胚からの植物体再生に促進効果のある海洋ラン藻の熱水抽出物から高分子画分を単離し、この画分に活性があることを確認した。また、高分子画分処理した不定胚は未処理の不定胚の5倍のクロロフィル含量を示した。

**keyword**: Marine cyanobacteria, *Daucus carota*, chlorophyll

\*<sup>1</sup> 東京農工大学工学部

\*<sup>2</sup> 東京大学教養学部

Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: **Transformation of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) with *Agrobacterium rhizogenes* MAFF 03-01724**

*Plant Cell Rep.*, **11**, 132~136 (1992)

*Agrobacterium rhizogenes* MAFF 03-01724の感染により、ケシの形質転換培養系を確立した。形質転換細胞から多数のシュートが分化し、それらは、通常のシュートとは異なった形態を示していた。形質転換したシュートおよび正常シュート中のモルフィナンアルカロイド含量を、ELISA法とHPLC法を用いて分析したところ、形質転換体にはコデイン

は存在するが、モルヒネは検出されなかった。

**keyword**: *Papaver somniferum*, transformation, ELISA

Ishimaru, K.\*<sup>1</sup>, Sadoshima, S.\*<sup>1</sup>, Neera, S.\*<sup>1</sup>, Koyama, K.\*<sup>2</sup>, Takahashi, K.\*<sup>2</sup> and Shimomura, K.: **A polyacetylene gentiobioside from hairy root of *Lobelia inflata***

*Phytochem.*, **31**, 1577~1579 (1992)

MS液体培地で培養したロベリア (*Lobelia inflata* L.) 毛状根から、新規ポリアセチレン化合物 lobetyolinin (9-O-β-D-gentiobiosyl-2,10-tetradecadien-4,6-diyne-8,14-diol) を単離同定した。

**keyword**: *Lobelia inflata*, hairy root, polyacetylenes

\*<sup>1</sup> 佐賀大学農学部

\*<sup>2</sup> 明治薬科大学

田中俊弘\*, 酒井吉見\*, 酒井英二: **伊吹山の薬草 (1) 民間薬伊吹百草**

日本植物園協会誌, **26**, 26~33 (1992)

伊吹山の麓では自生植物が古くから民間薬として使用され、その中に「伊吹百草」と呼ばれるものがある。現地でのアンケート調査および配合植物の鑑別を行い伊吹山の西側(滋賀県伊吹町)ではヨモギを主剤とした溶剤として、伊吹山の東側(岐阜県春日村)ではゲンノショウコ、イブキトウキ、ドクダミを主剤とした溶剤および茶剤として伝えられていることを明らかにした。

**keyword**: fork medicine, bath material, Mt. Ibuki

\* 岐阜薬科大学

香月茂樹, 泉 宏昌\*<sup>1</sup>, 坂崎信之\*<sup>2</sup>: **大阪の万国博覧会に出品する巨大植物グンネラ *Gunnera* について**

日本植物園協会誌, **24**, 27~35 (1990)

1990年大阪で開催された「国際花と緑の博覧会」の展示植物として、欧米では巨大植物・珍奇植物として植物園の看板植物にもなっている *Gunnera manicata* (和名: オニブキ) の国内初の本格的栽培の経過・方法についての記述である。ブラジル南部の自生地における生育環境・生育状況の調査内容、わが国での栽培上の必要条件、実際の栽培状況、博覧会での展示の見通しなどを記した。

**keyword** : *Gunnera manicata*, Haloragaceae, magnificent plant

\*1 東京薬科大学

\*2 日本植物園協会

Kohda, H.\*1, Tanaka, S.\*1, Yamaoka, Y.\*1, Izumi, H.\*2, Nuno, M.\*3, Isoda, S.\*4, Gotoh, K.\*5, Watanabe, T.\*6, Katsuki, S., Satake, M.: *Chikusetsusaponin. VI. A New Saponin from the Rhizome of Panax pseudo-ginseng var. angustatus* Hara

*Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1588~1590 (1991)

富士山麓で採集したホソバチクセツニンジンの根茎より新規サポニンを単離し、構造決定した。

**keyword** : *Panax pseudo-ginseng* var. *angustatus*, Araliaceae, chikusetsusaponin

\*1 広島大学医学部

\*2 東京薬科大学

\*3 帝京大学薬学部

\*4 昭和大学薬学部

\*5 京都薬科大学

\*6 北里大学薬学部

原田正敏：瀉下薬——漢方処方における薬効群 (12)

現代東洋医学, **12(3)**, 102~108 (1991)

一般用漢方製剤 210 処方の効能・効果に準拠して、瀉下薬とみなしうる処方を選択し、解説した。大黄甘草湯（だいおうかんぞうとう）以下 15 処方であり、大黄以下 36 種の生薬が使われている。

**keyword** : Cathartics, Chinese medicine formulation, Rhei Rhizoma

原田正敏：鎮吐薬——漢方処方における薬効群 (13)

現代東洋医学, **12(4)**, 110~114 (1991)

前記事に引き続き、鎮吐薬とみなしうる処方を選択し、解説した。乾姜人参半夏湯（かんきょうにんじんはんげがん）以下 12 処方であり、半夏以下 19 種の生薬が使われている。

**keyword** : Antiemetics, Chinese medicine formulation, Pinelliae Tuber

原田正敏：利尿薬——漢方処方における薬効群 (14)

現代東洋医学, **13(1)**, 94~99 (1992)

前記事に引き続き、利尿薬とみなしうる処方を選択し、解説した。五苓散（ごれいさん）以下 13 処方であり、茯苓以下 33 種の生薬が使われている。

**keyword** : Diuretics, Chinese medicine formulation, Hoelen

原田正敏：尿路疾患用薬——漢方処方における薬効群 (15)

現代東洋医学, **13(2)**, 119~122 (1992)

前記事に引き続き、尿路疾患用薬とみなしうる処方を選択し、解説した。猪苓湯（ちよれいとう）以下 10 処方であり、沢瀉以下 35 種の生薬が使われている。

**keyword** : Drugs for diseases in urinary tract, Chinese medicine formulation, Alismatis Rhizoma

吉岡澄江：安定性試験実施方法のガイドラインについて

医薬品研究, **22**, 805~811 (1991)

1992 年 2 月に通知された安定性試験実施方法のガイドラインについて、基盤となる考え方、主な改訂点、留意すべき点などを解説した。

**keyword** : stability testing, guidelines

吉岡澄江：生分解性高分子を利用した放出制御機能の設計とその安定性

*Pharm Tech Japan*, **8**, 161~167 (1992)

官民共同プロジェクト研究として進められている当該研究について現在までの研究成果を概要した。生分解性高分子を用いた放出制御製剤の製剤機能を評価する上で重要となる物理化学的特性、すなわちマトリックスの結晶性や薬物の分布状態などについて解説した。

**keyword** : biodegradable, polymer, controlled release

吉岡澄江, 阿曾幸男：NMR でみる水の運動性と医薬品の安定性

ファルマシア, **28**, 23~25 (1992)

NMR 緩和時間からみた水の運動性についての最近のデータを紹介し、水の動的状態の解析に基づく医薬品の安定性予測の必要性を明らかにするとともに、NMR 緩和時間が水の動的状態を評価する上で有用であることを述べた。

**keyword** : NMR, water mobility, drug stability

石橋無味雄：殺虫剤並びに殺虫剤指針について  
衛生化学, 37, xxi~xxiii (1991)

衛生害虫の駆除または防止を目的とする薬剤の殺虫剤について解説し、また1991年に公示された殺虫剤指針および将来発行される殺虫剤指針解説書について紹介した。

**keyword** : pesticide, standard, insect

中原雄二：薬物乱用の科学 IV. 麻薬の科学  
News Letter Now, 13, 2~4 (1991)

1. 麻薬とは (定義, 種類, 性質) 2. 麻薬の使用の歴史 3. 麻薬の検体と検査 4. 麻薬の吸収, 分布, 排泄 5. 麻薬の作用 6. 麻薬の乱用

以上の項目について解説した。

**keyword** : narcotics, drug abuse, epidemiology

中原雄二：薬物乱用の科学 V. 大麻の科学  
News Letter Now, 14, 2~5 (1991)

1. 大麻の起源と分布 2. 大麻草の植物学 3. 大麻製品の名称 4. 大麻成分 5. 大麻の薬理作用 6. 大麻の使用証明法 7. 大麻の乱用

以上の項目について解説した。

**keyword** : cannabis, drug abuse, epidemiology

中原雄二：薬物乱用の科学 VI. 向精神薬とシンナーの科学  
News Letter Now, 15, 11~15 (1991)

1. 向精神薬とは 2. 向精神薬の乱用 3. シンナーについて 4. シンナーの科学的性質 5. シンナーの作用と毒性

以上の項目について解説した。

**keyword** : psychotropic substances, organic-solvent abuse, drug abuse

中原雄二：薬物検査とその問題点について  
News Letter Now, 19, 4~5 (1992)

1. 薬物鑑定について (薬物検査, 日本の麻薬研究と鑑定機関, 司法鑑定におけるGLPと検査精度管理, 鑑定に対するトラブルと話題) 2. 最近の乱用薬物の研究について (検体の起源解明, 毛髪分析, ヒゲや唾液の利用, 治療薬と覚せい剤の使用の識別)

以上の項目について解説した。

**keyword** : forensic analysis, GLP, drug abuse

中原雄二：毛髪分析で何がわかるか

皮膚と美容, 23, 18~22 (1991)

1. はじめに 2. 毛髪の発生機構と毛髪の成長 3. どんな薬物が毛髪中に検出されているか 4. 毛髪試料はどのように処理されるか 5. 毛髪中の薬物はどのようにして検出されるか 6. どの位の濃度で検出され, 試料量をどの位必要とするか 7. どの部位の毛髪が用いられるか 8. 薬物投与量と毛髪中薬物濃度は相関があるか 9. 毛髪中の薬物は固定されているのか, 流動するのか 10. 毛髪分析による薬物使用歴の推定は可能か 11. いつまで検出されるか 12. 胎児へ薬物が影響するか

以上の項目について解説した。

**keyword** : hair analysis, drugs of abuse, drug testing

早川堯夫：細胞培養医薬品生産に用いられる動物細胞および生産工程の管理方法 (その1), 細胞の特性試験, 管理方法, 安定性評価, 培養について

医薬品研究, 23, 137~148 (1992)

細胞培養医薬品生産に用いられる動物細胞および生産工程の適正な管理方法を確立する目的で, 現時点までに蓄積されたデータや知識・経験, 本分野における科学技術の急速な進展, 諸外国における試験・評価基準の整備とのハーモナイゼーションなどをふまえ, 試験・評価法のあり方や具体的な試験方法の提示, 標準化に関する調査研究を実施した。その結果, 無限増殖系細胞, 正常二倍体細胞, ハイブリドーマなどの細胞の種類およびマスター・セル・バンクなど各細胞段階別の細胞特性試験実施要領, 細胞の調製・保存方法およびその管理方法, 医薬品製造条件下での細胞の安定性評価法, 連続培養法や動物を用いる培養法を含む細胞培養法上の留意点などを明らかにした。

**keyword** : cell culture technology-derived drugs, control of cell lines, characterization of cell lines

早川堯夫：バイオテクノロジー応用医薬品とは  
月刊薬事, 34, 23~29 (1992)

バイオテクノロジー応用医薬品に関連して, その定義, 製造に利用されるテクノロジー, わが国で既に承認された主な製品の開発経緯やそれぞれの品質・安全性・臨床適用面などからみた特徴, 医薬品開発に必要な事項等について解説した。

**keyword** : biotechnology drugs

森本和滋 : WHO: 国際化学物質安全性計画 IPCS 水質汚濁研究, 14, 426~431 (1991)

IPCS 設立までの化学物質安全性の歴史, IPCS の目的と事業, 過去 10 年間の成果, 環境保健クライテリア作成の過程における国際協力の実際, 今後の IPCS への期待などについて解説した。

**keyword** : IPCS, environmental health criteria

林 裕造, 早川堯夫, 大野泰雄, 五十嵐俊一<sup>\*1</sup>, 高山 敏<sup>\*2</sup> : 第 1 回日・米・欧三極医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議 (ICH) : 安全性について

月刊薬事, 34, 395~398 (1992)

第 1 回日・米・欧三極医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議 (ICH) : 安全性ワークショップにおいて取り上げられた単回投与毒性試験, 反復投与毒性試験, 発癌性試験, 生殖毒性試験, バイオテクノロジー, 臨床知験と毒性試験の実施時期の関係などの諸課題について, 討議内容や国際的ハーモナイゼーションの立場からの具体的勧告, 今後の方向づけなどを紹介し, 解説を加えた。

**keyword** : safety, ICH

<sup>\*1</sup> エーザイ(株)

<sup>\*2</sup> 第一製薬(株)

関田節子 : 植物起源の抗菌物質

食品と開発, 27, 11~14 (1992)

植物成分の機能性と高度利用の観点から, 従来報告されている抗菌性成分を紹介し, 起源植物, 対象菌類について解説した。さらに, 活性テスト実施上の問題点にふれ, 今後の可能性などについて述べた。

**keyword** : antimicrobial activity, medicinal plants, anti caries-inducing bacterium

佐竹元吉 : ミシマサイコの生産と資源

現代東洋医学, 12, 71~78 (1992)

ミシマサイコの起源植物, 栽培状況, 品種, 種苗の特性, 栽培方法, 優良種苗の育成, 中国のミシマサイコ属の種類および資源としての展望を述べた。

**keyword** : resouce of *Bupleurum falcatum*, production of *Bupleurum falcatum*

土屋利江 : 培養細胞による催奇形性試験

組織培養, 17, 412~418 (1991)

胎仔の中脳および肢芽細胞を用いた初代培養システムおよび HEPM 細胞を用いたヒト胎児細胞培養システムでの *in vitro* 試験法について解説した。これらの系は, 器官形成期の胎仔が子宮内で形態形成を進行させる際に重要な細胞機能をパラメーターとしている。細胞培養を用いた系は, 使用する動物数の低減化, 操作および判定の簡便性, さらに低コストとスクリーニングとしての特性に優れているのみならず, 動物種差, 作用機序の解明にも応用できる事を示した。

**keyword** : embryonic cells, midbrain, limbud

中村晃忠 : ゴムラテックスによる即時型アレルギー

生体材料, 9, 303~310 (1991)

天然ゴムラテックス製品による即時型アレルギー, 中でも, 手術時に手術用ゴム手袋やゴム製カテーテルなどに接触した患者に起こるアナフィラキシー症状が近年問題となっている。症状, 原因製品, 頻度, 診断方法, 原因アレルゲン, 対策などについて, 現在までの知見をまとめた。

**keyword** : natural rubber latex, type-I allergy

松村年郎 : 室内空気汚染の現状について

大気汚染学会誌, 26(5), A99~109 (1991)

第一次石油ショック以後, 世界的に注目され始めてきた室内空気汚染問題について, その経緯, 発生源別にみた室内汚染の現状, 換気と室内汚染, 室内汚染の行政対策等について, 内外の資料を基に現状を紹介した。

**keyword** : indoor air pollution

安藤正典 : 厚生省におけるゴルフ場使用農薬の検査方法

水質汚濁研究, 14, 14~18 (1991)

環境中におけるゴルフ場使用農薬は水道水源を汚染する可能性があることから, 高い関心がもたれている。このため早急な具体的指導処置として環境庁並びに厚生省は暫定的な水質目標値を設定した。これに伴い, 厚生省では水中からのゴルフ場使用農薬の検査方法として我国でははじめて GC/MS による方法を確立した。そこで, GC/MS による検査方法について概説した。

**keyword** : analysis of pesticides

安藤正典：水道水中化学物質の公定法としての分析

ぶんせき, 5, 378~384 (1992)

WHO では飲料水の水質ガイドラインの設定作業を現在進めている。さらに、USEPA でも水質基準の見直しを終了している。一方、わが国では再帰的水道原水の汚染状況の変化に対応して基準改訂作業を進めており、近々明らかにされる。そこで、ここでは分析化学の立場から水道水および水道原水中に混入するおそれのある化学物質の測定法を USEPA の公定法を中心に述べた。

**keyword** : standard method for drinking water

斎藤行生：食品中の残留農薬の分析法のこれから  
食品衛生研究, 41(12), 7~13 (1991)

食品中の残留農薬分析法のうち、多成分一斉分析法の紹介とその問題点、新しい検出器である原子発光検出器の原理とその応用等について概説し、これからの方向性について示唆した。

**keyword** : residual pesticides, atomic emission detector, gas-chromatograph

斎藤行生：「食品衛生検査指針（理化学編）」の改訂版発行について

食品衛生研究, 42(1), 55~63 (1992)

「食品衛生検査指針」改訂版の刊行に際して、その取載項目、執筆者、構成および各章の内容や特徴について概説し紹介を行った。

**keyword** : standard method of analysis, food safety regulation

内山貞夫：照射食品の検知法に関する国際的動向  
*RADIOISOTOPES*, 40 (7), 40~49 (1991)

FAO/IAEA は 1990 年 1 月より「照射食品の検知法に関する調整研究計画 (The Co-ordinated Research Programme on Analytical Detection Methods for Irradiation Treatment of Food: ADMIT)」を開始しており、その第 1 回の研究調整会議が開催された (ポーランド、ヤハランカ、1990.7.25~29)。この会議では、物理学的方法、化学的方法と生物学的方法が提起され検討された。有力な実用検知法としては、骨付肉および香辛料の ESR 法、香辛料の熱発光法と化学発光法、ジャガイモのインピーダンス法、肉および脂肪を含む食品の揮発性シクロブタノン法、柑橘類の胚培養法、香

辛料の DEFT-APC 法がある。ADMIT は 1994 まで継続され貿易上の問題解決のための国際検知法が作成される。

**keyword** : irradiated food, identification of irradiated food,  $\gamma$ -irradiation

内山貞夫：照射食品の検知法に関する技術開発と国際的動向

食品と技術, 184, 3~10 (1991)

照射食品の検知法に関する国際研究計画が FAO/IAEA によって 1990 年より 5 年計画で開始された。その第 1 回会議 (ポーランド、1990 年) で討議された物理学的方法、化学的方法と生物学的方法について個々の技術的な面から解説を加えた。有力な実用検知法としては、骨付肉および香辛料の ESR 法、香辛料の熱発光法と化学発光法、ジャガイモのインピーダンス法、肉および脂肪を含む食品の揮発性シクロブタノン法、柑橘類の胚培養法、香辛料の DEFT-APC 法が挙げられる。貿易上の問題解決のための国際的検知法の策定が検討されている。

**keyword** : irradiated food, identification of irradiated food,  $\gamma$ -irradiation

内山貞夫：照射食品の検知法の開発と現状

放射線と産業, 52, 49~54 (1991)

1990 年、第 1 回の照射食品の検知法に関する研究調整会議 (ポーランド、1990 年) が

FAO/IAEA の主催で開催された。照射食品の検知法の開発と現状をわかり安く解説した。この会議で討議された物理学的方法、化学的方法と生物学的方法の中で、有力な実用検知法としては、骨付肉および香辛料の ESR 法、香辛料の熱発光法と化学発光法、ジャガイモのインピーダンス法、肉および脂肪を含む食品の揮発性シクロブタノン法、柑橘類の胚培養法、香辛料の DEFT-APC 法が挙げられる。貿易上の問題解決のための国際的検知法の策定が検討されている。

**keyword** : irradiated food, identification of irradiated food,  $\gamma$ -irradiation

内山貞夫、斎藤行生：輸入食品の放射能汚染—その後の経過

*New Food Industry*, 34(5), 8~12 (1992)

チェルノブイル原子力発電所の事故 (1986 年)



由来の放射能汚染に関して、我が国では汚染地域からの輸入食品中の放射能が大きな問題となった。輸入食品の放射能検査の対応とその汚染実態ならびにその後の経過が述べられた。輸入食品中の放射能の暫定限度値は、我が国の放射能防護法の規準値、輸入量実績等に基づき Cs-137+Cs-134 のガンマー線について 370 Bq/kg を越えるものを違反品とした。国立衛生試験所並びに主要 5 箇所の検疫所に Ge-検出器を設置し、精密検査を行った。現在では、検査対象品目および対象国（主たる汚染国 12 か国）がしばられ、かなりの品目がモニター（10%）されている。1991 年まで違反検体数は 54 であり、汚染レベルも年々低下している。

**keyword** : imported food, radioactive contamination, Chernobyl

三瀬勝利：衛生物検査の最近の動向について  
食品衛生研究, 41, 29~41 (1991)

菌株同定と菌数測定の前自動化・省力化、遺伝子操作技術、免疫化学応用検査法、および実験動物とバイオハザード対策についての、微生物面からの最近の動向について解説した。

**keyword** : biohazard, DNA probe method, microbial tests

三瀬勝利, 真鍋 勝<sup>\*1</sup>, 芦田勝朗<sup>\*2</sup>, 熊谷 進<sup>\*3</sup>, 一戸正勝, 丸山 務<sup>\*4</sup>, 寺門誠致<sup>\*5</sup> : UJNR 有毒微生物専門部会第 7 回有毒微生物国際シンポジウムおよび第 26 回日米合同部会の概要  
食品衛生研究, 42, 7~60 (1992)

1991 年 11 月 12 日~19 日に行われた第 7 回有毒微生物国際シンポジウムと第 26 回日米合同会議、および視察旅行について紹介を行った。また国際シンポジウムで発表された 33 の演題の要旨を紹介した。

**keyword** : food poisoning, mycotoxin, toxic micro organisms

- \*1 農林水産省食品総合研究所
- \*2 水産庁中央水産研究所
- \*3 国立予防衛生研究所
- \*4 国立公衆衛生院
- \*5 農林水産省家畜衛生試験場

Nakata, K.: Prediction of the Functional Site in Genetic Code

*Trends in Biological Cybernetics*, 2, 27~33 (1991)

遺伝コード上の機能的部位の周辺には特定の配列パターンが現われることが多いが、この配列パターンは特定の機能部位以外にもみられる。類似したパターンを持つ配列の中から特定の機能部位を含む配列と、それ以外の配列とを区別するため、種々の方法を考慮する。神経回路網理論において進展したパターン認識機構を用いて配列の類似性の情報を学習させることは有力な方法であるが、短所もある。配列要素の種々の特性を定量化した値等と組み合わせることにより予測率を上げることができる。

**keyword** : genetic code, pattern recognition, discriminant analysis

関沢 純：化学物質安全性評価の国際協力について—情報管理面からのアプローチ

塩ビ食品衛生協議会報, 97, 1~15 (1991)

国際協力による化学物質の安全性について紹介した。国際協力の結果として公表された数々の安全性情報の利用方法、またそれらの中から必要な情報を抽出し、データベースを用いて情報を管理する手法について筆者の経験をもとに紹介した。

**keyword** : risk assessment on chemicals, international cooperation, information management

関沢 純：国連環境開発会議準備会合から人間と環境, 17, 177~178 (1992)

1992 年に開かれる国連環境開発会議のための第 3 回準備会合に出席した中から、準備会合の全容と有害化学物質の管理についての討議内容、今後の課題について記した。

**keyword** : UN conference on environment and development, preparatory committee, toxic chemicals

津田充有, 倉島由紀子\* : 亜硝酸および窒素酸化物との相互作用による変異原の生成、修飾とその抑制

環境変異原研究, 13, 31~52 (1991)

ヒトの硝酸塩、亜硝酸塩並びに NO<sub>x</sub> への暴露は野菜の摂取や食品添加物の使用、喫煙、排気ガスなどから日常的に起こっている。最近では、炎症時、マクロファージの活性化により L-アルギニンを基質とする一酸化窒素合成酵素の誘導が知られるよう

になった。本報では、これら窒素酸化物の体内運命、相互作用についての知見を、著者らの研究成果を中心に論じ、解説を試みた。

**keyword** : endogenous N-nitrosation, nitrite trapping, thioproline

\* 国立がんセンター研究所

Tsuda, M. and Kurashima, Y.\*: **Tobacco smoking, chewing, and snuff dipping: factors contributing to the endogenous formation of N-nitroso compounds**

*CRC Critical Reviews in Toxicology*, **21**, 243~253 (1991)

喫煙の発癌への影響として、体内ニトロソ化合物生成に関する知見をまとめた。主として、たばこ煙成分中 NO<sub>x</sub>, HCN ガスについて、次の観点より論じた。即ち 1) NO<sub>x</sub> の体内ニトロソ化剤としての可能性 2) HCN の体内解毒の結果上昇した唾液中ロダン塩による体内ニトロソ化反応の促進、引用文献数 74 件。

**keyword** : tobacco smoke, endogenous N-nitrosation, NO<sub>x</sub>

\* 国立がんセンター研究所

林 裕造, 大野泰雄: **動物実験代替法——毒性試験を中心に**

ファルマシア, **27**, 1253~1257 (1991)

毒性試験の定義と現状での方法、動物代替試験の科学的基盤について理論的考察を加えるとともに、*in vitro* 実験技術の動物代替法への応用例について解説し、評価した。社会が求めている理想的な動物代替試験は、1) 定められた投与条件においてヒトでの発現が予想される有害影響の全体像もしくは特定部位への有害影響の評価について、少なくとも現行の毒性試験と同程度の情報を提供しうること、2) 実験動物の使用に関して 3R (replacement, reduction, refinement) のいずれかにつながり、望むらくは試験全体の省力化に役立つものである必要がある。また、動物代替法の研究を阻害している最大の要因が実験技術よりもむしろヒトにおける有害影響そのものの発現機序、発現過程についての知識が不足していることによる。現状における代替試験法では試験材料の供給や現れた反応の毒性評価における意義の解釈については、まだ不十分なところがあるが、種差を超越した毒性評価の方法として期待され

るところも大きい。

**keyword** : alternative method, *in vitro* toxicity test method

大野泰雄: **第21回医薬品国際一般的名称委員会報告**

医薬品研究, **22**, 911~914 (1991)

医薬品の一般的名称は日本における一般名 (JAN) が決定された後に WHO に申請され、国際一般的名称 (INN) が決定されるが、本報告では INN 自体について、また、その決定に至る過程について解説した。また、1991年4月までの約半年間に申請された品目についての議事の結果を解説した。なお、成長ホルモンやモノクローナル抗体に対してそれぞれ“-ermin”と“-mab”が新しいステムとして決定された。

**keyword** : INN, JAN, stem

井上和秀, 中沢憲一: **ATP 受容体と神経伝達物質放出**

生化学, **64**, 172~177 (1992)

ATP 受容体刺激による神経伝達物質放出機序について総説した。ATP 受容体刺激はこれまでシナプス前神経細胞からの神経伝達物質放出を抑制すると言われてきたが、我々の研究により ATP そのものが神経伝達物質放出を惹起する可能性が考えられるようになった。PC 12 モデル細胞での神経伝達物質放出メカニズムは次のごとくである。ATP は P 2 Y 様受容体を刺激し非選択性のカチオンチャネルを活性化し、そこから流入した Ca によりカテコールアミン放出を起こす。この総説は ATP のシナプス伝達における生理機能を考察する上で重要な指摘をした。

**keyword** : ATP receptor, neurotransmitter release, PC 12

林 裕造, 吉村博之: **医薬品の投与と発がん**

医薬品研究, **22**, 345~353 (1991)

医薬品開発における発がん性試験について、1) 医薬品投与に関連するヒトの発がん、2) 医薬品開発における発がん性試験結果の評価について解説した。IARA の Monograph によれば、ヒトに対して発がん性が明らか、または可能性の高いものは 20 物質であり、その内、genotoxic carcinogen とみなされる医薬品の多くは抗がん剤に属し、non-

genotoxic car-cinogen はホルモン剤や免疫抑制剤等である。そこで、実際の開発において発がん性を評価する際は、まず、動物試験等の知見から動物に対する発がん性を評価し、次いで作用機序、代謝、化学構造等の知見よりその作用がヒトにも発現するかを判断し、最後に、作用強度、投与量、投与期間等から臨床使用におけるヒトに対する発がんリスクを判定する。そして、genotoxic carcinogen である場合は、risk と benefit の balance を考え、リスクの軽減も考慮する。Non-genotoxic carcinogen の場合には、発がんに関与すると予想される作用-例えば内分泌環境等について調べるべきであろう。

**keyword** : drug administration, cancer risk, carcinogen

Hayashi, Y., Maekawa, A., Takahashi, M. and Imaida, K.: **Carcinogen risk assessment**  
*Toxicol. Indust. Health*, 7, 297~305 (1991)

発がん物質のリスクアセスメントの考え方は時代の変遷とともに変化している。しかし、現在では(1)ヒトへの発がん効果についての定性的な検討、(2)ヒトでの暴露量の推定、(3)ヒトの実際の危険性を推定するための用量作用相関の検討、(4)以上の検討を総合してヒトでの実際の暴露量を考えにいった化学物質のリスクアセスメント、の四つのステップでおこなわれるべきである。化学物質を規制するに際してのリスクアセスメントは、以上の各ステップの科学的情報に基づいておこなわれるべきであり、情報が不足している場合はそれを補い、さらに情報の質を高めるための基礎科学の充実につとめるべきである。**keyword** : risk assessment, carcinogen, regulatory science

林 裕造, 高橋道人: **男性ホルモン/蛋白同化ステロイド製剤と肝腫瘍**

*Annual Report 1990*, 副作用と薬の使い方, 104~108 (1991)

Androgenic-anabolic steroid による肝腫瘍に関する現状の知見は次のようにまとめられる。Androgenic-anabolic steroid 剤の長期大量投与と肝腫瘍発生との因果関係はほぼ確定している。長期大量投与が肝腫瘍発生の条件であるが、この他に遺伝的要因等の個体側の条件も関与していると推定される。発生した腫瘍の大半は肝細胞性腫瘍(肝細胞腺腫, 肝細胞がん)であるが、血管性腫瘍の発生も疑

われている。Androgenic-anabolic steroid の長期大量投与による肝細胞がんの発生過程には肝細胞の結節性過形成, 肝細胞腺腫等の途中段階があると予想され、初期段階の病変については薬剤投与の中止により縮小するとの知見がある。肝腫瘍に随伴する類洞拡張の破綻による肝実質内および腹腔内への出血が臨床的に注意すべき事項である。

**keyword** : androgen, androgenic-anabolic steroid, hepatoma

Elwell, M. R.\*, Stefanski, S. A.\* and Mitsumori, K.: **Chordoma, Rat. Cardiovascular and musculoskeletal system. "Monographs on pathology of laboratory animals"**, ed  
Jones, T. C., ILSI 214~218 (1991)

ラットに発生する脊索腫の剖検, 組織および電顕所見等の病理学的特徴, 類症鑑別, 生物学的特徴を文献的に、また著者らの研究成果も含めて総説した。この腫瘍は、以前、脂肪肉腫, 明細胞癌, 軟骨腫等と誤診されていたが、著者らの56例におよぶF344ラットの脊索腫についての形態学的解析より本腫瘍が胎仔期の脊索に由来する腫瘍であることを明らかにした。また、肺に転移することが多いが、原発部位が不明なことが多いことも見だし、詳細な剖検が必要であることを論述した。

**keyword** : chordoma, rat.

\* National Institute of Environmental Health Sciences, USA

Takahashi, M. and Imaida, K.: **Modification of tumor development in the gastrointestinal tract**

*Prog. Exp. Tumor Res.*, (Basel, Karger), 33, 58~75 (1991)

化学物質を用いた消化管腫瘍の動物実験モデルを概説した。これらの実験モデルを利用して消化管腫瘍の病因の追求やヒトの疾患との類似性が検討されている。さらにヒトの生活環境におけるリスクファクターを確認したり、疫学的に指摘されていない影響因子を動物実験によって検出することも行われている。食道癌のラットモデルではMBNの投与が行われ、亜鉛欠乏やアルコール摂取が促進因子として作用することが示されている。胃癌のラットモデルではMNNGの投与が行われ、食塩や胆汁酸が促進因子として作用し、また潰瘍や胃切除後断端部が

好発部位となることが確かめられている。小腸や大腸の腫瘍モデルでは MAN や DMH 投与が行われ、動物性脂肪や胆汁酸が促進因子として作用し、食物線維は抑制的に働くことが示され、さらに潰瘍性大腸炎のモデルでは好発病変であることが示されている。

**keyword** : esophageal carcinogenesis, stomach carcinogenesis, intestinal carcinogenesis

川西 徹：デジタル化ビデオ顕微鏡法によるカルシウムウェーブの検出

ファルマシア, 27, 816~817 (1991)

近年発展の著しいエレクトロニクス技術を細胞生物学の研究に応用することにより、従来の実験技法では不可能であった単一細胞レベルの生化学的測定が可能になりつつある。その典型的な例が細胞内遊離カルシウムイオン濃度の測定であり、現在単一細胞内のカルシウムイオンの局在さえも検出できるようになった。

**keyword** : calcium wave, electronics, single cell

祖父尼俊雄, 山本勝彦\*1, 石崎陸雄\*2, 渡辺重信\*3, 真板敬三\*4, 竹本和夫\*5：食品添加物の変異原性試験成績 (その 10) —昭和 63 年度厚生省試験研究費による—

変異原性試験, 1, 46~52 (1992)

各種食品添加物の変異原性を、Rec-assay, Ames テスト, 染色体異常試験, 小核試験法を用いて調べ、得られた結果について解説した。

**keyword** : food additive, mutagenicity test

\*1 名古屋市衛生研究所食品部

\*2 茨城県衛生研究所環境保健部

\*3 神奈川県衛生研究所食品薬品部

\*4 助残留農薬研究所毒性部

\*5 埼玉医科大学公衆衛生学教室

祖父尼俊雄：変異原性試験

水道協会雑誌, 60, 24~34 (1991)

変異原性試験について解説した。

**keyword** : mutagenicity test

祖父尼俊雄：小核試験

ファルマシア, 27, 907~910 (1991)

小核試験について解説した。

**keyword** : micronucleus test

Shelby\*, M. D. and Sofuni, T.: Toxicology testing requirements and the U. S.-Japan collaborative study on in vitro tests for chromosomal aberrations

*Environ. Health Perspect.*, 94, 255~259 (1991)

染色体異常試験における日米協力研究等について論じた。

**keyword** : toxicology testing, collaborative study, chromosomal aberration

\* National Institute of Environmental Health Sciences

能美健彦：誤りがち DNA 修復の分子機構—大腸菌の UmuD, UmuC, RecA, DNA 複製酵素と紫外線誘発突然変異

蛋白質核酸酵素, 36, 1911~1925 (1991)

大腸菌の紫外線誘発突然変異の分子機構について、umuDC 遺伝子の構造と機能を中心に研究の現状を紹介した。

**keyword** : umuDC, recA, error-prone DNA repair

能美健彦：変異原性試験に有用な高感受性テスト細胞の開発

*Biomedica*, 6, 1103~1107 (1991)

遺伝子クローニング法を用いて開発した、変異原性試験に有用な高感受性サルモネラ株について紹介した。

**keyword** : mutagenicity, nitroreductase, acetyltransferase

能美健彦, 渡辺雅彦：ニトロアレーンと芳香族アミンに高感受性を示す新しいサルモネラ株の特性とその利用文献

変異原性試験, 1, 60~62 (1992)

ニトロアレーン, 芳香族アミンに高感受性を示す新しいサルモネラ株の特性とその利用文献について紹介した。

**keyword** : mutagenicity, nitroarenes, aromatic amines

林 真：小核試験の最近の動向

環境変異原研究, 13, 89~96 (1991)

日本環境変異原学会第 19 回大会教育講演「環境変異原のヒトへの新しいリスク解析法」の講演記録

である。小核試験の最近の動向をまとめたものであり、1) 異数性誘発物質の検出、2) 末梢血を用いる小核試験の紹介、3) 細胞遺伝学的モニタリング法としての小核試験、4) 小核試験の機械化について概説した。

**keyword** : micronucleus test, aneuploid, automation

林 真, 林 裕造: 環境汚染物質の安全性評価に関する国際協力機構と情報管理 WHO: 国際がん研究機構 IARC

水質汚濁研究, 14, 420~425 (1991)

環境中の化学物質のヒトに対するリスクを評価する戦略について述べた後、フランス、リヨンにある国際がん研究機構 (IARC) について解説した。IARC の歴史的背景を始め、がん原性物質の定義、ヒトに対するがん原性の評価がどのように行われているか解説した。また、これまでに刊行されたモノグラフの一覧表を掲載した。

**keyword** : WHO, IARC, Monograph

Hayashi, M., Nakadate, M., Osada, T.\*<sup>1</sup>, Ishibe, T.\*<sup>1</sup>, Tanaka, S., Maekawa, A.\*<sup>2</sup>, Sofuni, T., Nakata, Y., Kanoh, N., Hashiba, S., Takenaka, Y. and Ishidate, M, Jr.\*<sup>3</sup>: A fact database for toxicological data at the National Institute of Hygienic Sciences, Japan

*Environ. Health Perspect.*, 96, 57~60 (1991)

がん原生と遺伝毒性のデータベースに関する国際会議のプロシーディングである。科学技術庁の振興調整費により構築した、変異原性、がん原生、催奇形性に関するデータを中心に扱うバイオリジカルデータベースを紹介した報告書である。データベースシステムを構成する各モジュールの説明、ファイルおよびフィールド構成についての説明をした後、各フィールドに関する詳細を解説した。

**keyword** : database, mutagenicity data, BL

\*<sup>1</sup> (株)日本総合技術研究所

\*<sup>2</sup> 佐々木研究所

\*<sup>3</sup> オリンパス光学工業(株)

鈴木孝昌: トランスジェニックマウスの変異原性試験への応用

変異原性試験, 1, 3~18 (1992)

トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験

系について、総説的に解説したものである。変異原性研究の分野において、これまでは動物個体を使って遺伝子突然変異を検出する優れた試験系がなかったのだが、標的となる遺伝子を組み込んだトランスジェニックマウスの登場によりそれが可能となり、画期的な試験法として注目されている。現在のところ、標的遺伝子として大腸菌由来の *lacZ* 遺伝子を組み込んだ Muta<sup>TM</sup>Mouse, および *lacI* 遺伝子を組み込んだ Big Blue と呼ばれる 2 種のトランスジェニックマウスが普及しているが、これらを中心に、現在検討が進んでいる他のいくつかのトランスジェニックマウス種についても解説した。前述の 2 種のマウスでは既にいくつかの代表的な変異原物質について検討が行われており、この試験系の有用性が示されているが、それらの結果をまとめて紹介した。また我々は、Muta<sup>TM</sup>Mouse を用いて、末梢血小核試験の併用により遺伝子突然変異と染色体異常の同時検出を行ったが、その結果についても併せて報告した。

このトランスジェニックマウスを用いる試験系は臓器間での変異頻度の比較が可能であり、変異体の塩基配列変化の解析が比較的容易であるなどの利点を持っており、遺伝毒性試験や老化研究への応用を含めて将来的な展望についても言及した。

**keyword** : transgenic mouse, mutagenicity testing, gene mutation

原澤 亮\*, 水澤 博: PCR 法によるマイコプラズマ汚染の検出

実験医学, 9, 1490~1493 (1991)

培養細胞へのマイコプラズマ汚染を検出する方法は間接法、直接法など何種類か知られている。今回、分子生物学的手法を用いて検出する方法を新たに確立した。マイコプラズマ *M. fermentans* に由来する 16 S, 23 S リボソーム遺伝子領域から特にマイコプラズマ種全体に共通生の高い領域を取り出し、ここから PCR 用プローブを調整した。このプローブを用いて検出されるバンドのサイズはマイコプラズマ種に依存して大きさがことなり、さらに制限酵素で切断するとマイコプラズマ種に依存したバンドパターンを検出することができる。PCR 法は感度が高いうえに同時に汚染マイコプラズマ種を同定することも可能なことからバンクにおける汚染検査に極めて有用である。

**keyword** : detection of mycoplasma, contamination

tion, cell culture

\* 東京大学

水沢 博：国内で入手できる細胞株

蛋白質核酸酵素, 36, 2335~2359 (1991)

細胞バンクは培養細胞の提供に伴ってこれらの諸性質を明確に同定し利用者に情報として提供する責務を持つ。JCRB細胞バンクでは設立当初より小人数で運営せざるを得ない状況であったが、この作業を効率良く迅速に行なわなければならないという制約を打破するために、マイクロコンピュータを利用し保存細胞株のデータベース化の作業を進めてきた。本システムはリレーショナルデータベースとして知られるdBASEIIIを基本ソフトウェアとして開発され、JCRB細胞バンクの業務に運用してきたが、さらに最近になって、本システムに国内の主要細胞バンク(4機関)と協力して各バンクで保存されている細胞株に関する情報を収録する作業を進めてきた。多くの研究者にとって有益な情報源となることからカタログを作成する準備も進めているが、緊急性を加味し収録データについて一部ではあるが一覧表の公開を行なった。

**keyword** : cell line list, cell bank, fact database

本間正充, 片岡英子, 水沢 博：DNAフィンガープリント/プロファイリング法による培養細胞株の識別

組織培養, 18, 118~124 (1992)

細胞株のクロスカルチャーコンタミネーションは培養細胞を用いた研究に致命的な障害となることは明らかであり、これまでもヒト由来の数多くの培養細胞株がHeLa細胞の混入であることが示唆されてきている。しかし、こうした問題にあまり注意がはらわれて来なかったのは我が国において細胞バンクなどのチェック機関が十分整備されていなかったことと同時に、防御するための容易な検出方法が確立されていなかったことが大きな理由であると思われる。JeffereysらによるDNAフィンガープリント法の確立により、容易にクロスカルチャーコンタミネーションを検出できる基盤は出来たがこの方法はいくつかの点で問題をはらんでいた。我々は検出に用いるプローブを新たに分離し、より再現性の高い方法を開発した。この法の紹介が本論文の趣旨である。

**keyword** : identification, cell line, DNA profiling

本間正充：DNA多型による個人識別

医学のあゆみ, 153, 497~501 (1990)

DNA多型の登場により、DNAレベルでの個人識別が可能となった。DNAは多型性に富むだけでなく化学的にも安定であることから犯罪捜査において犯人逮捕の重要なきめてになる可能性がある。現在、DNAフィンガープリント法、VNTRマーカーなど高多型性DNAマーカーを用いたサザン解析法、PCR法などが個人識別や、親子鑑定などに利用されているが、いまだ技術面やその評価法については多くの問題を抱えている。一方、このような新しい技術は社会的影響も大きく、特に個人登録制からみ、個人に対するプライバシーの侵害などが問題視されている。

**keyword** : criminal investigation, DNA polymorphisms, individual registration

Heddle, J. A.\*<sup>1</sup>, Cimino, M. C.\*<sup>2</sup>, Hayashi, M., Romagna, F.\*<sup>3</sup>, Shelby, M. D.\*<sup>4</sup>, Tucker, J. D.\*<sup>5</sup>, Vanparrys, Ph.\*<sup>6</sup> and MacGregor, J. T.\*<sup>7</sup>: **Micronuclei as an index of cytogenetic damage: Past, Present, and Future**

*Env. Mol. Mutagen.*, 18, 277~291 (1991)

米国の第22回環境変異原学会で行われたワークショップを基に、小核試験についてまとめた論文である。小核試験の過去、現在、未来についてそれぞれ、小核試験の歴史的レビュー、現行のガイドラインの問題点、今後の発展が期待される新しい方法について述べられている。さらに、本論文中にはこのガイドラインにも適合する小核試験ガイドラインが提案されている。現時点での、小核試験に関するトピックスの総まとめである。

**keyword** : micronucleus, review

\*<sup>1</sup> York University, Canada

\*<sup>2</sup> U.S. Env. Prot. Agency, USA

\*<sup>3</sup> Sandoz Pharma Ltd., Switzerland

\*<sup>4</sup> NIEHS, USA

\*<sup>5</sup> Lawrence Livermore Natl. Lab. USA

\*<sup>6</sup> Janssen Pharm., Belgium

\*<sup>7</sup> SRI Internatl., USA

岡田敏史：低分子ヘパリンの抗凝血活性とその評価方法

*BIOMedica*, 6, 619~622 (1991)

低分子ヘパリンの製法および開発の現状、抗凝血

活性の発現機構と分子量の関係、抗凝血活性の評価方法と標準品の現状、さらに通常タイプのヘパリンと比較して、期待される低分子ヘパリンの臨床的応用の方向性などについて解説した。

**keyword** : Low molecular weight heparin, Coagulation mechanism, anti-coagulant activity

伊藤誉志男：食品添加物の現状について  
防菌防黴誌, 19, 295~307 (1991)

食品添加物の使用の是非は、安全性、有効性、経済性および国際性の四つの観点から論じなければならない。食品添加物を理解することは、一見簡単そうに見えるが、実際には極めて難しい。そこで下記に示す種々の角度から、わかりやすく解説する。

1. 食品添加物を理解しやすくする区分。
2. 食品添加物の表示の改正点。
3. 食品添加物の使用対照食品
4. 我が国の食品添加物と諸外国との比較
5. 食品添加物の安全性の評価
6. 食品添加物の役割と有効性
7. 食品中の食品添加物の分析法
8. 日本人の食品添加物の1人1日摂取量

**keyword** : daily intakes of food additives, ADI, negative list

伊藤誉志男：食品添加物分析法の変遷  
月刊フードケミカル, 89~96 (1991)

食品中の食品添加物分析法は、この半世紀の食品衛生の化学的検査法の中で、最も急速な進歩を遂げ大成した。時代を追いながらその経過を説明する。

過去：黎明記 (昭和20年代)、模索期 (昭和30年代)、始動期 (昭和40年代)。分析手法は滴定法、比色法、UV法、蛍光法、ポーラロ法。研究の担い手は大学から国立研究機関へ。

現在：激動期 (昭和50年代)、円熟期 (昭和60年代)。分析手法はGC法が中心、そしてHPLC法と原子吸光法。研究の担い手は各地衛生研究所。

未来：完成期 (平成3~6年)、新生期 (平成7年~)。分析手法の中心はGC法からHPLC法およびGC-MS法へ。対象は合成食添から天然食添へ。研究の担い手の中心は各地衛生研究所から指定検査機関へ。

**keyword** : GC, HPLC, ICP

外海泰秀：農薬等の一斉分析法について (上)

中毒研究, 4, 387~393 (1991)

残留農薬の分析法について概説し、特にポストハーベスト農薬、ゴルフ場農薬等について解説した。また著者らの開発した有機塩素系、有機リン系、カーバメイト系、ピレスロイド系、トリアジン系等農薬の多成分一斉分析法について総説した。

**keyword** : pesticide, gas chromatography, high performance liquid chromatography

外海泰秀：農薬等の一斉分析法について (下)  
中毒研究, 5, 85~93 (1992)

残留農薬分析法の各論すなわち、抽出、クリーンアップ、測定、確認等について詳細に解説した。また残留基準値の設定方法、農薬分析の必要性、特殊性についても言及し、実態調査結果の一部も紹介した。

**keyword** : pesticide, gas chromatography, high performance liquid chromatography

辻 澄子：食品中の亜硝酸  
臨床栄養, 79, 18 (1991)

亜硝酸ナトリウムの食品添加物としての概要、毒性および分析法を紹介、さらに飲料水および食品中の亜硝酸の含有量を取り上げている。

**keyword** : nitrite, food additive, content

辻 澄子：食品中の硝酸  
臨床栄養, 79, 250 (1991)

硝酸塩の食品添加物としての概要、毒性および分析法を紹介、さらに飲料水および食品中の硝酸の含有量を取り上げている。

**keyword** : nitrate, food additive, content

辻 澄子：食品中のオルトリン酸  
臨床栄養, 79, 634 (1991)

オルトリン酸の食品添加物としての概要、毒性および分析法を紹介、さらに食品中のオルトリン酸の含有量を取り上げている。

**keyword** : orthophosphoric acid, food additive, content

川崎浩之進, 小川義之：血液と接触する膜及びその材料の安全性評価とそれらの技術の応用  
BIOMedica, 6(10), 59~62 (1991)

透析器などの医療用具の安全性を評価するには、

それらに化学的発熱物質が含まれていないかどうかの確認と、それらの品質管理面からのエンドトキシン (ET) 汚染のチェック、この2つが不可欠であり、化学的発熱物質の確認はウサギによる試験を用いる、ET 汚染のチェックにはリムルス試験を用いることが必要であることを述べ、現行の薬事法の基準による試料溶液の調製法では ET が不活化するのでウサギ試験用と、ET 検出用の試料溶液の調製法を区別して用意することの必要性を明らかにした。さらに化学的毒性物質の *in vitro* の簡便な検出法として、バイオルミネッセンス技術を利用した細胞内 ATP レベルを指標とする細胞毒性試験が有用であることを示した。

**keyword**: medical devices, limulus test, ATP bioluminescence

#### 川崎浩之進：水の生物学的汚染指標としてのエンドトキシン (ET)

ファルマシア, 28(1), 49~51 (1992)

医薬品あるいは医薬品製造に用いる「水」の基準は、それぞれの時代における技術水準や各種社会的環境を背景にして決められてきた。11局追補等に水の生物学的汚染指標として ET を試験することになったのもまた時代の変遷と無縁ではない。高分子膜に関する研究の進展により注射用水の製造に超ろ過モジュールが用いられているが、その工程は通常、常温に近い温度で運転されることから微生物汚染に対する配慮が特に重要である上に、膜の劣化やピンホールの発生等の懸念が皆無でないことから、その安全性評価に ET を指標とした試験が登場した。しかし何といても、リムルステストの利用により ET を検出する技術が飛躍的に発展し、ウサギによる発熱試験に比べて検査効率と精度が著しく向上した事実がその背景となっている。さらに ET は生体に対して多彩な生理作用を示すが、それは主として ET が非経口的に生体を侵襲した結果引き起こされる生体側の反応であり、生体に水が非経口的に入る機会は、医薬品または医薬品製造用に用いられる場合に限定されることが多い。ここに医薬品または医薬品製造用水の中の ET を試験する意義がある。つまり、新しい概念に基づく高分子膜による水の製造

が、最新の技術水準でなされるとき、その規格基準もまた、高い技術水準によって支えられた試験法に基づく新しいものでなければならないこと等、について述べた。

**keyword**: water for injection, endotoxin, limulus test

#### 畠山好雄：当帰の生産と資源

現代東洋医学, 13, 89~94 (1992)

ホッカイトウキおよびヤマトトウキについて、その歴史・生育特性・栽培法ならびに収穫・調製法を概説した。特に両種の抽苔・開花は栽培上の大問題であり、苗質・低温経験日数に支配されることを明らかにし、今後検討すべき関連要因を提示した。

**keyword**: *Angelica acutiloba*, Hokkai-Touki, Yamato-Touki

Sauerwein, M., Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: **Further approaches in the production of secondary metabolites by plant tissue culture** *Plant Tissue Culture Letters*, 9, 1~9 (1992)

植物の組織や器官を用いた有用物質の生産は、近年ますます注目されるようになってきている。しばしば用いられる手法は細胞培養、器官培養、あるいは形質転換器官培養である。組織培養による物質生産量を改善するために、培養条件の検討などの多くの努力がなされており、ここではそれらの報告の一部について解説した。

**keyword**: secondary metabolites, plant tissue culture

#### 下村講一郎, 吉松嘉代, 青木俊夫：天然資源をバイオで

*Techno News Tsukuba*, No. 15, 12~14 (1991)

我々が育種生理研究室で行っている、植物組織培養法を用いた薬用植物の迅速大量増殖および二次代謝物生産についての研究を写真と図表を交えながら紹介した。

**keyword**: micropropagation, secondary metabolite



原田正敏：“210 処方 漢方薬物治療学 第2版”，廣川書店，東京（1992）

植木 寛，原田正敏，広瀬聖雄，堀 誠，森脇千秋：“生理化学——生命現象への化学的アプローチ”，第4版，廣川書店，東京（1992）

原田正敏：“生薬学”，改定第4版，医薬としての生薬の特徴，三橋 博，井上隆夫編，南江堂，東京（1992）pp. 61～75

原田正敏：“続 医薬品の開発”，第15巻，漢方生薬と製剤の品質評価，品質評価のための基礎的事項，原田正敏編，廣川書店，東京（1992）pp. 11～26

一戸正勝：“真菌症の臨床検査”，環境中の真菌の病因学的役割，小川秀興編，金原出版，東京（1992）pp. 48～52

一戸正勝：“食品衛生検査指針 微生物編”，接合菌類，厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京（1990）pp. 273

一戸正勝：“食品衛生検査指針 微生物編”，不完全菌類，厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京（1990）pp. 281～291

一戸正勝：“食品衛生検査指針 微生物編”，フザリウム属（アカカビ），厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京（1990）pp. 308～314

Ikebuchi, H., Teshima, R., Ichinoe, M. and Terao, T.: **Microbial Toxins in Foods and Feeds: Cellular and Molecular Modes of Action**, Production and characterization of a monoclonal antibody to tetra acetylvalenol, ed, Pohland, A. E., Dowell, V. R. Jr. and Richard, J. L., Plenum Press, New York and London (1990) pp. 343～348

中原雄二：“有機溶剤（シンナー）”，有機溶剤（シンナー）の検査法，加藤伸勝編，京文社，東京（1991）pp. 23～39

中原雄二：“依存性薬物”，覚醒剤とは，佐藤光源編，世界保健通信社，大阪（1992）pp. 75～96

森本和滋：“続医薬品の開発”，11巻，医薬品の変異原性・遺伝毒性，アルキル化と突然変異，鈴木郁生編，廣川書店，東京（1991）pp. 277～303

早川堯夫：“バイオ医薬品および産生細胞の品質・安全性評価法”，バイオ医薬品の構造決定及び物理的・化学的性質等の試験の意義と留意点，小林茂保，早川堯夫，山崎修道編，エル・アイ・シー，東京（1992）pp. 253～263

山口照英：“バイオ医薬品および産生細胞の品質・安全性評価法”，バイオ医薬品の物理化学的性質の試験法，小林茂保，早川堯夫，山崎修道編，エル・アイ・シー，東京（1992）pp. 327～344

早川堯夫：“バイオ医薬品および産生細胞の品質・安全性評価法”，バイオ医薬品の生物学的性質の試験法，小林茂保，早川堯夫，山崎修道編，エル・アイ・シー，東京（1992）pp. 376～382

早川堯夫：“バイオ医薬品および産生細胞の品質・安全性評価法”，モノクローナル抗体の品質・安全性評価，小林茂保，早川堯夫，山崎修道編，エル・アイ・シー，東京（1992）pp. 385～407

早川堯夫：“バイオ医薬品および産生細胞の品質・安全性評価法”，バイオ医薬品の前臨床安全性評価試験，小林茂保，早川堯夫，山崎修道編，エル・アイ・シー，東京（1992）pp. 413～424

土屋利江：“細胞トキシロジー試験法”，生殖・発生毒性試験，細胞培養，日本組織培養学会編，朝倉書店，東京（1991）pp. 273～278

中村晃忠：“細胞トキシロジー試験法”，バイオマテリアル（難溶性物質）の調整・処理法，日本組織培養学会編，朝倉書店，東京（1991）pp. 59～65

新谷英晴：“高分子のガンマ線橋かけの機構，特性研究”，Mechanism of degradation and crosslink-

ing of polyurethane when irradiated by gamma-rays. ハイテックリサーチ, 東京 (1992) pp. 1~9

斎藤行生：“食品衛生検査指針 理化学編”，残留農薬，総論，公定試験法。厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 87~104 他

斎藤行生：“食料・栄養・健康” 1992年版，食品衛生一輸入食品の安全・衛生，食糧栄養調査会編，医歯薬出版，東京 (1992) pp. 32~37

斎藤行生：“食品衛生ハンドブック”，農薬等による環境汚染，藤原喜久夫，栗飯原景昭監修，南江堂，東京 (1992) pp. 670~682 他

鈴木 隆：“食品衛生検査指針 理化学編”，食品中の汚染物質および変質物，有機スズ化合物，厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 218~223 他

宮原 誠：“食品衛生検査指針 理化学編”，残留農薬，殺虫剤，厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 104~114

松田りえ子：“薬学の機器分析”，コンピュータ及びシステムを用いる分析，機器分析用ロボット，田中久監修，廣川書店，東京 (1991) pp. 364~371

内山貞夫：“食品衛生検査指針 理化学編”，食品中の汚染物質および変質物，ジエチレングリコール，厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 232~233 他

河村葉子：“食品衛生検査指針 理化学編”，食品中の汚染物質および変質物，ベンゾ(a)ピレン，厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 228~230

豊田正武：“食品衛生検査指針 理化学編”，食品中の汚染物質および変質物，マイコトキシン，厚生省生活衛生局監修，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 236~248 他

Maitani, T., Saito, Y., Yoshihira, K. and Suzuki, K. T.: “Metallothionein in Biology and Medi-

cine”, Hepatic calcium level and induction of zinc-thionein. ed. Klaassen, C. D. and Suzuki, K. T., CRC Press (1991) pp. 183~196

石綿 肇，山田 隆，米谷民雄他著者多数：“食品衛生検査指針理化学編”，内山 充編，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 230

山田 隆他著者多数：“食品中の食品添加物分析法解説書”，講談社，東京 (1992) pp. 230

山田 隆：“食品衛生検査指針理化学編”，有機汚染物質，ニトロソアミン，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 230~231

米谷民雄：“食品衛生検査指針理化学編”，無機汚染物質，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 167~211

石綿 肇，他6名：“食品衛生検査指針理化学編”，器具・容器包装，日本食品衛生協会，東京 (1991) pp. 561~649

山田 隆，他9名：“食品中の食品添加物分析法解説書”，谷村顕雄監修他4名，講談社，東京 (1992)

関沢 純，芹沢寛子：“農薬の安全性評価データ集”，LIC (Life Science Information Center)，東京 (1991)

前川昭彦，黒川雄二：“毒性試験講座”，第5巻，副腎，毒性病理学，林 裕造，前川昭彦編，地人書館，東京 (1991) pp. 367~372

黒川雄二：“食品衛生ハンドブック”，癌原性試験法，藤原喜久夫，栗飯原景昭監修，南江堂，東京 (1992) pp. 712~720

降矢 強，落合敏秋：“実験動物の基礎と技術編”，日本実験動物協会編，丸善株式会社，東京 (1991)

降矢 強：“食品衛生ハンドブック”，緑青，藤原喜久夫，栗飯原景昭監修，南江堂，東京 (1992) pp. 174~175

門馬純子, 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 黒川雄二, 中村晃忠: “**接触皮膚感作の実例**”, 毒性試験の理論と実際, 林 裕造, 宇高奎二, 佐藤哲男, 遠藤 仁編, ソフトサイエンス社, 東京 (1992) pp. 54~65

田中 悟: “**食品衛生ハンドブック**”, 生殖・発生毒性試験法, 藤原喜久夫, 栗飯原景昭監修, 南江堂, 東京 (1992) pp. 740~755

林 裕造, 長谷川良平: “**毒性試験講座**”, 5巻. 毒性病理学, I. 総論, 2. 肉眼的観察の要点, 前川昭彦, 林 裕造編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 9~22

林 裕造, 今井田克己: “**毒性試験講座**”, 5巻. 毒性病理学, I. 総論, 4. 毒性病理学の方法と実際, 前川昭彦, 林 裕造編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 41~56

高橋道人: “**毒性試験講座**”, 5巻. 毒性病理学, II. 各論 3.2. 腫瘍性病変, 1. 消化管, 前川昭彦, 林裕造編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 179~203

高橋道人: “**毒性試験講座**”, 5巻. 毒性病理学, II. 各論, 3.2. 腫瘍性病変, 3. 膵臓, 前川昭彦, 林裕造編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 221~228

佐藤秀隆, 前川昭彦: “**毒性試験講座**”, 5巻. 毒性病理学, II. 各論, 7.2. 腫瘍性病変, 2. 雌, 前川昭彦, 林 裕造編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 419~434

三森国敏: “**毒性試験講座**”, 5巻. 毒性病理学, II. 各論, 8. 神経系 1. 非腫瘍性病変, 前川昭彦, 林裕造編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 435~461

前川昭彦, 小野寺博志: “**毒性試験講座**”, 5巻. 毒性病理学, II. 各論, 9.2. 腫瘍性病変, 1. 皮膚-皮膚付属器および軟部組織, 前川昭彦, 林裕造編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 502~507

五十嵐正市郎, 古田京子: “**毒性試験講座**”, 5巻. 毒性病理学, 付録 1.5. 染色法, 前川昭彦, 林 裕造編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 606~657

高橋道人, 伊東信行: “**毒性試験講座**”, 13巻. 発がん性, 1. 発がん性試験法, 伊東信行, 高橋道人編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 1~53

高橋道人: “**毒性試験講座**”, 13巻. 発がん性, 2.2. 二段階発がん, 6. 膵, 伊東信行, 高橋道人編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 127~134

菅野 純, 林 裕造, 青木繁伸: “**毒性試験講座**”, 13巻. 発がん性, 4. 化学物質の発がん性評価, 伊東信行, 高橋道人編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 179~210

三森国敏: “**毒性試験講座**”, 22巻. 農薬, 動物用医薬品, 神経毒性, 白須泰彦編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 81~94

林 真: “**小核試験**”, サイエнтиスト社, 東京 (1991)

林 真: “**統医薬品の開発**”, 第11巻, 医薬品の変異原性・遺伝毒性, *In vivo* 小核試験, 祖父尼俊雄, 石館 基編, 廣川書店, 東京 (1991) pp. 121~129

祖父尼俊雄: “**統医薬品の開発**”, 第11巻, 医薬品の変異原性・遺伝毒性, 培養細胞を用いる染色体異常試験, 祖父尼俊雄, 石館 基編, 廣川書店, 東京 (1991) pp. 83~97

能美健彦: “**統医薬品の開発**”, 第11巻, 医薬品の変異原性・遺伝毒性, SOS 修復と突然変異, 祖父尼俊雄, 石館 基編, 廣川書店, 東京 (1991) pp. 263~276

松井道子: “**統医薬品の開発**”, 第11巻, 医薬品の変異原性・遺伝毒性, Ames テスト, 祖父尼俊雄, 石館 基編, 廣川書店, 東京 (1991) pp. 7~29

林 真: “**毒性試験講座**”, 第12巻, 変異原性, 遺伝毒性, 小核試験, 石館 基編, 地人書館, 東京 (1991) pp. 147~153

祖父尼俊雄: “**毒性試験講座**”, 第12巻, 変異原性, 遺伝毒性, 培養細胞を用いる染色体異常試験, 石館

基編, 地人書店, 東京 (1991) pp. 79~87

本間正充: “ラボマニュアル遺伝子工学”, 第2版,  
フェノール抽出, 村松正実編, 丸善 (1990) pp. 29  
~30

祖父尼俊雄: “細胞トキシコロジー試験法”, 細胞毒

性試験に及ぼす要因, 日本組織培養学会編, 朝倉書店,  
東京 (1991) pp. 29~38

祖父尼俊雄: “細胞トキシコロジー試験法”, 染色体  
異常試験, 日本組織培養学会編, 朝倉書店, 東京  
(1991) pp. 199~209

**インスリン製剤の定量法開発研究**：森本和滋，早川堯夫，岡田敏史，川崎浩之進  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省薬務局監視指導課に報告。

**血液製剤の試験法等に関する研究**：松橋直<sup>\*1</sup>，吉原なみ子<sup>\*2</sup>，赤松稔<sup>\*2</sup>，関口定美<sup>\*3</sup>，柴田洋一<sup>\*4</sup>，矢田純一<sup>\*5</sup>，早川堯夫  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省薬務局新医薬品課に報告。

- \*1 虎の門病院沖中記念成人病研究所
- \*2 国立予防衛生研究所
- \*3 北海道赤十字血液センター
- \*4 虎ノ門病院輸血部
- \*5 東京医科歯科大学

**バイオテクノロジー応用医薬品の品質と安全性の評価に関する研究**：早川堯夫，林祐造，森本和滋，赤松稔<sup>\*1</sup>，山内一也<sup>\*2</sup>，豊島聰<sup>\*3</sup>  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省薬務局新医薬品課に報告。

- \*1 国立予防衛生研究所
- \*2 東京大学医科学研究所
- \*3 東京大学薬学部

**医薬品の規制に関する国際的ハーモナイゼーションの基礎的研究**：八木澤守正<sup>\*1</sup>，内山充，武田寧，寺尾允男，林祐造，大野泰雄，高橋道人，早川堯夫，大森義仁，内藤周幸<sup>\*2</sup>，上田慶二<sup>\*3</sup>，黒川清<sup>\*4</sup>，砂川慶介<sup>\*5</sup>，本間光夫<sup>\*6</sup>  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省薬務局新医薬品課に報告。

- \*1 日本抗生物質学術協議会
- \*2 東京通信病院
- \*3 東京多摩老人医療センター
- \*4 東京大学医学部付属病院
- \*5 国立東京第二病院
- \*6 日本たばこ産業株式会社・医薬基礎研究所

**国設自動車排出ガス測定所における大気汚染測定調査**：松村一郎，埴岡伸光，関田寛，小嶋茂雄  
調査報告書（平成3年4月～4年3月），平成4年7月環境庁大気保全局自動車公害課に報告。

**揮散性物質のバージ&トラップ/GC-MSによる分析方法**：安藤正典，神野透人，埴岡伸光，小嶋茂雄  
食品等試験検査費（平成2年4月～3年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

**水道用資機材としての管更正工用塗料の安全性評価に関する研究**：安藤正典  
食品等試験検査費（平成2年4月～3年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

**水道用塗料の衛生に関する研究**：安藤正典  
厚生省委託費（平成2年4月～3年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

**水中の低沸点有機化合物のGC-MSによる試験方法**：小嶋茂雄，安藤正典，埴岡伸光，神野透人  
食品等試験検査費（平成元年4月～2年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

**水道用塗料の安全性に関する研究**：小嶋茂雄，安藤正典，埴岡伸光，神野透人  
食品等試験検査費（平成元年4月～2年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

**生体用金属材料の生体内劣化（腐食）に伴う感作性発現に関する研究**：医用材料の生体内劣化・分解とそれに伴う毒性に関する研究：土屋利江  
厚生科学研究（平成3年4月～6年3月）平成4年4月厚生省薬務局審査第二課に報告

**医薬品の同等性試験ガイドラインの見直しに関する研究**：鹿庭なほ子，青柳伸男，寺尾允男  
厚生科学研究（平成3年4月～5年3月），平成4年4月厚生省薬務局審査課に報告。

**医薬品に用いられるフロンの代替品に関する研究—代替フロンの安定性**：青柳伸男  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4

年4月厚生省薬務局審査課に報告。

尿中コカイン試験法の標準化とコカイン使用判定のガイドラインに関する研究：中原雄二，島峯望彦，高橋一徳，木倉瑠理  
厚移替（平成3年7月～5年3月），平成4年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

向精神薬の分析法に関する研究：中原雄二，島峯望彦，高橋一徳，木倉瑠理  
委託研究（平成元年9月～4年3月），平成4年4月厚生省薬務局麻薬課に報告。

毛髪分析による薬物依存状態の診断に関する研究：中原雄二，高橋一徳，木倉瑠理  
精神神経疾患研究（平成2年4月～5年3月），平成4年3月国立精神・神経センターに報告。

食品の安全性評価の基礎となるデータベース構築に関する研究：斎藤行生  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食品中の有害物質等に関する研究：斎藤行生，鈴木隆  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

平成3年度輸入畜水産食品の残留有害物質モニタリングのための精度管理：斎藤行生，高附 巧，鈴木隆，村山三徳，内山貞夫  
食品等試験検査費（平成3年10月～3年12月），平成3年12月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

畜水産食品中の残留物質の検査法に関する調査研究—合成抗菌剤等の分析法に関する研究—：斎藤行生，内山貞夫，村山三徳  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

既存化学物質毒性試験調査—低沸点有機塩素化合物および有機スズ化合物—：斎藤行生，豊田正武，最所和宏

既存化学物質毒性試験調査費（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局生活化学安

全対策室に報告。

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—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報告書：斎藤行生，豊田正武，最所和宏  
厚生科学研究費（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

残留農薬の分解・代謝に関する調査研究：斎藤行生，豊田正武，伊藤誉志男，外海泰秀  
残留農薬安全対策総合調査研究（平成3年4月～4年3月），平成4年4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応用食品等の安全性評価に関する研究：斎藤行生，豊田正武  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

豆腐製造におけるポストハーベスト農薬の移行消長：宮原 誠，鈴木 隆，斎藤行生  
食品等試験検査費（平成2年4月～3年9月），平成3年9月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

有機リン系農薬の一斉分析法：宮原 誠，鈴木 隆，斎藤行生  
食品等試験検査費（平成3年4月～3年10月），平成3年10月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

輸入雑豆中シアン化合物の調理加工による消長に関する調査及び研究報告：河村葉子，内山貞夫，斎藤行生  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

輸入鶏肉中の残留ナイカルバジンに関する報告書：村山三徳，内山貞夫，斎藤行生，桜井祐之\*，多田善彦\*  
食品等試験検査費（平成3年9月～11月），平成3年11月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

\* 横浜検疫所 輸入食品検疫・検査センター

輸入豚肉中の残留テトラサイクリン系化合物に関する報告書：村山三徳，内山貞夫，斎藤行生

厚生科学研究費（平成4年2月～4月）、平成4年4月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

**テトラサイクリン系化合物の分析法に関する報告書**：村山三徳，内山貞夫，斎藤行生

厚生科学研究費（平成4年2月～4月）、平成4年4月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

**食品添加物分析法の改良—新たな試験法の開発に関する問題点と保存料の試験法—**：武田明治，山田隆，武田由比子，川崎洋子

（協力機関 東京都立衛生研究所，神奈川県衛生研究所，横浜市衛生研究所，静岡県衛生研究所，食品分析センター，食品薬品安全センター）

食品添加物規格基準設定費（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月生活衛生局食品化学課に報告。

**タール色素，製剤への新試験法の設定—食用赤色40号の純度試験に関わる副成色素の構造について—**：武田明治，山田 隆，武田由比子，合田幸広

食品添加物規格基準設定費（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月生活衛生局食品化学課に報告。

**食品添加物分析法の改良，新試験法及び規格設定—食品中のアカネ色素の分析法—**：武田明治，米谷民雄，川崎洋子，合田幸広

食品添加物規格基準設定費（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月生活衛生局食品化学課に報告。

**天然着色料中の有害金属測定法の検討—特に鉛の分析法について—**：武田明治，米谷民雄，久保田浩樹  
厚生科学研究（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月生活衛生局食品化学課に報告。

**レトリプトファン製品によるEMSに関連した資料のまとめ**：武田明治，米谷民雄

食品等の規格基準の設定等に係る試験検査費（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**不純物 peak 5 の単離と構造決定（必須アミノ酸等による健康影響に関する調査研究）**：武田明治，米谷民雄，合田幸広

厚生科学研究（平成3年4月～4年3月）平成4年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**アルミニウムの臓器分布及び尿中排泄に及ぼす共存有機酸の影響**：米谷民雄，久保田浩樹，武田明治  
食品添加物安全性再評価費（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月生活衛生局食品化学課に報告。

**国内産米のカドミウム汚染と日常食由来のカドミウム摂取量の現状及び精白・調理による玄米中カドミウムの減少に関する文献調査**：武田明治，米谷民雄，久保田浩樹

食品等の規格基準の設定等に係る試験検査費（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**スチレンを原料とするプラスチック製食器中の揮発性物質と溶出物の分析，特に $\alpha$ -メチルスチレンの材質試験法を中心として**：石綿 肇，杉田たき子，武田明治

食品添加物安全性再評価等の試験検査（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

**調理用器具からの鉛とカドミウムの溶出**：石綿 肇，杉田たき子，武田明治

食品等の規格基準の設定等に係る試験検査費（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**陶磁器から溶出する鉛の高感度分析法の確立**：石綿 肇，杉田たき子，武田明治

厚生科学研究（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

**生分解性プラスチック分解生成物の化学，特に糖およびアミノ酸の溶出に関する研究**：石綿 肇，杉田たき子，武田明治

厚生科学研究（平成3年4月～4年3月）、平成4年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**ジテンペンダイマーの代謝試験報告**：高橋 惇，嶺岸謙一郎

既存化学物質委託費（平成2年4月～3年3月）、平成3年10月厚生省生活衛生局化学安全対策室に報告。

**2,4-トルイレンジアミンの代謝試験報告**：高橋

停

既存化学物質委託費 (平成3年8月~4年4月),  
平成4年4月厚生省生活衛生局化学安全対策室に報告.

**バイオ食品の安全性に関する研究: 三瀬勝利**

食品等試験検査費 (平成2年4月~3年3月), 平成3年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

**エイズ医薬品候補スクリーニング研究 (平成2年度): 三瀬勝利**

ヒューマンサイエンス振興財団 (平成2年4月~3年3月), 平成3年3月厚生省薬務局へ報告.

**農林水産分野における組換え体の利用のための指針一部改正案: 山内一也\*1, 中島英男\*2, 吐山豊秋\*3, 三瀬勝利**

農林水産技術会議費 (平成3年4月~4年1月), 平成4年1月農林水産技術会議組換え体利用専門委員会に報告.

\*1 東京大学医科学研究所

\*2 農林水産省家畜衛生試験場

\*3 東京農工大学農学部

**微生物農薬の安全性評価法の確立調査 (平成2年度): 三瀬勝利, 須藤隆一\*1, 北村 敬\*2, 岡 基\*3, 湊 一\*4, 都留信也\*5**

微生物農薬安全性評価法調査費 (平成2年4月~3年3月), 平成3年3月環境庁土壤農薬課へ報告.

\*1 東北大学工学部

\*2 国立予防衛生研究所

\*3 松岡科学研究所

\*4 家畜衛生試験場

\*5 熱帯農業研究センター

**組換え DNA 実験指針第9次改訂案: 大谷 明\*1, 安藤忠彦\*2, 井川洋治\*3, 内田久雄\*4, 斎藤日向\*5, 白木 勝\*6, 杉浦昌弘\*7, 関谷剛男\*8, 高木康敬\*9, 高橋廣治\*10, 中島英男\*11, 西村 暹\*8, 三瀬勝利, 山下 淳\*12**

(昭和62年9月~平成3年7月) 平成3年7月, 科学技術会議 (海部俊樹議長) ライフサンエンス部会 (森 亘部会長) に報告.

\*1 国立予防衛生研究所

\*2 理化学研究所

\*3 東京医科歯科大学医学部

\*4 帝京大学医学部

\*5 帝京大学理工学部

\*6 工業技術院微生物工業技術研究所

\*7 名古屋大学理学部

\*8 国立がんセンター研究所

\*9 藤田保健衛生大学総合医科学研究所

\*10 農林水産省農業環境技術研究所

\*11 農林水産省家畜衛生試験場

\*12 農林水産省農業研究センター

**無菌性, 非発熱性の確認のための各種品質試験の利用等に関する研究: 棚元憲一, 菟島由二, 石関忠一, 三瀬勝利, 細淵和成\*1, 宗 耕二\*2, 羽生 高\*3, 中村 収\*3, 畠山晃毅\*4, 清水正樹\*5, 古谷辰雄\*6, 堀 和明\*7, 土谷正和\*8, 田中重則\*9, 市東利明\*10**  
厚生科学研究 (平成2年~3年), 平成4年6月厚生省監視指導課に報告.

\*1 都立アイソトープ総合研究所

\*2 川澄化学工業(株)

\*3 日機装(株)

\*4 (株)ニッショ

\*5 テルモ(株)

\*6 ジョンソン・エンド・ジョンソン(株)

\*7 (株)日本メディカルサプライ

\*8 和光純薬(株)

\*9 生化学工業(株)

\*10 第一化学薬品(株)

**食鳥の微生物制御に関する調査研究: 小沼博隆, 後藤公吉\*1, 梅木久一\*2, 品川邦汎\*3, 徳丸雅一\*4, 赤羽荘資\*5, 仁科徳啓\*6**

厚生科学研究 (昭和63年度~平成4年3月), 平成4年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告.

\*1 新潟県立衛生公害研究所

\*2 岩手県立衛生研究所

\*3 岩手大学農学部

\*4 埼玉県立衛生研究所

\*5 静岡県立衛生環境センター

\*6 静岡県東部食肉衛生検査所

**卵のサルモネラ汚染に関する調査研究: 熊谷 進\*1, 中村明子\*1, 小沼博隆, 仲西寿男\*2, 品川邦汎\*3, 今井忠平\*4**

厚生科学研究 (昭和63年度~平成4年3月) 平成4年3月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告.

\*1 国立予防衛生研究所

\*2 神戸市立環境保健研究所

\*3 岩手大学農学部



\*4 全国鶏卵加工協議会

**輸入農作物のアフラトキシン汚染と減毒に関する研究**：一戸正勝，菊池 裕，成田紀子，鈴木明子，上村 尚\*1，高橋治男\*2

厚生科学研究（平成3年9月～4年3月），平成4年3月厚生省食品保健課に報告。

\*1 東京都立衛生研究所

\*2 千葉県衛生研究所

**新調理保存方式による自動販売機の衛生管理に関する研究**：一戸正勝，小沼博隆，黒崎 貴\*1

厚生科学研究（平成3年8月～4年3月），平成4年3月厚生省食品保健課に報告。

\*1 日本自動販売機工業会

**医薬品等化学物質の毒性評価のための試験法と基準の整備に関する研究**：西村正雄\*1，戸部益夫\*2，香川 順\*3，高江須義矩\*1，関沢 純，加藤正信\*4，八十川欣勇\*5，山中すみへ\*1

厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省薬務局安全課に報告。

\*1 東京歯科大学

\*2 日本公定書協会

\*3 東京女子医科大学

\*4 三菱化成工業

\*5 日本海事検定協会

**残留農薬安全対策総合調査研究**：福田英臣\*1，林裕造，高仲 正，斉藤行生，関沢 純，江崎考三郎\*2，遠藤 仁\*3，白井智之\*4，渡部 烈\*5，大沢貫寿\*6，加藤保博\*7

厚生科学研究（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

\*1 日本大学

\*2 大阪府立大学

\*3 東京大学

\*4 名古屋市立大学

\*5 東京薬科大学

\*6 東京農業大学

\*7 残留農薬研究所

**4,4'-ジアミノ-3,3'-ジクロロジフェニルメタンおよび3,3'-ジクロロベンジジンに関する人体暴露量の予測**：神沼二真，山本 都

既存化学物質毒性試験調査費（平成3年4月～4年

3月），平成4年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**ナフタレンの毒性に関する文献調査**：佐井君江，長谷川隆一，黒川雄二

既存化学物質毒性試験調査費（平成2年4月～3年3月），平成3年7月に厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**1,1,2,2-テトラクロロエチレンの毒性に関する文献調査**：高木篤也，長谷川隆一，黒川雄二

既存化学物質毒性試験調査費（平成2年4月～3年3月），平成3年7月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**α線照射した柑橘類等の毒性に関する研究—ラットによる慢性毒性試験—**：川崎 靖，安原加壽雄，佐井君江，長谷川隆一，門馬純子，中路幸男，関田清司，黒川雄二，戸部満寿夫

国立機関原子力試験研究費（昭和61年4月～63年3月），平成3年10月科学技術庁原子力技術振興課に報告。

**2,2'-メチレンビス（4-エチル-6-tert-ブチルフェノール）の慢性毒性に関する研究**：高木篤也，佐井君江，吉本浜子，門馬純子，会田喜崇，高田幸一，鈴木康雄，鈴木幸子，内藤克司，中路幸男，長谷川隆一，戸部満寿夫，黒川雄二

家庭用品等調査研究費（昭和62年4月～平成4年3月）平成4年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

**5-フッ化プロパノールの慢性吸入毒性に関する研究**：廣瀬明彦，高田幸一，斉藤実，鈴木幸子，小川幸男，吉田秀信，金子豊蔵，黒川雄二

既存化学物質毒性試験調査費（平成元年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

**4,4'-Methylenedianilineの毒性に関する調査報告書**：吉田秀信，廣瀬明彦，小川幸男，鈴木幸子，金子豊蔵，黒川雄二

既存化学物質毒性試験調査費（平成2年4月～3年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局企画課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<sup>1</sup>の代替品に関する研究—医薬品への利用が期待される代替フロン<sup>1</sup>の安全性について：金子豊蔵，青柳伸男，近藤雅臣\*  
厚生科学研究（平成元年4月～4年3月），平成4年4月厚生省薬務局審査課に報告。

\*1 大阪大学

生分解性プラスチック分解生成物の安全性に関する研究：黒川雄二，金子豊蔵，長谷川隆一，石綿 肇，会田喜崇，廣瀬明彦，吉田秀信，鈴木幸子，小川幸男，高田幸一，齊藤 実  
厚生科学研究（平成2年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

有害化学物質長期吸入毒性試験実施状況調査：廣瀬明彦，吉田秀信，鈴木幸子，小川幸男，金子豊蔵，黒川雄二  
環境庁委託研究費（平成3年），平成4年4月環境庁大気保全局に報告。

新規原料配合化粧品の安全性評価のための試験法の研究：金子豊蔵，鈴木幸子，小川幸男，廣瀬明彦，吉田秀信，黒川雄二  
厚生科学研究（平成2年4月～4年3月），平成4年4月厚生省薬務局審査課に報告。

歯科材料の化学的・生物学的評価法のガイドライン作成に関する研究：金子豊蔵  
厚生科学研究（平成元年4月～4年3月），平成4年4月厚生省薬務局医療機器開発課に報告。

2,2'-イソブチリデンビス(4,6-ジメチルフェノール)の亜慢性毒性に関する研究：高木篤也，落合敏明，松本清司，関田清司，齊藤 実，高田幸一，降矢 強，戸部満寿夫，黒川雄二  
家庭用品等調査研究費（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

ジ-2-エチルヘキシルフタレート<sup>1</sup>の毒性に関する文献調査：高木篤也，長谷川隆一，黒川雄二  
水質管理調査費（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

トリブチル錫N-オキシド<sup>1</sup>の毒性に関する文献調査：長谷川隆一，黒川雄二  
水質管理調査費（平成3年4月～4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課に報告。

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：松岡厚子，鈴木孝昌，林 真，祖父尼俊雄  
天然添加物安全性調査費（昭和63年10月～平成4年3月），平成4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—マウスを用いる小核試験：林 真，松岡厚子，鈴木孝昌，祖父尼俊雄  
水質管理強化対策費（昭和63年10月～平成4年3月），平成4年6月厚生省生活衛生局水道環境部に報告。

化学物質の安全性評価手法に関する研究—変異原性試験：林 真，松岡厚子，鈴木孝昌，祖父尼俊雄  
既存化学物質等安全性研究費（平成3年4月～4年3月）平成4年6月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

生体外染色体異常試験のスクリーニングの制度の向上に関する研究：哺乳類培養細胞を用いる小核試験：林 真，鈴木孝昌，松岡厚子，祖父尼俊雄  
労働省委託研究費（昭和63年6月～平成4年3月），平成4年4月労働省化学物質調査課に報告。

リスクアセスメント手法等の改善と確立に関する研究：林 真，松岡厚子，鈴木孝昌，祖父尼俊雄  
厚生科学研究（昭和63年4月～平成4年3月），平成4年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

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—既存情報を用いたリスクアセスメント手法に関する研究：中館正弘，會田喜崇，鎌田栄一  
厚生科学研究補助金（平成2年4月～4年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

生分解プラスチック分解生成物の安全性評価に関する研究—分解生成物の文献調査：會田喜崇，鎌田栄一

厚生科学研究補助金（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

塩化メチレンの毒性に関する調査研究：中舘正弘，會田喜崇，鎌田栄一

既存化学物質毒性試験調査費（昭和63年4月～平成3年3月），平成3年9月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

指定試験検査機関の信頼性保証制度の確立に関する研究：岡田敏史，石橋無味雄，青柳\*<sup>1</sup>，秋山和幸\*<sup>2</sup>，増井俊夫\*<sup>3</sup>

厚生科学研究費補助金（平成3年4月～4年3月），平成4年5月厚生省薬務局監視指導課に報告。

\*<sup>1</sup> 日本薬剤師会

\*<sup>2</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>3</sup> 静岡環境衛生センター

インスリン製剤のHPLC試験法の開発研究：岡田敏史，四方田千佳子

厚生科学研究費補助金（平成3年4月～4年3月），平成4年5月厚生省薬務局監視指導課に報告。  
（主任研究者：森本和滋室長（生物薬品部））

柑橘類の貯蔵およびマーマレード加工過程における収穫後使用農薬の消長：津村ゆかり，外海泰秀，中村優美子，伊藤誉志男

食品等試験検査費（平成3年4月～3年9月），平成3年9月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

各種農産物中残留農薬（チオファネートメチル，ペノミル，イプロジオン，ジクロラン，キャプタン，メトキシクロール）分析法の作成：外海泰秀，中村優美子，津村ゆかり，伊藤誉志男

食品等試験検査費（平成3年4月～3年10月），平成3年10月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

農作物中のバミドチオン分析法の検討：津村ゆかり，外海泰秀，中村優美子，伊藤誉志男

食品等試験検査費（平成3年4月～3年11月），平成3年11月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物の1日摂取量調査に関する研究—加工食品中のタール色素の1日摂取量：伊藤誉志男，柴田正，辻澄子

食品等試験検査費（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

イオンクロマトグラフィーによる各種食用タール色素中の塩化物，硫酸塩，臭化物およびヨウ化物の同時定量：伊藤誉志男，柴田正，辻澄子，川本礼子，木村美加

食品等試験検査費（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品由来成分（安息香酸）含量レベル調査研究：伊藤誉志男，柴田正，辻澄子

食品等試験検査費（平成3年4月～4年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物（ソルビン酸，酢酸エチル，安息香酸，銅クロロフィル）使用量基準点検査整備研究：武田明治，山田隆，武田由比子，川崎洋子，伊藤誉志男，柴田正，辻澄子

食品等試験検査費（平成4年1月～3月），平成4年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

農薬（プロボキスル，メチオカルブ，ジラム，フェルバム）分析法の検討と実態調査研究：外海泰秀，津村ゆかり，中村優美子，伊藤誉志男

食品等試験検査費（平成3年9月～4年3月），平成4年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物（アソルビンおよびキノリンイエロー）有用性等調査研究：伊藤誉志男，柴田正，辻澄子

食品等試験検査費（平成4年1月～3月），平成4年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

酸化的に代謝される有機リン系農薬（ジスルホトンおよびバミドチオン）の類化合物および酸化体の分割定量法：外海泰秀，津村ゆかり，中村優美子，伊藤誉志男

厚生科学研究（平成4年1月～3月），平成4年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

化学的合成品以外の食品添加物（コチニール色素お

よびブラック色素)の同定,分析手法等に関する研究:伊藤蒼志男,柴田正,辻澄子  
厚生科学研究(平成3年4月~4年3月),平成4年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

輸入食品の安全性確保に関する研究—簡易分析法および化学的分析法を用いる系統的の残留農薬(9種カルバメート系,30種有機リン系)検出法の検討:伊藤蒼志男,外海泰秀,津村ゆかり,中村優美子  
厚生科学研究(平成4年1月~3月),平成4年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告.

標準品原料品質試験結果報告書(アザチオプリン外21品目):石光進,四万田千佳子,村井敏美,宮崎  
厚移替(平成3年5月~3年6月),平成3年6月厚生省薬務局安全課に報告.

バイオ食品の安全性に関する研究:三瀬勝利  
厚移替(平成3年2月~3年6月),平成3年6月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

バイオ食品の安全性に関する研究:三瀬勝利  
厚移替(平成3年2月~3年6月),平成3年6月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

標準品原料品質試験結果報告書(アスピリン外11品目):石光進,四万田千佳子,村井敏美,宮崎  
厚移替(平成3年5月~3年8月),平成3年8月厚生省薬務局安全課に報告.

鑑識用麻薬および向精神薬標準品の再精製について:中原雄二,島峯望彦,寺尾允男  
厚移替(平成3年7月~4年3月),平成4年3月厚生省薬務局安全課に報告.

平成3年度水質試験検査ビス(トリブチルスズ)=オキシドの毒性試験:黒川雄二,長谷川隆一  
厚移替(平成3年9月~4年4月),平成4年4月厚生省薬務局安全課に報告.

F<sub>344</sub>ラットにおけるp-フィネチジンの28日間反復投与毒性試験:古川文夫,豊田和弘,川西徹,高橋道人  
厚移替(平成元年10月~3年6月),平成3年6月厚生省生活衛生局化学安全対策室に報告.

グルタルアルデヒドの急性毒性試験(文献調査):大野圭子,中路幸男,黒川雄二  
厚移替(平成元年10月~3年6月),平成3年6月厚生省生活衛生局化学安全対策室に報告.

ピグメントブルー15の28日間反復投与毒性試験報告書:金子豊蔵,鈴木幸子,安原加寿雄,小川幸男,広瀬明彦,齊藤実,黒川雄二  
厚移替(昭和63年11月~4年6月),平成4年6月厚生省生活衛生局化学安全対策室に報告.

ブチルベンジルフタレート of 代謝試験報告(その2):高橋昭江,峰岸謙一郎,高橋淳  
厚移替(昭和62年10月~平成3年8月),平成3年8月厚生省生活衛生局化学安全対策室に報告.

L-トリプトファン製品によるEMSに関連した資料のまとめ(トリプトファン製品によるEMSに関する国立衛生試験所内の対応の経過を含む):武田明治,米谷民雄  
厚移替(平成3年9月~4年6月),平成4年6月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

バイオ食品に関する基礎的研究—経口投与されたプラスミオドの腸内細菌への取り込みに関する研究—:三瀬勝利  
厚移替(平成3年9月~4年6月),平成4年6月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

バイオ食品に関する基礎的研究—経口投与されたプラスミオドの腸内細菌への取り込みに関する研究—:三瀬勝利  
厚移替(平成3年9月~4年6月),平成4年6月厚生省生活衛生局食品保健課に報告.

- 青柳伸男：経口放出制御製剤の評価  
第28回薬剤学懇談会研究討論会 (1991.7)
- 香取典子, 青柳伸男, 寺尾允男：Deconvolution法による吸収挙動推定の信頼性  
日本薬学会第7年会 (1991.9)
- 香取典子, 青柳伸男, 寺尾允男：含量均一性試験の判定基準および重量偏差試験の妥当性の統計学的評価  
第35回日本薬学会関東支部大会 (1991.11)
- 青柳伸男, 香取典子, 鹿庭なほ子, 寺尾允男：インドメタシン脂溶性坐剤の放出速度とバイオアベイラビリティ  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 鹿庭なほ子, 青柳伸男, 寺尾允男：Individual bioequivalenceに関する考察  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 伊豆津健一, 吉岡澄江, 寺尾允男：凍結乾燥時における酵素の安定化—シュガーエステル安定化作用—  
日本薬学会第7年会 (1991.9)
- 吉岡澄江, 伊豆津健一, 阿曾幸男, 寺尾允男：酵素製剤の加速試験による安定性予測  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 伊豆津健一, 吉岡澄江, 寺尾允男：乳酸脱水素酵素(LDH)凍結乾燥時の失活に対する非イオン性界面活性剤の影響  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 林 良樹, 吉岡澄江, 阿曾幸男, 寺尾允男：タンパク質含有ポリ乳酸マイクロスフィアの調製とその放出性  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 阿曾幸男, 吉岡澄江, 寺尾允男：マイクロ熱量計による非晶質医薬品の結晶化の検討  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- Yoshioka, S., Aso, Y., Izutsu, K. and Terao, T.: Effect of Moisture on Stability of freeze-dried  $\beta$ -Galactosidase  
Sixth Annual Meeting of the American Association of Pharmaceutical Scientists, Washington, D.C., U.S.A. (1991.11)
- 豊岡利正, 石橋無味雄, 寺尾允男：新規蛍光試薬によるカルボン酸光学異性体の HPLC による分離分析  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 豊岡利正, 石橋無味雄, 寺尾允男：DBD-PZ を用いたプロスタグランジン類の HPLC-蛍光分析  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 中原雄二, 高橋一徳, 島峯望彦, 寺尾允男：尿中コカイン, ベンゾイルエクゴニンおよびエクゴニンメチルエステルの同時定量—液々抽出と固相抽出の比較  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 高橋一徳, 島峯望彦, 中原雄二, 寺尾允男：薬物乱用歴推定のための毛髪分析 V. 毛髪中コカイン, ベンゾイルエクゴニンおよびエクゴニンメチルエステルの定量  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 木倉瑠理, 落合敏秋, 中原雄二, 寺尾允男：薬物乱用歴推定のための毛髪分析 VI. コカインおよび代謝物の毛髪中への移行の難易性—血中 AUC との関係  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 島峯望彦, 中原雄二, 寺尾允男：ICOS を利用したベンゾジアゼピン系向精神薬の HPLC-DAD による一斉分析と確認法  
日本薬学会第112年会 (1992.3)
- 関根 均\*, 中原雄二：覚醒剤喫煙成績体シアノメチルメタンフェタミンのマウスおよびラット血中代謝物について  
日本薬学会第112年会 (1992.3)

\* 埼玉県警・科捜研

**Hayakawa, T.: Current Regulatory Situation in Japan with Respect to the Preclinical Safety Testing for Biotechnology Products Intended for Human Use**

The First International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Brussels, Belgium (1991. 11)

**Hayakawa, T.: Control of Quality, Safety and Efficacy of Biotechnology Drugs**

International Bio Symposium 92 Nagoya, Nagoya, Japan (1992. 1)

**Hayakawa, T.: Procedures for Drug Review in Japan**

AAPS (American Association of Pharmaceutical Scientists) Workshop on International Chemical and Pharmaceutical Regulatory Requirements, Arlington, VA, USA (1992. 4)

**Hayakawa, T.: Drug Substance (Structure Characterization, Synthesis, DMFs, Specifications, Methods, Stability): Differences and/or Unique Requirements in Japan**

AAPS (American Association of Pharmaceutical Scientists) Workshop on International Chemical and Pharmaceutical Regulatory Requirements, Arlington, VA, USA (1992. 4)

**Hayakawa, T.: Drug Product (Formulation, Manufacture, Scale-up/Validation, Specifications): Differences and/or Unique Requirements in Japan**

AAPS (American Association of Pharmaceutical Scientists) Workshop on International Chemical and Pharmaceutical Regulatory Requirements, Arlington, VA, USA (1992. 4)

**Hayakawa, T.: Drug Product (Stability, Storage Conditions, Degradation Products, Method Validation): Differences and/or Unique Requi-**

**rements in Japan**

AAPS (American Association of Pharmaceutical Scientists) Workshop on International Chemical and Pharmaceutical Regulatory Requirements, Arlington, VA, USA (1992. 4)

森本和滋, 神沼二真, 林 裕造: *in vivo* DNA 付加物量のデータベース化, O<sup>6</sup>-アルキルグアニン  
第50回日本癌学会総会 (1991. 9)

森本和滋, 村田朋美, 今井 靖, 五十嵐貴子, 神沼二真, 林 裕造: 発癌物質の DNA 付加物量のデータベース化 (2) O<sup>6</sup>-アルキルチミンと 8-ヒドロキシグアニン

日本薬学会第112年会 (1992. 3)

下川誠太郎\*<sup>1</sup>, 山泉ゆり子\*<sup>1</sup>, 富田研一\*<sup>1</sup>, 西川諭\*<sup>2</sup>, 上杉晴一\*<sup>1</sup>, 内田恵理子, 早川堯夫, 池原森男\*<sup>3</sup>: ヒト成長ホルモンの受容体結合における荷電アミノ酸の影響

第64回日本生化学会大会 (1991. 10)

\*<sup>1</sup> 大阪大学薬学部

\*<sup>2</sup> 微生物工業技術研究所

\*<sup>3</sup> 蛋白質工学研究所

川崎ナナ, 谷本 剛, 田中 彰, 早川堯夫, 宮坂伸之\*<sup>1</sup>: 電気化学検出 HPLC によるヒト関節液中の低分子量鉄錯体の測定

日本薬学会第112年会 (1992. 3)

\*<sup>1</sup> 東京医歯大

Nishimura, C.\*<sup>1</sup>, Yamaoka, T.\*<sup>2</sup>, Matsuura, Y.\*<sup>3</sup>, Mizutani, M.\*<sup>2</sup>, Yamashita, K.\*<sup>2</sup>, Akera, T.\*<sup>1</sup> and Tanimoto, T.: Recombinant human aldose reductase expressed in baculovirus system: characterization for the development of new enzyme inhibitors

14th International Diabetes Federation Congress, Washington D.C., USA (1991. 6)

\*<sup>1</sup> 国立小児病院

\*<sup>2</sup> 筑波大学医学部

\*<sup>3</sup> 国立予防衛生研究所

藤村久子, 谷本 剛, 田中 彰, 早川堯夫, 河内康司\*<sup>1</sup>: 単離肝細胞における tPA および PEG 修飾

## tPA の取り込み

日本細胞生物学会年会 (1991. 11)

\*<sup>1</sup> 山之内製薬

Nishimura, C.\*<sup>1</sup> and Tanimoto, T.: **Molecular biology of aldose reductase: relevance to the development of new aldose reductase inhibitors**  
6th Congress of the US-JAPAN Cooperative Cataract Research Group, Hawaii, USA (1991. 11)

\*<sup>1</sup> 国立小児病院

Akagi, Y.\*<sup>1</sup>, Terubayashi, H.\*<sup>1</sup>, Ikebe, H.\*<sup>1</sup>, Okamoto, S.\*<sup>1</sup>, Tanimoto, T. and Urakami, T.\*<sup>2</sup>: **The prevention of the rat galactosemic cataract with a new aldose reductase inhibitor, OPG (oxazopyrroloquinoline)**

6th Congress of the US-JAPAN Cooperative Cataract Research Group, Hawaii, USA (1991. 11)

\*<sup>1</sup> 京都府立医科大学\*<sup>2</sup> 三菱瓦斯化学

Nishimura, C.\*<sup>1</sup>, Furue, M.\*<sup>1</sup> and Tanimoto, T.: **Quantitative analysis of aldose reductase in human tissue**

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

\*<sup>1</sup> 国立小児病院

太田美矢子, 谷本 剛, 早川堯夫: **ヒト腎臓アルドース還元酵素およびアルデヒド還元酵素の比較生化学的検討**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

新見伸吾, 早川堯夫, 田中 彰: **ラット初代培養肝細胞における成長ホルモン受容体のグルコースによる調節**

第 7 回初代培養肝細胞研究会 (1991. 6)

押澤 正, 山口照英, 早川堯夫, 友田輝夫\*<sup>1</sup>, 山本行男\*<sup>2</sup>: **好中球の O<sub>2</sub> 生成活性に及ぼすカリクリン A およびオカダ酸の影響について**

第 64 回日本生化学会総会 (1991. 10)

\*<sup>1</sup> 東京医科大学\*<sup>2</sup> 東京都臨床医学総合研究所Yamaguchi, T. and Hayakawa, T.: **Aspects of**

**regulatory concerns about biotechnology drugs in Japan**

International Congresses on Inflammation, Italy (1991. 10)

山口照英, 押澤 正, 山本行男\*, 早川堯夫: **Dicyclohexylcarbodiimide による好中球の活性化へのタンパク質リン酸化および脱リン酸化の関与**  
第 21 回日本免疫学会総会 (1991. 11)

\* 東京都臨床医学総合研究所

押澤 正, 山口照英, 山本行男\*, 早川堯夫: **好中球の接着性に及ぼす calyculin A の影響について**  
第 21 回日本免疫学会総会 (1991. 11)

\* 東京都臨床医学総合研究所

福岡正道, 小林 哲, 周 玉\*, 田中 彰, 早川堯夫: **精巣障害に関する研究 その 5. Dibutyl phthalate によるラット精巣萎縮について**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\* 静岡県立大学薬学部

小林 哲, 福岡正道, 早川堯夫: **酵素免疫測定法による生体試料中のサブスタンス P の定量**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

清原 剛\*, 久保寺昭子\*, 小島周二\*, 田中 彰, 福岡正道, 小林 哲: **新しい腎画像診断薬の開発に関する基礎的研究**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\* 東京理科大学薬学部

田中 彰, 町田豊平\*<sup>1</sup>, 大石幸彦\*<sup>1</sup>, 福岡正道, 小林 哲, 清原 剛\*<sup>2</sup>, 久保寺昭子\*<sup>2</sup>: **腎診断薬の開発に関する研究 (第 10 報)**

第 31 回核医学会総会 (1991. 10)

\*<sup>1</sup> 慈恵会医科大学\*<sup>2</sup> 東京理科大学薬学部

王 殿升\*<sup>1</sup>, 関島 勝\*<sup>1</sup>, 上野芳夫\*<sup>1</sup>, 渡部秀次\*<sup>2</sup>, 菅井久美子\*<sup>2</sup>, 関田節子: **5'-hydroxy-averantin の変異原性**

マイコトキシン研究会第 33 回学術講演会 (1991. 7)

\*<sup>1</sup> 東京理科大学薬学部\*<sup>2</sup> 三菱油化ピーシーエル

尾崎幸紘, 佐竹元吉: 黄耆の薬理作用について  
黄耆討論会, 山西省医薬研究所, 中国 (1991. 8)

鈴木英世, 原田正敏, 村上守一\*<sup>1</sup>, 吉崎正雄\*<sup>2</sup>: キ  
ササゲの調製によるカタルポシド, カタルポール,  
p-ヒドロキシ安息香酸の成分変動  
第28回全国衛生化学技術協議会年会 (1991. 10)

\*<sup>1</sup> 富山県薬事研究所

\*<sup>2</sup> 富山医科薬科大学

関島 勝\*<sup>1</sup>, 王 殿升\*<sup>1</sup>, 渡部秀次\*<sup>2</sup>, 菅井久美  
子\*<sup>2</sup>, 関田節子, 上野芳夫\*<sup>1</sup>: Sterigmatocystin  
および関連化合物の変異原性  
日本環境変異原学会第20回大会 (1991. 11)

\*<sup>1</sup> 東京理科大学薬学部

\*<sup>2</sup> 三菱油化ビーシーエル

鎌倉浩之, 佐竹元吉: ノルエフェドリン光学異性体  
の組織移行性の検討  
日本薬学会第112年会 (1992. 3)

関田節子, 佐竹元吉, 李 満飛\*, 華 偉義\*: ブク  
リョウの研究 (1) NMRによる茯苓エキスの解析  
日本薬学会第112年会 (1992. 3)

\* 天津薬物研究院

川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉, 宇田川俊一\*<sup>1</sup>, 河  
合賢一\*<sup>2</sup>: Emericella nidulansの産生する新化合  
物 nidulalin A, Bの構造  
日本薬学会第112年会 (1992. 3)

\*<sup>1</sup> 千葉大学真核微生物研究センター

\*<sup>2</sup> 星薬科大学

Tsuchiya, T., Ikarashi, Y., Hata, H., Toyoda, K.,  
Takahashi, M., Uchima, T.\*<sup>1</sup>, Tanaka, N.\*<sup>2</sup>, Sasa-  
ki, T.\*<sup>2</sup>, Nakamura, A.: Comparative studies of  
the toxicities of reference standard materials in  
various cytotoxicity tests and in vivo implanta-  
tion tests  
BIOMAT 91, Bordeaux, France (1991. 12)

\*<sup>1</sup> 民生科学協会研究所

\*<sup>2</sup> 食品薬品安全センター秦野研究所

Tsuchiya, T., Ikarashi, Y., Hata, H., Toyoda, K.,  
Takahashi, M., Uchima, T.\*<sup>1</sup>, Arai, T.\*<sup>2</sup>, Ohhashi,

J.\*<sup>2</sup>, Nakamura, A.: Standardization of cytotoxi-  
city testing method for safety evaluation of  
biomaterials

Fourth World Biomaterials Congress, Berlin,  
Federal Republic of Germany (1992. 4)

\*<sup>1</sup> 民生科学協会研究所

\*<sup>2</sup> メニコン(株)

土屋利江: 中脳細胞のマイクロマスカルチャーと  
in vitro 解析への応用

第31回日本先天異常学会学術集会ワークショップ  
(1991. 7)

秦 英代\*, 土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠, 藤  
巻正人\*: 医用材料の生物学的安全性評価試験 (1)  
L929 および Balb/3T3 細胞によるコロニー法と寒  
天重層法の比較

第13回日本バイオマテリアル学会大会 (1991. 10)

\* 民生科学協会研究所

土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠, 荒井 忠\*<sup>1</sup>, 兼  
松道子\*<sup>1</sup>, 大橋準一\*<sup>1</sup>, 秦 英代\*<sup>2</sup>: 医用材料の生  
物学的安全性評価試験 (2) コンタクトレンズ材料  
の細胞毒性試験とレンズ装用試験評価

第13回日本バイオマテリアル学会大会 (1991. 10)

\*<sup>1</sup> メニコン(株)

\*<sup>2</sup> 民生科学協会研究所

土屋利江: マイクロマスカルチャー法を用いた催奇  
形性のリスクアセスメント

日本動物実験代替法学会第5回大会シンポジウム  
(1991. 11)

土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠: 細胞培養による  
胎児致死活性測定法の開発

日本動物実験代替法学会第5回大会 (1991. 11)

土屋利江, 五十嵐良明, 豊田和弘, 高橋道人, 秦  
英代\*, 内間高夫\*, 中村晃忠: 医用材料の細胞毒性  
試験—短期組織反応との相関

第2回バイオエンジニアリングシンポジウム (1992.  
1)

\* 民生科学協会研究所

五十嵐良明, 土屋利江, 中村晃忠: 医用材料の生物



学的安全性評価試験 (3) マウス末梢リンパ節検査による金属イオンおよびゴム添加剤の感作性試験  
第13回日本バイオマテリアル学会大会 (1991.10)

五十嵐良明, 土屋利江, 中村晃忠: マウス末梢リンパ節検査による感作性評価: モルモット Maximization test との比較

日本動物実験代替法学会第5回大会 (1991.11)

Nakamura, A., Kawasaki, Y., Takada, K., Aida, Y., Kurokawa, Y., Kojima, S., Shintani, H., Matsui, M., Nohmi, T., Matsuoka, A., Sofuni, T., Kurihara, M., Miyata, N., Uchima, T.\* and Fujimaki, M.\*: **Implant carcinogenesis studies: poly etherpolyurethanes and polydimethylsiloxane**  
4th World Biomaterials Congress, Berlin, Germany (1992.4)

\* 民生科学協会研究所

Nakamura, A.: **Biological requirements for biomaterials and devices in Japan**

4th World Biomaterials Congress, Berlin, Germany (1992.4)

中村晃忠, 川崎 靖, 内間 高\*, 高田幸一, 黒川雄二: フィルム状材料の埋植による異物発癌試験について

第2回バイオエンジニアリングシンポジウム (1992.1)

\* 民生科学協会研究所

Shintani, H.: **Ion chromatography**

Chariman of The 5th Asian Pacific Congress of Clinical Biochemistry, Kobe, Japan (1991.9)

Shintani, H.: **Solid-phase extraction and HPLC analysis of carcinogen in serum and the chemical characteristics of gamma-ray irradiated medical polyurethane**

8th Danube Symposium on Chromatography Warsaw, Poland (1991.9)

Shintani, H.: **SPE and HPLC analysis of carcinogen in serum**

67th meeting of Korean Chemical Society, Seoul,

Korea (1991.4)

Shintani, H.: **SPE and HPLC analysis of dental material in serum**

Pittsburgh Conference, New Orelans, USA (1992.3)

Hayakawa, R.\*, Matsunaga, K.\*, Ogino, Y. \*, Arisu, K.\*, Ichikawa, M.\* and Kaniwa, M.: **Chloasma like dermatitis due to rubber**

1st Asia-Pacific Environmental & Occupational Dermatology Symposium, Singapore (1991.6)

\* 名古屋大学医学部付属病院分院

中島晴信\*<sup>1</sup>, 松永一朗\*<sup>1</sup>, 宮野直子\*<sup>1</sup>, 藤田忠雄\*<sup>2</sup>, 仲村智子\*<sup>2</sup>, 斎藤 稔\*<sup>2</sup>, 若槻寿一\*<sup>3</sup>, 大橋人士\*<sup>3</sup>, 前田浩一郎\*<sup>4</sup>, 桑村昭子\*<sup>4</sup>, 伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 中村晃忠: **抗菌防臭加工剤の安全性評価 (その1) 一研究機関と行政機関の協力による新しい試み一**  
第28回全国衛生化学技術協議会 (1991.10)

\*<sup>1</sup> 大阪府公衆衛生研究所

\*<sup>2</sup> 大阪市環境科学研究所

\*<sup>3</sup> 堺市衛生研究所

\*<sup>4</sup> 東大阪市西保健所

伊佐間和郎, 鹿庭正昭, 中村晃忠, 中島晴信\*ら: **抗菌防臭加工剤の安全性評価 (その2) 一情報のデータベース化一**

第28回全国衛生化学技術協議会 (1991.10)

\* 大阪府公衆衛生研究所

鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠, 関東裕美\*<sup>1</sup>, 生野麻美子\*<sup>2</sup>, 斎藤すみ\*<sup>3</sup>, 三好 薫\*<sup>4</sup>: **ゴムはきものによる接触皮膚炎の原因究明一ゴム添加剤, 接着剤に注目して一**

第28回全国衛生化学技術協議会 (1991.10)

\*<sup>1</sup> 東邦大学医学部付属病院

\*<sup>2</sup> 済生会川口総合病院

\*<sup>3</sup> 横浜赤十字病院

\*<sup>4</sup> 川崎医科大学付属川崎病院

Kaniwa, M., Isama, K., Nakamura, A., Kantoh, H.\*<sup>1</sup>, Itoh, M.\*<sup>1</sup>, Shono, M.\*<sup>2</sup> and Ezo, K.\*<sup>2</sup>: **Investigation of causative chemicals of contact dermatitis from rubber products using a combi-**

## nation of chemical analysis and patch testing in patients

1st Asia-Pacific Environmental & Occupational Dermatology Symposium, Singapore (1991.6)

\*1 東邦大学医学部付属病院

\*2 済生会川口総合病院

生野麻美子\*, 鹿庭正昭, 日本化粧品工業会色素部  
会: 赤色202号によるアレルギー性接触皮膚炎  
第16回日本接触皮膚炎学会 (1991.12)

\* 済生会川口総合病院

横尾雅子\*1, 三好 薫\*1, 服部昌利\*2, 鹿庭正昭:  
アレルギー性のズック靴皮膚炎の1例  
第16回日本接触皮膚炎学会 (1991.12)

\*1 川崎医科大学付属川崎病院

\*2 岡山市

丸山隆児\*, 生野麻美子\*, 鹿庭正昭: m-xylylene-  
diamine (MXDA), エポキシ樹脂硬化剤による職  
業性アレルギー性接触皮膚炎の2例  
第16回日本接触皮膚炎学会 (1991.12)

\* 済生会川口総合病院

安田 学\*1, 早川律子\*2, 荻野泰子\*2, 有巢加余  
子\*2, 松永佳世子\*3, 田中 伸\*4, 伊佐間和郎: 機  
械油による色素沈着型接触皮膚炎の1例  
第16回日本接触皮膚炎学会 (1991.12)

\*1 関市

\*2 名古屋大学医学部付属病院分院

\*3 藤田保健衛生大学医学部付属病院

\*4 愛知医科大学付属病院

鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠, 生野麻美子\*1,  
斎藤すみ\*2, 三好 薫\*3: ゴム靴による接触皮膚炎  
の原因物質の検索: ゴム添加剤, 接着剤の寄与  
日本薬学会第112年会 (1992.3)

\*1 済生会川口総合病院

\*2 横浜赤十字病院

\*3 川崎医科大学付属川崎病院

Yasuda, M.\*1, Hayakawa, R.\*2, Matsunaga, K.\*2,  
Ogino, M.\*2, Arisu, K.\*2, Isama, K.: A case with  
pigmented contact dermatitis due to machine oil  
1st Asia-Pacific Environmental & Occupational  
Dermatology Symposium, Singapore (1991.6)

\*1 安田医院

\*2 名古屋大学医学部附属病院分院

松村年郎, 埴岡伸光, 小嶋茂雄, 石原久義\*1, 長田  
英二\*2: 化学物質による室内空気汚染 (4), 高速液  
体クロマトグラフを用いた室内空気中のホルムアル  
デヒドの測定法について

第32回大気汚染学会 (1991.11)

\*1 (株)テイサン

\*2 (株)電気化学計器

松村年郎, 埴岡伸光, 小嶋茂雄, 長田英二\*1, 村松  
学\*2: 化学物質による室内空気汚染 (5), 室内空気  
中のホルムアルデヒド濃度について

第32回大気汚染学会 (1991.11)

\*1 (株)電気化学計器

\*2 東京都杉並西保健所

村松 学\*1, 松村年郎, 岡本繁雄\*2: 都内の学校の  
空気汚染物質濃度, NO<sub>2</sub> と HCHO の室内濃度と児  
童の暴露濃度について

第32回大気汚染学会 (1991.11)

\*1 東京都杉並西保健所

\*2 東京都教育庁

川田 浩\*1, 松村年郎, 関田 寛, 小嶋茂雄: 拡散  
型サンプラーを用いたパラジクロロベンゼンの個人  
モニタリング法

第11回空気清浄とコンタミネーションコントロール  
研究大会 (1992.4)

\*1 (株)モルテン

木嶋敬二, 渡辺四男也\*, 鈴木助治\*, 石野正蔵\*,  
永山富雄\*, 原田裕文\*, 廣田 博\*, 岩倉良平\*, 澤  
村邦夫\*, 高松 翼\*, 西島 靖\*, 平松 功\*, 斎藤  
恵美子\*: 生活用品試験法, 化粧品試験法, ホルム  
アルデヒド

日本薬学会第112年会 (1992.3)

\* 日本薬学会 衛生化学調査委員会 化粧品試験  
法専門委員会

木嶋敬二, 小嶋茂雄, 天野真波\*: アミノ酸等共存  
下における遊離ホルムアルデヒド定量法に関する基  
礎的検討

日本薬学会第112年会 (1992.3)

\* 北里大学薬学部

Kijima, K., Takeda, M., Okaya, Y.\*, Takamatsu, T.\*, Murase, M.\*, Sawamura, K.\*, Nomura, T.\* and Koba, T.\*: **A study on release of formaldehyde from its donor type preservatives.**

IUPAC ICAS, '91 International Congress on Analytical Science 1991, Chiba, Japan (1991. 8)

\* 日本化粧品工業会

本間清一\*<sup>1</sup>, 山越葉子, 村田容常\*<sup>1</sup>, 新井好史\*<sup>2</sup>, 中村義幸\*<sup>2</sup>: **Macrocarpal 類のアルドース還元酵素阻害活性**

日本農芸化学会 1992 年度大会 (1992. 4)

\*<sup>1</sup> お茶の水女子大学

\*<sup>2</sup> サッポロビール㈱

村田容常\*, 清水章代\*, 山越葉子, 本間清一\* : **Eucalyptus macrocarpa の抗菌物質 (第 4 報)**

日本農芸化学会 1992 年度大会 (1992. 4)

\* お茶の水女子大学

埴岡伸光, 神野透人, 安藤正典, 小嶋茂雄: **ラットにおけるカルシウムおよびリン代謝に及ぼすテルビウムの影響**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

神野透人, 埴岡伸光, 安藤正典, 小嶋茂雄, 香月瑞穂\*: **アオコの産生する肝毒素ミクロキスチンのラット初代培養肝細胞に対する影響**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\* 東京理科大学薬学部

安藤正典: **上水試験方法改訂に伴う検査方法の検討**  
第 43 回全国水道研究発表会 (1992. 5)

加藤寛久\*, 神野透人, 埴岡伸光, 安藤正典, 小嶋茂雄: **バージアンドトラップ/GC-MS 法による揮散性有機物の微量分析**

第 43 回全国水道研究発表会 (1992. 5)

\* 東京都水道局

林 信吾\*, 神野透人, 埴岡伸光, 安藤正典, 小嶋茂雄: **水道中の MX の測定方法と生成機構**

第 43 回全国水道研究発表会 (1992. 5)

\* 大阪府水道局

鈴木 隆, 松田りえ子, 斎藤行生: **魚体中に含まれるトリブチルスズ化合物の化学種について**

第 17 回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム (1991. 10)

鈴木 隆, 松田りえ子, 斎藤行生: **魚体中に含まれるトリブチルスズ化合物の化学種について**

日本食品衛生学会第 62 回学術講演会 (1991. 10)

鈴木 隆, 松田りえ子, 斎藤行生: **トリブチルスズのラットにおける代謝について**

日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1992. 5)

鈴木 隆, 松田りえ子, 斎藤行生: **原子発光検出器の生体試料中の有機スズ化合物の分析への応用**

日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1992. 5)

宮原 誠, 鈴木 隆, 斎藤行生: **大豆中の製油工程における農薬の動態**

日本食品衛生学会第 61 回学術講演会 (1991. 5)

松田りえ子, 鈴木 隆, 斎藤行生: **HPLC カラムの長さおよび内径のクロマトグラフィ情報量 FUMI への影響**

日本食品衛生学会第 62 回学術講演会 (1991. 10)

Matsuda, R., Hayashi, Y., Suzuki, T. and Saito, Y.: **Optimization of reversed-phase liquid chromatographic analysis of pesticides on the basis of information theory**

Pittsburgh Conference 92, USA (1992. 3)

松田りえ子, 林 譲, 斎藤行生: **中和滴定曲線の情報量 FUMI と精度の関係**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

内山貞夫, 佐藤陽子\*, 鈴木美緒\*, 河村葉子, 村山三徳, 斎藤行生: **香辛料の  $\gamma$  線照射による成分変動—メタノール抽出物および精油成分—**

日本食品衛生学会第 62 回学術講演会 (1991. 10)

\* 共立薬科大学

内山貞夫：ESRによる照射食品の検知法  
第3回ESR利用技術研究会 (1992.2)

豊田正武, 最所和宏, 斎藤行生, 青木 岳<sup>\*1</sup>,  
Martinez M. U.<sup>\*2</sup>：アフィニティーカラムクリー  
ンアップによる粉乳中アフラトキシン M<sub>1</sub> の定量  
第33回マイコトキシン研究会学術講演会 (1991.7)

<sup>\*1</sup> 横浜検疫所

<sup>\*2</sup> Bureau of Food and Drugs, Philippines

高木加代子, 最所和宏, 豊田正武, 斎藤行生, 水野  
敬子<sup>\*</sup>：組織培養オタネニンジンに残留するカイネ  
チンについて

第28回全国衛生化学技術協議会年会 (1991.10)

<sup>\*</sup> 北里大学産業衛生学部

高木加代子, 豊田正武, 斎藤行生, 佐藤智美<sup>\*</sup>, 志  
水めぐみ<sup>\*</sup>：天然有害物質の生体および食品中にお  
ける挙動—トマト中のアルカロイドについて—  
日本食品衛生学会第62回学術講演会 (1991.10)

<sup>\*</sup> 北里大学産業衛生学部

川崎 勝, 豊田正武, 斎藤行生： $\alpha$ -リノレン酸の  
好塩基球 RBL-2H3 細胞に対する作用  
日本薬学会第112年会 (1992.3)

橋本英明<sup>\*</sup>, 渡辺あけみ<sup>\*</sup>, 高木加代子, 豊田正武,  
斎藤行生：酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のセル  
レニン耐性 FAS2 遺伝子のクローニング  
日本発酵工学会 (1991.11)

<sup>\*</sup> ニッカウキスキー(株)

山田 隆, 武田由比子, 川崎洋子, 山本 都, 山崎  
壮, 義平邦利, 鈴木 隆, 斎藤行生：グレープフル  
ーツ中のチアベンダゾール (TBZ) の分析  
第8回全国衛生化学技術協議会年会 (1991.10)

西島基弘<sup>\*</sup>, 伊藤誉志男, 上条昌弥<sup>\*</sup>, 白石隆幸<sup>\*</sup>,  
中岡正吉<sup>\*</sup>, 成田弘子<sup>\*</sup>, 本間 浩<sup>\*</sup>, 宮田政明<sup>\*</sup>, 宮  
本文夫<sup>\*</sup>, 山田 隆：保存料：高速液体クロマトグ  
ラフィーによる定性および定量  
日本薬学会第112年会 (1992.3)

<sup>\*</sup> 日本薬学会 衛生試験法部会 食品添加物専門  
委員会

西島基弘<sup>\*</sup>, 伊藤誉志男, 上条昌弥<sup>\*</sup>, 白石隆幸<sup>\*</sup>,  
中岡正吉<sup>\*</sup>, 成田弘子<sup>\*</sup>, 本間 浩<sup>\*</sup>, 宮田政明<sup>\*</sup>, 宮  
本文夫<sup>\*</sup>, 山田 隆：酸化防止剤：高速液体クロマ  
トグラフィーによる定性および定量  
日本薬学会第112年会 (1992.3)

<sup>\*</sup> 日本薬学会 衛生試験法部会 食品添加物専門  
委員会

武田由比子, 合田幸広, 山田 隆, 武田明治：食用  
赤色40号の副成色素の構造について  
日本薬学会第112年会 (1992.3)

米谷民雄, 中島早苗, 邢大菜, 義平邦利：血清に添  
加した各種金属の HPLC-ICP 法による結合状態の  
分析

第5回金属の関与する生体関連反応シンポジウム  
(1991.6)

小竹欣之輔<sup>\*1</sup>, 畑中顕和<sup>\*1</sup>, 寺原典彦<sup>\*2</sup>, 山口雅  
篤<sup>\*2</sup>, 加藤喜昭<sup>\*3</sup>, 室井てる予<sup>\*3</sup>, 合田幸広：山川  
紫芋色素の化学構造とその色素の安定性について  
(その2)

日本農芸化学会西日本支部大会 (1991.9)

<sup>\*1</sup> 山口大学農学部

<sup>\*2</sup> 南九州大学

<sup>\*3</sup> 三栄化学工業(株)

佐藤恭子, 岩上 敏, 合田幸広, 奥山恵美, 義平邦  
利, 市 隆人<sup>\*1</sup>, 小竹欣之輔<sup>\*1</sup>, 野口博司<sup>\*2</sup>, 三川  
潮<sup>\*2</sup>：紅麴変異株由来の新規天然色素の構造と生合  
成

第33回天然有機化合物討論会 (1991.10)

<sup>\*1</sup> 三栄化学工業(株)

<sup>\*2</sup> 東京大学薬学部

合田幸広, 佐藤恭子, 米谷民雄, 武田明治, 義平邦  
利, 伊藤澄夫<sup>\*</sup>, 細貝猛<sup>\*</sup>, 桜井裕之<sup>\*</sup>, 多田義彦<sup>\*</sup>：  
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 その2

日本食品衛生学会第62回学術講演会 (1991.10)

<sup>\*</sup> 横浜検疫所

佐藤恭子, 合田幸広, 堀奈津子, 米谷民雄, 武田明  
治：光照射によるキサントン色素からのハロゲンの  
遊離

日本食品衛生学会第 62 回学術講演会 (1991. 10)

合田幸広, 武田明治, Marnett. L. J.\* : 尿中のマロ  
ンジアルデヒド-グアニン付加物の検出

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\* Vanderbilt University

米谷民雄, 久保田浩樹, 堀奈津子, 武田明治, 義平  
邦利 : 有機酸共存下におけるアルミニウムの血清中  
存在状態と臓器分布との関連

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

合田幸広, 米谷民雄, 武田明治, 高木洋子\*, 野口  
博司\*, 三川 潮\* : ビキシン (Bixin) の構造につ  
いて

日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1992. 5)

\* 東京大学薬学部

坂元史歩, 佐藤恭子, 岩上 敏, 合田幸広, 米谷民  
雄, 武田明治, 義平邦利, 斉藤 力\*, 鎌田 博\* :  
西洋ワサビ毛状根中の辛味成分について

日本食品衛生学会第 62 回学術講演会 (1991. 10)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

坂元史歩, 佐藤恭子, 岩上 敏, 合田幸広, 米谷民  
雄, 武田明治, 義平邦利, 斉藤 力\*, 鎌田 博\* :  
西洋ワサビ毛状根中の辛味成分について (2)

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\* 筑波大学遺伝子実験センター

石綿 肇, 杉田たき子, 武田明治 : メラミンの衛生  
化学的研究 VII メラミン樹脂製食器の長期使用に  
よる溶出モノマーの変動

日本食品衛生学会第 62 回学術講演会 (1991. 10)

辰濃 隆\*<sup>1</sup>, 石綿 肇, 大出 譲\*<sup>2</sup>, 風間成孔\*<sup>3</sup>,  
河村太郎\*<sup>4</sup>, 小松美博\*<sup>5</sup>, 高橋 明\*<sup>6</sup>, 中村好志\*<sup>7</sup>,  
中澤裕之\*<sup>8</sup>, 西村正美\*<sup>9</sup>, 馬場二夫\*<sup>10</sup>, 横山理  
雄\*<sup>11</sup> : ICP 発光分光分析法による金属の定量

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\*<sup>1</sup> 日本食品衛生協会

\*<sup>2</sup> 高分子素材センター

\*<sup>3</sup> 東京都衛生研究所

\*<sup>4</sup> 鎌倉女子大学

\*<sup>5</sup> 東洋食品研究所

\*<sup>6</sup> 鈴木ゴム

\*<sup>7</sup> 静岡県立大学

\*<sup>8</sup> 国立公衆衛生院

\*<sup>9</sup> 日本食品分析センター

\*<sup>10</sup> 大阪市環境科学研究所

\*<sup>11</sup> 呉羽化学食品研究所

辰濃 隆\*<sup>1</sup>, 石綿 肇, 大出 譲\*<sup>2</sup>, 風間成孔\*<sup>3</sup>,  
河村太郎\*<sup>4</sup>, 小松美博\*<sup>5</sup>, 高橋 明\*<sup>6</sup>, 中村好志\*<sup>7</sup>,  
中澤裕之\*<sup>8</sup>, 西村正美\*<sup>9</sup>, 馬場二夫\*<sup>10</sup>, 横山理  
雄\*<sup>11</sup>, 飯田 弘\*<sup>12</sup> : ヘッドスペース法およびガス  
クロマトグラフィーによる材質中のアクリロニリ  
ルおよび塩化ビニルの定量

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\*<sup>1</sup> 日本食品衛生協会

\*<sup>2</sup> 高分子素材センター

\*<sup>3</sup> 東京都衛生研究所

\*<sup>4</sup> 鎌倉女子大学

\*<sup>5</sup> 東洋食品研究所

\*<sup>6</sup> 鈴木ゴム

\*<sup>7</sup> 静岡県立大学

\*<sup>8</sup> 国立公衆衛生院

\*<sup>9</sup> 日本食品分析センター

\*<sup>10</sup> 大阪市環境科学研究所

\*<sup>11</sup> 呉羽化学食品研究所

\*<sup>12</sup> 吉野工業所

辰濃 隆\*<sup>1</sup>, 石綿 肇, 大出 譲\*<sup>2</sup>, 風間成孔\*<sup>3</sup>,  
河村太郎\*<sup>4</sup>, 小松美博\*<sup>5</sup>, 高橋 明\*<sup>6</sup>, 中村好志\*<sup>7</sup>,  
中澤裕之\*<sup>8</sup>, 西村正美\*<sup>9</sup>, 馬場二夫\*<sup>10</sup>, 横山理  
雄\*<sup>11</sup> : 高速液体クロマトグラフィーによるフェノ  
ール系酸化防止剤の定量

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\*<sup>1</sup> 日本食品衛生協会

\*<sup>2</sup> 高分子素材センター

\*<sup>3</sup> 東京都衛生研究所

\*<sup>4</sup> 鎌倉女子大学

\*<sup>5</sup> 東洋食品研究所

\*<sup>6</sup> 鈴木ゴム

\*<sup>7</sup> 静岡県立大学

\*<sup>8</sup> 国立公衆衛生院

\*<sup>9</sup> 日本食品分析センター

\*<sup>10</sup> 大阪市環境科学研究所

\*<sup>11</sup> 呉羽化学食品研究所

辰濃 隆\*<sup>1</sup>, 石綿 肇, 大出 譲\*<sup>2</sup>, 風間成孔\*<sup>3</sup>,  
河村太郎\*<sup>4</sup>, 小松美博\*<sup>5</sup>, 高橋 明\*<sup>6</sup>, 中村好志\*<sup>7</sup>,  
中澤裕之\*<sup>8</sup>, 西村正美\*<sup>9</sup>, 馬場二夫\*<sup>10</sup>, 横山理  
雄\*<sup>11</sup> : 有機溶剤のキャピラリーガスクロマトグラ

フィーによる定性および定量

日本薬学会第112年会 (1992.3)

- \*1 日本食品衛生協会
- \*2 高分子素材センター
- \*3 東京都衛生研究所
- \*4 鎌倉女子大学
- \*5 東洋食品研究所
- \*6 鈴木ゴム
- \*7 静岡県立大学
- \*8 国立公衆衛生院
- \*9 日本食品分析センター
- \*10 大阪市環境科学研究所
- \*11 呉羽化学食品研究所

石綿 肇：日本食品衛生法的摘要紹介（日本食品衛生法の紹介）

第4回河北省衛生検験学術交流会 (1992.4)

石綿 肇：関于塑料单体，尤其是 melamine 的研究（プラスチックモノマー，特にメラミンについて）  
第4回河北省衛生検験学術交流会 (1992.4)

石綿 肇：日本食品衛生法的摘要紹介（日本食品衛生法の紹介）

中国衛生防疫保健単位衛生検験学術交流会(1992.5)

石綿 肇：関于塑料单体，尤其是 melamine 的研究（プラスチックモノマー，特にメラミンについて）  
中国衛生防疫保健単位衛生検験学術交流会(1992.5)

堀川和美\*，世良暢之\*，村上光一\*，常盤 寛\*，福原 潔，宮田直樹：ニトロベンツ[a]ピレンの化学構造と変異原作用との関連性および発がん性  
第50回日本癌学会総会 (1991.9)

\* 福岡県保健環境研究所

坂井和男\*1，内野 正，山根靖弘\*1，飯郷政明\*2：白金錯体投与のマウス体内動態と必須金属分布への影響

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

- \*1 千葉大学薬学部
- \*2 国立がんセンター

Tanno, M., Sueyoshi, S., Miyata, N. and Umehara, K.\*: Transnitrosation of *N*-nitroso compounds under non-acidic conditions

International Meeting on *N*-Nitroso Compounds: Biological Mechanisms, Exposures and Cancer Etiology, Kona, Hawaii (1991.10)

\* University of Shizuoka

福原 潔，世良暢之\*，常盤 寛\*，宮田直樹：1-および3-ニトロ-6-アザベンツ[a]ピレンの合成と変異原性の化学的解析

日本環境変異原学会第20回大会 (1991.11)

\* 福岡県保健環境研究所

大森清美\*，福原 潔，岩田修永，堀口佳哉\*，渡辺重信\*，高橋 惇，宮田直樹：モノ，ジ，トリニトロナフタレン類の変異原性とニトロ還元性

日本環境変異原学会第20回大会 (1991.11)

\* 神奈川県衛生研究所

世良暢之\*，福原 潔，宮田直樹，堀川和美\*，田島静\*，村上光一\*，常盤 寛\*：1,6-および3,6-ジニトロベンツ[a]ピレンおよび関連化合物の変異原性  
日本環境変異原学会第20回大会 (1991.11)

\* 福岡県保健環境研究所

Fukuhara, K., Hara, Y. and Miyata, N.: Electron transfer from quinone or nitroarene to molecular oxygen

5th International Congress on Oxygen Radicals, Japan (1991.11)

末吉祥子，内野 正，丹野雅幸，宮田直樹：ポリフェリノキシセノイドによるクロロフェノール類の酸化

日本薬学会第112年会 (1992.3)

丹野雅幸，末吉祥子，宮田直樹，梅原 薫\*：一酸化窒素を遊離する *N*-ニトロ化合物のトランスニトロ化

日本薬学会第112年会 (1992.3)

\* 静岡県立大学薬学部

宮田直樹，伊東幸子，栗原正明：ケトン-KHSO<sub>5</sub>系によるオレフィンの立体選択的エポキシ化

日本薬学会第112年会 (1992.3)

福原 潔，影山晴秋，武居美奈，宮田直樹：ニトロ

アレーンの化学 (第6報) ニトロフェナンスレン類  
の合成と還元特性

日本薬学会第112年会 (1992.3)

福原 潔, 原 幸江, 宮田直樹: ニトロアレーンの  
化学(第7報)  $KO_2$  によるニトロアレーン類の酸化

日本薬学会第112年会 (1992.3)

木谷誠一<sup>\*1</sup>, 手島玲子, 森田 寛<sup>\*1</sup>, 伊藤幸治<sup>\*1</sup>,  
松田 譲<sup>\*2</sup>, 野々村禎昭<sup>\*3</sup>: ミオシン軽鎖キナーゼ  
インヒビターによる RBL-2H3 細胞からのヒスタ  
ミン遊離の抑制

日本薬理学会関東部会 (1991.6)

<sup>\*1</sup> 東大病院物療内科

<sup>\*2</sup> 協和発酵東京研

<sup>\*3</sup> 東大医学部

斎藤嘉朗, 山崎 壯, 鈴木和博, 池淵秀治, 沢田純  
一, 寺尾允男: 抗成長ホルモン受容体モノクローナ  
ル抗体の調製とその性質

日本生化学会第64回大会 (1991.10)

手島玲子, 関田節子, 池淵秀治, 沢田純一, 寺尾允  
男: 好塩基球細胞膜蛋白質リン酸化反応に及ぼす各  
種サイトカラシン類の影響

日本生化学会第64回大会 (1991.10)

Ikebuchi, H., Teshima, R., Tanaka, T., Sawada,  
J., Kamimura, H.\*, Ichinoe, M. and Terao, T.:  
Indirect enzyme-linked immunosorbent assay  
for mycotoxine zearalenone.

The 7th international symposium on toxicmicroo-  
rganisms, Tokyo, Japan (1991.11)

\* 東京都立衛生研究所

菊池 裕, 入江昌親<sup>\*1</sup>, 笠原 忠<sup>\*2</sup>, 沢田純一, 寺  
尾允男: ヒトアストロサイトーマ細胞株における  
IL-1 および重金属によるメタロチオネインの誘導

日本免疫学会第21回学術集会 (1991.11)

<sup>\*1</sup> 星薬科大学

<sup>\*2</sup> 自治医科大学

石上暁子, 山崎 壯, 沢田純一, 寺尾允男: オピオ  
イド結合タンパク (OBCAM) に対するモノクロー  
ナル抗体の調製とその性質

日本薬学会第112年会 (1992.3)

手島玲子, 池淵秀治, 沢田純一, 寺尾允男, 中西  
守\*: 好塩基球細胞からの脱顆粒反応に及ぼすハー  
ビマイシンの効果

日本薬学会第112年会 (1992.3)

\* 名古屋市立大学薬学部

手島玲子, 斎藤嘉郎, 池淵秀治, 沢田純一, 寺尾允  
男, 一戸正勝: *Aspergillus fumigatus* アレルゲ  
ンの単離と性質について

日本薬学会第112年会 (1992.3)

岩田修永, 嶺岸謙一郎, 鈴木和博, 大野泰雄, 川西  
徹, 高橋 惇, 五十嵐隆\*, 佐藤哲男\*: ムスクキシ  
レンによる肝薬物代謝酵素の誘導

第65回日本薬理学会総会 (1992.3)

\* 千葉大学薬学部

鈴木和博, 押澤 正, 山口照英, 高橋 惇: HL-  
60 細胞の活性酸素産生に対するオカダ酸の効果に  
ついて

日本薬学会第112年会 (1992.3)

高橋昭江, 嶺岸謙一郎, 高橋 惇: プテルベンジル  
フタレートのアット肝臓酵素による加水分解につ  
いて

日本薬学会第112年会 (1992.3)

Kurebayashi, H., Miyata, N. and Takahashi, A.:  
One-electron reduction of quinones of BHA and  
OPP by flavoenzymes

3rd International ISSX Meeting, the Netherlands  
(1991.6)

紅林秀雄, 内野 正, 末吉祥子, 宮田直樹, 高橋  
惇: クロロキノン類およびそのハイドロキノン体の  
活性酸素発生能と酸化還元特性

日本薬学会第112年会 (1992.3)

最上(西巻)知子, Lilian B. M. Tijburg\*, Dennis E.  
Vance\*: 基質レベルによる肝細胞ホスファチル  
コリン分解の制御

日本脂質生化学研究会 (1991.7)

\* University of Alberta

一色恭徳\*, 近藤誠一\*, 齋島由二, 久恒和仁\*: O1  
コレラ菌 O 抗原構造に関する ABC concept に対する  
化学的アプローチ

第 65 回日本細菌学会関東支部総会 (1991. 6)

\* 城西大学薬学部

一色恭徳\*, 齋島由二, 近藤誠一\*, 久恒和仁\*: O1  
コレラ菌 O 抗原のグループ抗原因子 A およびイナ  
バ抗原因子 C の化学と免疫化学

第 38 回毒素シンポジウム (1991. 7)

\* 城西大学薬学部

Hisatsune, K.\*, Isshiki, Y.\*, Haishima, Y. and  
Kondo, S.\*: Immunochemistry of O-antigen of  
O1 *Vibrio cholerae*

The 1st Japan-Korea International Congress of  
Microbiology (1991. 10)

\* 城西大学薬学部

久恒和仁\*, 一色恭徳\*, 齋島由二, 近藤誠一\*:  
O1 *Vibrio cholerae* O 抗原を構成するグループ抗  
原因子 A およびイナバ抗原因子 C の化学的実体の  
解明

第 25 回腸炎ビブリオシンポジウム (1991. 11)

\* 城西大学薬学部

棚元憲一, 齋島由二: 化学修飾リピド A による内  
毒素マイトジェン活性抑制作用

第 65 回日本細菌学会総会 (1992. 3)

細瀨和成\*<sup>1</sup>, 棚元憲一, 齋島由二, 三瀬勝利, 黒岩  
隆広\*<sup>2</sup>, 佐藤健二\*<sup>3</sup>, 畠山晃毅\*<sup>4</sup>, 羽生 高\*<sup>5</sup>, 古  
谷辰雄\*<sup>6</sup>, 山本芳子\*<sup>7</sup>, 石関忠一\*<sup>8</sup>: 我が国におけ  
るバイオロジカル・インジケータの使用状況に関す  
る調査

第 19 回日本防菌防微学会 (1992. 5)

\*<sup>1</sup> 都立アイソトープ総合研究所

\*<sup>2</sup> 川澄化学工業(株)

\*<sup>3</sup> アトム(株)

\*<sup>4</sup> (株)ニッショー

\*<sup>5</sup> 日機装(株)

\*<sup>6</sup> ジョンソン・エンド・ジョンソン(株)

\*<sup>7</sup> スリーエム薬品(株)

\*<sup>8</sup> 横浜国立大学工学部

佐藤昭子\*<sup>1</sup>, 寺尾通徳\*<sup>2</sup>, 石橋美也子\*<sup>2</sup>, 小島満子,

藤原みち子: ニンニク抽出液の腐敗酵母に及ぼす抗  
菌作用

食品微生物学会第 12 回学術総会 (1991. 11)

\*<sup>1</sup> 県立新潟女子短期大学

\*<sup>2</sup> 新潟県衛生公害研究所

小島満子, 藤原みち子, 外海泰秀, 津村ゆかり, 伊  
藤譽志男, 寺尾通徳\*<sup>1</sup>, 石橋美也子\*<sup>1</sup>, 佐藤昭  
子\*<sup>2</sup>: 魚介類から分離したステレン生成酵母につい  
て

日本食品衛生学会総会・第 64 回学術講演会 (1992. 5)

\*<sup>1</sup> 新潟県衛生公害研究所

\*<sup>2</sup> 県立新潟女子短期大学

佐藤昭子\*<sup>1</sup>, 寺尾通徳\*<sup>2</sup>, 石橋美也子\*<sup>2</sup>, 小島満子,  
藤原みち子, 外海泰秀, 津村ゆかり, 伊藤譽志男:  
ニンニク抽出液のステレン生成酵母に及ぼす抗菌作  
用

日本食品衛生学会総会・第 64 回学術講演会 (1992.  
5)

\*<sup>1</sup> 県立新潟女子短期大学

\*<sup>2</sup> 新潟県衛生公害研究所

茂木真由美\*, 鈴木 昭\*, 宮原美知子, 三瀬勝利:  
食中毒起因細菌の制限酵素の特徴

日本食品衛生学会第 60 回学術講演会 (1990. 9)

\* 北里大学衛生学部

宮原美知子, 三瀬勝利: 腸炎ビブリオから産生され  
る制限酵素について

第 14 回日本分子生物学会 (1991. 12)

宮原美知子, 島田俊雄\*, 三瀬勝利: *Vibrio cho-*  
*lerae* non O1 の産する制限酵素

第 65 回日本細菌学会総会 (1992. 3)

\* 国立予防衛生研究所

丹野憲二\*<sup>1</sup>, 鈴木昌二\*<sup>1</sup>, 小沼博隆: 納豆中の生菌  
数測定について

食品微生物学会第 12 回学術講演会 (1991. 11)

\*<sup>1</sup> 日本食品分析センター

森 健\*<sup>1</sup>, 仁科徳啓\*<sup>2</sup>, 徳丸雅一\*<sup>3</sup>, 小沼博隆,  
品川邦汎\*<sup>4</sup>: 食鳥肉の衛生・品質管理における K 値  
食品微生物学会第 12 回学術講演会 (1991. 11)



- \*1 静岡県衛生環境センター
- \*2 静岡県東部食肉衛生検査所
- \*3 埼玉県立衛生研究所
- \*4 岩手大学農学部

上田成子\*1, 桑原祥浩\*1, 安形則雄\*2, 徳丸雅一\*3,  
小沼博隆, 品川邦汎\*4: **食品中の *Bacillus thuringiensis* の農薬との関連性 (1) 血清型からみた  
関連性**

食品微生物学会第12回学術講演会 (1991.11)

- \*1 女子栄養大学栄養学部
- \*2 名古屋市立衛生研究所
- \*3 埼玉県立衛生研究所
- \*4 岩手大学農学部

安形則雄\*1, 上田成子\*2, 桑原祥浩\*2, 徳丸雅一\*3,  
小沼博隆, 品川邦汎\*4: **食品中の *Bacillus thuringiensis* の農薬との関連性 (2) プラスミッド  
DNA からみた関連性**

食品微生物学会第12回学術講演会 (1991.11)

- \*1 名古屋市立衛生研究所
- \*2 女子栄養大学栄養学部
- \*3 埼玉県立衛生研究所
- \*4 岩手大学農学部

後藤吉吉\*1, 梅木久一\*2, 徳丸雅一\*3, 仁科徳啓\*4,  
渡邊昭宣\*5, 小沼博隆, 品川邦汎\*6, 勝部泰次\*7:  
**食鳥処理工程の微生物学的衛生管理マニュアル作成に  
関する調査研究 (1) 処理工程別の屠鳥および処理  
水の微生物汚染について**

日本獣医公衆衛生学会平成3年度学術講演会  
(1992.2)

- \*1 新潟県衛生公害研究所
- \*2 岩手県衛生研究所
- \*3 埼玉県立衛生研究所
- \*4 静岡県東部食肉衛生検査所
- \*5 埼玉国際短期大学
- \*6 岩手大学農学部
- \*7 日本大学農獣医学部

後藤吉吉\*1, 梅木久一\*2, 徳丸雅一\*3, 仁科徳啓\*4,  
渡邊昭宣\*5, 小沼博隆, 品川邦汎\*6, 勝部泰次\*7:  
**食鳥処理工程の微生物学的衛生管理マニュアル作成に  
関する調査研究 (2) 処理工程終了後ならびに洗浄  
後の微生物汚染状況**

日本獣医公衆衛生学会平成3年度学術講演会

(1992.2)

- \*1 岩手県衛生研究所
- \*2 新潟県衛生公害研究所
- \*3 埼玉県立衛生研究所
- \*4 静岡県東部食肉衛生検査所
- \*5 埼玉国際短期大学
- \*6 岩手大学農学部
- \*7 日本大学農獣医学部

酒井綾子, 宮田直樹, 高橋 惇: **キノン化合物の培  
養細胞トランスフォーメーションに対するイニシエ  
ーション作用**

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

一戸正勝, 鈴木明子, 成田紀子, 杉浦義紹\*1, 陶山  
一雄\*2: **土壌試料からの *Fusarium* の選択的分離  
について**

平成4年度日本植物病理学会大会 (1992.5)

- \*1 東京理科大学薬学部
- \*2 東京農業大学農学部

一戸正勝: **マイコトキシンとカビ**

第19回日本防菌防霉学会大会パネルディスカッ  
ション (1992.5)

中田琴子, 神沼二真: **Zinc Finger 型 DNA 結合蛋  
白質の配列解析**

第14回日本分子生物学会年会 (1991.12)

五十嵐貴子, 渡辺雅彦, 能美健彦, 祖父尼俊雄, 神  
沼二真: ***Salmonella typhimurium* 由来 O-アセ  
チル転移酵素の精製と性質**

第64回日本生化学会大会 (1991.10)

関沢 純, 五十嵐貴子, 神沼二真: **複数の発がんブ  
ロモーターによるリスク評価の試み**

日本リスク研究学会第4回研究発表会論文集  
(1991.11)

SEKIZAWA, J.: **Health risk assessment/Mana-  
gement of pesticides: Principles and methodolo-  
gies**

Workshop on Risk Assessment and Risk Manage-  
ment of Toxic Chemicals, Japan (1992.2)

SEKIZAWA, J.: **Pesticide regulations in Japan**

**and risk assessment on pesticides**

Workshop on The Role of Science and pesticide management, sweden (1992.5)

Momma, J., Spalding, J. W.\* , Tennant, R. W.\* and Elwell, M. R.\*: **Comparative Tumor Promotor Induced Papillomas in Transgenic Mice Carrying Activated v-Ha-ras Oncogene**

82nd American Association for Cancer Research, Houston, USA (1991.5)

\* National Institute of Environmental Health Sciences, USA

鶴沢耕二\*<sup>1</sup>, 田中まゆみ\*<sup>1</sup>, 杉浦彰彦\*<sup>1</sup>, 村上 治, 落合敏秋, 松本清司\*<sup>2</sup>: **コモンマームセットの飼育・繁殖経験**

第25回日本実験動物技術者協会総会 (1991.6)

\*<sup>1</sup> 三協ラボサービス(株)

\*<sup>2</sup> 信州大学医学部

小川幸男, 鈴木幸子, 内藤克司, 斉藤 実, 鎌田栄一, 広瀬明彦, 金子豊蔵, 黒川雄二: **ランタンおよびイットリウムラットにおける28日間反復投与毒性試験について**

第18回日本毒科学会総会 (1991.7)

廣瀬明彦, 高田孝一, 斉藤 実, 小川幸男, 鈴木幸子, 金子豊蔵, 黒川雄二: **5フッ化プロパノールのラットにおける28日間反復投与毒性試験について**

第18回日本毒科学会総会 (1991.7)

高木篤也, 佐井君江, 門馬純子, 会田喜崇, 高田幸一, 内藤克司, 中路幸男, 黒川雄二: **2,2'-メチレンビス(4-メチル-6-tert-ブチルフェノール)のラットにおける急性および亜慢性毒性試験**

第18回日本毒科学会総会 (1991.7)

田中 悟: **制癌剤の発生毒性**

第18回日本毒科学会・シンポジウム (1991.7)

田中 悟, 川島邦夫, 内藤克司, 中路幸男, 高橋道人, 今井田克己, 宇佐見誠, 内田雄幸, 鎌田栄一, 児玉幸夫, 高田幸一, 安原加寿雄, 斉藤 実, 梅村隆志, 小野寺博志, 古川文夫, 古田京子, 松島裕子, 豊田和弘, 今沢孝喜, 高仲 正, 黒川雄二, 林 裕

造, 戸部満寿夫: **OECD反復投与毒性および生殖発生毒性併合試験法(ReproTox)-シクロホスファミドを用いた検討-**

第18回日本毒科学会・シンポジウム (1991.7)

小川幸男, 鈴木幸子, 千葉百子\*: **希土類元素の強制経口投与による胃組織中の元素に及ぼす影響**

第2回日本微量元素学会 (1991.7)

\* 順天堂大学医学部

鈴木幸子, 小川幸男, 岸 洋子\*<sup>1</sup>, 千葉百子\*<sup>2</sup>: **希土類元素の強制経口投与によるラット大腿骨の元素に及ぼす影響**

第2回日本微量元素学会 (1991.7)

\*<sup>1</sup> 横河電機(株)

\*<sup>2</sup> 順天堂大学医学部

岸 洋子\*, 鈴木幸子: **ICP-MSによる希土類元素の分析**

第2回日本微量元素学会 (1991.7)

\* 横河電機(株)

津田充宥, 倉島由紀子\*<sup>1</sup>, 小坂博昭\*<sup>2</sup>, 大島寛史\*<sup>1</sup>, 杉村 隆\*<sup>1</sup>, 江角浩安\*<sup>1</sup>: **炎症に伴う反応性窒素酸化物の生成と体内ニトロソ化について**

日本癌学会第50回総会 (1991.9)

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

\*<sup>2</sup> 大阪大学医学部

津金昌一郎\*, 津田充宥, 倉島由紀子\*, 渡辺昌\*: **胃がんの多要因発がん機構に対する横断的疫学研究-ニトロソ化合物および食塩**

日本癌学会第50回総会 (1991.9)

\* 国立がんセンター研究所

小口しのぶ\*<sup>1</sup>, 大島寛史\*<sup>1</sup>, 足達博子\*<sup>1</sup>, 倉島由紀子\*<sup>1</sup>, 小倉 勤\*<sup>1</sup>, 津田充宥, 森下芳行\*<sup>2</sup>, 杉村隆\*<sup>1</sup>, 江角浩安\*<sup>1</sup>: **Propionibacterium acnesとLPS投与によるラット肝障害の誘導と肝臓NO合成酵素の誘導**

日本癌学会第50回総会 (1991.9)

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

\*<sup>2</sup> 国立予防衛生研究所

高木篤也, 佐井君江, 梅村隆志, 長谷川隆一, 金子

豊蔵, 黒川雄二: トリクロロエチレン, テトラクロロエチレン, CCl<sub>4</sub> 投与ラット肝 DNA 中の 8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OH-dG) の生成

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

佐井君江, 高木篤也, 梅村隆志, 長谷川隆一, 金子豊蔵, 黒川雄二: 臭素酸カリウムによるラット腎 8-ヒドロキシデオキシグアノシン生成機構の検討

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

長谷川隆一, 佐井君江, 高木篤也, 梅村隆志, 金子豊蔵, 黒川雄二: 加齢に伴う臓器 DNA の酸化的傷害

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

Tsugane, S.\*<sup>1</sup>, Tsuda, M., Gey, F.\*<sup>2</sup> and Watanabe, S.\*<sup>1</sup>: **Cross-sectional study with multiple biological marker measurements for assessing the stomach cancer risks at the population level**

Biomonitoring and Susceptibility Markers in Human Cancer: Molecular Epidemiology and Risk Assessment, USA (1991. 10)

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

\*<sup>2</sup> University of Bern, Germany

Tsuda, M., Kurashima, Y.\*<sup>1</sup>, Kosaka, H.\*<sup>2</sup>, Ohshima, H.\*<sup>1</sup>, Sugimura, T.\*<sup>1</sup> and Esumi, H.\*<sup>1</sup>: **Increased formation of nitrate and N-nitrosothiazolidine-4-carboxylic acid by i.p. administration of E. coli lipopolysaccharide and thiazolidine-4-carboxylic acid in the ODS rat, a mutant unable to biosynthesize ascorbic acid**

Nitroso Compounds: Biological mechanisms, Exposures and Cancer Etiology, USA (1991. 11)

\*<sup>1</sup> 国立がんセンター研究所

\*<sup>2</sup> 大阪大学医学部

Ohsima, H.\*, Tsuda, M., Oguchi, S.\*, Brouet, I.\*, Iida, S.\*, Adachi, H.\*, Ogura, T.\*, Kurashima, Y.\*, Sugimura, T.\* and Esumi, H.\*: **Nitrosamine formation by the cytosol of activated macrophages: Induction, cofactors and reaction kinetics**

Nitroso Compounds: Biological Mechanisms, Exposures and Cancer Etiology, USA (1991. 11)

\* 国立がんセンター研究所

黒川雄二: 発がん性試験実施の立場から,

第 20 回日本環境変異原学会分科会・研究会, 第 1 回非変異・がん原性物質への対策研究会 (1991. 11)

高木篤也: 肝, 腎における酸化的 DNA 傷害の検索結果

第 20 回日本環境変異原学会分科会・研究会, 第 1 回非変異・がん原性物質への対策研究会 (1991. 11)

佐井君江, 林 真, 高木篤也, 長谷川隆一, 祖父尼俊雄, 黒川雄二: ラット末梢血を用いる臭素酸カリウムの小核試験~抗酸化剤による影響~

第 20 回日本環境変異原学会 (1991. 11)

Sai, K., Uchiyama, S., Ohno, Y., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Generation of active oxygen species in vitro by the interaction of potassium bromate with rat kidney**

5th International Congress on Oxygen Radicals, Kyoto (1991. 11)

Hasegawa, R., Sai, K., Takagi, A., Umemura, T. and Kurokawa, Y.: **Study on 8-hydroxydeoxyguanosine formation in rat kidney DNA after potassium bromate administration**

5th International Congress on Oxygen Radicals, Kyoto (1991. 11)

梅村隆志, 佐井君江, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二: 鉄ニトリロトリアセテート投与により生じる酸化的ストレスに及ぼすグルタチオンおよびシステインの影響

第 8 回日本毒性病理学会総会 (1992. 1)

川崎 靖: ポリウレタンのラット皮下への長期間埋植による組織反応

ヒューマンサイエンス基礎研究事業平成 3 年度官民共同プロジェクト研究成果シンポジウム (1992. 1)

Umemura, T., Tokumo, K.\*<sup>1</sup> and Williams, G. M.\*<sup>2</sup>: **Cell proliferation induced in the kidneys and livers of rats and mice by short term expo-**

**sure to the cercinogenp-dichlorobenzene**

First Conference of International Federation of Societies of Toxicologic Pathologists, USA (1992.4)

\*1 広島大学医学部

\*2 American Health Foundation, USA

小川幸男, 鈴木幸子, 金子豊蔵, 千葉百子\*: ユーロピウムおよびガドリニウムの生体影響

第62回日本衛生学会総会 (1992.4)

\* 順天堂大学医学部

井上雅子\*1, 谷村保明\*1, 松本清司\*2, 蟹沢幸一\*3, 斎藤敬司\*3, 落合敏秋, 降矢 強: 自動血球分類装置 (MICROX) を用いたラットおよびイヌ骨髓細胞の自動分類 (第2報)

第39回日本実験動物学会 (1992.5)

\*1 オムロン・ライフサイエンス研究所

\*2 信州大学医学部

\*3 CSK リサーチパーク

須藤カツ子\*1, 伊藤喜久治\*2, 岩田寿雄\*3, 渋谷政治\*4, 矢鍋 誠\*4, 成田輝夫\*5, 落合敏秋: モルモット用飼料の開発

第39回日本実験動物学会 (1992.5)

\*1 東京大学医科学研究所

\*2 東京大学農学部

\*3 オリエンタル酵母

\*4 日本エスエルシー

\*5 三共

福原守雄\*1, 山添 康\*2, 高仲 正, 加藤隆一\*2: アフラトキシン B<sub>1</sub> に高い活性をもつハムスターチトクローム P-450 の特性と構造

第48回日本癌学会総会 (1989.10)

\*1 国立公衆衛生院

\*2 慶応義塾大学医学部

福原守雄\*1, 永田 清\*2, 山添 康\*2, 高仲 正, 加藤隆一\*2: ハムスター肝チトクローム P-450<sub>AFB</sub> の cDNA クローニングについて

第62回日本生化学大会 (1989.11)

\*1 国立公衆衛生院

\*2 慶応義塾大学医学部

田口 琢\*, 三宅慶子\*, 田野中浩一\*, 岡田真奈美\*,

堀口智子\*, 高木教夫\*, 藤森観之助, 竹尾 聡\*: マイクロスフェア誘発脳虚血後の局所脳のアセチルコリンおよびアミノ酸の経時変化

第64回日本薬理学会総会 (1991.6)

\* 東京薬科大学

篠内桃子, 福原守雄\*, 川西 徹, 郭 新彪, 大野泰雄, 高仲 正: 肝薬物代謝酵素による 2-および 3-chlorodibenzofuran の代謝活性化

第18回日本毒科学会学術年会 (1991.7)

\* 国立公衆衛生院

郭 新彪, 大野泰雄, 川西 徹, 篠内桃子, 高仲正: 初代培養肝細胞における 2-および 3-monochlorodibenzofuran (MCDF) の薬物代謝誘導能の TCDD との比較

第18回日本毒科学会学術年会 (1991.7)

大野泰雄, 広田晃一, 郭 新彪: 「組織培養法を応用した臓器毒性の新しい評価法の現状と将来」 3. 肝臓毒性

第18回日本毒科学会学術年会ワークショップ (1991.7)

宇佐見誠, 川島邦夫, 高仲 正: 2-chlorodibenzofuran および 3-chlorodibenzofuran のラット培養胎芽の発生に及ぼす影響

第18回日本毒科学会学術年会 (1991.7)

川島邦夫: 「毒性評価のための多面的アプローチ」 3. 近年提唱されている生殖・発生毒性の新しい試験法の基盤

第18回日本毒科学会学術年会ワークショップ (1991.7)

二宮博徳\*1, 岸田孝一\*1, 大野泰雄, 江藤一洋\*2: ウサギにおける全胚培養法の検討

第31回日本先天異常学会 (1991.7)

\*1 日本新薬(株)中央研究所

\*2 東京医科歯科大学歯学部

井上和秀, 中沢憲一, 綿野智一, 藤森観之助, 高仲正: ATP 受容体刺激によるドーパミン放出と膜電位依存性 Ca チャネル抑制

第34回日本神経化学学会大会 (1991.10)

高島明彦\*<sup>1</sup>, 井上和秀, Kenimer, J. G.\*<sup>2</sup>: PC12 細胞におけるムスカリン受容体を介したノルアドレナリン放出と PI 代謝

第 34 回日本神経化学学会大会 (1991. 10)

\*<sup>1</sup> 三菱化成生命科学研究所

\*<sup>2</sup> 米国 FDA

宮島敦子, 多田周右\*, 宇井理生\*: インスリンによる Gi 蛋白質の ADP-リボシル化の抑制

第 64 回日本生化学学会大会 (1991. 10)

\* 東京大学薬学部

Inoue, K., Nakazawa, K., Watano, T., Fujimori, K. and Takanaka, A.: Response to extra cellular ATP in cultured rat hippocampal neurons

Society for Neuroscience, USA (1991. 11)

郭 新彪, 大野泰雄, 川西 徹, 篠内桃子, 高仲正: The essential role of selenium in the induction of P450c and P450d by methylcholanthrene in primary cultured rat hepatocytes

第 2 回日中合同薬理学会 (1991. 11)

大野泰雄, 郭 新彪: 培養肝細胞を用いた安全性試験法 (P-450 を指標とする安全性試験法)

第 5 回日本代替法学会ワークショップ (1991. 11)

小平輝朋\*, 太田智恵子\*, 園 明\*, 大野泰雄: 培養肝細胞を用いた安全性試験法 (細胞内脂質成分を指標にした脂肪肝成因)

第 5 回日本代替法学会ワークショップ (1991. 11)

\* 旭化成(株)ライフサイエンス総合研究所

Inoue, K.: A mechanism of ATP-stimulated catecholamine release from PC12 cells

Centre for Neuroscience Symposium, University College London, U. K. (1991. 12)

井上和秀, 片岡泰文\*, 高仲 正: 虚血性神経障害の防御—Ca 拮抗薬としての benzodiazepines

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

\* 長崎大学医学部

井上和秀, 中沢憲一, 綿野智一, 小浜とも子, 藤森観之助, 赤池紀扶\*, 高仲 正: ラット培養海馬細

胞での ATP によるグルタメイト放出

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

\* 東北大学医学部

原田伸透, 井上和秀, 藤森観之助, 高仲 正, 赤池紀扶\*: 急性単離した海馬 CA3 錐体細胞における代謝型グルタミン酸反応

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

\* 東北大学医学部

上野伸哉\*, 赤池紀扶\*, 原田伸透, 井上和秀: ラット孤束核単離神経細胞における ATP 惹起電流

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

\* 東北大学医学部

井上和秀, 中沢憲一, 藤森観之助, 赤池紀扶\*, 高仲 正: PC12 細胞での Ba 電流に対する diazepam の抑制作用

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

\* 東北大学医学部

井上和秀, 中沢憲一, 藤森観之助, 赤池紀扶\*, 高仲 正: PC12 細胞でのプリン受容体作働性内向き電流に対する ATP 受容体拮抗薬的作用

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

\* 東北大学医学部

綿野智一, 中沢憲一, 井上和秀, 小浜とも子, 森真弓\*, 藤森観之助, 高仲 正: 鈣鈣拘に含まれるアルカロイド・ヒルステインによるニコチン受容体を介するドパミン遊離に対する抑制効果

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

\* 昭和大学薬学部

大野泰雄, Khan, M. F., 郭 新彪, 篠内桃子, 宮島敦子, 高仲 正: Tetrakis- $\mu$ -3, 5-diisopropylsalicylatodiaquodicopper (II) (CuDIPS) のラット遊離肝細胞の GSH に及ぼす影響

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

郭 新彪, 村木久美子, 大野泰雄, Khan, M. F., 宮島敦子, 篠内桃子, 高仲 正: 初代培養肝細胞における薬物代謝酵素活性に及ぼす有機スズの影響

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

簾内桃子, 宮島敦子, 郭 新彪, Khan, M. F., 大野泰雄, 高仲 正, 牛尾房雄\*<sup>1</sup>, 福原守雄\*<sup>2</sup>: スクス肝におけるテストステロンの代謝

日本薬学会第112年会 (1992.3)

\*<sup>1</sup> 東京都立衛生研究所

\*<sup>2</sup> 国立公衆衛生院

郭 新彪, 大野泰雄, 宮島敦子, 簾内桃子, 高仲正: 初代培養肝細胞間コミュニケーションに対する酸化ステロールの作用

日本薬学会第112年会 (1992.3)

坂元清志\*<sup>1</sup>, 馬場隆彦\*<sup>1</sup>, 愛甲聖子\*<sup>1</sup>, 中村 裕\*<sup>1</sup>, 高仲 正, 山添 康\*<sup>2</sup>, 加藤隆一\*<sup>2</sup>: II D 遺伝子ファミリーに属するイヌ肝 P-450 (P-450 UT-Dog-2) の精製

日本薬学会第112年会 (1992.3)

\*<sup>1</sup> 塩野義製薬(株)研究所

\*<sup>2</sup> 慶応義塾大学医学部

今井田克己, 立松正衛\*, 古川文夫, 高橋道人, 林裕造: ヒト肺癌組織における Pepsinogen の局在と組織型との関連性について

第80回日本病理学会総会 (1991.4)

\* 愛知がんセンター

奥村 中\*, 杉江茂幸\*, 西川秋佳, 加藤一夫\*, 森秀樹\*: Methylazoxymethanol(MAM)acetate 誘発ラット腸管発癌における benzyl thiocyanate (BTC) の修飾作用

第80回日本病理学会総会 (1991.4)

\* 岐阜大医学部

杉江茂幸\*, 奥村 中\*, 西川秋佳, 森 秀樹\*: Methylazoxymethanol(MAM)acetate 誘発ラット腸管発癌に及ぼす benzyl isothiocyanate (BIT) の抑制効果

第80回日本病理学会総会 (1991.4)

\* 岐阜大医学部

渋谷 淳, 桶田理喜\*: 成人にみられる glioma の実験モデルの作製

第32回日本神経病理学会 (1991.5)

\* 東京医歯大

古川文夫, 今沢孝喜, 高橋道人: ラット膵腺房細胞腫瘍およびハムスター膵管癌における Nucleolar Organizer Region (NOR) とその意義

日本膵臓学会第22回年次大会 (1991.8)

林 修次, 畝山智香子, 小笠原裕之, 佐藤秀隆, 古田京子, 今沢孝喜, 今井田克己: DHPN ラット肺腫瘍の  $\gamma$ -oryzanol による促進作用の用量相関性

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

佐藤秀隆, 小笠原裕之, 今井田克己, 林 修次, 畝山智香子, 古田京子, 林 裕造: フランおよび2-メチルフランの4NQO マウス肺腫瘍発生に対する影響

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

畝山智香子, 今井田克己, 小笠原裕之, 佐藤秀隆, 林 修次, 古田京子, 林 裕三: 高脂肪摂取によるマウス肺腫瘍発生の促進とそのアラキドン酸代謝阻害剤による修飾作用

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

小笠原裕之, 今井田克己, 古田京子, 佐藤秀隆, 林修次, 畝山智香子, 林 裕造: メラミンによるラット膀胱腫瘍の発生と結石形成

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

高橋道人, 古川文夫, 佐藤元信, 阿瀬善也, 豊田和弘, 長谷川亨\*: ラット胃2段階発がんモデルにおけるカフェインの影響

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

\* 佐賀医科大学

今井田克己, 古川文夫, 吉村博之, 三森国敏, 今沢孝喜, 高橋道人: BOP 投与によるラット肺扁平上皮癌の高率発生モデルの作成

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

今沢孝喜, 古川文夫, 佐藤元信, 吉村博之, 篠田和俊, 高橋道人: 実験胃癌二段階発癌モデルを用いた Hickory smoke condensate のプロモーター作用の検討

第50回日本癌学会総会 (1991.9)

佐藤元信, 古川文夫, 豊田和弘, 三森国敏, 高橋道

人, 林 裕造: 塩化第二鉄の F344 ラットを用いた  
癌原性試験

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

豊田和弘, 今井田克己, 小笠原裕之, 阿瀬善也, 高  
橋道人: Bisacodyl 投与によるラット膀胱の結石形  
成と腫瘍発生

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

吉村博之, 篠田和俊, 岡宮英明, 古川文夫, 佐藤元  
信, 今井田克己, 高橋道人: ハムスター BOP 誘発  
膀胱腫瘍および呼吸器腫瘍における喫煙の影響

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

篠田和俊, 古川文夫, 長谷川亨\*, 吉村博之, 豊田  
和弘, 今井田克己, 高橋道人: 種々の胃癌プロモ  
ーターによる胃粘膜脂質過酸化亢進とその生体指標と  
しての意義

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

\* 佐賀医科大学

古川文夫, 高橋道人, 佐藤元信, 篠田和俊, 三森国  
敏, 林 裕造: ハムスター BOP 誘発膀胱における  
経口避妊薬の影響

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

岡宮英明, 古川文夫, 佐藤元信, 豊田和弘, 今井田  
克己, 高橋道人: ラットにおける MNNG および  
MNU の同時投与による腫瘍発生への影響

第 50 回日本癌学会総会 (1991. 9)

三森国敏, 古川文夫, 小野寺博志, 岡宮英明, 今沢  
孝喜, 高橋道人: ハムスター BOP 誘発腎増殖巣に  
おける女性ホルモンの影響

第 50 回癌学会総会 (1991. 9)

吉田順一, 小野寺博志, 松島裕子, 渋谷 淳, 今井  
田克己, 三森国敏, 林 裕造: Retinol acetate に  
よる DEN 誘発ハムスター気道腫瘍発生の促進作用

第 50 回癌学会総会 (1991. 9)

渋谷 淳, 小野寺博志, 松島裕子, 吉田順一, 三森  
国敏, 前川昭彦\*, 林 裕造: ラット ENU 誘発グ  
リオーマに及ぼすフェノバルビタールの影響

第 50 回癌学会総会 (1991. 9)

\* 佐々木研究所

阿瀬善也, 豊田和弘, 畝山智香子, 今沢孝喜, 高橋  
道人, 林 裕造: 各種緩下剤のラット腸粘膜細胞動  
態への影響

第 50 回癌学会総会 (1991. 9)

古川文夫: パネルディスカッション—その 1—「免  
疫染色装置の紹介」

第 18 回実験動物病理組織技術懇話会 (1991. 10)

古川文夫, 今沢孝喜, 鈴木順子, 佐藤元信, 吉村博  
之, 三井雅之, 古田京子: ハムスターの誘発膀胱癌  
における Nucleolar Organizer Region (NOR)  
とその有用性

第 18 回実験動物病理組織技術懇話会 (1991. 10)

今沢孝喜, 渋谷 淳, 古川文夫, 林 修次, 川西  
徹, 三森国敏, 高橋道人: HAQO 投与ラットの膀  
腺房細胞核における経時的 AgNOR の局在に關す  
る電顕的検討

第 8 回日本毒性病理学会 (1992. 1)

古川文夫, 今井田克己, 西川秋佳, 佐藤元信, 吉村  
博之, 三井雅之, 高橋道人: BOP 投与によるハ  
ムスター膀胱および肝の急性変化

第 8 回日本毒性病理学会 (1992. 1)

佐藤元信, 古川文夫, 豊田和弘, 三井雅之, 佐藤秀  
隆, 西川秋佳, 高橋道人: ハムスター BOP 投与に  
よる胆管の増殖性病変に対するプロゲステロンの促  
進効果

第 8 回日本毒性病理学会 (1992. 1)

吉村博之, 吉田順一, 今沢孝喜, 古川文夫, 三森国  
敏, 今井田克己, 林 裕造: 肺線維症モデル確立の  
ための N-nitroso-N-methylurethane 投与による  
予備的検討

第 8 回日本毒性病理学会 (1992. 1)

三井雅之, 古川文夫, 篠田和俊, 佐藤元信, 榎並倫  
宣, 川西 徹, 高橋道人: 1,1-Bis(t-butylperoxy)  
3,3,5-trimethylcyclohexane のマウスにおける 13  
週間亜慢性毒性試験

## 第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

松島裕子, 小野寺博志, 渋谷 淳, 吉田順一, 北浦敬介, 三森国敏, 高橋道人, 前川昭彦\*: ラットの二段階発がんモデルにおける6MPの発がんプロモーション作用について

第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

\* 佐々木研究所

小野寺博志, 松島裕子, 北浦敬介, 渋谷 淳, 三森国敏, 高橋道人, 路 進\*, 前川昭彦\*: BOP 経胎盤投与により誘発されるラット雌性生殖器腫瘍の系統差

第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

\* 佐々木研究所

阿瀬善也, 豊田和弘, 佐藤元信, 吉村博之, 川西徹, 高橋道人: Azoxymethane のハムスターにおける腫瘍発生について

第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

北浦敬介, 渋谷 淳, 小野寺博志, 松島裕子, 三森国敏, 高橋道人: マウス悪性リンパ腫のパラフィン包埋標本での免疫組織学的手法の有用性

第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

佐藤秀隆, 畠山智香子, 豊田和弘, 小笠原裕之, 今井田克己, 高橋道人, 林 裕造: Dicofol のマウス肝腫瘍発生に及ぼす影響について一腫瘍発生の経時的観察, 二段階発癌実験および酵素誘導能の検索一

第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

林 修次, 小笠原裕之, 古田京子, 畠山智香子, 佐藤秀隆, 今沢孝喜, 今井田克己, 林 裕造: キナクリンのマウス肺腫瘍発生におよぼす影響

第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

豊田和弘, 今沢孝喜, 阿瀬善也, 篠田和俊, 小笠原裕之, 西川秋佳, 高橋道人: Diheptyl phthalate のラットにおける精巢毒性とペルオキシソーム増生作用について

第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

小笠原裕之, 今井田克己, 林 修次, 古田京子, 畠山智香子, 三森国敏, 高橋道人: ラットの自然発生

性下垂体前葉および中間部腺腫のホルモン産生に関する免疫組織化学的検討

第8回日本毒性病理学会 (1992.1)

畠山寿之\*, 畠山智香子, 赤池紀扶\*: ラット巨核球でATPにより誘発される周期的K<sup>+</sup>電流 I. 電気生理学的性質

第65回日本薬理学会総会 (1992.3)

\* 東北大学医学部

畠山智香子, 高橋道人, 畠山寿之\*, 赤池紀扶\*: ラット巨核球でATPにより誘発される周期的K<sup>+</sup>電流 II. ATP応答の濃度依存性とプリン受容体の特徴

第65回日本薬理学会総会 (1992.3)

\* 東北大学医学部

川西 徹, 畠山智香子, 登山恵美, 豊田和弘, 大野泰雄, 高仲正, 高橋道人: ラット肝細胞におけるミトコンドリア脱共役剤 FCCP によるカルシウムオキシレーションの急速かつ強力な阻害の作用機構

第65回日本薬理学会総会 (1992.3)

本間正充, 片岡英子, 大西清方, 水沢 博: DNAフィンガープリント/プロファイリング法を用いて確認した細胞相互混入の例について

日本組織培養学会第64回大会 (1991.3)

Hayashi, M.: Statistical analysis of data in mutagenicity

International Biostatistics Conference in the Study of Toxicology, Tokyo (1991.5)

Ishidate, M. Jr.\* and Sofuni, T.: Lessons from collaborative studies on in vitro assays to detect chromosome aberrations

International Symposium on Environmental Mutagenesis and Carcinogenesis, China (1991.5)

\* Chromosome Research Center, Olympus Optical Co. Ltd.

Honma, M., Kataoka, E., Ohnishi, K. and Mizusawa, H.: Identification of individual cell lines by minisatellite DNA probe containing unique sequences (DNA profiling).



1991 World Congress on Cell and Tissue Culture, Anaheim, California USA (1991. 6)

Sofuni, T. and Yoshida, M. C.: **Combined use of several mitogens for mitotic stimulation to human lymphocytes**

International Symposium on Automated Analysis of Radiation Induced Chromosome Aberrations, Japan (1991. 7)

Sofuni, T. and Hayashi, M.: **Automated analysis of micronucleated erythrocytes of mouse bone marrow and peripheral blood using flow cytometry**

XVI International Conference on Medical and Biological Engineering and IX International Conference on Medical Physics, Japan (1991. 7)

本間正充, 片岡英子, 大西清方, 佐々木澄志, 田中憲穂, 犬野忠夫, 水沢 博: **DNA フィンガープリント法を利用した BALB3T3 および, 3Y1 chemical transformed cell line の遺伝子変異の解析**  
第 50 回癌学会総会 (1991. 9)

上田高嘉, 林 真, 祖父尼俊雄, 小林仁道: **タナゴ亜科魚類の胚を用いた変異原性試験**  
染色体学会 1991 年会 (1991. 10)

祖父尼俊雄: **変異原性試験による照射食品の健全性評価**  
放射線プロセスシンポジウム (1991. 10)

Hayashi, M.: **The use of peripheral blood in the rodent micronucleus test and the use of novel staining techniques**

UKEMS, Industrial Genotoxicology Group Autumn Meeting, London (1991. 10)

Hayashi, M.: **The Japanese Collaborative Trials (Micronucleus Induction and Toxicity; IP vs Oral Route)**

UKEMS, Industrial Genotoxicology Group Autumn Meeting, London (1991. 10)

Ueda, T., Hayashi, M., Ohtsuka, Y., Nakamura,

T., Kobayashi, J. and Sofuni, T.: **A preliminary study of the micronucleus test by acridine orange fluorescent staining compared with chromosomal aberration test using fish erythropoietic and embryonic cells**

1st IAWPRC International Symposium on Hazard Assessment and Control of Environmental Contaminants in Water, Japan (1991. 11)

鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄, Myhr, B.\*: **lacZ transgenic mouse を用いた in vivo での遺伝子突然変異と小核誘発性の同時検出系**  
日本動物実験代替法学会第 5 回大会 (1991. 11)

\* Hazleton Laboratory Washington

鈴木孝昌: **transgenic mouse を用いる in vivo 突然変異試験系の解説**

日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会設立 10 周年記念特別講演会 (1991. 11)

林 真: **小核試験: 共同研究のまとめと標準プロトコールの提案**

日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会設立 10 周年記念特別講演会 (1991. 11)

祖父尼俊雄, 山影康次\*<sup>1</sup>, 山崎奈緒美, 松岡厚子, 田中憲穂\*<sup>1</sup>, 林 真, 石館 基\*<sup>2</sup>: **In vitro 染色体異常試験プロトコールに関する国際協力研究の成果について**

日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\*<sup>1</sup> 食品薬品安全センター秦野研究所

\*<sup>2</sup> ㈱オリンパス光学工業染色体研究センター

能美健彦, 渡辺雅彦, 山田雅巳, 羽倉昌志, 村山琮明\*, 祖父尼俊雄: **Salmonella typhimurium の umuDC 様遺伝子, umuDCST と samAB の変異原性に対する特異性**

日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* 帝京大学医学部

小田美光\*, 島田 力\*, 山崎浩史\*, 渡辺雅彦, 能美健彦: **ニトロアレーン, 芳香族アミンに高感度を示す変異原検出系の特性**

日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* 大阪府立公衆衛生研究所

萩原雄二, 渡辺雅彦, 小田美光\*, 能美健彦, 祖父尼俊雄: ニトロ還元酵素活性とアセチル転移酵素活性を同時に高めた *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 の新しい誘導株 YG1041, YG1042 の特性  
日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* 大阪府立公衆衛生研究所

本間正充, 片岡英子, 大西清方, 菊野 秩\*, 井上玲, 水沢 博, 祖父尼俊雄: ミニサテライト DNA プローブを利用したヒト体細胞突然変異の検出  
日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* 化学品検査協会日田研究所

菊野 秩\*, 本間正充, 片岡英子, 大西清方, 井上玲, 水沢 博, 祖父尼俊雄: MNNG 処理によるミニサテライト DNA 変異の検出—DNA Fingerprint 法による解析  
日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* 化学品検査協会日田研究所

鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄, B. Myhr\*: トランスジェニックマウスを用いる in vivo 変異原検出系の開発—遺伝子突然変異と小核誘発性の同時検出系  
日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* Hazleton Laboratory Washington

林 真, 鈴木孝昌, 祖父尼俊雄, B. Myhr\*: Mitomycin C のトランスジェニックマウスにおける遺伝子突然変異と小核誘発性の比較検討  
日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* Hazleton Laboratory Washington

B. Myhr\*, H. Khouri\*, K. Intehar\*, L. Custer\*, 鈴木孝昌: Analytical method for mutations in vivo at the LacZ locus in MutaMouse tissues  
日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* Hazleton Laboratory Washington

松岡厚子, 山崎奈緒美, 鈴木孝昌, 林 真, 祖父尼俊雄: CHL 細胞を用いる in vitro 小核試験: in vitro 染色体異常試験との比較  
日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

渡辺雅彦, 松岡厚子, 山田雅巳, 山崎奈緒美, 林

真, 能美健彦, 祖父尼俊雄: *S. typhimurium* ニトロ還元酵素, O-アセチル転移酵素遺伝子の哺乳類培養細胞への導入

日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

小核試験共同研究グループ (JEMS・MMS 分科会) 世話人代表 森田 健\*, 林 真他: マウス小核試験とヒト癌原性との相関性—第 1 報—

日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\* (株)日本グラクソ

岩倉啓子\*1, 田村博信\*1, 松本明子\*1, 安心院祥三\*2, 小倉正造\*2, 柿本敬治朗\*2, 松元孝範\*2, 林真: Ara-C の AO 超生体染色による末梢血小核試験

日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

\*1 (株)日本新薬安全性研究所

\*2 化学品検査協会日田研究所

松井道子, 能美健彦, 祖父尼俊雄: ステピオールによって誘発される *Salmonella typhimurium* gpt 遺伝子突然変異の PCR 法を用いた解析

日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

山田雅巳, 羽倉昌志, 松井恵子, 能美健彦, 祖父尼俊雄: *Salmonella typhimurium* O<sup>6</sup>-メチルグアニン DNA メチル転移酵素 (MTase) 遺伝子欠損株の作成とその性質

日本環境変異原学会第 20 回大会 (1991. 11)

山田雅巳, 羽倉昌志, 松井恵子, 祖父尼俊雄, 能美健彦: Pre-ligation 法: 新しいバクテリアの遺伝子破壊法

第 14 回日本分子生物学会年会 (1991. 12)

渡辺雅彦, 松岡厚子, 山田雅巳, 山崎奈緒美, 林真, 祖父尼俊雄, 能美健彦: バクテリアの代謝活性化酵素遺伝子を組み込んだ変異原性試験用チャイニーズ・ハムスター細胞樹立の試み

第 14 回日本分子生物学会年会 (1991. 12)

能美健彦, 渡辺雅彦, 山田雅巳, 羽倉昌志, 村山琮明\*, 祖父尼俊雄: フレームシフト型突然変異と *Salmonella typhimurium* の umuDC 様遺伝子

第 14 回日本分子生物学会年会 (1991. 12)

\* 帝京大学医学部

能美健彦：大腸菌とサルモネラの umuDC 遺伝子  
京都大学原子炉実験所専門研究会 (1992. 1)

Sofuni, T.: **Japanese guidelines for mutagenicity testing.**

23rd Annual Scientific Meeting of the Environmental Mutagen Society, USA (1992. 3)

Myhr, B.\*, Suzuki, T., Intehar, K.\*, Khouri, H.\*, Custer, L.\*, Brusick, D.\*: **Chemical induction of peripheral blood micronuclei and bone marrow mutations in MutaTMMouse**

23rd Annual Scientific Meeting of the Environmental Mutagen Society, USA (1992. 3)

\* Hazleton Laboratory Washington

鈴木孝昌, 林 真, 児玉幸夫, 祖父尼俊雄, 羽倉昌志：**マウス小核試験におけるアルキル化剤の複合投与効果**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

中舘正弘：**毒性評価のための多面的アプローチ**  
第 18 回日本毒科学会学術年会 (1991. 7)

小松裕明：**レシチン二分子膜とアルコールとの相互作用—Interdigitate Membrane—**  
第 9 回物性物理化学研究会 (1991. 6)

小松裕明, 石光 進, 岡田敏史, 伊東真理\*, 杉山隆之\*, 夏賀 徹\*：**低分子ヘパリンの分子量評価**  
日本薬学会近畿支部第 41 年会 (1991. 10)

\* 清水製薬㈱

小松裕明, 岡田敏史, Rowe, E. S.\*：**レシチン膜における interdigitated gel 相の形成に及ぼすコレステロールの影響**  
第 13 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (1991. 11)

\* University of Kansas Medical Center, USA and Veterans Administration Medical Center, Kansas City, USA

小松裕明, 石光 進, 岡田敏史, 伊東真理\*, 杉山隆之\*, 夏賀 徹\*, 高畑知子：**低分子ヘパリンの GPC 併用型低角度レーザー光散乱法による分子量評価**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\* 清水製薬㈱

伊東真理\*, 杉山隆之\*, 夏賀 徹\*, 小松裕明, 石光 進, 岡田敏史：**低分子ヘパリンの抗凝血活性評価法—抗トロンピン活性測定法—**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\* 清水製薬㈱

小松裕明, 岡田敏史, Rowe, E. S.\*：**エタノールによるリン脂質膜の interdigitation に及ぼす一枚膜リポソームの粒径の影響**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

\* University of Kansas Medical Center, USA and Veterans Administration Medical Center, Kansas City, USA

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史：**トロパンアルカロイドの二相間分配挙動**

日本薬学会近畿支部第 41 年会 (1991. 10)

四方田千佳子, 宮崎 玉樹, 岡田 敏史：**キトサンとアニオン性多糖から生成される複合膜の安定性と分解性**

日本薬学会第 112 年会 (1992. 3)

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史：**キトサンとアルギン酸からなる直打錠の徐放性製剤としての可能性**

第 6 回キチン・キトサン・シンポジウム (1992. 5)

津村(長谷川)ゆかり, 外海泰秀, 中村優美子, 伊藤 啓志男：**柑橘類の貯蔵および加工過程における収穫後使用農薬の消長**

日本食品衛生学会第 62 回学術講演会 (1991. 10)

道口直樹\*<sup>1</sup>, 尾田美子\*<sup>1</sup>, 藤原一也\*<sup>1</sup>, 鈴木 宏\*<sup>1</sup>, 長谷幸子\*<sup>2</sup>, 兼田 登\*<sup>2</sup>, 小泉 彰\*<sup>2</sup>, 山岡利佳\*<sup>3</sup>, 儀賀豊達\*<sup>3</sup>, 峯 孝則\*<sup>3</sup>, 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤 啓志男：**各種食品の安息香酸の自然含有量調査研究**

## 日本食品衛生学会第62回学術講演会 (1991.10)

- \*1 日本生活協同組合連合商品検査センター
- \*2 生活協同組合コープ神戸商品検査センター
- \*3 サントリー(株)分析センター

神藤光野\*1, 打田良樹\*1, 柴田 正, 伊藤誉志男:  
**食品添加物のエチレンジアミン四酢酸 (EDTA)  
 に関する研究, 食用タール色素の退色防止効果**  
 第13回日本家政学会関西支部学術講演会(1991.10)

- \*1 大阪樟蔭女子大学学芸学部

佐藤 猛\*1, 川村吉也\*1, 久保伸子\*1, 赤野裕文\*1,  
 黒沢 尋\*2, 中村和夫\*2, 天野義文\*2, 伊藤誉志男,  
 藤巻正生\*3: **バイオセンサ法による食品中の亜硫酸  
 の測定**

## 日本食品衛生学会第62回学術講演会 (1991.10)

- \*1 中基酢(株)
- \*2 山梨大学工学部
- \*3 東京大学農学部

外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 伊藤誉志男,  
 藤原信也, 藤井康孝: **農作物中9種除草剤のGCお  
 よびHPLCによる一斉分析法の比較検討**  
 第28回全国衛生化学技術協議会年会 (1991.10)

浜野 孝\*1, 三ツ橋幸正\*1, 青木伸實\*1, 山本  
 進\*1, 柴田 正, 伊藤誉志男: **酸素電極を用いた食  
 品中のコリンの酵素分析法**

## 第28回全国衛生化学技術協議会年会 (1991.10)

- \*1 神戸市環境保健研究所

西島基弘\*1, 上条昌弥\*2, 中岡正吉\*3, 本間 浩\*4,  
 宮本文夫\*5, 伊藤誉志男, 白石隆幸\*6, 成田弘子\*7,  
 宮田政明\*8: **食品添加物試験法一保存料の高速液体  
 クロマトグラフィーによる定性および定量**

## 日本薬学会第112年会 (1992.3)

- \*1 東京都立衛生研究所
- \*2 横浜市衛生研究所
- \*3 神奈川県衛生研究所
- \*4 共立薬科大学
- \*5 千葉県衛生研究所
- \*6 新潟薬科大学
- \*7 静岡県衛生環境センター
- \*8 三栄化学工業(株)

## 西島基弘\*1, 上条昌弥\*2, 中岡正吉\*3, 本間 浩\*4,

宮本文夫\*5, 伊藤誉志男, 白石孝幸\*6, 成田弘子\*7,  
 宮田政明\*8, 山田 隆: **食品添加物試験法一酸化防  
 止剤の高速液体クロマトグラフィーによる定性およ  
 び定量**

## 日本薬学会第112年会 (1992.3)

- \*1 東京都立衛生研究所
- \*2 横浜市衛生研究所
- \*3 神奈川県衛生研究所
- \*4 共立薬科大学
- \*5 千葉県衛生研究所
- \*6 新潟薬科大学
- \*7 静岡県衛生環境センター
- \*8 三栄化学工業(株)

伊藤誉志男, 谷 孝之\*1, 中村好志\*2, 浜野 孝\*3,  
 堀信二郎\*4, 宮原 誠, 木川 寛\*5, 中澤裕之\*6,  
 西島基弘\*7, 星野 二\*8, 宮田秀明\*9: **食品汚染物  
 試験法一ピレスロイド系殺虫剤のキャピラリーカ  
 ラム・ガスクロマトグラフィーによる定性および定量**

## 日本薬学会第112年会 (1992.3)

- \*1 神奈川県衛生研究所
- \*2 静岡県立大学薬学部
- \*3 神戸市環境保健研究所
- \*4 大阪府公衆衛生研究所
- \*5 横浜市衛生研究所
- \*6 国立公衆衛生院
- \*7 東京都立衛生研究所
- \*8 埼玉県衛生研究所
- \*9 摂南大学薬学部

神藤光野\*1, 池田恵美\*1, 森崎充恵\*1, 山本陽子\*1,  
 打田良樹\*1, 柴田 正, 伊藤誉志男: **エチレンジア  
 ミン四酢酸 (EDTA) に関する研究一食用ター  
 ル色素の退色と EDTA による防止効果について(II)**

## 日本薬学会第112年会 (1992.3)

- \*1 大阪樟蔭女子大学

中村好志\*1, 大畑嘉栄\*1, 富田 勲\*1, 伊藤誉志  
 男: **クリングフィルム包装食品中の可塑剤の分析法**  
 日本食品衛生学会第63回学術講演会 (1992.5)

- \*1 静岡県立大学薬学部

松木宏晃\*1, 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子,  
 伊藤誉志男: **定量操作中に分解し易いキャプタン等,  
 11種殺菌剤の一斉分析法の検討**

## 日本食品衛生学会第63回学術講演会 (1992.5)

- \*1 サントリー(株)分析センター

津村ゆかり, 外海泰秀, 中村優美子, 伊藤蒼志男,  
松木宏晃\*<sup>1</sup>, 加藤誠哉\*<sup>2</sup>: 食品中のバミドチオンお  
よびその酸化体の同時定量法の開発

日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1992. 5)

\*<sup>1</sup> サントリー(株)分析センター

\*<sup>2</sup> 日本食品分析センター

久保伸子\*<sup>1</sup>, 荒田治彦\*<sup>1</sup>, 前田和宏\*<sup>1</sup>, 川村吉也\*<sup>1</sup>,  
田村政男\*<sup>2</sup>, 山本勝彦\*<sup>2</sup>, 伊藤蒼志男, 栗飯原景  
昭\*<sup>3</sup>: バイオセンサ法による食品中の亜硫酸の測定  
(第 2 報)—ワイン, ドライフルーツ, 冷凍エビ中の  
残存亜硫酸の測定

日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1992. 5)

\*<sup>1</sup> 中埜酢(株)

\*<sup>2</sup> 名古屋市衛生研究所

\*<sup>3</sup> 食品薬品安全センター

佐藤昭子\*<sup>1</sup>, 寺尾道徳\*<sup>2</sup>, 石橋美也子\*<sup>2</sup>, 小島満子,  
藤原みち子, 外海泰秀, 津村ゆかり, 伊藤蒼志男:  
ニンニク抽出液のステレン生成酵母に及ぼす抗菌作  
用

日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1992. 5)

\*<sup>1</sup> 県立新潟女子短期大学

\*<sup>2</sup> 新潟県衛生公害研究所

小島満子, 藤原みち子, 外海泰秀, 津村ゆかり, 伊  
藤蒼志男, 寺尾道徳\*<sup>1</sup>, 石橋美也子\*<sup>1</sup>, 佐藤昭  
子\*<sup>2</sup>: 魚介類から分離したステレン生成酵母につい  
て

日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1992. 5)

\*<sup>1</sup> 新潟県衛生公害研究所

\*<sup>2</sup> 県立新潟女子短期大学

辻 澄子: 奨励賞受賞講演—過酸化水素に関する食  
品衛生学的研究

日本食品衛生学会第 63 回学術講演会 (1992. 5)

小川義之, 村井敏美, 川崎浩之進: 非経口投与薬に  
対するリムルス試験法の適用性の検討

第 19 回日本防菌防微学会大会 (1992. 5)

伊丹孝文, 江馬 真, 川崎浩之進: 細菌内毒素によ  
るラット胚致死作用に対する薬用人参の抑制効果  
第 31 回日本先天異常学会 (1991. 7)

江馬 真, 伊丹孝文, 川崎浩之進: プチルベンジル  
フタレートのラットにおける催奇形性

第 31 回日本先天異常学会総会 (1991. 7)

天野博夫, 江馬 真, 伊丹孝文, 川崎浩之進: ラッ  
ト胚由来の神経/グリア前駆細胞の *in vitro* におけ  
る増殖と分化: インスリンとインスリン様成長因子  
I (IGF-I) の効果

第 65 回日本薬理学会総会 (1992. 3)

柴田敏郎, 畠山好雄, 香月茂樹, 熊谷健夫: センキ  
ュウ

第 1 回薬用植物栽培技術フォーラム (1991. 7)

飯田 修: 栽培・品質評価指針のための試験報告 2  
ベニバナ

第 1 回薬用植物栽培技術フォーラム

和気仁志\*<sup>1</sup>, 小関良宏\*<sup>2</sup>, 吉松嘉代, 下村講一郎,  
松永 是\*<sup>1</sup>: 海洋藍藻抽出物によるニンジン培養細  
胞の不定胚形成促進

第 12 回植物組織培養学会大会・シンポジウム  
(1991. 7)

\*<sup>1</sup> 東京農工大学工学部

\*<sup>2</sup> 東京大学教養学部

吉松嘉代, 下村講一郎: 日本産 *Agrobacterium*  
*rhizogenes* による薬用植物の形質転換 1. ケシの  
形質転換細胞の作出

第 12 回植物組織培養学会大会・シンポジウム  
(1991. 7)

Sauerwein, M.\* and Shimomura, K.: Transforma-  
tion of medicinal plants with *A. rhizogenes*  
MAFF03-01724 (II) Production of tropane  
alkaloids in *Hyoscyamus albus*

第 12 回植物組織培養学会大会・シンポジウム  
(1991. 7)

\* Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, F.R.  
G.

Sauerwein, M.\* and Shimomura, K.: Production  
of secondary metabolites by green hairy root  
cultures

第 12 回植物組織培養学会大会・シンポジウム

(1991.7)

\* Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, F.R.G.

酒井英二, 田中俊弘\*<sup>1</sup>, 西部三省\*<sup>1</sup>, 笹原道子\*<sup>2</sup>,  
 鄭太坤\*<sup>3</sup>: 車前草の生薬学的研究 (第6報) 中国  
 産車前草について

日本生薬学会第38回年会 (1991.9)

- \*<sup>1</sup> 岐阜薬科大学  
 \*<sup>2</sup> 東日本学術大学薬学部  
 \*<sup>3</sup> 遼寧中医学院

飯田 修, 佐竹元吉, 浜野朋子\*, 安田一郎\*: ムラ  
 サキの生育とシコニン類に与える施肥の効果

日本生薬学会第38回年会 (1991.9)

\* 東京都立衛生研究所

Sauerwein, M.\* and Shimomura, K.: **Secondary metabolites in green hairy root cultures**

39th Annual Congress on Medicinal Plant Research, Saarbrücken, Germany (1991.9)

\* Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, F.R.G.

Sauerwein, M.\* and Shimomura, K.: **Production of tropane alkaloids in *Hyoscyamus albus* transformed with *Agrobacterium rhizogenes***

39th Annual Congress on Medicinal Plant Research, Saarbrücken, Germany (1991.9)

\* Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, F.R.G.

Shimomura, K., Sauerwein, M.\* and Yoshimatsu, K.: **Production and regulation of secondary metabolites in transformed roots—"normal" and "green" hairy roots**

7th Asian Symposium on Medicinal Plants, Spices, and Other Natural Products, Manila, Philippines (1992.2)

\* Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, F.R.G.

Shimomura, K., Yoshimatsu, K., Sauerwein, M.\*<sup>1</sup>, Christen, P.\*<sup>2</sup>, Toda, Y.\*<sup>3</sup> and Aoki, T.: **Production of biologically active compounds by trans-**

**formed cultures**

German-Japanese Workshop on Plant Culture for Breeding and Formation of Phytochemicals, Tsukuba (1992.2)

\*<sup>1</sup> Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, F.R.G.

\*<sup>2</sup> University of Geneva, Switzerland

\*<sup>3</sup> 日本大学文理学部

青木俊夫, 下村講一郎, 松永祐士\*<sup>1</sup>, 浅子洋一\*<sup>2</sup>,  
 米光 裕\*<sup>3</sup>: 形質転換ベラドンナの毛状根および再  
 生個体におけるトロパンアルカロイドの生産

日本薬学会第112年会 (1992.3)

- \*<sup>1</sup> (株)鐘紡生化学研究所  
 \*<sup>2</sup> (株)新日鐵先端技術研究所  
 \*<sup>3</sup> (株)ツムラ分子遺伝学研究所

佐土嶋信二\*<sup>1</sup>, 石丸幹二\*<sup>1</sup>, 小山清隆\*<sup>2</sup>, 高橋邦  
 夫\*<sup>2</sup>, 下村講一郎: ロベリアソウ毛状根の新規ポリ  
 アセチレン配糖体

日本薬学会第112年会 (1992.3)

- \*<sup>1</sup> 佐賀大学農学部  
 \*<sup>2</sup> 明治薬科大学

和気仁志\*<sup>1</sup>, 小関良宏\*<sup>2</sup>, 下村講一郎, 松永  
 是\*<sup>1</sup>: 海洋シアノバクテリア抽出物によるニンジン  
 不定胚の幼植物体形成促進

日本植物生理学会1992年度年会および第32回シン  
 ポジウム (1992.3)

- \*<sup>1</sup> 東京農工大学工学部  
 \*<sup>2</sup> 東京大学教養学部

佐土嶋信二\*, 松原裕一郎\*, 下村講一郎, 石丸幹  
 二\*: ロベリアソウ毛状根培養ならびに各種キキョ  
 ウ科植物におけるポリアセチレン類生産

日本農芸化学会1992年度大会 (1992.4)

\* 佐賀大学農学部

Christen, P.\* Aoki, T. and Shimomura, K.: **Production of tropane alkaloids in *Hyoscyamus albus* transformed with *Agrobacterium rhizogenes* A4**

Spring National American Chemical Society Meeting, San Francisco, U.S.A. (1992.4)

\* University of Geneva, Switzerland

Sauerwein, M.\*, Wink, M.\* and Shimomura, K.:  
**Alkaloid production in adventitious root cultures of *Hyoscyamus* species**  
International Symposium of Phytochemistry and  
Agriculture, IAC Wageningen, The Netherland  
(1991. 4)

\* Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, F.R.  
G.

井本芳則\*, 橋本清史\*, 白井恵一\*, 常風潤一\*, 細  
田勝子, 野口 衛: **蘇葉配合漢方製剤の品質試験**  
**(第2報)**

第1回日本病院薬学会年会 (1991. 7)

\* 国保日高総合病院薬局

野口 衛, 細田勝子, 伊丹孝文, 江馬 真, 坂本  
純, 川崎浩之進: **いわゆる駆於血剤のピロジェン**  
**発熱ウサギに対する解熱作用について**  
日本薬学会第112年会 (1992. 3)

秦 壽孝\*, 玉置修身\*, 辻本 薫\*, 野口 衛: **生**  
**薬産地化をめざす和歌山県の取組みについて**  
社会薬学研究会第10回全国総会 (1991. 9)

\* 和歌山県保健環境部薬務課

野口 衛: **生薬と漢方薬をめぐる最近の諸問題**  
日本生薬学会平成3年度秋季講演会 (1991. 12)

野口 衛: **キキョウの栽培とその品質評価について**  
第1回薬用植物栽培技術フォーラム (1991. 7)

香月茂樹: **ガジュツ**

第1回薬用植物栽培技術フォーラム (1991. 7)

柴田敏郎, 畠山好雄, 香月茂樹, 熊谷健夫: **センキ**  
**ユウ**

第1回薬用植物栽培技術フォーラム (1991. 7)

所員の研究、試験および検査に関する発表を主とする「衛試例会」は、昭和26年から原則として毎月第2火曜日、第一会議室において開催されているが、平成3年度に行った演題は次のとおりである。

#### 第337回 (平成3年4月9日)

1. キトサンの分子量および粘度  
大阪支所薬品試験部 四方田 千佳子
2. 照射食品の検知法に関する国際的動向  
食品部 内山 貞夫
3. Salmonella typhimurium に存在する2種類のumu DC 遺伝子  
変異遺伝部 ○能 美 健 彦  
羽 倉 昌 志  
渡 辺 雅 彦  
山 田 雅 巳  
祖父尼 俊 雄  
帝京大学医学部 村 山 明
4. 初代培養肝細胞の細胞内ナトリウムイオン濃度の調節機構  
薬 理 部 川 西 徹
5. DEN によるハムスター気道腫瘍発生に対するEGFの促進作用  
病 理 部 ○吉 田 順 一  
小野寺 博 志  
松 島 裕 子  
渋谷 淳  
三 森 国 敏  
林 裕 造

#### 第338回 (平成3年5月14日)

1. 大豆中の製油工程における農薬の動態  
食 品 部 宮 原 誠
2. OECD 反復投与毒性および生殖発生毒性併合試験法 (Repro Tox)  
シクロホスファミドを用いた検討  
毒 性 部 田 中 悟
3. Polymerase chain reaction (PCR) 法を用いた Salmonella typhimurium gpt 遺伝子突然変異の解析  
変異遺伝部 ○松 井 道 子  
能 美 健 彦  
祖父尼 俊 雄

4. 遺伝コードにおける機能部位の統計的予測  
化学物質情報部 中 田 琴 子

#### 第339回 (平成3年6月11日)

1. ラット  $\alpha$ -酸性糖蛋白に対する  $\beta$ -ブロッカーの立体特異的結合  
大阪支所薬品試験部 ○村 井 真 美  
岡 田 敏 史  
毒 性 部 長谷川 隆 一
2. インドネシア産ショウガ科植物の抗炎症作用とその治性成分の検討  
生 薬 部 ○川 原 信 夫  
尾 崎 幸 紘  
副 所 長 原 田 正 敏
3. 末梢網赤血球を用いる小核試験法の開発  
変異遺伝部 ○林 眞  
鈴 木 孝 昌  
松 岡 厚 子  
祖父尼 俊 雄  
毒 性 部 児 玉 幸 夫
4. 医用材料の細胞毒性試験 (1)  
コロニー法、寒天重層法およびミリポアフィルター法による細胞毒性試験の比較  
療 品 部 ○秦 英 代  
土 屋 利 江  
五十嵐 良 明  
中 村 晃 忠

#### 第340回 (平成3年7月9日)

1. 生分解性高分子マイクロスフェアの薬物放出性に及ぼす結晶化度の影響とその安定性  
薬 品 部 ○吉 岡 澄 江  
泉 川 智  
阿 曾 幸 男
2. 新しいペプチド性神経伝達物質、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) の心筋に対する作用 電気生理学的検討  
生 薬 部 ○小 野 景 義  
尾 崎 幸 紘  
副 所 長 原 田 正 敏
3. 希土類元素の生体影響  
1) ランタンおよびイットリウムのラットによる28日間反復経口投与毒性試験



毒 性 部 小 川 幸 男

4. 希土類元素の生体影響

1) ランタンおよびイットリウム投与による臓器内必須元素の変動

毒 性 部 鈴 木 幸 子

5. 医用材料の細胞毒性試験 (2)

各種細胞株によるコロニー法とニュートラルレッド法の比較

療 品 部 ○五十嵐 良 明

土 屋 利 江

秦 英 代

中 村 晃 忠

第 341 回 (平成 3 年 9 月 10 日)

1. 柑橘類中収穫後使用農薬の実態調査および保存・加工における消長

大阪支所食品試験部 津 村 ゆかり

2. 新規白金錯体の合成と制癌作用

有 機 化 学 部 内 野 正

3. 医用材料の細胞毒性試験 (3)

標準材料との直接接触法および抽出液によるコロニー法 ガイドラインの作成

療 品 部 ○土 屋 利 江

五十嵐 良 明

秦 英 代

中 村 晃 忠

4. サルにおける覚せい剤代謝に及ぼすエタノールの影響について

毒 性 部 落 合 敏 秋

5. カルシトニンの活性を支配するものは何か? : 構造-活性相関追及の新しい方法

変 異 遺 伝 部 ○井 上 玲

水 澤 博

第 342 回 (平成 3 年 10 月 8 日)

1. 低分子化ヘパリンの分子量評価法

大阪支所薬品試験部 ○小 松 裕 明

石 光 進

岡 田 敏 史

2. ニトロアレーンの化学 その 3

ニトロアザアレーンの還元特性と変異原性との相関

有 機 化 学 部 福 原 潔

3. 培養細胞を用いる小核試験法の開発

変 異 遺 伝 部 ○山 崎 奈 緒 美

松 岡 厚 子

鈴 木 孝 昌

林 眞

4. トリクロロエチレン, テトラクロロエチレンおよび四塩化炭素投与ラットあるいはマウス臓器中の 8-Hydroxydeoguanosine レベルの変化について

毒 性 部 高 木 篤 也

5. *in vivo* DNA 付加物量のデータベース化; O<sup>6</sup>-アルキルグアニン

化学物質情報部 ○森 本 和 滋

五十嵐 貴 子

神 沼 二 眞 造

セ ン タ ー 長 林 裕 造

6. 毒性予測システムの開発

総合評価研究室 中 館 正 弘

第 343 回 (平成 3 年 11 月 12 日)

1. カルボン酸蛍光標識試薬の開発と医薬品微量分析への応用

薬 品 部 豊 岡 利 正

2. ラット初代培養肝細胞における成長ホルモン受容体のグルコースによる調節

生 物 薬 品 部 新 見 伸 吾

3. 肝薬物代謝酵素による 2- および 3-Chlorodibenzo-furan の代謝活性化

薬 理 部 簾 内 桃 子

4. 動物実験施設における実験動物の微生物モニタリング検査成績

毒 性 部 ○児 玉 幸 夫

山 町 佳 央

鍵 富 正 武

藤 田 真 喜 子

5. 各種緩下剤のラット腸粘膜細胞動態への影響

病 理 部 ○阿 瀬 善 也

豊 田 和 弘

6. 化審法の新規化学物質毒性評価データベース

総合評価研究室 鎌 田 栄 一

第 344 回 (平成 3 年 12 月 10 日)

1. コカインおよびその代謝物の毛髪への排泄について

薬 品 部 ○木 倉 瑠 理

高 橋 一 徳

島 峯 望 彦

- 中原雄二  
 毒性部 落合敏秋
2. 抗成長ホルモン受容体モノクローナル抗体の調整とその性質  
 機能生化学部 齋藤嘉朗
3. 腐敗酵母の微生物学的特性  
 衛生微生物部 小島満子
4. 国立衛生試験所動物実験施設の空中落下細菌検査成績  
 毒性部 ○児玉幸夫  
 鶴沢耕二  
 中嶋富士雄  
 渡辺輝昭
5. 臭素酸カリウムによるラット腎8-ヒドロキシデオキシグアノシン生成機構の検討  
 毒性部 佐井君江
6. FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) を用いた染色体分析と gene mapping  
 変異遺伝部 ○本間正充  
 水澤博  
 林眞  
 祖父尼俊雄

## 第345回 (平成4年1月14日)

1. 図書、資料目録のデータベース化について  
 化学物質情報部 ○楊額坤  
 関澤純
2. 白血球機能に及ぼすカリクリンAおよびオクタ酸の影響について  
 生物薬品部 押澤正
3. 好塩基球細胞のカルシウム動態に及ぼす各種サイトカラシン類の影響  
 機能生化学部 ○手島玲子  
 池淵秀司  
 生薬部 関田節子
4. 2,2'-メチレンビス(4-メチル-6-tert-ブチルフェノール)のラットにおける急性および亜慢性毒性試験  
 毒性部 高木篤也

## 第346回 (平成4年2月12日)

1. 抗菌防臭加工剤の安全性評価に関する情報のデ

## ータベース化

- 療品部 ○伊佐間和郎  
 鹿庭正昭
2. キサンテン系食用色素からのハロゲンの遊離について  
 食品添加物部 ○佐藤恭子  
 合田幸広  
 米谷民雄
3. ヒトアストロアイトーマ細胞株におけるIL-1および重金属によるメタロチオネインの誘導  
 衛生微生物部 ○菊池裕  
 機能生化学部 澤田純一
4. ガーリックの酵母に対する腐敗防止効果  
 衛生微生物部 小島満子
5. 高脂肪食によるマウス肺腫瘍の促進  
 アラキドン酸代謝阻害剤による修飾作用  
 病理部 ○畝山智香子  
 古田京子
6. トランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異の検出  
 変異遺伝部 ○鈴木孝昌  
 林眞  
 祖父尼俊雄

## 第347回 (平成4年3月10日)

1. ゴムはきもによる接触皮膚炎の原因究明：ゴム添加剤、接着剤成分  
 療品部 鹿庭正昭
2. ムスクキシレンによる肝薬物代謝酵素の誘導  
 代謝生化学部 ○岩田修永  
 高橋惇
3. マウス末梢リンパ節検査による金属塩およびゴム添加剤の感作性評価  
 療品部 ○五十嵐良明  
 土屋利江
4. ラット膵腺房細胞腫瘍におけるNucleolar Organizer Region (NOR) の特性  
 病理部 今沢孝喜
5. 染色体からみた霊長類の核型進化に関する研究  
 変異遺伝部 田辺秀之  
 水澤博

## 支 所 例 会

## 第 111 回 (平成 3 年 5 月 24 日)

1. 4 種希土類元素すなわちジスプロシウム (Dy), ユーロピウム (Eu), イッテルビウム (Yb) およびイットリウム (Y) の生体からの分析法および経口投与 (1 回投与) 時のラットにおける代謝

食品試験部 中村 優美子

2. 細胞内 ATP 量を指標とした *in vitro* 毒性試験法の開発

生物試験部 小川 義之

## 第 112 回 (平成 3 年 10 月 29 日)

1. 柑橘果実中の収穫後使用農薬の系統的分析法  
食品試験部 津村 ゆかり
2. 局方収載アミノ酸のアミノ酸クロマトグラフ法による純度試験

薬品試験部 石光 進

3. 研究室における UNIX 通信の利用

生物試験部 天野 博夫

## 第 113 回 (平成 3 年 12 月 20 日)

1. トロパナルカロイドの二相間分配挙動  
薬品試験部 宮崎 玉樹
2. 低分子化ヘパリンの分子量評価法  
薬品試験部 小松 裕明
3. 食用赤色 40 号の純度試験について

原料および他の中間反応物質並びに低スルホン化副成色素, 高スルホン化副成色素の高速液体クロマトグラフィー

食品試験部 柴田 正

## 第 114 回 (平成 4 年 1 月 27 日)

1. キトサンとアニオン性多糖との複合体形成および複合膜の特性

薬品試験部 四方田 千佳子

2. 農作物中 9 種含窒素系除草剤の GC および HPLC による一斉分析法の試み

食品試験部 外海 泰秀

3. リムルステストの進歩と課題

生物試験部 川崎 浩之進

## 第 115 回 (平成 4 年 2 月 26 日)

1. 抗酸化相乗剤クエン酸イソプロピルの物理化学的研究

食品試験部 辻 澄子

2. 日本人の食品添加物の 1 人 1 日摂取量実態調査研究 (II)

食品試験部 伊藤 誉志男

3. ISO/REMCO (国際標準化機構/標準物質委員会) の活動について

薬品試験部 岡田 敏史

## 特別講演会

平成3年4月16日

「N-アセチルトランスフェラーゼの構造と機能」  
について

東京都神経科学研究所博士 出口 武夫

平成3年4月24日

「ワクチンをめぐる技術革新」について

国立予防衛生研究所所長 大谷 明

平成3年5月27日

「記憶と地方の分子メカニズム」について

東京都神経科学総合研究所博士  
黒田 洋一郎

平成3年6月5日

「UKEMS と米国と EPA の変異原性試験の勧告  
の問題点」についてUKEMS Guidelines Editor  
Hazleton Microtest, York, UK

Dr. David Kirkland

「ミュータマウスを用いる *in vivo* 変異原性試験  
の現況」についてHazleton Washington,  
Kensington, Maryland, USA

Dr. Steve Haworth

平成3年6月28日

「エイズの発症と治療」について

東京医科歯科大学教授 山本 直樹

平成3年7月16日

「記憶機能と神経細胞死は隣り合わせ」について  
三菱化成・生命科学研究所部長

工藤 佳久

平成3年9月9日

「農薬の癌厳正とその安全性評価」について  
IARC<Lyon, France

Dr. J. R. P. Cabral

平成3年10月16日

「環境汚染リスク評価と便益分析」について

大阪大学工学部環境工学部 盛岡 通

平成3年11月11日

「服薬歴モニタリングのための毛髪中薬物分析」  
について

浜松医科大学薬理学助教授 植松 俊彦

平成3年12月5日

「節足動物毒とその作用機序情報伝達系の mod-  
ulator」について

東京大学薬学部教授 中嶋 暉躬

平成3年12月18日

「Transport of cholesterol from peripheral tis-  
sues to liver」について

University of Alberta 教授

横山 信治

平成4年1月23日

「NMR 解析による天然物の構造研究 (アオコの  
毒素成分を中心として)」について

筑波大学化学系講師 楠見 武徳

平成4年2月7日

「活性酸素に対する生体防御機構」について

国立放射線医学総合研究所博士

小沢 俊彦

平成4年2月27日

「カルボキシルエステラーゼの分子多様性とその  
役割」について

千葉大学薬学部教授 佐藤 哲男

平成4年3月11日

「国家検定からみた生物学的製剤の品質管理」に  
ついて

国立予防衛生研究所博士 佐々木 次雄

---

**支所特別講演会**

---

平成3年11月25日

「薬物送達システム (DDS) に関する最近の展望」について

京都薬科大学製剤学教室教授 村西昌三

## 特別研究(厚生省)

1. 医薬品の適正な評価を志向した光学異性体に関する基礎研究(有機, 薬品, 生薬, 療品, 食品, 代謝)  
Chemical study on biologically active stereoisomers for the evaluation of enantiomeric drugs
2. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究(毒性, 療品, 生物, 機能, 病理, 変異, 支生)  
Evaluation of *in 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. 食品照射により誘起される物質の安全性に関する研究  
Safety evaluation of products in foods formed by  $\gamma$ -irradiation
  - (1) 照射により誘起される食品の化学的および生物学的変動に関する研究(食品)  
Study on chemical and biological variance in foods induced by  $\gamma$ -irradiation
  - (2) 大量照射した食品成分の変異原性に関する研究(変異)  
Mutagenicity study on heavily  $\gamma$ -irradiated food components
  - (3) 大量照射によって生成する有害物質の有機化学的解明に関する研究(生薬)  
Chemical elucidation of toxic substances generated by high dose  $\gamma$ -irradiation
2. タンパク質ハイブリッド形成法によるタンパク性医薬品の安全性及び有効性確保に関する研究(生物)  
Study on acquirement of safety and efficacy of protein drugs by protein-hybrid formation
3. 化粧品安全性を予測する評価技術に関する研究(環境)  
Evaluation methods for safety of cosmetics and quasi-drugs
4. リンパ球の分裂中期細胞集積法に関する研究(変異)  
Establishment of a method to accumulate metaphases in cultured human lymphocytes
5. タンパク性アレルゲンの標識化合物を用いる高感度・特異的診断法の開発に関する研究(機能, 衛微)  
Study on the development of sensitive radio-assay systems for fungal allergens
6. 薬物レセプターの新簡易アフィニティラベル法の開発研究(機能, 代謝)  
Study on photoaffinity-labeling of drug receptors
7. 人工透析器の放射線滅菌による生体適合性の変化に関する研究(療品)  
Effects of gamma-ray sterilization on biocompatibility of hemodialyzers
8. 標識化合物を利用した新しいエンドトキシン微量定量法の開発とエンドトキシン疾患の診断法の確立に関する研究(衛微)  
Study on development of a new quantitative method for endotoxin using radioactive materials and establishment of diagnosis for endotoxemia
9. 創薬のための微量生理活性蛋白質の探索とその構造及び機能解析における放射性多重標識法の活用に関する基礎的研究(生物)  
Utilization of radioisotope-multilabelling for investigation of new trace bioactive proteins for new drug development

## 科学技術振興調整費(科学技術庁)

1. 新しい植物実験系開発のための基盤技術に関する研究
  - (1) 形態分化と機能分化の相関に関する実験系の開発(筑植)  
Research and development of basic technology for molecular and cellular analysis of plant systems
  - (2) Research and development of basic technology for the analysis of plant cell growth and differentiation
2. 生理活性ペプチドおよびタンパク質のデリバリーシステムの設計およびその安定性予測に関する研究(薬品)  
Design and stability prediction of delivery systems for peptide and protein drugs
3. 既存化学物質等の体内動態とその速度論的解析法の確立に関する研究(代謝)

Toxicokinetic studies for risk assessment of chemicals utilizing pharmacokinetic models

4. ラジカル活性種による生体機能損傷過程の分子解析と、それに基づくラジカル活性種除去薬の設計と合成に関する研究 (有機)

Mechanistic study on radical reactions for the development of radical scavenger as a drug

#### 国立機関公害防止等試験研究費 (環境庁)

1. 有機スズ化合物の海域環境中における動態の解明 (食品)

Behaviors of organo-tin compounds in marine aquatic environments

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用量安全性検索法の確立に関する研究 (薬理)

Study on the assessment of putative potential toxicity of environmental pollutants at low doses using culture systems

3. 動物実験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推定するための毒物動態学的研究 (療品, 有機, 機能, 代謝, 変異)

Estimation of risk to humans by extrapolation from low dose animal data: Toxicokinetic studies

4. 遺伝子組換え関連微生物の安全性評価に関する研究 (衛微)

Safety assessment of microorganisms used for recombinant DNA technology

5. 先端技術産業で用いられる希土類等の生体影響の評価法に関する研究 (環境, 毒性, 支食)

Evaluation methods for biological effects of rare earth metals

6. 公共用水域における開放系使用化学物質の動態及び安全性等に関する研究 (環境)

Studies on the behaviors and safety assessment of environmental polluting chemicals in ambient 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. 難病の疾患モデル調査研究 (変異)

Experimental models for intractable diseases

2. 保健衛生上の観点から重要な医薬部外品成分の迅速分析法の開発に関する研究 (環境)

Development of a simple and rapid determination method for essential components of quasi-drugs

3. 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, 療品, 食品, 代謝, 評価, 毒性, 薬理, 病理, 変異)

Study on improvement of risk assessment from chemical exposure

4. 免疫反応利用体外診断用医薬品の品質確保および臨床評価に関する研究 (薬品)

Studies on quality control and clinical evaluation of diagnostic drugs based on immunological reactions

5. 細菌性食中毒等防止に関する調査研究 (衛微)

Study on the surveillance system for control of bacterial food poisoning

6. 糖尿病の合併症に関する研究 (生物)

Study on diabetic complications

7. 歯科材料の化学的・生物学的評価法のガイドライン作成に関する研究 (療品, 毒性)

Study for preparing guidelines on chemical and biological evaluation methods for dental materials

8. 薬効評価データの記載フォーマットの標準化に関する研究 (薬理)

Standardization of format and content of evaluation data of new drug applications

9. 新しい日米科学技術に関する研究 (センター長)

Toxicology program under US-Japan non-energy research cooperation

10. 食品中の有害物質等の実態に関する研究 (食品, 食添, 衛微)

Migration of metals from ceramic wares in contact with food

11. 新開発食品素材健康影響評価研究 (所長)

Regulatory issues on newly developed food-stuffs

12. 食品添加物の国際的安全対策に関する調査研究 (食添)

Investigation on international measures for safety of food additives

13. 生分解性プラスチック分解生成物の安全性評価に関する研究 (毒性, 食添, 評価)  
Safty assessment of biodegradative plastics
14. 老化・疾病関連遺伝子探索に有用な DNA プローブの開発に関する研究 (変異)  
Study on development of DNA probes useful for research of age- and disease-related genes
15. 内的及び外的因子による発がんの促進と抑制 (センター長)  
Enhancement and suppression of carcinogenesis by internal and external factors
16. 新規原料配合化粧品品の安全性評価のための試験法の研究 (薬理, 毒性)  
Studies on the methods for the safety evaluation of cosmetics containing new chemicals
17. 日本薬局方の国際化方策及び基盤整備に関する研究 (所長, 薬品)  
Study on strategies for international harmonization and revision of the Pharmacopoeia of Japan
18. 無菌性, 非発熱性の確認のための各種品質試験の利用等に関する研究 (衛微)  
Study on new test systems for quality examination regarding sterilization and pyrogenicity
19. 医用材料の生体内劣化・分解とそれに伴う毒性に関する研究 (療品, 毒性, 病理, 薬品)  
Studies on *in vivo* deterioration and/or degradation of biomaterials and accompanying toxic effects
20. 医薬品の規制に関する国際的ハーモナイゼーションの基礎的研究 (所長, センター長, 薬品, 生物, 薬理, 病理)  
Scientific bases for international harmonization of pharmaceutical regulations
21. 尿中コカイン試験法の標準化とコカイン使用判定のガイドラインに関する研究 (薬品)  
Studies on the standardization of urinary cocaine analysis and guideline for confirmation of cocaine use
22. 生活環境中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 (食品)  
Study on the evaluation of total exposure to carcinogens/mutagens in daily life
23. 医薬品等に用いられるフロン代替品に関する研究 (薬品, 毒性)  
Studies on the chlorofluorocarbons substitutes used for drug products
24. バイオテクノロジー応用食品等の安全性評価に関する研究 (食品, 衛微)  
Study on safety evaluation of new food developed through biotechnology
25. 新調理保存方式による自動販売機の衛生管理に関する研究 (衛微)  
Study on sanitary management of newly developed vending machine
26. 必須アミノ酸製品等による健康影響調査研究 (所長, 食添, 生薬, 療品, 毒性)  
Investigations on health effect of essential amino acid products—Investigation on the causal mechanisms of L-tryptopan-induced EMS
27. 食品衛生調査研究事業 (食品, 食添)  
Research on food hygienic survey
28. 血液製剤の試験法等に関する研究 (生物)  
Studies on testing and evaluation of blood products
29. 畜水産食品中の残留物質の検査法等に関する調査研究 (食品)  
Studies on the development of analytical method for residual contaminants in animal and marine foods
30. 食品等の安全性評価手法の開発に関する基礎的研究 (食品)  
Development of methods to assess the safety of foods
31. 農薬の分解・代謝に関する調査研究 (食品, 情報)  
Study on decomposition and metabolism of pesticides
32. 農薬の分解・代謝物の安全性評価法研究 (センター長)  
Study on methodologies for safety evaluation of degradation products and metabolites of agrochemicals
33. 農薬の分解・代謝物の生体内運命及び化学構造と毒性の相関性に関する研究 (薬理)  
Studies on toxicokinetics and structure-toxicity relationships of decomposed and/or



- metabolized substances of insecticides
34. バイオテクノロジー応用医薬品の品質と安全性の評価に関する研究 (センター長, 生物)  
Study on quality and safety evaluation of biotechnologically-derived pharmaceuticals
35. 医薬品等に係る指定検査機関に対する信頼性保証制度の確立に関する研究 (支菜, 薬品)  
Studies on the establishment of a reliability assurance system for designated testing laboratories
36. インスリン製剤のHPLC試験法の開発研究 (生物, 支菜, 支生)  
Development of high performance liquid Chromatographic assay methodology for insulin preparations
37. 化粧品用界面活性剤, 油脂等の規格整備に関する研究 (環境)  
Study on the standards for surface active agents, oils and fats for cosmetics
38. ハカマオニゲシの簡易識別法に関する研究 (筑植)  
Establishment of a simple method for distinguishing *Papaver bracteatum* Lindl., *P. orientale* L. and *P. pseudo-orientale* Fedde.
39. 医薬品の同等性試験ガイドラインの見直しに関する研究 (薬品)  
Review of the guideline for bioequivalence tests
40. 老年性疾患に用いられる漢方々剤構成生薬の品質改善に関する研究 (北植)  
Studies on quality improvement of crude drugs contained in kampo prescriptions for geriatric diseases
41. 画像処理法による好塩基球細胞株のカルシウム動態の解析 (機能)  
Analysis of calcium signals in rat basophilic leukemia cells using a digital imaging fluorescence microscope
42. 熱帯病治療薬の開発研究 (薬品)  
Development of drugs for tropical diseases
43. 医薬品等化学物質の毒性評価のための試験法と基準の整備に関する研究 (情報)  
Development of testing methods and guidelines for toxicity assessment of chemicals including pharmaceutical drugs
44. 残留農薬安全対策総合調査研究 (センター長, 薬理, 食品, 情報)  
Integrated study for safety control of pesticide residues
45. 蛍光試薬を用いた新しい細胞毒性研究法の開発研究 (病理)  
Development of study methods using fluorescent probes in cellular toxicology
46. 農作物中の残留農薬およびその代謝物, 分解物の分析法に関する研究 (食品, 支食)  
Study on determination methods of pesticide, its metabolites and its decomposed compounds from agricultural products
47. 輸入食品の安全性確保に関する研究 (支食)  
Study on maintenance of imported food safety
48. 化学的合成品以外の食品添加物成分の同定に関する研究 (支食)  
Identification methods for natural food additive in food products
49. 培養細胞を用いたペプチドホルモンの *in vitro* バイオアッセイ法の開発 (支生)  
Development of an *in vitro* bioassay method for peptide hormone using cell culture
50. 食鳥の微生物制御に関する調査研究 (衛微)  
Study on the technology for microbiological control of poultry meats
51. 卵のサルモネラ汚染に関する調査研究 (衛微)  
Study on the incidence of *Salmonella* in freshly shelled eggs and egg products
52. 輸入農作物のアフラトキシン汚染と減毒に関する研究 (衛微)  
Detection and detoxication of aflatoxin in imported agricultural commodities
- 科学研究費補助金 (文部省)**
1. コホート研究による発がん要因の評価に関する研究 (センター長)  
Assessment of carcinogenic risks using cohort study in human cancers
  2. 植物バイオサイエンス分野における日仏国際共同研究 (筑植)  
Cooperative research in the field of plant bioscience between Japan and France
  3. 生物活性金属錯体の薬学的研究 (食添)  
Research on metal complexes with biological

activity

4. 膵の多段階発がんに対する制御機構に関する研究 (病理)  
Studies on mechanism controlling tumor development in multi-stage pancreatic carcinogenesis
5. 薬学用語標準化の調査研究 (薬品)  
Study on the standardization of Japanese pharmaceutical terms
6. 生物活性金属錯体の薬学的研究 (食添)  
Studies on biologically active metal complexes
7. 成長ホルモンによる免疫機能の調節に関する研究 (薬品)  
Studies on the regulation of immune functions by growth hormone
8. 脱顆粒反応における蛋白質チロシンリン酸化及び脱リン酸化の意義について (機能)  
Role of protein tyrosine phosphorylation and dephosphorylation in histamine release from basophils
9. *Fusarium moniliforme* の毒性学的研究 (衛微)  
Toxicological study on *Fusarium moniliforme*

#### がん研究助成金 (厚生省)

1. 複数発がん要因によるリスク評価の基礎的研究 (センター長, 病理, 変異)  
Basic study on risk evaluation by multiple carcinogenic factors Fundamental studies on multiple carcinogenic factors in human risk evaluation
2. 環境化学物質による発がん修飾の評価に関する研究 (センター長, 病理, 有機)  
Study on evaluation of modification of carcinogenesis by environmental chemicals
3. 体内ニトロソ化合物の発がん影響に関する研究 (毒性, 薬理)  
Studies on carcinogenic effect of nitroso compounds formed in the body
4. 環境化学物質による活性酸素の関与した発がんとその修飾 (毒性)  
Oxy radical-mediated carcinogenesis and its modification by environmental chemicals
5. 食品に含まれる要因による消化器がん発生の修飾の研究 (病理)  
Studies on modification of carcinogenesis in digestive organs by various factors in foods
6. がん予防及びがん対策を指向したがん情報ネットワークに関する研究 (センター長)  
Construction of an information network for primary cancer prevention
7. 発がん物質による生体影響の定量的解析 (環境)  
Studies on the quantitative analysis of carcinogenic pollutants in drinking water

#### 乱用薬物基礎研究

1. 薬物乱用, 特に市販配合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 (センター長, 毒性, 薬品, 有機機能)  
Study on dependence, behavior and biological effects of drug abuse, especially multi-drug abuse

#### 家庭用品等試験検査費 (厚生省生活衛生局)

1. ジメチルジチオカルバミン酸亜鉛のラットに対する催奇形性試験 (支生)  
Teratogenic evaluation of zinc dimethyl-dithiocarbamate in rats

#### 食品等試験検査費

1. 食品添加物の有用性に関する研究 (食添, 支食)  
Study on efficacy of food additives
2. 食用タール色素の製品検査法の開発に関する研究 (食添, 支食)  
Establishment and improvement of quality control methods for food colors
3. 器具・容器包装から溶出したフェノールの測定における4-アミノアンチピリン法の応用 (食添)  
Application of 4-aminoantipyrine method to determine phenol released from plastic wares
4. 水道水中低沸点有機ハロゲン化合物の分析方法の開発 (環境)  
Establishment of analytical methods for volatile organic halides in drinking water
5. 日本人の食品添加物の一日摂取量調査に関する研究 (支食)  
Estimation of daily intake of food additives based on market basket studies in Japan
6. 食品由来成分の含有量実態調査研究 (支食)  
Investigation on some compounds originating

in various natural foods

7. 残留農薬の多成分分析法の確立 (支食, 食品)  
Establishment of systematic analytical methods for multipesticidal residue
8. 農作物のポストハーベスト農薬の保存, 加工および調理における消長に関する研究 (食品, 支食)  
Decrease of post-harvest pesticides contained in agricultural products in the process of storing, manufacturing and cooking
9. L-トリプトファン製品による EMS (食添)  
EMS associated with ingestion of L-tryptophan
10. スチレンを原料とするプラスチック製食器中の揮発性物質と溶出物の分析 (食添)  
Analysis of volatile substances and migrants in polystyrene tableware
11. 調理用器具からの鉛とカドミウムの溶出 (食添)  
Migration of lead and cadmium from ceramic cookware

#### その他

1. 家庭環境の整備に関する研究 (環境) 公害健康被害補償予防協会  
Study on improvement of home environment
2. 肺の線維過程における細胞増殖癌化機構に関する研究 (病理) 喫煙科学研究財団研究助成金  
Studies on mechanism of cell proliferation and carcinogenesis in the process of pulmonary fibrosis

#### 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)

1. ニューロ・トロフィック・ファクターレセプター等の分離技術および機能の解析技術の開発 (機能)  
Development of methods for isolation and functional analysis of neurotrophic factor receptors
2. ニューロ・サーキット同時多点解析法等を用いる神経栄養因子とモデュレータの機能評価法の開発 (薬理)  
Development of an evaluating method for the effects of neurotrophic factors and modulators on neurocircuit using a real-time multi-point quantitative monitoring of intracellular free calcium ion

3. ニューロ・トロフィック・ファクターによる神経細胞老化抑制に関する研究 (センター長)  
Inhibitory effects of neurotrophic factors on neuronal aging
4. DNA 診断に有用な制限酵素の開発 (衛微)  
Screening of restriction endonucleases useful for DNA diagnosis
5. 形質転換を用いた薬用植物の高度環境制御システム下での特性解析 (筑植)  
Identification of morphological and chemical characteristics of transgenic plants cultivated under artificial system
6. バイオテクノロジーによる薬用植物生成物の医薬利用に関する研究 (生薬)  
Study on application of medicinal plant components produced by biotechnology to medicines
7. 医薬品等の有効性および安全性検索法としての培養実験系の確立とその評価に関する研究 (薬理)  
Studies on the development of screening methods for determining the efficacy and safety of drugs using culture systems and their evaluation
8. 変異原性試験に有用な高感受性テスト細胞の開発に関する研究 (変異)  
Development of sensitive tester cells useful for mutagenicity tests
9. 代謝試験への生理学的速度論の導入に関する研究 (代謝)  
Application of physiologically-based pharmacokinetic modeling to pharmacokinetics and metabolic studies
10. 皮膚適用化学物質の生体影響評価に関する基礎研究 (環境, 支生)  
Fundamental studies on evaluation of biological effects of chemical substances applied to the skin
11. エリスロポエチン (EPO) 等の力価試験法の標準化に関する研究 (生物)  
Standardization of bioassay methods for biotechnologically produced drugs like erythropoietins
12. バイオテクノロジーを用いて作られる食品中の成分の安全性評価方法の開発研究 (食品)

- Development of methods to assess the safety of components in foods produced through biotechnology
- 13. 食品添加物等のバイオテクノロジーの利用による作出生産物の化学的評価法の開発 (食添)  
Development of methods for chemical assessment of food additives produced through biotechnology
- 14. 生分解性高分子を利用した放出制御機能の設計とその安定性に関する研究 (薬品)  
Design of controlled-release systems using biodegradable polymers and stability study of their physicochemical properties
- 15. 高分子材料利用製剤の生物薬剤学的評価技術に関する研究 (薬品)  
Biopharmaceutical evaluation of the *in vitro* and *in vivo* performance of dosage forms formulated with various type of polymer substances
- 16. キトサンとその誘導体の高分子特性評価法とその製剤への利用技術の開発に関する研究 (支薬)  
Characterization of chitosan and its derivatives and their application to drug formulations
- 17. 低分子化ヘパリンの抗凝血活性の評価方法およびその標準化に関する研究 (支薬)  
Studies on standardization of an anti-coagulant activity evaluating method for low molecular weight heparin
- 18. タンパク質ハイブリッド形成法による酵素剤の有用化 (生物)  
Development of useful enzyme for drugs by protein-hybrid formation
- 19. インプラント材料の異形細胞形成能に関する研究 (療品, 毒性)  
Studies on tumorformation by materials for implant
- 20. 血液と接触する膜およびその材料の安全性評価とそれらの技術の応用に関する研究 (支生)  
Studies on safety evaluation methods for hemodialysis membranes and materials and their application
- 21. 多形核白血球の活性酸素産生系機構の解明とこれに影響をおよぼす諸因子に関する研究 (生物)  
Studies on the activation mechanism of super-

oxide-generating system of polymorphonuclear leukocytes

- 22. チトクローム P-450 分子種の組み合わせによるヒト薬物代謝のシュミレーションに関する研究 (薬理)  
Studies on the simulation of human drug metabolism by combination of several species of cytochrome P-450s

Development of methods for chemical assessment of food additives produced through biotechnology

ヒューマンサイエンス振興財団国際共同研究事業

- 1. 新剤形医薬品の評価試験技術の開発 (所長, 支所長, 薬品)  
Development of an evaluation methodology for new pharmaceutical dosage forms
- 2. 薬用資源植物の確保, 開発及び利用 (副所長, 筑植, 生菜, 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)  
Preliminary screening for antiviral AIDS drugs

対がん十カ年総合戦略研究事業

- 1. 生活環境における発がん関連物質の暴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 chemical in the environment
- 2. 生活環境中の発がん関連物質の究極活性物質の生体内生成の究明と安全性評価法の確立に関する研究 (代謝, 有機, 毒性, 変異, 食添, 衛微)  
Development of chemical, biochemical and toxicological methods for safty evaluation of environmental carcinogens; especially of non-genotoxic carcinogens
- 3. 分子疫学による人発がんの研究 (毒性)  
Molecular epidemiologic study for assessing cancer risk at population level

部 名 略 称

薬 品 部	.....	薬品
生 物 薬 品 部	.....	生物
生 薬 部	.....	生菜
療 品 部	.....	療品
環 境 衛 生 化 学 部	.....	環境
食 品 部	.....	食品

食品添加物部	食添	総合評価研究室	評価
有機化学部	有機	大阪支所薬品試験部	支薬
機能生化学部	機能	大阪支所食品試験部	支食
代謝生化学部	代謝	大阪支所生物試験部	支生
衛生微生物部	衛微	北海道薬用植物栽培試験場	北植
化学物質情報部	情報	筑波薬用植物栽培試験場	筑植
毒性部	毒性	伊豆薬用植物栽培試験場	伊植
薬理部	薬理	和歌山薬用植物栽培試験場	和植
病理部	病理	種子島薬用植物栽培試験場	種植
変異遺伝部	変異		

## 国家検定および検査等の処理状況

## Survey of the Results of National Tests

平成3年度の検定検査等の処理状況は次のとおりである。

区 分	平成3年度処理件数			対前年度 増減数	対前年度 増減率
	東 京	大 阪	合 計		
国 家 検 定	( 0) 0	( 147) 60	( 147) 60	△ 87	△ 59.18
国 家 検 査	( 0) 0	( 106) 77	( 106) 77	△ 29	△ 27.36
製 品 検 査	( 22) 0	( 836) 835	( 858) 835	△ 23	△ 2.68
特 別 審 査 試 験	( 219) 172	( 0) 0	( 219) 172	△ 47	21.46
特 別 行 政 試 験	( 75) 76	( 12) 11	( 87) 87	0	—
一 斉 取 締 試 験	( 197) 179	( 55) 40	( 252) 219	△ 33	△ 13.10
輸 入 食 品 検 査	( 20) 0	( 9) 12	( 29) 12	△ 17	△ 58.62
一 般 依 頼 試 験	( 2) 2	( 0) 0	( 2) 2	0	—
合 計	( 535) 429	( 1,165) 1,035	( 1,700) 1,464	△ 236	△ 13.88

( ) 内数字は平成2年度処理件数

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。

- 平成3年度国家検定品目別月別判定別件数  
実績表…………… 306頁
- 平成3年度国家検査品目別月別判定別件数  
実績表…………… 306頁
- 平成3年度製品検査月別判定別件数実績表… 308頁

- 平成3年度特別審査試験月別判定別件数  
実績表…………… 308頁
- 平成3年度輸入食品検査月別判定別件数  
実績表…………… 308頁
- 平成3年度特別行政試験実績表…………… 309頁
- 平成3年度一斉取締試験判定別件数実績表… 309頁

## 平成3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		
ヒト結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0
生成成ヒトインスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0
生成成ヒト中性インスリン注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0
半合成ヒト結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	2	—	2	0	—	0	1	—	1	0	—	0	2	—	2	—	2
半合成ヒト二相性インスリン注射液	大阪	1	—	1	2	—	2	2	—	2	4	—	4	6	—	6	1	—	1	—	1
半合成ヒトインスリン水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	1	—	1	1	—	1	2	—	2	1	—	1	—	0
計		1	—	1	4	—	4	3	—	3	6	—	6	8	—	8	4	—	4	—	4

## 平成3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	8	—	8	6	—	6	8	—	8	2	—	2	10	—	10	1	—	1	—	1	
内訳	内容量 100 ml 未満	大阪	6	—	6	4	—	4	4	—	4	1	—	1	0	—	0	1	—	1	—	1
	内容量 100 ml 以上	大阪	2	—	2	2	—	2	4	—	4	1	—	1	10	—	10	0	—	0	—	0
結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	—	0	
インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	1	—	1	0	—	0	0	—	0	1	—	1	1	—	1	0	—	0	—	0	
インシュリン注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	—	0	
プロタミンインスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	—	0	
無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	—	0	
イソファンインスリン水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	1	1	—	1	0	—	0	—	0	
リンゲル液	大阪	0	—	0	1	—	1	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	—	0	
計		9	—	9	7	—	7	8	—	8	4	—	4	12	—	12	1	—	1	—	1	

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
0	—	0	2	—	2	1	—	1	1	—	1	0	—	0	0	—	0	4	—	4
0	—	0	4	—	4	2	—	2	0	—	0	0	—	0	0	—	0	6	—	6
0	—	0	2	—	2	0	—	0	1	—	1	0	—	0	1	—	1	4	—	4
0	—	0	2	—	2	0	—	0	0	—	0	1	—	1	0	—	0	8	—	8
4	—	4	2	—	2	1	—	1	4	—	4	1	—	1	1	—	1	29	—	29
0	—	0	2	—	2	0	—	0	1	—	1	1	—	1	0	—	0	9	—	9
4	—	4	14	—	14	4	—	4	7	—	7	3	—	3	2	—	2	60	—	60

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
3	—	3	4	—	4	3	—	3	3	—	3	5	—	5	5	—	5	58	—	58
0	—	0	4	—	4	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	20	—	20
3	—	3	0	—	0	3	—	3	3	—	3	5	—	5	5	—	5	38	—	38
0	—	0	0	—	0	1	—	1	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	1
1	—	1	0	—	0	1	—	1	1	—	1	0	—	0	0	—	0	6	—	6
2	—	2	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	2	—	2	4	—	4
0	—	0	1	—	1	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	1
0	—	0	0	—	0	1	—	1	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	1
0	—	0	1	—	1	0	—	0	1	—	1	1	—	1	0	—	0	5	—	5
0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	1
6	—	6	6	—	6	6	—	6	5	—	5	6	—	6	7	—	7	77	—	77



## 平成3年度製品検査月別

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東 京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大 阪	96	—	96	55	—	55	71	—	71	59	—	59	82	—	82	68	—	68
計	96	—	96	55	—	55	71	—	71	59	—	59	82	—	82	68	—	68

## 平成3年度特別審査試験月別

区 分	4 月			5 月			6 月			7 月			8 月			9 月		
	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計
東 京	18	—	18	15	—	15	30	—	30	26	—	26	17	—	17	11	—	11
試 験 件 数	26	—	26	21	—	21	30	—	30	30	—	30	22	—	22	17	—	17

## 平成3年度輸入食品検査月別判定別件数実績表

区 分	4 月		7 月		11 月		12 月		1 月		合 格		試 験 件 数
	無判定	計	無判定	計	無判定	計	無判定	計	無判定	計	無判定	計	
農産物 大阪	—	—	—	—	4	4	—	—	1	1	5	5	6
水産物 大阪	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	1	1	1
添加物 大阪	—	—	—	—	—	—	2	2	—	—	2	2	8
酒精飲料 大阪	4	4	—	—	—	—	—	—	—	—	4	4	4
合 格	4	4	1	1	4	4	2	2	1	1	12	12	19

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
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
82	—	82	60	—	60	59	—	59	70	—	70	53	—	53	80	—	80	835	—	835
82	—	82	60	—	60	59	—	59	70	—	70	53	—	53	80	—	80	835	—	835

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
19	—	19	—	—	—	18	—	18	12	—	12	1	—	1	5	—	5	172	—	172
21	—	21	—	—	—	19	—	19	17	—	17	1	—	1	5	—	5	209	—	209

平成3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. 輸液製剤の試験について	11	支所生物試験部
	2. 医薬品等の試験について	4	薬品部
麻 薬 課	1. 輸入生あへんのモルヒネ含有率試験について	72	薬品部
合 計		87	東 京 76件 大 阪 11件

平成3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	179	0	0	179
大 阪	40	0	0	40
合 計	219	0	0	219

## 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4年4月1日現在)

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	アスコルビン酸	1g入り 1本	16,600	・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入り 1本	12,300	・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入り 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、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	エストリオール	100mg入り 1本	11,000	・エストリオールの確認試験および定量法
5	エピチオスタノール	100mg入り 1本	9,400	・メピチオスタンの定量法
6	エルゴカルシフェロール	100mg入り 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
7	塩酸チアミン	1g入り 1本	15,900	・塩酸チアミン、同散、同注射液の定量法、硝酸チアミン、乾燥酵母の定量法
8	塩酸ピリドキシン	200mg入り 1本	19,900	・塩酸ピリドキシン注射液の定量法
9	エンドトキシン	2 $\mu$ g入り 1本	15,700	・注射用水のエンドトキシン試験
10	含糖ペプシン	5g入り 1本	16,300	・含糖ペプシンの定量法
11	d-カンフル	300mg入り 1本	13,300	・d-カンフルの定量法
12	dL-カンフル	300mg入り 1本	12,200	・dL-カンフルの定量法
13	吉草酸ベタメタゾン	100mg入り 1本	14,400	・吉草酸ベタメタゾンの確認試験および定量法
14	ギトキシシン	20mg入り 1本	12,300	・ジゴキシシン、同錠、同注射液の純度試験
15	血清性性腺刺激ホルモン	800単位 2本入り	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
16	コハク酸トコフェロール	150mg入り 1本	13,500	・コハク酸トコフェロールカルシウムの定量法
17	コハク酸ヒドロコルチゾン	100mg入り 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
18	コレカルシフェロール	100mg入り 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
19	酢酸クロルマジノン	100mg入り 1本	12,100	・酢酸クロルマジノンの確認試験および定量法
20	酢酸コルチゾン	100mg入り 1本	12,000	・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
21	酢酸トコフェロール	150mg入り 1本	13,500	・酢酸トコフェロールの確認試験および定量法
22	酢酸ヒドロコルチゾン	100mg入り 1本	12,600	・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
23	酢酸プレドニゾン	100mg入り 1本	12,500	・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
24	シアノコバラミン	200mg入り 1本	11,800	・シアノコバラミン、同注射液の定量法、酢酸ヒドロキソコバラミンの純度試験および定量法
25	ジギタリス	1g入り 3本	12,100	・ジギタリス、同末の定量法

## 日本薬局方標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
26	ジギトキシン	50mg入り 1本	12,200	円 ・ジギトキシンの確認試験および定量法、同錠の溶出試験、含量均一性試験および定量法
27	シクランデラート	300mg入り 1本	12,400	・シクランデラートの定量法
28	ジクロフェナミド	100mg入り 1本	9,300	・ジクロフェナミド、同錠の定量法
29	ジゴキシン	50mg入り 1本	12,100	・ジゴキシンの確認試験および定量法、同錠の溶出試験、含量均一性試験および定量法、同注射液の定量法
30	酒石酸水素エピネフリン	50mg入り 1本	10,900	・エピネフリン、ノルエピネフリン、同注射液の純度試験
31	酒石酸水素ノルエピネフリン	50mg入り 1本	12,100	・エピネフリン、ノルエピネフリンの純度試験、同注射液の純度試験および定量法
32	ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム	1g入り 1本	12,000	・スクラルファートの定量法
33	G-ストロファンチン	100mg入り 1本	12,600	・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
34	胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位 1本入り	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
35	チロジン	500mg入り 1本	10,700	・バンクレアチンのたん白消化力試験
36	デキサメタゾン	100mg入り 1本	12,500	・デキサメタゾンの確認試験および定量法
37	デスラノシド	100mg入り 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
38	トコフェロール	150mg入り 1本	13,500	・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、酢酸トコフェロールの純度試験
39	トリアムシノロン	100mg入り 1本	12,600	・トリアムシノロンの確認試験および定量法
40	トリアムシノロンアセトニド	100mg入り 1本	12,500	・トリアムシノロンアセトニドの確認試験および定量法
41	トルナフタート	200mg入り 1本	12,500	・トルナフタートの確認試験および定量法、同液の定量法
42	トロンビン	500単位 2本入り	29,500	・トロンビンの定量法
43	ニコチン酸	500mg入り 1本	13,200	・ニコチン酸注射液の定量法
44	ニコチン酸アミド	500mg入り 1本	14,300	・ニコチン酸アミド注射液の定量法
45	脳下垂体後葉	20mg入り 2本	12,300	・オキシトシン注射液、バソプレシン注射液の純度試験および定量法
46	薄層クロマトグラフ用 酢酸レチノール	10,000単位入り 10カプセル	3,550	・酢酸レチノール、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
47	薄層クロマトグラフ用 パルミチン酸レチノール	10,000単位入り 10カプセル	3,500	・酢酸レチノール、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
48	パラアミノベンゾイルグルタミン酸	500mg入り 1本	23,200	・葉酸の純度試験
49	ヒドロクロロチアジド	100mg入り 1本	11,900	・ヒドロクロロチアジドの定量法
50	ヒドロコルチゾン	100mg入り 1本	12,500	・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
51	フルオシノニド	100mg入り 1本	14,400	・フルオシノニドの確認試験および定量法
52	フルオシノロンアセトニド	50mg入り 1本	12,300	・フルオシノロンアセトニドの定量法
53	プレドニゾン	100mg入り 1本	12,300	・プレドニゾンの確認試験および定量法、同錠の確認試験、溶出試験および含量均一性試験

## 日本薬局方標準品

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
54	プロゲステロン	50mg入り1本	12,200	・プロゲステロンの確認試験
55	プロピオン酸ベクロメタゾン	100mg入り1本	15,600	・プロピオン酸ベクロメタゾンの確認試験および定量法
56	ベタメタゾン	100mg入り1本	12,500	・ベタメタゾンの確認試験および定量法
57	ヘパリンナトリウム	1,200単位1本入り	22,500	・ヘパリンナトリウム、同注射液の定量法、硫酸プロタミンおよび同注射液の抗ヘパリン試験
58	マレイン酸エルゴメトリン	50mg入り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
59	メストラノール	100mg入り1本	11,700	・メストラノールの確認試験および定量法
60	メチルジゴキシン	50mg入り1本	10,600	・メチルジゴキシンの確認試験および定量法
61	メトキサレン	200mg入り1本	11,700	・メトキサレンの定量法
62	メトトレキサート	200mg入り1本	18,500	・メトトレキサートの確認試験および定量法
63	葉酸	500mg入り1本	14,400	・葉酸、同錠、同注射液の定量法
64	ラナトシドC	100mg入り1本	12,400	・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
65	リポフラビン	200mg入り1本	16,300	・リポフラビンおよび同散の定量法、リン酸リポフラビンナトリウム、同注射液の定量法
66	硫酸プロタミン	100mg入り1本	22,100	・イソフェンインスリン水性懸濁注射液の純度試験
67	リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム	100mg入り1本	11,600	・リン酸ヒドロコルチゾンナトリウムの確認試験および定量法
68	リン酸ベタメタゾンナトリウム	100mg入り1本	12,100	・リン酸ベタメタゾンナトリウムの確認試験および定量法
69	レセルビン	50mg入り1本	24,000	・レセルビン、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）：局方外医薬品

（平成4年4月1日現在）

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
1	アセトアミノフェン	300mg入り1本	13,300	・アセトアミノフェン、その製剤の確認試験および定量法
2	インドシアニングリーン	300mg入り1本	12,300	・インドシアニングリーンおよびその製剤の定量法
3	ウロキナーゼ	1,000単位 1本入り	15,400	・ウロキナーゼおよびその製剤の定量法
4	エストラジオール	50mg入り 1本	12,300	・エストラジオールおよびその製剤の純度試験
5	エストロン	50mg入り 1本	12,400	・エストロンおよびその製剤の確認試験および定量法
6	塩酸チアミン液	1mg入り 10本	8,500	・チアミンおよびその製剤の定量法
7	エテンザミド	300mg入り1本	12,900	・エテンザミド、その製剤の確認試験および定量法
8	カリジノゲナーゼ	100単位 1本入り	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
9	吉草酸ジフルコルトロン	100mg入り1本	12,000	・吉草酸ジフルコルトロンおよびその製剤の定量法
10	高分子量ウロキナーゼ	800単仕 1本入り	17,300	・ウロキナーゼ、その製剤の確認試験および定量法
11	酢酸デキサメタゾン	100mg入り1本	15,600	・酢酸デキサメタゾンおよびその製剤の定量法
12	低分子量ヘパリン	10mg入り 1本	23,000	・低分子量ヘパリン、その製剤の確認試験および定量法
13	テオブロミン	100mg入り1本	9,000	・ベントキシフィリンの純度試験
14	ヒアルロニダーゼ	500mg入り1本	14,600	・注射用ヒアルロニダーゼの定量法
15	ブリミドン	300mg入り1本	13,300	・ブリミドン、その製剤の確認試験および定量法
16	フルオロメトロン	100mg入り1本	15,600	・フルオロメトロンおよびその製剤の定量法
17	フルドロキシコルチド	100mg入り1本	15,600	・フルドロキシコルチドおよびその製剤の定量法
18	プロピオン酸テストステロン	50mg入り 1本	12,100	・プロピオン酸テストステロンおよびその製剤の定量法
19	マレイン酸メチルエルゴメトリン	50mg入り 1本	12,100	・マレイン酸メチルエルゴメトリンの定量法
20	融点測定用 アセトアリニド、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入り 6本	39,200	・融点測定用温度計、同装置の補正
21	酪酸ヒドロコルチゾン	100mg入り1本	15,600	・酪酸ヒドロコルチゾンおよびその製剤の定量法
22	リゾチーム	500mg入り1本	21,000	・リゾチーム製品の定量法
23	リン酸デキサメタゾンナトリウム	100mg入り1本	11,700	・リン酸デキサメタゾンナトリウムおよびその製剤の定量法
24	リン酸ヒスタミン	50mg入り 1本	10,300	・ヒスタミン試験
25	リン酸ブレドニゾロンナトリウム	100mg入り1本	11,700	・リン酸ブレドニゾロンナトリウムおよびその製剤の定量法

## 国立衛生試験所標準品(色素試験用標準品)

(平成4年4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入り 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入り 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	アゾルピンエキストラ	1g入り 1本	2,700	・粘膜以外医薬品,化粧品および製剤中のアゾルピンエキストラの確認試験
4	アマランス	1g入り 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	アルラレッドAC	1g入り 1本	4,500	・食品,医薬品,化粧品および製剤中のアルラレッドACの確認試験
6	インジゴ	1g入り 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
7	インジゴカルミン	1g入り 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
8	エオシン	1g入り 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
9	エリスロシン	1g入り 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
10	オイルエローAB	1g入り 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
11	オイルエローOB	1g入り 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
12	オイルオレンジSS	1g入り 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
13	オイルレッドXO	1g入り 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
14	オレンジI	1g入り 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
15	オレンジII	1g入り 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
16	ギネアグリーンB	1g入り 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
17	サンセットエローFCF	1g入り 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
18	タートラジン	1g入り 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
19	テトラクロルテトラブロムフルオレセイン	1g入り 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ロムフルオレセインの確認試験
20	テトラブロムフルオレセイン	1g入り 1本	2,900	・外用医薬品,化粧品および製剤中のテトラブロムフルオレセインの確認試験
21	トルイジンレッド	1g入り 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
22	ナフトールエローS	1g入り 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Sの確認試験
23	ニューコクシン	1g入り 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
24	パーマメントオレンジ	1g入り 1本	2,400	・外用医薬品,化粧品および製剤中のパーマメントオレンジの確認試験
25	ハンサエロー	1g入り 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
26	ファストグリーンFCF	1g入り 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

国立衛生試験所標準品（色素試験用標準品）

（平成4年4月1日現在）

	標準品名	包装単位	価格	使用目的
27	ファストレッド S	1g入り 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
28	ブリリアントブルー FCF	1g入り 1本	2,800	・食品、医薬品、化粧品および製剤中のブリリアントブルー FCFの確認試験
29	フルオレセイン	1g入り 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
30	フロキシシン	1g入り 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
31	ボンソー R	1g入り 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
32	ボンソー SX	1g入り 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
33	ボンソー 3R	1g入り 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
34	リソールルピン BCA	1g入り 1本	2,800	・外用医薬品、化粧品および製剤中のリソールルピンBCAの確認試験
35	レーキレッド C	1g入り 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
36	レーキレッド CBA	1g入り 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
37	レーキレッド DBA	1g入り 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
38	ローズベンガル	1g入り 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



## 平成3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	106	200	219	0	87	
安息香酸エストラジオール	11	0	4	0	7	
インスリン	106	0	29	0	77	
インドシアニングリーン	0	20	0	0	20	
ウロキナーゼ	85	100	107	0	78	
エストラジオール	26	0	6	0	20	
エストリオール	16	0	6	0	10	
エストロン	38	0	0	0	38	
エピチオスタノール	20	0	5	0	15	
エルゴカルシフェロール	95	0	93	0	2	
塩酸チアミン	135	205	223	0	117	
塩酸チアミン液	22	0	4	1	17	
塩酸ピリドキシン	68	424	305	1	186	
エンドトキシン	311	600	752	1	158	
カリジノゲナーゼ	81	100	98	0	83	
含糖ペプシン	50	50	34	0	66	
d-カンフル	0	155	43	0	112	
dl-カンフル	0	154	101	0	53	
吉草酸ジフルコルトロン	48	0	1	0	47	
吉草酸ベタメタゾン	36	50	31	0	55	
ギトキシン	36	0	5	0	31	
血清性性腺刺激ホルモン	89	0	21	0	68	
コハク酸トコフェロール	28	50	62	0	16	
コハク酸ヒドロコルチゾン	12	50	9	0	53	
コレカルシフェロール	102	100	151	0	51	
酢酸クロルマジノン	39	100	29	0	110	
酢酸コルチゾン	57	44	10	0	91	
酢酸デキサメタゾン	48	0	2	0	46	
酢酸トコフェロール	139	480	559	0	60	
酢酸ヒドロコルチゾン	49	50	58	0	41	
酢酸プレドニゾン	24	50	39	1	34	
シアノコバラミン	8	460	361	0	107	
ジギタリス	15	0	0	0	15	
ジギトキシン	47	50	44	0	53	
シクランデラート	0	20	11	0	9	
ジクロフェナミド	20	0	5	0	15	
ジゴキシン	45	0	12	0	33	
酒石酸水素エピネフリン	73	0	3	0	70	
酒石酸水素ノルエピネフリン	57	0	2	0	55	
ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム	0	20	17	0	3	
G-ストロファンチン	26	0	0	0	26	
胎盤性性腺刺激ホルモン	80	100	93	1	86	
チロジン	80	100	147	0	33	
テオプロミン	20	0	0	0	20	
デキサメタゾン	45	0	35	1	9	

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	
デスラノシド	48	0	6	0	42	
トコフェロール	51	277	240	0	88	
トリアムシノロン	32	0	4	0	28	
トリアムシノロンアセトニド	47	0	11	0	36	
トルナフタート	0	20	16	0	4	
トロンビン	69	100	116	3	50	
ニコチン酸	40	0	18	0	22	
ニコチン酸アミド	127	150	184	0	93	
脳下垂体後葉	35	0	19	0	16	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	48	0	26	0	22	
薄層クロマトグラフ用バルミチン酸レチノール	45	0	25	0	20	
パラアミノペンゾイルグルタミン酸	22	0	5	0	17	
ヒアルロニダーゼ	12	0	10	0	2	
ヒドロクロロチアジド	66	0	17	0	49	
ヒドロコルチゾン	57	0	35	0	22	
フルオシノニド	18	0	4	0	14	
フルオシノロンアセトニド	12	50	48	0	14	
フルオロメトロン	48	0	1	0	47	
フルドロキシコルチド	50	0	1	0	49	
ブレドニゾロン	17	60	59	0	18	
プロゲステロン	18	0	4	0	14	
プロピオン酸テストステロン	17	0	0	0	17	
プロピオン酸ベクロメタゾン	43	0	16	0	27	
ベタメタゾン	77	0	31	0	46	
ヘパリンナトリウム	159	0	78	0	81	
マレイン酸エルゴメトリン	56	0	20	0	36	
マレイン酸メチルエルゴメトリン	18	0	7	0	11	
メストラノール	49	0	3	0	46	
メチルジゴキシン	50	0	2	0	48	
メトキサレン	0	20	0	0	20	
メトトレキサート	28	0	2	0	26	
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)	57	0	15	0	42	
葉酸	96	0	74	0	22	
酪酸ヒドロコルチゾン	43	0	0	0	43	
ラナトシドC	36	0	8	0	28	
リゾチーム	48	351	326	0	73	
リポフラビン	53	400	387	1	65	
硫酸プロタミン	34	0	0	0	34	
リン酸デキサメタゾンナトリウム	45	0	21	0	24	
リン酸ヒスタミン	92	0	19	0	73	
リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム	45	0	34	0	11	
リン酸ブレドニゾロンナトリウム	50	0	0	0	50	
リン酸ベタメタゾンナトリウム	47	0	34	0	13	
レセルピン	8	50	19	0	39	
計	4,406	5,210	5,681	10	3,925	

## (色素試験用標準品)

色素試験用標準品	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	71	0	0	0	71	
アシッドレッド	0	0	0	0	0	
アゾルビンエキストラ	73	0	0	0	73	
アマランス	451	0	3	0	448	
インジゴ	129	0	1	0	128	
インジゴカルミン	0	0	0	0	0	
エオシン	115	0	0	0	115	
エリスロシン 赤3号	0	500	7	0	493	
オイルエローAB	217	0	0	0	217	
オイルエローOB	226	0	1	0	225	
オイルオレンジSS	223	0	0	1	223	
オイルレッドXO	201	0	0	0	201	
オレンジI	272	0	0	0	272	
オレンジII	154	0	0	0	154	
ギネアグリーンB	66	0	0	0	66	
サンセットエローFCF	0	0	0	0	0	
タートラジン 黄4号	0	50	9	0	41	
テトラクロルテトラブロムフル フルオレセイン	149	0	0	0	149	
テトラブロムフルオレセイン	110	0	1	0	110	
トルイジンレッド	76	0	0	0	76	
ナフトールエローS	141	0	1	0	140	
ニューコクシン	0	0	0	0	0	
パーマネントオレンジ	28	0	0	0	28	
ハンサエロー	72	0	0	0	72	
ファストグリーンFCF	10	0	5	0	5	
ファストレッドS	196	0	0	0	196	
ブリリアントブルーFCF 青1号	0	500	16	0	484	
フルオレセイン	185	0	0	0	185	
フロキシソ	332	0	6	0	326	
ボンソーR	245	0	0	0	245	
ボンソーSX	146	0	0	0	146	
ボンソー3R	155	0	0	0	155	
リソールルビンBCA	359	0	1	0	358	
レーキレッドC	384	0	0	0	384	
レーキレッドCBA	119	0	0	0	115	
レーキレッドDBA	159	0	0	0	159	
ローズベンガル	0	0	0	0	0	
色素標準品計	5,064	1,050	51	0	6,063	
合計	9,470	6,260	5,732	10	9,988	

## 衛生試験所報告第110号キーワード索引 (アルファベット順)

## A

accumulation 215  
5'-acetyl-3'-deoxyadenosine 197  
acetonitrile 73  
acetyltransferase 246  
acid red 132  
acridine orange supravital staining 226  
acridine orange 228  
activated macrophage 215  
acute toxicity 37  
adaptive response 225  
adhesive 22, 198  
ADI 249  
adipose conversion 194  
 $\beta$ -adrenoceptor inhibition 197  
adventitious root 237  
aflatoxin B1 217  
Ag 204  
AIDS 88  
air 200  
aldehyde reductase 195  
aldose reductase 195  
aldose reductase inhibitor 195  
Alismatis Rhizoma 239  
allergic contact dermatitis 198  
Armoracia rusticana 206  
alternative method 244  
Ames test 225, 226  
amelanotic melanoma 223  
amino acid chromatography 231  
amino acid in JP XI 231  
androgen 245  
androgenic-anabolic steroid 245  
aneuploid 247  
Angelica acutiloba 250  
anionic impurity 203, 204  
anion 234  
anorexic 67  
anti-HIV drug 88  
antiemetic 239  
anti caries-inducing bacterium component 241  
anti-coagulant activity 249  
antiinflammatory effect 197  
antimicrobial activity 241  
antipyretic effect 235  
Araliaceae 239  
aromatic amine 246  
arsenic 204  
artificial dye 234  
artificial seed 237  
aspergilloma 213

assay of lysozyme 195  
atomic absorption spectrometry 124  
atomic emission detector 242  
ATP 217, 235  
ATP bioluminescence 250  
ATP receptor 244  
ATP receptor blocker 217  
Au 204  
authorization 107, 110, 113, 116, 119  
automation 247

## B

B6C3F1 mouse 42  
bacterial endotoxin 235  
baculovirus system 195  
BALB/3T3 cell 229  
Bayes' theorem 230  
bath material 238  
B. cereus 211  
behavioral toxicity 235, 236  
benzidine 224  
benzo[a]pyrene 208  
beta-oxidation 209  
BHP 220  
bioavailability 191  
biodegradable polymer 80, 239  
biohazard 243  
biomonitoring 227  
biosensor 234  
biostatistics 227  
biotechnologically cultured product 196  
biotechnologically produced drugs 241  
1, 1-bis(t-butylperoxy) 3, 3, 5-trimethyl cyclohexane 42  
bis(2, 3-dibromo-propyl) phosphate 213  
BL 247  
black rubber part for car manufacturing 198  
bladder 224  
bleomycin 228, 230  
blood relationship testing 230  
bone 215  
brain 219  
B. thuringiensis 211  
butyl benzyl phthalate 236  
p-tert-butylphenolformaldehyde resin 22, 198

## C

cadmium 83  
caffeic acid 234  
caffeine 15  
calcium 215  
calcium influx 204

calcium ion 222  
calcium lactate 221  
calcium wave 246  
d-camphor 116  
dl-camphor 116  
cancer risk 245  
Candidal infection 213  
cannabis 240  
canvas shoes 198  
carboxylic acid 192, 193  
carcinogen 245  
carcinogenicity 223, 224  
cathartic 239  
catabolism 210  
catalpa fruit 196  
catalpol 196  
catalposide 196  
catalytic action 195  
catecholamine release 218  
cDNA 216  
cell bank 248  
cell culture 229, 248  
cell culture technology-derived drugs 240  
cell line 248  
cell line list 248  
cell proliferation 37, 214  
cell to cell communication 219  
ceramic ware 206  
cerebellum 219  
CGRP 197  
characterization 229  
characterization of cell lines 240  
ChE activity 215  
Chernobyl 243  
chemiluminescence 216  
cherry 233  
Chinese hamster lung cell 224  
Chinese medicine formulation 239  
chicken 78  
chikusetsusaponin 239  
chiral reagent 1  
chlorophyll 238  
chlorpheniramine maleate 191  
chordoma 245  
chromatography 202  
chromosomal aberration 246  
chronic toxicity 214  
ciprofibrate 214  
clastogenicity 224  
cloning 224  
cloversaponin 206  
coagulation mechanism 249  
coagulating method 201  
coagulation cleanup method 201  
coal-tar dye 128, 234

cocaine 193  
coffee 234  
collaborative study 203, 246  
comment on draft 91  
combined SO<sub>2</sub> 234  
conformational change of polyacrylic acid 230  
contamination 247  
content 249  
control of cell lines 240  
controlled release 191, 239  
copper chlorophyll 124  
crab-eating monkey 214  
criteria document 95  
criminal investigation 248  
cultured cell 204, 205  
cultured root 205  
cyclandelate 191  
cytochalasin B 226  
cytochrome P-450 209  
cytotoxicity 200, 228

#### D

d-tubocurarine 217  
daily intake estimation 205  
daily intakes of food additives 249  
database 102, 213, 247  
Daucus carota 237, 238  
delphinidin-sambubioside 204  
deprenyl 193, 194  
detection of mycoplasma 247  
deterioration 207  
developmental toxicity 236  
di-n-butyltin dichloride 236  
diazepam 218  
p-dichlorobenzene 213  
2, 4-dichlorophenoxyacetic acid 205  
diheptyl phthalate 26  
(E)-1-(3, 4-dimethoxyphenyl)-but-1-ene 197  
7, 12-dimethylbenz[a]anthracene 228  
3, 6-dinitrobenzo[a]pyrene 208  
1, 6-dinitropyrene 7  
dinitropyrene 224  
discriminative analysis 243  
disintegration test 122  
dissolution test 122  
distribution 209, 232  
disulfram 217  
disulfoton 233  
dithiocarbamate-type accelerator 198  
diuretic 239  
divalent cation 230  
DNA binding 7  
DNA fingerprinting 230  
DNA polymorphism 248  
DNA primase 219

DNA probe method 243  
DNA profiling 229, 248  
DNA replication 219  
dopamine release 217  
draft preparation 73  
drug for disease in urinary tract 239  
drug abuse 240  
drug administration 245  
drug disposition 193  
drug stability 240  
drug testing 240  
drug of abuse 240  
dye 131, 132, 134

## E

ECD-GC 201  
EcoO1281 211  
eel growth hormone 194  
electrochemical detection 205  
electronics 246  
electrophoretical examination 104  
electrophysiology 197  
ELISA 238  
embryonic cell 200, 241  
Emericella nidulans 197  
enantiomeric analysis 1, 193  
endogenous N-nitrosation 244  
endotoxin 235, 250  
energy-metabolism 219  
Environmental Health Criteria (EHC) 73, 91, 95,  
213, 241  
environmental chemicals 213  
enzyme 191  
enzyme induction 209  
enzyme-linked immunosorbent assay 209  
ephedrine 1  
epidemiology 240  
error-prone DNA repair 246  
Escherichia coli 210, 211, 225  
esophageal carcinogenesis 246  
ESR 216  
ethanol 214  
ethylating agent 227  
ethylenethiourea 199  
evolution 212  
excretion 232  
expert system 230  
exposure period 48

## F

5-fluorouracil 226  
F344 rat 32, 221, 223  
fact database 248  
familiarization study 216  
fenitrothion poisoning 215

ferric nitrilotriacetate 214  
ferrocyanide 205  
ferulic acid 197  
fish 227  
flame retardant 213  
fluorescence analysis 192, 193  
flowering 53  
food poisoning 243  
food additive 246, 249  
food coal-tar dye 234  
food color 128  
food contact ware 83, 85  
food effect 191  
food safety regulation 242  
food wrapping paper 206, 207  
foreign-body tumorigenesis 198  
forensic analysis 240  
fork medicine 238  
formaldehyde 200, 201  
formaldehyde-donor 201  
free SO<sub>2</sub> 234  
fungi 60  
Fusarium 212  
Fusarium distribution 212

## G

$\gamma$ -ray irradiation 242  
 $\gamma$ -ray-irradiated rice 203  
 $\gamma$ -ray sterilization 199  
gap junction 219  
gas chromatograph 242  
gas chromatography 140, 233, 249  
gas chromatograph-mass spectrometer 231  
GC-MS 135  
genetic code 243  
gene mutation 247  
gene transfer 229  
genotoxicity test 225  
germination 203  
GI tract tumor 213  
giant cell 88  
GLP 240  
gluconic acid 205  
glucose 196  
glutamate release 219  
glutathione 216, 217  
glycerol 228  
glycoalkaloid 204  
gonadal stromal tumor 222  
gouda-type cheese 233  
growth hormone receptor 196  
growth inhibition 207  
GST-P 221  
GST-P-positive foci 224  
guanine adduct 205

guideline 239  
guinea pig 231  
Gunnera manicata 239

## H

hair analysis 193, 240  
hairy root 204, 206, 208, 236, 237, 238  
Haloragaceae 239  
hamster 216, 222  
heart 197  
hematotoxicity 42  
hemolysis 235  
hepatocarcinogenesis 224  
hepatocyte 7, 196, 222  
hepatoma 245  
hepatotoxicity 42, 214  
herbicide 233  
Hibiscus subdariffa 204  
high performance liquid chromatography 1, 78,  
135, 192, 193, 194, 199, 200, 231, 233, 249  
hippocampus 219  
hirstine 218  
historical control 227  
HIV 88  
Hoelen 239  
Hokkai-Touki 250  
HPLC-ICP 204  
human basophile 208  
human cell line 229  
human growth hormone 194  
human lymphocyte 226  
human recombinant enzyme 195  
hyalbidone 237  
8-hydroxydeoxyguanosine 214, 216  
hydrochloride 192  
hydrogen peroxide 234  
hydrolysis 192  
hygienic index 80  
Hyoscyamus albus 237  
Hypericum perforatum 238  
hypoxia 222

## I

IARC 247  
Ibuprofen preparation 122  
ICH 241  
ICP 249  
ICP-AES 205  
ICP-MS 215  
identification 229, 248  
identification of irradiated food 242  
identification test 203  
imported food 140, 243  
in vitro toxicity test method 244  
inactivation 191

incidence 211  
indigo carmine 134  
indium 219  
individual registration 248  
indole-3-acetic acid 196, 205  
indoor air pollution 241  
induction 217  
infection level 211  
information management 243  
information theory 202, 203  
inhalation 213  
INN 244  
inorganic drug 203  
inorganic ion 206  
insect 240  
intake from food 213  
international cooperation 243  
intestinal carcinogenesis 246  
intravenous administration 232  
intravenous self-administration 15  
ion chromatography 203, 234  
IPCS 213, 241  
IRPTC 213  
irradiated food 242  
ischemia 219  
IS10 212  
isoenzyme 223  
isolated hepatocyte 217  
N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine  
198  
isothiocyanate 206  
itraconazole 213

## J

JAN 244  
JP Reference Standard 107, 110, 113, 116, 119  
JSPI (Japanese Standards of Pharmaceutical  
Ingredients) 195

## K

Karl-Fischer method 234  
KDO 210  
kinetics 191  
Ki-ras 220  
kuzusapogenol A 206

## L

LAL test 235  
lanolin 201  
lanthanum 215  
LDH 223  
lead 83, 206  
limbbud 241  
limulus test 250  
lipid peroxidation 222

liquid-liquid extraction 199  
Lithospermum erythrorhizon 237  
liver 37  
LOAEL 48  
Lobelia inflata 236, 238  
long-term use 207  
loss on drying method 234  
low molecular weight heparin 249  
LPS 210  
lung 222  
lysozyme 104, 195

### M

magnificent plant 239  
malondialdehyde 205  
marine cyanobacterium 237, 238  
MDA 199  
medium-term bioassay 224  
medical device 235, 250  
medicinal plant 60, 241  
Meloiodogyne sp. 60  
melamine 207  
melamine ware 207  
membrane suppressor 204  
menadione-resistant subclone 224  
6-mercaptopurine 226  
4,4'-methylenedianiline 199  
O<sub>6</sub>-methylguanine-DNA methyltransferase 225  
metabolic fate 207  
metabolism 209  
metal 205  
metallothionein 209  
methamphetamine 1, 193, 194  
methamphetamine metabolism 214  
methylephedrine 15  
methylnitrosourea 219  
metrachlor 201  
micro bial test 243  
microplate method 88  
micronucleus 225, 226, 227, 248  
micronucleus test 225, 226, 227, 228, 246, 247  
micropropagation 250  
midbrain 241  
modified Rankine method 205  
monkey 200  
monoclonal antibody 209  
monograph 247  
monomer 80, 85  
motor dysfunction 219  
mouse L1210 230  
mouse peroxisomal enzyme 214  
Mucor pusillus rennin 194  
multiple treatment 225  
muscarinic receptor 218  
musk xylene 209

mutagenicity 246  
mutagenicity data 247  
mutagenicity test 246, 247  
mutant cell 230  
mycoplasma 229  
mycotoxin 243  
myeloperoxidase 231

### N

NAA 196  
NADPH-cytochrome P-450 reductase 224  
NADPH-dependent aldehyde reducing enzyme 195  
 $\beta$ -naphthoquinone sulfonate 194  
narcotic 240  
natamycin 233  
natural dye 234  
natural food colorant 204  
natural rubber latex 200, 241  
negative list 249  
neurotransmitter release 244  
new cocchine 131  
nicarbazin 78  
nicardipine 218  
nicotine 217  
nicotinic receptor 218  
NIHS Reference Standard 104  
nitric oxide synthase 215  
nitrite 249  
nitrite trapping 244  
nitroarene 208, 246  
nitroazabenz[a]pyrene 208  
nitropyrene 223  
nitroreductase 246  
nitroreduction 7  
NMR 240  
N-nitrosation 215, 244  
N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) 37  
N-nitrosobis(z-oxyprpryl)amine (BOP) 220, 221  
NOAEL 48  
non-processed food 205  
nonaqueous titration 192  
noradrenarine release 218  
NOx 244  
nucleoside 197

### O

OECD 216  
official inspection 128  
optimization 202, 203  
oral administration 232  
organic base 192  
organic solvent abuse 240  
organic substance 207



organochlorine pesticide 200, 201  
 organophosphorus pesticide 140, 201  
 orthophosphoric acid 249  
 oxazole derivative 195  
 oxidative stress 214

### P

P-450 isozyme 216, 217  
 P1 response 218  
 P2y receptor 219  
 PAM 215  
 Panax pseudo-ginseng var. angustatus 239  
 pancreas 37  
 pancreatic carcinogenesis 220, 221  
 pancreatic carcinoma 220  
 Papaver somniferum 53, 238  
 pathogen survival 212  
 pattern recognition 243  
 PC<sub>12</sub> 217, 218, 244  
 pentaerythritol 32  
 pepsinogen 222  
 peripheral blood 226, 227  
 peripheral-type benzodiazepine receptor 218  
 peroxisome 209  
 pesticide 233, 240, 249  
 pesticide analysis 241  
 pesticide residue 213  
 phosphatidylecholine 210  
 phosphatidylthanolamine 210  
 photodiode array detector 78  
 photoperiod 53  
 Pinelliae Tuber 239  
 pineal gland tumor 223  
 plant tissue culture 250  
 plastic 83  
 poly ADP ribose 230  
 poly( $\beta$ -hydroxybutyrate/ $\beta$ -hydroxyvalerate)  
 192  
 polyacetylene 236, 238  
 polyacrylic acid 228  
 polyamide column 234  
 polycyclic aromatic hydrocarbon 226  
 polyetherurethane 198  
 polyhydric alcohol 228  
 polystyrene 85  
 polyurethane 199  
 post-harvest application 135, 140, 233  
 post-harvest application pesticide 231  
 potassium bromate 216  
 potato 233  
 potency 104  
 prednisolone 113  
 preparatory committee 243  
 preservative 201, 233  
 pretreatment 199

production 128  
 production of *Bupleurum falcatum* 241  
 pSV<sub>2</sub>-neo 229  
 psychotropic substance 240  
 psychrotroph 211  
 purity test 231  
 pyridoxine hydrochloride 107  
 pyrolysate of carbohydrates 220

### Q

quality evaluation 107, 110, 113, 116, 119  
 quinacrine 221

### R

rabbit muscle implantation 200  
 radioactive contamination 243  
 rare earth element 232  
 rare earth metal 215  
 rat 26, 207, 222, 223, 224, 227, 235, 236, 245  
 rat gastric mucosa 222  
 rat liver 221  
 RBL-2H3 cell 208  
 R-core 210  
 recA 246  
 recycle ion chromatography 204  
 reference standard 67  
 registration of journals 102  
 regulatory science 245  
 reinforcing effect 15  
 release 192, 206, 207  
 ReproTox 216  
 residual pesticide 242  
 resource of *Bupleurum falcatum* 241  
 restriction endonuclease 211  
 retention prediction 202, 203  
 retinoid 200  
 review 248  
 Rhei Rhizoma 239  
 rhesus monkey 15  
 risk assessment 213, 245  
 risk assessment on chemicals 243  
 root culture 237

### S

*Saccharomyces cerevisiae* 207  
 safety evaluation 95  
 safety factor 48  
 safty 241  
*Salmonella typhimurium* 225  
*Salvia miltiorrhiza* 237  
 saliva 194  
 salmon growth hormone 194  
 sample size 211  
*Sanguisorba officinalis* 236  
 SAR 230

SBTI 221  
scab causal fungi 212  
scopolamine 209  
screening method 203  
searching for journals 102  
secondary metabolite 250  
secondary metabolites 250  
secretion leader 194  
serum monitoring 199  
sex difference 213  
shikonin 237  
shoot 208  
shoot formation 238  
silicone 198  
simplex optimization 202  
simulation 225  
simultaneous determination 201  
single cell 246  
site-directed mutagenesis 195  
skin lipid 200  
skin tumorigenesis 220  
sodium chloride 222  
sodium copper chlorophyllin 124  
solid phase extraction 199  
Sophora subprostrata 206  
sorbic acid 209  
soybean trypsin inhibitor 220  
spleen 232  
spoilage 211  
spontaneous degeneration 221  
spontaneous tumor 222  
stability testing 239  
standard 131, 132, 134, 240  
standard method for drinking water 242  
standard method of analysis 242  
stem 244  
steroid 209  
stevioside 208  
stimulant 67  
stomach 215  
stomach carcinogenesis 246  
structure-activity relationship 195  
styrenated phenol 198  
subchronic toxicity study 42  
surgical rubber gloves 198  
S value 227  
synthetic antibacterials 203

**T**

tannin 236  
tanshinone 237  
teratogenic activity 199  
teratogenicity 22, 236  
N-terminal peptide 209  
testis 26, 221

teramethylpyrazine 197  
thermosensitivity 53  
thioprolin 244  
titanium trichloride method 131, 132, 134  
tobacco smoke 244  
tocopherol 110  
tocopherol acetate 119  
Toxic microorganisms 243  
toxicity/carcinogenicity 221  
toxic chemicals 243  
toxicity prediction 230  
toxicology testing 246  
TPA 220  
traditional Chinese medicine 235  
transformation 238  
transgenic mouse 247  
transposon 212  
2, 4, 6-tri-tert-butylphenol 214  
Trifolium repens 206  
tributyltin chloride 235, 236  
trichlorfon 233  
triterpenoid saponin 206  
triterpenoidal saponin 206  
tropane alkaloid 237  
twenty-eight-day repeated dose toxicity test 32  
type-I allergy 241  
m-tyrosine 231  
o-tyrosine 231

**U**

umuC125 225  
umuDC 246  
UN conference on environment and development 243  
uncertainty factor 48  
urethane 227  
urinary cytology 223  
UV mutagenesis 225

**V**

V. cholerae 210  
variable region 209  
visible spectrum 124  
volatile substance 85  
voltage-dependent Ca channel 217  
voltage-gated Ca channel 218

**W**

water for injection 250  
water mobility 240  
water pollution 227  
WBN/Kob rat 221  
wheat and barley 212  
wheat and barley scab 212  
whole embryo 200

WHO 247  
wine 205  
wood smoke condensate 226  
wortmannin 208

**Y**

Yamato-Touki 250

yeast 211  
yttrium 215

**Z**

Zingiber cassumunar 197

# 衛生試験所報告への投稿について

## 投稿規定

1. 投稿資格：国立衛生試験所所員とする（共著者はこの限りでない）。
2. 内容：原稿は報文、ノート、資料とする。そのほか誌上発表、単行本、行政報告、学会発表、業務報告、総説などを収載する。
 

報文：独創性に富み、新知見を含むまとまった研究業績。  
 ノート：断片的な研究業績で、独創性や新知見が認められるもの。  
 資料：試験、製造または調査などで、記録しておく必要のあるもの。  
 誌上発表：衛生試験所報告以外の専門誌に発表したもの。  
 単行本：単独または共同で執筆し、公刊されたもの。  
 行政報告：行政の依頼により実施し、報告書を提出したもの。  
 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B5判ワープロ用紙（20字×20行）を用い、原則として下記の規定に従う。なお、全文を英語で書く場合には、A4判の用紙を用いる。
 

報文：図表を含めて20枚以内。  
 ノートおよび資料：図表を含めて15枚以内。  
 誌上発表：1題目について1枚程度。（2枚にわたる場合はページを入れる）  
 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などでとじ、表紙右上に報文、ノート、資料のうち希望する分類を朱書き、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿〆切期日までに図書館宛に提出する。
5. 原稿の審査：図書委員会は提出された原稿の採否および分類を決定する。また、必要ならば字句や表現の部分的な訂正、図表の書き直しなどを求める。

## 執筆規定

1. 文体：現代かなづかい、新送りがなの、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常用漢字を用いる。原稿は楷書ペン書きまたはワープロセッサ書きにする。なお、全文を英語で書いてもよい。その場合には、タイプライターを用い、10ピッチダブルスペースで打つこと。
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 <sup>12</sup>	T	ミ	リ (milli)	10 <sup>-3</sup>	m
ギ	ガ (giga)	10 <sup>9</sup>	G	マイクロ	(micro)	10 <sup>-6</sup>	μ
メ	ガ (mega)	10 <sup>6</sup>	M	ナ	ノ (nano)	10 <sup>-9</sup>	n
キ	ロ (kilo)	10 <sup>3</sup>	k	ピ	コ (pico)	10 <sup>-12</sup>	p
デ	ン (deci)	10 <sup>-1</sup>	d	フェムト	(femto)	10 <sup>-15</sup>	f
セン	チ (centi)	10 <sup>-2</sup>	c	ア	ト (atto)	10 <sup>-18</sup>	a

## 3・2 物理量, 化学量, 物性などの単位および定数の記号または略号は, 次に掲げるものを用いる。

メートル	m	度(セルシウス)	°C	parts per billion	ppb
マイクロメートル	μm	ケルビン度	K	モル濃度	M
ナノメートル	nm	ベクレル	Bq	規定濃度	N
(mμ を用いない)		カウント毎分	cpm	旋光度	α
オングストローム	Å	(cps は用いない)		吸光度	A
平方メートル	m <sup>2</sup>	グレイ	Gy	水素イオン指数	pH
アール	a	シーベルト	Sv	pK 値	pK
リットル	l	クーロン/キログラム	C/kg	ミハエリス定数	K <sub>m</sub>
(L を用いない)		サイクル	cycle	R <sub>f</sub> 値	R <sub>f</sub>
ミリリットル	ml	回毎分	rpm	保持時間	t <sub>R</sub>
(cc を用いない)		ヘルツ	Hz	50%致死量	LD <sub>50</sub>
マイクロリットル	μl	キャンデラ	cd	50%有効量	ED <sub>50</sub>
(λ を用いない)		ルクス	lx	経口投与	p. o.
立方メートル	m <sup>3</sup>	ダイン	dyn	静脈投与	i. v.
グラム	g	気 圧	atm	腹腔投与	i. p.
マイクログラム	μg	ト ル	Torr	皮下投与	s. c.
(γ を用いない)		水銀柱ミリメートル	mmHg	筋肉投与	i. m.
時	hr	毎センチメートル	cm <sup>-1</sup>	(カイザー)	S. D.
分	min	融 点	mp	標準偏差	S. E.
秒	sec	分解点	mp(dec.)		
(時間は複数でも s をつけない)		沸 点	bp	紫外吸収	UV
アンペア	A	凝固点	fp	赤外吸収	IR
ボルト	V	比 重	d	核磁気共鳴	NMR
オーム	Ω	屈折率	n	電子スピン共鳴	ESR
ガウス	G	重量パーセント	%	旋光分散	ORD
エルステッド	Oe	容量/重量パーセント	v/w%	円偏光二色性	CD
ジュール	J	parts per million	ppm	マススペクトル	MS
カロリー	cal				

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: 文字の下に赤で次のように記す。

ゴ シ ッ ク 体~~~~~	例: 見出しなど	試薬
イ タ リ ッ ク 体———	例: 学名など	<u>Papaver somniferum L.</u>
スモールキャピタル———	例: 著者名など	<u>L-ascorbic acid</u>

7. 報文, ノート, 資料の記載要領:

7・1 記載順序: 7・2~7・5 の順に書く。

7・2 題名, 著者名: 次の例に従い, 表紙(用紙1枚全部)をこれに当てる。なお, 所外の共著者の所属は著者名の右肩に\*(複数のときは\*1,\*2...)のように記して脚注とする。

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, Ichiro Seta and Kyoko 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。

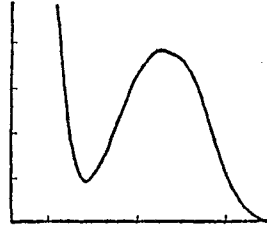
7・4 キーワード:

1) キーワードは英語(必要に応じ, ラテン名)とし, 選定数は5個以内とする。

2) 英文要旨のあと2行あけて“Keyword”の項目をつける。固有名詞, 略語を除き, 小文字で記すこと。各キーワードはカンマで区切り, 続けて記載すること。

- 3) 単語、句、略語のいずれを用いてもよい。特殊な場合(例: tablets)を除き、単数形とする。また、冠詞はつけない。
- 7.5 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。
- 7.6 文献: 本文の引用箇所の右肩に<sup>3)</sup>, <sup>2,5)</sup>, <sup>1-4)</sup> のように記し、終わりに文献として引用順に書く。  
雑誌名は Chemical Abstracts およ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せず、編者名や出版地も記載する。  
例: 衛生試報「投稿執筆規定の改定について」を参照して下さい。
- 7.7 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)。写真は印画紙に鮮明にプリントしたものを使用すること。その他の点は図の規定に従う。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、原図とともに提出する。ただし、説明が多い場合は別紙にタイプしても良い。  
また、図の大きさは原則として原稿用紙 1/2 枚とする。表の画線はできるだけ少なくし、左右両端の縦線を省く。簡単な表はなるべく本文中に書き、図はすべて本文中に書かない。

(例)



(原図)

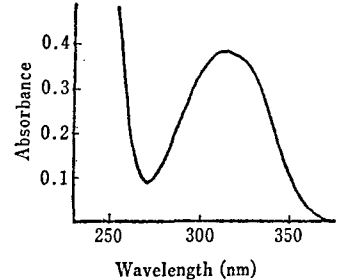


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard" (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) (コピーにタイプ)

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。表中の項目に関する注は項目の右肩に<sup>a)</sup>, <sup>b)</sup>, ……のように記して示す。なお、表題、説明は原則として英語で書き(資料の場合はこの限りでない)、表題は大文字で始め、最後に . をつけない。

例: Fig. 1. Influence of enzyme concentration on reductive sugar production

Table 2. Reaction of ephedrine and pseudoephedrine with acetone as a function of time

図および別紙に書いた表は、その裏に題名、著者名、本文中のそう入ページを記す。また、電子顕微鏡写真には希望する縮尺を記入する。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. 誌上发表等の記載要領: 誌上发表、単行本、行政報告、学会発表については、別に定める記載要領および例示に従う。

## 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4年度図書編集委員

原田正敏	小嶋茂雄	神沼二真
木倉瑠理	小林哲	川原信夫
新谷英晴	松村年郎	河村葉子
武田由比子	福原潔	手島玲子
最上知子	小島満子	津田充宥
小野田欽一	川西徹	渡邊雅彦
鎌田栄一	四方田千佳子	下村講一郎
遠山中夫	大矢博之	

衛生試験所報告 第110号

平成4年11月25日印刷

平成4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 サンコー印刷株式会社  
東京都文京区小石川2-25-12-903





