

衛生試験所報告

第 111 号

平成 5 年

BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HEALTH SCIENCES

No.111 1993

国立衛生試験所

衛生試験所
Eisei Shikenjo Hokoku

衛生試験所報告

第 111 号

平成 5 年

**BULLETIN
OF
NATIONAL INSTITUTE OF
HEALTH SCIENCES**

No. 111 1993

Published by
National Institute of Health Sciences
Tokyo, Japan

国立衛生試験所

目 次

総 説

制限酵素：その一般性状と食品衛生関連微生物における分布 ……………三瀬勝利・宮原美知子……1

報 文

活性酸素による 2'-deoxyguanosine からの 8-hydroxydeoxyguanosine の生成と分解

……………佐々木久美子, 木嶋敬二, 小嶋茂雄……13

肺炎加工剤 Hexabromocyclododecane のモルモットにおける皮膚一次刺激性, 皮膚感作性, 光毒性

および光感作性

……………門馬純子, 鹿庭正昭, 関口裕巳, 大野圭子, 川崎 靖, 津田充春, 中村晃忠, 黒川雄二……18

アジコート SPG およびビオノーレのラットによる 28 日間反復経口投与毒性試験

……………鈴木幸子, 小川幸男, 広瀬明彦, 内田雄幸, 斉藤 実, 金子豊蔵, 黒川雄二……25

WBN/Kob ラットの精巣病変および睪病変に対する cyclophosphamide の影響

……………佐藤元信, 古川文夫, 西川秋佳, 今沢孝喜, 吉村博之, 鈴木順子, 中村 啓, 高橋道人……34

アドリアマイシンによる精巣毒性の定量的な病理組織学的評価

……………松井 元, 豊田和弘, 篠田和俊, 岡宮英明, 古川文夫, 川西 徹, 高橋道人……39

ノ ー ト

ダイオードアレイ検出による乱用薬物の同定に関する研究 (第一報)

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

……………島峯望彦, 増成哲也, 中原雄二……47

フラビン類の UVA 増感による分離赤血球の溶血反応……………佐々木久美子, 木嶋敬二, 小嶋茂雄……57

豚肉中スルファジミジンのフォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフィーと

ガスクロマトグラフ・質量分析計による確認法の検討

……………鎌倉和政, 長谷川眞住, 鯉口 智, 宮田昌弘, 岡本浩一郎,

成田美加子, 平原嘉親, 山名孝善, 外海泰秀, 伊藤誉志男……61

研究に関する資料

向精神薬の同定に関する研究 (第 9 報)

新向精神薬 N-Ethyl methylenedioxyamphetamine, N-Hydroxy methylenedioxyamphetamine,

Mecloqualone, 4-Methylaminorex, Phendimetraïne および Phenmetrazine 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……66

酵素製剤の品質に関する研究 (第 12 報) —塩化リゾチーム製剤—

……………横田椅江, 太田美矢子, 谷本 剛, 早川堯夫……75

眼障害関連多糖の推定構造と 4-O-メチルアルドヒオウロン酸およびその部分アセチル化物の生理作用

……………矢上 健, 佐藤道夫, 川崎 靖, 高田幸一, 斉藤 実, 中村晃忠……78

ラテックス製ゴム手袋から溶出する蛋白質の比色定量……………矢上 健, 佐藤道夫, 中村晃忠……84

輸入金塗りガラス製食器からの鉛とカドミウムの溶出

……………細貝 猛, 伊藤澄夫, 桜井裕之, 多田善彦, 佐藤洋一,

塩見幸博, 武田明治, 石綿 肇, 杉田たき子, 山田 隆……88

シクロスポリン A 投与ラットを用いた免疫毒性試験法の検討：免疫毒性国際共同研究第 II 期

分担研究報告……………落合敏秋, 内藤克司, 村上 治, 大野圭子, 関田清司, 降矢 強,

黒川雄二, 松本清司, 斎藤嘉朗, 蜂須賀暁子, 手島玲子, 山崎 壮, 池淵秀治, 沢田純一……91

エイズ医薬品候補スクリーニング研究 IV. 1991 年度報告

……………小林伸好・野口有三・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

石原佑弼・磯村思无・斎藤隆行・小田和正・松崎 稔・関根大正・大貫奈穂美・貞升健志

太田健爾・三木 隆・大竹 徹・森 治代・森本素子・上羽 昇・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・国貞孝夫・山崎修道	100
IPCS 環境保健クライテリアのドラフトのコメント依頼について (1992 年度)	
大竹千代子, 関沢 純	103
高速液体クロマトグラフィーによる食品中のニコチン酸およびニコチン酸アミドの試料溶液の 調製法の検討	107
辻 澄子, 鯉口 智, 成田美加子, 晒由由香子, 柴田 正, 伊藤誉志男	107
平成 4 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, 梅本美佳, 辻 澄子, 伊藤誉志男	112
標準品に関する資料	
国立衛生試験所葉酸標準品 (Control 921)	
北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 石光 進, 岡田 敏史	116
国立衛生試験所酢酸コルチゾン標準品 (Control 921)	
泉 若江, 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 石光 進, 岡田 敏史	120
国立衛生試験所リボフラビン標準品 (Control 921)	
泉 若江, 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 石光 進, 岡田 敏史	123
国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 921)	
泉 若江, 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 石光 進, 岡田 敏史	127
国立衛生試験所コレカルシフェロール標準品 (Control 921)	
泉 若江, 北島 文, 吉井公彦, 小松裕明, 石光 進, 岡田 敏史	130
国立衛生試験所高分子量ウロキナーゼ標準品 (Control 901)	
岡田敏史, 四方田千佳子, 村井真美, 谷本 剛, 木村俊夫	133
国立衛生試験所標準品 (色素標準品) サンセットイエロー FCF 標準品について	
木村実加, 梅本美佳, 辻 澄子, 柴田 正, 伊藤誉志男	137
ステートメント	
レギュラトリーサイエンス討論会	
レギュラトリーサイエンスとは	139
内山 充	139
レギュラトリーサイエンス討論会の背景と目標	140
内山 充	140
公定試験法における分析法バリデーションの方向	141
鹿庭なほ子, 松田りえ子, 石橋無味雄	141
各種情報に基づく医薬品のヒトに対する安全性の総合評価	143
林 裕造	143
医用材料の感作性試験ガイドラインの考え方	144
門馬純子, 中村晃忠	144
水道水質基準設定の根拠となった毒性評価法	146
長谷川隆一, 安藤正典	146
代謝物動態を考慮に入れた食品中残留基準設定の科学的根拠—動物用医薬品を中心に	148
三森国敏	148
医薬品の安全性評価における変異原性試験の意義	149
祖父尼俊雄	149
レギュラトリーサイエンス関連会議報告	151
業務報告	161
誌上発表	209
単行本	263
行政報告	266
学会発表	272
衛試験例会	294
平成 4 年度に行った主な研究課題	298
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 111 号キーワード索引	319

CONTENTS
Review

- Katsutoshi Mise and Michiko Miyahara: Restriction Endonucleases: Their Characteristics and Distribution in Pathogenic Bacteria 1

Originals

- Kumiko Sasaki, Keiji Kijima and Shigeo Kojima: Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine from 2'-deoxyguanosine and its decomposition by active oxygen13
- Junko Momma, Masa-aki Kaniwa, Hiromi Sekiguchi, Keiko Ohno, Yasushi Kawasaki, Mitsuhiro Tsuda, Akitada Nakamura and Yuji Kurokawa: Dermatological Evaluation of a Flame Retardant, Hexabromocyclododecane (HBCD) on Guinea Pig by Using the Primary Irritation, Sensitization, Phototoxicity and Photosensitization of Skin18
- Sachiko Suzuki, Yukio Ogawa, Akihiko Hirose, Osayuki Uchida, Minoru Saito, Toyozo Kaneko and Yuji Kurokawa: Twenty-eight-day repeated dose toxicity test of AjicoatSPG and Bionole in Wistar Rat25
- Motonobu Sato, Fumio Furukawa, Akiyoshi Nishikawa, Takayoshi Imazawa, Hiroyuki Yoshimura, Junko Suzuki, Kei Nakamura and Michihito Takahashi: Effects of cyclophosphamide on spontaneous testicular and pancreatic lesions in WBN/Kob rats34
- Hajime Matsui, Kazuhiro Toyoda, Kazutoshi Shinoda, Hideaki Okamiya, Fumio Furukawa Toru Kawanishi and Michihito Takahashi: Quantitative histopathological study on the adriamycin testicular toxicity in rats39

Notes

- Mochihiko Shimamine, Tetsuya Masunari and Yuji Nakahara: Studies on Identification of Drugs of Abuse by Diode Array Detection. I. Screeningtest and Identification of Benzodiazepines by HPLC-DAD with ICOS software system47
- Kumiko Sasaki, Keiji Kijima and Sigeo Kojima: Hemolysis of Isolated Erythrocytes by UVA-sensitization of Flavins57
- Kazumasa Kamakura, Masumi Hasegawa, Satoshi Koiguchi, Masahiro Miyata, Koichiro Okamoto, Mikako Narita, Yoshichika Hirahara, Takayoshi Yamana, Yasuhide Tonogai and Yoshio Ito: Studies on the Identification of Sulfadimidine in Pork by High Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detector and Gas chromatograph-mass spectrometry ...61

Technical Data

- Mochihiko Shimamine, Kazunori Takahashi and Yuji Nakahara: Studies on the Identification of Psychotropic Substances. IX. Preparation and Various Analytical Data of Reference Standard of New Psychotropic Substances, N-Ethyl methylenedioxyamphetamine, N-Hydroxy methylenedioxyamphetamine, Mecloqualone, 4-Methylaminorex, Phendimetrazine and Phenmetrazine66
- Isue Yokota, Miyako Ohta, Tsuyoshi Tanimoto and Takao Hayakawa: Studies on the Quality of Enzyme Preparations (XII) —Lysozyme preparations—75
- Takeshi Yagami, Michio Sato, Yasushi Kawasaki, Kouichi Takada, Minoru Saito and Akitada Nakamura: Estimated Structure of the Polysaccharide Related Eye Lesions, and Biological Actions of 4-O-Methylaldobiouronic Acid and it' Partially Acetylated Derivative78
- Takeshi Yagami, Michio Sato and Akitada Nakamura: Colorimetric Determination of the Total Protein Eluted from Latex Gloves84
- Takeshi Hosogai, Sumio Ito, Hiroyuki Sakurai, Yoshihiko Tada, Youichi Satou,

Yukihiro Shiomi, Mitsuharu Takeda, Hajimu Ishiwata, Takiko Sugita and Takashi Yamada: Elution of Lead and Cadmium from Imported Gold-Decorated Glassware	88
Toshiaki Ochiai, Katsushi Naito, Osamu Murakami, Keiko Ohno, Kiyoshi Sekita, Tsuyoshi Furuya, Yuji Kurokawa, Kiyoshi Matsumoto, Yoshiro Saito, Akiko Hachisuka, Reiko Teshima, Takeshi Yamazaki, Hideharu Ikebuchi and Jun-ichi Sawada: Evaluation of Immunotoxicity Tests Using Cyclosporin A-Treated Rats: The International Collaborative Immunotoxicity Study II (Cyclosporin A)	91
Nobuyoshi Kobayashi, Yuzo Noguchi, Masako Matsuyama, Kyoko Akiyoshi, Shinichi Noro, Nanao Sato, Norio Sakurada, Nobuya Fujita, Tohru Ishizaki, 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, Tohru Ohtake, Haruyo Mori, Motoko Morimoto, Noboru Ueba, Katsumi Chijiwa, Mamiko Kai, Katsumi Takahashi, Katsutoshi Mise, Hiroshi Ushijima, Hiroyuki Shimizu, Takao Kunisada and Shudo Yamazaki: Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs. IV. Report on fiscal year 1991	100
Chiyoko Ohtake and Jun Sekizawa: First drafts of Environmental Health Criteria (EHC) circulated for comments by IPCS in 1992~1993	103
Sumiko Tsuji, Satoshi Koiguchi, Mikako Narita, Yukako Sarashi, Tadashi Shibata and Yoshio Ito: Studies on the Preparation of Sample Solution for Determination of Nicotinic acid and Nicotinamide in Foods by High Performance Liquid Chromatography	107
Tadashi Shibata, Mika Kimura, Mika Umemoto, Sumiko Tsuji and Yoshio Ito: Estimated production by the Official Inspection of Coal-Tar Dyes (including Dye Aluminum Lakes) in 1992	112
Reference Standard Data	
Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada: Folic Acid Reference Standard (Control 921) of National Institute of Health Sciences	116
Wakae Izumi, Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitu and Satoshi Okada: Cortisone Acetate Reference Standard (Control 921) of National Institute of Health Sciences	120
Wakae Izumi, Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitu and Satoshi Okada: Riboflavin Reference Standard (Control 921) of National Institute of Health Sciences	123
Wakae Izumi, Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitu and Satoshi Okada: Ergocalciferol Reference Standard (Control 921) of National Institute of Health Sciences	127
Wakae Izumi, Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu, Susumu Ishimitu and Satoshi Okada: Cholecalciferol Reference Standard (Control 921) of National Institute of Health Sciences	130
Satoshi Okada, Chikako Yomota, Mami Murai, Tsuyoshi Tanimoto and Toshio Kimura: High Molecular Weight Urokinase, Reference Standard (Control 901) of National Institute of Health Sciences	133
Mika Kiura, Mika Umemoto, Sumiko Tsuji, Tadashi Shibata and Yoshio Ito: Studies on "Sunset Yellow FCF Standard" for the Dye Standard of the National Institute of Health Sciences	137

Statements**Regulatory Science Forum**

Mitsuru Uchiyama: Regulatory Science.....	139
Mitsuru Uchiyama: Regulatory Science Forum—Its Background and Goal	140
Nahoko Kaniwa, Rieko Matsuda and Mumio Ishibashi: Analytical Validation in Compendial Methods	141
Yuzo Hayashi: General Principles for Safety Evaluation of Pharmaceuticals in Man Based on Integration of Data from Various Sources.....	143
Junko Monma and Akitada Nakamura: A Proposal for Test Guidelines to Identify Contact Allrgens in Medical Materials and Devices	144
Ryuichi Hasegawa and Masanori Ando: Methodology of toxicity evaluation to establish the drinking water quality standards	146
Kunitoshi Mitsumori: Scientific basis in the setting of residue limits for veterinary drugs in food of animal origin taking into account the presence of their metabolites.....	148
Toshio Sofuni: Significance of mutagenicity tests on safety evaluation of medicinal drugs.....	149
Meeting Reports Related to Regulatory Science.....	151
Annual Reports of Divisions	161
Summaries of Papers Published in Other Journals.....	209
Title of Scientific Books	263
Scientific Reports to Governmental Agencies	266
Titles of Speeches at Scientific Meetings etc.	272
NIHS Seminars	294
Main Research Projects Carried Out in Fiscal Year 1992.....	298
Survey of the Results of National Tests.....	305
Reference Standards Prepared by National Institute of Health Sciences	310
Subject Index	319

制限酵素：その一般性状と食品衛生関連微生物における分布

三瀬勝利・宮原美知子

Restriction Endonucleases: Their Characteristics and Distribution in Pathogenic Bacteria

Katsutoshi Mise and Michiko Miyahara

Restriction endonucleases have been widely employed in almost all fields of genetic engineering including DNA mapping, cloning, sequencing, hybridization, amplification and diagnosis. The general characteristics of restriction endonucleases and their reactions are reviewed in this paper, together with their distribution in pathogenic bacteria. Many restriction endonucleases with novel specificity have been found in these bacteria in our laboratory. Some of them are commercially available and have been employed for the molecular biologist. Rapid method for detection of restriction endonucleases in pathogenic bacteria is also described.

Keywords : restriction endonucleases, food poisoning bacteria, restriction cleavage analysis, host-controlled variation, modification methylases

(Received May 31, 1993)

1. はじめに

近年、医薬品や食品の製造の面でも注目を集めている組換え DNA 技術は、20 世紀に達成された最大の技術革新の一つといえよう。この組換え DNA 技術を支えたものは、以下に記す三つの発見であった。すなわち、その第一は、本文の主題である制限酵素の発見であり、第二のそれは DNA 分離技術の改良であり、そして最後のものが、F. Sanger や W. Gilbert の研究室でなされた迅速 DNA 塩基配列決定法の考案であった¹⁾。わけても制限酵素は制限切断解析、遺伝子のクローニングと塩基配列決定、サザンプロテイング、新型ベクターの創製、DNA プローブ診断等、遺伝子操作のほとんどすべてに、重要な役割を演じている。その理由がゆえに、1978 年度のノーベル医学賞は W. Arber, H. O. Smith, D. Nathans の三人の制限酵素の研究者たちに与えられた。

制限酵素の応用に関する著書は膨大な数にのぼっており、ここで制限酵素のすべてを論ずることは不可能である。本稿では単に制限酵素が発見されるに至った歴史的展開と、制限酵素そのものの一般性状や自然界における分布を、我々の研究室で得られ

た知見とともに紹介したい。

2. 制限酵素発見の歴史

制限酵素は一定の DNA 塩基配列を認識して切断する酵素群と定義される²⁻⁶⁾。この酵素の発見は、宿主依存性変異の発見と密接な関連を持っている。

1950 年代の初頭、独立した 3 グループによって、大腸菌-T4 ファージ系⁷⁾、大腸菌- λ ファージ系⁸⁾、およびチフス菌-VIII ファージ系⁹⁾で、ファージの性質が、増殖に使用された宿主の影響を受ける現象が見い出された。この現象は後に宿主依存性変異と命名された。大腸菌- λ ファージ系を例にとり、宿主依存性変異を以下に解説する：大腸菌 K-12 株を宿主として増殖させた λ ファージ (λ -K ファージ) は K-12 を指示菌とすると、1.0 の平板効率でブラック (溶菌斑) を作るが B 株を指示菌とすると、 4×10^{-4} の平板効率でしか、ブラックを作らない。一方、B 株で増殖させた λ ファージ (λ -B) は B 株を指示菌とした場合は、1.0 の平板効率でブラックを作るが、K-12 を指示菌とすると、 1×10^{-4} の平板効率でしかブラックを作らない。興味あることには、最初 K-12 で増殖し、ついで B 株で増殖させ、最後に再度 K-12 で増殖させたファージは元の

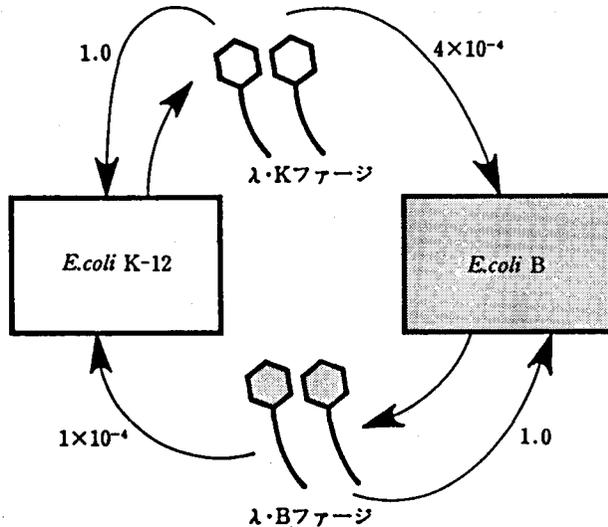


Fig. 1. Host-controlled variation in *Escherichia coli*

λ ・K ファージと同じ性質を示す。

上記の説明と Fig. 1 から明らかなように、宿主依存性変異では、宿主という外的環境条件が、ファージの遺伝特性に決定的な影響を与えている。第二次世界大戦後の米ソ対立という図式の中で、激しい論争をまきおこしたルイセンコ学説の存在もあって、この宿主依存性変異は、多くの科学者の注目するところとなった。S. E. Luria が、遺伝における外的要因重視のルイセンコ学説に一見有利に思えるこの現象の存在に対して、〈ラマルキズムの最後の砦〉とやゆしたことは話題をまいた¹⁰⁾。しかし、宿主依存性変異の分子機構の解明は約 10 年後に発表された W. Arber (Fig. 2) の一連の研究まで待たねばならなかった。

1962 年、W. Arber ら^{11,12)} は生化学と遺伝学を組み合わせたエレガントな研究から、宿主依存性変異は制限と修飾という二つの異なる機構から成立するという仮説を提出した。彼らによれば、細菌はファージによる感染→自己の死というルートから免れるために、外来ファージ DNA の特異的部位を認識・切断する制限酵素を産生する。一方、制限酵素によって認識・切断される外来 DNA の特異的な部位と同じ塩基配列は、自己の DNA 上にも、当然存在するものと考えられる。それ故、こうした事態そのまま放置すると、細菌は自己の産生する制限酵素により、自己の遺伝子 DNA を切断・崩壊させることになる。この制限酵素による致死作用からのがれる

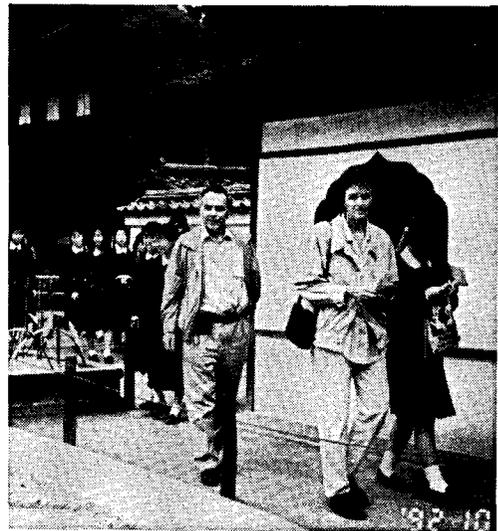


Fig. 2. Werner Arber and his wife in Kyoto

ために、細菌は制限酵素が認識する自己の遺伝子上の部位を修飾して、切断を阻害する修飾酵素を産生する。細菌にとって合目的な機構が宿主依存性変異を成立させているとするのが、W. Arber の仮説の要点である。

この仮説は 1965 年に、W. Arber 自身¹³⁾ によって、修飾の本体がメチル化であることが証明され、続いて M. Meselson ら^{14,15)} の研究により、I 型制限酵素（後述）が精製されたことで正しいことが実証された。その後、数年を待たずして、制限酵素を使

用した遺伝子操作技術が華々しく開始されることになった。

3. 制限酵素の命名と分類

i) 命名

制限酵素の命名は H. O. Smith と D. Nathans の命名法¹⁶⁾による。制限酵素を産生していることが最初に見いだされた細菌の属名の頭文字一つと種名の頭文字と次の文字を連続させてイタリックで表す。亜種、血清型、ファージ型等の記号も付記できるが、ローマン体で記す。その後ろにローマ数字の I を加える。2種類以上の酵素を作るときは、それぞれ II, III……という数字を加える。命名法の例を以下に示す。

Escherichia coli RY13 → *EcoRI*

Thermus aquaticus YT1 → *TaqI*

Staphylococcus aureus 3A → *Sau3AI*

なお、修飾酵素の命名は制限酵素の名前の前に M・をつけて示す。M・*EcoRI* と書かれたものは *EcoRI* 修飾酵素 (トランスメチラーゼ) である。

ii) 分類

制限酵素の分類は、cofactor 要求の差異による分類法と、認識配列の差異による分類法の二方法がある。

前者の分類法では I, II, III 型に大別されていたが、最近これらの分類法のカテゴリーにおさまらないタイプのもが見いだされている。これらを Table 1 にまとめた。

I型制限酵素は基質 DNA 切断のための cofactor として、Mg⁺⁺, ATP および SAM (S-adenosyl-methionine) を要求する三分子より成る巨大蛋白質である¹⁶⁾。一定の塩基配列を認識するものの、切断場所は一定でないため、遺伝子操作には使用できない。しかし、後述する II 型制限酵素発見への道を開いたものとして、歴史的な重要性を保持している。また、DNA-蛋白質相互作用の研究材料としての重要性もある。

II 型制限酵素は基質 DNA を切断するための cofactor として、Mg⁺⁺ のみを要求する制限酵素群である。一定の切断部位があるが、その多くは認識塩基配列中にある。ただし例外もあり、特に IIS 亜群に属する制限酵素は、認識塩基配列の外に切断部位がある。IIS 亜群を含めた制限酵素こそが、現在遺伝子操作に汎用されている制限酵素である¹⁶⁾。

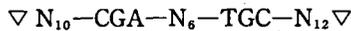
III 型制限酵素は切断のための cofactor として、

Table 1. Classification of restriction endonucleases

Characteristics	Classification of restriction endonucleases		
	Type I	Type II	Type III
Protein structure	3 different subunits	1 or 2 identical subunits	2 different subunits
Endonuclease and methylase activities performed by	1 multifunctional enzyme	Separate methylase endonuclease enzymes	1 multifunctional enzyme
Cofactor requirements for endonuclease	ATP, SAM, Mg ⁺⁺	Mg ⁺⁺	ATP, Mg ⁺⁺
Stimulatory cofactors (not required) for endonuclease	-	-	SAM
Cleavage sites	Random, from 1,000 bp from recognition site	At or near recognition site	24-26 bp from recognition site
Recognition sequence	<i>EcoK</i> : AACN ₆ GTGC <i>EcoB</i> : TGAN ₆ TGCT	Mostly at sites with dyad symmetry (<i>EcoRI</i> , GAAATC)	10-12 bp from recognition site (both sites) <i>EcgI</i> : CGAN ₆ TGC

Mg⁺⁺とATPを要求する酵素群である。SAMの存在は必要ではないが、反応は促進される。酵素は異なる二分子よりなり、切断は認識配列より24~27塩基離れた場所で起こる。切断が部分的であるため、遺伝子操作に利用されることは稀である¹⁹。

最近 New England Biolabs の研究所で、上記 I~III 型のいずれにも属さない制限酵素 *BcgI* が *Bacillus coagulans* より見いだされた。この酵素は SAM と Mg⁺⁺ を切断に要求するが、ATP は必須ではない。認識塩基配列と切断部位 (▽, △) は下記のようなものである。



すなわち、切断部位は認識塩基配列の外側の左右二ヶ所にある。切断は部分的であるが、安定な酵素であり、大量生産も可能なようで、現在市販されている。類似の酵素が他にもありそうである。特許等の問題があるためか、*BcgI* に関する論文は、現在のところ発表されていない。

認識塩基配列の差による分類は、組換え DNA 技術に使用される II 型制限酵素を中心になされている。現在まで約 200 の異なる認識塩基配列を示す制限酵素の存在が報告されている。Roberts¹⁷⁾ と Kessler のグループ¹⁸⁾ によって、毎年最新の制限酵素の一覧表が認識配列の差異をもとに発表されている。我々の経験からは、6 塩基対認識制限酵素が、腸内細菌科やビブリオ科の細菌に、一番高率に存在しているように思われる。また、4-5 塩基対を認識するものもかなりある。最近では遺伝子操作や分子生物学の研究の中心が Eucaryote (真核生物) に向かっていることもあり、巨大 DNA 断片を作る 7-8 塩基対認識制限酵素に注目が集まっている。

II 型制限酵素の認識塩基配列と切断部位の例を Table 2 に示す。かなり多くの制限酵素が 2 回回転対称の塩基配列 (極性が逆となっている二本鎖 DNA のそれぞれを 5'→3' 方向に読むと、両方の鎖の塩基配列が同じとなる) を認識する。しかし、この法則の例外も多く、IIS 亜群に属する *FokI* や *VpaK32I* は 2 回回転対称の塩基配列を認識していない。更に *SinI* や *HindII* のように、2 回回転対称が部分的にゆるんだ塩基配列を認識するものもある。*SfiI* のように、認識塩基配列の内部に特異性のない塩基がはいるものもある (Table 2)。切断部位は認識塩基配列中にあることが多いが、IIS 亜群はその例外となる。異なる起源の細菌から得られた同一塩

基配列を認識する制限酵素をアイソシゾマー (isochizomer) と呼ぶ。これらアイソシゾマーのうちで、Table 2 の *KpnI* と *SthI* のように、切断部位が異なるものを、ネオシゾマー (neoschizomer)¹⁹⁾ と呼ぶ。切断により、一本鎖の突き出しを生ずるもの (*Sau3AI* など) と、認識塩基配列のまん中で切断され、一本鎖の突き出しを生じないもの (*HindII*, Table 2) の、二つのタイプがある。前者は更に 5' 末端の突き出しを生ずるものと 3' 末端のそれを生ずるものに細分類される。5' のつきだしを protruding end, 3' のそれを recessive end, 一本鎖の突き出しのない末端を blunt end と呼ぶ。切断によりヌクレオチドを構成する燐酸基は 5' 末端の方に残される。

II 型制限酵素の中で、とりわけ興味深いのは、メチル化された DNA だけを切断する *DpnI* がある (Table 2)。*DpnI* の場合、5'-GATC-3' という塩基配列中の 2 本鎖の内の一本鎖だけでも A がメチル化されていないと、切断が起こらない。この酵素については後述することもある。

4. 制限酵素の切断条件

最近、市販されている制限酵素には、その酵素専用の切断バッファーを同時につけて送られてくる。通常 10 倍濃縮液となっているので、使用時に滅菌精製水等を加えて 1 倍とする。制限酵素によっては、塩濃度や pH がその活性に著しく影響を与えるので、メーカーが推奨している切断バッファーを原則として使用する。反応は 37°C でなされるものが多いが、高温細菌由来の *TaqI* のように、65°C 近傍で最高の活性を示すものもある。反応時間は 1~3 時間ぐらいが適当で、一夜反応させる方法は、特殊な場合を除いて、あまり良い方法とは思えない。

制限酵素が認識する配列における切断の容易さは、不定である。基質となる DNA の全構造、周辺の塩基配列、切断バッファーの種類など、種々の要因が関係する。一般的に言って、環状 DNA の方が、線状 DNA よりも切断され難い。認識塩基配列中にメチル化された塩基があれば、切断されないものと、決まったものでもない。酵素によっては、特定のメチル化塩基の存在が、切断に全然影響しない場合がある。各酵素の認識塩基配列中のメチル基の影響については、一覧表が作成されている²⁰⁾ ので、参照されたい。また、大腸菌由来の DNA では、dam および dcm メチラーゼにより、GA^{Me}TC と CC^{Me}

Table 2. Representative type II restriction endonucleases

Restriction endonuclease	Recognition sequence and cleavage site	Microorganism
<i>Sau3AI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GATC--}3' \\ 3' \text{--CTAG--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Staphylococcus aureus</i> 3A
<i>DpnI</i>	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \downarrow \\ 5' \text{--GATC--}3' \\ 3' \text{--CTAG--}5' \\ \uparrow \\ \text{CH}_3 \end{array}$	<i>Diplococcus pneumoniae</i> 641 (<i>Streptococcus pneumoniae</i>)
<i>TaqI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--TCGA--}3' \\ 3' \text{--AGCT--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Thermus aquaticus</i> YTI
<i>FokI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \qquad \downarrow \\ 5' \text{--GGATG(N)}_9 \text{--}3' \\ 3' \text{--CCTAC(N)}_{13} \text{--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Flavobacterium okeanokoites</i>
<i>Sau96I</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GGNCC--}3' \\ 3' \text{--CCNGG--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Staphylococcus aureus</i> PS96
<i>SinI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GGWCC--}3' \\ 3' \text{--CCWGG--}3' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Salmonella infantis</i>
<i>EcoRI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GAATTC--}3' \\ 3' \text{--CTTAAG--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Escherichia coli</i> RY13
<i>KpnI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GGTACC--}3' \\ 3' \text{--CCATGG--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Klebsiella pneumoniae</i> OK8
<i>SthI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GGTACC--}3' \\ 3' \text{--CCATGG--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Salmonella thompson</i> YY356
<i>HindII</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GTYRAC--}3' \\ 3' \text{--CARYTG--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd
<i>HindIII</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--AAGCTT--}3' \\ 3' \text{--TTCGAA--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd
<i>VpaK32I</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GCTCTTC(N)}_1 \text{--}3' \\ 3' \text{--CGAGAAG(N)}_4 \text{--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> 4387-61
<i>NotI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' \text{--GCGGCCGC--}3' \\ 3' \text{--CGCCGGCG--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>
<i>SfiI</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \qquad \downarrow \\ 5' \text{--GGCCNNNNNGGCC--}3' \\ 3' \text{--CCGGNNNNNCCGG--}5' \\ \uparrow \end{array}$	<i>Streptomyces fimbriatus</i>

(↓, ↑) cleavage sites; N, A or G or C or T; R, purine; Y, pyrimidine; W, A or T.

WGGの両塩基配列がメチル化されていることが多いことを、留意しておく必要がある。

制限酵素の特定塩基配列認識は厳密なものとしてされているが、酵素液を大量に反応液中に加えたときなどは、特異性が弛緩し、記載外の塩基配列の所で切断されてしまうことがある。これを“star activity”と呼ぶ。最も有名なstar activityはEcoRIのケースで、EcoRIの認識塩基配列GAATTCに加えて、AATTやRRATYYなどの塩基配列も認識・切断するようになる。Table 3にstar activityの例を示す。大量の酵素の添加の他に、DMSO(dimethyl sulfoxide)が共存したり、高pH下や大量のグリセリン存在下などで、star activityが起こる。不純なバッファーを使用する時も起こるので注意を要する。DNAを切断するためには、大量の制限酵素を加えれば、それで万事解決というものではない。1 μ gの線状DNAを切断するには、安全のために数unitsの酵素を加えれば十分である。数十units以上加えることは経済性の上だけではなく、star activityを起こすおそれがあるために、避けた方がよい。

なお、修飾酵素を使用することで、制限酵素の特

Table 3. Reaction conditions that induce “star activity” in certain restriction endonucleases^{a)}

Restriction endonuclease	Alterations of standard reaction conditions ^{b)}
<i>Ava</i> I	A, B, D
<i>Bam</i> HI	A, B, C, D, E, H
<i>Bsu</i> I	B, D, F
<i>Eco</i> RI	A, B, D, E, F
<i>Hae</i> III	B, D
<i>Hha</i> I	B, D, G
<i>Hind</i> III	E
<i>Hpa</i> I	A, B, D
<i>Pst</i> I	A, B, D, G
<i>Pvu</i> II	B, D
<i>Sal</i> I	A, B, D, G
<i>Sst</i> I	B, D, G
<i>Xba</i> I	B, D, G

^{a)} Data from ref. 21.

^{b)} Abbreviations employed: A, ethylene glycol (45%); B, glycerol (12~20%); C, ethanol (12%); D, high enzyme; E, Mn⁺⁺ substituted for Mg⁺⁺; F, pH 8.5; G, DMSO (8%); H, absence of NaCl.

異性を高めたり、*Dpn*Iと修飾酵素の併用で、8塩基対以上の特異的認識・切断系を作出する試みもあり、一部で成功をおさめている。こうした研究の概説は文献6を参照されたい。

5. 制限酵素遺伝子座とその構造

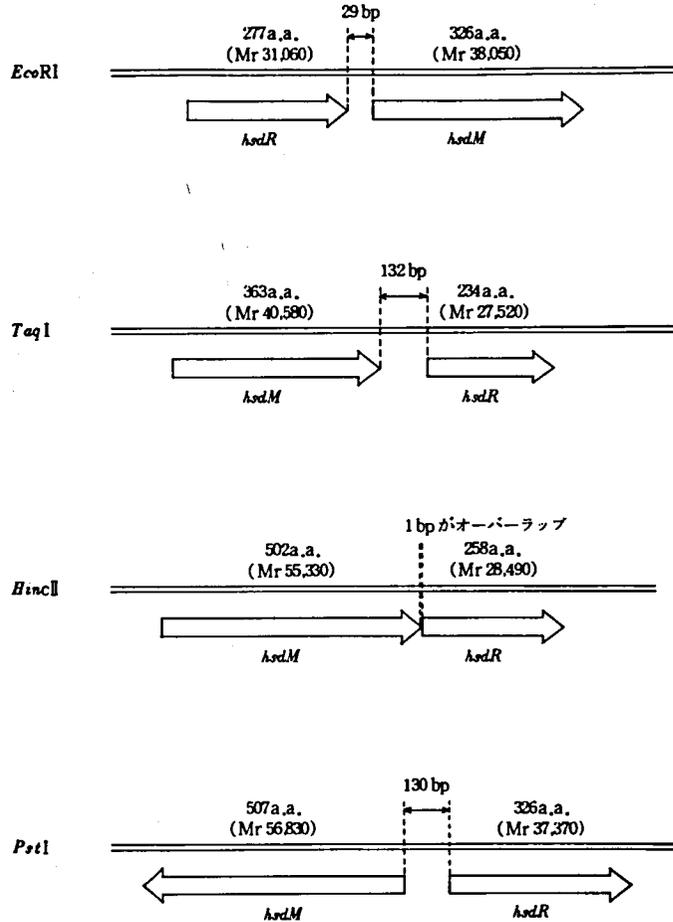
制限酵素の遺伝子座が染色体上にあるものもあれば、プラスミド上にあるものもある。通常その種に普遍的に存在する制限酵素の遺伝子座は染色体にあることが多い。一方その種に稀にしか見いだされない制限酵素の遺伝子座は、しばしばプラスミド上にある。我々はII型制限酵素の遺伝子座が、かなりの頻度で、多数コピー小型プラスミド上にあることを見いだした^{22,23}。従来、サイレントプラスミドと呼ばれていた、その機能が不明確であった小型プラスミドのうちのいくつかのものが、宿主依存性制限を含むファージ感染阻止という目的機構を保持していることが明らかになりつつある。宿主依存性変異に関与する遺伝子を持つプラスミドをHsd (Host specificity for DNA) プラスミドとよんでいる。

現在までクローン化されたすべての制限酵素遺伝子とそれに対応する修飾酵素遺伝子は、それぞれ相接するか、一部重複した形で存在している (Fig. 3)。この原則はII型のものに限らず、I型、III型のいずれにもあてはまる。II型の転写に関しては、以下の三型に分類される。(1) 制限酵素の遺伝子が最初に転写され、ついで修飾酵素の遺伝子が転写を受ける；(2) 修飾酵素がまず転写され、ついで制限酵素が転写される；(3) 両酵素の遺伝子は反対方向に向かって転写される。それぞれの代表例がFig. 3に示されている。

同一の制限酵素と修飾酵素の間には、塩基配列の相同性はみられない。この事実は、両酵素は異なる起源より派生していることを示唆している。修飾酵素の中でも、Cをメチル化する酵素群とAをメチル化する酵素群では、アミノ酸配列の相同性はない。ただし、Cのメチル化酵素内では、特異性が異なる修飾酵素間で、有意の相同性が観察される^{24,25}。

6. 食品衛生関連細菌における制限酵素

現在、組換えDNA実験等に使用されている制限酵素は、主として原核生物 (Prokaryote) において見いだされてきたものである。真核生物 (Eukaryote) でも少数の制限酵素の存在が報告されている

Fig. 3. Structure of representative *hsd*⁺ genes

が、組換え DNA 実験に供せられているものはほとんどない。先に記したように、制限酵素は、細菌がファージ感染から自己を守るという合目的性を兼ね備えている。

我々の研究室では、ここ数年間、食品衛生に重要な関わりを持つ、食中毒菌、汚染指標菌、経口感染伝染病起因菌などにおける制限酵素の研究を行ってきた。これらの研究には二つの目的がある。その第一は制限酵素産生性という指標を細菌性食中毒や経口感染症の疫学に応用できないかということである。すでにファージに対する感受性を指標として、*Salmonella typhi* (チフス菌)、*Salmonella enteritidis* (ゲルトネル菌)、*Vibrio cholerae* O1 (コレラ菌)、および *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) などでファージ型別法が確立しており、疫学に供せられている²⁶⁻²⁸⁾。ある菌が一定のファージに感受

性を示すか否かは、細菌表面におけるレセプターの有無や細菌内での増殖条件等に左右されるが、同時に宿主依存性制限の存在も重要な要因となりうる。我々の研究はファージを使用することなく、直接菌体から制限酵素を部分精製し、その存在を疫学上の一つの指標としようとするものである。

第二の目的は新しい特異性を持った制限酵素を上記の細菌から見いだすことにある。現在まで約 200 の特異性の異なる制限酵素が見いだされているが、DNA プローブ診断をはじめとして、特異性の異なる制限酵素開発の要求が、遺伝子操作にたずさわる多くの研究室から出されている。とりわけ、食中毒菌や伝染病起因菌では、制限酵素のスクリーニングがほとんどなされていないだけに、新型制限酵素が見いだされる可能性は高いと期待される。

我々の過去数年にわたる研究からは、上記二つの

可能性について、ともに肯定的な答えが得られている。以下、我々の研究室で得られた結果を中心に、この面での研究の成果を概説する。

6.1. 食中毒細菌等からの簡易制限酵素検出法

制限酵素の精製には、通常フレンチプレスや音波処理により菌体を破壊したのち、上清にポリエチレンイミンや硫酸ストレプトマイシンを添加して、核酸を除去する方法を行う。場合によっては、上記の方法で核酸と制限酵素を共沈させ、沈澱物から溶出させる方法もある。抽出液はその後、DEAEセルロース、フォスフォセルロース、ハイドロキシアパタイトなど種々のクロマトグラフィーにより精製を受ける^{29,30}。すべての制限酵素に共通の精製法というものはない。制限酵素の生化学的性状が一定でない上、菌株が異なれば、それが持つ非特異的ヌクレアーゼの種類も性質も異なってくるが故である。しかし、どの方法をとるにしても、菌体の破壊が、最初のステップとして採用されている。

食中毒細菌や経口感染伝染病起因菌から、制限酵素を検出、精製しようとする場合、フレンチプレスや音波処理で菌体を破壊する方法を採用することは好ましくない。なぜなら、上記の処理により、危険な菌体がエアロゾルになって空中に飛散する確率が增大するからである。こうした問題を克服するために、我々は Table 4 に示したリゾチーム溶菌法^{31,32}を開発し、食中毒細菌等からの制限酵素スクリーニング研究に応用している。上記の方法は直接菌体を破壊する方法以上に高率に、II 型制限酵素を検出できる(宮原ほか、未発表)。

Table 4 で示した実験におけるリゾチームの存在は、被検細菌の細胞壁を溶解させることにある。幸

いに、制限酵素はペリ酵素であり、その大部分が細胞壁と細胞膜との間にあるペリプラズムに存在する³³。非特異的ヌクレアーゼもペリプラズムに大量に存在するので、リゾチーム処理した粗抽出液は、そのままの形では制限酵素の検出には使えない。大量に共存するエンドヌクレアーゼが、制限酵素切断断片を細片化してしまうためである。Table 4 の反応液に加えられている 30~100 mM の tRNA は上記エンドヌクレアーゼの活性を阻止するためである。本法を採用することで我々はすでに食中毒菌などから 100 以上の制限酵素産生菌を見いだしている。病原菌や食中毒菌からの簡便で安全な制限酵素検出法と考えている。

6.2. 制限酵素産生性の疫学への応用

我々は上記の操作により検出される制限酵素産生性が、細菌性食中毒の疫学に利用できるのではないかと考え、種々の食中毒菌を使用して、一連の研究を開始した。もしも一定の種、亜種、血清型などで、一定の制限酵素が高率に検出されれば、それは疫学上有益な指標の一つとなるであろう。現在まで得られたデータは、上記の期待は一部の血清型でであることを示している。

例えば低温細菌として、冷蔵庫中でも増殖できることで注目されている *Yersinia enterocolitica* では、血清型 O3, O5, O8 および O9 が病原性と強い関連性がある。わけても O8 は、病原性が極端に高いことで悪名が高い^{34,35}。我々の詳細な研究の結果、O8 型に限って 86% という高率で *PstI* 制限酵素のアイソシゾマー (5'-CTGCAG-3' を認識) が検出された³⁶。O3, O5, O9 など他の *Y. enterocolitica* からは、制限酵素が検出されなかった。面白いこと

Table 4. Rapid method for detection of restriction endonucleases in pathogenic bacteria

Step	Procedure
1	A loopful of bacteria grown on enriched agar overnight was suspended in 0.5 ml of TN buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.5/30 mM NaCl) in a 1.5 ml Eppendorf tube.
2	Half ml of lysis buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.6/ 30 mM NaCl/12 mM EDTA/ 200 μ g lysozyme/ 40 % sucrose) was added to the cell suspension, and the mixture was stored at -80°C for 10 min.
3	Two drops of toluene were added to the suspension to kill residual bacteria efficiently, and the mixture was shaken gently for 20s.
4	After cooling at 0°C for 10 min, the mixture was centrifuged at 12,000 rpm for 10 min, and the supernatant liquid was tested for restriction endonuclease activity by using TA buffer supplemented with 10 μ M <i>E. coli</i> W tRNA as an inhibitor of endonuclease I and 0.1 μ g of λ DNA as the substrate.
5	The occurrence of restriction fragments was tested by electrophoresis in 0.7~1.0 % agarose gel.

に O8 由来の制限酵素は 5°C という低温でも、十分な活性を示した。Yersinia pestis (ペスト菌) や Yersinia pseudotuberculosis (偽性結核菌) などからは II 型制限酵素は見いだされなかった³⁶⁾。上記の結果は制限酵素産生性は Y. enterocolitica O8 の疫学に使用できることを示唆している。

サルモネラの制限酵素については、血清型とファージ型の両面から、広くスクリーニング研究がなされている^{23,32,37-39)}。ファージ型別に使用されるチフス菌標準株から、StyI と StyD4I という二つの有益な制限酵素が、我々の研究室で見いだされている^{23,37)}。前者は現在市販され、遺伝子操作に利用されている。上記制限酵素の分離により、チフス菌のファージ型別にも、宿主依存性制限が関係しているという直接的な証明が得られた。

食中毒起因性の Salmonella では、Salmonella thompson, Salmonella infantis および Salmonella blockley という重要な血清型に、高い頻度で一定の制限酵素が検出されている。すなわち、S. thompson では 34% の頻度で KpnI (5'-GGTACC-3' を認識) のアイソシゾマーが、S. infantis では 91% という高率で AvaII (5'-GGWCC-3' を認識) のアイソシゾマーが、S. blockley の場合では 30% の頻度で

StyI (5'-CCWWGG-3' を認識) のアイソシゾマーが検出されている³⁸⁾。他の Salmonella については、詳細な検討はされていない。興味あることは、日本で食中毒患者から分離された S. infantis では、分離年度のいかんを問わず、AvaII のアイソシゾマーが高率に検出されたことである。これに対して、S. thompson の場合は、1970 年代には KpnI のアイソシゾマーが高率に見いだされたのに反し、1980 年代になると、II 型制限酵素陰性型が大勢を占めた (Fig. 4)⁴⁰⁾。この S. thompson における菌株の性状の変化は不明である。いずれにせよ、上記三種の主要食中毒起因血清型では、制限酵素産生性が、疫学マーカーの一つとして、利用できることを示唆している。

6.3. 食中毒細菌等からの組換え DNA 実験に有用な制限酵素の開発

医学、薬学、生物学分野における組換え DNA 技術の浸透と共に、ますます特異性の異なる安価な制限酵素が待望されるようになってきている。我々はここ数年、食中毒菌を中心に新型制限酵素産生菌のスクリーニング研究を系統的に行い、いくつかの興味ある制限酵素を発見することができた。これらのうちのいくつかは、すでに企業化され、組換え

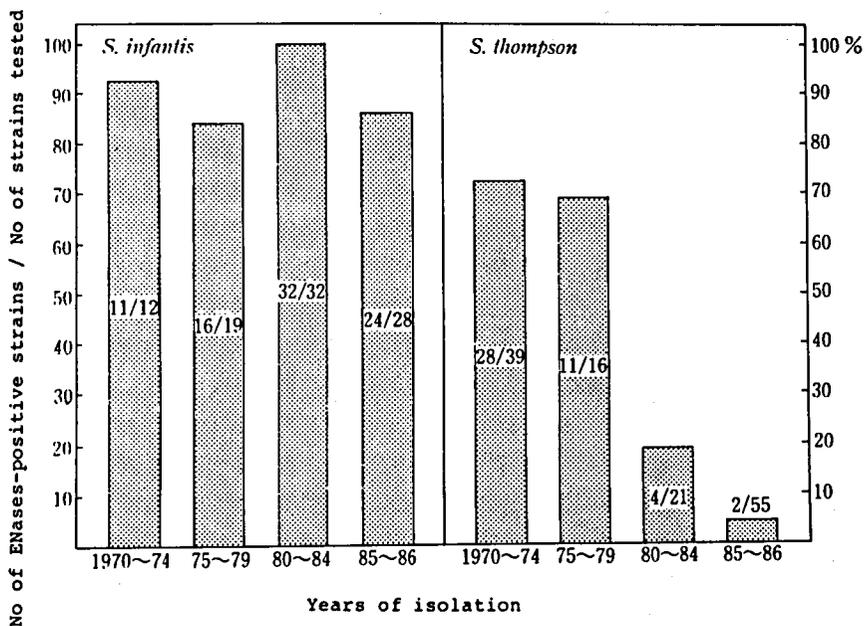


Fig. 4. Change in isolation of restriction endonuclease positive strains in *S. infantis* and *S. thompson* isolated from humans in Japan from 1970 to 1986⁴⁰⁾.

ENases, restriction endonucleases

DNA 実験に使用されている。

Table 5 に示されている我々の研究室で発見された制限酵素のうちで、*PshAI* と *StyI* は、はじめて見いだされた新しい特異性を持つ制限酵素である。前者は病原性の弱い *Plesiomonas shigelloides* から、直接大量精製されている。後者の制限酵素遺伝子は Hsd プラスミド上にあるので、プラスミドのみを大腸菌 K-12 に導入して、そこで安全に大量生産されている。Hsd プラスミド上に制限酵素の遺伝子座があるものは、このほか *StyD4I*, *Sbo13I*, *EcoVIII*, *EcoT22* などである。いずれも数 Kb の多数コピー小型プラスミド上にある。我々が発見した制限酵素の中でアイソシゾマーも、組換え DNA 実験に使用されている。特に大腸菌由来の制限酵素は、菌の培養に特別な装置を必要とせず、安全に大量培養できるという利点がある。それゆえ、大腸菌から作る制限酵素は、少数の例外を除いて安価である。制限酵素そのものの応用範囲の広さを考えると、安価な酵素を発見することは、たとえアイソシゾマーであっても、重要な意義を持っている。

現在製造中の制限酵素としては、*PshBI* と *VpaK32I* がある。両者とも、1g の菌から数万ユニット以上の大量の制限酵素がとれる。企業においてほぼ精製が完了しており、近く販売されることになろう。後者は New England Biolabs 社で発見された *SapI* とともに、最初に発見された IIS 亜群に属する 7 塩基対認識制限酵素で、各方面から注目を集めている。

腸炎ビブリオはサルモネラと共に食中毒菌の代表である。その主要な病原性因子の一つは耐熱性ヘモリジンである⁴⁵⁾。我々はニトロソグアニジン処理により、耐熱性ヘモリジン陰性で、非特異的ヌクレアーゼの産生量の少ない変異株を分離した。この菌を利用して、現在、安全に制限酵素の大量製造がなされている。

Table 6 に我々の研究室で発見された腸炎ビブリオの代表的制限酵素の一覧表を掲げる。5 種の特異性の異なる制限酵素が発見されており、すべて GC-rich な塩基配列を認識する。パリンドローム構造を認識するもの (*VpaK11I*, *VpaK15I*, *VpaK29I*) と、非パリンドローム構造を認識するもの (*VpaK32I*, *VpaK57I*) に大別される。後述するサルモネラの制限酵素とは異なり、腸炎ビブリオの制限酵素の認識塩基配列には、際だった共通性はみられない。腸炎ビブリオからは、*VpaK32I* などの高価な制限酵素のアイソシゾマーが発見されているのは注目されてよい。腸炎ビブリオは至適条件下では、10 分という短時間で分裂する。増殖に適した夏季に、腸炎ビブリオの食中毒が集中的に発生する原因となっている。もしも、非病原性の腸炎ビブリオが分離できれば——そしてそれは理論上、きわめて容易と考えられるが——、この増殖性の速さを逆にとることになり、腸炎ビブリオから、安価な制限酵素を大量製造することが可能となろう。腸炎ビブリオは他の多くの菌とは異なり、2~3% の NaCl を増殖に

Table 5. Representative restriction endonucleases of pathogenic bacteria origin found in our laboratory

Restriction endonuclease	Microorganism	Recognition sequence	Commercial availability	Reference
<i>EcoO65I</i>	<i>Escherichia coli</i> K11a	G/GTNACC (<i>BstEII</i>)	Yes	22
<i>EcoO109I</i>	<i>Escherichia coli</i> H709c	RG/GNCCY (<i>DraII</i>)	Yes	41
<i>EcoT22I</i>	<i>Escherichia coli</i> TB22	ATGCA/T (<i>AvaIII</i>)	Yes	22,31
<i>EcoT38I</i>	<i>Escherichia coli</i> TH38	GRGCY/C (<i>HgiJII</i>)	Yes	22
<i>EcoVIII</i>	<i>Escherichia coli</i> E1585-68	A/AGCTT (<i>HindIII</i>)	Yes	42
<i>PshAI</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i> PL11	GACNN/NNGTC	Yes	43
<i>PshBI</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i> TPS970	AT/TAAT (<i>VspI</i>)	In progress	*
<i>Sbo13I</i>	<i>Shigella boydii</i> 13	TCG/CGA (<i>NruI</i>)	No	22,31
<i>StyI</i>	<i>Salmonella typhi</i> 27	C/CWWGG	Yes	37
<i>StyD4I</i>	<i>Salmonella typhi</i> D4	/CCNGG (<i>ScrFI</i>)	No	23
<i>VpaK32I</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> 4387-61	GCTCTTC (<i>SapI</i>)	In progress	44
<i>YenI</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O8 A2635	CTGCA/G (<i>PstI</i>)	No	36

* Miyahara, M. et al., unpublished results.

要求する点も、制限酵素を大量に製造する場合、有利な条件となる。培養液に存在する高濃度のNaClが他の菌の増殖を阻害するため、大量培養液が汚染され難いという利点となる。我々は現在、上記の腸炎ヒブリオから変異誘起剤処理により、非病原性で安定した制限酵素産生菌を分離する研究を遂行中である。

Table 7に我々の研究室で得られたサルモネラ由来の代表的な制限酵素の特徴を示す。ここでも*StyI*, *StyD4I*, *SthI*などの組換えDNA技術に有用と思われる制限酵素が見いだされている。サルモネラの制限酵素の認識塩基配列の特異性には、以下の共通性がある。1) 見いだされた制限酵素は、特異性のゆるんだものを含めて、パリンドローム構造を認識する。2) 認識塩基配列が一部重複しているものが多い。3) 認識塩基配列はGC-richであり、外側の塩基はすべてG又はCである。4) 切断によりblunt endが生ずるものは見いだされていない。これらの事実はサルモネラの大部分の制限酵素は、共通の祖先から派生したことを示唆している⁴⁰⁾。

Table 5~7で示された結果は、食中毒菌は有用

な制限酵素のソースとなりうることを示している。制限酵素産生菌の病原性の問題は十分考慮しなければならない問題であるが、非病原性菌を分離したり、制限酵素遺伝子のみを大腸菌K-12に導入することにより、クリアーできる。高い確率で有用な制限酵素が発見できた最大の理由は、その病原性がゆえに、スクリーニング研究がなされていなかったためであろう。現在、我々の研究室では、*Vibrio cholerae*と*Salmonella enteritidis*に焦点を合わせて、制限酵素のスクリーニングを行っている。あわせて、制限酵素産生性の疫学利用の可能性を探っている。

文 献

- 1) 関谷剛男：制限酵素による切断地図。“分子遺伝学実験法”，共立出版，東京（1983），pp.167~183
- 2) Arber, W.: Ann. Rev. Microbiol., 19, 365~378 (1965)
- 3) Arber, W.: Prog. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol., 14, 1~37 (1974)
- 4) Boyer, H. W.: Ann. Rev. Microbiol., 25, 153~176 (1972)

Table 6. Characteristics of restriction endonucleases in *Vibrio parahaemolyticus*^{a)}

Restriction endonucleases	<i>V. parahaemolyticus</i> strain	Antigenic scheme	Recognition specificity and isoschizomer ^{b)}
<i>VpaK11I</i>	1307	O4 : K11	GGWCC (<i>AvaII</i>)
<i>VpaK15I</i>	Takikawa	O15 : K15	GGNCC (<i>AsuI</i>)
<i>VpaK29I</i>	TVP1706	O3 : K29	CTGCAG (<i>PstI</i>)
<i>VpaK32I</i>	4387-61	O1 : K32	GCTCTTC (<i>SapI</i> ; New specificity)
<i>VpaK57I</i>	T4144-1	O3 : K57	GGTCTC (<i>Eco31I</i>)

^{a)} Data from ref.44 and Miyahara *et al.* (unpublished results)

^{b)} W, A or T; N, A or T or G or C.

Table 7. Characteristics of restriction endonucleases in *Salmonella*^{a)}

Restriction endonuclease	<i>Salmonella</i> strain	Antigenic scheme	Recognition specificity and isoschizomer ^{b)}
<i>SshAI</i>	<i>S. shikmonah</i> TK139	40; a; 1, 5	CC/TNAGG (<i>SauI</i>)
<i>SblI</i>	<i>S. blockley</i> YY299	6, 8; k; 1, 5	C/CWWGG (<i>StyI</i>)
<i>StyI</i>	<i>S. typhi</i> 27	9, 12; Vi; d	C/CWWGG
<i>StyD4I</i>	<i>S. typhi</i> D4	9, 12; Vi; d	/CCNGG (<i>ScrFI</i>)
<i>SthI</i>	<i>S. thompson</i> YY356	6, 7, 14; k; 1, 5	G/GTACC (<i>KpnI</i>)
<i>SinAI</i>	<i>S. infantis</i> YY163	6, 7, 14; 4; 1, 5	GGWCC (<i>AvaII</i>)
<i>SbaI</i>	<i>S. bareilly</i> YY271	6, 7, 14; y; 1, 5	CAGCTG (<i>PvuII</i>)

^{a)} Data from ref. 23 and ref. 46.

^{b)} W, A or T; N, A or T or G or C.

- 5) Nathans, D. and Smith, H. O.: *Ann. Rev. Biochem.*, **44**, 273~293 (1975)
- 6) 三瀬勝利: 制限酵素: その基礎と医学細菌学への応用. "医学細菌学4", 菜根出版, 東京(1988), pp. 1~38
- 7) Luria, S. E. and M. L. Human: *J. Bacteriol.*, **64**, 557~569 (1952)
- 8) Bertani, G. and Weigle, J. J.: *J. Bacteriol.*, **65**, 113~121 (1952)
- 9) Anderson, E. S. and Felix, A.: *Nature*, **170**, 492~494 (1952)
- 10) Stent, G. S.: *Molecular Genetics: An introductory narrative*, Freeman, San Francisco (1971)
- 11) Arber, W. and Dussoix, D.: *J. Mol. Biol.*, **5**, 18~36 (1962)
- 12) Dussoix, D. and Arber, W.: *J. Mol. Biol.*, **5**, 37~49 (1962)
- 13) Arber, W.: *J. Mol. Biol.*, **11**, 247~256 (1965)
- 14) Meselson, M. and Yuan, R.: *Nature*, **217**, 1110~1114 (1968)
- 15) Linn, S. and Arber, W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **59**, 1300~1306 (1968)
- 16) Streips, U. N. and Yasbin, R. E.: "Modern Microbial Genetics", Wiley-Liss, New York, (1990) pp. 301~321
- 17) Roberts, R. J. and Macelis, D.: *Nucleic Acids Res.*, **19**, suppl., 2077~2109 (1991)
- 18) Kessler, C. and Manta, V.: *Gene*, **92**, 1~248 (1990)
- 19) Hamblet, L., Chen, G. C. C., Brown, A., and Roberts, R. J.: *Nucl. Acid Res.*, **17**, 6417(1989)
- 20) Brown, T. A.: "Molecular Biology Lab Fax", Blackwell Scientific Publications, Oxford, (1991), pp. 124~138
- 21) Fuchs, R. and Blakesley, R.: *Methods Enzymol.*, **100**, 3~38 (1983)
- 22) Yoshida, Y. and Mise, K.: *J. Bacteriol.*, **165**, 357~362 (1986)
- 23) Miyahara, M. and Mise, K.: *Gene*, in press (1993)
- 24) Howard, K. A., Card, C., Benner, J. S., Callahan, H. L. Maunus, R., Silber, K., Wilson, G. and Brooks, J. E.: *Nucl. Acids Res.*, **14**, 7939~7951 (1986)
- 25) Som, S., Bhagwat, A. S. and Fredman, S.: *Nucl. Acids Res.*, **15**, 313~332 (1987)
- 26) Guinée, P. A. M. and van Leeuwen, W. J.: *Methods Microbiol.*, **11**, 157~191 (1978)
- 27) Parker, M. T.: *Methods Microbiol.*, **70**, 619~629 (1972)
- 28) Mukerjee, S.: *Methods Microbiol.*, **12**, 51~115 (1978)
- 29) Greene, P. J., Heynecker, H. L., Bolivar, F., Rodriguez, R. L., Betlach, M. C., Covarrubias, A. A., Backman, K., Russel, D. J., Tait, R. and Boyer, H. W.: *Nucl. Acids Res.*, **5**, 2373~2380 (1977)
- 30) Pirrotta, V. and Bickle, T. A.: *Methods Enzymol.*, **65**, 89~95 (1980)
- 31) Mise, K., Nakajima, K., Terakado, N. and Ishidate, Jr. M.: *Gene*, **44**, 165~169 (1986)
- 32) Miyahara, M. and Mise, K.: *Analyt. Chim. Acta*, **213**, 273~277 (1988)
- 33) Greene, P. J., Betlach, M., Goodman, H. M. and Boyer, H. W.: *Methods Mol. Biol.*, **7**, 87~111 (1974)
- 34) Shayegani, M., Morse, D., Deforge, I., Root, T., Parsons, L. M., and Maupin, P. S. (1983): *J. Clin. Microbiol.*, **17**, 35~40 (1983)
- 35) Kapperud, G. and Nesbakk, T.: *Contr. Microbiol. Immunol.*, **9**, 317~323 (1987)
- 36) Miyahara, M., Maruyama, T., Wake, A. and Mise, K. (1988): *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 577~580 (1988)
- 37) Mise, K., and Nakajima, K.: *Gene*, **33**, 355~359 (1985)
- 38) Miyahara, M., Kudoh, Y. and Mise, K.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 2248~2250 (1991)
- 39) Mise, K., Miyahara, M., Maruyama, T., Kudoh, Y. and Ohashi, M.: Usefulness in the epidemiology of food poisoning cases of detection of specific restriction endonucleases in some serotypes of *Salmonella and Yersinia*, "Microbial Toxins in Foods and Feeds", Plenum Press, New York, (1990), pp. 127~129
- 40) 三瀬勝利, 宮原美知子: *モダンメディア*, **36**, 122~134 (1990)
- 41) Mise, K. and Nakajima, K.: *Gene*, **36**, 363~367 (1985)
- 42) Mise, K. and Nakajima, K.: *Gene*, **30**, 79~85 (1984)
- 43) Miyahara, M., Nakajima, K., Shimada, T. and Mise, K.: *Gene*, **87**, 119~122 (1990)
- 44) Miyahara, M., Shimada, T., Kotani, H. and Mise, K.: *Gene*, **117**, 103~106 (1992)
- 45) Honda, T.: A virulence factor, Vp TDH/TRH, of *Vibrio parahaemolyticus*: Evidence that not only Vp-TDH-producing, but also Vp-TRH-producing *Vibrio parahaemolyticus* strains are human enteropathogens. "Emerging Food Safety Problem Resulting from Microbial Contamination", Kohen-Shuppan, Tokyo, (1992), pp. 353~370
- 46) Miyahara, M., Nakajima, K., Kawanishi, T., and Mise, K.: *FEMS Microbiol. Lett.*, **66**, 245~248 (1990)

活性酸素による 2'-deoxyguanosine からの 8-hydroxydeoxyguanosine の生成と分解

佐々木久美子・木嶋敬二・小嶋茂雄

Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine from 2'-deoxyguanosine and its decomposition by active oxygen

Kumiko Sasaki, Keiji Kijima and Shigeo Kojima

8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) was formed from dG and isolated DNA by photosensitization with rose bengal (RB) and methylene blue (MB). 8-OHdG formed from dG was decomposed by the photosensitization with these dyes. Singlet oxygen was concerned with the formation and decomposition of 8-OHdG by photosensitization.

Fe⁺⁺ oxidized dG to 8-OHdG, which was decomposed by the addition of H₂O₂.

8-OHdG was formed and decomposed by the treatment of dG with Fe⁺⁺, EDTA and ascorbic acid. Hydroxy radical (\cdot OH) participated in the formation and decomposition of 8-OHdG by Fe⁺⁺.

Keywords : 8-hydroxydeoxyguanosine, rose bengal, methylene blue, singlet oxygen

(Received May 31, 1993)

8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) は活性酸素又は還元物質によって損傷された DNA に生成する修飾塩基の一つであり¹⁾, *in vitro* および *in vivo* における DNA の酸化的傷害あるいは活性酸素生成の指標として使えることが報告されている²⁻⁵⁾. 8-OHdG は DNA あるいは deoxyguanosine (dG) に hydroxy radical (\cdot OH) が作用して生成する⁶⁻⁹⁾ ほか、methylene blue の光増感¹⁰⁾, 3,3-(1,4-naphthylidene)dipropionate の分解¹¹⁾, peroxidase と過酸化水素の反応¹²⁾ などで生成する一重項酸素 (¹O₂) によっても生成することが報告されている。

本報では色素光増感による dG および DNA からの 8-OHdG の生成と分解および Fe⁺⁺ による dG からの 8-OHdG の生成と分解について報告する。

実 験 方 法

試 薬

2'-deoxyguanosine (dG), rose bengal (RB) は東京化成製, 仔牛胸腺 DNA はシグマ社製, methylene blue (MB) は和光純薬製のものを用いた。8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) は葛西らの方法¹⁾ で合成した。

dG, 8-OHdG の定量

dG, 8-OHdG は高速液体クロマトグラフ (HP-

LC) で定量した。カラムは Capcell pak C₁₈ (4.6 × 250 mm), 移動相には 10% メタノール含有 10 mM リン酸緩衝液 (pH 5.5, 流速 1.0 ml/min) を用いた。dG は 290 nm の吸収で, 8-OHdG は電気化学検出器 (0.6 V) で検出した。

dG の色素光増感処理

0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) に dG 又は 8-OHdG と RB 又は MB を加えて調製した試料液 5 ml をガラスビーカーにいれ, 深さ 0.5 cm の水を入れたシャーレを上に乗せて, 氷水の中で冷却しながら 150 W の電球で 13 cm の距離から照射した。経時的に試料液 5 μl を HPLC で定量した。

DNA の色素光増感処理

DNA 1.0 mg を 2 ml の蒸留水に溶解し, RB 又は MB を加えて dG の場合と同様に光照射した。試料液を葛西らの方法¹³⁾ で Nuclease P1 および alkaline phosphatase で処理して HPLC で定量した。

Fe⁺⁺ とアスコルビン酸による酸化

0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) に溶解した dG (200 μM) 又は 8-OHdG (4.4 μM) を 14 mM のアスコルビン酸, 6.5 mM の EDTA および 1.3 mM の FeSO₄ とともに 37°C, 暗所で 3~5 時間, 振とうした。

Fenton 反応による酸化

0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) に溶解した dG (100 μ M) に 0.36 mM の FeSO_4 を加え、室温、暗所に 40 分間静置した後、二つに分けて、一方には 0.25% の過酸化水素を添加し、他方は添加せずに 90 分間静置した。

結果および考察

1) RB および MB 光増感による dG の酸化

RB あるいは MB 光増感によって dG は照射時間に相関して直線的に減少した。dG を RB 又は MB で 90 分間光増感した時、dG はそれぞれ 136, 170 μ M に減少し、RB では 0.25 μ M, MB では 2.83 μ M の 8-OHdG が生成した (Fig. 1)。dG が直線的に減少しているにも関わらず、8-OHdG は照射時間に相関した増加を示さず、また、dG の減少量に比べて 8-OHdG 生成量は非常に少なかった。8-OHdG は RB 又は MB 光増感によって速やかに減少した (Fig. 2, D_2O が 0% の場合) ことから 8-OHdG は生成すると同時に分解していることが分かった。しかし、Waskell らが pH 9.2 における MB 光増感で dG から ribosylurea, ribose, guanidine および尿素が生成すると述べている¹⁴⁾ ことから、dG が 8-OHdG を経ずに分解していることも考えられる。なお、両色素とも、暗所では 8-OHdG を分解しなかった。

RB および MB による dG の光酸化は主に $^1\text{O}_2$ の作用によるといわれている¹⁵⁾ が、RB 光増感では $^1\text{O}_2$ とともに superoxide anion も生成する¹⁶⁾。そ

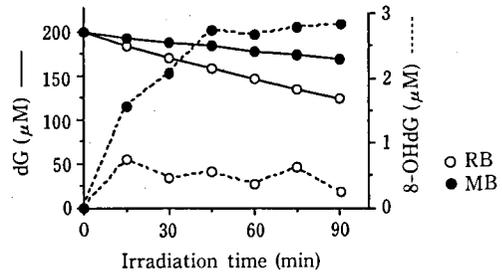


Fig. 1. Formation of 8-OHdG from dG by photosensitization with RB and MB

dG (200 μ M) was irradiated with 200 μ M of RB and MB. Data represent the mean of 2 determinations.

こで、8-OHdG の生成と分解に関与する活性酸素種を明らかにするために各種のスクベンジャーの影響を検討した。RB および MB 光増感による dG の分解は $\cdot\text{OH}$ のスクベンジャーである mannitol と ethanol では阻害されなかったが、 $^1\text{O}_2$ のクエンチャーである sodium azide と histidine で阻害され (Table 1)、8-OHdG 生成量が減少した。一方、8-OHdG の分解も mannitol と ethanol では阻害されなかったが、sodium azide と histidine で阻害された。EDTA は MB による dG と 8-OHdG の分解を阻害したが、RB による分解は阻害しなかった。このことは MB 光増感による dG と 8-OHdG の分解には RB によるそれとは異なる機構が関与している可能性を示している。RB および MB 光増感による 8-OHdG の分解は、90% 重水中ではそれぞれ水中

Table 1. Effects of scavengers on the degradation of dG and 8-OHdG irradiated with RB and MB

Scavenger (mM)	(mM)	Inhibition rate (%)			
		RB		MB	
		dG ^{a)}	8-OHdG ^{b)}	dG ^{a)}	8-OHdG ^{b)}
NaN_3	30	100	96	100	95
Histidine	10	85	73	95	76
Mannitol	50	0	3	0	0
Ethanol	1500	0	0	0	0
EDTA	10	0	0	25	79

Data for RB represent the mean of 2 determinations.

a) dG (200 μ M) was irradiated with 100 μ M of RB or 200 μ M of MB for 30 min.

b) 8-OHdG (4 μ M) was irradiated with 20 μ M of RB or MB for 15 min.

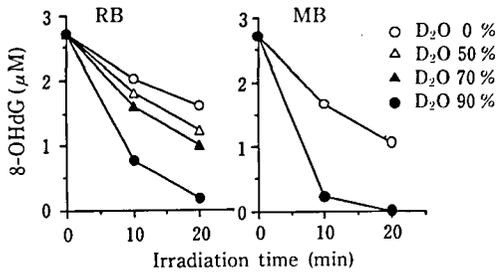


Fig. 2. Effect of D₂O on decomposition of 8-OHdG

8-OHdG was irradiated with 3.3 μM of RB and 6.7 μM of MB. Data for 0% of D₂O represent the mean of 2 determinations.

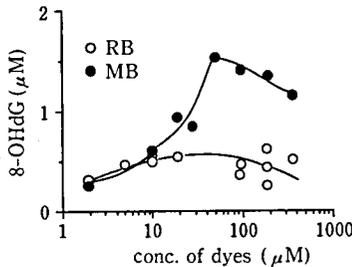


Fig. 3. Effect of dye concentrations on formation of 8-OHdG from dG photosensitization

dG (200 μM) was irradiated with RB and MB for 10 min.

の約 2.8 および 2.3 倍に増加した (Fig. 2)。これらの結果から RB および MB の光増感で生成した ¹O₂ が dG を 8-OHdG に酸化し、更に生成した 8-OHdG を分解していることが明らかになった。そこで、検出された 8-OHdG は生成量から分解量を差し引いた見かけ量であることが分かった。10 μM より低濃度の RB および MB 光増感による 8-OHdG 生成量は両色素間でほとんど差がなかったが、高濃度の RB では MB に比べて 8-OHdG 生成量が少なかった (Fig. 3)。これは、RB 光増感では 8-OHdG が分解しやすいためと考えられる (Fig. 4)。RB と MB の光増感による ¹O₂ 生成量には差がない¹⁷⁾ にも関わらず、8-OHdG 生成量および分解量に差があるのは、8-OHdG の生成又は分解に ¹O₂ の関与しない Type 1 の反応、すなわち光励起された RB 又は MB が直接に dG あるいは 8-OHdG と反応する機構が関与しているのかも知れない。

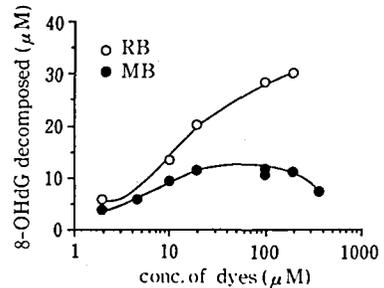


Fig. 4. Effect of dye concentrations on decomposition of 8-OHdG by photosensitization

8-OHdG (40 μM) was irradiated with RB and MB for 10 min.

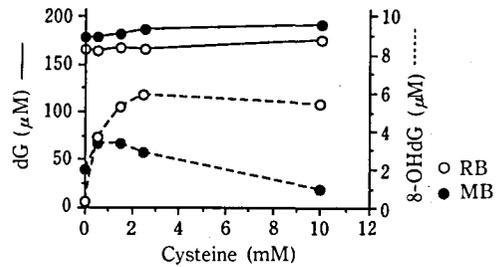


Fig. 5. Effect of cysteine on 8-OHdG formation by RB and MB photosensitization

dG (190 μM) was irradiated with 200 μM of RB and MB in the presence of cysteine for 30 min

Devasagayam らは ¹O₂ によって dG が endoperoxide に酸化され、これが cysteine や glutathione によって効率よく 8-OHdG に変化すると述べている¹¹⁾。Cysteine は RB 光増感による 8-OHdG 生成を増加させたが MB 光増感にはあまり影響しなかった。高濃度の cysteine は dG の分解を阻害し、8-OHdG の生成を減少させた (Fig. 5)。

2) RB および MB 光増感による DNA の酸化

RB および MB 光増感による DNA 標品中の dG の分解と 8-OHdG の生成について検討した。RB を添加した DNA からは光照射しなくても少量の 8-OHdG が検出された (Fig. 6)。DNA 中の 8-OHdG の分析過程で酵素分解以外は明所で操作したことから、この 8-OHdG は分析操作中に生成したものと考えられる。150 分間の RB 光増感で 8-OHdG はわずかに増加しなかった。一方、MB を添加した DNA からは光照射なしでは 8-OHdG は生成しなかったが、照射時間に比例して 8-OHdG は増加

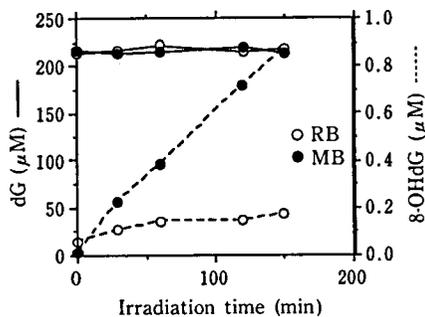


Fig. 6. Formation of 8-OHdG from DNA by RB and MB photosensitization

し、150分後の生成量はRBの場合の5倍であった。この結果は1)で述べたdGからの8-OHdG生成の結果と同じであり、RB光増感では8-OHdGが生成しやすいにも関わらず、経時的増加を示さなかったことから、DNA中に生成した8-OHdGが分解することが示唆される。葛西らもリボフラビン光増感でDNA中に生成した8-OHdGが照射を続けると減少したことから8-OHdGが更に分解する可能性を述べている¹⁰⁾。

1)で述べたようにdGは光増感反応によって経時的に減少したが、DNA中のdGは150分間光増感してもその変化量は測定誤差範囲内であり、ほとんど分解されずに残っていた。この結果から、dGの場合には生成した 1O_2 のごく一部がguanine基のC-8位の酸化に関与しているにすぎず、ほとんどの 1O_2 はそれ以外のribose部分などの酸化に消費されることが示唆された。この結論は 1O_2 がdGからよりもDNAから8-OHdGを容易に生成するという報告¹²⁾と矛盾しない。

3) Fe^{++} とアスコルビン酸による酸化

葛西らはdGを Fe^{++} 、EDTA、アスコルビン酸および酸素と反応させて8-OHdGを合成し、この反応はエタノールで阻害されるので $\cdot OH$ が関与していると述べている¹¹⁾。この反応条件でdGをインキュベートすると、dGが減少し、8-OHdGが生成した (Fig. 7)。しかしこの反応条件で8-OHdGをインキュベートすると、当初 $4.4 \mu M$ だった8-OHdGが5時間後には $3.6 \mu M$ に減少した。dGの分解は11 mMのmannitolと1700 mMのethanolでそれぞれ18および62%阻害され、この時8-OHdGの生成はmannitolで25%阻害されたがethanolでは阻害されなかった。更に、8-OHdGの分解

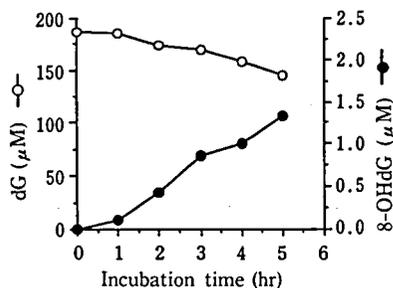


Fig. 7. Formation of 8-OHdG from dG incubated with Fe^{++} , EDTA and ascorbic acid. Data represent the mean of 2 determinations.

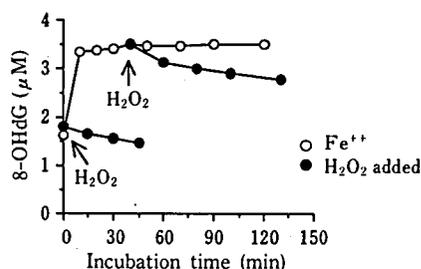


Fig. 8. Formation of 8-OHdG from dG and Fe^{++} and effect of H_2O_2

Data represent the mean of 2 determinations.

は11 mMのmannitolで35%阻害された。

これらの結果から、 $\cdot OH$ がdGから8-OHdGを生成し、更に8-OHdGを分解していることが示唆された。

4) Fenton 反応による酸化

Fe^{++} と過酸化水素から $\cdot OH$ が生成する反応はFenton反応としてよく知られている。しかし、dGに Fe^{++} だけを添加しても直ちにdGは減少し、8-OHdGが生成した (Fig. 8)。その生成量は Fe^{++} 濃度に相関した (Table 2)。8-OHdGはdGに Fe^{++} を添加すると同時に生成し、10分間で2倍に増加したが、その後室温で2時間静置しても変化しなかった。そこへ過酸化水素を添加するとその時点から8-OHdGは徐々に減少した。dGに Fe^{++} を添加した直後に過酸化水素を添加すると8-OHdGは増加することなくそのまま減少した。dGと Fe^{++} による8-OHdG生成反応は、mannitol, sodium azideおよび2-propanolで阻害された (Table 2) ことから、 Fe^{++} による8-OHdG生成と過酸化水素添加によるその分解には何れも $\cdot OH$ が関与しているこ

Table 2. Effects of Fe⁺⁺ concentrations and active oxygen scavengers on 8-OHdG formation from dG and Fe⁺⁺

FeSO ₄ (μM)	Scavengers ^{a)}	(mM)	8-OHdG (μM)
3.4	—	—	0.08
34.3	—	—	0.70
343.0	—	—	2.23
654.0	—	—	3.78
343.0	NaN ₃	38	0
343.0	NaN ₃	3.8	0.08
343.0	Mannitol	14	0
343.0	2-propanol	66	0
343.0	2-propanol	6.6	0.25

a) Scavengers were added to dG before the addition of FeSO₄.

とが考えられる。

1) から 4) に示した結果から、8-OHdG は dG から ¹O₂ あるいは \cdot OH の関与で生成すると同時に、これらの活性酸素によって分解されることが分かった。

そこで、*in vitro* の実験において 8-OHdG を DNA 損傷、変異原性あるいは活性酸素生成の指標として用いる際は生成と分解を念頭にいたった解析が必要と考えられる。

文 献

- Kasai, H. and Nishimura, S.: *Nucleic Acids Research*, **12**, 2137 (1984)
- Shigenaga, M. K., Gimeno, C. J. and Ames, B. N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 9697 (1989)
- Fraga, C. G., Shigenaga, M. K., Park, J. W., Degan, P. and Ames, B. N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 4533 (1990)
- Kasai, H., Nakayama, M., Toda, N., Yamazumi, Z., Oikawa, J. and Nishimura, S.: *Mutat. Res.*, **214**, 159 (1989)
- Shioya, M., Wakabayashi, K., Yamashita, K., Nagao, M. and Sugimura, T.: *Mutat. Res.*, **225**, 91 (1989)
- Floyd, R. A., West, M. S., Eneff, K. L., Hogsett, W. E. and Tingey, D. T.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **262**, 266 (1988)
- Aruoma, O. I., Halliwell, B. and Dizdaroglu, M.: *J. Biol. Chem.*, **264**, 13024 (1989)
- Aruoma, O. I., Halliwell, B., Gajewski, E. and Dizdaroglu, M.: *J. Biol. Chem.*, **264**, 20509 (1989)
- Floyd, R. A., Watson, J. J., Harris, J., West, M. and Wong, P. K.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **137**, 841 (1986)
- Floyd, R. A., West, M. S., Eneff, K. L. and Schneider, J. E.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **273**, 106 (1989)
- Devasagayam, T. P. A., Steenken, S., Obendorf, M. S. W., Schulz, W. A. and Sies, H.: *Biochem.*, **30**, 6283 (1991)
- Kohda, K., Nakagawa, T. and Kawazoe, Y.: *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 3072 (1990)
- Kasai, H., Crain, P. F., Kuchino, Y., Nishimura, S., Ootsuyama, A. and Tanooka, H.: *Carcinogenesis*, **7**, 1849 (1986)
- Waskell, L. A., Sastry, K. S. and Gordon, M. P.: *Biochim. Biophys. Acta*, **129**, 49 (1966)
- Wang, S. Y. and Midden, W. R.: *Stud. Biophys.*, **94**, 7 (1983)
- Lee, P. C. C. and Rodgers, M. A. J.: *Photochem. Photobiol.*, **45**, 79 (1987)
- Houba-Herlin, N., Calberg-Bacq, C. M., Piette, J. and Van de Vorst, A.: *Photochem. Photobiol.*, **36**, 297 (1982)
- Kasai, H., Yamaizumi, Z., Berger, M. and Cadet, J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 9692 (1992)

防炎加工剤 Hexabromocyclododecane のモルモットにおける皮膚一次刺激性,
皮膚感作性, 光毒性および光感作性

門馬純子・鹿庭正昭・関口裕巳・大野圭子
川崎 靖・津田充宥・中村晃忠・黒川雄二

Dermatological Evaluation of a Flame Retardant, Hexabromocyclododecane
(HBCD) on Guinea Pig by Using the Primary Irritation, Sensitization,
Phototoxicity and Photosensitization of Skin

Junko Momma, Masa-aki Kaniwa, Hiromi Sekiguchi, Keiko Ohno,
Yasushi Kawasaki, Mitsuhiro Tsuda, Akitada Nakamura and Yuji Kurokawa

As one of the projects in the safety evaluation of chemical constituents in common house-hold products, effects of hexabromocyclododecane (HBCD) were evaluated by primary skin irritation, skin sensitization, phototoxicity and photosensitization using guinea pigs.

Primary skin irritation was not observed in HBCD emulsified in distilled water by the Draize test method.

Skin sensitization test was carried out according to the maximization test method of Magnusson and Kligman. For this test, HBCD was dissolved in olive oil to give 5, 0.5 and 0.05%. When induction of sensitization occurred, challenged doses of 0.005, 0.05, 0.5 and 5% of HBCD (dissolved in acetone) were applied to its respective sensitized groups. The results showed that the induction dose of greater than 0.5% and the challenge dose of greater than 0.05% elicited a positive response. The increase in the concentration of induction and challenge doses did not further increase the percentage of positive response or the intensity of skin response. Phototoxicity test was carried out with 0, 0.5 and 5% of HBCD dissolved in acetone. Phototoxicity was not observed at all HBCD concentration tested.

Photosensitization test was performed according to the Sato's adjuvant-strip method. The skin sensitization and challenge reaction doses were 5 and 0.5% and 0 and 0.5% HBCD (dissolved in acetone), respectively, and no positive reaction was observed.

It is clear from the foregoing results that HBCD is a mild skin allergen.

Keywords : Dermal toxicity, Flame retardant, HBCD, Guinea pig

(Received May 31, 1993)

はじめに

Hexabromocyclododecane(HBCD)は、ポリエステル繊維、電気製品および建材などの防炎加工剤として使用されている。中でも、難燃性ポリエステル繊維は、消防法適合カーテン類、椅子張地および寝具類等に使用されており、ヒトの皮膚への接触頻度が高い。

HBCDの構造式はFig.1に示した如くである。その性状は白色の微粉末で、アセトン、キシレンに溶け、ベンゼン、オリーブ油にやや溶けにくく、水

には不溶の物質である。

今回、家庭用品に含まれる化学物質の安全性評価の一環として、モルモットを用いて、HBCDの皮膚一次刺激性試験、皮膚感作性試験、光毒性試験および光感作性試験を行った。

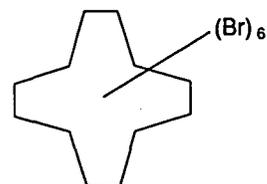


Fig.1. Hexabromocyclododecane (HBCD)

実験材料および方法

1. 被験物質および試薬

Hexabromocyclododecane(第一工業製薬㈱, Lot No. 304004), 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB: 和光純薬工業㈱), 8-methoxypsoralen (8-MOP: 東京化成工業㈱), 3,4',5-tribromosalicylanilide (TBS: 東京化成工業㈱), W-FCA 乳化液: Freund's complete adjuvant (FCA: Difco Labo.) に, 等量の生理食塩液(大塚製薬㈱)を混合して作製した。M-FCA 乳化液: 所定の濃度になるように, FCA に HBCD あるいは DNCB を懸濁させ, 等量の生理食塩液を加えて作製した。なお, 溶媒対照の場合には, W-FCA 乳化液を用いた。10% Sodium Lauryl Sulfate (SLS 軟膏: 和光純薬工業㈱)を, 白色ワセリン(和光純薬工業㈱)に混和して作製した。

2. 使用動物

体重, 300~350 g の Hartley 系雌性モルモット(クリーン)を日本エスエルシー㈱より購入し, 2 週間馴化飼育した。投与前日に, 一般状態および投与部位の皮膚に異常の見られない動物を選択し, 各群に無作為に振り分けた。実験開始時の体重は 400~450 g の範囲であった。

3. 飼育環境

動物は, 馴化期間および実験期間ともに, ステンレス製 4 連ユニットケージ(W 880×L 350×H 400: 夏目製作所製)に個別に収容し, 固型飼料(GM-3, 船橋農場製)および水道水を自由に与え, 室温 24±1℃, 湿度 55±5%, 12 時間照明(午前 7 時~午後 7 時), 換気回数 18 回/時間(オールフレッシュ)に設定したモルモット専用飼育室内で飼育した。

4. 光源

紫外線光源は, 蛍光ランプ FL20SE(波長 280~370 nm, Peak 305 nm, 東芝電気㈱)および蛍光ランプ FL20BLB(波長 300~430 nm, Peak 365 nm, 東芝電気㈱)を用いた。

照射は FL20SE 3 本と FL20BLB 3 本を交互に配列し, 20 cm の高さから 10 分間行った後, ただちにガラスフィルターを通して, FL20BLB 10 本で 10 cm の高さから 2 時間行った。

5. 皮膚一次刺激性試験

Draize の方法¹⁾に準拠して行った。被験物質 HBCD は, 原末(0.5 g)を湿潤(蒸留水 0.4 ml+エタノール 3 滴)させて用いた。

動物は 1 群 10 匹とし, HBCD 塗布群および HBCD 溶媒塗布群の 2 群を設けた。

投与前日に, モルモットの背側部被毛を電気バリカン(スライプモデル 900, 刃先# 40, 大東電気㈱)で刈り, 更に, 電気シェイパー(ミクロン: ブラウン製)で剪毛した後, 左側を健常皮膚(Intact skin)部位とし, 右側を 18 G の注射針で血がにじまない程度に井桁状に傷をつけ擦過皮膚(Abraded skin)部位とした。これらの部位に被験物質を塗布して, 24 時間閉塞貼付した。貼付処置は, リント布上(2×3 cm)に湿潤させた HBCD(0.5 g)を均一に塗り, これをアルミ箔チャンバー(2×3 cm)に入れ, モルモットの背部にテガダムテープ(6×7 cm)(住友スリーエム社)で固定し, 更に, レストン粘着フォームパッド(住友スリーエム社)およびシルキーテックス粘着性伸縮包帯(東京衛材研究所製)で胴の周囲を巻いた。パッチ除去後には当該部位をぬるま湯を浸したガーゼで軽く清拭した。

6. 皮膚感作性試験

Magnusson and Kligman²⁾の guinea pig maximization test 法に準拠して行った(Fig. 2)。

実験群の構成は, HBCD 感作群および HBCD 非感作群のほか, 陽性対照群として DNCB 感作群および DNCB 非感作群の 4 群を設けた。動物数は, HBCD 感作群および HBCD 非感作群では各 10 匹, DNCB 感作群および DNCB 非感作群では各 5 匹を用いた。

① 感 作

投与前日に, モルモットの背部肩甲骨部位(4×6 cm)を電気バリカンおよび電気シェイパーで剪毛した。第 1 回目の感作(皮内感作)として, Fig. 2 に示した部位 A に W-FCA 乳化液を, 部位 B に被験物質溶液を, また, 部位 C には M-FCA 乳化液を頭側より順に, それぞれ 0.05 ml ずつ左右 2 ヶ所に皮内注射した。6 日後に, その部位を再度剪毛し, SLS 軟膏(50 mg)を均一に塗布し, 24 時間後にアセトンで清拭した。第 1 回感作後 7 日目に, 25% HBCD 軟膏(0.2 g)を塗布した 2×3 cm 大の濾紙を皮内注射部位に 48 時間閉塞貼布し, 第 2 回目の感作(塗布感作)とした。なお, 貼付処置は一次刺激性試験と同様の方法で行った。

② 惹起(誘発)

第 2 回目の感作より 13 日後にモルモットの背部を剪毛し, その剪毛背部皮膚 4 ヶ所に直径約 1.5 cm の円形の印をつけた。翌日, 各濃度に調製した

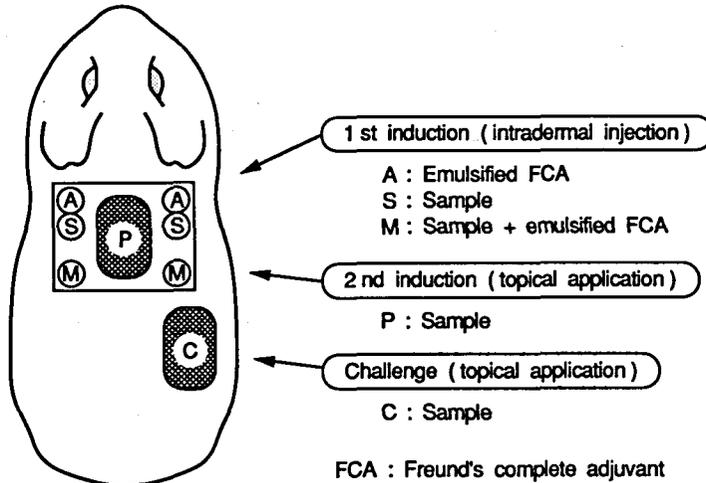


Fig. 2. Maximization Test (Magnusson & Kligman, 1969)

Table 1. Concentration of test substances used for induction and challenge in skin sensitization test

Test substance	Induction		Challenge				
	Intradermal injection Conc. (%) ^{a)}	Topical Conc. (%) ^{b)}	Topical Conc. (%) ^{c)}				
HBCD	5	25	0,	0.005,	0.05,	0.5,	5
	0.5	25	0,	0.005,	0.05,	0.5,	5
	0.05	25	0,	0.005,	0.05,	0.5,	5
	0	0	0,	0.005,	0.05,	0.5,	5
DNCB	0.1	0.1	0,	0.001,	0.01,	0.1	
	0	0	0,	0.001,	0.01,	0.1	

a) : Vehicle = Olive oil

b) : Vehicle = Vaseline

c) : Vehicle = Acetone

HBCD 溶液を円形部位に 24 時間直接塗布 (0.02 ml) し、開放塗布による惹起を行った。なお、感作および惹起に使用した被験物質の濃度および溶媒は Table 1 に示した。

用量設定理由としては、予備試験の結果、5% HBCD で陽性反応が認められたので、本実験では感作濃度を 5, 0.5 および 0.05% とした。また、陽性対照物質である DNCB の濃度は、DNCB による皮膚一次刺激性を起こさず、確実に皮膚感作性を示す濃度である 0.1% を用いた。

7. 光毒性試験

実験群の構成は、HBCD 塗布群および HBCD 溶媒塗布群のほか、陽性対照群として 8-MOP 塗布群および 8-MOP 溶媒塗布群の 4 群を設けた。

動物数は、HBCD 塗布群および HBCD 溶媒塗布群には各 10 匹、8-MOP 塗布群および 8-MOP 溶媒塗布群には各 5 匹を用いた。

被験物質 HBCD はアセトンで 0.5 および 5% W/V に調製して用いた。また、8-MOP はエタノールで 0.01% W/V に調製して用いた。

モルモットの背部を剪毛し、固定器に腹位に固定した後、正中線を対称軸として左右両側に3個ずつ、1×1 cm 区画の塗布部位を設定し、左右対称の各区画部位に調製液を0.01 ml ずつ塗布し、30分後に紫外線照射を行った。なお、左側を照射部位 [UV (+)] とし、右側はアルミホイルで遮光して非照射部位 [UV (-)] とした。

8. 光感作性試験

佐藤らの adjuvant-strip 法³⁾に準拠して行った。

実験群構成は、HBCD 感作群および HBCD 非感作群のほか、陽性対照群として TBS 感作群および TBS 非感作群の4群を設けた。

動物数は、HBCD 感作群および HBCD 非感作群には各10匹、TBS 感作群および TBS 非感作群に各5匹を用いた。

被験物質 HBCD はアセトンで0.05% W/V に調製して用いた。また、TBS はエタノールで0.1% W/V に調製して用いた。

① 感 作

モルモットの背部肩甲骨部位を剪毛し、固定器に腹位に固定した。2×4 cm の感作領域の4隅に W-FCA 乳化液を0.1 ml ずつ皮内注射した後、同領域の皮膚をスコッチテープで5回、ストリッピングを行った。同部位に調製液0.1 ml を塗布し、30分後に紫外線を照射した。この操作を1日1回、5日間連続で繰り返し行った。

② 惹起 (誘発)

最終感作終了後14日目に行った。なお、照射は

光毒性試験と同様の方法で行った。

9. 皮膚反応の判定

皮膚一次刺激性試験 (閉塞貼付の除去後)、光毒性試験 (照射後) では24および48 hr 後、また、皮膚感作性試験 (塗布後)、光感作性試験 (照射後) では48および72 hr 後の皮膚反応を佐藤らの基準⁴⁾にしたがって判定し、陽性反応率 (fractional response: FR) および平均評価点 (mean response: MR) を算出した (Table 2)。

試 験 結 果

1. 皮膚一次刺激性試験

モルモットの健常皮膚および擦過皮膚に対し、HBCD の皮膚一次刺激性は全く認められなかった。

2. 皮膚感作性試験 (Table 3)

HBCD 溶液で感作した動物では、感作濃度0.5%以上および惹起濃度0.05%以上で48 hr 後に、陽性反応が認められ、その陽性反応率 (FR) は感作濃度に相関していた。皮膚反応の程度はいずれも軽度の紅斑で、平均評価点 (MR) は0.1~1.1であった。しかしながら、0.05% HBCD 溶液およびその溶媒で感作した動物では皮膚反応は全く認められなかった。

一方、陽性対照の0.1% DNCB 溶液で感作した動物に、0.001, 0.01 および0.1% DNCB 溶液で惹起 (誘発) を行うと、惹起濃度0.01%以上で、48 hr 後には全例に皮膚反応がみられ、惹起濃度と皮膚反応の強さに用量相関性が認められた。これら

Table 2. Evaluation of skin reaction (Scale for scoring)

(1) Erythema formation	
No erythema	0
Very slight erythema	1
Well defined erythema	2
Moderate to severe erythema	3
Severe erythema with eschar formation	4
(2) Edema formation	
No edema	0
Slight edema	1
Moderate edema	2
Severe edema	3
Total maximum	
7	
Fractional response	
= $\frac{\text{Number of animals showing a positive reaction}}{\text{Number of animals tested}}$	
Mean response	
= $\frac{\sum [(1) + (2)]}{\text{Number of animals tested}}$	

Table 3. Results of skin sensitization test of HBCD

Test substance	Induction (%)	Challenge (%)	Number of animals	Time (hr)	Erythema score					Edema score				FR	MR
					0	1	2	3	4	0	1	2	3		
HBCD	5	0	10	48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0
				72	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0
		0.05		48	9	1	0	0	0	10	0	0	0	1/10	0.1
				72	9	1	0	0	0	10	0	0	0	1/10	0.1
		0.5		48	2	5	3	0	0	10	0	0	0	8/10	1.1
				72	2	5	3	0	0	10	0	0	0	8/10	1.1
		5		48	1	5	3	1	0	10	0	0	0	9/10	1.4
				72	1	5	3	1	0	10	0	0	0	9/10	1.4
	0.5	0	10	48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0
				72	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0
		0.05		48	8	2	0	0	0	10	0	0	0	2/10	0.2
				72	8	2	0	0	0	10	0	0	0	2/10	0.2
		0.5		48	7	3	0	0	0	10	0	0	0	3/10	0.3
				72	7	3	0	0	0	10	0	0	0	3/10	0.3
		5		48	6	2	2	0	0	10	0	0	0	4/10	0.6
				72	6	2	2	0	0	10	0	0	0	4/10	0.6
	0.05	0	10	48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0
				72	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0
		0.05		48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0
				72	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0
0.5		48		10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
		72		10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
5		48		10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
		72		10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
0	0	10	48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
			72	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
	0.05		48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
			72	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
	0.5		48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
			72	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
	5		48	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	
			72	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0/10	0	

The number in score column represents the number of animal(s) whose skin reactions were evaluated as specified.

Time : Reading time after the removal of the closed patches.

FR : Fractional response = Number of animals which showed a positive reaction / Number of animals tested.

MR : Mean response = Total of erythema and edema scores / Number of animals tested.

Table 3. (Continued)

Test substance	Induction (%)	Challenge (%)	Number of animals	Time (hr)	Erythema score					Edema score				FR	MR
					0	1	2	3	4	0	1	2	3		
DNCB	0.1	0	5	48	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0/5	0
				72	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0/5	0
		0.001		48	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0/5	0
				72	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0/5	0
		0.01		48	0	5	0	0	0	5	0	0	0	5/5	1.0
				72	0	5	0	0	0	5	0	0	0	5/5	1.0
		0.1		48	0	0	0	5	0	5	0	0	0	5/5	3.0
				72	0	0	0	5	0	5	0	0	0	5/5	3.0
	0	0	5	48	5	0	0	0	0	5	0	0	0/5	0	
				72	5	0	0	0	0	5	0	0	0/5	0	
				0.001	48	5	0	0	0	0	5	0	0	0/5	0
					72	5	0	0	0	0	5	0	0	0/5	0
		0.01		48	5	0	0	0	0	5	0	0	0/5	0	
				72	5	0	0	0	0	5	0	0	0/5	0	
		0.1		48	5	0	0	0	0	5	0	0	0/5	0	
				72	5	0	0	0	0	5	0	0	0/5	0	

の反応は 72 hr 後まで認められ，平均評価点 (MR) は 3.0 あるいは 1.0 であった。また，その溶媒で感作した動物では DNCB のいずれの惹起濃度においても皮膚反応は全く認められなかった。

3. 光毒性試験

HBCD 溶液 (5 および 0.5%) およびその溶媒による皮膚反応は，48 hr 後まで UV 照射および UV 非照射部位ともに皮膚反応は全く認められなかった。

一方，陽性対照の 0.01% 8-MOP 溶液では，UV 照射部位で，24 hr 後に全例に紅斑および浮腫を伴う強い皮膚反応を示し，MR は 4.4 を示した。この UV 照射部位の皮膚反応は 48 hr 後まで認められたが，UV 非照射部位では皮膚反応は全く認められなかった。また，8-MOP 溶液の溶媒では UV 照射および UV 非照射部位ともに皮膚反応は全く認められなかった。

4. 光感作性試験

0.05% HBCD 溶液で感作した動物およびその溶媒で感作した動物では，72 hr 後まで UV 照射および UV 非照射部位ともに皮膚反応は全く認められなかった。

一方，陽性対照の 0.1% TBS 溶液で感作した動物に，0.1% TBS で惹起 (誘発) を行うと，UV

照射部位において 48 hr 後には浮腫を伴う強い紅斑が認められ，MR は 3.6 を示した。これらの反応は 72 hr 後においても全例に認められたが，UV 非照射部位では皮膚反応は全く認められなかった。また，TBS 溶液の溶媒で感作した動物では，UV 照射および UV 非照射部位ともに 72 hr 後まで皮膚反応全く認められなかった。

考 察

皮膚一次刺激性試験では HBCD の刺激性は全く認められなかったが，皮膚感作性試験では感作濃度 0.5% 以上および惹起濃度 0.05% 以上で陽性反応が認められた。陽性反応率は感作濃度に依存していたが，皮膚反応の程度はいずれも軽度の紅斑であり，感作濃度 0.05% では陰性であった。したがって，HBCD の最低感作濃度 (陽性反応が認められた最も低い感作濃度) は 0.5% であると考えられた。

Roberts⁵⁾ は，感作性のリスクアセスメントの方法として，化学物質の感作性の強さを定量的に表現し，評価することを提唱している。そのためには化学物質の最低感作濃度を確認しておくことが重要であるとしている。著者らはこれまで，ゴム長靴⁶⁻⁸⁾，黄色綿セーター⁹⁾ およびネル寝間着¹⁰⁾ 等，ヒトで

アレルギー性接触皮膚炎を引き起こした製品の原因物質を追求するとともに、それら原因物質の最低感作濃度および製品中での含有量を調べた。その結果、ヒトでアレルギー性接触皮膚炎が見られた場合、製品中での原因物質の含有量が、最低感作濃度を上回っていた。

HBCD 防炎加工の表示のあった市販ポリエステルカーテン製品について分析を行ったところ、製品中の HBCD 含有量は 0.5~3.6%¹¹⁾ であり、明らかに HBCD の最低感作濃度を上回っていた。したがって、製品への HBCD の使用はヒトへのリスクを考慮し、最低感作濃度の 0.5% 以下にすべきと考えられた。

光毒性を有する物質の吸収スペクトルは、例外もあるが、一般に 300 nm 付近に吸収極大があるといわれている¹²⁾。HBCD は波長 290 nm 以上では吸収極大を示さず、波長 300 nm 付近における吸収は極めて小さい¹³⁾。光毒性を有する chlorpromazine は、キセノンランプの照射によってフリーラジカルが生じ、紫外部吸収スペクトルに変化が起ると Jung¹⁴⁾ は報告している。HBCD では日光および紫外線 (305 nm 付近および 365 nm 付近) の照射の前後において吸収スペクトルに変化が認められていない¹³⁾ ことから、光化学反応物を生成する可能性はないものと考えられる。また、HBCD が吸収を示す波長 290 nm 以下の紫外線は自然光には存在しない¹⁴⁾ こと等を考慮すれば、HBCD が自然光によって光毒性を起す可能性はほとんどないものと考えられた。

光感作性を示す物質、例えばハロゲン化 salicylamide, sulfanilamide および chlorpromazine¹⁵⁻¹⁸⁾ 等は、皮内において紫外線によりフリーラジカルを生じ、蛋白と結合して抗原となるか、あるいは皮内で生じた代謝産物と蛋白との結合が日光によって促進され完全抗原形成されると考えられて¹⁹⁻²¹⁾。HBCD は光に対して安定であり、光化学反応物の生成の可能性もないことから、HBCD が光感作性を起す可能性はほとんどないものと考えられた。

文 献

1) Draize, J. H.: Appraisal of the safety of chemicals in food, drugs and cosmetics, Ed. and Pub. by Association of Food & Drug Officials of the United States, The editorial commit-

tee, Texas, p. 46~48 (1959)
 2) Magnusson, B. & Kligman, M. A.: *J. Invest. Dermatol.* **52**, 268~276 (1969)
 3) 佐藤悦久, 勝村芳雄, 市川秀之, 小林敏明, 中嶋啓介: *西日皮膚*, **42**, 831~837 (1980)
 4) Yoshihisa Sato, Yoshio Katsumura, Hideyuki Ichikawa, Toshiaki Kobayashi, Takehito Kozuka, Fujio Morikawa and Saburo Ohta: *Contact Dermatitis*, 225~237 (1981)
 5) D. W. Roberts: *Contact Dermatitis*, **17**, 281~289 (1987)
 6) 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 門馬純子, 中路幸男, 黒川雄二, 関東裕美, 伊東正俊: *皮膚* **32** (増刊 9 号) 234~242 (1990)
 7) M. Kaniwa, J. Momma, Y. Ikarashi, S. Kojima, A. Nakamura, Y. Nakaji, Y. Kurokawa, H. Kantoh, M. Itoh: *Contact Dermatitis*, **23**, 250 (1990)
 8) M. Kaniwa, J. Momma, Y. Ikarashi, S. Kojima, A. Nakamura, Y. Nakaji, Y. Kurokawa, H. Kantoh, M. Itoh: *Contact Dermatitis*, **27**, 166~173 (1992)
 9) Kojima S., Momma J., Kaniwa M-A., Ikarashi Y., Sato M., Nakaji Y., Kurokawa Y., Nakamura A.: *Contact Dermatitis*, **23**, 129~141 (1990)
 10) 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠, 早川律子, 松永佳世子: *衛生化学*, **32**, 359~367 (1986)
 11) 五十嵐良明, 鹿庭正昭, 小嶋茂雄, 中村晃忠: *衛生化学*, **36**, 326~331 (1990)
 12) P. D. Fobes, F. Urbach and R. E. Davies: *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **15**, 55 (1977)
 13) 五十嵐良明: 私信
 14) E. G. Jung: *Dermatol.*, **237**, 501 (1970)
 15) J. N. Surry: *Aust. J. Dermatol.*, **9**, 142 (1967)
 16) 増田 勉, 本田史朗, 中内洋一, 伊藤裕喜, 木下正子, 原田昭, 矢尾板英夫, 溝口昌子: *日皮会誌*, **81**, 584 (1971)
 17) 水野信行, 菅野英夫, 生駒元彦, 木村鈴代, 鈴木和幸, 大野盛秀, 松下信子, 定井正直, 加藤武嗣, 森川藤風, 中山靖久, 河本康太郎: *日皮会誌*, **82**, 779 (1972)
 18) L. C. Harber, R. L. Baer and D. R. Bickers: In "Sunlight and Man, Normal and abnormal Photobiologic Responses" (T. B. Fitzpatrick et al. eds.) p. 515, Univ. Tokyo press (1974)
 19) M. M. Cahn: *J. Soc. Cosmet Chemists.*, **17**, (1966)
 20) L. C. Harber, H. Harris and R. L. Baer: *Arch. Derma.*, **94**, 225 (1966)
 21) M. M. cahn: *Arch. Dermatol.*, **84**, 485 (1961)

アジコート SPG およびビオノーレのラットによる 28 日間反復経口投与毒性試験

鈴木幸子・小川幸男・広瀬明彦・内田雄幸
齊藤 実・金子豊蔵・黒川雄二Twenty-eight-day repeated dose toxicity test of Ajicoat SPG and
Bionole in Wistar RatSachiko Suzuki, Yukio Ogawa, Akihiko Hirose, Osayuki Uchida,
Minoru Saito, Toyozo Kaneko and Yuji Kurokawa

A twenty-eight-day repeated dose toxicity test of Ajicoat at dose levels of 0, 0.05, 0.2 or 1.0% and Bionole at dose levels of 0.2, 1.0, or 5.0% in the feed was carried out in male and female Wistar rats. Three groups, at the dose levels of 1.0% of Ajicoat, 5.0% of Bionole and control groups, were used for investigation of recovery.

No animals died during the administration period. There were no significant differences in body weight gain, food consumption and organ weight between the treated and control groups. No specific changes were observed in any parameters of hematological investigations. At doses higher than 1.0% of Ajicoat and Bionole groups, a significant increase of BUN value in serum was observed in both sexes. The serum glucose value increased and NEFA value decreased in male at a dose of 1.0% of Ajicoat group. These changes observed at the end of the administration period were no longer detected after the recovery period, suggesting that these effects were reversible. On histopathological examination, no specific changes were observed in the Ajicoat and Bionole treated rats. Based on these results, the no-observed-effect level was 0.2% (174 mg/kg) for both Ajicoat and Bionole.

Keywords : ajicoat, bionole, twenty-eight-day repeated dose toxicity test, rat

(Received May 31, 1993)

はじめに

アジコート SPG およびビオノーレは生分解性プラスチックの材料として開発された Fig. 1 に示す構造式を有する化合物で、白色粉末および淡紫色の粉末である。

プラスチックは石油化学工業の発展と装置の大型化および原油価格の相対的低下とによってコストの引き下げが可能となり、現在多くの種類のプラスチック製品が大量に生産されるようになった。これらのプラスチックは人間のあらゆる生活分野で使用され、いまやプラスチックは我々の生活になくてはならない材料となっている。しかし同時に、使用後処理・物質循環といった大きな視点からのリサイクルを視野に入れた新しい素材の開発を考えなくてはならない。このような観点から最近注目されているのが、微生物によって分解されて生態系の循環サイク

ルに還元できる“生分解性プラスチック”という材料で、これについては世界的規模で開発が進められている¹⁾。

しかしながらこれらの新しい物質の生体に対する

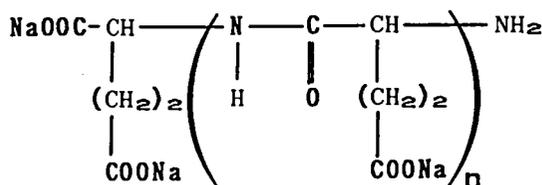


Fig. 1. Chemical structure of Ajicoat SPG

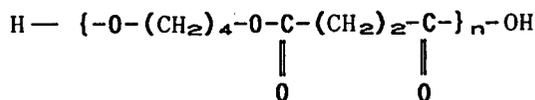


Fig. 2. Chemical structure of Bionole

影響を調べた報告は「アジコート A-2000 のラットによる 28 日間反復投与毒性試験」²⁾のみである。その結果リンパ球の軽度な減少が認められている。

そこで、我々は生分解性プラスチックの材料であるアジコート SPG およびピオノーレの毒性を明らかにするために Slc : Wistar 雌雄ラットを用いて 28 日間の反復投与毒性試験を行った。

実験材料および方法

被験物質：実験に用いたアジコート SPG はグルタミン酸メチルエステル重合体であるアジコート A2000 (味の素(株)製) をアルカリで鹼化し側鎖のメチル基を外したものである。ピオノーレ (昭和電工製) は脂肪族ポリエステルである。それぞれを粉末飼料に添加した。

動物および飼育条件：日本エスエルシーより Slc : Wistar ラット (SPF) 雌雄各 130 匹を 4 週齢で購入し、1 週間の馴化の後、体重増加が順調で一般状態の良好な動物を体重層別無作為抽出法で群の平均体重が、ほぼ等しくなるように 7 群に分け試験に供した。投与開始時の体重は雄で 102~114 g、雌で 98~105 g であった。

動物をアルミ製架懸型ケージに 5 匹ずつ収容し、温度 23±1℃、湿度 55±5%、照明 12 時間 (6 時~18 時) に設定した SPF 動物室で飼育した。粉末飼料 (F2 : 船橋農場) および水 (水道水) は自由に摂取させた。

群構成および投与量：群構成を Table 1 に示す。アジコート SPG の投与量は「アジコート A2000 のラットによる 28 日間反復投与毒性試験 (0.2, 1.0 および 5.0%)」²⁾ の成績を参考に設定した。すなわち、アジコート SPG の側鎖にメチル基が付いたアジコート A2000 の毒性学的無影響量が 0.2

%未満であると考えられたので、今回用いたアジコート SPG の投与量は 1.0% を最高濃度として、以下 0.2 および 0.05% の 3 用量群を設定した。ピオノーレの投与量は一般に被験物質を飼料に添加して投与する場合最高濃度は、栄養学上の考慮から 5.0% 以内に止めることが望ましい³⁾ とされていることから 5.0% を最高濃度として、以下公比 5 で 1.0 および 0.2% の 3 用量群に对照群を加え、計 7 群を設定した。両被験物質の最高用量群については 28 日間投与後 2 週間被験物質投与を中止した回復群を設けた。飼料は被験物質とマウス・ラット用粉末飼料 F-2 を上記濃度で、それぞれ電動ミキサーを用いて約 15 分間混合調製した。この飼料調製は実験開始 4 日前に 1 回行った。

観察および検査項目：投与期間中一般状態の観察、死亡の有無および体重、摂餌量の測定を行った。最終投与日の夕刻に尿検査を行った。最終投与 24 時間後と回復期間終了後には、血液学、血清生化学、病理組織学検査および血液凝固能検査を行った。

1. 一般状態、体重および摂餌量

投与後全動物の一般状態を毎日観察し、体重および摂餌量は週一回測定した。

2. 血液学的検査および血清生化学的検査

投与あるいは回復期間終了後に各群雌雄 5 例について、16 時間の絶食後、エーテル麻酔下で頸静脈より採血し、血液学的検査項目および血清生化学検査項目について測定した。

血液学的検査は、全血について東亜医用電子の M-2000 型多項目自動血球計数装置を用いて赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、血小板数、白血球数を測定した。スライドガラス上に数滴の血液を薄く塗抹した標本に、ライト

Table 1. Experimental groups in the 28-day repeated dose toxicity test of ajicoat and bionole

Dose	%	Number of rats			
		28-day administration group		2-week recovery group	
		Male	Female	Male	Female
Control	0	10	10	10	10
Ajicoat SPG	0.05	10	10		
Ajicoat SPG	0.2	10	10		
Ajicoat SPG	1.0	10	10	10	10
Bionole	0.2	10	10		
Bionole	1.0	10	10		
Bionole	5.0	10	10	10	10

染色を施し、オムロンの Microx HEG120A 型セルアナライザーを用いて白血球百分比を測定した。

血清生化学検査は日立 7150 型オートアナライザーを用いて、総蛋白量 (TP, ビウレット法), アルブミン量 (Alb, BCG 法), アルブミン・グロブリン比 (TP および Alb より算出), 尿素窒素 (BUN, UV 法), クレアチニン量 (CRN, 酵素法), 血糖値 (GLU, 酵素法), 遊離脂肪酸量 (NEFA, ACS・ACOD 法), リン脂質量 (PL, コリンオキシダーゼ・DAOS 法), トリグリセライド量 (TG, 酵素法), 総コレステロール量 (T-CHO, 酵素法), 遊離コレステロール (F-CHE, 酵素法), アルカリフォスファターゼ活性値 (ALP, Rate 法), トランスアミナーゼ活性値 (AIT, AsT, Rate 法), コリンエステラーゼ活性値 (ChE, アシルチオコリン基質・Rate 法), γ -グルタミルトランスフェラーゼ (γ -GT, Rate 法), ロイシニアミノペプチダーゼ (LAP, 至適標準・Rate 法), 乳酸脱水素酵素活性値 (LDH, 至適標準・Rate 法), 血清鉄 (Fe, Nitroso-PSAP・キレート発色法), 不飽和鉄結合能 (UIBC, 遊離トランスフェリンを Fe で飽和後, Nitroso-PSAP・キレート発色法), カルシウム (Ca, OCPC 法) マグネシウム (Mg, キシリジンプルー法), 無機リン (P, モリブデン酸直接法), ナトリウム, カリウム, クロール (Na, K, Cl, イオン電解質法) を測定した。

3. 病理学的検査

放血, 屠殺後剖検時, 肉眼的な観察を行ったのち, 脳, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 精巣, 卵巣, 副腎, 胸腺を摘出し重量を測定した。上記の臓器および肉眼的に変化の認められた臓器, 組織を摘出し, 10% 中性ホルマリンで固定した。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。

4. 血液凝固能検査

2.3 で用いた動物とは別の雌雄各群 5 例について 16 時間絶食後, エーテル麻酔下で頸静脈より, 3.8% クエン酸 3 ナトリウム 0.2 ml を入れた注射筒で採血し, 分離した血漿についてフィブリノーゲンとヘパラスチンを血液凝固能測定装置アメルング KC-40 を用いて測定した。

5. 尿検査

最終投与日の夕刻に強制排泄により得た尿について, 尿検査用試験紙 (ラプスティック 3: マイルス

三共) を用いて, 蛋白質, ケトン体, ブドウ糖, 潜血, pH の 5 項目を検査した。

6. 統計学的処理

体重および摂餌量は t 検定を行った。血液学的検査, 血清生化学的検査, 臓器重量の結果は Bartlett の方法によりまず分散の一様性の検定を行い, 分散が一様の場合には, 一元配置の分散分析を行った。群間に有意性が認められ, 各群の動物数が一定である場合 Dannett 法, 不定の場合 Scheffe の方法によって対照群に対する各群の平均値の対比較検定を行った。等分散が認められない場合, Kruskal-Wallis の検定を行い, 有意性が認められた場合は, 対照群と各投与群間においてノンパラメトリックの Dannett 法又は Scheffe の方法によって検定を行った。

結 果

1. 一般状態, 体重および摂餌量

(Fig. 3, 4, 5, 6)

一般状態の変化および死亡はアジコート SPG, ピオノーレいずれの投与群においても認められなかった。体重についても両投与群の雌雄共に対照群と有意の差は認められなかった。摂餌量はアジコート SPG 投与群の雄について 0.05%, 1.0% 群で共に投与 1 週間目の摂餌量が対照群と比較してわずかに高い値を示していたが, 有意差は認められなかった。

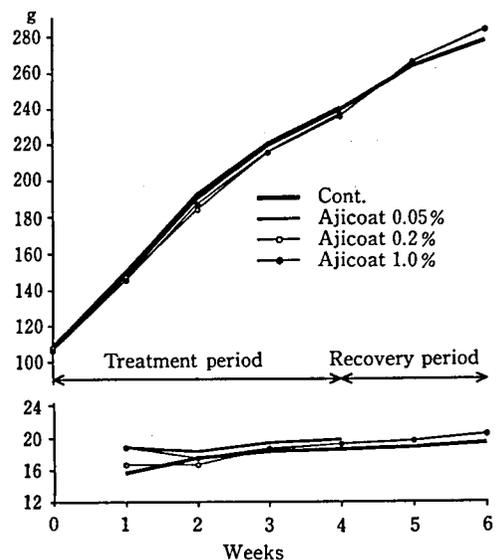


Fig. 3. Effects of ajicoat on body weight and food consumption of male rats

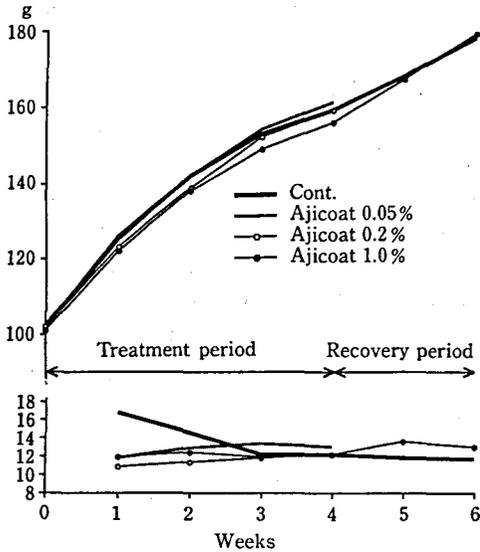


Fig. 4. Effects of ajicoat on body weight and food consumption of female rats

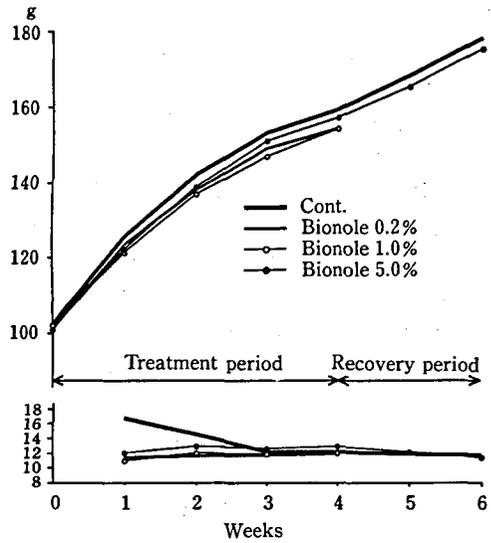


Fig. 6. Effects of bionole on body weight and food consumption of female rats

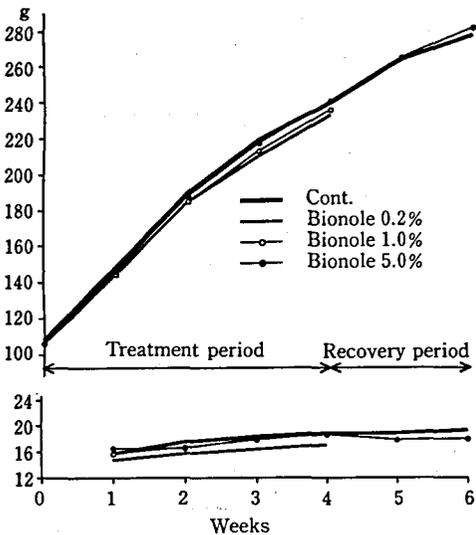


Fig. 5. Effects of bionole on body weight and food consumption of male rats

雌では対照群と比較していずれの投与群においても2週間までやや低い値を示していたが、有意差は認められなかった。

ビオノーレ投与群では雌雄共に変化は認められなかった。

2. 血液学的検査

各項目毎の値を Table 2, 3 に示した。

ヒオノーレ投与群の回復群の雄で WBC の有意な減少が見られた以外、変化は認められなかった。

3. 血液凝固能検査

両投与群の雌雄共に検査を行った項目について有意の差は認められなかった。

4. 血清生化学的検査

検査項目の結果を Table 4, 5 に示した。

アジコート SPG 0.05% 投与群の雄で Fe の値が有意に増加し、これに伴って不飽和鉄結合能が有意に減少した。1.0% 投与群の雄で BUN 値, Glu 値が有意に増加し、NEFA 値は有意に減少した。雌についても BUN 値が増加し、その差が有意であった。これら BUN, Glu, NEFA の値は軽度ではあるが用量にともなった減少であった。いずれの変化も回復期間中に消失又は回復性を示し、可逆的な変化であることが示唆された。

ビオノーレ 1.0% 投与群の雄で CRN が有意に増加したが用量相関性は認められなかった。雌では BUN 値が増加傾向を示し 1.0% 群および 5.0% 群ではその差が有意であったが、投与中止 2 週間後には回復した。TG 値は 0.2% および 1.0% 群で有意に増加したが投与中止 2 週間後には回復した。

5. 病理学的検査

アジコート SPG, ビオノーレいずれの投与群においても被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。

6. 尿検査

両投与群の雌雄共に検査を行った項目について有意の差は認められなかった。

Table 2. Hematological findings in male rats after 28 day treatment of Ajicoat, Bionole and 14 days untreated recovery period

Group(Dose)	Cont.	Ajicoat0.05%					Ajicoat1.0%					Bionole0.2%					Bionole1.0%					Bionole5.0%					Recovery										
		5					5					5					5					5					5										
		No. of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
RBC	10 ¹² /l	9.31±0.33	9.29±0.21	9.14±0.35	9.13±0.43	9.07±0.24	8.92±0.7	8.99±0.18	9.72±0.41	10.02±0.24	9.74±0.17																										
Hb	g/dl	16.3±0.4	16.4±0.2	16.1±0.4	16.1±0.50	16.1±0.4	16.0±0.7	16.1±0.1	16.4±0.3	16.6±0.2	16.4±0.3																										
PCV	%	48.1±2.10	46.7±0.4	46.9±1.4	46.6±2.10	46.4±1.1	46.8±1.3	46.1±0.5	47.7±1.7	48.1±0.80	47.3±0.6																										
MCV	fl	51.5±0.7	51.2±0.8	51.4±1.1	51.1±0.50	51.2±0.4	52.6±3.1	51.3±0.9	49.0±0.7	48.0±0.8	48.6±0.8																										
MCH	pg	17.5±0.4	17.9±0.5	17.7±0.5	17.7±0.3	17.8±0.2	17.9±0.8	17.9±0.3	16.9±0.5	16.5±0.3	16.8±0.2																										
MCHC	g/dl	34.0±0.8	34.6±0.5	34.4±0.2	34.6±0.6	34.8±0.5	34.1±0.7	34.8±0.5	34.5±0.6	34.4±0.30	34.7±0.50																										
RDW		18.6±0.3	18.7±0.2	18.5±0.2	18.6±0.2	18.5±0.2	21.0±5.1	18.6±0.5	17.9±0.5	17.6±0.30	17.9±0.3																										
Plt	10 ¹² /l	0.93±0.08	1.00±0.06	0.99±0.04	0.94±0.05	0.95±0.05	0.87±0.12	0.93±0.03	0.76±0.17	0.89±0.08	0.89±0.06																										
WBC	10 ⁹ /l	7.68±2.29	7.80±1.07	6.78±2.16	7.74±0.67	7.20±1.03	7.82±1.37	8.16±1.29	10.18±0.91	8.80±1.56	8.58±0.79 *																										
Neut-B %		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.00	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.00	0.0±0.0	0.0±0.00	0.0±0.00																										
Neut-S %		16.4±2.0	14.0±4.1	18.3±5.8	16.4±9.50	13.9±2.9	13.4±5.5	15.5±4.0	15.1±3.4	13.7±4.50	13.6±5.4																										
Eosino %		1.9±0.4	1.10±0.7	2.40±1.6	1.40±0.7	1.10±0.8	1.5±1.4	1.3±0.6	1.6±0.7	1.60±1.00	1.0±1.0																										
Baso %		0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.00	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.00	0.0±0.0																										
Lympho %		79.9±1.4	82.5±4.1	77.2±5.2	80.2±9.60	83.8±2.2	82.4±6.8	80.8±3.1	82.0±3.6	83.4±5.7	84.2±6.2																										
Mono %		1.8±1.8	2.40±0.7	2.10±0.7	2.00±0.90	1.20±0.9	2.7±1.0	2.4±1.2	1.3±0.4	1.30±0.90	1.1±1.0																										
Ebl %		0.1±0.1	0.10±0.1	0.20±0.0	0.00±0.10	0.20±0.1	0.20±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.30±0.20	0.1±0.1																										

Values indicate mean±S.D.

Level of significance : * P<0.05 in comparison with control value

: ** P<0.01 in comparison with control value

Table 3. Hematological findings in female rats after 28 day treatment of Ajicoat, Bionole and 14 days untreated recovery period

Group(Dose)	No. of Animals	R e c o v e r y																																																																																																																																																																																													
		Ajicoat					Bionole					Cont.																																																																																																																																																																																			
		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5																																																																																																																																																																															
RBC	10 ¹² /l	9.37±0.41	9.14±0.23	9.17±0.24	9.13±0.28	9.30±0.28	9.42±0.37	9.38±0.42	9.23±0.44	9.27±0.24	9.35±0.22	Hb	g/dl	16.7±0.5	16.6±0.4	16.5±0.2	16.5±0.3	16.7±0.6	16.8±0.6	16.9±0.6	15.8±0.4	16.2±0.3	16.3±0.3	PCV	%	47.1±2.5	46.2±1.1	46.1±1.2	46.4±1.2	46.9±1.5	47.6±2.0	47.2±1.8	45.1±2.3	45.7±1.0	46.0±1.0	MCV	f1	50.3±0.6	50.6±0.4	50.3±0.5	50.9±0.5	50.4±0.3	50.6±0.2	50.4±0.8	48.8±0.5	46.3±0.4	49.2±0.4	MCH	pg	17.8±0.3	18.2±0.4	18.0±0.3	18.1±0.3	18.0±0.2	17.9±0.2	18.1±0.3	17.2±0.5	17.5±0.2	17.5±0.3	MCHC	g/dl	35.4±0.8	36.0±1.0	35.7±0.6	35.6±0.5	35.7±0.2	35.3±0.6	35.8±0.3	35.2±1.1	35.4±0.3	35.5±0.6	RDW		18.0±0.2	18.0±0.2	17.9±0.1	17.9±0.1	17.8±0.2	18.0±0.1	17.9±0.1	17.1±0.3	17.4±0.2	17.4±0.3	Plt	10 ¹² /l	0.88±0.13	0.89±0.18	0.85±0.13	0.83±0.06	0.92±0.07	0.89±0.04	0.92±0.05	0.84±0.09	0.84±0.08	0.83±0.15	WBC	10 ⁹ /l	5.00±1.34	6.24±1.32	5.82±1.58	5.84±0.91	6.42±1.38	6.40±1.46	6.35±0.59	6.18±0.82	6.40±0.84	5.86±1.35	Neut-B	%	0.3±0.4	0.00±0.0	0.10±0.2	0.20±0.3	0.1±0.2	0.0±0.0	0.1±0.2	0.1±0.2	0.1±0.2	0.1±0.2	Neut-S	%	16.1±4.0	16.5±3.8	20.1±7.8	17.1±6.1	16.3±2.9	14.4±4.1	17.1±1.9	16.7±4.7	17.3±9.5	19.7±4.4	Eosino	%	1.8±0.8	1.20±1.2	2.3±0.9	1.8±1.1	1.9±0.9	2.4±1.9	3.0±0.9	2.2±0.8	2.60±1.4	2.2±1.1	Baso	%	0.0±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	0.0±0.0	0.00±0.0	0.00±0.0	Lympho	%	81.0±4.1	82.0±4.5	77.0±8.9	80.2±6.6	80.3±3.4	82.5±4.2	78.4±0.9	80.4±5.0	78.9±8.7	77.2±4.0	Mono	%	0.8±0.8	0.30±0.4	0.40±0.4	0.70±0.8	1.4±1.5	0.7±0.4	1.4±0.7	0.6±0.4	0.70±0.6	0.8±0.6	Ebl	%	0.2±0.2	0.2±0.2	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.20±0.2	0.4±0.3	0.2±0.2	0.30±0.2	0.3±0.3

Values indicate mean±S.D.

Level of significance : * P<0.05 in comparison with control value

: ** P<0.01 in comparison with control value

Table 4. Serum biochemical findings in male rats after 28 days treatment of Ajicoat, Bionole and 14 days untreated recovery period

Group(Dose)	No. of Animals	Ajicoat										Bionole										Recovery									
		Cont.		Ajicoat0.05%		Ajicoat0.2%		Ajicoat1.0%		Bionole0.2%		Bionole1.0%		Bionole5.0%		Cont.		7d/1.0%		14d/5.0%											
		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5											
T-PRO	g/dl	6.33±0.18	6.27±0.07	6.29±0.12	6.35±0.20	6.29±0.13	6.23±0.16	6.21±0.19	6.37±0.16	6.47±0.06	6.28±0.17																				
ALB	g/dl	4.59±0.10	4.58±0.09	4.52±0.07	4.59±0.14	4.53±0.08	4.53±0.09	4.46±0.10	4.65±0.12	4.66±0.07	4.66±0.12																				
A/G		2.64±0.15	2.71±0.15	2.55±0.16	2.47±0.15	2.57±0.16	2.68±0.21	2.55±0.09	2.72±0.21	2.60±0.08	2.91±0.34																				
BUN	mg/dl	15.5±2.0	17.0±0.9	16.3±1.4	19.8±1.9**	18.1±1.5	17.9±0.8	16.8±1.8	16.0±1.8	16.8±1.8	16.6±1.8																				
CRN	mg/dl	0.23±0.02	0.22±0.01	0.24±0.02	0.24±0.02	0.25±0.01	0.29±0.01*	0.28±0.04	0.28±0.02	0.28±0.02	0.28±0.02																				
GLU	mg/dl	143±5	149±6	147±16	164±0.18**	150±8	143±8	150±10	149±10	151±13	156±10																				
NEFA	mEq/l	0.97±0.06	0.84±0.15	0.87±0.07	0.63±0.18**	0.97±0.11	0.83±0.07	0.88±0.12	0.90±0.16	0.86±0.04	1.05±0.14																				
PL	mg/dl	113±9	110±11	106±13	108±13	114±7	104±6	107±10	115±9	116±5	123±5																				
TG	mg/dl	170±38	150±45	139±53	159±29	170±32	137±34	146±44	215±28	207±16	237±34																				
T-CHO	mg/dl	55±4	54±5	53±5	51±9	58±4	49±3	53±2	53±7	52±2	60±2																				
F-Cho	mg/dl	8.32±1.00	8.74±1.40	7.90±1.06	8.52±2.57	9.00±2.54	7.10±1.09	8.14±1.01	8.10±1.63	8.05±1.13	9.38±0.66																				
ALP	μU/ml	303±41	337±28	323±15	348±31	325±30	339±19	318±32	228±16	232±21	224±14																				
ALT	μU/ml	46±10	48±14	52±13	47±8	45±5	46±9	48±5	51±14	45±5	55±10																				
AsT	μU/ml	85±4	81±2	86±11	90±8	86±5	81±2	85±9	85±15	87±10	80±11																				
ChE	μU/ml	264±17	266±23	265±16	259±16	270±17	256±18	269±23	212±15	178±11**	211±12																				
γ-GTP	μU/ml	0.26±0.55	0.08±0.15	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00	2.09±0.43	2.09±0.18	2.44±0.78																				
LAP	μU/ml	49±3	51±2	50±1	51±2	51±2	51±2	51±4	47±2	48±1	47±1																				
Fe	μG/dl	69±2	132±61**	69±15	88±14	62±71	52±7	73±52	82±23	88±25	139±125																				
UIBC	μG/dl	455±22	392±33*	437±17	417±29	436±11	480±20	427±54	394±24	418±21	358±141																				
TIBC	μG/dl	524±21	524±44	506±13	491±20	498±15	532±15	500±12	476±26	507±17	437±21																				
Ca	mg/dl	10.9±0.1	10.7±0.2	10.7±0.1	10.9±0.2	10.8±0.2	10.8±0.2	10.6±0.2	9.8±0.1	9.9±0.2	9.8±0.2																				
Mg	mg/dl	2.12±0.10	2.04±0.15	1.99±0.1	1.91±0.06	2.02±0.12	2.06±0.05	1.96±0.08	1.94±0.08	1.88±0.04	1.86±0.15																				
P	mg/dl	7.6±0.4	7.5±0.8	7.4±0.4	7.0±0.4	7.5±0.4	8.0±0.3	7.6±0.2	6.8±0.3	7.1±0.3	6.8±0.5																				
Na	mEq/l	135±16	135±0	135±0	136±1	136±0	135±1	136±0	138±0	138±1	137±2																				
K	mEq/l	4.6±0.2	4.5±0.2	4.5±0.5	4.6±0.1	4.5±0.5	4.8±0.1	4.5±0.2	4.4±0.3	4.4±0.2	4.4±0.4																				
Cl	mEq/l	102±0	102±1	102±1	102±1	102±1	103±1	103±1	102±1	102±1	102±1																				

Values indicate mean±S.D.
 Level of significance : * P<0.05 in comparison with control value
 ; ** P<0.01 in comparison with control value

Table 5. Serum biochemical findings in female rats after 28 days treatment of Ajicoat, Bionole and 14 days untreated recovery period

Group(Dose)	No. of Animals	Ajicoat										Bionole										Recovery									
		0.05%		0.2%		0.0%		0.2%		1.0%		5.0%		0.2%		1.0%		5.0%		Cont.		Ajicoat		Bionole		5.0%					
		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5					
T-PRO	g/dl	6.07±0.23	5.91±0.16	6.16±0.17	6.10±0.10	6.19±0.29	5.96±0.09	6.25±0.16	6.22±0.14	6.17±0.22	6.33±0.25																				
ALB	g/dl	4.64±0.21	4.52±0.17	4.66±0.13	4.62±0.12	4.58±0.34	4.53±0.08	4.75±0.15	4.71±0.12	4.65±0.14	4.79±0.24																				
A/G		3.26±0.27	3.26±0.23	3.12±0.05	3.14±0.23	2.94±0.32	3.18±0.22	3.19±0.18	3.13±0.12	3.08±0.19	3.12±0.19																				
BUN	mg/dl	14.0±0.6	15.5±1.3	15.2±0.2	18.2±1.6**	16.0±1.2	17.0±1.7*	17.6±1.7**	13.5±0.6	14.6±0.6*	14.3±1.5																				
CRN	mg/dl	0.29±0.03	0.29±0.02	0.31±0.01	0.32±0.04	0.28±0.03	0.30±0.03	0.32±0.03	0.28±0.04	0.28±0.01	0.28±0.02																				
GLU	mg/dl	97±10	125±19	116±20	117±17	117±8	120±11	113±8	120±14	123±9	121±17																				
NEFA	mg/dl	0.93±0.15	0.85±0.07	0.88±0.14	0.89±0.23	1.06±0.21	0.91±0.09	0.82±0.13	0.94±0.08	0.94±0.07	0.86±0.07																				
PL	mg/dl	129±20	135±8	138±16	138±22	159±14	149±19	147±12	148±13	144±11	145±17																				
TG	mg/dl	58±18	78±26	60±14	78±38	135±35**	112±39*	71±13	96±33	80±24	66±16																				
T-CHO	mg/dl	71±12	71±6	75±10	72±11	85±8	79±12	80±9	81±11	80±9	81±11																				
F-Cho	mg/dl	12.87±1.90	12.87±1.87	15.11±4.67	13.69±6.11	17.77±6.70	14.72±2.94	13.54±2.91	16.08±4.81	16.25±2.45	14.63±2.74																				
ALP	U/ml	216±14	239±30	210±20	246±27	218±26	225±8	214±28	148±15	168±16	155±17																				
ALT	U/ml	41±15	36±6	35±6	37±7	36±7	43±8	40±8	42±16	38±9	40±8																				
AsT	U/ml	84±10	81±6	76±5	83±7	75±8	74±6	84±8	82±17	75±6	76±7																				
ChE	U/ml	1953±214	1731±217	1943±273	1693±235	1914±278	1851±152	1849±267	2098±212	1988±114	1974±176																				
γ-GTP	U/ml	2.08±0.24	2.36±0.28	2.22±0.35	2.59±0.40	2.51±0.44	2.59±0.80	2.45±0.51	1.29±0.90	1.85±0.38	1.59±0.74																				
LAP	U/ml	55±3	54±5	54±2	53±3	53±1	55±1	57±3	52±2	54±3	52±2																				
Fe	μg/dl	165±24	184±47	168±61	208±53	157±17	190±64	175±40	209±68	206±43	177±53																				
UIBC	μg/dl	222±23	219±70	230±59	193±51	219±36	210±63	233±47	206±84	211±34	250±59																				
TIBC	μg/dl	387±13	404±34	398±7	401±17	419±26	400±20	408±20	415±35	417±31	426±9																				
Ca	mg/dl	9.9±0.2	9.9±0.1	10.0±0.3	10.0±0.3	10.2±0.4	10.0±0.6	9.90±0.3	9.6±0.4	9.4±0.2	9.6±0.3																				
Mg	mg/dl	2.12±0.07	2.08±0.11	2.06±0.09	2.14±0.10	2.10±0.06	2.05±0.13	2.19±0.02	2.18±0.27	2.08±0.05	2.24±0.26																				
P	mg/dl	5.9±0.4	6.0±0.6	5.8±0.6	6.7±0.8	5.8±1.1	5.8±0.7	6.5±0.8	6.0±1.2	5.4±0.8	5.4±1.6																				
Na	mg/dl	140±1	140±1	139±1*	139±1	139±1	139±1	141±1	138±1	138±1	140±1*																				
K	mg/dl	4.3±0.1	4.1±0.2	4.2±0.1	4.2±0.4	4.1±0.2	4.1±0.1	4.3±0.3	4.6±1.1	4.2±0.3	4.5±1.0																				
Cl	mg/dl	106±1	107±1	106±0	105±1	105±1	105±1	106±1	102±1	103±0	104±2																				

Values indicate mean±S.D.

Level of significance : * P<0.05 in comparison with control value

: ** P<0.01 in comparison with control value

7. 臓器重量

被験物質による臓器重量への影響は両投与群の雌雄共に認められなかった。

考 察

生分解性プラスチックの原料であるアジコート SPG (0.05%・0.2%・1.0%) およびピオノーレ (0.2%・1.0%・5.0%) を粉末飼料に混合し、ラットに 28 日間投与した。高用量群については 2 週間の被験物質投与中止期間をおいた回復試験を行った。

「アジコート A-2000 のラットによる 28 日間反復投与毒性試験」²⁾の結果では、リンパ球の軽度な減少とこれに伴う白血球数の軽度な減少、脾臓重量の低値が認められたが、今回のアジコート SPG の試験結果では血清生化学検査のみに変化が見られた。アジコート SPG 0.05%投与群の雄で Fe 値が増加、1.0%群の雄で BUN 値、Glu 値が増加し、NEFA 値は低下した。雌でも BUN 値が増加した。BUN 値については雌雄共に軽度ではあるが増加傾向を示し、高用量群 (1.0%) では有意であった。更に 2 週間の回復期間後、雄は回復し、雌の値は統計学的に有意差が認められたものの、正常の変動範囲内の変化であり、投与に関連する変化とは認められなかった。ピオノーレ投与試験の結果はアジコート SPG の結果と同様に血清生化学的検査にのみ変化が見られた。雄では 1.0%投与群で CRN 値が増加し、雌では BUN 値が増加傾向を示し、1.0%群および 5.0%群でその差が有意であったが、投与中止 2 週間後には回復した。TG 値は 0.2%および 1.0%群で増加し、その差は有意であったが投与中止 2 週間後には回復した。

BUN については腎機能の指標として臨床的に用いられ、増加の主な原因として、組織蛋白の異化亢

進、蛋白摂取量の増加、消化管出血、腎血流の減少、腎障害等が挙げられる⁵⁾。しかしながらアジコート SPG 投与群の体重の推移、摂餌量、血液学的検査、血液凝固能検査、尿検査等の結果が対照群と差がなく、病理組織学的検査にも BUN の変化を裏付ける所見は認められなかった。血清中の TG 値の変動は、食餌中の脂肪量、腸管よりの吸収、肝臓および脂肪組織での摂取、脂肪組織より NEFA の放出、放出された NEFA の利用、肝臓での NEFA および含水炭素よりトリグリセライドへの合成、肝臓よりトリグリセライドの放出、放出されたトリグリセライドの脂肪組織での摂取などの因子によって左右される。このためトリグリセライド値の上昇と同時にコレステロール、血糖、NEFA 値等が上昇した場合、脂質代謝異常を起こす疾患が疑われるが、これらの値に変動はなかった。以上の結果から今回認められた血清生化学検査値の変動は毒性学的に影響のある変化とは考えられない。

その結果、本試験条件下におけるアジコート SPG およびピオノーレの無影響量 (Non-Observed Effect Level: NOEL) は 0.2% (摂餌量から計算して、おおよそ 174 mg/kg に相当) と判断した。

文 献

- 1) 土肥義治：生分解性プラスチックのおはなし、pp. 59, 日本規格協会 (1991)
- 2) 平成 2 年度厚生科学研究報告
- 3) 厚生省薬務局審査課：GLP 基準および毒性試験法ガイドライン解説, pp. 288 (1989)
- 4) 河合 忠, 玄番昭夫, 屋形 稔：異常値の出るメカニズム, pp. 103, 医学書院 (1988)
- 5) 小酒井望, 林 康之, 寺田秀夫, 玄番昭夫, 河合忠：検査データのよみ方・考え方, pp. 152 (1981)

WBN/Kob ラットの精巣病変および膵病変に対する cyclophosphamide の影響

佐藤元信・古川文夫・西川秋佳・今沢孝喜・吉村博之
鈴木順子・中村 啓*・高橋道人Effects of cyclophosphamide on spontaneous testicular and
pancreatic lesions in WBN/Kob ratsMotonobu Sato, Fumio Furukawa, Akiyoshi Nishikawa, Takayoshi Imazawa,
Hiroyuki Yoshimura, Junko Suzuki, Kei Nakamura* and Michihito Takahashi

This study was undertaken to investigate the effects of cyclophosphamide (CP) on spontaneous pancreatitis and testicular atrophy of WBN/Kob rats. CP was given daily in drinking water to groups of 20 male 6-week-old WBN/Kob rats at doses of 0 (control), 1.25 or 2.5 mg/kg for 20 weeks.

The final body weight in the 2.5 mg/kg CP group was significantly lower than that in the control group. There were no significant differences in blood glucose levels and weights of the pancreas and testis between groups.

On histopathological examinations, pancreatitis and testicular atrophy were noted in each group. However, the incidence of pancreatitis characterized by inflammatory cell infiltration and fibrosis in the 2.5 mg/kg CP group was significantly decreased as compared to the control group. In contrast, testicular atrophy was more severe in the 2.5 mg/kg CP group than in the control group.

Thus the results demonstrated that CP has inhibitory effects on the development of pancreatitis and enhancing effects on the development of testicular atrophy in WBN/Kob rats.

Keywords : cyclophosphamide, WBN/Kob rats, pancreas, testis

(Received May 31, 1993)

はじめに

抗腫瘍剤 cyclophosphamide は、副作用として精子形成障害を引き起こすことが知られており、ラットやマウスに対しても脾臓や骨髄の萎縮に加えて精子形成障害をきたすことが知られている¹⁻⁷⁾。また、同剤は糖尿病マウス (NOD マウス) において、糖尿病の発症を促進する作用のあることも報告されている^{8,9)}。

雄性 WBN/Kob ラットは膵外分泌部に炎症性病変を自然発症し、40 週齢以降に顕著な血糖値の上昇を示す非肥満性の自然発症糖尿病動物である¹⁰⁻¹³⁾。膵臓の初期病変としては 12 週齢以降でラ氏島およびその周囲の出血・浮腫が出現し、ついで膵外分泌部に浮腫・線維化等の炎症性変化が波及していく^{13,14)}。WBN/Kob ラットは、また、15 週齢から精巣の萎縮性病変を発生することも報告されて

いる¹⁵⁾。本研究は、この雄性 WBN/Kob ラットを用いて、自然発生膵炎および精巣萎縮病変に対する cyclophosphamide の修飾効果を検討した。

実験材料および方法

1. 動物並びに飼育条件

5 週齢の WBN/Kob 雄ラット 60 匹を日本 SLC 社より購入し、1 週間の馴化期間の後、各群 20 匹として 3 群に分けた。

動物の飼育はバリエーションシステムの飼育室にて行い、室内の環境条件は温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、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。プラスチックケージ内に動物を 4 匹ずつ収容し、床敷は三共ラボサービス社のソフトチップを用い、週 2 回交換を行った。動物には固形飼料 (MF, オリエンタル酵母㈱) を自由に摂取させた。

2. 被験物質並びに投与量

Cyclophosphamide (シグマ㈱) を飲料水に溶解

* 順天堂大学医学部

して濃度を調製した。群構成は cyclophosphamide 2.5 mg/kg 投与群 (CP 2.5 mg/kg 群), cyclophosphamide 1.25 mg/kg 投与群 (CP 1.25 mg/kg 群) および 0 mg/kg 投与群 (対照群) の 3 群を設定した。投与量の設定は, ラットの発がん性実験で報告された用量を参考に¹⁶⁾, ラットの 1 日の飲水量を 20 ml として体重 kg 当りの用量を算出し各濃度を設定した。飲料水の調製は原則として 3 日に 1 度とした。

3. 観察並びに検査項目

動物の一般状態は連日観察し, 定期的に体重を測定した。投与は 20 週間で終了し, 体重測定後にエーテル麻酔下でグルコスティックス (マイルス三共株) を用いて血糖値を測定, 放血屠殺し剖検した。両側精巣と膵臓を摘出し, 重量を測定した後に精巣についてはブアン液にて, 膵臓については 10% 中性緩衝ホルマリン液にて固定した。常法に従い HE 染色標本を作製し, 病理組織学的に検索した。

4. 統計学的処理

最終体重, 血糖値, 臓器重量については, 等分散の検定を Bartlett 法で行い, 等分散の場合は一元配置分散分析で群間に有意差を認めた時は Dunnett あるいは Sheffe 法を用いて対照群との比較を行った。等分散が認められない場合は, Kruskal-Wallis 法を行い群間に有意差を認めた時は Dunnett 型あるいは Sheffe 型検定法を用いて対照群との比較を行った。膵臓の病理所見については Fisher の直接確率法を, 精巣の病変についてはカイ二乗検定を行った。

結 果

1. 死亡率, 一般状態, 体重, 血糖値, 精巣重量, 膵臓重量

CP 2.5 mg/kg 群において, 試験 6 週目に 1 例の死亡が認められたが, この死亡例において一般状態および臓器所見に著変はみられず, 死因は不明であった。他の全動物においても, 一般状態について顕著な変化はみられなかった。

各群における最終体重, 血糖値, 精巣と膵臓の重量を Table 1 に示す。

最終体重は, 対照群 398 ± 21 g に比し, CP 1.25 mg/kg 群では 390 ± 17 g で有意差はなかったが, CP 2.5 mg/kg 群では 355 ± 45 g と有意な低値を示した。

血糖値については, 対照群で 124 ± 16 mg/dl, CP 1.25 mg/kg 群で 143 ± 22 mg/dl, CP 2.5 mg/kg 群で 115 ± 33 mg/dl であり, 群間で有意な差は認められなかった。

精巣並びに膵臓の絶対重量および体重比重量については, 群間で有意な差はみられなかった。

2. 膵臓の病理組織学的検索

各群における膵臓の病理組織学的所見を Table 2 に示す。

各群に共通して, 膵組織の浮腫, 出血, ヘモジリン沈着, 炎症細胞浸潤, 線維化を特徴とする膵炎の発症が観察された。これら各所見の発生頻度を対照群と比較すると, CP 2.5 mg/kg 群において炎症細胞浸潤および線維化の発生頻度について有意な減少が認められた。

3. 精巣の病理組織学的検索

各群における精巣の病理組織学的所見を Table 3

Table 1. Body, pancreas and testis weights, and blood glucose levels of WBN/Kob rats administered cyclophosphamide for 20 weeks

Group	Effective No. Rats	Final Body Weight (g)	Pancreas Weight		Testis Weight ^{a)}		Blood Glucose (mg/dl)
			Absolute (g)	Relative (%)	Absolute (g)	Relative (%)	
Control	20	398 ± 21	1.16 ± 0.18	0.29 ± 0.05	1.76 ± 0.56	0.44 ± 0.14	124 ± 16
1.25mg/kg Cyclophosphamide	20	390 ± 17	1.07 ± 0.16	0.27 ± 0.05	1.77 ± 0.56	0.46 ± 0.15	143 ± 22
2.5mg/kg Cyclophosphamide	19	355 ± 45 *	1.07 ± 0.16	0.27 ± 0.05	1.57 ± 0.58	0.45 ± 0.15	115 ± 33

* : Significantly different from control value at $p < 0.05$

a) : Bilateral testis

Table 2. Incidence of pancreatic lesions in WBN/Kob rats administered cyclophosphamide for 20 weeks

Group	Effective No. Rats	No. of Rats with Lesions (%)				
		Edema	Hemorrhage	Hemosiderosis	Inflammatory Cell Infiltration	Fibrosis
Control	20	4 (20)	6 (30)	19 (95)	20 (100)	20 (100)
1.25mg/kg Cyclophosphamide	20	2 (10)	2 (10)	20 (100)	19 (95)	20 (100)
2.5mg/kg Cyclophosphamide	19	5 (26)	2 (11)	16 (84)	15 (79) *	15 (79) *

* : Significantly different from control value at $p < 0.05$

Table 3. Incidence of testicular atrophy in WBN/Kob rats administered cyclophosphamide for 20 weeks

Group	Effective No. Rats	No. of Rats with Atrophy (%)		
		Normal / Slight	Moderate	Severe
Control	20	3 (15)	9 (45)	8 (40)
1.25mg/kg Cyclophosphamide	20	3 (15)	8 (40)	9 (45)
2.5mg/kg Cyclophosphamide	19	3 (16)	4 (21)	12 (63) *

* : Significantly different from control value at $p < 0.05$

に示す。

各群に共通して、精巣の萎縮性病変が観察された。この精巣萎縮を、病変の程度により正常又は軽度萎縮精巣 (Normal/Slight atrophy), 中等度萎縮精巣 (Moderate atrophy), 高度萎縮精巣 (Severe atrophy) の3つに分類した¹⁵⁾。分類は以下の基準に則って行った。正常あるいは軽度萎縮精巣：ほとんどの精細管が正常かあるいは極僅かに精細胞が減少しているに留まっているもの。中等度萎縮精巣：ほとんどの精細管において、精上皮が菲薄化して精細胞数の減少がみられるもの。高度萎縮精巣：ほとんどすべての精細管において、その径が減少し、精細胞が消失あるいは僅かに精祖細胞が残存するのみとなっているもの。

上記のように分類した病変の発生頻度を対照群と比較すると、CP 2.5 mg/kg 群で、正常又は軽度萎縮精巣の発生頻度に差はないが、中等度萎縮精巣が減少するとともに高度萎縮精巣が増加し、有意な病変の増悪が認められた。

考 察

Cyclophosphamide は NOD マウスにおける糖尿病の発症を促進することが報告されている^{8,9)}。NOD マウスに発症する糖尿病は、ラ氏島炎からラ氏島の萎縮を引き起こす自己免疫疾患であるとされており^{8,9)}、cyclophosphamide 投与によるマクロファージや NK 細胞の活性化ないし、それらの数の増加がラ氏島細胞障害を増強し、糖尿病の発症を促進するものと考えられている⁹⁾。

本実験において、血糖値は群間で差はなかったが、膵臓の病理組織検索で CP 高用量 (2.5 mg/kg) 群の炎症細胞浸潤と線維化の発生例数が対照群よりも有意に減少した。この結果より、CP は WBN/Kob ラットの自然発生膵炎に対して抑制的に作用することが示され、NOD マウスにおける成績とは相反するものとなった。このような CP の両面的作用の理由は今回の実験からは明らかにできないが、両動物における膵炎発症機序の違いに基因する可能性がある。

すなわち、NOD マウスの睪炎は自己免疫疾患であるのに対し、WBN/Kob ラットの場合は自己免疫機序を介しない¹⁷⁾、ラ氏島周囲の出血による睪炎である¹⁸⁾。本実験でのWBN/Kob ラット睪炎に対するCPの抑制効果は、CPを含めた多くの抗癌剤があわせもつ免疫抑制作用に由来する可能性を考慮する必要がある。

本実験結果において、CP高用量(2.5 mg/kg)群で精巣の萎縮性病変の増悪が認められたことから、CPはWBN/Kob ラットの自然発生性の精巣萎縮に対し促進的効果を有することが示された。WBN/Kob ラットの自然発生性の精巣萎縮は約15週齢に始まり、40週齢ではおよそ90%の精巣が高度な萎縮をきたすことが明らかにされている¹⁵⁾。WBN/Kob ラットの精巣萎縮は、糖尿病の発症とは直接関連のない病変と考えられており、その発生機序は明らかにされていないが、週齢の進行に伴う精祖細胞のDNA合成能の顕著な低下が指摘されている¹⁵⁾。

CPによる精巣毒性は、精祖細胞に対するDNA合成阻害作用に基因するとされるが²⁻⁷⁾、この作用は比較的高用量の投与により発生し、本実験で用いた2.5 mg/kgという比較的低用量での発生は報告されていない。本実験においても、正常精巣の頻度はCPを投与しても対照ラットと差がなかったことから、CPが直接的に精巣障害を引き起こしたとは考え難く、WBN/Kob ラットに自然発生する精祖細胞障害に相加的に作用し、萎縮性病変の発生促進をきたしたものと推測された。

文 献

- 1) 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. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **18**, 89~95 (1992)
- 2) Toppari, J., Bishop, P. C., Parker, J. W., Ahmad, N., Girgis, W. and diZerega, G. S.: Cytotoxic effects of cyclophosphamide in the mouse seminiferous epithelium: DNA flow cytometric and morphometric analysis. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **15**, 44~52 (1990)
- 3) Velez de la Calle, J. F., de Queiroz, F., Garnier, D. H., Kercret, H., Folliot, R. and Jegou, B.: Reproductive effects of the anticancer drug cyclophosphamide in male rats at different ages. *Arch. Androl.*, **22**, 251~263 (1989)
- 4) Singh, H., Hightower, L. and Jackson, S.: Antispermatic effects of cyclophosphamide in the Syrian hamster. *J. Toxicol. Environ. Health*, **22**, 29~33 (1987)
- 5) Lu, C. C. and Meistrich, M. L.: Cytotoxic effects of chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. *Cancer Res.*, **39**, 3575~3582 (1979)
- 6) Goldberg, S. D., Nagler, H. M., Deitch, A. D., deVere White, R. and Schevchuck, M.: Comparison of histologic and flow cytometric evaluation of cyclophosphamide-induced testicular damage. *Urology*, **24**, 472~476 (1984)
- 7) Meistrich, M. L., Wilson, G., Brown, B. W., da Cunha, M. F. and Lipshultz, L. I.: Impact of cyclophosphamide on long-term reduction in sperm count in men treated with combination chemotherapy for Ewing and soft tissue sarcomas. *Cancer*, **70**, 2703~2712 (1992)
- 8) Harada, M. and Makino, S.: Promotion of spontaneous diabetes in non-obese diabetes-prone mice by cyclophosphamide. *Diabetologia*, **27**, 604~606 (1984)
- 9) 丸山太郎, 柳川達生, 浅葉義明, 武井 泉, 片岡邦三, 石井壽晴: "糖尿病動物3", 糖尿病動物研究会編, 医薬ジャーナル社, 大阪, pp. 28~34 (1989)
- 10) Tsuchitani, M., Saegusa, T., Narama, I., Nishikawa, T. and Gonda, T.: A new diabetic strain of rat (WBN/Kob). *Lab. Anim.*, **19**, 200~207 (1985)
- 11) Nakama, K., Schichinohe, K., Kobayashi, K., Naito, K., Uchida, O., Yasuhara, K. and Tobe, M.: Spontaneous diabetes-like syndrome in WBN/Kob rats. *Acta. Diabetol. Lat.*, **22**, 335~342 (1985)
- 12) Mori, Y., Yokoyama, J., Nishimura, M., Kurata, H., Miura, J. and Ikeda, Y.: Diabetic strain (WBN/Kob) of rat characterized by endocrine-exocrine pancreatic impairment due to distinct fibrosis. *Pancreas*, **5**, 452~459 (1990)
- 13) Koizumi, M., Toyota, T. and Goto, Y.: WBN/Kob rat, a diabetic strain of rat with exocrine pancreatic insufficiency. *Diabetes Journal*, **17**, 51~60 (1989)
- 14) 古川文夫, 今沢孝喜, 篠田和俊, 佐藤元信, 佐藤秀隆, 高橋道人, 林 裕造: WBN/Kob ラットにおける自然発症睪炎モデルの病理組織学的検討, 第6回日本毒性病理学会講演要旨集, pp. 55 (1990)
- 15) Sato, M., Shinoda, K., Furukawa, F., Imaza-

- wa, 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)
- 16) Schmähl, D. and Habs, M.: Carcinogenic action of low-dose cyclophosphamide given orally to Sprague-Dawley rats in a lifetime experiment. *Int. J. Cancer*, 23, 706~712 (1979)
- 17) 佐々木温子, 森 豊, 横山淳一, 池田義雄, 西村正彦, 小林哲朗: “糖尿病動物4”, 糖尿病動物研究会編, 医薬ジャーナル社, 大阪 (1990) pp. 181~186

アドリアマイシンによる精巣毒性の定量的な病理組織学的評価

松井 元・豊田和弘・篠田和俊・岡宮英明
古川文夫・川西 徹・高橋道人

Quantitative histopathological study on the adriamycin
testicular toxicity in rats

Hajime Matsui, Kazuhiro Toyoda, Kazutoshi Shinoda, Hideaki Okamiya,
Fumio Furukawa, Toru Kawanishi and Michihito Takahashi

Testicular toxicity induced by adriamycin (ADR) was studied using quantitative histopathological methods. Nine-week old male rats were received a single dose of 8 mg/kg ADR. At 3, 7, 14 and 21 days after the treatment, animals were sacrificed for histopathological evaluation. Numbers of seminiferous epithelia were counted in seminiferous tubule of spermatogenic stages I, II, V, VII and XII. A decrease in spermatogonia was observed in seminiferous tubules of stages I, II and V at 3 days after the treatment. Thereafter, numbers of other types of seminiferous epithelia decreased following progress of spermatogenic cycle. Analysis of spermatogenic cycle movement and germ cell differentiation suggested that ADR was highly effective in killing spermatogonia type A, and the severity of ADR damage would be different depending on subtypes of spermatogonia type A and spermatogenic stages.

Keywords : adriamycin, testicular toxicity, spermatogonia

(Received May 31, 1993)

緒 言

抗悪性腫瘍剤の多くは、精巣に対して毒性を有していることが知られているが、アドリアマイシン (ADR) は精巣毒性を持つ代表的な抗腫瘍剤である^{1,2)}。アドリアマイシンは生殖毒性、変異原性検索により精巣毒性が認められており³⁻⁵⁾、病理組織学的にも精祖細胞の消失と、これに起因する精上皮の消失が認められている^{6,7)}。

精巣の精細管内では精祖細胞が徐々に分化して精子が形成される。精祖細胞が精子にまで成長する過程は精子形成サイクルといわれ、このサイクルは一定の時間経過とともに進行する⁸⁾。精子形成サイクルは生殖細胞の分化段階によって多数のステージに分けられる。精細管内に存在する生殖細胞の種類はステージにより異なり、このため精巣の組織像は極めて複雑なものとなっている。このような精巣の複雑性は、その毒性変化の理解を困難にしている要因の一つでもある⁹⁾。そのため精巣の毒性変化は、精子形成サイクルおよび多種の生殖細胞に着眼して解析する必要がある。今回、アドリアマイシンの精巣

に対する障害を、精子形成サイクルおよび生殖細胞の種別に分けて、病理組織学的に定量的な検討を行った。

実験方法

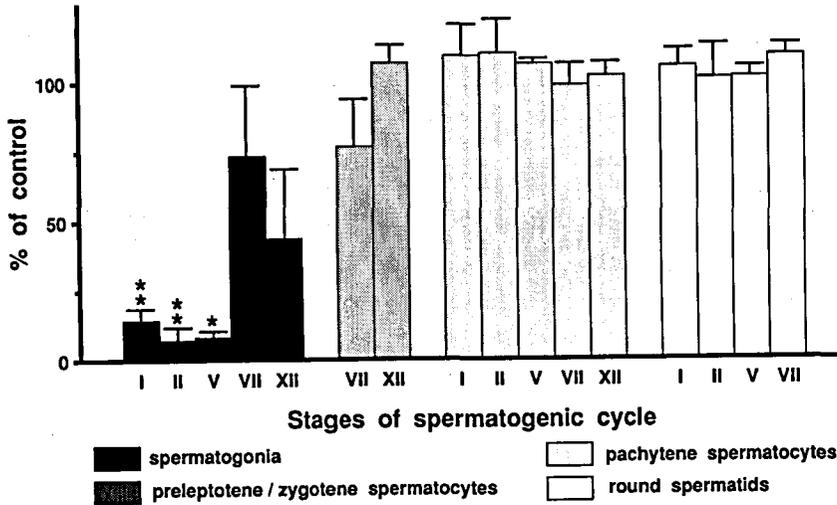
動物は、9週齢の雄性 Sprague-Dawley ラット (日本チャールズ・リバー) を用い、バリアシステムの飼育室で、温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気回数 18/hr および 12 時間照明の環境条件下で飼育した。飼育期間中、飼料 (CRF-1; 日本チャールズ・リバー) および水道水を自由に摂取させた。

ADR (協発発酵) を生理食塩液に溶解し、8 mg/kg を 12 匹の動物に尾静脈より 1 回投与した。このほかに 3 匹を無処置対照とした。投与後 3, 7, 14 および 21 日目に 3 匹ずつ屠殺し、精巣を摘出した。精巣はブアン液を用いて固定し、常法に従いパラフィン包埋切片を作製して、HE および PAS 染色を施した。

ラットの精子形成サイクルは 14 のステージに分類できる。Russell らが示したラットの精子形成ステージの鑑別に従い¹⁰⁾、精子細胞の形態によりステ

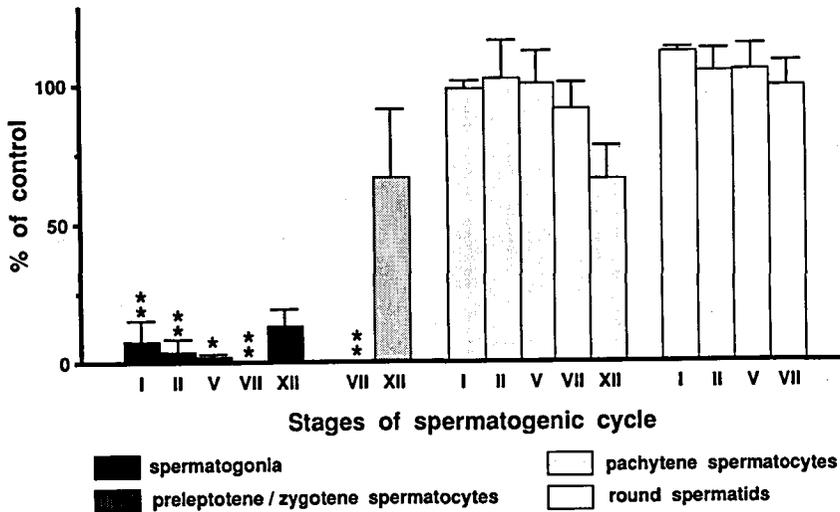
ージを区別した。ステージIからXIVのうち、それらの代表としてI, II, V, VIIおよびXIIの正円形の精細管を任意に5個ずつ選び出し、精上皮の数を種類別にカウントした。精上皮の分類はセルトリ細胞, 精祖細胞, プレレプトテン期精母細胞, ザイゴテン期精母細胞, パキテン期精母細胞および円

形精子細胞とした。各細胞数は1精細管のセルトリ細胞数当たりの数で表した。これらの測定値についてADR投与動物と無処置対照動物間で、ステージおよび細胞種類別にt検定を行い比較した。



Results are expressed as the means \pm S.D.. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

Fig. 1. Cell types and numbers in seminiferous tubules of rats 3 days after the treatment of ADR



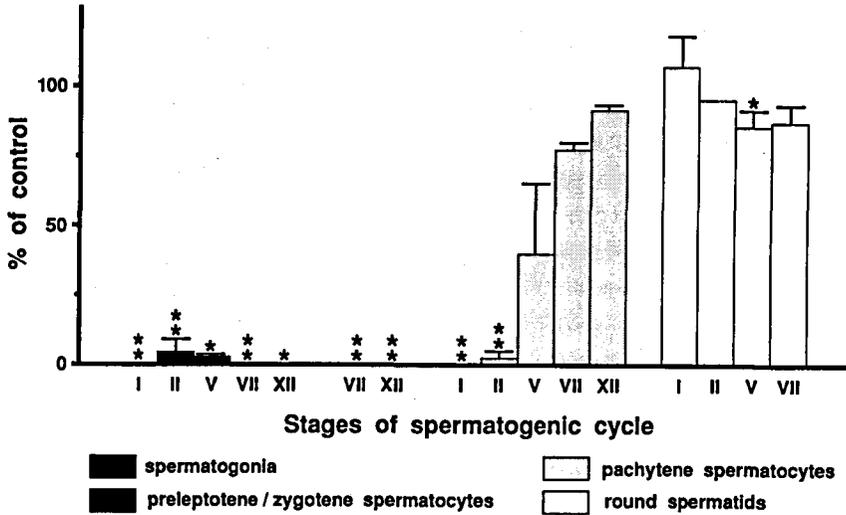
Results are expressed as the means \pm S.D.. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

Fig. 2. Cell types and numbers in seminiferous tubules of rats 7 days after the treatment of ADR

実験結果

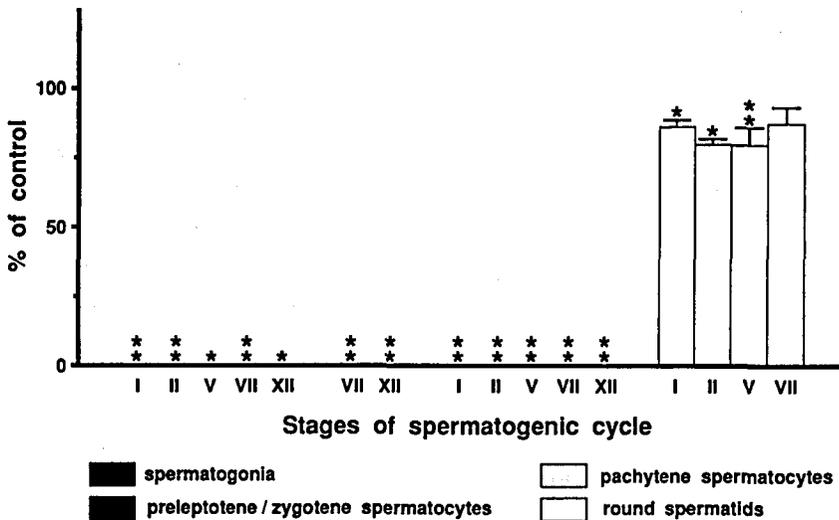
ADR 投与後3日目では、ステージ I, II および V の精祖細胞の有意な減少が認められた。ステージ XII の精祖細胞には、有意な減少は認められなかったが、総細胞数は対照動物の 44% と低値を示

した。しかし、特定の細胞の減少はみられなかった (Fig. 1)。投与後7日目には、精祖細胞の減少はいずれのステージでも著明となり、ステージVIIのプレレプトテン期精母細胞も消失していた。しかし、ステージ XII のサイゴテン期精母細胞以降の精上皮には明かな減少は認められなかった (Fig. 2)。投



Results are expressed as the means \pm S.D.. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

Fig. 3. Cell types and numbers in seminiferous tubules of rats 14 days after the treatment of ADR



Results are expressed as the means \pm S.D.. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

Fig. 4. Cell types and numbers in seminiferous tubules of rats 21 days after the treatment of ADR

与後14日目では、投与後7日目に比較して精上皮の減少は更に進行し、ステージXIIのサイゴテ期精母細胞、ステージIおよびIIのパキテ期精母細胞もほとんど消失した。また、ステージVのパキテ期精母細胞数には有意差はみられなかったが、低値を示した。このほかステージVの円形精

子細胞がやや低値を示し、有意差が認められた (Fig. 3)。投与後21日目には、各ステージの精祖細胞からパキテ期精母細胞はすべて消失した。このほか精子細胞の軽度の減少もステージI, IIおよびVに示された (Fig. 4)。これらの精上皮の減少の推移について、ステージVIIの変化を代表例と

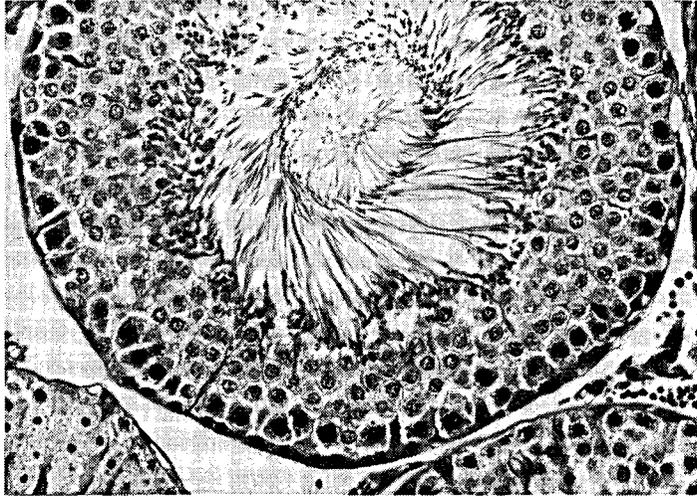


Fig. 5. Stage VII seminiferous tubule of ADR treated rat at 3rd day.

No remarkable changes were observed. (H & E, $\times 100$)

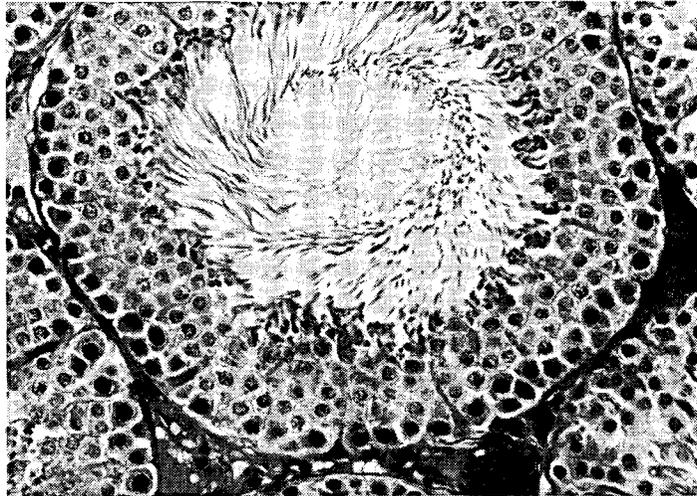


Fig. 6. Stage VII seminiferous tubule of ADR treated rat at 7th day.

Spermatogonia and preleptotene spermatocytes disappeared. (H & E, $\times 100$)

して Fig. 5, 6, 7 に示した。

考 察

今回実施したステージ毎の精上皮のカウントでは、ADR 投与による変化が精祖細胞の減少に始まり、以後経時的にステージの進行に伴い各分化段階の精上皮に波及することが明確に示された。これらのことより、ADR が未分化な生殖細胞に障害を及ぼすことが容易に推測された。このように、定量的な検索は、複雑な精巣組織に生じた変化を理解するのに有用な手段と思われた。

精祖細胞には大別して3種類がある。これらは未分化な順にタイプA、中間タイプおよびタイプBである。更にタイプAは7種類に分類される。これらは光学顕微鏡での鑑別は困難であるが、最も未分化で幹細胞となるタイプは $A_{isolated}$ で、それが1段階分化して、もっぱら増殖を行う2種のタイプ (A_{paired} , $A_{aligned}$) と、更に分化して精子形成サイクルにしたがって成長していく4種のタイプ (A_1 , A_2 , A_3 , A_4) がある¹⁰⁾。Fig. 8 はラットの精子形成サイクルの各ステージに認められる生殖細胞の種類を示したものである。各ステージの精細管の基底

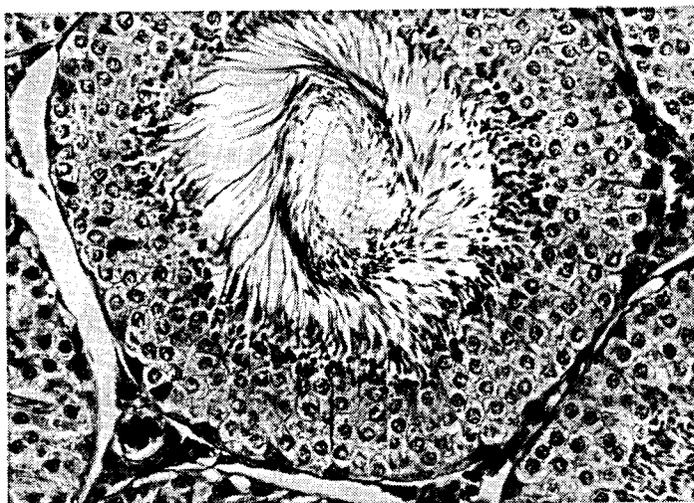


Fig. 7. Stage VII seminiferous tubule of ADR treated rat at 21th day.

Spermatogonia, preleptotene spermatocytes and pachytene spermatocytes disappeared. (H & E, ×100)

15	16	17	18	19	19									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	Di	II	
	In	In	In	B	B	PI	PI	L	L	L	Z	Z	P	
A_4	A_1	A_2	A_2	A_2	A_3	A_3								
I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	

$A_1 \sim A_4$: spermatogonia type A
 In : intermediate spermatogonia
 B : spermatogonia type B
 PI : preleptotene spermatocytes
 L : leptotene spermatocytes
 Z : zygotene spermatocytes
 P : pachytene spermatocytes
 Di : diplotene spermatocytes
 II : secondary spermatocytes
 1-19 : spermatids

Fig. 8. Cellular composition in each stage of seminiferous tubule in the rat spermatogenic cycle

側に精祖細胞が存在する。ステージにより存在する精祖細胞のタイプが異なり^{8,11)}、更にこの図に示されている精祖細胞のほかに、いずれのステージにも $A_{isolated}$, A_{paired} および $A_{aligned}$ が存在する¹⁰⁾。

精子形成サイクルの各ステージは一定の時間で進行していくため、投与時の各ステージが投与後の時間経過によりどのように推移していくかを計算により求めることができる。Fig. 9は投与後の精子形成ステージの進行と、今回の検索でADRによる障害が認められたステージを示したものである。今回、測定を実施しなかったステージの障害については、その前後のステージの障害の有無より類推して示した。投与後3日目にステージI, IIおよびVに精祖細胞の明かな減少が観察されたが、これらのステージは投与時のステージXIからIに相当する。したがって、ADRはステージXIからIの精祖細胞に影響を与えたものと考えられる。ステージXIからXIVには精祖細胞のタイプ A_2 , A_3 , $A_{isolated}$, A_{paired} , $A_{aligned}$ が存在するが、投与3日後にステージIからVの精祖細胞のタイプ A_1 が減少を生じていることから、XIからXIVでは $A_{isolated}$, A_{paired} 若しくは $A_{aligned}$ のいずれかが障害されたものと考えられた。しかし、投与後7日目以降にすべてのステージに障害が認められたことより、投与時にすべてのステージにわたり $A_{isolated}$, A_{paired} , $A_{aligned}$ もしくは A_1 から A_4 が障害されたことも示唆された。これらのことより、ステージにより障害を受ける感受性に何らかの差があり、ステージXIからIは他のステージに比較して、より強く影響を受けることが考えられた。Luらは、マウスを用いた実験で、投与後11日目の検索において投与量のちがいで

により障害を受ける精祖細胞の種類に違いがあり、変化が観察されるステージの範囲に差があることを報告している²⁾。

Fig. 10は、Ettlinらの考案した単回投与時の即時性の障害を解析するためのチャート¹²⁾を参考にして表したものである。屠殺時点で傷害が認められた細胞をチャート上にマークし、この部位よりチャートに記してある斜線にそって線を下方にのばしていくと、投与時に影響を受けた細胞が判明する。投与後3日目には早期ステージの精祖細胞の減少が認められたが、この結果をチャートを用いて解析すると、投与時の障害細胞は精祖細胞のタイプ A_1 から A_4 のうちの一部と $A_{isolated}$, A_{paired} 若しくは $A_{aligned}$ のうちの一部であることがわかる。また、投与後7, 14および21日目の結果より、精祖細胞のすべてのタイプAが障害を受けていたことになる。これらのことから、ADRは精祖細胞のタイプAに障害を及ぼし、これらの細胞の中でもある程度の感受性の差があることが示唆された。

このほか、今回の検索では投与後14日目のステージVおよび21日目のI, II, Vで円形精子細胞の減少が認められた。14日目の変化については、IおよびIIに同様の変化がみられておらず、ADR投与に起因する変化とは考え難かった。投与後21日目の円形精子細胞の減少は、Fig. 10を用いて解析すると、ADRが精祖細胞のBおよび中間タイプ並びにプレレプトテン期精母細胞も障害している可能が示唆される。ADRはDNAへのインターカレートによってDNA合成、DNA依存性RNA合成を阻害し¹³⁾、細胞分裂を障害する。精上皮の減数分裂を利用した小核試験によるADRの変異原性の検索で

Days*	Spermatogenic stages												
	I	II-III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
0 d													
3 d	IV-VI	VI-VII	VII	VII	VII-VIII	VIII-XII	XII-XIII	XIII-XIV	XIV	XIV-I	I	I-II, III	II, III-IV
7 d	VII-VIII	VIII-XI	XI-XII	XII-XIII	XIII-XIV	XIV-II, III	II, III-IV	IV-V	V	V	V-VI	VI-VII	VII
14 d	I-II, III	II, III-V	V	V-VII	VII	VII-VIII	VIII-XII	XII	XII	XII	XII-XIV	XIV-I	I
21 d	VIII-X	X-XII	XII	XIII-XIV	XIV-I	I-IV	IV-V	V	V-VI	VI	VI-VII	VII	VII-VIII

□ stages with no lesions

■ stages with lesions

*: days after ADR treatment.

Fig. 9. Progress of spermatogenic stages and lesions induced by ADR

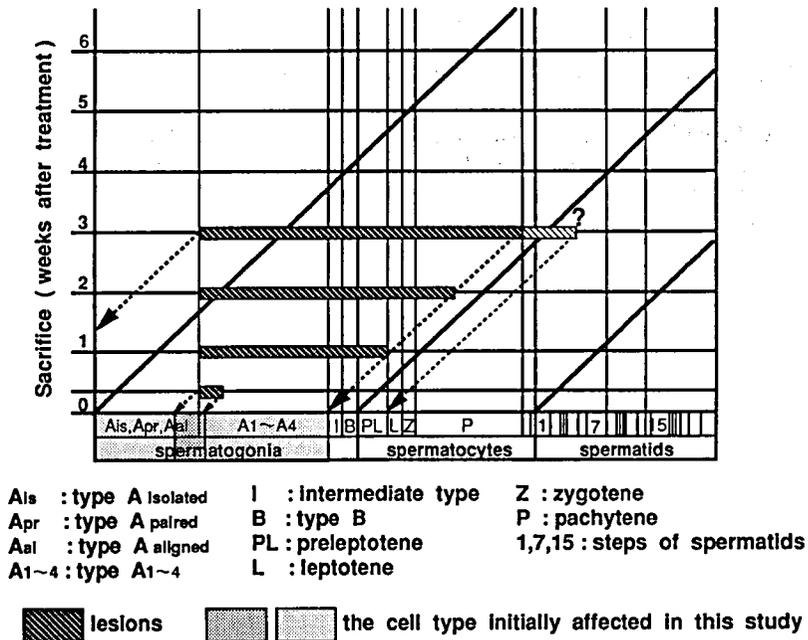


Fig. 10. Chart for relating findings of this study to the cell type initially affected

は、プレレプトテン期およびパキテン期精母細胞が最も影響を受け易いとされている^{14,15}。これらのことより ADR が精祖細胞のタイプ A 以降の精上皮にも何らかの障害を及ぼし、減数分裂を経て円形精子細胞の減少が生じた可能性も考えられた。しかしながら、今回認められた精子細胞の減少は、他の精上皮の減少と比較して軽度なものであり、ADR の障害であるか否かについては、更に詳細な検討が必要と思われた。

結 語

ADR の精巣への影響について、精子形成ステージ毎に生殖細胞数をカウントして定量的に病理組織学的に検討した。ADR 投与後 3 日目には精祖細胞が減少し、以後、精子形成サイクルの進行とともに他の生殖細胞数も順次減少していった。ADR はすべての精子形成ステージにわたり精祖細胞のタイプ A に影響を及ぼすが、精祖細胞の種類、ステージの違いにより障害をうける感受性に差があるものと考えられた。

文 献

- 1) Haschek, W. M. and Rousseaux, C. G.: Handbook of toxicological pathology, Academic Press, San Diego, pp. 860~866 (1991)
- 2) Lu, C. C. and Meistrich, M. L.: *Cancer Res.*, **39**, 3575~3582 (1979)
- 3) Au, W. W. and Hsu, T. C.: *Mutation Res.*, **79**, 351~361 (1980)
- 4) Meistrich, M. L., Goldstein, L. S. and Wyrobek, A. J.: *Mutation Res.*, **152**, 53~65 (1985)
- 5) Generoso, W. M., Cain, K. T., Hughes, L. A. and Foxworth, L. B.: *Mutation Res.*, **226**, 61~64 (1989)
- 6) 佐藤秀隆, 豊田和弘, 長谷川良平, 古川文夫, 張子俊, 高橋道人, 林 裕造: 衛生試験報告, **104**, 87~91 (1986)
- 7) 須藤和彦, 本多一裕, 滝 昌之, 蟹谷昌尚, 藤井祐一, 油田正樹, 細谷英吉: 日薬理誌, **92**, 251~261 (1988)
- 8) Sharpe, R. M., Maddocks, S. and Kerp, J. B.: *Am. J. Anat.*, **188**, 3~20 (1990)
- 9) Takahashi, M. and Mastui, H.: *J. Toxicol. Pathol.*, **6** (1993) in press
- 10) Russell, L. D., Ettlin, R. A., Hikim, A. P. S. and Clegg, E. D.: *Histological and histopath-*

- ological evaluation of the testis*, Cache River Press, Florida, pp. 1~118 (1990)
- 11) Sharpe, R. M.: *Clin. Endocrinol.*, **33**, 787~807 (1990)
 - 12) Ettlin, R. A., Bechter, R., Lee, I. P. and Hodel, C.: *Arch. Toxicol. Suppl.*, **7**, 151~154 (1984)
 - 13) 浦口健二, 上野芳夫, 粕谷 豊, 北川晴雄, 酒井文徳: トキシコロジー, 地人書館, 東京, pp. 805~817 (1978)
 - 14) Parvinen, M., Lähdetie, J. and Parvinen, L.-M.: *Arch. Toxicol. Suppl.*, **7**, 128~139 (1984)
 - 15) Toppari, J., Lähdetie, J., Härkönen, P., Eerola, E. and Parvinen, M.: *Mutation Res.*, **171**, 149~156 (1986)

ダイオードアレイ検出による乱用薬物の同定に関する研究 (第1報)
 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

島峯望彦・増成哲也*・中原雄二

Studies on Identification of Drugs of Abuse by Diode Array Detection. I.
 Screeningtest and Identification of Benzodiazepines
 by HPLC-DAD with ICOS software system

Mochihiko Shimamine, Tetsuya Masunari and Yuji Nakahara

For the establishment of screening test and identification of 20 benzodiazepines (Alprazolam, Bromazepam, Chlordiazepoxide, Clonazepam, Clotiazepam, Cloxazolam, Diazepam, Estazolam, Fludiazepam, Flunitrazepam, Flurazepam, Lorazepam, Lormetazepam, Medazolam, Midazolam, Nimetazepam, Nitrazepam, Oxazepam, Prazepam, Triazolam), the optimum separation condition on HPLC was investigated by using Interactive Computer Optimization for HPLC Separation (ICOS) software. The two eluent systems of 0.02M KH_2PO_4 (pH 3.1)-methanol-acetonitrile (66.4 : 5.7 : 27.9) and 0.1% TFA-methanol-acetonitrile (61.6 : 16.1 : 22.3) were selected by HPLC analyses using ICOS. These optimum separation conditions enabled the screening test and identification of the 20 benzodiazepines on HPLC with photodiode array detection.

Keywords : benzodiazepines, HPLC, photodiode array detection, ICOS, screening test

(Received May 31, 1993)

はじめに

裁判化学, 臨床化学, 救急センター, 税関検査, ドーピング検査に係わる検査室に信頼できる系統的毒物分析法の開発が待望されている。このようなスクリーニング法は簡便で, 迅速で, 信頼性が高く, 特異性に富み, 一検査で広い範囲の薬物をカバーできるものでなくてはならない。

従来, ガスクロマトグラフィー (GC) や薄層クロマトグラフィー (TLC) がしばしば系統的毒物分析の手段として用いられてきた。TLC は感度, 分離能, 再現性の点で低い評価を得ている。GC は再現性と感度の点はかなりの域まで達しているが, 一度に数十の化合物を分離することは容易ではないし, 通常の検出器 (FID) では物質の同定は不十分である。GC/MS は高価であり, 高いランニングコストや生体試料の多数導入によるカラムの劣化などスクリーニング検査には不向きな分析機器であると考えられる。一方, HPLC は熱に不安定な物質や不

揮発性物質などを含む幅広い化学物質を簡単な試料調製で分析, 分離することができ, 系統的毒物分析には非常に有効な分析手段であるといえる。特に, フォトダイオード検出器 (DAD) の普及により保持時間だけでなく, その UV スペクトルも同時に記録できるため, 物質の同定に一段と信頼性が増している。

HPLC-DAD が中毒物質の迅速な同定に有効であることが数々の文献 (benzodiazepines¹⁻⁶, neuroleptics⁷, laxatives⁸, diuretics^{9,10}, その他^{11,12}) で示されている。Hill ら¹³ は 300 以上の化合物の HPLC における保持時間 (RT) と UV の組み合わせによるコンピューター検索が迅速に物質を同定する手段として有用であると述べている。林田¹⁴ らは救急病院での急性中毒の原因物質のスクリーニング試験に HPLC-DAD を利用する方法を報告している。Logan ら⁶ はベンゾジアゼピン系向精神薬を含む 100 種類の塩基性薬物とその代謝物を尿から抽出後 HPLC-DAD で同定している。

1990 年麻薬および向精神薬取締法が改正され, 73 種類の向精神薬が新たに規制対象となった。そ

* 横河電機アナリティカルシステムズ

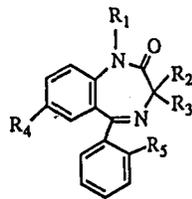
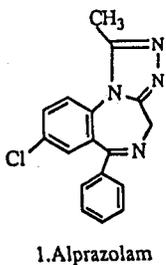
の中でもベンゾジアゼピン系催眠剤の数が多い。本研究は、現在我が国で市販されている20種類のベンゾジアゼピン系向精神薬のスクリーニング試験および確認試験の確立のために、HPLCの分離条件最適化ソフトウェア (Interactive Computer Optimization for HPLC Separation: ICOS) を利用した。今まで分離条件の検討は個人の経験による判断に頼って非常に多くの時間を要した。更に混合溶媒の種類を増やそうとするとパラメータの数が膨大になり、多くの実験分析と複雑な解析作業が必要になる。ICOSを利用すること— (1) 溶出力強度の自動調整 (溶媒混合比率の自動調整), (2) 溶媒組成, 温度, 流速を変化させるラティスサーチ (Lattice Search) ソフトを用いてデータ解析, (3) クロマトモデリングによる溶媒の最適混合比率の推定, (4) その確認により迅速に最適分離条件に到達することが期待できる。本稿ではフォトダイオード検出器 (DAD) を用いた高速液体クロマトグラフィ

(HPLC) によりベンゾジアゼピン系向精神薬の迅速で、信頼性の高いスクリーニング試験法の開発を試みた。

実験の部

1. 試薬

使用した試料の構造式は Fig. 1 に示す。Alprazolam, Chlordiazepoxide, Diazepam, Estazolam は武田薬品工業, Medazolam, Bromazepam, Midazolam, Clonazepam, Flunitrazepam は日本ロッシュ, Clotiazepam は吉富製薬, Cloxazolam は三共, Fludiazepam, Flurazepam, Nimetazepam, Nitrazepam, Triazolam は住友製薬, Oxazepam は万有製薬, Prazepam は興和新薬, Lorazepam, Lormetazepam は日本ワイスから提供を受けた。アセトニトリルおよびメタノールは和光純薬製高速液体クロマトグラム用, その他の試薬は試薬特級を用いた。



No.	Compd. name	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
4.	Clonazepam	H	H	H	NO ₂	Cl
7.	Diazepam	CH ₃	H	H	Cl	H
9.	Fludiazepam	CH ₃	H	H	Cl	F
10.	Flunitrazepam	CH ₃	H	H	NO ₂	F
11.	Flurazepam	A*	H	H	Cl	F
12.	Lorazepam	H	H	OH	Cl	Cl
13.	Lormetazepam	CH ₃	H	OH	Cl	Cl
16.	Nimetazepam	CH ₃	H	H	NO ₂	H
17.	Nitrazepam	H	H	H	NO ₂	H
18.	Oxazepam	H	H	OH	Cl	H
19.	Prazepam	B*	H	H	Cl	H

A*: $-(CH_2)_2-N(C_2H_5)_2$, B*: $-CH_2-CH(CH_2)-CH_2$

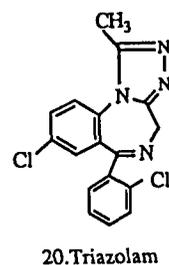
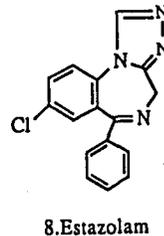
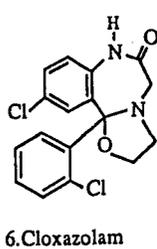
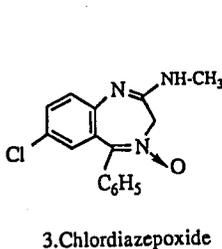
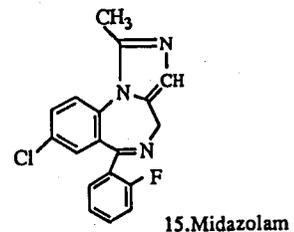
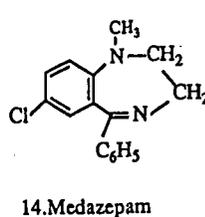
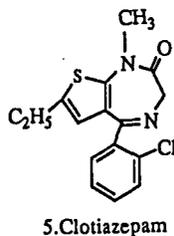
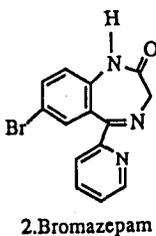


Fig. 1. Chemical structures of 20 benzodiazepines

2. 装 置

装置は、以下のものを用いた。

高速液体クロマトグラフ：Hewlett Packard 製 1090M シリーズ II および 1040M システム

ポンプ：島津 LC-9A

カラム：Inertsil ODS-2 (150 mm×4.6 mm)

カラムオープン：日立 655A-52

オートサンプラー：Hewlett Packard 製 シリーズ 1050

ICOS software system：Hewlett Packard 製で 1090M シリーズ II 液体クロマトグラフに 付属したもの

3. 試料溶液

各試料はそれぞれが 0.05% になるようにメタノールに溶解し、注入量は 2 μ l であった。

4. ICOS による実験

溶出力強度の選択 (ESS：Elution Strength Selection) ソフトおよび溶媒組成、温度、流速を変化させるラテイスサーチソフトを使用して、まず 9 化合物に対して各溶媒組成を変化させ分離における最適条件を求めた。その条件を 20 化合物に適応させた。

4.1 最適分離条件の検討

ICOS によりメタノール、アセトニトリルおよび 0.02 M リン酸緩衝液 (pH 2.5~3.7) 又は 0.1% トリフルオロ酢酸 (TFA) の 3 組成を変化させ、分離の最適化を追求した。

使用した溶媒組成：

- (1) a) 0.02 M KH_2PO_4 (pH 2.5*)
b) 0.02 M KH_2PO_4 (pH 3.7*)
c) CH_3OH .
d) CH_3CN
- (2) a) 0.1% TFA
b) CH_3OH
c) CH_3CN

* リン酸を加えて pH を調整する

4.2 最適分離のための基準

分離を最適化するにあたり、分離の特性を評価し、最も優れた分離条件を見出さねばならない。その基準の最も重要なものとして下に示す 2 つのものがある。

R_s , min 最小の分離能：クロマトグラムにおいて最も接近している 2 ピーク間の分離ファクター

R_s , rp 相対分離能の積：クロマトグラムにおいて隣接するピークの分離能の積で、クロマトグラム

で最大可能なピーク間隔になるような値を示す。

この両者 (R_s , min と R_s , rp) がいずれも最大値を示す点が最適分離条件となる。コンピューターにより最適な 2 点を選ぶよう設定した。

5. HPLC の測定条件

カラムは Inertsil ODS-2 (150 mm×4.6 mm id) を用い、カラム温度を溶媒組成 1 の場合は 50°C、2 の場合は 40°C とし、流速は 1 ml/min で、photodiode array 検出器 (Hewlett Packard 製) による各ピークの UV の比較および 220, 230, 254, 290, 310, 360 nm のモニタリングにより、20 化合物の識別同定を行った。

結果および考察

ICOS により (1) メタノール、アセトニトリルおよび 0.02 M リン酸緩衝液 (pH 2.5~3.7), (2) メタノール、アセトニトリルおよび 0.1% トリフルオロ酢酸 (TFA) のそれぞれの 3 組成を変化させ、構造類似性の高い 20 種類のベンゾジアゼピン類の分離の最適化を求め、また各ピークの UV スペクトルの比較および 220, 230, 254, 290, 310, 360 nm のモニタリングにより、これらの識別同定を行った。

溶媒組成 1 を用いた場合、1) pH 2.5 に固定したときの最適化、2) pH 2.5~3.7 に変化させたときの最適化を ICOS を用いて、9 化合物 [Alprazolam (1), Bromazepam (2), Clonazepam (4), Cloxazolam (6), Fludiazepam (9), Medazolam (14), Midazepam (15), Oxazepam (18), Prazepam (19)] について行った。

pH 2.5 に固定したときの最適条件 (R_s , min および R_s , rp が最大値を示す位置) は Fig. 2 が示すように 0.02 M KH_2PO_4 (pH 2.5)- CH_3OH - CH_3CN (61.3 : 4.8 : 33.9) であったが、Prazepam (19) は保持時間 (RT) が 50 min 以上であること、Medazolam (14) と Midazepam (15) は分離が悪く、実用上問題があることがわかった。

次に、pH 2.5~3.7 に変化させたときの最適化を検討した。まず、メタノール 4.8%、アセトニトリル 33.9% の濃度を固定し、0.02 M KH_2PO_4 (pH 2.5) を 61.3 から 0%、0.02 M KH_2PO_4 (pH 3.7) を 0 から 61.3% に変化させた。その測定結果を Fig. 3 に示す。この時の最適条件は 0.02 M KH_2PO_4 (pH 3.1)- CH_3OH - CH_3CN (61.3 : 4.8 : 33.9) であった。Prazepam (19) の RT が 46.2 min で

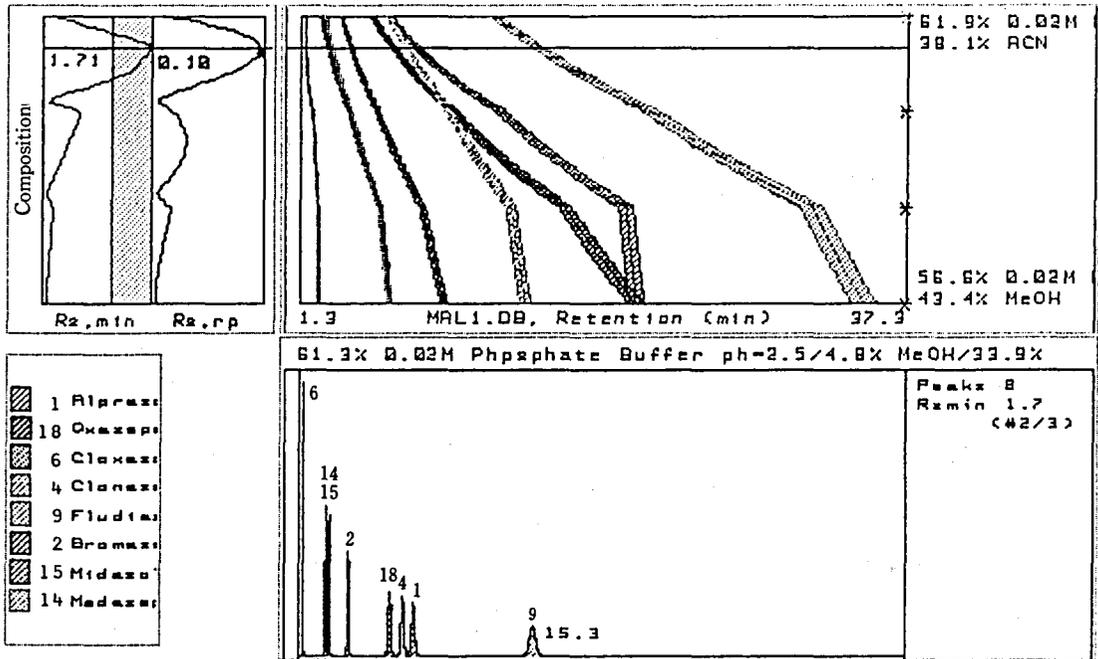


Fig. 2. Interactive Computer Optimization for HPLC Separation of 9 benzodiazepines at pH 2.5.

variation of parameters : 0.02M KH_2PO_4 (pH 2.5) 53.3~68.3%
 CH_3OH 46.7~ 0 %
 CH_3CN 0 ~31.7%

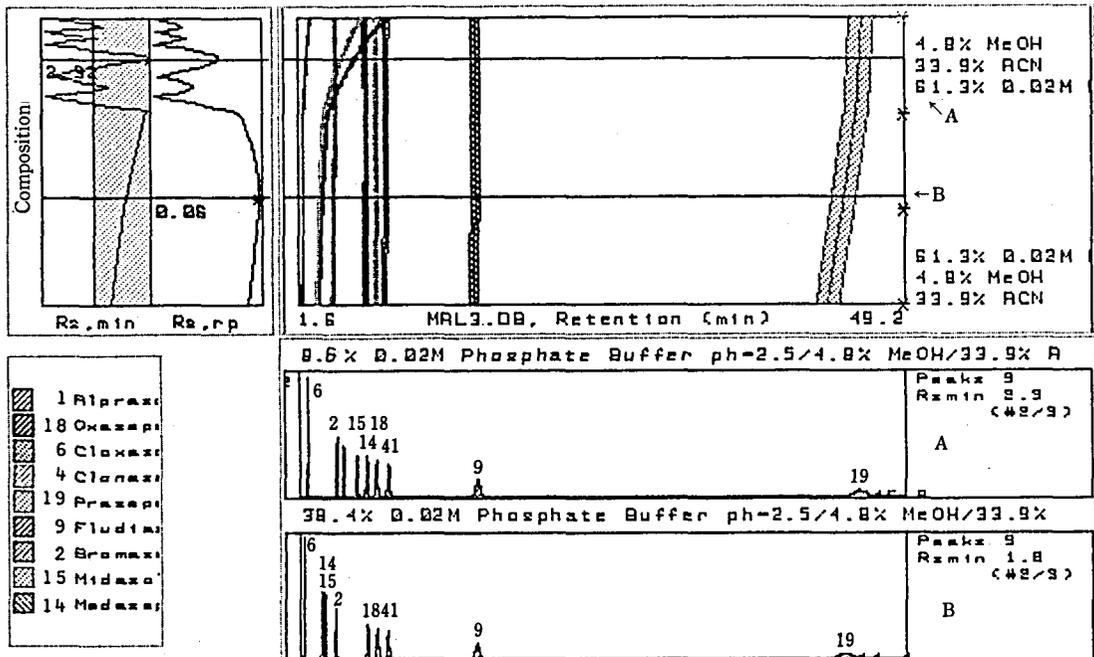


Fig. 3. Interactive Computer Optimization for HPLC Separation of 9 benzodiazepines at pH 2.5 to 3.7.

variation of parameters : 0.02M KH_2PO_4 (pH 2.5) 0 → 61.3%
 0.02M KH_2PO_4 (pH 3.7) 61.3 → 0 %
 CH_3OH , 4.8% (constant)
 CH_3CN , 33.9% (constant)

やや遅いが、9化合物が良好に分離しているので、この条件を通常のHPLCによる20化合物の分離に適用することにした。なおPrazepamのRTを速めるため、9から12minまでアセトニトリルの比率を33.9から53.73%まで上昇させるグラジエントを行った。その時のクロマトグラムをFig.4に示す。Fig.4でわかるとおり、8.02minのピークに

3化合物、8.93minのピークに2化合物が重なるのでこれらの化合物を分離するために再度ICOSを利用した。

前の条件で近接したRTを示した9化合物 [Alprazolam(1), Bromazepam(2), Clonazepam(4), Estazolam(8), Flunitrazepam (10), Lorazepam (12), Nitrazepam(17), Oxazepam(18), Triazo-

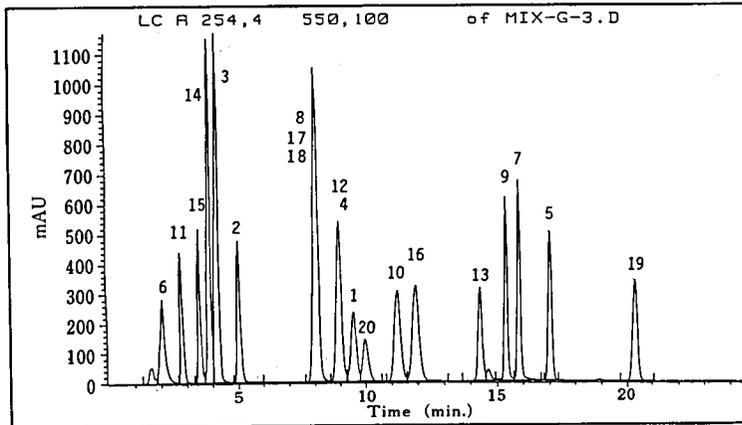


Fig. 4. HPLC chromatogram of 20 benzodiazepines
 Eluent : 0.02M KH₂PO₄ (pH 3.1)-CH₃OH-CH₃CN (61.3 : 4.8 : 33.9)
 Gradient : CH₃CN, 33.9 → 53.73% from 9 to 12 min.

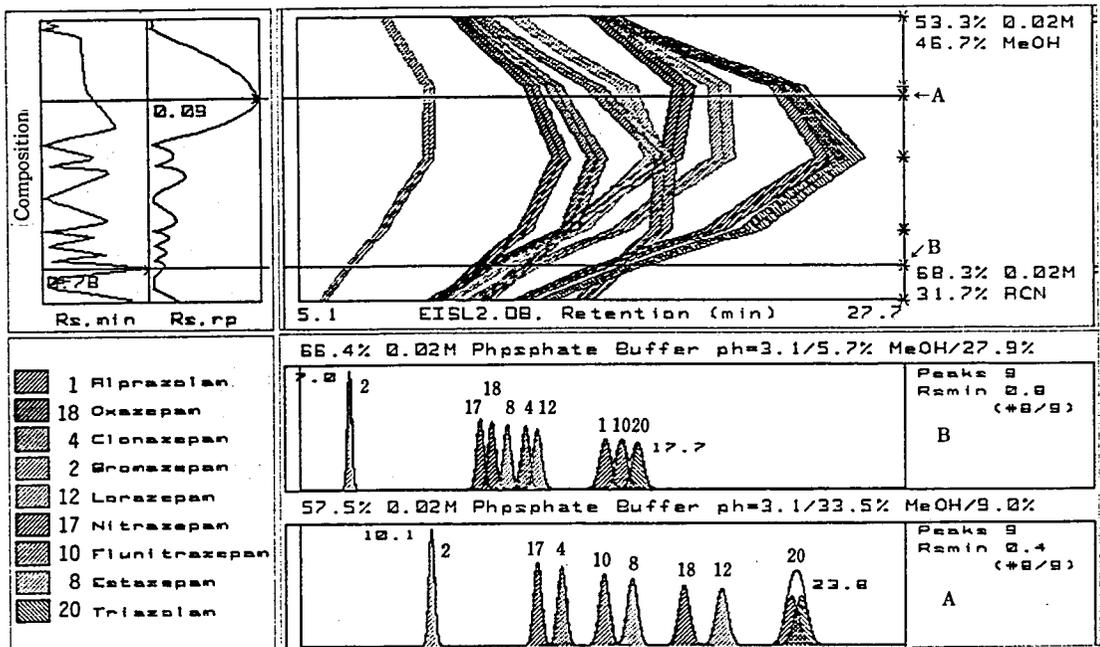


Fig. 5. Interactive Computer Optimization for HPLC Separation of 9 benzodiazepines at pH 3.1.
 variation of parameters : 0.02M KH₂PO₄ (pH 3.1) 53.3~68.3%
 CH₃OH 46.7~ 0 %
 CH₃CN 0 ~31.7%

lam(20)] について、カラム温度 40°C、流速 1 ml/min において 0.02 M KH_2PO_4 (pH 3.1)、メタノール、アセトニトリルを変化させる条件で再度 ICOS を行った。得られたクロマトグラムを Fig. 5 に示す。ICOS では最適溶媒条件として 2 点の溶媒組成を指摘したが、一つの溶媒系 [A : 0.02 M KH_2PO_4 (pH 3.1)-メタノール-アセトニトリル (57.5 : 33.5 : 9)] では Alprazolam(1) と Triazolam(20) が分離せず、全般に RT が遅かった。もう一つの

溶媒系 [B : 0.02 M KH_2PO_4 (pH 3.1)-メタノール-アセトニトリル (66.4 : 5.7 : 27.9)] は溶出も速く、9 成分が分離しているのをこれを最適分離条件として選んだ。

この条件を通常の HPLC による 20 化合物の分離に適用した。なお 17 から 20 min までアセトニトリルの比率を 27.9 から 49.53% まで上昇させるグラジエントを行った。得られたクロマトグラムを Fig. 6 に示す。Fig. 6 では Estazolam(8) と Oxaze-

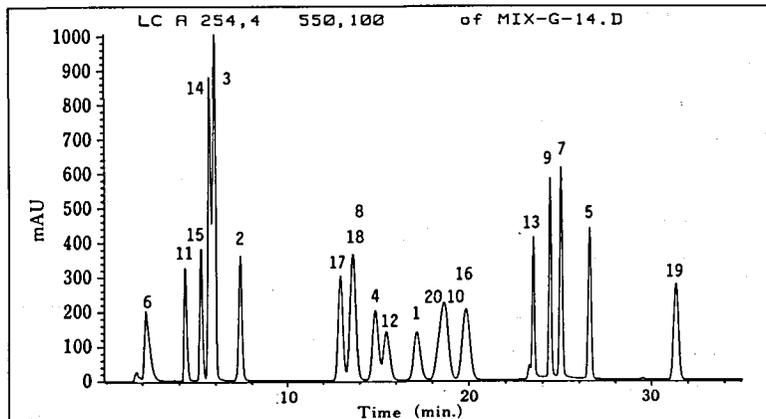


Fig. 6. HPLC chromatogram of 20 benzodiazepines with eluent 1 at 40°C

Eluent : 0.02M KH_2PO_4 (pH 3.1)- CH_3OH - CH_3CN (66.4 : 5.7 : 27.9)
Gradient : CH_3CN , 27.9 → 49.53% from 17 to 20 min.

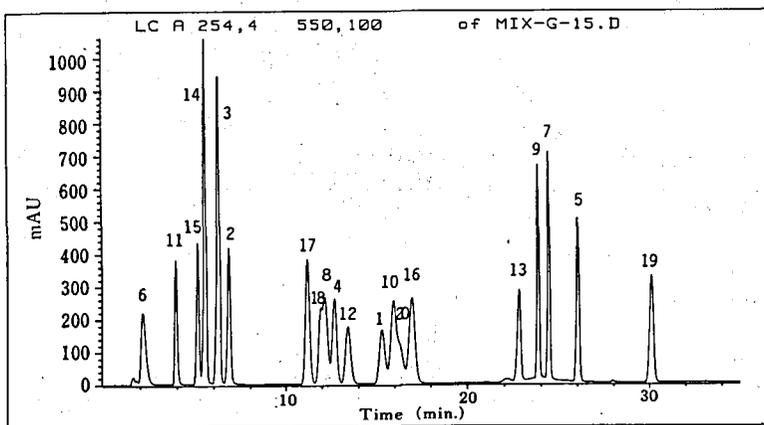


Fig. 7. HPLC chromatogram of 20 benzodiazepines with eluent 1 at 50°C

Eluent : 0.02M KH_2PO_4 (pH 3.1)- CH_3OH - CH_3CN (66.4 : 5.7 : 27.9)
Gradient : CH_3CN , 27.9 → 49.53% from 17 to 20 min.

pam(18), Triazolam (20) と Flunitrazepam(10) のピークがそれぞれ重なり、前者は双方の UV スペクトルが類似しているため識別が不可能であるが、後者は UV スペクトルが明確に異なるので、ピーク頂点前後の UV スペクトルの違いにより判別がつく。

前記の条件では2ピークが重なるので温度を35℃から55℃まで5℃ずつ変化させ最適分離条件を求めた結果50℃が最適であった。Fig. 7にその結果を示す。12~18 min に8化合物が固まって溶離され、分離不十分であるが、Fig. 8に示すようにそれぞれのピークはDADでUV スペクトルを確認できるため、スクリーニング試験としての定性分析には問題はない。この最適条件下でのRT, 保持係数(k'), 分離度(Rs) および254 nm に対するUV 吸光度比を Table 1 に示す。RT および RRT (Nitrazepam=1.00) の CV 値 (n=8) は 1.43, 0.61% であった。

溶媒組成 (2) を用いて分離の最適化を検討した。9化合物 [Alprazolam(1), Diazepam(7), Estazolam(8), Flurazepam(11), Lorazepam(12), Me-

dazepam(14), Nitrazepam(17), Oxazepam(18), Triazolam(20)] に対し0.1% TFA 60~70%, メタノール20~0%およびアセトニトリル0~30%の間を変化させる ICOS を前述と同様に行い、最適分離条件を求めた。Fig. 9に示すように最適条件は比較的広範囲に存在した。

これを基に、通常のHPLCによる20化合物の分離に適用するために数ポイントの溶媒条件を検討した。その結果、最適の分離条件は0.1% TFA-メタノール-アセトニトリル (61.6:16.1:22.3) で、温度:40℃であった。Fig. 10に20種のベンゾジアゼピンの一斉分析のクロマトグラムを示す。11~13 min 付近の5化合物のベースライン分離はならなかったが、それぞれのピークはDADでUV スペクトルを確認できるので、スクリーニング試験の目的は達成できる。なお、RTの遅い化合物の溶出を速めるため、17から20 min までアセトニトリルの比率を22.3から45.61%まで上昇させるグラジエントを行った。各測定値は Table 2 に示す。この条件下でのRT および RRT (Nitrazepam=1.00) の CV 値 (n=8) は 1.23, 0.58% であった。

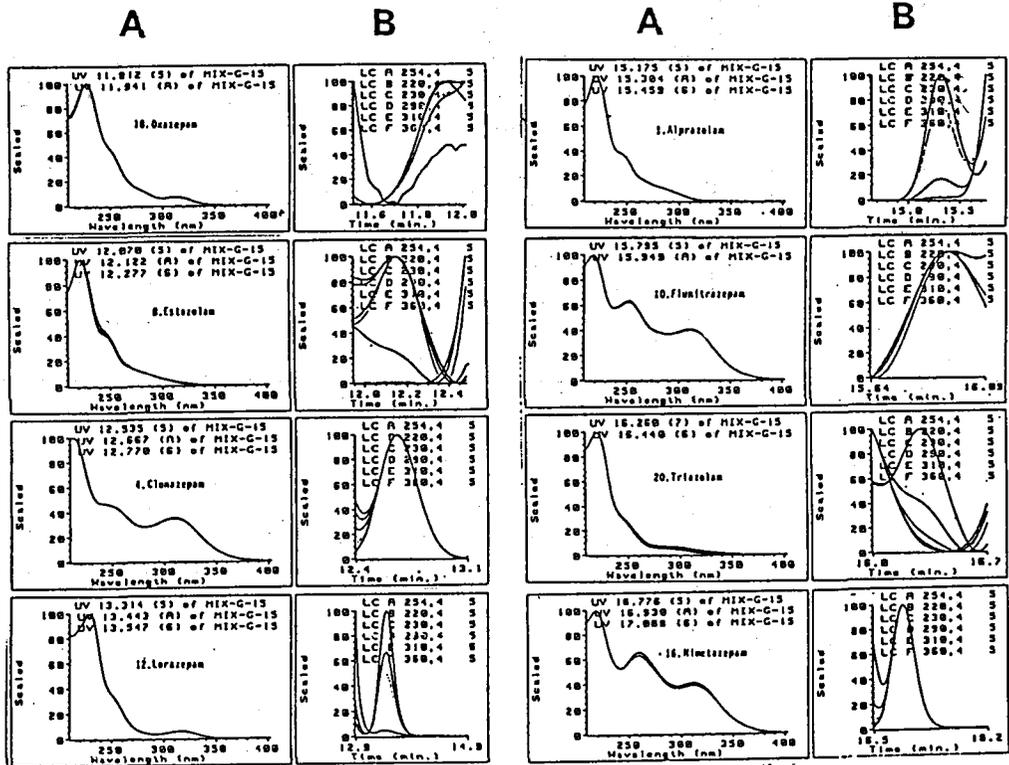


Fig. 8. UV spectra (A) and chromatograms (B) of 8 benzodiazepines

Table 1. Various data at the optimized condition 1 [Eluent : 0.02M KH₂PO₄ (pH 3.1)-CH₃OH-CH₃CN (66.4 : 5.7 : 27.9), 50°C, Gradient : CH₃CN, 27.9 → 49.53% from 17 to 20 min.]

No.	RT	K'	Rs	Ratio of UV Absorbance				
				220/254	230/254	290/254	310/254	360/254
6 Cloxazolam	2.14	0.35	4.24	1.57	1.69	0.55	0.36	0.21
11 Flurazepam	3.92	1.47	4.29	2.33	2.65	0.16	0.16	0
15 Midazolam	5.12	2.22	1.28	2.88	2.35	0.20	0.03	0
14 Medazepam	5.53	2.48	2.11	0.41	0.45	0.39	0.10	0.01
3 Chlordiazepoxide	6.29	2.96	1.50	0.59	0.83	0.29	0.31	0.02
2 Bromazepam	6.83	3.30	11.10	1.98	2.36	0.16	0.14	0.01
17 Nitrazepam	11.16	6.02	1.80	1.50	1.04	0.63	0.65	0.09
18 Oxazepam	11.95	6.52	0.33	2.42	2.60	0.20	0.16	0
8 Estazolam	12.14	6.64	0.85	3.31	2.64	0.26	0.09	0
4 Clonazepam	12.65	6.96	1.34	2.01	1.23	0.69	0.82	0.11
12 Lorazepam	13.43	7.45	2.86	2.97	3.27	0.10	0.16	0.01
1 Alprazolam	15.32	8.64	0.94	3.72	2.67	0.30	0.07	0.01
10 Flunitrazepam	15.96	9.04	0.40	1.60	1.07	0.58	0.64	0.08
20 Triazolam	16.30	9.25	0.76	4.65	3.20	0.30	0.20	0.01
16 Nimetazepam	16.94	9.65	10.30	1.56	1.09	0.62	0.64	0.09
13 Lormetazepam	22.81	13.35	3.15	2.66	2.97	0.11	0.16	0
9 Fludiazepam	23.85	14.00	2.24	2.14	2.50	0.14	0.16	0
7 Diazepam	24.41	14.35	5.71	1.84	2.08	0.16	0.16	0.01
5 Clotiazepam	26.01	15.36	11.69	1.42	1.20	0.17	0.20	0.03
19 Prazepam	30.10	17.93	1.87	2.00	0.16	0.14	0	

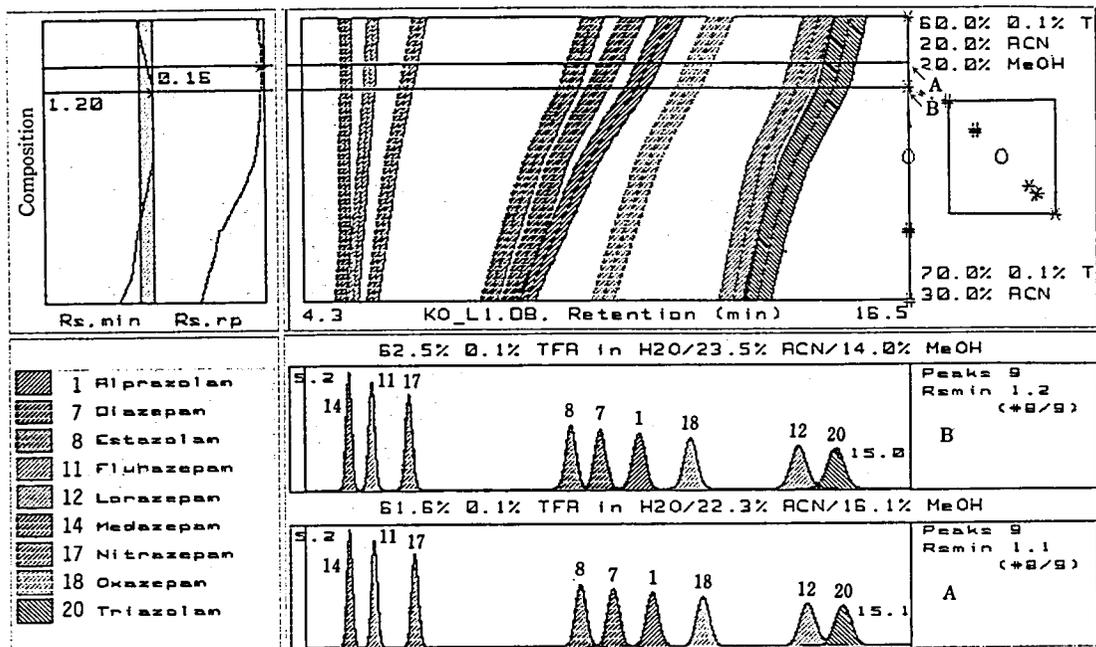


Fig. 9. Interactive Computer Optimization for HPLC Separation of 9 benzodiazepines with eluent 2 at 40°C.

variation of parameters : 0.1% TFA 60~70%
 CH₃OH 20~ 0%
 CH₃CN 20~30%

構造類似の20種のベンゾジアゼピンをHPLC上でベースライン分離を達成することは容易でないが、DADと組み合わせることによりそれぞれの定性・

確認が可能であり、本報で用いた2種の溶媒組成でHPLCを行えば、確度の高いスクリーニング試験が可能となるであろう。

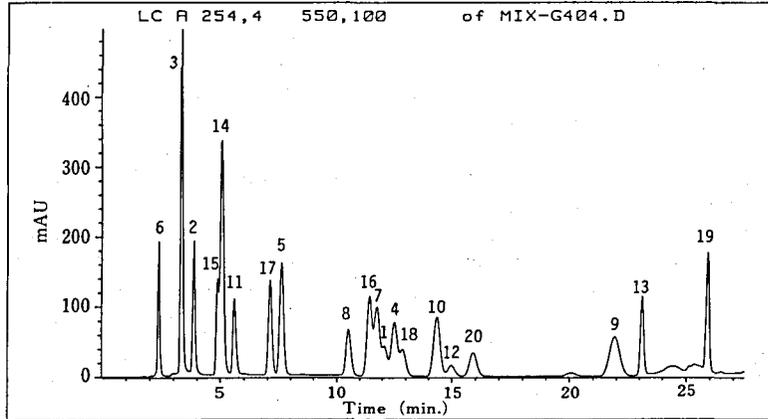


Fig. 10. HPLC chromatogram of 20 benzodiazepines with eluent 2 at 40°C.

Eluent : 0.1% TFA-CH₃OH-CH₃CN (61.6 : 16.1 : 22.3)
Gradient : CH₃CN, 22.3 → 45.61% from 17 to 20 min.

Table 2. Various data at the optimized condition 2 [Eluent : 0.1% TFA-CH₃OH-CH₃CN (61.6 : 16.1 : 22.3), 40°C, Gradient : CH₃CN, 22.3 → 45.61% from 17 to 20 min.]

No.	RT	K'	Rs	Ratio of UV Absorbance				
				220/254	230/254	290/254	310/254	360/254
6 Cloxazolam	2.37	0.49		1.56	1.68	0.54	0.35	0.20
3 Chlordiazepoxide	3.34	1.10	4.41	0.62	0.87	0.29	0.32	0
2 Bromazepam	3.86	1.43	2.26	1.69	1.78	0.41	0.18	0.07
15 Midazolam	4.89	2.08	3.68	2.78	2.30	0.22	0.04	0
14 Medazepam	5.05	2.18	0.50	0.45	0.48	0.39	0.10	0.01
11 Flurazepam	5.59	2.52	1.59	2.25	2.58	0.21	0.17	0.02
17 Nitrazepam	7.12	3.48	4.14	1.19	0.82	0.96	0.71	0.15
5 Clotiazepam	7.61	3.79	1.17	1.02	0.77	0.46	0.33	0.14
8 Estazolam	10.52	5.62	5.02	3.55	2.95	0.53	0.28	0.03
16 Nimetazepam	11.44	6.19	1.31	1.33	0.96	0.90	0.70	0.16
7 Diazepam	11.77	6.40	0.43	1.40	1.95	0.81	0.46	0.19
1 Alprazolam	12.09	6.60	0.42	3.56	2.84	0.56	0.28	0.05
4 Clonazepam	12.52	6.87	0.61	1.95	1.19	0.71	0.81	0.12
18 Oxazepam	12.86	7.09	0.49	2.10	2.38	0.28	0.24	0.02
10 Flunitrazepam	14.35	8.03	1.99	1.47	1.02	0.64	0.65	0.10
12 Lorazepam	14.98	8.42	0.80	2.94	3.19	0.13	0.19	0
20 Triazolam	15.90	9.00	1.15	5.42	3.82	0.24	0.09	0
9 Fludiazepam	21.92	12.79	5.96	1.82	2.33	0.35	0.22	0.08
13 Lormetazepam	23.12	13.54	1.46	2.63	2.96	0.11	0.16	0.01
19 Prazepam	25.98	15.34	7.33	1.53	1.92	0.51	0.34	0.13

結 論

本報はベンゾジアゼピン系向精神薬の HPLC による一斉分析法の確立に ICOS を用いた最初の報告である。ICOS の利用により得られた 2 種類の最適溶媒系はいずれも構造類似の 20 化合物を分離し、ダイオードアレイ検出器により 30 分以内に 20 種のベンゾジアゼピン系向精神薬の同定が可能となった。得られた分析条件は、犯罪科学、中毒学、法医学、ドーピング検査、税関検査の分野での活用が期待できる。

文 献

- 1) Minder, E. I., Schaubhut, R. and Simmler, F. Toxicological screening for benzodiazepines in urine: Emit-st versus high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. *Toxicol. Letters*, 45, 93-99 (1989)
- 2) Mura, P., Piriou, A., Fraillon, P., Papet, Y. and Reiss, D. Screening procedure for benzodiazepines in biological fluids by high-performance liquid chromatography using a rapid-scanning multichannel detector. *J.*

- Chromatogr.*, **416**, 303~310 (1987)
- 3) Noggle, Jr., F. T., Clark, R. C. and De Ruiter, J. Liquid chromatographic separation of some common benzodiazepines and their metabolites. *J. Liq. Chromatogr.*, **13**, 4005~4021 (1990)
 - 4) Boukhabza, A., Lugnier, A. A. J., Kintz, P. and Mangin, P. Simultaneous HPLC analysis of the hypnotic benzodiazepines nitrazepam, estazolam, flunitrazepam and triazolam in plasma. *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 319~322 (1991)
 - 5) Puopolo, P. R., Volpicelli, S. A., Johnson, D. M. and Flood, J. G. Single procedure for detection, confirmation and quantification of benzodiazepines in serum by liquid chromatography with photodiode-array detection. *Clin. Chem.*, **37**, 701~706 (1991)
 - 6) Logan, B. K., Stafford, B. K., Tebbett, I. R. and Moore, C. M. Rapid Screening for 100 Basic Drugs and Metabolites in Urine Using Cation Exchange Solid-Phase Extraction and HPLC with Diode Array Detection. *J. Anal. Toxicol.*, **14**, 154~159 (1990)
 - 7) Tracqui, A., Kintz, P., Kreissig, P. and Mangin, P. Simple and rapid screening procedure for 27 neuroleptics using HPLC/DAD. *J. Liq. Chromatogr.*, **15**, 1381~1396 (1992)
 - 8) Fullinfaw, R. O., Bury, R. W. and Moulds, R. F. W. Screening procedure for stimulant laxatives in urine using high-performance liquid chromatography with diode array detection. *J. Chromatogr.*, **433**, 131~140 (1988)
 - 9) Park, S. J., Pyo, H. S., Kim, Y. J., Kim, M. S. and Park, J. Systematic analysis of diuretic doping agents by HPLC screening and GC/MS confirmation. *J. Anal. Toxicol.*, **14**, 84~90 (1990)
 - 10) Cooper, S. F., Masse, R. and Dugal, R. Comprehensive screening procedure for diuretics in urine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **489**, 65~88 (1989)
 - 11) Bogusz, M. and Wu, M. Standardized HPLC/DAD system, based on retention indices and spectral library, applicable for systematic toxicological screening. *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 188~197 (1991)
 - 12) Overzet, F., Rurak, A., van der Voet, H., Drenth, B. F. H., Ghijsen, R. T. and de Zeeuw, RA. On-line diode array UV-visible spectrometry in screening for drugs and drug metabolites by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **267**, 329~345 (1983)
 - 13) Hill, D. W. and Langner, K. J. HPLC Photodiode Array UV detector for Toxicological Drug Analysis. *J. Liq. Chromatogr.*, **10**, 377~409 (1987)
 - 14) Hayashida, M., Nihira, M., Watanabe, T., and Jinno, K. Application of a computer-assisted HPLC multi-wavelength ultraviolet detection system to simultaneous toxicological drug analyses. *J. Chromatogr.*, **506**, 133~143 (1990)

フラビン類のUVA増感による分離赤血球の溶血反応

佐々木久美子・木嶋敬二・小嶋茂雄

Hemolysis of Isolated Erythrocytes by UVA-sensitization of Flavins

Kumiko Sasaki, Keiji Kijima and Sigeo Kojima

Riboflavin (RF), flavin mononucleotide (FMN) and flavin adenine dinucleotide (FAD) caused hemolysis of isolated rabbit erythrocytes by UVA-sensitization.

Hemolysis induced by UVA-sensitization with RF and FMN was inhibited by 1.0 mM histidine and EDTA, and was promoted by 0.15 mM histidine and 0.01 mM NaN_3 . Hemolysis induced by irradiation in anaerobic condition was smaller than those in aerobic condition. Hemolysis was proceeded in the dark for 5 hours after the UVA-irradiation with RF and FAD. Erythrocyte treated by UVA-sensitization with RF easily caused hypotonic hemolysis.

Keywords : hemolysis, UVA, riboflavin, FMN, FAD

(Received May 31, 1993)

UVAはUVBに比べてエネルギーが低いので直接的な生体影響はUVBより小さいかもしれないが、光増感物質を介して間接的に生体に作用することが考えられる。リボフラビン、NADH、 NAD^+ 、トリプトファンの光分解物であるN'-formylkynurenineなどが生体内UVA増感物質となり得ることがDNA-*in vitro*の系で報告されている¹⁾。

生体内にはフリーのリボフラビンは少ないが、FMN、FADが高濃度に含まれており、これらがUVA増感により生体に影響を与える可能性がある。そこでリボフラビン、FMNおよびFADのUVA増感による溶血現象について*in vitro*で検討した。

実験方法

試薬および装置

Riboflavin (RF) : 和光純薬製, Flavin mononucleotide (FMN), Flavin adenine dinucleotide (FAD) : シグマ社製

照射装置 : イーグル商事特製の紫外線均一照射光源装置を使用し、フィルターの選択により365 nmのUVAを照射した。高さ18 cmから照射したときの平均照射強度(365 nm)は 6.2 mW/cm^2 であった。

溶血試験

ウサギ保存血(日本生物材料センターから購入)から赤血球を常法により分離して0.85%塩化ナト

リウム含有10 mMリン酸緩衝液(pH 7.4)で4回洗浄した後、この等張緩衝液に懸濁した。0.2%赤血球懸濁液2 mlと等張緩衝液で調製したフラビンの溶液2 mlを外径3 cmの試料ビンに入れ、フタをせずに室温下でUVAを照射した。照射の前後に、740 nmにおける吸光度を測定し、吸光度の減少から溶血率を求めた。照射終了後の経過時間の溶血率への影響をみる際はUVA照射直後に溶血率を測定した後、試料を室温暗所に5時間放置して再度溶血率を測定した。窒素置換下での照射では窒素ガスを吹き込んだ後、試料ビンに栓をして倒立し、ガラス越しに照射した。

結果および考察

Suzukiら²⁾はRF光増感による溶血は血清共存下でのみ起きると述べている。そこで血清の有無がRF-UVA増感による溶血に与える影響についてラット鮮血から調製した血清と赤血球を用いて検討した。血清共存下ではRF-UVA増感による溶血は起こらなかったのに対して血清無添加では2時間でほぼ完全に溶血し、Suzukiらの報告と逆の結果を得た。そこで以下の実験は血清を添加せずに行った。なお、室温暗所では、血清、RFの有無に関わらず17時間後もほとんど溶血しなかった。

RF増感による溶血はRF濃度に比例して増加し、60分照射では $30 \mu\text{M}$ 、120分では $20 \mu\text{M}$ でほぼブ

ラトーに達した (Fig. 1). FMN 増感時の溶血率は同濃度の RF による溶血率よりも高かった。しかし、30 分照射では FMN 100 μM でも約 30% しか溶血しなかった (Fig. 2). FAD 増感では溶血が起こりにくく、60 分の照射では 200 μM でも溶血しなかったが、120 分照射すると 20 から 80 μM の間で濃度依存的に溶血率が増加した (Fig. 3). UVA 増感による溶血力は FMN \geq RF > FAD であった。

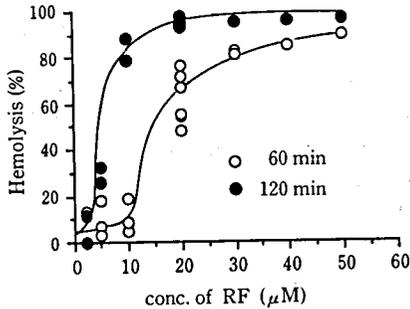


Fig. 1. Hemolysis of erythrocyte by UVA-sensitization with RF

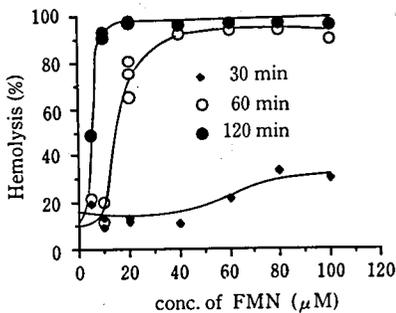


Fig. 2. Hemolysis of erythrocyte by UVA-sensitization with FMN

フラビン濃度を高くしても 30 分以内にはほとんど溶血しなかったことから、赤血球膜が UVA の影響を受けてから溶血するまでには一定の生化学的過程を経るための時間が必要であると考えられる。そこで、照射終了後の時間経過と溶血の関係を検討した。

照射直後の溶血率は RF 添加群では照射時間に相関して高くなった。対照でも 60 分以上の照射によって溶血率がやや上昇した。照射終了から 5 時間経過後の溶血率は対照では照射直後と差がなかったが、RF 添加群では照射直後よりも高くなった (Fig. 4). FAD 40 μM と 120 分照射した場合も照射直後の溶血率は 35% であったが、5 時間後には 60% であった。照射による膜脂質の過酸化あるいはその他の損傷が照射後も時間と共に増幅されて溶血に到るものと考えられる。

RF 共存下で照射した赤血球は照射時間に比例して低張溶血を起こしやすくなっており、赤血球が脆弱化していることが分かった (Fig. 5).

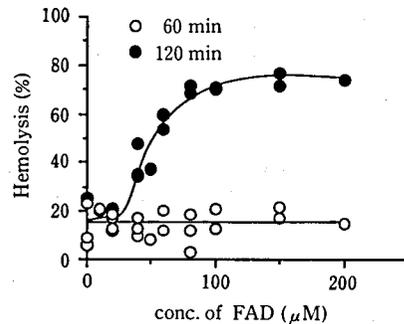


Fig. 3. Hemolysis of erythrocyte by UVA-sensitization with FAD

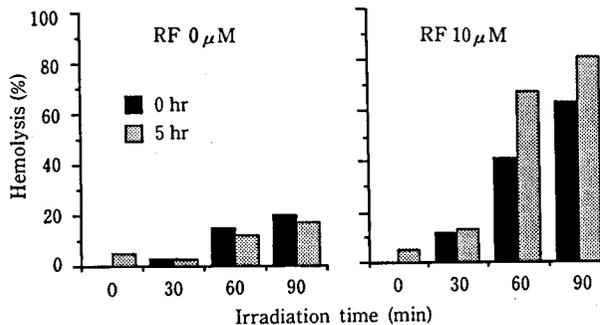


Fig. 4. Hemolysis of erythrocyte by UVA-sensitization with or without RF. Hemolysis was determined 0 and 5 hr, after irradiation

Table 1. Effects of some chemicals on UVA-sensitized hemolysis with RF and FMN

chemicals	(mM)	RF		FMN	
		hemolysis(%)	inhibition(%)	hemolysis(%)	inhibition(%)
—	—	64	—	75	—
NaN ₃	1.0	100	0 ^{a)}	—	—
	0.1	100	0 ^{a)}	99	0 ^{a)}
	0.01	96	0 ^{a)}	94	0 ^{a)}
histidine	1.0	19	70	14	81
	0.15	93	0 ^{a)}	93	0 ^{a)}
EDTA	1.0	18	72	3	96
	0.15	63	0	73	3
mannitol	10.0	65	0	73	3

Erythrocytes were irradiated with UVA in the presence of 20 μ M RF or FMN for 60 min.
a) : Hemolysis was promoted.

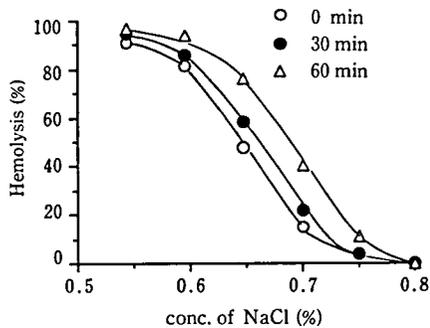


Fig. 5. Effect of UVA-irradiation on hypotonic hemolysis. Erythrocyte was irradiated with 10 μ M RF

Suzukiら²⁾はRF光増感による溶血はアジ化ナトリウムやジメチルフランで抑制され、マンニトールやスーパーオキシドデイスムターゼで阻害されないことから一重項酸素 (1O_2) が関与していると結論している。また、 1O_2 が関与しない励起RF分子の直接反応の関与も示唆している。そこで、RF, FMNのUVA増感による溶血に対するEDTA, 1O_2 のクエンチャーであるヒスチジンとアジ化ナトリウム, OHラジカルのスクベンジャーであるマンニトールの影響を検討した。1 mMのヒスチジンとEDTAは溶血を阻害したが、0.15 mMのヒスチジンは逆に促進した。0.15 mMのEDTAと10 mMのマンニトールは影響しなかった。アジ化ナトリウムはわずか0.01 mMでも溶血を促進した (Table 1)。RF光増感では 1O_2 とスーパーオキシドが生成する³⁾が、ヒスチジンの阻害効果から溶

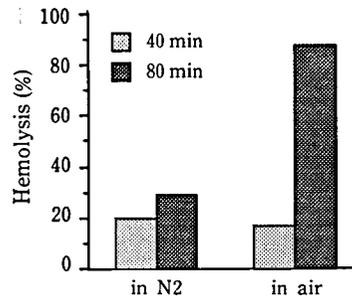


Fig. 6. Hemolysis of erythrocyte by UVA-sensitization aerobic and anaerobic conditions

Erythrocyte was irradiated with 20 μ M of RF.

血に主に関与するのは 1O_2 と考えられる。アジ化ナトリウムが溶血を阻害しないどころか促進した理由は不明であるが、アジ化ナトリウム単独ではUVA照射しても溶血しないことから、 1O_2 と反応したアジ化ナトリウムあるいは励起RFと反応したアジ化ナトリウムが溶血に関与している可能性がある。

RFを加え、窒素置換下でUVA照射したときの溶血率は窒素置換しなかった対照に比べて低かった (Fig. 6)。窒素置換下の照射ではRFが 1O_2 生成量がRFより少ないLumichromeに変化しやすい⁴⁾ため、あるいは酸素濃度が低いために生成する 1O_2 が少なくて溶血に到らなかったものと考えられる。

以上の結果から、RF, FMNおよびFADのUVA照射によって生成する 1O_2 によって赤血球膜が変性し、溶血に到ることが分かった。照射前後の過酸化脂質量をTBA法で測定したところ、RF増感によ

ってTBA値が上昇する傾向が認められた。しかし、 1O_2 によって、システイン、ヒスチジン、メチオニン、トリプトファンなどのアミノ酸が容易に酸化されることやタンパク変性は脂質過酸化より低線量の紫外線で起こるといわれている⁵⁾ことなどから、膜タンパク質の変性が溶血に寄与していることも考えられる。

RF, FMN, FADのUVA増感は、赤血球のみならず、あらゆる生体組織を酸化的に傷害する可能性があるのでUVAの生体影響を評価する際の注目点の一つであるといえる。

文 献

- 1) Peak, J. G., Peak, M. J. and MacCoss, M.: DNA breakage caused by 334 nm ultraviolet light is enhanced by naturally occurring nucleic acid components and nucleotide coenzymes, *Photochem. Photobiol.*, **39**, 713~716 (1984)
- 2) Suzuki, Y., Miura, T. and Ogiso, T.: Riboflavin photosensitized hemolysis of rat erythrocytes in the presence of serum, *J. Pharm. Dyn.*, **5**, 568~575 (1982)
- 3) Joshi, P. C.: Comparison of the DNA-damaging property of photo-sensitized riboflavin via singlet oxygen and superoxide radical mechanisms, *Toxicol. Lett.*, **26**, 211~217 (1985)
- 4) William, M. M., Spence, J. T., Raymond, F. A. and Colson, S. D.: The photochemistry of riboflavin, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 3367~3371 (1963)
- 5) Kochevar, I.E.: UV-induced protein alterations and lipid oxidation in erythrocyte membranes, *Photochem. Photobiol.*, **52**, 795~800 (1990)

豚肉中スルファジミジンのフォトダイオードアレイ検出器付き
高速液体クロマトグラフィーとガスクロマトグラフ・質量
分析計による確認法の検討

鎌倉和政*・長谷川眞住*・鯉口 智*・宮田昌弘*
岡本浩一郎*・成田美加子*・平原嘉親*
山名孝善*・外海泰秀・伊藤誉志男

Studies on the Identification of Sulfadimidine in Pork by
High Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array
Detector and Gas chromatograph-mass spectrometry.

Kazumasa Kamakura*, Masumi Hasegawa*, Satoshi Koiguchi*, Masahiro Miyata*,
Koichiro Okamoto*, Mikako Narita*, Yoshichika Hirahara*,
Takayoshi Yamana*, Yasuhide Tonogai and Yoshio Ito

Sulfadimidine (SDD) was detected in pork imported from Mexico by HPLC with gradient elution system. UV spectrum of the peak was measured and confirmed by photodiode array detector, moreover identified by GC/MS after methylation with diazomethane. Content of SDD in the sample was 0.1 ppm and detection limit of SDD by the proposed method was 0.02 ppm. Application of this method to CLP, SMR, SMM, SDM and SQX was studied, and satisfactory results were obtained.

Keywords : antibacterials, HPLC, GC/MS, photodiode array detector, sulfadimidine
(Received May 31, 1993)

緒 言

動物用医薬品および飼料添加物として使用される抗菌性物質の開発は、家畜の生産効率を向上させるとともに集団飼育に伴う疾病の発生を予防することに多大な貢献をしてきた。一方、これらの抗菌性物質の大量使用および乱用等は畜水産食品への残留問題を引き起こし、食品衛生上の重要な問題となっている。わが国の食品衛生法では、“食肉、食鳥、卵および魚介類では化学的合成品たる抗菌性物質を含有してはならない”と規定している。しかし、諸外国では残留基準値の定められているところもあり、輸入畜水産物食品中に抗菌性物質を検出した例もいくつか報告されている^{1,2)}。

著者らは輸入畜水産食品中の合成抗菌剤のモニタリング検査を行っているが、HPLCによる一斉分析法により豚肉からスルファジミジン (SDD) を

検出し、多波長検出器およびメチル誘導体化後、GC-MS で確認し得た事例を経験した。本件において実施した一連の分析方法は他の合成抗菌剤にも応用可能であり、今後の指針となりうると思われるので報告する。

実 験 方 法

1. 試 料

平成4年大阪港に陸揚げされたメキシコ産輸入冷凍豚肉

2. 試薬および試液

2.1. 試 薬

オキソリン酸 (OXA)、スルファジミジン (SDD)、スルファメラジン (SMR)、スルファジメトキシ (SDM)、スルファキノキサリン (SQX) : Sigma 社製

スルファモノメトキシ (SMM) : 第一製薬 (株) 製

カルバドックス (CDX) : Bayer Japan 製

* 神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター

クロピドール (CLP) : ダウケミカル社製
 ナイカルバジン (NCZ) : 大日本製薬(株)製
 N-メチル-N-ニトロソ尿素 : ナカライディスク製

アセトニトリル, メタノール, ヘキサン, ジクロロメタン : 和光純薬工業(株)液体クロマトグラフ用
 酢酸, メタリン酸, ジエチルエーテル, 水酸化カリウム, ハイフろスーパーセル : 和光純薬工業(株)試薬特級

2.2. 合成抗菌剤標準原液

CLP, SDD, SMR, SQX, SMM および SDM は 10.0 mg をメタノールに溶かし 100 ml とし, CDX と NCZ は 10.0 mg をアセトニトリルに溶かし 100 ml とした。また OXA は 10.0 mg をアセトニトリル-水 (1:1) に溶解し 100 ml とした (各 100 µg/ml)。

2.3. HPLC 分析用合成抗菌剤溶液

上記 9 種類の合成抗菌剤標準原液の各々 2 ml を混合し, アセトニトリル-水 (1:1) で希釈し 100 ml とした (各 2 µg/ml)。

2.4. GC/MS 分析用 SDD 標準溶液

SDD 標準原液 2 ml をメタノールで 100 ml に希釈し 2 µg/ml の標準溶液とした。

2.5. メチル化用ジアゾメタン-エーテル溶液の調製

高槻らの方法³⁾に従い, 45 ml の 40% KOH 水溶液と 50 ml のジエチルエーテルを三角フラスコに入れ, 氷冷しながら N-メチル-N-ニトロソ尿素 15 g を少量ずつマグネットスターラーで攪拌し溶解した。完全に溶解後, エーテル層だけを採取し, KOH を加え脱水保存した。

3. 装置および器具

3.1. HPLC

東ソー(株)製 : システムコントローラー SC8010, デュアルプランジャーポンプ CCPM, 移動相ミキサー MX8010, 紫外部検出器 UV8010, 蛍光検出器 FS8010, プリンター PP8010, オートサンプラー AS8010, カラムオープン CO8010, WATERS 社製 : フォトダイオードアレイ検出器 991J, プリンター 5200

3.2. GC-MS

島津製作所製 : 9100MK, データ処理装置 PACK 1500

4. 測定条件

4.1. HPLC

ガードカラム : 東ソー(株)製, TSK GUARDGEL ODS-80TS (3.2 mm i.d.×15 mm)

分離カラム : 東ソー(株)製, TSK-GEL ODS-80T_s (4.6 mm i.d.×150 mm)

カラム温度 : 30°C

移動相流速 : 1.0 ml/min

試料注入量 : 20 µl

移動相組成 : A 液および B 液の 2 種類の移動相の混合による直線濃度勾配溶出法と段階濃度勾配溶出法の組み合わせにより, 9 種類の合成抗菌剤のスクリーニングを行った。

A 液 : 水-酢酸 (100 : 0.3)

B 液 : アセトニトリル-水-酢酸 (80 : 20 : 0.3)

濃度勾配プログラム :

B 液 0~75% (0~25 min Linear)

B 液 75% (25~30 min)

B 液 100% (30.1~40 min)

B 液 0% (40.1~60 min)

検出波長

紫外部検出器 270 nm (0~24 min)

350 nm (24.1~30 min)

蛍光検出器 EX. 337 nm EM. 365 nm

スクリーニングによりいずれかの標準物質と同じ保持時間を有するピークが検出された場合, 村山らの報告⁴⁾にある等濃度溶出条件により定量するとともに, フォトダイオードアレイ検出器によりスペクトル測定を行い定性した。

4.2. GC-MS

分離カラム : J&W Scientific 社製, DB-1 (膜厚 0.25 µm, i.d. 0.25 mm×30 m)

試料注入量 : 2 µl (スプリットレス)

カラム温度 : 100°C (3 min) - 30°C/min - 250°C (25 min)

注入口温度 : 270°C

セパレーター温度 : 250°C

イオン源温度 : 250°C

キャリアーガス : 高純度ヘリウム

メチル誘導体を用いて高槻らの報告³⁾に従い GC-MS の SIM 分析を行った。

5. 試験溶液の調製法

5.1. HPLC 分析用の試験溶液の調製

HPLC 分析に共する試験溶液の調製は厚生省法³⁾により行った。

5.2. メチル誘導体化のための試験溶液の調製

厚生省法では試料由来の夾雑物の影響によりメチル化が良好でないため星野らの方法⁶⁾で試験溶液の調製を行い、1 ml のメタノールに溶解した。このメタノール溶液を 50 ml 容のナス型フラスコに入れ、ジアゾメタン-エーテル溶液を 5 ml 加えた後、ドラフト内で 1 時間室温放置した。その後、ロータリーエバポレーターで減圧乾固し、ジエチルエーテルに溶解したものを GC-MS で測定した。また、減圧乾固したものをメタノールに溶解し、HPLC でピークの消失の有無を確認した。

結果および考察

1. HPLC による多成分分析条件の検討

まず段階濃度勾配溶出法によりタイムプログラムを検討したが、アセトニトリル濃度が低い早い時間でのピークはブロードになり、試料由来の夾雑物による影響で分離が不十分であった。

そのため、直線濃度勾配溶出法に変更し、アセトニトリル濃度を 0% から 60% (B 液 75%) まで直線的に変化させることにより、夾雑ピークは 10 分以内にほとんどが溶出し、合成抗菌剤はシャープなピーク形状を示した (Fig. 1)。

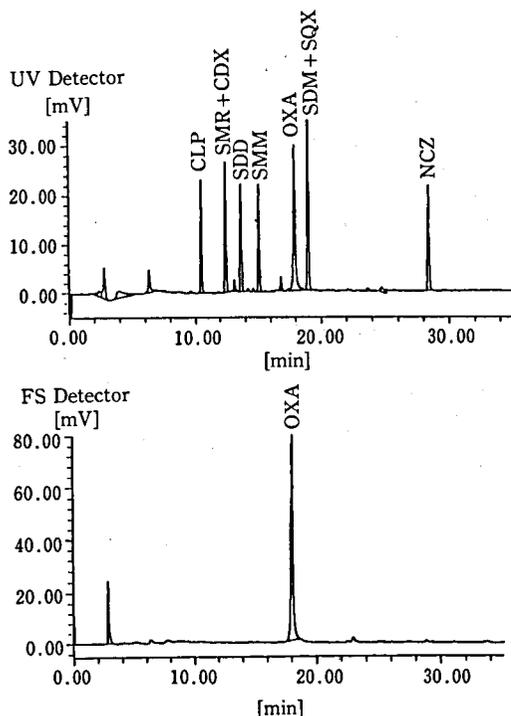


Fig. 1. Liquid chromatograms of synthetic antibacterials with gradient elution.

また、SMR と CDX, SQX と SDM は分離せずに各々重なり合って 1 本のピークで出現したが、スクリーニング法としてはピークの本数が少なくなっても有効と考えられた。

検出波長は CLP から SDM までは 270 nm に設定し、NCZ のみ 350 nm で検出を行った。また OXA については蛍光検出器も併用した。最終ピークである NCZ が溶出後、B 液を 100% の割合で 10 分間流してカラムの洗浄を行い、更に A 液 100% で 20 分間コンディショニングを実施し、再現性を高めた。

本法による検出下限値は SMR, SDD, CDX および OXA で 0.02 ppm であり、SMM, SQX, SDM, NCZ および CLP では 0.03 ppm であった。

2. 試験溶液の調製法

畜水産物中の合成抗菌剤の一斉分析法は種々報告されているが⁷⁻⁹⁾、厚生省法⁵⁾、村山⁵⁾、星野⁵⁾の報告以外ではほとんどの場合試験溶液作製時のクリーンアップにカラムクロマトグラフィーを使用している。しかし、カラムの性能は製造メーカーやロットにより異なることがあり、実験者によっては些細な実験条件の差異により目的物の溶出画分がずれる可能性がある。また異なった系統の合成抗菌剤をも同時にスクリーニングするためには一本のカラムでクリーンアップすることには無理がある。

したがって、不特定多数の合成抗菌剤を分析するにはカラム処理を伴わない試験溶液の調製が望ましい。このような理由から、各種抗菌剤のスクリーニングにはカラム処理をしない厚生省法⁵⁾を用いた。

3. フォトダイオードアレイ検出器によるピークの確認

輸入冷凍豚肉を試料として厚生省法⁵⁾で抽出し、濃度勾配溶出法によりスクリーニングを実施したところ、SDD とみられるピークが検出された。そこで村山らの報告²⁾にもとづいて 3 種類のイソクラティック溶出法：アセトニトリル-水-酢酸 (16:84:0.3), (20:80:0.3), (25:75:0.3) の各溶出条件で HPLC 分析を試みたところ、いずれの移動相においても SDD の標準物質と同じ保持時間を示した (Fig. 2)。また、20:80:0.3 の移動相によるピーク面積から SDD 濃度を算出した (0.1 ppm 検出)。

更にフォトダイオードアレイ検出器を用いてスペクトルの測定を試みたが、試験溶液の濃度が低いため、良好なスペクトルを得ることができなかった。

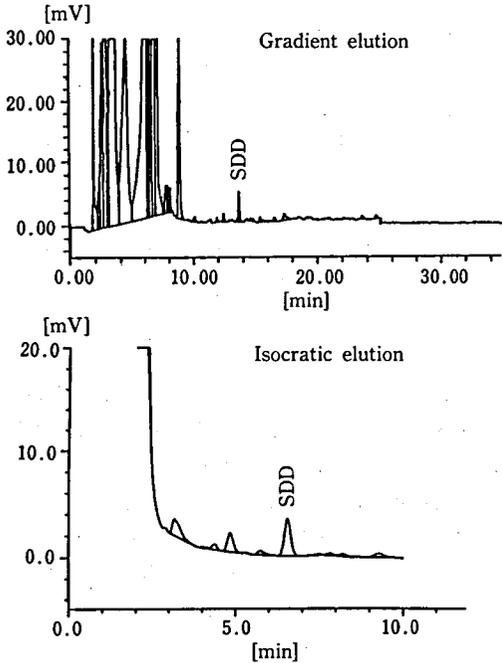


Fig. 2. Liquid chromatograms with gradient elution and isocratic elution of sample.

Isocratic mobile phase: $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}-\text{AcOH}$
(20 : 80 : 0.3)

そこで、試験溶液を窒素ガスで約5倍に濃縮し、再度スペクトルの測定を実施したところ、SDDの標準物質のスペクトル（極大吸収268 nm）と一致した（Fig. 3）。

4. SDDのメチル化とGC-MSによる同定

厚生省法⁵⁾による抽出液をメタノール溶液にしてメチル化を試みたが、試料由来の妨害共存物が多く、良好な結果が得られなかった。そこで、星野らの抽出法⁶⁾で試験溶液を作製しメチル化を行ったところ良好にSDDのメチル化ができた。

SDD標準原液のメチル誘導体を用いてGC-MSでマススペクトルを測定し（Fig. 4）、比較的高質量域のピーク強度の強いM/Z (227, 228)をマーカーにしてメチル化SDD標準溶液およびメチル化試験溶液のSIM分析を行った。その結果、試験溶液から227と228のM/Zが標準溶液と同じ保持時間に検出され（Fig. 4）、質量分析においてもSDDが確認された。

またメチル化試験溶液についてHPLC分析したところ、大塚らの報告¹⁰⁾のように試料中のSDDとみられるピークは消失した。

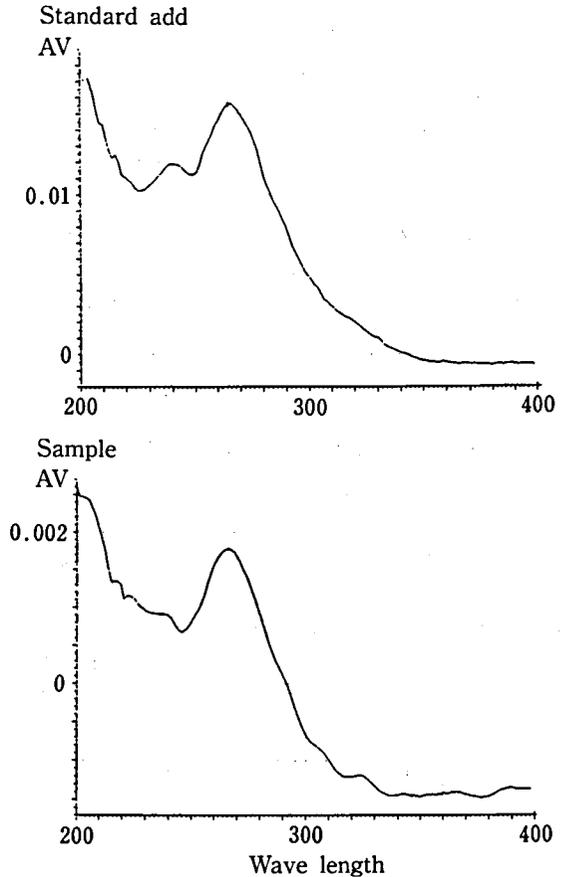


Fig. 3. UV spectra of spiked sample and non-spiked sample by photodiode array detector.

5. 本法の他の合成抗菌剤への応用の可能性

HPLCによるスクリーニング、定量、UVスペクトル解析およびメチル化試験溶液を用いたピークの消失確認、更にはGC-MSのSIMによる定性という一連の分析法により豚肉からSDDを検出し同定することができた。

これらの操作を行うに当たり、高槻らの報告¹⁾に基づき、添加試料を用いてCLP, SMR, SMM, SDMおよびSQXについてもメチル化後GC-MS分析条件等の検討を行った。これらの合成抗菌剤はSDDと同様な条件で分析、同定できるものであった（Fig. 5）。なお、CLPについては、高槻らは検討しておらず、厚生省の個別分析法でもメチル化後、ECD-GCで測定しているにすぎない。著者らは今回初めてCLPのマススペクトルを測定した。また高槻らはSep-pak C_{18} を用いて試験溶液の調製を行っているが、著者らは、カラムを用いない方法で、

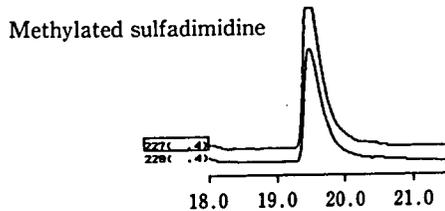
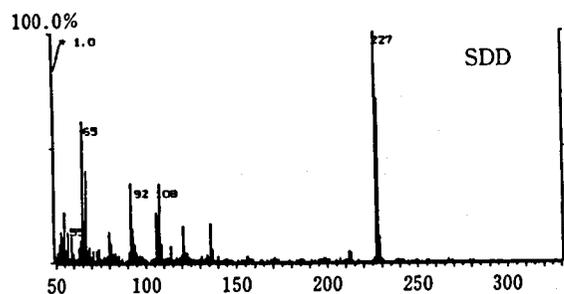


Fig. 4. Mass spectrum of methylated SDD and SIM chromatogram at m/z 227,228 of methylated sample.

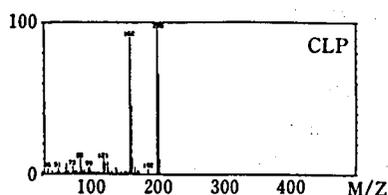
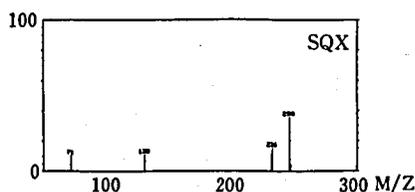
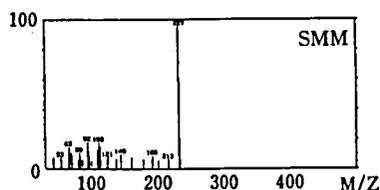
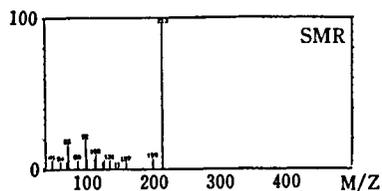
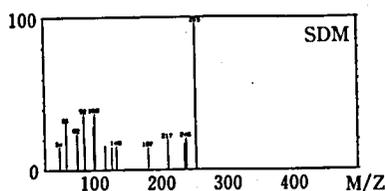


Fig. 5. Mass spectra of the methylated SDM, SMR, SMM, SQX and CLP.

調製を行い良好にメチル化を行うことができた。

HPLCで合成抗菌剤を分析して検出した場合、その最終確認法としてフォトダイオードアレイ検出器によるスペクトル解析だけでは検出感度が低い点、夾雑物によるスペクトルの乱れ等の問題があり信頼性に難があった。そこで、メチル化によるスルファ剤およびCLPのGC-MS分析並びにHPLC分析におけるピークの消失の確認は、十分に日常検査に取り入れることが可能であり、一連の確認方法として期待できるものと考えられた。

文 献

- 1) 植村振作他：残留農薬データブック，三省堂
- 2) 村山三徳，桜井裕之，多田善彦，内山貞夫，斉藤行生：衛生試験所報告，109，78～79（1991）
- 3) K. TAKATSUKI, T. KIKUCHI: J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73, 886～892（1990）
- 4) 村山三徳，内山貞夫，斉藤行生：食衛誌，32，155～160（1991）
- 5) 厚生省法：衛乳第109号「畜水産物中の残留物質一斉分析法」平成2年12月27日
- 6) 星野康二：埼玉県衛生研究所報，25，91～97（1991）
- 7) 永田知子，佐伯政信：食衛誌，29，13～20（1988）
- 8) 山本 優，大内格之，富澤 政，菊池由生子，高杉信男：札幌市衛研年報，16，80～87（1988）
- 9) 堀江正一，斉藤貢一，星野康二，能勢憲英，浜田尚樹，中澤裕之：食衛誌，31，171～176（1990）
- 10) 大塚公人，堀部京子，杉谷 哲，山田不二造：食衛誌，22，462～466（1981）

向精神薬の同定に関する研究 (第9報)
 新向精神薬 N-Ethyl methylenedioxyamphetamine, N-Hydroxy
 methylenedioxyamphetamine, Mecloqualone, 4-Methylaminorex,
 Phendimetrazine および Phenmetrazine 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. IX.
 Preparation and Various Analytical Data of Reference Standard
 of New Psychotropic Substances, N-Ethyl methylenedioxyamphetamine,
 N-Hydroxy methylenedioxyamphetamine, Mecloqualone,
 4-Methylaminorex, Phendimetrazine and Phenmetrazine

Mochihiko Shimamine, Kazunori Takahashi and Yuji Nakahara

The reference standards of N-Ethyl methylenedioxyamphetamine, N-Hydroxy methylenedioxyamphetamine, Mecloqualone, 4-Methylaminorex, Phendimetrazine and Phenmetrazine were chemically prepared from commercial chemicals. Their purities determined by HPLC were more than 99.8%. The standard spectra and chromatograms of the standards such as TLC, UV, IR, HPLC, GC/MS and NMR were measured. For the identification of these six drugs in forensic laboratory, their mass fragmentation and NMR spectra were discussed.

Keywords : psychotropic substance, standard spectra, standard chromatogram

(Received May 31, 1993)

はじめに

著者らの研究室では厚生省薬務局麻薬課の委託を受けて、法規制の麻薬・覚せい剤および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6種のアンフェタミン系の興奮剤について報告したが¹⁾、今回は麻薬および向精神薬取締法に新たに加えられた向精神薬のうち乱用が危惧される N-Ethyl methylenedioxyamphetamine, N-Hydroxy methylenedioxyamphetamine, Mecloqualone, 4-Methylaminorex, Phendimetrazine および Phenmetrazine 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. N-Ethyl methylenedioxyamphetamine (N-Ethyl MDA)

N-Ethyl MDA は幻覚剤の1つで、MDMA の de-

signer drug として密かに密造されていたが、1986年に密造所からの押収品として見出された。その後MDA や MDMA を好む薬物乱用者の中で広まり、MDMA の“Adam”に対し、“Eve”と呼ばれる。1回の使用量は50-100 mg であり、MDMA よりもやや作用が強い。

2. N-Hydroxy methylenedioxyamphetamine (N-Hydroxy MDA)

N-Hydroxy MDA は N-Ethyl MDA とほぼ同時期に MDMA の designer drug として密かに密造されており、“Fantasy”という俗名で、密売されている。MDMA よりも作用は弱い。

3. Mecloqualone

Mecloqualone はメタカロン類似の鎮静・催眠剤として市販されたが、精神的、肉体的依存性を有することが危惧されるとともに医療上の利点が少ないことから、合法的には使用されることは少ない。

4. 4-Methylaminorex

4-Methylaminorex は、食欲減退剤のアミノレッ

クスのメチル同族体である。このものは興奮作用が強く、しばしばマリファナやMDMAと併用して吸煙乱用され、それらの作用を著しく増強させるとともに、さまざまな副作用（不眠、体の震え、歯を食いしばる、フラッシュバックなど）が現われる。また4-Methylaminorexは効果作用の安全領域が狭く、ヒトにおいて1mg/kg (i.v.)で興奮作用が現われ、5mg/kg (i.v., or oral)で死に至ることがある。新種の覚せい剤と見られている。

5. Phenmetrazine と Phendimetrazine

Phenmetrazineはdiet pillとして、1日最大75mg経口で用いられる。初期には副作用のないアンフェタミンの代用品と考えられていたが、注射で大量摂取した場合、強い快感と過敏性が生じ、スウェーデンを始めとするヨーロッパや北米に乱用が広まった。1日1,500mgも乱用したケースもある。Phenmetrazineの耐性や依存形成は速い。PhendimetrazineはPhenmetrazineのメチル同族体であり、ほぼ同様の作用強度を持つ。

実験の部

1. 標準品の製造

N-Ethyl MDAはBraunらの方法で²⁾、Piperonylmethylketone (東京化成)、Ethylamine. HClおよびSodium cyanoborohydrideの反応により合成した。

N-Hydroxy MDAはBraunらの方法で²⁾、Piperonylmethylketone (東京化成)とHydroxylamine. HClと反応させ、ついでSodium cyanoborohydrideと反応させ合成した。

MecloqualoneはGrimmelらの方法で³⁾、N-Acetylanthranilic acid (和光純薬)とo-Chloroanilineと反応させ、ついでPhosphorous oxychlorideと反応させ合成した。

4-MehtylaminorexはPoosらの方法で⁴⁾、Phenylpropanolamine. HCl (和光純薬)とCyanogen bromideにより合成した。

Phendimetrazineは一部Clarkeの方法で⁵⁾、2-Bromopropiophenone (Aldrich)とN-Methylethanolamine (和光純薬)により合成した。

Phenmetrazineは一部Clarkeの方法で⁵⁾、2-Bromopropiophenone (Aldrich)とN-Benzylethanolamine (Aldrich)により合成した。

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 1040M, オートインジェクターシステム 1050 付きダイオードアレイ検出システム

GC/MS：横河 HP 5890A (MSD 5970 付)

IR：島津 IR-460 赤外分光光度計

NMR：Varian GEMINI-300 FTNMR (300 MHz) 核磁気共鳴装置

3. 試験方法

3.1. 薄層クロマトグラフ法

試料溶液は各試料のメタノール溶液 (1→500) を用い、薄層板 (Silica gel 60 F₂₅₄, メルク社製) に約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. NH₄OH = 100 : 1.5

ii) CHCl₃ : methanol : conc. NH₄OH = 27 : 3 : 0.1

iii) CHCl₃ : acetone : methanol : conc. NH₄OH = 15 : 12 : 3 : 0.1

発色試薬：塩化白金酸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、オートインジェクターでその2μlをクロマトグラフに注入した。カラムはInertsil ODS-2 (5μ, 150×4.6 mm), 移動相はA液：0.1 M KH₂PO₄ : CH₃CN = 85 : 15, B液：CH₃CNの混合系を用いることとし、0~9 minはA液100%, 9~15 minはB液を0~40%のグラジエント, 15 min以後はA : B = 60 : 40のタイムプログラムを設定した。流速は1 ml/min, カラム温度は40°C, 検出波長は210 nmで測定した。

3.4. ガスクロマトグラフ-質量分析(GC/MS)

GC/MSの測定は、各試料の遊離塩基又はトリフルオロアセチル (TFA) 誘導体を用いて行った。

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の一部をとり、減圧乾固して得た残渣に無水トリフルオロ酢酸：酢酸エチ

ル (1:1) 溶液の 0.2 ml を加え, 60°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-polysiloxane capillary column (TC-1, ジーエルサイエンス製)

注入: Splitless, 200°C

測定温度: 60°C (0.5 min) - 20°C/min - 250°C

キャリナガス: ヘリウム, 4.5 psi

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 (塩基) 約 10 mg を CDCl_3 (1% TMS を含む) 1 ml に溶解し, 試料溶液とする。

4. 試験成績

4.1. HPLC による純度の測定

HPLC の分離条件

カラム: Inertsil ODS-2 (5 μm , 150 × 4.6 mm)

試料溶液: 0.05~0.5% メタノール溶液

注入量: オートインジェクターで 1~5 μl を注入する

流速: 1 ml/min

カラム温度: 40°C

で行った結果は Table 1 および Fig. 1 に示す。

不純物をチェックするために, かなりの高濃度の溶液を注入したり, Integration の際に Threshold を

通常 0~1 で使用するが, -5 まで下げて測定し, クロマトグラム上に極力不純物ピークを記録させた。純度はいずれも HPLC-UV 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。純度測定の再現性についても同一試料に対してはほとんど同じ結果を得た。

4.2. 性状および融点

N-Ethyl MDA. HCl は白色結晶状粉末で, 融点は 201~202°C (lit.²⁾ 201~202°C), N-Hydroxy MDA. HCl は白色結晶状粉末で, 融点は 148~150°C (lit.²⁾ 149~150°C, lit.⁶⁾ 148~150°C), Mecloqualone は白色結晶状粉末で, 融点は 128~130°C (lit.⁷⁾ 130~132°C (lit.⁹⁾ 125~128°C), 4-Methylaminorex は白色結晶状粉末で, 融点は 154~155°C (lit.⁴⁾ 154.5~156°C, lit.⁹⁾ 154~156°C), Phendimetrazine tartrate は白色結晶状粉末で, 融点は 184~186°C (lit.¹⁰⁾ 182~188°C) 旋光度 $[\alpha]_D^{25} = 33.3^\circ$ (lit.¹⁰⁾ $[\alpha]_D^{25} = 32 \sim 36$), Phenmetrazine. HCl は白色結晶状粉末で, 融点は 176~177°C (lit.¹¹⁾ 172~182°C) であった。

4.3. 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 2 に示す通りである。

展開溶媒 1 を除けば, いずれの溶媒系でも比較的良好に分離し, 6 種のものの識別は可能であった。

4.4. 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 3 に示す。UV 吸収は methylenedioxyphenyl グループ, 一置換ベンゼングループおよび 4-quinazolone 環の 3 グループに分かれた。

Table 1. Purities of the standard drugs by measurement of HPLC-UV detection

Compound	RT (min)	Wave length measured (nm)	Purity (area %)	Mobile phase
N-Ethyl MDA HCl	2.76	210	99.87	(1)
N-Hydroxy MDA HCl	3.76	210	99.82	(1)
Mecloqualone	6.24	254	99.93	(2)
4-Methylaminorex	2.91	210	99.93	(1)
Phendimetrazine* tartrate	7.23	210	100.0	(1)
Phemetrazine HCl	3.40	220	99.80	(3)

Mobile phase

(1) 0.1M KH_2PO_4 : CH_3OH : $\text{CH}_3\text{CN} = 3 : 1 : 1$

(2) CH_3OH : $\text{H}_2\text{O} = 9 : 1$

(3) 0.1M KH_2PO_4 : $\text{CH}_3\text{CN} = 4 : 1$

* Peak of RT 1.90 : Tartaric acid

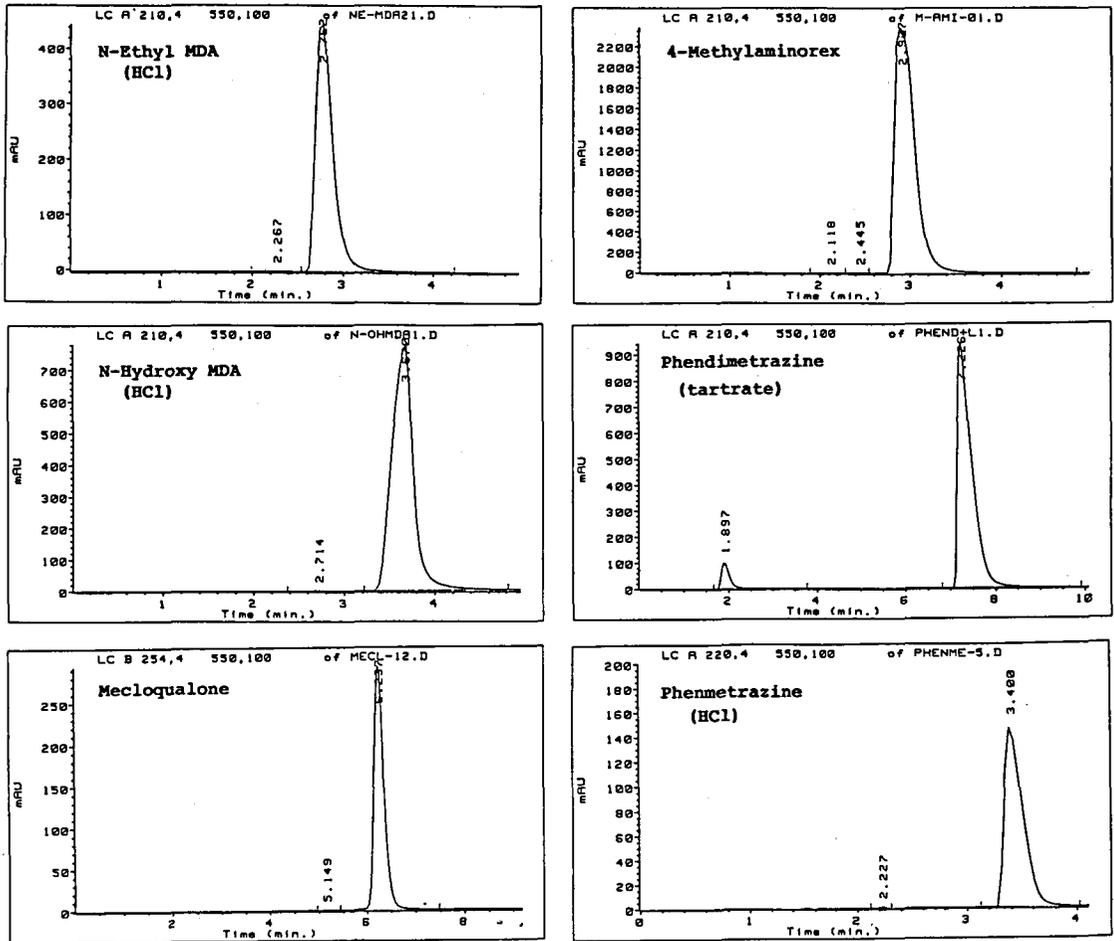


Fig. 1. Chromatograms of the standard drugs by HPLC

Table 2. Thin layer chromatographic data of six drugs

Compound	R_f		
	Solvent		
	1)	2)	3)
N-Ethyl MDA	0.62	0.47	0.33
N-Hydroxy MDA	0.80	0.59	0.42
Mecloqualone	0.80	0.77	0.72
4-Methylaminorex	0.66	0.23	0.20
Phendimetrazine	0.69	0.52	0.38
Phenmetrazine	0.76	0.67	0.57

Solvent : 1) methanol : conc. NH_4OH = 100 : 1.52) CHCl_3 : methanol : conc. NH_4OH = 27 : 3 : 0.13) CHCl_3 : acetone : methanol : conc. NH_4OH = 15 : 12 : 3 : 0.1

Table 3. UV data of six drugs

Compound	$\lambda_{\min}^{\text{MeOH}}$		$\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$	
	nm	E 1% _{1cm}	nm	E 1% _{1cm}
N-Ethyl MDA. HCl	222	103	217	161
	256	14.4	288	158
N-Hydroxy MDA. HCl	223	118	236	168
	256	13.0	287	163
Mecloqualone	249	255	265	375
			273*	325
	287	100	305	150
4-Methylaminorex	313	115	316	120
	244	6.0	253	8.9
	255	8.2	259	10.9
Phendimetrazine tartrate	262	7.6	265	8.2
	238	2.4	251	4.6
	253	4.1	257	5.9
Phemetrazine. HCl	259	4.3	263	4.8
	229	1.5	251	7.2
	253	6.6	257	9.6
	259	7.0	262	7.9

* Shoulder

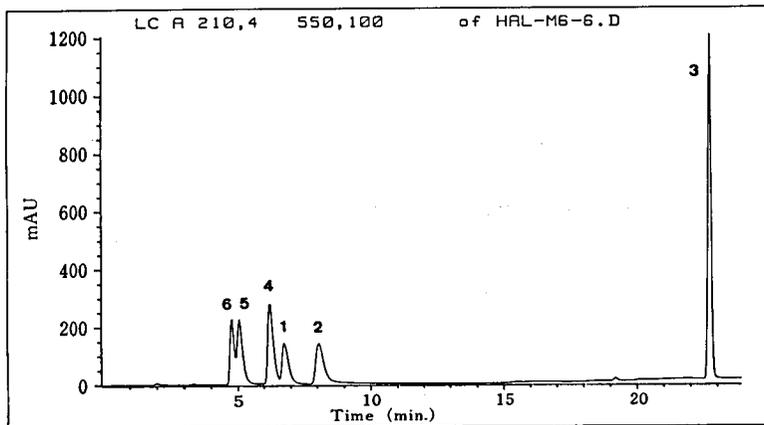


Fig. 2. HPLC chromatogram* of six drugs

1. N-Ethyl MDA, 2. N-Hydroxy MDA, 3. Mecloqualone,
4. 4-Methylaminorex, 5. Phendimetrazine, 6. Phenmetrazine

* Mobile Phase 2)

4.5. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

Fig. 2 のクロマトグラムが示すように、Phenmetrazine, Phendimetrazine, 4-Methylaminorex, N-Ethyl MDA, N-Hydroxy MDA, Mecloqualone の順に溶出し、23 分以内に比較的良好な分離が得られた。Table 4 にそれぞれの保持時間を示す。

4.6. ガスクロマトグラフ-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 5 に示す。

① 遊離塩基

N-Hydroxy MDA 以外は遊離塩基で測定可能である。Methylenedioxyamphetamine 類は、 β 解裂

Table 4. Retention times of six drugs by HPLC

Compound	RT (min)
N-Ethyl MDA	6.77
N-Hydroxy MDA	8.07
Mecloqualone	22.71
4-Methylaminorex	6.23
Phendimetrazine	5.05
Phenmetrazine	4.77

により生成した amine 部分と m/z 135 の芳香環部分が主ピークとなる。Mecloqualone は主な解裂は Cl 基の脱離 (m/z 235) とメチル基の脱離 (m/z 255) であった。4-Methylaminorex の場合は、oxazoline 環の解裂による diamino 部分がベースイオンとなる。Phendimetrazine および Phenmetrazine では、tetrahydrooxazine 環の解裂による amino 部分が主イオンとなる。N-Hydroxy MDA の場合、GC 上で熱分解を受けて還元成績体の MDA と酸化成績体の MDA-2-propanone-2-oxime の2成分を生成することが知られている⁵⁾。したがって、N-Hydroxy MDA は塩基のままでは GC/MS による分析は出来ない。Mecloqualone と Phendimetrazine のマススペクトル (EI) を Fig. 3 に示す。

② TFA 誘導体

N-Ethyl MDA, N-Hydroxy MDA, 4-Methylaminorex, Phenmetrazine の TFA 誘導体のマススペクトル (EI) を Fig. 3 に示す。それらの解裂は N-Hydroxy MDA および 4-Methylaminorex 以外は塩基の解裂様式と同様であった。N-Hydroxy MDA は N と O に 2 つの TFA 基が入り、m/z 387 に親ピークが 19.1% の相対強度比で現れている。4-Methylaminorex では 1 級アミノ基が TFA 化され、親ピークから CF₃ (m/z 203), CF₃CONH (m/z 160) の脱離した主ピークが見られる。これらのスペクトル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。

4.7. 赤外吸収スペクトル (IR)

6種の化合物の KBr 錠剤法による赤外吸収スペクトルを Fig. 4 に示す。相互の異同識別に用いることができる。

4.8. 核磁気共鳴スペクトル (PMR)

6種の化合物のプロトンケミカルシフト (δ ppm) の帰属を Table 6 に示す。MDA 関連化合物の PMR では 5.9 ppm 附近にメチレンチオキシ

Table 5. Retention times and principal peaks of six drugs by GC/MS

Compound	RT (min)	Base peak (m/z)	Principal peaks (relative abundance, %)
N-Ethyl MDA	5.96	72	207 (M ⁺ , 0.1), 44 (30.6), 77 (6.9), 51 (6.1), 135 (4.8), 42 (4.7)
	7.15	168	303 (M ⁺ , 8.6), 162 (60.8), 140 (48.9), 135 (35.9), 77 (25.5), 51 (19.0)
N-Hydroxy MDA	6.28	135	193 (M ⁺ , 69.4), 77 (58.5), 51 (54.2), 146 (45.7), 105 (19.9), 160 (19.4)
	5.69	135	387 (M ⁺ , 19.1), 162 (27.7), 77 (20.1), 69 (19.0), 51 (14.5), 136 (8.7)
Mecloqualone	9.53	235	270 (M ⁺ , 5.2), 236 (16.5), 75 (12.4), 111 (11.7), 76 (11.2), 50 (9.5)
	8.24	70	176 (M ⁺ , 11.9), 43 (66.7), 69 (44.5), 42 (39.1), 77 (19.0), 161 (18.6)
4-Methylaminorex	7.69	203	272 (M ⁺ , 0.5), 160 (60.8), 69 (55.6), 70 (50.0), 117 (40.3), 91 (22.8)
	5.26	57	191 (M ⁺ , 3.9), 42 (83.8), 85 (52.7), 56 (26.4), 77 (11.6), 70 (11.6)
Phendimetrazine	5.08	71	177 (M ⁺ , 5.7), 42 (82.5), 70 (25.5), 77 (18.0)
	5.97	70	273 (M ⁺ , 1.7), 167 (44.7), 98 (26.5), 56 (24.5), 42 (22.3), 69 (21.8)

* 3,4-Methyleneoxyphenyl-2-propanone-2-oxime

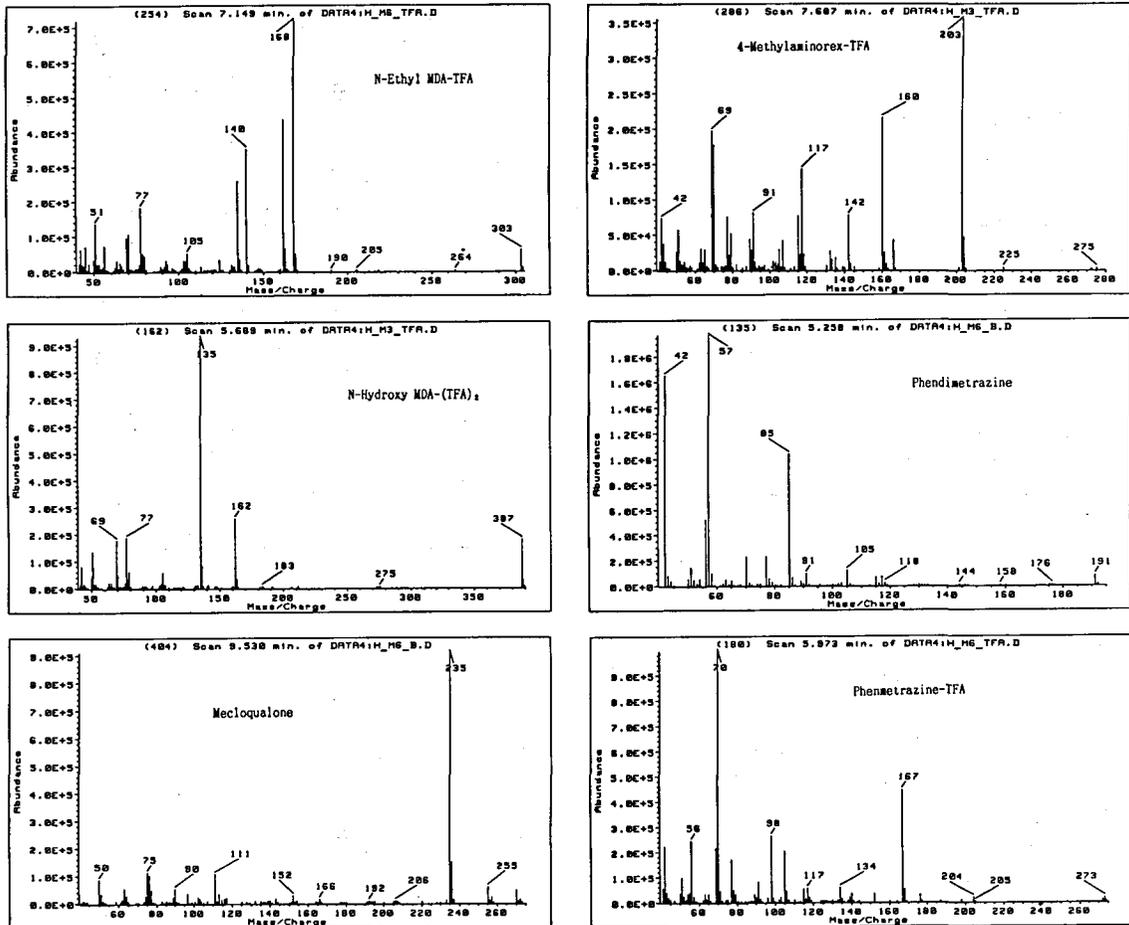


Fig. 3. Mass spectra of six drugs

のメチレン基のシグナルが singlet で見られ、他の amphetamine 類と明確に識別される。4-Methylaminorex では oxazoline 環上のプロトンが doublet (C-1), quintet (C-2) で現れる。Mecloqualone の PMR は aromatic プロトン以外はメチル基のみであるが、1.64 と 2.24 に 2 本の singlet が現れる。これは隣接のベンゼン環の conformer が存在するために 2 種類のメチル基シグナルが現れると考えられる。Phendimetrazine と phenmetrazine はやや複雑なスペクトルを示すが、tetrahydrooxazine 環上のプロトンは特徴があり、C-1 は doublet, C-2 は multiplet, C-4 および C-5 は double triplet を示し、tetrahydrooxazine 環の特徴あるシグナルが現れる。

結 論

本報告は麻薬および向精神薬取締法で新たに規制された N-Ethyl methylenedioxyamphetamine, N-Hydroxy methylenedioxyamphetamine, Mecloqualone, 4-Methylaminorex, Phendimetrazine および Phenmetrazine の標準品の製造に基づき、これら 6 種の化合物の各種分析データを整理した。更に、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 8 報) 興奮剤 Anfepamon, Cathinone, N-Ethylamphetamine, Fene-

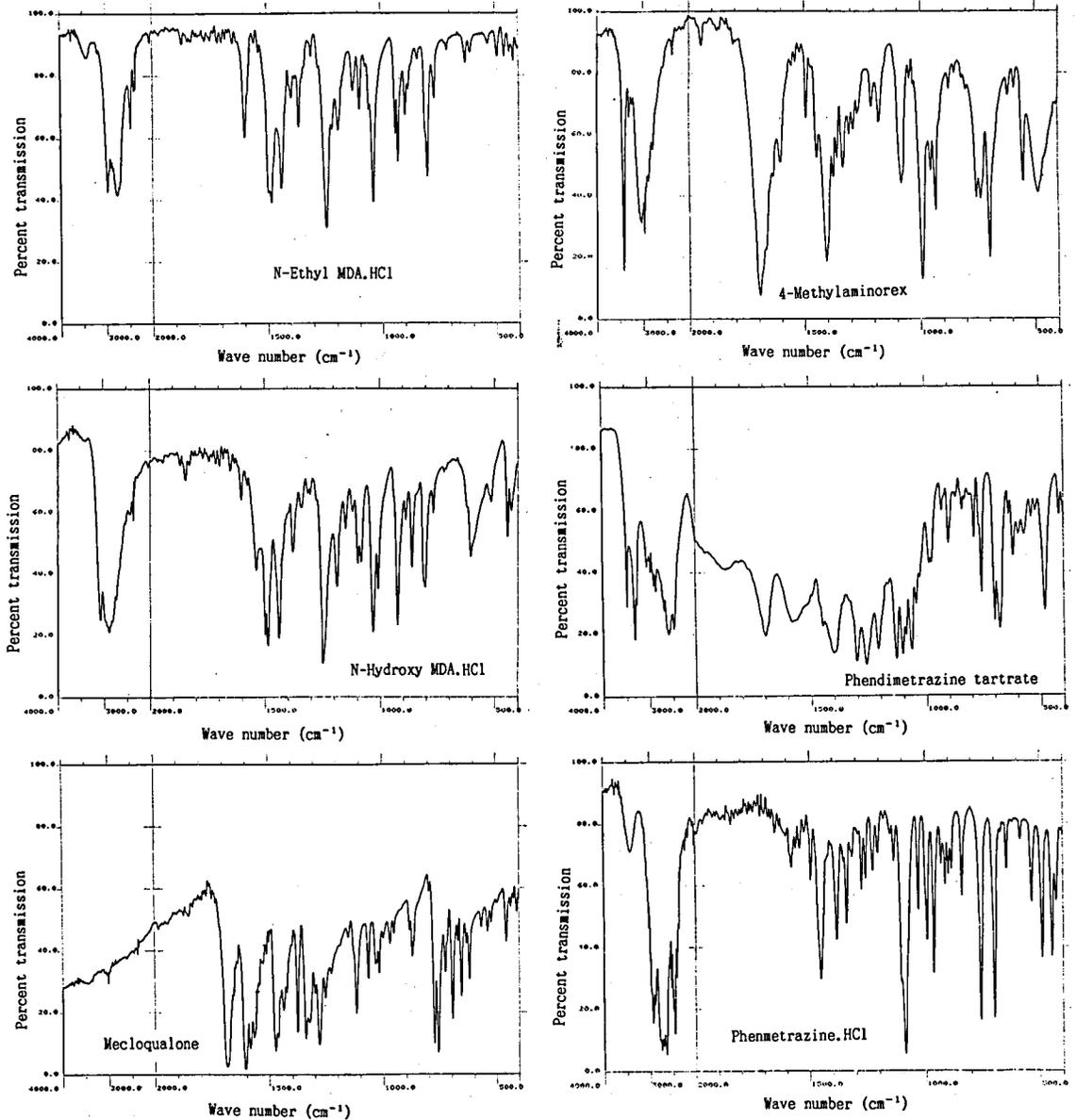


Fig. 4. IR spectra of six drugs

- thylline, Fenproporex および Mefenorex の標準品製造と各種分析データ, 衛生試報, 110, 67~73 (1992)
- 2) Braun, U., Shulgin, A. T. and Braun, G.: Centrally active N-substituted analogs of 3,4-Methylenedioxyphenylisopropylamine (3,4-Methylenedioxyamphetamine), *J. Pharm. Sci.*, 69(2), 192~195 (1980)
 - 3) Grimmel, H. W., Gruenther, A. and Morgan, J. F.: A new synthesis of 4-Quinazolones, *J.*

- Am. Chem. Soc.*, 68, 542~543 (1946)
- 4) Poos, G. I., Carson, J. R., Rosenau, J. D., Roszkowski, A. P. Kelly, N. M. and McGowin, J.: 2-Amino-5-aryl-2-oxazolines. Potent new anorectic agents, *J. Med. Chem.*, 6, 266~272 (1963)
 - 5) Clarke, F. H.: cis and trans-Methyl-2-phenylmorpholine, *J. Org. Chem.*, 29, 3251~3252 (1962)
 - 6) Dal Cason, T. A.: The identification of N-

Table 6. Chemical shifts of six drugs

	C-1	C-2	C-3	NR	-OCH ₂ O-	aromatic
N-Ethyl MDA	2.6	2.84	1.09 (d)	1.07 (t, CH ₃) 2.69 (qa, CH ₂)	5.94 (s)	6.6-6.8
N-Hydroxy MDA	2.55 2.76	3.15	1.09 (d)	?	5.93 (s)	6.6-6.8

4-Methylaminorex

Mecloqualone

	C-1	C-2	CH ₃	NH ₂	aromatic
4-Methylaminorex	5.61 (d)	4.36 (qi)	0.74 (d)	4.66	7.2-7.4
Mecloqualone	—	—	1.64 (s), 2.24 (s)	—	7.2-8.4

	C-1	C-2	NR	C-4	C-5	CH ₃	aromatic
Phendimetrazine	4.08 (d)	2.55 (m)	2.36 (CH ₃)	2.18 2.77	3.93	0.84 (d)	7.2-7.4
Phenmetrazine	4.01 (d)	2.92 (m)	1.63 (NH)	2.86 3.16	3.72 3.99	0.83 (d)	7.2-7.4

s=singlet, d=doublet, t=triplet, qa=quartet, qi=quintet, m=multiplet

Hydroxy MDA, *Microgram*, 20(5), 86~98 (1987)

- 7) Jackman, G. B., Petrow, V. and Stephenson, O.: Some 2, 3-disubstituted 3H-4-Quinazolones and 3H-4-Thioquinazolone, *J. Pharm pharmacol.*, 12, 529~538 (1960)
- 8) "Clarke's Isolation and Identification of Drugs", 2nd ed., The Pharmaceutical Press,

London (1989)

- 9) Inaba, D. and Brewer, L. M.: "U4EUH", *Microgram*, 20(4), 55~61 (1987)
- 10) *USP XXII*, p. 1055
- 11) *USP XXII*, p. 1058

酵素製剤の品質に関する研究（第12報）
—塩化リゾチーム製剤—

横田 橋江・太田美矢子・谷本 剛・早川 堯夫

Studies on the Quality of Enzyme Preparations (XII)
—Lysozyme Preparations—

Isue Yokota, Miyako Ohta, Tsuyoshi Tanimoto and Takao Hayakawa

This paper was described the results of the weight variation test and the assay for the potency of the commercially available lysozyme preparations (samples: 13 kinds of granules, in which 10 kinds are granules (folded)) collected for the legal sampling inspection in 1992.

The potencies of 10 samples were found to be within the range of permissible content, when the all samples extracted with phosphate buffer were determined by the method described in Japanese Standards of Pharmaceutical Ingredients. However, the potencies of 3 samples were not more than 65% of the labeled potencies. These low potency samples showed the potencies of 98~106%, when 0.4M sodium chloride solution or 0.1N hydrochloric acid was used instead of phosphate buffer for enzyme extraction. The weight variation test showed all preparations to be within the permissible JP XII deviation range (10%) for "granules (folded)"

Keywords : lysozyme preparation, quality of enzyme preparation

(Received May 31, 1993)

リゾチームは溶菌活性を示す酵素であり、消炎酵素剤として単味製剤で慢性副鼻腔炎や喀痰喀出困難などに使用されるとともに感冒薬にも広く配合されている。また、歯科領域などの小手術時の止血、点眼剤として慢性結膜炎、外用剤として皮膚潰瘍などにも使用されている。このように塩化リゾチーム製剤は広く臨床使用されており、その品目数も多数にのぼっている。平成4年度の一斉取締試験において、消炎を目的としたリゾチーム製剤のうち顆粒剤についてその品質試験を行う機会を得たので、その結果について報告する。

実験方法

1. 試料・試薬・試液

1) 試料：単味の顆粒剤2検体、感冒薬（顆粒剤）6検体、生薬を配合した感冒薬（顆粒剤）5検体、合計13検体を市販品から入手した。

2) 試薬：*Micrococcus luteus*の乾燥菌体は生化学工業(株)から購入した。リゾチーム標準品は国立衛生試験所標準品を使用した。その他の試薬は市販の特級試薬を使用した。

2. 試液

1) リン酸塩緩衝液：リン酸二水素カリウム 9.08 g を水に溶かして 1000 ml とした液に、リン酸水素二ナトリウム 9.46 g を水に溶かして 1000 ml とした液を加え、pH 6.2 に調整する。

2) *M. luteus* 乾燥菌体の適量を量り、局外規に記載された方法、又は塩化リゾチームの迅速分析法に定められた方法で調製した。

3. 重量偏差試験

日本薬局方一般試験法 24. 重量偏差試験法、顆粒剤（分包）の項に準じて試験した。

4. 力価試験

局外規に記載されている塩化リゾチームの定量法に準じた試験方法¹⁾を統一試験法（方法 A）として試験を実施し、測定結果が含量規格に適合しない場合には承認書の方法（方法 B）にしたがって試験した。また塩化リゾチームの迅速分析法^{2,3)}（方法 C）が薬局局監視指導課から通知されているので、この方法によっても試験した。

1) 試料溶液の調製

統一試験法（方法 A）による試験では、検体を

粉末とし、約 50 mg (力価) に対応する量を精密に量り、リン酸塩緩衝液を加えて正確に 100 ml とし、この液 2 ml を正確に量り、リン酸塩緩衝液を加えて正確に 100 ml とし、更に、この液 2 ml を正確に量り、リン酸塩緩衝液を加えて正確に 50 ml とし、試料溶液とする。

統一試験法 (方法 A) で含量規格に適合しなかった製剤は承認書に記載されている方法にしたがって試料溶液を調製した (方法 B)。

迅速分析法 (方法 C) による試験では、検体を粉末とし、約 25 mg (力価) に対応する量を精密に量り、検体番号 1, 5 および 6 以外はリン酸塩緩衝液に溶かし、検体番号 1 は 0.4 M 塩化ナトリウム溶液に溶かし、検体番号 5 および 6 は 0.1 N 塩酸に溶かし、正確に 100 ml とし、この液 2 ml を正確に量り、リン酸塩緩衝液を加えて正確に 50 ml とし、試料溶液とした。

2) 標準溶液の調製

局外規¹⁾並びに迅速分析法^{2,3)}にしたがって調製した。

3) 操作法

局外規¹⁾並びに迅速分析法^{2,3)}にしたがって操作した。

結果と考察

1. 重量偏差試験

今回試験した塩化リゾチーム製剤のうち分包剤となっている 10 品目について、重量偏差試験を行い、その結果を Table 1 に示した。約 3% の偏差を示した製剤もあったが、多くの製剤でその偏差は約 1% であり、偏差の基準 (10%) を越える検体はなく、日局の規定には全検体とも適合した。また、参考までに分包剤の内容物の重量偏差についても試験したところ、ほとんどの製剤で分包剤の偏差より若干大

Table 1. Results of the weight variation test for Lysozyme preparations

Sample No.	Average weight (mg)	Range of weight (mg)	Range of deviation (%)
Granules(folded)			
1	1.7672	1.7693~1.7513	-0.93~+0.89
4	1.4209	1.4408~1.3892	-2.26~+1.37
6	2.3732	2.3946~2.3463	-1.14~+0.90
7	1.8553	1.8729~1.8398	-0.88~+0.91
8	2.8386	2.8514~2.8255	-0.52~+0.39
9	1.7218	1.7372~1.7080	-0.91~+0.66
10	1.5741	1.5849~1.5662	-0.55~+0.63
11	1.5488	1.5864~1.5184	-2.08~+2.37
12	1.3920	1.4158~1.3561	-2.59~+1.70
13	1.5241	1.5635~1.4786	-2.88~+2.70
Contents of granules(folded)			
(1)	1.2991	1.3199~1.2775	-1.66~+1.60
(4)	1.0119	1.0331~0.9782	-3.33~+2.10
(6)	1.8049	1.8172~1.7844	-1.14~+0.68
(7)	1.2072	1.2234~1.1943	-1.07~+1.34
(8)	1.9790	1.9895~1.9643	-0.72~+0.58
(9)	0.9972	1.0100~0.9864	-1.08~+1.28
(10)	1.2242	1.2315~1.2149	-0.76~+0.60
(11)	0.9997	1.0399~0.9689	-3.08~+4.02
(12)	1.0081	1.0285~0.9644	-4.33~+2.02
(13)	1.0331	1.0648~0.9973	-3.46~+3.42

Table 2. Contents of enzyme activity in Lysozyme preparations

Sample No.	Range of permissible content (%)	Lysozyme contents (%)		
		Method-A	Method-B	Method-C
1	90~110	33.2	98.2	100.2
2	80~120	103.1		100.8
3	90~110	103.4		100.9
4	90~120	101.8		104.0
5	90~120	65.1	105.7	100.7
6	90~120	30.6	104.0	102.6
7	85~115	102.4		102.0
8	85~115	99.6		99.0
9	90~120	105.7		101.1
10	90~110	103.8		101.7
11	90~120	111.2		101.1
12	90~120	113.3		101.4
13	90~120	106.7		101.2

きな偏差を示したが、偏差5%を超える製剤はなかった。

2. 力価試験

力価試験の結果を Table 2 に示した。局外規に準じた統一試験法（方法 A）で各製剤の塩化リゾチーム力価を試験すると、3 検体（検体番号 1, 5, 6）を除いて、いずれも含量規格に適合した。検体番号 1, 5 および 6 は、リゾチームが賦形剤に結合あるいは吸着してリン酸塩緩衝液では十分に抽出されなかったためと考えられ、高塩濃度緩衝液や希塩酸を抽出溶媒とする承認法（方法 B）で試料溶液を調製して試験すると規格に適合する値が得られた。また、簡便で迅速なリゾチーム製剤の定量法として薬務局監視指導課から通知されている試験法、いわゆる迅速分析法（方法 C）で試験したときも、方法 A（検体番号 1, 5 および 6 以外）あるいは方法 B（検体番号 1, 5 および 6）による値とほぼ同様の結

果が得られた。

結 論

内用塩化リゾチーム製剤のうち顆粒剤について、その品質を重量偏差試験および定量試験（力価試験）の二点で試験したが、この二つの試験においては、いずれの製剤もその品質はよく管理されており、特に問題はなかった。

文 献

- 1) 日本薬局方外医薬品成分規格, 厚生省薬務局審査課監修, 139 (1991)
- 2) 厚生省薬務局監視指導課, 薬監第 49 号, 平成 4 年 9 月 24 日
- 3) 谷本 剛, 横田 椅江: 医薬品の迅速分析法, 塩化リゾチームおよびその製剤. 月刊薬事, 印刷中 (1993)

眼障害関連多糖の推定構造と 4-O-メチルアルドヒオウロン酸および
その部分アセチル化物の生理作用

矢上 健・佐藤道夫・川崎 靖

高田幸一・斉藤 実・中村晃忠

Estimated Structure of the Polysaccharide Related Eye Lesions,
and Biological Actions of 4-O-Methylaldobiouronic Acid and
its Partially Acetylated Derivative

Takeshi Yagami, Michio Sato, Yasushi Kawasaki,
Kouichi Takada, Minoru Saito and Akitada Nakamura

From November 1981 to March 1982, an outbreak of scleritis and/or iritis occurred among patients treated with a special series of hemodialyzers. Several works demonstrated that acetylated carbohydrate derivatives derived from hemicellulose played a primary role in the outbreak and that uronic acid residues were present in the carbohydrate derivatives.

Based on these previous findings, we tried to clarify the structure of the polysaccharide causing eye lesions. Application of anion-exchange chromatography enabled us to isolate an acidic polysaccharide from the dialyzer extracts. We found that xylose (Xyl) and 4-O-methylglucuronic acid (4-O-Me-GlcA) were contained in the ratio of ca. 7 : 1 by gas chromatography (GC). The ^{13}C -NMR spectrum of the polysaccharide was similar to 4-O-methylglucuronoxylan. From these experimental results, we estimated that the structure of the acidic polysaccharide was partly equivalent to xylans existing in the wood of gymnosperms.

Then we directed our attention to the 4-O-Me-GlcA moiety. In order to evaluate the biological actions of this part structure, we prepared two kinds of related disaccharides; 4-O-methylaldobiouronic acid (4-O-Me-GlcA-Xyl) and partially acetylated 4-O-methylaldobiouronic acid (Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl). These disaccharides were examined with rabbits, but no significant biological actions occurred.

Keywords : hemodialyzer, eye lesion, 4-O-methylglucuronic acid, 4-O-methylglucuronoxylan, 4-O-methylaldobiouronic acid

(Received May 31, 1993)

緒 言

昭和56年12月から57年3月にかけて、透析患者173名に目の発赤、疼痛を主症状とする眼障害が発生した。複数のグループによる原因究明の結果、血液透析器のセルロースアセテート中空糸に含まれていたアセチル化糖質が主原因物質であると推定されるに至った¹⁻³⁾。一連の研究成果は、当該製品の改良や以後の透析器の承認審査に反映され、日本で同種の事故は再発していない。

その後、瓜生らは ^{13}C -NMRを用いて原因物質の構造解析を行い、部分アセチル化キシランあるい

は部分アセチル化セルロースが眼障害を引き起こす物質であると報告している⁴⁾。

著者らは、原因多糖の構造を更に明らかにすることを目的に研究を開始した。まず、以前の研究¹⁾でウロン酸部分構造の存在が示唆されていることに注目し、陰イオン交換クロマトグラフィーによる原因多糖の精製を試みた。次に、精製した多糖を酸加水分解後誘導体化し、これをガスクロマトグラフィー(GC)で分析することにより構成単糖の解析を行った。更に、各種スペクトルデータと構成単糖の解析結果とを組み合わせ、原因多糖の構造を推定した。

構造解析に引き続き、原因多糖の推定構造中で特

微的なウロン酸側鎖部分に着目し、これを含む二糖とその部分アセチル化物を調製した。そして、これら2種の二糖の生理作用をウサギを用いた実験で検討し、原因多糖との関連を考察した。

試薬・装置

larch wood xylanはAldrich社から購入した。SephadexはPharmacia社より、DowexはBio-Rad社より購入した。

GCはHewlett-Packard 5890Aと3396Aデータ処理装置を組み合わせて行った。NMRはVarian Gemini-300で測定した。IRはJEOL JIR-3510で、Liquid Secondary Ion MS (LSIMS)はVG ZAB-2SEQで測定した。

実験と結果

1. 多糖試料

以前の報告¹⁾にしたがって、40%エタノールで事故透析器を抽出し、更にエタノールで処理してエタノール可溶フラクションを得た。このフラクション50 mlに0.01 M 酢酸アンモニウム (AcONH₄)を加えてpH 8に調整した。これをDowex 1-X2 (acetate form) カラム(2.2×22 cm)に適用し、0.01 M AcONH₄ 250 mlで洗浄後、0.5 M AcONH₄ 350 mlで溶出した。50 mlずつ分画して各フラクションの糖含量をフェノール-硫酸法⁹⁾で測定し、メインピークに相当するフラクションを集めて凍結乾燥した。得られた固体を適当量の水に溶解し、Sephadex G-25 カラム (2.6×60 cm) を用いて脱塩した。糖を含むフラクションを集めて凍結乾燥し、白色パウダー状の多糖試料を得た。精製した多糖試料のIRスペクトル (Fig. 1) は、以前に分離され

生理活性が確認されている物質のスペクトル¹⁾によく似ており、アセチル基やカルボキシル基の吸収が見られた。また、Sephadex G-25を用いたゲルろ過でvoid volumeに溶出したことから、分子量はかなり大きいと推測された。

2. 多糖分子中に存在するカルボキシル基の還元

多糖分子中に存在するカルボキシル基を、Taylorらの方法⁶⁾にしたがって還元した。まず、15 mgの多糖試料を5 mlの水に溶解した後、0.1 N 塩酸 (HCl) でpH 5に調整し、42 mgのwater soluble carbodiimideを加えて室温で2時間反応させた。この反応液に3 M水素化ホウ素ナトリウム (NaBH₄) 5 mlを加えた後、4 N HClでpH 7として沈殿を生じさせ、ろ過して凍結乾燥した。得られた固体をSephadex G-25 カラムに適用して脱塩し、13 mgの還元多糖試料を得た。カルボキシル基が還元されたことは、¹³C-NMRとIRで確認できた。

3. 多糖を構成する中性単糖の検出

中性単糖は、試料を2 M trifluoroacetic acid (TFA) 中100°Cで2時間加水分解した後Lehrfeldの方法⁷⁾にしたがってaldononitrile acetateへ誘導し、GCで検出した。この方法では、遊離した中性単糖のみが検出される。多糖試料を分析した結果、キシロース (Xyl) のみが検出された。また、還元多糖試料を分析した結果、Xylと4-O-methylglucose (4-O-Me-Glc) が6.7:1の比で検出された。

4. 多糖を構成するウロン酸の検出

ウロン酸の分析には、試料を2M TFAで加水分解後alditol acetateへ誘導しGCで検出する方法⁷⁾を用いた。この方法を用いた場合、遊離したウロン酸は相当する中性単糖に変換されるので、中性単糖のみを検出する方法の結果と比較することによりウ

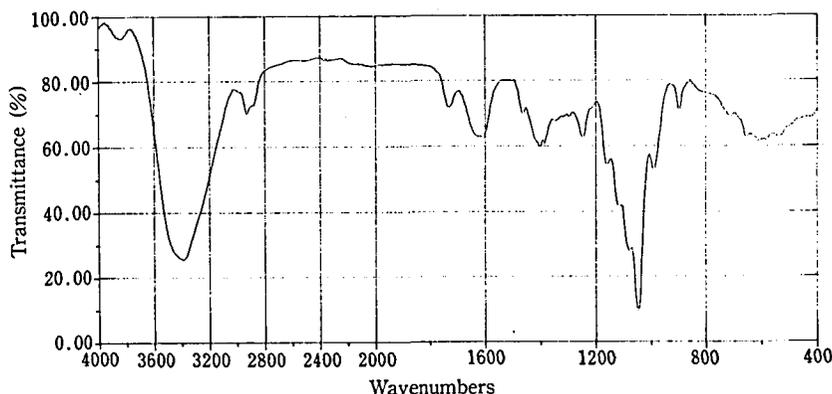


Fig. 1. The IR spectrum of the polysaccharide (KBr tablet)

ロン酸の分析を行うことができる。多糖試料を分析した結果、Xylのみが検出された。しかし、この方法では、単糖単位にまで分解されていないウロン酸類は検出できない。そこで、還元多糖試料を分析したところ、Xylと4-O-Me-Glcが7.2:1の比で検出された。中性単糖の分析結果との比較から、4-O-methylglucuronic acid (4-O-Me-GlcA)が2M TFAでは加水分解できないような結合状態で多糖試料中に存在していることがわかった。

5. ウロン酸の結合

一般に、ウロン酸残基のアノマー位の結合は酸加水分解されにくく、通常の条件でウロン酸は aldobiouronic acid として遊離することが知られている。よって、多糖試料中に存在する4-O-Me-GlcAがアノマー位で結合していると仮定すると、ここまでの実験結果を説明することができる。また、ウロン酸残基のカルボキシル基を methyl ester に誘導すると、アノマー位の結合は酸加水分解を受けようになることも知られている。この性質を利用した Maekawa らの分析法⁸⁾を基にして実験を行い、ウロン酸の結合状態を確認した。まず、多糖試料を5%塩化水素/メタノールで80℃、2時間処理し、ウロン酸残基を methyl glycoside methyl ester として遊離させると同時に、そのほかの構成糖も methyl glycoside として遊離させた。次に、NaBH₄で20時間処理した。ここでウロン酸誘導体は、methyl

ester部分が還元されて相当する中性単糖の methyl glycoside に変換されるはずである。続いて、2M TFA 処理で methyl glycoside 部分を加水分解した後、alditol acetate へ誘導してGCで分析した。その結果、Xylと4-O-Me-Glcが7.4:1の比で検出された。この実験から、多糖試料中に存在する4-O-Me-GlcAはアノマー位で結合していることが明らかになった。

以上の糖分析の結果を Table 1 にまとめて示す。Xylと4-O-Me-Glcの比はどの分析法でも約7:1とよい一致を示した。

6. 多糖試料の¹³C-NMR

多糖試料の¹³C-NMRスペクトル (Fig. 2) は、瓜生らが分離した生理活性物質のスペクトル⁹⁾に酷似していた。糖分析の結果から多糖試料はXylのポリマーであることが予想されたので、各種キシラン系糖質のスペクトルと比較したところ、4-O-methylglucuronoxylanのスペクトル⁹⁾に一致する点が多いことがわかった。キシラン主鎖に由来すると考えられるC-1位の吸収が102 ppmより低磁場側に、C-5位の吸収が63 ppmより低磁場側にあることから、主鎖はβ(1→4)結合で連なっていると推測した¹⁰⁾。また、4-O-Me-GlcAの存在を示すメチルエーテル炭素の吸収やカルボキシル炭素の吸収が見られた。4-O-Me-GlcAのC'-1位の吸収とXyl主鎖のC-1位の吸収の強度比は約1:6であり、

Table 1. Sugar composition of the polysaccharides

Sample	Derivative	Molar ratio	
		Xyl ^{a)}	4-O-Me-Glc ^{b)}
acidic	aldonitrile acetate	1	-
	alditol acetate	1	-
polysaccharide	methyl glycoside ↓		
	alditol acetate	7.4	1
reduced polysaccharide	aldonitrile acetate	6.7	1
	alditol acetate	7.2	1

a) Xyl:xylose

b) 4-O-Me-Glc;4-O-methylglucose

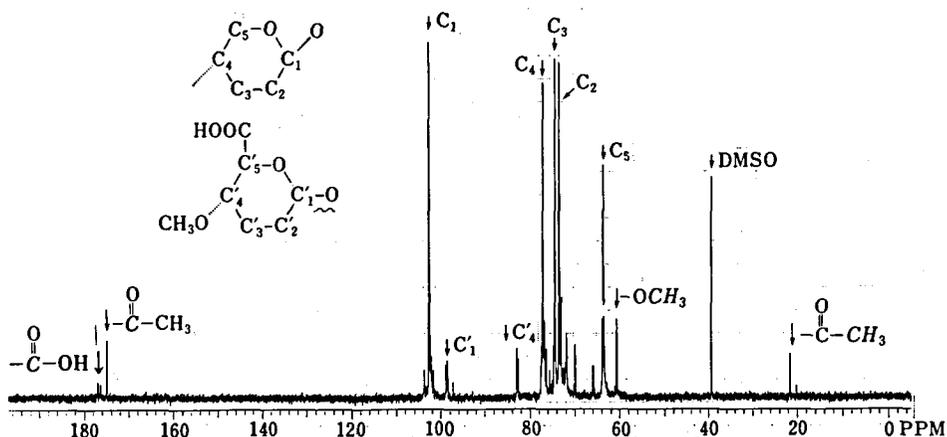
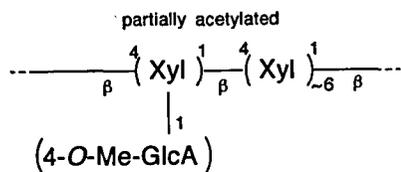


Fig. 2. The ^{13}C -NMR spectrum of the polysaccharide in D_2O Dimethylsulfoxide (DMSO) was added as a internal standard.

糖分析の結果に近かった。更に、アセチル基の存在を示す吸収が21 ppm 付近と177 ppm 付近に見られた。

糖分析の結果と ^{13}C -NMRやそのほかのスペクトルデータの結果とを組み合わせ、推測した多糖試料の構造をFig. 3に示す。4-O-Me-GlcAが主鎖のどの位置にどの方向から結合しているのかを、明確にすることはできなかった。



Xyl:xylose 4-O-Me-GlcA:4-O-methylglucuronic acid

Fig. 3. Estimated structure of the acidic polysaccharide

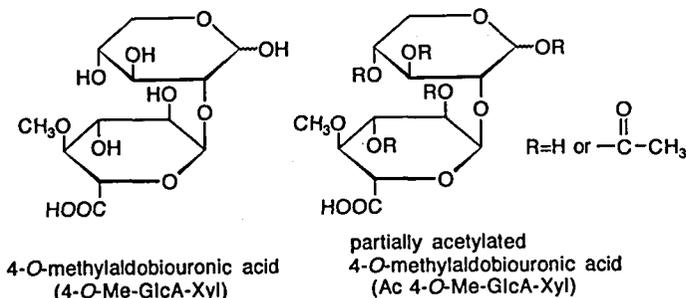


Fig. 4. Structure of the investigated disaccharides

7. 4-O-methylaldobiouronic acid (4-O-Me-GlcA-Xyl) と partially acetylated 4-O-methylaldobiouronic acid (Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl) の調製

多糖試料の推定構造中で特徴的な4-O-Me-GlcA側鎖部分に着目し、Fig. 4に示す2種の二糖の調製を試みた。

4-O-Me-GlcA-Xylは、ウロン酸のアノマー位の結合が弱酸で加水分解されないことを利用し、市販されている天然の4-O-methylglucuronoxylanを弱酸で処理して得た。まず、larch wood xylan (Xyl:4-O-Me-GlcA=13:1) 2.0 gを2M TFA 100 mlに懸濁し、100℃で2時間加水分解した。不溶物をろ過して溶媒を留去した後、Dowex 1-X2カラムに適用し、水300 ml、ついで10%酢酸200 mlで洗浄した。次に、30%酢酸を溶出液として10 mlずつ分画し、各フラクションの糖含量を測定し

た。メインピークに相当するフラクションを集めて凍結乾燥した後、Sephadex G-10 カラム (2.6×30 cm) を用いて精製した。このようにして得られたシロップ状の精製物を、氷冷下エーテル中で処理し、93 mg の白色アモルファスを得た。この物質の構造は ^{13}C -NMR, IR, LSIMS, メタノリシス後の GC で確認した。

部分アセチル化 4-O-Me-GlcA-Xyl は 4-O-Me-GlcA-Xyl から誘導した。245 mg の 4-O-Me-GlcA-Xyl を 1.0 ml のピリジンに溶かし、無水酢酸 203 μl を加えて 80°C で 2 時間反応させた。冷却後エーテル-ヘキサン混合溶媒を加え、生成した沈澱を少量の水に溶かし、Sephadex G-10 カラムに適用して水で溶出した。5 ml ずつ分画して各フラクションの糖含量を測定し、メインピークに相当するフラクションを集めて凍結乾燥した。このようにして得られたシロップ状の精製物を、氷冷下エーテル-ヘキサン混合溶媒中で処理し、223 mg の白色アモルファスを得た。この物質の構造は ^{13}C -NMR, IR, LSIMS, メタノリシス後の GC で確認した。また、 ^1H -NMR の積分値 (OCH_3 : OCOCH_3 の値) より、1 分子中に約 2 個のアセチル基が存在することがわかった。

8. 4-O-Me-GlcA-Xyl および Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl の生理作用

調製した 4-O-Me-GlcA-Xyl および Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl の生理作用は、前報¹⁾と同様にウサギを用いて調べた。4-O-Me-GlcA-Xyl 100 mg, Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl 200 mg をそれぞれ生理食塩水 30 ml に溶解し、生理食塩水のみコントロールとともに体重 2.8 kg 前後のウサギの耳静脈に点滴静注した。投与直後から 24 時間後までウサギの目の症状を観察し、また経時的に採血して生化学検査、血球数検査を行った。

目の症状観察は瞬膜充血、眼瞼結膜充血、眼球結膜充血、虹彩周囲の血管拡張、虹彩放射動脈血管拡張などについて行ったが、どちらの物質を投与したウサギにもこのような症状は出現しなかった。また、血球数検査、生化学検査においてもコントロールと異なる目立った変化は見られなかった。血球数検査の一部を Table 2 に示す。

考 察

1. 原因物質の分離精製について

今回の研究では、以前の研究¹⁾を基に、原因物質はウロン酸残基を含む多糖であるという前提にたって分離精製を進めた。生理活性を指標として分離を

Table 2. Serum hematology data for rabbits treated with disaccharides

Item	Sample	Time (min)				
		0	10	30	60	180
Erythrocyte ($\times 10^{12}/\text{l}$)	4-O-Me-GlcA-Xyl ^{a)}	6.46	6.21	6.19	6.27	6.02
	Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl ^{b)}	6.59	5.84	6.06	5.99	5.70
	Control	6.73	6.15	6.24	6.21	6.22
Leukocyte ($\times 10^9/\text{l}$)	4-O-Me-GlcA-Xyl	7.10	5.70	6.00	6.10	5.70
	Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl	7.90	6.80	7.00	8.40	10.50
	Control	9.10	7.30	7.30	8.00	10.20
Platelet ($\times 10^{12}/\text{l}$)	4-O-Me-GlcA-Xyl	0.51	0.46	0.46	0.47	0.48
	Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl	0.44	0.37	0.40	0.38	0.39
	Control	0.53	0.46	0.45	0.47	0.45

a) 4-O-Me-GlcA-Xyl; 4-O-methylaldobiouronic acid

b) Ac 4-O-Me-GlcA-Xyl; partially acetylated 4-O-methylaldobiouronic acid

進める方法をとらなかったため、精製物が即原因物質であるとは言えない。また、動物実験を行うのに十分な量の最終精製物が得られなかったため、精製した多糖で生理活性テストを行うことはできなかった。

しかし、精製した多糖のIRスペクトルが以前に分離され赤眼症候群を引き起こすことが確認されている物質のスペクトル¹⁾によく似ていることや、¹³C-NMRスペクトルが瓜生らが分離した原因物質のスペクトル²⁾に酷似していることなどから、今回精製した多糖が原因物質である可能性は高いといえる。

2. 多糖の推定構造について

推定した多糖の構造は、部分的にアセチル化されていることとアラビノフラノースが含まれていないことを除けば、針葉樹キシラン (arabinoglucuronoxylan) の構造によく似ている。木材パルプ中に含まれていた針葉樹キシランの変化体が原因物質であるという推測は、事故製品では中空糸の原料であるセルロースアセテートに木材パルプ由来のものが使用されていた、という事実³⁾にも合致する。また、針葉樹キシラン中のアラビノフラノース残基はきわめて穏和な条件でも容易に加水分解を受けることや、セルロースアセテートの製造過程に酢化工程があることも、推定構造を裏付けするものといえる。更に、原因物質が水溶性の針葉樹キシラン変化体であるとすると、水でよく洗浄した透析器を使用した場合には事故の発生頻度が小さかったという調査結果⁴⁾を合理的に説明することができる。

3. 4-O-Me-GlcAを含む二糖類の生理作用について

原因多糖の推定構造中で特徴的なウロン酸部分に

着目して調製した二糖類は、目立った生理作用を示さなかった。よって、この部分構造の作用だけでは眼障害は引き起こされないと結論することができる。この実験事実は、生理活性を示すためにはある程度の分子量であることが必要である、と考えれば説明することが可能である。しかし、原因多糖中に非常に高い活性を持つ部分構造がわずかに含まれている可能性も否定できない。また、多糖の構造ではなく、血液中での物性 (溶解性、粘度など) が眼障害を引き起こす原因であるとする考えも一概に否定することはできない。

文 献

- 1) 大場琢磨, 戸部満寿夫: 衛生試報, 102, 1 (1984)
- 2) Oba, T., Tsuji, K., Nakamura, A., Shintani, H., Mizumachi, S., Kikuchi, H., Kaniwa, M., Kojima, S., Kanohta, K., Kawasaki, Y., Furuya, T., Matsumoto, K. and Tobe, M.: *Artif. Organs*, 8, 429 (1984)
- 3) 大場琢磨, 中村晃忠: 臨牀透析, 2, 675 (1986)
- 4) 瓜生敏行, 吉田 孝, 中林宣男, 越川昭三: 生産研究, 37, 30 (1985)
- 5) Kushwaha, S. C. and Kates, M.: *Lipids*, 16, 372 (1981)
- 6) Taylor, R. L. and Conrad, H. E.: *Biochemistry*, 11, 1383 (1972)
- 7) Lehrfeld, J.: *Anal. Biochem.*, 115, 410 (1981)
- 8) Maekawa, E. and Koshijima, T.: *Mokuzai Gakkaishi*, 34, 359 (1988)
- 9) 東 順一, 越島哲夫: 木材研究・資料, 17, 132 (1983)
- 10) Kovac, P. and Hirsch, J.: *Carbohydr. Res.*, 85, 177 (1980)

ラテックス製ゴム手袋から溶出する蛋白質の比色定量

矢上 健・佐藤道夫・中村晃忠

Colorimetric Determination of the Total Protein Eluted from Latex Gloves

Takeshi Yagami, Michio Sato and Akitada Nakamura

Recently type I hypersensitivity reactions caused by latex gloves have been reported. The protein from latex gloves is considered to be responsible for this allergy.

We investigated the extraction conditions and the assay methods for the purpose of the colorimetric determination of the total protein eluted from latex gloves. In a series of experiments, it was demonstrated that elution of the protein was very rapid, and changes of the extraction buffer volume (1.7~20 ml/g) had no appreciable effect on the extraction efficiency. Moreover, comparison experiments of the four assay methods revealed that Ninhydrin method was significantly interfered by low molecular weight substances other than protein and that Bradford method suffered from the poor reproducibility. On the other hand, Lowry method and Bicinchoninic acid (BCA) method gave relatively good results.

Based on these experimental results, we established a typical procedure for quantitative analysis of the total protein as follows. Two grams of latex gloves specimens are extracted with 10 ml portions of phosphate buffered saline pH 7.4 (PBS) at room temperature for two hours, and then the resulting solution is assayed by BCA method. According to this procedure, commercially available ten kinds of latex gloves were analyzed. We found that the amount of the extractable protein was considerably varied with the products.

Keywords : latex gloves, total protein, colorimetric determination, BCA method

(Received May 31, 1993)

緒 言

近年、ラテックス製ゴム手袋によるI型アレルギーが問題になっている¹⁾。よく知られているIV型アレルギーとは異なり、接触後5~20分ぐらいで症状が発生し、しばしばアナフィラキシーなどの全身反応を引き起こす。死亡例の報告さえある。原因物質はラテックス製品から溶出する水溶性蛋白質あるいはそれらの変化体であると考えられているが、同定されるには至っていない^{2,3)}。

このような状況下で、I型アレルギーの発生を未然に防ぐためにメーカーサイドがとることのできる対策は、まず第一に、溶出する蛋白質の量ができるだけ少ない製品を作ることであろう。しかし、実際の製品を評価する上で必要な、蛋白質の適正な抽出方法や簡単に感度が良くしかも夾雑物の影響が少ない蛋白質の定量方法は、ほとんど検討されていない。

Beezholdは、ammoniated latexから蛋白質を

抽出し、この蛋白質でウサギを免疫して抗体を得、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で製品から溶出する蛋白質の定量を試みている⁴⁾。この方法を用いると、微量蛋白質の定量が可能となるが、抗体作成時に用いる蛋白質が異なると定量値が変わってしまう可能性がある。更に、実際の製品には様々な起源のラテックスが使用されており、組成が一様でないと考えられる蛋白質の定量にELISA法が広く適用できるかどうか疑問が残る。

著者らは、比較的簡単に行うことのできる比色法を使用して製品から溶出する蛋白質を定量することを目的とし、抽出法、定量法などについて検討した。まず、Leynadierらが抽出温度の影響は少ないと報告⁵⁾していることをふまえて一連の抽出は室温で行うこととし、抽出時間、抽出濃度について調べた。次に、Lowry法⁶⁾、Bicinchoninic acid (BCA)法⁷⁾、Ninhydrin法⁸⁾、Bradford法⁹⁾の4つの代表的な定量法を取上げ、夾雑する低分子物質の発色に

対する影響について調べ、適切な試験方法・条件を選択した。最後に、この方法の市販製品への適用を試みた。

実験方法

1. 試料

実験に用いたラテックス製ゴム手袋は、Table 1 に示すとおりである。No. 1~9は手術用ディスポーザブル手袋で滅菌処理が施されている。No. 10は家庭用手袋で、滅菌処理は施されていない。

2. 試薬・装置

Spectra/Por 3 チューブは Spectrum 社より、Sephadex G-25は Pharmacia 社より購入したものを使用した。その他の試薬類は市販の特級品を用いた。吸光度は島津紫外可視分光光度計 UV-160A で測定した。

3. 蛋白質の抽出

ゴム手袋を約 1 cm 角に切断し、一定質量をポリプロピレン製チューブに入れ、phosphate buffered saline pH 7.4 (PBS) 10 ml を加えた。振とう機を用いて一定時間激しく振とうした後ゴム片を取り除き、残液を 3000 rpm で 10 分間遠心して上澄みを試験液とした。

4. 蛋白質の定量

ラテックス由来の蛋白質の中には hevein などトリクロロ酢酸 (TCA) 処理¹⁰⁾ で沈殿しないものもあると報告¹¹⁾ されていることから、TCA 処理は行わず、試験液をそのまま比色定量に用いた。

① Lowry 法：Lowry らの原報⁹⁾ に基づいて行った。フェノール試液はナカライテスク社製のものを 1 N に希釈して用いた。

② BCA 法：Pierce 社製の BCA Protein Assay Reagent を使い、Enhanced Protocol にしたがって行った。

③ Ninhydrin 法：McGrath らの方法⁸⁾ に基づいて行った。試験液の前処理は行わず、水酸化バリウムを用いて加水分解した。

④ Bradford 法：Bio-Rad 社製の Bio-Rad Protein Assay Kit II を使い、Microassay Procedure にしたがって行った。

5. 透析

12 ml の試験液を Spectra/Por 3 チューブ (分画分子量 3500) に入れ、2.5 l の PBS に対して室温で穏やかに攪拌しながら透析した。透析液は、24 時間ごとに新しい PBS と交換した。一定時間経過

後、試験液の一部を採り定量用とした。

6. ゲルろ過

5 ml の試験液を Sephadex G-25 カラム (2.6 × 60 cm) に適用した。PBS を溶出液として 10 ml ずつ分画し、280 nm の紫外吸収を測定した。void volume に相当するピーク画分を集めて凍結乾燥し、適当量の水を加えて定量用とした。

結果および考察

1. 抽出時間の検討

試料 No. 10 と BCA 法を用いて、抽出時間により蛋白質の溶出量がどの程度変化するか調べた結果を Fig. 1 に示す。抽出時間を延長しても吸光度の著しい変化は見られなかった。ほかの試料や定量法を用いて行った実験でも同様の傾向が示されたが、Bradford 法を用いたときは測定値 (吸光度) のばらつきが大きかった。定量の迅速さや手袋の現実的な着用時間を考え合わせ、2 時間程度の抽出時間が適当であると判断した。

2. 抽出濃度の検討

10 ml の PBS に対して 0.5~6.0 g のゴム片を加えて 2 時間抽出した試験液を調整し、抽出効率の検討を行った。その結果、この範囲の抽出濃度では、抽出効率の著しい変化がないことがすべての定量法を用いた場合において示された。しかし、4 g/10 ml 以上の抽出濃度では測定値のばらつきが大きくなる傾向が見られた。ゴム片の混ざり具合などから 2 g/10 ml 程度の抽出濃度が適当であると判断し

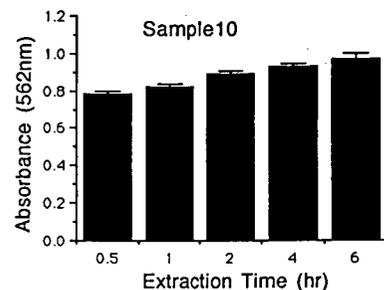


Fig. 1. Effect of the time required for extraction of latex protein

Two grams of latex gloves fragments were extracted with 10 ml portions of PBS for the indicated periods and the resulting solution was assayed by BCA method.

These data represent the mean \pm S.D. of 3 experiments.

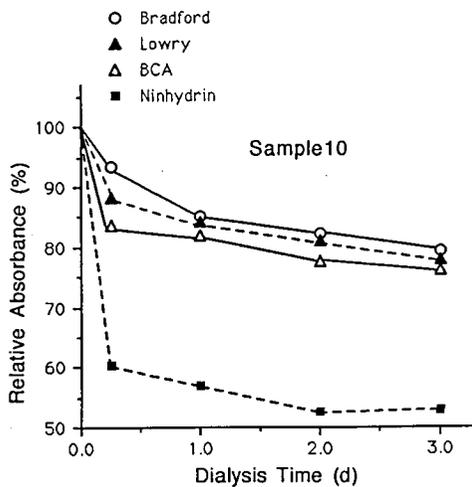


Fig. 2. Decrease in absorbance with respect to dialysis time

These data represent the mean of 3 experiments. The average protein amount estimated as μg of bovine serum albumin/ml of sample solution after dialysis for 3 days with each colorimetric method was as follows.

Lowry : 207 ± 11 , BCA : 199 ± 7 , Ninhydrin : 195 ± 5 , Bradford : 31 ± 3

た。また、ここでも Bradford 法を用いた測定結果は全体的にばらつきが大きかった。

3. 低分子物質の影響

ラテックスゴム製品中には原料由来の天然物や製造過程で加えられる添加剤など、定量を妨害する多量の物質が存在すると考えられる。特に低分子物質はその溶出性や反応性などから、測定に大きな影響を与える恐れがある。そこで、試験液中に存在する低分子物質の各定量法に対する影響について検討した。

試料 No. 10 の試験液を透析する前後での、各定量法における吸光度変化の割合を Fig. 2 に示す。Ninhydrin 法では透析時間にもなまって吸光度が大きく減少し、低分子物質が発色に強い影響を与えていることがわかった。3 日間透析を行った試験液の蛋白質量を、Tomazic ら¹²⁾ がラテックス蛋白質の定量に用いた bovine serum albumin (BSA) を標準蛋白質として各定量法で求めたところ、Bradford 法を用いた場合には異常に低い値が示されたが、そのほかの方法ではほぼ同じ値になった。Bovine

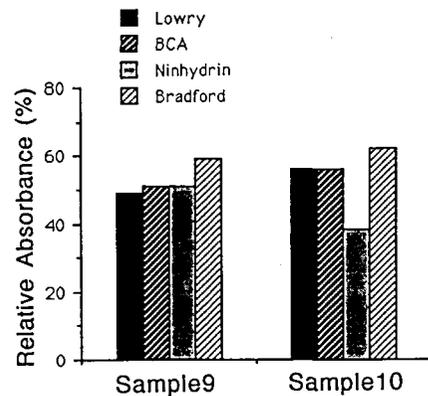


Fig. 3. Decrease in absorbance after gel-filtration

The protein amounts estimated as μg of bovine serum albumin/ml of gel-filtered sample solutions with each colorimetric method were as follows.

Sample 9 ; Lowry : 56, BCA : 73, Ninhydrin : 77, Bradford : 11

Sample 10 ; Lowry : 138, BCA : 137, Ninhydrin : 158, Bradford : 21

gamma globulin を標準蛋白質とした Alenius らの実験¹³⁾ においても、Bradford 法について同様の傾向が示されている。

次に、ゲルろ過を行う前後での、各定量法における吸光度変化の割合を Fig. 3 に示す。Fig. 3 から、試料 No. 10 の場合には、Ninhydrin 法は他法に比べて吸光度変化の割合が大きいたことがわかる。また、ゲルろ過後の各試験液の蛋白質量を各定量法で求めたところ、ここでも Bradford 法を用いた場合に異常に低い値が示された。

以上の実験結果から、Ninhydrin 法では試験液中の低分子物質が反応して過剰な値を与える可能性があるかと判断した。また、サンプルによって吸光度変化の割合が異なっていることから、製品ごとに溶出する低分子物質の質あるいは量はかなり異なっているのではないかと推測した。鹿庭らの分析¹⁴⁾ によれば、手袋中のジチオカーバメート系加硫促進剤やその分解物であるアミン類の種類と量は手袋のブランドによって著しく異なっており、おそらくこの差が反映したものと推量している。更に、Bradford 法で求めた蛋白質量の異常な少なさや測定吸光度の大きなばらつきは、標準蛋白質に比べてラテックス蛋白質の発色率が非常に小さいためか、あるいは、

Table 1. Analytical results of the total protein eluted from some commercially available latex gloves

No.	Maker	Brand name	Protein quantity ^{a)}	
			(ug/g) ^{b)}	(mg/glove) ^{c)}
1.	日本シャーウッド	アーガイルサージカルグローブ	125±5	1.39
2.	ジェイ・エム・エス	JMS 手術用ゴム手袋	234±9	2.94
3.	三興化学	サンコー直指手術用ゴム手袋	116±5	1.42
4.	三興化学	サンコーソフト手術用ゴム手袋	143±19	1.75
5.	Medigloves	SURGICAL LATEX GLOVES	73±5	0.72
6.	HPI	Sensi Grip Surgical Gloves	96±5	1.05
7.	不二ラテックス	手術用手袋レンジラップ-N	144±15	1.50
8.	東レ・メディカル	東レ手術用手袋センシタッチ	240±9	2.61
9.	Baxter	Triflex	548±12	4.99
10.	スミスラバーインダストリーズ	DUNLOP 家庭用ゴム手袋	1380±30	11.2

a) Bovine serum albumin (BSA) was used as a standard protein.

b) (ug eluted protein)/(g gloves), Mean±S.D. (n=3)

c) Calculated from the average glove weight.

共存物質によってなんらかの妨害作用を受ける結果であると考えた。

一連の実験を通し、低分子夾雑物の影響について Lowry 法と BCA 法は同様の結果を与えたが、操作性や感度の点で BCA 法が優れていた。また、BCA 法 (Enhanced Protocol) は Lowry 法よりも妨害物の影響を受けにくく protein-to-protein variation も小さいと報告⁷⁾されている点からも、実際の定量には BCA 法を用いる方が適当であると判断した。

4. 市販製品から溶出する蛋白質の定量

ここまでの実験結果を考慮し、「10 ml の PBS に対して 2 g のゴム片を加えて室温で 2 時間抽出した試験液を調製し、BCA 法で定量する」という試験方法を設定した。この方法を用い、10 種類の市販ゴム手袋から蛋白質を抽出してその定量を試みた結果を Table 1 に示す。標準蛋白質としては、BSA を使用した。Table 1 から、製品により溶出する蛋白質の量に十数倍程度の差があることがわかる。

以上著者らは、ラテックス製ゴム手袋から溶出する蛋白質の試験方法を設定し、これを市販製品に適用した。製品から溶出する蛋白質が原料であるラテックスの起源や製造方法により変化することを考慮すると、protein-to-protein variation が比較的小さい BCA 法 (Enhanced Protocol) を用いる試験方法は、様々な製品を評価する上で適当であると考えられる。

文 献

- 1) 中村晃忠：生体材料, 9, 303 (1991)
- 2) Slater, J. E.: *Ann. Allergy*, 68, 203 (1992)
- 3) Levy, D. A., Charpin, D., Pecquet, C., Leynadier, F. and Vervloet, D.: *Allergy*, 47, 579 (1992)
- 4) Beezhold, D. H.: *Guthrie J.*, 61, 77 (1992)
- 5) Leynadier, F., Tran Xuan, T. and Dry, J.: *Allergy*, 46, 619 (1991)
- 6) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
- 7) Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J. and Klenk, D. C.: *Anal. Biochem.*, 150, 76 (1985)
- 8) McGrath, R.: *Anal. Biochem.*, 49, 95 (1972)
- 9) Bradford, M.: *Anal. Biochem.*, 72, 248 (1976)
- 10) Bensadoun, A. and Weinstein, D.: *Anal. Biochem.*, 70, 241 (1976)
- 11) Tata, S. J.: *J. Rubb. Res. Inst. Malaysia*, 28, 77 (1980)
- 12) Tomazic, V. J., Lamanna, A., Fisher, B. R., Withrow, T. J. and Stratmeyer, M. E., Proceedings of the International Latex Conference: Sensitivity to Latex in Medical Devices, Baltimore, Maryland, p. 37 (1992)
- 13) Alenius, H., Reunala, T. and Palosuo, T., Proceedings of the International Latex Conference: Sensitivity to Latex in Medical Devices, Baltimore, Maryland, p. 49 (1992)
- 14) 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 白田俊和, 柴田啓子：衛生化学, 34, 325 (1988)

輸入金塗りガラス製食器からの鉛とカドミウムの溶出

細貝 猛*¹・伊藤澄夫*¹・桜井裕之*¹・多田善彦*¹・佐藤洋一*²
塩見幸博*³・武田明治*⁴・石綿 肇・杉田たき子・山田 隆

Elution of Lead and Cadmium from Imported Gold-Decorated Glassware

Takeshi Hosogai*¹, Sumio Ito*¹, Hiroyuki Sakurai*¹, Yoshihiko Tada*¹,
Youichi Satou*², Yukihiro Shiomi*³, Mitsuharu Takeda*⁴, Hajimu Ishiwata
Takiko Sugita and Takashi Yamada

Lead and cadmium were known to be eluted from some imported gold-decorated glassware, which was bonded at a quarantine station. Elution of lead and cadmium was confirmed to be occurred from the gold-decorated portion, but not from glass itself. No elution of these heavy metals was observed from gold-decorated glassware in the market.

Keywords : gold-decorated glassware, elution, heavy metal

(Received May 31, 1993)

ガラス製食器については、食品衛生法¹⁾により鉛およびカドミウムの規格試験が定められている。輸入品についても同法に準拠して輸入時に検査が行われているところであるが、これまでの検査の結果から輸入ガラス製食器における違反品の中には縁に金塗りを施したものが多く見られる。

そこで今回、鉛およびカドミウムの溶出原因を明らかにする目的で、ガラス製食器の金塗り部分と金塗り部分を除く食器内側部分の重金属溶出試験を行い、その比較検討を行った。

実験方法

1. 試料

ガラス製食器で、上端部分に金塗りを施してあるもの。試料は市販品2種類各3検体、輸入品3種類5検体。サイズ、容量および金塗りの特徴をTable 1に示す。

1) 市販のガラス製食器：横浜市内のマーケットで市販されていたもの。

2) 輸入のガラス製食器：輸入時の行政検査のため保税中のもの。

*¹ 横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター

*² 厚生省生活衛生局食品保健課検疫所業務管理室

*³ 成田空港検疫所食品監視課原木分室

*⁴ 日本大学農獣医学部

2. 試薬および装置

- 1) 鉛およびカドミウム標準溶液：原子吸光分析用，1,000 ppm 溶液（和光純薬）
- 2) 硝酸：有害金属測定用（和光純薬）
- 3) 酢酸：試薬特級（和光純薬）
- 4) 原子吸光光度計：Shimadzu AA-6500F

3. 抽出および測定法

試験部位は金塗り部分を除く食器内側と縁の金塗り部分とに分け、それぞれから重金属の抽出を行った。

Table 1.

Sample No. Name	Dia-	Depth	Volume
	meter	(cm)	(ml)
1-3 One-shot glass (sold at a market)	4.0	5.5	44
4-6 Tea glass (sold at a market)	8.0	5.0	220
7-9 Bowl (bonded at a quarantine station)	12.1 (5.0 at bottom)	5.0	335
10 Tumbler (bonded at a quarantine station)	8.3	7.0	250
11 Tumbler (bonded at a quarantine station)	8.3	7.0	250

1) 金塗り部分を除く食器内側：試料の金塗り部分に接触しないように縁より1 cm 下部まで4%酢酸を満たし、暗所に24時間放置(16~24℃)して抽出液を得た。

2) 金塗り部分：シャーレに試料を逆さまに置き、金塗り部分が液面に浸るように4%酢酸を注いだ。この時、食器の内側と外側の液面の高さが同じとなるように内側の空気量を調節した。同様に24時間放置して抽出液を得た。使用した4%酢酸の量および4%酢酸との接触面積はTable 1に示す通りである。

3) 抽出液中の鉛およびカドミウムは、各々

238.3 nm, 228.8 nm でフレーム方式により吸光度を測定した。別に作成した検量線より抽出液中の濃度を求めた。

結果および考察

鉛およびカドミウムの測定結果をTable 2に示す。参考までに行った市販品からは、金塗り部分、金塗り部分を除く食器内側部分ともに鉛、カドミウムの溶出は認められなかった。

輸入品でも、金塗り部分を除く食器内側部分からの鉛、カドミウムの溶出は認められなかった(検出限界は鉛が0.1 ppm, カドミウムが0.05 ppm)。し

Table 2. Elution of lead and cadmium from gold-decorated glassware

Sample No.	Inner surface (exclusive of gold-decorated portion)		Gold-decorated portion	
	Lead (ppm)	Cadmium (ppm)	Lead (ppm)	Cadmium (ppm)
1	nd	nd	nd	nd
2	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	nd	nd
4	nd	nd	nd	nd
5	nd	nd	nd	nd
6	nd	nd	nd	nd
7	nd	nd	21.1	nd
8	nd	nd	38.4	nd
9	nd	nd	32.0	nd
10	nd	nd	72.0	0.8
11	nd	nd	85.0	1.0

Sample No.: see Table 1.

Detection limit: 0.1 ppm for lead and 0.05 ppm for cadmium.

Extraction conditions: 4% acetic acid, room temperature, 24 hour.

Results were shown as the concentration in the extract solution.

Sample glassware and their shapes

Inner part (exclusive of gold-decorated portion)		Gold-decorated portion		Appearance of gold decoration
Surface area (cm ²)	Solvent used (ml)	Area (cm ²)	Solvent used (ml)	
45	35	26	24	Upper edge
118	180	52	90	Upper edge
157	180	76	150	Inside: 8 mm width from upper edge Outside: 8 mm width from upper edge
77	150	52	220	Outside: 20 mm width from upper edge
77	150	52	220	Inside: 4 mm width from upper edge Outside: 20mm width from upper edge

かし、金塗り部分からは全試料から鉛の溶出を認め、最高濃度は85 ppmであった。また、金装飾度合いの強いタンブラーグラスからは0.8~1.0 ppmのカドミウムの溶出が認められた。この結果により、鉛およびカドミウムの溶出がガラス本体からの移行ではなく、金塗り部分からの移行による事が確認された。

輸入時の検査により食品衛生法違反となるガラス製食器には金塗りを施した食器が多い。International Standard (ISO)²⁾では、食器の上端より5

mm下まで4%酢酸を満たして試験を行うこととなっている。また、わが国の現行試験法¹⁾が試料の上端いっぱい4%酢酸を満たして行う事となっている。この試験法の差異により、輸出国の検査で適合品であるものが、わが国の輸入時の検査で不適となる原因である事が明らかとなった。

文 献

- 1) 厚生省告示第84号 (1986年4月1日)
- 2) ISO, International Standard 6486/1 (1981)

シクロスポリン A 投与ラットを用いた免疫毒性試験法の検討
免疫毒性国際共同研究第 II 期分担研究報告

落合敏秋・内藤克司・村上 治・大野圭子・関田清司
降矢 強・黒川雄二・松本清司*・斎藤嘉朗・蜂須賀暁子
手島玲子・山崎 壮・池淵秀治・沢田純一

Evaluation of Immunotoxicity Tests Using Cyclosporin A-Treated Rats:
The International Collaborative Immunotoxicity Study II (Cyclosporin A)

Toshiaki Ochiai, Katsushi Naito, Osamu Murakami, Keiko Ohno,
Kiyoshi Sekita, Tsuyoshi Furuya, Yuji Kurokawa, Kiyoshi Matsumoto*,
Yoshiro Saito, Akiko Hachisuka, Reiko Teshima, Takeshi Yamazaki,
Hideharu Ikebuchi and Jun-ichi Sawada

Immunotoxicological effects of cyclosporin A (CsA) were studied by enhanced histopathological and functional tests in rats. Male F344 rats were orally administered with CsA in doses of 0, 2.5, 10, and 40 mg/kg/day for 28 successive days.

Hematological examination revealed that the CsA treatment brought about a marked dose-dependent decrease in the number of WBCs, which was attributed to a decrease in the number of lymphocytes. In the femoral bone marrow, a significant reduction in the number of nucleated cells was observed, which was attributed to a decrease in the number of lymphocytes and erythroblasts. Histopathologically, diminution of thymic medullas, appearance of tingible body macrophages in thymic cortices, and calcification and basophilic changes in kidneys were observed in the middle and high dose groups. Immunohistological examination with anti-rat T lymphocyte antibody showed a decrease in the number of T cells at the periarterial lymphatic sheaths in the spleens.

As for the functional tests, CsA treatment remarkably reduced the PFC number even in the low dose group. The Con A response of spleen cells was decreased in the middle and high dose groups. The STM response was reduced only in the high dose group. The NK activity was little affected.

Thus, in the CsA-treated F344 rats, the enhanced histopathological and some functional tests which were proposed by ICICIS, were found to be useful to detect damages to the immune system.

Keywords : cyclosporin, ciclosporin, rat, immunotoxicity, validation

(Received May 31, 1993)

略 号 一 覧

ICICIS, IPCS/CEC International Collaborative
Immunotoxicity Study;
IPCS, International Program on Chemical
Safety;
CEC, Commission of the European Communities;
AZP, azathioprine;
CsA, cyclosporin A;

Con A, Concanavalin A lectin;
STM, *Salmonella typhimurium* mitogen;
RBC, 赤血球数;
PCV, 血球容積比;
Hb, ヘモグロビン量;
MCV, 平均赤血球容積;
WBC, 白血球数;
PFC, plaque-forming cells, 抗体産生細胞;
SRBC, 羊赤血球;
PALS, 動脈周囲リンパ鞘

* 信州大学医学部

はじめに

医薬品、農薬、工業用化学薬品などの化学物質についての毒性試験法ガイドラインが、国内においても、また国際的にも整備されてきている。生体防御機構としての免疫系の役割の重要性を考えると、毒性試験における一指標として免疫毒性は重要である。しかし、公的な免疫毒性試験法ガイドラインは、日本はじめ、欧米でもまだ設定されていない。免疫毒性評価における大きな問題点は、免疫機能の多様性にある。多数の免疫機能をすべて検査することは不可能であるため、免疫毒性の指標として、どのような項目を選択したらよいか課題となる。化学物質の免疫毒性評価法設定の国際的動向としては、従来からのラットを用いる毒性試験を免疫病理組織学的に拡大しようという欧州諸国を中心とした動きと、これまでの免疫生物学の膨大な研究蓄積があるマウスの系を用い、免疫機能試験を重視する米国を中心とした動きとがある。両者共に一長一短がある。一方、OECDは、OECD毒性試験ガイドライン407に免疫関連の検査項目を追加する方向にある。

国連の国際化学物質安全性計画 (IPCS) では、1986年より、各国における免疫毒性試験法ガイドラインの確立と調和をめざした活動を行っているが、その一環として、IPCSと欧州共同体委員会 (CEC) が共同して免疫毒性国際共同研究 (IPCS/CEC International Collaborative Immunotoxicity Study, ICICIS) を1988年から実施している^{1,2)}。ICICISにおける免疫毒性試験法ガイドラインの基本的考え方は、前述の欧州諸国の考え方に立つものであり、OECD毒性試験ガイドライン407「げっ歯類を用いる28日反復投与経口毒性試験」に、免疫病理組織学的検査などを追加し、拡大した一般毒性試験により免疫系への影響の一次スクリーニングを実施しようとするものである。ICICISでは、参加研究機関が同一のプロトコルに従い、モデル薬物をラットに投与して血液学的、病理組織学的検査と免疫機能検査等を行う。それらの研究機関間のデータの比較を通して、各検査項目の検査方法と免疫毒性学的意義の検討、すなわち、各検査項目の評価を行っている。第I期は、アザチオプリン (Azathioprine) を対象物質にして、日欧米10か国の17の研究機関が参加して実施された¹⁻³⁾。第II期では、移植免疫抑制剤として臨床利用されているシクロスポリンA (Cyclosporin A) を対象物質として約20の研究機

関が参加して実施された。当所も引き続き参加しており、毒性部が一般毒性・病理組織学的検査を担当し、機能生化学部が免疫機能検査を担当した。

今回は、当所における第II期のシクロスポリン研究に関する成績について報告する。

実験材料および実験方法

1. 動物

4週令の雄性F344 Du/Crj ラット (SPF) を日本チャールスリバーから購入し、1週間馴化飼育した後、1群21匹からなる4群に分けた。各群とも10匹を一般毒性・病理組織学的検査に、11匹を免疫機能検査に用いた。動物は、ポリカーボネート製ケージに1ケージ当たり4匹ずつ収容し、当所動物室 (室温: $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度: $55 \pm 5\%$, 照明: 12時間) にて飼育した。馴化期間および実験期間共に、固型飼料 (F-2, 船橋農場) および水道水を自由に摂取させた。

2. 薬物および試薬

ICICISより送付された、シクロスポリンA (CsA, Sandoz Pharmaceuticals 社製, 英国ICI社提供)、コンカナバリンA (Con A, Sigma 社製), STM (*Salmonella typhimurium* mitogen, Ribi Immunochem Research 社製) を用いた。

3. 薬物投与

CsAをオリーブ油に0.5, 2および8 mg/mlの濃度に溶解し、それぞれ5 ml/kgをラット用胃管を用いて28日間連続強制経口投与した (2.5, 10および40 mg/kg/dayに相当)。以下、この3群を、それぞれ、低用量群, 中用量群, 高用量群と呼ぶ。対照群には同量 (5 ml/kg) のオリーブ油を投与した。29日目にエーテル麻酔下で採血し、以下の検査に供した。

4. 検査項目

ICICISのプロトコルに従い、以下の項目を検査した (Table 1)。

1) 一般毒性・病理組織学的検査

一般状態は毎日観察し、週に1回体重を測定した。最終投与の翌日、各群10匹のラットについてエーテル麻酔下で眼窩静脈叢より採血し、Sysmex E 2000 (東亜医用電子) により赤血球数 (RBC), 血球容積比 (PCV), ヘモグロビン (Hb), 平均赤血球容積 (MCV) ならびに白血球数 (WBC) を測定し、MICROX (オムロン) を用いて白血球分別 (Wright 染色) を行った。更に血清を採取し、タ

Table 1. Protocol of immunotoxicological studies with CsA as proposed by ICICIS

Animal: 5-week-old male F344 rats
Chemical: Cyclosporin A; vehicle: olive oil (5 ml/kg)
0(control), 2.5, 10, 40 mg/kg/day
Administration: 28 consecutive days
Observations: General appearance
Body weight
Hematology (RBC, Hb, PCV, MCV, WBC, hemogram)
Pathology (heart, lung, liver, spleen*, kidney, thymus*, adrenal, testis, femur, bronchobronchial lymph node*, popliteal lymph node*, mesenteric lymph node*)
Bone marrow exam.: Nucleated cell count* (cells per 1 μ l of marrow)
Functional tests: PFC assay, NK activity, Mitogen response, others

*: Enhanced histopathological examinations

ンパク量, 各タンパク分画 (電気泳動) を測定した。採血後放血致死させ, 大腿骨を用いて骨髓有核細胞数測定とその細胞分別 (Wright-Giemsa 染色) を行った。また, 脳, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 精巣, 胸腺, 副腎, 腸間膜リンパ節, 膝窩リンパ節, 気管支支リンパ節を摘出した。摘出臓器は秤量後10%緩衝ホルマリン液で固定し, 常法にしたがって Hematoxylin-Eosin 標本を作製して鏡検した。更に W3/13 抗体 (Sera-Lab Limited 社製) を用いて脾臓の免疫組織学的検査も実施した⁴⁾。

2) 免疫機能検査

2.1) 抗体産生細胞 (PFC) 試験

CsA 投与ラット (各群 6 匹) を 25 日目にヒツジ赤血球 (SRBC, 2×10^8 細胞) で免疫 (i.v. 投与) した。29 日目に脾臓細胞を得, Mishell and Dutton の方法⁵⁾ で抗 SRBC IgM 抗体産生細胞 (PFC) を計数した。

2.2) 脾臓細胞幼若化反応試験

CsA 投与ラット (各群 5 匹) の脾臓細胞 (5×10^5 細胞) をマイトジェン (Con A, STM) と 48 時間培養し, ³H-チミジン (37 kBq) を添加して更に 20 時間培養した。細胞に取り込まれた放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。

2.3) NK 細胞活性試験

標的細胞として, ⁵¹Cr で標識した YAC-1 細胞を用いた。CsA 投与ラット (各群 5 匹, 脾臓細胞幼若化反応試験用と共用) の脾臓細胞 ($1 \times 10^6 \sim 2.5 \times 10^6$ 細胞) と標的細胞 (1×10^4 細胞) を混合して 4 時間培養し, 標的細胞から培地中に放出された ⁵¹Cr 量を測定した。

5. 統計処理

いずれの測定値とも, 平均値および標準偏差で表し, 特記のない限り, 群間の有意差は Dunnett の多重比較法で検定した。

結 果

1. 一般毒性・病理組織学的検査

1) 一般状態および体重

40 mg/kg/day 群 (高用量群) において, 体重増加抑制 (投与終了時で約 10%減少) が認められた (Fig. 1)。なお, 実験期間中特記すべき症状の発現はなく, 投与期間中の死亡も認められなかった。

2) 血液学的検査

高用量群の PCV が有意に低下を示した。更に, すべての CsA 投与群で MCV の有意な減少が認められた。10 mg/kg/day 群 (中用量群) および高用量群において WBC の著明な減少が認められ, 高用量群では対照群の約 48% の値であった。白血球分別の結果では, 中および高用量群でリンパ球の有意な減少が認められた (Table 2)。

3) 骨髓検査

高用量群で骨髓有核細胞数の有意な減少が認められた。細胞分別の結果, リンパ球および赤芽球系細胞の減少, および, G/E 比の有意な上昇が認められた (Table 3)。

4) 血清蛋白

高用量群において血清蛋白の有意な減少が認められた。電気泳動による検査の結果, アルブミン, α_1 -グロブリンおよび A/G 比の有意な減少が認められた (Table 4)。高用量群で認められた蛋白,

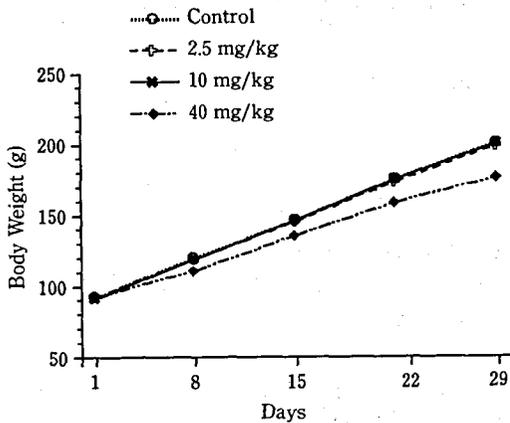


Fig. 1. Body weight curves of F344 rats administered CsA for 28 days

アルブミン, α_1 -グロブリンの減少は, 体重減少と関連する結果である。

5) 臓器重量

高用量群で, 心臓の実重量ならびに比重量の有意な減少, および脾臓と副腎の実重量, 比重量の有意な増加が認められた (Table 5)。

6) 病理組織学的検査

胸腺髄質の著明な萎縮が中および高用量群で見られた。また平行して, 胸腺皮質の tingible body macrophages が中および高用量群で観察された。腎臓の石灰化ならびに basophilic change が, 中および高用量群で認められた。

脾臓は, Hematoxylin-Eosin 染色では変化が認められなかったが, 抗ラット T リンパ球抗体 W 3/13 を用いた免疫組織学的検査で, 動脈周囲リンパ

Table 2. Hematological findings in male F344 rats administered cyclosporin A for 28 days

Group(mg/kg/day)	0(Control)	2.5	10	40
No. of animals	10	10	10	10
RBC ($\times 10^6/\mu l$)	8.77 \pm 0.22	8.90 \pm 0.14	8.84 \pm 0.21	8.71 \pm 0.35
Hb (g/dl)	15.2 \pm 0.3	15.4 \pm 0.2	15.1 \pm 0.2	14.6 \pm 0.6
PCV (%)	48.9 \pm 1.0	48.9 \pm 0.6	47.7 \pm 1.1	45.8 \pm 1.9**
MCV (fl)	55.7 \pm 0.6	55.0 \pm 0.6*	54.0 \pm 0.5**	52.6 \pm 0.5**
WBC ($\times 10^3/\mu l$)	6.86 \pm 1.65	6.54 \pm 0.76	3.39 \pm 0.68**	3.21 \pm 0.53**
Neutrophils ($\times 10^3/\mu l$)	0.96 \pm 0.34	1.15 \pm 0.51	0.78 \pm 0.25	0.66 \pm 0.24
Eosinophils ($\times 10^3/\mu l$)	0.05 \pm 0.06	0.03 \pm 0.04	0.02 \pm 0.03	0.05 \pm 0.03
Basophils ($\times 10^3/\mu l$)	0	0	0	0
Lymphocytes ($\times 10^3/\mu l$)	5.64 \pm 1.39	5.16 \pm 0.51	2.44 \pm 0.59**	2.23 \pm 0.36**
Monocytes ($\times 10^3/\mu l$)	0.20 \pm 0.12	0.20 \pm 0.17	0.14 \pm 0.05	0.27 \pm 0.09

Data are expressed in mean \pm S.D.

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

Table 3. Femoral bone marrow cell counts and differential counts of male F344 rats administered cyclosporin A for 28 days

Group(mg/kg/day)	0(Control)	2.5	10	40
No. of animals	10	10	10	10
Nucleated cell counts($\times 10^4/\mu l$)	205 \pm 16	204 \pm 23	192 \pm 9	153 \pm 28**
Differential counts($\times 10^4/\mu l$)				
Erythroblasts ^{a)}	90.0 \pm 12.6	82.0 \pm 20.9	76.1 \pm 13.0*	58.7 \pm 16.9**
Granulocytes ^{b)}	62.1 \pm 9.6	60.3 \pm 13.4	58.3 \pm 11.3	56.9 \pm 10.8
G/E ratio	0.70 \pm 0.16	0.74 \pm 0.11	0.79 \pm 0.24	1.02 \pm 0.29**
Lymphocytes	40.8 \pm 9.3	44.0 \pm 9.2	39.4 \pm 14.6	23.0 \pm 8.3**
Others ^{c)}	12.1 \pm 2.9	15.7 \pm 7.8	18.0 \pm 4.9**	13.9 \pm 3.2

a: Proerythroblasts, basophilic erythroblasts, and polychromatic erythroblasts.

b: Myeloblasts, promyelocytes, myelocytes, metamyelocytes, mature neutrophils, eosinophils, and basophils.

c: Monocytes, plasma cells, reticulum cells, mast cells, megakaryocytes, and mitotic cells. Data are expressed in mean \pm S.D.

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

鞘 (PALS) の T 細胞領域で陽性を示す細胞が明らかに減少しているのが認められた。

重量変化の認められた心臓および副腎には変化はなく、肝臓および肺において変化が認められたが、その発生数には有意差は認められなかった (Table 6)。

2. 免疫機能検査

1) 抗体産生細胞 (PFC) 試験

PFC 試験に用いた SRBC 免疫ラットの脾臓重量と脾臓細胞数が、対照群と比べて、2.5 mg/kg/day 群 (低用量群) および中用量群では差が認められなかったが、高用量群でわずかに増加した。これは、非免疫ラットの脾臓重量の結果 (Table 5) と同様であった。単位脾臓細胞当たりでも脾臓当たりでも、PFC 数が CsA の投与量の増加に依存して著しく減少した。低用量群は、今回のプロジェクトで無作用

Table 4. Concentrations of serum proteins in male F344 rats administered cyclosporin A for 28 days

Group(mg/kg/day)	0(Control)	2.5	10	40
No. of animals	10	10	10	10
Total protein (g/dl)	7.08 ± 1.02	6.65 ± 0.78	6.54 ± 0.50	5.91 ± 0.77**
A/G ratio	1.31 ± 0.05	1.34 ± 0.08	1.30 ± 0.07	1.16 ± 0.08**
Albumin (g/dl)	4.02 ± 0.59	3.79 ± 0.41	3.69 ± 0.22	3.17 ± 0.40**
α ₁ -globulin (g/dl)	1.34 ± 0.18	1.28 ± 0.17	1.22 ± 0.13	1.08 ± 0.14**
α ₂ -globulin (g/dl)	0.61 ± 0.08	0.56 ± 0.09	0.54 ± 0.07	0.58 ± 0.10
β-globulin (g/dl)	0.97 ± 0.17	0.88 ± 0.14	0.90 ± 0.12	0.91 ± 0.15
γ-globulin (g/dl)	0.15 ± 0.03	0.14 ± 0.03	0.19 ± 0.05	0.18 ± 0.05

Data are expressed in mean ± S.D.

** : Significantly different from the control group at p < 0.01.

Table 5. Organ weights of male F344 rats administered cyclosporin A for 28 days

Group(mg/kg/day)	0(Control)	2.5	10	40
No. of animals	10	10	10	10
Body weight (g)	205.0 ± 9.9	197.8 ± 12.2	192.5 ± 8.6*	180.9 ± 8.3**
Absolute weights				
Heart (mg)	674 ± 36	644 ± 55	616 ± 29**	557 ± 30**
Lung (mg)	786 ± 58	709 ± 62**	702 ± 31**	734 ± 37
Liver (mg)	7696 ± 542	7366 ± 737	7064 ± 484	6874 ± 666*
Kidneys (mg)	1302 ± 104	1230 ± 111	1205 ± 60	1189 ± 111
Spleen (mg)	462 ± 27	454 ± 51	451 ± 26	632 ± 80**
Adrenals (mg)	26 ± 7	24 ± 4	25 ± 4	33 ± 2*
Thymus (mg)	318 ± 31	298 ± 32	307 ± 35	275 ± 40
Mesenteric l.n. (mg)	37 ± 23	52 ± 18	48 ± 15	61 ± 22
Popliteal l.n. (mg)	9 ± 8	6 ± 2	6 ± 3	6 ± 2
Relative weights				
Heart (mg%)	329 ± 12	325 ± 15	320 ± 9	308 ± 5**
Lung (mg%)	384 ± 20	359 ± 23	365 ± 8	406 ± 15
Liver (mg%)	3752 ± 119	3721 ± 204	3666 ± 105	3794 ± 238
Kidneys (mg%)	635 ± 28	622 ± 31	626 ± 15	656 ± 41
Spleen (mg%)	225 ± 7	229 ± 14	234 ± 9	350 ± 46**
Adrenals (mg%)	13 ± 3	12 ± 2	13 ± 2	18 ± 2**
Thymus (mg%)	156 ± 18	151 ± 17	160 ± 17	152 ± 21
Mesenteric l.n. (mg%)	18 ± 11	26 ± 7	25 ± 8	34 ± 13**
Popliteal l.n. (mg%)	4 ± 4	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1

Data are expressed in mean ± S.D.

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

量群として設定されたのであるが、この用量で PFC が対照群の 52% にまで低下した (Fig. 2).

2) 脾臓細胞幼若化反応試験

T 細胞マイトジェンである Con A に対する幼若化反応では、中、高用量群で反応抑制的影響が現れた。対照群、低用量群での Con A の至適濃度が 0.5 µg/ml であったのに対して、中用量群では 5 µg/ml に上昇し、リンパ球反応性の低下が見られた。高用量群では、反応性が消失した (Fig. 3)。Con A 反応試験では、対照群での Con A 至適濃度を全群に適用して試験すればよいと考えられる。

B 細胞マイトジェンである STM に対する幼若化

反応では、対照群と比べて、低用量群、中用量群では差が認められず、高用量群で著しい反応性の低下が見られた (Fig. 4).

3) NK 細胞活性試験

脾臓細胞の NK 細胞活性は、高用量群でのみわずかに低下した (Fig. 5).

考 察

今回の CsA を用いた ICICIS 第 II 期共同研究には、当所を含めて日欧米諸国の約 20 の研究機関が参加した。第 I 期のアザチオプリン (AZP) をモデル化合物にした共同研究では、28 日間の亜急性試

Table 6. Histological findings in male F344 rats administered cyclosporin A for 28 days

Organ	Score ^{a)}	Group(mg/kg/day)			
		0	2.5	10	40
Finding		No. of animals			
		10	10	10	10
Thymus					
(medulla)					
atrophy	++	0	0	10**	9**
	+++	0	0	0	1
(cortex)					
tingible body macrophages	++	0	0	10**	10**
Lung					
granulation	±	0	0	0	1
Liver					
mitosis of hepatic cells	+	1	0	0	0
microgranulation	±	0	1	0	0
focal necrosis with cell infiltration	+	0	0	0	4
(Glisson's sheath)					
cell infiltration	±	0	0	1	0
proliferation	±	0	0	0	1
Kidney					
(tubule)					
dilatation	±	0	2	0	0
epithelial cast	±	0	2	0	0
	+	0	1	0	0
eosinophilic body	±	6	6	2	0*
	+	4	3	0	0
basophilic change	±	0	0	0	6*
	+	0	0	0	1
calcification	±	0	1	0	0
	+	0	0	10**	5*
	++	0	0	0	5*

a: Score, ±:Slight ++:Mild +++:Marked ++++:Severe

*, **: Significantly different from the control group at p<0.05 and p<0.01, respectively (Chi square test).

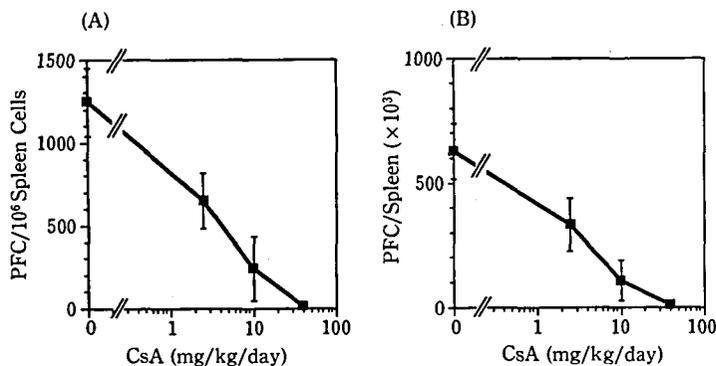


Fig. 2. IgM antibody-forming cells in spleens of rats after administration of cyclosporin A for 28 days. (A) Anti-SRBC PFC/1×10⁶ spleen cells; (B) Anti-SRBC PFC/spleen. The values are the mean ± S.D. of 6 rats.

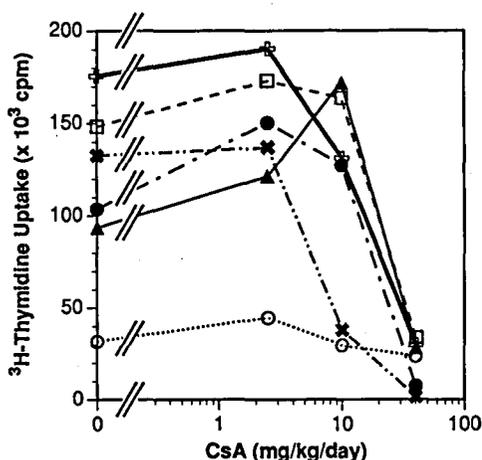


Fig. 3. Mitogenic response of spleen cells in rats administered CsA to 0 (○), 0.5 (⊕), 1 (□), 5 (▲), 10 (●), and 20 (★) μg/ml of Con A. The values are the mean of 5 rats.

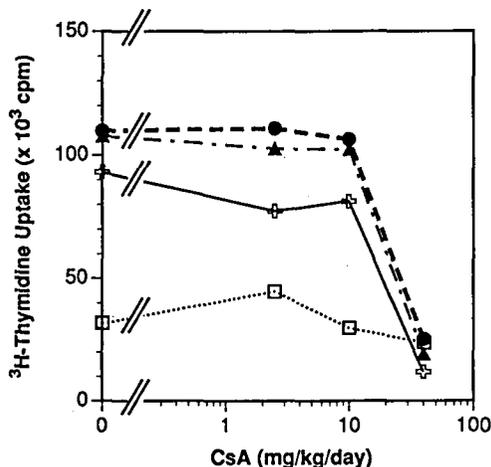


Fig. 4. Mitogenic response of spleen cells in rats administered CsA to 0 (□), 10 (⊕), 50 (▲), and 100 (●) μg/ml of STM. The values are the mean of 5 rats.

験のプロトコルの概要は決められていたものの、詳細な部分は各研究機関の判断に任されていた。今回の共同研究では、プロトコルのかなり詳細な部分まで規定し、参加研究機関が同一のプロトコルで試験を行い、データの相互比較がより正確にできるように配慮されている。また、第I期にはなかった検査項目（一部は任意選択）が免疫機能検査で新たに追加された。ICICISが提案した検査項目は、現行のOECD毒性試験法ガイドライン(407)で求められている検査項目に免疫系組織の病理組織学的検査を加えた拡大病理組織学的検査(Enhanced histopathological tests)と、免疫機能検査である。

それらをTable 1に示すが、OECD毒性試験法ガイドライン(407)の検査項目の他に、骨髓有核細胞数測定、腸間膜リンパ節、膝窩リンパ節、脾臓ならびに胸腺の重量測定、腸間膜リンパ節、膝窩リンパ節、気管気管支リンパ節、脾臓、胸腺の病理組織学的検査、および免疫機能検査(PFC、脾臓細胞幼若化反応、NK細胞活性、その他)である。さらに、ICICISのプロトコルにはないが、免疫系へのCsAの影響を詳しく検討するために、骨髓細胞分別、血清蛋白の定量、および、脾臓の免疫組織学的検査を行った。

結果に示したとおり、CsA投与により、血液学

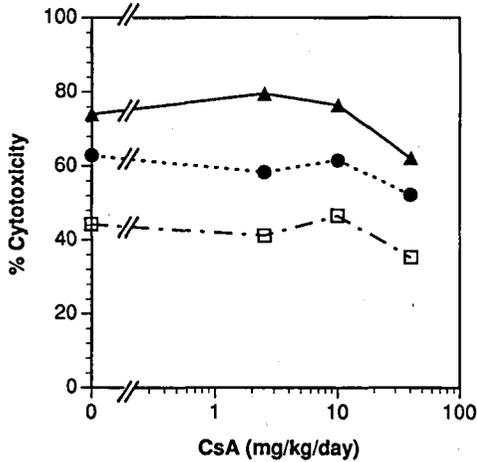


Fig. 5. NK activity of spleen cells in rats administered cyclosporin A for 28 days. The values are the mean of 5 rats. Effector : Target ratio=100 (▲), 50 (●), 25 (□).

的にはリンパ球減少に基づく白血球数の減少並びに軽度の貧血傾向が中、高用量群で認められた。骨髓検査においては、骨髓リンパ球および赤芽球減少による有核細胞数の減少が中、高用量群で認められた。病理組織学的検査の結果では、胸腺髄質の萎縮ならびに皮質の Tingible body macrophages を中、高用量群で認めた。さらに、ICICIS のプロトコールでは要求されていなかったが、脾臓の免疫組織学的検査を行ったところ、Tリンパ球の減少を認めた。この変化は通常の Hematoxylin-Eosin 染色では検出できなかったものであり、リンパ球表面マーカーに対する抗体を用いた免疫組織学的検査の有効性が示された。このように、CsA の持つ免疫抑制作用を、末梢血および骨髓のリンパ球減少、ならびに胸腺あるいは脾臓の組織学的変化として捉えることができ、免疫機能検査の結果とほぼ平行する結果が得られた。

一方、免疫機能検査としては、PFC 試験、脾臓細胞幼若化反応試験、NK 細胞活性試験を行った。その結果、PFC 試験は、CsA の影響を非常に高感度に検出し得ることが示された。T 細胞マイトジェンである Con A に対する幼若化反応は、中程度の感度であった。それに対して、B 細胞マイトジェンである STM に対する幼若化反応は CsA の影響を受けにくく、また、NK 細胞活性は、ほとんど影響を受けなかった。これら 3 つの免疫機能検査の結

果は、現在明らかになっている CsA の作用プロフィールを明確に表現している。CsA は T 細胞からの各種リンフォカインの産生を阻害するために、それらに関与する免疫反応が広く阻害されると考えられている。T 細胞依存性の高い抗原である SRBC に対する IgM 抗体産生細胞試験は、B 細胞、T 細胞、抗原提示細胞が複雑に関与した長い過程の結果を指標とする検査系である。そこに関与する T 細胞由来リンフォカインの数も多く、結果として CsA の影響が強く現れたと解釈できる。

米国 NTP の下で行われた 51 の毒性物質の免疫毒性に関する研究結果では、PFC 試験と、細胞表面マーカーに基づくリンパ球サブポピュレーションの解析が、最も多くの化合物の免疫異常を検出できたと報告している^{7,8)}。PFC 試験の有用性は、我々の研究結果でも実証された。また、細胞表面マーカーの解析には、フローサイトメトリーが定量的解析に汎用されている。一方、免疫病理組織学的検査も、今回行った脾臓の Tリンパ球マーカーの検査結果に示されたように、十分に定性的評価が可能であった。こちらは病理組織学的検査に組み込んで行える点で有利であり、一次スクリーニング法の試験法として有望であると思われる。

第 I 期の AZP を対象物質にした免疫毒性研究では、骨髓における顆粒球とリンパ球の減少による有核細胞数の減少、胸腺および脾臓の重量減少、リンパ系臓器におけるリンパ球の減少および胸腺の著明な萎縮が見られた。免疫機能では、単位脾臓細胞当りの抗体産生細胞および NK 細胞活性には AZP の作用が現れなかった。全脾臓細胞数が AZP 投与により減少したことから、両活性ともに、脾臓当りでは減少する結果になった。AZP 研究と第 II 期の CsA 研究とを比較すると、いくつかの点でその毒性発現パターンに違いが認められた。AZP はリンパ球に対する細胞分裂抑制作用により免疫抑制作用を発現するのに対し、CsA は一部の T 細胞の分化・増殖を選択的に抑制することで免疫抑制作用を発現する⁹⁾。両薬物における毒性の差異は、このような免疫抑制作用の違いに基づくものと考えられる。

いずれにせよ、作用メカニズムの異なる 2 つの免疫抑制剤をモデル薬物にした研究の結果から、F 344 ラットを用いた ICICIS の現在のプロトコールが、免疫毒性検出のための一次スクリーニング試験法として有用であると考えられる。今後さらに、各研究機関のデータを総合して、各項目の必要性を個別に

検討する必要があると思われる。

謝 辞

脾臓の免疫組織学的検査ならびに血清蛋白定量に多大な御協力を賜りました(株)バナファームラボラトリーズ安全性研究所、同生化学研究所に深謝致します。

文 献

- 1) 寺尾允男：免疫毒性に関する国際共同研究。International Collaborative Immunotoxicity Programmeを中心として。衛生試報, **106**, 1 (1988)
- 2) 澤田純一, 寺尾允男：ICIP: 免疫毒性試験法の有効性評価に関する国際共同研究計画の発足。トキシコロジーフォーラム, **5**, 555 (1988)
- 3) 松本清司, 関田清司, 落合敏秋, 高木篤也, 高田幸一, 降矢 強, 黒川雄二, 斎藤嘉朗, 手島玲子, 鈴木和博, 沢田純一, 寺尾允男, 戸部満寿夫：アザチオプリン投与ラットを用いた免疫毒性試験法の検討：免疫毒性国際共同研究（アザチオプリン）分担研究報告。衛生試報, **106**, 34 (1990)
- 4) Hayashi, S., Nonoyama, T. and Miyajima, H.: Spontaneous nonthymic T cell lymphomas in young Wistar rats. *Vet. Pathol.*, **26**, 326 (1989)
- 5) Mishell, R. I. and Dutton, R. W.: Immunization of dissociated spleen cell cultures from normal mice. *J. Exp. Med.*, **126**, 423 (1967)
- 6) Schreiber, S. L. and Crabtree, G. R.: The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunology Today*, **13**, 136 (1992)
- 7) Luster, M. I., Portier, C., Pait, D. G., White, J.R., K. L., Gennings, C., Munson, A. E. and Rosenthal, G. J.: Risk assessment in immunotoxicology I. Sensitivity and predictability of immune tests. *Fund. Appl. Toxicol.* **18**, 200 (1992)
- 8) Luster, M. I., Pait, D. G., Portier, C., Rosenthal, G. J., Germolec, D. R., Comment C. E., Munson, A. E., White, K. and Pollock, P.: Qualitative and quantitative experimental models to aid in risk assessment for immunotoxicology. *Toxicol. Lett.* **64/65**, 71 (1992)

エイズ医薬品候補スクリーニング研究

IV. 1991年度報告

小林伸好*1・野口有三*1・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・石原佑弼*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・大竹 徹*9・森 治代*9・森本素子*9・上羽 昇*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
 国貞孝夫*11・山崎修道*11

Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs.

IV. Report on fiscal year 1991

Nobuyoshi Kobayashi*1, Yuzo Noguchi*1, 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, Tetsuro 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, Tohru Ohtake*9, Haruyo Mori*9
 Motoko Morimoto*9, Noboru Ueba*9, Katsumi Chijiwa*10, Mamiko Kai*10
 Katsumi Takahashi*10, Katsutoshi Mise, Hiroshi Ushijima*11, Hiroyuki Shimizu*11
 Takao Kunisada*11 and Shudo Yamazaki*11

Preliminary screening for antiviral AIDS drugs has been carried out using three different *in vitro* assay systems. Among 154 samples tested, nine were found to inhibit the growth of HIV *in vitro*. One of nine has a hopeful sign, as the range of effective doses of the sample is wide.

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

(Received May 31, 1993)

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、一千万人以上の感染者がいるのではないかとされている。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^{1,2)}。エイズ患者を対

象とする医薬品は AZT (3'-azido, 3-deoxythymidine) や ddI (2', 3'-dideoxyinosine) 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^{3,4)}。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投げかけている。

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、横浜市衛生研究

*1 横浜市衛生研究所・*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 大阪府公衆衛生研究所・*10 福岡県衛生公害センター・*11 国立予防衛生研究所

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3年度は154サンプルが提出され、このうち9サンプルが陽性を示した。

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、生細胞数測定法若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⁵⁾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154サンプル中抗HIV活性を示した9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154サンプルは参加企業11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9サンプル中2サンプルは薬用植物抽出物である。他の7サンプルはそれぞれ含硫多糖(2)、合成化合物(1)、放線菌生産物(1)および既知物質(3)である。

代表的な例として、Table 2と3に検体番号910671と910635のマイクロプレート法の結果を示す。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91671の巨細胞形成抑制試験は陰性、910635のそれは弱陽性であった。

考察

Table 1にまとめられているように、提供された154サンプル中9サンプルに、*in vitro*の試験で抗

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
910635	15.6-31.3	>62.5	Extract of medicinal plant	C
910636	500	≥ 1000	Extract of medicinal plant	C
910642	200	≥ 400	New chemical	D
910671	3.13-12.5	≥ 25	Acidic polysaccharide	G
910689	6.25-12.5	≥ 25	Well known chemical	J
910690	6.25-12.5	≥ 25	Well known chemical	J
910691	12.5-50	>50	Well known chemical	J
910703	62.5	≥ 125	Product of fungi	J
910749	1.56	≥ 3.13	Acidic polysaccharide	G

Table 2. Anti-HIV activities of sample no. 910671 with microplate assay method

Tube no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	UC	IC
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	100	50	25	12.5	6.25	3.13	1.56	0.78	0.39	2.0	1.0		
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 3. Anti-HIV activities of sample no. 910635 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.

HIV 活性が認められた。これらのうち6サンプルはこれまで抗 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 910671 は、有効濃度の幅が広いところから有望と思われる。しかし巨細胞抑制試験は陰性であった。残りの陽性を示した5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、一つの大きな成果と言って良いであろう。

文 献

- 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)
- Bridge, T. P., Mirsky, A. F. and Goodwin, F. K.: "Psychological, neuropsychiatric, and substance abuse aspects of AIDS". Raven Press, New York (1988)
- 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-2',3'-dideoxy-thymidine (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)
- Dagleish, A. G. and Weiss, R. A.: "AIDS and New Viruses". Academic Press, London (1990)
- 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, 齊藤隆行, 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)

IPCS 環境保健クライテリアのドラフトのコメント依頼について (1992 年度)

大竹千代子・関沢 純

First drafts of Environmental Health Criteria (EHC) circulated
for comments by IPCS in 1992~1993.

Chiyoko Ohtake and Jun Sekizawa

Summaries of first drafts of Environmental Health Criteria (EHC), which were circulated for comments by IPCS in the period of 1992~1993, were presented. EHC drafts on 12 compounds and 2 methodologies were received in this period.

Keywords : Environmental Health Criteria, EHC, IPCS, comment

(Received May 31, 1993)

はじめに

1992年4月から1993年3月までに、環境保健クライテリア (EHC) のドラフトに対する IPCS からのコメント依頼は 14 件あった。昨年度と同様の様式で所内に案内し、閲覧希望に応じ、コメントの提供をお願いした。配布した要約および入手したコメントについて報告する。

ドラフトの要約

(日付は案内日)

1. Phenol (1992/6/15)

phenol は 40.9℃の融点を持ち、液体は無色透明で低粘度である。結晶は白色で特徴ある臭いがあり、ほとんどの有機溶媒に溶ける。phenol はコールタールの成分であり、環境中の phenol の大部分は人為的起源からのもので、特に phenol 樹脂、車の排気ガス、およびタバコの煙による。大気中のバックグラウンドは工場地域で非常に高く、一般人ではタバコの煙と燻製食品からの暴露が重要である。哺乳類に対する phenol の影響として、臨床的症候は痙攣、皮膚および咽頭粘膜の壊死、および肺、腎臓、肝臓に対する有害な影響があげられる。

2. Acetaldehyde (1992/6/15)

acetaldehyde は、刺激臭をもった無色・流動性のある液体である。人間および高等植物の体内での代謝中間物質であり、アルコール発酵の副産物でもある。また、車の排気ガスおよび種々の産業廃棄物の

中に見いだされる。生産量の80%は触媒を用いたエチレンの酸化による。高い蒸気圧のため大気へ移動する。人の暴露は大気、食料、体内でアルコールに変わる野菜、飲料水の摂取およびタバコの煙への暴露による。職業暴露の原因となるのは大部分が有機化学工業である。重要な影響は比較的低濃度で目と喉への刺激と脈拍数の増加であり、高濃度では呼吸阻害が起きる。暴露された労働者には呼吸器および胃・腸のがんの増加が見られた。

3. Acetonitrile (1992/6/26)

acetonitrile はアクリロニトリル工業の副産物として得られ、芳香あるいはエーテルのような臭いをもった無色の液体である。使用量も増加してきており商業的に重要な物質である。acetonitrile はポリマーを含む有機・無機の多数の化合物、あるいは合成繊維の紡糸およびプラスチックの成型加工において優れた溶媒である。生産・使用・貯蔵および輸送のような労働の場での暴露、また輸送の際の溢出事ゆえによる暴露が重要で、その他に家庭でのネイルリムーバ使用時の不注意が問題となる。acetonitrile は実験動物に対し、急性シアン化物中毒と同じような毒性影響を生じる。人における acetonitrile の中毒症状は、胸痛、胸部・腹部圧迫感、悪心、浅い呼吸などがあり、これらは、大気濃度が 500 ppm を越えると影響が出ると思われる。acetonitrile への暴露による人の発がんの疫学的な研究はみられない。

本ドラフトは橋本和夫教授 (金沢大学) 他のご協

力を得て、国立衛生試験所で作成されたものである。

4. Report of IPCS Discussions on Deriving Guidance Values for Health-Based Exposure Limits (1992/6/26)

化学物質の安全性の評価によって暴露限界を決定する際の、ガイドラインの開発に関する報告が、1989年 IPCSによって提出された。IPCSは暴露限界に関するガイダンス設定における体系的な取り組みを進めてきた。'guidance value'は暴露を限定し、範囲を表すために用いられる言葉として提案された。食品、大気、水、および労働環境における化学物質の'guidance value'の設定、および開発途上国の化学物質管理(基準を含む)に関わるガイダンス資料が必要とされている。

5. Isophorone (1992/8/24)

isophoroneは、ペパーミントや樟脳と同様の芳香がある無色の液体である。水にわずかに溶け、炭化水素などとはいろいろな割合で混じる。商品には数%のβ-異性体が含まれている。天然にはisophoroneの存在は知られていない。isophoroneは多数の天然および合成樹脂の溶剤として、高温高压でアセトンの触媒下で工業的に製造される。1988年の世界の推定生産量は92000トンである。環境中から広く検出され、特に多くの魚から検出されている。公衆の暴露に関する報告は知られていない。労働現場では印刷工場において高濃度で暴露される場合がある。実験的にはisophoroneは蒸気あるいはエアゾール状態で吸入され、また皮膚に接触して吸収される。ラットおよびウサギの経口投与では急速に全身に分布し、胃、すい臓、副腎、脾臓および肝臓から、また吸入により腎臓、副腎および肝臓などから検出される。亜慢性毒性は経口によって肝臓・腎臓に影響がみられる。人への影響は急性毒性として目、鼻、喉への刺激、高濃度で悪心、頭痛が報告されている。

6. Brominated Diphenyl Ethers (1992/8/24)

brominated diphenyl ethersのグループは、化学物質の中でも特に最近関心が高い。penta-, octa-およびdecabromodiphenyl etherのみが商業的に関心がもたれている。西ヨーロッパでの生産と輸入は1986から1989の4年間に27%増加した。brominated diphenyl ethersは種々の樹脂、ポリマーやゴム、ペイントおよび繊維原料に使われる。polybrominated diphenyl ethersの熱分解の際に、ハロゲン化されたジベンゾフラン(PBDFs)およびダイオキシン(PBDDs)が生成される。例えば

penta-, octa- および decabromodiphenyl ether の熱分解を510~630℃で行うとPBDFsおよびPBDDsが1分間に収量の10%に達する。職場でのこれらの物質への暴露は成型工場における労働者に起こる。実験成形機を用いた場合、作業環境濃度はTetrachlorodibenzodioxin換算濃度で0.76 ng/m³を示した。2,3,7,8-Tetrabromodibenzodioxinは大気中では検出されなかったが、作業員の血液中から100~500 ng/kg 脂肪の濃度で検出された。公衆の暴露については、新しいテレビから室内に逃げるPBDFsの濃度はtri-, tetra- および penta-臭化ベンゾフランが、それぞれ25, 2.7, および0.5 μg/m³と報告されている。

各論として、特にoctabromodiphenyl ether およびdecabromodiphenyl etherに関しては、環境への移動・分布・変化、および実験動物による毒性試験結果について詳細に記載されている。双方の臭化物はラットの急性経口試験でLD₅₀は>28 g/kg 体重で弱い毒性であった。また、例えば、octabromodiphenyl etherの高濃度の投与により肝臓での臭素濃度の増加、体重の減少、ヘマトロジカルパラメータの数値の減少がみられた。吸入試験でも高濃度では、肝臓細胞の膨化などの所見が観察された。

7. Amitrole (1992/10/1)

amitrole (3-amino-1,2,4-triazole) は水・エタノールによく溶け、ヘキサン・トルエンのような有機溶媒にわずかに溶ける。無色の結晶である。amitroleは天然には存在せず、蟻酸とアミノグアニジンから工業的に製造され、1年生および多年生の雑草のようなタイプの草や葉に除草剤として広く使用されている。したがって、植物、土壌、水、大気などから検出されている。土壌および植物中では急速に分解されるが、水中では安定で生物に吸収され易い。急性毒性は非常に低くラットの経口投与におけるLD₅₀は4000 mg/kg 以上であり、他の投与経路でも低毒性である。短期および長期の暴露での主たる影響は、甲状腺への甲状腺腫誘発作用である。人への影響については、事故の時、20 mg/kgの暴露量で中毒の症状はなく速やかに尿へ排泄された。100 mgのamitroleの経口投与は、健常者および甲状腺機能障害患者のどちらにおいても甲状腺による放射性ヨードの摂取を阻害した。

8. Chlorothalonil (1992/10/1)

chlorothalonilは無色無臭の結晶性の固体であり、オクタノール/水分配係数(log P_{ow})は4.38であ

る。pH 9でゆっくり加水分解しpH 7で安定である。殺菌剤として広く農業用だけでなく芝生や鑑賞用植物にも使用されている。作物残留性は概して低いか、あるいは検出されないかである。飼料中250 mg/kgのchlorothalonilを30日間与えられた牛のミルク中には検出されなかった。ラットにおけるchlorothalonilの経口・経皮による急性毒性はどちらも低い(LD₅₀は10000 mg/kg)。しかし、反復経口投与では、chlorothalonilの刺激による胃と腎臓の損傷がみられた。chlorothalonilを生漕与えられたラットには胃がんがみられたが、突然変異原性はみられない。催奇形性もラットやウサギでは見いだされなかった。人への影響としては、職場での暴露が多く、製造現場、防腐剤としてchlorothalonilを含んだ木材などへの皮膚接触およびchlorothalonilを使用した農夫の皮膚接触などの報告例がある。

9. Diflubenzuron (DBF) (1992/11/13)

diflubenzuronは無色の結晶で水と無極性溶媒にはほとんど溶けない。また酸には安定でアルカリによって分解し、固体状態では太陽光に対し安定である。DBFはベンゾイルフェニルウレア系殺虫剤に属し、昆虫の角質中のキチンの沈着を妨害する。DBFは摂取および接触殺虫剤として効果的であり、経口摂取した幼虫は次の脱皮までは生き延びることができるがその後確実に死亡する。施用後、56日間は残留し、減少は比較的遅い。1, 5および10 ppm濃度で施用された後、貯蔵された麦の23ヵ月後の残留量は0.59, 2.75および5.00 ppmであった。森林昆虫や蚊の駆除のために用いられるとき、DBFの水や食品経由の一般の人の暴露は無視できる。急性毒性は低い(LD₅₀はラットの経口摂取で4640 mg/kg体重以上)が、DBFの存在はメトヘモグロビンとスルフヘモグロビン形成の原因となることが知られている。メトヘモグロビン形成は実験動物では最も敏感な毒性パラメータと考えられる。

10. Inorganic Lead (1992/12/3)

鉛(Lead: 原子番号, 82; 原子量, 207.19; 比重, 11.34)は青みがかった、あるいは銀灰色の柔らかい金属である。4つの同位体(量の多い順に208, 206, 207および204)をもち、種々の鉱物資源に対し同位体比率がしばしば大きく異なる。この性質が非放射性トレーサーを用いた環境および代謝の研究に利用されてきた。硫化鉛のような無機塩および鉛の酸化物は水に溶けにくく、硝酸塩、塩素酸塩、およびやや程度は劣るが塩化物は水に溶ける。

無機鉛ではないがアルキル鉛は環境における重大な鉛の汚染源となっている。世界の鉛の消費量は、1987年が560万トンであり1982年頃にやや低下したが1965年から増え続けている。多数の汚染源から複合した経路を通して公衆への鉛暴露が起こっている。胎児は妊婦を通して、乳児は母乳から、また幼児は埃や鉛ペイントのような食品以外の鉛に曝されている。成人はアルコール消費(ワインやウイスキー)と喫煙(2.5~12.2 μg 鉛/1本)も鉛暴露を増加させ、食事(特に魚介類、缶詰など)の違いも顕著に影響する。鉛はヘム合成を阻害し、血液および尿中のヘム前駆物質の異常な高濃度の原因となることが知られている。リン酸鉛や酢酸鉛などは実験動物に対し発がん性があるという十分な証拠が得られているが「人に対して発がんの可能性については不十分である」とIARCによって結論されている(1987)。

11. Scientific Principles for Assessment of Risk to Human Health Associated with Chemical Exposures (1993/1/5)

ドラフト「化学物質への暴露に関する健康影響評価の科学的原則」は、177ページより構成されている。本EHCは、他のEHCにおける、化学物質への暴露による健康影響評価の指針を与え、また各国での安全性評価の参考となることが期待されている。IPCSの作業グループによって1992年の3月に改訂された。IPCS/EHCの窓口となっている各国の機関に対し、コメントする機会を作ると同時に、次のようなことをチェックするために回覧している。

a. 記述された原則を支えるために必要とされる重要な研究が含まれているかどうか。

b. このレビューの声明が科学的に正確でありかつ完成しているかどうか。

12. Tetrabromobisphenol-A and Derivatives (1993/2/10)

tetrabromobisphenol-A (TBBPA)は、エポキシ樹脂やビニルエステル樹脂等の製造に使用され、また難燃剤として、種々の化合物中に混合されたり表面にコーティングされて用いられる。使用量は1982年にアメリカで5000~6350トン、日本では1987年に14000トンと報告されている。ラットへの単回経口投与ではLD₅₀は>50 g/kg体重であり、毒性の特別な徴候はなかった。短期暴露試験では経口による高濃度の投与の場合も毒性による徴候はみられなかった。催奇形性試験ではラットに対する

10 g/kg 体重での強制経口投与で、5 匹中 3 匹の母獣が死に、残りも毒性による徴候がみられた。3 g/kg 体重前後ではこの徴候はみられなかった。

13. Glyphosate (1993/3/26)

glyphosate は、グリシンとリン酸メチルからなっている弱い有機酸である。水に良く溶ける。多年生、1 年生、2 年生の幅広い雑草の除草剤として散布され、農業と林業に用いられる。glyphosate は Ca^{2+} や Mg^{2+} の塩として存在すると、底質、懸濁粒子および土壤に吸着し、植物に摂取され、分解される。蒸気圧は低く、数日から 91 日で 50% が水から消失する。経口および経皮投与で非常に弱い毒性を示す。glyphosate の塩によっては毒性があり、腹腔内注射では明らかに他の経路より毒性がはっきりしている。体内では骨の中に高濃度で検出されるが、カルシウムやマグネシウムとのキレート化が原因である。

14. Triallate (1993/3/26)

純品の triallate は琥珀色、油性の液体であり、およそ 200°C で分解する。有機溶媒と水に溶け、また UV による分解には安定である。triallate は主に大麦中の野生のカラス麦の除草剤として使用される。世界の生産量は 5000 トンで、人の暴露による

危険が予想される。triallate は残留物が食物摂取あるいは吸入によって体内に取り入れられ、速やかに排泄される。ニワトリに経口投与された後、10 日で鶏卵中に 5% 以下の量が検出された。ラットやマウスでの急性経口投与では弱い毒性を示す。急性経皮毒性も低い。反復投与あるいは長期投与した場合には、吸入による影響がより問題となる。

寄せられたコメント

4. Report of IPCS Discussions on Deriving Guidance Values for Health-Based Exposure Limits について、環境庁から表記の仕方などに関して 4 件のコメントがあった。

11. Scientific Principles for Assessment of Risk to Human Health Associated with Chemical Exposures について環境庁地球環境部企画課よりコメントが寄せられた。「ドラフトでは、発がん性物質の評価には、すべて数学モデル（マルチステージ等）を使用すべきとの印象が強いが、遺伝子障害を伴わない発がん性物質については、このようなモデルを使用すべきではないと考えている」など、37 カ所にわたりコメントされた。

高速液体クロマトグラフィーによる食品中のニコチン酸および
ニコチン酸アミドの試料溶液の調製法の検討

辻 澄子・鯉口 智*¹・成田美加子*¹
晒 由香子*²・柴田 正・伊藤誉志男

Studies on the Preparation of Sample Solution for
Determination of Nicotinic acid and Nicotinamide in
Foods by High Performance Liquid Chromatography

Sumiko Tsuji, Satoshi Koiguchi*¹, Mikako Narita*¹,
Yukako Sarashi*², Tadashi Shibata and Yoshio Ito

A method for preparation of sample solution for determination of nicotinic acid (NA) and nicotinamide (NAA) in foods by high performance liquid chromatography has been studied.

NA and NAA were simultaneously extracted from foods with methanol, then the extracts were cleaned up by use of a Sep-Pak tC18 cartridge. NA and NAA in each sample solution were determined by high performance liquid chromatography.

Recoveries of NA and NAA from various foods spiked at levels of 25 and 250 μg/g were not less than 70%.

Keywords : nicotinic acid, nicotinamide, high performance liquid chromatography, food, Sep-Pak tC18

(Received May 31, 1993)

緒 言

「食品衛生検査指針-食品中の食品添加物分析法」¹⁾による食品中の遊離ニコチン酸 (NA) およびニコチン酸アミド (NAA) の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法では試料溶液の調製法では除蛋白操作だけのため、HPLCクロマトグラム上蛋白以外の食品中の夾雑成分のピークと NA および NAA のピークの分離が悪い。そこで、メタノール抽出した後、Sep-Pak アルミナ N カートリッジ処理による精製を行った後、NA および NAA を別々の試料溶液として調製し、HPLCによる測定方法が利用されている^{2,3)}。しかし、この方法では、NA および NAA の試料溶液が別々であるため、別々に HPLC による定量を行わなければならないので、時間的に無駄が多い。

今回、HPLCによる遊離の NA および NAA の

分析法の簡素化を目的として、試料溶液の調製法を検討した。

実 験 方 法

1. 試 料

市販の各種生鮮および加工食品で NA および NAA の添加表示のないものを購入して用いた。

2. 試 薬

メタノール (MeOH) : Merck 社製高速液体クロマトグラフ用を使用し、遮光保存した。

NA および NAA の標準品 : 国立衛生試験所標準品を用いた。

その他の試薬は試薬特級品を用いた。

3. 試 液

1) 0.5 M 酢酸ナトリウム液 : 酢酸ナトリウム (CH₃COONa·3H₂O) 68.04 g をとり、水に溶解して、全量 1 L とした (0.5 M)。

2) 酢酸-テトラブチルアンモニウム緩衝液 [Ac·TBA 緩衝液 (pH 5.0)] : 0.5 M 酢酸ナトリウム 10 ml および 10% テトラブチルアンモニウムヒドロ

*¹ 神戸検疫所

*² 大阪薬科大学

キシド水溶液 (イオンペアクロマトグラフィー用) 2.6 ml をとり、水 800 ml を加え、希酢酸約 1 ml で pH 5.0 に調整し、水で全量 1 L とした後、メンブランフィルターによりろ過した。

3) MeOH-Ac·TBA 混液 (1:5) {HPLC 溶離液}: MeOH 200 ml に Ac·TBA 緩衝液 1000 ml を加えて混和し、HPLC 溶離液とした。用時調製した。

4) 標準 NA および NAA 混合溶液: NA および NAA 標準品の各 10 mg を正確に量り、各々水を加えて溶かし、正確に各々全量 100 ml とし、標準 NA 原液および標準 NAA 原液 (各々 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) とした (冷蔵保存)。これら原液を各々 0.1, 1, 2, 3, 4, 5, 15, 25 および 40 ml をそれぞれ正確に量り、MeOH-Ac·TBA 混液を加えて正確に全量 50 ml として、標準 NA および NAA 混合溶液 (各々 0.2, 2, 4, 6, 8, 10, 30, 50 および 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$) とした。

4. 器具および装置

1) Sep-pak tC18 カートリッジ: Waters 社製を用い、あらかじめ MeOH 5 ml および水 5 ml で順次洗浄した。

2) HPLC カラム: ガードカラム—LiChroCART® [LiChrosorb® RP-18 (5 μm), メルク製], 本カラム—① SUMIPAX PG ODS 100 (住化分析センター, 7 μm , 4.6×250 mm), ② BECKMAN ODS (BECKMAN, 5 μm , 4.6×250 mm), ③ Inertsil ODS 2 (GL サイエンス株), 4.6×250 mm), ④ Nucleosil 100-5C18 (ナーゲル社 (ドイツ), 5 μm , 4.6×250 mm)

3) HPLC 装置: 日本分光工業株製 870-UV, Intelligent UV/VIS Detector および 880-PU Intelligent HPLC Pump, 記録計としてシステムインスツルメンツ株製 SIC Labchart 180.

5. 操作法

1) 試料溶液の調製

1)-1 Sep-Pak tC18 処理

固体試料 20.0 g に MeOH 70 ml を加え磨砕抽出し、MeOH で全量 100 ml とし、ろ紙ろ過を行った。そのろ液 10 ml を減圧乾固した後、MeOH-Ac·TBA 混液 (1:5) 5 ml に十分に溶解又は懸濁し、必要ならば、遠心分離し、その上澄液全量を Sep-Pak tC18 カートリッジに通し、通過液を採取した。更に MeOH-Ac·TBA 混液 (1:5) 5 ml を通し、全通過液を合わせ、全量 10 ml とし、メンブランフ

ィルター (0.45 μm : 水系) でろ過し、NA および NAA の HPLC 用試料溶液とした。

1)-2 除蛋白処理

「食品衛生検査指針-食品中の食品添加物分析法」¹⁾に従った。

2) HPLC 測定: HPLC 用試料溶液 10 μl を HPLC に注入して HPLC 測定を行った。

<HPLC 条件> 溶離液として MeOH-Ac·TBA 混液 (1:5) を用い、検出波長 261 nm, 検出感度 0.04 AUFS, 流速 1.0 ml/min, 注入量 10 μl , 40°C で測定した。

結果および考察

1. HPLC カラムについての検討

HPLC による測定には種々の HPLC カラムが用いられている^{2,4,5)}。今回、我々はイオン対 HPLC 溶離液である MeOH-Ac·TBA 混液 (1:5)^{2,3,4)} を用いて、① SUMIPAX PG ODS 100, 4.6×250 mm, ② BECKMAN ODS, 4.6×250 mm, ③ Inertsil ODS 2, 4.6×250 mm, ④ Nucleosil 100-5C18, 4.6×250 mm について NA および NAA の分離度を標準混合溶液および牛肉試料溶液について検討した。

Fig. 1 の破線で示したように、いずれのカラムも標準の NA および NAA の分離は良好であった。一方、食品衛生検査指針による分析法にしたがって作成した牛肉試料溶液は Fig. 1 ④の一点鎖線で示したように、妨害が大きくほとんど同定できなかった。しかし、Sep-Pak tC18 処理をした牛肉試料溶液の場合は Fig. 1 の実線に示したように、食品夾雑成分との間に分離が認められ、特に Fig. 1 ③ Inertsil ODS 2 および ④ Nucleosil 100-5C18 カラム上での分離は良好であった。これらのカラムにおける検量線は NA および NAA のいずれについても原点を通る良好な直線性が得られた。試料に対する定量限界は、0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。なお、標準溶液は冷蔵庫保存で 2 週間は安定であったが、3 週目の HPLC クロマトグラム上では NA および NAA の保持時間の間に新たなピークが出現し、NA および NAA のピーク面積が調製時のクロマトグラムより小さくなった。また、カラムの保守を考えて、ガードカラムとしてカートリッジ式の LiChroCART® [LiChrosorb® RP-18 (5 μm)] を用いたが、本カラム単独の場合と殆ど差異を認めなかった。

2. 試料溶液の調製法についての検討

Sep-Pak tC18 カートリッジ処理による精製は

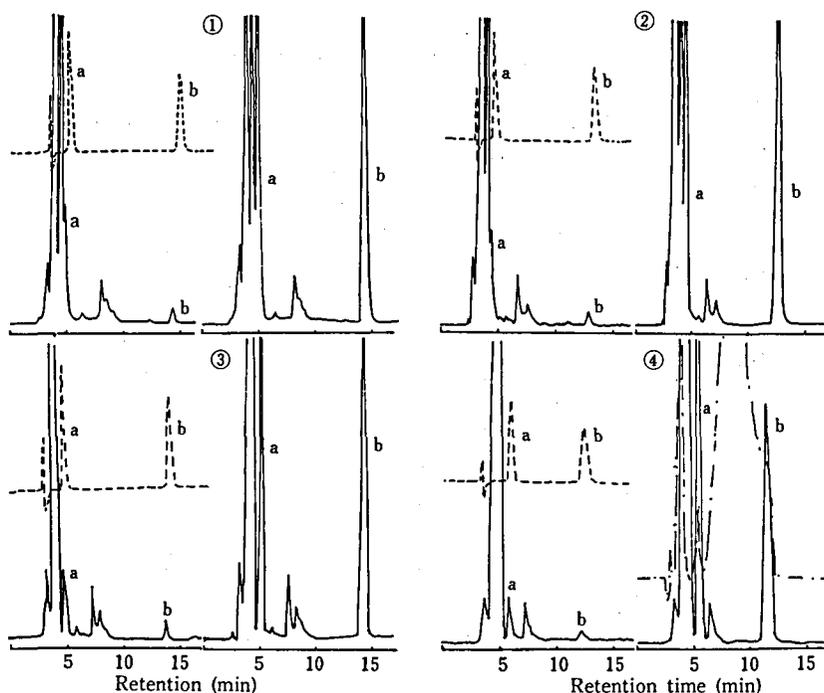


Fig. 1. High performance liquid chromatograms obtained on various columns

① : Sumipax, ② : Beckman, ③ : Inertsil ODS 2, ④ : Nucleosil.

a : NAA, b : NA.

Broken line : standard solution (10 μ g/ml).

Solid line : sample solution without standard (left) and with standard (right) using Sep-Pak tC18 cartridge.

Chain line : sample solution with standard using deproteinizing agent.

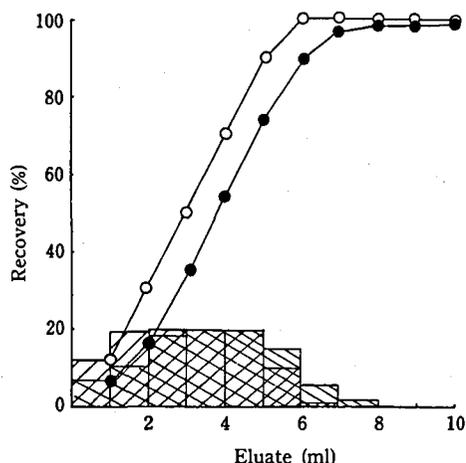


Fig. 2. Elution pattern of nicotinic acid and nicotinamide

Elution solvent : mixture of methanol and Ac-TBA (1 : 5)

- : integrated recoveries of fraction.
- : NA ▨ : fraction of NA.
- : NAA ▩ : fraction of NAA.

HPLC カラムの分離を利用した方法であるため、シアン配糖体などの簡易分析法として用いられている^{6,7)}。そこで、NA および NAA の試料溶液の調製に応用することにした。HPLC 溶離液である MeOH-Ac-TBA 混液 (1 : 5) による Sep-Pak tC18 カートリッジからの NA および NAA の溶出状態は Fig. 2 に示したように、MeOH-Ac-TBA 混液 (1 : 5) 10 ml で全量溶出した。

これらの食品からの夾雑ピークの分離状況は Fig. 1 に示したとおり良好であった。

また、調製した MeOH 抽出液および試料溶液は経時的に NA および NAA が減少する傾向が見られたので以後の実験では、HPLC 測定は調製後直ちに行うことにした。

3. 添加回収率

各食品に標準 NA および NAA を試料に対して 25 および 250 μ g/g 添加し、Sep-Pak tC18 カートリッジによる精製を行ったときの添加回収率を

Table 1. Recoveries of nicotinic acid and nicotinamide from foods using Sep-Pak tC18 cartridge for sample pre-treatment

Sample	Added ($\mu\text{g/g}$)	Found*1 ($\mu\text{g/g}$)	NA Recovery(%) ^{*2}	Found ($\mu\text{g/g}$)	NAA Recovery(%)
Salmon	0	3.6	—	53.4	—
	25	26.7	92.4 \pm 1.5	77.2	95.3 \pm 3.0
Tuna	0	4.5	—	104.1	—
	25	27.4	91.4 \pm 1.6	131.4	109.0 \pm 4.0
Flatfish	0	ND ^{*3}	—	7.3	—
	25	24.2	96.9 \pm 3.3	34.6	109.1 \pm 5.3
Horse mackerel	0	0.9	—	44.3	—
	25	25.8	99.7 \pm 1.4	67.7	93.4 \pm 8.6
Sardine	0	6.7	—	62.6	—
	25	30.8	96.2 \pm 3.3	81.5	75.4 \pm 24.1
Lobster	0	13.1	—	ND	—
	25	36.9	95.1 \pm 5.2	17.9	71.7 \pm 11.9
Scallop	0	ND	—	ND	—
	25	22.4	89.6 \pm 2.2	19.0	76.1 \pm 4.5
Octopus,boiled	0	ND	—	ND	—
	25	21.6	86.5 \pm 3.5	22.8	91.1 \pm 0.3
Wary crab,boiled.	0	ND	—	4.4	—
	25	17.5	69.9 \pm 0.8	28.1	94.8 \pm 0.9
Beef	0	3.0	—	41.2	—
	25	26.9	95.5 \pm 4.0	66.1	99.4 \pm 12.0
Pork	250	246.5	97.4 \pm 0.4	287.7	98.6 \pm 0.2
	0	ND	—	65.8	—
Pork liver	25	24.4	97.7 \pm 0.6	89.6	95.2 \pm 14.3
	0	1.6	—	99.7	—
Chicken	25	27.0	101.6 \pm 4.8	126.7	107.9 \pm 24.5
	0	ND	—	84.5	—
Chicken egg	25	22.7	90.6 \pm 1.4	111.9	109.7 \pm 16.2
	0	ND	—	ND	—
Milk	25	27.4	109.5 \pm 0.9	23.1	92.3 \pm 1.1
	0	ND	—	ND	—
Yogurt	25	25.5	102.0 \pm 7.4	20.8	83.0 \pm 0.7
	0	ND	—	ND	—
Cheese	25	25.7	102.9 \pm 6.2	24.0	96.1 \pm 1.8
	0	ND	—	2.5	—
Margarine	25	23.3	93.3 \pm 3.5	27.2	98.9 \pm 2.9
	0	ND	—	0.2	—
Carrot	25	20.9	83.7 \pm 16.9	21.7	85.8 \pm 20.1
	0	ND	—	0.9	—
Chinese cabbage	25	23.8	95.3 \pm 19.8	22.4	85.8 \pm 4.7
	0	ND	—	ND	—
Strawberry	25	24.2	96.9 \pm 3.0	22.9	91.5 \pm 11.9
	0	2.5	—	ND	—
Hijiki,dried	25	25.2	90.9 \pm 8.2	21.7	86.7 \pm 4.6
	0	1.7	—	ND	—
	25	26.2	97.9 \pm 3.0	21.7	86.7 \pm 3.3

*1 This value represents mean of three examinations.

*2 Each value represents mean \pm S.D.*3 Not detected:less than 0.5 $\mu\text{g/g}$.

Table 1に示した。その結果、いずれの食品においても70%以上の良好な添加回収率が得られた。今回の試料では食品中の夾雑成分と良好な分離を示したが、もし、食品の夾雑成分との分離が悪い場合は、食品からのMeOH抽出液をそのまま、Sep-Pak アルミナNカートリッジによる精製^{2,3)}を行える利点があり、簡易法として十分使用可能であると考えられる。

ま と め

食品中の遊離のNAおよびNAAを高速液体ク

ロマトグラフィーを用いて測定するための試料溶液の調製法を検討した。Sep-Pak tC18カートリッジによって精製することによりNAおよびNAAの試料溶液が調製でき、種々の食品に対して良好な添加回収率が得られた。

文 献

- 1) 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. 381~382, 日本食品衛生協会, 東京 (1989)
- 2) 大石充男, 天川映子, 萩原 勉, 田口信夫, 大西

- 和夫, 西島基弘：食肉中のニコチン酸およびニコチン酸アミド分析法およびそれらの保存中の変化. 食衛誌, 29, 32~37 (1988)
- 3) 大石充男, 池島伸至, 入倉善久, 古川裕季子, 大西和夫, 寺山 武, 西島基弘, 中澤裕之：食肉中のニコチン酸アミドからニコチン酸生成に関与する細菌の検討. 食衛誌, 32, 25~29 (1991)
- 4) 吉田宏三, 山本行隆, 藤原光雄：食品中のニコチン酸およびニコチン酸アミドの高速液体クロマトグラフィーによる分離分析法. 食衛誌, 23, 428~433 (1982)
- 5) 角田光淳, 井上典子, 岩崎弘子, 秋谷正人, 長谷部昭久：食品中のニコチン酸およびニコチン酸アミドの迅速同時分析と貯蔵中における挙動. 食衛誌, 29, 262~266 (1988)
- 6) 寺田久屋, 山本勝彦：高速液体クロマトグラフィーによる梅加工食品中のシアン配糖体, ベンズアルデヒドおよび安息香酸の同時定量法の検討. 食衛誌, 33, 183~188 (1992)
- 7) 寺田久屋, 山本勝彦：梅加工食品中のシアン配糖体およびその分解物の含有量調査. 食衛誌, 33, 189~195 (1992)

平成4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・梅本美佳・辻 澄子・伊藤誉志男

Estimated production by the Official Inspection of Coal-Tar
Dyes (including Dye Aluminum Lakes) in 1992.Tadashi Shibata, Mika Kimura, Mika Umemoto,
Sumiko Tsuji and Yoshio Ito

The number of official inspection of coal-tar dyes and their lakes from April in 1992 till March in 1993 were 711 in total.

The quantity which passed inspection amounted to 201 ton in Japan.

The production of color in each month was summarised in Table 1, and by each producing company in Table 2.

The food coal-tar dye produced in the largest quantity was Food Yellow No. 4, occupying 40.7% during this period.

Keywords : food color, official inspection, production

(Received May 31, 1993)

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おり、わが国における食用タール色素の製品検査は大阪支所食品試験部で行われている。

製品検査申請書には申請数量(300kg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、医薬品用、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。したがって、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4年4月1日から平成5年3月31日までに申請された711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。

平成3年度(前年度)¹⁾と比較すると総量では240トンから201トンと39トン(約16%)減少した。主な要因は食用黄色4号が21トン、食用黄色5号が8.2トン減少したためである。

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。

色素別製造量では、第1位の食用黄色4号が110トン(平成2年度)¹⁾、103トン(平成3年度)²⁾から82トン(平成4年度)と年々減少したが、第2位の食用赤色102号の生産量は44.8トン(平成2年度)¹⁾、44.2トン(平成3年度)²⁾および43.7トン(平成4年度)と変わらず、食用黄色5号は38.0トン(平成2年度)¹⁾、42.4トン(平成3年度)²⁾から34.2トン(平成4年度)と減少した。

色素別比率の年次変動は、第1位の食用黄色4号が46.2%(平成2年度)¹⁾、42.9%(平成3年度)²⁾から40.7%(平成4年度)と年々減少した。これに対応して第2位の食用赤色102号は18.9%(平成2年度)¹⁾、18.4%(平成3年度)²⁾および21.7%(平成4年度)と増加した。他の色素は殆ど増減がなかった。

製造社別では製造量の多い順にA, B, C, E, D, F社であり、D社とE社とが入れ替わった以外、平成3年度と順位に変動はなかった。

また、製造量ではA社が84.5トン(42.0%)と最も多く、ついでB社67.4トン(33.5%)、C社17.9トン(8.9%)、E社13.8トン(6.9%)、D社10.8トン(5.4%)、F社6.2トン(3.1%)であった。

表 1 平成4年度 食用色素月別許可量

食用色素名	平成4年度												平成3年度				
	申請月												合計	色素別比率(%)			
	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	300	---	300	---	---	---	---	200	600	---	300	---	---	2000	0.99	3800	1.58
赤色3号	900	800	700	600	1414	300	1850	750	600	1200	900	900	---	10914	5.42	13080	5.49
赤色40号	5	---	---	---	---	---	15	---	---	---	---	---	---	20	0.01	500	0.21
赤色102号	5870	---	5300	2700	8000	1500	6300	3300	2700	3000	3300	3300	---	43870	21.69	44185	18.39
赤色104号	400	---	1500	---	475	---	150	---	---	---	---	---	300	2825	1.40	4160	1.73
赤色105号	---	---	---	200	---	---	---	---	---	---	---	---	---	200	0.10	300	0.12
赤色106号	460	160	1240	660	160	300	1380	620	300	---	625	620	620	6525	3.24	6850	2.85
黄色4号	9600	1500	8400	7060	9748	3000	13350	7472	5400	1800	7200	7500	7500	82028	40.74	103089	42.92
黄色5号	4190	1800	1500	2880	4505	900	4200	3300	4400	1200	900	4470	4470	34245	17.01	42405	17.65
青色1号	750	240	800	1097	300	500	1570	300	400	300	1500	875	875	8632	4.29	8610	3.58
青色2号	---	---	300	70	300	---	150	---	---	---	5	180	180	1005	0.50	1359	0.57
赤色2号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0
赤色3号レーキ	---	---	---	200	---	---	370	---	---	---	300	300	300	1170	0.58	2000	0.83
赤色40号レーキ	---	---	---	---	---	---	70	---	---	---	---	---	---	70	0.03	65	0.03
黄色4号レーキ	---	---	300	300	---	---	500	900	300	---	---	550	550	2850	1.42	3600	1.50
黄色5号レーキ	---	300	300	200	---	---	440	900	---	300	---	600	600	3040	1.51	4400	1.83
青色1号レーキ	---	---	300	---	---	---	100	300	---	300	800	---	---	1800	0.89	1500	0.62
青色2号レーキ	---	---	---	---	---	---	380	---	---	---	---	---	---	360	0.18	300	0.12
合計	22275	4800	20940	15967	22900	7540	32065	16842	14400	8600	15030	20195	20195	201354	---	---	---
生産量月別比率(%)	11.06	2.38	10.40	7.93	11.37	3.74	15.92	8.27	7.15	4.27	7.46	10.03	10.03	100.00	---	---	---
前年度合計	28080	15724	20510	15890	24250	19495	23620	17430	17260	19100	15460	23284	23284	---	---	240203	---
月別比率(%)	11.69	6.55	8.54	6.06	10.10	8.12	9.83	7.26	7.19	7.95	6.44	9.69	9.69	---	---	---	100.00

(単位: Kg)

表 2 平成 4 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 4 年度		平成 3 年度	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	合計	色素別比率(%)	合計	色素別比率(%)		
赤色 2 号	1400	600	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2000	0.99	3800	1.58		
赤色 3 号	4810	1500	300	2700	---	1500	---	104	---	---	---	---	10914	5.42	13080	5.49		
赤色 4 0 号	15	---	---	---	---	---	5	---	---	---	---	---	20	0.01	500	0.21		
赤色 1 0 2 号	11800	15900	5100	1200	7500	2100	---	---	70	---	---	---	43670	21.69	44185	18.39		
赤色 1 0 4 号	250	1800	225	---	---	300	---	250	---	---	---	---	2825	1.40	4160	1.73		
赤色 1 0 5 号	---	200	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	200	0.10	300	0.12		
赤色 1 0 6 号	2420	2700	300	600	300	200	5	---	---	---	---	---	6525	3.24	6850	2.85		
黄色 4 号	33728	32700	8400	300	5100	1800	---	---	---	---	---	---	82028	40.74	103089	42.92		
黄色 5 号	17140	7500	2700	6000	600	---	5	---	300	---	---	---	34245	17.01	42405	17.65		
青色 1 号	5042	2700	300	40	300	250	---	---	---	---	---	---	8632	4.29	8610	3.58		
青色 2 号	400	300	300	---	---	---	5	---	---	---	---	---	1005	0.50	1359	0.57		
赤色 2 号レーキ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	0	0		
赤色 3 号レーキ	970	200	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1170	0.58	2000	0.83		
赤色 4 0 号レーキ	70	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	70	0.03	65	0.03		
黄色 4 号レーキ	2250	600	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2850	1.42	3600	1.50		
黄色 5 号レーキ	2440	600	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3040	1.51	4400	1.83		
青色 1 号レーキ	1500	---	300	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1800	0.89	1500	0.62		
青色 2 号レーキ	260	100	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	360	0.18	300	0.12		
合 計	84695	67400	17925	10840	13800	6150	20	354	300	70	0	0	201354	---	---	---		
製造社別比率(%)	41.96	33.47	8.90	5.38	6.85	3.05	0.01	0.17	0.14	0.03	0	0	---	100.00	---	---		
前年度合計	107693	73935	17965	9700	21300	9190	39.65	300	300	0	80	300	---	---	240203	---		
製造社別比率(%)	44.58	30.78	7.48	4.04	8.87	3.83	0.02	0.12	0.12	0	0.03	0.12	---	---	---	100.00		

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)
- 2) 柴田 正, 木村実加, 川本礼子, 辻 澄子, 伊藤 誉志男：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. 衛生試報, 110, 129~131 (1992)

国立衛生試験所葉酸標準品 (Control 921)

北島 文・吉井公彦・小松裕明
石光 進・岡田敏史

Folic Acid Reference Standard (Control 921) of National
Institute of Health Sciences

Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

Folic acid was tested for the preparation of "Folic Acid Reference Standard (Control 921)". The quality of the raw material was examined and compared with the previous Folic Acid Reference Standard (Control 862). Analytical data obtained were as follows: water content, 7.52 %; free amines, 0.1%; infrared spectrum, the same as that of the JP Reference Standard; thin-layer chromatography, three impurities were detected; high-performance liquid chromatography (HPLC), two impurities were detected; assay, 101.2% by spectrophotometry at 550 nm and 100.4% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 921).

Keywords : folic acid, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1993)

第十二改正日本薬局方「葉酸」, 「葉酸錠」および「葉酸注射液」の定量に用いられる国立衛生試験所葉酸標準品 (Control 921) を製造したので報告する。

1. 原 料

標準品原料は武田薬品工業㈱より購入した。同社による試験成績は次のとおりである: 遊離アミン, 0.09%; 水分, 7.8%; 定量(脱水物換算), 100.1%。

2. 参照物質および試薬

日局葉酸標準品 (Control 862; 以後, 日局標準品と略称する)¹⁾ およびパラアミノベンゾイルグルタミン酸 (PABGA) 標準品 (Control 801) を対照に試験を行った。パラアミノ安息香酸 (PABA) およびそのほかの試薬類は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

本品の品質試験にあたり, 以下の測定装置類を用いた: 自記分光光度計 (日本分光, Ubest-50 型), FT-IR 形赤外分光光度計 (日本分光, VALOR-III 型), 微量水分測定装置 (平沼産業, AQ-6 型)。また, 液体クロマトグラフ装置は島津製作所製の 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, 第十二改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「葉酸」の試験法を準用した。

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ト薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒: *n*-プロパノール・アンモニア試液混液 (70:30), 試料溶液および標準溶液: 本品および葉酸標準品 20 mg をとり, アンモニア試液 1 ml を加えて溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。別に, 想定される不純物として PABGA および PABA の適当量をスポットし, *R_f* 値を求める。操作法および検出法: 試料溶液および標準溶液の 5 μ l および 10 μ l を薄層板にスポットし, 約 10 cm 展開したのち, 風乾する。これを紫外線 (主波長 254 nm) 照射下で観察する。

2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

本品および日局標準品約5 mgずつを量り、それぞれを0.1 N 水酸化ナトリウム試液10 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 μ 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 (測定波長：254 nm)

カラム：Inertsil ODS-2 (4.6 mm ϕ ×250 mmL)

移動相：過塩素酸ナトリウム 35.1 g, リン酸二水素カリウム 1.4 g に水 900 ml を加えて溶かし、アセトニトリル 40 ml を加えた後、水を加えて 1000 ml とする。この液に水酸化カリウム試液を加えて pH 4.3 に調製し、移動相とする。

流速：1.2 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し、得られた主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約10%の高さにな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。更に、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時、そのピーク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²⁾。

5. 試験結果

(1) だいたい黄色の結晶性粉末で、においはない。

(2) 紫外吸収スペクトル：本品0.02 gを希水酸化ナトリウム試液1000 mlに溶かしたときの紫外吸収スペクトルをFig. 1に示す。3つの吸収の極大が波長256 nm, 284 nmおよび365 nmの位置にそれぞれ観察された。

波長256 nmおよび365 nmにおける吸光度を A_1 ,

A_2 とするとき、吸光度比 A_1/A_2 は 2.86 ± 0.014 ($n=4$) であり、日局「葉酸」における規格 A_1/A_2 : 2.80~3.00 に適合する。

(3) 赤外吸収スペクトル：臭化カリウム錠剤法により測定した本品の赤外吸収スペクトルをFig. 2に示す。日局標準品の赤外吸収スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収が認められ、本品が葉酸であることが確認された。

(4) 純度試験

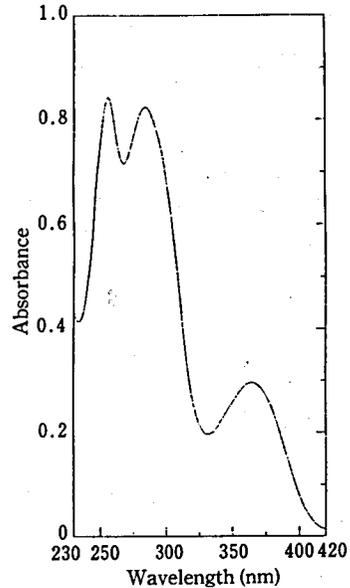


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate folic acid reference standard (Control 921)

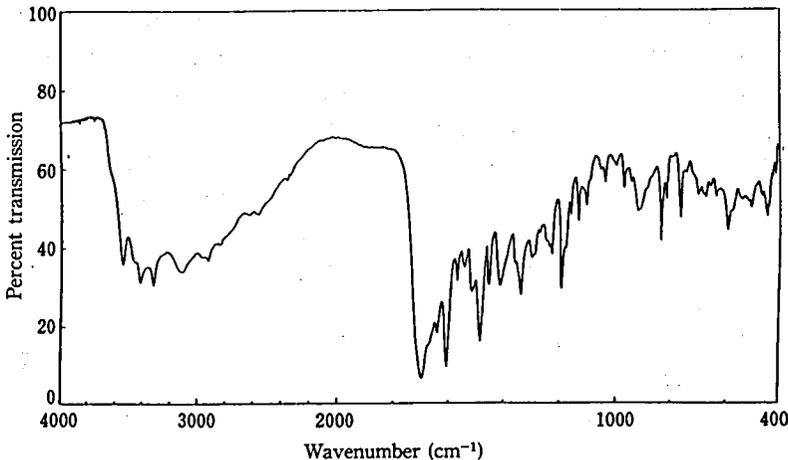


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate folic acid reference standard (Control 921)

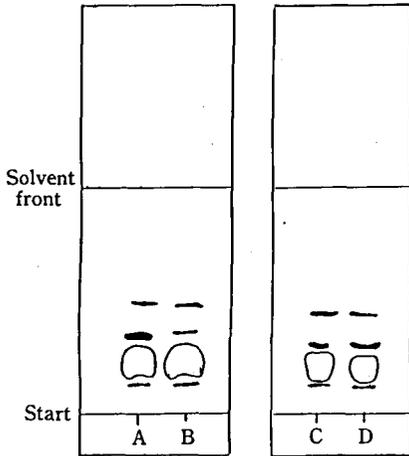


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and JP folic acid reference standard

Solvent system : n-propanol · 10% ammonia (70 : 30)

Spot : A & C are JP folic acid reference standard 200 and 100 μg each.

B & D are the candidate material 200 and 100 μg each.

Detection : UV at 254 nm

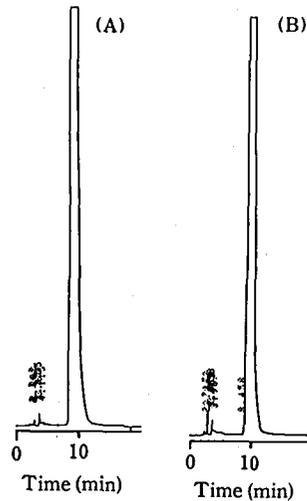


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP folic acid reference standard

(A) : the candidate material

(B) : the JP folic acid reference standard

(Control 862)

Conditions : column, Inertsil ODS-2 (4.6 mm ϕ × 150 mm) ; column temp., 40°C ; mobile phase, a mixture of 0.3M sodium perchlorate and acetonitrile (960 : 40), adjusted to pH=4.3 by potassium dihydrogen phosphate and potassium hydroxide ; flow rate, 1.2 ml/min ; detection wavelength, 254 nm

(a) 遊離アミン : 日局の方法で測定された本品の遊離アミン量は 0.1% (n=4) であった。

(b) TLC法 本品および日局標準品につき、葉酸として 100 および 200 μg 相当量をスポットしたときの薄層クロマトグラムを Fig.3 に示す。本品および日局標準品とも 3 個の不純物スポットがほぼ同様の位置に、同様の強度で検出された ($R_f=0.15, 0.35, 0.49$)。別に、PABGA および PABA 標準品のスポットから、 $R_f=0.35$ の不純物が PABGA に、 $R_f=0.49$ の不純物が PABA に相当することが明らかとなった。また、 $R_f=0.15$ の不純物は同定できていない。なお、本法による葉酸の検出限界は 0.05 μg であった。

(c) HPLC法 本品と日局標準品につき、HPLC法による純度試験を行った。これらの液体クロマトグラムの一例を Fig.4 に示す。本品 (A) および日局標準品 (B) とともに葉酸のほかに、溶媒ピークのすぐ後の溶出時間の早い位置に 2 個の鋭い不純物ピークが認められた。PABA および PABGA 標準品についての同一条件下での HPLC 保持時間より、 $t_R=2.9$ 分付近のピークが PABGA に、 $t_R=4.0$ 分付近のピークが PABA に相当するものと推定され

た。面積百分率法による本品の純度は $99.93 \pm 0.06\%$ (n=4)、日局標準品の純度は $99.81 \pm 0.033\%$ (n=3) と推定された。

(5) 水分 : カールフィッシャー水分測定法 (電量法) による本品および日局標準品 (Control 862) の水分は、それぞれ $7.52 \pm 0.11\%$ (n=3)、 $7.54 \pm 0.09\%$ (n=3) であった。

(6) 定量 : 日局の葉酸定量法を準用し、日局標準品を対照に吸光度測定法により定量するとき、 $101.24 \pm 0.26\%$ (n=4) の値が得られた。

別に、HPLC法による定量では $100.4 \pm 0.86\%$ (n=3) の値を得ている。

結 論

葉酸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が認められた。

終わりに、本標準品の製造にあたりご協力いただ

きました武田薬品工業㈱に深謝いたします。

文 献

- 1) 太田美矢子, 福岡正道, 田中 彰：国立衛生試験所葉酸標準品 (Control 861), 衛生試報, **105**,

82 (1987)

- 2) 木村俊夫, 綱川延孝, 中守律夫：副腎皮質ステロイドの標準品について, 医薬品研究, **17**, 143~173 (1986)

国立衛生試験所酢酸コルチゾン標準品 (Control 921)

泉 若江・北島 文・吉井公彦・小松裕明
石光 進・岡田敏史Cortisone Acetate Reference Standard (Control 921) of National
Institute of Health SciencesWakae Izumi, Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

The raw material of cortisone acetate was tested for the preparation of "Cortisone Acetate Reference Standard (Control 921)". The quality of the raw material was examined and compared with the previous Cortisone Acetate Reference Standard (Control 743). Analytical data obtained were as follows: loss on drying, 0.06%; melting point, 245.9°C (decomposition); optical rotation, $[\alpha]_D^{25} = +215.5^\circ$; UV spectrum, $\lambda_{\max} = 239$ nm and specific absorbance $E_{1\%}^{1\text{cm}}(239 \text{ nm}) = 393$; infrared spectrum, the same as that of the previous Reference Standard (Control 743); thin-layer chromatography, no impurities were detected up to 100 μg ; high-performance liquid chromatography (HPLC), three impurities were detected; assay, 100.5% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 921).

Keywords : cortisone acetate, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1993)

第十二改正日本薬局方「酢酸コルチゾン」および「酢酸コルチゾン水性懸濁注射液」の確認試験および定量法に用いられる国立衛生試験所酢酸コルチゾン標準品 (Control 921) を製造したので報告する。

1. 原料

標準品原料は萬有製薬(株)より購入した。

2. 参照物質および試薬

日本薬局方酢酸コルチゾン標準品 (Control 743 ; 以後、日局標準品と略称する)¹⁾を対照に試験を行った。試薬は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装置

本品の品質試験にあたり、以下の測定装置類を用いた：融点測定器 (宮本理研, PA-20S 型), 旋光計 (日本分光, DIP-370 型), 自記分光光度計 (日本分光, Ubest-50 型), 赤外分光光度計 (日本分光, IR-700 型)。また、液体クロマトグラフ装置は島津製作所製の 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、第十二改正日本薬局方の

一般試験法および医薬品各条「酢酸コルチゾン」の試験法を準用した。

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ッド薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒：1,2-ジクロロエタン・メタノール・水混液 (470 : 30 : 1), 試料溶液および標準溶液：本品および日局標準品約 10 mg ずつを精密に量り, クロロホルム・メタノール混液 (9 : 1) 1 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：試料溶液とその希釈液および標準溶液の 0.4~10 μl (酢酸コルチゾン 0.008~100 μg 相当量) を薄層板にスポットし, 約 10 cm 展開したのち, 風乾する。これを紫外線 (主波長 254 nm) 照射下で観察する。

2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

本品および日局標準品約 25 mg ずつを精密に量り, それぞれをメタノール 50 ml に溶かし, 試料溶液および標準溶液とする。これらの液 20 μl 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 (測定波長：254 nm)
 カラム：Inertsil ODS (4.6 mmφ×250 mmL)
 移動相：水・アセトニトリル混液 (3:2)
 流速：0.8 ml/min
 カラム温度：室温
 検出感度：試料注入量の1/100に相当する量を注入し、得られた主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約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。更に、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時、そのピーク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、においはない。
 融点：245.9℃ (分解)
- 2) 紫外吸収スペクトル：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239 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 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (239 nm, MeOH) = 393.0。本品の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により測定した本品の赤外吸収スペクトルを Fig. 2 に示す。日局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同様の強度の吸収が認められ、本品が酢酸コルチゾンであることが確認された。
- 4) 旋光度 $[\alpha]_D^{20}$ ：+212.7° (乾燥後, 0.1 g, ジオキサン, 10 ml, 100 mm)

5) 純度試験：

- (a) TLC法 本品および日局標準品とも、スポット量100 μgまで異種スポットは認められなかった。また、本法による酢酸コルチゾンの検出限界は0.06 μgであった。本品および日局標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。
- (b) HPLC法 本品と日局標準品につき、HPLC法による純度試験を行った。これらの液体クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示す。主成分 (酢酸コル

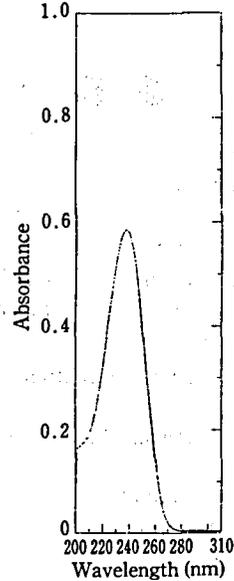


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate cortisone acetate reference standard (Control 921)

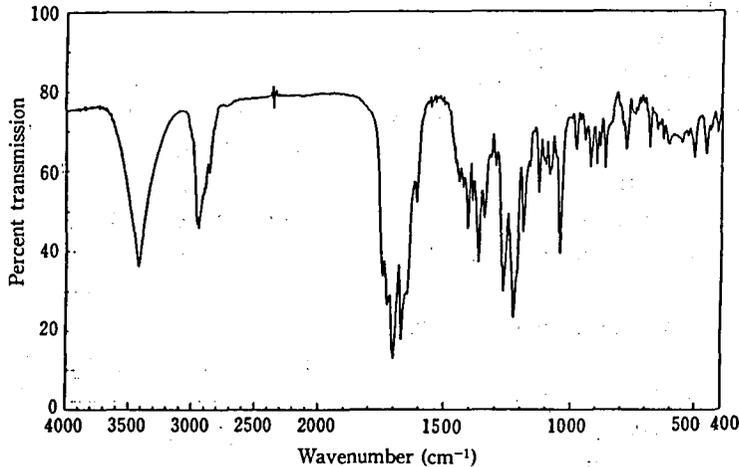


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate cortisone acetate reference standard (Control 921)

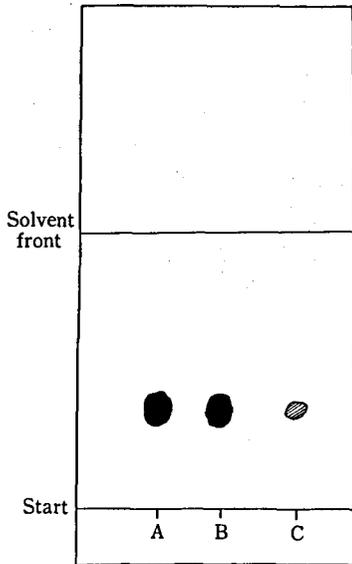


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and JP cortisone acetate reference Standard

Solvent system : 1, 2-dichloroethane · methanol · water (470 : 30 : 1)

Spot : A is JP cortisone acetate reference standard 100 μ g.

B & C are the candidate material 100 μ g and 2 μ g, respectively.

チゾン) ピークのほか、3個の不純物ピークが認められた。面積百分率法による不純物総量は0.45%と推定された。一方、日局標準品 (Fig. 4(B)) の場合にも、本品と同一の溶出位置 (t_r = 22.0, 26.5 min) に2個の不純物ピークが観察され、面積百分率法によるその不純物総量は0.17%であった。

現行の日局標準品にくらべ、本品のHPLC的純度はやや劣るが、99.5%以上の純度をもつものと判断された。なお、純度試験における検出波長254 nmを本品の極大吸収波長239 nmに変更して同様の試験を行った結果によれば、本品の不純物総量は0.39%であった。

6) 乾燥減量 : 0.65% (0.5 g, 105°C, 3時間, 減圧)

7) 定 量 : 日局「酢酸コルチゾン」の定量法を準用し、日局標準品を対照とし、パラオキシ安息香酸エチルを内標準としてHPLC法による定量試験を行った。この結果、本品中の酢酸コルチゾン含

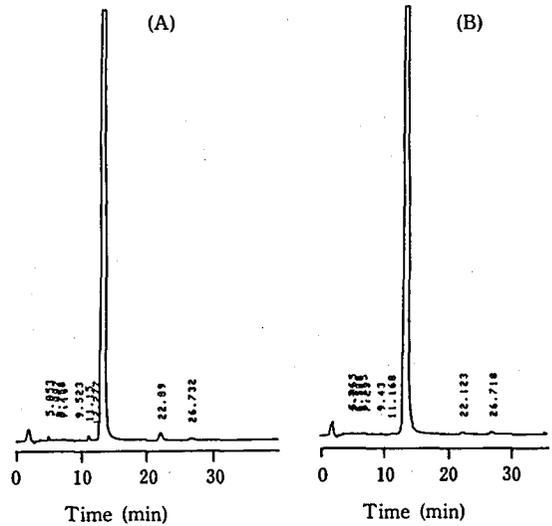


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP cortisone acetate reference standard

(A) : the candidate material

(B) : JP cortisone acetate reference standard (Control 743)

Conditions : column, Inertsil ODS (4.6 mm ϕ \times 150 mm) ; column temp., room temp ; mobile phase, acetonitrile · water (2 : 3) ; flow rate, 0.8 ml/min ; detecton wavelength, 254 nm

量は $100.5 \pm 0.46\%$ ($n=4$) であった。

なお、日局標準品を対照とする吸光度測定法 (238 nm) による定量値は $100.3 \pm 0.51\%$ ($n=4$) であった。

結 論

酢酸コルチゾン標準品原料につき、日局標準品を対照に比較検討した結果、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。

終わりに、標準品製造にあたりご協力いただきました萬有製薬㈱に深謝いたします。

文 献

- 1) 太田美矢子, 木村俊夫, 川村次良 : 国立衛生試験所標準品 (日本薬局方標準品) “酢酸コルチゾン標準品 (Control 741)” について, 衛生試験報, 96, 125~129 (1980)

国立衛生試験所リボフラビン標準品 (Control 921)

泉 若江・北島 文・吉井公彦・小松裕明
石光 進・岡田敏史Riboflavin Reference Standard (Control 921) of National
Institute of Health SciencesWakae Izumi, Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

The raw material for riboflavin was tested for preparation of the "Riboflavin Reference Standard (Control 921)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 283.8°C (decomposition); specific absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}}=852$ (267 nm), 275 (373 nm), 325 (446 nm); infrared spectrum, the same as that of JP Riboflavin Reference Standard; optical rotation, $[\alpha]_D^{20}=-138.5$; thin-layer chromatography, no impurities were detected up to 6 μg ; high-performance liquid chromatography, a small amount of 9 impurities were detected; loss on drying, 0.16%; assay, 100.3% by spectrophotometry.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 921).

Keywords : riboflavin, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1993)

第十二改正日本薬局方「リボフラビン」および「リボフラビン散」の定量、「リン酸リボフラビンナトリウム」および「リン酸リボフラビンナトリウム注射液」の定量に用いられる国立衛生試験所リボフラビン標準品 (Control 921) を製造したので報告する。

1. 原 料

東京田辺製薬㈱より購入した。同社による試験成績は以下のとおりである：融点，285°C；旋光度， -136 ；乾燥減量，0.11%；総窒素，14.7%；比吸光度 E (1%, 1 cm, 445 nm), 329.

2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方リボフラビン標準品 (Control 895；以後，日局標準品と略称する)¹⁾を対照に試験を行った。試薬は試薬特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

本標準品原料の品質試験にあたり，以下の測定装置を用いた：自記分光光度計 (日本分光, Ubest-50 型)，赤外分光光度計 (日本分光, IR-700 型)，旋光計 (日本分光, DIP-370 型)，融点測定器 (宮

本理研, PA-20S 型)。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，第十二改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「リボフラビン」の試験法を準用した。

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ッド薄層板シリカゲル 60 (厚さ，0.25 mm)，展開溶媒：ジクロルメタン・メタノール・テトラメチルアンモニウムヒドロキシド混液 (80：19：1)，試料溶液および標準溶液：本品および日局標準品を乾燥し，その約 10 mg を精密に量り，それぞれに希水酸化ナトリウム試液 1 ml を加えて溶かした後，メタノール 48 ml および 0.1 N 塩酸試液 1 ml を加えて試料溶液および標準溶液とする。操作法および検出法：標準溶液 20 μl (4 μg) および 30 μl (6 μg)，試料溶液又はその希釈液の 1~30 μl (0.01~6 μg) をシリカゲル薄層板にプロットし，約 10 cm 展開したのち，風乾す

る。これに紫外線（主波長 366 nm）を照射し、発蛍光性不純物スポットの有無を観察する。

2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

本品および日局標準品約 10 mg ずつを量り、それぞれを移動相 100 ml に溶かし、試料溶液および標準溶液とする。これらの液 20 μ 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（測定波長：267 nm）

カラム：Inertsil ODS-2 (4.6 mm ϕ ×150 mmL)

移動相：0.005 M リン酸緩衝液 (pH 3.0)・アセトニトリル混液 (87.5 : 12.5)

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% 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。更に、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²⁾。

5. 試験結果

1) 性状：だいたい黄色の粉末で、わずかににおいがある。

融点：283.8℃ (分解)

2) 紫外および可視吸収スペクトル：本品約 0.01 g を量り、pH 7.0 のリン酸緩衝液を加えて溶かし、

正確に 1000 ml とする。この液につき、リン酸緩衝液を対照に吸収スペクトルを測定するとき、波長 267, 373, 446 nm の位置に吸収の極大が認められた。それぞれの吸収極大波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1cm}$ は 852 (267 nm), 275 (373 nm), 325 (446 nm) であった。また、それぞれの吸収極大における吸光度を A_1, A_2, A_3 とするとき、 $A_2/A_1=0.322, A_3/A_1=0.381$ であり、規格 ($A_2/A_1=0.314\sim 0.333$,

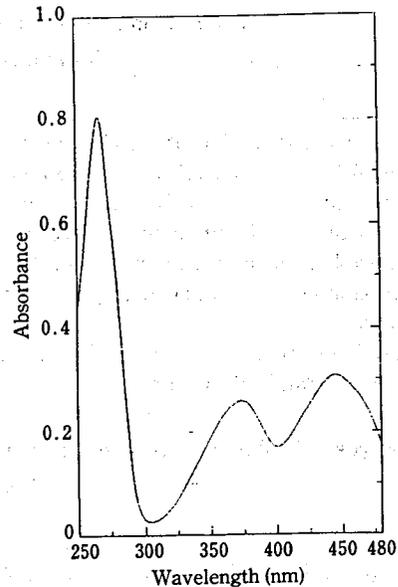


Fig. 1. Ultraviolet and visible absorption spectrum for the candidate riboflavin reference standard (Control 921)

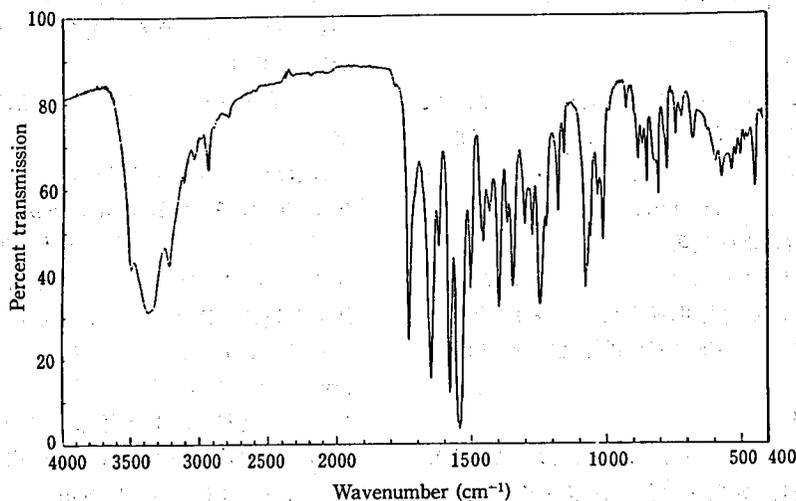


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate riboflavin reference standard (Control 921)

$A_3/A_1=0.364\sim 0.388$) に適合した。本品の紫外・可視吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

3) 赤外吸収スペクトル：本品および日局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が認められた (Fig. 2)。

4) 旋光度： $[\alpha]_D^{20}=-138.5^\circ$ (日局「リボフラビン」の旋光度測定法を準用する)

5) 純度試験：

(a) TLC 法 本品およびリボフラビン標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。試料溶液、標準溶液ともスポット量 $6\mu\text{g}$ まで異種スポットは認められなかった。また、本法によるリボフラビンの検出限界は、 $0.02\mu\text{g}$ であった。次節で述べるように、HPLC 法では 0.15% 以上の不純物 3 個が検出されており、本法の検出感度 (スポット量と検出限界から判断すると約 0.18% 量の不純物が検出可能) を考慮すると $2\sim 3$ 個の不純物が検出されてもおかしくはないが、今回、本品および日局標準品について薄層クロマト的には不純物は検出されていない。なお、本法におけるリボフラビンの $R_f=0.33$ であったが、スポット量などの影響を受けやすいので注意する必要がある。

(b) HPLC 法 本品および日局標準品につき、HPLC 法による純度試験で得られた液体クロマトグラムを Fig. 4 に示した。本品 (A) および日局標準品 (B) と、HPLC 法によれば微量の不純物ピークが多数観察され、面積百分率 0.05% 以上の不純物ピークは 9 個を数えた。このうち、本品および日局標準品に共通に観察される 0.15% を越える不純物は保持時間 $t_R=3.7, 12.0, 14.5$ 分の不純物 3 個であった。最大の不純物は本品では $t_R=3.7$ 分のもので 0.25% 、日局標準品では $t_R=12.0$ 分のもので 0.29% 量に相当する。これらの不純物総量は本品で $1.24\pm 0.020\%$ ($n=5$)、日局標準品で $1.24\pm 0.075\%$ ($n=3$) と推定された。

6) 乾燥減量： 0.16% (0.2g , 105°C , 2 時間)

7) 定 量：日局「リボフラビン」の定量法を準用し、日局標準品を対照に吸光度測定法により、本品の定量を行った結果、 $100.3\pm 0.6\%$ ($n=3$) の値が得られた。

結 論

日局標準品は「リボフラビン」とそれらの製剤に

おいて、吸光度測定法による定量試験に用いられるものである。HPLC 法による純度試験で明らかのように、本品の純度は、HPLC 法による定量用標

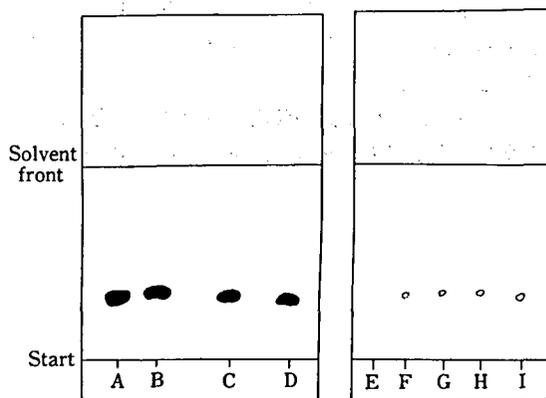


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP riboflavin reference Standard

Solvent system : dichloromethane · methanol · tetramethylammonium hydroxide (80 : 19 : 1)
Spot : A & C are JP reference standard $6\mu\text{g}$ and $4\mu\text{g}$ each.

B, D, E, F, G, H, I are the candidate material 6, 4, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 and $0.05\mu\text{g}$, respectively.

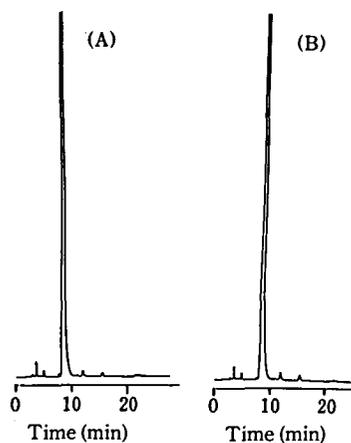


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP riboflavin reference standard

(A) : the candidate material, (B) : JP riboflavin reference standard conditions : column, Inertsil ODS-2 ($4.6\text{mm}\phi\times 150\text{mm}$) ; column temp., 40°C ; mobile phase, a mixture of 0.005M phosphate buffer (pH 3.0) and acetonitrile (875 : 125) ; flow rate, $0.8\text{ml}/\text{min}$; detecton wavelength, 267nm

準物質として用いるには必ずしも十分なものではないが、吸光度測定法において用いられる標準物質としては十分な品質を有する。したがって、本品を国立衛生試験所標準品とし、日本薬局方で規定される医薬品の品質試験に利用できるだけの品質を有することを認めた。

終わりに、本標準品の製造にあたりご協力いただきました東京田辺製薬㈱に深謝いたします。

文 献

- 1) 村井真美, 笈 華子, 小松裕明, 石光 進, 岡田敏史: 国立衛生試験所リボフラビン標準品 (Control 891), 衛生試験, **109**, 173 (1991)
- 2) 木村俊夫, 綱川延孝, 中守律夫: 副腎皮質ステロイドの標準品について, 医薬品研究, **17**, 143~173 (1986)

国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 921)

泉 若江・北島 文・吉井公彦・小松裕明
石光 進・岡田敏史

Ergocalciferol Reference Standard (Control 921) of National
Institute of Health Sciences

Wakae Izumi, Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

The raw material for ergocalciferol was tested for preparation of the "Ergocalciferol Reference Standard (Control 921)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 118.1°C; UV and infrared spectra, the same as those for the JP Ergocalciferol Reference Standard; specific absorbance, $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 457.5$ (265 nm); thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), no impurities were detected; assay, 101.0% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 921).

Keywords : ergocalciferol, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1993)

第十二改正日本薬局方「エルゴカルシフェロール」の確認試験および定量法に用いられる国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 921) を製造したので報告する。

1. 原 料

デュファール社 (オランダ) より、アンプルに小分け・充填されたのち、窒素置換された高純度のエルゴカルシフェロールを標準品原料として購入した。

2. 参照物質および試薬

第十二改正日局エルゴカルシフェロール標準品 (Control 901; 以後、日局標準品と略称する)¹⁾ を対照に試験を行った。試薬は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装 置

本品の品質試験にあたり、以下の測定装置類を用いた：セミマイクロ上皿電子天秤 (メトラー, AE-240 型)、自記分光光度計 (日本分光, Ubest-50 型)、赤外分光光度計 (日本分光, IR-700 型)、旋光計 (日本分光, DIP-370 型)、融点測定器 (宮本理研, PA-20S 型)。また、液体クロマトグラフ装置は島津製作所製の 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、第十二改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「エルゴカルシフェロール」の試験法を準用した。

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トッド薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ, 0.25 mm), 展開溶媒：シクロヘキサン・ジエチルエーテル混液 (1:1), 試料溶液：本品および日局標準品約 10 mg をそれぞれ精密に量り、クロロホルム 1 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：試料溶液とその希釈液又は標準溶液 0.1~10 μ l (エルゴカルシフェロール 0.01~100 μ g 相当量) をシリカゲル薄層板に窒素ガスを吹きつけながらスポットし、暗所で約 15 cm 展開したのち、風乾する。薄層板に濃硫酸を均等に噴霧した後、100°C で 5 分間加熱し、直ちに肉眼で観察する²⁾。

2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

本品および日局標準品約 2.5 mg ずつを精密に量り、それぞれをイソオクタン 4 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 μ 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（測定波長：254 nm）

カラム：Chemcosorb 5Si (4.6 mm ϕ × 150 mL)

移動相：ヘキサン・*n*-アミルアルコール混液
(997 : 3)

流量：0.6 ml/min

カラム温度：室温

カラムの選定：日局「エルゴカルシフェロール」の定量法におけるカラムの選定法を準用する。

検出感度：試料注入量の 1/100 に相当する量を注入し、得られた主ピークの高さが記録紙のフルスケールの約 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。更に、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³⁾。

5. 試験結果

1) 性状：白色の結晶で、においはない。

融点 118.1°C

2) 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 265 nm に吸収の極大が認められた。この波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (265 nm) は 457.5 であった。日局「エルゴカルシフェロール」における比吸光度規格は 445~485 であることから、本品の同一条件下における比吸光度 = 458 は規格に適合す

る。本品の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：本品および日局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が認められ、本品がエルゴカルシフェロールであることが確認された (Fig. 2)。

4) 純度試験

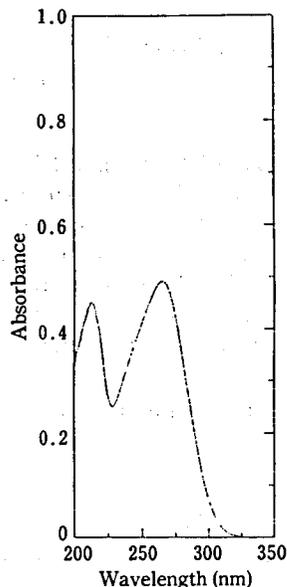


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate ergocalciferol reference standard (Control 921)

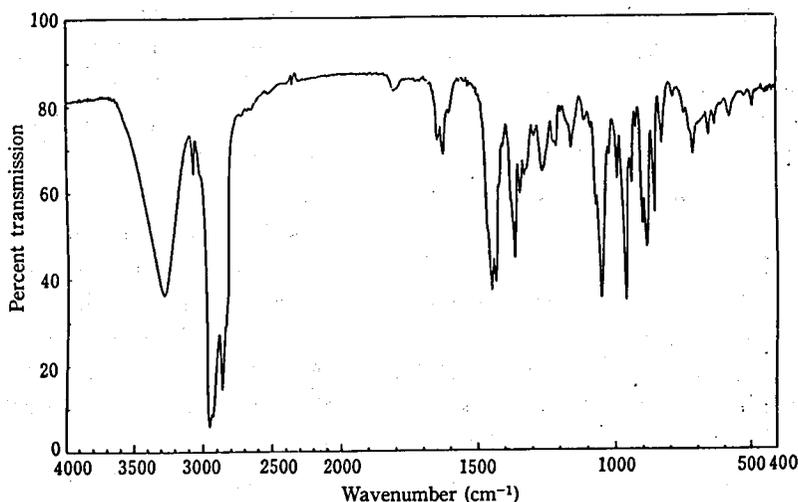


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate ergocalciferol reference standard (Control 921)

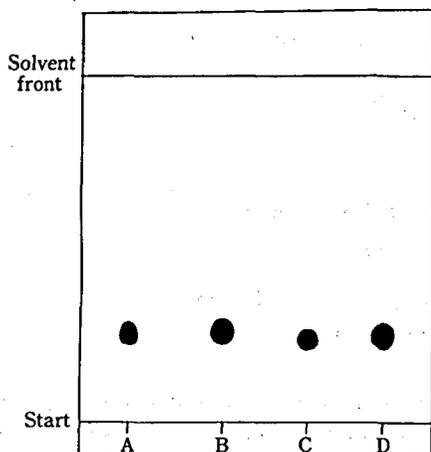


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP ergocalciferol reference Standard

Solvent system : cyclohexane · diethylether (1 : 1)
Spot : A & B are the candidate material 50 μ g and 100 μ g each.

C & D are JP reference standard 50 μ g and 100 μ g each.

Detection : after spraying sulfuric acid upon the plate, heat the plate at 100°C for 5 min.

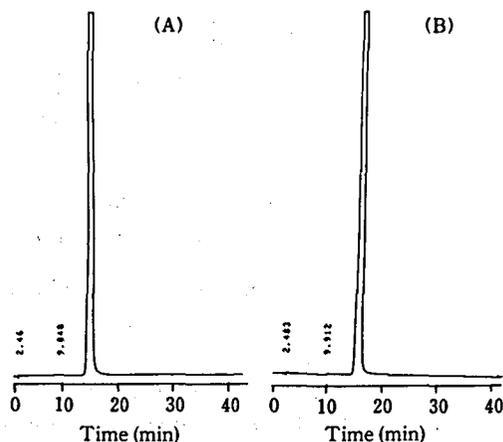


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP ergocalciferol reference standard

(A) : the candidate material

(B) : JP ergocalciferol reference standard (Control 901)

Conditions : column, chemcosorb 5Si (4.6 mm ϕ × 150 mm) ; column temp., room temp. ; mobile phase, hexane · *n*-amylalcohol (997 : 3) ; flow rate, 1.3 ml/min ; detection wavelength, 254 nm

(a) TLC法 本品と日局標準品について得られた薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。本品および日局標準品ともスポット量 100 μ g まで不純物スポットは観察されなかった。なお、本法によるエルゴカルシフェロールの検出限界は、0.06 μ g であった。

(b) HPLC法 本品と現行の日局標準品につき、HPLC法による純度試験で得られた液体クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示す。この結果、本品および日局標準品とも、面積百分率 0.05% を越えるような不純物は検出されず、両品とも極めて高純度なものであることが確認された。

5) 定量 : 日局「エルゴカルシフェロール」の定量法を準用し、日局標準品を対照に HPLC法による定量試験を行った結果、101.02 ± 0.39% (n = 3) の値が得られた。

結 論

標準品原料として入手したエルゴカルシフェロールにつき、日局標準品を対照に比較検討した結果、

国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (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。

終わりに、本標準品の製造にあたり、ご協力いただきました第一製薬(株)、日本ロッッシュ(株)および原料輸入のお世話をさせていただきましたカリ・デュファ一社に深謝いたします。

文 献

- 1) 笈 華子, 小松裕明, 村井真美, 石光 進, 岡田敏史 : 国立衛生試験所エルゴカルシフェロール標準品 (Control 901), 衛生試報, 109, 139 (1991)
- 2) 勝井五一郎, 江沢敏一, 秋田吉三郎, 吉田継親 : エルゴカルシフェロールおよびコレカルシフェロール標準品に関する研究, 医薬品研究, 16, 499~505 (1985)
- 3) 木村俊夫, 綱川延孝, 中守律夫 : 副腎皮質ステロイドの標準品について, 医薬品研究, 17, 143~173 (1986)

国立衛生試験所コレカルシフェロール標準品 (Control 921)

泉 若江・北島 文・吉井公彦・小松裕明
石光 進・岡田敏史Cholecalciferol Reference Standard (Control 921) of National
Institute of Health SciencesWakae Izumi, Aya Kitajima, Kimihiko Yoshii, Hiroaki Komatsu,
Susumu Ishimitsu and Satoshi Okada

The raw material for cholecalciferol was tested for preparation of the "Cholecalciferol Reference Standard (Control 921)". Analytical data obtained were as follows: melting point, 89.9°C; UV and infrared spectra, the same as those for JP Cholecalciferol Reference Standard (Control 901), respectively; specific absorbance at 265 nm $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 472.2$; optical rotation, $[\alpha]_D^{25} = +107.1^\circ$; thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC), no impurities were detected; assay, 99.97% by HPLC.

Based on the above results, the raw material was authorized as the Japanese Pharmacopoeia Reference Standard (Control 921).

Keywords : cholecalciferol, quality evaluation, authorization, JP Reference Standard

(Received May 31, 1993)

第十二改正日本薬局方「コレカルシフェロール」の確認試験および定量法に用いられる国立衛生試験所コレカルシフェロール標準品 (Control 921) を製造したので報告する。

1. 標準品原料

デュファール社 (オランダ) より、アンプルに小分け・充填されたのち、窒素置換された高純度のコレカルシフェロールを購入し、標準品原料とした。

2. 参照物質および試薬

第十二改正日本薬局方コレカルシフェロール標準品 (Control 901; 以後、日局標準品と略称する)¹⁾ を対照に試験を行った。試薬は特級品又は特級相当品を用いた。

3. 装置

本品の品質試験にあたり、以下の測定装置類を用いた: セミマイクロ上皿電子天秤 (メトラー, AE-240 型), 自記分光光度計 (日本分光, Ubest-50 型), 赤外分光光度計 (日本分光, IR-700 型), 旋光計 (日本分光, DIP-370 型), 融点測定器 (宮本理研, PA-20S 型)。また、液体クロマトグラフ装置は島津製作所製の 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、第十二改正日本薬局方の一般試験法および医薬品各条「コレカルシフェロール」の試験法を準用した。

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ト薄層板シリカゲル 60F₂₅₄ (厚さ 0.25 mm), 展開溶媒: シクロヘキサン・ジエチルエーテル混液 (1:1), 試料溶液および標準溶液: 本品および日局標準品のそれぞれ 10 mg を精密に量り、クロロホルム 1.0 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: 試料溶液とその希釈液および標準溶液の 0.1~10 μl (コレカルシフェロール 0.01~100 μg 相当量) をシリカゲル薄層板に窒素ガスを吹きつけながらスポットし、暗所で約 15 cm 展開した後、風乾する。薄層板に濃硫酸を均等に噴霧した後、100°C で 5 分間加熱し、直ちに肉眼で観察する²⁾。

2) 液体クロマトグラフ (HPLC) 法による純度試験

原料および日局標準品約 2.5 mg ずつを量り、それぞれをイソオクタン 3.0 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 μ 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 (測定波長：254 nm)

カラム：Chemcosorb 5Si (4.6 mm ϕ × 150 mmL)

移動相：ヘキサン・*n*-アミルアルコール混液 (997 : 3)

流量：0.8 ml/min

カラム温度：室温

カラムの選定：日局「コレカルシフェロール」の定量法におけるカラムの選定法を準用する。

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。更に、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³⁾。

5. 試験結果

1) 性状：白色の結晶で、においはない。

融点：89.9 $^{\circ}$ C

2) 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 265 nm に吸収の極大が認められた。この波長における比吸光度 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (265 nm) は 472.2 であった。「コレカルシフェロール」の比吸光度規格は同一条件で 450~490 であることから、本品の比吸光度 472 は規格に適合する。本品の紫外吸収スベ

クトルを Fig. 1 に示す。

3) 赤外吸収スペクトル：本品および日局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が認められ、本品がコレカルシフェロールであることが確認された (Fig. 2)。

4) 旋光度： $[\alpha]_D^{25} = +107.1^{\circ}$ (0.05 g, エタノー

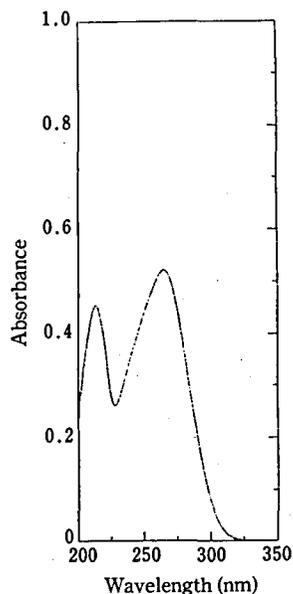


Fig. 1. Ultraviolet absorption spectrum for the candidate cholecalciferol reference standard (Control 921)

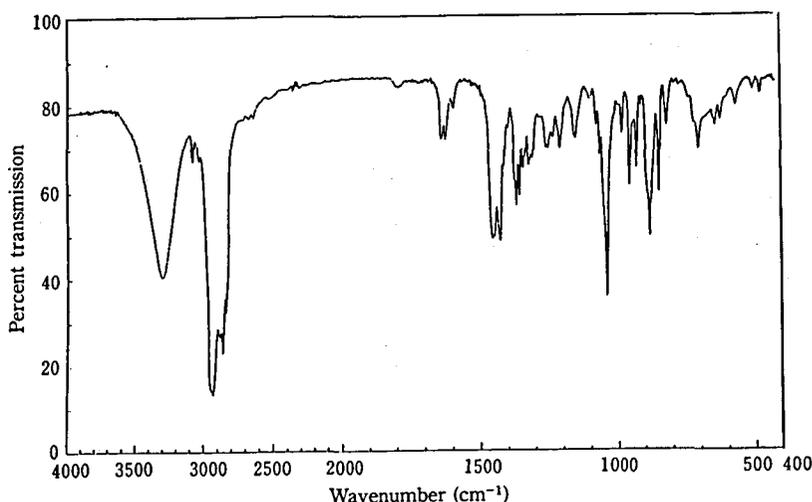


Fig. 2. Infrared absorption spectrum for the candidate cholecalciferol reference standard (Control 921)

ル, 1000 ml). 「コレカルシフェロール」の旋光度規格は同一条件下で $+103 \sim 112^\circ$ であり, 本品の旋光度は規格に適合する。

5) 純度試験:

(a) TLC法 本品および日局標準品の薄層クロマトグラムを Fig. 3 に示す。本品および日局標準品ともスポット量 $100 \mu\text{g}$ まで不純物スポットは認められなかった。なお, 本法によるコレカルシフェロールの検出限界は $0.06 \mu\text{g}$ であった。

(b) HPLC法 本品および日局標準品につき, HPLC法による純度試験で得られた液体クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示す。この結果, 本品および日局標準品とも面積百分率 0.05% 以上の不純物は検出されず, 両コレカルシフェロールとも極めて高純度に精製されたものであることが明らかとなった。

6) 定量: 「コレカルシフェロール」の定量法を準用し, 日局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, $99.97 \pm 0.29\%$ ($n=3$) の値が得られた。

結 論

標準品原料として入手したコレカルシフェロールを日局標準品を対照に比較検討した結果, 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。

終わりに, 本標準品原料の輸入にあたりご協力いただきましたカリ・デュファー社および第一製薬㈱に深謝いたします。また, 本品の品質試験にご協力いただきました第一製薬㈱および日本ロッシュ㈱に感謝いたします。

文 献

- 1) 寛 華子, 小松裕明, 田中正一, 村井真美, 石光進, 岡田敏史: 国立衛生試験所コレカルシフェロール標準品 (Control 901), 衛生試験, 109, 136 (1991)
- 2) 勝井五一郎, 江沢敏一, 秋田吉三郎, 吉田継親: エルゴカルシフェロールおよびコレカルシフェロール標準品に関する研究, 医薬品研究, 16, 499-505 (1985)
- 3) 木村俊夫, 綱川延孝, 中守律夫: 副腎皮質ステロイドの標準品について, 医薬品研究, 17, 143-173 (1986)

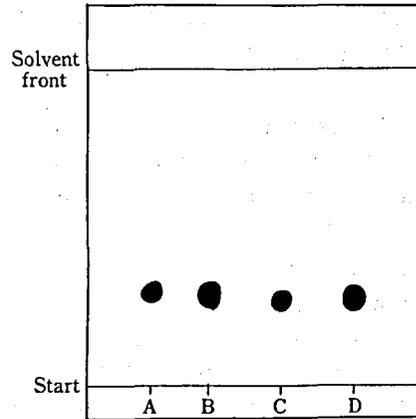


Fig. 3. Thin-layer chromatogram for the candidate and the JP cholecalciferol reference Standard

Solvent system: cyclohexane · diethylether (1 : 1)
Spot: A & B are the candidate material $50 \mu\text{g}$ and $100 \mu\text{g}$ each.

C & D are JP reference standard $50 \mu\text{g}$ and $100 \mu\text{g}$ each.

Detection: after spraying sulfuric acid upon the plate, heat the plate at 100°C for 5 min.

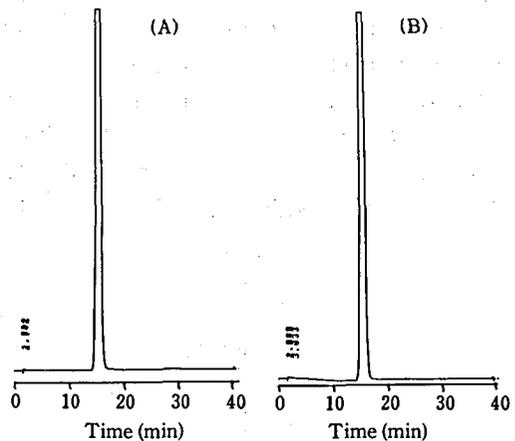


Fig. 4. High-performance liquid chromatograms for the candidate and the JP cholecalciferol reference standard

(A): the candidate material

(B): JP cholecalciferol reference standard (Control 901)

Conditions: column, Chemcosorb 5Si ($4.6 \text{ mm} \phi \times 150 \text{ mm}$); column temp., room temp.; mobile phase, hexane · *n*-amylalcohol (997 : 3); flow rate, 0.8 ml/min ; detection wavelength, 254 nm

国立衛生試験所高分子量ウロキナーゼ標準品 (Control 901)

岡田敏史・四方田千佳子・村井真美*¹・谷本 剛・木村俊夫*²High Molecular Weight Urokinase Reference Standard (Control 901)
of National Institute of Health SciencesSatoshi Okada, Chikako Yomota, Mami Murai*¹,
Tsuyoshi Tanimoto and Toshio Kimura*²

A candidate for "High Molecular Weight Urokinase Reference Standard (HMW-UK RS, Control 901)" of the National Institute of Health Sciences (NIHS) was examined for evaluating the fibrinolytic activity. The urokinase activity of the candidate HMW-UK RS was determined by "two-stage method" as 800 Unit/Amp. against the present Urokinase Reference Standard (Control 881), through the collaborative study involving five laboratories. According to the gel-permeation chromatography of the candidate for the molecular determination, it was confirmed that more than 97% of the total urokinase activity was attributed to the higher molecular fraction, named HMW-UK.

Thus it was authorized as the High Molecular Weight Urokinase Reference Standard of the NIHS.

Keywords : High Molecular Weight Urokinase, fibrinolytic activity, NIHS Reference Standard

(Received May 31, 1993)

ヒト尿由来ウロキナーゼには分子量 54,000 と 33,000 の 2 種の活性型分子種が存在する¹⁾。現在、市販されているヒト尿由来ウロキナーゼ製剤中のウロキナーゼ分子種は大部分 (90%以上) が高分子型ウロキナーゼである。一方、ヒト腎臓組織培養由来ウロキナーゼ製剤中のウロキナーゼは低分子型である²⁾。これらウロキナーゼ製剤の活性評価は現行の国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品を用いて行われてきたが、現行標準品のウロキナーゼ分子種は低分子型リッチ (86%) な混合タイプである²⁾。本来、被検物質と標準品の化学的組成および性質は同一であるべきとの原則からすれば、現行ウロキナーゼ標準品は組織培養由来ウロキナーゼ製剤に対しては対応できても、ヒト尿由来製剤に対しては不十分といわざるを得ない。

高分子量ウロキナーゼ標準品が求められるもう一つの背景は、現行の力価測定法である二段法が煩雑な操作を必要とし、熟練者によってしか信頼性の高い測定値が得られないということがあり、簡便なペプチド合成基質を用いる比色法への転換が求められ

ている。

実際、市販ヒト尿由来ウロキナーゼ製剤につき、現行標準品を対照にして一般に用いられている二段法で定量すると表示量の 103~108% の活性が得られるが、ペプチド合成基質を用いた吸光度測定法では 82~91%、蛍光度測定法では 53~55% の低い活性値しか得られず、大部分の製剤は規格に不適合となる。一方、組織培養由来製剤ではいずれの方法を用いても 94~109% の活性値が得られることから、合成基質法の適用にあたっては被検物質と標準品のウロキナーゼ分子種を合わせる必要がある²⁾。

したがって、ヒト尿由来ウロキナーゼ製剤の合成基質法による活性評価のためには高分子量ウロキナーゼ標準品を別に用意する必要があり、本標準品の製造を行った。

実験材料および実験方法

1. 候補標準品の調製

標準品用の高分子量ウロキナーゼは持田製薬(株)において調製され、国立衛生試験所に供与された。1 アンプル中の処方は以下のとおりである。

Rp. 高分子量ウロキナーゼ 約 850 Unit
ヒト血清アルブミン 1.0 mg

*¹ 勸日本公定書協会

*² サンド薬品株式会社

塩化ナトリウム	1.8 mg
リン酸一水素ナトリウム	1.92 mg
リン酸二水素ナトリウム	1.01 mg

アンプル充填後、Lowry法によるたん白質量の変動につき調査の結果、 1.241 ± 0.042 mg/アンプル ($n=20$, $CV=3.38\%$) であり、充填量の均一性が確認された。

2. 試薬・試液

活性評価のための対照標準品として国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品 (Control: 881) を用いた。プラスミノーゲン ($R=0.5$, ウシ, 二段法用), トロンピン (ウシ, 二段法用) およびフィブリノーゲン (ウシ, タイプ2) は第一化学薬品㈱より購入した。

3. ウロキナーゼの分子量測定

ゲルろ過クロマトグラフ法により、候補品中ウロキナーゼの分子量測定を行った³⁾。分離用カラムとして TSK-GEL G 3000 SW (7.5 mm ϕ × 600 mmL) を、蛍光検出用試薬として p-MCA 試薬 (7-(glutaryl-glycyl-L-arginylamino)-4-methylcumarine) を用い、反応コイル (0.25 mm ϕ × 150 cmL) 中、37°C で反応させるポストカラム法による検出を行った。試料負荷量はウロキナーゼ国際単位で約 1000 単位とした。

4. 二段法によるウロキナーゼ活性の測定

本候補品の活性測定は西崎らの方法⁴⁾ およびその改良法⁵⁾ にしたがって、国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品を対照にして二段法により行った。国立衛生試験所のほか、以下に記す 4 機関が本共同検定に参加した：持田製薬㈱ (国広靖之), ㈱ミドリ十字 (井崎正夫), 日本製薬㈱ (谷藤正明), 興和㈱ (清邦雄)。

結果および考察

1. 候補品ウロキナーゼの分子量

高分子ウロキナーゼは、ヒト尿より分離精製されたプラスミノーゲン活性化作用を有する分子量約 54,000 の酵素たん白質である。しかし、ヒト尿由来ウロキナーゼは本質的に高分子型および低分子型 (MW: 33,000) ウロキナーゼの混合物であることに加えて、精製過程での高分子型から低分子型への分解もある程度避けられない。したがって、高分子ウロキナーゼ標準品といえども微量の低分子ウロキナーゼの混在は許容せざるを得ない。

本候補品についてのゲルろ過クロマトグラムを

Fig. 1 に示した。ペプチド合成基質を用いてポストカラム法により反応させ、遊離されるメチルクマリンを蛍光度測定法²⁾ によりモニターしたものであり、ウロキナーゼ活性と溶出時間の関係をみたものである。この結果、全ウロキナーゼ活性に占める高分子ウロキナーゼの寄与分を面積比としてみると 97.7% に相当し、本候補品が高分子ウロキナーゼとして十分な純度を有することが酵素化学的に確認された。別に、280 nm でモニターした結果によれば、安定化剤として加えたヒト血清アルブミンに由来するピーク以外のたん白質性不純物は検出されていない。

2. 候補品の力価検定

本候補品につきウロキナーゼ標準品 (Control 881) を対照とした二段法による活性評価を 5 機関 (Labo. A~E) による共同検定として行った。参加各機関において得られた全測定結果とその平均値を Table 1 に示した。

なお、本検定は平行線法により行ったものであり、 L 値 0.15 以下のデータを採用している。この結果、本候補品 1 アンプル中のウロキナーゼ活性は単純総平均で 801.7 Unit/Amp. となった。したがって、本候補品のウロキナーゼ活性は 800 Unit/Amp. として製造・配布することとした。

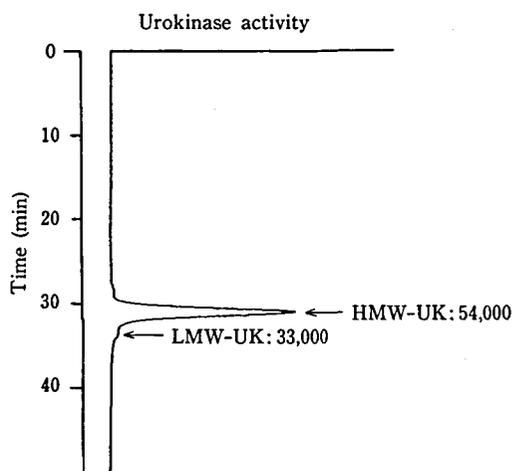


Fig. 1. Gel-permeation chromatogram for the candidate high-molecular weight urokinase reference standard

The urokinase activity was checked by fluorophotometry using the post-column reaction with the synthetic peptide substrate (p-MCA)³⁾. HMW-UK and LMW-UK designate the high- and low-mole-cular weight urokinase, respectively.

Table 1. Collaborative assay results for the candidate high-molecular weight urokinase reference standard (Control 901)

	Exp. No.	Unit/Amp.	L value	Average
Labo. A	1	805	0.0140	791.25
	2	771	0.0350	
	3	803	0.0190	
	4	786	0.0190	
Labo. B	1	801	0.0252	802.25
	2	807	0.0111	
	3	787	0.0135	
	4	814	0.0256	
Labo. C	1	867	0.0257	858.20
	2	874	0.0219	
	3	848	0.0198	
	4	872	0.0138	
	5	830	0.0207	
Labo. D	1	812	0.0163	797.25
	2	794	0.0161	
	3	798	0.0199	
	4	785	0.0170	
Labo. E	1	747	0.0419	745.25
	2	721	0.0495	
	3	724	0.1025	
	4	789	0.0305	
				Aver. 801.67

結 論

ウロキナーゼは血栓溶解剤として国内で広く使用されてきたにもかかわらず、日局又は局外規などの公定書へ収載されることなく今日に至っているが、昨年、日局への新規収載予定品目に指定され⁶⁾、現在、薬局方原案づくりが進められている。日局ではヒト尿由来ウロキナーゼだけでなく、組織培養ウロキナーゼも新規収載予定品目に指定されており、別品目として取り扱われる予定である。また、本品の日局への収載にあたり、ヒト尿由来ウロキナーゼの

活性評価（定量法）は今回の検定で用いた二段法ではなく、ペプチド合成基質を用いた吸光度測定法による予定であり、そこでは今回製造した高分子量ウロキナーゼ標準品が用いられることになる。

終わりに、本標準品の製造にあたり、候補品の調製および力価の共同検定にご協力いただきました持田製薬㈱に深謝いたします。また、共同検定にご参加いただきました㈱ミドリ十字、日本製薬㈱並びに興和㈱のご協力に感謝いたします。

文 献

- 1) R. D. Philo, P. J. Gaffney: Assay methodology for urokinase-its use in assessing the composition of mixtures of high- and low-molecular weight urokinase, *Thromb. Res.*, **21**, 81~88 (1981)
- 2) 谷本 剛, 川崎ナナ, 周 玉, 田中 彰: ウロキナーゼ製剤の簡易定量法に関する基礎的検討, *医薬品研究*, **21**, 439 (1990)
- 3) 谷本 剛, 川崎ナナ, 四方田千佳子, 村井真美, 木村俊夫, 田中 彰: 国立衛生試験所ウロキナーゼ標準品 (Control 881), *衛生試験報*, **107**, 121 (1989)
- 4) 西崎笹夫, 川村次良: ウロキナーゼ製剤の力価測定について, *医薬品研究*, **5**, 295 (1977)
- 5) 渡辺良三, 大柿光臣, 国広靖之, 酒井喜代志, 谷藤正明, 松浦嗣郎, 西崎正夫, 照井隆義, 斉藤堅太郎, 増田 稔: ウロキナーゼの力価測定“二段法”の改良に関する研究, *医薬品研究*, **15**, 733 (1984)
- 6) 厚生省薬務局安全課: 日本薬局方の新規収載品目について, *日本薬局方フォーラム*, **1**(No. 3), 16 (1992)

国立衛生試験所標準品（色素標準品）サンセットイエロー FCF 標準品について

木村実加・梅本美佳・辻 澄子・柴田 正・伊藤誉志男

Studies on "Sunset Yellow FCF Standard" for the Dye Standard
of the National Institute of Health Sciences

Mika Kimura, Mika Umemoto, Sumiko Tsuji, Tadashi Shibata and Yoshio Ito

The "Sunset Yellow FCF Standard (C.I. 15985)" for the Dye Standard of the National Institute of Health Sciences was prepared. The content of this Dye Standard determined by the titanium trichloride titration method was 96.9% on the average.

The ultraviolet-visible absorption and infrared spectra of the Dye Standard were also measured.

Keywords : sunset yellow FCF, standard, titanium trichloride titration method.

(Received May 31, 1993)

食用、医薬品および化粧品色素として用いられるサンセットイエロー FCF の確認試験又は定量に用いられる標準品としてサンセットイエロー FCF 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

カール・フィシャー水分計：MKA-210（京都電子）。

イオンクロマトグラフィー：4500i（Dionex）。

紫外可視分光光度計：日立 U-3210 型。

赤外分光光度計：日立 EPI-G2 型。

原 料

三栄源エフ・エフ・アイ㈱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黄色 5 号の試験項目¹⁾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測定した²⁾。

塩化物および硫酸塩：山田らのイオンクロマトグラフィー法³⁾にしたがって行った。

サンセットイエロー FCF 標準品 (C.I. 15985⁴⁾)

試験結果

性状 橙赤色粉末。

純度試験 (1) 水不溶物 0% (1%水溶液)。

(2) 塩化物 0.11%。

(3) 硫酸塩 0.01%。

(4) 重金属 2.0 $\mu\text{g/g}$ (Pb として)。

(5) ヒ素 0.05 $\mu\text{g/g}$ (As_2O_3 として)。

(6) 他の色素 0.10%水溶液 2 μl について食品添加物公定書に規定する方法でサンセットイエロー FCF 以外のスポットを認めない。

水分量：1.11% (200 mg, 硫酸デシケーター 15 mmHg, 24 時間)。

含量：96.9% (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)。

なお参考までに、UV-VIS と RI スペクトルを Fig. 1, 2 に示した。

結 論

標準品原料として入手したサンセットイエロー FCF の品質を検討した。その結果は良好であった。

終わりに、本標準品を製造するに当たり多大のご協力をいただいた三栄源エフ・エフ・アイ㈱に感謝致します。

文 献

- 1) 石館守三, 鈴木郁生, 谷村顕雄監修：“第 6 版食品添加物公定書解説書”, 廣川書店, 東京, (1992), D609~614
- 2) 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カールフィシャー法と乾燥減量試験法の比較検討。食衛

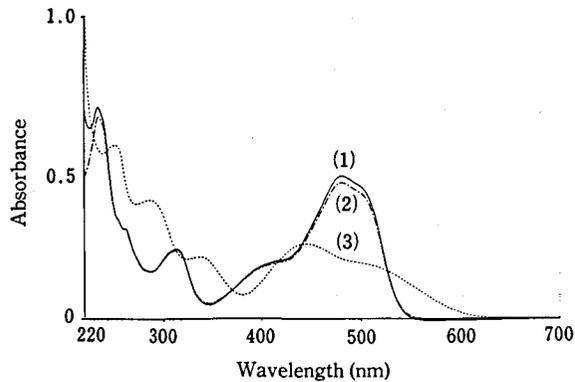


Fig. 1. Absorption spectra of sunset tellow FCF standard

Curve (1) : 0.02M AcONH₄ soln.

(2) : 0.1N HCl soln.

(3) : 0.1N NaOH soln.

conc. : 10 mg/L

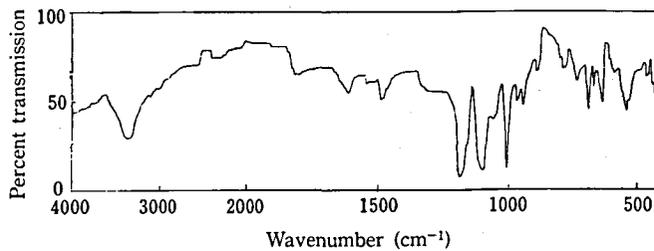


Table 2. Infrared spectrum of sunset yellow FCF standard

誌, 32, 434~438 (1991)

- 3) 山田真記子, 宮田政明, 中村幹雄, 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, 食衛誌, 32, 548~

552 (1991)

- 4) Society of Dyers and Colourists: "colour Index", 3rd ed., Vol. 4, American Association of Textile Chemists and Colorists (1971)

レギュラトリーサイエンスとは

——レギュラトリーサイエンス関連記事掲載の始めに当たって——

内 山 充

レギュラトリーサイエンスとは、科学技術の所産を、人間との調和の上で最も望ましい姿に調整するための科学である。

“レギュレーション”は、「調整」、「調節」および「規制」という意味をもつ言葉である。①特定の目的を目指した多くの科学技術の試行を調整（レギュレート）して正しく方向づけをすること、②新しく世に問われつつある技術や材料を調節（レギュレート）して真に望ましいものを選ぶこと、③質と量、使い方、処理法を規制（レギュレート）することにより安全性、有効性および品質を確保しつつ科学の恩恵を最大限に生かすこと、これらは科学技術が人間に役立つものとなるために欠くことのできないステップである。

このような意味でのレギュレーションを適切に行うためには、広い視野と最新の知識が必要であり、それを支える研究活動が常時行われていなければならない。それは疑いもなく科学の一分野であるが、技術、反応、材料、物質等の動向や機能を、予測し評価することを最終目的とし、既存の基礎科学にも応用科学にもない独自の価値観を持つ分野である。これをレギュラトリーサイエンスと呼ぶ。研究内容は「評価科学」であり、実践の立場では「行政科学」といえる。

われわれは、厚生省の試験研究機関として、医薬品や医療用具、食品や環境中の各種の化学物質など、人間の生命・健康に直接影響を及ぼすものを研究対象とし、大学や企業の研究機関には期待できない多くの基礎研究を始め、最終的なアセスメントに至るまで、広い範囲のレギュラトリーサイエンスを業務としている。

それらは、時には公的試験法、判定法の開発となるが、それらにつながる物質の反応や生体・病態の機能解析および機構解明に関する先導的、基礎的な研究が行われていなければならない。またある時はガイドラインや公的基準に結び付くが、それには適切な予測理論と、それを支える正確で豊富な物理的、化学的、および生物学的実験根拠が付随している必要がある。そしてそれらは、学会の場で学問的な討論によって批判され評価を受けるのは当然である。

一方、レギュラトリーサイエンスの基礎研究に基づいて行われるレギュレーションは、今日もはやわが国一国だけの問題としては通用しない。国際的に矛盾しない妥当な結論が要求される。そこでは、前例や形式は根拠とならない。あくまでも科学的根拠のみが共通の言葉として通用する。国際会議における討論は、レギュラトリーサイエンスに携わる者にとって極めて有益なフィードバック情報である。

この度、衛生試験所報告にレギュラトリーサイエンス関連の記事を「ステートメント」として毎号掲載することとなったことは、最近とみに社会的関心を集めつつある「科学技術と人間・環境との調和」を目指して、古くから続けられているわれわれの努力と成果を、できるだけ多くの場面で役立たせたいことと、行政の近代化、国際化の根拠と動向を広く知ってほしいという意図によるものである。具体的には、日本薬学会年会のレギュラトリーサイエンス討論会あるいはその他種々の機会に行われた講習会等での所員の講演や、行政に関連した技術的内容について開かれた多くの国際会議における討論の推移などを紹介するものである。

レギュラトリーサイエンスの目標とするところが正しく実践されて、国民生活の向上に反映されると同時に、わが国の科学技術の発展に寄与することができれば幸いである。

レギュラトリーサイエンス討論会 (日本薬学会第113年会より)

レギュラトリーサイエンス討論会の背景と目標

内山 充

Regulatory Science Forum — Its Background and Goal

Mitsuru Uchiyama

Regulatory science is, broadly speaking, the effort to insure that the products of our advanced technological civilization are developed in harmony with human needs. More specifically, regulatory science can be described as the science of evaluating the safety, efficacy and quality of these products. An unbiased assessment of these aspects is necessary for proper regulation of food, drugs, the environment, agricultural chemicals as well as the countless new materials available to the public every year. Evaluation does not interfere with product development; indeed, it often hastens the appearance of beneficial products in the public sector.

Evaluation criteria should be established through consensus between industry, academia, and government and only after a thorough scientific discussion grounded in the basic principle of protecting the welfare of society's citizens. Even more important than broad-ranging knowledge is the need to develop new evaluation strategies and methodologies. Numerous problems confronting the world today can surely benefit from the evaluative techniques of regulatory science. Since research in the academic sphere often fails to address many of these issues, I want to reiterate the need for our National Institute to play a more prominent role in coordinating regulatory policy and pursuing these issues based on my firm belief that such activity is indispensable for human survival.

Keywords : regulatory science, safety evaluation

(Received May 31, 1993)

はじめに

私は数年前からレギュラトリーサイエンスを提唱しているが、この言葉は一部では単純に「行政施策の裏付けとなる科学」と理解されておりそれはそれなりに誤りではない。しかし、本来はもう一歩踏み込んで、限りなく発展する科学技術の恩恵をうけている現代社会の中で、新たに重要性を増しつつある「科学と人間との調和」を得るための新しい概念として理解してほしいと考えている。

科学技術の発達を助けるルール作り

我々は、医薬品、医療用具をはじめ食品や多くの化学物質等、人間の生命、健康に直接影響を及ぼすものを研究対象としている。そして最終的にはそれらが実際健康や生活の向上に役立つことを願っている。しかし、科学技術それ自身は、ともすると目前の研究目標に目を奪われて技術相互間の摩擦や矛盾、あるいは予期せぬ障害を忘れがちであり、また多くの研究成果のうちでどれが人間の幸福という最終目

的により役に立つものであるかの判断はなかなか容易ではない。それがまた研究の方向づけを誤らせる危険をも含んでいる。

レギュレーションが「調整」とも「調節」とも「規制」とも訳されることは暗示に富んでいる。発展する科学技術をそのまま放置せず、その開発過程を人間にとって最も望ましい姿に方向づけをし、またその生産物のハードやソフトの中から人間や環境にとって有益なものを選別し、さらにそれらを正しく利用する道をつけるのがレギュラトリーサイエンスである。別の言い方をすれば、技術開発を進める上での必要なルールを作る科学ともいえる。

この種の科学の必要性は、ルールの不備な社会は遠からず自壊の途を辿るといふ社会防衛的な発想からだけでなく、正しいルールが有ってこそ正当にして効果的な競い合いが可能となり、有効に投資が行われ、ニーズに合致した優れた製品を速やかに世に出すことができるという産業活動の支援の上からも望まれているところである。

レギュレーションに必要な科学

科学技術の調整には予測と比較に基づいた科学的評価が必要であると同時に、調整の実行は行政を通じて行われる。したがって、医薬品その他を対象とするレギュラトリーサイエンスは、研究レベルでは「評価科学」であり実践面では「行政科学」であるといえる。レギュラトリーサイエンスは、他の多くの基礎研究や応用研究とは異なる独自の価値観と研究分野を形成している。予測と評価を行うために必要な、多くの基礎研究の成果は、行政の場でガイドラインあるいは各種の規制となって表れる。これは他の研究の成果が学術論文や特許となって公表されるのと全く同じ意味を有し、業績として取り扱われるべきであると同時に、その科学性、妥当性に関して常に厳しい学問的批判にさらされるのが当然である。したがって、学会の場においても、個人の権威や利害や慣習を離れて、実験的根拠や帰納経過および結論の妥当性について活発に論じられるべきであり、決して水準の低い研究の隠れ蓑となつてはならない。

レギュラトリーサイエンスにおける価値観

ここで、評価科学における価値観（物差し）に触れてみよう。本学会においては、生体および病態機序の解明、有効成分の検索、作用機構の解明、分析

法や製造法の開発と改良、物質変化の追跡、安全性の検討、有用製剤の設計等、広範囲な領域の研究が報告される。これら基礎研究の場において評価科学では、対象物の本質、機能および作用を正しく予測することに重点を置く。評価と予測は互いにフィードバックするからである。すなわち、

- 1) 分析法は良好な選択性と再現性を第一とし、確実な相互比較ができること
 - 2) 物質変化は、環境条件や時期の異なる場面における状態を正確に予測すること
 - 3) 材料・品質については、目的とする機能を一定期間保証するに必要な十分な指標を得ること
 - 4) 生体反応は、構造-活性相関、未知反応の検知、反応の数値化、類似物質との比較、サンプルから母集団への外挿、動物から人間への外挿、実験濃度から環境濃度への外挿等を正しく行うこと
- などが必要となり、それらに役立つ基礎的、先導的な研究が評価科学として価値あるものとされる。

おわりに

レギュラトリーサイエンスは科学技術行政を合理化、近代化するのに役立つばかりではなく、企業における新製品、新物質の開発過程においても有効な指針として利用されると考える。「レギュラトリーサイエンス討論会」の課題は極めて多い。本討論会の健全な発展を祈るものである。

公定試験法における分析法バリデーションの方向

鹿庭なほ子, 松田りえ子, 石橋無味雄

Analytical Validation in Compendial Methods

Nahoko Kaniwa, Rieko Matsuda and Mumio Ishibashi

Well validated analytical methods should be used in official tests in order to eliminate the type I and II errors. The analytical validation is the process to confirm that the performance characteristics of a proposed analytical method is adequate for its intended use. The performance characteristics of an analytical method are validated by evaluating that observed analytical performance parameters of the analytical method meet the criteria required by a test to which the analytical method is applied. Basic rules in analytical validation were described in this report. The more strict rules for determination of the limit of detection and the test of precision than usually applied were proposed.

Keywords : analytical validation, analytical performance parameter, official test

(Received May 31, 1993)

医薬品の試験にとって最も重要なことは、合否判定を誤らないことである。多くの要因が判定を誤らせる原因となるが、不均一な試験対象をサンプリングすることによって生じる誤差や分析法の誤差は主要な要因のひとつとして上げられる。ゆえに、質の高い分析法を用いて、分析法に起因する判定結果の誤まりの確率をできるだけ小さくすることは試験法の信頼性を高めると言える。分析法バリデーションは、「問題としている分析法が、その分析法が用いられる試験法の意図に適合していることを検証すること」と定義されるが、言い換えれば、試験法の判定基準などに照らし合わせて、分析法によって生じる可能性のある判定のエラーを見積ることによって、その分析法を採用してもよいかどうかを判断することが分析法バリデーションである。

欧米では、既に薬局方や医薬品申請のためのガイドラインの中に分析法バリデーションが組込まれている。日本でも、現在薬局方に分析法バリデーションの項目が設けられようとしている。この機会に、分析法バリデーションの概念を広く知ってもらう目的で、また、私共の考え方に対して多くの方のご意見を伺う目的で、薬学会に初めて設けられたレギュラトリーサイエンス討論会に本演題を提出した。

分析法の能力は、①精度、②真度、③定量限界、④検出限界、⑤直線性、⑥範囲および⑦選択性の7つのパラメータによって表すことができ、これらは分析能パラメータと呼ばれている。ガイドラインにおいてパラメータの定義は主要なパートのひとつであるが、ここでは、紙面の都合上割愛する。

試験法は、医薬品中に存在することが望ましくないものを分析対象物とする試験法(タイプI)と、医薬品中の有効成分を測定するための試験法(タイプII)との2つに大きく分けることができる。前者は定量試験と限度試験に分けられ、後者には溶出試験法のように、効力特性を測定するための試験法も含まれる。選択性はいずれのタイプの試験法に採用される分析法バリデーションでも検討されなければならないパラメータである。定量限界および検出限界はタイプIの試験法に用いられる分析法バリデーションにおいて、また、精度、真度、直線性および範囲は、定量を目的とした試験法に採用される分析法バリデーションにおいて検討されるパラメータである。

分析法バリデーションでは、分析能パラメータが、基準を満たしているか否かが検定される。分析能パラメータの基準値は、分析法が採用される試験法の目的に合わせて決定されるので、あらかじめ基準値が局方やガイドラインに示されることはない。一方、検定を行う時の基本的ルールは、おおむねいかなる分析法バリデーションにおいても共通しており、これを示しておくことは重要である。すなわち①真度および精度の検定における有意水準は5%とする(これは、真度又は精度の95%の信頼区間を計算することに等しい)、②定量限界における精度はCVで10%以下とする、③検出限界を決める時には、第二種の過誤の確率 β が1%以下となるように定める、④精度が有意に基準の値よりも小さいことを照明するという考え方を導入する。

①および②は広く受け入れられているルールといえよう。一方、③および④は比較的馴染みのうすいもので、今回、特にこの是非を問うてみたかった。③の根拠は以下の通りである。従来、検出限界の決定においては false-positive の確率を小さくすることのみに考慮が払われてきたが、本来、限度試験において最も重要なことは、検出限界の濃度の物質が存在するときには、必ず検出されることである。これは、検出限界の決定にあたっては検出限界にある物質を見逃す確率 β を小さくすることを意味する。④のルールは、ズサンなバリデーションを行い、非常にひろい精度の信頼区間が得られる結果、精度と基準値との有意差の検出が不可能となることを防止するために設定したものである。生産工程において、ルーチンに分析法をコントロールするのが目的のときには、現在の分析の精度が基準の値から逸脱していないことを確認するために、測定された精度が基準値と有意差がないことを示すことは有意義であるが、新規の分析法のバリデーションには④のようなルールの導入が必要と考える。

どのような分析法であっても、それらが合否判定を伴った試験法に用いられるのであれば、分析法バリデーションの過程を経なければならないと考える。分析法バリデーションを行うことによって、試験の判定の誤りを小さくすることは、ルーチンの試験の効率の維持および生産における経済的効率を上げることに通じる。

各種情報に基づく医薬品のヒトに対する安全性の総合評価

林 裕 造

General Principles for Safety Evaluation of Pharmaceuticals
in Man Based on Integration of Data from Various Sources

Yuzo Hayashi

Safety evaluation of pharmaceuticals consists of two processes; firstly, to grade the adverse effects of a test material on individuals based on scientific evidence, and, secondly, to judge whether the adverse effects occurring under the dose condition of the material capable of exhibiting its efficacy in patients remains within the acceptable safe range. Accordingly, the basic criteria for safety evaluation of pharmaceuticals can be, simply, said to know how high the dose-response curve of adverse effects lies above that of efficacy. On the other hand, the judgement concerning how much difference is necessary between both dose-response curves with regard to the safety would require a careful consideration on a case by case basis taking into account various information on the risk/benefit balance of the drug such as 1) medical usefulness and social needs of the drug and 2) the presumed severity of adverse effects in man.

Keywords : pharmaceuticals, safety evaluation, regulatory science

(Received May 31, 1993)

1. 安全性評価の原則

医薬品の安全性評価を例として、レギュラトリーサイエンスの意義とあり方を考えてみたい。医薬品の安全性評価とは、対象となる被験物質が目的とする有効性を示しうる投与条件において、どの程度の有害影響を個体におよぼすかを予測し、その程度が目標とする医薬品として許容しうる範囲にあるか否かを判断することである。したがって、模試的には有害性についての用量反応曲線が、有効性の用量反応曲線に比して、どの位高用量に位置しているかが基本的な判断基準になる。一方、両曲線間にどの程度のひらきがあれば安全とみなしうるかの判断に関しては、各物質の1) 期待される有効性の医学的価値あるいは社会的意義、および、2) 発現が予想される有害性若しくは有害影響の個体の生命維持あるいは生活機能に対する重篤度を慎重に考慮する必要がある。ここで、有害性だけをとりあげても、その内容は極めて多彩であり、それらの発現も投与条件（経路、量、回数等）、個体の条件（遺伝的素因、性、年齢等）あるいは環境条件（生活様式、栄養条件等）によって影響される。言い換えると、安

全性評価はこれら様々な要因に関する情報を基礎として実施する知的作業とみなしうる。

2. 安全性評価に必要な情報

安全性評価には、通常、次の情報が用いられる：1) 前臨床試験のデータ：各種一般毒性試験、発がん性試験、変異原性試験、生殖毒性試験、局所刺激性試験、免疫毒性試験、トキシコカインेटィックス等のデータ；2) 臨床試験のデータ：(1相、2相、3相)；3) 関連薬物についての前臨床および臨床データ；4) 関連科学および技術領域における基礎知識。これらの情報は、目的に沿って企画し、実施された試験、研究あるいは調査から得られる。しかし、最終的な結論あるいは判断を導く段階において、必要かつ十分なすべての情報が準備される例は極めて稀であり、様々な程度の不確実性が残る。この場合、どの程度の不確実性ならば容認しうるかの判断が重要な課題となる。

3. 安全性評価とレギュラトリーサイエンス

以上をまとめてみると、安全性に関する情報の作成、収集、評価に関する一般的な方針、ならびに、

その背景となる論理の枠組みを安全性評価に関するレギュラトリーサイエンスと呼ぶことが出来る。しかし、実際的にはレギュラトリーサイエンスによって作りあげられた産物がレギュラトリーサイエンスとみなされている。毒性試験法に関する各種ガイドライン、GLPあるいはGCP等の指針は、その例である。現在、安全性情報の国際的相互受け入れの促進と医薬品登録の能率化をはかるための国際会議(ICH)が進められているが、この会議の基本的な内容は、レギュラトリーサイエンスの国際調整であると言ってもよい。

現在、ICHにおいては、日本、US、ECから選出された産官学の研究者が、各国のガイドラインを比較検討して、国際調整を要する事項あるいは問題点を抽出し、それらを、1) 短期的解決が可能な事項、2) 中期的な解決が可能な事項および3) 長期的対応を必要とする事項に大別し、順次のその解決をはかるように進められている。長期的対応を必要とする事項の中には、各国間の協同研究の成果をふまえて、ガイドラインの近代化を必要とする内容も含まれている。

結論的に、安全性評価に関するレギュラトリーサイエンス(安全性評価科学)は、次のように要約される: 1) 既存の科学知識/技術を活用して、不確実性が最少限になるような評価を実施するための、効果的な試験/研究/調査法を確立し、それを実施する

こと: 2) 新しい科学的知見/技術を導入して、既存の試験/研究/調査法を改善し、評価の質的向上(不確実性の減少)と能率化をはかること。

ま と め

医薬品の安全性評価の観点から、レギュラトリーサイエンスの目的とあり方について考察した。医薬品開発/医薬品の許認可に関連するレギュラトリーサイエンスとは候補物質が目的とする医薬品としての程度の有用性を持っているかを判断するための論理である。したがって、安全性評価を含め、医薬品開発に関連するレギュラトリーサイエンスは創薬研究の進歩と促進を目的とした科学/論理であると言える。なお、ICHの成果/将来展望からみられるように、レギュラトリーサイエンスの確立/改善ならびに適切な応用のためには産官学の緊密な協力体制が必要である。

文 献

- 1) 林 裕造: 毒性試験のガイドラインの国際的ハーモナイゼーションと今後の議題。ファームテクジャパン, 9: 379~390, 1993.
- 2) Hyashi, Y., Mitsumori, K.: International harmonization and future problems of toxicity test guidelines for pharmaceuticals. Jp. J. Tox. Path.: in press, 1993

医用材料の感作性試験ガイドラインの考え方

門馬純子, 中村晃忠

A Proposal for Test Guidelines to Identify Contact Allergens in Medical Materials and Devices

Junko Momma and Akitada Nakamura

A proposal of test guidelines for identifying contact allergens in medical materials and devices and for evaluation of their potentials are described. The adjuvant tests, Maximization Test and Adjuvant and Patch Test, are recommended as a test method for identifying contact allergens in medical materials and devices. To evaluate the potency of the allergen, initially, it is necessary to determine the threshold contact allergenic dose (a lowest concentration at which a positive dermal response is attained). This approach gives an essential basis to predict risks of contact allergy in humans and to plan adequate strategies for reducing the risks.

Keywords: Sensitization, Quantitative Evaluation, Guinea Pig Maximization Test

(Received May 31, 1993)

医療用具および医用材料の開発が活発となっているが、それらの有用性と共に安全性の評価が求められている。現在、我が国でも医用材料の安全性を確保するため、生物試験のガイドラインの草案が公表されている。今回のレギュラトリーサイエンス討論会において、医用材料の感作性試験ガイドラインの基本的な考え方について発表した。

新規医用材料に対して皮膚感作性試験を行う目的は、ヒトでの接触アレルギーのリスクを動物実験段階で予知することである。適切な動物実験を行い、その医用材料に感作性が認められた場合には、その強さを事前に評価して適切な対策をとることにより、ヒトでの接触アレルギーのリスクを減らすための方策を考えることが可能となる。

接触アレルギーの発現に影響を及ぼす因子としては、1) 化学物質の感作性の強さ、2) その物質の製品中での濃度と溶出性、3) 製品の使用頻度また接触時間、および 4) 使用者側の体質等が挙げられる。しかしながら、医用材料の規制という立場から行政的にコントロールできるリスクは、1) と 2) の要因に関連するものであり、動物を用いた感作性試験でこれらを明らかにすることによってヒトでのリスクをある程度評価することが可能になる。すなわち、感作性試験によって、医用材料およびそれに含まれる化学物質の接触感作性の可能性の有無、およびその強さを推定しようとするものである。

皮膚感作性を検出する方法には種々の試験法が提唱されているが、医用材料においては、弱感作性物質の検出力に優れ、ヒトの結果と比較的よく相関するとされる Freund's complete adjuvant を用いるアジュバント法 (Maximization test および Adjuvant and patch test) が推奨される。モルモットを用いるこれらアジュバント法による皮膚感作性試験法は信頼性も高く、我が国のみならず国際的にも広く採用されているからである。

感作性の強さの評価として、従来、1つの感作濃度に対し、1つの惹起濃度での反応率あるいは皮膚反応の現れ方で評価しており、用量反応関係に基づく評価がなされていなかった。しかしながら、同じ感作性物質と言えども、Phosgene (2,5-dichlorophenyl)hydrazine (PCPH) や Diphenylthiourea (DPTU) のように極めて低い感作濃度および惹起濃度でも感作性を示す物質もあれば、Naphthol-AS や Hexabromocyclododecane (HBCD) のように高い感作および惹起濃度でようやく感作性を示す

物質もあるなど、化学物質によって感作性の強さには著しい差があることは明らかである。

化学物質の感作性の強さの評価方法として Roberts¹⁾ は、感作性の強さを定量的に表現し、評価することを提唱している。そのためには化学物質の最低感作濃度 (陽性反応が認められる最も低い感作濃度) を確認しておくことが重要であるとしている。

演者らは、黄色綿セーター²⁾、ゴム長靴³⁾、およびネル寝間着等⁴⁾、ヒトで明らかにアレルギー性接触皮膚炎を引き起こした製品の原因物質を追求し、その最低感作濃度および製品中における感作性物質の含有量を調べた。その結果、ヒトでアレルギー性接触皮膚炎が見られた製品において、原因物質の含有量がいずれも、動物実験で示された最低感作濃度を上回っており、このことはリスクマネージメントを行う上で有用な知見であると考えられた。

このような最低感作濃度は、実験で用いた最も高い感作濃度における最低惹起濃度 (陽性反応が認められる最も低い惹起濃度) とほぼ同程度であることが我々の実験で明らかとなった。すなわち、このようにして求めた最低惹起濃度からおおよその最低感作濃度を類推することが可能となった。

言い換えると、動物実験の段階で医用材料又はそれに含まれる化学物質に感作性が確認された場合、上記のようにして、その最低感作濃度を明らかにすることによって、ヒトでの暴露量をコントロールする目安を得ることができ、リスクマネージメントに役立てることができる。

他方、医用材料中の未知の感作性物質を確認するには、その材料を濃縮可能な有機溶媒で抽出して、その濃縮物を得る必要がある。従来は、生理食塩液あるいは植物油で抽出し、その抽出液を被験物質として用いたが、これらの方法では物質の抽出が不十分なために動物実験で感作が成立せず、陰性と誤って判断される場合が少なくない。一方、アセトン等で抽出し、溶媒を留去した後、その残留物で感作すると、感作率は著しく増加する。したがって、医用材料中の未知の感作性物質の有無を動物実験で確認するには、濃縮可能な有機溶媒で抽出して、その濃縮物について実験を行う必要がある。

以上のように、モルモットを用いたアジュバント法による我々の皮膚感作性試験デザインは、感作性の有無の確認のみならず、陽性結果が得られた場合には最低感作濃度を求めることができる。また、医用材料中に含まれるその感作性物質の含有量を測定

することにより、ヒトでのリスクを推測することが可能となった。

文 献

- 1) D. W. Roberts: *Contact Dermatitis*, 17, 281~289 (1987)
- 2) S. Kojima, J. Momma, M-A. Kaniwa, Y. Ikarashi, M. Sato, Y. Nakaji, Y. Kurokawa, A.

Nakamura: *Contact Dermatitis*, 23, 166~173 (1992)

- 3) M. Kaniwa, J. Momma, Y. Ikarashi, S. Kojima, A. Nakamura, Y. Nakaji, Y. Kurokawa, H. Kantoh, M. Itoh: *Contact Dermatitis*, 27, 166~173 (1992)
- 4) 小嶋茂雄, 鹿庭正昭, 中村晃忠, 早川律子, 松永佳世子: *衛生化学*, 32(5), 359~367 (1986)

水道水質基準設定の根拠となった毒性評価法

長谷川 隆一, 安藤 正典

Methodology of toxicity evaluation to establish the drinking water quality standards

Ryuichi Hasegawa and Masanori Ando

Revision of Japanese "Drinking Water Quality Standards" in water supply was proposed in December, 1992. The strategy for settings of standard values was basically according to that of "WHO Drinking Water Quality Guideline". In this communication, the principal procedure for setting of WHO guideline values based on the data of animal toxicity studies is described, especially with regard to how to evaluate the toxicity data and use the uncertainty factors for extrapolation to humans.

Keywords : drinking water quality standard, toxicity evaluation, uncertainty factor

(Received May 31, 1993)

はじめに

近年、化学物質の使用拡大に伴い、飲料水、地下水、河川等においても各種の化学物質による汚染の広がりが認められるようになってきた。こうした背景から、WHOでは飲料水のガイドライン改訂作業を押し進め、現在その最終段階に入っている。一方、日本においても平成4年12月に大幅な水道水質基準の改訂が行われた。WHOでは化学物質のガイドライン設定に当たり、動物を用いた毒性試験結果を用いる場合には、その毒性試験における投与期間、投与経路、動物種、毒性の程度・種類、発がん性の有無、遺伝毒性等を考慮し、ヒトが一生飲み続けても健康に影響を及ぼさないレベルをガイドライン値として設定した。日本における水道水質基準値設定は、このWHOのガイドラインに準じて行われたので、基本となったWHOの考え方について説明する。

<WHOの飲料水水質ガイドラインの改訂の際の基本的考え方>

化学物質についての毒性情報に基づいたガイドライン値の決定には、まずその化学物質が発がん性を有しているかどうかを問題とする。発がん性は、最新の国際がん研究機関(IARC)の評価を採用する。その分類は次の様な基準で行われている。

1. ヒトに対する発がん性が認められるもの
- 2A. ヒトに対して発がんの蓋然性のあるもの
- 2B. ヒトに対して発がんの可能性のあるもの
3. ヒトに対して発がん性ありとして分類できないもの
4. ヒトに対して発がんの蓋然性のないもの

まず、ヒトおよび動物実験から発がん性を有していると判断された化学物質のうち、遺伝毒性を有する発がん物質は、直接又は代謝活性化を受けた後、体細胞の遺伝子に直接作用して突然変異を誘発し、がんを導くと考えられるため、閾値がない発がん物

質とされた。この場合は、以下の線形多段階モデル(式1)を用いて 10^{-5} のリスクでの摂取量が求められた。この方法の対象となった発がん物質は主としてIARCの1および2Aに分類されたものである。

(式1)

$$P=1-\exp\left(-\sum_{i=1}^k \beta_i D_i\right)$$

P は反応率、 k は段階数、 β は尺度のパラメータ、 D は用量を示す。

次に、ヒトおよび動物実験から発がん性を有していると判断された化学物質のうち、遺伝毒性を示さず、細胞壊死、細胞増殖刺激などの遺伝子への直接作用ではないと考えられる機構により発がんを誘発するとされる化学物質は、下記の式2に示したTolerable Daily Intake (TDI) 法により算出された。最大無作用量 (NOAEL) は長期毒性試験のNOAELを、UFは種内、種間不確定因子として100を、発がん性を考慮して10を、その他に不確定因子として最大10を用いた。10%として示した項は、化学物質の食品や大気を含めたすべての摂取量のうち、水からの摂取が10%であると仮定した配分率である。WHOではヒトの体重を60 kgとし、1日2リットルの水を飲むものとして計算した。なお、日本の基準値算出ではヒトの体重を50 kgとして算出された。この方法の対象となった発がん物質は主としてIARCの2Bおよび3に分類されたもの

である。

(式2)

$$\frac{\text{NOAEL (mg/kg/day)}}{\text{UF}} \times 10\% \times \frac{60 \text{ kg}}{2 \text{ L/day}} [\text{mg/L}]$$

NOAEL=長期毒性試験のNOAEL

UF=100 (種内種間不確定因子)

×~100 (その他の因子)

10%=水からの配分率

次に発がん性を有していると判断されなかった場合、すなわち、IARCで3および4に分類された化学物質については、上記のTDI法により算出した。この場合、UFとしては種内種間不確定因子以外に毒性の種類、程度を考慮し、最大100の不確定因子を用いた。

最後に、日本の水道水質基準設定における対象化学物質の選択については日本の実状に合わせて行われ、毒性試験の評価法並びに外挿法についてはWHOに準じて行われた。基準値設定に際して、多くの毒性情報から有用な情報を採用するに当たり、専門家がその文献を十分吟味したこと、毒性試験のヒトへの外挿法は多くの蓄積した情報から、最適の方法が取られたことから、設定された基準値は現時点において十分安全性が確保されていると確信している。

代謝物動態を考慮に入れた食品中残留基準設定の科学的根拠
動物用医薬品を中心に

三 森 国 敏

Scientific basis in the setting of residue limits for
veterinary drugs in food of animal origin taking into
account the presence of their metabolites

Kunitoshi Mitsumori

Maximum residue level (MRL) for veterinary drugs in food of animal origin has been proposed by FAO/WHO, as a new evaluation procedure taking into account the presence of metabolites for the regulation of veterinary drug residues. The MRL is the maximum concentration of residue resulting from the use of a veterinary drug that is recommended to be legally permitted as acceptable in a food. It is established from the Acceptable Daily Intake (ADI) obtained from the data of toxicological studies, the residue concentration of the drug when used according to good practice in the use of veterinary drugs, and the lowest level consistent with the practical analytical methods available for routine residue analysis. Among the veterinary drugs, some chemicals contain a large amount of bound residues that are neither extractable from tissues by the analytical method identical with that used in parent chemicals. Especially, the bioavailable residues which are probably absorbed when the food is ingested are of great toxicological concern. In this case, the FAO/WHO recommends that the MRL can be established after the calculation of daily intake of residues of toxicological concern by the addition of both the extractable and bioavailable bound residues.

Keywords : maximum residue level, veterinary drugs, FAO/WHO, JECFA

(Received May 31, 1993)

我が国では家畜や養殖魚介類の疾病予防のために抗生物質や合成抗菌剤等の動物用医薬品（動物薬）の使用が許可されている。しかし、それらの動物由来する食品中にはこれらの動物薬を含有してはならない（規定分析法で検出限界以下）と規定されている。一方、国連食料農業機関（FAO）/世界保健機構（WHO）では新しい残留規制の評価法として食用組織での代謝物動態を考慮に入れた残留動物薬の最大残留基準値（maximum residue limit: MRL）を設定している。

1962年のFAO/WHO合同食品規格計画の策定に伴い、その主要執行機関としてFAO/WHO合同食品規格委員会（CAC）が設置された。この下部機関の1つとして、1985年に食品中の動物用医薬品残留に関する規格委員会（CCRVDF）の設置が決定された。当該部会の主たる目的は、動物薬のMRLの設定であるが、これは専門的問題であるの

で、検討すべき規格原案の作成をJECFAに依頼している。JECFAは、本来、FAO/WHO合同栄養専門家委員会（JECN）での勧告に応じて食品添加物の安全性評価を目的として設立された国際委員会である。JECFAでの検討対象は主に食品添加物であり、それらの安全性基準の設定と化学的同定法の標準化を行ってきたが、第15回CAC会議での勧告により1987年の第32回JECFAの会議から食品中に残留する動物薬もその検討対象となった。

MRLはCACによって食品中に含有されても許容できると勧告されている動物薬の畜水産食品中における最大残留濃度である。MRLは、毒性試験データに基づいた一日摂取許容量（ADI）と適正に使用された場合の食品中における残留値または残留分析限界値から設定されている。JECFAでは、残留物がすべて抽出可能な場合は、次のようなMRL決定プロセスを採用している。動物薬使用規範にし

たがって使用された動物薬の残留濃度が ADI の濃度よりも低い場合は、MRL は、それに応じて低く設定される。しかし、もし、ある動物薬において、その使用条件下で通常の分析法を用いてもその残留濃度が測定できない場合は、分析が可能な濃度にまで MRL は引き上げられる。一方、使用規範にしたがって使用された動物薬の残留濃度が ADI の濃度よりも高い場合は MRL は設定されない。

MRL は、通常、親化合物への換算値として示されることになっているが、中には親化合物と同様の方法では抽出が不可能な結合型残留物が多く含まれる場合がある。特に、結合型残留物が ADI を設定した親化合物よりも強い毒性を示す場合は、その結合型残留物中で生物活性のある残留物の毒性が大きな問題となる。FAO/WHO では、このような場合、当該動物薬の毒性に対する結合型残留物の関与を評価し、食品内残留値を算定した上で、既述の MRL 決定プロセスに基づき MRL を設定している。結合型残留物とは、動物薬の親化合物ないしその代謝物と細胞内の可溶性ないし不溶性高分子との共有

結合によって生じた残留物である。畜産物中における動物薬の総残留物は、抽出性と非抽出性残留物からなり、非抽出性残留物はさらに薬物が生体内の構成成分に取り込まれる内因性化合物と結合型残留物に分けられる。毒性上問題となるのは、この結合型残留物であり、特にその中の生物活性のある残留物は一般消費者がそれを含有する食物を摂取した場合、体内に吸収される可能性が高い。この生物活性のある残留物が食肉中に多い場合には、まず、このような化学物質の抽出性残留物と結合型残留物中の生物活性のある残留物濃度を加算することにより食品内残留量（使用規範にしたがって使用された動物薬の残留濃度）を計算し、その値と ADI や残留分析限界値から決定プロセスに基づき MRL が設定される。

ヨーロッパ共同体 (EC) においても、近年、この MRL の設定法を導入し、動物薬の残留基準値の見直しを行っている。我が国においてもこの概念を考慮した動物薬の残留基準値作成についての検討作業が進められている。

医薬品の安全性評価における変異原性試験の意義

祖父尼 俊雄

Significance of mutagenicity tests on safety evaluation of medicinal drugs

Toshio Sofuni

As one of toxicological tests for safety evaluation of medicinal drugs, three representative mutagenicity tests, that is, reverse mutation test in bacteria, chromosomal aberration test with mammalian cells in culture and micronucleus test with rodents have been carried out. These three tests, especially two *in vitro* tests have been used for initial hazard identification. Further, the micronucleus test using experimental animals has offered significant information for *in vivo* safety evaluation. Based on recent collaborative studies with mouse micronucleus tests on human carcinogens and results from newly developed *in vivo* gene mutation assay using transgenic mice, the combination of both test systems seems to be powerful for *in vivo* safety evaluation.

Keywords : mutagenicity, reverse mutation, chromosomal aberration, micronucleus test, transgenic mouse

(Received May 31, 1993)

医薬品の安全性評価の一環として行われている変異原性試験には代表的な3つの試験、つまり細菌を用いる復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、げっ歯類を用いる小核試験が組み

込まれている。必要に応じて他の試験を追加することが望まれているが、主にこれら3つの試験結果を基に医薬品の安全性評価に加わっている。

細菌を用いる復帰突然変異試験と哺乳類培養細胞

を用いる染色体異常試験の2つはいわゆる *in vitro* 試験で、initial hazard identification としての役割を担い、2つの異なる生物系と2つの異なる指標を用いてお互いに補い合ながら、変異原性という特性を有するか否かを判断している。

げっ歯類を用いる小核試験も initial hazard identification としての役割を担っており、それに適した試験プロトコールが設定されているが、一方では、*in vivo* 試験として生体影響を評価するための重要なデータをも提供している。しかし、これまでヒトへの安全性評価、特にヒト発がん小核試験の関連については十分に吟味されているとはいえない。最近ヒト発がん物質を対象とした小核試験の共同研究が本邦で行われており、以下にその結果の概略を紹介する。

IARC (国際癌研究機関) では膨大なデータを基にヒト発がん物質の評価を行っているが、この中から小核試験のデータのない物質あるいはデータはあっても十分でなく評価が困難な物質、合計104を選択し、51研究機関が参加して共同研究を行った。新たに得られたデータとこれまでの文献上のデータを併せて、148物質について検討した。

グループ1のヒト発がん物質31のうち22(71%)が小核試験で陽性となった。陰性となったものにはホルモン類、金属類など特殊なものが含まれており、小核誘発とは作用機作が異なると考えられる。グループ2Aのヒト発がんの可能性の強いものでは34中18(53%)が小核試験で陽性となり、さらにグループ2Bのヒト発がんが疑われるものではその割合が39%(32/83)となり、ヒトへの発がん性の証拠が高いものほど小核試験で陽性となるものが多い傾向を示した。

グループ2Bでは、特にニトロソアミン類、ハロゲン類、金属類およびホルモン類で陰性結果を示すものが多かった。このグループにはプロモーション活性を示す発がん物質が含まれている可能性がある

ので、この点を配慮する必要がある。小核試験がどのような化合物群に有効であり、どのような化合物群に不適であるかの条件が明らかになればなるほど、小核試験の有用性は高いものと考えられる。

マウスを用いる小核試験では、当部で骨髄の代わりに微量の末梢血液を用いる方法を考案した。この方法はアクリジンオレンジによる超生体染色法を利用したもので、マウスを屠殺する必要がなく同一マウスから経時的にサンプリングできるため、個体間のバラツキの確認、動物数の減少などメリットが大きい。さらに、ラットにも応用できることから、他の毒性試験との併用も可能となり、益々利用度が高まることが考えられる。

In vivo 試験の問題点は適切な遺伝子突然変異を検出する系が確率されていないことである。微生物を用いる復帰変異試験が陽性で、小核試験が陰性であっても、用いる指標が異なるため、*in vivo* での安全性の保証には必ずしもならない。*In vivo* 遺伝子突然変異を検出する系として近年トランスジェニックマウスが開発された。この系の特徴はいずれの臓器においても突然変異の検出が可能であり、同一動物を用いた末梢血を用いる小核試験と組み合わせることによって、興味深い結果が得られつつある。N-Ethyl-N-nitrosourea (ENU) は骨髄において明らかな遺伝子突然変異を誘発するが、肝臓での誘発は極めて弱い。一方、diethylnitrosamine (DEN) は骨髄では遺伝子突然変異の誘発はみられないが、肝臓では明らかな陽性結果が得られた。末梢血の小核試験ではENUが陽性であるのに対しDENは陰性であり、遺伝子突然変異の臓器特異性と一致している。トランスジェニックマウスの系が確立されれば *in vitro* と *in vivo* でそれぞれ遺伝子突然変異と染色体異常を検出する系が確立されることになり、安全性評価のためにさらによりよいシステムとなることが期待される。

副 所 長 寺尾 允男

生物薬品部 早川 堯夫

会議名称：バイオテクノロジー応用医薬品に関する
国際薬局方シンポジウム準備会議および
第3回薬局方と医薬品品質管理に関する
国際会議

開催場所、時期：ローマ(イタリア), 1992年11月
2~6日

参加者内容、人数：欧州各国, 米, 日を中心に33
カ国, 約470名

会議内容：1) バイオ医薬品を薬局方に収載するに
あたり, 比較的初期の段階で欧・米・日の3局方間
で可能な限り国際調和を計るための方策を議論する
ことを目的に開催される予定の局方間国際オープン
カンファランスにおける話題の選択, 会議の運営方法
などに関する準備会議; 2) 第3回薬局方と医薬
品品質管理に関する国際会議では, 関連する広範囲
な各分野を網羅する5つのセッションその他での講
演と討議が行われたが, 筆者は生物製剤およびバイ
オ医薬品のセッションでの議長団と講演者を兼ねた。
講演では, バイオ医薬品のアッセイ法の開発研究と
標準化に関してわが国で得られた代表的な成果を示
し, 評価科学研究の一環としての意義と将来展望を
述べた。

副 所 長 寺尾 允男

大阪支所 武田 寧

会議名称：ICH-2 準備委員会

開催場所、時期：ブリュッセル(ベルギー), 1993
年3月8日~10日

参加者内容、人数：日米欧3極の薬事規制当局およ
び製薬団体関係者, 約150名

会議内容：93年10月に開催されるICH-2の品質
シンポジウムのトピックに関する打合せに参加した。

①安定性試験：三極の行政当局に内示中の安定性
試験三極調和ガイドライン案に対し, 日欧は既に意
見を提出済であるが, 米国は国内事情から意見未提
出であり, ICH-2前の三極調和ガイドラインの確
立が危ぶまれる状況にあったため, 米国に速やかな
意見提出を求め, ICH-2までに成案が得られるよ
う努めることとなった。本ガイドラインの拡張は,
光安定性試験法のみがICH-2のトピックに採択さ
れた。②分析法バリデーション：用語定義と適用範

囲に関する三極調和ドキュメントをICH-2に提案
するための協議が行われた。③不純物：化学合成に
より製造される新有効成分の不純物について, 承認
申請に必要な検討事項に関するガイドライン案を
ICH-2に提案するため, 原案の審議が行われた。

生物薬品部 森本 和滋

会議名称：アセトニトリルの環境保健基準第二次原
案検討会議

開催場所、時期：WHO/IPCS 本部, ジュネーブ
(スイス), 1992年10月5日~9日

参加者内容、人数：B. H. Chen 博士, Grand-Mai-
son 女史, Duren 女史 (IPCS),
および筆者の4名。

会議の内容：我が国で作製したアセトニトリルの環
境保健基準第一次ドラフトの各国供覧(3月~7月
30日)で各国から寄せられた20件のコメントを検
討し妥当と考えたものは本文に追加した。さらに新
規文献の追加, 企業データの導入, referencesの修
正を行い第二次ドラフトを完成した。

実務的な作業としては haloacetonitrile がアセト
ニトリルの製造過程で生成するか否かを BP Chemi-
cals へ打診, 環境部分の執筆者である英国 ITE の
S. Dobson 博士との第7章のコメントの採択につ
いての協議, Health-based exposure limits をアセト
ニトリルへ適用する試み, またタスク会議の参加者
の選定や会議の進行方法についても協議した。

生物薬品部 森本 和滋

会議名称：アセトニトリル (AN) の環境保健基準
作成に関する作業グループ会議

開催場所、時期：モデナ(イタリア), 1992年11月
24日~12月1日

参加者内容、人数：議長 M. Lotti 博士, 副議長 S.
Dobson 博士, ラポター 筆者,
コラポター R. Bruce 博士を含
む11名。

会議の内容：〈24日〉AN第二次ドラフト2~6章
について検討。CN, SCNの分析法の記述の改訂と
Table化, 各種単位の統一, 物理定数の追加, 酸化
的代謝の部分の再編集。〈25日〉7章および8章の
半分について検討。ANの毒性についての様々な議
論の後, 毒性の機構としては酸化代謝によって cy-

anohydrin 中間体を経由し、CN が遊離する代謝が主経路であるとのコンセンサスが得られ、ヒトへのリスクアセスメントは本機構に基づき解析を行うことが合意された。〈26日〉8章の残り～10章について検討。Health guidance value の設定の必要性についての IPCS Smith 博士の説明と会議での本値の設定作業。〈27日〉第1章の検討。第3次ドラフトの再検討。〈28日〉第1章の最終確認。〈28日午後～12月1日〉ラポーターとして最終ドラフト完成作業を行った。

生物薬品部 早川 堯夫

会議名称：ICH-2 準備委員会

開催場所、時期：ブリュッセル（ベルギー）、1993年3月8日～10日

参加者内容、人数：欧州、米、日、加のバイオテクノロジー医薬品の品質評価に関する行政および製薬団体の各代表専門家、約15名

会議の内容：ICH-2 でのバイオ医薬品の品質に関する討議に向けての2回目の専門家会議であった。前回の会議でICH-2 の話題の候補とされた1) 製造方法の変更に関連して要求される技術的データ：manufacturing variation, 2) 組換え体における目的産物発現系の遺伝子の配列分析法と遺伝子安定性に関する技術的要求：genetic stability, 3) バイオ医薬品等に関する安定性試験のあり方：stability of biotechnological and biological products についてさらに議論を深めた。その結果1) は見送りとなり、変わってウイルス評価 (viral validation) をトピックスとすることとした。2), 3) については共通ガイドラインの第2次ドラフトと各機関からのコメントを基に第3次案作成に向けて討議した。

生薬部 佐竹 元吉

会議名称：WHOWPRO 主催の生薬の安全性および有効性に関する会議

開催場所、時期：マニラ、1992年10月5日～9日

参加者内容、人数：20人（マレーシア、韓国、ベトナム、香港、中国、フィリピン、日本、フィジー、ラオス、豪州、米国、WHOWPRO）

会議の内容：生薬・薬用植物の安全性や有効性を評価するための研究用のガイドラインを作成した。

ガイドラインはWHOおよび参加各国が科学的

に裏付けされた生薬・薬用植物を医療に使用するための安全性や有効性を検討するためのもので、このガイドラインは各国の生薬・薬用植物を用いた医療に対する法律や医療での取り扱いを考慮して作成した。

このガイドラインは伝統的に用いられてきた技術や文献資料を参考にして、1) 材料の品質に関するガイドライン、2) 薬物動態学および薬理学的研究のガイドライン、3) 毒性のガイドライン（急性、慢性、局所、特殊毒性試験）および4) 臨床試験の検討方法（伝統医療を参考にして、各フェイズで行う）によって、安全性や有効性を評価する方法である。

薬品部 中村 晃忠

会議名称：ISO/TC 194「医療用具の生物学的評価」

開催場所、時期：オスロ（ノルウェー）、1992年6月22日～24日

参加者内容、人数：16ヶ国、約70名

会議の内容：医療用具の承認に必要な生物学的安全性評価の枠組みと各種試験方法を標準化し、ISO基準をつくることを目的とするものである。全部で12のワーキンググループ（WG）に分かれて作業を進めている。各WGの主題は以下の通りである。WG1：生物学的評価のアプローチと試験項目の選択；WG2：材料の生体内分解問題；WG3：動物福祉問題；WG4：臨床試験；WG5：細胞毒性試験；WG6：遺伝毒性、発癌性、催奇形性試験；WG7：全身毒性試験；WG8：刺激性・感作性試験；WG9：血液との相互作用；WG10：埋植試験；WG11：エチレンオキサイド滅菌残留物；WG12：試料の調整と標準材料。日本国内では、現在、「医療用具および医用材料の基礎的な毒性試験のガイドライン（案）」が作られ公表されているが、このガイドラインに記載されている試験方法や考え方をISOに反映させるように努力すると同時に、ISOの内容は日本のガイドラインに大きな影響を与えた。

機能生化学部 澤田 純一

会議名称：IPCS/CECの免疫毒性国際共同研究（IPCS/CEC International Collaborative Immunotoxicity Study；ICICIS）に関する研究者会議

開催場所、時期：Oxford（英国）、1993年3月22日～26日

参加者内容, 人数: 日米欧の ICICIS 参加研究機関の研究者および事務局, 約 35 名

会議の内容: この ICICIS と略称される共同研究は免疫毒性試験法の評価に関する国際共同研究で, 13ヶ国からの研究者が New College に宿泊し, 会議を行った。日本からは国立衛生試験所機能生化学部および毒性部が参加した。

ICICIS では, アザチオプリン (第 I 期) およびサイクロスポリン (第 II 期) をモデル化合物としてラットに 28 日反復経口投与して, 免疫器官の重量, 病理組織像および免疫機能等の変化を調べて, 免疫毒性試験法として, どのような試験項目を用いれば良いかを共同で評価している。今回の会議では, 第 I 期のアザチオプリンの最終報告のとりまとめおよび第 II 期のサイクロスポリンのデータ紹介を行った。第 I 期に関しては, 最終的な修正を速やかに行った後, いずれ報告書が公表される予定である。

化学物質情報部 関沢 純

会議名称: 農薬の規制と科学の役割に関するスウェーデン化学品検査庁主催の国際ワークショップ

開催場所, 時期: ストックホルム (スウェーデン) 1992 年 5 月 20 日~22 日

参加者内容, 人数: 10ヶ国から政府機関, 農薬業界, 大学の研究者, 国際機関の代表を含む約 100 名

会議の内容: (1)既存の農薬の安全性評価と規制の枠組みについて, 国際機関 (IPCS, FAO, OECD) とスウェーデン, ドイツ, エジプトの現状が報告された。(2)スウェーデン化学品検査庁の Nilsson 博士が日本を含む 10ヶ国に対して行った農薬規制とその根拠に関するアンケートの結果に基づき, 基礎となる科学的データの扱いと各国の規制の相違の原因を分析した。(3)農薬規制の将来に向けて, (a)規制における科学の役割の発展, (b)安全性評価結果の公表と情報公開, (c)動物実験の結果からヒトにおける発がん性の評価への外挿についての再検討の必要性, (d)健康影響についてヒトと動物との比較のためのデータの蓄積の重要性, (e)曝露評価方法の統一にむけてのデータベースの交換, (f)安全性評価とリスク削減への国際協力の一層の推進などが結論された。

化学物質情報部 関沢 純

会議名称: 毒性データの質の指標に関する検討会議
開催場所, 時期: アトランタ (米国), 1992 年 9 月 16 日~18 日

参加者内容, 人数: 安全性評価担当者, データベース作成者, 毒性研究者など 9ヶ国からの 20 数名

会議の内容: 国際化学物質安全性計画 (IPCS) が, 化学物質の安全性評価に使用するデータの質について客観的な指標を確立する可能性を検討する目的で開いた。米国で過去に開かれた同趣旨の会議とその後の研究成果を踏まえ, (a)問題の枠組み, (b)利用者, (c)費用/便益, (d)手続きの四点に分け討議し, 以下の結論を採択した。(1)データの質の指標は, 論文の価値を評価するものではなく, 情報を利用しようとする人々にデータの完備の程度, 評価済みのデータか否かなどについての情報を提供すべきである。(2)対象とする論文の種類毎に設定すべき指標を具体的に検討するために, 「原案作成委員会」を組織する。(3)「データの質の指標」は国際的な情報の相互交換の促進に活用されるべきであり, IPCS は OECD, IRPTC などと協力してこの計画を中心的に推進すべきである。

化学物質情報部 山本 都

会議名称: ICSC 最終原案検討会議

開催場所, 時期: ブリュッセル (ベルギー), 1992 年 9 月 28 日~10 月 2 日

参加者内容, 人数: EC 各国, 米国, カナダ, 日本, IPCS の担当者, EC 委員会, CEFIC 等の代表, 約 20 名

会議の内容: IPCS の国際化学物質安全性カード (ICSC) は, 現場で化学物質を扱う作業員や雇用者等を対象にその安全性情報を簡潔かつわかりやすく伝えることを目的として 1988 年から作成が開始されている。化学物質関係の曝露・漏洩事故など緊急時にも参考にしやすいように 1 物質につき表裏 2 ページの 1 枚のカードになっており, その中に物理的・化学的性質, 短期および長期曝露影響, 急性症状, 曝露時の応急処置, 火災・爆発の危険性, 漏洩物の処理, 貯蔵法などの項目を盛り込んでいる。会議では各国が分担して作成した 65 物質についての原案を詳しく検討し最終的なカードを作成した。カード作成の目的上, 有害な影響関係の記載についてはヒトへの影響を中心に記載しているため, 動物試験デ

ータのうちどれを記載するかを選択が議論の対象となることがよくある。特に発がん性や生殖毒性については専門家の間でもいろいろ議論がたたかわされることがある。

化学物質情報部 神沼 二真

会議名称：「化学物質安全性情報の有効利用に関する地域ワークショップ」

開催場所、時期：クアラルンプール、1992年11月26日～12月9日

参加者内容、人数：化学物質安全性関係者約20名（主催者を除く）

会議の内容：この会議は、1990年夏、厚生省大臣官房国際課の内田氏と国立衛生試験所の神沼、会田らがWPROおよびPEPAS、WHO西太平洋事務局を訪問して企画したものであり、WPRO参加の各国における化学物質の安全性に関する情報整備とマネジメントに関する現状と問題点を明らかにし、各国の将来課題や、(PEPAS改め)環境保健センターを中心としたWPROの情報ネットワークなどについて討議した。我が国からは、神沼、会田らが企画および講演を行った。各国別の報告を行ったのは、オーストラリア、中国、フィジー、香港、日本、マレーシア、ニュージーランド、バブアニューギニア、トンガ、ヴェトナムであり、フィリピン、韓国、シンガポール、マジュロが欠席した。これらの国々の状況と課題は、大きくバラついて一般的なことが言えないが、中国がWHOの支援を得て、大規模なデータベース作成に取り組んでいるのが印象に残った。

化学物質情報部 山本 都

会議名称：ICSC最終原案検討会議

開催場所、時期：バルセロナ（スペイン）、1992年12月7日～11日

参加者内容、人数：EC各国、米国、カナダ、日本、IPCS、IARCの担当者、EC委員等会の代表、約25名

会議の内容：IPCSの国際化学物質安全性カード(ICSC)は約200物質/年のペースで作られている。各国が毎年20～30物質の原案を分担して作成し、全員が集まる最終検討会議で詳しく検討する。この会議では約60物質の原案の検討が終了した。原案の作成は、まず資料を集めそこから適切なデータを選択して記載していくわけであるが、カードの場合

一般報文と異なりこれまで二次資料からの引用が多かった。しかしこの会議からできるだけ一次文献にもどって引用することがもめられるようになった。

ICSCは、作成者によってバラバラの表現を用いるのを防ぐために基本的な表現については標準語句を作成しており、その選択基準も定めている。また米国NIOSHの開発したパソコン用作成プログラムを用いてパソコン上で作成できるようになっている。会議では標準語句およびパソコン用プログラムのバージョンアップについても併せて検討した。

化学物質情報部 関沢 純

会議名称：化学物質への曝露による人の健康影響評価の科学的原則についてのIPCS作業グループ会議

開催場所、時期：カーシャルトン（英国）、1993年3月8日～3月12日

参加者内容、人数：7ヶ国からの毒理学、疫学、化学物質情報ほかの分野の専門家12人

会議の内容：(1)化学物質への曝露による健康への影響の評価の原則について、IPCSの各種の化学物質の安全性評価の専門家会議や、各国において、参照できるモノグラフを作成する目的で開かれた。(2)リスク評価が学際的、かつ比較的新しい分野であり現在もさまざまな経験と研究を基に発展しつつあることから討論が多岐にわたった。(3)参加者は「疫学」「定量的リスク評価」「曝露評価」「リスク判定」の4班（それぞれが2つの班に所属）のサブグループに分かれて討議した。(4)リスク評価に用いられた仮定および不確定要因を明示する。リスク評価の結果を正確、明確にDecision makerに伝達する。曝露集団の性格を同定し、ヒトへのリスクの規模やその性格を解明することの必要性などが指摘されたが、全体の記述のバランスの課題が残された。

安全性生物試験研究センター 林 裕造

会議名称：ICH長期毒性試験における犬の有効性の評価に関する会議

開催場所、時期：ロンドン（英国）、1992年7月4日～7月5日

参加者内容、人数：毒性研究者、15名

会議の内容：1991年に開催されたICH-1の討議で、げっ歯動物の長期反復投与試験における投与期間を12ヶ月から6ヶ月に短縮するという合意が得られ

たが、犬についてはデータが不十分なため、意見の一致をみなかった。本会議では、FDA (米)、CMR (英)、JPMA (日本) から示されたデータベースを基礎に、この問題を検討した。CMRとJPMAのデータベースによると、6ヶ月間の投与実験により12ヶ月間投与の影響は予知しうると結論されるが、FDAのデータベースには病変の発現に12ヶ月間の投与を必要とした事例が含まれていた。このことから、FDAは犬における投与期間を6ヶ月に短縮することは時期尚早であると主張し、問題の最終的な解決は延期された。

安全性生物試験研究センター 林 裕造
 会議名称：呼吸器毒性とリスクアセスメントに関する国際会議
 開催場所、時期：ハノーバー (ドイツ)、1992年10月6日～9日
 参加者内容、人数：吸入毒性研究者、病理学研究者、行政官、72名
 会議の内容：本会議はIPCS、ドイツ環境省およびILSI (国際生命科学協会) 主催、IUTOX (国際毒性学会) 協催による吸入毒性および呼吸器毒性病理学に関する専門研究者会議である。演題は吸入毒性試験法のガイドライン (EPA, フラウムホーフー研究所)、吸入曝露量の測定法とその問題点、化学物質による肺障害の病理組織診断、呼吸器系内に存在する代謝酵素、アレルギー性および偽アレルギー性呼吸器障害、肺の免疫の特徴、吸入毒物による局所障害と全身障害、呼吸器障害の種差等、多岐にわたり、最終日に、出席者全員が分担して報告書原案を作成し、本年度中にIPCSから出版される予定。

安全性生物試験研究センター 林 裕造
 会議名称：ICH 発がん性試験法検討会議
 開催場所、時期：ロンドン (英国)、1993年1月9日～14日
 参加者内容、人数：毒性研究者、16名
 会議の内容：発がん性試験をどの時点で実施すべきか、どのような条件の場合に実施すべきかについて議論した。発がん性を示唆する知見がある物質についての実施に関しては3極の同意が得られたが、長期投与という条件のみでの実施の必要性については結論が持ちこされた。発がん性試験に用いられる最高投与量の決定法についてはFDA原案を基盤として3極で再検討することとした。現行ガイドライン

が要求している2種のげっ歯動物を用いる試験の有用性については、マウスの試験結果がヒトでの発がん性リスクとは関係がない事例が多いという事から、この動物による試験を不要とする意見が強調された。最終合意を得るために、データベースを慎重に検討する事となった。(FDA, EC)

安全性生物試験研究センター 林 裕造
 会議名称：第41回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会
 開催場所、時期：ジュネーブ (スイス)、1993年2月6日～20日
 参加者内容、人数：毒性研究者および分析化学者、30名
 会議の内容：ADI mg/kg body weight-Dodecyl gallate 0-0.05 (temporary), Octyl gallate: 0-0.1 (temporary), Propyl gallate: 0-1.4, Benzyl acetate: 0-5 (group ADI), 2-Ethyl-hexanol: 0-0.5, d-Limonene: Not specified, α -Methylbenzyl alcohol: 0-0.1, 5'-Disodium guanylate and 5'-Disodium inosinate: Not specified, Mannitol and Mannitol syrup: Not specified, Saccharin: 0-5, Konjac flour: Not specified (temporary), Processed Eucheuma seaweed: 0-20, Propylene glycol alginate: 0-70, β -Cyclodextrin: 0-6 (temporary), Sucrose acetateisobutyrate: 0-10 (temporary) PTWI g/kg body weight-Lead: 25, Cadmium: 7. 詳細はWHOから報告の予定。

安全性生物試験研究センター 林 裕造
 会議名称：ICH-2 準備委員会
 開催場所、時期：ブリュッセル (ベルギー)、1993年2月28日～3月12日
 参加者内容、人数：行政官、毒性研究者、臨床医等、14名
 会議の内容：品質規格 (quality)、安全性 (safety)、有効性 (efficacy)、の3分野で、各専門家委員会を取り上げている18課題の論点、目標、進捗状況、今後の作業計画について論議された。内容の詳細は別報されるはずなので、ここでは課題名の紹介にとどめる：1) 安全性試験、2) 分析法バリエーション、3) 不純物試験、4) 薬局方、5) バイテク製品の品質およびバイテク製品と生物製剤の安定性、6) 発がん性、7) 遺伝毒性、8) トキシコキネティクス、9) 単回/反復投与毒性試験、10) 生殖発生毒性試験、

- 11) 雄性生殖能に関する試験, 12) 臨床安全性, 13) 臨床安全性情報, 14) 臨床試験の報告書の形式, 15) 用量反応試験, 16) 人種差要因, 17) GCP, 18) 特定患者群の臨床試験: 高齢者.

毒性部 佐井 君江

会議名称: 第4回リスクアセスメントサマースクール

開催場所, 時期: バミューダ (英国), 1992年8月22日~30日

参加者内容, 人数: 講師7名 (T. Malmfors, Wallace A. Hays, Bo Lambert, A. John Newman, Paul Peters, Lain FH Purchase, Paul Solvic), 参加受講者20名 (10カ国)

会議の内容: 国際毒科学会の主催により, 各国の若手 Toxicologist を対象にリスクアセスメントの教育を行うことを目的として, 1年おきに開催されているもので, 今回は日本から2名が参加した. 講義内容としては, リスクアセスメントの基本的概念からそのプロセス, およびリスクアセスメントに関わる現在の研究成果やその問題点等について解説された. また, リスクアセスメントの実戦として, ある毒性試験データを解析してリスクアセスメントを実際に行ったり, あるいはリスクアセスメントの実例についてその適否や問題点に関し, グループおよび全体で討論を行った. さらに, 受講者が事前に準備したリスクアセスメントの実例に関する研究発表, およびそれに関する討論が行われた.

毒性部 黒川 雄二

会議名称: 日米リスクアセスメント専門家会議

開催場所, 時期: 米国国立環境保健衛生研究所 (NIEHS, North Carolina), 1993年3月2, 3日

参加者内容, 人数: 高橋, 三森 (病理部), 川島, 宇佐見 (薬理部), 黒川 (毒性部), 米国11名

会議の内容: 化学物質総合安全対策調査研究 (生活衛生局生活化学安全対策室) の分野 I 「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」班 (大森班) における研究活動の一環として, 89年以来日米のリスクアセスメント専門家による会合を三度行ってきた. 今回は, 米国側からは91年開始

の NIEHS の機構改革について説明があり, 今後は発がん性のメカニズムおよび生殖発生毒性の研究がより重視されることとなった. 雄性および雌性生殖能, 特に精巣毒性の検索法 (病理組織学的および精子運動能の評価) について活発な意見交換をした. 日本側からは, 化審法による新規化学物質評価結果, OECD の既存化学物質総点検事業, ICH への協力体制, 乱用薬物に関する NIDA とのワークショップ, および衛試で最近終了ないし試験中の慢性毒性/発癌性試験についての報告がなされた.

毒性部 黒川 雄二

会議名称: ICH-2 準備委員会

開催場所, 時期: ブリュッセル (ベルギー), 1993年3月8日~10日

参加者内容, 人数: ICH 6 極の委員, 約 30 名

会議の内容: 上記会合の内, EWG (Expert Working Group on Safety) の S5 (生殖毒性) に参加した. このグループでは, ①生殖発生毒性ガイドラインのハーモナイゼーション, ②雄性生殖能の検索の2つの問題を取り扱った. ①に関しては, いわゆる Bass 案についてここ数年精力的な検討が6極に於てなされており, ほとんど最終段階の Step 2 に来ている. 従って, 今回もいくらかの点での討議が行われたが, それに対するコメントが7月で締め切れ, 10月の ICH-2 の場で最終案が提示される予定である. ②においては, 雄性生殖能を評価するためのより適切な指標の検索と交配前投与期間の検討が課題である. これらに関しては, 日本が国際ワークショップの開催, 厚生省薬務局による班研究の発足等, 積極的に活動を行っている. 今後, 6極間の密接な連携の下での実験的研究が進められ, 将来的に ①にも取り入れられることになると考えられる.

薬理部 大野 泰雄

会議名称: ICH-2 準備委員会

開催場所, 時期: ブリュッセル (ベルギー), 1993年3月8日~10日

参加者内容, 人数: 日米欧の行政機関と薬品業界代表, トキシコキネティクス関連 (は約10人)

会議の内容: EC の専門家グループの作成した「トキシコキネティクスに関するガイダンス」の案 (第9版) の改訂, および放射性同位元素でラベルした化合物を用いた反復投与薬物動態試験に関する日本

の position paper の説明とそれに対する議論が行われた。主な結果として、前者に「毒性試験における全身暴露の評価」と言う副題が付くこととなり、後者に関しては当該試験に対する日本の立場の表明に関する部分を削除することとなった。また、今回の会議を受けて、それぞれ改訂版を作成し、ハーモナイゼーションに向けての今後の検討を行い、可能ならば本年7月に専門家会議を日本で開催する、とされた。

病 理 部 高橋 道人

会議名称：WHO の毒性病理情報システムに関する泌尿器系システムに関する評価委員会
開催場所、時期：ハノバー（ドイツ）、1992年4月11日～16日

参加者内容、人数：10名

会議の内容：実験動物の腫瘍および前癌病変について、国際的な病理組織診断用語の統一を計るため、IARC (WHO) が中心となり、分類および定義づけを行うもので、今回はラットの泌尿器系に関して検討を行った。腫瘍性病変の分類は、①過形成ならびに前腫瘍性病変 (H)、②良性腫瘍 (B)、③悪性腫瘍 (M)、④系統的腫瘍 (S) に大別された。

腎：尿管過形成、腺腫、癌、腎脂肪腫、腎脂肪肉腫、悪性腎間葉系腫瘍、腎芽腫

腎盂・尿管：移行上皮過形成、移行上皮乳頭腫、移行上皮癌、扁平上皮癌

膀胱・尿道：移行上皮過形成、扁平上皮化生、腺性化生、移行上皮乳頭腫、扁平上皮乳頭腫、移行上皮癌、扁平上皮癌、腺癌

これらにつき、定義、鑑別診断および同義語を明確にした。

病 理 部 三森 国敏

会議名称：第40回FAO/WHO合同食品添加物専門委員会 (JECFA) の残留動物用医薬品に関する会議

開催場所、時期：ジュネーブ (スイス)、1992年6月9日～18日

参加者内容、人数：JECFA正委員、FAO/WHO事務局、FAO顧問、WHO臨時顧問、計30名

会議の内容：残留動物用医薬品 (クロサンテール、フルベンダゾール、イベルメクチン、チアベンダゾール、トリクラベンダゾール、フラゾリドン、ニト

ロフラゾン、牛ゾマトロピン、ラクトバミン、イソメタミジウム) の毒性と残留データに関する評価とそれに基づく一日許容摂取量 (ADI) の設定および最大残留基準値 (MRL) の勧告と以下の2点についての討議がなされた。1) 古い動物薬については、最近の試験指針に適合した毒性・残留データを得ることは困難であり、ヒトでの使用事例の情報利用等、代替可能なデータによってその安全性等を評価することを考慮すべきであることが決定された。2) 評価を受ける動物薬が適正使用基準に従って使用された場合、その毒性データや摂取量からその残留物を摂取してもヒトの安全性に問題がないような薬品に対して、具体的数値でADIやMRLを特定する必要がないことから「ADIないしMRL特定せず」の用語を用いることが決定された。

病 理 部 三森 国敏

会議名称：ポリ臭化ビフェニール (PBB) のIPCS環境保健基準作業グループ会議

開催場所、時期：ハノバー (ドイツ)、1992年6月22日～26日

参加者内容、人数：米、メキシコ、ノルウェー、ドイツ、中国、日本の専門家とIPCS事務局、合計15名

会議の内容：PBBの環境保健基準 (EHC) 案と保健安全ガイド (HSG) 案についての討議とEHC要約、評価、結論および勧告文書の作成を行った。以下の結論と勧告が出された。PBB同類化合物は脂溶性であり、持続的に生体内に蓄積する特徴を有している。PBBは環境中へ流出し、蓄積する。実験動物に対する急性毒性は低いが、種々の慢性毒性作用が約1mg/kg体重/日の長期投与により誘発される。発癌性試験では、げっ歯類に0.5mg/kg体重/日投与することにより肝臓腫瘍が誘発される。PBBの暴露は重大な問題は引き起こさないが、微量長期投与による有害作用の見地から、これ以上の暴露の持続は避けるべきである。PBBの毒性や発癌性のメカニズムについての更なる研究は実施すべきであり、感受性の高い動物を用いた、低用量での長期繁殖毒性試験が実施されるべきである。

病 理 部 高橋 道人

会議名称：有害化学物質分類法の国際的調和に関する第2回拡大会議

開催場所、時期：ワシントン (米国)、1993年10

月6日～11日

参加者内容、人数：40名

会議の内容：OECDにおいて急性毒性試験が固定用量法によって実施されることを受けて、吸入毒性の国際的統一を図るため、ガス体、蒸体、ダスト・ミストの曝露用量を設定した。分類は、毒性の強いものから順にクラス1, 2, 3, 4および5に大別された。例えば、クラス1では経口が5 mg/kg以下、経皮が40/50 mg/kg以下、ガス体が0.5 mg/lまたは125 ppm以下、蒸体が0.5 mg/lまたは125 ppm以下、ダスト・ミストが0.125 mg/l以下とされた。クラス2では経口が50 mg/kg以下、経皮が200 mg/kg以下、ガス体が2 mg/lまたは500 ppm以下、蒸体が2 mg/lまたは500 ppm以下、ダスト・ミストが0.25/0.5 mg/l以下とされた。同様にクラス3, 4および5についても各曝露経路の基準用量を設定した。

病理部 西川 秋佳

会議名称：IPCSの生体指標と安全性評価に関するタスクグループ

開催場所、時期：カーシャルトン (英国), 1992年11月15日～11月22日

参加者内容、人数：討議参加者10名、IPCS事務局4名及び他機関(ECETOC)より2名の合計16名

会議の内容：安全性評価における生体指標の概念と原則に関する環境保健クライテリア (EHC) 案について討議し、以下の要約及び勧告が提案された。要約；1) 生体指標は暴露、反応、感受性の3つに分類される。2) 生体指標の導入は、毒性物質による健康リスク評価を改善すると考えられる。3) 生体指標を安全性評価に応用する際には、それらの有意性と選択を明らかにする。4) 生体指標の検索には倫理的、社会的、法的な側面を考慮する。勧告；1) 基礎研究との協調から、生体指標の安全性評価における幅広い活用が望まれる。2) ヒト健康影響に関連する鋭敏で有意な指標についての基礎研究を推進すべきである。3) 生体指標の応用に関する実用的プロトコールを作成し、その概念と原則を時代に応じて見直す必要がある。

変異遺伝部 祖父尼俊雄

会議名称：OECDの遺伝毒性試験法に関する専門家会議

開催場所、時期：ロンドン (英国), 1992年11月30日～12月2日

参加者内容、人数：14カ国からの代表およびOECD事務局からの合計21名

会議の内容：OECDの遺伝毒性試験の既存ガイドラインの改訂案および新たに提案されたガイドライン案について、専門家による討論が行われた。

既存ガイドラインでは、サルモネラ菌と大腸菌を用いる復帰変異試験を1つにまとめることとし、新規ガイドラインとして、*in vivo* 不定期DNA合成試験とショウジョウバエを用いる新しい体細胞突然変異・組換え試験を取り入れることとした。

各試験のガイドラインの詳細については各国から多数の意見がだされ、白熱した議論が行われた。これらの意見をとりまとめた改訂案については1993年の秋までに各国OECD担当者に配布して、意見を求める予定となっている。

変異遺伝部 祖父尼俊雄

会議名称：ICH-2 準備委員会

開催場所、時期：ブリュッセル (ベルギー), 1993年3月8日～10日

参加者内容、人数：6極からの代表を含めた合計9名

会議の内容：遺伝毒性試験法についての国際的な調和において問題となる項目を、1992年9月の東京準備会合で抽出し、同年12月の東京での専門家会議、1993年2月のメルボルンでの第6回国際環境変異原学会で行われた専門家会議で討論が進められ、ブリュッセルの会議では11項目中8項目において合意が得られつつある。

これら11項目についての議論の内容についての草稿が作られ、目下6極の代表に配布され、コメントが集められている。合意の得られていない事項については、さらにデータを収集しており、1993年6月に行われるワシントンでの準備会合で引続き議論する運びとなっている。

総合評価研究室 中館 正弘

会議名称：第18回OECD環境委員会/化学品グループ合同会議および化学品グループ運営委員会

開催場所、時期：パリ (フランス), 1992年5月11日～5月14日

参加者内容、人数：加盟19カ国86名 (日本からは

厚生省、通産省等7名が出席)、
CEC (3名)、IRPTC (2名)、
IPCS(1名)、OECD事務局(13
名)

会議の内容：1年に2回開催される化学物質対策の諸方針を決定する会議で、本会議での主要議題は以下の通りである。

- (1) 高生産量化学物質の安全性点検計画
- (2) 高生産量無機化合物の安全性点検優先物質リストの策定
- (3) リスクリダクション計画 (鉛、水銀、カドミウム、塩化メチレン、臭素系難燃剤)
- (4) 化学物質の分類
- (5) 農薬の管理に関する国際調和
- (6) 化学物質事故対策

総合評価研究室 中舘 正弘

会議名称：第19回OECD環境委員会/化学品グループ合同会議、有害性評価委員会および化学品グループ運営委員会

開催場所、時期：パリ (フランス)、1992年11月9日～11月13日

参加者内容、人数：加盟19カ国86名 (日本からは厚生省、通産省等7名が出席)、CEC (3名)、IRPTC (2名)、IPCS(1名)、OECD事務局(13名)

会議の内容：本会議での主要議題は以下の通りである。

- (1) 化学品対策の1994～1996年の計画
- (2) 高生産量化学物質の安全性点検計画
- (3) 鉛に関するリスクリダクションの文書案の検討および今後のリスクリダクション計画
- (4) 試験法ガイドラインの改訂
- (5) 化学物質の分類
- (6) 農薬の管理に関する国際調和
- (7) 化学物質事故対策
- (8) 新規化学物質の情報交換
- (9) 有害性評価に関する諸問題

総合評価研究室 曾田 喜崇

会議名称：環境化学物質の毒性評価に関する会合

開催場所、時期：ジャカルタ(インドネシア)、1992年12月7日～12月10日

参加者内容、人数：保健省有害化学物質課 (5名)、国立医薬品食品品質管理試験所 (20名)、BIOFARMA (5名)

会議の内容：国立医薬品食品品質管理試験所の主催するシンポジウムに招待され、「化学物質の安全性評価のための情報収集、管理、評価の手順」に関して講演を行った。講演後に当該テーマについて自由討論が行われたが、インドネシアでは現在UNEPの援助協力により保健省内に中毒センター設立のプロジェクトが進行中であり、情報の収集および収集した情報についてのデータベース化について特に熱心に討論された。

総合評価研究室 中舘 正弘

会議名称：OECD第1回スクリーニング試験データ(SIDS)初期評価会議及び第2回試験計画策定会議

開催場所、時期：パリ (フランス)、1993年2月22日～3月6日

参加者内容、人数：加盟12カ国37名 (日本からは厚生省、通産省、環境庁等8名が出席)、CEC (1名)、IRPTC (2名)、IPCS (1名)、BIAC (2名)、OECD事務局 (6名)

会議の内容：OECD化学品グループでは、高生産量化学物質のうち安全性評価に必要なスクリーニング試験を加盟各国の分担で行っており、本評価会議では、それぞれの試験データの報告書を提出し評価作業を行った。わが国は、厚生省、通産省、環境庁、日本化成品工業協会の協力により初年度9品目についての試験を行ったので、その結果を報告した。

第2回試験計画会議では、わが国分担の12品目について収集した情報の分析結果を報告し、試験計画案を提出して11品目が了承された。

平成4年度業務概要

所長 内山 充

この数年間、国際情勢の急激な変化とともに社会情勢が大きく変わりつつあるという感が深い。我が国立衛生試験所の業務内容にも明らかに変化が見られるようになった。

医薬品、食品、ならびに生活環境中における各種化学物質の、品質、安全性、有効性を適切に評価することを最終目的として、それらに関連した基礎研究、調査研究、および行政試験検査等に従事するという、当所本来の役割と目標にはいささかの変化もないが、業務の内容は近代化と国際化の大きな流れに沿って変化しつつある。

近代化

時代の要請すなわち行政需要と科学技術の進歩に即応して、常に組織と業務の見直しを行うのは、国立研究機関の義務である。「国立試験研究機関の改革方策（厚生省：平成2年）」にも具体的に示されたように、当所は「安全性その他の評価科学分野の充実推進」に加えて「創薬科学研究における国の責任としての基礎的、基盤的貢献」を目指して、大学および民間との明確な分担と効率的な協調を心掛けながら、組織および業務の整備を図る必要がある。

一方、厚生省の試験研究機関全体の秩序ある発展を目指して、来る平成5年7月から厚生省内の7試験研究機関が、これまでの各所管部局を離れて官房厚生科学課の所管に一元化されることとなった。それを受けて平成4年9月以来、一元化後の各機関の在り方についてのグランドデザインを策定すべく、厚生科学課、旧所管課および各研究機関長による検討が精力的に続けられた。

当所もそれと平行して、将来計画委員会において所の近未来像について十分討議し、構想を策定した。すなわち、

① 当所が独特の知識と経験を有し、しかも国内唯一の専門機関であると自負できる評価科学分野では、先端技術を導入して基礎研究を充実し、一層の研究水準の向上と行政支援および国際貢献の拡大を図る。

② 国の責任で遂行すべき標準物質、細胞バンク、

種苗バンク等、研究支援と資源確保に関する基盤研究を積極的に推進する。

③ 広い意味での情報活動とそれを活用することの重要性を認識し、国立研究機関の利点と特徴を生かして国内外に貢献する。

④ 創薬基礎科学研究に関しては、評価科学の基礎研究および基盤技術の開発研究を通じて積極的に関与する。

⑤ 現在の大阪支所は「創薬基盤技術研究センター」に改組して、基盤技術に関する先導的な研究と融合領域交流研究の場とする。

このような方針に基づき組織増員要求あるいは研究課題の設定を行いつつある。平成4年度より開始された創薬科学総合研究プロジェクト（ヒューマンサイエンス振興財団）には当所から14課題が参加している。

国際化

本年度初頭の欧州の市場統合の実現にともない、世界における米・欧・日の3極体制がより定着した結果、従来から行われている国際機関の主催する会議における国際協力活動の場において、日本の評価科学を代表する我々の責任がさらに重くなりつつある。さらに、医薬品などのように先進技術を利用するものに対する評価技術は、国際的な調和なしではすでに通用しない時代となっており、上記3極間で特定の課題についての国際的な検討もしばしば行われることから、常に技術的な調和を念頭において業務が展開されている。

平成4年度は、医薬品審査資料の国際調和（ICH）、薬局方国際検討、OECD、WHO（IPCS、JMPR、JECFA、WPRO）、WHO/UNEP、FAO/IAEA、ISOなどに関連した国際会議に、12カ国へ延45名が出席した。なおこの他、2国間共同研究、学会等には13カ国へ33名が出席した。

途上国への技術協力としてはフィリピン食品薬品局プロジェクトの最終時期を迎えている。技術援助派遣は5カ国5名であった。

研究交流

平成4年度は、7月に薬用植物栽培技術フォーラム、10月にケミカルセイフティフォーラム、2月に水道水質試験法セミナーを開催し、3月の日本薬学会年会ではレギュラトリーサイエンス討論会に多くの所員が参画した。

なお「レギュラトリーサイエンス」については簡単な解説を本号139頁に載せたのでご覧下さい。

10月1～2日に石川県金沢市において「全国衛生化学技術協議会」が石川県保健環境センター西所長のお世話で開催された。食品、医薬品、医療用具、家庭用品、水道環境の各分野で、業務上相互に密接な関係にある地方衛生研究所や薬事指導所等の業務担当者との有意義な交流が行われた。

研究評価

外部の有識者を交えた所内研究評価委員会が平成3年度から機能している。所内の各試験部（支所、栽培試験場を含む）の業務の方針および成果について客観的な評価を受けるためのものである。平成4年度末に2年を費やした第1期の評価報告書が所長に提出された。現状には比較的高い評価を頂いたが、幾つかの適切な問題点の指摘と要望事項の提起を得ることができた。今後の所内運営に役立たせたい。

人事異動

平成4年度末における主な異動は次のとおりである。原田副所長、川崎生物試験部長は定年退官。武田（明）食品添加物部長は日大（農獣）教授に、桐原総務部長は医薬品基金理事に転出。後任副所長には寺尾薬品部長、総務部長には福永企画課補佐、薬品部長には小嶋環境衛生化学部長、食品添加物部長には山田（隆）同部室長、環境衛生化学部長には安藤同部室長が就任した。

総 務 部

部長 福永幸雄
前部長 桐原清司

1. 定員

平成3年度末の定員は274名であったが、第8次定員削減計画に基づき行政職(一)1名、研究職2名、計3名の定員削減により、平成4年度末の定員は、指定職2名、行政職(一)44名、行政職(二)23名、研究職202名、計271名となった。

2. 予算

平成4年度の予算の概要は次のとおりである。

(1) 一般予算

予算額は、3,327,035千円で前年度に比較して3.72%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）

	1,200千円
② 標準品製造費（6品目追加による増）	6,265千円
③ 受託研究費の増	35,946千円
④ 総合化学物質安全性研究費の増	21,292千円
⑤ 移転調査検討費の増（基本構想図作成費等）	17,402千円
⑥ 施設整備費の減	△41,268千円

等が挙げられる。

また、新規予算については、官庁会計事務データ通信システムに必要な経費が、3,554千円認められた。

(2) 移替予算

予算額は、168,018千円で前年度に比較して0.58%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生分解性高分子ドラッグデリバリーシステムの薬物放出制御機能に対する放射線エネルギー負荷の影響に関する研究8,275千円、②照射香辛料等の検知に関する研究11,887千円）、国立機関公害防止等試験研究費において3課題（①水域環境におけるグアイオキシン等非意図的有害物質の生成機構と安全性評価に関する研究20,613千円、②細胞内および細胞間情報ネットワークへの影響面からみた環境汚染物質の有害反応の解析14,896千円、③利水過程における農薬等化学物質の動態および分解生成物等の評価に関する研究3,840千円）が認められた。

なお、平成4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4年度の施設整備については、当初予算に加え、補正予算として164,513千円が認められ、以下のとおり整備を行った。

(1) 当初予算関係

- ① 北海道薬用植物栽培試験場温室新築工事
(施設整備費19,044千円)
- ② 和歌山薬用植物栽培試験場庁舎屋根葺替工事
(各所修繕費（特別修繕）3,209千円)

(2) 補正予算関係

- ① 筑波薬用植物栽培試験場中央監視装置改修工事
42,245千円
- ② 筑波薬用植物栽培試験場人工気象装置改修工事
26,045千円
- ③ 筑波薬用植物栽培試験場温室天窓開閉用ギヤ

別紙

平成 4 年 度 予 算 額

事 項	平成 3 年度	平成 4 年度	対前年度差	備 考
	(A)	(B)	引増△減額 (B) - (A)	
	(千円)	(千円)	(千円)	
(組織)厚生本省試験研究機関	3,207,690	3,327,035	119,345	
(項)厚生本省試験研究所	3,048,988	3,204,487	155,499	
人 件 費	2,044,245	2,113,027	68,782	
人 当 経 費	7,674	7,691	17	
一般事務経費	42,928	43,776	848	
研 究 費	229,526	230,726	1,200	
官庁会計事務データ通信システム に必要な経費	0	3,554	3,554	
特 別 研 究 費	16,120	16,120	0	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 (6,770 千円) 2. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究 (9,350 千円)
標準品製造費	26,912	33,177	6,265	
安全性生物試験研究センター運営費	205,062	205,232	170	
薬用植物栽培試験場運営費	105,631	104,837	△ 794	
情報活動運営費	41,962	42,062	100	
施設管理事務経費	64,556	65,119	563	
対がん 10 ヲ年総合戦略経費	58,448	58,489	41	
受 託 研 究 費	93,428	129,374	35,946	1. ニューロ・トロフィック・ファクター等の分離技術及び機能の解析技術の開発 (8,228 千円) 2. バイオテクノロジー応用医薬品の評価技術の開発 (6,032 千円) 3. バイオテクノロジーを利用した食品の開発と安全性評価技術の開発 (11,372 千円) 4. バイオテクノロジーを応用した毒性・薬効の新評価技術の開発 (23,908 千円) 5. 糖鎖含有蛋白製剤における糖鎖の機能解明と評価技術の開発 (12,078 千円) 6. 糖鎖関与疾患の発症機構の解明 (3,000 千円) 7. 新医薬品製剤の有用性確保技術の開発と評価技術の確立 (26,014 千円) 8. 医用材料と生体の相互作用の総合化技術の開発 (10,078 千円) 9. 新規生理活性物質の探索技術の開発 (5,250 千円) 10. 薬用植物の科学的研究 (11,907 千円)

事 項	平成3年度 (A)	平成4年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)	備 考
	(千円)	(千円)	(千円)	
乱用薬物基礎研究費	18,724	18,837	113	11. 免疫系による生体調節機構の解明と新規生体調節物質の開発 (3,000千円) 12. 神経系の機能・病態の解析と応用 (7,283千円) 13. 人工臓器に関する新減菌法の研究 (1,224千円) 113 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並びに生体に及ぼす影響に関する研究 (18,837千円)
総合化学物質安全性研究費	91,115	112,407	21,292	
移転調査検討費	2,657	20,059	17,402	
(項)血清等製造および検定費	98,390	103,504	5,114	
一般事務経費	12,819	12,847	28	
事業費	85,571	90,657	5,086	
(項)厚生本省試験研究所施設費	60,312	19,044	△41,268	北海道薬用植物栽培試験場温室新築工事 (19,044千円)
(移替予算)				
(組織)厚生本省試験研究機関	169,006	168,018	△ 988	
(項)国立機関原子力試験研究費	93,493	89,143	△ 4,350	
(項)国立機関公害防止等試験研究費	75,513	78,875	3,362	
計	3,376,696	3,495,053	118,357	

* 予算額については両年度とも当初予算額

一取替工事 4,462千円

④ 筑波薬用植物栽培試験場農機具倉庫および収納乾燥舎屋根防水・外壁吹付塗装工事 19,003千円

⑤ 筑波薬用植物栽培試験場研究本館クーリングタワーおよびファンコイル改修工事 32,816千円

⑥ 筑波薬用植物栽培試験場圃場整備工事 39,942千円

4. 国家検定等品目の改正

国家検定品目の削除

国家検定医薬品のうち「半合成ヒト結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液」が平成4年4月20日から削除となった(平成4年3月30日厚生省告示第118号)。

この結果, 当所の試験に係る国家検定品目は, 6品目から5品目となった。

5. 移転関係

(1) 本所

昭和63年7月の閣議決定(多局分散型国土形成促進法に基づく79行政機関の移転)に基づき, 府中市の米軍基地跡地(現在留保地)への移転に向けて関係省庁(大蔵省, 建設省), 東京都および府中市との折衝を進めてきたが, 府中市の市民斎場建設についての住民との調整が進まず, 留保地全体の利用計画の策定に着手できなかったことから, 当初計画した平成8年度の移転は断念せざるを得ない状況となった。

しかしながら, 平成4年12月に市民参加の「市民斎場検討協議会」から当該地に建設することが適切との答申が出され, 市民斎場問題が一応決着をみたことから, 平成5年度からは, 平成10年度移転完了を目的に留保地の全体利用計画策定(東京都, 府中市および当所の三者協議)に着手することとしている。

(2) 大阪支所

国有地利用が非効率との大蔵省の指摘を受け、集約整備について別地移転を含め検討することとされており、平成3年度中には大蔵省の処理方針が決定されることとなっていたが、平成4年度末現在決定をみていない。

当所としては、

- ① 現在地が埋蔵文化財包蔵地であることにより、高層建築が不可能であること。
- ② 現在地が大阪市の中心地にあり、自動車等による振動、騒音、大気汚染等のため、研究業務を行ううえで適切な環境条件にないこと。
- ③ さらに、組織再編計画の一環として、大阪支所を創薬基盤技術研究センターへ改組・拡充する方針であること。

等の諸状況から、大阪府茨木市所在の国際文化公園都市西部地区ライフサイエンスパークへの移転が最適と考えており、当該地域の開発事業の進行に並行して具体的な検討を進めることとしている。

薬 品 部

部 長 小 嶋 茂 雄

前部長 寺 尾 允 男

概 要

前年度に引き続いて、医薬品の品質、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・研究を実施した。医薬品の品質に関する研究では、医薬品の分析法に関する研究ならびに日本薬局方の規格および試験方法に関連する研究を中心に行った。製剤評価に関する研究では、生物学的同等性に影響を与える要因の検討、生物学的同等性試験ガイドラインの改正のために必要な研究、ならびに製剤中での医薬品の物理・化学的安定性を支配する因子の解析などを行った。麻薬および依存性薬物の研究では、毛髪や尿などの生体試料中の乱用薬物の分析法を確立するための研究、ならびに毛髪分析や尿分析による薬物使用の鑑定法や薬物使用歴の調査法などについて研究を行った。

平成5年4月1日付けで、寺尾允男前部長が副所長に昇任されたのに伴い、同日付けで小嶋茂雄環境衛生化学部長が後任の部長として発令された。また、同日付けで、豊岡利正主任研究官が環境衛生化学部に第三室長として配置換えになるとともに、最所和

宏技官が食品部から薬品部へ配置換えとなった。

科学技術庁 STA フェローとして Dr. Yi-Ming Liu (中国) が平成5年3月8日に来日し、4月1日に環境衛生化学部に移るまでのほぼ一か月間医薬品の分析法の研究に従事した。

寺尾前部長は、下記の国際会議に参加のため海外に出張した：薬局方規格の国際的調和に関する会議(フランス、平成4年5月12日～17日)、日米欧薬局方の国際調和に関する推進会議/ICH 品質分野専門家会議/第3回薬局方と医薬品品質管理に関する国際会議など(イタリア、平成4年10月30日～11月8日)、ICH-2 準備委員会(ベルギー、平成5年3月7日～12日)。

木倉技官は、国際協力事業団のタイ麻薬対策協力事業の専門家としてタイに出張し、薬物分析および麻薬・向精神薬分析に関して技術指導を行った(平成5年2月21日～3月6日)。

阿曾技官は、米国で開催された生理活性物質の放出制御に関する国際シンポジウムにおいて研究成果を発表した(平成4年7月)。伊豆津技官は、米国で開催された第7回国薬学会年会(平成4年11月)に参加し、研究成果の発表を行った。また、中原麻薬室長は、イタリアで開催された第1回薬物乱用研究のための毛髪分析に関する国際学会において招待講演を行った(平成4年12月)。

業務成績

1. 特別審査試験

新薬156件、かぜ薬57件の合わせて213件について試験した。

2. 一斉取締試験

スルピリン坐剤4件、酢酸デキサメタゾンを含む軟膏剤8件、ニコモールの内服固形製剤15件について試験した。

3. 特別行政試験

あへん中のモルヒネの含量試験を行った(国産あへん27件、輸入あへん90件、合計117件)。

4. 標準品の製造

N-エチルMDA (15g)、N-ヒドロキシMDA (15g)、メタカロン (15g)、4-メチルアミノレクス (15g)、フェンジメトラジン (15g)、ベンツフェタミン (15g)。

5. 国際協力

国際厚生事業団の第3回必須医薬品製造管理研修に協力し、アジア諸国の医薬品製造管理者に対する研修を行った。

台湾の麻薬監視員および国際協力事業団のインドネシア研修生に対して麻薬分析の研修を行った。

日米薬物乱用研究の専門家ワークショップに実行委員として参加した。

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集の改正 (薬務局審査課), 地方衛生研究所技術者講習会 (薬務局監視指導課), 麻薬, 乱用薬物に関する情報収集 (薬務局麻薬課) および JIS の改正 (通商産業省) などに協力した。

研究業績

1. 医薬品の分析法に関する研究

ビタミン主薬製剤のうち, ビタミン B₁₂ 主薬製剤の迅速分析法を作成した (薬務局監視指導課委託研究費)。

新規に開発したカルボキシル基分析用光学活性蛍光標識試薬を用いて, ナプロキセン等の医薬品の光学異性体の高感度選択的分析法を確立し, 血中および尿中分析に応用した (厚生省特別研究費)。

過シュウ酸化学発光による医薬品の高感度分析法を確立するとともに, アルコール類に特異的な蛍光試薬の開発を行った。

アルベンダゾールの原薬および製剤の「規格および試験方法」を作成した (厚生科学研究費補助金)。

分析法バリデーションの案を作成した (厚生科学研究費補助金)。

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の「吸光度測定法」の機器の校正法について検討し, 改正案を作成した。また, 一般試験法「ヒ素試験法」の「検液の調製法」の改正案を作成した。

一般試験法に「胃腸薬の制酸力・pH 試験法」を新たに設定するための案を作成した。一般試験法および医薬品各条に関連して, 「赤外吸収スペクトル測定法」の整備ならびに日本薬局方新規収載品目の標準スペクトルの作成 (30 品目) を行った。

電量滴定法を用いた医薬品の定量法を確立するため, 平成3年度に引き続いて, 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

攪拌速度を変えると放出速度が変化するアセトアミノフェン徐放錠を用いて絶食時のヒト消化管内の

攪拌強度を推定した結果, パドル法の約 10 rpm に相当することが明らかとなった。また, ビーグル犬における徐放錠の *in vivo* 放出速度をヒトに近づけるべく, 硫酸アトロピンをイヌに静注した結果, 消化管内運動が抑制され過ぎてしまうことが分った (HS 財団受託研究費)。

アセトアミノフェン, インドメタシン油脂性坐剤を試料として, 回転透析セル法におけるセル内液量の影響について検討した結果, 液量のわずかな変化が放出速度に著しく影響することが明らかとなった (創薬科学総合研究費)。

個人内同等性の評価法, ならびにデコンポリューション法およびモデル依存の薬動学的手法による生物学的同等性評価法について検討を行い, これらの方法の有用性や欠点を明らかにするとともに, 生物学的同等性ガイドラインの改正案を作成した (厚生科学研究費補助金)。

4. 医薬品の物理・化学的安定性に関する研究

薬物の室温における化学的安定性の予測にマイクロ熱量計の適用を試みた。その有用性と限界について塩酸メクロフェノキサートの加水分解およびトコフェロールの酸化分解を反応モデルとして検討した結果, これまで長期間を要した薬物の分解速度の予測がマイクロ熱量計を用いることにより1日で行えることが分った (HS 財団国際共同研究費)。

結晶セルロースなどの高分子添加剤およびタンパク質の凍結乾燥製剤中に存在する水分子の運動性を NMR や誘電緩和スペクトル法によって測定し, 水分子の動的挙動を表わすパラメーターの数値化を行った (創薬科学総合研究費)。

タンパク質の凍結乾燥時における失活や保存安定性に及ぼす各種添加剤の安定化効果について検討した結果, 添加剤の結晶性や流動性が安定化に影響を及ぼす主要な因子であることを明らかにした。

ポリ乳酸マイクロスフェアの薬物放出性の長期保存時における安定性について検討し, 高分子の分解や結晶化に伴って薬物放出性が経時的に増大し, その変化の速度は温度および湿度に強く依存することを明らかにした (HS 財団受託研究費)。

γ 線照射によるポリ乳酸マイクロスフェアの分子量および薬物放出性の変化について検討し, それらの変化に対する線量の影響に関して基礎的知見を得た (国立機関原子力試験研究費)。

マイクロスフェア, 円盤など種々の形態の高分子マトリックスにおける高分子の分解を *in vitro* で検

討し、マトリックスのガラス転移温度が分解機構および分解速度を支配する因子であることを明らかにした（厚生科学研究費補助金）。

5. 麻薬および依存性薬物に関する研究

毛髪中のヘロインおよびその主代謝物である6-アセチルモルヒネの定量法を確立した。この方法を用いて毛髪分析を行うことにより、ヘロイン乱用者の過去のヘロイン使用歴を1年以上の長期にわたってさかのぼってモニタリングすることができた（厚生科学研究費補助金）。

ジアセチルモルヒネ、6-アセチルモルヒネおよびモルヒネを投与した時の毛髪への排泄について検討した結果、6-アセチルモルヒネが最も毛髪への排泄率が高く、ヘロイン使用者の毛髪中の主要な成分となることが明らかとなった。

医薬品デプレニール使用者の毛髪中に覚せい剤使用者の毛髪中には認められないデプレニールおよびデスメチルデプレニールが検出されることを確認し、これに基づいた両者の識別法を確立した。

現行の尿中薬物試験法を大幅に改めた標準試験法の第一次案を作成した。特に、我が国の薬物司法鑑定にイムノアッセイ法に基づくスクリーニング試験を導入するため、鑑定現場での試行試験を行った結果、導入可能なことを確認した（厚生科学研究費補助金）。

ベンゾジアゼピン系向精神薬12種の分析マニュアルを作成した（薬務局麻薬課委託研究費）。

覚せい剤、コカイン、ヘロイン等の薬物乱用者における薬物依存の進行と毛髪分析から得られる薬物歴や薬物代謝の変化との間に一定の規則性を見出した。この規則性を基にして、毛髪検査により薬物依存症患者の依存進行度を診断する方法を提案した（国立精神・神経センター委託研究費）。

アルコール前投与のラットにコカインを投与し、血中および毛髪中の薬物動態を調べた結果、血中および毛髪中にアルコールとコカインから生成するコカエチレンが確認された。この生成経路を明らかにするために、ベンゾイルエグゴニン投与の場合と比較した結果、体内でコカインのメチルエステルが直接エタノールとエステル交換することが分った。

生物薬品部

部長 早川 堯 夫

概要

生物薬品の品質評価科学分野においても、確実に国際調和への対応が増加してきている。ICH 2でバイオテクノロジー医薬品の品質に関して3つの課題が取り上げられることになった。それぞれの課題とも日進月歩の展開を続けている各分野での評価科学を各国関係者がどの先端でとらえ、どのように共通認識化し、調和された指針とするかが課題である。同時に、わが国の生物薬品の評価科学研究のレベルおよびその規制（調整）適用の科学的合理性や創薬推進へのimpactが問われている。バイオ医薬品の局方取載に際しての日・米・欧3極の国際調和への動きも始まった。いずれもデータやコンセプトの先導性・先見性なしにはregulatory scientistsとして参画する意義も依拠する立場もない。これは、国内での役割においても同様である。何年も前から積み重ねてきた生物薬品の特性・品質評価技術に関するデータやコンセプトが、今日的あるいは近未来的なニーズに合致し、国内外で活用されつつある。このような状態を、さらに将来のターニングポイントにおいても常にみることでできるよう、先導的な研究課題を選び、育て、結実させる努力を不断に続けることが業務の中心的課題である。一方、業務量と範囲の拡大化、内容の先端化傾向はとどまることがない。方程式は多く、解を得るには多くの飛躍が必要である。主な研究業務としては、公定書医薬品の試験法改定や迅速化、バイオ医薬品のアッセイ法の高感度、高精度、簡便化に必要なデータの蓄積、糖タンパク製剤の特性・品質評価技術研究の開始、タンパク製剤の安定化および評価技術の開発、診断用医薬品の評価技術および関連基礎研究、生物薬品の有効性・安全性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などを行った。

人事面では、平成5年4月1日付けで徳永裕司主任研究官が環境衛生化学部へ配置替えとなった。

短期海外出張は以下の通りであった。早川部長：第3回薬局方と医薬品品質管理に関する国際会議等出席（イタリア、平成4年10月31日～11月8日）；薬事規制のハーモナイゼーションに関する国際会議

(ICH 2) 準備会議出席 (ベルギー, 平成5年3月7日~3月12日); バイオテクノロジー由来製品の局方取載に際しての国際調和に関する公開会議等出席 (イタリア, 平成5年4月17日~4月25日), 森本室長: 国際化学物質安全性計画 (IPCS) のアセトニトリルの環境保健基準第二次原案検討会議 (スイス, 平成4年10月5日~10月9日); 同アセトニトリルの作業グループ会議 (イタリア, 平成4年11月24日~12月1日); バイオテクノロジー由来製品の局方取載に際しての国際調和に関する公開会議等出席 (イタリア, 平成5年4月17日~4月25日), 内田主任研究官: バイオテクノロジー由来製品の局方取載に際しての国際調和に関する公開会議等出席 (イタリア, 平成5年4月17日~4月25日).

業務成績

1. 特別審査試験

新薬24件およびかぜ薬・解熱鎮痛薬11件, 合計35件について試験した。

2. 一斉取締試験

塩化リゾチームを配合した製剤 (13件) について試験した。

3. その他

第12日本薬局方改正に伴う業務およびバイオ医薬品局方取載と国際調和に関する作業 (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), 地方衛生研究所試験担当者講習会 (薬務局監視指導課), 組換えヒト成長ホルモンの新規国際標準品設定のための国際共同検定 (WHO), 平成4年度特別課程薬事衛生管理コース (国立公衆衛生院), バイオ医薬品の品質・安全性の評価等に関する啓蒙活動 (日本公定書協会講演会等), 各種国際協力事業などに協力した。

研究業績

1. 生物薬品の特性と品質評価技術に関する研究

i) HPLC法によるプロゲステロン, プロピオン酸テストステロンおよび安息香酸エストラジオールの原体およびそれらの注射液の定量に関する検討を行い, 改正案の作成を行った。

ii) 塩化リゾチームの迅速分析法を作成し, 薬務局監視指導課に報告した。

iii) キット間における血中インスリン濃度測定値のばらつきの原因をゲルクロマトで検討した。

iv) 組換えヒト成長ホルモンの定量法を *in vivo* bioassay から簡便な理化学的方法へ変更すること

の可能性について検討を行った。また品質管理試験法の全体的構成についても検討した (HS財団受託研究費)。

v) 組換えヒトインスリン製剤を様々な苛酷条件下で処理した試料を用い, HPLC法による含量測定と *in vivo* bioassay との相関性を確認した (厚生科学研究費補助金, 薬務局監視指導課)。

vi) 糖鎖含有タンパク質として16種を選びMEDLINEデータベースにて文献検索を行い, 糖鎖の構造と機能に関する情報解析をした (HS財団受託研究費)。

vii) 組換えヒトエリスロポエチン (EPO) を様々な酸化条件で処理したところ, 活性酸素の処理濃度に依存して *in vivo* 活性が低下することを見いだした (HS財団受託研究費)。

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, フォスファターゼ阻害剤である calyculin A およびリン酸化酵素の阻害剤を用いて検討した。

ii) 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HL60細胞の多形核白血球への分化におけるG-CSFの促進作用について, ジアシルグリセロール生成との関連について検討した (HS財団受託研究費)。

iii) 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究として, マクロファージの貪食能および活性酸素生成活性に及ぼす免疫抑制剤の影響について検討を行った (特別研究)。

3. 生体内活性物質の作用機序と細胞機能に関する生物化学的研究

i) イヌ腎臓におけるアルドース還元酵素およびその類似酵素の相互変換機構について検討した。

ii) 糖尿病患者の赤血球内アルドース還元酵素量を酵素免疫測定法で測定し, 糖尿病合併症の発症と酵素量との相関について検討した (厚生科学研究費補助金, 保健医療局疾病対策課)。

iii) トランスフェリンを種々のグリコシダーゼで処理し, 細胞への鉄取り込みにおける糖鎖の役割について検討したところ, 糖鎖の有無で差が認められた。

iv) ホルモン等による細胞増殖および分化誘導の

調節機構に関する研究として、成長ホルモンによる 34 kDa 蛋白質のリン酸化と分化誘導作用との関連を検討した。

v) 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、グルココルチコイド受容体の消長がデキサメタゾンにより調節されることを明らかにした。

vi) 創薬のための微量生理活性蛋白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多重標識化による解析を行った (国立機関原子力試験研究費, 科学技術庁)。

vii) 病態時における生理活性ペプチドの変動に関する研究として、サブスタンス P の EIA 法について検討した。

4. 先端技術を利用した生体成分関連医薬品の有用性確保に関する基礎的研究

i) バイオテクノロジーにより生産される医薬品の試験的製造とその性状に関する研究の一環として、ヒト成長ホルモンのアミノ酸変換体を作製し、ループ領域の活性部位にある Glu65, Glu66 の負荷電の活性発現への関与を検討した。

ii) 組織プラスミノゲン活性化因子, γ -グルタミルトランスフェラーゼの分子修飾による安定化について検討した (創薬研究総合研究費)。

iii) 組織プラスミノゲン活性化因子やプラスミンなどの血栓溶解酵素の血小板凝集に対する影響を検討した (HS 財団受託研究費)。

5. 診断用医薬品に関する基礎的研究

i) 腎診断薬に関する研究として ^{99m}Tc 診断薬の安全性を腎臓内滞留時間から検討した。

ii) 精巣診断薬に関する研究として、精巣中のトランスフェリン, フェリチンの EIA 法を検討した。

生 薬 部

部 長 佐 竹 元 吉

概 要

前年度に引き続き、主として生薬の規格・試験法の基礎研究および生薬成分、天然物有害物質の化学的試験および安全性の試験、生薬薬理学的研究および薬物動態学的研究を行った。科学技術振興調整費

による生活・地域流動研究事業に「類似生薬の薬効評価に関する相同性の研究」テーマで、富山県の研究機関と共に参画した。ヒューマンサイエンス財団の受託研究では「生薬成分の生体応答」および「培養細胞を用いた電気生理的手法による糖鎖の役割の解明」の基礎研究を行った。検定検査として、特別審査および賦型剤として乳糖を含む漢方エキス製剤のエキス含量の一斉取締試験を行った。

海外出張は佐竹部長が平成 4 年 10 月 5 日から 9 日まで、マニラで開催された WHO 西太平洋事務局主催の「生薬の安全性と有効性に関するワーキンググループ」に参加し、研究用のガイドラインを作成した。関田主任研究官は、国際協力事業団の要請により、ブラジル・アマゾン農業研究プロジェクトの巡回指導調査員として平成 4 年 11 月 8 日から 11 月 22 日までブラジルに出張し、実績の評価、ミニッツの作成等に携わった。

研究者および研修員の受け入れは生薬の形態学的研究の支援のため下村裕子東京薬科大学名誉教授を客員研究員として招聘した (平成 4 年 10 月から)。JICA の要請でブラジル農業牧畜公社湿润熱帯農牧研究センターの Rimunda Fatima Ribeiro 氏 (平成 4 年 5 月 6 日から 6 月 19 日まで) および Wilson Carvalho Barbosa 氏 (平成 3 年 10 月 14 日から 12 月 18 日まで) を薬用植物の化学分析法の研修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 氏をペルーの生薬の成分の構造決定の研究のために平成 5 年 4 月 1 日から引き続き、1 年間受け入れた。

業務成績

1. 特別審査

従来と同様、生薬又は漢方エキス剤を含む製剤 (かぜ薬 22 件) について審査を行った。

2. 一斉取締試験

賦型剤として乳糖を含む漢方エキス製剤のエキス含量試験 (51 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。このことは賦型剤として乳糖を含む漢方エキス製剤のエキス含量は用いる溶剤により、低い値で規格しているものもあり、適切な溶剤の指摘と規格値の設定を要するものも見られた。

3. 調査に関する業務

生薬および生薬製剤の品質に関する調査

市場の日本薬局方および日本薬局方外規格集に収載されている生薬を収集し、それらの品質について

形態的および成分的に検討を行った。また、日本薬局方外規格集に収載可能な生薬品目についても検討を行った。

研究業績

1. 生薬および生薬製剤の規格試験の研究

i) 生薬および生薬製剤の規格試験の研究

インヨウカク、オトギリソウ、コウカヒ、サンベンズ、ナンバンモウ、ニューコウ、モクテンリョウ、ユキノシタ、レンセンソウ、ロクジョウについて、規格および試験法を検討した。

漢方・生薬エキス製剤のエキス含量の合理的な規格設定方法を検討するため、配合される医薬品添加物、抽出溶媒、抽出方法などの条件を変え、成分の溶出性を調査した。

ii) 生薬の化学的品質評価の研究

生薬の確認試験法を充実させるための研究を行った。ロクジョウについて uracil を目標とした TLC 法を設定した。またニューコウについて cembrene およびその関連化合物を特異的な発色スポットとして検出する TLC 法を設定した。

ロートコンに含まれるアトロピンおよびスコポラミンの光学異性体について HPLC 法による簡易分析法を確立した。

iii) 生薬の基原に関する研究

日本薬局方の根と根茎生薬 13 種類、果実と種子生薬 10 種類、その他 17 種類に関して、現在の市場品の基原を明らかにした。また、日本薬局方外規格に対象となる生薬の基原も明らかにした。

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

ペルー産生薬 *piripiri* の内分泌系に及ぼす影響を検討し、活性の認められたクロロホルムエキスから新規セスキテルペン 2 種を分離、構造決定を行った。また、 5α リダクターゼ阻害、ジヒドロテストステロンレセプター結合阻害活性化合物として、南米産 *Swartzia polyphylla* より新規プレロカルパン等 3 種、東南アジア産 *Diospyros* 属植物より 15 種のナフトキノンを同定し、*Darbergia* 属から 10 種の新規ネオフラボン類を分離、構造決定した (HS 財団受託研究)。

ii) 薬用生薬の成分検索とその生物活性の研究

日本産および中国産当帰の成分ならびに生物活性の比較を行った。フタライド類、フェルラ酸、コリンの含量はいずれも中国産が高含量であったが、ク

マリン類は日本産のみに検出された。子宮平滑筋に対する作用は、中国産当帰が自動収縮、オキシトシン収縮を濃度依存的に抑制したのに対し、日本産は、北海当帰が高濃度で自動収縮を抑制したのみで、大深当帰はほとんど影響をあたえなかった (HS 財団受託研究)。

iii) 菌類生薬の活性成分検索と化学的分類に関する研究

中国産紫色馬勃 (*Calvatia cyathiformis*) の乾燥子実体塩化メチレン抽出エキスより数種のステロイド系化合物とともに、新規ステロイド二量体 calvastosterone を単離し、その構造を決定した (生活・地域流動研究費、科学技術庁)。

主な腹菌類 13 属、17 菌株の培養条件を検討し、各種生理活性試験のための大量培養を行った (HS 財団受託研究費)。

iv) 生薬資源の薬理学および電気生理学的研究

単離細胞を用いた微量有効成分の探索のために、心筋細胞の酵素による単離法の改良を行い、安定した細胞単離方法を開発した。また、この細胞を用い、電気生理学的手法により心筋細胞の細胞膜を流れる種々のイオン電流を測定し、それらに対する既知生薬成分ならびに生理活性ペプチドの作用を検討した。これらを通じ、微量活性成分の検索のための電気生理学および薬理学的スクリーニングシステムの新たな構築を行った。

細胞表面の糖鎖構造の各種病態に伴う変化が、細胞膜の薬物受容体およびイオンチャネルの機能に及ぼす影響を解明するため、糖鎖変換酵素を用いた基礎的検討および文献調査を行った (HS 財団受託研究費)。

v) 漢方製剤の薬剤学的研究

中国産軟紫根のエーテル抽出エキスに含まれるシコニン系色素成分を分離、同定した。また、これら化合物の局所投与によるラット綿球法での肉芽組織の形成促進作用の活性成分を検討している。

中国産川芎に含まれる tetramethylpyrazine および中国産と日本産当帰に含まれる ferulic acid は、抗炎症作用とともに鎮痛作用もあることが示された。

黄連の有効成分のベルベリンの局所投与によるラット綿球法における肉芽組織形成の抑制による抗炎症作用発現の有効用量は、抗炎症作用を示した黄連の水抽出エキスの経口投与によるベルベリンの最高血中濃度値とほぼ等しかった。

また、炎症の治療に臨床で使用されている漢方処

方の中で、その水抽出エキスの経口投与によりマウスでの酢酸誘発色素透過性亢進を顕著に抑制し、抗炎症作用を示す処方を見出した。

vi) 生薬成分の体内動態と薬効に関する研究 (光学活性薬物の体内動態と薬効に関する研究)

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内投与後の体内動態について検討した。血漿タンパク質ならびに組織タンパク質への結合率は各異性体間で有意な違いはみられなかった。代謝の相違の検討も行った。

vii) 菌類生薬の活性成分検索と化学的分類に関する研究

水負荷ラットを用いた利尿活性試験により、*Poriacocos* のメタノール抽出エキスに活性を見いだし、現在、活性に関与する化合物の解明を行っている (生活・地域流動研究, 科学技術庁)。

3. 天然有害物質の化学的研究

i) マイコトキシンの検索・分離・同定・構造決定および生物活性の検討

マウス骨髄性白血病由来 M1 細胞の分化誘導能を指標としたスクリーニングにより活性を示した *Emericella nidulans* より新規化合物 nidulalin A, B を単離し、その構造を決定した。

療 品 部

部 長 中 村 晃 忠

概 要

中国薬品生物製品検定所・Xi Tingfei 博士の HS 流動研究員派遣の更に 1 年延長が認められた。

林譲主任研究官は Virginia Commonwealth 大学での客員研究員生活を終えて、1992 年 8 月帰国した。

業務成績

1. 家庭用品関係

試験実施計画に従って、次の試験を実施した。

分析法作成：styrenated phenols, N, N'-diphenylthiourea, zinc dibutylthiocarbamate

細胞毒性試験：N, N'-dibutylthiourea, N, N'-dilaurylthiourea, Tinuvin P, Tinuvin 326

2. 標準化と国際調和

医療用具の承認や安全性評価も国際的な動向を無視してはあり得ないので、以下のような国際会議や

集会に出席して情報交換などに務めた。

ISO/TC194「医療用具の生物学的評価」(Oslo, 1992.6, 中村; Maastricht, 1993.4, 中村, 土屋, 新谷)

The Society for Biomaterials/FDA: Symposium for Implant Retrieval (1992.9, Chicago, 新谷)

International Latex Conference: Sensitivity to Latex in Medical Devices (1992.11, Baltimore, 中村)

3rd Annual AAMI/FDA International Standards Conference on Medical Devices (1993.3, Arlington, 新谷)

また、中村は新規ポリマーの事前評価の国際調和のための OECD 専門家会議 (1993.4, 東京) で、日本における新規ポリマーの毒性試験結果について講演し、討論に参加した。

3. 各種ガイドライン作成への関与

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 (案)

各方面からのコメントを基にガイドライン (英訳も) の修正をした。この修正案は厚生省を通じて国内および米国, EC に正式に提示された。

2) 日本歯科医師会・歯科材料検討委員会「歯科材料の評価基準 (案)」

主に生物学的安全性試験のガイドライン作成に携わっている。

4. 医療用具関係 ISO (国際標準化機構) 国内検討委員会への関与

医療用具関係の ISO/TC (技術委員会) に対応する国内体制に寄与するために、次の TC の国内検討委員会に参加している：TC198「医療用具の滅菌」；TC150「外科用インプラント」；TC194「医療用具の生物学的評価」。また、TC172「光学機器」を含めて文書の収集と整理を行っている。

5. ISO 文書の邦訳

TC194 文書の国内への流通をよくするために、以下の文書の邦訳を行い、医療機器センターを通じて浸透を図った：ISO 10993-Part 1, 2, 3, 4, 5, 6 および part 11

6. 医療用具副作用モニター報告のデータベース化

薬務局安全課の主催する上記モニター報告のデータベース化をパソコン・ベースで試行している。

研究業務

1. ポリウレタンの生体内変化に関する研究

*in vivo*でのポリウレタン (PU) の経時変化を種々の手段で調べた。その結果、埋植初期には低分子量物質の体液への溶出が主な変化であるのに対し、4~8週以後はPUからソフトセグメント部分が失われていくことが明確になった (厚生科学研究費補助金)。

2. 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

透析器の接着剤部分の材質はPUであるが、放射線滅菌した時に発癌物質である4,4'-diaminodiphenylmethane (MDA) が微量であるが生成する。その発癌リスクを計算した結果、実質的には安全であるという結論が得られた (国立機関原子力試験研究費)。

3. 赤眼症候群の原因物質の構造に関する研究

透析器の抽出物から4-O-methylglucuronoxylanが確認され、これが赤眼症候群を引き起こすのではないかと考えて、methylglucuronoxylaseとそのアセチル化体をモデル化合物として動物実験を実施したが、まったく反応を示さなかった。したがって、ある特定の化学構造というよりも一定量のアセチル化多糖の血液への混入が原因と想像された。これで本研究は打ち切る。

4. ラテックス・ゴムによるI型アレルギーに関する研究

手術用ゴム手袋などによるI型アレルギー (アナフィラキシーを含む) が問題となっている。このリスクを減らすために、抗原であるゴム由来の水溶性蛋白質の定量法を確立することがまず必要である。種々の方法を比較した結果、BCA法を採用することとした。抽出条件などについても検討した。

5. 歯科用レジンの安全性に関する研究

義歯床用PMMA系レジンの安全性に関して、昨年の研究結果および文献情報 (毒性、暴露両面) を総合して、技工士および使用者に与えるリスクの評価を行った (厚生科学研究費補助金)。

6. 医用材料の細胞毒性試験に関する研究

細胞毒性用標準陽性対照材料の製造をめざして、種々の製造条件 (基本材料であるPUの重合度やオリゴマーの除去条件など) を変えて細胞毒性の再現性を調べた。国際的な標準材料とすることをめざしている。

医療用具毒性試験ガイドライン (案) では、細胞

毒性試験としてコロニー法を採用したが、この方法を、96穴マイクロプレートを用い、播種細胞数を最適化し、クリスタルバイオレット染色とマイクロプレートリーダーを併用することによって感度および定量性を向上することができた。

7. 遅延型アレルギー試験法の確立に関する研究

1) Local lymph node assayにおける刺激性物質のリンパ球増殖反応に及ぼす影響について検討した。刺激性物質 (DMSO, SLS) を塗布すると、弱いリンパ球増殖反応を引き起こすことがわかった。SLSを塗布溶媒に添加すると金属アレルギーの反応が増強することから、SLS水溶液は水溶性アレルギーの検出に有効な塗布溶媒であることが示唆された (特別研究)。

2) リンパ球の活性化を指標とする新しいマウスの感作性試験法を開発した。皮下注射と皮膚塗布の組合せ処理により、local lymph node assayに比べて著しく感度を高めることができ、Maximization法と遜色ないものとなった (特別研究)。

3) Maximization法によって物質の感作性の強度を定量的に評価するための実験デザインと強度の表現方法 (クライテリア) を提案した。これによれば、15種類の感作性物質の強度は $1\sim 10^5$ の範囲に分布し、人に接触皮膚炎を起こす物質の製品中濃度も 10^5 倍異なり、両者に相関関係があった (毒性部と協同)。

8. 金属材料による遅延型アレルギー発現モデルに関する研究

種々の異なる組成を持つFe-Cr合金のプレートをラット皮下に埋植し、感作の成立をCrイオン溶液のパッチテストで調べたところ、ある組成領域の合金だけで感作が成立した。これは、*in vivo*ないしは*in vitro*での材料の腐食傾向とよく一致した (厚生科学研究費補助金、東京医科歯科大学および病理部と協同)。

9. 人工臓器の新滅菌法に関する研究

エチレンオキシド滅菌に代わるものとして過酸化水素ガス (H_2O_2) による滅菌が模索されているが、残留ガスや H_2O_2 による材料の劣化を調べる必要がある。本年度は滅菌後の材料の細胞毒性について調べた。材料の種類によっては、残留 H_2O_2 のために細胞毒性が強まるので、長期間のエアレーションが必要なことがわかった。

10. 催奇形性試験の*in vitro*化に関する研究

1-Nitropyrene (1-NP) の催奇形性に関するリ

スク評価を胚細胞分化培養系を用いて検討した。マイクロマスカルチャー系への薬物代謝酵素導入法を確立し、1-NPを試験したが、50%分化阻害濃度の低下は認められなかった。1-NP投与ラットの血清試料は催奇形活性を認めなかった。一方、感度の高い検出法の *in vivo/in vitro* 試験では、妊娠ラットを高用量の1-NPに暴露した時に、軟骨細胞の分化機能阻害作用を認めることができた(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)。

11. 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)

本年も、以下の事例の究明に取り組んだ。いずれも分析法を確立しながらの仕事である。原因製品と原因化学物質を列記する。

1) 油性マーキングペン：インク、フェルト芯中の *p-tert-butylphenol/formaldehyde resin*(PTBP-FR)

2) 装具のパッドおよびカバー：接着剤中の PT-BP-FR

3) ゴム長靴：N-1,3-dimethylbutyl-N'-phenyl-*p*-phenylenediamine (DMBPPD)

4) タイヤ：zinc dimethyldithiocarbamate (ZD-MC)

5) エポキシ系接着剤：エポキシ樹脂および硬化剤 (*m*-xylylenediamine)

6) アクリル系接着剤：2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA)

7) 口紅：赤色202号の不純物である遊離酸

12. ポリエステルおよびアセテート皮膚炎の研究
たびたび経験してきた事例の中で、まだ説明のついていないものの一つにポリエステル(5事例)あるいはアセテート製品(1事例)によるものがある。従来の文献では、分散染料を原因物質としていることが多いが、その結論が必ずしも正しいとは思えない。臨床、分析、動物実験を組み合わせる研究である(名古屋大・東邦大皮膚科、毒性部と共同)。

13. ジチオカーバメート系およびチオ尿素系による加硫ゴムの真のアレルゲン解明に関する研究

添加した加硫促進剤はゴムの加硫中に分解したり付加物を作ったりして変化する。真のアレルゲンの構造は未知である。その点を明らかにするべく研究中である。Diphenylthiourea (DPTU) で加硫したゴム手袋からはDPTUそのものも、熱分解で生成すると思われる phenylisothiocyanate (PITC), phenylisocyanate (PIC) も検出されなかった。し

かし、PITCの骨格を持つ誘導体の存在が確認された。また、ゴム抽出物で感作した動物はPITC誘導体を含むクロマト分画で陽性を示した(毒性部と共同)。

14. 分離分析の精度に関する研究

HPLCとキャピラリー電気泳動の測定に起因する誤差(定量値の相対標準偏差)を、情報測定度FUMIに基づいて予測できることが可能となった(食品部と共同)。

15. リスクアセスメント手法の確立等に関する研究

すでに、動物実験で得られる血液生化学データの主成分分析結果から病理所見の程度を分類することができることをピロガードのデータから明らかにしたが、本年はジクロロメタンの吸入実験データを用いて検討した。投与用量の違いを分類することができ、肝臓の空胞化との相関が得られた(厚生科学研究費補助金、毒性部などと共同)。

環境衛生化学部

部長 安藤 正典

前部長 小嶋 茂雄

概 要

平成5年4月1日付けで、小嶋茂雄前環境衛生化学部長が薬品部長へ転任し、同日付けで安藤正典第3室長が後任部長に就任した。同日付けで第2室佐々木久美子主任研究官は食品部第2室へ、山越葉子技官は有機化学部へ転出した。同日付けで薬品部豊岡利正主任研究官が第3室長に就任し、生物薬品部徳永裕司主任研究官、有機化学部内野正技官は第2室に配置替えとなった。

生活環境分野では、室内空気関連において各種の空気汚染物質の分析方法の検討、汚染物質の個人暴露量の測定方法と暴露量の推定を行った。飲料水関連においては水道水質基準の見直しを行うとともに、水質検査方法の開発、水中に生成する化学物質の安全性評価手法の開発を行った。

化粧品関連分野では、新粧外規、医薬部外品原料規格、医薬品添加物規格等の作成ならびに界面活性剤、油脂等の規格整備に関して薬務局審査課に協力した。また、化粧品の品質確保や安全性評価法に関する研究、さらに薬用育毛剤およびクロルヘキシジンを含有する歯磨きの一斉取締試験および承認規格

および育毛剤に係わる特別行政試験を実施した。

業務成績

1. 空気関係

前年度に引き続き、東京都内3ヶ所の国設自動車排気ガス測定所において、各種自動測定器を用いて大気汚染物質（一酸化炭素、一酸化窒素、二酸化窒素、オゾン、ホルムアルデヒド、メタン、非メタン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) 一斉取締試験

育毛剤69品目およびクロルヘキシジンを含有する歯磨き14品目の試験を実施した（薬務局監視指導課）。

2) 化粧品原料規格の作成 化粧品の品質確保のため、新規原料基準作成（30品目）を行った（薬務局審査課）。

3) 昨年度に引き続き「新粧外規」の作成 現行の種別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い、いわゆる新粧外規に再編成することを前提に、原料カテゴリーごとに収載すべき規格項目、試験方法の統一を図った（薬務局審査課）。

4) 医薬部外品原料規格の作成

薬用歯磨き類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水道事業体の協力の基に実施した（生活衛生局水道整備課）。

2) 測定方法の開発

水道水質基準の改正に伴う検査方法の開発を行った（生活衛生局水道整備課）。

研究業務

1. 建築物内空気の衛生管理基準の設定に関する研究

1) 学校環境衛生に関する調査研究

東京都内の小中学校の教室において、呼吸器疾患の原因物質として知られている二酸化窒素、ホルムアルデヒドおよび換気の指標でもある二酸化炭素について、その実態を調査し、提案された学校環境衛生基準の超過率等の実態を明らかにした。

2) 一般住宅内における化学物質の調査研究

木造および集合住宅（計20件）を対象に二酸化

窒素、ホルムアルデヒド、パラジクロロベンゼン、テトラクロロエチレン等の調査を実施し、化学物質による室内汚染の実態を明らかにした。

2. 喘息および発ガン関連危険因子のヒト暴露量に関する調査研究

1) 酸性物質の暴露量調査

室内空気中に存在するギ酸の実態を明らかにした。また、喘息患者17人を対象に、二酸化窒素とホルムアルデヒドの個人暴露量の同時測定を行うとともに、患者の生活行動時間の調査も合わせて実施し、喘息の進行に及ぼす影響を検討した。

3. 空気中の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の検討

炭酸ナトリウム含浸シリカゲル補集剤を開発し、室内外空気中のギ酸のモニタリング法の検討を行い、実用性を明らかにした。

2) 揮発性有機化合物のパッシブサンプラー法の検討

テトラクロロエチレンの簡易測定を目的として、四フッ化エチレン樹脂製チューブを拡散層、Tenax GC補集剤に用いたパッシブサンプラーの検討を行い、実用性を明らかにした。

4. 新配合香粧品の品質確保に関する研究

製剤の品質保証等に関連して、浴用剤や洗顔パウダーを対象としてパンクレアチン等の酵素およびパウダー中のジバルミチン酸アスコルビン酸の試験法について検討し、経時安定性に関する研究を行った（厚生科学研究費補助金、東京都立衛生研究所と共同）。

5. 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等について、機器分析の導入、特に赤外吸収スペクトルを測定し、規格作成に関する研究を行った（厚生科学研究費補助金、東京都立衛生研究所と共同）。

6. 香粧品の安全性評価法に関する研究

1) 香粧品の安全性を予測する評価技術に関する研究

① 昨年度に引き続き、透過実験拡散セルにラットおよびモルモットの剥離皮膚を用いて難溶性原料の剥離皮膚に与える影響の評価を行った。

② ラット胎児表皮由来細胞株（FRSK）を用い、疑似表皮モデルの構築を試み、ラベル化合物（³H、D-アスパラギン酸）の透過性に及ぼす界面活性剤

等の影響を検討し、そのメカニズムを解明するために界面活性剤の細胞毒性試験を実施した（国立機関原子力試験研究費、科学技術庁）。

2) 太陽紫外線の生体影響評価とその防御に関する研究

フラビン類のUVA 増感がデオキシグアノシンおよび赤血球に及ぼす影響を *in vitro* で検討した（HS 財団受託研究費）。

7. 水道用薬品または水道用品に関する研究

水道用コンクリート塗料として利用されるビニル樹脂等の塗料の規格設定のための安全性評価とその測定方法を確立した（生活衛生局水道整備課）。

8. 水道水の安全性評価に関する研究

1) 水域環境におけるダイオキシン等非意図的の有害物質の生成機構と安全性評価に関する研究

水中に含まれる非有害物質が水の塩素処理等によって非意図的に有害物質になる可能性があり、その生成機構と安全性評価ならびに超微量測定法の確立等の研究を行った。

2) 発ガン性物質による環境汚染と生体影響の定量的解析

水道水の浄水処理過程で生成する発ガン性物質のリスク評価について研究した。

3) 公共用水域における解放系使用化学物質およびその分解生成物等の評価に関する研究

公共水域に確認される農薬類の一斉分析方法について検討した。

食 品 部

部 長 齋 藤 行 生

概 要

平成4年10月4日および平成5年3月4日の両日にわたって、合計53農薬が残留基準値設定農薬として告示された。これにともない食品部の農薬関連業務も一段と活発化した。この傾向は当分つづくことが予想される。当部ではその他、照射食品の判別法、合成抗菌剤の一斉分析法の開発、有機スズ化合物の環境化学的、生化学的研究、輸入食品中のアルカロイドの分析法開発、情報理論に基づく分析法の最適化等の研究が行われたがこれらは今後も継続される予定である。

平成4年度および5年度両年度にかけて当部内に比較的大きな人事の異動があった。先ず、平成2年

10月1日より平成4年6月30日まで、厚生省薬務局新医薬品課に出向していた、根本了技官がその行政上の職責を果たし平成4年7月1日付で食品部に復帰した。また、長年にわたり食品衛生上の諸問題の解決に積極的に努力を傾けてきた当部第二室室長内山貞夫技官（横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター理化学課長併任、平成4年4月1日～8月31日）は平成4年9月1日付で退職し同日付で、(財)食品薬品安全センター・秦野研究所に転出した。

さらに、農薬、環境汚染物、照射食品、食品中の天然有害物等の安全性に関する研究に携わってきた河村葉子主任研究官は食品添加物室長に昇格し、同部第3室に配属された。

これらの異動にともない鈴木隆第1室室長は第2室室長に、第3室高木加代子技官は第2室に移った。第3室の最所和宏技官は薬品部に転出し新しい職務に励むことになった。環境衛生化学部の佐々木久美子主任研究官は食品部第1室室長に昇格し、農薬および汚染物質問題の解決に挑むことになった。当部第1室の松田りえ子主任研究官は大匠官房厚生科学課の併任官（6月1日付）として近く厚生省に赴任することになっている。

内山貞夫第2室室長は照射食品の検知法に関する研究調整会議に出席するためブタペストに出張した（平成4年6月15日～19日）。

松田りえ子主任研究官は、第5回分析化学におけるケモメトリックス国際会議出席のためモントリオール（カナダ）に出張した（平成4年7月14日～17日）。

豊田正武第3室室長は、(財)ヒューマンサイエンス振興財団の研究者派遣事業により、FDA（米国食品薬品局）に派遣され（平成4年12月11日～平成5年3月16日）バイオテクノロジーを利用した食品の評価技術の開発に関する研究に従事した。

村山三徳技官は液体クロマトグラフィーによる微量分析に関する研究を行うために科学技術庁の長期在外研究員として、米国テキサス州のテキサス工科大学（Department of Chemistry and Biochemistry, Texas Tech. University, ダスグブタ教授）に出張した（平成5年1月10日～平成6年1月9日）。

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) 穀類（小麦、玄米）および野菜（馬鈴薯、ト

マト、キャベツ、タマネギ) 中のホキシムの分析法上の問題点を明らかにし、分解しやすくそのために分析の困難なホキシムの分析法を確立した(厚生省生活衛生局食品化学課)。

2) 種実、野菜中のジメチピンの分析法を検討した(厚生省生活衛生局食品化学課)。

3) 合成抗菌剤の一斉分析法につき検討を行い新たに6種の合成抗菌剤を増やした(厚生省生活衛生局乳肉衛生課)。

4) 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、厚生省生活衛生局食品科学課)

② 輸入雑豆中のアルカロイド

ルピン豆(オーストラリア産)中のルピナルカロイドの分析法に関する検討を行った。

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—ヌカエビ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、厚生省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(国立研究機関公害防止等試験研究費、環境庁)

2. 化学物質の生体影響

イガイおよびマダイ生体内における有機スズ化合物の化学種および存在部位を検討した。

3. 食品照射

1) 香辛料10数種類について、ESR法により検討を行ったところ、その多くから照射特有と思われる副シグナルを検出した。

2) 化学発光法による照射香辛料の検知について検討した。

3) 照射した玄米から核DNAの抽出を行ったところ、照射線量が高くなるにつれて収量が減少した。

4) GC-MSによるDNA塩基4種類および変体体5種類の測定法を確立した。照射玄米核DNAについて測定したところ照射による塩基変体体の有意な増加はみられなかった(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)。

4. 天然有害物質

1) ルピン豆中のルピナルカロイドの分析法について検討した。

2) トマト製品中に微量のトマチンが存在する場合もあることを明らかにした。

5. 調査研究

① 全国からの集計モニタリングデータは、145万件に達した。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(厚生省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、厚生省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、厚生省生活衛生局乳肉衛生課)

④ 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、厚生省生活衛生局生活化学安全対策室)

6. 食品成分の新たな有益性

① 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)

② バイオリクター利用食品の衛生規範作成の試み(厚生省生活衛生局食品保健課)

食品添加物部

部長 山田 隆
前部長 武田 明治

概要

当部の主要業務である化学的合成添加物、化学的合成品以外の添加物、器具・容器包装等に関する試験、研究業務に加えて、第六版食品添加物公定書の英文版作成への協力、化学的合成品以外の食品添加物リスト(第一版)の見直しを行っている。また、遺伝子操作技術等を利用した食品添加物の安全性評価のための分離分析に関する研究をヒューマンサイエンス振興財団の受託研究として行っている。

人事面では、平成4年4月1日付けで合田幸広技官が主任研究官に昇格した。また、食品部の豊田、内山両室長の後を受け、石綿肇室長が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した

(平成4年9月1日～平成5年3月31日)。池田(旧姓澤野)千波技官(厚生省東京検疫所)が、平成4年10月1日～平成5年3月31日の半年間併任となった。

平成5年4月1日付けで武田明治部長が退官され、後任に山田 隆が発令された。また、第一室長に石綿肇第三室長が就任し、第三室長に河村葉子食品部主任研究官が昇任した。

合田幸広主任研究官が、L-トリプトファン製品中の不純物に関する問題について情報交換するため米国に出張した(平成5年2月18日～3月3日)。

業務成績

1. 規格・基準の作成

(1) 衛生研究所、厚生省指定検査機関の協力の下に、平成3年以降新たに使用が許可された食品添加物(アスコルビン酸パルミチン酸エステル、食用赤色40号、イマザリル)について、食品中からの分析法を検討した。また、「食品中の食品添加物分析法」の見直し作業を行い、アスコルビン酸ステアリン酸エステル、エリソルビン酸およびそのナトリウム塩、サッカリンについて分析法の検討を行った(食品添加物使用基準点検整備費、生活衛生局食品化学課)。

(2) 天然添加物の規格基準の設定、分析法の作成、および標準品の作製における問題点の洗いだしと現状分析を、衛生研究所、厚生省指定検査機関、日本食品添加物協会、天然添加物製造会社と協力して行った(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(3) 金塗ガラス製食器からの鉛、カドミウム、その他の金属の溶出について検討を行った(厚生科学研究費、厚生省生活衛生局食品保健課)。

研究業績

1. 食品添加物の規格基準設定に関する研究

1) 化学的合成添加物

(1) 食用赤色40号中の非スルホン化芳香族第一アミンの分析について検討し、クレシジンを分離定量出来る液体クロマトグラフィー法を開発した(食品添加物規格基準設定費、厚生省生活衛生局食品化学課)。

(2) 第六版食品添加物公定書で新たに導入されたタール色素の臭化物とヨウ化ナトリウムの規格に関連して、キサントン系色素に光照射した時のハロゲンの遊離量を、イオンクロマトグラフィーにより検討した(食品添加物使用基準点検整備費、生活衛生

局食品化学課)。

2) 化学的合成品以外の食品添加物

(1) 増粘安定剤であるカラギナンの市販製品について、発ガン性があると報告されている分子量数万の画分(減成カラギナン)の存在量を分析した(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(2) 輸入缶詰フルーツカクテル中のサクランボおよび輸入缶詰サクランボのアルミニウム含量と、表示された使用着色料の相関を調べた結果、天然添加物コチニール色素のアルミニウムレーキで、わが国では不許可のカルミンが使用されている可能性が考えられた(食品添加物規格基準設定費、生活衛生局食品化学課)。

(3) アナトー色素の主成分のピキシンをオンライン超臨界流体抽出/超臨界流体クロマトグラフィー(SFE/SFC)により分析した。

3) 器具・容器包装

(1) ポリスチレン製器具材質中の揮発性物質の測定法を比較検討し、ヘッドスペース・キャピラリーカラムガスクロマトグラフィーによる方法を確立した(食品添加物安全性再評価等試験検査費、生活衛生局食品化学課)。

2. 食品添加物等の安全性に関する研究

(1) 天然添加物の中にそれを多量に含むものがあるAlに関して、Alの臓器分布と尿中排せつに及ぼす共存食品添加物(天然添加物2種、合成添加物1種)の影響について検討した。その結果、血中でのAlの存在状態が、投与後のAlの臓器分布と尿中排せつ量に密接に関連していることが明らかになった(食品添加物安全性再評価費、生活衛生局食品化学課)。

(2) 天然添加物の保存料や製造用材で、日持向上の目的で使用されている製品について、超音波ネブライザー付ICP発光分光法を用いて、金属の多元素同時分析を行った。銅や鉄が多量に含まれているものがあり、鉛含量を重金属試験法を用いて評価する際には、それらの影響が認められた(厚生科学研究費、生活衛生局食品化学課)。

(3) アカネ色素等に含まれているアントラキノン類のルシジン等の変異原活性メカニズムを明らかにする目的でルシジンと核酸塩基付加体の反応性を検討した。また、得られた付加体の構造解析を行った。

(4) 尿中のマロン酸ジアルデヒドグアニン付加体の同定および定量法の開発を行った。

(5) 生分解性プラスチックについて研究を行い、

メラミン樹脂製品中のセルロースは、セルラーゼで容易に分解されることを見いだした(厚生科学研究費, 生活衛生局生活化学安全対策室)。

3. 遺伝子操作技術等を利用した食品添加物の安全性評価のための分離分析に関する研究

(1) 植物培養液中に存在する金属の培養植物体および色素産生品への移行を調べる一環として、培養液中に種々の有害金属を添加した時の培養植物体への金属の移行、培養植物体でのフィトケラチンの誘導、および色素産生量の変化について検討した(HS財団受託研究費)。

(2) 遺伝子操作を用いたトウガラシの品種改良のために必要な分離分析法として、辛味成分のオンラインSFE/SFC分析法の開発を行った(HS財団受託研究費)。

(3) セイヨウワサビとニンジンの毛状根中のオバインの定量法を開発した。また、これらの毛状根抽出物の染色体異常試験を変異遺伝部と共同で実施した(HS財団受託研究費)。

4. 健康食品の安全性に関する研究

レトリプトファン製品中の不純物の一つの構造を明らかにするため、光学活性体の合成を行い、その構造をアニリノ-L-アラニン(AA)と決定した。また、大量合成されたAAの純度等の確認を行った。

有機化学部

部長 宮田 直樹

概要

平成4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、末吉祥子第二室長、丹野雅幸主任研究官らは、新規芳香族N-ニトロソ化合物類を多数合成し、NOラジカルの遊離機構を解析するとともに、化合物の構造とNOラジカルの遊離能および殺細胞効果との相関を明らかにした。近年、NOラジカルの生体への作用が注目されており、本研究成果はこの分野の研究の進展に寄与すると考えている。

また、昨年度より、薬品部、生薬部、療品部、食品部等と共同で、厚生省特別研究「医薬品の適正な

評価を志向した光学異性体に関する基礎研究」を実施している。

人事面では、徳永裕司主任研究官が平成4年5月1日付けで生物薬品部に、また、内野正技官が平成5年4月1日付けで環境衛生化学部に配置替えになった。また、山越葉子技官が平成5年4月1日付けで環境衛生化学部より当部に配置替えになった。栗原正明技官は、平成4年4月1日付けで主任研究官に昇格した。

海外出張は、宮田が、平成4年6月14日より22日までイタリアに出張し、トリノで開催された国際フリーラジカル学会の第6回国際会議に出席し、活性酸素ラジカルによる環境発がん物質ニトロアレン類の新規活性化機構について発表した。また、栗原正明主任研究官は、米国ケンタッキー大学理化学科ワット教授の研究室での制癌剤タキソール合成研究を終え、平成4年9月29日帰国した。

福原潔技官らを中心に、所内共同利用機器400MHzおよび300MHz核磁気共鳴装置の管理を行った。また、平成5年度予算により、厚生省試験研究機関間共同利用大型機器として、傾斜磁場型600MHz核磁気共鳴装置が導入されることになった。

丹野雅幸主任研究官は、「新規N-アリアル-N-ニトロソ尿素類の構造と反応性に関する研究」により平成4年6月千葉大学薬学部にて薬学博士の学位を取得した。

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) 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：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、オキシ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を用いることによりシクロヘキセノール誘導体が高い立体選択性でエポキシ化されることを明らかにした(特別研究費)。

2) 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：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、前年に引き続きモルヒネ骨格のC環修飾反応を検討し、6位尿素、チオ尿素、N-ニトロソ尿素誘導体を合成した(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：芳香族アミド

類、二置換尿素および三置換尿素的 N-ニトロソ誘導体について、固体状態での分解反応を速度論的に解析した。また、X 線構造解析により結晶状態の構造を明らかにし、アシルニトロソ体の構造と化学反応性との関係を解明した（一般研究費）。

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：各種の N-ニトロソ化合物が、コバルトポルフィリン錯体をニトロソ化し、コバルトポルフィリン-ニトロソ錯体を生成することを明らかにし、さらに、トランスニトロソ化反応における NO ラジカルの生成を証明した（一般研究費）。

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：抗酸化剤のキノン型代謝物の活性酸素発生能を電気化学的手法により測定し、還元特性との相関を明らかにした（がん研究助成金）。

2) 化学物質の低濃度暴露時のヒトに対する影響を動物実験結果から推定するための毒物動態学的研究：ニトロアレン類の発がんのメカニズムを化学的に解析する目的で、新規に合成したニトロアレン類について、一電子および二電子還元特性と変異原性と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：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ハイドロキノン類およびカテコール類を合成し、酸化還元特性を調べ、ハロゲン化フェノール類と比較検討した（対がん戦略総合研究費）。

4) クロノクローメトリー法を用いた活性酸素ラジカルの発生と消去反応の解析：クロノクローメトリー法を用いてニトロアレンアニオンラジカルと酸素との相互作用を解析し、ニトロアレンの構造と活性酸素発生能の相関を明らかにした（文部省科学研究費）。

5) 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：1-, 3-, および、9-アザフェナンスレンのニトロ化反応を行い、モノ、ジおよびトリニトロ体を新規に合成した（一般研究費）。

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：チトクロム

P 450 のモデルとして各種酸化剤-鉄ポルフィリン錯体系を用い、クロル置換フェノール誘導体の酸化反応を検討し、フェノールの 2 位および 4 位における酸化的脱クロル化の反応機構を明らかにした（一般研究費）。

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稲見圭子氏、昭和薬科大学公衆衛生学教室の楠間通代氏、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、東京医科大学法医学教室岩田修永博士、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 113 年会（大阪）、日本環境変異原学会第 21 回大会（札幌）、第 18 回環境トキシコロジーシンポジウム（東京）、第 6 回国際フリーラジカル会議（トリノ）等で発表するとともに、Acta Cryst., Mutation Research, Chem. -Biol. Interactions, Oxygen Radicals, Jpn. J. Toxicol. Environ. Health 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、厚生省対がん 10 カ年総合戦略プロジェクト研究報告書、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 4 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。

人事面では、平成 4 年 10 月より和田幾江氏が科学技術特別研究員に採用され当部に配属された。海外出張では、澤田が英国 Oxford で開催された IPCS/CEC 免疫毒性国際共同研究 (ICICIS) に係わる会議（平成 5 年 3 月 22 日～26 日）に出席した。

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) II 期のとりまとめ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、

画像処理装置を用いた好塩基球細胞内カルシウムイオンの動態に関する研究を行い、各種リン酸化酵素阻害剤のカルシウム動態への影響および、細胞質から核へのカルシウムシグナルの伝達について検討を加えた (HS 振興財団創薬科学研究費)。

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細胞内における分解をモノクローナル抗体を利用して解析した (HS 振興財団創薬科学研究費)。

(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) モルヒネ等の受容体との関連が示唆されているオピオイド結合タンパクの脳内分布をモノクローナル抗体を利用して調べた (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、穀物中のゼラレノンのイムノアッセイ法の評価として、新規に開発した HPLC 測定法との相関関係から定量性について検討し、合わせてアッセイ抗原の安定性についても検討した。

(ii) 前年度に引き続いて、真菌アレルギーの抗原検出法の開発を目的として、*Wallemia sebi* 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を利用して、培養細胞系における重金属およびサイトカイン類による誘導を検討した。

(iv) キャピラリー電気泳動を用いる薬物および生理活性物質の微量分析法の検討を行った (科学技術振興調整費)。

4. モノクローナル抗体の機能変換等に関する研究

モノクローナル抗ハプテン抗体の機能変換を行う目的でその可変領域遺伝子を調製し、大腸菌での発現用プラスミドの構築を行った (科学研究費)。

代謝生化学部

部長 高橋 惇

概要

既存化学物質等の代謝試験・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、生体における情報の受容・代謝変化に関する生化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シクロスポリンの代謝に関する研究を行い、8月28日に無事帰国した。紅林秀雄主任研究官は平成4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ヶ月間の職責を果たし、9月末に代謝生化学部に復帰した。また、紅林主任研究官はHS財団の助成金により平成5年3月から6ヶ月の予定で、NIHに出張し、主として化学物質の代謝的活性化に関する研究に従事した。奥平和穂技官は平成5年3月31日付けで退職し、4月1日から東京理科大学薬学部へ転任した。また、本年4月、田中寿一技官が新規採用され、第1室に配属された。

短期海外出張では嶺岸室長と高橋(惇)が新しい日米科学技術協力に関する研究の一環として米国に出張し、NIEHS, CIIT, NIH, デュク大学, スタンフォード研究所(SRI)を訪問し、化学物質のヒトにおける安全性評価に応用するための体内動態試験法の開発研究に関して打合せを行った(平成5年3月18日~28日)。

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) 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)

3用量(4, 40, 400 mg/kg)をラットへ経口投与した場合の糞・尿中への排泄を検討した。代謝物のペンタフルオロプロピオン酸の排泄に性差が認められた。

2) N-モノ(またはジ)メチルフェニル-N-モノ(またはジ)メチルフェニルパラフェニ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)

本検体は複数の混合物であり、2つの主成分について、GC/MSを用いた定量法を確立した。

3) ベンジルブチルフタル酸エステルの代謝生化学的研究

ベンジルブチルフタル酸エステルの LLC-PK1 細胞に対する細胞毒性はモノ(2-エチルヘキシル)フタレートより弱かった。

2. 異物代謝に関する酵素等の研究

1) 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

ムスクキシレンをラットに投与すると、第I相の薬物代謝酵素のみならず、第II相の抱合系酵素も強く誘導することが判明した。

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 (厚生省科学研究費, 対がん戦略研究事業, 国立がんセンター運営部企画室)

1) ジクロロベンゼン類の肝細胞に対する毒性発現の究極活性物質はジクロロキノン類であることを示した。

2) ペルオキシゾーム増殖剤により速やかに引き起こされる現象を肝細胞を用いて解析した。

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肝細胞における代謝, 肝DNAとの結合量を測定する方法を確立させた。

2) 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, ラットとヒトの単離肝細胞を用いて1,6-ジニトロピレンの肝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)

単離肝細胞を用いて代謝試験を実施している文献を収集し, *in vitro* と *in vivo* における代謝パターンの比較, 肝細胞を用いた代謝試験の問題点を整理した。 *In vitro* 代謝試験結果から *in vivo* における体内動態を予測するためには, 代謝パラメータ値の決定法が最も重要である。

2) 化学物質の生体との相互作用とその評価法に関する研究 (HS財団受託研究費)

単離肝細胞を用いた代謝試験法に関する基礎研究を行い, K_m , V_{max} 値などの代謝パラメータ値が測定できる試験法を確立させた。また, グルタチオントラップ剤への代謝活性化を *in vitro* の再構成系で解析する方法を開発した。

6. 生体における情報の受容, 代謝変化に関する生化学的研究

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)

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ーラベル法を検討した (機能生化学部との共同研究)。

2) 白血球の活性調節に関する研究 (創薬基礎研究, HS財団研究費)

白血球の活性酸素産生に対して, オカグ酸が条件により促進的にも抑制的にも働く, 二相性作用を有することが明らかになった。

3) 肝毒性の指標としての脂質代謝・分泌機構に関する研究 (厚生科学研究費)

クロフィブレート, ベザフィブレートが肝のホスファチジルエタノールアミンのメチル化によるホスファチジルコリン生合成を阻害することを明らかにし, さらに血清脂質低下機構への関与を示唆する結果を得た。

衛生微生物部

部長 三瀬 勝利

概要

前年度に引き続き, 多種類の研究, 検査, 試験業務が, 当部で遂行されている。

当所において29年の長期にわたって, 特に医薬品の微生物検査に重要な役割をはたしてこられた藤原みち子技官が, 平成5年3月31日付けをもって定年退官された。同技官のご健康を祈念している。岡本季彦客員研究員には, 引き続き薬剤耐性に関する研究指導等をお願いしている。

業務成績

1. 一斉取締試験

血液バッグ10件について無菌試験 (細菌検査10件, 真菌検査10件) を行った所, いずれも陰性であった。

2. 特別審査

合計19件について特別審査を行った。

3. 規格・基準など

バイオ食品の安全性に関する研究, プラスミドの移行に関する研究, 食品中の有毒物質に関する研究, 自動販売機の衛生管理に関する研究 (生活衛生局食品保健課), 卵のサルモネラ汚染に関する基礎的研究, 牛肉の微生物制禦法確立のための基礎的研究

(生活衛生局肉衛生課)などが行われた。また予研や10地研と共同で行われてきたエイズ医薬品候補スクリーニング研究(薬務局, HS財団)も継続中である。

研究業績

1. エンドトキシンに関する研究

サクシニル化リピドAは、エンドトキシンに対する特異的かつ強力な抑制剤であることが見出された。この抑制作用にはマクロファージは関与せず、活性型リピドAに拮抗的に起こることが示された。また城西大学薬学部との共同研究で、ビブリオ科属細菌のLPSの分類学的特徴、NAGビブリオとエルシニアとの交叉抗原性、コレラ菌小川型と稲葉型を決定するLPS O抗原鎖のエピトープの物理化学的分析、バクテロイデスLPSにおけるKDOりん酸の分布状態、新型抗原性を持つ腸炎ビブリオO13のLPSの化学性状等について、興味ある知見が得られた。

2. 制限酵素に関する研究

腸炎ビブリオK抗原標準株から、特異的な7塩基対を認識するVpa K 32Iなど、遺伝子操作に有用な制限酵素が見出された。耐熱性ヘモリシン陰性株を分離し、これによって現在大量生産がなされている。

3. 微生物学的衛生管理に関する研究

鶏卵のサルモネラ、エンテリティディスの污染制御や食鳥の微生物学的衛生管理を行うために、サルモネラ、カンピロバクター、大腸菌、黄色ブドウ球菌、ウェルシュ菌などの污染状況、污染経路の大規模実態調査がなされた。またそれとともに、モニタリング方法や検査法に関するマニュアルが作成された。

4. マイコトキシン産生性真菌に関する研究

1990~1991年国内で収穫されたコムギとオオムギにおけるトリコテセン系カビ毒の污染状況が調査された。またA. flavusなどのアフラトキシン産生性を評価するために、菌株の培養条件の検討や、ELISA法によるアフラトキシンの測定実験が行われた。さらに、ハトムギおよびその製品からの糸状菌とゼアラレノン汚染原因菌の調査研究が行われ、市場から収集したハトムギ製品から、多数のゼアラレノン産生菌が見出された。

5. その他

培養細胞系を用いた発癌プロモーターに関する研究や食中毒細菌や腐敗細菌のガーリック抽出液に対

する抗菌作用に関する研究等が行われた。

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ー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、5月20日付けで、中野達也氏が第2室に採用された。また、4月1日付けで図書係の非常勤職員永野悦子氏の代わりとして、大矢博之氏が採用された。

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、雑誌の中止や新規購入は行わず、単行本について489冊を購入した。この結果、雑誌は昨年と同じ334タイトル、単行本は9065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35機関430件の依頼があり、外部へは59機関、1082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(昨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 Sciences)検索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オンラインによる検索サービスも続けている。

(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110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

IRPTCでは現在、各国および各国際機関の化学物質に関する法令や規制データを収載するIRPTC法規制データベースのデータの全面的な見直し作業を進めている。これに伴い、化学物質に関する日本

の法令データの更新を分担している。昨年度は化審法、環境関係法令などを対象としたが、引き続き今年度は毒劇法関連の化学物質の英名、CAS登録番号、規制内容等を改定中である。

(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

「陰イオン界面活性剤」については、不明の文献の追加調査を行い、文献リストを完成させ、追加文献をIPCSにも送付した。また未完だった英国陸棲生態学研究所のS. ドブソン博士が分担執筆した環境関連の章も作成された。これにより、第一次ドラフトが完成し、平成4年度中に各国へ供覧されることになった。

「エチレンジプロマイド (EDB)」のEHCについては、平成4年5月にIPCSの担当官とドラフトの詳細について協議し、必要な改定を行うとともに不明な文献について調査し、入手をはかった。このEHCのドラフト作成に関しては、発がんに関する部分を残すのみとなっている。

「アセトニトリル」のEHCについては、平成4年11月末～12月始めにタスクグループ会議が開かれた。

なお、当部が作成を担当し、すでにドラフトが完成されていた「フェニトロチオン」と「トリクロロン」の環境保健クライテリア (EHC) が出版された。

EHC第1次ドラフトのコメント依頼に関しては、12物質、14件に対応し、「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。

2) IPCSの国際化学物質安全性カードの作成

8名の所外国内委員の協力を得て、日本分担分21物質の安全性カード原案を作成した。1992年9月 (ブリュッセル)、12月 (バルセロナ) の検討会議に山本主任研究官が出席した。

また、IPCSでこれまで作成された安全性カードのうち492カードを邦訳し、1992年8月に日本語版第1集として出版した。

3) その他の活動

IPCSの活動の一環として、厚生省の国際課および生活化学安全対策室の協力のもとに「化学物質の安全性に関する情報とコミュニケーション」と題してシンポジウムを開催した (平成4年10月21日国際研究交流会館)。IPCSのシルベール博士ら4名が講演した。

またEHCに関して、所内外の関係者を対象としたアンケートを実施し、150名 (67%) の回答を得た。この結果は、EHCの作成を含むIPCSの今後の活動に活かす予定である。

以上に加えて、IPCSの資料の所内への案内も行った。

3. コンピュータ環境の整備

当部は、数年前より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、情報委員会などを介して、他部の協力を得つつ、その実現に努力してきた。本年度は、NTTのINS64サービスを利用した外部とのネットワーク化や、イーサネットを用いたインハウスのネットワーク構築の具体案も提出し、一部実現した。また、昨年に引き続き、安全性および創薬研究を支援する基盤プログラムとデータベースの拡充を続けている。

研究業績

1. 創薬と安全性研究を支援する基盤コンピュータシステムの研究

昨年度まで開発してきた毒性予測のためのシステムと発癌物質のデータベースを基礎とし、これを創薬研究支援に拡張する研究を開始した。本年度は、分子のモデリング、グラフィックス、およびデータベース機能をパソコン (マッキントッシュ) 上に統合したMOSA: macの開発などを行った。

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

昨年に続き、線虫の胚発生過程の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継続している。

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、C. エレガンス由来のタンパク質キナーゼC類似タンパク質の3次元構造解析のための研究をスタートしているが、本年はとくに後者の研究に集中した。

4. その他の研究

化学物質の安全性情報の提供に関し、特にMSDSの作成について記載すべき情報や必要な項目、留意事項等を検討した (厚生科学研究費補助金)。また、1,4-ジオキサンおよび1,2-ジクロロプロパンの予測摂取量を調査・検討した (既存化学物質等試験検査費)。

また、厚生科学研究費による「残留農薬安全対策総合調査研究」を分担し、環境中での動態に関する

データを収集、解析した。「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」を分担し、刺激性の簡易スクリーニング試験法について、国連危険物輸送シンポジウムで発表した。さらに農業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。この他に既存化学物質等試験検査費により WHO の環境保健委員会報告を翻訳し、出版準備中である。

安全性生物試験研究センター

センター長 林 裕 造

センター業務は、全般的に見て順調に進められ、IPCS, JECFA, JMPR, OECD, ICH 等の国際協力事業、日米科学技術協力等の国際学術交流および国内外の GLP 査察業務についても各部の積極的な協力が得られた。本年度の特記すべき事項として、平成4年11月に OECD の主催による生殖毒性スクリーニング試験法に関する専門家委員会が、平成5年2月に薬務局麻薬課主催による薬物乱用に関するワークショップと毒性病理学会主催による精巢毒性の評価に関する国際シンポジウムが当センターの企画と関連各部の協力で開催された。

センター各部における試験/研究の中には、特定の物質を対象とする試験の他に、試験結果をヒトに対するリスクの観点から総合評価するための基礎研究および先端技術の導入による試験法の改良と開発に関する基礎研究の割合が増加する傾向にある。現在、これらの試験/研究の成果を基礎に、化学物質のリスクアセスメントガイダンス(仮題)が各部の協力により執筆されつつある。同様の試みとして、既存化学物質安全性点検支援システムに係るシステム化検討委員会において、毒性試験用語の標準化作業も順調に進められている。

現在、各国の研究機関および国際的研究組織において、安全性評価の技術および方法が本来の目的であるヒトの健康と福祉の増進と地球環境の改善に向けて軌道修正が求められている。当センターもその例外ではなく、現在および近未来の課題として、組織構成、職員の適正配置および研究テーマの選択と優先順位、決定等を含めて、全体の研究活動および運営方針を基本的に見直す必要があり、将来計画委員会等との協力により、平成5年度より具体的な改革計画の立案とその実行に移る予定である。

毒 性 部

部長 黒川 雄 二

概 要

平成5年3月31日付けで、18年間に渡って毒性部の業務に従事してきた落合主任研究官が辞職された。平成5年4月1日付けで、小野敦技官が採用され、第2室に配属となった。同じく、松島、高木技官は主任研究官に昇任した。平成5年4月30日付けで、小川主任研究官は厚生省生活衛生局生活化学安全対策室専門官を併任した。小川主任研究官、梅村技官、佐井技官が学位を取得した。

韓国梨花女子大学校薬学大学教授(前学長)の尹惠積先生が、主として食品と発がんに関する研究のために平成4年4月から8月まで滞在された。その間、関連の多くの大学、研究所等を訪問され、積極的な意見交換をされた。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ヶ年戦略外人招聘の研究者として、平成4年9月から平成5年3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。

現在、毒性部は6室構成で、技術補助員4名を含め総勢28名である。当所将来構想計画の一環として今後、安全性生物試験研究センター内における病理組織標本の作成、病理組織学的検索等を病理部において一本化して行なおうとする構想があるが、平成5年度内には実行に移される予定である。

医薬品 GLP の査察には14ヶ所(海外1ヶ所)へ延べ15人、化審法 GLP の査察には1ヶ所、1名が出張した。

海外出張としては、日米リスクアセスメント会議(黒川部長、平成5年3月2日~3日、NIEHS)、ICH-2 準備委員会(黒川部長、平成5年3月8日~10日、ブラッセル)、国連開発計画(UNDP)による韓国化学研究所での技術指導(降矢室長、落合主任研究官、平成4年7月30日~8月12日、韓国)、日米がん研究協力事業セミナー(津田室長、平成5年1月19日~20日、ウィリアムズバーグ)、免疫毒性試験法に関する国際共同研究の専門家会議(落合主任研究官、平成5年3月20日~28日、オクスフォード)、薬物乱用問題に関する研究の日米ワークショップ開催事前打ち合せ(関田主任研究官、平成4年12月16日~20日、ワシントン)、第8回韓

国実験動物学会，招待講演（児玉主任研究官，平成4年6月4日～5日，ソウル市），第4回リスクアセスメントサマースクール（佐井技官，平成4年8月22日～30日，バミュエグ）であった。

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ならびに公表データに基づいて毒性予測の検討を行った。

2) 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、代替法とされるいくつかの試験について validation を行った。

3) 毒・劇物指定のための急性吸入毒性試験（厚生省薬務局安全課）

ジクロロシラン，4-フッ化珪素について行った。

4) 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）

データベースによる現在の生分解性プラスチック業界の動向の調査と、「廃棄物の処理および清掃に関する法律」における生分解性プラスチックの問題点の検討を行うとともに、アジコート A-2000 とグルタミン酸の毒性比較と、新たに、アジコート SPG とヒオノーレについても 28 日間反復経口投与毒性試験を行った。また、過去 3 年間の研究成果をまとめて総合研究報告書を作成し、本研究を終了した。

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 年間の慢性吸入毒性試験を終了し、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 2 年間の経口慢性毒性試験を終了し、病理組織学的検討を継続中である。

c) トリアプトキシエチルホスフェート

ラットにおける 90 日間の混餌投与による亜慢性毒性試験を終了し、病理組織学的検討を継続中である。

d) N,N-ジエチルエタノールアミン

ラットにおける 28 日間強制経口による反復投与毒性試験を終了し、病理組織学的検討を継続中である。

e) N,N'-ジフェニルチオウレア

Maximization 法による皮膚感作性試験を実施した。

f) ジブチルジチオカルバミン酸亜鉛

Maximization 法による皮膚感作性試験を実施した。

g) α -メチルベンジルフエノール

ラットにおける急性毒性試験を終了し、90 日間の亜慢性毒性試験に対する予備試験を実施中である。

h) トリアリルアミン

ラットにおける急性毒性試験を終了し、28 日間強制経口反復投与による毒性試験を開始した。

i) トリアリルフォスフェート

ラットにおける急性毒性試験を終了し、混餌投与による 90 日間亜慢性毒性試験を実施中である。

j) 3-メチル-4-イソプロピルフエノール

ラットにおける経口投与による急性毒性試験を終了した。

k) N,N'-ジブチルチオウレア

Maximization 法による皮膚感作性試験を実施した。

1) N,N'-ジラウリルチオウレア

Maximization 法による皮膚感作性試験を実施した。

2) 既存化学物質

a) ジペンテンダイマー

ラットにおける慢性毒性試験の投与を終了し、病理組織検査を継続中である。

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の投与を終了し、病理組織検査を継続中である。

d) 2,2'-イソブチリデンビス(4,6-ジメチルフエノール)

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

毒性情報の整理ならびにジオキサンおよびペンタクロロフェノールの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

1) 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

臓器 DNA の酸化的傷害による発がん機構の解析を行った。

2) 体内ニトロソ化合物の発がん影響に関する研究

タイ北東部地域住民の肝吸虫感染に伴う活性酸化窒素およびニトロソ化合物の生成増加に関する研究—胆管がん発生要因の検討を行った。

5. 厚生省対がん10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核内酸化的 DNA 傷害機構について *in vitro* の系で検討した。

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およぼす影響に関する研究

薬物の強化効果に及ぼす神経伝達物質の影響を調べる目的で, アゴニストとアンタゴニスト作用を合わせもち, 鎮痛剤として使用されているアプレノルフィンのコカイン摂取に及ぼす影響について, サル静脈内薬物自己投与試験法を用いて検討した。

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

1) 赤色230の(1)号および青色204号について経皮刺激性および急性経皮毒性を調べた。

2) 赤色3号および橙色201号について, Maximization法による皮膚感作性試験を実施した。

9. 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終了し, 病理組織学的検討を継続中である。

2) トランスジェニックマウスを用いる発がん性短期試験法に関する研究

シクロホスファミドを用いて C-Ha-ras 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスの短期発がん

性試験における有用性について検討した。

10. 国立機関原子力試験研究費(科学技術庁)

γ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行った。

11. 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。

12. 食品添加物安全性再評価等試験検査費(厚生省生活衛生局食品化学課)

1) 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終了し, 病理組織学的検査を継続中である。

2) ポリリン酸ナトリウムとソルビン酸の相乗毒性を調べる目的で急性毒性試験を行った。

13. 総合化学物質安全性研究費

データベース構築に関する研究の一環として, 一般状態に関する用語のデジタル化を行った。

14. 急性毒性試験法に関する検討

ドイツ厚生省が提案している Acute Toxic Class Method について validation を行い, 国内の他の2協力機関と討議した。

15. 麻薬等総合研究事業費(厚生省薬務局麻薬課)

有機溶剤の生殖発生に及ぼす影響を調べる目的で, 胎児の器官形成期投与試験をラットにトルエンを吸入暴露させることにより行った。さらに, 日米の専門家による薬物乱用問題に関するワークショップが平成5年2月3日から5日まで開催されたが, 当部は事務局として積極的に協力した。

薬 理 部

部 長 高 伸 正

概 要

第二室中澤憲一技官は, 平成4年4月1日付けで主任研究官に昇格した。

ヒューマンサイエンス振興財団 (HS) 流動研究員として, 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

従事していた渋谷淳博士は十分な業績をあげ、平成5年3月31日付けで退所した。また、小泉修一博士は4月1日より第二室において脳高次機能障害改善を目的としたCa拮抗薬の作用評価法の開発に関する研究に従事している。一方、平成2年4月1日より第三室において医薬品等の高感度高性能安全性等試験法の開発およびバイオテクノロジーを用いた細胞間相互作用と薬効・毒性との関連に関する研究に従事していた郭新彪博士は十分な業績をあげ、平成5年3月31日付けで退所した。

中澤憲一主任研究官は平成4年4月23日より1年間の予定で、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 教授および Bruce Bean 教授のもとで、ATP受容体チャネルの電気生理学的性質について研究を行っており、ラットの神経細胞でチャネルを同定し、その性質を解明している。

短期海外出張は、高仲：IPCS 専門家会議「WHOの農薬関連活動の統合に関する諮問会議」（カーシャルトン、7月14日～19日）、FAO/WHO 合同残留農薬会議（ローマ、9月19日～10月2日）、DIA（医薬品情報協会）ワークショップ「毒物動態学の将来展望」（ニース、2月23日～28日）、藤森親之助第二室長：新しい日米科学技術協力に関する研究（毒性学）（米国、3月15日～27日）、井上和秀主任研究官：第2回米国神経科学会（ロサンゼルス、10月24日～31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26日～5月2日）、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）専門家会議（ブリュッセル、3月6日～13日）、川島邦夫後世代影響研究室長：第4回日米環境化学物質毒性会議（リサーチ・トライアングル・パーク、2月28日～3月6日）、宇佐見誠技官：第4回日米環境化学物質毒性会議（リサーチ・トライアングル・パーク、2月28日～3月6日）の延9件であった。

また、GLP査察は、国内に延5名が参加した。

今年度は3課題について研究を終了し、新たに7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8、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。また、厚生省よりの調査に関する業務1課題に着手した。

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) バイオテクノロジーを用いた薬物代謝酵素の生産と薬効・毒性予測への応用（受託研究）

本年度より3年計画で研究に着手した。

iii) 神経・神経間情報伝達に関する研究

iv) 細胞および細胞間情報伝達ネットワークへの影響面からみた環境汚染物質の有害反応の解析（国立機関公害防止等試験研究、環境庁）

本年度より5年計画で研究に着手した。

v) 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

vi) 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）

本年度で研究を終了した。

vii) 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、生活衛生局食品化学課）

viii) 農薬の分解・代謝物の安全性評価法研究（厚生科学研究、生活衛生局食品化学課）

2. 医薬品等の後世代に及ぼす影響に関する研究

i) 化学物質の生殖細胞の形成に対する障害に関する研究

本年度より6年計画で研究に着手した。

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

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) バイオテクノロジーを用いた細胞間相互作用と薬効・毒性との関わりに関する研究（受託研究）

本年度より3年計画で研究に着手した。

ii) 脳高次機能障害改善を目的としたCa拮抗薬の作用評価法の開発（受託研究）

本年度より3年計画で研究に着手した。

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）

本年度より3年計画で研究に着手した。

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、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等の安全性評価のための試験法の研究 (厚生科学研究, 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

viii) 実験動物としてのスunksのステロイド代謝に関する研究

ix) OECD ReproTox 試験法の有用性に関する研究 (既存化学物質等安全性研究, 生活衛生局生活化学安全対策室)

単年度の研究を行った。

病 理 部

部 長 高 橋 道 人

概 要

平成4年4月1日付けで第三室の松島裕子技官が毒性部第四室に異動し, 毒性部安原加壽雄主任研究官が第三室に入室した。第一室今沢孝喜技官は平成4年4月1日付けで主任研究官に昇格した。また非常勤職員の上山恵美が平成4年12月31日付けで退所した。

短期海外出張は, 高橋道人部長が, ドイツでのWHOの「毒性病理情報システムに係わる泌尿器系システムに関する委員会」に出席し (平成4年4月11日~4月16日), さらに米国での「有害化学物質分類法の国際調和に関する第2回拡大会議」(平成4年10月6日~11日) および米国NIEHSでの「化学物質のリスクアセスメント確立のための第4回日米会議」(平成5年3月1日~4日) に出席し討議した。西川秋佳室長は英国でのIPCSの「生体指標と安全性評価に関するタスクグループ会議」に出席した (平成4年11月15日~22日)。川西徹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の打ち合わせのために, NIEHS等を訪問し, 意見交換を行った (平成4年10月21日~11月6日)。また三森国敏室長はスイスでの「第44回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会」およびドイツでの「臭化ビフェニールの環境保健基準作業グループ会議」へ参加し (平成4年6月8日~6月28日), さらにフランスでの「OECD既存化学物質SIDS初期評価会議」(平成5年2月23日~2月26日) および米国NIEHSでの「化学物質のリスクアセスメント確立のための第4回日米会議」(平成5年3月

1日~4日) に出席, 討議した。

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)

4種類の化学物質のがん原性試験が終了し, Trp-P₂については膀胱等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及ぼす要因について検討した。キナクリンの膀胱がん促進作用, 刺激性下剤ダンスロンの大腸がんプロモーション作用に対するインドメタシンの抑制作用, ジメトリダゾールとγ-オリザノールの肺がん促進作用, チオ尿素とスルファジメトキシンの甲状腺腫瘍の複合促進作用等を見出した。

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 遺伝子導入トランスジェニックマウスにおいてエチニルエストラジオール長期投与の動物実験を終了し, そのプロモーション作用について評価を行っている。

4. 動物発がんモデルの確立に関する研究 (厚生科学研究費補助金)

1) N-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine (BOP) のラット経胎盤投与による卵巣腫瘍モデルの検討を行った。

2) 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動物の脳腫瘍について, 分化制御機構を検討した。

3) 成人グリオーマモデルとしてのラットへの methylnitrosourea 投与によるグリオーマの増殖能について検討した。

5. 自然発生病変の診断の確立に関する研究
以下の点について検討を行った。

1) WBN/Kob ラットの自然発生膀胱炎に対する抑制要因

2) ラット下垂体の頭蓋咽頭腫と後葉の軸索ジストロフィー

6. 化学物質による臓器障害性に関する研究 (喫煙財団研究助成金, 厚生科学研究費補助金)

1) ハムスターのプレオマイシン肺線維症モデルにおいて, 抗酸化剤BHTは肺障害に対し抑制的に作用することを明らかにした。

2) ハムスターの methylnitrosourea による肺の増殖性病変における肺胞上皮の増殖活性は低いことを明らかにした。

3) マウスを用いたモノクローリンによる肺線維症モデルを確立した。

4) 精巣毒性の評価法について検討を行うため、毒性発現機構の異なる代表的な精巣毒性物質をラットに投与し検討したところ、毒性発現初期に出現する変化がメカニズムの解明に重要であり、さらに精上皮サイクルを考慮した解析が必要であることを明らかにした。

7. 生体指標を用いたリスクアセスメントに関する研究 (厚生科学研究費補助金, 厚生省がん研究助成金)

細胞増殖活性, 脂質過酸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

細胞増殖の生体指標として有用であると考えられるプロモデオキシウリジン取り込み, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) と核小体形成体関連タンパク (AgNOR) について, 染色法の改良, あるいは病理組織診断との関係をさらに検討した。

2) 脂質過酸化の指標

胃粘膜上皮に細胞増殖活性を示す環境汚染物質 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) は尿中マロンジアルデヒド量も増加させることを明らかにした。

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, 毒性試験で使用されている病理診断用語の標準化を引き続き行った。診断所見用語のコード化を終了し, コンピューター化のための辞書を作成中である。

9. 化学物質による細胞障害の細胞病理学的研究 (創薬科学総合研究費, 厚生科学研究費補助金, 環境庁公害防止予算)

1) 画像解析法を用いた単一細胞レベルの研究

高速走査型共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡を用いて, 細胞内遊離カルシウムイオン濃度のビデオレイトの高速画像化を行った。

2) 蛍光プローブを用いた細胞障害研究法の開発
蛍光プローブを用いて細胞内の過酸化物質生成の画像化を行った。

3) 環境汚染物質の細胞刺激受容系への影響の研

究

初代培養肝細胞におけるホルモン刺激によるカルシウム応答をトリブチル錫が抑制することを見いだした。

4) パッチクランプ法を用いた単一細胞レベルの研究

骨髄巨核球細胞において, ATP 刺激によって細胞内遊離カルシウムイオン濃度の上昇のくりかえし (カルシウムオシレーション) が生じることを見いだした。

変異遺伝部

部長 祖父尼 俊雄

概要

平成4年3月31日付けで第3室 (細胞バンク) の非常勤職員の田畑秀典が退所し, 平成4年4月1日付けで高田容子が非常勤職員として採用された。平成4年7月1日にHS財団より流動研究員として鈴木任が第2室に採用され, 酸化的傷害に関与する修復遺伝子の研究に従事している。科学技術庁STAフェローとして平成5年1月6日よりフィンランド国立職業健康研究所よりP. Hackman博士を招へいし, 第1室において培養細胞による突然変異の研究に従事している。

短期の海外出張としては, 水沢博第3室長が平成4年6月20日~25日に米国ワシントンで行われた国際組織培養学会に参加した。

能美健彦第2室長が平成4年6月27日~7月17日に, 米国ニューハンプシャーでの変異原研究のゴードン会議に出席し, 突然変異機構について研究発表を行い, 引続きカナダGuelph大学で講演し, さらに米国カルフォルニアでのトランスジェニックマウスのワークショップに参加した。

渡辺雅彦厚生技官は平成4年10月17日~23日にドイツのビュルツブルグ市で行われた第5回発がん性, 変異原性芳香族N化合物に関する国際会議に出席し, サルモネラ菌のAセチル転移酵素について研究発表を行った。

林 真第1室長は平成4年10月31日~11月9日にフィンランドの国立職業健康研究所において講演を行うとともに, ドイツのエッセン大学での第2回国際染色体異常シンポジウムに出席し, 末梢血を用いる小核試験について研究発表を行った。

祖父尼俊雄部長は平成4年11月30日～12月5日に英国ロンドンで行われたOECDの遺伝毒性ガイドラインの専門家会議に出席し、ガイドラインの見直し等の討論に参加した。

平成4年12月7日～8日に科学技術庁の重点国際交流課題として、当部で「変異原性試験の標準化に関する国際ワークショップ」を東京で主催した。海外より10名、国内より約40名の参加者があり、活発な論議が行われた。

平成5年2月22日～26日にオーストラリア、メルボルンで行われた第6回国際環境変異原学会に祖父尼部長、林、能美両室長および鈴木孝昌厚生技官が参加し、シンポジウムで4演題、一般発表で5演題を発表した。本会議の直後に行われたサテライトワークショップ「遺伝毒性試験手法の国際的調和」に部長、2室長が組織委員、座長、指定討論者として発表、討論に参加した。また、本会議の前後に行われたサテライト会議においてもそれぞれ2演題を発表した。

祖父尼部長は平成5年3月7日～12日にベルギーのブリュッセルで行われたICH2の準備会合に出席し、遺伝毒性の専門家会議の討論に参加した。ICH2については、平成4年9月15日～16日に東京で行われて準備会合に参加し、平成4年12月9日に東京での遺伝毒性の専門家会議を主催し、平成5年2月のメルボルンの国際環境変異原学会の開催中に行われた遺伝毒性の専門家会議に出席し、討論に参加した。

長期海外出張としては、HS財団創薬科学総合研究推進事業により、第1室本間正充厚生技官が米国のハーバード大学、放射線生物学 Dr. J. B. Little 教授のもとで平成5年3月20日より *in situ hybridization* に関する研究に従事している。

海外研修生としては、日中医学協会による笹川医学奨学金制度研修生として中国甘肅省癌研究所より丁小凡が来所し、1年間変異原性試験について研修を行った。日米科学技術協力協定に基づく米国学生の日本研究機関での研修を目的としたサマーインスティテュートとして、米国フィラデルフィア大学より S. Davis が平成4年6月26日～8月22日に来所し、研究交流を行った。WHOフェローシップにより、中国薬品生物製品検定所李成明博士が平成4年12月1日より3ヶ月間第3室において細胞バンクシステムの研修を行った。

第3室においては、本年度国内外より約110細胞

株を収集するとともに、2300に近いアンプルを供給した。また、培養細胞株データベースの充実を計り、主要なパーソナルコンピュータを対象とした電子カタログを作製、配布した。第2室においても、新しく開発した YG 株を国内48アンプル、国外57アンプルを供給し、Ames 菌株は国内42アンプル、国外3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. 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)。

3. 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
ヒトの多形型および単形型アセチル転移酵素ならびにサルモネラのアセチル転移酵素の遺伝子をチャイニーズ・ハムスター細胞株 CHL に導入し、それらの酵素活性が安定して発現する細胞株を樹立した(国立機関公害防止等試験研究費、環境庁)。

4. 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と小核誘発性との関連を吟味するために、国際癌研究機構のグループ2bにリストされている化学物質について小核試験を行った。

5. 実験動物における複数発がん物質による遺伝毒性の研究

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を検討するため、酸化作用のある2種の化合物 K_2CrO_4 、 $KBrO_3$ について、マウス末梢血小核試験法を用いて検討した(がん研究助成金による総合研究)。

6. 変異原性試験に有用な遺伝子のクローニングと外来遺伝子トランスフェクトによる革新的な試験系の開発に関する研究

動物個体を用いる遺伝子突然変異検出系として、新たにトランスジェニックマウスを開発するために、マウス受精卵にトランスフェクトする遺伝子突然変異検出用ファージを作製した(HS財団受託研究費)。

7. 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、4種の被験物質処理方法を既存のデータベースを基に比較検討した。これまでの研究成果と国際ワークショップでの論議を踏まえて、培養細胞を用いる染色体異常試験の国際的な標準法を提案した（生活衛生局生活化学安全対策室）。

8. 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、代謝活性化の必要な2種のモデル化合物を用いて、シャーレ法とLab-Tek法とを比較検討した（労働省化学物質情報課）。

9. リンパ球の分裂中期細胞集積法に関する研究

ヒトリリンパ球の染色体型異常を検出するための染色体ペインティング法を用いて、X線照射リンパ球の染色体異常を解析し、本法の有用性を明らかにした（国立機関原子力試験研究費，科学技術庁）。

10. 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) アルキル化剤に高感受性を示すサルモネラ菌株として、修復酵素をコードする遺伝子 *adastr* および *ogtst* 遺伝子をそれぞれ欠損する株および両方の遺伝子を欠損する二重欠損株を作製し、アルキル化剤に対する感受性を検討した。

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、ENU および EMS の *in vivo* 遺伝子突然変異活性を比較検討した。

11. 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* 遺伝子又は *samAB* 遺伝子を欠損した菌株を作製した。

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法および塩基配列決定法を用いて検討した。

12. 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

これまでに樹立した活性酸素消去系酵素などの活性の異なる変異細胞株を用いて、ブチルヒドロキシアニソール（BHA）関連物質について、*in vitro* 小核誘発性における活性酸素種の関与を検討した（対がん10カ年総合戦略受託研究費，がん研究振興財団）。

13. 農薬の変異原性に関する研究

農薬とその代謝物の計4種の化合物について、微生物を用いる遺伝子突然変異試験を行った（生活衛

生局食品化学課）。

14. 変異原性試験の国際的標準化のためのデータベースを用いた試験法の解析

変異原性試験の代表的な3つの試験法について、既存のデータベースを用いて試験プロトコルの比較や他の毒性試験結果との比較検討を行った（薬務局新医薬品課）。

15. 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。

16. 細胞バンクの運営に関する基礎的研究

1) 細胞株の収集，保存，供給

本年度の細胞収集数は約110株で、国内外からの収集総数は約1000株となり、また、細胞株の本年度供給数は2300アンプルとなり、保存および供給の限界に達している。そのため、現在保存細胞株の品質管理に重点を置いている。

2) 汚染検査

複数のPCRプローブによるマイコプラズマ検出法を確立し、これによってマイコプラズマの由来種の同定が可能となった。

3) 細胞株の識別法

RFLPを利用したDNAプロファイリング法による細胞株のマスタープロファイルを作製し、新規細胞株の特異性を確認するシステムの基礎を作った。

4) 細胞株データベースの開発

培養細胞株データベースの充実を計り、主要なパーソナルコンピュータを対象として作製した電子カタログに検索法などの改良を加えた。

5) 細胞株の開発に関する基礎的研究

汎用されているU937細胞株をクローニングし、HIV高感受性細胞クローンを樹立した。

17. *In situ hybridization* を利用した培養細胞株識別技術の確立に関する研究

染色体分析法にFISHなどの新技術を導入して細胞株を高精度に識別する。そのためにヒトY染色体やテロメアなどに特異的な反復配列DNAをプローブとして、染色体の特定部位を識別できる技術の開発を行った（HS財団受託研究費）。

総合評価研究室

室長 中館正弘

概要

総合評価研究室は、安全性生物試験研究センターの省令室として、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。

海外出張としてはOECD関連で、第18回および第19回環境委員会/化学品グループ合同会合(中館室長、平成4年5月、平成4年11月、いずれもフランス)、OECD高生産量化学物質安全性点検計画の第1回スクリーニング試験初期評価会議(中館室長、平成5年2月、フランス)、同試験計画策定会議(中館室長および鎌田主任研究官、平成5年3月)およびOECD/GLP会議(鎌田主任研究官、平成5年3月、フランス)に出席した。さらに、WHO西太平洋事務局主催による「化学物質安全性情報の効果的運用」に関するワークショップ(會田主任研究官、平成4年11月、クアラルンプール)および環境化学物質の毒性評価に関する会議(會田主任研究官、平成4年12月、インドネシア)に参加した。化審法GLPの査察には国内5ヶ所、延べ5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は、生産量の高い既存化学物質の安全性点検を加盟各国の協力で行うもので、3年間で154物質について安全性評価に必要な毒性試験を各国の分担で行うこととなっている。わが国はこのうち33品目を分担しており、必要な毒性試験を厚生省が外部受託試験機関に委託し、当所はこれらの試験データの

管理と評価を分担している。計画の初年度としてわが国が分担した9物質について、毒性関連の試験結果を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った後報告書を作成してOECDに報告するとともに必要に応じて各国に提供した。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ており、今後の評価手法の研究に利用する予定である。さらに、計画の2年目として12物質に関する既存の情報を検索、収集し、加盟各国からの情報も整理し、安全性点検のための試験計画を作成し、OECDに提出した。

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74物質、高分子化合物49物質、良分解性物質28物質の計151物質が申請され、そのうち現在までに24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検討するとともに、種々のデータベースを作成した。昨年度来、短期毒性試験の長期毒性予測性に関する研究を行っており、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から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等を明らかにした。さらに、26物質のデータを用いて長期毒性予測における無作用量と種差の関連を検討し、各々の体内動態の差が無作用量や標的臓器に大きな影響を与えることなど今後の試験データ評価における問題点を明らかにした(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および添加物の安全性について、既存の情報を検索、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（生活衛生局生活科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、本年度もシステムの一部改良と変異原性試験、催奇形性試験、発癌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、平成3年度に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。平成4年度は外部受託機関および厚生省との通信システムの作成を行った。今後本システムの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でき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システム開発に関する研究を行っている。昨年度は、Ames試験に関する予測のための知識ベースシステムを構築したが、さらに小核試験など他の変異原性についての予測システムを検討中である。

阪支所に勤続された川崎浩之進部長が定年退官され、時の流れが感じられる。

業務については、支所全体として、検定・検査は、医薬品の国家検定79件、医薬品の国家検査55件、食用タール色素製品検査711件、一斉取締試験23件、輸入食品検査19件、特別行政試験8件について実施し、標準品は医薬品試験用48品目(5971本)、色素試験用1品目(50本)を製造した。検定検査、標準品製造業務とともに、厚生科学研究9件、食品等試験検査研究7件、ヒューマンサイエンス振興財団受託研究3件、創薬科学総合研究2件、創薬科学総合研究推進事業国際共同研究1件をはじめとする研究を実施したが、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、大阪薬科大学学生(8名、3ヶ月)、摂南大学薬学部学生(9名、1週間)を三部で受入れたほか、WHOおよびJICA研修生を含め37名の研修指導を行った。

運営に関しては、共用実験室の残余スペースを試験部が一時的に利用する制度を設け、有効利用をはかった。また組織再編成、創薬基盤研究の推進に関する職員の意見を集約し検討するために平成3年度に発足した将来構想委員会は、国立衛生試験所組織改革構想において支所の創薬基盤技術研究センターへの組織再編成の大筋が固まったことを受け、平成4年度末をもって解散した。平成9年度に想定されている大阪支所の移転に備えるため、支所研究委員会に移転小委員会を平成5年度より新設し、移転準備作業を進めることとした。

なお、大阪支所庶務課の人事異動は次のとおりである。

(5.3.31付け) 本所配置換 岡部真士(総務部会計課)

(5.4.1付け) 会計係主任(昇格) 東野ミツエ

大 阪 支 所

支所長 武 田 寧

本年度は、国立衛生試験所組織改革による「(仮称)創薬基盤技術研究センター」への組織再編成案策定に関する支所内外の動きに強い関心を抱きながらも、大阪支所は現在の支所の役割である検定・検査、標準品製造の業務とこれらの業務に関連する分野の研究を昨年と同じように実施した。36年間大

薬 品 試 験 部

部 長 岡 田 敏 史

概 要

HS財団の第3期官民共同プロジェクト研究事業が始まり、第III分野テーマ2、新医薬品製剤の有用性確保技術の開発と評価技術の確立に二課題で参加し、初年度の研究を開始した。ヒトインスリン製剤の国家検定は平成4年3月に1品目削除され、国家

検査へと移行した。新規標準品5品目を新たに設定し、医薬品標準品の総数は94品目となった。

平成4年8月31日付けで泉 若江技術補助員が退職し、9月1日付けで北島 文技術補助員が新たに採用された。

第14回FAPA学術大会(パキスタン, 11月5~9日)に岡田が出席し、日本薬局方の改正について講演を行った。

業務成績

1. 国家検定

ヒトインスリン製剤5品目の総計79件で、全品合格であった。

2. 国家検査

ブドウ糖注射液が52件、リンゲル液が1件、薬局方インスリン製剤が2品目の計2件で全品合格であった。

3. 一斉取締試験

合成ビタミンDを含有する単味内服固形製剤16件およびデキストラン含有血液代用剤7件につき定量および製剤試験を行った結果、全品合格であった。

4. 特別行政試験

1) 国内産収納あへん5検体(岡山県)につき、モルヒネ含量の定量試験を実施した。

2) 監視指導課が地方自治体へ委託した混合アミノ酸製剤の試験中、自治体で実施不能のアミノ酸含量試験を1品目2ロットにつき実施の結果、2件とも合格であった。

3) 日本公定書協会より製造・頒布される日局標準品3品目の品質評価試験を行った。

5. 標準品製造

45品目について合計4920個の標準品の製造を行った。別に、新規標準品5品目の設定を行った: アセトアミノフェン, エテンザミド, プリミドン, 低分子量ヘパリン, 高分子量ウロキナーゼ。

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), 薬剤師国家試験(薬務局企画課)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) 日局一般試験法「赤外吸収スペクトル測定法」の改正

日局一般試験法の赤外吸収スペクトル測定法の改正案を作成した。改正の眼目は、1) 参照スペクトル法の導入、2) フーリエ変換形赤外分光光度計

(FT-IR)を測定装置として利用できるようにすることであった。上記2点の大きな変さらにもなう字句の修正および文章の整備なども合わせて行った。参照スペクトル法の採用にあたっては、装置の分解能規定の設定が最も困難な問題であったが、ポリスチレン標準膜の吸収スペクトルより得られる透過率差 $\Delta T_1 (= T_{2870} - T_{2851})$ および $\Delta T_2 (= T_{1589} - T_{1583})$ を用いて規定することとした。また、FT-IR装置の積極的な活用を図るために反射スペクトル法を試料調整法の一つとして新たに採用した。(規格および試験法に関する研究: 日本公定書協会)

i-2) インスリン製剤のHPLC試験法の開発研究
インスリン製剤の定量法としてウサギを用いる生物検定法からHPLC法への転換を具体的に進めるため、ヒトインスリン標準品原料の品質評価を行った。WHOの国際標準品を対照に候補品の生物活性を定めるとともに、HPLC力価、純度試験(アセアミド体, ダイマー, ポリマーなど)、窒素, 亜鉛および水分含量の測定などにより総合的な評価を行っている。(厚生科学研究)

i-3) 医薬品等に係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

医薬品分析用標準品の供給体制の整備を進めるにあたり、薬事法に基づく指定検査機関の協力が得られるような体制づくりが必要とされる。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、都道府県薬剤師会の試験検査センター47機関を対象に共同実験を行った。今年度は「リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム」の品質評価を純度試験を中心に実施した。(厚生科学研究)

ii) 標準品の品質規格の設定に関する研究

日局12の改正に合わせて定量法を変更すべく準備を進めてきたアセトアミノフェン, エテンザミド, プリミドン標準品の設定を新たに行った。別に低分子量ヘパリンおよび高分子量ウロキナーゼ標準品の新規設定も行った。

iii) 熱分析法の応用に関する研究

医薬品原体中の水分および揮発性成分は乾燥減量又はカールフィッシャー(KF)法により測定される。試料採取量, 熱的安定性, KF試薬との反応性などから両法の適用が困難な試料もあり, 熱重量(TG)法の採用が期待されている。ステロイドホルモン, ビタミン, 強心配糖体などの水分測定へのTG法の適用性につき検討し, KF法による水分測

定値と良好な一致を示すことが観察された。

2. 高分子性医薬品および製剤材料の高分子特性評価とその利用に関する研究

i) ヒアルロン酸のキャラクタリゼーションおよび製剤材料としての利用に関する研究

(1) ヒアルロン酸 (HA) の Na, Ca, Cu 塩を調製し、各塩水溶液につき、対イオンの活量係数 γ^+ の濃度依存性を観察した。この結果、HA と Na^+ , Ca^{2+} , Cu^{2+} イオンの相互作用に特異性は認められず、静電的なものと推定された。Ca 塩と Cu 塩の差異はアルカリ添加条件下で観察され、アルカリ濃度の増加にともない γ^+ (Cu) は著しく減少するが、pH は 6 付近にとどまり、Ca 塩の挙動と異なる。HACu のゲル形成への水酸化銅の関与が推定された。(HS 受託研究費)

(2) HA 水溶液中での物質移動につきテトラサイクリン (TC) を用いて基礎的な検討を行った。TC (0.4%) を含む HANA の 0~0.2% 溶液を調製し、透析チューブを通して試験液中に放出される薬物量の変化を経時的に観察した。この結果、HA 濃度の増加につれ溶出は遅延し、この影響は疎水性の強い TC ほど大きい。HA-TC 間の直接的な相互作用、TC の会合体形成、HA 溶液粘度などいくつかの要因が考えられ、これらの要因別解析を行っている。(HS 受託研究費)

ii) 低分子化ヘパリンの抗凝活血性の評価方法およびその標準化に関する研究

低分子化ヘパリン (LMWH) の抗 FXa および抗トロンビン活性測定法を確立し、これに基づき LMWH 国際標準品を対照に国内標準品の抗凝活血性評価を行った。また、検定法として傾斜比法と平行線法との比較検討を行った。(HS 受託研究費)

3. 分散系製剤の品質評価とその有効利用に関する研究

(1) サブミクロン粒子に対する粒径解析を行うため、レーザー散乱式粒子径測定装置のバリデーションをラテックス標準粒子 (40 nm および 500 nm) を用いて行った。

(2) 分散系の安定性評価法を確立するため、モデル分散系 (EggPC リポソーム, DMPC リポソーム, 脂肪乳剤) の安定性につき脂質濃度, 保存温度を変化させ、粒子径とその分布を経時的に観察した。この結果、約 2 カ月の観察期間中いずれの分散系についても有意の粒径変化は観察されず、平均粒子径 100~250 nm のモデル分散系は極めて安定であった。

(3) DPPC 多重膜 (MLV) の超音波処理により調製したリポソーム (SUV) の融合がエタノールにより加速される。この効果は、エタノール 60 mg/ml で顕著となるが、MLV 膜の指組み構造膜の形成を促進するエタノール濃度に対応することから、指組み構造の形成と SUV の融合に対する共通の機構の存在が示唆された。

食 品 試 験 部

部 長 伊 藤 誉 志 男

概 要

平成 4 年 10 月 1 日、神戸検疫所内に輸入食品・検疫検査センターが新設され、外海泰秀第 1 室長が初代・理化学課長を 1 年間 (平成 5 年 9 月 30 日まで) 併任することとなった。

この期間中、大阪検疫所の関口幸弘技官が当部第 1 室配属となった。

平成 5 年 3 月 30 日付けで川本礼子技術補助員が退職 (3 年間勤務) し、4 月 1 日付けで梅本美佳技術補助員が新規採用された。

業 務 成 績

1. 製品検査

食用タール色素 711 検体 (平成 4 年 4 月 1 日~5 年 3 月 30 日) について検査を行った。不合格はなかったが、食用青色 1 号のアルミニウムレーキの塩化物および硫酸塩含有量総和で規格限度に近いものが 3 検体認められた。

2. 輸入食品検査

カエデシロップ 8 検体のソルビン酸、アスパラガス 1 検体およびキャベツ 1 検体の有機リン系農薬、ちりめんじゃこ 5 検体の過酸化水素、リキュール酒 4 検体の銅クロロフィルおよびリキュール酒 3 検体の許可食用タール色素以外の色素の検査を行った。総検体数は 19 検体、総試験項目は 22 であった。

3. 標準品製造

食用黄色 5 号、500 個を製造した。平成 5 年 8 月 1 日までに食用緑色 3 号および食用赤色 105 号、500 個ずつを製造する予定である。これで、当部にタール色素標準品製造を依頼された時、在庫品のない 9 種食用色素標準品のすべてを製造したことになる。

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カ月(平成4年10月1日~12月24日),京都市立大学研究員1名の研修を3カ月(平成5年5月6日~7月31日)を行った。

神戸検疫所検査課の技官,平成4年6月15日~7月31日2名,6月15日~30日2名,8月3日~9月30日2名,および9月1日~30日2名,合計8名の研修を行った。

国際協力事業団の輸出入食品検査技術コース,平成4年11月16日~20日8名,農薬利用コース,平成5年4月19日~23日6名の研修を行った。

薬科大学研究生も含めて総数30名の食品中の残留農薬および食品添加物の分析に関する研修指導を行った。

研究業績

1. 食品添加物などの安全性に関する研究

① 食品中の食品添加物の分析法に関する研究

各種食品中のクチナシ黄色素(Crocin)およびビートレッド色素(Betanin)のSep-pak tC-18カートリッジ精製後,Inertsil ODS-IIカラムを用いた高速液体クロマトグラフィーによる迅速定量法を開発した。本法による各種食品での回収率(100ppm添加)は78.6~91.4%であった(厚生科学研究費補助金,生活衛生局食品化学課)。

② 食品添加物の一日摂取量に関する研究

地方衛研11機関と協力し調査研究を行った。本年度は学童の加工食品中の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。食用タール色素12種の1日総摂取量は0.650mgとなり,その中で,食用黄色4号が0.374mgと最も多く,全体の約58%をしめる。また昨年の成人での総摂取量は1.780mgであり,学童での摂取量が成人の約37%と少なくなっている。その主たる理由はたくあん(アム)の摂取量が成人に比べ少ないことにある(食品等試験検査費,生活衛生局食品化学課)。

③ 食用タール色素・製剤試験

食用タール色素のアルミニウムレーキ中の塩化物および硫酸塩の公定試験法について検討した。食用タール色素のアルミニウムレーキは食用タール色素と異なり,水に不溶なため,定量の際,抽出時の時間,温度,強度,光の影響などにより測定値が異なる。そこで,これらにつき詳細な検討を行い,至適条件を設定した(食品等試験検査費,生活衛生局食品化学課)。

④ 食品由来成分の含有量実態調査

各種食品中のニコチン酸およびニコチン酸アミドの, Sep-pak tC18により精製し, Nucleosil ODSカラムを用いる高速液体クロマトグラフィーによる定量法を作製した。ついで, この方法を用いて生鮮食品53種, 165検体, 加工食品71種, 137検体中の自然含有量を測定した。ニコチン酸は生鮮食品ではニラ, エビ, 加工食品ではカツオ味罐詰, ロースハム, 濃口醤油に多く, いずれも10ppm以上であった。ニコチン酸アミドは生鮮食品ではマグロ, 牛レバー, 豚レバー, 加工食品ではアユの佃煮, 干しアジに多く, いずれも50ppm以上であった(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

⑤ 食品添加物有用性等調査研究

食用緑色3号の物性, 各種分野への応用性, 生体内代謝, 急性および慢性毒性, 発癌性など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)。

⑥ 食品添加物使用基準点検整備研究

食品添加物部と協力して, 食品中のサッカリン, アスコルビン酸, パルミチン酸エステル, エリソルビン酸, 食用赤色40号およびイマザリルの定量法を作製した(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

① 農作物中の残留農薬の多成分分析法に関する研究

農作物中の残留有機含窒素農薬(ジニコナゾール, パクロプロトラゾール, ビテルタノールなど8種化合物)のキャピラリーカラムを用いた熱電導度検出器付ガスクロマトグラフによる同時分析法を作製した。本法のキャベツ, タマネギ, バナナ, 米など12種の農作物での添加回収実験を行ったところ, いずれも良好な結果が得られた(食品等試験検査費, 生活衛生局食品化学課)。

② 収穫後使用農薬における保存, 加工および調理での残留量の消長に関する研究

そばの保存および調理加工(そば切り)過程における収穫後使用農薬(DDVP, クロルピリホスメチル, マラチオン, フェニトロチオン, 臭化メチル)の消長を調べたところ, 臭化メチル(臭素として測定)の残留性が他の農薬に比し著明に認められた。米の保存および調理加工過程(炊飯およびビーフン)における収穫後使用農薬(DDVP, クロルピリホスメチル, マラチオン, フェニトロチオン, 臭化メチル)の消長を調べたところ, これらは保存中は

外側に局在し、内部への浸透は認められなかった。また加工工程では、水洗および加熱により相当量が除去できることが明らかとなった（食品等試験検査費，生活衛生局食品化学課）。

③ 残留農薬基準設定のための分析法に関する研究

農作物中のトリアジメノール，プロピコナゾールおよびベナラキシルの熱電導度検出器付ガスクロマトグラフ（FTD-GC）およびガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）を用いる公定試験法を作製した（食品等試験検査費，生活衛生局食品化学課）。

④ 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

代謝されやすい有機リン系農薬の親化合物および代謝物の農作物中からの分別定量法を作製した。エトリンホスとその代謝物（エトリンホスオキソン）のFTD-GC法，ナレドとその代謝物（DDVP）のFPD-GC法を作製し，本法を用いて神戸および横浜検疫所の輸入食品検疫・検査センターで，各種輸入農作物での実態調査を行った（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

輸入農作物中の13種ピレスロイド系農薬と29種有機リン系農薬の同時迅速検査法を開発した。これらの検査法を用いて，神戸および横浜検疫所の輸入食品検査センターで各種農作物について実態調査を行った結果，中国産ウーロン茶よりフェンバレート157ppb，米国産レモンおよびオレンジからクロロピリホスがそれぞれ83および175ppb検出された（厚生科学研究費補助金，生活衛生局食品化学課）。

生物試験部

部長 小川 義之

前部長 川崎 浩之進

概要

平成4年度から開始された「創薬科学総合研究推進事業」の課題募集に，当部から研究資源の保存に関する2テーマが採用された。また，同推進事業の国際共同研究事業でも，スタンフォード大学との共同研究による熱ショック蛋白質に関する研究テーマ

が採用されて，支所の「創薬基盤技術開発研究センター（仮称）」への改組に向けて第一歩を踏み出した。

HS財団の第3期官民共同プロジェクト研究事業には，第III分野テーマ「医用材料と生体の総合化技術の開発」の中で副課題として「新医薬品・医療材料の評価技術の開発と応用」で参加し，新たな研究の展開を図った。

スタンフォード大学付属癌研究所に客員研究員として出張中であった村井敏美主任研究官は熱ショック蛋白質に関する研究を終えて帰国した（平成3年10月21日～平成4年10月20日）。

江馬真主任研究官は平成4年10月，サンフランシスコで行われたAmerican College of Toxicologyの第13回年次大会で，Butyl benzyl phthalateの催奇形性作用に関する成績を発表した。

本年度は人事面での異動が著しかった。平成5年3月31日付けで川崎浩之進部長が定年退職され，後任に同年4月1日付けで小川義之第一室長が就任した。平成5年4月1日付けで，第一室長に村井敏美主任研究官が，第二室長に江馬真主任研究官がそれぞれ昇任した。また，同日付けで第二室天野博夫技官は主任研究官に昇格し，中村ゆかりが第一室に厚生技官として採用された。

伊丹孝文前第二室長は平成4年10月28日急性腎不全のため死去された。故人の御冥福をお祈りします。

業務成績

国家検定としてヒトインスリン製剤60件（生物試験，無菌試験），国家検査としてブドウ糖注射液52件（発熱性物質試験，無菌試験）および薬局方インスリン製剤3件（生物試験，無菌試験），特別行政試験として輸液製剤アミパレン8件（発熱性物質試験）を行い全品目とも合格であった。

標準品製造は，エンドトキシンが900個，胎盤性性腺刺激ホルモン100個，脳下垂体後葉51個をそれぞれ製造した。

その他，日本薬局方の改正（薬務局安全課）およびJIS改正（通産省）に協力した。

研究業績

1. 発熱性物質に関する研究

Limulus試験法に関する研究

エンドトキシン試験用水の日本工業規格作成プロジェクトに参画して研究を行った。市販されている国内の代表的メーカー2社の注射用水は10倍濃縮

して、高感度のリムルス試薬で測定しても検出感度以下であり、また、リムルス反応阻害も見られなかった。ポリ容器の加熱処理により溶出されてくる物質について、リムルス反応阻害を調べたが影響は見られなかった。これまでに、アルミニウムや鉄等の金属がリムルス反応を阻害することを明らかにしてきたので、エンドトキシン試験用水の品質に関する研究を今後さらに続けて、製造時および最終製品での規格を考える必要がある。

2. 医薬品等の有効性、安全性に関する研究

i) Butyl benzyl phthalate (BBP) はラットにおいて胚致死作用および催奇形作用を有しており、妊娠前半に投与したときに胚致死作用を発現し、妊娠後半に投与したときに催奇形作用を現すことが明らかとなった。

ii) Dibutyltin dichloride (DBT) はラットにおいて胚の発生段階によって奇形発現の感受性が異なり、妊娠6日までは、まだ感受性はなく、妊娠7および8日が感受期であり、妊娠8日が感受性が最も高く、妊娠9日ではすでに感受性はないことが明らかになった。

iii) 商品名 AMICAL 48 として市販されている殺菌剤 diiodomethyl p-tolyl sulfone はラットにおいて母体毒性を現す投与量でも催奇形作用を示さなかった。

iv) Gulutaradehyde はラットにおいて母体毒性を現す投与量でも催奇形作用を示さないことが明らかとなった。

v) Mg イオンは脳微小血管に対して局所拡張因子として作用し、血管拡張を起こさない量でも抗収縮作用を有することが示された。Mg イオンはアルコールによる脳血管損傷の防御に有用であることが示唆された。

3. 生体関連反応指標の有意性判定に関する研究 (第2次)

多方面の実験に汎用される腹腔マクロファージ (M ϕ) と調製が比較的容易であり、感染防御の点から重要な組織に分布する肺胞 M ϕ を選び、これらの M ϕ について免疫反応指標としての有意性を比較した。まず、基礎的検討として、ラットの腹腔 M ϕ と肺胞 M ϕ の性状および活性の違いを明らかにした (厚生省特別研究)。

4. 初代培養細胞を用いたラットの中枢神経系の初期発生に関する研究

中枢神経系の幹細胞である神経上皮細胞の増殖お

よび神経/グリアへの分化に対する、成長因子類の培地への添加、接着基質、播種密度など諸種培養条件の効果をラットの器官形成期胚より単離した初代培養系において検討した。この系が脊椎動物中枢神経経初期発生過程の *in vitro* での研究を可能とする極めて有用な素材であることを明らかにした (厚生科学研究費, 厚生科学課)。

5. 新医薬品・医用材料の評価技術の開発と応用
リムルス反応阻害物質除去担体として田辺製薬が開発した固定化ヒスチジンの評価を行い、有用であることが示された。現在のエンドトキシン標準品よりも原液濃度が低濃度で使いやすい標準品の試作を生化学工業に依頼し、各種の LAL 試薬や測定方法を変えて、力価、バイアル間差等を検討した (HS 財団受託研究費)。

6. NOD マウス I 型糖尿病における熱ショック蛋白質の病因的意義の究明

HSP 産生抑制を見出すためのアプローチとして、HSP 産生に及ぼす各種薬剤の影響を簡単にチェックできるような、簡便で信頼性の高い HSP 産生モニタリングシステムとして、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子を利用した方法を開発した (HS 財団; 創薬総合研究推進事業における国際共同研究, スタンフォード大学と共同研究)。

7. 自然発症疾患モデル動物の評価とそれら動物胚の凍結保存法の開発に関する研究

体外受精により得た 11 系統マウスの 2 細胞期胚を緩慢凍結・緩慢融解法による凍結保存法について検討した。凍結・融解後の生存性は、いずれの系統とも高く 85% 以上の値であったが、移植胚の仔への発生率には、系統によって大きな差が認められた (HS 財団; 創薬総合研究推進事業, 三菱化成生命科学研究所と共同研究)。

8. 中枢神経系幹細胞樹立細胞系の開発

哺乳類中枢神経系の幹細胞である神経上皮細胞のすべての分化能を保持したまま不死化し、増殖、継代、保存の可能な、中枢神経系幹細胞株を樹立することを最終的な目標として、細胞株樹立の素材となるラット胚神経上皮細胞初代培養系の培養条件、特に無血清培地中での増殖誘導条件に関する基礎データの収集と、細胞分化の分子レベルでの観察を行うための基本的な諸種実験方法の確立を行った (HS 財団; 創薬総合研究推進事業, 京大および発酵研究所と共同研究)。

北海道薬用植物栽培試験場

場 長 畠 山 好 雄

概 要

施設面では、温室 (87.48 m²) の新築が認められ、平成4年8月に着工し、同11月竣工、引渡しとなった。

研究上は、例年通り、厚生省審査課の委託である薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培研究を行った。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」についてもそれぞれ研究を実施した。その他、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薬構成生薬の品質改善に関する研究」および医薬品副作用被害救済・研究振興基金の幹旋共同研究「モッコウの栽培および品質評価」についても、それぞれの共同研究者と実施した。

海外出張は、畠山場長が雲南省薬物研究所の招へいにより平成5年4月23日～5月3日まで雲南省へモッコウ栽培の実態調査に赴いた。

業務成績

1. 種子交換

採 取 240 種 (筑波試験場へ送付)

受入れ 26 件 163 種

分 譲 13 件 70 種

2. 指導業務

ケシの講習会が平成4年7月29日に名寄で開催され、一般耕作者、関係機関に対し、講習を行った。

栽培指導は道内各地の他、青森市の各担当者に対し、実施した。

研究業務

1. トリカブト

道北地方における1年栽培の可能性を検討する一環として、施肥時期が収量におよぼす影響を2年間にわたって調べた。2年目の春先には定植時の種根がすでに腐敗しており、1年目の子根が親根として萌芽した。子根数は前年すでに決定しており、2年目に増加することはなかった。孫根は下位節から順次発生、肥大していき、その数は5月追肥区で大きかった。根重に対する施肥時期の影響は明らかにできなかった。

2. ケシ

有機物施用によるアヘン多収穫技術の開発を目的として試験を開始した。材料に用いた有機質肥料は、豚ふんと石灰を原料としたグリーンマイティーと木炭を粉末にした下川炭素の2種類であり、対照として化成肥料14-4-14を供した。

収量構成要素のうち、果数は各区とも所定どおり得られた。1果当りのアヘン重量は平年並みであり、肥料間に差は見られなかった。有効果歩合は第1、2回切傷100%、第3回目でも80%と高く維持され、肥料間に差はなかった。各収量構成要素とも区間に差が無いため、アヘン収量も同様の傾向を示した。なお、各区の100 m² 当り収量は100～120 gであった。

3. 生薬の品質改善に関する研究

生薬調製技術の開発を目的にトウキ・ナイモウオウギ・モッコウを供試して、自然乾燥・人口乾燥・ブランチングなどの試験を実施した。

乾燥の機械化を目指し、ホッカイトウキを真空凍結・熱風・遠赤外線・マイクロ波を用い乾燥試験を行った結果では、乾燥法の違いによる ligustilide 含量への影響は認められず、50%エタノールエキスは凍結乾燥法で有意に低下した。また、アンジオテンシン変換酵素阻害活性は凍結乾燥法が最も高く、マイクロ波乾燥品は有意に活性が低下した。

細菌および糸状菌の動態については、乾燥後の当帰1g乾重当り細菌は10⁴ オーダー、糸状菌は10²～10³ オーダー組織内に生存しており、保存中に品質の変化が進行する可能性を示した。なお、トウキに対するブランチングは糸状菌を激減させることに卓効を示した。

ナイモウオウギに対する調製法の比較では自然乾燥したものの方が強制乾燥(50℃、間欠)したものより4種類のイソフラボノイド含量が高かった。

モッコウについては、ブランチング後自然乾燥する方法と、自然乾燥のみとする方法を試みたが、コストノリドおよびデヒドロコスツノラクトン含量はブランチングの有無による差はなく、希エタノールエキス量は前者が明らかに低く、JP XIIの規定(17%以上)に適合しなかった。

筑波薬用植物栽培試験場

場長 西 孝三郎

概要

平成4年度は薬用植物の栽培・品質評価指針作成にかかわる栽培試験, 5試験場の共同研究であるミシマサイコの栽培試験および麻薬原料植物の管理生産システムに関する研究を実施した。

また, Riプラスミドによる形質転換細胞の研究および閉鎖系におけるアヘンアルカロイド生産技術の確立に関する研究も行った。

平成2年度より実施してき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)」は所定の成果をあげ完了した。

平成4年度から官民共同プロジェクト研究事業の一環として「バイオテクノロジーにより得られた有用物質の保存に関する研究」および「薬用植物の分子遺伝学的解析による分類法の確立に関する研究」が開始された。

また, 創薬科学総合研究事業の一環として「薬用植物の生育および成分におよぼす因子の解明」に関する研究も開始した。

人事面では, 平成4年7月12日, 行政職(二)職員であった渡辺照行技官が死亡退職した。後任に平成5年1月1日, 宇都幸生技官が採用となった。また, ヒューマンサイエンス振興財団の流動研究員の青木俊夫研究員は「形質転換を用いた薬用植物の高度環境制御下における特性解析に関する研究」を行っていたが, 平成5年3月31日, 2年間の研究を終了して退職した。

平成4年度の政府の景気刺激策による補正予算において筑波試験場では, 研究本館の中央監視装置, ファイトトロン, クーリングタワー, 圃場, 農機具倉庫屋上防水, 温室のガラス自動開閉装置の改修工事を行った。

海外研究員の受け入れは, 科学技術庁フェローとして, ベルギーのブリッセル自由大学から Dr. Mondher Jaziri が「形質転換による有用二次代謝の生産に関する研究」のため平成4年4月15日～同年10月2日およびベルギー政府研究員として同年11月25日～12月7日, 平成4年度科学技術振

興調整費(個別重要国際共同研究)により, 韓国農村振興庁作物試験場の Dr. Seong Nak Sul が「薬用植物の探索, 収集, 評価, 利用に関する研究」のため平成4年9月25日～同年10月15日まで共同研究を行った。東京農業大学の依頼により, 韓国慶北大学校農科大学の Lee Sang Chul 助教授が「*Bupleurum* 属植物の内部形態および染色体に関する研究」のため平成5年1月11日～同年4月9日, 東北大学の依頼により, 韓国の Baik Hwang 教授が「形質転換による有用二次代謝の生産と制御に関する研究」のため平成5年3月1日から同年4月15日まで研修した。平成5年3月4日, 5日の両日, 科学技術庁研究交流センターにおいて, 所長, 副所長, 生薬部長および業務課長出席のもとに, 薬用植物栽培試験場業務打合せ会議を開催し, 5試験場の研究業務の報告および平成5年度の試験研究計画等について討議を行った。また, 3月4日には講師に三国(株)常務の永井吉澄氏を招き「中国の生薬事情について」と題して特別講演を開催した。平成4年7月14日, 昨年に引き続いて「第2回薬用植物栽培技術フォーラム」を開催し, 薬務局手島審査課長, 日本東洋医学会名誉会員後藤実氏, 三国(株)常務の永井吉澄氏を招き特別講演を行ったほか, 当所の5試験場の栽培試験報告, 九州大学正山征洋教授, 広島大学神田博史助教授の講演を行い, 全国から150名の参加があり盛況のうちに終了した。

海外出張は, 西場長が平成4年8月6日から同年8月15日まで, 中国山西省薬学会主催の「黄耆」に関するシンポジウムに出席のため中国に, 平成5年2月1日から同年2月13日まで, 国際協力事業団(JICA)の依頼により, 甘味資源植物の栽培試験事業に関する調査のため, マレーシアに出張した。

また, 柴田栽培研究室長は, 平成4年度科学技術振興調整費による個別重要国際共同研究「薬用植物の探索, 収集, 評価, 利用に関する研究」のため, 平成5年3月11日から同年3月19日まで韓国に出張した。

業務成績

種子保管数(貯蔵庫)	335種類	延べ	1340 缶
交換用種子保管数	1101種類/1992 年分		
	1085 種類/1993 年分		
入手種子数	140件	延べ	198 種類
分譲種子数	203件	延べ	4683 種類
種子目録配布数	65カ国	延べ	409 機関

研究業績

1. 薬用植物の栽培に関する研究

1) 間引き時期および地上部の切除がキバナオウギの生育・収量に及ぼす影響

直根性の生薬を得るため、間引き時期および地上部切除と生育・収量との関係を明らかにするため栽培試験を実施した。その結果、地上部の部分切除により主根率（主根乾物重/地下部乾物重）の高まることが認められ、直根性化への効果が示唆された。

また、分岐根の発生は6月下旬よりみられ、特に10月以降急激に増加することが判明した。一方、間引き時期の相違による分岐根発生の減少化（直根性化）の効果は認められなかった。また、収量においても区間に有意差は認められなかった。

2) 施肥量の相違がトウスケボウフウの生育・収量に及ぼす影響

直根性の生薬を高収量で得るための最適施肥量を知る目的で、実生1年生株を用いて検討した。

統計的に区間に有意差は認められなかったものの30 kg/10 a 施用区では、主根長が長く、分岐根の数・乾物重が小さい傾向を示し、直根性の生薬を得る上で有利であることが示唆された。また、生育・収量の面から考えると年間10 kg/10 a 程度の施肥量で十分であるとの結果が得られた。

3) 栽培地域の相違がミシマサイコの生育・収量およびサポニン含有量に及ぼす影響

筑波（T系）、伊豆（I系）および和歌山（W系）試験場で採種した種子を供試し、栽培試験を行った。W系は全生育期間を通じ草丈、葉数、分化葉位および地上部乾物重ともに他2系統に比べ著しく高かった。I系は地上部のすべての各形質において有意に小さく、T系はその中間を示した。また、I系は抽苔率が他の2系統に比べ著しく低く、そのため草丈、葉数も小であった。地下部乾物重は、I系は他2系統に比べ極めて小さく、それが反映して収量も低い値となった。W系はT系に比べ10月収穫時の収量においては有意に大きかったが、12月収穫時の収量では両系統間に有意な差は認められなかった。

4) ケシの高度環境制御施設内栽培において収穫（切傷）時期がアヘン収量・成分に及ぼす影響

高度環境制御施設内水耕栽培における最適切傷時期を明らかにするため試験を実施した。

アヘン収量は個体による変動が多いが開花後18日目を以降の切傷で有意に高いことが判明した。

さく果重は各区間に有意な差はないが、アヘン収量の多い区はさく果重も大きい傾向がみられた。さく果の肥大生長が完了するのは開花後18日目あたりと推定されることから、アヘン収量に関しては開花後18日目前後が採取の適期と考えられた。また、モルヒネ含量は切傷1回目で高く、2回目を以降減少する傾向がみられ、一方、コデイン含量は2回目を以降増加する傾向にあり、これらの傾向は圃場栽培のもの一致した。

2. Riプラスミドによる形質転換細胞の研究

1) *Hyoscyamus albus* L. のトロパンアルカロイドの生産

土壌細菌 *Agrobacterium rhizogenes* A4株を用いて形質転換した毛状根を用いてトロパンアルカロイドの生産および光照射下で培養した根の特質について検討した。B5培地中の各種金属イオン濃度を検討したところ、特に Cu^{2+} 濃度を高めた場合に6 β -hydroxyhyoscyamine, hyoscyamine, littorine の生産および毛状根の生育が著しく促進された。また、無機成分を1/2にしたWP培地に硝酸カリウムを添加したところアルカロイドの生産が増大した。光照射下の培養により毛状根はわずかに緑色を呈し、主要無機成分のみを1/2にしたMS (1/2 MS) 培地を用いた場合、クロロフィル含量(生重量あたり)はB5培地を用いた場合の2倍以上に増大した。また、B5培地にアンモニウム塩を添加することによりクロロフィル含量が増大した。

2) *Hyoscyamus albus* 毛状根への C^2H_5 、 $^{13}\text{COO}^-$ Na 投与によるトロパンアルカロイドへの取り込み

Agrobacterium rhizogenes MAFF 03-01724 により形質転換して得た毛状根を用いトロパンアルカロイドへの取り込みを生合成経路の観点から検討した。

NMR分析の結果、ラベルした酢酸ナトリウムは単離したすべてのトロパンアルカロイドに取り込まれたことが判った。一方、hyalbidoneへの取り込みは極僅かであった。 ^{13}C NMRの結果より、 ^{13}C はC-3位のみに取り込まれており、その取り込み量は、各々のトロパンアルカロイドにより異なっていた。また、初期に合成されるトロパンアルカロイドほどラベルの量が多いことから、この値は生合成の順位を反映していることが考えられる。

3) Riプラスミドによるケシの形質転換細胞の作出と形質転換体によるモルフィナンアルカロイド生産

ケシの種子を無菌的に播種して得られた幼植物の

胚軸(約0.5 cm)を1/2 MS液体培地に植え付け、25℃、暗所で1日間、*A. rhizogenes* MAFF 03-01724と共存培養した。感染後、照明下で培養し除菌を行った。形質転換体および非形質転換体中のアルカロイドをELISAおよびHPLC法にて分析した。胚軸をNAA 0.5 mg/l添加MS培地で培養してもシュート形成能の高いカルスが得られたが、ろ紙電気泳動でオパインの検出を行ったところ、形質転換ゴールにのみミキモピンが認められた。また、同様にして、*A. rhizogenes* A4菌を感染させると、ゴール状の組織は得られたが、植物生長調節物質無添加培地での継代培養は出来なかった。ゴールに形成したシュートを個々に分割し、MS固形培地、14時間照明下で培養すると、葉がよく展開した生育の良好なシュートが得られたが、通常の植物より葉幅が広くなる、鋸歯が著しい等の形態変化が観察された。さらに、再分化シュートおよびゴール中のアルカロイドをELISAおよびHPLC法で分析した。形質転換シュートは、ELISA法では非形質転換シュートと同じレベルのモルフィナンアルカロイドが認められたにも関わらず、HPLC分析ではコデインのみが検出され、モルヒネは検出されなかった。

伊豆薬用植物栽培試験場

場長事務取扱 寺尾 允 男
前場長事務取扱 原田 正 敏

概要

平成5年3月31日付けで、場長事務取扱の原田正敏副所長が退官され、後任場長事務取扱として4月1日付けで、後任の寺尾允男が就任した。研究業務としては、前年度に引き続き、厚生省麻薬課の委託研究である生態系農業に基づくケシ栽培法の確立に関する研究、薬用植物・品質評価指針作成に関する栽培試験および5試験場の共同研究によるミシマサイコの栽培試験等を行った。

業務成績

1. 種子交換

採種 172種 (筑波試験場へ送付)

内訳 野生植物 84種

標本植物 62種

温室植物 26種

受入 6件, 14種

分譲 13件, 32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

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壌改良資材(商品名:グリーンマイティー)300 kg/a施用区と牛糞堆肥2000 kg/a施用区の2区を設け、トレンチャーを用いて約60 cmに深耕する際、上記の土壌改良資材および牛糞堆肥を混和した。土壌改良資材区の土壌pHは8.2、腐植含量11.3%、牛糞堆肥区の土壌pHは7.1、腐植含量14.3%で、土壌改良資材区の土壌は牛糞堆肥区に比べ、土壌pHが高く、腐植含量は低かった。草丈、最大葉の長さ、茎の太さともに土壌改良資材区でわずかながら大きかったが、さく果の長さおよび径においては両区間に差は認められなかった。葉重、茎重、根重は土壌改良資材区で大きかったが、さく果重では両区間に差は認められなかった。1a当たりの乾燥アヘン収量は土壌改良資材区224.2 g、牛糞堆肥区で214.6 gであった。

2. 薬用植物栽培・品質評価指針作成に関する栽培試験

① ケイガイ

前年度は播種期および施肥量について試験を行ったが、本年度は追肥の効果について検討した。試験区はI(化成肥料基肥N, P₂O₅, K₂O各4 kg/10 a施用)、II(化成肥料基肥N, P₂O₅, K₂O各3 kg/10 a施用、化成肥料追肥N, P₂O₅, K₂O各1 kg/10 a施用、追肥6月29日)、III(化成肥料基肥N, P₂O₅, K₂O各3 kg/10 a施用、化成肥料追肥N, P₂O₅, K₂O各1 kg/10 a施用、追肥7月16日)、IV(化成肥料基肥N, P₂O₅, K₂O各3 kg/10 a施用、化成肥料追肥N, P₂O₅, K₂O各1 kg/10 a施用、追肥7月31日)の4試験区。各試験区の株当たりの部位別風乾重を比較すると、基肥のみのI区に比べ、III区の茎重、IV区の茎重、有効花穂重が大きかった。I~IV区の中ではIV区の葉重、茎重、有効花穂重が最も大きく、今回の試験結果から追肥の効果は十分認められ、また、追肥の時期は7月中旬~下旬に施用するのが適当と考えられた。

② サフラン

本年度は施肥量の検討を行った。試験区は化学肥料の基肥量が10 a当たり、N, P₂O₅, K₂Oの各成

分量で5 kg, 10 kg, 15 kg, 20 kg, 25 kg 施用の5試験区。植え付け前の平均球茎重に比べて、収穫後の平均球茎重は各試験区とも大きくなり、反復間によって若干の差が認められたものの、平均すると施用量の多い区ほど、球茎重は大きくなる傾向がみられた。収穫時の球茎重別区分を比較すると、15 g以上の球茎は施用量の多い区で増加する傾向がみられた。以上の結果より、サフランの球茎増殖のための栽培における化学肥料の基肥量はN, P₂O₅, K₂Oの各成分量で15~20 kg/10 aを標準として栽培すればよいことが明らかとなった。

③ カミツレ

本年度は栽植密度および直播と移植栽培について比較検討した。1株当たりの頭花数と頭花重は、直播区、移植区とも株間の広がるほど大きく、直播区と移植区では直播区の方が大きかった。1a当たりの頭花重は直播、株間15 cm区で10.5 kgと最も高かった。また、直播区は移植区に比べて、30%程度頭花収量が高かった。カミツレ栽培に適正な栽植密度は条間を60 cmとした場合、株間15 cm程度にすればよいことが明らかになった。また、直播栽培が移植栽培に比べて収量が高く、これらの結果はカミツレの栽培においては移植栽培より直播栽培の方が適していることを示唆するものである。

④ ゲンノショウコ

ゲンノショウコの栽培に適正な栽植密度を知る目的で、栽培試験を行った。株当たりの葉重は株間が広がるほど大きくなり、株間15 cm区は株間30 cm区の1/2、株間45 cm区は1.3倍程度だった。茎重は株間15 cm区で減少したが、株間30 cm区と株間45 cm区間に差は認められなかった。1a当たりの部位別風乾重は葉重、茎重ともに株間15 cm区で最も大きく、葉重は20.7 kg/a、茎重は22.1 kg/aだった。

3. ミシマサイコの栽培環境の相違による生育と成分に関する研究

筑波系統、伊豆系統、和歌山系統の生育・収量の比較を行った。筑波系統、和歌山系統は7月から抽苔が始まり、8月には抽苔率50%をこえたが、伊豆系統は12月になっても抽苔率8%と他の2系統に比べて、極めて低かった。1年生収穫時の1個体当たりの根乾物重は筑波系統1.11 g、和歌山系統1.10 g、伊豆系統0.54 gで、伊豆系統は他の2系統に比べ、約1/2だった。また、1m²当たりの総乾燥根重は筑波系統51.6 g、和歌山系統35.3 g、

伊豆系統14.8 gで、筑波系統の収量が最も大きかった。

和歌山薬用植物栽培試験場

場 長 野 口 衛

概 要

当場では、薬用植物の栽培法、調製加工法と生薬の品質の関係について検討を行っているが、一昨年来圃場作業員2名となり、来年度はさらに1名停年となるため、業務の遂行が危ぶまれる状態である。

施設設備面では、庁舎の屋根の葺替えを行った以外大きな変更はない。

業務成績

1. 種子交換

採種	89
受入	1
分譲	6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事業に協力した他、団体見学ならびに外部依頼計23回、参加者727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32件で、その内訳は種苗依頼10、栽培法5、植物鑑定2、薬効(用法)8、調製加工法・分析法その他の情報7件で、その内、売り先の問い合わせは5件であった。

研究業績

1. ミシマサイコの収量に及ぼす稲藁、ハトムギ、堆肥ならびに散水時間の効果について

砂質畑土よりなるほ場に10アールあたり鶏糞200 kg、ナタネ粕70 kg、消石灰100 kg、IB化成(604)50 kg、パークミン5000 kgを施し、稲藁、ハトムギは、畝の中心部を長軸に沿って50 cm程度の深さに掘り、長いまま一掴みづつ埋め込み(1000 kg/10 a)土をかぶせた後、ミシマサイコを播種した。また、7月1日より9月15日まで毎日、圃場の一定区間に9, 13, 17時に散水した。

掘り上げた根20本について、根長、根太、根頭径、根重を測定、乾燥後の根重を測定、また、これとは別に、圃場5 m²の全株数、総根重量を測定した。

その結果、肥料には根収量増大効果が認められたが、稲藁、ハトムギには明確な効果は認められず、

また散水時間は、根の肥大にはまったく影響を与えなかった。

2. ミシマサイコの系統による収量の比較

1の条件で栽培すると、筑波、伊豆、和歌山産種子のいずれを用いても、乾燥根重以外のすべての計測値で有意の差が認められ、和歌山>筑波>伊豆となった。ただし、乾燥根重については和歌山産と筑波産で有意差は認められなかった。なお、筑波、伊豆では草丈と地上部重、乾燥根重はよく相関したが、和歌山ではやや低い値を示した。

3. ソヨウの精油、ローズマリン酸、色素含量に及ぼす乾燥条件の影響

アカジソ、チリメンジソの種子を4月中旬に条播きして間引き、7月中旬に葉を採取、しいたけ乾燥器を用いて温度(30, 50, 70°C)、風量(31, 33.5, 36.5, 41.5 m³/min)を組み合わせて乾燥、また、和歌山産紫蘇(ちじみおよび広葉)は天日乾燥後粉末とし、これらのペリラルデヒド含量をGLC、ローズマリン酸をHPLCで、また色価を吸光度法で測定した。

その結果、ローズマリン酸(R)は、温度が低く風量が少ない方が含量は高く、逆にペリラルデヒド(P)は、温度が低くても風量が多い方が含量は高くなった。さらに、赤色色素(C)は、Rと同様に温度が低く風量が少ない方が色価は高くなった。そして、いずれも、条件によっては天日乾燥を越える場合が認められた。

4. 和歌山産ソヨウの品質について

和歌山県産ソヨウ中精油含量が局方値を下回るものは4品目のみで、精油含量とP含量の相関係数は $r = -0.104$ 、またP含量とR含量では $r = -0.448$ であった。

また、和歌山産のちじみと広葉を比較すると、P含量は後者で前者の約2倍、逆にR含量は前者で後者の約3.5倍となった。

種子島薬用植物栽培試験場

場長代理 香月茂樹

概要

研究面では前年度に引き続き、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進めた。また、厚生省麻薬課の委託研究である「生態型農業に基づくけし栽培法の確立に

関する研究」を開始した。

施設面では、庁舎内の農具・肥料類を平成3年度に完成した農具庫へ移動し、その後を改装し、乾燥・液浸等の標本収納管理室として使用している。

気象面では、梅雨期間が6月5日~7月10日の35日間で総降雨量841mmであった。台風の接近・通過は次のとおりであった。

8月7日~8日 10号

瞬間最大風速 23 m/s・降雨量 122 mm

8月17日~18日 11号

瞬間最大風速 18 m/s・降雨量 38 mm

いずれの場合も被害程度は軽微で、植物に傷みが見られた程度であった。

業務成績

1. 種子交換

採種 277種 (筑波試験場へ送付)

内訳 野生種 199種

栽培種 78種

露地 74種

温室 4種

受入 40件 143種

分譲 43件 100種

2. 栽培指導

都城市薬用植物資源利用研究会が3回開催され、基本計画のための意見交換を行った。また、中種子町野菜花卉振興方策懇話会が2回開催され意見交換をし、答申を行った。

研究業績

1. ガジュツの補償作用試験

欠株となった場合を想定し、人為的に欠株率を10%・20%・40%として実施した。

1株当たりの収量では、生体重は欠株率の増加に伴い主根茎個数・総根茎重・主根茎重は増加した。総根茎重における主根茎重の占有率は、各区間の極端な差はそれほどなかった。10アール当たりの収量子想では、主根茎個数・総根茎重・主根茎重は各区の欠株率を上回る増加が見られ、側根茎重を含め欠株率が増加するに伴い増収率が高まった。周辺株に対する欠株の影響は生体重・乾物重では、無隣接株<片方隣接株<双方隣接株という増収結果が見られた。

2. ウコンの施肥位置に関する試験

基肥の効果的な施肥位置を把握する目的で、種イモに対して上位・同位・下位に施肥した。

施肥位置による各区間の極端な収量差は見られな

かった。総根茎収量では、上位～下位施肥区の順にわずかずつの増加傾向が見られた。総根茎収量での側根茎の占有率は、いずれの茎においても主根茎を超えた。種イモに対する増加率では、総根茎重は各区とも9倍をやや超える程度であり、主根茎重は各区とも4倍にやや満たない増加であった。1株における主根茎個数の形成は各区とも3個をやや超えた。

3. クミスクチンの栽植密度試験

栽培時の適正な栽植密度を把握する目的で、条間80 cmとし株間20・30・40・50 cmで実施した。

収穫は9月下旬、11月下旬の2回可能であった。単位面積収量は1回目・年間合計のいずれにおいても、栽植密度が密であるほど著しい収量があった。栽植密度が疎であるほど風の影響を受け、欠株数が増加し、単位面積収量は著しく劣った。株間20 cm区の1回目収穫以降の生育は、他区と比較し、著しく劣った。後期の生育状況・他区との比較などから判断し、肥切れによるものと想定された。乾物率の各区間の顕著な差は見られなかった。

(研究生) 44名

氏 名	所 属	受 入 部	入 所	退 所	性別	備 考
相 澤 浩	神奈川県衛生看護専門学校付属病院	薬 理 部	2. 9. 1		男	
秦 英代	(財)民生科学協会	療 品 部	2. 9.17	5. 3.31	女	
阿 瀬 善也	順天堂大学医学部	病 理 部	2.10. 1	4. 9.30	男	
林 修次	名古屋市立大学医学部	病 理 部	2.10. 1	5. 3.31	男	
綿 野 智一	大阪大学薬学部	薬 理 部	2.11. 2	5. 3.31	男	
菊 野 秩一	(財)化学品検査協会	変異遺伝部	3. 2.12	3.12.28	男	
北 浦 敬介	徳島大学医学部	病 理 部	3. 4. 8		男	
不 二 哲	北海道大学獣医学部	毒 性 部	3. 5. 1		男	
三 井 雅之	奈良県立医科大学	病 理 部	3. 6.17		男	
吉 田 秀信	金沢大学医学部	毒 性 部	3.10. 1	4. 9.30	男	
坂 庭 真吾	東京都立文京高等学校	衛生微生物部	3.10. 1	5. 3.31	男	
榎 並 倫宣	奈良県立医科大学	病 理 部	3.10. 1		男	
山 田 仁美	東邦大学医学部付属大橋病院	衛生微生物部	3.11. 1		女	
柳 澤 真路	佐久水道企業団	環境衛生化学部	4. 2. 1	4. 7.31	男	
朝 生 裕樹	昭和大学薬学部	病 理 部	4. 4. 1		男	
渡 邊 加葉	昭和女子大学家政学部	食 品 部	4. 4. 1		女	
石 渡 尚子	昭和女子大学家政学部	衛生微生物部	4. 4. 1	5. 3.31	女	
大 沢 慶二	中央大学理工学部	化学物質情報部	4. 4. 1	5. 3.31	男	
近 藤 健	千葉大学園芸学部	衛生微生物部	4. 5. 1	4.12.31	男	
松 井 元	(財)化学及血清療法研究所	病 理 部	4. 5. 6		男	
田 川 富美子	既存化学物質点検推進委員会	総合評価研究室	4. 5. 6	5. 3.31	女	
田 畑 洋文	日本セイゲケン総合研究所	薬 理 部	4. 5.11		男	
岩 田 修永	東京医科大学	代謝生化学部	4. 7. 1	5. 3.31	男	
天 野 富美夫	国立予防衛生研究所	機能生化学部	4. 8.11		男	
鈴 木 敏男	郡山市水道局	環境衛生化学部	4. 9. 1	5. 2.28	男	
関 口 裕巳	(財)民生科学協会	毒 性 部	4. 9. 7		男	
金 子 圭一	農林水産省農薬検査所	毒 性 部	4.10. 1	4.12.28	男	
桃 園 裕子	北九州市保健局環境衛生研究所	食 品 部	4.10.26	4.11.20	女	
下 武 男	金沢医科大学	病 理 部	4.11. 4		男	
局 伸 男	大分県衛生環境研究センター	食品添加物部	5. 2. 1	5. 2.19	男	
高 田 幸恵	(財)日本公定書協会	支所薬品試験部	4. 5.12		女	
藤 原 靖士	神戸学院女子短期大学	支所食品試験部	4. 7. 6	4. 9.30	男	
和 田 伊知朗	埼玉県衛生研究所	支所食品試験部	4. 7. 6	4. 8.28	男	
三 原 翠	京都薬科大学	支所食品試験部	4. 7. 6	4. 8.31	女	
鯉 口 智	神戸検疫所	支所食品試験部	4. 6.15	4. 7.31	男	
成 田 美加子	神戸検疫所	支所食品試験部	4. 6.15	4. 7.31	女	
宮 田 昌宏	神戸検疫所	支所食品試験部	4. 6.15	4. 6.30	男	
長 谷 川 眞住	神戸検疫所	支所食品試験部	4. 6.15	4. 6.30	男	
岡 本 浩一郎	神戸検疫所	支所食品試験部	4. 8. 3	4. 9.30	男	
武 田 浩二	神戸検疫所	支所食品試験部	4. 8. 3	4. 9.30	男	
鎌 倉 和政	神戸検疫所	支所食品試験部	4. 9. 1	4. 9.30	男	
長 谷 川 新	神戸農林水産消費センター	支所食品試験部	4.10. 5	4.12.25	男	
笥 華 子	(財)日本公定書協会	支所薬品試験部	4.12. 7		女	
梅 本 美佳	大阪樟蔭女子大学学芸学部	支所食品試験部	5. 3. 1	5. 3.31	女	

(実習生) 45名

氏名	所属	受入部	入所	退所	性別	備考
鈴木宏子	昭和女子大学家政学部	食品添加物部	3.10.1	5.3.31	女	延1
谷津貴子	昭和女子大学家政学部	総合評価研究室	3.10.1	5.3.31	女	延1
村越千春	昭和女子大学家政学部	化学物質情報部	3.10.1	4.9.30	女	
山本桐子	昭和女子大学家政学部	化学物質情報部	3.10.1	4.9.30	女	
中川正弘	信州大学医学部	毒性部	4.2.1	4.8.1	男	
塚本康弘	北里大学衛生学部	療品部	4.4.1	5.3.31	男	
辻久美子	北里大学衛生学部	環境衛生化学部	4.4.1	5.3.31	女	
楠間通代	昭和薬科大学	有機化学部	4.4.1	5.3.31	女	
日比恭子	昭和薬科大学	生物薬品部	4.4.1	5.1.31	女	
伊藤真紀子	昭和薬科大学	衛生微生物部	4.4.1	5.3.31	女	
上田有里子	昭和女子大学	食品添加物部	4.4.1	5.3.31	女	
保崎陽子	北里大学衛生学部	薬品部	4.4.3	5.3.31	女	
小西明広	東京理科大学薬学部	食品部	4.4.6	5.1.29	男	
藤原理恵	北里大学衛生学部	衛生微生物部	4.4.6	5.2.13	女	
青蔭昌代	北里大学衛生学部	食品添加物部	4.4.6	5.2.13	女	
池田進	東京理科大学薬学部	環境衛生化学部	4.5.1	5.3.31	男	
小林厚子	昭和薬科大学	環境衛生化学部	4.5.1	5.1.13	女	
谷口芳信	(財)化学品検査協会	毒性部	4.5.7	4.6.6	男	
稲見圭子	共立薬科大学	有機化学部	4.5.7	5.3.31	女	
中野摂津子	共立薬科大学	食品部	4.5.7	5.1.11	女	
倉野信介	日本大学理工学部	環境衛生化学部	4.5.15	5.2.26	男	
坂楨妙子	日本大学理工学部	環境衛生化学部	4.5.15	5.2.26	女	
中納徳子	昭和大学薬学部	食品添加物部	4.6.1	4.12.25	女	
吉岡晩子	昭和大学薬学部	食品添加物部	4.6.1	4.12.25	女	
蔵元亜紀子	昭和大学薬学部	衛生微生物部	4.6.3	4.11.30	女	
山ノ内恵	昭和大学薬学部	薬理部	4.6.5	4.11.30	女	
赤瀬博文	昭和薬科大学	代謝生化学部	4.6.8	5.1.31	男	
永井憲児	(財)化学品検査協会	毒性部	4.6.15	4.7.14	男	
牧野健一	東京大学医学部	変異遺伝部	4.6.15	5.3.15	男	
近越恵	昭和薬科大学	環境衛生化学部	4.6.22	4.12.30	女	
坂本知昭	昭和薬科大学	薬品部	4.10.5	5.3.31	男	
飯田貴敏	昭和薬科大学	衛生微生物部	4.10.8	5.3.31	男	
小島佳奈	昭和女子大学	食品部	4.10.19		女	
丸川英子	相模女子大学	生薬部	4.10.15	5.3.31	女	
金井理江	相模女子大学	生薬部	4.10.15	5.3.31	女	
太田まり子	昭和女子大学	衛生微生物部	5.1.4		女	
山田智恵子	昭和女子大学	食品添加物部	5.2.1		女	
川村さと	昭和女子大学	毒性部	5.2.1		女	
高橋理恵	昭和女子大学	毒性部	5.2.1		女	
春山展之	北里大学衛生学部	療品部	5.3.1		男	
野島郁子	大阪薬科大学	支所薬品試験部	4.10.1	4.12.18	女	
後藤真理	大阪薬科大学	支所薬品試験部	4.10.1	4.12.18	女	
向井登美	大阪薬科大学	支所薬品試験部	4.10.1	4.12.18	女	
河島三幸	大阪薬科大学	支所食品試験部	4.10.1	4.12.18	女	
晒由香子	大阪薬科大学	支所食品試験部	4.10.1	4.12.18	女	
二村聡美	大阪薬科大学	支所食品試験部	4.10.1	4.12.18	女	
船山晴世	大阪薬科大学	支所生物試験部	4.10.1	4.12.18	女	
前田由加里	大阪薬科大学	支所生物試験部	4.10.1	4.12.18	女	

Aoyagi, N., Ogata, H.*¹, Kaniwa, N., Uchiyama, M., Yasuda, Y.*², and Tanioka, Y.*²: **Gastric emptying of tablets and granules in humans, dogs, pigs, and stomach-emptying controlled rabbits**

J. Pharm. Sci., 81, 1170~1174 (1992)

錠剤および顆粒の胃排出速度のヒト、動物間の相違を明らかにすべく、非崩壊性の製剤を調製し測定を行った。絶食条件下での胃排出速度は、両製剤共、ヒトに比べミニブタ、胃排出調整家兎で遅く、ビーグル犬ではやや速い傾向を示した。家兎では顆粒の胃排出速度の変動が大きく、また錠剤は径が大き過ぎて幽門部を通過しないことが判明した。食餌は錠剤および顆粒の胃排出速度を遅延させたが、その効果はビーグル犬に錠剤を投与したとき顕著で、24時間後においても半数以上の錠剤は胃内に残存していた。したがって、ビーグル犬は食後の錠剤の投与試験には不適である。しかし、絶食時における製剤の投与試験には、3種の動物の中でビーグル犬が最も適切なモデル動物と思われる。

Keywords : gastric emptying, tablet, granule

*¹ 明治薬科大学

*² 勸業動物中央研究所

Sugito, K.*¹, Ogata, H.*¹, Goto, H.*¹, Kaniwa, N., Takahata, H.*² and Samejima, M.*²: **Gastric Emptying Rate of Preparations. III. Effects of Size of Enteric Micro-Capsules with Mean Diameters Ranging from 0.1 to 1.1 mm in Man**

Chem. Pharm. Bull., 40, 3343~3345 (1992)

リン酸ピリドキサルをマーカー薬品として含む、直径0.1, 0.5および1.1 mmの腸溶性マイクロカプセルを調整した。これらを用いて、5人の被験者を対象として、製剤の胃内容排出速度の検討を行った。胃内容排出時間は、リン酸ピリドキサールの代謝物であるピリドキシン酸の V_{max} (ピーク排出速度) および t_{max} (ピーク排出時間) から判定した。空腹時の服用では、直径0.1 mmのマイクロカプセルの t_{max} が他のマイクロカプセルに比較し有意に小さく、最も速く胃から排出された。食後投与では、空腹時投与に比較してすべてのマイクロカプセルの胃内容排出時間が遅くなった。また、食後投与における胃内容排出時間は、マイクロカプセルの直径に関わらず、ほぼ同じ程度であった。

Keywords : gastric emptying rate, effect of size, effect of food

*¹ 明治薬科大学

*² 田辺製薬製品研究所

Yoshioka, S., Aso, Y. and Terao, T.: **Effect of Water Mobility on Drug Hydrolysis Rates in Gels.**

Pharm. Res., 9, 607~612 (1992)

ゼラチンゲル中の薬物の安定性とゲル中に存在する水分子の運動性の関係を検討した。1次反応で分解するトリクロルメチアジドの分解速度は、誘電緩和スペクトル法で測定した運動性の高い自由水の量に比例した。一方、カナマイシンに触媒されて2次反応で分解するフロモキシセフの分解速度は、NMRおよびESRで測定されるゲルのマイクロ粘度に依存し、水分子の運動性が薬物の安定性に及ぼす影響は薬物の分解機構に依存することが明らかになった。

Keywords : stability, mobility, gelatin

Yoshioka, S., Aso, Y., Izutsu, K., and Terao, T.: **Stability of β -Galactosidase, a Model Protein drug, is Related to Water Mobility as Measured by ^{17}O -NMR.**

Pharm. Res., 10, 103~108 (1993)

タンパク質の凍結乾燥品の保存安定性に及ぼす水分の影響を β -galactosidase (β -GA)を用いて検討した。リン酸緩衝液から凍結乾燥した β -GAは水分含量の増大とともに失活の速度が増大したが、これは水分含量の増加に伴うpHの上昇および水分子の運動性の増大によることが、 ^{17}O -NMRによって測定した水分子の緩和時間 T_1 との関係から明らかになった。

Keywords : β -galactosidase, ^{17}O -NMR, stability

Izutsu, K., Yoshioka S., Terao T.: **Stabilization of β -galactosidase by amphiphilic additives during freeze-drying**

Int. J. Pharm., 90, 187~194 (1993)

タンパク質の凍結乾燥時に起こる失活に対する非イオン性界面活性剤等の両親媒性物質の影響を、*A. oryzae*由来 β -ガラクトシダーゼをモデルとして検討した。失活した試料では酵素の凝集がみられ、ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン等の凍結前の添加により活性は保持された。安定化に必要な濃度は一般に用いられる糖類などと比べかなり低く、作用メカニズムが異なることが示唆された。

Keywords : freeze-drying, stabilization

Toyo'oka, T., Ishibashi, M., and Terao, T.: **Resolution of Carboxylic Acid Enantiomers by High-performance Liquid Chromatography with Highly Sensitive Laser-induced Fluorescence Detection**

J. Chromatogr., 625, 357~361 (1992)

レーザー蛍光HPLC法によるカルボン酸光学異性体の超高感度分離分析について検討した。検出限界の比較からキラル誘導体化試薬としては、NBD-APy>DBD-APy>ABD-APyの順に優れていることが明らかとなった。

Keywords : laser-induced fluorescence, enantiomers, HPLC

Toyo'oka, T., Ishibashi, M., Terao, T., and Imai, K.*: **Sensitive Fluorometric Detection of Prostaglandins by High Performance Liquid Chromatography after Precolumn Labelling with 4-(N,N-Dimethylaminosulphonyl)-7-(1-piperazinyl)-2,1,3-benzoxadiazole (DBD-PZ)**

Biomed. Chromatogr., **6**, 143~148 (1992)

HPLC-蛍光検出法によるプロスタグランジン類 (PGs) の高感度選択的測定法を検討した。PGs は 2,2'-dipyridyl disulfide と triphenyl phosphine 存在下、著者らが開発した蛍光標識試薬 DBD-PZ により室温、約 30 分で蛍光誘導体化された。これら標識 PGs (6-keto-F1 α , F1 α , F2 α , E1, E2, D2, limaprost, A1, B1) は逆相カラムにより約 45 分で完全に分離され、検出限界は、1.7~5.0 fmol と高感度であった。本法によりラット血しょう中の PGs の測定を検討した。

Keywords : fluorescence analysis, prostaglandin, HPLC

* 東京大学医学部附属病院分院

Toyo'oka, T., Chokshi, H. P.*, Carlson, R. G.*, Givens, R. S.*, and Lunte, S. M.*: **Oxazole-based Tagging Reagents for Analysis of Secondary Amines and Thiols Using High-performance Liquid Chromatography**

Analyst, **118**, 257~263 (1993)

アミンおよびチオール化合物分析用として 3 種の蛍光標識試薬 (DICLOX, DIFOX, SAOX-Cl) を新規合成した。DIOX-アミンおよび SAOX-アミンの蛍光波長は、それぞれ 420 nm (励起波長 320 nm), 485 nm (励起波長 360 nm) であった。一方チオールでは、それぞれ 390 nm (励起波長 310 nm), 425 nm (励起波長 330 nm) であった。蛍光誘導体は安定であり、60°2 時間加熱後の分解量は 5% 以内であった。反応性は、DIFOX > SAOX-Cl > DICLOX の順であった。SAOX-Cl はチオールに特に有効であり、HPLC 分離後の検出限界は、1~2 fmol と良好であった。また DIFOX は、2 級アミン分析に適しており、検出限界は 4~28 fmol であった。

Keywords : fluorescence analysis, amines, thiols

* University of Kansas, U.S.A.

Toyo'oka, T., Ishibashi, M., and Terao, T. *: **Resolution of Carboxylic Acid Enantiomers by High-performance Liquid Chromatography with Peroxyoxalate Chemiluminescence Detection**

J. Chromatogr., **627**, 75~86 (1992)

過シュウ酸化学発光法 (PO-CL) によるカルボン酸光学異性体の超高感度分離分析について検討した。PO-CL 反応は、化学発光試薬の種類と濃度、反応 pH、反応時間等により影響をうけた。キラル誘導体化試薬 (NBD-APy, DBD-APy, ABD-APy の *d*-体および *l*-体) により生成したジアステレオマーは、PO-CL により高感度検出が可能となり、ナプロキセンの場合の検出限界は、発光試薬として TCPO を用いた時、0.7~29 fmol であった。一方 TDPO の場合は 0.5~15 fmol であった。またキラル誘導体試薬としては、DBD-APy > ABD-APy > NBD-APy の順に優れていた。確立した方法を人尿、ラット血しょう中イブプロフェン光学異性体の高感度分離分析に応用した。

Keywords : chiral derivatization, chemiluminescence, drug analysis

Nakahara, Y., Takahashi, K. Shimamine, M. Saitoh, A.*: **Hair Analysis For Drugs of Abuse IV. Determination of Total Morphine and Identification of 6-Acetylmorphine in Hair**

Arch. Toxicol., **66**, 669~674 (1992)

毛髪中のトータルモルヒネの濃度を正確に分析する方法を重水素標識のモルヒネを内部標準として GC/MS-SIM により確立した。10% 塩酸で 1 時間加熱により、毛髪中のモルヒネを定量的に抽出する方法を見出した。検量線は 0.5~100 ng/mg の範囲で良好な直線性を示した。サルに 1 日 1 回 10 日間、10 mg/kg のモルヒネおよび 2.5 mg/kg のヘロインを筋肉注射し、10 週後に新たに生育した背部の毛を採取して、測定した。その結果、毛髪中のトータルモルヒネは 2~6 ng/mg の濃度範囲で検出した。ヘロイン投与の毛髪中モルヒネ濃度はモルヒネ投与のそれに比べ 6 倍以上の高い値を示した。同時にヘロイン使用のマーカとなる 6-アセチルモルヒネも検出・確認した。本法をヘロイン乱用者の毛髪に適用し、1 年以上にわたるヘロイン乱用歴を明らかにした。

Keywords : hair analysis, morphine, diacetylmorphine

* 神奈川県立せりがや園

Usagawa T.*¹, Itoh Y.*¹, Hifumi E.*¹, Takeyasu A.*¹, Nakahara Y., Uda T.*²: **Characterization of morphine-specific monoclonal antibodies showing minimal cross-reactivity with codeine.**

J. Immun. Methods, 157, 143~148 (1993)

N-(4-aminobutyl)normorphine を合成して、ハブテンとし、ヒト γ -globulin との conjugate とマウスのハイブリドーマ細胞との培養液のマウス連続投与によりモルヒネに対する 6 種のモノクローナル抗体を得た。ほとんどの抗体は 3 位と 6 位の置換基を識別し、codeine, morphine-3-glucronide, morphine-6-glucronide および 14 種の麻薬関連化合物との交差反応性は 1000 分の 1 から 100000 分の 1 であった。最も特異性の高いモノクローナル抗体を用いて alkaline phosphatase を用いる enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を確立し、血液中のモルヒネの定量法を検討し、最低 100 pg/ml までのモルヒネを特異的に検出する方法を開発した。

Keywords : morphine, monoclonal antibody, immunoassay

*¹ 宇部興産

*² 広島県立大学

Hayakawa, T., Wada, M.*¹, Mizuno, K.*², Abe, S.*², Miyashita, M.*³ and Ueda, M.*⁴: **In vivo biological Activities of recombinant human erythropoietin analogues produced by CHO cells, BHK cells and C127 cells**

Biologicals, 20, 253~257 (1992)

医薬品として承認済みあるいは開発中の CHO 細胞由来の組換えヒトエリスロポエチン (rEPO) 2 種、BHK 細胞由来の rEPO、マウス C127 細胞由来の rEPO は、それぞれ独自の自家標準品と *in vivo* bioassay 法でその生物活性 (単位) が定められていた。品質評価上これらの関係づけが必須課題であったので、前報で開発した新規 bioassay 法を統一試験法として各 rEPO 製品の活性を複数の研究所間の共同検定方式で測定し、比較した。その結果、各製品の表示単位を基にし、かつ、ある任意の製品の活性を仮に 1.00 としたときの相対活性は、1.00 : 1.02 : 1.19 : 1.21 を示した。これにより、それぞれ独自に定められていた各製品の力価は等価であることが判明した。同時に、新規アッセイ法はいずれの rEPO への応答性においても、既存のいずれの *in vivo* 法との関連性においても共通に適用できる標準的試験法であることが確認された。

Keywords : erythropoietin, *in vivo* bioassay, *in vivo* biological activity

*¹ キリンビール(株)

*² 中外製薬(株)

*³ 東洋紡(株)

*⁴ 雪印乳業(株)

Hayakawa, T., Wada, M.*¹, Mizuno, K.*², Abe, S.*², Miyashita, M.*³ and Ueda, M.*⁴: **Simple *in vivo* bioassay without radioisotopes for recombinant human erythropoietins**

Biologicals, 20, 243~251 (1992)

組換えヒトエリスロポエチン (rEPO) 類の品質管理試験に適した簡便な *in vivo* bioassay 法を開発した。アッセイは 4 日で終了し、従来法のように試験動物に対する特殊な前処理や放射性同位元素の使用を必要としない。EPO 活性は、投与 rEPO に特異的かつ用量依存的に増加するある種の網状赤血球を計数することにより測定する。この網状赤血球は大部分未熟な網状赤血球であり、EPO 投与動物の血液を溶血剤処理した際、残存する血球として測定される。この溶血剤抵抗性赤血球系細胞は、半自動血球計数装置で測定することができる。本測定法は簡便で操作性がよく、その感度、精度、再現性もルーチンの *in vivo* bioassay 法としては充分満足できるものであり、経済性にも優れているところから、rEPO 類に関する既存のバイオアッセイ法に替わるべきものである。

Keywords : erythropoietin, *in vivo* bioassay, quality control

*¹ キリンビール(株)

*² 中外製薬(株)

*³ 東洋紡(株)

*⁴ 雪印乳業(株)

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 2)、細胞の無菌試験、ウイルス試験、目的産物の分離・精製方法について。

医薬品研究, 23 (5), 519~532 (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、現時点迄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。本報では、①細胞における細菌、マイコプラズマ、真菌の混入否定試験②マスター・セル・バンク、医薬品製造条件を超えて培養された細胞など各細胞段階別のウイルス試験実施要領③ウイルスが検出された細胞の取り扱い④不純タンパク質の除去状況に関する試験⑤ DNA の除去状況に関する試験⑥バルクハーベストレベルでのウイルスその他微生物混入否定試験⑦細胞レベルおよびバルクハーベストレベルでのウイルス試験結果に対するプロセスバリデーションおよび目的産物レベルでの対応⑧プロセスバリデーションの限界⑨製造方法の明確化と一定性を重視する要因・理由などを明らかにした。

Keywords : cell culture technology-derived drugs, control of cell lines, viral validation

Morimoto, K., Takahashi, T., Okudaira, K., Iio, T.*, Saito, Y.* and Takahashi, A.: **Dose-response study on covalent binding to forestomach protein from male F344 rats following oral administration of [¹⁴C]3-BHA**

Carcinogenesis, **13**, 1663~1666 (1992)

発癌標的臓器である前胃における BHA の活性代謝物の生成の用量-反応評価を行う目的で 3-Tert-[methyl-¹⁴C]Butyl-4-hydroxyanisole ([¹⁴C]3-BHA) を雄性 F344 ラットに経口投与し、タンパク質への共有結合量を指標として調べた。BHA の 0.01~0.1% 投与では結合量は低いが、1%と2%ではその結合量が急激に増大した。この共有結合量の用量-反応関係と先に報告されている乳頭腫の頻度とは良好な相関を示した。また前胃と非標的臓器である腺胃における共有結合性を比較すると、0.1% BHA を経口投与すると前胃の方が腺胃に比して約 8 倍高い結合を示したが、一方静注にて前胃、腺胃の共有結合性を比較すると両臓器間にはほとんど差異は認められなかった。したがって BHA が前胃に癌を誘発するのは、1%や2%のような高用量の BHA を経口投与すると前胃で相当量の活性代謝物が生成することが原因であることが示唆された。

Keywords: butylated hydroxyanisole, covalent binding, forestomach protein

* 昭和薬科大学

Kaniwa, M.-A., Momma J., Ikarashi Y., Kojima S., Nakamura A., Nakaji Y., Kurokawa Y., Kantoh H.* and Itoh M.*: **A method for identifying causative chemicals of allergic contact dermatitis using a combination of chemical analysis and patch testing in patients and animal groups: application to a case of rubber boot dermatitis**

Contact Dermatitis, **27**, 166~173 (1992)

アレルギー性接触皮膚炎の原因究明は従来患者でのパッチテストを中心に行われてきた。著者らは、患者でのパッチテストだけでなく、化学分析により原因製品中の原因化学物質を確認することにより、原因製品-原因化学物質の関連を明らかにしてきた。さらに、患者に代えて、原因製品の抽出物で感作させたモルモットを用いることにより、患者の負担を軽減できるとともに、原因化学物質についてより詳細で、しかも正確な情報を得ることができていることを、ゴム長靴の事例の検討を通して、明らかにした。

Keywords: causative chemical investigation, chemical analysis, patch testing in patient and animal group

* 東邦大学医学部付属病院

Ozaki, Y.: **Antiinflammatory Effect of Tetramethylpyrazine and Ferulic Acid.**

Chem. Pharm. Bull., **40**, 954~956 (1992)

中国産川芎に含まれる tetramethylpyrazine および日本と中国産当帰に含まれる ferulic acid は、経口投与でラットでのカラゲニン誘発浮腫を抑制し、綿球法での肉芽組織の形成を抑制した。また、マウスでの酢酸誘発色素透過性充進を抑制し、酢酸誘発 writhing の発現をも抑制した。これらのことから、両化合物は、抗炎症作用および鎮痛作用を示すことが明らかにされた。

Keywords: Antiinflammatory effect, tetramethylpyrazine, ferulic acid.

尾崎幸紘, 鈴木英世, 佐竹元吉: **オウレンエキス又は組織培養オウレンエキスおよび甘草エキスとの併用経口投与後の血漿中ベルベリン濃度の比較検討.**

薬誌, **113**, 63~69 (1993)

組織培養オウレンを医薬品として利用するために天然産オウレンとの生物学的同等性を比較検討した。両エキスの経口投与後の血漿中ベルベリン濃度は、ほぼ等しい T_{max} 値, C_{max} 値および AUC 24 h 値を示し、両者はほぼ同等であることが示された。また、これらパラメーター値は甘草エキスを併用しても両者の間には差が認められなかった。

Keywords: *Coptidis Rhizoma*, cultured cell, bioequivalence.

Arisu, K.*¹, Hayakawa, R.*¹, Ogino, Y.*¹, Matsunaga, K.*² and Kaniwa, M.: **Tinuvin P in a spandex tape as a cause of clothing dermatitis**

Contact Dermatitis, **26**, 311~316 (1992)

袖なしシャツによるアレルギー性接触皮膚炎において、シャツの袖部分の補強のために使用されたスパンデックステープ(ポリウレタン)が原因であり、そのテープ中に配合された紫外線吸収剤 Tinuvin P, 2-(2-hydroxy-5-methylphenyl)benzotriazole が原因化学物質であったことを明らかにした。Tinuvin P は、かつて色素沈着性接触皮膚炎を引き起こしたことから、現在では、化粧品には使用されておらず、プラスチック用に主に使用されている。しかし、今回のように、衣類などに皮膚に直接接触するようなかたちで使用すると、Tinuvin P は接触皮膚炎を引き起こしうることを明らかにした。

Keywords: allergic contact dermatitis, spandex tape, Tinuvin P

*¹ 名古屋大学医学部付属病院分院

*² 藤田保健衛生大学医学部付属病院

Okuyama, E.*, Nishimura, S.*, Ohmori, S.*, Ozaki, Y., Satake, M. and Yamazaki, M.*: **Analgesic Component of Notopterygium incisum Ting.**

Chem. Pharm. Bull., **41**, 926~929 (1993)

羌活に含有される成分の薬理作用を検討した。成分中で notopterol は経口投与によりマウスでのメタンフェタミン誘発運動量亢進の抑制、酢酸誘発 writhing の発現の抑制および酢酸誘発色素透過性亢進の抑制作用が認められ、本化合物には中枢抑制作用、鎮痛作用および抗炎症作用があることが示された。

Keywords : Notopterygium incisum, analgesic effect, notopterol.

* 千葉大学薬学部

長田知子*, 野田浩子*, 松永佳世子*, 稲坂 博*, 上田 宏*, 鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠: **ゴム手袋と消毒薬によるアレルギー性接触皮膚炎の1例**

皮膚科の臨床, **35**, 395~402 (1993)

看護婦が手の皮膚炎を生じた事例において、仕事上使用していた消毒薬、手術用ゴム手袋が原因であり、ゴム手袋中の zinc dimethyldithiocarbamate が原因化学物質の一つであったことを確認した。

Keywords : allergic contact dermatitis, rubber glove, dithiocarbamate-type accelerator

* 藤田保健衛生大学医学部付属病院

生野麻美子*, 鹿庭正昭, 化粧品工業連合会色素専門部会: **赤色 202 号による接触皮膚炎**

皮膚, **34**(増刊第 14 号), 203~208 (1992)

口紅によるアレルギー性接触皮膚炎において、配合されていた赤色 202 号 (赤色 201 号のカルシウム塩:有機溶媒に不溶の顔料) が原因とわかった。さらに、赤色 202 号をメタノール抽出して、メタノール可溶部と不溶部に分離し、各々をパッチテストしたところ、患者はメタノール可溶部のみに陽性反応を示した。そこで、メタノール可溶部について、高速液体クロマトグラフィーにより分析した結果、複数の赤色副色素が含まれていた。赤色 202 号の合成原料、および合成した主な副色素についてパッチテストしたところ、赤色 202 号の free acid (赤色 201 号の free acid と同じ化合物) が原因化学物質となっていたことを明らかにした。

Keywords : allergic contact cheilitis, lipstick, Lithol Rubine BCA

* 済生会川口総合病院

丸山隆児*, 生野麻美子*, 鹿庭正昭: **m-xylylenediamine (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**

皮膚, **34**(増刊第 14 号), 224~232 (1992)

道路舗装や床材塗装の際に使用されたエポキシ樹脂系塗料によるアレルギー性接触皮膚炎事例 2 例を検討した。化学分析と患者でのパッチテストより、2 例とも、エポキシ樹脂の硬化剤として配合された m-xylylenediamine が原因となっていたことを明らかにできた。また、1 例では、エポキシ樹脂の主剤にも感作されていた。塗装作業中に、塗料が直接皮膚に付着した場合だけでなく、加熱などにより塗料から発生したガス中に含まれる化学物質との接触 (皮膚への吸着あるいは吸入) によっても、感作される可能性を考える必要があることが示唆された。

Keywords : allergic contact dermatitis, epoxy resin hardener, m-xylylenediamine

* 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**

皮膚, **34**(増刊第 14 号), 222 (1992)

女子中学生がズック靴で足の皮膚炎を生じた事例について、加硫促進剤の 2-mercaptobenzothiazole, dibenzothiazyl disulfide が原因化学物質となっていたことを明らかにした。

Keywords : allergic contact dermatitis, canvas shoes, mercaptobenzothiazole-type accelerator

*¹ 川崎医科大学付属川崎病院

*² 岡山市

請井智香子*¹, 早川律子*¹, 鈴木真理*¹, 荻野泰子*¹, 有巢加余子*¹, 松永佳世子*², 鹿庭正昭: **家庭用品による皮膚障害**

皮膚, **34**(増刊第 14 号), 244~250 (1992)

家庭用品による皮膚障害患者 66 例についてまとめた。製品別では、身の回り品 (特に装飾品)、家庭用化学製品、衣料品などが主であった。

Keywords : allergic contact dermatitis, household product, causative chemical investigation

*¹ 名古屋大学医学部付属病院分院

*² 藤田保健衛生大学医学部付属病院

Isama, K., Kojima, S. and Nakamura, A.: **Phase studies of a urethane model compound and polyether macroglycols by infrared spectroscopy and the relationship between eutectic composition of soft segment and blood compatibility**

J. Biomed. Mater. Res., **27**, 539~545 (1993)

ウレタンモデル化合物である 4,4'-diphenylmethanediurethane と PEO, PTMO 又は PPO との混合物について IR 法で共融組成を検討した。さらに DSC, IR および X 線回折法によるモデル混合物とポリウレタン (PU) との比較から、モデル混合物の共融組成がセグメント化 PU のソフトセグメントにも適用できることを判明した。セグメント化 PU の構成マクログリコールの分子量と血液適合性との関係をソフトセグメントの共融組成から説明した。

Keywords : 4,4'- diphenylmethanediurethane, infrared spectroscopy, drgmented polyurethane

Tsuchiya, T., Ikarashi, Y. and Nakamura, A.: **Methods for evaluating teratogenic activities of chemicals and serum fluids using micromass culture system**

ATTEX, **1**, 165~171 (1992)

マイクロマスカルチャー法を用いて化学物質および血清中の催奇形性活性について測定した。さらに、抗菌剤であるチアベンダゾール (TBZ) の催奇形作用機構について胚芽の器官培養系を用いて検討した。H₂SO₄ を用いて軟骨基質への取り込み実験を行った結果、1000 mg/kg の TBZ を投与したマウス胎仔の胚芽器官において、35 SO 42-のとりこみはコントロールの 25% にまで減少していることが明らかになった。さらに、胚芽中の 35 S-APS, 35 S-PAPS, 35 S-chondroitin について電気泳動を用いて分析した結果、いずれもコントロールの 27~53% にまで減少している事が判明した。これらの一連の減少作用は TBZ による ATP の減少作用に起因していることを明らかにした。

Keywords : teratogenic activity, micromass culture, thiabendazole

Tsuchiya, T., Ikarashi, Y., Toyoda, K., Uchima, T.*¹, Miyahara, T.*², Takahashi, M. and Nakamura, A.: **Toxicological evaluation for bio-materials: Examinations of radiation vulcanized natural rubber latex**

Radiat. Phys. Chem. **39**, 541~545 (1992)

放射線加硫ゴム (RVNRL) の毒性評価を行うために、細胞毒性試験、ウサギ筋肉内短期埋植試験および溶血性試験を行った。RVNRL から調製された抽出液について、コロニー法による細胞毒性試験を行った結果、弱い細胞毒性が検出された。また RVNRL のウサギ筋肉内に埋植試験を行うと早期に弱い組織炎症反応が認められた。さらに、溶血性を調べた結果、RVNRL の抽出液に溶血作用が認められ、メトヘモグロビン形成も明らかになった。以上の結果より、放射線加硫ゴムは、加硫促進剤含有ゴムの場合に比べて、細胞毒性や組織炎症作用は弱い事が明らかになった。しかし、放射線加硫ゴム中には、溶血作用を示す弱い毒性作用物質が存在している事が明らかになった。

Keywords : radiation vulcanized natural rubber latex, hemolytic activity, cytotoxicity

*¹ 財民生科学協会

*² 神奈川県衛生研究所

安田 学*¹, 早川律子*², 荻野泰子*², 有巢加子*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**

皮膚, **34**(増刊第 14 号), 337 (1992)

70 歳の男性が 30 年間使用してきた機械油で色素沈着を生じた事例。機械油を薄層クロマトグラフィーにより分画したところ、一つの分画のみに陽性反応を示した。

Keywords : allergic contact dermatitis, machine oil, pigmentation

*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

Tsuchiya, T., Eto, K.*¹, Burgin, H.*² and Kistler, A.*²: **Micromass culture of midbrain cells and its relevance to *in vitro* mechanistic studies**

Cong. Anom., **32**, 105~116 (1992)

胎仔の中脳の分化培養法を用いて催奇形性作用機構や種差の原因究明に応用した例を報告し、細胞培養法の有用性について論じた。

Keywords : midbrain, embryoletality, teratogenicity

*¹ 東京医科歯科大学歯学部

*² ロッシュ研究所, スイス

Ikarashi, Y., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Detection of contact sensitivity of metal salts using the murine local lymph node assay**

Toxicol. Lett., **62**, 53~61 (1992)

従来検出が困難であった金属塩の接触感作性について Local lymph node assay (LLNA) で検討した。金属塩のジメチルスルホキシドまたはエタノール溶液を、ある実験では耳を傷つけた後、塗布して、リンパ節細胞の増殖能を測定した。7種の金属塩について試験した結果、ニッケル、コバルト、クロムおよび銅塩はリンパ節細胞の増殖を促進させたが、亜鉛、マグネシウムおよび鉄塩はリンパ節細胞の増殖を引き起こすことはできなかった。

Keywords: detection, local lymph node assay, metal allergen

Shintani, H: **Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic analysis of a toxic compound from gamma ray-irradiated polyurethane**

J. Chromatogr., **600**, 93~97 (1992)

医療用ポリウレタンに滅菌の目的でガンマ線照射した際、生成する発癌性を有するメチレンジアニリンの生成の分析法、特に固相抽出法について様々な固相を比較検討した結果を報告した。定量値ならびにその溶出濃度でのリスクファクターについても言及した。

Keywords: methylenedianiline, gamma-ray irradiation, solid phase extraction

Ikarashi, Y., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Comparison of three in vitro assays to determine the ocular toxicity of detergent, oil, and organic solvents**

J. Toxicol. -Cut. & Ocular Toxicol., **12**, 15~24 (1993)

39種類の化学物質の細胞毒性を V79 細胞、初代ウサギ角膜 (RC) 細胞、正常ヒト表皮角化細胞 (NHEK) を用いたニュートラルレッド法によって検討した。カチオン性界面活性剤は最も強い毒性を示し、油剤などの毒性は弱かった。NHEK 細胞は他の細胞種に比べ感度が高かった。いずれの細胞種においても、細胞毒性試験の結果 (IC₅₀ 値) は Draize 眼刺激性試験の結果 (DS₂₀ 値) とよい相関関係が認められた。

Keywords: cytotoxicity, V79 cell, eye irritancy

Shintani, H: **Solid-phase extraction and reverse phase HPLC analysis of a potential carcinogen, 4, 4'-methylenedianiline, in serum**

J. Pharmacobio-Dyn., **14**, s~100 (1991)

医療用ポリウレタンに滅菌の目的でガンマ線照射した際、生成する発癌性を有するメチレンジアニリン (MDA) の分析における固相抽出法において C-18 (ODS) カラムを用い、種々の溶離液を用いて比較検討した。MDA は塩基性ゆえ、酸性有機溶媒の方が優れていると思われるが、実験の結果、塩基性有機溶媒の方が優れている事がわかった。

Keywords: methylenedianiline, eluate, solid phase extraction

Ikarashi, Y., Ohno, K., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Differences of draining lymph node cell proliferation among mice, rats and guinea pigs following exposure to metal allergens**

Toxicology, **76**, 283~292 (1992)

NiSO₄, K₂Cr₂O₇, CoCl₂ の接触感作性を CBA/N マウス, F344 ラット, Hartley モルモットを用いた Local lymph node assay (LLNA) で検討した。ラットはクロムに対して最も高いリンパ球増殖反応を示し、マウスはコバルトに対して最も高い反応を示した。いずれの動物種ともニッケルへの反応は弱かった。金属塩の塗布でリンパ節重量、リンパ節細胞数とも増加したが、リンパ球増殖反応に比べると感度は悪かった。モルモットのリンパ節の大きさに関しては個体差が大きかった。それぞれの動物種のリンパ球を同種、異種血清又は無血清で培養したが、それぞれの条件で増殖率には差はなかった。LLNA はマウスだけでなくラットにも適用できる可能性が示された。

Keywords: contact sensitization, local lymph node assay, metal allergy

Ikarashi, Y., Tsuchiya, T. and Nakamura, A.: **Evaluation of contact sensitivity of rubber chemicals using the murine local lymph node assay**

Contact Dermatitis, **28**, 77~80 (1993)

4種のゴム添加剤 tetramethylene disulfide (TM-TD), 2-mercaptobenzothiazole (MBT), N-isopropyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (IPPD) および zinc diethyldithiocarbamate (ZDEC) の感作性を murine local lymph node assay によって評価した。溶媒処理群に対して2倍のリンパ球増殖反応を引き起こす各物質の濃度を求め、これをそれぞれの感作強度として比較した。IPPD, TMTD, MBT および ZDEC のそれぞれの値は 0.14%, 0.35%, 4.2%, >10%であった。

Keywords: contact sensitization, rubber chemical, local lymph node assay

Shintani, H: **Gamma-radiation and autoclave sterilization of thermoplastic and thermosetting polyurethane**

J. Rad. Steril., **1**, 11~28 (1992)

熱可塑性ポリウレタンならびに熱硬化性ポリウレタンに滅菌の目的でガンマ線照射または高圧蒸気滅菌した場合の発癌性を有するメチレンジアニリンの生成量の差ならびに、滅菌後のポリウレタンの形態変化からどちらの滅菌法がより有利か検討した。高分子が高圧蒸気滅菌に耐性ならば、高圧蒸気滅菌の方が有望である。

Keywords: methylenedianiline, gamma-ray irradiation sterilization, autoclave sterilization

Shintani, H: Solid-phase extraction and HPLC analysis of toxic components eluted from methyl methacrylate dental materials

J. Anal. Toxicol., 17, 73~77 (1993)

歯科材料に用いられる毒性を有するポリメチルメタクリレート中のモノマーであるメチルメタクリレートの血液中への溶出のタイムコース、高速液体クロマトグラフィー分析法、ならびに固相抽出法について検討した。固相抽出法での溶離液の選択について詳しく検討した。

Keywords: methyl methacrylate, dental material, solid phase extraction

Hayashi, Y. and Rutan, S. C.*: Accuracy, Precision and Information of the Adaptive Kalman Filter in Chromatography

Anal. Chim. Acta, 271, 91~100 (1993)

adaptive Kalman filterは通常の線形カルマンフィルターの変形であり、線形モデルが得られない妨害ピークの目的ピークからの分離に定量に適用可能である。この論文では、adaptive Kalman filterの精度を情報量FUMIに基づいて計算した。目的ピークと妨害ピークの重なり具合いとadaptive Kalman filterから得られる定量値の精度の関係をコンピュータシミュレーションを用いて示した。

Keywords: Kalman filter, information theory, FUMI

* Virginia Commonwealth University

亀谷勝昭, 松村年郎, 内藤光博*: 陸水中のヨウ化物イオンとヨウ素酸イオンの陰イオン交換樹脂による分離とその定量

分析化学, 41, 337~341 (1992)

ロイコクリスタルバイオレット法を応用した雨水、河川水、水道水中のヨウ化物イオンおよびヨウ素酸イオンの分離定量法を検討した。ヨウ化物イオンは、陰イオン交換樹脂に吸着させ、アルカリ性過マンガン酸カリウム溶液でヨウ素イオンとして分離定量した。ヨウ素イオンは亜硫酸でヨウ化物イオンに還元し、もともと存在するヨウ化物イオンと併せて定量し、この合計量からヨウ化物イオンの値を差し引いて定量した。本法を雨水、河川水、水道水中のヨウ化物イオンおよびヨウ素酸イオンの定量に適用した。その結果、雨水、河川水、水道水にはヨウ化物イオンおよびヨウ素酸イオンを含むが、特に水道水のヨウ素は、ほとんど全てがヨウ素酸イオンとして存在していることを明らかにした。このことは日本の水道水が塩素による殺菌処理を受けているため、この塩素でヨウ化物イオンがヨウ素酸イオンまで酸化されたものと考えられた。

Keywords: separation of iodide and iodate, colorimetric determination, river and top water samples.

* 東芝マテリアルエンジニアリング(株)

松村年郎, 石原久義*1, 村松 学*2, 小嶋茂雄: パラジクロロベンゼンのモニタリング法の検討と本法を用いたパラジクロロベンゼンの室内および個人暴露量の測定結果について

空気清浄, 30, 158~165 (1992)

Tenax GCを捕集剤としたアクティブサンプラー法について、脱着時間、過破容量、採気流量の安定性、定量に及ぼす湿度の影響、試料の保存、比較測定等の基礎的検討を行い、その実用性を明らかにした。さらに、本法を居住内や個人暴露量の測定に適用した。その結果、一般居住内のパラジクロロベンゼン(P-DCB)の濃度は0.007~0.990 ppm(29検体の平均で0.181 ppm)の範囲、一方、個人暴露濃度は0.007~0.545 ppm(17検体の平均で0.078 ppm)の範囲を示していた。個人暴露濃度を重量を単位とした暴露量に換算してみると、平均で成人の場合は10 mg/day、最高で67 mg/dayのP-DCBを吸入を通して体内に取り込んでいることが明らかとなった。また、P-DCBは室内濃度が高いことから、同一住居内に居住する家族の場合、在宅時間の多い主婦が暴露量が高く、かつ、暴露量は室内濃度と高い相関のあることが明らかとなった。

Keywords: monitoring method and measurement result, p-dichlorobenzene, indoor air.

*1 テイサン(株)

*2 東京都杉並西保健所

村松 学*1, 岡本繁雄*2, 松村年郎: 室内空気汚染に関する研究, NO₂とHCHOの室内濃度と学童の個人暴露量について

大気汚染学会誌, 27, 314~324 (1992)

学校環境衛生の実態把握を目的として、東京都内の学校(小・中・高、計6校)の教室において、温熱条件(温度、湿度、気流)、空気清浄度(CO, CO₂, dust, NO, NO₂, HCHO)、個人暴露量(NO₂, HCHO)等の実態調査を行った。得られた結果は学校環境衛生基準改訂の基礎資料として利用された。

Keywords: school room, NO₂, HCHO.

*1 東京都杉並西保健所

*2 東京都教育庁

松村年郎, 川田 浩*1, 長田英二*2, 村松 学*3, 関田 寛, 小嶋茂雄: 揮発性有機化合物のパッシブサンプラーの開発と個人暴露量測定への適用

空気清浄, 30, 482~489 (1993)

拡散層兼捕集剤の容器として、四フッ化エチレン樹脂製のチューブ、捕集剤としてTenax GCを用いたパッシブサンプラーを開発した。このサンプラーについて比例定数の算出、環境因子の影響、理論的考察等の基礎的検討を行い、その実用性を明らかにした。

Keywords: passive sampler, p-dichlorobenzene, air.

*1 モルテン(株)

*2 電気化学計器(株)

*3 東京都杉並西保健所

Sasaki, K., Kijima, K., Takeda, M. and Kojima, S.: Specific determination of ethylene oxide and ethylene chlorohydrin in cosmetics and poly-oxyethylated surfactants by gas chromatography with electron capture detection
J. AOAC International, 76, 292~296 (1993)

化粧品あるいはその原料となる界面活性剤中に残留する ethylene oxide (EO) と ethylene chlorohydrin (ECH) の分別定量方法を開発した。試料中の EO あるいはアルカリ分解することによって ECH から生成させた EO を別々に窒素気流でヨウ化カリウム溶液中に送り、ethylene iodohydrin として ECD ガスクロマトグラフにより定量した。サンプルに添加した EO および ECH の回収率はそれぞれ 58.9 と 64.5% であった。本法を用いて分析した結果、ポリオキシエチレン系の界面活性剤から EO が 30~394 ppm (ECH として) 検出されたが、ECH は 0.07~4.0 ppm であった。市販の化粧品から EO は検出されなかったが、微量の ECH (<1.1 ppm) が検出された。EO を含有する界面活性剤から実験室で調製した乳液から EO は検出されなかった。

Keywords: ethylene oxide, ethylene chlorohydrin, cosmetics

木嶋敬二, 齊藤恵美子^{*1}, 渡辺四男也^{*2}, 鈴木助治^{*2}, 永山富雄^{*3}, 小嶋茂雄: 高速液体クロマトグラフによるチオグリコール酸塩, 酢酸 dl-トコフェロール, ヘキサクロロフェンおよびイソプロピルメチルフェノールの定量法 (化粧品迅速分析法第 5 報)

日本化粧品科学会誌, 17, 15~24 (1993)

徐毛剤として用いられるクリーム等に含まれるチオグリコール酸塩 (1), ヘアトニック, クリーム中の酢酸 dl-トコフェロール (2), シャンプー等に含まれるヘキサクロロフェン (3), 化粧品, 乳液中のイソプロピルメチルフェノール (4) の HPLC を用いる方法を検討した。試験溶液の調製は試料をメタノール等を用いて溶解または分散させる方法によった。HPLC 条件はカラムは主にオクタデシルシラン結合シリカゲルを用い、移動相は (1) 3.3 mM ペンタンスルホン酸塩/水: アセトニトリル: リン酸 (960:40:1), (2) メタノール等, (3) 0.2 M 過塩素酸塩/80% メタノール, (4) アセトニトリル: 水 (1:1)。添加回収率も良好で市販品に適用できることが分かった。

Keywords: HPLC, thioglycolic acid salt, dl- α -tocopherol acetate

^{*1} 日本化粧品工業連合会

^{*2} 東京都立衛生研究所

^{*3} 東京薬科大学

Hanioka, N., Gonzalez, F. J.*, Lindberg, N. A.*, Liu, G.* and Korzekwa, K. R.*: Chimeric cDNA expressin and site directed mutagenesis studies of cytochrome P450s CYP2A1 and CYP2A2

J. Steroid Biochem. Molec. Biol., 43, 1037~1043 (1992)

ラット cytochrome P4502A1 と P4502A2 のアミノ酸配列は極めて類似しているが、testosterone の水酸化に位置選択性が認められる。cytochrome P4502A1 および 2A2cDNA の構造と機能を解明する目的でこれらのキメラ cDNA 8 種およびシングルポイントミュータント 13 種作成した。さらにそれら cDNA をワクチニアウイルス法を用いて HepG2 cell 中で発現させ、cytochrome P4502A1 および P4502A2 に特徴的な testosterone-7 α および 15 α に対する水酸化活性について検討した。cytochrome P4502A1 および P4502A2 の上流から 355 番目までの領域をそれぞれの P450 に置き換えたキメラ P450 は母 P450 の特徴を保っていたが、上流から 277 番目を置き換えるとそれらの特徴を失った。これらのことから 277~355 番目のアミノ酸が cytochrome P4502A1 および P4502A2 の機能に重要な役割を果たしていることが示唆された。

Keywords: chimeric cDNA, site directed mutagenesis, cytochrome P4502A

* National Cancer Institute, U.S.A.

Hanioka, N., Gonzalez, F. J.*, Lindberg, N. A.*, Liu, G.*, Gelboin, H. V.* and Korzekwa, K. R.*: Site-directed mutagenesis of cytochrome P450s CYP2A1 and 2A2: Influence of the distal helix on the kinetics of the testosterone hydroxylation

Biochemistry, 31, 3364~3370 (1992)

ラット cytochrome P4502A1 と 2A2cDNA のシングルポイントミュータント 26 種およびダブルポイントミュータント cDNA 2 種を作成した。それら cDNA をワクチニアウイルス法を用いて HepG2 cell 中で発現させ、P4502A1 に特徴的な testosterone-7 α hydroxylase の反応速度論的検討を行った。P4502A1 の中流から下流に位置するアミノ酸を P4502A2 に置き換えたシングルポイントミュータント P450 (Tyr³¹⁰→His³¹⁰) およびダブルポイントミュータント (Glu³⁰²→Gly³⁰², Thr³⁰³→Ser³⁰³) P450 の Km 値はワイルドタイプの約 3 倍であった。これらアミノ酸の違いにより P4502A1 の構造に変化が生じ、testosterone-7 α hydroxy-lase 活性に影響が及んだものと推察された。

Keywords: site-directed mutagenesis, cytochrome P4502A, testosterone hydroxylation

* National Cancer Institute, U.S.A.

Koga, N.*¹, Shin'yama, A.*¹, Ishida, C.*², Hanioka, N. and Yoshimura, H.*¹: **A new metabolite of 2, 4, 3', 4'-tertachlorobiphenyl in rat feces**
Chem. Pharm. Bull., **40**, 3338~3339 (1992)

2, 4, 3', 4'-tertachlorobiphenyl (TCB) は油症の原因物質 Kanechlor 400 の主成分である。その毒性機構を解明するための一環として、ラットに 2, 4, 3', 4'-TCB を腹腔内投与 (100 mg/kg) し、その糞中代謝物について検討した。代謝物はクロロホルムで抽出し、メチル化した後、GC-MS に付した。その結果、GC の保持時間およびマススペクトルからすでに報告されている 3-hydroxy-2, 4, 3', 4'-TCB および 5-hydroxy-2, 4, 3', 4'-TCB 以外に新代謝物 4-hydroxy-2, 5, 3', 4'-TCB が確認された。この新代謝物は 4-Cl の NIH-shift により 4,5-oxide を經由して生成するものと思われ、2, 4, 3', 4'-TCB の毒性と密接に関与している可能性が考えられた。

Keywords : 2, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl, 4-hydroxy-2, 5, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl, metabolism

*¹ 中村学園大学家政学部

*² 九州大学薬学部

安藤正典, 内海英雄*¹, 土屋悦輝*²: **細胞毒性試験による水質評価**

用水と廃水, **35**, 5~12 (1993)

水環境中には様々な物質が存在している。その上、水を浄化するため種々の処理法が施され、これによって新しい化学物質の生成も報告されている。このため、微量の生活活性物質を毒性に基づいて総合的に評価する生物評価法の確立は有用である。ここでは、水環境で論議されてきたバイオアッセイに関する論議を整理するとともに、人への健康影響に注目し、微量有害物質を培養細胞を用いた細胞毒性の原理の水質評価への適用について検討した。

Keywords : bioassay, cytotoxic test, assessment of waterquality

*¹ 昭和大学薬学部

*² 東京都立衛生研究所

松村年郎, 長田英二*, 小嶋茂雄: **冬季一般家庭における室内汚染について、暖房器具による影響を中心に**

大気汚染学会誌, **28**, 99~106 (1993)

一般家庭内で各種開放型暖房器具およびクリーンヒーターを使用した時に、室内空気環境がどの程度汚染されるか、また、汚染物質濃度が室内環境条件とどのような関連性を示すのかを、重回帰分析を用いて検討した。そして、室内 NO₂ および HCHO 濃度を各種環境条件から予測する線形モデル式を提案した。

Keywords : indoor air pollution, heating apparatus.

* 電気化学計器株式会社

Suzuki, T., Matsuda, R., and Saito, Y.: **Molecular Species of Tri-n-butyltin Compounds in Marine Products**

J. Agric. Food Chem., **40**, 1437~1443 (1992)

海産物中に含まれるトリブチルスズ (Bu₃Sn⁺) 由来の有機スズ化合物について調査を行った。試料を肉部、肝臓および卵に分けたのち抽出、精製した。メチルマグネシウムプロミドでアルキル化したのち GC/FPD および GC/MS/SIM で定性、GC/MS/SIM で定量した。その結果トリフェニルスズを含め、少なくとも 13 種類の分子種の有機スズ化合物が存在していることが確認された。Bu₃Sn⁺ のブチル基の一つが酸化されたものは肝臓、卵および肉部にあった。また、ジブチルスズの一つのアルキル基が水酸化されたものは主として肝臓に存在していた。カルボキシル体は、調査した魚種の肝臓のうち一種類からのみ検出された。

Keywords : tributyltin, molecular species, marineproduct

Takatsuki, S., Wang, J.-D.*, Narui, T.* and Okuyama, T.*: **Studies on the Components of Crude Drug "Kim-soan-lian"**

J. Jpn. Botany, **67**, 121~123 (1992)

金線蓮は、ラン科 (Orchidaceae) の *Anoectochilus formosanus* HAY. (キバナシュスラン、台湾金線蓮) と *A. koushunensis* HAY. (コウシュンシュスラン、高雄金線蓮) を基原とする、肺結核、高血圧、腹痛、発熱、腫瘍、急性・慢性の肝臓病および蛇傷等の治療に使用される台湾で最も貴重で高価な生薬の一つである。金線蓮についての化学的成分の報告はこれまでなされていなかったため、筆者らは金線蓮の酢酸エチルエキス (EtOAc extr.)、メタノールエキス (MeOH extr.) および水エキスを調整し、その EtOAc extr. および MeOH extr. について、シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび高速液体クロマトグラフィーを使用し成分研究を行った。その結果、EtOAc extr. より 2 種類の化合物 (1, 3-dipalmitin および palmitic acid) を、MeOH extr. より 2 種の化合物 (4-hydroxycinnamic acid および β -sitosterol β -D-glucopyranoside) の計 4 種の化合物を金線蓮からの単離に初めて成功した。

Keywords : Orchidaceae, *Anoectochilus formosanus* HAY., *Anoectochilus koushunensis* HAY

* 明治薬科大学

Uchiyama, S., Sato, Y.*, Suzuki, M.*, Kawamura, Y., Murayama, M., Saito, Y.: **Influence of γ -irradiation on methanol extractable component and essential oil in peppers**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **33**, 247-257 (1992)

照射ペッパーの検知法を研究するために、50kGyまでの高線量で γ 線照射された黒コショウ (BP), 白コショウ (WP), トウガラシ (RP) からのメタノール抽出物と精油中の成分を HPLC 法と GC および GC-MS 法で検討した。BP および RP 中の主たる香味成分のピペリンとカプサイシンは変化しなかったが、WP 中のピペリンは 30 kGy 以上の照射で 14% 増加した。精油成分である α -および β -ピネン, (+)-3-カレン, β -カリヨフィレンなど検索した成分のほとんどに変動がなく、変動があっても大幅ではなかった。また照射による新成分は検出されなかった。また 50 kGy 照射で 60.9% 減少する蛍光性の微量の成分があったが、30 kGy 照射ではこの減少はなかった。結局、成分変動を照射ペッパーの検知法に適用できないこと、ペッパー成分は高線量照射でも分解し難いことが判明した。

Keywords: identification of irradiated food, pepper, essential oil

* 共立薬科大学

Uchiyama, S., Sugiki, A.*, Kawamura, Y., Murayama, M., Saito, Y.: **Radical unique to γ -irradiated allspice and cinnamon and its utility for detection of irradiated foods**

J. Food Hyg. Soc. Japan, **34**, 128-135 (1993)

γ 線の実用線量を照射したオールスパイスとシナモンの ESR スペクトルに主シグナル (signal I, $g = 2.0048 \sim 2.0050$) と 30G 低磁場に副シグナル (signal II) が見られた。トウガラシの光照射で増加しなかった signal I は、上記両香辛料では増加し、加熱、 γ 線照射でも増加した。Signal II は γ 線照射のみにより生じ、長時間安定で湿度の影響も少なく、照射後 6 か月では 5 kGy 以上の照射オールスパイスとシナモンを、照射後 1 年では 10 kGy 以上照射のオールスパイスと 5 kGy 以上照射のシナモンを検知出来た。しかし、signal II のシグナル強度は両香辛料間および異品種のシナモン間でも若干異なった。メタノール抽出残留物の signal I, II は増加したが、その上昇率が異なることから、それらのラジカルが別々に存在するものと推定された。また signal II を生ずる香辛料のメタノール抽出物中に共通の主な物質はなかった。

Keywords: free radical, γ -irradiated food, ESR

* 共立薬科大学

内山貞夫, 武田寿*¹, 小林昭彦*¹, 伊藤澄夫*¹, 桜井裕之*¹, 多田善彦*¹, 青木 岳*¹, 細貝猛*¹, 山中崇彰*¹, 前川吉明*², 吉川礼次*³, 伊藤一夫*³, 斎藤行生: **GC および GC/MS によるワイン中のメチルイソチオシアネートの分析法**
食衛誌, **33**, 603-608 (1992)

ワイン中のメチルイソチオシアネート (MITC) の簡易かつ迅速な分析法を確立した。MITC は試料から酢酸エチルで抽出、直接 NPD-GC で定量した。また、FPD-GC (S モード) および GC/MS でも確認した。0.044 ppm, 0.088 ppm の MITC を試料に添加した時の回収率は、白ワインで 89.4%, 83.5%, 赤ワインで 81.6%, 75.1% であった。本法の定量限界は NPD-GC では 0.02 ppm, FPD-GC では 0.22 ppm, GC/MS では 0.05 ppm であった。イタリア産ワイン 30 銘柄について実態調査を行ったところ、このうち 3 銘柄から MITC を 0.087~0.349 ppm 検出した。

Keywords: methyl isothiocyanate, wine, gas chromatography

*¹ 横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター

*² 日本食品分析センター

*³ 日本缶詰検査協会

Kawamura, Y., Suzuki, N., Uchiyama, S., Saito, Y.: **Germination test for identification of gamma-irradiated wheat**

Radiat. Phys. Chem., **40**, 17-22 (1992)

照射小麦の判別法として発芽法の検討を行った。非照射小麦の発芽に貯蔵期間や貯蔵温度は影響しなかった。また γ 線照射に対して発芽率よりも根や芽の長さの方が感受性が高かった。すなわち根の伸長抑制をひきおこす照射線量は輸入小麦で 0.15~0.5 kGy, 国産小麦で 0.3~1.0 kGy であり、発芽率は 5 kGy 以上で減少した。輸入品と国産品の感受性の相違の一因が水分含量の差にあることが示唆された。照射後 12 ヶ月たっても照射による根の伸長抑制に変化はなかった。臭化メチル燻蒸によっても根の伸長が抑制されるが、発芽パターンにより識別できた。輸入小麦は 0.5 kGy 以上, 国産小麦は 1.0 kGy 以上照射されると培養 4 日後でも根長は 20 mm 以下であり、非照射またはこれ以下の照射線量のものとは判別可能である。このテストは、照射小麦の検知法として実用可能である。

Keywords: gamma-irradiated wheat, identification test, germination

河村葉子, 引地志香^{*1}, 丸山浩治^{*2}, 内山貞夫,
斎藤行生: 雑豆およびあん製品中のリナマリンの
改良直接分析法

食衛誌, 34, 74~79 (1993)

雑豆, あん製品, キャッサバ粉などに含有されるシアン配糖体であるリナマリンの分析法について検討した。本法では, リナマリンを酵素分解することなく直接抽出および精製し, トリメチルシリル化後, FID-GC で定量する方法について検討を行った。その結果, 精製において調製の煩雑なイオン交換樹脂を用いる代わりに, NH₂ 型固相抽出カートリッジを用いることなどにより簡便化を図った。また, GC/MS による確認法についても検討を行った。本法を用いて輸入雑豆, 国内産雑豆, あん製品およびキャッサバ粉中のリナマリン量の調査を行った。また, 本法と従来法による定量結果を比較したところよく一致した。

Keywords : linamarin, beans, FID-GC

^{*1} 昭和大学

^{*2} 日本穀物検定協会中央研究所

Matsuda, R., Suzuki, T., and Saito, Y.: **Metabolism of tri-n-butyltin chloride in Male Rats**

J. Agric. Food Chem., 41, 489~495 (1993)

船底, 漁網などの防汚剤として用いられ, 近年海洋の汚染が問題となっているトリブチルスズを雄性ラットに投与し, その代謝を検討した。トリブチルスズの代謝物としては脱ブチル体であるジブチルスズ, モノブチルスズのほか水酸化を受けたものが知られているが, ラットにおいてはこの他にジブチルスズの末端がカルボン酸まで酸化されたものが, 肝臓中の主要な代謝物であった。この代謝物が肝臓に蓄積性を示す事も明らかになった。

Keywords : tributyltin, metabolism

Kayoko Takagi, Masatake Toyoda and Yukio Saito: **Determination of kinetin in callus of *Panax ginseng* by liquid chromatography.**

J. Chrom. 628, 122~126 (1993)

組織培養オタネニンジン (*Panax ginseng*) の乾燥カルス, 新鮮カルスおよび培地中のカイネチンを HPLC で分析する方法を開発した。本法により検討した結果, 組織培養する際培地中に 0.1 ppm 添加されていた合成植物ホルモンのカイネチンは, カルスによって急速に吸収され, カルス内で代謝されて減少し, 採取される時期までに検出限界 (0.02 ppm) 以下となることが判明した。

Keywords : *Panax ginseng*, kinetin, HPLC

河村葉子, 引地志香^{*1}, 丸山浩治^{*2}, 内山貞夫,
斎藤行生: 雑豆中のシアン化合物の製あん工程における消長

食衛誌, 34, 80~83 (1993)

製あん工程におけるバター豆およびベビーライマ豆中シアン化合物の消長をリナマリン量および遊離シアン量の測定により明らかにした。原料豆および各工程試料に含有されるシアン化合物の大部分はリナマリンであった。2種の原料豆中のシアン含量は 3027 μ g および 497 μ g/g で約 6 倍の差があるが, 製あん工程におけるリナマリンおよび遊離シアンの消長は 2 種の豆で同様の傾向を示し, いずれもつけ込み工程, さらに工程で大きく減少するが, 加熱工程においてはあまり減少しなかった。また最終製品であるあん中のシアン含量は 0.4 μ g/g および 0.1 μ g/g であり残存率としては両者とも 0.3% であった。

Keywords : cyanogenic compounds, beans, heating and cooking

^{*1} 昭和大学

^{*2} 日本穀物検定協会中央研究所

Miyahara, M., Murayama, M., Suzuki, T., Saito, Y.: **Silica gel chromatographic cleanup procedure for organochlorine pesticide analysis with capillary gas chromatography**

J. Agric. Food Chem. 41, 221~226 (1993)

食肉中の塩素系農薬 (ヘプタクロール, ディルドリン, DDT) 用の前処理法としてドライカラムクロマト法を確立した。これらの農薬を 30% アセトン-ヘキサンで検体から抽出し 10% 水含有シリカゲルカラムで精製した。このようにして調製した検液を ECD-GC で定量する。回収率と再現性は通常の検査に用いるのに十分なものであった。しかしながら, 初期に設定されて, 行政的に用いられている分析法は研究室内あるいは研究室内における比較実験の結果, ディルドリンの回収率に再現性がないことが分かった。本研究により, 分析操作中に調製したシリカゲル中の水分に変動がおきるためにディルドリンの分析値がバラツクことが分かった。

Keywords : Dry column, organochlorine pesticide, silica gel

Miyahara, M., Suzuki, T., Saito, Y.: **Capillary gas chromatographic determination of Captafol in vegetables, fruits, and grains**

J. Agric. Food Chem. **41**, 1150~1153 (1992)

カプタフォールは低毒性の抗菌剤として長年使用されてきたが、近年この物質が様々な癌を誘発することが分かった。そこで食物中の本化合物を規制する目的でより信頼性が高く高感度で効率よく分析できる方法を開発した。本法は柑橘類、野菜、大豆、小麦に適用可能である。カプタフォールはアセトニトリルまたはアセトンで抽出し必要に応じてアセトニトリル分配を行う。これをフロリジルカラムクロマトグラフィーで精製した後、必要があれば活性炭クロマトグラフィーを行う。このようにして調製した検液をECD-GCで定量する。市販品へ0.01~0.005 ppm添加し、回収率を調べたところ64~88%であった。

Keywords : captafol, capillary gas chromatography

武田由比子, 神蔵美枝子, 柴田 正, 伊藤啓志男, 義平邦利*1: **高速液体クロマトグラフィーによる食用赤色 40 号中の副成色素の分析***²

食衛誌, **34**, 38~44 (1993)

食用赤色 40 号 (R-40) の副成色素のうち、低スルホン化副成色素のクレシジンスルホン酸アゾβ-ナフトール塩およびクレシジンアゾシェファー塩、高スルホン化副成色素のクレシジンスルホン酸アゾG塩およびクレシジンスルホン酸アゾR塩のHPLCによる定量法を検討した。ODSカラムを用い、移動相は酢酸アンモニウム溶液・メタノール混液 (100:0) から (0:100) までの直線濃度勾配法で、R-40と4種の副成色素は良好な分離を示し、515 nmで検出下限は0.4 ng (感度0.005 AUFS, S/N≥5) であり、色素検体中0.02%の微量定量分析が可能となった。

入手した試料中、低スルホン化副成色素は0.28%~1.31%、高スルホン化副成色素は0.14%~0.60%検出された。

Keywords : Purity test, Food Red No. 40, subsidiary colors

*1 東亜大学

*2 食用赤色 40 号の不純物の分析 (第一報)

Yamada, T., Yamamoto, M., Yoshihira, K., Kawashima, K., Tanaka, S., Takanaka, A: **Distribution of 3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole (BHA) Orally Administered in Liver, Serum, and Fetus in Rats**

Jpn. J. Toxicol. Environm. Health, **39**, 68~71 (1993)

妊娠したラットに3-tert-butyl 4-hydroxyanisole (BHA) をゴマ油に16 W/V%になるように溶かし、0, 200, 400, 800 mg/kg体重 1日1回10日間経口投与した。最後の投与の3時間後に母親の肝臓、血清および胎仔を取り出し、各々のBHA量を電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフで分析した。その結果、BHAを投与したラットの胎仔全てからBHAが検出されたが、その濃度は肝臓や血清に比べてずっと低かった。例えば、400 mg/kg投与の場合、総BHA (遊離型BHAと結合したBHAの和) は肝臓で33.1 μg/g、血清で30.8 μg/gであるのに対し、胎仔では0.72 μg/gであった。総BHAと遊離型BHAの比は、BHAの投与量にかかわらず、肝臓、血清、胎仔で各々ほぼ一定であった。肝臓、血清では遊離型の割合がずっと少なく、その比は、肝臓では約12、血清では60、胎仔では1.3~1.8であった。

Keywords : butylated hydroxyanisole, BHA distribution; fetus

Kawasaki, Y., Goda, Y., Yoshihira, Y.: **The mutagenic constituents of *Rubia tinctorum***

Chem. Pharm. Bull., **40**, 1504~1509 (1992)

市販天然着色料アカネ色素の原料植物であるイラン産セイヨウアカネ (*Rubia tinctorum*) 根から、クロロホルム、メタノール、水で順次、色素成分を抽出し、新規物質 (7-hydroxyl-2-methylanthraquinone) を含む20の化合物を単離同定した。さらにこれらの化合物について変異原性試験を行った。

このなかでmollugin, 1-hydroxyl-2-methyl-anthraquinone, 2-ethoxymethylanthraquinone, rubiadin, 1,3-dihydroxylantraquinone, 7-hydroxyl-2-methyl anthraquinone, lucidin, 1-methoxymethyl anthraquinone, lucidin-3-O-primeverosideは、*Salmonera typhimurium* TA98およびTA100で変異原性を示した。mollugin以外は、アントラキノン誘導体であったので、アントラキノンの構造と変異原活性の相関を検討した。その結果、lucidinを始めとする2位にメチル基またはヒドロキシメチル基を持つ1,3-dihydroxylantraquinone誘導体に強い変異原活性が見られた。本化合物群は、メチル基の酸化状態、水酸基の位置や修飾状態により明確な構造活性相関が見られることが判明した。

Keywords : *Rubia tinctorum*, anthraquinone, mutagenicity.

川崎洋子, 合田幸広, 米谷民雄, 義平邦利, 武田明治: 高速液体クロマトグラフィーによる食品中のアカネ色素の定量

食衛誌, 33, 563~568 (1992)

HPLCによる食品中のアカネ色素の分析法を検討した。指標成分として、原料植物のセイヨウアカネ根部の50%エタノール抽出液(Ext)中の主色素成分である ruberythric acid (1), lucidin-3-O-primeveroside (2), alizarin (3) を選定した。ついで Ext で清涼飲料水およびタンパク性食品を染色した後、指標成分の回収条件を検討した。清涼飲料水では、イオン交換カラムクロマトグラフィー(IEC)を用い、良好な回収率を得た。タンパク性食品では塩酸性下(pH 2), 85°C, 3時間の加温抽出を行い、中和後、IECを行った。その際、1および2の加水分解物としてそれぞれ alizarin-2-O-glucoside, lucidin-3-O-glucoside を検出、同定した。定量においては加水分解物も1, 2に換算し、総量として定量値を算出した。Ext で着色したかまぼこおよび乳飲料からの1, 2および3の回収率はそれぞれ68, 83, 100%および71, 78, 100%であった。

Keywords: madder color, ruberythric acid, lucidin-3-O-primeveroside.

米谷民雄, 鈴木幸子, 小川幸男, 齊藤 実, 鎌田栄一, 金子豊蔵, 内山貞夫, 黒川雄二, 斎藤行生: 寒天中のホウ素と遊離ホウ酸のラットにおける吸収および排泄の比較

食衛誌, 33, 365~370 (1992)

食品にホウ酸を添加することは禁止されているが、寒天にはホウ素が多量含まれているため、その成分規格が定められている。しかし、寒天中のホウ素が多糖類に強く結合し、遊離のホウ酸とは消化管吸収等が異なることも考えられた。成分規格の妥当性を確認するために、寒天中のホウ酸の消化管吸収と排泄を、カルボキシメチルセルロースナトリウムに添加したホウ酸およびホウ酸単独の場合と比較した。分析には、ICP プラズマ発光法とEHD抽出プロトン化クルクミン法を用いた。経口投与後24時間内に尿中に排泄されたホウ素量は、ホウ酸投与三群では水投与の対照群の4倍に達し、その増加量は投与した全ホウ素量の約3分の2に相当したが、ホウ酸投与三群間では、尿中へのホウ素排泄量に、有意な差は認められなかった。また、糞、盲腸内容物中ホウ素量には、すべての群間で有意な差は認められなかった。このように、寒天中のホウ素が吸収されにくいという結果は得られず、成分規格の妥当性が確認された。

Keywords: agar, boric acid, inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP)

Maitani, T., Inouye, S., Uchiyama, S., and Saito, Y.: Route-dependent and non-synergistic induction of hepatic metallothionein after administration of strontium and calcium to mice

Jpn. J. Toxicol. Environ. Health, 38, 425~430 (1992)

カルシウム(Ca)とストロンチウム(Sr)の投与による肝メタロチオンイン(MT)誘導を、ICR雄性マウスを用いて検討した。皮下投与した時には、両者において肝MT誘導が認められたが、投与後24時間では、Caが2倍多く誘導した。また、両者を同時投与した時には、相加的なMT誘導量が見られ、相乗効果は認められなかった。投与方法による肝MT誘導量の違いを調べるために、腹腔内投与と皮下投与による肝MT誘導量をSrで比較したところ、投与後24時間では、皮下投与した時の方が、肝中Sr濃度が低いにもかかわらず、MT誘導量が多いという結果になった。同様の傾向は、Caでも認められた。この結果を説明するために、両投与方法による肝中Sr濃度の経時変化を調べたが、腹腔内投与の方が常に高いSr濃度を示した。そのため、Srの皮下投与で腹腔内投与よりも肝MTが多く誘導されるという結果は、肝中Sr濃度からは説明できなかった。

Keywords: metallothionein, calcium, strontium

Goda, Y., Suzuki, J., Maitani, T., Yoshihira, K., Takeda, M. and Uchiyama, M.: 3-Anilino-L-alanine, structural elucidation of UV-5, a contaminant in EMS-associated L-tryptophan samples

Chem. Pharm. Bull., 40, 2236~2238 (1992)

Eosinophilia-myalgia syndrome (EMS) を引き起こしたとされるL-tryptophan製剤中の特定不純物UV-5を単離した。各種スペクトルデータの解析から、その構造を3-anilinoalanineと決定した。本化合物は光学活性体であり、alanine部分の立体は、合成した3-anilino-L-alanineとの比較でLと決定した。

Keywords: 3-anilino-L-alanine, tryptophan, eosinophilia-myalgia syndrome (EMS)

Goda, Y., Kiuchi, F*, Shibuya, M* and Sankawa, U*: Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from *Dalbelgia odorifera*

Chem. Pharm. Bull., 40, 2452~2457 (1992)

*Dalbelgia odorifera*の心材から、プロスタグランジン生合成阻害作用を指標にしなから、5種の新規フェノール性化合物と10種の既知化合物を単離構造決定した。これらの化合物のうち、シンナミルフェノール類、イソフラバン類、イソフラベンと安息香酸誘導体に強いプロスタグランジン生合成阻害作用と、血小板凝集抑制作用が見られた。

Keywords: *Dalbelgia odorifera*, prostaglandin biosynthesis inhibitor, platelet aggregation inhibitor

* 東京大学薬学部

Jajoo, H. K.*, Burcham, P. C.*, Goda, Y., Blair, I. A.* and Marnett, L. J.*: A thermospray liquid chromatography/mass spectrometry method for analysis of human urine for the major malondialdehyde-guanine adduct

Chem. Res. Toxicol., 5, 870~875 (1992)

サーモスプレー型の LC-MS を利用した、人尿中のマロンジアルデヒド-グアニン付加物の定量法の開発を行った。マロンジアルデヒドの-グアニン主付加物 (M1G) の安定同位体を内標として利用した。前処理として、尿の部分精製物を NaBH₄ で還元することで、M1G の還元体 (DHM1G) および DHM1G の安定同位体は、うまく妨害物から分離された。本法の DHM1G の検出限界は、250 fmol で、6 人の尿中の M1G 濃度は、すべて検出限界以下 (500 fmol/mL) であった。

Keywords : malondialdehyde, DNA-adduct, liquid chromatography/mass spectrometry

* Vanderbilt University

Sato, K., Goda, Y., Kawasaki, Y., Okuyama, E., Yoshihira, K., Ozeki, Y.*¹, and Nakamura, M.*²: Characteristic of anthraquinone production in plant roots and cell suspension cultures of *Rubia tinctorum* and *R. akane*

Plant Tissue Culture Lett., 9, 220~226 (1992)

セイヨウアカネ (*Rubia tinctorum* L.) およびアカネ (*R. akane* Nakai) の植物根と液体懸濁培養細胞の成分について、フォトダイオードアレイ検出器付高速液体クロマトグラフィーによる比較を行った。両植物において植物根と培養細胞のいずれの抽出物からも anthraquinone 類が検出されたが、植物根と培養細胞では、成分比だけでなく anthraquinone 類の種類も異なっていた。anthraquinone でない mollugin は植物根のみから検出された。対照的に、培養細胞では、munjistin や pseudopurpurin といった酸化度の進んだ anthraquinone 類の増加が認められた。

Keywords : *Rubia tinctorum* L., *Rubia akane* Nakai, anthraquinone

*¹ 東京大学教養学部

*² 三栄化学工業㈱

Sato, K., Iwakami, S., Goda, Y., Okuyama, E., Yoshihira, K., Ichi, T.*¹, Otake, Y.*¹, Noguchi, H.*², and Sankawa, U.*²: Novel natural colorants from *Monascus anka* U-1

Heterocycles, 34, 2057~2060 (1992)

紅麴菌の一種 *Monascus anka* の変異株の産生する黄色色素 xanthomonasin A および xanthomonasin B を単離し、2D-INADEQUATE NMR を含む各種スペクトルデータの解析および安定同位体の投与実験により構造決定を行った。xanthomonasin 類の構造は新規骨格を有し、その骨格は従来の紅麴菌類の主色素成分の一種である rubropunctatin の一ヶ所の炭素間結合が酸化的に切断され、その後、巻直されて生じたものと考えられた。そこで、[1,2-¹³C₂] 酢酸ナトリウムの投与実験を行い、NMR 実験を行った結果、xanthomonasin 類の構造および上記の仮説が裏付けられた。

Keywords : *Monascus anka* U-1, xanthomonasin A, furanoisophthalide

*¹ 三栄化学工業㈱

*² 東京大学薬学部

Martin, R. E.*, Hizo, C. B.*, Ong, A. M.*, Alba, O. M.*, Ishiwata, H.: Release of Formaldehyde and Melamine from Melamine Tableware Manufactured in the Philippines

J. Food Protec., 55, 632~635 (1992)

フィリピン製メラミン樹脂製食器から原料モノマーであるメラミンとホルムアルデヒドの溶出について検討した。水を食品疑似溶媒として用い 60℃ で 30 分浸出した場合は両モノマーの移行は認められなかったが、95℃ ではホルムアルデヒドが 0.6 ppm 溶出した。4%酢酸を用い、95℃ で実験した場合は両モノマーの移行が起こった。溶出試度はホルムアルデヒドが 2.5 ppm、メラミンが 0.4 ppm であった。メラミンに対するホルムアルデヒドのモル濃度比は 9.4~46.2 で、抽出を 8 回繰り返すことによりモル濃度比は約 2.0 に低下し、その後は変化なかった。食事の条件を想定した実験条件下では両モノマーの移行は 0.1 ppm 以下であった。4%酢酸を用い、95℃ で 30 分間の浸出を繰り返した場合、18 回目でモノマーの溶出は最高値を示し、ホルムアルデヒドで 18 ppm、メラミンで 10 ppm であった。

Keywords : melamine tableware, melamine, formaldehyde.

* Bureau of Food and Drugs, Philippines

細貝 猛^{*1}, 伊藤澄夫^{*1}, 小木曾佑二^{*2}, 石綿 肇: 輸入プラスチック製食器にみる違反項目と違反率低減化のための考察

横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター年報, 1, 15~17 (1993)

輸入食品等の激増に伴い, 検疫所における監視の重要性と検査件数が増大している。検査センターの発足により検査件数はめざましく増えたが, その結果として違反食品等の件数も増加している。検査の充実は違反率の低減化には直接的には効果的ではない。そこで, 輸入プラスチック製品を例にとり, 検疫所における食品監視業務, 輸出国公的検査機関, 登録工場制度と食品製造の上流に遡りながら, 輸入食品等の違反率の低減化について考察, 提言した。すなわち, 上流におけ衛生管理の充実ほどその効果は大であり, 食品輸出国が発展途上国の場合には食品原料の生産, 食品の加工, 製造, 衛生管理の技術移転が重要なファクターとなる。一方, 輸出国が先進国の場合には日本の食品衛生法の紹介と普及が重要な因子となる。

Keywords: imported food, inspection, decrease of violation

^{*1} 横浜検疫所輸入食品検疫・検査センター

^{*2} 横浜検疫所

伊藤澄夫*, 青木 岳*, 多田善彦*, 桜井裕之*, 小林昭彦*, 武田 寿*, 細貝 猛*, 石綿 肇: バナナに残留するベノミルおよびチオファネートメチルの定量

横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター年報, 1, 18~19 (1993)

横浜港と東京港に保税中のフィリピンおよびエクアドル産のバナナについてベノミルとチオファネートメチルを定量した。その結果, 6検体中2検体にベノミルがカルベンダジムとして0.05 ppm 検出された。

Keywords: banana, benomyl, thophanatemethyl

* 横浜検疫所輸入食品検疫・検査センター

Sera, N.*, Fukuhara, K., Miyata, N., Horikawa, K.*, Tokiwa, H.*: Mutagenicity of nitro-aza-benzo[a]pyrene and its related compounds
Mutation Res., 280, 81~85 (1992)

1-および3-ニトロ-6-アザベンツ[a]ピレンおよびそのN-オキシド体の変異原性を検討した結果, TA98およびTA98NRで強力な変異原性を示し, 3-ニトロ-6-アザベンツ[a]ピレンN-オキシド体は最も強力な変異原物質の一つであることが明らかとなった。また, ディーゼル排ガス中に存在することを確認した。

Keywords: nitroarene, azaarene, benzo[a]pyrene

* 福岡県保健環境研究所

Yamaguchi, K.*, Matumura, G.*, Tanno, M., Sueyoshi, S., and Miyata, N.: Structure of N-Aryl-N-nitrosoareas

Acta Cryst., C30, 1051~1054 (1992)

芳香族二置換および三置換N-ニトロ尿素類の結晶構造をX線解析により明らかにした。解析の結果, 2-アルキル置換体は4-置換体に比べN-O結合距離が長かった。さらに, これらの化合物の結晶状態における立体配座は溶液状態のそれと一致した。

Keywords: nitrosoarene, urea, crystal structure

* 昭和大学薬学部

Yamakoshi, Y., Murata, M.*, Shimizu, A.*, and Homma, S.*: Isolation and Characterization of Macrocarpals B-G Antibacterial Compounds from *Eucalyptus macrocarpa*

Biosci. Biotech. Biochem., 56, 1570~1576 (1992)

抗菌活性を有する6種の新規phloroglucinol di-aldehyde誘導体(macrocarpal B-G)を*Eucalyptus macrocarpa*の葉から単離した。UV, MS等の結果からこれらの化合物は類縁体(B-F: C₂₈H₄₀O₆, G: C₂₈H₃₈O₅)であることが示され, B, D, Gの構造をNMRにて決定した。

Keywords: macrocarpal, *Eucalyptus*, antibacterial

* お茶の水女子大学生生活科学部

Murata, M.*, Yamakoshi, Y., Homma, S.*, Arai, K.*, and Nakamura, Y.*: Macrocarpals, Antibacterial Compounds from *Eucalyptus*, inhibit Aldose Reductase

Biosci. Biotech. Biochem., 56, 2062~2063 (1992)

*Eucalyptus macrocarpa*より単離した新規抗菌物質macrocarpal類がaldose reductase活性を阻害することを見いだした。さらに, 類縁体である数種のphloroglucinol誘導体を合成し活性を調べたところ活性を有することが分かった。

Keywords: macrocarpal, phloroglucinol

* お茶の水女子大学生生活科学部

Floresca, R.*, Kurihara, M., and Watt, D. S.*: Cleavage of unsaturated α -ketols to ω -oxo- α , β -unsaturated acids

J. Org. Chem., 58, 2196~2200 (1993)

過ヨウ素酸ナトリウムを用いた不飽和 α -ケトールの ω -オキシ α , β -不飽和酸への効率的変換法を開発した。この酸化開裂反応とロジウム錯体の脱カルボニル化反応とを組合せて, ジメチル四級炭素を有する環状化合物のエナンチオ選択的合成を行った。

Keywords: oxidative cleavage, sodium periodate, unsaturated α -ketol

* Department of Chemistry, University of Kentucky, U.S.A.

Iwata, N., Fukuhara, K., Suzuki, K., Miyata N. and Takahashi, A.: **Reduction properties of nitrated naphthalenes: relationship between electrochemical reduction potential and the enzymatic reduction by microsomes or cytosol from rat liver**

Chem. -Biol. Interact., 85, 187~197 (1992)

モノ-(1-, 2-), ジ-(1,3-, 1,5-, 1,7-, 1,8-), トリ-(1,3,5-, 1,3,8-)ニトロナフタレンの酸化還元電位と酵素的還元性との相関性について検討した。ニトロナフタレン類に対する還元活性は、酵素標品としてラット肝ミクロゾーム画分および可溶性画分のいずれを用いても、トリ->ジ->モノニトロナフタレンの順に高かった。NADPHを電子供与体としたミクロゾーム画分のトリニトロナフタレン類に対するニトロ還元活性は、NADHおよびヒポキサンチンのいずれの電子供与体を用いた可溶性画分中のニトロ還元活性よりも高かった。可溶性画分によるニトロ還元活性には、電子供与体としてNADPHよりもNADHおよびヒポキサンチンの方が効果的であった。これらの酵素化学的還元性は、サイクリックボルタンメトリー法によって測定した電子酸化還元電位と良い相関性を示した。

Keywords : nitronaphthalene, nitroreductase, reduction potential

Kikuchi, Y.*, Irie, M.*, Ikebuchi, H., Sawada, J., Terao, T.: **Identification of metallothionein in cultured cells by immunoblotting and immunofluorescence using a new monoclonal antibody**

Hybridoma, 11, 295~300 (1992)

メタロチオネインに対する新たなモノクローナル抗体 (MT 45) を調製した。この抗体を用いて重金属により培養細胞中に誘導されたメタロチオネインを、イムノブロット法および免疫蛍光法により検出する方法を確立した。

Keywords : monoclonal antibody, metallothionein, immunofluorescence

* 星薬科大学

Sawada, J., Yamazaki, T., and Terao, T.: **Molecular and biochemical analyses of combining sites of monoclonal anti-morphine antibodies**

Mol. Immunol. 30, 77~86 (1993)

モルヒネに対するモノクローナル抗体の可変領域遺伝子の塩基配列を決定し、得られたアミノ酸配列を比較検討した。また、これらのモノクローナル抗体の反応性のpH依存性を検討した。さらに、フォトアフィニティーラベル法を用いて、抗体のハプテン結合部位におけるハプテンの配向性を推定した。

Keywords : monoclonal antibody, morphine, antigen-combining sites

Kikuchi, Y.*¹, Irie, M.*¹, Kasahara, T.*², Sawada, J., and Terao, T.: **Induction of metallothionein in a human astrocytoma cell line by interleukin-1 and heavy metals**

FEBS Lett., 317, 22~26 (1993)

ヒトアストロサイトーマ細胞株を用いて、重金属およびインターロイキン-1 (IL-1)、インターロイキン-6によるメタロチオネインの誘導を検討したところ、重金属およびIL-1による著しい誘導が示された。

Keywords : metallothionein, interleukin-1, heavy metals

*¹ 星薬科大学

*² 自治医科大学

Nakato, K.*, Furuno T.*, Inagaki K.*, Teshima R., Terao T. and Nakanishi M.*: **Cytosolic and intranuclear signals in rat basophilic leukemia cells as revealed by a confocal fluorescence microscope**

Eur. J. Biochem., 209, 745~749 (1992)

ラット好塩基球細胞における抗原刺激に伴う細胞内カルシウムイオン濃度の変化を、共焦点レーザー顕微鏡を用いる画像処理法によって観察し、細胞質から核へのカルシウムシグナルの動態を解析した。

Keywords : RBL-2H3 cells, fluo-3, fluorescence images

* 名古屋市立大学薬学部

Iwata, N., Minegishi, K., Suzuki, K., Ohno, Y., Igarashi, T.*, Satoh, T.* and Takahashi, A.: **An unusual profile of musk xylene-induced drug-metabolizing enzymes in rat liver**

Biochem. Pharmacol., 45, 1659~1665 (1993)

人工香料成分の一つであるムスクキシレンをラットに50, 100, 200 mg/kgの用量で5日間反復腹腔内投与した。その結果、ムスクキシレンは肝可溶性画分のDT-ジアフォラーゼ活性および1-クロロ-2, 4-ジニトロベンゼンおよび1,2-ジクロロ-4-ニトロベンゼンを基質としたグルタチオンS-転移酵素 (GST) 活性を用量依存的に増加させた。さらに、DT-ジアフォラーゼ, GST Ya SubunitおよびGST Yc subunitに対する抗体を用いてウエスタンブロッティング-PAP染色法により定量した結果、これらの活性の増加は可溶性画分中のDT-ジアフォラーゼ含量およびGST Ya subunit含量の増加に起因することが明らかになった。また、ムスクキシレンはミクロゾーム画分中のUDP-グルクロン酸転移酵素活性も増加させた。以上の結果より、ムスクキシレンは第II相の薬物代謝酵素系に対する誘導能をも有することが明らかとなった。

Keywords : musk xylene, glutathione S-transferase, DT-diaphorase

* 千葉大学薬学部

Kondo, S.*, Haishima, Y. and Hisatsune, K.*: **Taxonomic implication of the apparent undetectability of 3-deoxy-D-manno-2-octulosonate (Kdo) in lipopolysaccharides of representatives of the family *Vibrionaceae* and the occurrence of Kdo 4-phosphate in their inner-core regions**

Carbohydr. Res., **231**, 55~64 (1992)

著者らが開発した迅速簡便法を用いて、すべてのビブリオ科細菌 LPS の糖組成を検討し、ビブリオ科細菌 LPS の多糖体部分の糖組成に基づく化学分類を確立した。また、ビブリオ科細菌 LPS の特徴的糖成分ともいえる 4-0-phosphoryl KDO の分布状態についても詳細に検討し、同糖成分が *Plesiomonas shigelloides* を除くすべてのビブリオ科細菌 LPS から検出されることを明らかにした。また、*V. cholerae* 01 および non-01, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* の各 LPS からは、4-0-phosphoryl-KDO 以外のリン酸化 KDO が HVPE により検出された。

Keywords : LPS, *Vibrionaceae*, Kdo 4-phosphate

* 城西大学薬学部

Isshiki, Y.*, Haishima, Y. Kondo, S.* and Hisatsune, K.*: **Serological cross-reaction between intact and chemically modified lipopolysaccharides of 01 *Vibrio cholerae* Inaba and non-01 *V. cholerae* bio-serogroup Hakata**

Microbiol. Immunol., **36**, 1201~1205 (1992)

3-deoxy-L-glycero-tetronic acid により N-acyl 化されたペロサミンの α (1-2) 結合ホモポリマーを持つ 01 コレラ菌イナバ LPS から、N-deacylated LPS, N-acetylated LPS, N-propionylated LPS および N-butyrylated LPS を調製し、その構造をメチル化分析により確認するとともに、各化学修飾 LPS と 01 コレラ菌イナバ因子を持つコレラ菌ハカタ株 LPS 間の血清学的交叉反応性を検討した。その結果、イナバ LPS 自体の抗原特異性および同 LPS とハカタ株 LPS 間の血清学的交叉反応性の発現には、LPS 0-抗原側鎖部分の N-置換基が密接に関与していることが明らかになり、特に、イナバ因子は N-置換基の種類を問わず発現されることが示された。

Keywords : LPS, *V. cholerae*

* 城西大学薬学部

Isshiki, Y.*¹, Haishima, Y., Kondo, S.*¹, Shimada, T.*² and Hisatsune, K.*¹: **Serological cross-reactin between *Yersinia enterocolitica* 09 and non-01 *Vibrio cholerae* bio-serogroup Hakata and antigenic analysis of their relationship by their lipopolysaccharides**

Microbiol. Immunol., **36**, 575~581 (1992)

ともに α (1-2) 結合の 4-amino-4, 6-dideoxy-D-mannopyranose (ペロサミン) ホモポリマーから成る LPS 0-抗原側鎖を持つ non-01 *Vibrio cholerae* bio-serogroup Hakata 株および *Yersinia enterocolitica* 09 の交叉抗原性を詳細に検討した。その結果、全菌レベルでの交叉凝集反応・交叉凝集素吸収反応、また、感作ヒツジ赤血球を用いた LPS レベルでの受身溶血反応・受身溶血阻止反応において、両菌種間には高い交叉抗原性があることを明らかにし、血清学的にも両菌株は類似した抗原構造を持つことを証明した。

Keywords : LPS, *V. cholerae*, *Y. enterocolitica* 09

*¹ 城西大学薬学部

*² 国立予防衛生研究所

Hisatsune, K.*, Kondo, S.*, Isshiki, Y.*, Iguchi, T.* and Haishima, Y. : **Occurrence of 2-0-methyl-N-(3-deoxy-L-glycero-tetronyl)-D-peros-amine(4-amino-4,6-dideoxy-D-mannopyranose) in lipopolysaccharide from Ogawa but not from Inaba 0 forms of 01 *Vibrio cholerae***

Biochem. Biophys. Res. Commun., **190**, 302~307 (1993)

01 コレラ菌オガワ型とイナバ型を決定する LPS 0-抗原側鎖のエピトープ構造を GC/MS および NMR 解析により詳細に検討した。現在までに、両菌 LPS の 0-抗原側鎖は、ともに α (1-2) 結合した 3-deoxy-L-glycero-tetronyl-D-perosamine のホモポリマーにより構築されていることが明らかとなっていたが、両菌の抗原型の違いを反映する構造的な相違点は認められていなかった。本研究では、同ホモポリマー非還元末端残基がオガワ型の場合のみ 2-0-Me 化されていることを明らかにし、また、この糖残基の存在がオガワ特異因子の発現に密接に関与していることを示唆している。

Keywords : LPS, 01 *V. cholerae*, perosamine

* 城西大学薬学部

Kumada, H.*¹, Haishima, Y., Kondo, S.*², Umemoto, T.*² and Hisatsune, K.*¹: **Occurrence of 2-keto-3-deoxyoctonate (KDO) and KDO phosphate in lipopolysaccharides of *Bacteroides* species**

Curr. Microbiol., **26**, 239~244 (1993)

従来, *Bacteroides* 属細菌 LPS は, 一般グラム陰性細菌 LPS の inner-core 部分を構成する常成分である KDO を欠損していると報告されていたが, 近年, 著者らは *B. gingivalis* LPS には, その 7 位あるいは 8 位がリン酸化された KDO が存在することを見いだした. 本研究では, 他の *Bacteroides* 属細菌 LPS における KDO phosphate の分布状態を検討した. その結果, *B. gingivalis* の他に *B. fragilis* および *B. intermedius* LPS からも KDO phosphate が検出された. また, *B. melaninogenicus* LPS は通常の KDO を含み, *B. asaccharolyticus* LPS からは KDO および KDO phosphate とともに検出されないことを明らかにした.

Keywords : LPS, *Bacteroides*, KDO phosphate

*¹ 神奈川歯科大学

*² 城西大学薬学部

Hisatsune, K.*¹, Iguchi, T.*¹, Haishima, Y., Tamura, N.*¹ and Kondo, S.*¹: **Lipopolysaccharide isolated from a new 0-antigenic form (013) of *Vibrio parahaemolyticus***

Microbiol. Immunol., **37**, 143~147 (1993)

新型抗原性を持つ腸炎ビブリオ 013 LPS の化学的性状を検討した. 同 LPS は主要構成糖としてグルコース, ガラクトース, L-グリセロ-D-マンノヘプトース, グルコサミン, グルクロン酸およびガラクトン酸を含み, 化学分類上, 腸炎ビブリオ 03, 05 および 011 とともに chemotype III に分類されることが明らかになった. また, LPS 多糖部還元末端に KDO 4-phosphate が存在し, その 2 位および 5 位を介して, 多糖部分とリピド A 部分が連結されていることが示された. 過ヨウ素酸酸化後のメチル化分析により, KDO 4-phosphate 由来の KDHeP 誘導体が検出されたことから, その 7 位および 8 位の水酸基は遊離状態であることを証明した.

Keywords : LPS, *V. parahaemolyticus*, KDO 4-phosphate

* 城西大学薬学部

Tanamoto, K. and Ishibashi, N.: **Succinylated lipid A is a potent and specific inhibitor of endotoxin mitogenicity**

J. Gen. Microbiol., **138**, 2503~2508 (1992)

部分的脱アシル化リピド A とサクシニル化リピド A はいずれもマイトジェン活性を喪失するとともに, リピド A のマイトジェン活性を阻害した. 特にサクシニル化リピド A はエンドトキシンに対する特異的, かつ強力な抑制剤であった. この抑制作用にはマクロファージは関与せず, また抑制は抑制剤の量に比例し, 活性型リピド A に拮抗的に起こることを明らかにした.

Keywords : endotoxin (inhibitor), mitogen, lipid A

Kondo, S.*¹, Haishima, Y and Hisatsune, K.*¹: **Location of fructose in lipopolysaccharide isolated from 01 *Vibrio cholerae***

FEMS Microbiol. Lett., **106**, 93~98 (1993)

コレラ菌 LPS はフルクトースを含んでいるが, その物性上, 局在部位については不明であった. 本研究では, ヒドラジン処理 LPS のメチル化分析および NMR 解析により, コレラ菌 LPS に存在するフルクトースはコアを形成する末端グルコースの 6 位に非還元末端糖として結合していることを明らかにした.

Keywords : LPS, Fructose, *V. cholerae*

* 城西大学薬学部

Miyahara, M., Shimada, T.*¹, Kotani, H.*² and Mise, K.: **Isolation and characterization of new restriction endonucleases from *Vibrio parahaemolyticus*: VpaK32I enzyme with the class-IIS heptanucleotide specificity, GCT-CTTCN₁/N₄**

Gene, **117**, 103~106 (1992)

腸炎ビブリオの K 抗原標準株を使って制限酵素の産生性を検討した. 68 株の中で 6 株より制限酵素の産生がみられた. K11 と K65 の標準株からは *AvaII* の, K15 と K25 の標準株からは *AsuI* が, K32 からは *SapI* の, そして K57 からは *Eco31I* のアイソシゾマーの産生を確認した. 特に K32 からの制限酵素については切口の塩基配列についてもシーケンシングを行って, その塩基配列も決定した. その結果, 切口の配列も *SapI* と同じであることが解った. K32 と K57 からは, とともにノンパンドローム型塩基配列外で切断が起きることから, 遺伝子工学等での利用が期待される.

Keywords : enzyme isolation and purification, *SapI* isoschizomer, restriction endonuclease

*¹ 国立予防衛生研究所

*² 宝酒造中央研究所

小沼博隆：食鳥処理場における微生物学的衛生管理の必要性。

食衛誌, 33, 507~512 (1992)

食鳥の体表および腸管内にはサルモネラ、カンピロバクター、大腸菌、黄色ブドウ球菌、ウエルシュ菌などの食中毒菌ならびに腐敗・変敗等に関するその他の菌群が多数認められ、これら菌群による食中毒事例が多発している。そこで食鳥肉がこれらの微生物に汚染されないようにすることを目的に全国規模での食鳥および食鳥処理場の微生物汚染実態を調査した。その結果を基に危害度分析を行い重要管理点を明らかにし、さらに監視ポイント、モニタリング方法、指導・処理方法および検査法を一括した食鳥処理場における衛生管理マニュアルを作成した。

Keywords : HACCP

品川邦汎*, 小沼博隆：食鳥処理場における微生物学的衛生管理。

食衛研究, 42, 27~54 (1992)

食鳥肉(鶏, アヒル, 七面鳥)の安全性を確保するために、食品の微生物制御法として有効な危害度分析重要管理点(HACCP: Hazard Analysis-Critical Control Point)方式の考え方を参考にして、食鳥ならびに食鳥処理場の微生物汚染実態を明らかにした。その結果を基に、わが国独自の食鳥処理場における微生物制御マニュアルを作成した。すなわち「監視・調査マニュアル」さらに監視・調査結果に基づく「処理・指導マニュアル」および「検査マニュアル」を作成した。

Keywords : HACCP

* 岩手大学

小沼博隆, 品川邦汎*：卵の微生物学的衛生管理—鶏卵選別・包装施設(GPセンター)の管理—。

食衛研究, 43, 49~73 (1993)

鶏卵のサルモネラエンテリティディス汚染を制御する目的で、殻付卵および卵加工品のサルモネラ汚染状況、汚染経路ならびに鶏卵および液卵の流通経路を明らかにするとともに、GPセンターにおける処理工程の細菌汚染状況を調べた。その結果に基づいて危害度を分析し、重要管理点を明らかにした。また、サルモネラエンテリティディスの卵殻表面侵入実験を試みたところ、卵を卵温度より低い水温度に浸漬すると卵内の空気が収縮するため、サルモネラが卵殻表面から内部に侵入しやすことを明らかにした。

Keywords : *S. Enteritidis*, G. P. Center

* 岩手大学

Komori, A.*¹, Yatsunami, J.*¹, Suganuma, M.*¹, Okabe, S.*¹, Abe, S.*¹, Sakai, A., Sasaki, K.*² and Fujiki, H.*¹: Tumor necrosis factor acts as a tumor promoter in BALB/3T3 cell transformation

Cancer Res., 53, 1982~1985 (1993)

腫瘍壊死因子(TNF)と発癌プロモーターのオカダ酸は、同じタンパク質、すなわちビメンチンと熱ショックタンパク質27とを強力にリン酸化した。ヒトTNF- α (0.6 nM)は、3-メチルコラントレンでイニシエートしたBALB/3T3細胞のトランスフォーメーションを顕著に促進した。ヒトTNF- α は、外因的な発癌プロモーターのオカダ酸やTPAに比べ約1000倍強力であった。TNFは、*v-Har-ras* 遺伝子を導入したBALB/3T3細胞(Bhas 42細胞)の増殖を促進したが、親株であるBALB/3T3細胞の増殖は促進しなかった。オカダ酸は、Bhas 42とBALB/3T3細胞でマウスTNF- α を誘導する。これらの結果は、外因的な発癌プロモーターが、種々の細胞でTNF- α の分泌をうながし、次に、TNF- α が内因的な発癌プロモーターとして働くことを示唆している。

Keywords : TNF, cell transformation, tumor promoter

*¹ 国立がんセンター研究所

*² 食品薬品安全センター-秦野研究所

Fujisawa, T.*, Mori, M.* and Ichinoe, M.: Natural occurrence of trichothecenes in domestic wheat and barley harvested in 1990 and 1991, and production of mycotoxins by *Fusarium* isolates from these samples

Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol., 35, 37~40 (1992)

1990年および1991年度国内産のコムギ(27点)、オオムギ(17点)につきトリコテセン系カビ毒の汚染状況とこれらの検体から分離した*Fusarium*属菌のカビ毒生産性を調べた。コムギ15点、オオムギ14点からニバレノール(NIV)が20~1070 ppb、デオキシニバレノール(DON)が20~230 ppbの範囲で検出され、DONとNIVとが同時に検出される試料がコムギの6点、オオムギの7点にみとめられた。汚染試料から分離した*Fusarium*属菌株につき、米培養法でトリコテセン系カビ毒の生産性を検索したところ*F. graminearum* 7菌株中5株に310~2920 ng/gのNIVの生産性を認めたが、DONの生産菌は得られなかった。

Keywords : nivalenol, deoxynivalenol, *Fusarium*

* 神奈川県衛生研究所

Kikuchi, Y. and Ichinoe, M.: Use of competitive enzyme-linked immunoabsorbent assay to analyze the aflatoxin production of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*

Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol., 36, 25~30 (1992)

A. flavus および *A. parasiticus* のアフラトキシン産生能を評価するため、菌株の培養条件の検討、ならびに酵素免疫測定法 (ELISA) によるアフラトキシンの測定を行った。各種アフラトキシン標準品を用いて ELISA を行った結果、測定に用いたアフラトキシン B₁ に対するモノクローナル抗体は、アフラトキシン G₁ に対して高い交差反応性を示した。ELISA により、1~100 nM のアフラトキシンの測定が可能だった。アフラトキシン産生菌株の培養上清を測定した結果、高速液体クロマトグラフィー法で測定した結果と良い相関を示した。71 菌株を培養した結果、YES 培地では 28 菌株にアフラトキシンの産生を確認した。一方、SL 培地の培養上清では先の 27 菌株を含む 53 菌株でアフラトキシンの産生が確認された。アフラトキシン産生菌の評価に対し、菌株の SL 培地を用いた培養と ELISA 法の有用性が明らかになった。

Keywords : aflatoxin, ELISA

Nakata, K.: Genetic Code Analysis by Computer

Braz. J. Genet., 15, Supplement 1, 187~191 (1992)

核酸配列やタンパク質のアミノ酸配列上の種々の機能部位を理論的に解析する方法についてまとめた。配列上の機能部位周辺には様々の特徴が見られることが多い。神経回路網理論から発展したパターン認識機構の一つであるパーセプトロンの手法により核酸またはアミノ酸のパターンを判別したり、各々の配列に備わった特性を種々の方法で数値化する。核酸上のタンパク質にコードされる領域の境界部分では塩基の成分分布や周期性また snRNA と mRNA の自由エネルギーが考慮される。大腸菌のプロモータ領域では DNA の融解温度や DNA 構造のねじれ具合等も考慮される。タンパク質の場合は疎水性、親水性、電荷、二次構造等が考慮される。これらを統計的な判別解析により単独またはいくつかの特性を組み合わせることにより未知の配列から機能部位を予測する方法について述べた。

Keywords : functional site, character, discriminant analysis

成田紀子, 鈴木明子, 菊池 裕, 一戸正勝, 池淵秀治, 田中東一, 沢田純一: ハトムギおよびハトムギ製品の糸状菌とゼアラレノン汚染原因菌

マイコトキシン, 36, 39~44 (1992)

ハトムギの種実は生薬のヨクイニンの他、健康食品の一種としても利用されている。ハトムギ製品は時にアフラトキシンやゼアラレノンのようなカビ毒に汚染されたものが市場に出まわることがある。熱帯産の原料を用いたものでは *A. flavus* によるアフラトキシン汚染があるが、ゼアラレノン汚染の原因は不明であった。市場より収集したハトムギ製品から *A. flavus* のほか *Fusarium* 属菌、特に *F. pallidoroseum* が多数分離され、分離菌株を滅菌ハトムギに接種してから溶媒抽出した後、PHP-Sephadex LH-20 カラムでクリンアップしてから HPLC で測定したところ、24~55, 244 ng/g のゼアラレノン生産性が確認されたので汚染原因菌を特定することが出来た。

Keywords : Job's tears (hatomugi), zearalenone, *Fusarium*

Sekizawa, J. and Serizawa H.: Development of a database of safety evaluation information on pesticides

J. Pesticide Sci., 17, 291~294 (1992)

国際的な専門家グループによる農薬の安全性評価の情報は必ずしも広く利用されていない。国際機関による安全性評価結果と情報の所在、わが国の生産、輸入、輸出量データ、国内の規制情報、農薬の用途と構造による分類を検索しうるデータベースを開発した。安全性評価情報の例としては FAO/WHO 合同残留農薬委員会 (JMPR) による一日許容摂取量評価の基礎となった無影響量データの概要も検索可能とした。

Keywords : pesticide, safety evaluation, database

Sekizawa, J. and Ohtake, C.: Evaluation of necessity of risk assessment of pesticides using a database

J. Pesticide Sci., 17, 295~300 (1992)

農薬による人の健康と環境へのリスクを正しく評価する上で、農薬の使用量、国際機関によるリスク評価、国内での規制状況を知ることは大きな参考となる。著者の開発したデータベースを用いて国内で最近 16 年間において使用量の多かった 41 農薬について、使用量の推移、国際機関によるリスク評価の概要と規制状況を検討し、これら農薬について今後必要と思われるリスク評価のニーズを指摘した。

Keywords : pesticide, risk assessment, database

Yamamoto, M., Yamada, T., Yoshihira, K., Kawashima, K., Tanaka, S. and Takanaka, A.: **Analytical Method for BHA in Biological Samples by High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection** *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 38, 410~417 (1992)

電気化学検出器 (ECD) 一高速液体クロマトグラフィによる BHA の高感度分析法を確立した。感度は生体試料中の夾雑物による ECD 電極の汚れにより著しく減少して再現性が悪くなる。この汚れを最小限にするために移動相の検討および抽出溶媒を含む前処理法の検討を行った。移動相は 0.05 M NaClO₄/80% MeOH が最適だった。BHA 抱合体の加水分解法についても酵素水解法と酸水解法を比較した結果、尿では酵素水解法、肝臓では酸水解法が適し、血清ではどちらでも定量できた。遊離 BHA、総 BHA とともに定量限界は、尿および血清中 30 ng/g、肝臓中 100 ng/g であった。

Keywords : butylated hydroxyanisole, BHA, HP-LC-ECD

Sai, K., Hayashi, M., Takagi, A., Hasegawa, R., Sofuni, T. and Kurokawa, Y.: **Effects of antioxidants on induction of micronuclei in rat peripheral blood reticulocytes by potassium bromate**

Mutat. Res., 269, 113~118 (1992)

腎発癌剤臭素酸カリウムによる小核誘発性に対する抗酸化剤の効果を、ラット末梢血を用いたアクリジンオレンジ超生体染色による小核試験法により検討した。臭素酸カリウム投与による網赤血球中の小核誘発は、グルタチオンやシステインの併用投与により効果的に抑制された。また、リボソーム封入型スーパーオキシドジスムターゼの処置では影響がみられなかったが、ビタミン C の併用投与においても抑制効果が認められた。以上のように臭素酸カリウムによる小核の誘発は抗酸化剤 (特に SH 基化合物) により抑制されることから、臭素酸カリウムによる染色体異常の誘発に、ある種の活性酸素が関与していることが推察された。

Keywords : potassium bromate, antioxidant, micronucleus

Sai, K., Takagi, A., Umemura, T., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Changes of 8-hydroxydeoxyguanosine levels in rat organ DNA during the aging process**

J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., 11, 139~143 (1992)

老化のメカニズムに、酸化的 DNA 傷害の関与する可能性が指摘されている。そこで、加齢に伴う酸化的 DNA 傷害の蓄積性について調べるため、雌雄の 6~30 カ月齢 F344 ラットの脳、肺、肝、腎および脾臓について酸化的 DNA 傷害産物である 8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OH-dG) を指標として検索した。その結果、雌雄ともに加齢に従い、肝および腎において 8-OH-dG レベルが顕著に増加することが明らかとなったそれに対し、脳、肺および脾臓では大きな変化が認められなかった。従って、加齢による酸化的 DNA 傷害の蓄積性については、臓器によりその程度の異なることが明らかとなった。

Keywords : aging, oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine

Takagi, A., Sai, K., Umemura, T., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: **Hepatomegaly is an early biomarker for hepatocarcinogenesis induced by peroxisome proliferators**

J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., 11, 145~149 (1992)

ペルオキシソーム増殖剤による肝発がん作用と肝肥大との関連性について検討した。雄 F-344 ラットに clofibrate, ciprofibrate, nafenopin, gemfibrozil, Wy-14, 643, di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) および di(2-ethylhexyl) adipate (DEHA) を発がん用量で粉末飼料に添加し、1 週間投与した。その結果、投与 1 週後の肝重量と肝発癌性の強さに高い相関性が認められた ($r=0.91$)。肝発癌性が不明な perfluoro-octanoic acid, simfibrate および DL-040 を同様に投与したところ各投与群とも肝肥大が認められ、perfluoro-octanoic acid 群で特に顕著であった。一方、DEHP による肝肥大に対し、抗酸化である butylated hydroxyanisole および vitamin E の投与は影響を及ぼさなかった。これらの結果、ペルオキシソーム増殖剤の短期投与による肝肥大は同化合物の肝発がんの強さを推測する早期の biomarker として有用であることが示唆された。

Keywords : peroxisome proliferator, hepatocarcinogenesis, hepatomegaly

Takagi, A., Momma, J., Aida, Y., Takada, K., Suzuki, S., Naitoh, K., Tobe, M., Hasegawa, R., and Kurokawa, Y.: **Toxicity studies of a synthetic antioxidant, 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) in rats, 1. Acute and subchronic toxicity**

J. Toxicol. Sci., 17, 135~153 (1992)

2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) (MBEBP) の急性および亜慢性毒性を Wistar ラットを用いて調べた。急性毒性試験で LD 50 は雌雄とも経口および腹腔内投与とも 10 g/kg 体重以上であった。亜慢性毒性試験では一群 10 匹のラットに MBEBP を 0.2, 1.0 および 5.0% の濃度で飼料に添加して与え、4 および 12 週目に各種検査を実施した結果、体重は雌雄とも 1.0 および 5.0% 群で有意な増加抑制が認められ、血液学的検査では雌雄とも 1.0 および 5.0% 群で軽度の貧血が認められた。血清生化学検査ではトリグリセライドレベルおよびコリンエステラーゼ活性の減少とアミラーゼ活性の増加が検体投与各群で認められた。組織学的には精巣の萎縮と精子形成の減少が雄の 1.0 および 5.0% 群で認められ、副甲状腺の空胞化が雌の 1.0 および 5.0% 群で認められた。この結果、LOAEL は雄で 171 mg/kg 体重、雌で 180 mg/kg 体重と算定された。

Keywords : 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol), subchronic toxicity, testicular toxicity

Otsuka, M.*¹, Sakashita, Y.*¹, Arakawa, N.*¹ and Tsuda, M.: **Studies on endogenous formation of N-nitroso compounds in the guinea pig supplemented with proline or thioproline and sodiumnitrate**

Fd Chem. Toxicol., 30, 765~769 (1992)

体内ニトロソ化合物生成能を正常モルモットおよびビタミン C 欠乏モルモットを用い、尿中ニトロソプロリン (NPRO) およびニトロソチオプロリン (NTPRO) を指標として検討した。モルモットに 34 mg (0.4 mmol) の硝酸塩を経口投与後、10 mg のプロリンまたはチオプロリンを経口投与した際の、尿中 NPRO および NTPRO 排泄量は、それぞれ 2.0 μ g および 28.7 μ g/24 h であった。

また、同様に、亜硝酸塩 0.05 mmol を経口投与した場合の、尿中 NPRO および NTPRO 排泄量は、それぞれ 0.7 μ g および 13.3 μ g/24 h であった。この事は、0.1 mmol 以上の硝酸塩が体内で亜硝酸塩に変換され、体内ニトロソ化に関与したことを示唆した。チオプロリンはプロリンより効果的な体内亜硝酸捕捉剤となることを明らかにした。これらの体内ニトロソ化反応はアスコルビン酸投与により、用量依存的に抑制された。

Keywords : endogenous N-nitrosation, N-nitrosamino acids, guinea pig

*¹ お茶の水女子大学

Takagi, A., Kawasaki, N., Momma, J., Aida, Y., Ohno, Y., Hasegawa, R., and Kurokawa, Y.: **Toxicity studies of a synthetic antioxidant, 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) in rats, 2. Uncoupling effect on oxidative phosphorylation of liver mitochondria**

J. Toxicol. Sci., 18, 49~55 (1993)

ラット単離肝ミトコンドリアの酸化リン酸化に及ぼす 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol) (MBEBP) の影響について調べた。その結果、50 μ M 以下の MBEBP の濃度でミトコンドリアの state 4 の呼吸は促進され、state 3 の呼吸は抑制された。100 μ M 以上の濃度では呼吸阻害が認められた。この結果、MBEBP はミトコンドリアの酸化リン酸化に対し、脱共役作用を有することが明らかになった。

0.2, 1.0 および 5.0% 濃度の MBEBP 添加飼料をラットに 4 週間投与すると肝ペルオキシソーム酵素のシアン非感受性パルミトイル CoA 酸化活性とカタラーゼ活性は減少した。1.0 および 5.0% 濃度の MBEBP 添加飼料をラットに 4 週間投与するとミクロソームの NADPH チトクローム C 還元酵素活性は増加したが、チトクローム P-450 および b₅, アミノピリン N-脱メチル化活性、ベンツピレン水酸化活性は変化しなかった。

Keywords : 2,2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol), isolated liver mitochondria, uncoupler

Tsugane, S.*¹, Tsuda, M., Gey, F.*² and Watanabe, S.*¹: **Cross-sectional study with multiple measurements of biological markers for assessing stomach cancer risks at the population level**

Environ. Health Perspect., 98, 207~210 (1992)

日本における胃癌死亡率と種々の生化学的指標との相関に関する横断的疫学研究を実施した。胃癌死亡率の異なる 4 地域 (秋田, 岩手, 長野, 沖縄) において無作為抽出した 40 代の男性およびその配偶者から血液および 24 時間尿を採取した。血中の微量栄養素ビタミン A, C および E, β -カロテン, リコペン濃度, 尿中の食塩, 硝酸塩およびニトロソアミノ酸 (NPRO, NTPRO & NMTPRO) 排泄量を分析した。尿中食塩排泄量と胃癌死亡率は強い相関を示した。尿中硝酸塩および全ニトロソアミノ酸量と胃癌死亡率間には相関はなかったが、胃癌低リスク地域の沖縄では NTPRO および NMTPRO 排泄量が著しく低レベルであり、注目に値した。胃癌の発生と促進における食塩摂取の重要性が確認された。また、ニトロソアミノ酸およびリコペンも胃癌発生と関連している事が示唆された。

Keywords : stomach cancer mortality, sodium chloride, N-nitrosamino acid

*¹ 国立がんセンター

*² University of Bern, Switzerland

小川幸男：ランタンの生体影響に関する研究—ラットにおける連続強制経口投与—
衛生化学, 38, 545~553 (1992)

希土類元素の連続経口摂取による生体への影響については殆ど知られていない。そこで、ラットに塩化ランタン7水和物を, 0(C), 40, 200 および 1000(H)mg/kgの用量で連続 28 日間強制経口投与し, 生体に及ぼす影響を調べた。CおよびH群には投与後 14 日間の無処置期間を置く回復群を設けた。体重および摂餌量の測定, 血液学, 血清生化学および病理組織学的検査を行い, 臓器中の La 濃度および必須元素濃度の測定は, 誘導結合プラズマ発光分析機 (ICP-AES) あるいは誘導結合プラズマ質量分析機 (ICP-MS) を用いておこなった。La は雌雄の肝臓・腎臓・脾臓および大腿骨より用量に依存して検出され, 吸収されることが明らかになった。La は肝臓から最も高濃度に検出され, H群の血清中のトランスアミナーゼ活性の増加から肝障害が示唆されたが, 病理組織学的には肝臓に異常は認められなかった。H群の雌雄の前胃には刺激による組織学的変化が観測された。また, 臓器中の必須元素濃度においては, 雌雄の H群の肝臓, 腎臓および脾臓中の鉄濃度, 大腿骨のバリウムおよびストロンチウム濃度の低下が観測された。

Keywords: lanthanum chloride, accumulation, hepatotoxicity

鈴木幸子, 小川幸男, 岸 洋子*1, 千葉百子*2:
希土類元素 (Y, La, Eu, Gd) の強制経口投与によるラット大腿骨中投与元素濃度の比較

Biomed Res Trace Elements, 3, 197~198 (1992)

希土類元素の生体に及ぼす影響を検討するため, 塩化ランタン7水和塩, 塩化イットリウム6水和塩, 塩化ユーロピウム6水和塩, 塩化ガドリニウム6水和塩をそれぞれ 40, 200, 1000 mg/kgの用量で 28 日間連続強制経口投与し, ラット大腿骨中のランタン, イットリウム, ユーロピウム, ガドリニウムをプラズマ質量分析法を用いて測定し, 必須元素としてバリウム, ストロンチウム, 亜鉛をプラズマ発光分析法を用いて測定した。その結果, 4元素の骨への蓄積性はイットリウムが最も高く, 次にガドリニウム>ユーロピウム>ランタンの順であった。これはイオン半径との関連が考えられた。必須元素の影響としては希土類元素を投与することによってバリウム, ストロンチウム濃度が減少傾向を示し, 亜鉛濃度が増加傾向を示した。

Keywords: rare earths, accumulation, rat femur

*1 横川アナリティカルシステムズ(株)

*2 順天堂大学医学部衛生学

Umemura, T., Tokumo, K.*1 and Williams, G. M.*2: Cell proliferation induced in the kidneys and livers of rats and mice by short term exposure to the carcinogen p-dichlorobenzene
Arch Toxicol., 66, 503~507 (1993)

p-Dichlorobenzene (p-DCB) を雌雄の F344 ラットおよび B6C3F1 マウスに 150 から 600 mg/kg の濃度で 4 日間強制経口投与し肝臓および腎臓の細胞増殖率を測定した。雄ラット腎臓近位尿細管上皮細胞の分裂亢進が高用量で認められた。一方, 雌ラットおよび雌雄のマウスでは認められなかった。肝細胞の分裂亢進はすべての実験群で認められた。雄ラットの腎臓および雌雄のマウスの肝臓で細胞分裂の亢進が認められたことは発癌性試験と一致する結果となった。しかし, 雌マウスの低用量および雌雄のラットの肝細胞で細胞増殖の亢進が認められ, この事は短期の細胞増殖亢進では発癌への関与が不十分であることを示唆している。

Keywords: Cell proliferation, p-Dichlorobenzene

*1 広島大学医学部

*2 American Health Foundation, USA

Sekizawa, J.: Risk assessment of tumor promoters using no-observed-effect-level data

Jpn. J. Risk Analysis, 4, 115~119 (1992)

発がんプロモーターの作用機作から考え, 「いき値」の存在が推定される場合がある。動物を用いた二段階発がん実験系における前がん病変の検出「いき値」を農薬の HCH, ダイオキシン, フェノバルビタールについて文献中に調査しこのデータと, 人におけるこれら物質の体内蓄積, 摂取量データとを比較した。プロモーターについては, イニシエーターと異なるリスク評価の方法の開発が重要と思われる。

Keywords: risk assessment, tumor promoter, threshold

Inoue, K., Nakazawa, K., Watano, T., Ohara-Imaizumi, M., Fujimori, K. and Takanaka, A.: Dopamine-receptor agonists and antagonists enhance ATP-activated currents

Eur. J. Pharmacol., 215, 321~324 (1992)

ATPにより活性化されるイオン電流に対するドパミンの作用を PC 12 細胞を用いて検討した。ドパミン受容体作動薬により電流は増大した。この増強作用はドパミン受容体遮断薬でも観察された。この結果は, 1) ドパミンが ATP 刺激に対し正のフィードバックをかける, 2) 未知のドパミン受容体がこの反応に関与する, ことを示している。

Keywords: ATP-activated channel, dopamine

井上和秀, Michael R. Duchon*: **Fast Differential Ramp Voltammetry (FDRV) 法による単一神経細胞 PC12 からの ATP 刺激誘発ドーパミン (DA) 放出の測定**
神経化学, 31, 480~481 (1992)

ATP 刺激による DA 放出と細胞内 Ca 濃度 ([Ca]_i) 変化の関係を, FDRV 法と indol 法により単一 PC 12 細胞で検討した。[Ca]_i は, ATP 刺激により一過性に上昇し, 刺激後速やかにもとのレベルにまで回復した。DA 放出はそれに数秒遅れて始まり, その後同じ様な経過をたどった。ATP 刺激により [Ca]_i 上昇と DA 放出が単一の細胞で一過性に生じることがわかった。

Keywords: FDRV, ATP, single cell

* University College London

Inoue, K., and Nakazawa, K.: **ATP receptor-operated Ca²⁺ -influx and catecholamine release from neuronal cells**

News Physiol. Sci., 7, 56~59 (1992)

細胞外 ATP は, 1) P₂ プリン受容体の刺激, 2) Ca²⁺ 透過型チャネルの活性化, 3) このチャネルを介した細胞外 Ca²⁺ の流入, 4) カテコラミンの遊離という機序で興奮性作用を発現するという仮説を提唱した。また, ATP 刺激により細胞膜電位は脱分極するにもかかわらず, 電位依存性 Ca チャネル (VGC) が活性化しないのは, ATP 刺激により流入した Ca により VGC の抑制がかかっているためと解された。

Keywords: ATP, PC 12, catecholamine release

小島比呂志*, 井上和秀: **cDNA の Xenopus oocyte 細胞核への注入による中枢神経アセチルコリン受容体の発現**

医学のあゆみ, 161, 955~956 (1992)

アフリカツメガエル卵母細胞に cDNA を注入し, アセチルコリン受容体チャネルを発現させた。発現したチャネルは mRNA の注入によって発現させたチャネルと同様の薬理的性質, 単一チャネル電流を示した。cDNA 注入法は簡便であるだけでなく他の点でも mRNA 注入法より優れており, 今後のイオン・チャネルの性質の解明に有用であると考えられる。

Keywords: cDNA, oocyte

* University College London

Ueno, N., Harata, N., Inoue, K., and Akaike, N.: **ATP-gated current in dissociated rat nucleus solitarii neurons**

J. Neurophysiol., 68, 778~785 (1992)

ラット孤東核細胞を単離し, ATP に対する反応を調べた。ATP は濃度依存的に内向き電流を惹起した。この電流はイオン選択性の低いカチオン透過型チャネルを介すること, ならびに P₂ プリン受容体の一種が活性化に寄与することが推定された。ATP 依存性チャネルが中枢神経にも存在することが明らかとなった。

Keywords: ATP channels, isolated cells

* 東北大学医学部

Nakazawa, K., and Inoue, K.: **Roles of Ca²⁺ in flux through ATP-activated channels in catecholamine release from pheochromocytoma PC12 cells**

J. Neurophysiol., 68, 2026~2032 (1992)

ATP 依存型チャネルを介して流入するカルシウムのカテコラミン遊離における役割を PC 12 細胞で検討した。ATP によるカテコラミン遊離および細胞内カルシウム濃度上昇は電位依存型カルシウムチャネルの阻害薬で影響されなかった。細胞外カルシウムをバリウムに置換した場合, カルシウムチャネル阻害薬に感受性をもつ成分がカテコラミン遊離で観察された。カルシウムチャネルを介するイオン電流はカルシウム存在下では ATP により抑制されたが, バリウム存在下では抑制されなかった。以上のことから, ATP 依存型チャネルにより供給されるカルシウムは, カテコラミン遊離に直接利用されると同時に, カルシウムチャネルを不活性化すると推測された。

Keywords: catecholamine release, ATP-activated channel, voltage-gated Ca²⁺ channel

小泉修一, 井上和秀, 綿野智一, 藤森観之助, 熊倉鴻之助*, 高伸 正: **ATP 刺激によるドーパミン放出過程における myosin light chain の関与**
神経化学, 31, 212~214 (1992)

PC 12 細胞を用いて, ATP 受容体刺激により惹起されるドーパミン (DA) 放出過程における myosin light chain (MLC) の関与を検討した。ATP (100 μM) 刺激による PC 12 細胞からの DA 放出は, MLCKinase (MLCK) の選択的拮抗薬, wortmannin (WT; 0.1~10 μM) の 1 時間前処置により, 濃度依存的に抑制され 10 μM ではほぼ完全に消失した。IC₅₀ は 0.3 μM であった。一方, ATP 刺激による細胞内 Ca²⁺ 濃度 ([Ca²⁺]_i) の上昇は, WT (10 μM) の前処置により全く影響を受けなかった。すなわち WT は, ATP 刺激による細胞内への Ca²⁺ 流入に影響を与えることなしに, DA 放出を抑制した。本実験結果より, ① [Ca²⁺]_i 上昇以降の DA 開口放出過程に MLC のリン酸化が深く関与していること, ② WT は MLCK を阻害することにより DA の開口放出を抑制することが示唆された。

Keywords: myosin light chain, ATP-stimulated release, wortmannin

* 上智大学生命科学研究所

Nakazawa, K., Saito, H.*, and Matsuki, N.*: **Effects of calcitonin gene-related peptide (CGRP) on Ca²⁺-channel current of isolated smooth muscle cells from rat vas deferens** *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **346**, 515~522 (1992)

CGRPの膜電流に対する作用を、ラット精管の単離平滑筋細胞を用いて調べた。CGRPはカルシウムチャンネルを介する内向き電流を増強した。内向き電流の不活性化および不活性化からの回復は遅延した。電位依存性、ニカルジピン感受性は影響されなかった。

Keywords : CGRP, Ca²⁺ channels

* 東京大学薬学部

Watano, T., Nakazawa, K., Obama, T., Mori, M., Inoue, K., Fujimori, K., and Takanaka, A.: **Non-competitive antagonism by hirsuteine of nicotinic receptor-mediated dopamine release from rat pheochromocytoma cells** *Jpn. J. Pharmacol.*, **61**, 351~356 (1993)

ヒルス테인 (HT) のニコチン受容体を介する作用への影響を PC 12 細胞を用いて検討した。HT はニコチンによるドパミン遊離および内向きイオン電流活性化を非競合的に抑制した。HT は主としてニコチン受容体チャンネル、おそらくはそのイオン透過を阻害して、ドパミン遊離を抑制すると考えられる。

Keywords : hirsuteine, nicotinic receptor

高島明彦*, 野口かおり*, 井上和秀: **細胞外 ATP 刺激による PC12 細胞の DNA 合成** *神経化学*, **31**, 340~341 (1992)

PC 12 細胞の各種刺激による DNA 合成を ³H-thymidine の酸性非可溶性フラクションへの取り込みにより検討した。ATP 刺激によってのみ濃度依存的な DNA 合成増大が引き起こされたが、カルバミルコリン、高濃度 K およびカフェイン刺激では DNA 合成は影響を受けなかった。ATP 類似アゴニストの作用強度比および ATP 受容体ブロッカーの作用から、ATP による DNA 合成促進作用は ATP 受容体を介することが明らかとなった。

Keywords : DNA synthesis, ATP, ATP receptor

* ㈱三菱化成生命科学研究所

Nishikawa, A., Prokopczyk, B.*, Rivenson, A.*, Zang, E.* and Hoffmann, D.*: **A study of betel quid carcinogenesis VIII. Carcinogenicity of 3-(methylnitrosamino)propionaldehyde in F 344 rats.** *Carcinogenesis*, **13**, 369~372 (1992)

F344 ラットに Areca-specific N-nitrosamines の一つである 3-(methylnitrosamino) propionaldehyde を週 3 回 15 週間にわたって皮下注したところ、実験開始から 100 週後において、有意な肺腫瘍の発生増加がみられ、肝、鼻腔、前胃、腎の腫瘍発生も増加した。

Keywords : betel quid, MNPA, carcinogenicity

* American Health Foundation

Nakazawa, K., Watano, T., and Inoue, K.: **Mechanism underlying facilitation by dopamine of ATP-activated currents in rat pheochromocytoma cells** *Pfluegers Arch.*, **422**, 458~464 (1993)

PC 12 細胞における、ドパミンによる ATP 依存性電流促進の作用機序を検討した。ドパミンは ATP 依存性電流の活性化過程を加速した。この速度論的变化は振幅の増大を説明しうるものであった。振幅の増大および活性化の加速は、非選択的なプロテインキナーゼ阻害薬である K-252a の細胞内負荷により消失した。

Keywords : dopamine, ATP-activated channel

Nakazawa, K., and Hess, P.*: **Block by calcium of ATP-activated channels in pheochromocytoma cells** *J. Gen. Physiol.*, **101**, 377~392 (1993)

ATP 依存性チャンネルのカルシウムによる抑制を単一チャンネル記録により検討した。外側に加えた場合、カルシウムは mM オーダーの濃度で電流を抑制した。この抑制には電位依存性が認められなかった。カルシウムの内側からの抑制は、外側からの場合の 10 分の 1 の濃度より観察された。内側からの抑制には電位依存性が認められた。

Keywords : ATP-activated channel, Ca-block

* Harvard Medical School, USA

Nakazawa, K., Higo, K.*, Abe, K.*, Tanaka, Y.*, Saito, H.*, and Matsuki, N.*: **Block by calmodulin inhibitors of Ca²⁺ channels in smooth muscle from rat vas deferens**

Br. J. Pharmacol., **109**, 137~141 (1993)

ラット精管を標本としてカルモデュリン阻害薬のカルシウムチャンネルへの影響を調べた。トリフルオペラジン (TFP), W-7, カルミダゾリウム (CMZ) の 3 種類のカルモデュリン阻害薬は高カリウムにより持続的に収縮させた標本を用量依存的に弛緩させた。トリチウム標識したニモジピンの結合、およびカルシウムチャンネルを介するバリウム電流もこれらの阻害薬で抑制された。作用に要する濃度は TFP と W-7 では上記 3 種類の実験で一定であった。しかし、CMZ では一致せず、弛緩発現には結合実験、電流測定での抑制に比べ 100 倍以上の濃度が必要であった。カルシウムチャンネル抑制が認められた濃度はカルモデュリンに対する解離定数と同程度であることから考えて、これらの阻害薬を細胞外から投与した場合の作用をカルモデュリン阻害によると判断するのはきわめて危険であるといえる。

Keywords : calmodulin inhibitors, Ca²⁺ channels, smooth muscle

* 東京大学薬学部

Khan, M. F., Ohno, Y., Takanaka A.: **Effect of tetrakis- μ -3, 5-diisopropylsalicylatodiaquodocopper (II) on the status of reduced glutathion in freshly isolated hepatocytes**

Arch. Toxicol., **66**, 587~591 (1992)

SOD様の活性を有する銅の錯化合物 tetrakis- μ -3, 5-diisopropylsalicylatodiaquodocopper (II) の遊離肝細胞の酸化還元状態を示す指標の一つである細胞内 GSH に対する影響を検討したところ、150~250 μ M で GSH を低下させるとともに、細胞毒性を示した。この GSH 低下は GSSG (酸化型 GSH) の増加を伴わなかった。また、200 μ M の CuCl₂ はこのような作用を示さず、鉄キレート剤である deferoxamine は GSH と細胞毒性の両者を抑制した。また、本薬による細胞死には GSH の低下が先行しなかった。これらのことから、本薬による H₂O₂ 生成と、鉄イオン存在下での OH ラジカル生成が細胞毒性に関与している可能性が示された。

Keywords : tetrakis- μ -3, 5-diisopropylsalicylatodiaquodocopper (II), hepatocytes, GSH

Usami, M., Nakaura, S., Kawashima, K., Tanaka, S. and Takanaka, A.: **Culture of postimplantation rat embryos in rabbit serum for the identification of the growth factor in fractionated rat serum**

J. Exp. Zool., **264**, 214~218 (1992)

培養胎芽に対する血清の種特異的な発育促進効果を利用して、ラット胎芽の発育に必要な血清因子を調べた。基本培養液としてウサギ血清を用い、ラット血清分画を添加してラット胎芽を培養した。ウサギ血清のみでは、ラット胎芽はほとんど発育しなかった。ラット血清の限外ろ液を添加した場合、分子量 300000 以下のろ液には胎芽発育促進効果が認められたが、100000 以下のろ液には効果がなかった。透析ラット血清またはラット血清グロブリン分画には胎芽発育促進効果が認められたが、アルブミン分画には効果がなかった。これらの結果から、ラット血清グロブリン分画には培養ラット胎芽に必要な高分子の因子が存在すると結論された。この因子の分子量は 65000~300000 であると推定された。また、ウサギ血清は、この血清因子の同定のために適した培養液であると考えられた。

Keywords : rat embryo culture, rat serum, rabbit serum

Kimura, M.*¹, Maeda, K.*¹, Harasawa, Y.*¹, Ohno, Y., Nakamura, M.*², Sakurai, I.*² and Hayashi, S.*¹: **Recovery of endothelium-dependent responses by reseeded endothelial cells in culture onto the denuded coronary artery**

J. Pharmacol. Exp. Ther., **262**, 841~849 (1992)

内皮細胞を剥離した冠動脈血管条片は Ca イオンフォア A 23187 により弛緩を現さなくなるが、*in vitro* で培養増殖させた内皮細胞を再植え込みすることにより、その量に依存した弛緩作用を示すようになった。一方、ブラジキニン (BK) は内皮細胞剥離により強い収縮性を示すようになるが、内皮細胞再植え込みにより収縮性は低下した。ノルエピネフリンおよびセロトニンによる収縮は内皮細胞再植え込みにより低下し、KCl による収縮は影響されなかった。これらのことから、A23187 や BK による血管弛緩作用には内皮細胞由来因子 (EDRF) が強く関与していることが示されたとともに、再植え込みした内皮細胞からも EDRF が放出されることが示された。

Keywords : coronary artery, endothelial cells, EDRF

*¹ アップジョンファーマシューティカルズリミテッド

*² 日本大学医学部

F. Furukawa, K. Imaida, T. Imazawa, Y. Hayashi and M. Takahashi: **Modifying effects of soybean trypsin inhibitor on development of eosinophilic nodules and basophilic foci in the exocrine pancreas of male Sprague-Dawley rats treated with 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide.**

Jpn. J. Cancer Res. **83**, 40~44 (1992)

4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide (HAQO) はラットに静脈内投与すると膵の腺房細胞に好酸性結節と好塩基性巣を発生させる。今回、SD ラットに HAQO を静脈内に 1 回投与して、soybean trypsin inhibitor (SBTI) を 5%, 2.5%, 0% に飼料中に混じて 51 週間投与した。その結果、好酸性結節は HAQO 群に比して HAQO/10% SBTI と HAQO/5% HAQO 群で有意に増加し、それに反して好塩基性巣は HAQO 群に比して HAQO/10% SBTI と HAQO/5% SBTI 群で有意に減少した。ラットに SBTI を投与すると血中の cholecystokinin (CCK) 量は増加し、腺房細胞に対して栄養効果を示すことが知られており、SBTI をあたえて CCK が高値の状態が長期間持続すると、好酸性結節と好塩基性巣の発生に影響を与えることが明らかとなった。

Keywords : 4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide, Soybean trypsin inhibitor, Rat

古川文夫, 高橋道人: ラット脾のランゲルハンス氏島腫瘍発生における cortisol acetate の影響と免疫組織化学的検討

日本脾臓学会誌, 7, 1~6 (1992)

Streptozotocin (SZC) をラット尾静脈より単回投与した後, cortisol acetate (CA) を投与し, 脾ラ氏島 (ランゲルハンス氏島) 腫瘍発生におよぼす CA の影響を検討した。また, 発生したラ氏島腫瘍を免疫組織化学的に検索し, ラ氏島腫瘍の形質発現に与える CA の影響を検討した。その結果, SZC によるラ氏島腫瘍発生において CA は腫瘍の発生率には影響を与えなかった。SZC 群に発生した腫瘍は insulin, neuron specific enolase (NSE) については全例陽性 (100%), somatostatin は 86%, glucagon は 42% が陽性を示した。SZC 処置後 CA を投与した群では insulin, NSE, glucagon の陽性率には影響を与えなかったが, somatostatin 陽性腫瘍は 55% に減少した ($p < 0.05$)。Gastrin は検索した腫瘍すべてが陰性を示した。これらの結果, ラット脾のラ氏島腫瘍発生に対して CA は影響を与えなかったと考えられたが, 腫瘍発生における形質発現には影響を与えることが明らかとなった。

Keywords: Streptozotocin, Cortisol, Islet cell tumor

F. Furukawa, H. Sato, K. Imaida, K. Toyoda, T. Imazawa, M. Takahashi and Y. Hayashi: Induction of pancreatic tumors in male Syrian golden hamsters by intraperitoneal N-methyl-N-nitrosourea injection.

Pancreas, 7, 153~158 (1992)

雄ハムスターに N-methyl-N-nitrosourea (MNU) を腹腔内に投与して発癌性を検索した結果, 主に脾臓, 前胃, 副腎に腫瘍が多発した。特に脾の腫瘍の発生率は高く, 病理組織学的には膵管癌, ラ氏島腫瘍, 腺房細胞癌であった。膵管癌はヒトの膵管癌と組織型が類似した分化型腺癌であり, またラ氏島腫瘍ではインシュリン, グルカゴン, ソマトスタチンを免疫組織化学的に検索した結果, すべてが陰性であり非機能性の腫瘍であった。電顕的にチモゲン顆粒を証明した腫瘍は, 周囲組織に浸潤する悪性度の高い腺房細胞癌と考えられた。他には非常に稀な精巣の seminoma が 1 例発生した。MNU は多臓器に発癌性を示すが, ハムスターに腹腔内に投与すると主に脾に標的性を示し, 脾発癌モデルとして有用と考えられた。

Keywords: N-methyl-N-nitrosourea, pancreatic carcinogenesis, Syrian golden hamster

Maekawa, A.*¹, Onodera, H., Ogasawara, H., Matsushima, Y., Yoshida, J., Shibutani, M., Mitsumori, K, and Hayashi, Y.: Dose-dependent promoting effect of phenobarbital on rat hepatocarcinogenesis.

J. Toxicol. pathol. 5, 47~53 (1992)

Phenobarbital (PB) のプロモーション作用の強さをラット肝二段階発癌モデルを用いて検討した。Diethylnitrosamine (DEN) 100 mg/kg を一回腹腔内に投与しその一週間後より飲料水に 600, 300, 150, 75, 38 ppm の濃度で溶解した PB を 39 週間自由に与えた。肝腫瘍発生は 600 と 300 PB 群で有意に増加し, 酵素変異巣は数, 面積とも PB の用量に相関して増加した。38 ppm 群でも有意の差はなかったものの, 酵素変異巣の特に数が増加する傾向を示したのでさらに低用量での PB を投与する実験を行った。方法は前と同様で PB 濃度を 1200, 300, 75, 16, 4, 1 ppm とした。腫瘍の発生は 300 ppm 以上で増加し, 肝の重量は 75 ppm 以上で, 酵素変異巣では 16 ppm 以上の PB で増加した。酵素変異巣について数理モデルの Logit 法を用いた PB のプロモーション最少量は 15~23 ppm であり, 今回の実験結果と一致した。また, 1 ppm の PB では DEN のみの群と比べ腫瘍の発生率, 酵素変異巣の数, 面積とも低い値を示した。

Keywords: Dose-dependent effect, Phenobarbital, Hepatocarcinogenesis.

*¹ 佐々木研究所・病理

Takahashi, M., Imaida, K., Mitsumori, K., Okamiya, H., Shinoda, K., Yoshimura, H., Furukawa, F., and Hayashi, Y.: Promoting effects of cigarette smoke on the respiratory tract carcinogenesis of Syrian golden hamsters treated with diethylnitrosamine.

Carcinogenesis, 13, 569~572 (1992)

短期呼吸器系腫瘍発生におけるたばこのプロモーション作用を雄ハムスターを用いて実験した。実験 1 では, 100 mg/kg の diethylnitrosamine (DEN) を一回皮下投与し, その後, 両口切り (NC) ないしフィルター付 (FC) たばこの煙ないしシャム煙を 12 週間吸入させた。DEN 投与群では期間に過形成や乳頭腫が誘発され, NC や FC 群のそれらの発生頻度や発生個数はシャム群に比し有意に増加した。実験 2 では, ハムスターにたばこ煙やシャム煙を 12 週間吸入させ, 投与 1, 2, 4, 8 および 12 週時に屠殺し, BrdU の免疫組織化学や肺と血清での脂質過酸化物質測定を実施した。たばこ煙群ではマクロファージの小集簇がみられたが, BrdU 陽性細胞数の増加はいずれの呼吸器組織にも認められなかった。同群の肺でのマロンアルデヒド量は 2 と 12 週時に増加したが, 4 と 8 週時にはそのような変化はみられなかった。

Keywords: Diethylnitrosamine, Promotion, Trachea carcinogenesis

Onodera, H., and Maekawa, A.*: **Organ-specific carcinogenicity of N-methyl-N-nitrosourea in rats.**

J. Toxicol Pathol. 5, 85~91 (1992)

N-ニトロソ化合物の発ガン標的臓器特異性については化学構造の違いだけでなく用いる動物の種類や系統あるいは投与経路の違いによっても異なる。N-アルキルニトロソ尿素は飲料水に混じてラットに投与するとアルキル基の違いにより標的臓器が異なり、系統差もあることが知られている。しかし、N-アルキルニトロソウレタンはニトロソ尿素と類似の構造を持ちながら同様の実験条件下で全く異なる臓器特異性を示した。ニトロソウレタンはアルキル基の違いにかかわらず標的臓器は上部消化管であり系統差も認められない。しかし、メチルニトロソウレタン (MNUR) についての発ガン標的臓器と系統差についてはまだ検討されていない。今回、ACI と Donryu ラットを各 120 匹を 3 群に分け MNUR を飲料水中に 40, 20, 10 ppm に溶解し自由に与えた。腫瘍は両系統ともほぼ 100% に発生したが主な標的臓器は上部消化管であり系統による差も認められなかった。しかし、他のアルキルニトロソウレタンと比べると上部消化管の腫瘍発生好発部位がわずかながら異なっていた。

Keywords: N-Methyl-N-nitrosourea (MNUR), Organotropism, Upper digestive tract tumor.

*1 佐々木研究所・病理

Nishikawa, A., Sodum, R.* and Chung, F.-L.*: **Acute toxicity of trans-4-hydroxy-2-nonenal in Fischer 344 rats.**

Lipids, 27, 54~58 (1992)

F344 ラットに脂質過酸化生成物一つである trans-4-hydroxy-2-nonenal (HNE) を 5 段階の用量で強制経口投与したところ、最高用量 (1000 mg/kg) の 40% のみが 14 日以内に死亡し、著明な腎尿管壊死を示した。一方、14 日間生存動物には腎の変化は顕著でなかったが、HNE の用量に相関した肝の変性ないし壊死がほぼ瀰漫性に観察された。

Keywords: toxicity, hydroxynonenal, rats

* American Health Foundation

今井田克巳, 畝山智香子, 小笠原裕之, 林 修次, 福原 潔, 宮田直樹, 高橋道人: **6-Nitrochrysenes による CD ラットの結腸腺癌と ICR マウスの肺腺癌の誘発: 各種標的臓器における癌原性と芳香族炭化水素水酸化酵素誘導の比較**

Cancer Res. 52, 1542~1545 (1992)

6-nitrochrysenes (6-NC) をマウス当たり 1.4 μmol , ラット当たり 14.8 μmol 投与することによりマウスでは肺に、ラットでは結腸に腺癌が誘発された。6-NC 投与による AHH 活性は標的臓器でもそれ以外の臓器でも高く、AHH 以外の要因も種特異性に関与すると考えられる。

Keywords: 6-nitrochrysenes, arylhydrocarbonhydroxylase, adenocarcinoma

H. Ohgaki, G. C. Hard, N. Hirota, A. Maekawa, M. Takahashi & P. Kleihues: **Selective Mutation of Codons 204 and 213 of the 53 Gene in Rat Tumors Induced by Alkylating-Nitroso Compounds.**

Cancer Res., 52, 2995~2998 (1992)

ヒトの腫瘍における腫瘍抑制遺伝子である p53 の変異は、臓器によって一定のパターンを示す。N-ニトロソ化合物によりラットに誘発させた種々の腫瘍について、p53 の変異の臓器別パターンを検討した。腎腫瘍および食道腫瘍では、75 から 100% という高率で p53 遺伝子の G から A への変換がみられた。この変換はかなり選択的でコドン 204 の部位で最も多く、次いでコドン 213 の部位で多く認められた。各々の変換は、コードしているアミノ酸をグルタミンからリジン、アルギニンからグリシンに変換していた。ヒトの腫瘍に比し、ラットの腎臓および食道腫瘍における p53 の多重変異は高率であった。N-nitrosoethylurea の経胎盤曝露によって誘発された腎芽腫のすべてと N-nitrosomethylurea によって誘発された食道腫瘍の 56% ではエクソン 6 のコドン 204 および 213 の二重変異がみられた。以上のような N-ニトロソ化合物による p53 のコドンの選択的標的性は、この種の化学発がん物質の分子疫学的研究の基礎となるものと考えられる。

Keywords: p 53, mutation, N-nitroso compounds

Maekawa, A.*1, Onodera, H., Ogasawara, H., Matsushima, Y., Mitsumori, K., and Hayashi, Y: **Threshold dose dependence in phenobarbital promotion of rat hepatocarcinogenesis initiated by diethylnitrosamine.**

Carcinogenesis 13, 501~503 (1992)

Phenobarbital (PB) の肝腫瘍発生におけるプロモーション作用用量を F344 ラットを用いて検討した。肝発癌物質である diethylnitrosamine (DEN) を 100 mg/kg 一回腹腔内投与し、その一週間後より PB を飲料水に 1, 4, 16, 75, 300, 1200 ppm の用量で溶解し 39 週間自由に摂取させた。対照群として DEN を投与後水道水を同様に与えた。肝腫瘍の発生は PB の 300 ppm 以上の用量で発生し、酵素陽性巣 (γ -glutamyltranspeptidase あるいは胎盤型 glutathion S-transferase) は 16 ppm から用量相関的に数・面積とも増加した。これらの結果より PB の DEN による肝二段階発がんモデルにおける閾値は 16 ppm 以下であることが示唆された。

Keywords: Dose-response, phenobarbital, hepatocarcinogenesis.

*1 佐々木研究所・病理

K. Toyoda, K. Imaida*¹, K. Mitsumori, H. Sato, A. Maekawa*², H. Onodera, M. Takahashi: **Correlation between cataract and retinopathy due to lighting in F344 rats used in a long-term carcinogenicity study.**

J. Toxicol. Env. Health, **37**, 495~509 (1992)

コハク酸1ナトリウムの癌原性試験に用いたF344ラットの最終生存例、雄79匹、雌106匹を対象として、動物飼育室の照明の照度とラットの白内障および網膜症発生との関連性、さらに白内障と網膜症発生との関連性について検索した。動物は12時間蛍光灯照明、12時間消灯の飼育室で透明なプラスチック製ケージ内で2年間飼育された。試験終了時に各ケージ内の照度を測定した。白内障の発生率と、網膜症の程度とは、いずれも統計学的に照度と良く相関していた。また、白内障の発生率は、雄で高かったが、網膜症の程度には雌雄差は認められなかった。一方、白内障の発生率と網膜症の程度は、いずれも、検体投与群と非投与群との間、および左眼と右眼との間で差は認められなかった。網膜症と白内障の発生との間には正の相関が認められたが、その発生率は網膜症の方が高く、網膜の方が水晶体に比べ照明による障害をより受けやすいものと思われた。

Keywords : light intensity, cataract, retinopathy.

*¹ 名古屋市大医学部

*² 佐々木研究所

Matsushima, Y., Onodera, H., Nagaoka, T., Mitsumori, K., Lu, J.*¹, and Maekawa, A.*²: **Promoting effects of 6-mercaptopurine on carcinogenesis in various organs of F344 rats**

Cancer Letters, **66**, 147~153 (1992)

多臓器発癌モデルにおける6-mercaptopurine (6-MP)のプロモーション作用をF344ラットを用いて検討した。N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) でイニシエーション処置後50 ppm含有6-MP飼料を35週間投与した。6-MPに起因する腫瘍発生は認められなかったが、ENU/6-MP群で肺、腸、腎の増殖性病変がENU群より軽度増加した。

Keywords : 6-mercaptopurine, Promoting effect

*¹ 佐々木研究所・病理

M. Sato, F. Furukawa, K. Toyoda, K. Mitsumori, A. Nishikawa and M. Takahashi: **Lack of carcinogenicity of ferric chloride in F344 rats.**

Fd. Chem. Toxic. **30**, 837~842 (1992)

食品添加物等を使用されている塩化第二鉄の発癌性をF344ラットを用いて検討した。塩化第二鉄を飲料水中に0, 0.25, 0.5%に混じ、雌雄各群50匹のラットに2年間摂取させた。その結果、対照群を含めた全ての群で種々の腫瘍が発生したが、対照群に比し有意な差はなかった。今回のF344ラットを用いた実験では塩化第二鉄に癌原性は認められなかった。

Keywords : ferric chloride, carcinogenicity, rat

Wang, M.*¹, Nishikawa, A. and Chung, F.-L.*²: **Differential effects of thiols on DNA modifications via alkylation and Michael addition by α -acetoxy-N-nitrosopyrrolidine.**

Chem. Res. Toxicol., **5**, 528~531 (1992)

Nitrosopyrrolidineによる仔牛胸腺DNAの修飾に対する3つのチオール (mesna, glutathione, N-acetylcysteine) の影響を検索したところ、mesnaはcrotonaldehydeのMichael additionを選択的に抑制するがアルキル化に対する影響は少ないことが判明した。他の2つにはこのような選択性はみられなかった。

Keywords : thiols, DNA adduct, crotonaldehyde

* American Health Foundation

Nishikawa, A., Furukawa, F., Imazawa, T., Yoshimura, H., Mitsumori, K. and Takahashi, M.: Mitsui, M., Enami, T., Kawanishi, T., Hasegawa, T.* and Takahashi, M.: **Effects of caffeine, nicotine, ethanol and sodium selenite on pancreatic carcinogenesis in hamsters after initiation with N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine**

Carcinogenesis, **13**, 1379~1382 (1992)

ハムスターにN-nitrosobis(2-oxopropyl) amineの皮下注によるイニシエーション処置後に、カフェイン、ニコチン、エタノールおよびセレンを37週間にわたって飲水投与したところ、カフェインのみが膵腺癌の発生を有意に抑制した。

Keywords : caffeine, carcinogenesis, pancreas

F. Furukawa, A. Nishikawa, K. Imaida, M. Mitsui, T. Enami, Y. Hayashi and M. Takahashi: **Inhibitory effects of crude soybean trypsin inhibitor on pancreatic ductal carcinogenesis in hamsters after initiation with N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine.**

Carcinogenesis, **13**, 2133~2135 (1992)

N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP) 膵発癌モデルにおけるプロモーションの時期にsoybean trypsin inhibitor (SBTI) を投与し膵癌発生に対する影響を検索した。実験はハムスターにBOPを3回投与し、1週間後から5%SBTI含有飼料を36週間与えた。その結果、BOP群に比しBOP投与後5%SBTI添加飼料群では膵管の異形成病変の発生率の有意な減少と1匹当りの腫瘍数の減少が認められた。また、膵管癌においても同様の減少傾向が認められた。腫瘍の発生を部位的に検索すると、胆膵共通管の腺癌がBOP群に比しBOP投与後5%SBTI添加飼料群で有意に減少した。

膵外分泌腺に対するBOPの毒性変化を外分泌腺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。

Keywords : N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine, Soybean trypsin inhibitor, Pancreatic carcinogenesis

Onodera, H., Matsushima, Y., Mitsumori, K., Nagaoka, T.*¹, Kitamura, T.*², Lu J.*² and Maekawa, A.*²: Association between ovarian tumors and uterine endometrial lesions in rats *J. Toxicol. Pathol.* 5, 215~222 (1992)

BOP 10 mg/kg を妊娠 14, 18, 20 日目に皮下投与することによりその出生仔に卵巣の顆粒膜細胞腫/黄体腫が高率に発生する。このとき卵巣腫瘍を有しない動物の卵巣は萎縮し、また子宮の過形成病変が高率に認められた。今回、これらの病変と卵巣腫瘍との関連について検索した。BOP を処置した動物で腫瘍を有しない卵巣は嚢胞形成や萎縮が、子宮では内膜上皮の高円柱化や内膜過形成また扁平上皮化生が高率に認められ、内分泌の異常を示唆する病理所見であった。また、解剖時に採取した血清中の 17β -estradiol (E2) と Progesterone (P) の測定では絶対値において対照群と有意な差はなかったが、その E2:P 比では BOP 処置群で有意に高くホルモンバランスの異常が認められ、組織所見と同様な結果が得られた。以上の結果より BOP を経胎盤的に投与し、その出生仔に卵巣腫瘍が高率に発生する原因としてホルモンバランスの異常が強く関与していることが示唆された。

Keywords: Ovarian tumor, Hormonal imbalance, transplacental.

*¹ 吉富製薬・中央研究所

*² 佐々木研究所・病理

Kanno, J.*¹, Onodera, H., Furuta, K., Maekawa, A., Kasuga, T.*¹ and Hayashi, Y.: Tumor-promoting effects of both iodine deficiency and iodine excess in the rat thyroid

Toxicol. Pathol., 20(2), 226~235 (1992)

ヨードの欠乏と過剰状態での甲状腺腫瘍促進作用において、腫瘍促進作用がみられない至適ヨード摂取量を求めるため、ラット二段階発がんモデルを用いて検討した。雄 F344 ラットに 2800 mg/kg の DHPN または生食を単回投与し、その後 Remington のヨード欠乏飼料で飼育すると同時に 12.5 μ g~260 mg/l のヨードカリ含有飲料水を与え重度なヨード欠乏状態から重度なヨード過剰状態を誘発させた。DHPN 処置ラットにおいて、両状態とも甲状腺濾胞細胞腫瘍の発生頻度が増加した。DHPN 無処置ラットにおいて、ヨード欠乏状態では瀰漫性の小型濾胞過形成がみられ、 T_4 の減少と TSH の増加を伴っていた。他方、ヨード過剰状態ではコロイド甲状腺腫がみられ、 T_4 は正常値であったが、TSH はわずかに減少した。これらの所見はヨードの欠乏あるいは過剰状態の程度と比例していることから、これらの状態では甲状腺腫瘍発生の促進機序が異なることが示唆された。

Keywords: Promoting effects, Iodine deficiency, Iodine excess

*¹ 東京医科歯科大学・病理

古川文夫, 今沢孝喜, 古田京子, 鈴木順子, 吉村博之, 西川秋佳, 高橋道人: nucleolar organizer regions (NORs) 染色について。

実験動物病理技術研究会, 1, 15~18 (1992)

Nucleolar organizer regions (NORs) は核小体に存在する ribosomal DNA のループで形成される構造であり、それに関連する蛋白 (NOR-associated proteins) が好銀性を示すことが知られている。その蛋白の中の一つである RNA polymerase I は細胞の転写活性に関与するとされ、細胞増殖活性を含む蛋白合成能を反映すると考えられている。この NORs 染色の再現性のある染色方法をハムスターの臍を用いて検討した。その結果、臍のランゲルハンス氏島 (ラ氏島)、臍管上皮細胞、腺房細胞の核内に黒褐色の球形および楕円形の顆粒として染め出され、周囲の核質と明瞭に区別された。その数はラ氏島 2.13 ± 0.99 個、臍管上皮細胞 2.10 ± 0.96 個、腺房細胞では 2.15 ± 0.89 個であった。この染色は簡便で、他の細胞増殖活性の検索指標との相関性も明らかにされており、染色も簡便で、長期のホルマリン固定標本にも染色可能であり、細胞増殖活性の検索に有用と思われる。

Keywords: Nucleolar organizer regions, NORs, Cell proliferation

古川文夫, 古田京子, 鈴木順子, 三井雅之, 榎並倫宣, 西川秋佳, 高橋道人: 増殖細胞核抗原 (PCNA) 免疫染色における抗原性の復活法。

臨床検査, 36, 1275~1278 (1992)

長期のホルマリン浸漬固定標本における増殖細胞核抗原 (PCNA) の抗原性の復活について検討した。薄切片を抗原復活液、硫酸亜鉛溶液および蒸留水に浸漬し、マイクロウェーブを照射し PCNA 免疫染色を行うことにより、硫酸亜鉛溶液 > 蒸留水 > 抗原復活溶液の順で強く染色された。蒸留水に浸漬してマイクロウェーブを照射する方法が推奨される。

Keywords: Proliferating cell nuclear antigen, Antigen retrieval method, Immunohistochemistry

Nishikawa, A., Furukawa, F., Mitsui, M., Enami, T., Kawanishi, T., Hasegawa, T.* and Takahashi, M.: Effects of calcium chloride on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and sodium chloride.

Carcinogenesis, 13, 1155~1158 (1992)

ラットに N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine と食塩によるイニシエーション処置後に塩化カルシウムを 52 週間にわたって飲水投与したところ、カルシウムの用量に相関した胃腫瘍の発生抑制がみられた。

Keywords: calcium, carcinogenesis, stomach

* 佐賀医科大学

Kawanishi, T., Ohno, Y., Takanaka, A., Kawano, S.*, Yamazoe, Y.*, Kato, R.*, and Omori, Y.: N-Nitrosodialkylamine dealkylation in reconstituted systems containing cytochrome P-450 purified from phenobarbital and β -naphthoflavone-treated rats.

Arch. Toxicol., 66, 137~142 (1992)

フェノバルビタールまたは β ナフトフラボン処置をしたラットから5種のチトクロームP-450を精製し、それぞれのP-450について再構成系を用いて各種のジアルキルニトロソアミン類の脱アルキル化能を比較検討した。両方のアルキル側鎖ともエチル基より短いジアルキルニトロソアミン類の脱アルキル化活性は得られたP-450すべてについて低かったが、それより長いアルキル側鎖を有するニトロソアミン類についてはP 450 IIB 1>P 450 IA 2>P 450 IA 1>P 450 IIB 2 \geq PB-III (同定できない分子種)の順に、脂溶性の高いニトロソアミン類ほど脱アルキル化能は高くなった。しかし、P-450 IA類については、ブチル基で頭打ちとなる傾向がみられた。

Keywords: nitrosamine, cytochrome P-450, metabolism

* 慶応大医学部

Watanabe, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: Comparison of the sensitivity of *Salmonella typhimurium* strains YG1024 and YG1012 for detecting the mutagenicity of aromatic amines and nitroarenes.

Mutat. Res., 301, 7~12 (1993)

芳香族アミンおよびニトロアレーンに高感受性を示すAmes test用試験菌株YG1024とYG1012の感受性について比較検討した。その結果、pKM101を持つYG1024株の方が広範囲の化合物に対して高い感受性を示すことが明らかとなり、より有用であることが示された。

Keywords: mutagenicity, acetyltransferase

Oda, Y.*, Shimada, T.*, Watanabe, M., Ishidate, M. Jr. and Nohmi, T.: A sensitive *umu* test system for the detection of mutagenic nitroarenes in *Salmonella typhimurium* NM1011 having a high nitroreductase activity.

Mutat. Res., 272, 91~99 (1992)

新しい*umu* test用試験菌株NM1011の性質について検討した。NM1011は、高いニトロ還元酵素活性を持ち、ニトロアレーンに対し高感受性株YG1021に匹敵する感受性を示した。

Keywords: *umu* test, nitroarene, nitroreductase

* Osaka Prefectural Institute of Public Health

Watanabe, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: Involvement of Cys⁶⁹ residue in the catalytic mechanism of N-hydroxyarylamine O-acetyltransferase of *Salmonella typhimurium*: sequence similarity at the amino acid level suggests a common catalytic mechanism of acetyltransferase for *S. typhimurium* and higher organisms.

J. Biol. Chem., 267, 8429~8436 (1992)

*Salmonella typhimurium*から芳香族N-ヒドロキシルアミンO-アセチル転移酵素遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定した。推定分子量は32177であり、マキシセルおよびSDS-PAGEから推定した分子量33000とほぼ一致した。PCRを用いることにより、O-アセチル転移酵素欠損株TA 1538/1,8-DNPの酵素遺伝子上のフレームシフト変異を同定した。本酵素は、N-およびO-アセチル転移酵素活性を持ち、SH基の阻害剤で阻害された。本酵素の推定アミノ酸配列は、ヒトなどの高等生物で多型を示し、薬理遺伝学的に注目されている芳香族アミンN-アセチル転移酵素のアミノ酸配列と相同性を示した。部位特異的突然変異導入法により、O-アセチル転移酵素のCys⁶⁹をAlaに変えたと活性が消失した。これにより、アセチル-CoAとの結合が予想されるシステイン残基は、Cys⁶⁹であることが示された。

Keywords: acetyltransferase, nucleotide sequence, acetyl-CoA binding site

Suzuki, M., Takahashi, K.*¹, Kawazoe, Y.*¹, Sakumi, K.*² and Sekiguchi, M.*²: Inhibitory effect of cadmium and mercury ions on transcription of the *ada* gene.

Biochem. Biophys. Res. Commun., 179, 1517~1571 (1991)

大腸菌の*ada*遺伝子にコードされているO⁶-メチルグアニン-DNAメチルトランスフェラーゼ(Ada蛋白質)は、アルキル化剤に対する適応応答で重要な役割をはたしている。Ada蛋白質はDNA上に生成したメチル化損傷からメチル基を受け取る活性(MGTase活性)の他、メチル基を受け取ったメチル化Ada蛋白質は*ada*遺伝子の転写促進因子として働く活性(転写促進活性)を持っている。これによりAda蛋白質が増産され、アルキル化剤に対し抵抗性を獲得する。Cd²⁺とHg²⁺は、大腸菌の適応応答を阻害することによりメチル化剤による突然変異誘発頻度を高めることが知られている。この機構を明らかにするため、*in vitro*再構築系での、これらの金属イオンの効果を調べた。両金属イオンは、ともにMGTase活性を阻害しない濃度において*ada*遺伝子の転写を阻害した。両金属イオンはMGTase活性ではなく、転写促進活性を阻害することにより適応応答を阻害することを明らかにした。

Keywords: adaptive response, *ada* transcription, metal ions

*¹ 名古屋市立大学薬学部

*² 九州大学生体防御医学研究所

Yamada, M., Sofuni, T. and Nohmi, T.: **Preferential induction of AT-TA transversion, but not deletions, by chlorambucil at the *hisG428* site of *Salmonella typhimurium* TA102.** *Mutat. Res.* 283, 29~33 (1992)

マウスの生殖細胞に欠失突然変異を起こすことが知られているクロラムブシルが、エームス試験菌株では、S9mix 非存在下、TA102とYG2975にのみ、変異原性を示した。TA102の*hisG428*部位で起きた突然変異の塩基配列を調べたところ、欠失突然変異よりもA:TからT:Aへのtransversionが優先的に誘発されていることが明らかになった。

Keywords : chlorambucil, transversion

Suzuki, T., Hayashi, M., Sofuni, T. and Myhr, B. C.*: **The concomitant detection of gene mutation and micronucleus induction by mitomycin C in vivo using *lacZ* transgenic mice.**

Mutat. Res. 285, 219~224 (1993)

トランスジェニックマウスを用いた変異原性試験と末梢血を用いる小核試験を組み合わせることで、*in vivo*において遺伝子突然変異と染色体異常誘発性を同時に検出し得る試験系を開発した。

Keywords : transgenic mice, *lacZ* mutation, peripheral blood micronucleus assay

* Hazleton Washington Inc., USA

Suzuki, M., Takahashi, K.*¹, Morita, T.*², Kojima, M.*³ and Tada, M.*³: **The action of 4-hydroxyaminobiphenyl in *Escherichia coli*: cytotoxic and mutagenic effects in DNA repair deficient strains,**

Mutat. Res., 301, 125~134 (1993)

環境化学発癌物質である4-aminobiphenyl (ABP)の究極活性前駆体、4-hydroxyaminobiphenyl (N-OH-ABP)のDNA修復能の異なる大腸菌に対する致死効果と変異誘発効果について検討した。N-OH-ABPの*wvrA*株(除去修復能欠損株)、*recA*株(組換え修復能欠損株)に対する致死効果は、野生株と同様の効果を示した。一方、*wvrA*株に対する変異誘発頻度は、野生株のそれより30倍から400倍高く検出された。この結果は、N-OH-ABPによって生成する数種のDNA付加体のうち、変異誘発に寄与しているaminobiphenyl-DNA付加体はUVR endonucleaseにより修復され、細胞死に寄与しているDNA付加体は他の異なるDNA修復経路により修復されていることを示唆するものである。³²P-ポストラベル法を用いた解析から、ABP-DNA付加体は野生株では比較的速く修復されるのに対し、*wvrA*株ではほとんど修復されていないことが明らかとなった。

Keywords : DNA repair, 4-aminobiphenyl, ³²P-postlabelling analysis

*¹ 名古屋市立大学薬学部

*² 大阪大学教養部

*³ 愛知県がんセンター研究所・生化学部

Hayashi, M., Norppa, H.*¹, Sofuni, T. and Ishidate, M. Jr.: **Mouse bone marrow micronucleus test using flow cytometry.**

Mutagenesis 7, 251~256 (1992)

マウス骨髄を用いる小核試験の自動化をフローサイトメトリを用いて試みた。小核試験を始めとする短期遺伝毒性試験の自動化は、試験の簡略化、客観化を考える上で必須である。マイトマイシンで処理したマウスの骨髄細胞をDAPIで染色し、機械的に解析した結果、顕微鏡観察の結果とよい相関関係のあることが判明した。データの再現性も良かった。

Keywords : flow cytometry, micronucleus test

* Institute of Occupational Health, Helsinki

Hayashi, M., Norppa, H.*¹, Sofuni, T. and Ishidate, M. Jr.: **Flow cytometric micronucleus test with mouse peripheral erythrocytes.**

Mutagenesis 7, 257~264 (1992)

マウス末梢血を用いる小核試験の自動化をフローサイトメトリを用いて試みた。末梢赤血球をSDSで球形化することにより、再現性の良い結果が得られた。試験系の評価のためにモデル化合物として6-MP, benzene, benz[a]pyrene, mitomycin C, ENU, bromodichloromethane, クロム酸カリを用いた。

Keywords : flow cytometry, micronucleus test, peripheral blood

* Institute of Occupational Health, Helsinki

Honma, M. Kataoka, E., Ohnishi, K. Kikuno, T.*¹, Hayashi, M., Sofuni, T. and Mizusawa, H.: **Detection of recombinational mutations in cultured human cells by Southern blot analysis with minisatellite DNA probes.**

Mutat. Res. 286, 165~172 (1993)

ヒトの細胞における組換え突然変異を検出する目的で、多型が知られているミニサテライトDNAプローブを用いるフィンガプリント法を試みた。その結果、本法により組換え変異の検出が可能となった。

Keywords : recombinational mutation, minisatellite DNA, DNA fingerprint

* 化学品検査協会

Ueda, T.*¹, Hayashi, M., Ohtsuka, Y.*², Nakamura, T., Kobayashi, J.*¹ 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.**

Wat. Sci. Tech. 25, 235~240 (1992)

水環境の汚染をモニタリングするための、魚類を用いる細胞遺伝学的手法の開発を試みた。

Keywords : chromosomal aberration, fish peripheral blood, bitterling

*¹ 宇都宮大学

*² 栃木県水産試験場

Matsuoka, A., Yamazaki, N., Suzuki, T., Hayashi, M. and Sofuni, T.: **Evaluation of the micronucleus test using a Chinese hamster cell line as an alternative to the conventional *in vitro* chromosomal aberration test.**

Mutat. Res. **272**, 223~236 (1993)

In vitro 小核試験と従来の染色体異常試験を同時に実施し、すべての化学物質について結果は良く一致した。簡単に観察がより客観的な小核試験は染色体試験の代替法となりうるであろう。

Keywords : *in vitro* micronucleus test, *in vitro* chromosomal aberration, Chinese hamster lung (CHL) cell

Matsuoka, A., Horikawa, K.*, Yamazaki, N., Sera, N.*, Sofuni, T. and Tokiwa, H.*: **Chromosomal aberrations induced *in vitro* by 3,7- and 3,9-dinitrofluoranthene.**

Mutat. Res. **298**, 255~259 (1993)

3,7- および 3,9-ジニトロフルオランセンについて染色体異常試験を行った。両物質とも S9 非存在下で染色体異常を誘発した。異常頻度はそれほど高くはないが、再現性が認められた。しかし、用量依存性は認められなかった。

Keywords : chromosomal aberration *in vitro*, 3,7-dinitrofluoranthene, 3,9-dinitrofluoranthene

* 福岡県保健環境研究所

Hayashi, M.: **Overview of *in vivo* micronucleus and chromosomal aberration assays.**

MMS Commun. Sup. **2**, 45~54 (1993)

In vivo 小核試験および染色体異常試験の国際ハーモニゼーションを図るため、各種ガイドラインの比較検討を行った。また、実験計画法に基づいた実験の規模を決定するための、統計学的な検討を行った。

Keywords : *in vivo* micronucleus test, statistical power, international harmonization

Honma, M., Kataoka, E., Ohnishi, K., Ohno, T.*¹, Takeuchi, M.*², Nomura, N.*³. and Mizusawa, H.: **A new DNA profiling system for cell line identification for use in cell banks in Japan.**

In Vitro Cell. Dev. Biol. **28A**, 24~28 (1992)

数種の多型 DNA プローブを用いて、細胞バンクに収集された細胞株を同定するための DNA プロファイリング法を開発した。この方法は、既存の細胞株の同定だけでなく、研究室で培養中の細胞のモニターや、新たに樹立した株の確認にも有用である。

Keywords : human cell lines, identification, DNA profiling

*¹ 理研

*² 発酵研

*³ 日本獣医畜産大学

Nohmi, T., Yamada, M., Watanabe, M., Murayama, S. Y.* and Sofuni, T.: **Roles of *Salmonella typhimurium umuDC* and *samAB* in UV mutagenesis and UV sensitivity**

J. Bacteriol., **174**, 6948~6955 (1992)

umuDC 遺伝子は大腸菌の紫外線および化学物質による突然変異の誘発に必須な役割をはたしている。変異原性試験に使われる *S. typhimurium* には 2 種類の *umuDC* (*umuDC_{ST}*, *samAB*) が存在する。*umuDC_{ST}* は染色体上に存在し *samAB* は 60-MDa クリプティック・プラスミド上に存在する。*S. typhimurium* TA2659 の *umuDC_{ST}* 欠損株およびクリプティック・プラスミド除去株を作製し、サルモネラに存在する 2 つの *umuDC* 遺伝子の紫外線誘発突然変異に対する影響について検討した。その結果、*S. typhimurium* の紫外線突然変異誘発能は *umuDC_{ST}* に依存し、*samAB* の突然変異を促進する力は *samAB* の遺伝子数 (gene dosage) に強く影響されることが明らかになった。

Keywords : *umuDC*, UV mutagenesis, *Salmonella typhimurium*

* 帝京大学医学部

Honma, M. and Ishiyama, I.: **Variability of DNA fingerprint in a Japanese population.**

Jpn J Legal Med **43**, 128~133 (1989)

合成ミニサテライトプローブ "Myo" による DNA フィンガープリントの法医学的有用性を評価するため、日本人集団におけるその多様性の程度を検討した。50 人の非血縁関係者において、4.4 kb 以上に平均 15 本のバンドを認め、平均一致率は約 0.19 であった。

これらのバンドが他人同士で偶然に全て一致する確率は 1.5×10^{-11} と計算できた。

Keywords : Polymorphism paternity, personal identification, DNA probe

Kataoka, E., Honma, M., Ohnishi, K., Sofuni, T., and Mizusawa, H.: **Application of highly polymorphic DNA markers to the identification of HeLa cell sublines.**

In Vitro Cell Dev. Biol., **28A**, 553~556 (1992)

HeLa 細胞は有名な細胞株のため様々な亜株が作られて利用されてきた。そのため、亜株相互の混乱が少なからず発生し、実験上多くの問題を引き起こすことも少なくない。しかし、これらの亜株は極めて類似した性質を持つため、相互に区別することが非常に困難であった。我々は、最近開発した DNA プロファイリング法を応用することによって、これらの亜株を明確に区別することに成功した。

Keywords : DNA profiling, DNA fingerprinting, polymorphic DNA markers

Sasaki, K.*, Mizusawa, H., Ishidate, M., and Tanaka, N.*: **Regulation of G418 selection efficiency by cell-cell interaction in transfection. Somat.**

Cell Mol. Genet., 18, 517~527 (1992)

抗生物質 G418 耐性遺伝子を BALB3T3 細胞へ磷酸カルシウム法によって導入する際の最適条件の検討を行った。キャリアー DNA の分子サイズ、培養ディッシュへの播種細胞の数、DNA の磷酸カルシウムによる処理時間と細胞へ導入してからの遺伝子発現に要する時間、などが、導入効率に影響を及ぼすことを明らかにした。特に細胞は遺伝子導入後高密度で播種することにより導入細胞の生存率は明らかに低下するので、適切な希釈の後播種することが望ましい。本検討は今後遺伝子工学的手法により新しい性質を持つ培養細胞株を樹立する際の重要な指針になる。

Keywords : BALB/3T3, DNA transfection, CaCl₂

* 食品薬品安全センター秦野研究所

Sofuni, T.: **Japanese guidelines for mutagenicity testing**

Environ. Mol. Mutagen., 21, 2~7 (1993)

日本で採用されている変異原性試験のガイドライン、すなわち労働省の安衛法、厚生省の医薬品と新規化学物質、農林省の農薬についての変異原性試験の概略を紹介した。さらに、国外のガイドラインと異なる項目、即ち細菌を用いる復帰突然変異試験での大腸菌株、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験での 48 時間の連続処理法と倍数性細胞の記録などを取り上げ、それぞれのデータベースを用いてその根拠となっている成績とそれらの有用性について論じた。

Keywords : Japanese guideline, reverse mutation, chromosomal aberration

祖父尼俊雄, 宮部正樹^{*1}, 石崎睦雄^{*2}, 渡辺重信^{*3}, 真坂敬三^{*4}, 河村太郎^{*5}: **食品添加物の変異原性試験成績 (その 11) 一平成元年度厚生省試験研究費による一**

変異原性試験, 2, 19~28 (1993)

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, 小核試験を用いて調べ、得られた結果について解説した。

Keywords : food additives, mutagenicity tests

^{*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} 勸業留農薬研究所毒性部

^{*5} 横浜市衛生研究所

Sofuni, T. and Yoshida, M. C.*¹: **Combined use of several mitogens for mitotic stimulation to human lymphocytes**

J. Radiat. Res., 33(Suppl), 222~230 (1992)

ヒトリンパ球の染色体異常の検査は、環境汚染物質、特に放射線の影響の生物学的モニタリングとして重要な役割を担っている。しかし、染色体異常の観察には経験と労力がかかり、自動的な解析システムの開発がまたれている。自動化における 1 つの問題として、できるだけ多くの分裂細胞を収集することにある。リンパ球の分裂には通常 PHA という分裂促進剤を用いるが、これに加えて他のいくつかの分裂促進剤を組み合わせて、大量に分裂細胞を収集することを試みた。その結果、3 種の分裂促進剤の組み合わせの中に、単独よりも細胞分裂を増強するものが見いだされ、特に PHA に低反応者に効果が見いだされた。

Keywords : human lymphocytes, mitogens, mitotic index

*¹ 北海道大学理学部動物染色体研究施設

Aida, Y., Yasuhara, K., Takada, K., Kurokawa, Y. and Tobe, M.: **Chronic toxicity of microencapsulated bromodichloromethane administered in the diet to Wistar rats**

J. Toxicol. Sci. 17, 51~68 (1992)

水道水の汚染物質としてしられているプロモジクロロメタンをマイクロカプセルに封入し、粉末飼料に混合して (混餌法) Wistar ラットに 2 年間摂取させた。その結果、肝臓重量の増加が認められ、肝臓に脂肪変性、胆管の増殖、胆管線維症が観察された。また血清成分の測定では肝臓障害のパラメータであるトリグリセライドの減少、コリンエステラーゼ活性の低下がみられた。しかし、強制経口投与で報告されている発がん性は、混餌法投与では観察されなかった。本実験条件下での LOAEL は雄の低用量群でも肝臓重量の減少、血清トリグリセライド、コリンエステラーゼの減少がみられたため 6.1 mg/kg と評価された。

Keywords : long-term toxicity, microcapsule, bromodichloromethane

Aida, Y., Takada, K., Uchida, O., Yasuhara, K., Kurokawa, Y. and Tobe, M.: **Toxicities of microencapsulated tribromomethane, dibromochloromethane and bromodichloromethane administered in the diet to Wistar rats for one month**

J. Toxicol. Sci. 17, 119~133 (1992)

水道水の汚染物質として知られている3種トリハロメタンをマイクロカプセル化し、粉末飼料に混合し、1か月間ラットに摂取させた。その結果、いずれのトリハロメタンも肝臓に毒性影響を引き起こし、分子中の臭素の数が多くなるに従い、肝臓重量の増加、肝細胞の空胞化、腫大が強くみられ、塩素の数が増えるに従い、肝細胞の壊死が強く観察された。また本実験条件下でのこれらのトリハロメタンのNOAELあるいはLOAELはトリプロモメタンでは56.4 mg/kg (LOAEL)、ジプロモクロロメタンでは18.3 mg/kg (NOAEL)、プロモジクロロメタンでは20.6 mg/kg (NOAEL)であった。

Keywords : subchronic toxicity, trihalomethane, microcapsule

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**

薬学雑誌, 113, 376~384 (1993)

種々の条件下におけるトロパンアルカロイド(TrA)の二相間分配挙動を検討した。みかけの分配係数($\log P'$)が、中酸性領域ではpHの増加に伴って増加し、アルカリ領域では一定となる傾向が認められたため、TrAの有機相への分配は主に遊離塩基によるものと理解された。分配のpH依存性およびTrAのpH滴定より各TrAの pK_a と $\log P_0$ を求めたところ、スコポラミンではアトロピンまたはホマトロピンよりも小さな値となった。これはスコポラミン分子中に存在するエポキシ環の極性および電子吸引性のためと考えられた。また低pH領域においてはプロトン化されたTrAが、共存するアニオンと対イオンを形成して有機相に分配される可能性も考えられた。各種アニオンの存在下におけるTrAの $\log P'$ を観察したところ、アニオンの低濃度領域においては、 $\log P'$ とアニオン濃度の対数値との間に直線性が認められた。さらに、アニオン濃度の逆数に対する $1/P'$ のプロットより、TrAと各アニオン間のイオン対分配係数 P_i とイオン対生成定数 K_i の値を個別に求め、アニオンあるいはTrA間での P_i 、 K_i および $P_i \cdot K_i$ の差異について、詳細を検討した。

Keywords : tropane alkaloid, partition coefficient, acid dissociation constant

Yomota, C., Miyazaki, T. and Okada, S.: **Determination of the viscometric constants for chitosan and the application of universal calibration procedure in its gel permeation chromatography**

Colloid & Polym. Sci., 271, 76~82 (1993)

キトサンの粘度定数に関する報告はいくつか知られているが、試料の分子量分布や測定法に問題のあるものが多い。そこで、より有効な粘度式の作成を試みた。分子量分布の大きなキトサンをゲルろ過により分画し、ほぼ均一な分子量分布を有するフラクションを調製した。0.5 M NaCl~0.5 M 酢酸ナトリウムを溶媒として、光散乱による重量平均分子量、毛細管粘度計による固有粘度を測定した。得られた値より、Mark-Houwinkの粘度式 $[\eta] = K M_w^a$ の定数を、 $a = 0.59$ および $K = 0.119 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ と求めることができた。さらに、ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)によりキトサンフラクションの分子量を求めたところ光散乱により求めた値よりかなり小さかった。そこで、GPCでもより正確な分子量を求めるために普遍キャリブレーション法の適用を試みた。すなわち重量平均分子量と固有粘度の積を溶出量と関連づけることで、キトサンのようなカチオン性多糖においても、GPCにより光散乱の絶対分子量に近い値を得ることができた。

Keywords : chitosan, light scattering, gel permeation chromatography

Handa, T.* Asai, Y.* Komatsu, H. and Miyajima, K.*: **Interactions and structure-organizations of menaquinone-4 and egg yolk phosphatidylcholine mixtures: formation of bilayer and nonbilayer structures in an aqueous medium.**

J. Colloid Interface. Sci. 153, 303~313 (1992)

メナキノン-4(MQ4)および卵黄レシチンからなる混合物によって形成される脂質分子集合体の水中での構造について、電子顕微鏡写真、X線小角散乱、拡張圧および保持容積の測定から検討した。水過剰状態において、MQ4のモル分率が0から0.8の場合、二分子膜構造の形成が認められたが、二分子膜の膜中に逆ミセル構造が存在するものや大きな二分子膜からなるベシクル内に小さなベシクルが多数観察される場合があった。また、水分量の少ない場合、逆ヘキサゴナル構造の形成が確認された。このような脂質分子集合体に見出される特異な構造の形成は、脂質膜の融合や凝集をもたらす原因となることが示唆された。

Keywords : menaquinone, intrabilayer-reversed micelle, egg yolk lecithin

* 京都大学薬学部

Murai-Kushiya, M., Okada, S., Kimura, T., Hasegawa, R.: Stereoselective binding of β -blockers to purified rat α_1 -acid glycoprotein *J. Pharm. Pharmacol.*, 45, 225~228 (1993)

ラット血漿から α_1 -acid glycoprotein (AAG) を精製し、これに対する4種のラセミ体 β -ブロッカー (ピンドロール, プロプラノロール, オクスプレノロール, アセプトロール) の結合の立体特異性につき平衡透析法により検討した。ピンドロールおよびプロプラノロールは, AAG に対し (+) 体の方が高い結合率を示し, 立体特異性が認められた。しかし, オクスプレノロールの結合性には立体特異性は認められず, アセプトロールは全く結合しないことから, ラット AAG に対する立体特異的結合は β -ブロッカーに共通するものではなかった。また, (+) 体または (-) 体を単独に用いる結合実験より, AAG への結合パラメーターを求めた。ピンドロールについては, (+) 体, (-) 体とも結合部位は1つであり, 結合の親和性は (+) 体が (-) 体のほぼ25倍であった。一方, プロプラノロールは (+) 体および (-) 体ともに AAG への結合部位は2種類あり, 高親和性部位における結合の親和性は (+) 体が (-) 体の約2倍大きいことがわかった。この親和性の差異により, (+) 体の方が高い結合性を示すものと考えられた。

Keywords : stereoselective binding, β -blockers, rat α_1 -acid glycoprotein

中村優美子, 津村 (長谷川) ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男: キャピラリー ECD-GC による農産物中のメトキシクロールの簡易分析法
食衛誌, 33, 288~293 (1992)

農産物中のメトキシクロールの簡便かつ迅速な分析法について検討した。試料をアセトンでホモジナイズして濃縮した後 n-ヘキサンで抽出し, フロリジルカラムによる精製を経て ECD-GC で定量した。本法による試料中のメトキシクロールの検出限界は 0.001 $\mu\text{g/g}$ であり, 10 種農作物での回収率 (0.2~0.4 ppm 添加) は 65.2~90.6% であった。メトキシクロールは上記の作物からは検出されなかった。

Keywords : methoxychlor, ECD-GC, Florisil column

中村優美子, 津村 ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 希土類元素の生体影響に関する研究 (第4報) 4 種希土類元素 (Dy, Eu, Yb, Y) 静脈内投与時のラット臓器内 Ca, Mg および P 含量の変動
衛生化学, 39, 44~55 (1993)

ラットに4種希土類元素 (Dy, Eu, Yb, Y) の塩化物を 10 mg/kg の投与量で静脈内投与し, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 肺臓, 大腿骨, 全血における希土類元素, Ca, Mg および P 濃度の経時変化について検討した。Y 投与群の肝臓, 脾臓, 肺臓中の Ca 濃度が対照群の数倍~数十倍に増加した以外は顕著な変化はなかった。

Keywords : rare earth elements, intravenous administration, calcium

外海泰秀, 津村 ゆかり, 中村優美子, 松木宏晃*, 伊藤誉志男: 定量操作中に分解しやすいキャプタン, カプタホール等12種殺菌剤の一斉分析法の検討
衛生化学, 38, 270~281 (1992)

定量操作中に分解しやすい農薬を含む12種殺菌剤の FTD および FPD-GC による分析法を検討した。キャプタン, カプタホールおよびホルベットの試料からの回収率の低い原因を検討した結果, ガスクロマトグラフに注入するとき最終試験溶液に混在している食品成分がこれら三農薬を分解することを明らかにし, その防止方法を提案した。

Keywords : captan, captafol, gas chromatography

* サントリー(株)分析センター

外海泰秀, 津村 ゆかり, 中村優美子, 伊藤誉志男: 農産物中の9種カーバメイト系および12種有機リン系農薬の試験溶液の同時調製法についての検討
食衛誌, 33, 449~457 (1992)

従来から残留基準のある農薬ならびに新たに残留基準が設定される農薬を中心に, 有機リン系12種およびカーバメイト系9種について FPD および FTD-GC を用いる一斉分析法を検討した。試験溶液の調製法は, 一般の野菜, 果実とキャベツなど食品由来成分の多い野菜ならびに脂肪含量の多い穀類, 豆類用とに分けた。

Keywords : carbamate pesticide, organophosphorus pesticide, gas chromatography

中村優美子, 津村 ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 希土類元素の生体影響に関する研究 (第5報) 4 種希土類元素 (Dy, Eu, Yb, Y) の静脈内高および低用量投与におけるラット臓器中希土類元素と9種ミネラル濃度との関係
衛生化学, 39, 121~131 (1993)

4 種希土類元素 (Dy, Eu, Yb, Y) の mol 量がほぼ同一になるように2段階の投与濃度を設定してラットに静脈内投与し, 投与1日後での各臓器内希土類元素および9種ミネラル (Ca, Mg, P, Fe, Na, K, Cu, Zn, Mn) の含量を調べ, 以下の結果を得た。① Dy, Eu および Y の高用量投与群では, 脾臓および肺臓への希土類元素の分布率が増加し, 肝臓, 脾臓および肺臓内の Ca 濃度が対照群に比べて数倍~数十倍に増加した。また, 肝臓および脾臓内の Na 濃度が高く, K 濃度が低くなる傾向があった。しかし, Yb 投与群ではこのような現象は認められなかった。なお, 肝臓内の Zn 濃度は希土類元素投与により若干増加した。③ Dy, Eu および Y を投与した場合は, 肝臓, 脾臓および肺臓中の Ca 濃度と希土類元素濃度との間には強い正の相関が認められた。しかし, Yb を投与した場合は相関は認められなかった。

Keywords : rare earth elements, intravenous administration, minerals

Tsumura-Hasegawa, Y., Tonogai, Y., Nakamura, Y., Ito, Y.: Residue Levels of Dichlorvos, Chlorpropham, and Pyrethrins in Postharvest-Treated Potatoes during Storage or Processing into Starch

J. Agric. Food Chem., 40, 1240~1244 (1992)

ジクロロボス, クロプロファミン, および天然ピレトリンの乳化水溶液を噴霧したばれいしょを85日間保存した。農薬濃度は片対数曲線を描いて減少し, 相対的に減少速度の速いものは2相, 遅いものは単相の減少を示した。ばれいしょをでんぷんに加工したところ, 最終製品中に残留した農薬は, 加工前に比して1%以下であった。

Keywords : postharvest application, potato, pesticide

津村(長谷川)ゆかり, 外海泰秀, 中村優美子, 伊藤誉志男: かんきつ類の貯蔵およびレモンマーマレード加工過程における収穫後使用される農薬の消長

食衛誌, 33, 258~266 (1992)

レモン, オレンジおよびグレープフルーツを, ジフェニル(DP), o-フェニルフェノール(OPP), 2,4-D, イマザリル, チアベンダゾール, ベノミルおよびsec-ブチルアミンの水溶液に浸漬後, または臭化メチルによるくん蒸後91日間保存した。臭化メチル以外の7種の農薬の半減期は36日以上であり, 臭素含量は増加した。レモンをマーマレードに加工したところ, 最終製品にはDP, OPP, イマザリル, 臭素が残留していた。

Keywords : citrus, postharvest application, pesticide

津村ゆかり, 外海泰秀, 中村優美子, 宮田昌弘^{*1}, 鎌倉和政^{*1}, 橋端直樹^{*1}, 岩田邦彦^{*1}, 伊藤澄夫^{*2}, 皆葉清美^{*3}, 沖賢憲^{*4}, 小玉光男^{*5}, 伊藤誉志男: 市販分析キットによる食品中残留農薬の分析およびガスクロマトグラフ法との比較検討

食衛誌, 33, 458~488 (1992)

食品中の残留農薬分析法として, 市販のアセチルコリンエステラーゼ阻害農薬検出キット(AIキット)および酵素免疫測定(ELISA)キットを用いる方法を, ガスクロマトグラフ(GC)法と比較検討した。AI法はGC法より感度が高かったが, 食品成分の妨害を受け易いため試料の精製が必要であった。食品中のカルボフランの検出にチューブ式ELISA法を用いたところ, 回収率は57~159%, 検出限界は6ppbであり, GC法に比較して約10倍感度が高かった。また食品中のアルディカルブの定量にプレート式ELISA法を用いたところ, 検出限界は3ppbとGC法に比較して約20倍感度が高かった。しかし, かぼちゃ, 小麦では食品成分により影響を受け, 判定が困難であった。

Keywords : Pesticide, Commercial kit for pesticide residue analysis, ELISA

^{*1} 神戸検疫所

^{*2} 横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター

^{*3} 成田空港検疫所

^{*4} 博多検疫所

^{*5} 神戸農林水産消費技術センター

辻澄子, 柴田正, 江崎真澄^{*1}, 伊藤勝彦^{*2}, 佐瀬勝利^{*3}, 伊藤誉志男: イオンクロマトグラフィーおよび比色法による各種食品中の硝酸根ならびに亜硝酸根の試料溶液の同時調製法について

食衛誌, 34, 161~167 (1993)

野菜, 牛肉およびそれらの加工食品中の硝酸根(NO₃⁻)および亜硝酸根(NO₂⁻)を紫外外部吸収検出器付サプレッサー型イオンクロマトグラフィー(IC)ならびにジアゾ化反応に基づく比色法により定量するための試料溶液の同時調製法を検討した。NO₃⁻およびNO₂⁻は80°のホウ酸ナトリウム溶液で同時磨砕抽出し, 冷却した後, ろ紙ろ過した液をモルカットIIで限ろ過した。限ろ過液中のNO₃⁻はIC, NO₂⁻は比色法により測定した。3%以上の塩化ナトリウムを含む食品中のNO₃⁻は試料の同時抽出液をろ紙ろ過した液をさらにオンガードAgカートリッジにて処理した。種々の食品にNO₃⁻を5~1000μg/gおよびNO₂⁻を5~50μg/g添加した後, 本調製法により試料溶液を調製しICおよび比色法で測定したときの回収率は84.2%~102.0%であった。

Keywords : nitrate, nitrite, food

^{*1} 大阪空港検疫所

^{*2} 神戸検疫所

^{*3} 大阪検疫所

柴田正, 辻澄子, 小林一博^{*1}, 浅居良輝^{*2}, 本田恒男^{*3}, 野田勝彦^{*4}, 慶田雅洋^{*5}, 望月悦生^{*6}, 菅沼修^{*6}, 伊藤誉志男: 蛍光検出器付HPLCを用いた食品中のリゾチームの分析

衛生化学, 38, 437~442 (1992)

食品中のリゾチーム含量を基質4-MU-(GluNAc)3から酵素反応によって遊離する4-MUを蛍光検出器付HPLCを用いて測定する分析法を開発した。HPLC条件はODSカラムに移動相としてCH3CN-0.04MGlycine Buffer(pH12.0)(7:3)を用いた。食品から抽出時に塩化ナトリウムを0.5%以上加えると抽出効率が上がり, リゾチーム活性測定時に塩化ナトリウム濃度を2.4%以下にすると活性に影響を及ぼさなかった。酵素活性至適反応条件はpH5.2, 45°C, 60分間インキュベートする。5~100μg/gの範囲で測定可能であり, 5食品種での回収率は84.3~96.4%であった。

Keywords : lysozyme, HPLC, 4-methylumbelliferyl tri-N-acetyl-β-chitinriptide

^{*1} 東京農林水産消費技術センター

^{*2} 雪印乳業(株)分析部

^{*3} 協同乳業(株)応用研究所

^{*4} 明治乳業(株)中央研究所

^{*5} ネッスル(株)

^{*6} (株)日本国際酪農連盟

黒田弘之*, 毛利孝明*, 西岡千鶴*, 三好益美*, 大北健逸*, 伊藤脊志男: 日本人のソルビン酸, デヒドロ酢酸およびそれらの塩類ならびにパラオキシ安息香酸エステル類などの各種保存量の一日摂取量について

四国公衆衛生学会誌, 38, 200~207 (1993)

1990年, 札幌, 仙台, 長野, 東京, 甲府, 名古屋, 大阪, 神戸, 高松, 松江, 北九州および那覇の合計12都市で, マーケットバスケット方式により346種市販加工食品での3種保存量すなわちソルビン酸, デヒドロ酢酸およびパラオキシ安息香酸エステル類の一人一日摂取量の実態調査を行った。いずれの保存量も高速液体クロマトグラフィー法により定量した。各都市での一人一日摂取量の平均値は, ソルビン酸27.0 mg, デヒドロ酢酸0.13 mg およびパラオキシ安息香酸エステル類0.09 mgであった。ソルビン酸はあらゆる加工食品に含まれ, 特に魚介類・肉類(74.1%), 野菜・果実・海草類(15.9%)からの摂取量が多かった。デヒドロ酢酸の供給源は菓子パン, バター, チーズ, マーガリンであった。また, ソルビン酸, 安息香酸エステル類の一日摂取量はいずれもADI(人体一日摂取許容量)を大きく下回っていた。

Keywords: sorbic acid, dehydroacetic acid, p-hydroxybenzoate

* 香川県衛生研究所

Emma, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: **Teratological assessment of glutaraldehyde in rats by gastric intubation**

Toxicol. Lett., 63, 147~153 (1992)

消毒剤として広く使われている glutaraldehyde (GA) の催奇形作用を Wistar ラットを用いて検討した。精子発見日を妊娠0日として, 妊娠6~15日に25, 50または100 mg/kgのGAを経口投与し, 妊娠20日に妊娠ラットを屠殺して胚-胎児に対する影響について調べた。100 mg/kg投与群において26例中5例, 50 mg/kg投与群において21例中2例の妊娠ラットの死亡が観察された。100 mg/kg投与群においては妊娠ラットの体重増加および飼料摂取量が対照群に比べて有意に低下したが, 25および50 mg/kg投与群における妊娠ラットの体重増加および飼料摂取量には対照群との間に有意の差は認められなかった。胎児体重は100 mg/kg投与群では対照群よりも有意に低かったが, 25および50 mg/kg投与群では対照群と同様であった。また, 各DIMPTS投与群における吸収胚および死亡胎児数, 生存胎児数などは対照群と同様であった。生存胎児の検査の結果, いずれの群にもGAの催奇形作用を示す所見は観察されなかった。これらの結果から, 母体毒性を発現させる量のGAを妊娠ラットに投与したときでも催奇形作用を示さないことが明らかとなった。

Keywords: Glutaraldehyde, developmental toxicity, teratogenicity

Emma, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: **Embryolethality and teratogenicity of butyl benzyl phthalate in rats**

J. Appl. Toxicol., 12, 179~183 (1992)

2.0%のbutyl benzyl phthalate (BBP) を含む飼料をラットの妊娠0~21, 0~11または11~20日(精子発見日=妊娠0日)に与え, 胚-胎児に対する影響を検討した。いずれのBBP投与群においても妊娠ラットの飼料摂取量および体重増加の低下が認められた。いずれのBBP投与群における着床前の胚死亡率とも対照群およびPair-fed群と同様であった。妊娠0~20または0~11日にBBPを与えた群では全ての母体で全胚吸収がみられ, 生存胎児は1例も得られなかった。妊娠11~20日にBBPを与えた群においては着床後の胚-胎児死亡率の増加は認められなかったが, 著しい催奇形作用が認められた。口蓋裂および胸骨分節の癒合などの奇形が多く観察された。口蓋裂は134例中72例の胎児に, 胸骨分節の癒合は88例中22例の胎児に観察された。この群における奇形胎児発現率は対照群およびPair-fed群に比べて著しく有意に高かった。これらの結果から, BBPは胚致死作用および催奇形作用を有しており, 妊娠前半に投与したときには胚致死作用が強く発現し, 妊娠後半に投与したときには催奇形作用が強く発現することが明らかとなった。

Keywords: Butyl benzyl phthalate, embryolethality, teratogenicity

Emma, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: **Susceptible period for the teratogenicity of di-n-butyltin dichloride in rats**

Toxicology, 73, 81~92 (1992)

20 mg/kgのdibutyltin dichloride (DBT) をラットの妊娠7~9, 10~12または13~15日に経口投与して胚-胎児に対する影響を検討した。妊娠10~12または13~15日に投与したときには催奇形作用は認められなかったが, 妊娠7~9日にDBTを投与したときには著しく有意な催奇形作用が認められた。さらに, DBTによる奇形胎児発現の感受期をより明確にするために, 妊娠6, 7, 8または9日に20または40 mg/kgのDBTを経口投与して胚-胎児に対する影響を検討した。妊娠7または8日にDBTを投与したときに有意な奇形胎児発現率の上昇が認められたが, 妊娠6または9日に投与したときには奇形胎児発現率の上昇は認められなかった。妊娠8日にDBTを投与したときに奇形胎児発現率は最も高く, 尾奇形, 鎖肛, 彎曲足, 椎骨および肋骨の奇形, 小および無眼症などが多く観察された。これらの結果から, DBTを妊娠ラットに投与したとき, 胚の発生段階によって奇形発現の感受性に差があり, 妊娠6日ではまだ感受期ではなく, 妊娠7および8日で感受期となり, 妊娠8日が最も感受性が高く, 妊娠9日ではすでに感受期ではないことが明らかとなった。

Keywords: Dibutyltin dichloride, teratogenicity, developmental toxicity

Emma, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: **Teratogenic assessment of diiodomethyl p-tolyl sulfone in rats**

Toxicol. Lett., **62**, 45~52 (1992)

商品名 AMICAL 48 として市販されている殺菌剤 diiodomethyl p-tolyl sulfone (DIMPTS) の催奇形作用について Wistar ラットを用いて検討した。精子発見日を妊娠0日として、0.125, 0.25, 0.5 または 1.0% の DIMPTS を含む飼料をラットの妊娠6~15日に与え、妊娠20日に妊娠ラットを屠殺して胚-胎児に対する影響を調べた。0.125% 投与群における妊娠ラットの体重増加および飼料摂取量は対照群と同様であった。0.25, 0.5 および 1.0% 投与群における妊娠ラットの体重増加および飼料摂取量は対照群に比べて有意に低下した。しかしながら、0.125, 0.25, 0.5 および 1.0% のいずれの投与群においても吸収胚および死亡胎児数、胎児体重などに DIMPTS 投与によると考えられる影響は認められなかった。生存胎児の検査の結果、奇形を有する胎児が各 DIMPTS 投与群に散見されたが、各 DIMPTS 投与群における奇形胎児発現頻度は低く、対照群との間に有意差は認められなかった。これらの結果から、母体毒性を発現させる投与量の DIMPTS を妊娠ラットに与えたときでも催奇形作用を示さないことが明らかとなった。

Keywords: Diiodomethyl p-tolyl sulfone, developmental toxicity, teratogenicity

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**

防菌防黴誌, **21**, 23~30 (1993)

非経口投与薬を構成する主薬や添加剤などの各種化学物質は、リムルス試験に対して反応の阻害あるいは促進をもたらすことが予想されるので、阻害あるいは促進を明らかにするとともに、その解決法について検討した。13種の非経口投与薬のうち、それらのほとんどが原液では、リムルス試験法の3種の方法(ゲル化転倒法, 比濁時間分析法, 合成基質法)で反応阻害を示した。しかしながら、これらの非経口投与薬をエンドトキシン試験用水で最大有効希釈倍数(Maximum Valid Dilution, MVD)まで希釈すると、デヒドロコール酸(ゲル化転倒法の場合のみ)を除いて、3種のリムルス試験法すべてにおいて反応阻害はみられなくなった。したがって、MVDまで非経口投与薬を希釈して、各種のリムルス試験法のうちいずれかを選択すれば、非経口投与薬中の臨床的レベルにおけるエンドトキシンの定量が可能であることが示唆された。これらの結果より、日本薬局方 XII の「エンドトキシン試験」におけるリムルス試験法には、現行のゲル化転倒法のほかに、比濁時間分析法および合成基質法を追加する必要があることが示された。

Keywords: Endotoxin, Limulus test, parenteral drugs

Emma, M., Gebrewold, A.*, Altura, B. T.* and Altura, B. M.*: **Magnesium sulfate prevents alcohol-induced spasms of cerebral blood vessels: An in situ study on the brain microcirculation from male versus female rats**

Magnes. Trace Elem., **10**, 269~280 (1991~1992)

ラット脳表面の細動脈血管に対する $MgSO_4$ の作用を image-splitting TV microscope recording system を用いて in situ で検討した。局所投与した $MgSO_4$ は雌雄ラットの脳細動脈血管を拡張させた。雄での効果はより大きかった。1.0 または 4.0 $\mu mol/min$ の $MgSO_4$ を I.V. または I.A. 投与したところ、動脈血圧および細動脈血管径を変化させなかったが、5% Ba^{2+} または 10% ethanol による細動脈血管収縮を用量依存的に抑制した。この作用は雄ラットでより顕著であった。これらの結果から、Mg イオンは脳微小血管に対して拡張因子として作用し、抗収縮作用を有することが示され、 Mg^{2+} はアルコールによる脳血管損傷の防御に有用であることが示唆された。

Keywords: Cerebral arteriole and venular, Alcohol-induced spasms, Magnesium sulfate

* Department of Physiology, State University of New York, Health Science Center at Brooklyn, U.S.A.

Emma, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: **Teratogenic evaluation of butyl benzyl phthalate in rats**

Toxicol. Lett., **61**, 1~7 (1992)

可塑剤として広く用いられている butyl benzyl phthalate (BBP) の催奇形作用について Wistar ラットを用いて検討した。精子発見日を妊娠0日として、0.5, 0.75 または 1.0 g/kg の BBP をラットの妊娠7~15日に経口投与し、妊娠20日に妊娠ラットを屠殺して胚-胎児に対する BBP の影響を調べた。0.5 g/kg 投与群においては投与期間中における妊娠ラットの飼料摂取量の有意な低下がみられた。0.5 g/kg 投与群においては奇形胎児発現率は上昇する傾向はみられたが、対照群との間に有意な差は認められず、また、着床後の胚-胎児死亡率や胎児体重は対照群と同様であった。1.0 g/kg 投与群では10例中4例の妊娠ラットが死亡し、また、生存母体の全てに全胚吸収がみられ、生存胎児は1例も得られなかった。0.75 g/kg 投与群においては妊娠ラットの体重増加および飼料摂取量は対照群に比べて有意に低く、また、対照群に比べて着床後の胚-胎児死亡率は有意に高く、胎児体重は有意に低かった。この群においては対照群に比べて有意に著しい奇形胎児の発現率の上昇が認められた。口蓋裂や胸骨分節の癒合など奇形が高頻度に観察された。

Keywords: Butyl benzyl phthalate, teratogenicity, developmental toxicity

畠山好雄, 熊谷健夫, 菅野悦子*, 李 螢*, 前平由紀*, 米田諒典*: 野生薬用植物の栽培と育種に関する研究 (第2報) 北海道におけるハシリドコロの栽培について

生薬誌, 47, 22~26 (1993)

ハシリドコロを栄養繁殖によって栽培すると, 支根数は1年目ではほぼ決定した。

支根重は2年目, 根茎重は3年目まで著増し, 2年目の地下部重は4年目の62~80%であった。

l-hyoscyamine と scopolamine の含量は種茎の大きさや栽培年数によって変化しないので, 種苗は30g, 栽培期間は2年と結論した。

同一系統を北海道と岐阜で栽培した場合, 岐阜で栽培した方が両成分の含有量が多いことから, 生育環境が成分含量に影響を与えることがわかった。

ハシリドコロは, アルカロイド含量の高い系統を北海道と岐阜と栽培地を変えても高含量の性質は継承されることが確認された。

Keywords : *Scopolia japonica*, l-hyoscyamine, scopolamine

* 大阪大学薬学部

姉帯正樹*, 畠山好雄, 山岸 喬*: 北海道産ロートコンの化学的品質評価

生薬誌, 46, 281~284 (1992)

Scopolia 属植物8種22系統の種子を外国から導入, 栽培し, それらのアルカロイド含量をHPLCを用いて定量した。

Keywords : *Scopolia* Rhizome, tropane alkaloid, scopoletin

* 北海道立衛生研究所

Ishimaru, K.*¹, Yoshimatsu, K., Yamakawa, T.*², Kamada, H.*³ and Shimomura, K.: Phenolic constituents in tissue cultures of *Phyllanthus niruri*.

Phytochem., 31, 2015~2018 (1992)

南米ペルーの薬用植物 *Phyllanthus niruri* の組織培養によるフェノール性化合物の生産を検討し, 原植物との比較を行った。

Keywords : *Phyllanthus niruri*, tissue culture, tannin.

*¹ 佐賀大学農学部

*² 東京大学農学部

*³ 筑波大学生物学系

田中俊弘*¹, 酒井英二, 西部三省*², 笹原道子*², 鄭太坤*³: 車前草の生薬学的研究 (第9報) 中国産車前草について。

生薬, 46(3), 235~239 (1992)

車前草は古くから利尿・鎮咳を目的とした民間療法に使用されており, JPXIIには「本品はオオバコ *Plantago asiatica* L.の夏期の全草である。」と記載されている。近年消費量が増加し, その半数以上を輸入に頼っている。そこで輸入品および今後輸入される可能性のあるサンプルについて基原植物の検討を行い, 「中国産車前草」の輸入用サンプル中に *P. asiatica* L.を基原としないものを確認し, *P. depressa* WILLD.および *P. hostifolia* NAKAI et KITAGAWA と同定した。

Keywords : Plantagininis Herba, *Plantago depressa*, *P. hostifolia*

*¹ 岐阜薬科大学

*² 東日本学園大学薬学部

*³ 遼寧中医学院

柴田敏郎, 畠山好雄, 姉帯正樹*, 金島弘恭*: 北海道北部地方におけるオウレンの無遮光栽培について。

生薬, 46(4), 310~316 (1992)

オウレンは元来涼しい日陰地を好み, 本州では日覆を施した畑, または林床下で栽培される。日覆に要する資材費, 労力の節減を目的に, 夏期の高温期の短い道北地方における無遮光栽培の試作を行った。その結果, 実生2年目以降の無遮光栽培は, 6年目株の根茎収量が本州での通常栽培の87%と低いものの日覆に要するコストを節約でき, 農業経営の観点からみて充分成立し得ると考えられた。5年目, 6年目株の, 根茎中アルカロイド含量は, JPXIIを上回るものであった。

Keywords : *Coptis japonica*, unshaded condition, berberine

* 北海道立衛生研究所

柴田敏郎, 熊谷健夫, 沢井清道, 畠山好雄: センキュウの栽培に関する研究 (第2報) 成育, 収量に及ぼす施肥時期の影響

生薬, 47(1), 5~11 (1993)

収量に及ぼす施肥時期の影響を北海道名寄市にて検討した結果, 5月の施肥が最も効果的であり, 年間施用量の半量を秋の定植時に基肥として, 残り半量を5月の追肥として施すのが最適な施肥方法と考えられた。これは収量と密接な関係がある窒素が小イモの肥大が最も盛んになる9月上旬までに吸収されるためである。一方, 7~8月の施肥では窒素の吸収が遅れ, 収穫が10月上旬~中旬に行われる北海道地方の栽培形態では, その効果が認められなかった。

Keywords: *Cnidium officinale*, time of fertilizer application

Aoki, T. Toda, Y.* and Shimomura, K.: Characteristics of green hairy roots of *Hyoscyamus albus* transformed with *Agrobacterium rhizogenes* strain A4.

Plant Tissue Culture Letters, 9, 214~219 (1992)

Hyoscyamus albus 毛状根を1/2 MSあるいは4 mMの硫酸アンモニウムを添加したB5培地を用いて照射下で培養すると, 薄い緑色になり, アンモニウムイオンがクロロフィル含量に影響を与えていることが示唆された。

Keywords: *Hyoscyamus albus*, green hairy roots, tropane alkaloids

* 日本大学文理学部物理学科

Ishimaru, K.*¹, Ikeda, Y.*², Kuranari, Y.*² and Shimomura, K.: Growth and lobeline production of *Lobelia inflata* hairy roots.

生薬学雑誌, 46, 265~267 (1992)

Lobelia inflata 毛状根2クローンの培養によるロベリン生産を検討した。1クローンは暗所で培養すると照射下よりも生産量が高くなり, もう一つのクローンは照射下で培養したときの方が暗所よりも生産量が高いことが判明した。

Keywords: *Lobelia inflata*, hairy roots, lobeline.

*¹ 佐賀大学農学部

*² 佐賀県薬事指導所

Sauerwein, M.*, Shimomura, K. and Wink, M.*: Incorporation of 1-¹³C-acetate in to tropane alkaloids by hairy root cultures of *Hyoscyamus albus*.

Phytochem., 32, 905~909 (1993)

¹³Cでラベルした酢酸塩を *Hyoscyamus albus* 毛状根に投与して培養後, 毛状根からアルカロイドを単離 ¹H および ¹³C NMR を測定した。酢酸塩の ¹³C はトロパン骨格のC3位に取り込まれることが判明し, さらに取り込み率から生合成経路を推定した。

Keywords: *Hyoscyamus albus*, feeding experiment, tropane alkaloids.

* ハイデルベルグ大学

Hosoda, K., Noguchi, M., Hisata, Y. and Noro, M.: Studies on the Cultivation of *Bupleurum falcatum* L. III. Effect of Soil Ventilation on the Root Morphology.

Syoyakugaku Zasshi, 47, 17~21 (1993)

土壤に通気または散水を施すとミシマサイコの根の収量は増大し, 根の木部組織の木化が進行した。根の木化組織は植物成長の初期=蓄形成期には殆んど認められないのに対し, 開花あるいは種子形成期には著しく多く観察された。木化指数=木化木部の厚さ/根の直径は土壌処理法により変化した。根のサポニン含量には殆んど影響は見られなかった。

Keywords: *Bupleurum falcatum*, Cultivation, Lignification

Christen, P.*, Aoki, T. and Shimomura, K.: Characteristics of growth and tropane alkaloid production in *Hyoscyamus albus* hairy roots transformed with *Agrobacterium rhizogenes* A4.

Plant Cell Rep., 11, 597~600 (1992)

Hyoscyamus albus 毛状根の生育とトロパンアルカロイド生産に対する種々の培地成分の影響を検討した。その結果, 銅イオンに毛状根の生育とアルカロイド収量を増加させる効果があることが判明した。

Keywords: *Hyoscyamus albus*, hairy root culture, tropane alkaloids

* ジュネーブ大学

Hosoda, K. and Noguchi, M.: Studies on the Cultivation of *Bupleurum falcatum* L. IV. Effect of Disbudding and Picking Flower on the Root Growth and Root Morphology.

Syoyakugaku Zasshi, 47, 39~42 (1993)

ミシマサイコの栽培時に摘蕾処理を施すと, 根の長さ, 重量, 直径, 根頭径が増大し, また根の木部の厚さが増加したが, 根の直径や木化した木部厚膜組織の厚さ, サイコサポニン a, d 含量には対照との間に差は認められなかった。これらの結果から, 摘蕾処理は, サポニン含量への影響なしにサイコの収量を増大する有力な手段となると結論された。

Keywords: *Bupleurum falcatum*, Disbudding, Root Morphology

久保繁夫, 上田哲也, 中西 造, 細田勝子, 野口衛: ミシマサイコの栽培に関する研究 (第5報) 植物生育と土壤微生物フローラの相関
薬誌, 113, 369~375 (1993)

土壤微生物のミシマサイコの成長への影響を明らかにするため, 対照および通気栽培圃場の非根圏, 根圏, 根面における細菌, グラム陰性菌, 通性嫌気性細菌, その他の微生物のコロニー形成単位 (CFU) を検定した結果, 蛍光性 *Pseudomonas* 属細菌および放線菌の CFU とミシマサイコの成長には, 栽培条件に関わりなく高い正の相関関係が認められたが, カビの CFU とは負の相関関係を示した。
Keywords : *Bupleurum falcatum*, Soil microflora, Cultivation

青柳伸男: 徐放性製剤の設計と評価
家庭薬研究, 12, 5~19 (1993)

徐放性製剤の設計と評価の在り方に関して, 放出制御製剤の有用性, 製剤設計時に留意すべき事項, 放出試験の活用法, 規格設定の在り方, 製剤機能に及ぼす食餌および生理学的要因の影響, 放出速度と薬効との関連性, 製剤技術の限界を越えた問題への対応法等について述べた。

Keywords : controlled-release, sustained-release, dissolution

Kaniwa, N.: ミニレビュー; バイオアベイラビリティの評価への population pharmacokinetics の手法の適用
薬物動態, 7, 529~5354 (1993)

生物学的同等性の評価は, AUC や Cmax のようなファルマコキネティック (pk) ・モデル非依存性のパラメータを用いて行われてきた。しかし, 近年 pK モデル依存性のパラメータを用いた評価法の利点が見直され始めている。pk モデル依存的で, population pharmacokinetics の解析法のひとつである NONMEM 法は, 一人当たりの測定点が少ない臨床データをも解析することができ, 有用な方法として注目を浴びている。同方法を生物学的同等性の評価へ適用することについて, 紹介を行った。

はじめに, 生物学的同等性の概念を数式に表紙, それと pk モデル非依存性の判定方法との関係を述べた。次に, NONMEM 法を生物学的同等性の評価に適用する方法について述べた。幾つかの生物学的同等性試験データを NONMEM 法で解析し, 従来法と同様の結果が得られることを示し, さらに, 従来の方法では解析不可能な臨床データからも, NONMEM 法によって生物学的同等性の評価を行えることを示した。最後に NONMEM 法によって生物学的同等性を評価することのメリットに言及した。

Keywords : NONMEM, bioequivalence, pharmacokinetic model dependent parameter

豊岡利正, 石橋無味雄: 医薬品の迅速分析法—ビタミン主薬製剤中のアスコルビン酸—
月刊薬事, 35 (5), 1031~1036 (1993)

厚生省薬務局監視指導課の研究班において国立衛生試験所が作成した原案を東京医薬品工業協会ならびに大阪医薬品協会が検討を加え, その結果に基づき作成されたアスコルビン酸の HPLC 法による迅速分析法の概要および試験法を実施するためにあたっての注意点等を解説した。

Keywords : L-ascorbic acid, rapid analysis, HPLC

中原雄二, 木倉瑠理, 高橋一徳: 毛髪への薬物の排泄—コカイン, ヘロイン, 覚醒剤関連薬物の物性と毛髪への排泄の関係
薬物動態, 7, S85 (1992)

血中薬物の毛髪への排泄には物性により難易があることを確認するため, コカイン, ヘロイン, 覚醒剤関連物質をラットに投与し, 親化合物とそれぞれの代謝物の血中 AUC と毛髪中濃度を比較し, 毛髪への排泄の難易を調べた結果, 親化合物に比べ, 水溶性, 極性の増した代謝物や酸性の代謝物は著しく毛髪中への排泄率が低下することが確認された。長期の薬物動態を研究する上で重要な知見が得られた。
Keywords : hair, cocaine, methamphetamine

木倉瑠理, 落合敏秋, 中原雄二: 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毛髪への移行について—ラットにおける薬物の血漿 AUC 値と毛髪中濃度の関係
法中毒, 10, 192~193 (1992)

ラットにコカインおよびその代謝物 benzoylecgonine (BE) および ecgonine methylester (EME) を単独もしくは同時に投与し, 3 者の AUC 値と毛髪中濃度を比較して, それらの毛髪への移行性を調べるとともに, 毛髪中代謝物の挙動について検討した。コカイン投与のラット血漿中 AUC 値を比較すると, コカインのそれは BE, EME のその 1/4~1/5 であった。一方, 毛髪中の薬物濃度は, コカインが BE, EME の 10~20 倍と高い値を示した。BE, EME の単独投与やコカインと代謝物の同時投与の実験において, 代謝物は血液中から代謝物の形ではほとんど毛髪には移行せず, 主にコカインが毛髪に移行した後, 毛髪中でコカインから BE に変化したものであることがわかった。また, コカインの血液から毛髪への移行性は BE, EME と比較して非常に高いことが明らかとなった。

Keywords : cocaine, hair, metabolism

中原雄二, 高橋一徳, 木倉瑠理, 小沼杏坪*: 毛髪中薬物のGC/MS分析による長期薬物乱用の診断—コカイン, ヘロイン, 覚醒剤関連薬物の場合

日本医用マス, 17, 207~209 (1992)

毛髪のGC/MS分析によるコカイン, ヘロイン, 覚醒剤に関する薬物依存の化学的診断法の開発を試みた。入院治療中の20の覚醒剤乱用者, 3のコカイン乱用者, 4のヘロイン乱用者の毛髪を採取し, 根本から2 cm 毎の分画につき分析したところ, 予め得ていた薬物乱用時期や期間と毛髪中の薬物分布がよく対応した。また, 薬物乱用期間が長くなる程, 毛髪中の代謝物の比率が上昇することを見出した。特に, 覚醒剤乱用による依存の状態を医師に重, 中, 軽の3段階に診断してもらっておき, この診断と毛髪中の代謝物の割合 [アンフェタミン/メタンフェタミン] に対比すると, 多くの場合, 重症患者は12%を超え, 軽症者は, 8%以下であった。代謝物の割合による依存症の診断への可能性を論じた。

Keywords : drug dependence, diagnosis, hair

* 国立下総療養所

中村晃忠, 佐藤道夫: 血液浄化用器材の進歩と問題点. I ダイアライザー, ヘモフィルター (3) 血液浄化器械から放出される可能性のある物質の生物作用

臨床透析, 9, 285~289 (1993)

人工腎臓透析器等の血液浄化器から溶出する可能性のある物質, (1) フタル酸エステル, (2) 中空糸膜の親水化剤, (3) 中空糸芯剤, (4) 中空糸紡糸溶媒, (5) ポッティング剤からの溶出物, (6) エチレンオキシド, 等の安全性について論じた。大方のものは安全であると考えられるが, first-use syndrome, 赤眼症候群等の思わぬ合併症が市販臨床使用後に見つかることもある。

Keywords : toxicity, chemicals, dialysis set

新谷英晴: Implant retrieval symposium に出席して

生体材料, 11, 48~50 (1993)

シリコンゲルで作成される人工乳房を有する婦人に癌や免疫不全が起こることに端を発して, 米国シカゴで米国人工材料学会, 米国外科学会, 米国食品医薬品局により共同開催された埋植物の摘出ならびに安全性に関する国際会議での討論の内容について。

Keywords : Implant retrieval, biomaterial, safety evaluation

谷本 剛: 消化力試験法の新規収載について。薬局方フォーラム, 2(2), 135~138 (1993)

第十二改正日本薬局方第一追補に新規収載予定の一般試験法消化力試験法について, その収載の経緯ならびに試験法を解説した。消化力試験法はでんぷん消化力試験法, たん白消化力試験法, 脂肪消化力試験法の3種の試験法から構成されており, でんぷん消化力試験法はさらにでんぷん糖化力測定法, でんぷん糊精化力測定法, でんぷん液化力測定法の3測定法から構成されているので, これら試験法および測定法の設定意義ならびに原理についての解説を行った。

Keywords : Pharmacopoeia, digestive power test, digestive enzyme

新谷英晴: ガンマ線照射ポリウレタン中の毒性化合物の分析および生成機構

ぶんせき, 132~136 (1993)

医療用ポリウレタン (PU) に滅菌の目的でガンマ線照射した際, 生成する発癌性を有するメチレンジアニリン (MDA) の生成の液体クロマトグラフィー分析法, 固相抽出法について報告した。さらにPUからのMDAの生成機構についても検討した。

Keywords : methylenedianiline, high performance liquid chromatography, solid phase extraction

中村晃忠: インプラントの毒性

骨・関節・靭帯, 6, 199~204 (1993)

整形外科領域で用いられるインプラント医療用具の毒性問題について概括した。金属材料については, NiやCrなどによる金属アレルギーと発癌問題がある。特に, 腐食や摩耗との関連が重要である。シリコン材料では, シリコン・ゲルによる人アジュヴァント病や異物発癌の可能性について論じた。また, 骨セメントによる循環器系障害についても触れた。

Keywords : metal allergy, silicone, bone cement

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: Optimization Theory of Chromatography

Chemom. Intel. Lab. Sys., 18, 1~16 (1993)

米国環境保護庁 (EPA) の D. R. Scott 博士より招待された初学者のための講義的レビュー (tutorial review) である。Scott 博士は上記のケモメトリックスのジャーナルの編集委員である。我々のクロマトグラフィの最適化理論, FUMI理論と呼ばれている, を簡潔に紹介した。

Keywords : Kalman filter, information theory, FUMI

Hayashi, Y. and Matsuda, R.: **Information Theory of Chromatography and Titration**

Anal. Chim. Acta, **277**, 325~331 (1993)

FUMI 理論と呼ばれている, 我々のクロマトグラフィの最適化理論を滴定の問題に応用した。強酸の滴定における定量精度の強酸の量に対する依存性と弱酸の滴定における pK_a の定量精度に対する影響を問題にした。このような滴定の問題に対して, 定量精度を, 定性的にはあるが, 情報測度 FUMI で表すことができた。

Keywords: Kalman filter, information theory, FUMI

根本 了: **バイオテクノロジー応用医薬品の製造承認**

医薬ジャーナル, **27**, 2139~2146 (1991)

バイオテクノロジー応用医薬品 (バイオ医薬品) の製造承認申請に関する「組換え DNA 技術応用医薬品の承認申請に必要な添付資料の作成について」および「細胞培養技術を応用して製造される医薬品の承認申請に必要な添付資料の作成について」の 2 つの通知に基づいて, バイオ医薬品の定義, 取扱い区分, 要求される添付資料等について解説した。

Keywords: biotechnology drugs

斉藤行生: **食品中の有害物質のモニタリングについて**

食品衛生研究, **42**(10), 15~24 (1992)

安全な食品を得るためにさまざまな施策が実行されている。その一つがモニタリングである。モニタリングには, ①食品そのものについてのモニタリング, ②食品が生産される環境に関するモニタリングおよび③科学情報に関するモニタリングがある。本稿では, ①に焦点をあて, 最近見出された新しいタイプのかび毒フモニシン, 魚介毒ドモイ酸および農薬について最近の知見をまじえて概説した。

Keywords: poisonous substances, monitoring, foods

根本 了: **バイオテクノロジー応用医薬品の承認現状**

月刊薬事, **34**, 31~37 (1992)

バイオテクノロジー応用医薬品 (バイオ医薬品) の承認審査における, 一般の化学合成医薬品とは異なったバイオ医薬品に特徴的な取扱事項について解説するとともに, バイオ医薬品の承認の現状について解説した。

Keywords: biotechnology drugs

斉藤行生: **食品添加物:**

臨床栄養, **82**(5), 458 (1993)

食品添加物が使用されるに到った歴史的背景とその安全使用基準設定の仕方等をわかりやすく概説するとともに, 最近新しく食品添加物として指定されたイマザリルについて説明を加えた。イマザリルは, 殺菌剤として優れており, 柑橘類やバナナなどに対する安全性や有用性については, すでに国連機関で評価されていたが, 我が国でも添加物として指定される際にその安全性について十分に検討されたものである。

Keywords: food additives, imazalil

根本 了: **組換え DNA 技術応用医薬品等の製造計画の確認**

月刊薬事, **34**, 39~51 (1992)

バイオテクノロジーの進歩に伴い, 組換え DNA 技術を応用した医薬品の研究開発が盛んになってきた状況を踏まえ, 厚生省では組換え DNA 技術を応用して製造される医薬品の品質確保および製造上の安全性を確保するため「組換え DNA 技術応用医薬品の製造のための指針」の薬務局長通知を出している。本編は, この指針の内容について解説するとともに, 現在までの製造計画の確認状況について解説した。

Keywords: recombinant DNA technology, manufacturing

鈴木 隆: **残留農薬と国際貿易**

食品衛生研究, **42**(9), 43~58 (1992)

国際貿易が盛んになるにつれ農薬残留の問題は一国の問題としてではなく, 国と国の問題として考えていかなければならない。これには FAO/WHO の国際規格, 米国の EPA の許容基準等があるがこれらの設定の仕方, 基本的考え方ならびに実態調査結果との比較等について述べた。

Keywords: pesticide residue, Codex Alimentarius, tolerance

根本 了: **医薬品開発のハーモナイゼーション
カレントセラピー**, **10**, 175~177 (1992)

医薬品開発の国際的ハーモナイゼーションについて, 平成 3 年 11 月 5 日から 7 日までの 3 日間, ベルギーのブリュッセルで開催された第 1 回日・米・欧三極医薬品承認申請資料ハーモナイゼーション国際会議 (ICH) の話題を中心に, これまでのハーモナイゼーションの動き, ICH が開催されるにいたった経緯, ICH の意義, 第 1 回 ICH での成果について解説した。

Keywords: ICH

内山貞夫：照射食品の検知法の現状と展望
臨床検査, 36, 1134~1136 (1992)

照射食品の国際的な普及に伴い、その検知法が求められている。現在、FAO/IAEAは検知法の研究調整プロジェクト(1990~1994)を行い、国際的検知法の確立を目指している。まず、ESR法による照射骨付き肉の検知法が提案され、香辛料についても検討中である。さらに、有望な検知法として、照射香辛料の熱発光法、照射肉・脂肪食品の脂肪一揮発性炭化水素/シクロブタノン法、照射ジャガイモのインピーダンス法、照射柑橘類の胚培養法、照射香辛料の微生物学的スクリーニング法がある。

Keywords : γ -irradiation, identification of irradiated food

渡邊芳即*, 石綿 肇：輸入食品の安全性を支える

厚生, 39, 38~41 (1992)

検疫所における輸入食品の監視について解説した。生鮮食品は空輸による輸入が多く、短時間での検査(病原菌, 衛生微生物, 添加物, 汚染残留物など)が要求されている。この需要に応えるために、成田空港検疫所での航空貨物の監視業務の流れと指導について、また、輸入食品・検疫検査センターでの対応や自動分析, 迅速分析法の開発等について述べた。

Keywords : imported food, inspection, quarantine office

* 成田航空検疫所

三瀬勝利：水分活性と食品衛生。

調理科学, 25(4), 327~333 (1992)

食中毒の現状, 微生物の増殖と水分活性, 食品の水分活性と微生物の増殖域, および水分活性をめぐる食品の保存法と食品衛生について解説した。

Keywords : water activity, food poisoning, toxic microorganisms

三瀬勝利, 長谷部和久*¹, 真鍋 勝*², 一戸正勝, 熊谷 進*³, 丸山 務*⁴, 芦田勝朗*⁵ : UJNR 有毒微生物専門部会第27回日米部会。

食品衛生研究, 43(2), 57~81 (1993)

第27回 UJNR 日米合同会議と科学セッションで発表された演題の紹介を行った。

Keywords : mycotoxin, bacterial toxin, marine toxin

*¹ 厚生省生活衛生局乳肉衛生課

*² 農林省食品衛生総合研究所

*³ 国立予防衛生研究所

*⁴ 国立公衆衛生院

*⁵ 水産庁中央水産研究所

棚元憲一：医薬品および医療用具中の汚染エンドトキシンとその検出系としてのリムルス試験の基礎と応用

J. Antibact. Antifung. Agents 21, 237~243 (1993)

エンドトキシンの化学的・生物学的な基礎を解説するとともに、その検出系としてのリムルス試験の基礎を論じた。さらに医療用具分野に於けるリムルス試験の応用の現状と問題点について解説を加えた。

Keywords : endotoxin, Limulus test.

小沼博隆：細菌性食中毒「感染型食中毒」。

中毒研究, 5, 357~367 (1992)

細菌性食中毒をその発生機序によって感染型, 毒素型および中間型に分類するとともに感染型食中毒菌腸炎ビブリオ, サルモネラ, カンピロバクター, 病原大腸菌それぞれに関する歴史, 分類, 分布, 病原性(ヒルレンス), 発症菌量, 各種要因による挙動(温度, pH, aw, その他), 食中毒事例等について解説した。

Keywords : *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp. *Campylobacter* spp.

小沼博隆：食品細菌検査の簡易化・迅速化

食品と微生物, 9, 199~200 (1993)

最近, 食品衛生微生物領域においても, 簡易化, 迅速化, 自動化を目的とした種々のものが考案, 開発され市販される種類も多くなってきた。それに伴いユーザーは市販されているものから適切なものを選びたいが何を基準に選択すれば良いのか迷ってしまう感があった。例えば, それらの原理は?, また検査制度・検出感度は高いか, その簡易・迅速性, 省力性, 省試薬, 省器具・機材性の程度はどれくらいか, どこに問い合わせれば入手できるのか, 適用食品の範囲は, データプロセッサとの連結ができるか, 公定法との関係は, 価格あるいは1検体あたりのコストはどれくらいか, 試薬および器具・機材の保存期間や供給体制は万全かなど様々な期待と不安を抱いているのが現状である。

そこで, 食品の日常検査にその活用が期待される代表的な検出試薬類, キット類および機器類の中から, 特に多くの種類のものが開発, 市販されている細菌数, 大腸菌群・大腸菌, サルモネラ検査およびブドウ球菌エンテロトキシン検査について, 私達の知りたい前述の情報のほか, 最新情報等を含めて4人の先生に紹介していただいた。

Keywords : EIA, DNA hybridization, ED-PCR

一戸正勝：真菌性食中毒

中毒研究, 5, 379~385 (1992)

キノコ中毒は菌体(子実体)そのものを摂取して菌体内に含まれる有毒成分の作用により発症する疾患であるのに対し、カビ毒中毒は食品あるいは食品原料となる農作物に有毒カビが増殖して、代謝産物として蓄積された有毒化合物を基質となった食品等とともに摂取して発症する疾患である。これら真菌が関与する食中毒を硬式食中毒統計である厚生省編「食中毒統計」および「全国食中毒事件録」より抽出して、1962~1992年のキノコ中毒の全国統計をとりまとめ、年間では24~154件(平均63件)、患者数85~828名(平均321名)のキノコ中毒が発生し、この30年の間に37件、44名の死者がでている。さらに特定菌としてのシビレタケなどの幻覚性キノコによる中毒27事例につき発生年月、発生場所、患者数、原因菌類を示した。また、カビ毒による食中毒として、赤カビ(*Fusarium*)が関与した国内の食中毒と国外でのアフラトキシン中毒について解説した。

Keywords: mushroom poisoning, mycetismus, mycotoxicosis

窪田 綏^{*1}, 中田 琴子, 吉野 徹^{*2}, 皿井 明倫^{*2}: ヒト・ゲノム解析計画における遺伝・蛋白情報システムの開発

応用細胞生物学研究, 10, 別冊, 22~34 (1992)

ヒトゲノム解析計画の一環として着手している遺伝情報解析ならびに蛋白情報解析をコンピュータで行うシステムについて記載されている。遺伝情報配列(核酸配列)上の機能部位を人工知能による手法を用いて予測を行う方法、相関関数による蛋白質の機能部位の予測、自己相関関数による配列の繰り返し構造の解析、ホモロジー法による蛋白質の2次構造予測、蛋白質のアミノ酸の内側・外側の予測、アミノ酸配列のホモロジー解析および蛋白質の立体構造予測を数理解析理論を交えて解説した。

システム全体はUNIXマシンで開発されており、ネットワークを通じて端末からもアクセスできるよう考慮されている。UNIXシステムに不慣れなユーザーにも容易に使え、かつ専門的な要求を満たすよう作られている。マルチタスクやマルチウィンドウを使用して、遺伝情報解析から蛋白質の構造解析まで視覚に訴えて理解できるよう作られている。

Keywords: human genome, genetic code, protein structural analysis

^{*1} 自由研究者の森基礎科学研究所

^{*2} 理化学研究所ライフサイエンス筑波研究センター

中田 琴子：遺伝子解析の数理と物理

バリエティ, 7, 44~49 (1992)

ヒトのゲノムの全塩基を解説し、個々の遺伝子の構造、配置、機能を明らかにしてゲノムの全体像をデータベース化しようという計画が国際的になり、核酸やタンパク質のアミノ酸の配列データが激増している。これら核酸やアミノ酸の配列に種々の注釈を加えコンピュータでの処理を可能にしたデータベースが色々作られている。また病気や身体の特徴に関連した遺伝子のデータベース等も作られており、いくつかのデータベースを統合したデータベースも開発されている。これらのデータベースを利用し、種々の数学的または物理的理論を用いて配列データを解析する方法について解説した。人工知能的技法を用いて複数の配列の類似性を測る方法や神経回路網理論を応用した配列上の機能部位周辺の特徴を抽出する方法、その他配列に備わった種々の特性を各々適切なアルゴリズムで数値化して解析する方法について述べた。

Keywords: human genome, database, sequence analysis

関沢 純：WHOにおける食の安全性プログラム環境情報科学, 22, 21~27 (1993)

WHO(世界保健機関)が遂行している食の安全性プログラムをそれぞれ化学的(食品汚染物安全性評価とモニタリング、および国際食品規格)、生物学的(病原菌、天然毒、バイオテクノロジー食品)、物理学的(放射能汚染)要因に関わる活動に分けて解説した。わが国の食糧供給の現状と地球環境の破壊の関連の問題、および輸入食品の増大とわが国の食品規制との関連ではGATTウルグアイラウンドで進められようとしている「国際食品規格」の一律な強制の危険性を指摘した。

Keywords: WHO, food safety, GATT

山本 都：国際有害化学物質情報登録(IRPTC)の活動

ファルマシア, 28, 886 (1992)

国際有害化学物質情報登録の活動および新しく開発されたIRPTCデータベースについて解説した。

Keywords: database

佐井君江：臭素酸カリウムによる酸化的 DNA 傷害に関する研究

抗酸菌病研究所雑誌, 44, 31~52 (1992)

ラット腎発癌剤臭素酸カリウムによる酸化的 DNA 傷害機構について、8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OH-dG) を酸化的 DNA 傷害の指標として、*in vivo* および *in vitro* 実験を行い検討した。ラットへの臭素酸カリウム単回投与により、腎脂質過酸化反応が起こり、続いて8-OH-dGの生成が認められた。また腎の過酸化脂質および8-OH-dGレベルの上昇は、グルタチオン、システインおよびビタミンC等の抗酸化剤の併用処置によつて抑制された。さらに、ラット腎核画分の臭素酸カリウムまたは脂質過酸化系 (Fe-アスコルビン酸-ADP) での処理により8-OH-dGが生成した。また、ESRおよびケミルミネッセンスの測定から単離腎細胞の臭素酸カリウム処置により、一重項酸素の生成が確認された。以上のことから、臭素酸カリウムは腎細胞内で活性酸素を生成して膜成分の過酸化反応を引き起こし、これが核膜の過酸化を促進して最終的にDNAを酸化的に傷害すると推論した。

Keywords : potassium bromate, lipid peroxidation, 8-hydroxydeoxyguanosine

黒川雄二, 佐井君江, 高木篤也, 梅村隆志, 長谷川隆一：環境化学物質による臓器 DNA の酸化的傷害

Cancer Res. Clinics, 1, 150~158 (1992)

近年、発癌過程における活性酸素の関与が注目されるにともない、酸化的 DNA 傷害と発癌との関連についての研究が急速に進展してきた。その中で、酸化的 DNA 傷害産物の1つである8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OH-dG) は、その検出の簡便さから酸化的 DNA 傷害の指標として広く解析されるようになった。この総説では、8-OH-dGを指標とした酸化的 DNA 傷害と発癌との関連を調べた実験例について我々の研究結果を中心に紹介した。特に非変異原性の肝発癌物質であるクロフィブレット等のペルオキシソーム増殖剤や、腎発癌物質である鉄-ニトリロ三酢酸ならびに臭素酸カリウム投与による標的臓器中での8-OH-dG生成に関する実験例について解説し、酸化的 DNA 傷害が関与する発癌物質の短期スクリーニング法としての8-OH-dGレベル測定の有用性について紹介した。

Keywords : chemical carcinogen, oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine

黒川雄二：発がん性試験実施の立場から

環境変異原研究, 14, 99~103 (1992)

いわゆる非変異原性発がん物質 (non-genotoxic carcinogen) は、近年確実にその数が増加してきており、その機構解明、新しい短期検索法の開発、リスクアセスメント方法などが問題化している。本稿では、非変異原性発がん物質の出現の原因から現時点におけるまでの問題を総括した。即ち、米国 National Toxicology Program における非変異原性発がん物質の現状、それらの特徴となる性質、分類などについて述べた。

現実に新規化学物質 (医薬品、農薬、食品添加物、家庭用品、化粧品、等々) の開発段階において、変異原性物質はごく一部 (抗癌剤) を除いては取り上げられないことから、申請に必要な発がん性試験が行われれば今後ますます非変異原性発がん物質の増加は明らかなことといえ、早急な対策を確立することが望まれている。

Keywords : non-genotoxic carcinogen, carcinogenicity testing, National Toxicology Program

Kurokawa, Y. and Damstra, T.: The Third United States-Japan Meeting on the Toxicological Characterization of Environmental Chemicals.

Environm. Health Perspect. 98, 281~286 (1992)

「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」班における研究活動の一環として、NIEHSのスタッフとの間で第3回目の定例会議を91年2月4~6日までハワイで開催した。日米双方から5名づつが参加し、最近のNTPおよび衛試の毒性情報を交換し、さらに発がん性試験における問題点、特に非変異原性発がん物質の検出、作用機構、病理組織学的な前癌病変の検出などが討議された。

Keywords : risk assessment, carcinogenicity

Ohno, Y., Hirota, K. and Guo, Xin Piao: Toxicity evaluation by using primary cultured rat hepatocytes

J. Toxicol. Sci., 16, Sup. II, 121~124 (1991)

化学物質の肝臓毒性の評価や作用発現機構の検索における初代培養肝細胞の有用性やその限界について、生体より調製した直後の遊離肝細胞と比較した。遊離肝細胞は数時間以内の実験に適しているが、初代培養肝細胞は、より長期間の処置による変化を長期にわたって観察できる点で優れている。また、メチルコラントレンのような芳香族炭化水素化合物による薬物代謝酵素の誘導が *in vivo* と初代培養肝細胞でよく対応している。したがって、変異原性試験や単回投与毒性試験では毒性の有無についての検討が困難な、PCB や TCDD のような薬物のスタリーニングが、初代培養肝細胞を用いて薬物代謝酵素の誘導能を調べることにより可能であり、被験物質の用量も極く微量である。しかし、初代培養肝細胞における薬物代謝活性は、培養により急速に低下するばかりでなく、基質特異性も変化する。そのため、代謝活性化が要因となる化合物の場合には、培養開始後短期間のうちに試験を行うか、または、遊離肝細胞を用いることが適切である。

Keywords: primary cultured hepatocytes, isolated hepatocytes, liver toxicity

高橋道人：免疫毒性と発癌。

免疫薬理, 10, 151~154 (1992)

移植患者の増加にともない免疫抑制剤の使用が拡大している。免疫抑制作用を有する物質の一部には発癌物質が含まれることから、免疫と発癌の間に何か関連性があるようにみえるし、またある種の腫瘍の発生は免疫機能の弱い若齢または老齢動物で多いことなどを考え合わせると、免疫抑制と発癌の関係については興味のあるところである。ここでは免疫抑制状態と癌発生との関連を概説するとともに、免疫毒性が発癌にどのように関与する可能性があるかを考察した。免疫抑制状態においてよくみられる腫瘍としては、リンパ腫、カポシ肉腫、皮膚癌のほかには原発性肝癌が挙げられる。これらの腫瘍は、主に免疫抑制剤による治療で発生するものであるが、いずれもウイルスの関与が疑われる疾患と関連がある。このことは偶然の一致とは考えられず、実験的な事実を考慮すれば、正常の免疫反応の存在、少なくとも細胞性免疫は、ある種のウイルス発癌に対して保護的に働くことが考えられる。一方、化学発癌においては、あまり明確な寄与をしているという報告は少ない。すなわち、免疫監視機構は主にウイルス発癌において有効であるが、他の原因による発癌に対してはほとんど寄与していないものと思われる。

Keywords: immunotoxicity, immunosurveyance, immunosuppressant

三森国敏：我が国の残留動物用医薬品の規制の方向

食品衛生研究, 42, 7~15 (1992)

抗生物質や合成抗菌剤が残留した食肉等を継続して摂取した消費者が細菌性疾患に罹患した場合、抗生物質を使用してもこれらの疾患に効力を示さなくなることがある。このため、我が国では、食肉、食鳥卵および魚介類等の畜水産食品中にこれらの動物用医薬品（動物薬）を含有してはならないと規定している。一方、米国では、微量の残留ならばヒトの健康への影響は少ないとの立場から、これらの動物薬について許容残留値を設定している。また、FAO/WHO では新しい残留規制の評価法として最大残留基準値 (MRL) の概念を導入し、その MRL を科学的根拠に基づき設定している。ヨーロッパ共同体 (EC) においてもこの MRL の概念を導入し、EC 域内で用いられているすべての動物薬について残留基準値を設定するようである。以上のような残留規制の国際的動向から、我が国においても諸外国の残留許容濃度を参考にするとともに、安全性に関する情報、畜産物の標準摂取量、適切な使用方法による残留値等のデータに基づいて家畜、家禽、魚介類やみつばち等の食用畜水産物に対する抗生物質、合成抗菌剤、駆虫薬、成長促進剤等の動物薬の残留基準値を設定することが検討されている。

Keywords: JECFA, Maximum residue limit, Veterinary drug residues

内海英雄*, 濱田 昭*, 大野泰雄：細胞毒性試験による有害化学物質汚染の評価

水環境学会誌, 10, 655~661 (1992)

水質確保を目的とした生物試験法に関しては、従来の化学的方法のみでは必ずしも充分とは思われないとの危惧から、変異原性試験や細胞毒性試験が応用されてきた。本総説ではこれらの概要について解説するとともに、リポゾーム試験との対応性について検討し、これが細胞毒性試験の結果との対応性が良いことを示した。

Keywords: bio-assay, micropollutants, water-safety

* 昭和大学薬学部

高橋道人：発がん動物モデル。

Oncologia, 26, 210 (1992)

がん原性試験で陽性結果となったものをそのメカニズムから解析すれば、①げっ歯類特有なもの (例：肝ペルオキシソーム増生剤と肝細胞腫瘍など)、②高用量時に生ずるもの (例：高カルシウム血症と副腎髄質腫瘍など)、③プロモーター作用をもつもの (薬物代謝酵素誘導薬とマウス肝細胞腫瘍など) が含まれており、それらを除外することによって、本来のがん原性を絞り込むことが可能である。

Keywords: carcinogenicity study, extrapolation, nongenotoxic carcinogen

M. Takahashi: Carcinogenicity of Anticancer Agents.

The Journal of Toxicological Sciences. 16, 27~29 (1991)

最近の癌の化学療法の発達は目覚ましいが、効果的な制癌剤の治療によって二次的に別の腫瘍を発生させる、いわゆる二次発がんの問題がクローズアップされてきた。制癌剤を作用機序別に分類すると、アルキル化剤、抗生物質 (DNA 結合剤)、代謝拮抗剤、細胞分裂阻害剤 (紡錘体阻害剤)、ホルモン剤、その他に分けられる。アルキル化剤では、動物実験およびヒトにおいて発癌性が認められている。DNA 結合性をもつ抗生物質は動物での発癌性が報告されているが、ヒトでの発がん性は明らかでない。代謝拮抗剤には免疫抑制剤として使用されているものが含まれるが、ヒトでリンパ腫の発生率が高いという報告がある。細胞分裂阻害剤の発がん性は明らかでないが、単独で使用されることが少ないため、疫学的に調査しにくいという事情もある。一方、ホルモン剤は動物のみならずヒトにおいても発癌性が認められているが、発癌補助あるいは発癌プロモーターとして作用している可能性が強い。制癌剤の発癌性を検出するためには、作用機序を考慮に入れた適切な試験の実施が必要である。

Keywords : secondary carcinogenesis, anticancer agents

Mitsumori, K.: Current status and problem on the evaluation of in-vivo neurotoxicity testing.

J. Toxicol. Sci., 17, 291~292 (1992)

神経毒性を検出する試験法としては、機能学的行動試験、電気生理学的検査、生化学的検査および神経病理学的検査法等が古くから開発されているが、毒性試験ガイドラインとして標準化されているものは少ない。現行のガイドラインでは、神経毒性を検出するには莫大な設備や労力と長い時間を要する反面、必ずしもすべての神経毒性物質を検出できる訳ではない。生体の神経系における機能や構築とはほぼ同様な条件の *in vitro* の試験系を作成することは困難であるが、近年、試験管内に取り出した神経組織や培養細胞を用いた *in vitro* 検出系が開発され、一次スクリーニング法として利用できることが示されている。また、現行のガイドラインでは、発現した神経毒性の作用機序を解明することは困難である。一方、*in vitro* 系では、血液-脳関門の関与が除去されていることや代謝産物の神経毒性を検出できない問題点はあるが、電気生理学的実験や生化学的実験が容易であり、作用機序の解明が可能である。神経毒性予知の向上および毒性発現機序解明のために現行のガイドラインに加えて適切な *in vitro* 試験系の導入が必要である。

Keywords : Neurotoxicity, Guideline, Testing

高橋道人：化学物質のリスクアセスメント。

食品衛生研究. 42, 7~20 (1992)

化学物質のリスクアセスメントの方法およびその意味づけについて概説した。内容は次の通りである。

I. はじめに

II. 毒性データの収集 1) ヒトからの情報, 2) 動物からの情報, 3) 毒性試験の規模

III. 外挿の妥当性 1) 動物からヒトへの外挿, 2) 大量曝露から少量曝露への外挿, 3) 少数の動物から多数のヒトへの外挿。

IV. 非発がん性物質の評価 1) 許容1日摂取量 (ADI) の定義と利用法, 2) 推定 ADI の求め方 ① 無影響量 (NOEL) の決定および②安全係数

V. 発がん性物質の評価 1) 数学モデル-発がん性評価の特殊性, 2) リスクの推定 ①定義, ②範囲と実質安全量, ③通常の活動とそのリスク, ④リスクないしは VSD を推定するためのモデル (確率モデル, メカニズムモデル, その他のモデル), 3) その他の評価法 ①明確なデータのない化学物質, ②発がん性物質における安全係数, ③二次発がん性物質および非遺伝毒性発がん物質の考え方

VI. おわりに

Keywords : ADI, NOEL, risk assessment, carcinogen

Mitsumori, K.: Problem for histopathological diagnosis on neoplastic lesions of the hematopoietic organs in animal toxicity testing.

J. Toxicol. Pathol., 5, 291~293 (1993)

ラットおよびマウスの造血器系腫瘍の分類に関しては標準化されたものはないが、形態学的にはリンパ球、単核性貪食細胞、骨髄由来およびその他の4つに大きく分類される。リンパ腫の分類は、形態学的特徴を基にしたものであり、正確な細胞起源についての検討がなされていない。最近、免疫組織化学的マーカーを用いての新しい分類法 (T細胞性, B細胞性, 非 T/B細胞性) が提案されている。診断上の問題点としては、B細胞マーカーはパラフィン包埋標本においても用いることができるが、T細胞マーカーについては凍結切片以外通常の固定液では染まらず、固定法等の検討が必要である。組織球性肉腫については、その起源として、骨髄の単球、未分化間葉系細胞、Tゾーン組織球等が考えられているが、いずれの細胞に由来するかについては不明である。Fischer ラットに好発する LGL 白血病は脾原発の natural killer 細胞由来であるが、非 T/B細胞以外の T細胞ないし B細胞由来のリンパ腫については、免疫組織化学マーカーを用いた今後の研究が望まれる。

Keywords : Hematopoietic neoplasm, Rodent, Histological diagnosis

Oda, Y.*, Shimada, T.*, Watanabe, M. and Nohmi, T.: A sensitive system (*umu* test) for the detection of mutagenic nitroarenes in *Salmonella typhimurium* strain possessing elevated nitroreductase.

Water Science & Technol., 25, 279~284 (1992)

umu test用試験菌株 TA 1535/pSK 1002に、*Salmonella*のニトロ還元酵素遺伝子を導入し、新しい試験菌株 NM 1011を作製した。NM 1011はニトロアレーンに高感受性を示した。

Keywords : *umu* test, nitroarene, nitroreductase

* Osaka Prefectural Institute of Public Health

能美健彦：SOS誘発突然変異の分子機構「放射線を利用した生命現象解明への展望」

—DNA修復遺伝子と突然変異生成—専門研究会報告, 1~11 (1992)

1992年1月に、京都大学原子炉実験所で行われた「DNA修復遺伝子と突然変異生成」に関する専門集会の報告集である。SOS誘発突然変異の分子機構について研究の現状を紹介した。

Keywords : DNA repair, Mutagenesis, SOS response

林 真：染色体異常試験データの統計学的処理。変異原性試験, 1, 255~261 (1991)

変異原性試験データの統計学的評価についてまとめた。変異原性データの特長性、統計学の適応において問題となる点、背景データの利用について考察を加えた。さらに、これまでに当該研究室で蓄積した実験データに基づく具体的手法の提案を行った。

Keywords : mutagenicity test data, statistical procedures, historical control

祖父尼俊雄：染色体の構造異常

変異原性試験, 1, 235~241 (1992)

放射線や化学変異原によって誘発される染色体の構造異常の生成のメカニズム、異常の分類、異常の判定基準などについて解説した。

Keywords : chromosomal aberrations, structural aberrations, clastogens

本間正充, 片岡栄子, 水沢 博：DNAフィンガープリント法/プロファイリング法による細胞株の同定。

組織培養 18, 118~124 (1992)

高多型性ミニサテライトDNAをプローブとしたDNAフィンガープリント法は細胞株をDNAレベルで区別することが可能である。これを改良して、DNAプロファイリング法を確立したが、この方法は再現性の高い単純なバンドパターンを示すため前者に比べて利用しやすい。

Keywords : DNA fingerprinting, DNA profiling system, cell line identification

岡田敏史：水溶液中における薬物の自己会合性。表面, 31, 269~279 (1993)

多くの薬物が界面活性作用をもっていることから、局所麻酔薬、向精神薬、抗ヒスタミン薬、抗菌薬などその作用点が神経、生体膜、受容体などの生体表面にあると考えられる薬物について、その生物活性との関係が古くから注目されてきた。薬物の界面活性は空気/水界面に対する吸着性として捉えることができるが、通常の界面活性剤と同様に水溶液中で自己会合性を示す薬物も多数あることから、会合性を指標として薬物の界面活性を評価することができる。ここでは、ジフェニルメタン系抗ヒスタミン薬およびフェノチアジン系向精神薬を中心に水溶液中における薬物の自己会合性にみられる一般性と特殊性について考察した。すなわち、大部分の薬物が芳香環、異項環などを含む複雑な分子構造をもつことから、その会合体形成には化学構造の多様性、複雑性を反映するいくつかの特徴：

- 1) 分子構造におけるフレキシビリティの欠如
- 2) 非ミセル的会合~ミセル的会合
- 3) ミセル構造における非球形性
- 4) 弱酸・強塩基又は弱塩基・強酸型塩を形成する薬物の水溶液中における加水分解

がみられることを解説した。

Keywords : Self-association, Drug, Molecular structure.

能美健彦, 渡辺雅彦：変異機構と新しい高感受性菌株の開発

変異原性試験 2, 107~113 (1993)

大腸菌の紫外線誘発突然変異の分子機構と、変異原性試験に有用な高感受性サルモネラ株について解説した。

Keywords : SOS mutagenesis, aromatic amines, nitroarenes

岡田敏史：薬局方・薬用植物部会。

日本薬剤師会雑誌, 45, 201~204 (1993)

第14回FAPA (アジア薬剤師会連合) 学術大会が1992年11月5~9日, パキスタンのラホール市で開催された。本稿は, 薬局方部会におけるコントリビューターとしての講演「日本薬局方の改正について」の概要を紹介するとともに, 出席部会 (製薬・薬事法制部会) において, 興味をもたれた研究発表のいくつかをとり上げ, その内容について概説したものである。

Keywords : the 14th FAPA, revision of Japanese Pharmacopoeia, report on the section of Pharmacopoeia and Phytopharmacy.

外海泰秀：輸入食品の現状と問題点

生活衛生, 37, 49~59 (1993)

輸入食品の監視体制ならびに検査体制について詳細に説明し, 平成3年度の監視統計を基に違反事例などについて紹介した。同年度の輸入食品取扱検疫所は26箇所, 食品改正監視員は148名であり, 検査率は23.4%であった。また平成3年10月そして平成4年10月にそれぞれ横浜および神戸に輸入食品, 検疫検査センターが設立され, 輸入食品検査の充実が計られている。また今後の検討課題として, 照射食品等についても述べた。

Keywords : quarantine station, pesticide, food additive

小松裕明：リン脂質の指組み構造膜。

膜, 18, 80~89 (1993)

向かい合った脂質のアシル鎖が互いに噛み合った構造を有している指組み膜と呼ばれる特異な脂質膜構造がある条件下で形成され, この形成は, 脂質二分子膜の物性を十分に換え得るものであった。指組み膜の形成機構。指組み膜の検出法・膜物性の測定法を, 著者らの研究を交えて紹介した。また, 指組み構造の誘起物質であるエタノールが共存した場合の脂質膜の相変化の機構を提唱するとともに, 生体膜における指組み膜形成の可能性を考察した。

Keywords : interdigitated membrane, lecithin, ethanol.

伊藤誉志男：安全性はどのように確認されるのか
食品生活, 4月号, 20~28 (1993)

食品添加物は化学的合成品およびそれ以外の添加物 (いわゆる天然添加物) の2つに大別される。化学的合成品は, 第1属 (食品中超微量残存型), 第2属 (食品中残存型), A群 (純合成型), B群 (天然型), 第3属 (食品中非残存型) に区分できる。純度の確認, 種々の安全性試験法, および1日許容摂取量 (ADI) などにより安全性の確認を行う。日本人の食品添加物の一人一日摂取量は, A群約0.1g, B群約2.7gであった, ADIとの比で最も摂取量の多いのはそれぞれCMC, グルタミン酸であった。

Keywords : food additive, ADI, CMC

小松裕明：脂質膜の Interdigitation—アルコールによる膜構造変化—。

表面, 30, 433~443 (1992)

近年, 向井合った脂質のアシル鎖が互いに噛み合った構造を有している指組み膜と呼ばれる特異な脂質膜構造の形成がある条件下で見出され, 注目を集めている。そこで, 指組み膜の種類とその検出方法および指組み膜形成に及ぼすコレステロールの影響を, 指組み膜の形成機構と関連付けて述べるとともに, 指組み膜形成に及ぼすリポソームの粒径の影響について, 著者らの研究を交えて紹介し, 生体膜における指組み膜形成の可能性を考察した。

Keywords : interdigitated membrane, lecithin, ethanol.

伊藤誉志男：食品中の残留農薬の管理

月刊フードケミカル, 6月号, 54~59 (1992)

食糧の総供給熱量換算で約53%, 小麦, 大豆, とうもろこし等の穀類の90%以上を輸入に依存しているわが国では, 国内農作物のみならず, 輸入農作物, 輸入加工食品および国産加工食品で輸入農作物を原料とするもの等に残留する可能性のある農薬について, 十分な管理が必要である。そこで, わが国での農薬の使用状況, 国内農作物と輸入農作物での残留農薬の比較, 農薬の新型使用方法 (ポストハーベスト), など8つの観点から解説した。

Keywords : pesticides, imported food, post-harvest

外海泰秀：食品の農薬汚染とその分析法

New Food Industry, 34, 11~16 (1992)

輸入食品の収穫後使用 (ポストハーベスト) 農薬汚染を中心として, 新残留基準設定農薬, 農薬の規制措置, 残留基準値の設定方法, 農薬分析の特殊性などについて説明した。また有機塩素系, 有機リン系, カーバメイト系農薬などのガスクロマトグラフィーによる多成分一斉分析法について, 著者らの開発した方法を基に抽出法, クリーンアップ法, 測定法を解説した。さらに輸入食品中の残留農薬の実態調査結果も紹介した。

Keywords : post-harvest pesticide, gas chromatography, high performance liquid chromatography

伊藤誉志男：農薬と食品添加物の相違点と共通点
くろまと, 10, 24~28 (1993)

農薬と食品添加物は本質的に全く異なったものである。農薬は, 主として農作物の収穫を高めるため, 食品添加物は食品のおいしさ, 栄養価の増強, 防腐のため使用される。各々の主要な検査対象は生鮮食品および加工食品であり, 食品中に残留した場合, それぞれ食品汚染物, 食品構成成分として取り扱われる。欧米で保存の目的で農薬が収穫後に使用されたため, 農薬と食品添加物の区分が不明瞭になった。種々の角度から両者を比較し解説した。

Keywords : food additives, pesticides, preservation

伊藤誉志男：食品添加物の現状について (I)一わが国の食品添加物の特徴一

日添協会報, 10(10), 50~58 (1992)

わが国の食品添加物の特徴は、合成品と天然品に区分されていることである。平成3年7月1日より、使用した際は原則として表示することが義務づけられた。天然品の規格基準、安全性確認試験および食品中の検査法について整備作業が進行中である。使用方法はネガティブリストへと変更された。輸入食品で違反事例の多い理由は、各国で許可している食品添加物の種類、使用量が異なることにある。

Keywords : food additives, positive list, negative list

西 孝三郎：黄芩の生産と資源。

現代東洋医学, 14(2), 243~246, 医学出版センター (1993)

生薬特集「黄芩」に「黄芩の生産と資源」と題して、輸入および国内生産量、植物学的性状、類縁植物ならびに中国および日本における栽培法について解説した。その中で、近年、国内生産の機運が高まり各地で試験栽培が行われるようになったが、ここ数年の国内における10アール当りの平均収量は100 kg程度であり農業経営の中に黄芩の栽培を組み入れるには厳しい状況である。しかしながら、栽培地の土壌改良や栽培技術の向上により300~350 kg/10アールの収量を目標にすることは決して不可能ではないことを述べた。

Keywords : *Scutellaria baicalensis*, cultivation

伊藤誉志男：食品添加物の現状について(II)一食品添加物の安全性一

日添協会報, 10(12), 3~10 (1992)

食品添加物の安全性を確保するためには純度が大きな要素となる。厚生省は1960年より食品添加物公定書を作成した。安全性を確認するため、急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、催奇形性、発癌性などについて肉付けがなされる。特殊毒性試験で問題になったものは、ズルチン、サイクラミン酸Na、サッカリンNa、AF-2、OPP、TBZ、BHA、KBrO₃、亜硫酸塩など。

Keywords : food additives, o-phenylphenol, saccharine

西 孝三郎：生薬の安定供給、品質の向上をめざして

TECHNO NEWS TSUKUBA, 22, 5~6, つくば研究支援センター会報 (1993)

「研究展望」欄に当該試験場の沿革と概要を述べ、現在取り組んでいる研究課題の紹介をした。

また、最近の研究からと題し、(1) ミシマサイコの優良系統の選抜ならびに栽培法の確立に関する研究と(2) Riプラスミドによる形質転換細胞の研究について詳述した。特に後者の研究については、ベルベリン、トロパンアルカロイド、ピンカアルカロイド等の化学物質生産ならびにニンジンやムラサキカルスのような生薬の代用としての大量生産等について紹介した。

Keywords : *Bupleurum falcatum*, Ri plasmid, tropane alkaloid

伊藤誉志男：食品添加物の現状について(III)一食品添加物の有効性と役割一

日添協会報, 11(1), 2~15 (1993)

食品添加物の有用性(使用理由)を食糧資源の有効利用、食糧消費形態の変化、食品工業の生産規模の増大と食糧流通機構の拡大および栄養上の問題の4つの観点から考察できる。食品添加物の役割(使用目的)は下記の4つに大別される。①食品の品質保持の目的。②食品の栄養価向上の目的。③食欲向上の目的。④食品の品質改良、食品製造の簡便化等の目的。上記の詳細について解説した。

Keywords : food additives, preservation, food color

下村講一郎、吉松嘉代、鎌田 博*：毛状根を用いた二次代謝物生産。

組織培養, 18, 401~406 (1992)

香辛料、香料、医薬品原料などのかたちで我々の生活に深く関わっている植物の二次代謝物は、多種多様な複雑な構造を有するために、今日の化学工業の発展をもってしても依然植物自身が主な供給源となっている。このような二次代謝物を人為的に生産させるための手段として最も期待されている、毛状根培養による有用二次代謝物生産に関する最近の研究の動向を紹介した。

Keywords : secondary metabolites, hairy root cultures, production.

* 筑波大学生物学系

伊藤誉志男：食品添加物の現状について(IV)一検査法、日本人の一人一日摂取量および天然添加物一

日添協会報, 11(2), 6~30 (1993)

食品添加物の試験法には、食品添加物そのものを測定する試験法と食品中の食品添加物の試験法の2つに大別される。12機関でマーケットバスケット方式により実態調査を行ったところ、食品に残存する食品添加物の約210品目の総摂取量は約3gであった。天然添加物には、甘味料など計15種用途項目がある。総品目は1051品目であり、その過半数(577品目)は香料である。その詳細について解説した。

Keywords : daily intake, food additives, natural food additives

下村講一郎、酒井英二：薬用植物の安定供給を目指して一国立衛生試験所筑波薬用植物栽培試験場一

植物細胞工学, 5, 71~73 (1993)

国立衛生試験所の一部門である筑波薬用植物栽培試験場では、薬用植物遺伝資源保存のために世界各国との種子交換業務および圃場における継代栽培のほかバイオテクノロジー技術を利用した維持管理を行っている。さらに薬用植物資源および薬用成分の安定供給のために、栽培研究室では薬用植物の栽培と収穫方法および繁殖法を確立するための圃場レベルでの栽培研究を行い、また、育種生理研究室では植物組織培養による薬用植物の大量増殖、試験管内保存および二次代謝物生産に関する研究を行っている。

Keywords : Introduction, cultivation, plant tissue culture

下村講一郎：国立衛生試験所筑波薬用植物栽培試験場育種生理研究室。

植物組織培養, 9, 243~244 (1992)

1980年に春日部市より筑波研究学園都市に移転し、国立衛生試験所の一部門として新たに発足した筑波薬用植物栽培試験場では、本邦産および外国産薬用植物の総合研究を行っている。最近、天然起源の薬物が見直され、また、漢方製剤の使用量の増加から薬用植物の需要が高まってきたが、薬用植物の質的あるいは量的に安定な供給が問題となっている。薬用植物資源および薬用成分の安定供給のために行っている研究を育種生理研究室での例を中心に紹介した。

Keywords : Introduction, Breeding and Physiology Lab.

秦 壽孝*, 白井良和, 玉置修身*, 辻本 肇*, 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, 2, 32 (1992)

和歌山県では、生薬生産をすすめるため、薬務課長を中心に学識経験者からなる検討委員会および県下各保健所単位毎に栽培農家中心の生薬研究会を組織し、栽培奨励品目の決定、製薬企業の要望品目の調査、種苗提供と栽培技術指導、県内生産物の品質試験、補助金支給等の事業を行っている。その計画と実施内容の概略を示した。

Keywords : Medicinal Plants, Cultivation, Organization

- 會田喜崇, 石綿 肇, 伊藤啓志男, 内田雄幸, 梅村隆, 小川幸男, 落合敏秋, 金子豊蔵, 鎌田栄一, 神蔵美枝子, 川崎 靖, 川崎洋子, 黒川雄二, 佐井君江, 酒井綾子, 佐藤恭子, 柴田 正, 杉田たき子, 鈴木淳子, 鈴木幸子, 関田清司, 高木篤也, 高田幸一, 高橋 惇, 高橋道人, 辻 澄子, 津田充宥, 津村ゆかり, 外海泰秀, 内藤克司, 中村優美子, 長谷川隆一, 降矢 強, 嶺岸謙一郎, 門馬純子, 安原加寿雄, 山崎 壯, 山田 隆, 山本 都, 他 41 名: “第 6 版食品添加物公定書解説書”, 石館守三, 鈴木郁生, 谷村頭雄監修, 廣川書店, 東京 (1992)
- 石橋無味雄: “統医薬品の開発” 19 卷, 製剤分析 I, 井上哲男監, 石橋無味雄, 秋山和幸編, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 133~146
- 石橋無味雄: “統医薬品の開発” 19 卷, 製剤分析 II, 井上哲男監, 石橋無味雄, 秋山和幸編, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 413~455
- 石橋無味雄: “湿度・水分計測と環境のモニタ” 日本機械学会編, 技報堂出版, 東京 (1992) pp. 324~328
- 豊岡利正: “統医薬品の開発” 第 19 卷, 製剤分析 II, 精神・神経用剤, 井上哲男監修, 石橋無味雄, 秋山和幸編集, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 339~363
- Hayakawa, T.: *Proceedings of The First International Conference on Harmonisation Brussels 1991*, Current regulatory situation in Japan with respect to the preclinical safety testing for biotechnology products intended for human use, ed, D' Arcy, P. F. and Harron, D. W. G., The Queen's University of Belfast, Belfast, Northern Ireland (1992) pp. 296~301
- 林 裕造, 大森義仁, 大野泰雄, 早川堯夫, 吉田耕一, 秋元 健, 黒川達夫: “第 1 回 ICH 21 世紀への扉”, WORKSHOP SAFETY—安全性部門一, 厚生省薬務局新医薬品課監修, 薬業時報社, 東京 (1992) pp. 41~74
- 谷本 剛: “統医薬品の開発, 製剤分析 I”, 石橋無味雄・秋山和幸編, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 221~240
- 谷本 剛, 西村千尋: “糖尿病学”, ヒト・アルドース還元酵素の分子生物学, 小坂樹徳・赤沼安夫編, 診断と治療社, 東京 (1993) pp. 108~122
- 尾崎幸紘: “統医薬品の開発” 第 15 卷, 生薬の治療効果に対する含有成分の薬理的関与について, 原田正敏編, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 103~121
- 小野景義, 重信弘毅: “生理薬科学実験講座” 第 14 卷 (臓器機能測定法 II), 心筋細胞の電気現象研究
- 法, 岡部進編, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 261~412
- 中村晃忠: “生体適合材料—その機能と応用”, 生体安全性, 筏 義人編, 日本規格協会, 東京 (1993) pp. 31~44
- 徳永裕司: “医薬品の開発” 第 14 卷, 医薬品の品質管理及び試験法, 鈴木郁生編, 廣川書店, 東京 (1990) pp. 87~91
- 徳永裕司: “統医薬品の開発” 第 19 卷, 製剤分析 I, 井上哲男監修, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 147~155
- 木嶋敬二: “統医薬品の開発” 第 19 卷, 化粧品製剤, 井上哲男監修, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 293~310
- 井上哲男, 木嶋敬二, 狩野静雄, 斎藤恵美子: “化粧品辞典”, 廣川書店, 東京 (1992)
- 安藤正典: “飲料水中の各種化学物質の健康影響評価 (II)—健康に関する勧告書—” 米国環境保護庁, 日本水道協会 (1993)
- 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, 粟飯原景昭監修, 南江堂, 東京 (1992) pp. 670~682
- 斎藤行生, 鈴木 隆, 内山貞夫, 豊田正武, 五十嵐敦子他: “国際残留農薬基準”, 厚生省生活衛生局食品化学課監修, (社)日本食品衛生協会, 東京 (1993)
- 斎藤行生: “生気象学の事典”, 自然毒による食中毒, 日本生気象学会編, 朝倉書店, 東京 (1992) pp. 82~83
- 松田りえ子: “統医薬品の開発” 第 19 卷, 製剤分析 II, 井上哲男監修, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 327~337
- 豊田正武: “毒性試験講座” 16 食品, 食品添加物, 食品添加物の毒性評価, 糸川嘉則編, 地人書館, 東京 (1992) pp. 189~237
- 豊田正武: “新版 食品工業総合辞典”, 食品有害物, 日本食品工業学会編, 光琳, 東京 (1993)
- 山田 隆: “食品衛生学”, 管家祐輔編著, 光生館, 東京 (1993) pp. 18~23, pp. 133~154
- 合田幸広, 佐藤恭子: “医学分子生物学研究のためのマッキントッシュ・ハンドブック”, 法橋尚宏, 丸山和夫編, 羊土社, 東京 (1992) pp. 156~164
- Fukuhara, K., Hara, Y. and Miyata, N.: “Oxygen Radicals”, Electron transfer from quinone or

nitroarene to molecular oxygen, ed, Yagi, K., Kondo, M. and Yoshikawa, T., Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1992) pp. 11~14

Tanno, M., Sueyoshi, S., Miyata, N., and Umehara, K.: "IARC Technical Report, No. 11", Transnitrosation of N-Nitroso Compounds under Non-acidic Conditions, ed. O'Neill, I. K. and Bartsch, H., IARC Scientific Publ., Lyon, (1992) pp. 83~84

Okada, Y.*, Tanaka, K.*, Sawada, J., and Kikuchi, Y.: "Metallothioneins. Synthesis, Structure and Properties of Metallothioneins, Phytochelatins and Metal-Thiolate Complexes", Synthetic metallothioneins. Synthetic approaches to studying the properties of metallothioneins, ed, Stilman, M. J., Shaw III, C. F., and Suzuki, K. T., VCH Publishers, New York, Weinheim and Cambridge (1992) pp. 195~225

* 神戸学院大学薬学部

三瀬勝利, 川村邦夫, 石関忠一: "GMP 微生物学", 講談社, 東京 (1993)

Mise, K. and Richard, J. L.: "Emerging Food Safety Problem Resulting from Microbial Contamination" 厚健出版, 東京 (1992)

北村 敬, 三瀬勝利: "微生物農薬の現状と安全性評価", 微生物農薬安全性評価法: ヒトの健康に対する影響を調べるための試験方法, 三菱化成安全科学研究所編, 科学工業日報社, 東京 (1993) pp. 489~528

須藤隆一, 三瀬勝利: "微生物農薬の現状と安全性評価", 微生物農薬安全性評価法: 基本事項とその試験法, 三菱化成安全科学研究所編, 科学工業日報社, 東京 (1993) pp. 457~487

棚元憲一: "GMP 微生物試験法", 三瀬勝利他 2 名編, 講談社, 東京 (1993) pp. 349~380

Sekizawa, J. et al: **Environmental Health Criteria 132 "Triclorfon"**, World Health Organization, Geneva (1992)

Sekizawa, J. et al: **Environmental Health Criteria 133 "Fenitrothion"**, World Health Organization, Geneva (1992)

神沼二眞, 関沢 純, 会田喜崇, 山本 都他: "国際化学物質安全性カード (ICSC) 日本語版", 化学工業日報社, 東京 (1992)

Sai, K., Uchiyama, S., Ohno, Y., Hasegawa, R. and Kurokawa, Y.: "Oxygen Radicals", Generation of active oxygen species in vitro by the interaction of potassium bromate with rat kidney, ed, Yagi, K., Kondo, M., Niki, E. and Yoshikawa, T., El-

sevier Science Publishers B. V., Amsterdam (1992) pp. 3~6

Hasegawa, R., Sai, K., Takagi, A., Umemura, T. and Kurokawa, Y.: "Oxygen Radicals", Study on 8-hydroxydeoxyguanosine formation in rat kidney DNA after potassium bromate administration, ed, Yagi, K., Kondo, M., Niki, E. and Yoshikawa, T., Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam (1992) pp. 99~102

田中 悟: "毒性試験講座", 11 巻, 発生毒性, 現行生殖発生毒性試験法指針の概要, 谷村 孝編, 地人書館, 東京 (1992) pp. 119~136

大野泰雄: "毒性試験動物代替法", 毒性試験における動物代替の基本概念, 佐藤温重, 佐藤哲男, 遠藤仁編, 栄光堂, 東京 (1993) pp. 3~12

大野泰雄: "毒性試験動物代替法" 医薬品, 化学物質の毒性評価法の問題点と動物実験代替法の現状, 医薬品, 佐藤温重, 佐藤哲男, 遠藤 仁編, 栄光堂, 東京 (1993) pp. 51~64

百瀬和享, 大幡久之, 黄 洋一, 中沢憲一: "生物薬科学実験講座" 14 巻・臓器機能測定法(III), 単離平滑筋細胞の調整法と収縮力測定法, 岡部 進編, 廣川書店, 東京 (1992) pp. 541~565

高橋道人: "食品衛生ハンドブック" 発癌を修飾する食品成分 (1992) pp. 314 ~320

高橋道人: "毒性病理学の基礎" ソフトサイエンス社, 東京 (1992)

Takahashi, M.: "International Classification of Rodent Tumours, Part I: The Rat, 3. Urinary System", ed, Mohr, U., IARC Scientific Publications No. 122, IARC, Lyon (1992)

Takahashi, M., Shinoda, K., and Hayashi, Y.: "Pathobiology of the Aging Rat" Vol. 1 Blood and Lymphoid System, Respiratory System, Urinary System, Cardiovascular System, Reproductive System, Nonneoplastic Changes in the Testis, ed, Mohr, U., Dungworth, D. L. & Capen, C. C., ILSI Press, Washington, D. C. (1992) pp. 407~411

Hayashi, Y., Morimoto, K., Miyata, N. and Sato H.: "Antioxidants, Chemical, physiological, nutritional and toxicological aspects" Quantitative cancer risk analysis of BHA based on integration of pathological and biological/biochemical information, eds by Williams, G. M., Princeton Scientific Publishing Co., INC. Princeton (1992) pp. 243~258

Nohmi, T., Yamada, M., Watanabe, M., Matsui, M., Murayama, S. Y.* and Sofuni, T.: "Frontiers

of Photobiology.” Two *umuDC*-like operons in *Salmonella typhimurium*: Their roles in UV mutagenesis, eds. Shima, A. et al., Elsevier Science Publishers B. V. (1993) pp.369~374

* Teikyo University School of Medicine

林 真：“毒性試験講座”，第14巻，毒性試験データの統計解析，吉村 功，大橋靖雄編，地人書店，東京（1992）

水沢 博：“基礎的な細胞株の品質管理”，バイオ医薬品及び産性細胞の品質安全評価法，小林，早川，山崎編，ライフサイエンスインフォメーションセンター，東京（1992）pp.78~86

Sofuni, T.: “In vitro methods of toxicology”, In vitro detection of chromosomal aberrations, Ed.

by R. R. Watson, CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London and Tokyo (1992) pp.203~216

伊藤誉志男：“食品保存便覧”，基礎編，I. 食品保存と変敗，11 脂肪酸化，クリエイティブジャパン，東京（1992）pp.91~104

Yoshimatsu, K. and Shimomura, K.: “Biotechnology in Agriculture and forestry, Vol.21, Medicinal and Aromatic plants IV”, *Cephaelis ipecacuanha* A. Richard (Brazilian ipecac). Micropropagation and production of emetine and cephaeline., Bajaj, Y. P. S. ed., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (1993) pp. 87~103

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：青柳伸男，鹿庭なほ子，香取典子
厚生科学研究（平成3年4月～平成5年3月），平成5年4月厚生省薬務局審査課に報告。

日本薬局方一般試験法の国際調和に関する研究：石橋無味雄，川崎浩之進
厚生科学研究（平成4年4月～平成5年3月），平成5年4月厚生省薬務局安全課に報告。

医薬品の迅速分析法：石橋無味雄，豊岡利正
厚生省迅速分析法作成費（昭和57年3月～），平成4年8月厚生省薬務局監視指導課に報告。

生体試料中の薬物鑑定に関する総合的研究：中原雄二，島峯望彦，高橋一徳，木倉瑠理
厚生科学研究（平成4年4月～平成5年3月），平成5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～平成5年3月），平成5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，木倉瑠理
精神神経疾患研究（平成2年4月～平成5年3月），平成5年3月国立精神・神経センターに報告。

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4年4月～平成5年3月），平成5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：小室勝利^{*1}，吉原なみ子^{*1}，赤松 稔^{*1}，関口定美^{*2}，柴田洋一^{*3}，矢田純一^{*4}，早川堯夫
厚生科学研究（平成4年4月～平成5年3月），平成5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} 北海道赤十字血液センター

^{*3} 虎ノ門病院輸血部

^{*4} 東京医科歯科大学

医薬品規制ハーモナイゼーション推進共同事業：「医薬品規制ハーモナイゼーション推進国際共同研究」：前川 正^{*1}，寺尾允男，武田 寧，早川堯夫，林 祐造，高仲 正，祖父尼俊雄，高橋道人，中館正弘，黒川雄二，田中 悟，内藤周幸^{*2}，上田慶二^{*3}，本間光夫^{*4}，秋月正史^{*5}，安原 一^{*6}，広津千尋^{*7}，清水直容^{*8}，紺野昌俊^{*8}
厚生科学研究（平成4年3月～平成9年3月），平成5年3月厚生省薬務局新医薬品課に報告。

^{*1} 国立学校財務センター

^{*2} 東京通信病院

^{*3} 東京多摩老人医療センター

^{*4} 慶応義塾大学医学部名誉教授

^{*5} 慶応義塾大学医学部
^{*6} 昭和大学医学部
^{*7} 東京大学工学部
^{*8} 帝京大学医学部

塩化リソチームおよびその製剤の迅速分析法：谷本剛，早川堯夫
迅速分析法作成費（平成3年6月～平成4年6月），平成4年6月厚生省薬務局監視指導課に報告。

体外診断用医薬品の臨床評価に関する研究：大久保昭行^{*1}，大橋靖雄^{*1}，中山年正^{*2}，福岡正道，河合忠^{*3}，大倉久直^{*4}，瀬戸四郎^{*5}
厚生科学研究（平成4年4月～平成3年3月），平成5年3月厚生省薬務局審査課に報告。

^{*1} 東京大学医学部

^{*2} 虎ノ門病院

^{*3} 自治医科大学

^{*4} 国立がんセンター中央病院

^{*5} (株)日本臨床検査薬協会

ポリウレタンの分解について（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）：中村晃忠，佐藤道夫
厚生科学研究（平成3年4月～6年3月），平成5年3月厚生省薬務局医療機器開発課へ報告。

医療用具と健康器具等との区分の明確化に関する研究：佐藤道夫，箭内博行^{*1}，金子哲也^{*1}，太田善久^{*2}，佐藤和之^{*3}，下村壽一^{*4}，西脇廣行^{*5}
厚生科学研究（平成4年10月～5年3月），平成5年3月厚生省薬務局監視指導課へ報告。

^{*1} 財団法人医療機器センター

^{*2} 日本医療機器関係団体協議会

^{*3} 社団法人日本健康治療機器工業会

^{*4} 東京都衛生局

^{*5} 大阪府環境保健部

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，五十嵐良明
厚生科学研究（平成3年4月～6年3月），平成5年3月厚生省薬務局医療機器開発課に報告。

メチルベンジルファノール，N，N-ジエチルエタノールアミン，N，N-ジフェニルチオウレアおよびジブチルジチオカルバミン酸亜鉛の細胞毒性試験：土屋利江，五十嵐良明
厚移替（平成3年7月～4年6月），平成5年6月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

国設自動車排出ガス測定所における大気汚染の調査研究：松村年郎，関田 寛，小嶋茂雄，安藤正典
公害調査費（平成4年4月～5年3月），平成5年7月環境庁大気保全局自動車公害課へ報告。

化粧品用界面活性剤、油脂の規格整備に関する研究：木嶋敬二，小嶋茂雄，鈴木助治*1，西島 靖*2
厚生科学研究（平成4年4月～5年3月），平成5年4月厚生省薬務局審査課に報告。

*1 東京都立衛生研究所

*2 鐘紡(株)化粧品研究所

平成4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—農薬および合成抗菌剤について：齋藤行生，高附 巧，松田りえ子，鈴木 隆，村山三徳，根本 了

食品等試験検査費（平成4年4月～平成5年1月），平成5年1月厚生省生活衛生局乳肉衛生課に報告。

ジメチピンの分析法に関する報告書：高附 巧，松田りえ子，根本 了，齋藤行生

食品等試験検査費（平成4年7月～4年12月），平成4年12月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

平成3年度食品残留農薬実態調査：澤野千波*，高附 巧，松田りえ子，鈴木 隆，齋藤行生

食品等試験検査費（平成3年10月～4年6月），平成4年6月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

* 東京検疫所併任

作物中のグアザチンの試験法：松田りえ子，澤野千波*，鈴木 隆，齋藤行生

食品等試験検査費（平成4年4月～平成5年3月），平成5年4月生活衛生局食品化学課に報告。

* 東京検疫所併任

ホキシムの分析法に関する報告書：根本 了，齋藤行生

食品等試験検査費（平成5年1月～5年3月），平成5年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ルピン豆アルカロイドの分析法および存在量に関する調査報告書：河村葉子，齋藤行生

厚生科学研究（平成4年4月～5年3月），平成5年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食品添加物の使用基準点検整備に関する研究—食品中の食用赤色40号等の分析法：武田明治，山田隆，武田由比子（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，食品衛生協会，食品分析センター）

食品添加物使用基準点検整備費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告

タール色素製剤の新試験法の設定—食用赤色40号の純度試験に関わる非スルホン化芳香族第一アミンの分析について：武田明治，山田 隆，武田由比子
食品添加物規格基準設定費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物の使用基準点検整備に関する研究—化学的合成品以外の食品添加物（天然添加物）の規格基

準，分析法および標準品に関する検討：武田明治，伊藤蒼志男，米谷民雄，合田幸広（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，日本食品衛生協会，日本食品分析センター，日本食品添加物協会，味の素(株)，三栄源エフエフアイ(株)，サントリー(株)，武田薬品工業(株)，松浦薬業(株)，理研ビタミン(株)）

食品添加物使用基準点検整備費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

缶詰フルーツカクテル中サクランボおよび缶詰サクランボのアルミニウム濃度とカルミン使用の表示との相関について（不許可カルミン使用の判定材料として）：米谷民雄，武田明治，澤野千波

食品添加物規格基準設定費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

アルミニウムの代謝に及ぼす共存食品添加物の影響：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4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

オンライン超臨界流体抽出/超臨界流体クロマトグラフィーを用いたアナトー色素の分析試験法の開発：合田幸広，坂元史歩，米谷民雄，武田明治

食品添加物規格基準設定費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

高速液体クロマトグラフィーを用いたベニコウジ黄色素の分析試験法の開発：佐藤恭子，合田幸広，米谷民雄，武田明治

食品添加物規格基準設定費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

既存プラスチック，特にメラミン樹脂製品，のセルラーゼ分解に関する研究：武田明治，杉田たき子，石綿 肇

厚生科学研究（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

クリスタルガラス製品および陶磁器からの鉛，カドミウム，その他の金属の溶出：武田明治，石綿 肇，杉田たき子，馬場二夫*

厚生科学研究（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

* 大阪市立環境科学研究所

ヘッドスペース・キャピラリーカラムガスクロマトグラフィーによるポリスチレン材質中揮発性物質の測定法の検討：石綿 肇，杉田たき子，武田明治
食品添加物安全性再評価等試験検査費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

ガラス製器具類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，山田 隆，細貝 猛*，伊藤澄夫*，桜井裕之*，多田善彦*
食品等の規格基準設定費（平成4年4月～5年3月），平成5年4月厚生省食品保健課に報告。

* 横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター

Report of IPCS/CEC International Collaborative Immunotoxicity Study (Cyclosporin A): Kurokawa, Y., Huruya, T., Sekita, K., Ochiai, T., Matsumoto, K.*, Naito, K., Sawada, J., Ikebuchi, H., Yamazaki, T., Teshima, R., Hachisuka, A., and Saito, Y.

平成3年10月ICICIS本部（Prof. Dayan）に報告。

* 信州大学医学部

ベンタフルオロプロパノールの代謝試験：嶺岸謙一郎，高橋 惇

既存化学物質委託費（平成3年10月～5年3月），平成5年3月生活衛生局化学安全対策室へ報告。

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（代謝試験結果の速度論的解析法に関する研究）：高橋 惇

厚生科学研究（平成4年4月～平成5年3月），平成5年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室へ報告。

プラスミドの移行に関する研究：三瀬勝利

食品等試験検査費（平成3年4月～平成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。

エイズ医薬品候補スクリーニング研究（平成3年度）：三瀬勝利

ヒューマンサイエンス振興財団（平成3年4月～平成4年3月），平成4年3月厚生省薬務局へ報告。

と畜場（牛肉）の微生物制御法の確立のための基礎的研究：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，江崎覚夫*⁷，特手洋美*⁸，水吉国治*⁹，西村尚夫*¹⁰，對馬 威*¹¹，柿本重治*¹²，廣 幸音*¹³，鍋倉裕一*¹⁴，嶋守 久*¹⁵，松本寿男*¹⁶，合田潤暢*¹⁷，梅迫誠一*¹⁸，柳楽洋一*¹⁹

厚生科学研究（平成4年度～6年3月），平成5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

*⁷ 埼玉県食肉検査センター

*⁸ 鹿児島県保健環境部

*⁹ 新潟県食肉衛生検査所長岡支所

*¹⁰ 横浜市食肉衛生検査所

*¹¹ 北海道早来食肉検査事務所

*¹² 鹿児島県末吉食肉衛生検査所

*¹³ 三重県松坂食肉改正検査所

*¹⁴ 宮崎県高崎食肉衛生検査所

*¹⁵ 岩手県紫波食肉改正検査所

*¹⁶ 群馬県中央食肉衛生検査所

*¹⁷ 鹿児島県知覧食肉衛生検査所

*¹⁸ 奈良県衛生研究所

*¹⁹ 奈良県食肉衛生検査所

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5年3月），平成5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

食品中の有害物質に関する研究：輸入農作物のカビ毒汚染とその評価に関する研究：一戸正勝，成田紀子，鈴木明子，菊地 裕，上村 尚*¹，高橋治男*²

厚生科学研究（平成4年10月～5年3月），平成5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

自動販売機の衛生管理に関する研究：自動販売機による粉末食品の調理に関する衛生上の問題点：一戸正勝，小沼博隆，黒崎 貴*

厚生科学研究（平成4年12月～5年3月），平成5年3月厚生省食品保健課に報告。

* 日本自動販売機工業会

残留農薬の分解・代謝に関する調査研究：斉藤行生，関沢 純，大竹千代子，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4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

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，高江須義炬*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4年4月～5年3月），平成5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

有害化学物質長期吸入毒性試験実施状況調査：松下秀鶴*¹，大島輝男*²，金子豊蔵，河端美則*³，関沢純，森永謙二*⁴，米元純三*⁵
環境庁委託研究（平成4年4月～5年3月），環境庁大気保全局企画課に平成5年3月に報告。

*¹ 静岡県立大学

*² (株)日本化学物質安全・情報センター

- *3 助結核子防会結核研究所
- *4 大阪府立成人病センター
- *5 国立環境研究所

国際基準に基づく化学物質危険有害表示制度の研究：石館基^{*1}、興重治^{*2}、関沢純、桜井治彦^{*3}、清水英佑^{*4}、鶴田寛^{*5}、松島泰次郎^{*6}、森崎繁^{*7}、内野篤^{*8}、西川洋三^{*9}、大島輝男^{*10}
労働省委託研究（平成4年4月～5年3月）、労働省化学物質調査課に平成5年3月に報告。

- *1 オリパス工業(株)染色体研究センター
- *2 中央労働災害防止協会
- *3 慶応義塾大学医学部
- *4 東京慈恵会医科大学
- *5 労働省産業医学総合研究所
- *6 日本バイオアッセイ研究センター
- *7 労働省産業安全研究所
- *8 (株)日本化学工業会
- *9 三菱油化(株)
- *10 (株)日本化学物質安全・情報センター

指定化学物質（1,2-ジクロロプロパン及び1,4-ジオキサン）摂取量予測調査：山本都
既存化学物質等試験検査費（平成4年4月～5年3月）、平成5年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

化学物質安全性情報の提供について—MSDSの作用を中心に—：林裕造、大島輝夫^{*1}、金森房子^{*2}、神沼二真、倉科周介^{*3}、関沢純、竹中祐典^{*4}、土屋健三郎^{*5}、内藤裕史^{*6}、中館正弘、宮本純之^{*7}、山本都、渡辺徹^{*8}、和田攻^{*9}
厚生科学研究補助金（平成4年4月～5年3月）、平成5年3月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

- *1 日本化学物質安全情報センター
- *2 前日本消費者協会
- *3 東京都立衛生研究所
- *4 日本ルセル
- *5 前産業医科大学
- *6 筑波大学臨床医学系
- *7 住友化学工業(株)
- *8 日本薬剤師会
- *9 東京大学医学部

ジブチル錫2酢酸のラットにおける亜慢性毒性試験（中間報告）：黒川雄二、長谷川隆一、中路幸男、内藤克司、川崎靖、門馬純子、佐井君江
家庭用品等調査研究費（平成2年4月～平成4年3月）、平成4年5月に厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

タール色素の毒性に関する研究—赤色3号および橙色201号のマウス経皮急性毒性試験およびウサギ皮膚一次刺激性試験：林裕造、田中悟、児玉幸夫
医薬品審査等業務庁費（平成3年4月～平成4年3月）、平成4年6月厚生省薬務局審査課に報告。

2,2'-イソブチリデンビス（4,6-ジメチルフェノール）のラットにおける慢性毒性試験（中間報告）：黒川雄二、高木篤也、佐井君江、落合敏秋、関田清司、斉藤実、高田幸一、降矢強、長谷川隆一
家庭用品等調査研究費（昭和63年4月～平成4年3月）、平成4年9月に厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

スピリリナおよび酸化ゲルマニウムのラットによる12カ月間混餌投与試験：黒川雄二、降矢強、関田清司、落合敏秋、大野圭子、村上治、内藤克司
健康食品の慢性毒性試験等検査費（平成2年4月～3年3月）、平成4年10月厚生省生活衛生局新開発食品保健対策室に報告。

赤色3号のモルモットによる皮膚感作性試験：門馬純子、川崎靖、津田充有、黒川雄二
医薬品審査等業務庁費（平成3年4月～平成4年3月）、平成5年2月厚生省薬務局審査課化粧品審査室に報告。

橙色201号のモルモットによる皮膚感作性試験：門馬純子、川崎靖、津田充有、黒川雄二
医薬品審査等業務庁費（平成3年4月～平成4年3月）、平成5年2月厚生省薬務局審査課化粧品審査室に報告。

薬物の強化効果に及ぼす神経伝達物質の影響に関する研究：降矢強、関田清司
厚生科学研究費補助金（平成4年4月～5年3月）、平成5年3月厚生省薬務局麻薬課に報告。

有機溶剤の生殖に及ぼす影響に関する研究：大野圭子、降矢強、関田清司、落合敏秋、村上治、金子豊盛、鈴木幸子、小川幸男、広瀬明彦、内藤克司、黒川雄二、田中悟、松本清司*
厚生科学研究費補助金（平成4年4月～5年3月）、平成5年3月厚生省薬務局麻薬課に報告。

* 信州大学医学部

ベンタクロロフェノールの毒性に関する文献調査：佐井君江、長谷川隆一、黒川雄二
水質管理調査費（平成4年4月～平成5年3月）、平成5年3月に厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課水質管理室に報告。

ジオキサン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4年4月～平成5年3月）、平成5年3月に厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課水質管理室に報告。

化学物質の毒性評価情報の整理・考察：黒川雄二、長谷川隆一
水質管理調査費（平成4年4月～平成5年3月）平成5年3月に厚生省生活衛生局水道環境部水道整備課水質管理室に報告。

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—短期毒性試験法の長期毒性予測性に関する研究：黒川雄二、高木篤也、佐井君江、長谷川隆一

厚生科学研究補助金 (平成4年4月~平成5年3月), 平成5年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

5FP(2, 2, 3, 3-Pentafluoro-1-propanol) のラットを用いた経口投与催奇形性試験: 高仲 正, 川島邦夫, 宇佐見誠, 酒味和枝
既存化学物質毒性試験調査費 (平成2年4月~平成5年3月), 平成5年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

Bisphenol A の毒性報告: 古川文夫, 今沢孝喜, 西川秋佳, 高橋道人
既存科学物質毒性試験調査費 (平成2年4月~平成3年3月), 平成4年12月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

2, 4-トルイレンジアミンの毒性 (慢性および特殊毒性) に関する調査報告: 三森国敏, 高橋道人
既存科学物質毒性試験調査費 (平成3年4月~平成4年3月), 平成4年5月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

タンニン酸の F344 ラットにおける癌原性試験最終報告書: 高橋道人, 三森国敏, 小野寺博志, 安原加壽雄
食品等試験検査費 (平成4年4月~平成5年3月), 平成5年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物の変異原性試験に関する試験一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5年3月), 平成5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一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5年3月), 平成5年6月厚生省生活衛生局水道環境部に報告。

生体外染色体異常試験のスクリーニングの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
労働省依託研究費 (昭和63年6月~平成5年3月), 平成5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: 祖父尼俊雄
厚生科学研究 (昭和63年4月~平成5年3月), 平成5年4月厚生省生活衛生局生活化学安全対策室に報告。

変異原性試験法の国際的標準化のためのデータベースを用いた試験法の解析: 祖父尼俊雄, 林 真, 能美健彦, 松岡厚子, 松井道子
厚生科学研究 (平成4年4月~平成7年3月), 平成5年3月厚生省薬務局新薬品課に報告。

農薬の変異原性に関する研究: 祖父尼俊雄, 能美健彦, 松井道子, 渡辺雅彦, 山田雅巳, 松井恵子
残留農薬の安全対策総合調査研究事業 (平成3年4月~平成8年3月), 平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

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: 大森義仁, 林 裕造, 黒川雄二, 高仲 正, 高橋道人, 祖父尼俊雄, 中館正弘, 齊藤行生, 中村晃忠, 高橋 淳, 藤田昌彦*1
厚生科学研究 (昭和63年4月~平成5年3月), 平成5年3月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

*1 国立公衆衛生院

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: 黒川雄二, 金子豊蔵, 會田喜崇, 石綿 肇
厚生科学研究 (平成2年4月~平成5年3月), 平成5年3月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

塩化メチレンの毒性に関する調査研究: 中館正弘, 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4年3月), 平成4年12月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

ダイオキシンの毒性発現機構に関する研究: 鈴木猛*1, 小島康平*1, 林 裕造, 安田峯生*2
厚生科学研究 (平成3年4月~平成6年3月) 平成5年3月厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室に報告。

*1 麻布大学環境保健学部

*2 広島大学医学部

医薬品等に係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: 岡田敏史, 石橋無味雄, 青柳健太郎*1, 秋山和幸*2, 増井俊夫*3
厚生科学研究 (平成4年4月~平成5年3月), 平成5年5月厚生省薬務局監視指導課に報告。

*1 日本薬剤師会

*2 東京都立衛生研究所

*3 静岡県衛生環境センター

一般用医薬品の品質試験法に関する研究: 真弓忠範*1, 石橋無味雄, 四方田千佳子, 岩上正蔵*2, 岩佐 曜*3, 大住優子*4, 東海則明*5, 二之宮昭夫*6, 林 信一*7, 横田洋一*8, 吉田継親*9
厚生科学研究 (平成4年4月~平成5年3月), 平成5年5月厚生省薬務局審査課に報告。

*1 大阪大学薬学部

*2 大阪府公衆衛生研究所

*3 エスエス製薬(株)

*4 奈良県薬事指導所

*5 武田薬品工業(株)

*6 三共(株)

*7 ロート製薬(株)

*8 富山県薬事研究所

*9 大正製薬(株)

各種農作物中残留農薬（トリアジメノール、プロピコナゾール、ペナラキスル）の分析法の作製：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4年4月～4年10月），平成4年9月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

残留農薬（トリアベンテノール，ジニコナゾール等8種有機含窒素化合物）の同時分析法検討報告書：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4年4月～5年3月），平成4年9月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物の1日摂取料調査に関する研究—学童の加工食品中のタール色素の1日摂取量：辻澄子，柴田正，伊藤誉志男
食品等試験検査費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

代謝されやすい有機リン系農薬（エトリムホスおよびナレド）の親化合物および代謝物の分別定量法：津村ゆかり，中村優美子，関口幸弘，外海泰秀，伊藤誉志男
厚生科学研究（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

そばの保存および調理加工（そば切り）過程における収穫後使用農薬の消長：津村ゆかり，関口幸弘，中村優美子，外海泰秀，伊藤誉志男
食品等試験検査費（平成4年4月～5年3月），平成5年3月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

米の保存および調理加工工程（炊飯およびビーフン）における収穫後使用農薬の消長：中村優美子，関口幸弘，津村ゆかり，外海泰秀，伊藤誉志男
食品等試験検査費（平成4年4月～5年3月），平成5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（ニコチン酸およびニコチン酸アミド）含量レベル調査研究：辻澄子，柴田正，伊藤誉志男

食品等試験検査費（平成4年4月～5年3月），平成5年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食用タール色素（青色1号）レーキの塩化物および硫酸塩試験法の改良：伊藤誉志男，柴田正，辻澄子，木村実加

食品等試験検査費（平成4年4月～5年3月），平成5年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

輸入食品の安全性確保に関する研究—輸入農作物中の13種ピレスロイド系農薬と29種有機リン系農薬の同時迅速検査法の開発：伊藤誉志男，外海泰秀，中村優美子，津村ゆかり

厚生科学研究（平成5年1月～5年3月），平成5年4月厚生省生活衛生局食品保健課に報告。

食品添加物（イマザリル，食用赤色40号，アスコルビン酸エステル，エリソルビン酸，サッカリン）の使用基準点検整備に関する研究：武田明治，山田隆，武田由比子，伊藤誉志男，柴田正
食品等試験検査費（平成4年10月～5年3月），平成5年4月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

食品添加物（食用緑色3号）有用性など調査研究：伊藤誉志男，柴田正，辻澄子
食品等試験検査費（平成4年4月～5年3月），平成5年4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（クテナシ黄色素およびビートレッド色素）の同定，分析手法などに関する研究：伊藤誉志男，柴田正，辻澄子
厚生科学研究（平成4年4月～5年3月），平成5年5月厚生省生活衛生局食品化学課に報告。

青柳伸男：徐放性製剤の設計と評価

第12回家庭薬開発研究会シンポジウム (1992.11)

青柳伸男, 寺尾允男, 内山 充, 中川 寛^{*1}, 牧田
浩和^{*2}, 上田芳雄^{*3}: PTWS 回転セル法による放
出試験の施設間変動

日本薬学会第113年会 (1993.3)

^{*1} 鐘紡薬品研究所

^{*2} 大日本製薬(株)薬品開発研究所

^{*3} 藤沢薬品(株)薬事本部

Aso, Y., Yoshioka, S. and Terao, T.: Release
Characteristics Stability of Poly (l-lactide)
Microspheres and Chemical Stability of Drugs
in the Microspheres

19th International Symposium on Controlled
Release of Bioactive Materials, Orland, Florida,
U.S.A. (1992.7)

吉岡澄江, 阿曾幸男, 伊豆津健一, 寺尾允男: 凍結
乾燥タンパク質の安定性と NMR 緩和時間からみ
た水の運動性の関係について β -ガラクトシダー
ゼの場合一

日本薬理学会第8年会 (1992.9)

Izutsu, K., Yoshioka, S., and Terao, T.: Effect of
crystallization of mannitol and inositol on stabi-
lization of an enzyme during freeze-drying

7th Annual Meeting of the American Association
of Pharmaceutical Sciences, San Antonio, Texas,
U.S.A. (1992.11)

大塚知子, 吉岡澄江, 阿曾幸男, 寺尾允男: 医薬品
の安定性予測へのマイクロ熱量計の応用の検討
日本薬学会第113年会 (1993.3)

阿曾幸男, 吉岡澄江, 寺尾允男: ²HNMR による
数種の医薬品添加剤と水分子の相互作用の検討
日本薬学会第113年会 (1993.3)

伊豆津健一, 吉岡澄江, 寺尾允男: タンパク質凍結
乾燥品の保存時における添加剤の結晶化とその活性
への影響

日本薬学会第113年会 (1993.3)

吉岡澄江, Geraldine Jordan, 寺尾允男: 凍結乾燥
タンパク質の安定性と水分含量一牛血清アルブミン
の場合一

日本薬学会第113年会 (1993.3)

石橋無味雄, 鹿庭なほ子, 松田りえ子: 公定試験法
における分析バリデーションの方向
日本薬学会第113年会 (1993.3)

豊岡利正, 石橋無味雄, 寺尾允男: HPLC-化学発
光検出法によるカルボン酸光学異性体の高感度分離
検出

日本分析化学会第41年会 (1992.9)

豊岡利正, 石橋無味雄, 寺尾允男: カルボン酸光学
異性体の高感度分離検出

第10回生体成分の分析化学シンポジウム (1992.9)

豊岡利正, 石橋無味雄, 寺尾允男: レーザー蛍光検
出法によるN-末端プロリンペプチドの高感度
HPLC 分離分析

日本薬学会第113年会 (1993.3)

豊岡利正, 石橋無味雄, 寺尾允男: アルコール化合
物分析用の新規光学活性蛍光標識試薬の開発

日本薬学会第113年会 (1993.3)

Toyo'oka, T., Ishibashi, M., and Terao, T.: Sen-
sitive Determination of N-Terminal ProlinePe-
ptides by HPLC with Laser-induced Fluores-
cence Detection

17th International Symposium on Column Liquid
Chromatography, Hamburg, Germany (1993.5)

中原雄二, 高橋一徳, 木倉瑠理, 小沼杏坪*: 毛髪
中薬物のGC/MS分析による長期薬物乱用の診断
一コカイン, ヘロイン, 覚醒剤関連薬物の場合一
第17回日本医用マスペクトル学会年会 (1992.9)

* 国立下総療養所

中原雄二, 木倉瑠理, 高橋一徳: 毛髪中薬物の分析
による薬物使用情報一コカイン, ヘロイン, 覚醒剤
関連薬物の場合一

第10回生体成分の分析化学シンポジウム (1992.9)

Kikura, R., Ochiai, T., Nakahara, Y.: The Incor-
poration Rates of Cocaine, Benzoylcegonine and
Ecgonine Methyl Ester into Hair - Relation-
ship between Drug Concentrations in Rat Hair
and AUCs in Rat Plasma

30th International Meeting of TIAFT, Fukuoka,
Japan (1992.10)

中原雄二, 木倉瑠理, 高橋一徳: 毛髪への薬物の排
泄一コカイン, ヘロイン, 覚醒剤関連薬物の物性と
毛髪への排泄の関係

第7回日本薬物動態学会年会 (1992.10)

中原雄二: 毛髪中薬物分析による薬物依存症の診断
への試み

第2回厚生省精神・神経疾患委託費精神疾患関連班
合同シンポジウム (1992.11)

Nakahara, Y.: Methamphetamine and related
compounds in hair - Incorporation and move-
ment of drugs in hair

First International Meeting on Hair Analysis As
Diagnostic Tool For Drugs of Abuse Investi-
gation, Italy (1992.12)

高橋一徳, 中原雄二, 寺尾允男: 薬物乱用歴推定のための毛髪分析 VII. 毛髪中の 6-アセチルモルヒネおよびモルヒネの抽出と同時定量法
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

中原雄二, 高橋一徳, 木倉瑠理, 寺尾允男: 薬物乱用歴推定のための毛髪分析 VIII. ヘロイン使用の証明のための生体試料 (尿, 血液, 毛髪) の比較
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

木倉瑠理, 中原雄二, 寺尾允男: 薬物乱用歴推定のための毛髪分析 IX. 毛髪分析によるアルコールとコカイン併用の推定
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

関根 均*, 中原雄二: 覚せい剤の喫煙生成物 N-シアノメチルメタンフェタミンの安定性
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

* 埼玉県警・科捜研

早川堯夫: バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価
第 14 回日本学術会議毒科学研連シンポジウム-毒性研究における遺伝子工学 (1992. 10)

Hayakawa, T.: Current Situation in Japan with respect to Quality Control of Biotechnology Drugs

3rd International Conference on Pharmacopoeias and Quality Control of Drugs, Rome, Italy (1992. 11)

Hayakawa, T.: Development and Standardization of Assay Methodologies for Drugs Derived from Biotechnology

3rd International Conference on Pharmacopoeias and Quality Control of Drugs, Rome, Italy (1992. 11)

Hayakawa, T.: Current Situation in Japan with Respect to Drug Production by Recombinant DNA Technology

Japan-U.S.A. Workshop on Scientific Political and Social Aspects of Recombinant DNA, Tokyo, Japan (1993. 3)

Hayakawa, T.: Regulatory Evaluation of Biotechnology Drugs: Current Trends in Japan

Interpharmacopoeial Open Conference on Biotechnology-derived Products, Verona, Italy (1993. 4)

森本和滋, 林 裕造: *in vivo* DNA 付加物量のデータベース化, O6-AG, O4-AT および 8-OHG の比較

第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

森本和滋, 内田恵理子, 川崎ナナ, A. A. SAID, 徳永裕司, 早川堯夫: 糖鎖含有タンパク質における糖鎖の構造と機能—その情報解析—

日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

Said, A. A., Morimoto, K., Hibi, K., Kawasaki, N., Uchida, E., Hayakawa, T.: Effects of oxygen radicals on the *in vivo* activity of erythropoietin in mice

日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

内田恵理子, 森本和滋, 早川堯夫: 脂肪前駆細胞 3T3-F442A の成長ホルモンに対する初期応答としての蛋白質リン酸化

第 65 回日本生化学会大会 (1992. 10)

横田橋江, 谷本 剛, 早川堯夫: 局外規塩化リゾチーム定量法の改良

第 29 回全国衛生化学技術協議会 (1992. 10)

西村千尋*¹, 斉藤智弘*¹, 伊藤威之*², 古江雅子*¹, 大森安恵*², 谷本 剛: ヒト赤血球中アルドースリダクターゼ蛋白の定量, 糖尿病患者における解析

第 66 回日本薬理学会総会 (1993. 3)

*¹ 国立小児病院

*² 東京女子医科大学

太田美矢子, 谷本 剛, 早川堯夫: イヌ腎臓 High-Km アルドース還元酵素の分子多様性

日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

谷本 剛, 太田美矢子, 早川堯夫, 西村千尋*: 組織内アルドース還元酵素量と糖尿病合併症の関連 (I) ELISA 定量法の確立とヒト赤血球中の酵素量

日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

* 国立小児病院

谷本 剛: タンパク質ハイブリッド物質を医薬にするための設計

第 8 回タンパク質ハイブリッド研究会 (1993. 5)

Yamaguchi, T., Yamaguchi, T., Hayakawa, T.: Effects of granulocyte colony-stimulating factor on the maturation of O₂ generating system in neutrophil-like differentiation of HL60 cells. The 7th Rinshoken International Conference, Tokyo, Japan (1992. 10)

押澤 正, 山口照英, 鈴木和博, 山本行男*, 早川堯夫: 好中球の O₂ 生成活性に及ぼすカリクリン A の影響

第 65 回日本生化学会大会 (1992. 10)

* 東京都臨床医学総合研究所

山口高正, 山口照英, 早川堯夫: HL-60 細胞の分化誘導と O₂ 生成活性に及ぼす G-CSF の影響について

第 65 回日本生化学会大会 (1992. 10)

山本行男*, 山口照英, 早川堯夫, 羽里忠彦*: 好中球機能に及ぼす Angiotensin III の効果について

第 65 回日本生化学会大会 (1992. 10)

* 東京都臨床医学総合研究所

押澤 正, 山口照英, 鈴木和博, 山口高正, 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 22 回日本免疫学会総会 (1992. 11)

* 東京都臨床医学総合研究所

山口高正, 山口照英, 押澤 正, 鈴木和博, 山本行男*, 早川堯夫: HL-60 細胞の分化誘導と O₂ 生成活性に及ぼす G-CSF の影響について
第 22 回日本免疫学会総会 (1992. 11)

* 東京都臨床医学総合研究所

新見伸吾, 山口照英, 早川堯夫: ラット初代培養肝細胞におけるグルココルチコイド受容体のデキサメタゾンによる調節
第 8 回初代培養肝細胞研究会 (1992. 6)

新見伸吾, 山口照英, 早川堯夫: ラット初代培養肝細胞におけるグルココルチコイド受容体のデキサメタゾンによる調節
第 65 回日本生化学会大会 (1992. 10)

Tanaka, A., Machida, T.*¹, Ohishi, Y.*¹, Yoshigoe, F.*¹, Kiyohara, T.*², Kubodera, A.*², Fu-kuoka, M., Kobayashi, T.: Basic studies on new renal scanning agents
8th International Symposium on Radionuclides in nephro-urology, Chester, England (1992. 5)

*¹ Jikei University School of medicine

*² Science University of Tokyo

福岡正道, 小林 哲, 早川堯夫: 精巣障害に関する研究 その 6. Dibutyl phthalate によるラット精巣萎縮について
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

小林 哲, 福岡正道, 早川堯夫: 精巣障害に関する研究 その 7. Dibutyl phthalate のタヒキニンへの影響について
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

佐竹元吉: 局方生薬の企画・品質
日本生薬学会関西支部 平成 4 年度秋季講演会 (1992. 10)

尾崎幸紘, 鈴木英世, 佐竹元吉: オウレンエキス又はオウレンカルスエキス及び甘草エキスとの併用経口投与後の血漿中ヘルペリン濃度の比較検討
日本生薬学会第 39 回年会 (1992. 9)

鈴木英世, 尾崎幸紘, 佐竹元吉: オウレン又はオウレンカルス配分処方煎出に伴う成分
日本生薬学会第 39 年会 (1992. 9)

関田節子: 食品・生薬原料でのマイコトキシンスクリーニング
マイコトキシン研究会第 36 回学術講演会シンポジ

ウム (1993. 1)

袴田祐輔*¹, 五木田智夫*¹, 吉川貴子*¹, 平山豊*¹, 亀山省司*¹, 柳川琢磨*¹, 黒柳正典*², 梅原薫*², 上野 明*², 佐竹元吉, 関田節子: 抗男性ホルモン作用を有する生薬成分の研究, 第 2 報 - *Dalbergia chochinchinensis* の活性成分
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

*¹ ライオン(株)

*² 静岡県立大学薬学部

平山豊*, 袴田祐輔*, 亀山省司*, 柳川琢磨*, 佐竹元吉: 南米生薬 *Swartia polyphylla* (クマセバ) の抗男性ホルモン作用成分
日本生薬学会第 39 回年会 (1992. 9)

* ライオン(株)

尾崎幸紘, 大野晶子*, 阿部健一*, 斎藤雄二*, 佐竹元吉: 硬紫根と軟紫根およびその含有成分のラット肉芽形成促進作用における比較研究
第 66 回日本薬理学会年会 (1993. 3)

* 鐘紡漢方研究所

川原信夫, 関田節子, 佐竹元吉: 馬勃の成分研究 (1)
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

中村晃忠: 医療用具および医用材料の毒性試験のガイドラインの必要性とその意義
第 2 回新医療機器研究開発セミナー (1992. 4)

中村晃忠: ISO/TC194 (医療用具・医用材料の生物学的安全性評価) の動向
日本バイオマテリアル学会シンポジウム '92 (1992. 11)

Nakamura, A., Kawasaki, Y., Uchima, T.*¹, Takada, K., Umemura, T., Kojima, S., Isama, K., Matsui, M., Nohmi, T., Matsuoka, A., Sofuni, T., Momma, K., Tsuda, M., and Kurokawa, Y.: Carcinogenicity of biomaterials: In the case of polyetherurethane
1st Japan-Sweden Biomaterial Symposium, Tokyo (1992. 10)

* (財)民生科学協会研究所

中村晃忠: ポリウレタンの生体内分解および異物発癌について
第 37 回医用高分子研究会 (1992. 12)

中村晃忠: 歯科材料の感作性試験について
第 20 回日本歯科理工学会学術講演会 (1992. 9)

中村晃忠, 土屋利江, 五十嵐良明: 医用材料の細胞毒性試験法の標準化
日本動物実験代替法学会第 6 回大会 (1992. 10)

中村晃忠, 山中昭夫*: 前臨床生物学的評価法の国際標準化 (ISO/TC194)

第 8 回日本眼内レンズ学会 (1993. 5)

* 神戸海星病院

鹿庭正昭, 伊佐間和郎, 中村晃忠, 関東裕美^{*1}, 早川律子^{*2}, 松永佳世子^{*3}: ゴム手袋による接触皮膚炎の原因究明—ジチオカーバメート系加硫促進剤—
第 29 回全国衛生化学技術協議会 (1992. 10)

^{*1} 東邦大学医学部付属病院^{*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

鹿庭正昭, 門馬純子, 伊佐間和郎, 黒川雄二, 中村晃忠: 低アレルギー性手袋: ゴム添加剤と皮膚アレルギー性の関係

第 17 回日本接触皮膚炎学会総会・学術大会 (1992. 12)

鹿庭正昭: ゴムアレルギーの同定—化学分析の役割—

第 17 回日本接触皮膚炎学会総会・学術大会 (1992. 12)

中川幹雄^{*1}, 河合敬一^{*1}, 河合亨三^{*1}, 安野洋一^{*2}, 鹿庭正昭: 油性マーカーペンによるアレルギー性接触皮膚炎: その原因化学物質の究明

第 22 回日本皮膚アレルギー学会 (1992. 6)

^{*1} 河合医院^{*2} 京都府立医科大学付属病院

朝日国比古^{*}, 松永佳世子^{*}, 長田知子^{*}, 野田浩子^{*}, 稲坂博^{*}, 上田 宏^{*}, 鹿庭正昭: ゴム製品によるアレルギー性接触皮膚炎の 3 例

第 22 回日本皮膚アレルギー学会 (1992. 6)

* 藤田保健衛生大学医学部付属病院

山崎玲子^{*}, 鹿庭正昭: スニーカー皮膚炎

第 17 回日本接触皮膚炎学会総会・学術大会 (1992. 12)

* 山崎医院

水野栄支^{*1}, 朝日国比古^{*2}, 松永佳世子^{*2}, 稲坂博^{*2}, 上田 宏^{*2}, 鹿庭正昭: エポキシ樹脂による接触皮膚炎の 1 例

第 17 回日本接触皮膚炎学会総会・学術大会 (1992. 12)

^{*1} 碧南市民病院^{*2} 藤田保健衛生大学医学部付属病院

荻野泰子^{*1}, 早川律子^{*1}, 鈴木真理^{*1}, 松永佳世子^{*2}, 鈴木加余子^{*3}, 鹿庭正昭: p-tertiary butylphenol-FR による接触皮膚炎

第 17 回日本接触皮膚炎学会総会・学術大会 (1992. 12)

^{*1} 名古屋大学医学部付属病院分院^{*2} 藤田保健衛生大学医学部付属病院^{*3} 名古屋市立池田病院

Hayakawa, R.^{*}, Ogino, Y.^{*}, Fujimoto K.^{*} and Kaniwa, M.: An allergic contact dermatitis from

PTBP-FR

3rd Meeting of the German-Japanese Society of Dermatology, Freiberg, Germany (1993. 5)

* 名古屋大学医学部付属病院分院

伊佐間和郎, 小嶋茂雄, 中村晃忠: IR 法によるウレタンモデル化合物とポリエーテルマクログリコールの共融組成の研究およびセグメント化ポリウレタンの共融組成と血液適合性との関係

第 21 回医用高分子シンポジウム (1992. 6)

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 6)—電気掃除機用紙バック中の抗菌加工剤などの分析—

第 29 回全国衛生化学技術協議会 (1992. 10)

大森裕子^{*1}, 中島晴信^{*2}, 松永一朗^{*2}, 宮野直子^{*2}, 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 3)—大阪府下における抗菌加工製品の市場実態調査—

第 29 回全国衛生化学技術協議会 (1992. 10)

^{*1} 大阪府環境保健部環境衛生課^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所

藤田忠雄^{*1}, 仲村智子^{*1}, 森田 茂^{*1}, 石川雅章^{*2}, 増井俊夫^{*2}, 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 5)—TEGO-51 の分析法の検討—

第 29 回全国衛生化学技術協議会 (1992. 10)

^{*1} 大阪市立環境科学研究所^{*2} 静岡県立衛生環境センター

Bechter, R.^{*1}, Terlow, G. D. C.^{*1}, Tsuchiya, M.^{*2}, Tsuchiya, T. and Kistler, A.^{*3}: Teratogenicity of arotinoids (retinoids): Comparison of the whole embryo culture system with the *in vivo* mouse model and the limb bud cell culture assay
European Teratology Society 19 th Annual Conference, Belgium (1991. 9)

^{*1} Sandoz Pharma Ltd. Basel^{*2} JR Tokyo General Hospital. Tokyo^{*3} F. Hoffmann-La Roche Ltd. Basel

土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠: ウレタンの発生毒性: 胎仔肺器官および各種胎仔細胞を用いた *in vitro* 試験

第 32 回日本先天異常学会学術集会 (1992. 7)

土屋利江: 細胞および器官培養法による催奇形性評価

In vitro 発生毒性研究会 VI (1992. 9)

土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠, 荒井 忠^{*1}, 大橋準一^{*1}, 秦 英代^{*2}, 内間高夫^{*2}, 豊田和弘, 高橋道人: 各種医用材料の細胞接着性と細胞毒性および *in vivo* 毒性反応との相関性について
日本バイオマテリアル学会シンポジウム '92 (1992. 11)

^{*1} メニコン(株)

*² 財民生科学協会

土屋利江, 五十嵐良明, 秦 英代*, 中村晃忠: 医用材料の細胞毒性と組織刺激性との相関
日本動物実験代替法学会第6回大会 (1992. 12)

* 財民生科学協会

土屋利江, 塚本康弘, 福原 潔, 宮田直樹, 高橋 惇, 五十嵐良明, 中村晃忠: マイクロマスカルチャー法を用いた1-nitropyreneの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6回大会 (1992. 12)

秦 英代*, 藤巻正人*, 土屋利江, 五十嵐良明, 中村晃忠: 医用材料の生物学的試験: ゴム老化防止剤の代謝協同阻害試験
日本バイオマテリアル学会シンポジウム'92 (1992. 11)

* 財民生科学協会

秦 英代*, 土屋利江, 五十嵐良明, 藤巻正人*, 中村晃忠: 医用材料の *in vitro* 毒性試験: 金属イオンおよびゴム老化防止剤の代謝協同阻害試験
日本動物実験代替法学会第6回大会 (1992. 12)

* 財民生科学協会

五十嵐良明, 大野圭子, 土屋利江, 中村晃忠: 末梢リンパ節検査における金属アレルギーに対するリンパ球増殖反応の種差
第19回日本毒科学学会学術年会 (1992. 7)

五十嵐良明, 土屋利江, 中村晃忠: リンパ節細胞増殖反応を指標とした皮膚感作性試験法の改良の試み
日本バイオマテリアル学会シンポジウム'92 (1992. 11)

五十嵐良明, 大野圭子, 土屋利江, 中村晃忠: Local lymph node assay における動物種と血清の影響
日本動物実験代替法学会第6回大会 (1992. 12)

Rutan, S. C.*, Hayashi, Y. and Helburn, R. S.*: Resolving Unmodeled Components from UV-Visible Spectra with Adaptive Filtering
Forth Symposium on Computer-Enhanced Analytical Spectroscopy, Snowbird, Salt Lake City, Utah, U.S.A. (1992. 6)

* Virginia Commonwealth University

Hayashi, Y. and Matuda, R.: Information Theory of Chromatography and Titration
Fifth International Conference on Chemometrics in Analytical Chemistry, Montreal, Canada (1992. 7)

Hayashi, Y. and Rutan, S. C.*: Adaptive Filters and Information
FACSS Meeting, Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A. (1992. 9)

* Virginia Commonwealth University

林 譲, 松田りえ子: データ解析の考え方
第23回液体クロマトグラフ研修会 (1992. 9)

林 譲, 松田りえ子: 動電クロマトグラフィーのミセル濃度の情報理論に基づく最適化
第12回キャピラリー電気泳動シンポジウム (1992. 12)

林 譲, 松田りえ子: 分離分析における Precision と Accuracy の関係について
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

林 譲, 松田りえ子: 分離分析における不確定性の予測
第10回液体クロマトグラフィー春期討論会 (1993. 5)

松村年郎, 関田 寛, 小嶋茂雄, 長田英二*: 化学物質による室内汚染 (6) ホルムアルデヒドのバンプサンプラーについて
第33回大気汚染学会 (1992. 12)

* 電気化学計器㈱

松村年郎, 関田 寛, 小嶋茂雄, 長田英二*: 化学物質による室内汚染 (7) パラジクロロベンゼンのバンプサンプラーについて
第33回大気汚染学会 (1992. 12)

* 電気化学計器㈱

松村年郎, 関田 寛, 小嶋茂雄, 坂楨妙子*: 化学物質による室内汚染 (8) ギ酸の測定法と室内測定結果
第33回大気汚染学会 (1992. 12)

* 日本大学理工学部

松村年郎, 関田 寛, 小嶋茂雄, 長田英二*: 東京都内の大気中における最近10年間 (1981~1990) のホルムアルデヒド濃度について
第33回大気汚染学会 (1992. 12)

* 電気化学計器㈱

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
第33回大気汚染学会 (1992. 12)

*¹ 東京都杉並西保健所

*² 東京都教育庁

松村年郎, 関田 寛, 小嶋茂雄, 村松 学*¹, 長田英二*²: 拡散型サンプラーを用いた空気中の二酸化窒素とホルムアルデヒドの個人暴露量の同時測定について
第12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 (1993. 4)

*¹ 東京都杉並西保健所

*² 電気化学計器㈱

松村年郎, 関田 寛, 小嶋茂雄, 倉野伸介*: 拡散

型サンプラーを用いた空気中のテトラクロロエチレンの個人モニタリング法について
第12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 (1993. 4)

* 日本大学理工学部

池田耕一*, 松村年郎: 超高気密高断熱住宅の室内空気環境の実測

日本建築学会 1992 年度大会

* 国立公衆衛生院

木嶋敬二, 鈴木助治^{*1}, 岸美智子^{*2}, 石川雅章^{*3}, 坂口 洋^{*4}, 原田広裕文^{*5}, 広田 博^{*6}, 光倉良平^{*7}, 澤村邦夫^{*8}, 高松翼^{*9}, 西島 靖^{*10}, 平松功^{*11}, 斎藤恵美子^{*12}: 生活用品・化粧品試験法: 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113年会 (1993. 3)

^{*1} 東京都立衛生研究所

^{*2} 神奈川県立衛生研究所

^{*3} 静岡県立衛生環境センター

^{*4} 北里大学衛生学部

^{*5} 日本毛髪協会研究所

^{*6} 城西大学薬学部

^{*7} コーセー研究所

^{*8} ライオン(株)品質管理部

^{*9} 資生堂(株)安全・分析センター

^{*10} 鐘紡(株)化粧品研究所

^{*11} ポーラ研究所

^{*12} 日本化粧品工業連合会

木嶋敬二, 鈴木助治^{*1}, 岸美智子^{*2}, 石川雅章^{*3}, 坂口 洋^{*4}, 原田広裕文^{*5}, 広田 博^{*6}, 光倉良平^{*7}, 澤村邦夫^{*8}, 高松翼^{*9}, 西島 靖^{*10}, 平松功^{*11}, 斎藤恵美子^{*12}: ハロゲン化カルバニリド系殺菌剤: 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113年会 (1993. 3)

^{*1} 東京都立衛生研究所

^{*2} 神奈川県立衛生研究所

^{*3} 静岡県立衛生環境センター

^{*4} 北里大学衛生学部

^{*5} 日本毛髪協会研究所

^{*6} 城西大学薬学部

^{*7} コーセー研究所

^{*8} ライオン(株)品質管理部

^{*9} 資生堂(株)安全・分析センター

^{*10} 鐘紡(株)化粧品研究所

^{*11} ポーラ研究所

^{*12} 日本化粧品工業連合会

佐々木久美子, 木嶋敬二, 小嶋茂雄: フラビン類存在下での UVA 照射による deoxy-guanosine の分解と 8-hydroxydeoxyguanosine の生成

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

山越葉子, 木嶋敬二, 小嶋茂雄, 小林厚子*: 培養表皮モデルを用いた化粧品原料の評価法 (II)

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

* 昭和薬科大学

木嶋敬二, 斎藤恵美子, 渡辺四男也^{*1}, 鈴木助治^{*1}, 永山富雄^{*2}: 化粧品の迅速簡易分析法 (3) —チオグリコール酸塩, 酢酸 dl- α -トコフェロール, ヘキサクロロヘン, イソプロピルメチルフェノール
日本化粧品科学会第17回学術大会 (1992. 6)

^{*1} 東京都立衛生研究所

^{*2} 東京薬科大学

徳永裕司: 「医薬品の品質管理とそれをめぐる諸問題」—特に標準品について

第25回日本薬剤師会学術大会 (1992. 9)

徳永裕司, 森本和滋, 早川堯夫: 高速液体クロマトグラフ法によるステロイドホルモン製剤の定量

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

安藤正典, 神野透人, 埴岡伸光, 小嶋茂雄: 微量分析方法における測定環境雰囲気

第26回水環境学会 (1993. 3)

安藤正典: 水道水質基準と安全評価

第21回水環境学会シンポジウム (1993. 2)

安藤正典, 神野透人, 埴岡伸光, 小嶋茂雄: 揮発性化合物の測定方法について

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

鈴木 隆, 松田りえ子, 斎藤行生: 雄ラットによる塩化トリブチルスズの代謝

第18回環境トキシコロジーシンポジウム (1992. 10)

松田りえ子, 林 譲, 鈴木 隆, 斎藤行生: 情報理論に基づいたクロマトグラフィーの定量限界について

第29回全国衛生化学技術協議会年会 (1992. 10)

松田りえ子, 林 譲, 鈴木 隆, 斎藤行生: キャピラリー電気泳動による食肉用抗菌剤の分析

第12回キャピラリー電気泳動シンポジウム (1992. 12)

松田りえ子, 林 譲, 鈴木 隆, 斎藤行生: 分離分析の情報量とヴァリデーション

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

根本 了: 日米欧医薬品ハーモナイゼーションの動向

平成3年度日本薬剤師会薬事情報センター実務担当者研修会 (1991. 11)

村山三徳, 内山貞夫, 斎藤行生: 鶏肉中ナイカルバジン残留分析上の諸問題について

第29回全国衛生化学技術協議会年会 (1992. 10)

豊田正武, 佐藤智美, 最所和宏, 斎藤行生, 長谷川康行^{*1}, 佐伯政信^{*1}: 標準添加—ヘッドスペース法

による食品中低沸点有機塩素化合物の簡易分析
第29回全国衛生化学技術協議会年会 (1992.10)

*1 千葉県衛生研究所

最所和宏, 豊田正武, 斎藤行生: 低沸点有機塩素化合物のヌカエビ (*Paratyacompressa improvisa*) 生物試験による評価

第29回全国衛生化学技術協議会年会 (1992.10)

最所和宏, 豊田正武, 高木加代子, 佐竹元吉, 斎藤行生, 高橋 悟*1, 山本裕昭*1, 葛西 健*2, 橋本勢津*2: ハチミツによる食中毒の原因物質について

日本食品衛生学会第64回学術講演会 (1992.10)

*1 岩手県衛生研究所

*2 岩手県岩泉保健所

川崎 勝, 豊田正武, 手島玲子, 沢田純一, 斎藤行生, 井上昌三*: フラボノイドのRBL-2H3細胞に対する細胞毒性およびヒスタミン遊離に及ぼす作用

日本薬学会第113年会講演会 (1993.3)

* 日東電工(株)

宮原 誠, 川崎 勝, 豊田正武, 斎藤行生: 食用植物中のトポイソメラーゼ阻害活性の検索

日本薬学会第113年会 (1993.3)

穂山 浩, 四俣真悟, 林 慎介, 戸井田敏彦, 今成登志男, 齊藤 實*: ヒアルロン酸の微量分析法の開発と培養ヒト表皮角化細胞への応用

第10回生体成分の分析化学シンポジウム (1992.9)

* 野田産業科学研究所

邱 国寧, 穂山 浩, 興石一郎, 今成登志雄: 培養ヒト皮膚繊維芽細胞が産生するグリコサミノグリカンの研究

日本薬学会第113年会 (1993.3)

穂山 浩, 邱 国寧, 宮崎浩一, 戸井田敏彦, 今成登志男, 齊藤 實*: 培養ヒト皮膚細胞のグリコサミノグリカン産生におよぼすdbcAMPの影響

日本薬学会第113年会 (1993.3)

* 野田産業科学研究所

穂山 浩, 四俣真悟, 伊藤絹江, 今成登志雄, 齊藤實*: TPA誘導による表皮肥厚化とグリコサミノグリカンの代謝

日本薬学会第113年会 (1993.3)

* 野田産業科学研究所

戸井田敏彦, 長島朋代, 穂山 浩, 今成登志男: ヒアルロン酸由来飽和および不飽和オリゴ糖の¹H-NMR

日本薬学会第113年会 (1993.3)

山田 隆, 武田由比子, 川崎洋子, 武田明治: 食品中の食品添加物の迅速分析法—保存料について

第29回全国衛生化学技術協議会年会 (1992.10)

武田由比子, 山田 隆, 武田明治: 食用赤色40号

の純度試験に関わる非スルホン化芳香族第一アミンの分析について

日本食品衛生学会第64回学術講演会 (1992.10)

米谷民雄, 久保田浩樹, 中納徳子, 武田明治: コウジ酸および没食子酸の共存によるアルミニウムの血清中存在状態と臓器分布の変化

日本薬学会第113年会 (1993.3)

久保田浩樹, 佐藤恭子, 合田幸広, 米谷民雄, 武田明治: 色素産生培養細胞での重金属によるフィトケラチン様物質の誘導

日本薬学会第113年会 (1993.3)

合田幸広, 鈴木淳子, 米谷民雄, 義平邦利, 武田明治, 内山 充: L-トリプトファン中の不純物について (3) 3-アニリノ-L-アラニン, 不純物 UV-5 の構造

日本食品衛生学会第64回学術講演会 (1992.10)

中村基之*, 金城順英*, 野原稔弘*, 合田幸広: マメ科植物成分研究 (58報) 生薬甘草および市販甘草色素の成分比較について

平成4年度日本薬学会九州支部大会 (1992.11)

* 熊本大学薬学部

坂元史歩, 佐藤恭子, 合田幸広, 米谷民雄, 林 真, 祖父尼俊雄, 佐竹元吉, 武田明治, 鎌田 博*: 毛状根抽出物の染色体異常試験

第3回植物組織培養コロキウム (1992.7)

* 筑波大学遺伝子実験センター

坂元史歩, 吉岡暁子, 合田幸広, 米谷民雄, 武田明治: オンライン超臨界流体抽出/超臨界流体クロマトグラフィーを用いたピキシンの研究

日本薬学会第113年会 (1993.3)

坂元史歩, 佐藤恭子, 合田幸広, 米谷民雄, 林 真, 山崎奈緒美, 祖父尼俊雄, 武田明治, 鎌田博*: 毛状根抽出物の染色体異常試験 (2)

日本食品衛生学会第65回学術講演会 (1993.5)

* 筑波大学遺伝子実験センター

川崎洋子, 合田幸広, 武田明治: 西洋あかね成分中の変異原物質について (4)

日本薬学会第113年会 (1993.3)

馬場二夫*, 松本恵子*, 梅原龍海*, 森田 茂*, 石綿 肇, 杉田たき子, 武田明治: 顔料用各種重金属酸化物の食品類似溶媒への溶解性

日本食品衛生学会第64回学術講演会 (1992.10)

* 大阪市環境科学研究所

石綿 肇: 輸入食品の残留化学物質—最近の事例から

横浜輸入食品等衛生協議会平成4年度講演会 (1993.2)

石綿 肇: 輸入食品・検査検査センター理化学課に

おける輸入食品の検査, 調査, 研究

第39回関東地区検疫所集団会 (1993. 2)

杉田たき子, 石綿 肇, 武田明治, 馬場二夫*, 梅原龍海*, 森田 茂*: ヘッドスペース・キャピラリーGCによるスチレン製品材質中揮発性物質の測定法の検討

日本食品衛生学会第65回学術講演会 (1993. 5)

* 大阪市立環境科学研究所

伊藤澄夫*, 武田 寿*, 小林昭彦*, 桜井裕之*, 多田善彦*, 青木 岳*, 細貝 猛*, 山中崇彰*, 石綿肇: 輸入ウオッカ中のフタル酸ジブチルの迅速定量法

日本食品衛生学会第65回学術講演会 (1993. 5)

* 横浜検疫所輸入食品検査・検査センター

辰濃 隆*¹, 石綿 肇, 大出 譲*², 風間成孔*³, 河村太郎*⁴, 小松美博*⁵, 里見弘治*⁶, 中澤裕之*⁷, 中村好志*⁸, 西村正美*⁹, 馬場二夫*¹⁰: スチレンおよび揮発成分: ヘッドスペース・ガスクロマトグラフィーによる定量

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

*¹ 日本食品衛生協会*² 高分子素材センター*³ 東京都立衛生研究所*⁴ 鎌倉女子大学*⁵ 東洋食品研究所*⁶ 呉羽化学食品研究所*⁷ 国立公衆衛生院*⁸ 静岡県立大学*⁹ 日本食品分析センター*¹⁰ 大阪市立環境科学研究所

辰濃 隆*¹, 石綿 肇, 大出 譲*², 風間成孔*³, 河村太郎*⁴, 小松美博*⁵, 里見弘治*⁶, 中澤裕之*⁷, 中村好志*⁸, 西村正美*⁹, 馬場二夫*¹⁰: プラスチック可塑性剤: ガスクロマトグラフィーによる可塑性剤の定性および定量

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

*¹ 日本食品衛生協会*² 高分子素材センター*³ 東京都立衛生研究所*⁴ 鎌倉女子大学*⁵ 東洋食品研究所*⁶ 呉羽化学食品研究所*⁷ 国立公衆衛生院*⁸ 静岡県立大学*⁹ 日本食品分析センター*¹⁰ 大阪市立環境科学研究所

福原 潔, 武居美奈, 影山晴秋, 楠間通代, 宮田直樹: 新規ニトロアレーンおよびアザアレーンの合成, 還元特性と変異原性
第18回環境トキシコロジーシンポジウム (1992. 10)

福原 潔, 原 幸江, 宮田直樹: ニトロアレーンと酸素との相互作用 スーパーオキシドによる酸化

日本環境変異原学会第21回大会 (1992. 11)

世良暢之*, 堀川和美*, 常盤 寛*, 福原 潔, 宮田直樹: ニトロアレーンと酸素との相互作用 スーパーオキシドによる酸化

日本環境変異原学会第21回大会 (1992. 11)

* 福岡県保健環境研究所

大森清美*, 福原 潔, 岩田修永, 岸 美智子*, 堀口佳哉*, 高橋 惇, 宮田直樹: ニトロナフタレン類の変異原性と代謝活性化

日本環境変異原学会第21回大会 (1992. 11)

* 神奈川県衛生研究所

栗原正明, 宮田直樹: アルコキシシランをシリル源とするジオールによるアセタール化反応

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

栗原正明, 伊東幸子, 宮田直樹: ジオキシシランを用いた酸化反応 (3) シクロヘキセノール類の立体選択的エポキシ化

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

福原 潔, 原 幸江, 宮田直樹: キノン類およびニトロアレーン類の活性酸素生成能の化学的解析

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

末吉祥子, 稲見圭子, 丹野雅幸, 宮田直樹: クロロフェノール類のオキセノイドによる酸化反応の解析

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

丹野雅幸, 末吉祥子, 宮田直樹: N-ニトロソ化合物から発生する一酸化窒素 (NO) の捕捉について

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

大森清美*¹, 堀口佳哉*¹, 岩田修永*², 遠藤任彦*², 福原 潔, 宮田直樹: ニトロナフタレン類の変異原性発現における還元反応について

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

*¹ 神奈川県衛生研究所*² 東京医科大学

Miyata, N., Fukuhara, K., and Hara, Y.: Oxidation of polycyclic nitroarenes with potassium superoxide

VI Biennial Meeting of International Society for Free Radical Research, Italy (1992. 6)

Sumi, Y.*¹, Kawahara, S.*^{2,3}, Kikuchi, Y., Sawada, J., Suzuki, T.*¹, and Suzuki, K. T.*^{3,4}: Histochemical and immunochemical localization of copper, iron and metallothioneins in the liver and kidney of LEC rats

9th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, Netherland (1992. 11)

*¹ 聖マリアンナ医科大学*² 筑波大学*³ 国立環境研究所*⁴ 千葉大学薬学部

Kikuchi, Y.*¹, Irie, M.*¹, Kasahara, T.*², Sawada, J., and Terao, T.: **Induction of metallothionein by IL-1 and heavy metals in a human astrocytoma cell line**

3rd International Meeting on Metallothionein, Tukuba (1992.12)

*¹ 星薬科大学

*² 自治医科大学

蜂須賀暁子, 山崎 壮, 渋谷 淳, 三森国敏, 高橋道人, 澤田純一: **モノクローナル抗体を用いたオピオイド結合タンパク (OBCAM) の脳内分布の解析**
日本薬学会第 113 年会 (1993.3)

斎藤嘉朗, 山崎 壮, 池淵秀治, 澤田純一: **モノクローナル抗体を用いた成長ホルモン受容体の免疫化学的解析**

日本薬学会第 113 年会 (1993.3)

手島玲子, 池淵秀治, 寺尾允男, 古野忠秀*, 中西守*, 澤田純一: **RBL-2H3 細胞からの脱顆粒, カルシウム動態に及ぼすチロシンリン酸化酵素阻害剤の影響**

日本免疫学会第 22 回学術集会 (1992.11)

* 名古屋市立大学薬学部

古野忠秀*, 堀越由美子*, 手島玲子, 寺尾允男, 中西守*: **共焦点レーザー顕微鏡による好塩基球の核へのカルシウムシグナルの追究**

日本免疫学会第 22 回学術集会 (1992.11)

* 名古屋市立大学薬学部

木谷誠一*¹, 手島玲子, 森田 寛*¹, 伊藤幸治*¹, 松田 譲*², 野々村禎昭*¹: **ミオシン軽鎖キナーゼインヒビターによる IgE 介在性ヒスタミン遊離の抑制**

第 42 回日本アレルギー学会総会 (1992.10)

*¹ 東京大学医学部

*² 協和発酵東京研

森田幾江, 山崎 壮, 澤田純一: **オンライン前処理キャピラリー電気泳動法の開発**

第 10 回液体クロマトグラフィー春季討論会 (1993.5)

棚元健一, 配島由二: **内毒素マイドジェン活性を抑制するサクシニル化リポド A の構造とその性状**

第 66 回日本細菌学会総会 (1993.3)

熊田秀文*, 梅本俊夫*, 配島由二, 棚元憲一: **Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis 内毒素リポド A の構造解析**

第 66 回日本細菌学会総会 (1993.3)

* 神奈川歯科大学

近藤誠一*, 石田恵一*, 一色恭徳*, 配島由二, 井口毅裕*, 久恒和仁*: **O1 コレラ菌と血清学的に交叉反応性をもつ海水ビブリオ 1875 の O 抗原 (内毒素) リポ多糖の構造解析**

第 66 回日本細菌学会総会 (1993.3)

* 城西大学薬学部

一色恭徳*, 近藤誠一*, 井口毅裕*, 配島由二, 久恒和仁*: **O 抗原 (内毒素) リポ多糖を用いた O1 コレラ菌オガワ特異物質の構造**

第 66 回日本細菌学会総会 (1993.3)

* 城西大学薬学部

配島由二, 棚元憲一: **蛍光および放射性アイソトープ標識化合物を利用した細菌内毒素 (エンドトキシン) 微量検出法の開発**

日本薬学会第 113 年会 (1993.3)

棚元憲一: **医薬品および医療用具へのリムルス試験の基礎と適用**

医薬品・医療用具等に対する FDA 及び DOH など内外の査察の現状と対応に関するシンポジウム (日本防菌防ばい学会主催) (1992.11)

細瀬和成*¹, 棚元憲一, 配島由二, 三瀬勝利, 羽生高*², 中村 収*², 古谷辰雄*³, 宗 耕二*⁴, 堀和明*⁵, 清水正樹*⁶, 岸井松司*⁷, 土谷正和*⁷, 市東利明*⁸, 横堀 猛*⁹, 田中重則*⁹, 石関忠一*¹⁰: **滅菌医療用具メーカーのリムルス試験の使用状況に関する調査**

第 20 回日本防菌防ばい学会 (1993.5)

*¹ 都立アイソトープ研究所

*² 日機装(株)

*³ ジョンソン・エンド・ジョンソン(株)

*⁴ 川澄化学工業(株)

*⁵ (株)日本メディカルサプライ

*⁶ テルモ(株)

*⁷ 和光純薬工業(株)

*⁸ 第一化学薬品(株)

*⁹ 生化学工業(株)

*¹⁰ 横浜国立大学

久恒和仁*, 一色京徳*, 配島由二, 近藤誠一*, 石田恵一*, 井口毅裕*: **O1 コレラ菌 O 抗原因子 A, B および C の化学的実体の全貌**

第 26 回腸炎ビブリオシンポジウム (1992.10)

* 城西大学薬学部

Kondo, S.*, Watabe, T.*, Haishima, Y., Iguchi, T.* and Hisatsune, K.*: **Structural study of sugar chain of lipopolysaccharide isolated from *Vibrio parahaemolyticus* serotype O₂**

2nd Conference of the International Endotoxin Society, Vienna (1992.8)

* 城西大学薬学部

久恒和仁*, 一色恭徳*, 石田恵一*, 配島由二, 井口毅裕*, 近藤誠一*: **O1 コレラ菌 O 抗原に関する“ABC Concept”へのリポ多糖 (LPS) を用いた化学的・免疫学的アプローチ**

第 39 回毒素シンポジウム (1992.8)

* 城西大学薬学部

Hisatsune, K.* , Isshiki, Y.* , Haishima, Y., Iguchi, T.* and Kondo, S.* : **Chemistry and immunology of antigenic factors A, B and C of 01 *Vibrio cholerae***

U. S.-Japan Joint Conference on Cholera and Related Diarrheas, 28th., Tokyo (1992. 7)

* 城西大学薬学部

Kobatake, M., Sato, A.*1, Terao, M.*2 : **Antifungal effects of garlic extract on spoilage yeasts from seafoods**

6th International Symposium on Microbial Ecology, Barcelona, Spain (1992. 9)

*1 新潟県立新潟女子短期大学

*2 新潟県立衛生公害研究所

Sato, A.*1, Kobatake, M., Terao, M.*2 : **Antibacterial effects of garlic extract on food poisoning bacteria and spoilage bacteria**

6th International Symposium on Microbial Ecology, Barcelona, Spain (1992. 9)

*1 新潟県立新潟女子短期大学

*2 新潟県立衛生公害研究所

宮原美知子, 三瀬勝利, 曾我部恭子*1, 石渡尚子*2, 谷村顕雄*2 : ***Vibrio cholerae* non 01 の産生する制限酵素の特徴**

日本食品衛生学会第 64 回学術講演会 (1992. 10)

*1 北里大学衛生学部

*2 昭和女子大学

宮原美知子, 三瀬勝利 : ***Salmonella typhi* から産生する制限酵素**

第 15 回日本分子生物学会 (1992. 12)

宮原美知子, 三瀬勝利 : **ビブリオ科細菌からの制限酵素**

日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

宮原美知子, 三瀬勝利, 藤原理恵*1, 石渡尚子*2, 谷村顕雄*2 : **腸炎ビブリオの産生する制限酵素**

日本食品衛生学会第 65 回学術講演会 (1993. 5)

*1 北里大学衛生学部

*2 昭和女子大学

熊谷 学*1, 梅木久一後*1, 藤 公吉*2, 仁科徳恵*3, 徳丸雅一*4, 品川邦汎*5 : **食鳥処理場における細菌汚染と体および器具の洗浄・殺菌用製剤について**

日本食品衛生学会第 64 回学術講演会 (1992. 10)

*1 岩手県立衛生研究所

*2 新潟県立衛生公害研究所

*3 静岡県東部食肉衛生検査所

*4 埼玉県立衛生公害研究所

*5 岩手大学農学部

小沼博隆 : **食品細菌検査の簡易化・迅速化**

日本食品微生物学会第 13 回学術講演会 (1991. 11)

安形則雄*1, 品川邦汎*2, 小沼博隆 : **牛乳におけるセレウス菌の挙動に関する検討**

日本食品微生物学会第 13 回学術講演会 (1992. 11)

*1 名古屋市立衛生研究所

*2 岩手大学農学部

上田成子*1, 桑原祥浩*1, 安形則雄*2, 小沼博隆, 品川邦汎*3 : **食品中の *Bacillus thuringiensis* の農薬との関連性 (3) 土壌中の BT 菌の消長**

日本食品微生物学会第 13 回学術講演会 (1992. 11)

*1 女子栄養大学栄養学部

*2 名古屋市立衛生研究所

*3 岩手大学農学部

小沼博隆 : **食鳥処理場における衛生微生物制御**

平成 4 年度日本獣医公衆衛生学年次学会 (1993)

酒井綾子, 宮田直樹, 高橋 惇 : **BHA の MCA 誘発トランスフォーメーションに対する影響**

第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

酒井綾子, 梅田 誠*1, 中村好志*2, 佐々木澄志*3, 岩瀬裕美子*4 : **発癌プロモーター *in vitro* 試験について**

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

*1 横浜市立大学木原生物学研究所

*2 静岡県立大学薬学部

*3 食品薬品安全センター秦野研究所

*4 三菱化成総合研究所

松谷佐知子 : **挿入因子 *IS1* の遺伝子発癌 : *insA* 変異株の解析**

第 15 回日本分子生物学会年会 (1992. 12)

一戸正勝, 成田紀子, 鈴木明子, 菊池 裕, 池淵秀治, 田中東一, 沢田純一 : **ハトムギ, ヨクイニンの糸状菌分布とゼアラレノン汚染原因菌**

マイコトキシン研究会第 35 回学術講演会 (1992. 9)

上村 尚*, 一戸正勝 : **輸入コーンのフモニシン汚染および *Fusarium* 属のフモニシン生産性**

マイコトキシン研究会第 35 回学術講演会 (1992. 9)

* 東京都立衛生研究所

菊池 裕, 一戸正勝 : **酵素免疫測定法によるアフラトキシン産生菌の評価**

マイコトキシン研究会第 35 回学術講演会 (1992. 9)

一戸正勝 : **まれな真菌症の原因菌の生体**

第 36 回日本医真菌学会総会シンポジウム ; 最近注目されているまれな真菌症 (1992. 10)

一戸正勝 : **農作物のカビ毒汚染にかかわる圃場環境条件**

第 13 回食品微生物学会シンポジウム B (1992. 11)

Ichinoe, M. : **Fungal distribution and causal organisms of zearalenone contamination on Job's tears (*Coix lachryma-jobi* var. *mayuen*)**

products

27th UJNR Toxic Microorganisms Joint Panel Meeting, New Orleans, USA (1992. 11)

佐藤 衛*, 一戸正勝, 福本文良*, 手塚信夫*, 堀内誠三*: *Fusarium chlamyosporum* および *F. pallidroseum* によるアニゴザンサス立枯病
日本植物病理学会関西支部会 (1992. 11)

* 農林水産省野菜茶試

菊池 裕, 鈴木明子, 成田紀子, 一戸正勝, 三瀬勝利, 本間正充, 林 真, 水沢 博, 祖父尼俊雄:
DNA フィンガープリント法を用いた *Aspergillus flavus* の分類
日本薬学第 113 年会 (1993. 3)

石川成寿*, 上野臣一*, 中山喜一*, 一戸正勝:
Fusarium moniliforme によるイチゴ先枯病 (新称)

平成 5 年度日本植物病理学会大会 (1993. 4)

* 栃木農試

五十嵐貴子, 田伏 洋*¹, 佐野 亨*¹, 佐々壽浩*^{1, 2}, 神沼二真, 三輪錠司*¹: 線虫 *C. elegans* のプロテインキナーゼ C 相同タンパク質のホルモールエステル結合ドメインの性質
第 15 回日本分子生物学会年会 (1992. 12)

*¹ NEC 基礎研究所

*² 現・徳島大学

神沼二真, 中野達也, 中田琴子, 五十嵐貴子, 中田吉郎*¹, 浜谷和彦*²: 創薬と安全性研究のための分子計算環境 MOSA II の開発
第 15 回情報化学討論会 (1992. 11)

*¹ 群馬大学

*² アドイン研究所

神沼二真, 五十嵐貴子, 中野達也: IARC モノグラフからの発がん物質データベースの作成
第 15 回情報化学討論会 (1992. 11)

Nakata, K.: Genetics Code Analysis by Computer
10th Latin-American Congress of Genetics, Brazil (1992. 4)

中田琴子: ニューラルネットワークを用いた DNA 結合タンパク質の特性解析
第 30 回日本生物物理学会年会 (1992. 10)

中田琴子, 吉野徹*^{1, 2}, 窪田毅*², 皿井明倫*¹: ヒト・ゲノム配列解析: 核酸配列上のタンパク質にコードされる領域の予測
第 3 回ゲノム情報ワークショップ (1992. 12)

*¹ 理化学研究所ライフサイエンス筑波研究センター

*² ノヴァ(株)・バイオシステム研究室

Sekizawa, J.: Data Quality Control in Preparing Criteria Documents

Workshop on Toxicology Data Quality Indicators, Atlanta (1992. 9)

関沢 純, 大竹千代子, 楊 学坤: 化学物質の安全性評価におけるリスクコミュニケーションクライテリアドキュメントの役割
日本リスク学会第 5 回研究発表会 (1992. 11)

大竹千代子, 楊 学坤, 関沢 純: 化学物質の安全性評価に関するクライテリアドキュメントのデータベースの作成と利用
第 6 回公衆衛生情報研究協議会定期研究会 (1993. 1)

Sekizawa, J., Yang X. and Ohtake, C.: Development and Use of a Criteria Document Database for Risk Assessment of Chemicals
International Congress on the Health Effects of Hazardous Waste, Atlanta (1993. 5)

関沢 純, 大村えい子, 鎌田栄一, 金子豊蔵, 戸部満寿夫*¹, 香川 順*², 加藤正信*³, 八十川欣勇*⁴, 須山祐之*⁵, 高久 悟*⁵, 西村正雄*⁵: 吸入急性毒性値 (LD50) の他経路における急性毒性値 (LD50) からの予測
第 18 回環境トキシコロジーシンポジウム (1992. 10)

*¹ 日本公定書協会

*² 東京女子医科大学

*³ 三菱化成安全科学研究所

*⁴ 日本海事検定協会

*⁵ 東京歯科大学

Sekizawa, J., Yasuhara K., Suyama Y.*¹, Yamanaka S.*¹, Tobe M.*² and Nishimura M.*¹: A Simple Method for Screening Assessment of Skin and Eye Irritation
The Eleventh International Symposium on the Transport of Dangerous Goods by Sea and Inland Waterways, Tokyo (1992. 11)

*¹ Department of Hygiene, Tokyo Dental College, Japan

*² Society of Japanese Pharmacopocia

林 裕造, 児玉幸夫, 不二 哲: ras 遺伝子を導入した発がん試験系マウスの利用
第 39 回日本実験動物学会・シンポジウム (1992. 5)

児玉幸夫: 動物実験に対する研究支援体制・日本の動物実験の現状と今後の課題および新しい実験動物の開発
韓国実験動物学会・招待講演 (1992. 6)

鈴木幸子, 小川幸男, 岸洋子*¹, 千葉百子*²: 希土類元素 (Y, La, Eu, Gd) の強制経口投与によるラット大腿骨中投与元素濃度の比較
第 3 回日本微量元素学会総会 (1992. 6)

*¹ 横川アナリティカルシステムズ(株)

*² 順天堂大学医学部衛生学

Kurokawa, Y., Hasegawa, R., Umemura, T., Takagi, A. and Sai, K.: **Oxidative DNA damage by renal and hepatic carcinogens**

International Symposium on Cancer, Sapporo Cancer Seminar "Oxyradicals and anti-oxidative responses in cancer" (1992. 7)

川崎 靖, 高田幸一, 中路幸男, 津田充有, 黒川雄二, 中村晃忠, 小島茂雄, 佐藤道夫, 伊佐間和郎: **医療材料ポリウレタン (PU) ラット皮下への長期埋植による組織反応**

第19回日本毒科学会学術年会 (1992. 7)

田中 悟: **日本の医薬品の生殖発生毒性試験法指針—その基本的考え方と特徴—**

第19回日本毒科学会学術年会・シンポジウム (1992. 7)

高木篤也, 佐井君江, 長谷川隆一, 黒川雄二: **変異原性試験, 分配係数および急性毒性の多変量解析 (数量化理論2類) による化学物質の発癌性の判別**

第19回日本毒科学会学術年会 (1992. 7)

小川幸男, 鈴木幸子, 内藤克司, 齊藤 実, 廣瀬明彦, 金子豊蔵, 黒川雄二: **ユーロピウムおよびガドリニウムのラットにおける28日間反復投与毒性試験について (La・Yとの比較)**

第19回日本毒科学会学術年会 (1992. 7)

佐井君江, 高木篤也, 梅村隆志, 長谷川隆一, 黒川雄二: **ラット腎核面分を用いた臭素酸カリウムによる8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成**

第51回日本癌学会総会 (1992. 10)

高木篤也, 長谷川隆一, 本間正充, 水沢 博, 祖父尼俊雄: **ペルオキシソーム増殖剤投与ラット肝臓中の proto-oncogene mRNA レベルの変化**

第51回日本癌学会総会 (1992. 10)

佐井君江, 黒川雄二: **非変異・がん原物質による酸化的DNA傷害について**

日本環境変異原学会第21回大会シンポジウム (1992. 11)

田中 悟: **生殖発生毒性試験—know・how—**

麻布毒性談話会・平成4年度シンポジウム (1992. 11)

大野圭子, 五十嵐良明, 土屋利江, 中村晃忠, 黒川雄二: **Local Lymph Node Assay による感作性評価**

第17回日本接触皮膚炎学会総会 (1992. 12)

門馬純子, 鹿庭正昭, 中村晃忠, 津田充有, 黒川雄二: **ゴム加硫促進剤のモルモットにおける感作性の評価**

第17回日本接触皮膚炎学会総会 (1992. 12)

梅村隆志, 佐井君江, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二: **臭素酸カリウムのラット腎発癌機構における**

細胞増殖の役割

第9回日本毒性病理学会 (1993. 1)

Tsuda, M., Satarug, S.*¹, Haswell-Elkins, M. R.*^{1,2}, Mairing, E.*¹, Elkins, D. B.*^{1,2} and Esumi, H.*³: **Increased endogenous formation of nitrogen oxides and N-nitroso compounds in human by chronic infection with the liver fluke, *Opisthorchis viverrini***

NCI Workshop, Nitric oxide and carcinogenesis, Williamsburg, USA (1993. 1)

*¹ Khon Kaen Univ., Thailand

*² Queensland Instit. of Med. Research, Australia

*³ 国立がんセンター研究所

Imaida, K.*¹, Shirai, T.*¹, Masui, T.*¹, Ogawa, K.*¹, Tamavit, W.*², Tsuda, M. and Ito, N.*²: **Opisthorchis viverrini related cholangiocarcinogenesis in the liver of rodents: Possible contribution of nitrogen oxide synthase**

NCI Workshop, Nitric oxide and carcinogenesis, Williamsburg, USA (1993. 1)

*¹ 名古屋市立大学医学部

*² Mahidol Univ., Thailand

門馬純子, 中村晃忠: **医用材料の感作性試験ガイドラインの考え方**

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

長谷川隆一, 安藤正典: **水道水水質基準設定の根拠となった毒性評価法**

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

Kurokawa, Y: **Toxicological Implication of Oxidativa Stress**

ILSI International Symposium, Tokyo (1993. 4)

岩田修永*¹, 遠藤任彦*¹, 鈴木和博, 嶺岸謙一郎, 川西 徹, 大野泰雄, 高橋 惇, 五十嵐 隆*², 佐藤哲男*²: **ムスクキシレンによる第I相および第II相肝薬物代謝酵素の誘導**

第23回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム (1992. 10)

*¹ 東京医科大学

*² 千葉大学薬学部

岩田修永*, 原 修一*, 栗岩ふみ*, 鈴木和博, 嶺岸謙一郎, 川西 徹, 高橋 惇, 加納節夫*, 遠藤任彦*: **ムスクキシレンによる雌雄マウス肝チトクローム P-450 の誘導**

第66回日本薬理学会総会 (1993. 3)

* 東京医科大学

鈴木和博, 押澤 正, 山口照英, 高橋 惇: **Effect of Okadaic Acid on O²⁻ Production and Protein Phosphorylation in HL-60 Cells**

8th International Conference on Second Messengers and Phosphoproteins (1992. 8)

鈴木和博, 押澤 正, 山口照英, 山本行雄*, 最上知子, 早川堯夫, 高橋 惇: HL-60 細胞の活性酸素産生に対するオカダ酸の影響
第 65 回日本生化学会大会 (1992. 10)

* 東京都臨床医学総合研究所

嶺岸謙一郎, 高橋 惇: 5-FP (ペンタフルオロプロパノール) の代謝
日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

最上 (西巻) 知子, 鈴木和博, 高橋 惇: クロフィリン酸によるホスファチジルエタノールアミンのメチル化の阻害と肝細胞からの VLDL 分泌の低下
第 34 回日本脂質生化学研究会 (1992. 6)

最上 (西巻) 知子, 鈴木和博, 高橋 惇: フィブレート類のホスファチジルコリン生合成への影響とその意義
第 65 回日本生化学会大会 (1992. 10)

Nakazawa, K. and Hess, P.*: Ca-induced decrease in conductance level of ATP-activated channel
Biophysical Society 36th Annual Meeting, USA (1992. 2)

* Harvard Medical School, USA

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
第 8 回初代培養肝細胞研究会 (1992. 6)

井上和秀, M. Duchon*: ATP 刺激による単一細胞からのカテコールアミン放出
第 86 回日本薬理学会関東部会 (1992. 6)

* University College London

宇佐見 誠, 酒見 和枝, 川島 邦夫, 高仲正: セレン化合物の培養ラット胎芽に及ぼす催奇形作用
第 32 回日本先天異常学会学術集会 (1992. 7)

小泉修一, 井上和秀, 綿野智一, 藤森観之助, 熊倉鴻之助*, 高仲 正: ATP 刺激によるドーパミン放出過程における myosin light chain の関与
第 35 回日本神経化学大会 (1992. 10)

* 上智大学生命科学研究所

高島明彦*, 野口かおり*, 井上和秀: 細胞外 ATP 刺激による PC12 細胞の DNA 合成
第 35 回日本神経化学大会 (1992. 10)

* ㈱三菱化成生命科学研究所

井上和秀, M. Duchon*: FDRV 法による単一神経細胞 PC12 からの ATP 刺激誘発ドーパミン放出の測定
第 35 回日本神経化学大会 (1992. 10)

* University College London

Takashima, A.*, Noguchi, K*. Inoue, K.:

Extracellular ATP stimulates DNA synthesis in PC12 cells via P2-purinergic receptor
Society for Neurosciences USA: 22nd annual meeting (1992. 10)

* ㈱三菱化成生命科学研究所

Inoue, K., Nakazawa, K., Watano, T., Fujimori, K., Takanaka, A.: Facilitation by dopaminergic mechanism of ATP-activated currents and dopamine release in PC12 cells
Society for Neurosciences USA: 22nd annual meeting (1992. 10)

宮島敦子, 郭 新彪, 簾内桃子, 大野泰雄, 高仲正: ラット遊離肝細胞における種々ニトロソアミンの代謝, および P-450 誘導剤の影響
第 65 回日本生化学会 (1992. 10)

井上和秀, 熊倉鴻之助*: ATP 誘発ドーパミン放出のポルトマニン (ミオシン軽鎖りん酸化酵素阻害剤) による抑制
第 16 回日本神経科学学会年会 (1992. 12)

* 上智大学生命科学研究所

大野泰雄ほか著者多数: 化粧品原料の安全性評価へのインビトロ試験法の導入に関する一次バリデーション計画について
第 6 回日本動物実験代替法学会 (1992. 12)

井上和秀, 中沢憲一, 小泉修一, 綿野智一, 小濱とも子, 藤森観之助, 高仲 正: ラット培養海馬細胞での ATP によるシナプス伝達
第 66 回日本薬理学会年会 (1993. 3)

小泉修一, 井上和秀: カフェインによる PC12 細胞での C₁ 流入とドーパミン遊離の特性
第 66 回日本薬理学会年会 (1993. 3)

井上和秀, 綿野智一, 小泉修一, Geoffrey Burnstock*: ATP 誘発内向き電流および細胞内 C₁ 濃度上昇のアデノシンによる G タンパク依存性制御
第 66 回日本薬理学会年会 (1993. 3)

* University College London

高仲 正, 小泉修一, 片岡泰文*, 井上和秀: エンドセリン刺激により惹起される PC12 細胞からのドーパミン遊離動態
第 66 回日本薬理学会年会 (1993. 3)

* 長崎大学医学部

藤森観之助, 井上和秀, 小泉修一, 熊倉鴻之助*, 綿野智一, 小浜とも子, 山之内恵*, 百瀬和享*, 野々村禎昭*, 高仲 正: ATP 刺激により惹起されるドーパミン放出機序における myosin light chain の関与
第 66 回日本薬理学会年会 (1993. 3)

*1 上智大学生命科学研究所

*2 昭和大学薬学部

*3 東京大学医学部

佐藤裕久*¹, 加藤誠司*², 本多秀寿*², 小泉修一, 井上和秀, 百瀬和享*², 熊倉鴻之助*¹: **固定酵素カラムを用いたグルタミン酸の電気化学的測定**
第66回日本薬理学会年会 (1993. 3)

*¹ 上智大学生命科学研究所

*² 昭和大学薬学部

中沢憲一, 綿野智一, 井上和秀, 小濱とも子, 藤森親之助, 高仲 正: **PC12細胞でのATP誘発電流に対するドパミンの増強作用**
第66回日本薬理学会年会 (1993. 3)

郭 新彪, 大野泰雄, 宮島敦子, 簾内桃子, 高仲正: **25-hydroxycholesterolによる初代培養肝細胞間コミュニケーションの抑制におけるフリーラジカルの関与**
第66回日本薬理学会年会 (1993. 3)

宮島敦子, 大野泰雄, 郭 新彪, 簾内桃子, 高仲正: **ラット遊離肝細胞における直鎖型および環状型ニトロソアミンの代謝について**
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

井上和秀, 綿野智一, 小泉修一, 藤森親之助, 高仲正: **ラット海馬培養細胞でのATPによるシナプス伝達**
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

上野伸哉*, 原田伸透*, 井上和秀, 赤池紀扶*: **ラット延髄孤束核におけるATP惹起電流**
第70回日本生理学会大会 (1993. 4)

* 東北大学医学部

Aze, Y., Toyoda, K., Mitsumori, K., Imazawa, T., Takahashi, M. and Hayashi, Y.: **Histological changes and enhancement of cell proliferation activity on the intestinal mucosa of rats induced by different types of laxatives**
First Conference of International Federation of Society of Toxicologic Pathology (1992. 4)

Enami, T., Furukawa, F., Mitsui, M., Yoshimura, H., Nishikawa, A. and Takahashi, M.: **Sequential pathological studies of spontaneously developed pancreatic lesions in male WBN/Kob rats and effects of indomethacin on development of the lesions**
First Conference of International Federation of Society of Toxicologic Pathology (1992. 4)

Hayashi, S., Imaida, K.*, Ogasawara, H., Uneyama, C., Toyoda, K., Kawanishi, T. and Takahashi, M.: **Promoting effect of g-oryzanol on pulmonary tumorigenesis of F344 male rats and ICR mice**
First Conference of International Federation of Society of Toxicologic Pathology (1992. 4)

* 名古屋市大医学部

Kitaura, K., Mitsumori, K., Imazawa, T., Matsushima, Y., Onodera, H. and Takahashi, M.: **Nucleolar organizer regions of spontaneous proliferative lesions in the rat adrenal medulla**
First Conference of International Federation of Society of Toxicologic Pathology (1992. 4)

Nishikawa, A., Chung, F.-L.: **Acute toxicity of trans-4-hydroxy-2-nonenal in rats and tumorigenicity of its epoxide, 2,3-epoxy-4-hydroxy-nonenal, in newborn mice**
First Conference of International Federation of Society of Toxicologic Pathology (1992. 4)

Mitsui, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Enami, T., Yoshimura, H. and Takahashi, M.: **Inhibitory effect of calcium chloride on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and sodium chloride**
First Conference of International Federation of Society of Toxicologic Pathology (1992. 4)

Ogasawara, H., Imaida, K*, Ishiwata, H., Uneyama, C., Hayashi, S., Toyoda, K., Kawanishi, T. and Takahashi, M.: **Correlation between urolithiasis and urinary bladder carcinogenesis induced by melamine in F344 rats**
First Conference of International Federation of Society of Toxicologic Pathology (1992. 4)

* 名古屋市大医学部

Foiles, P. G.*, Miglietta, L. M.*, Nishikawa, A., and Singer B.**: **Measurement of ethanol adducts in DNA from G12 cells exposed to chloroacetaldehyde using a panel of monoclonal antibodies**
83 Annual meeting of the American Association for Cancer Research (1992. 5)

* American Health Foundation

** University of California, Berkeley

Wang, M.*, Nishikawa, A., and Chung*, F.L.: **Effects of thiols on DNA adducts by N-nitrosopyrrolidine (NPYR).**
83 Annual meeting of the American Association for Cancer Research (1992. 5)

* American Health Foundation

川西 徹, 畠山智香子, 豊田和弘, 高橋道人: **蛍光プローブを用いた新しいミトコンドリア機能障害の解析法**
第81回日本病理学会総会 (1992. 5)

西川秋佳, 古川文夫, 吉村博之, 三井雅之, 榎並倫宣, 大年辰幸*, 高橋道人, 福島昭治*: **医原性肺線維症におけるAgNORsからみた上皮増殖活性**
第81回日本病理学会総会 (1992. 5)

* 大阪市大医学部

古川文夫, 西川秋佳, 吉村博之, 三井雅之, 榎並倫宣, 鎌野俊紀*, 高橋道人: ENNG 誘発イヌ実験膀胱癌における AgNORs の検討
第 81 回日本病理学会総会 (1992. 5)

* 順天堂大医学部

渋谷 淳, 北浦敬介, 今沢孝喜, 三森国敏, 楠田理喜*, 畠中 寛*: ラット ENU 経胎盤誘発脳腫瘍モデルとしての位置づけ
第 33 回日本神経病理学会総会 (1992. 5)

* 大阪大蛋白研

畠山智香子, 畠山寿之*, 高橋道人, 赤池紀扶*: ラット巨核球の細胞内カルシウム振動を誘発するプリン受容体の薬理学的性質
第 86 回日本薬理学会関東部会 (1992. 6)

* 東北大医学部

古川文夫, 古田京子, 今沢孝喜, 鈴木順子, 吉村博之, 三井雅之, 榎並倫宣, 西川秋佳: 長期ホルマリン固定染色における Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 免疫組織染色の染色性の復活について
第 19 回実験病理組織技術研究会 (1992. 6)

古川文夫, 西川秋佳, 吉村博之, 高橋道人: ハムスター BOP 実験膀胱癌モデルにおけるエチオニンの影響と Pancreatic hepatocyte の発生
第 25 回日本膀胱学会 (1992. 7)

安原加壽雄, 会田喜崇, 三森国敏, 黒川雄二, 高橋道人: ラットにおける Bromodichloromethane 誘発 cholangiofibrosis の細胞増殖活性について
第 19 回日本毒科学会総会 (1992. 7)

三森国敏: 神経毒性研究の現状と問題点
第 19 回日本毒科学会総会 (1992. 7)

川西 徹, 畠山智香子, 豊田和弘, 朝生裕樹, 高橋道人: 単離肝細胞におけるイオノマイシンによる細胞死の研究—単一細胞レベルの解析—
第 19 回日本毒科学会総会 (1992. 7)

畠山寿之*, 畠山智香子, 赤池紀扶*: ラット巨核球に見られる受容体作動性カルシウムオシレーションの細胞内機序
第 5 回運動生化学シンポジウム (1992. 9)

* 東北大医学部

北浦敬介, 小野寺博志, 松島裕子, 阿瀬善也, 渋谷淳, 三森国敏, 高橋道人: タンニン酸の F344 ラットにおける癌原性試験
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

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*, 前川明彦*: BOP ラット経胎盤投与による腫瘍発生の系統差
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

* 佐々木研究所病理

阿瀬善也, 豊田和弘, 川西 徹, 今沢孝喜, 三森国敏, 林 裕造, 高橋道人: Trp-P-2 によって誘発された F344 ラットの膀胱腫瘍
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

畠山智香子, 豊田和弘, 川西 徹, 今井田克己*, 林 裕造, 大内和雄*, 高橋道人: 高脂肪食および制限食によるラットアレルギー性炎症の修飾
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

*¹ 名古屋市立大学医学部

*² 東北大学薬学部

西川秋佳, WANG, M.*, CHUNG, F.L.*, 高橋道人: N-nitrosopyrrolidine の DNA 付加体形成とラット肝発癌性に対する MESNA の影響
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

* American Health Foundation

古川文夫, 西川秋佳, 今沢孝喜, 三井雅之, 林 修次, 今井田克己*, 高橋道人: ハムスター BOP 誘発膀胱癌における Quinacrine の影響
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

* 名古屋市大医学部

林 修次, 今井田克己*, 小笠原裕之, 豊田和弘, 畠山智香子, 林 裕造, 高橋道人: Dimetridazole のマウス肺腫瘍発生に及ぼす影響
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

* 名古屋市大医学部

豊田和弘, 阿瀬善也, 畠山智香子, 古田京子, 川西徹, 林 裕造, 高橋道人: 瀉下薬の大腸発癌プロモーションにおける大腸粘膜細胞の増殖と PG の意義
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

小笠原裕之, 今井田克己*, 古田京子, 豊田和弘, 林 修次, 川西 徹, 高橋道人: ヒロリン酸カリウムのラットにおける癌原性試験について
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

* 名古屋市大医学部

今沢孝喜, 渋谷 淳, 古川文夫, 小笠原裕之, 西川秋佳, 林 裕造, 高橋道人: HAQO 投与によるラット膵腺房細胞の増殖巣の超微形態学的検討
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

三井雅之, 佐藤元信, 古川文夫, 吉村博之, 榎並倫宣, 西川秋佳, 高橋道人: 1, 1-Bis(t-butylperoxy)3, 3, 5-trimethylcyclohexane の B6C3F1 マウスを用いた癌原性試験
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

佐藤元信, 古川文夫, 吉村博之, 三井雅之, 榎並倫宣, 三森国敏, 高橋道人: BOP によって誘発された雄ハムスター腎尿細管の異形成について
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

吉村博之, 北浦敬介, 古川文夫, 榎並倫宣, 西川秋佳, 三森国敏, 高橋道人, 林 裕造: MNUR 投与

による実験的肺線維症モデルと肺腫瘍
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

榎並倫宣, 西川秋佳, 古川文夫, 三井雅之, 吉村博之, 長谷川亨*, 高橋道人: MNNG 誘発ラット胃癌に対する塩化カルシウムの抑制効果
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

* 佐賀医大医学部

三森国敏, 小野寺博志, 高橋正一*, 北浦啓介, 阿瀬善也, 高橋道人: ラット甲状腺発癌プロモーションにおけるチオウレアとサルファジメトキシンの複合作用
第 51 回日本癌学会総会 (1992. 9)

* 佐々木研究所病理

国立久男^{*1}, 古川文夫, 三井雅之, 榎並倫宣, 西川秋佳, 篠原力雄^{*2}: ヒト疫学データから推測される発がん因子の実験的裏付け—食塩の投与経路の違いによるラット胃粘膜への影響—
第 39 回日本臨床病理学会総会 (1992. 10)

^{*1} 尾西市民病院

^{*2} 藤田保健衛生大衛生学部

大幡久之*, 川西 恵*, 川西 徹, 高橋道人, 百瀬和享*: モルモット回腸縦走筋培養細胞における自発的な細胞内カルシウム振動
第 87 回日本薬理学会関東部会 (1992. 10)

* 昭和大薬学部

北浦敬介, 渋谷 淳, 小野寺博志, 安原加壽雄, 阿瀬善也, 三森国敏, 高橋道人: ENU の経胎盤投与によるラット悪性神経鞘腫の免疫組織学的特徴およびその増殖動態
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

佐藤元信, 古川文夫, 西川秋佳, 今沢孝喜, 篠田和俊, 吉村博之, 高橋道人: WBN/Kob ラットの精巢および膀胱変に対する cyclophosphamide の影響
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

西川秋佳, Chung, F.L.*, 古川文夫, 今沢孝喜, 榎並倫宣, 三井雅之, 高橋道人: 脂質過酸化生成物 *trans*-4-hydroxy-2-nonenal のラットにおける急性毒性
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

* American Health Foundation

榎並倫宣, 西川秋佳, 古川文夫, 三井雅之, 吉村博之, 福島昭治, 高橋道人: プレオマイシン誘発によるハムスターのびまん性肺障害に対する抗酸化剤の抑制効果
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

林 修次, 今井田克己*, 豊田和弘, 畝山智香子, 三森国敏, 高橋道人, 林 裕造: モノクロタリンによるマウス肺線維症のモデルの作成
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

* 名古屋市大医学部

古川文夫, 鈴木順子, 今沢孝喜, 三井雅之, 西川秋佳, 高橋道人: 増殖細胞核抗原 (PCNA) 免疫染色における染色性の復活
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

三井雅之, 西川秋佳, 古川文夫, 榎並倫宣, 長谷川亨, 木苗直秀, 高橋道人: 水道水混入物質 MX のラット胃粘膜細胞増殖活性および脂質過酸化に及ぼす影響
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

今沢孝喜, 北浦敬介, 三森国敏, 古川文夫, 西川秋佳, 高橋道人, 林 裕造: タンニン酸単回投与によるラット肝細胞および腎尿管上皮細胞の超微形態学的変化
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

安原加壽雄, 吉村博之, 北浦敬介, 小野寺博志, 三森国敏, 高橋道人, 林 裕造: MNUR により誘発されたハムスターの肺病変および肺胞上皮の細胞増殖活性
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

小野寺博志, 阿瀬善也, 北浦敬介, 安原加壽雄, 高橋正一, 三森国敏, 林 裕造, 高橋道人: ラット甲状腺二段階発癌モデルにおける thiourea と sulfadimethoxine の複合作用
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

松井 元, 豊田和弘, 林 修次, 畝山智香子, 川西 徹, 福原 潔, 宮田直樹, 高橋道人: Ethane-1, 2-dimethanesulfonate によるラット精巢の Leidig 細胞の障害と生殖器および内分泌系への影響について
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

阿瀬善也, 北浦敬介, 小野寺博志, 渋谷 淳, 三森国敏, 高橋道人: 甲状腺の濾胞細胞腫瘍における組織学的悪性度と細胞増殖活性
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

豊田和弘, 畝山智香子, 林 修次, 古田京子, 松井元, 川西 徹, 高橋道人: 瀉下薬によるラット大腸の粘膜上皮増殖亢進と血管透過性亢進およびプロスタグランジンとの関係
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

青木豊彦*, 今井俊夫*, 奥村佳世*, 中野渡純一*, 本岡 覚*, 山津清實*, 今沢孝喜, 高橋道人: ラットおよびマウスにおける炭酸脱水素酵素阻害剤 Acetazolamide 投与の泌尿器に及ぼす影響
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

* エーザイ安全研

高橋道人: 精巢毒性の発現機序
第 9 回日本毒性病理学会 (1993. 1)

高橋道人: 精巢毒性の病理学的評価

医薬品の安全性評価ワークショップ 精巢毒性とその評価をめぐる諸問題 (1993. 2)

Hayashi, S., Imaida, K.*, Furukawa, F., Imazawa, T., Toyoda, K. and Takahashi, M.: **Nuclear organizer regions of pulmonary proliferative lesions and tumors in rats and mice**
Society of Toxicology 1993 Annual Meeting (1993. 3)

* 名古屋市大医学部

畝山智香子, 畝山寿之*, 高橋道人, 赤池紀扶*: **ラット巨核球における細胞内カルシウムオシレーションのPKCによる調節**
第66回日本薬理学会年会 (1993. 3)

* 東北大医学部

川西 恵*, 大幡久之*, 百瀬和享*, 畝山智香子, 高橋道人, 川西 徹: **培養平滑筋細胞における自発的カルシウムオシレーションと細胞増殖との関係**
第66回日本薬理学会年会 (1993. 3)

* 昭和大薬学部

大幡久之*, 川西 恵*, 川西 徹, 高橋道人, 百瀬和享*: **培養回腸縦走筋細胞における自発的なカルシウムオシレーション発生機構**
第66回日本薬理学会年会 (1993. 3)

* 昭和大薬学部

三森国敏: **代謝動態を考慮に入れた食品中残留基準設定の科学的根拠—動物用医薬品を中心に**
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

Oda, Y.*, Shima, T.*, Watanabe, M. and Nohmi, T.: **A sensitive system (*umu* test) for the detection of mutagenic nitroarenes in *Salmonella typhimurium* strain possessing elevated nitroreductase**

First IAWPRC International Symposium on Hazard Assessment and Control of Environmental Contaminants in Water, Japan (1991. 11)

* Osaka Prefectural Institute of Public Health

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: 薬物代謝酵素遺伝子の導入とその効果**
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)

能美健彦: **突然変異誘発に関わる *Salmonella typhimurium* の遺伝子**
理化学研究所セミナー (1992. 4)

田端秀典, 大西清方, 水沢 博, 中島秀喜*, 山本直樹*: **HIV 高感受性 U937 サブクローンの単離**
日本組織培養学会第65回大会 (1992. 5)

* 東京医科歯科大学医学部

能美健彦: **変異原の検出に有用な高感受性サルモネ**

ラ・テスト株の開発
薬学会東海支部部会 (1992. 6)

Nohmi, T., Yamada, M., Watanabe, M., Matsui, M. and Sofuni, T.: **Implications of the *umuDC*-like genes of *Salmonella typhimurium* in UV and chemical mutagenesis: the *umuDC_{ST}* is involved in nitropyrene-induced -2 frameshift mutagenesis at CGCGCGCG sequence**
Gordon Research Conference on Mutagenesis, USA (1992. 7)

Nohmi, T.: **Development of the new *Salmonella* tester strains highly sensitive to a specific class of environmental mutagens**
University of Guelph, Biochemistry Seminar, Canada (1992. 7)

Nohmi, T., Yamada, M., Watanabe, M., Matsui, M., Murayama, S.Y.* and Sofuni, T.: **The two homologous *umuDC*-like genes, *umuDC_{ST}* and *samAB*, and their implications in UV mutagenesis in *Salmonella typhimurium***
Eleventh International Congress on Photobiology, Japan (1992. 9)

* Teikyo University School of Medicine

山田雅巳, 祖父尼俊雄, 能美健彦: **Pre-ligation法: *Salmonella typhimurium* と大腸菌の新しい遺伝子破壊法の開発**
第7回遺伝的組換えとその制御ワークショップ (1992. 9)

鈴木孝昌, 林 真, 本間正充, 祖父尼俊雄: **トランスジェニックマウスを用いる変異原性試験—in vivo での diethyl nitrosamine の遺伝子突然変異と染色体異常誘発性の比較**
第51回日本癌学会総会 (1992. 9)

宮野直子*, 田畑秀典, 田辺秀之, 大西清方, 水沢博, 大城由香子*, 中島秀喜*, 山本直樹*: **HIV 高感受性 U937 サブクローンを用いた抗 HIV 活性評価法**

第6回日本エイズ学会 (1992. 9)

* 東京医科歯科大学医学部

田辺秀之, 石田貴文*, 植田信太郎*, 水沢 博, 祖父尼俊雄: **FISH 法によるヒト免疫グロブリン偽遺伝子 Cε3 (IGHEP2) の遺伝子座の決定**
日本人類学会第37回大会 (1992. 10)

* 東京大学理学部

松岡厚子, 林 真, 本間正充, 山崎奈緒美, 祖父尼俊雄: **Chromosome painting 法を用いる X 線照射ヒトリンパ球の染色体異常解析**
日本放射線影響学会第33回大会 (1992. 10)

松岡厚子, 林 真, 本間正充, 山崎奈緒美, 祖父尼俊雄: **Chromosome painting 法を用いるヒトリ**

ンバ球の染色体異常解析
染色体学会第 43 回大会 (1992. 10)

Watanabe, M., Igarashi, T., Kaminuma, T., Sofuni, T. and Nohmi, T.: *N*-Hydroxyarylamine *O*-acetyltransferase from *Salmonella typhimurium*: the proposal for a common catalytic mechanism of arylamine acetyltransferase enzymes

Fifth International Conference on Carcinogenic and Mutagenic *N*-Substituted Aryl Compounds, Germany (1992. 10)

林 真, 鈴木孝昌, 児玉幸夫, 本間正充, 羽倉昌志*, 祖父尼俊雄: マウス末梢血小核試験における clastogen の複合投与効果
日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

* エーザイ研究開発本部

鈴木孝昌, 林 真, 本間正充, B. Myhr*, 祖父尼俊雄: トランスジェニックマウスを用いた ENU と EMS の遺伝子突然変異および染色体異常誘発性の比較

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

* Hazleton Washington, Inc., USA

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: ニトロ還元酵素およびアセチル転移酵素遺伝子の哺乳類培養細胞への導入および発現

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

小田美光*, 島田 力*, 山崎浩史*, 渡辺雅彦, 能美健彦: 芳香族アミンの変異原検出に高感度を示す *umu* テスト系

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

* 大阪府公衆衛生研究所

能美健彦, 渡辺雅彦, 山田雅巳, 小田美光*, 祖父尼俊雄: 薬物代謝酵素遺伝子の導入と DNA 修復酵素遺伝子の破壊によるサルモネラ高感受性テスター株の開発

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

* 大阪府公衆衛生研究所

山田雅巳, 丁 小凡, 松井恵子, 能美健彦, 祖父尼俊雄: アルキル化剤に高感受性を示す新しいサルモネラ試験菌株の開発

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

片桐幹男^{*1}, 宮本 亮^{*1}, 小野木健二^{*1}, 出石忠彦^{*1}, 渡辺由紀^{*2}, 林 真, 祖父尼俊雄: 変異原性試験用染色体ラボシステムの開発

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

^{*1} ニコン(株)

^{*2} 富士写真フィルム環境安全推進部・素材試験センター

松岡厚子, James D. Tucker*, 林 真, 本間正

充, 山崎奈緒美, 祖父尼俊雄: Chromosome painting 法を用いるヒト X 線照射リンバ球の染色体異常解析

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

* Lawrence Livermore National Laboratory, USA

菊野 秋*, 本間正充, 梶原美次*, 小椋正造*, 林真, 水沢 博, 祖父尼俊雄: ミニサテライト DNA プローブを用いた MMS 誘発マウス生殖細胞突然変異の *in vivo* 検出

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

* 化学品検査協会日田研究所

能美健彦: ニトロアレーン, 芳香族アミンに高感受性を示すサルモネラ菌の開発

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

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* 遺伝子の塩基配列変化

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

白石不二雄*, 彼谷邦光*, 祖父尼俊雄: Chinese hamster 由来細胞株の貪食能比較とアスベストによる SCE 誘発

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

* 国立環境研究所

小核試験共同研究グループ (JEMS. MMS 分科会): マウス小核試験とヒト癌原性との相関性—第 2 報—

日本環境変異原学会第 21 回大会 (1992. 11)

祖父尼俊雄: 細胞毒性試験に及ぼす要因

日本動物実験代替法学会第 6 回大会 (1992. 12)

山田雅巳, 祖父尼俊雄, 能美健彦: Pre-ligation 法: *Salmonella typhimurium* と大腸菌の新しい遺伝子破壊法の開発

第 15 回日本分子生物学会年会 (1992. 12)

高橋和彦^{*1}, 鈴木 任, 川添 豊^{*1}, 作見邦彦^{*2}, 関口睦夫^{*2}: 金属イオンによる *ada* 遺伝子の転写阻害機構

第 15 回日本分子生物学会年会 (1992. 12)

^{*1} 名古屋市立大学薬学部

^{*2} 九州大学生体防御医学研究所

渡辺三恵*, 能美健彦, 太田敏博*: 大腸菌におけるフレームシフト突然変異誘発に対する *umuDC*, *mucAB*, *samAB* 遺伝子機能の解析

第 15 回日本分子生物学会年会 (1992. 12)

* 残留農薬研究所

能美健彦: 変異機構と新しい高感受性菌株の開発「微生物を用いる変異原性試験・理論と実際」講習会 (1993. 1)

Nohmi, T., Watanabe, M. and Sofuni, T.: **A common catalytic mechanism of acetyltransferase for *Salmonella typhimurium* and higher organisms**

Towards Reducing the Incidence of Colorectal Cancer, The Role of Inheritance and Diet, New Zealand (1993. 2)

Nohmi, T., Watanabe, M., Yamada, M. and Sofuni, T.: **New sensitive method for the detection of mutagenicities of environmental nitroarenes, aromatic amines and alkylating agents**

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

Oda, Y.*, Yamazaki, H.*, Watanabe, M., Nohmi, T. and Shimada, T.*: **Development of a highly sensitive umu test system for the detection of mutagenic nitroarenes and aromatic amines in *Salmonella typhimurium***

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

* Osaka Prefectural Institute of Public Health

Suzuki, T., Hayashi, M., Kurishita, A.*, Ono, T.* and Sofuni, T.: **Induction of micronuclei and gene mutations by X-ray in transgenic mice**

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

* 東北大学医学部

Suzuki, T., Myhr, B.*, Hayashi, M. and Sofuni, T.: **The concomitant detection of gene mutation and micronucleus induction using *lacZ* transgenic mice**

New DNA and Cytogenetic Technology: Application to Mutagenesis and Aneuploidy, 6th ICEM Satellite Meeting, Australia (1993. 3)

* Hazleton Washington, Inc., USA

Hayashi, M.: **Positive *in vitro* cytogenetic response. Regulatory and industry perspectives**

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

Hayashi, M.: **Towards international harmonization of regulatory requirements for genotoxicity testing: *in vivo* bone marrow micronucleus/chromosome aberration test**

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

Hayashi, M., Suzuki, T., Kodama, Y., Honma, M., Hakura, A.* and Sofuni, T.: **The effect of combinations of clastogens in the mouse micronucleus assay**

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

* エーザイ(株)

Sofuni, T.: **Towards international harmonization of regulatory requirements for genotoxicity testing: Overview of Japanese/Australian guidelines**

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

Matsuoka, A., Tucker, J. D.*, Hayashi, M., Honma, M., Yamazaki, N. and Sofuni, T.: **Analysis of chromosomal rearrangements of X-ray irradiated human lymphocytes by chromosome painting technique**

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

* Lawrence Livermore National Laboratory, USA

Honma, M., Mizusawa, H., Hayashi, M., Sasaki, T.*, Tanaka, N.* and Sofuni, T.: **Demonstration of genetic instability in BALB3T3 cells during transformation by DNA fingerprint analysis**

Sixth International Conference on Environmental Mutagens, Australia (1993. 2)

* 食品薬品安全センター

松岡厚子, 林 真, 本間正充, 山崎奈緒美, 祖父尼俊雄: **染色体ペインティング法による X 線照射ヒトリンパ球の染色体異常分析**

日本原子力学会 1993 年年会 (1993. 3)

祖父尼俊雄: **医薬品の安全性評価における変異原性試験の意義**

日本薬学会第 113 年会 (1993. 3)

平津圭一郎*¹, 牧野耕三*¹, 山田雅巳, 雨村光子*¹, 品川日出夫*¹, 中田篤男*²: **大腸菌リン酸レギュロンの発現調節機構: PhoR (ヒスチジン・プロテイン・キナーゼ) 変異体の分離とその生化学的解析**

第 66 回日本細菌学会総会 (1993. 3)

*¹ 大阪大学微生物病研究所

*² 福山大学

能美健彦: **環境変異原検出系の開発**

日本環境変異原学会第 4 回公開シンポジウム (1993. 5)

中館正弘: **コンピュータ支援による構造活性相関を利用した毒性予測**

日本動物実験代替法学会第 6 回大会 (1992. 12)

岡田敏史: **界面活性をもつ薬物水溶液の物性**

第 10 回物性物理化学研究会 (1992. 6)

岡田敏史: **医薬品分析用標準品の供給体制の整備について**

第 29 回全国衛生化学技術協議会年会 (1992. 10)

Okada, S.: On the revision of Japanese Pharmacopoeia

The 14th FAPA (Federation of Asian Pharmacist Association), Pakistan (1992. 11)

新田哲士*, 笹川秀男*, 四方田千佳子, 岡田敏史: キャピラリー電気泳動を用いたインスリンの分析
第三回クロマトグラフィー科学会議 (1992. 9)

* 大塚電子

新田哲士*, 笹川秀男*, 四方田千佳子, 岡田敏史: キャピラリー電気泳動を用いたインスリンの分析
第12回キャピラリー電気泳動シンポジウム (1992. 9)

* 大塚電子

宮崎玉樹, 四方田千佳子, 岡田敏史: キトサン直打錠からのテオフィリンの放出挙動
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

四方田千佳子, 岡田敏史, 高田幸恵*: キャピラリー電気泳動によるヒトインスリンの分析
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

* 日本公定書協会

四方田千佳子, 岡田敏史: ヒアルロン酸塩水溶液の対イオンの活量係数
第42回高分子学会年次大会 (1993. 5)

小松裕明, 吉井公彦, 石光 進, 岡田敏史, 高畑知子*: 低分子ヘパリンの分子量評価 (3) 一高速ゲルろ過クロマトグラフィー併用型低角度レーザー光散乱法の応用一
日本薬学会近畿支部第42年会 (1992. 10)

* 大阪薬科大学

吉井公彦, 小松裕明, 岡田敏史: 熱重量分析法による医薬品の水分測定
日本薬学会近畿支部第42年会 (1992. 10)

半田哲郎*, 伊藤伸哉*, 宮嶋孝一郎*, 小松裕明: レチノールおよびそのパルミチン酸エステルとレシチンの相互作用
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

* 京都大学薬学部

小松裕明, 岡田敏史, 野島郁子^{*1}, Rowe, E. S.^{*2}: 超音波処理リポソームのエタノールによる融合
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

^{*1} 大阪薬科大学

^{*2} University of Kansas Medical Center, USA and Veterans Administration Medical Center, Kansas City, USA

小松裕明, 吉井公彦, 岡田敏史: 熱重量分析法による医薬品の水分測定 (2)
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

石光 進, 小松裕明, 岡田敏史: 低分子量ヘパリン

の抗凝血活性の評価—抗 Xa 活性測定試薬類の標準化—

日本薬学会第113年会 (1993. 3)

宮嶋孝一郎^{*1}, 小松裕明, 孫 常麒^{*1}, 青木宏光^{*1}, 半田哲郎^{*1}, 徐 海剣^{*2}, 富士 薫^{*2}, 岡田敏史: グルコサミンジエステル含有リポソームへのSODの取り込みに及ぼすコレステロールの影響
日本膜学会第15年会 (1993. 5)

^{*1} 京都大学薬学部

^{*2} 京都大学化学研究所

外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 伊藤誉志男: 農作物中の9種カーバメイト系および12種有機リン系農薬を統一した試験溶液調製法についての検討
第29回全国衛生化学技術協議会年会 (1992. 10)

鎌倉和政^{*1}, 宮田昌弘^{*1}, 長谷川眞住^{*1}, 外海泰秀, 津村ゆかり, 中村優美子, 伊藤誉志男, 和田伊智朗^{*2}, 藤原靖士^{*3}: FTD-GCによる野菜, 果実中の有機含窒素系8種殺菌剤の一斉分析法の検討
日本食品衛生学会第65回学術講演会 (1993. 5)

^{*1} 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

^{*2} 日本生活協同組合連合会

^{*3} 生活協同組合コープこうべ

宮田昌弘*, 平原嘉親*, 成田美加子*, 岡本浩一郎*, 鎌倉和政*, 長谷川眞住*, 鯉口 智*, 山名孝善*, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 農作物中13種ピレスロイド系農薬および29種有機リン系農薬の同時分析法の検討
日本食品衛生学会第65回学術講演会 (1993. 5)

* 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男: ECD-GCによる各種農産物中13種ピレスロイド系農薬の一斉分析法
日本食品衛生学会第64回学術講演会 (1992. 10)

中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 伊藤誉志男: 4種希土類元素 (Dy, Eu, Yb, Y) 静脈内投与時のラットにおける動態および9種ミネラル濃度に及ぼす影響
日本薬学会第113年会 (1993. 3)

津村ゆかり, 外海泰秀, 中村優美子, 伊藤誉志男, 宮田昌弘^{*1}, 鎌倉和政^{*1}, 橋端直樹^{*1}, 岩田邦彦^{*1}, 伊藤澄夫^{*2}, 皆葉清美^{*3}, 沖 賢憲^{*4}, 小玉光男^{*5}: 市販キットによる食品中残留農薬の分析およびガスクロマトグラフ法との比較検討
日本食品衛生学会第64回学術講演会 (1992. 10)

^{*1} 神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター

^{*2} 横浜検疫所 輸入食品・検疫検査センター

^{*3} 成田空港検疫所

^{*4} 博多検疫所

^{*5} 神戸農林水産省費技術センター

浜野 孝^{*1}, 三ツ橋幸正^{*1}, 青木伸實^{*1}, 福田裕^{*2}, 柴田 正, 伊藤誉志男: エチレンジアミン四

酢酸 (EDTA) Ca・2Naの微量比色定量法
第29回全国衛生化学技術協議会年会 (1992.10)

- *1 神戸市環境保健研究所
- *2 広島市衛生研究所

松本隆志*, 荒田治彦*, 久保伸子*, 前田和宏*, 藤森正宏*, 川村吉也*, 伊藤誉志男: **バイオセンサ法による食品中の亜硫酸の測定 (第3報) アルカリ分解法によるワイン, 果汁中の残存亜硫酸の測定**
日本食品衛生学会第65回学術講演会 (1993.5)

- * 中埜酢(株)

市川富夫*1, 萩原清和*1, 牛尾房雄*2, 岡野登志夫*3, 河村典久*4, 菊川清見*5, 別府正敏*5, 工藤一郎*6, 佐野満昭*7, 外海泰秀: **飲食物試験法・食品成分試験法・脂質: チオバルビツール酸試験**
日本薬学会第113年会 (1993.3)

- *1 国立健康・栄養研究所
- *2 都立衛生研究所
- *3 神戸女子薬科大学
- *4 愛知県衛生研究所
- *5 東京薬科大学
- *6 東京大学薬学部
- *7 静岡県立大学薬学部

西島基弘*1, 浜野孝*2, 伊藤誉志男, 加藤嘉昭*3, 上條昌彌*4, 白石隆幸*5, 鈴木忍*6, 中岡正吉*7, 成田弘子*8, 本間浩*9, 山田隆: **飲食物試験法・食品添加物試験法・硝酸: 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113年会 (1993.3)

- *1 東京都立衛生研究所
- *2 神戸市環境保健センター
- *3 三栄源エフ・エフ・アイ(株)
- *4 横浜市衛生研究所
- *5 新潟薬科大学
- *6 食品分析センター(財)
- *7 神奈川県衛生研究所
- *8 静岡県衛生環境センター
- *9 共立薬科大学

西島基弘*1, 伊藤誉志男, 加藤嘉昭*2, 上條昌彌*3, 白石隆幸*4, 鈴木忍*5, 中岡正吉*6, 成田弘子*7, 浜野孝*8, 本間浩*9, 山田隆: **飲食物試験法・食品添加物試験法・グリチルリチン酸: 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113年会 (1993.3)

- *1 東京都立衛生研究所
- *2 三栄源エフ・エフ・アイ(株)
- *3 横浜市衛生研究所
- *4 新潟薬科大学
- *5 食品分析センター(財)
- *6 神奈川県衛生研究所
- *7 静岡県衛生環境センター
- *8 神戸環境保健センター
- *9 共立薬科大学

伊藤誉志男, 中村好志*1, 河村葉子, 谷孝之*2,

外海泰秀, 中沢裕之*3, 西島基弘*4, 星野庸二*5, 堀伸二郎*6, 宮田秀明*7: **飲食物試験法・食品汚染物試験法・プラスチック可塑剤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113年会 (1993.3)

- *1 静岡県立大学薬学部
- *2 神奈川県衛生研究所
- *3 国立公衆衛生院
- *4 都立衛生研究所
- *5 埼玉県衛生研究所
- *6 大阪府公衆衛生研究所
- *7 摂南大学薬学部

天野博夫: **ラット胚神経上皮細胞の腫瘍密度依存性増殖**
第16回日本神経科学会 (1992.12)

小川義之, 村井敏美: **エンドトキシンの物性に基づく各種のエンドトキシン除去法について**
防菌防霉第20回年次大会 (1993.5)

Mivechi, N. F., Murai, T. and Hahn, G. M.*: **Regulation of heat shock response by ser/thr- and tyr-phosphatases**
Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Colorado USA (1993.1)

- * Stanford University School of Medicine

Murai, T., Hahn, G. M., and Mivechi, N. F.*: **Regulation of heat shock transcription factor by ser/thr- and tyr-phosphatases**
Radiation Research Society- 41st Annual Meeting, Dallas USA (1993.3)

- * Stanford University School of Medicine

江馬真, 天野博夫, 伊丹孝文, 川崎浩之進: **Di-n-butyltin dichlorideのラットにおける催奇形性**
第32回日本先天異常学会総会 (1992.7)

Ema, M., Amano, H., Itami, T. and Kawasaki, H.: **Teratogenic potential of the plasticizer butyl benzyl phthalate in rats**
The 13th Annual Meeting of the American College of Toxicology, San Francisco, CA, USA (1992.10)

畠山好雄, 柴田敏郎, 飯田修, 姉帯正樹*1, 兼俊明夫*1, 林隆章*1, 金島弘恭*1, 尾谷賢*2, 箕島裕典*2, 内山智幸*2, 横沢菱三*3, 国永史朗*3: **老年性疾患に用いられる漢方々劑構成生薬の品質改善に関する研究**
第39回北海道薬学大会 (1992.6)

- *1 北海道立衛生研究所
- *2 北海道立工業試験場
- *3 東日本学園大学教養部

畠山好雄: **シャクヤクの栽培・育種に関する研究**
第2回薬用植物栽培技術フォーラム (1992.7)

米田該典*¹, 鈴木佐与子*¹, 田中三菜*¹, 前平由紀*¹, 吉田尚利*², 畠山好雄: 生薬の資源研究 (第1報) ゲンチアナ属の苦味成分の安定性と評価
日本生薬学会第39回年会 (1992.9)

*¹ 大阪大学薬学部

*² 北海道大学薬学部

酒井英二: ムラサキの栽培研究
第2回薬用植物栽培技術フォーラム (1992.7)

鄭 太坤*¹, 田中俊弘*², 菱川恭子*², 野呂征男*³, 久田陽一*³, 吉田将士*⁴, 酒井英二: 中国産オオバコ属植物の種子の形態について
日本薬学会第113年会 (1993.3)

*¹ 遼寧中医学院

*² 岐阜薬科大学

*³ 名城大学薬学部

*⁴ 本草製薬(株)

石丸幹二*¹, Sauerwein, M.*², 吉松嘉代, 下村講一郎: 毛状根培養による薬用成分の生産
第3回植物組織培養コロキウム (1992.7)

*¹ 佐賀大学農学部

*² ハイデルベルグ大学

戸田弓雄*, 青木俊夫, 吉松嘉代, 下村講一郎: 緑色毛状根における色素体の超微細構造と光合成機能
第3回植物組織培養コロキウム (1992.7)

* 日本大学文理学部物理学科

青木俊夫, 戸田弓雄*, 下村講一郎: *Hyoscyamus albus* 毛状根によるトロパンアルカロイド生産
第3回植物組織培養コロキウム (1992.7)

* 日本大学文理学部物理学科

Jaziri, M., Shimomura, K. and Homes, J.*: Artemisinin determination by ELISA in tissue cultures of *Artemisia annua* L.
第3回植物組織培養コロキウム (1992.7)

* ブリュッセル自由大学

吉松嘉代, 下村講一郎, 山崎真巳*, 斉藤和季*, 村越 勇*: トコンの組織培養に関する研究7. 毛状根の誘導と培養
日本生薬学会第39回年会 (1992.9)

* 千葉大学薬学部

Sauerwein, M.*, Shimomura, K. and Wink, M.*:

Biosynthesis of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Hyoscyamus albus*
Second Dutch-German Symposium on Plant Cell Cultures, Münster, Germany (1992.10)

* Universitate Heidelberg

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 III *Duboisia myoporoides* 毛状根の誘導と培養
日本薬学会第113年会 (1993.3)

井上健太郎*, 小林重雄*, 三川 潮*, 海老塚豊*, 下村講一郎: *Costus speciosus* Sm.(ショウガ科) 培養系の確立およびそのステロイド配糖体成分
日本薬学会第113年会 (1993.3)

* 東京大学薬学部

Jaziri, M.*, Yoshimatsu, K., Homes, J.* and Shimomura, K.: Morphological and biochemical traits of doubly transformed cultures of *Atropa belladonna*
3rd Workshop on Primary and Secondary metabolism of Plants and Plant Cell Cultures, Leiden, The Netherlands (1993.4)

* ブリュッセル自由大学

熊谷健夫: ケイガイの栽培法確立に関する研究
第2回薬用植物栽培技術フォーラム (1992.7)

野口 衛, 細田勝子, 山下善樹*, 田中敬子*¹, 玉置修身*¹, 得津勝治*²: 芍薬の優良品種の探索に関する研究. I. 根収量及びベオニフロリン, タンニン含量について
日本生薬学会第39年会 (1992.9)

*¹ 和歌山県薬事指導所

*² 和歌山県衛生公害研究センター

山下善樹*, 石山久志*, 田中敬子*, 玉置修身*, 野口 衛, 細田勝子: シソの乾燥法の品質への影響
日本薬学会第113年会 (1993.3)

* 和歌山県薬事指導所

野口 衛: シソの栽培とその品質評価について
第2回薬用植物栽培技術フォーラム (1992.7)

香月茂樹: ウコンの特性と栽培法
第2回薬用植物栽培技術フォーラム (1992.7)

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4年度に行った演題は次のとおりである。

第348回(平成4年4月14日)

1. トロパンアルカロイドの二相間分配挙動
大阪支所薬品試験部 宮崎玉樹
2. ホルムアルデヒドドナー型防腐剤の安定性に関する研究
環境衛生化学部 木嶋敬二
3. 西洋ワサビより誘導した毛状根中の辛味成分について
食品添加物部 ○坂元史歩
佐藤恭子
合田幸広
米谷民雄
武田明治
4. カルシウムオキシレーションのミトコンドリア脱共役剤による阻害の機構
病理部 ○川西徹
登山恵美
5. ラット末梢血を用いる臭素酸カリウムの小核試験
毒性部 ○佐井君江
変異遺伝部 林真

第349回(平成4年5月12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
大阪支所食品試験部 辻澄子
2. 食用赤色40号の副成色素について
食品添加物部 ○武田由比子
合田幸広
山田隆
武田明治
3. 医用材料の生物学的安全性評価試験
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
療品部 土屋利江
4. Bisacodyl 投与によるラット膀胱の結石形成と腫瘍発生
病理部 豊田和弘
5. 炎症に伴う体内ニトロソ化合物の生成機序
毒性部 津田充有

第350回(平成4年6月9日)

1. 光学異性体の高感度分離分析
薬品部 豊岡利正
2. HCHOとNO₂の個人暴露量を測定するためのパッシブサンプラーについて
環境衛生化学部 松村年郎
3. *In vitro* 胎仔細胞培養系での proto oncogene の発見とエチレンチオウレアによる催奇形性発現種差の解析
療品部 土屋利江

4. 暴露期間と暴露量の関連性に関する解析その1
脂肪族ハロゲン化合物
総合評価研究室 會田喜崇
5. Salmonella typhimurium O⁶-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
変異遺伝部 ○山田雅己
能美健彦

第351回(平成4年7月14日)

1. *in vivo* DNA付加物量のデータベース化:
O⁶-AG, O⁴-AT 8-OHGの比較
生物薬品部 ○森本和滋
化学物質情報部 五十嵐貴子
2. 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
大阪支所食品試験部 津村ゆかり
3. イオンクロマトグラフィーによる食用タール色素中の塩化物、硫酸塩、臭化物およびヨウ化物の同時定量法
大阪支所食品試験部 木村実加
4. γ-Oryzanolの肺腫瘍発生に対する促進作用とその用量相関性
病理部 ○林修次
川西徹
5. 鉄ニトリロトリアセ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
毒性部 梅村隆志
6. 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整とその性質
機能生化学部 石上暁子
7. IR法によるウレタンモデル化合物とポリエーテルマクログリコールの共融組成の研究およびセグメント化ポリウレタンの共融組成と血液適合性との関係
療品部 伊佐間和郎
8. ニトロアレーンの化学 その4
KO₂によるニトロアレーンの酸化
有機化学部 福原潔

第352回(平成4年9月8日)

1. 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ソ化
有機化学部 丹野雅幸
2. 農産物中の9種カーバメイト系および12種有機リン系農薬の同時試験溶液調整法についての検討
大阪支所食品試験部 外海泰秀
3. 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
大阪支所薬品試験部 四方田千佳子
4. 生分解性プラスチックの28日間混餌投与毒性試験
毒性部 ○吉田秀信
金子豊蔵

5. パラジクロロベンゼン投与により生じるラット
およびマウスの腎臓および肝臓の細胞増殖誘導
毒 性 部 梅 村 隆 志
6. ラットにおける Bromodichloromethane 誘発
cholangiofibrosis の細胞増殖活性
病 理 部 安 原 加 壽 雄
7. 顆粒球コロニー刺激因子の急性前骨髄性白血病
細胞 (HL-60 細胞) の分化促進作用について
生 物 薬 品 部 山 口 高 正
8. 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
機 能 生 化 学 部 手 島 玲 子
9. 抹消リンパ節検査における金属アレルギーに対
する所属リンパ節細胞の反応の種差
療 品 部 〇五十嵐 良 明
毒 性 部 大 野 圭 子

第 353 回 (平成 4 年 10 月 13 日)

1. 低分子化ヘパリンの分子量評価 高速ゲルろ過
クロマトグラフィー併用型低角度レーザー光散
乱法の応用
大 阪 支 所 薬 品 試 験 部 小 松 裕 明
2. 抗菌防臭加工剤の安全性評価に関する研究
電 気 掃 除 機 用 紙 バ ッ ク 中 の
抗 菌 加 工 剤 等 の 分 析
療 品 部 伊 佐 間 和 郎
3. ゴム手袋による接触皮膚炎の原因究明
ジチオカーバメート系加硫促進剤
療 品 部 鹿 庭 正 昭
4. 1,1-Bis(t-butylperoxy)3,3,5-trimethylcyclo-
hexane のマウスにおける亜慢性および癌原性
試験
病 理 部 〇三 井 雅 之
古 川 文 夫
5. 希土類元素の生体影響 ユーロピウムおよびガ
ドリニウムのラットによる 28 日間反復経口投
与毒性試験 (La・Y との比較)
毒 性 部 小 川 幸 男
6. 細菌染色体上に多量に存在する挿入因子 IS 10
衛生微生物部 松 谷 佐 知 子
7. Chromosome painting 法を用いた染色体異常
分析
変 異 遺 伝 部 松 岡 厚 子
8. ラット遊離間細胞における種々ニトロソ化合物
の代謝および P-450 誘導剤の影響
薬 理 部 宮 島 敦 子

第 354 回 (平成 4 年 11 月 10 日)

1. OECD における化学物質安全性対策
総合評価研究室 鎌 田 栄 一
2. OECD・Reprotox 試験一考え方, 特徴, データ
評価, 有用性一
毒 性 部 田 中 悟
3. 医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議
(ICH)
1) 安全性部門
薬 理 部 大 野 泰 雄
4. バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性
評価

5. 生 物 薬 品 部 早 川 堯 夫
FAO/WHO 合同残留農薬会議 (JMPR) およ
び FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会
(JECFA)
6. 薬 理 部 高 伸 正
ISO/TC 194: 医療用具の生物学的評価
療 品 部 中 村 晃 忠
7. IPCS への協力 12 年の歩みと地球サミット後
の展望
化 学 物 質 情 報 部 関 沢 純

第 355 回 (平成 4 年 12 月 8 日)

1. 酵母によるスチレン臭の生成
衛 生 微 生 物 部 小 島 満 子
2. Al の臓器分布および尿中排泄に及ぼす共存有
機酸の影響
食 品 添 加 物 部 久 保 田 浩 樹
3. 初代培養肝細胞における細胞間コミュニケーション
に対する酸化コレステロールの作用
薬 理 部 郭 新 彪
4. 医療材料ポリウレタン (PU) のラット皮下へ
の長期埋植による組織反応
毒 性 部 川 崎 靖
5. サイクロスポリン A を用いた免疫毒性試験
IPCS/CEC 国際免疫共同研究
毒 性 部 落 合 敏 秋
6. ラット副腎髄質増殖性病変の細胞増殖活性
病 理 部 〇北 浦 敬 介
三 森 国 敏

第 356 回 (平成 5 年 1 月 12 日)

1. 凍結乾燥タンパク質の安定性と NMR 緩和時
間からみた水の運動性の関係について
薬 品 部 〇吉 岡 澄 江
阿 曾 幸 男
伊 豆 津 健 一
2. ビブリオからの制限酵素の産生
衛 生 微 生 物 部 宮 原 美 知 子
3. ペルオキシソーム増殖剤投与ラット肝臓中の
proto-oncogenem RNA レベルの変化
毒 性 部 〇高 木 篤 也
変 異 遺 伝 部 本 間 正 充
4. トランスジェニックマウスを用いた ENU と
EMS の遺伝子突然変異および染色体異常誘発性の
比較
変 異 遺 伝 部 〇鈴 木 孝 昌
本 間 正 充
5. Ethane-1,2,-dimethanesulfonate によるラッ
ト精巢 Leydig 細胞障害とその影響
病 理 部 〇松 井 元 徹
西 川 徹

第 357 回 (平成 5 年 2 月 9 日)

1. タンパク質凍結乾燥時の安定性に対する安定化
剤の結晶化の影響
薬 品 部 伊 豆 津 健 一
2. 臭素酸カリウムのラット腎発癌機構における細
胞増殖の役割
毒 性 部 梅 村 隆 志

3. オルトニトロトルエンのラットにおける28日間反復投与試験
 病理部 ○下 武男
 毒性部 金子豊蔵
4. ヒトプロト型-Ha-ras 遺伝子導入マウスのがん原性試験への有用性の検討

- 毒性部 ○不 二 哲
 児 玉 幸 夫
5. 細胞バンク9年間の総括
 変異遺伝部 水澤 博

支 所 例 会

第116回 (平成4年4月28日)

1. 細菌内毒素のラット胚致死作用に対する薬用人参の抑制効果
 生物試験部 伊丹孝文
2. プチルベンジルフタレートラットのラットにおける奇形性
 生物試験部 江馬 真
3. 食品中の天然着色料の分析法の開発
 食品試験部 川本礼子
4. イオンクロマトグラフィーによる食用タール色素中の塩化物、硫酸塩、臭化物およびヨウ化物の同時定量法
 食品試験部 木村実加

第117回 (平成4年5月26日)

1. 低分子化ヘパリンの分子量評価
 GPC併用型角度レーザー光散乱法
 薬品試験部 小松裕明
2. 4種希土類元素 (Dy, Er, Yb および Y) の静脈内投与時のラットにおける代謝
 食品試験部 中村優美子
3. 脊椎動物中枢神経系の初期発生
 生物試験部 天野博夫

第118回 (平成4年6月23日)

1. 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
 食品試験部 津村ゆかり
2. 数種キトサン直打錠のビーグル犬における薬物動態
 薬品試験部 四方田千佳子

第119回 (平成4年9月22日)

1. 定量操作中に分解しやすいキャプタン、カプタホル等12種殺菌剤の一斉分析法の検討
 食品試験部 外海泰秀
2. Polymerase Chain Reaction (PCR) 法の原理と応用について
 生物試験部 小川義之

第120回 (平成4年10月27日)

1. 低分子量ヘパリンの抗凝血活性評価法
 抗 Xa 活性測定法

- 薬品試験部 石光 進
2. 食用黄色5号の純度試験について
 副色素, 原料および他の中間反応物質の液体クロマトグラフィー
 食品試験部 柴田 正

第121回 (平成4年12月16日)

1. キトサン直打錠からの薬物の放出挙動およびその機構
 薬品試験部 宮崎玉樹
2. Di-n-butyltin dichloride によるラット胎児における奇形発現の感受期
 生物試験部 江馬 真
3. 熱ショック蛋白質 (HSP) の発現調節と生理機能に関する研究
 <海外出張報告: 米国スタンフォード大学医学部にて>
 生物試験部 村井敏美

第122回 (平成5年1月26日)

1. 医薬品品質分野の国際調和について
 支 所 長 武田 寧
2. 日本薬局方の改正について
 薬品試験部 岡田敏史

第123回 (平成5年2月23日)

1. 食品に移行した食品用容器包装剤中の各種可塑剤の定性および定量法
 食品試験部 伊藤 誉志男
2. イオン対高速液体クロマトグラフィーによる各種食品中12種の食用タール色素の高感度同時定量法
 食品試験部 辻 澄子
3. LAL テストの今後の課題について
 生物試験部 川崎 浩之進

第124回 (平成5年3月23日)

1. 熱重量測定による医薬品の水分定量 (1)
 薬品試験部 吉井公彦
2. イオンクロマトグラフィーを用いた食用青色1号アルミニウムレーキ色素中の塩化物試験法について
 食品試験部 木村実加

 特別講演会

- | | |
|---|--|
| 平成4年4月24日
Delivery Systems for Peptide and Protein
Drugs
The Queen's University of Belfast, UK
Prof. A. Li Wan Po | 平成4年10月20日
細胞死 (apoptosis) とそれを誘導する Fas 抗
原
JT 医薬基礎研究所博士 米原 伸 |
| 平成4年6月15日
Catabolism of Gangliosides
Tulane University, USA
Prof. Yu-Teh Li | 平成4年11月9日
癌患者の痛みに対するモルヒネの利用について
埼玉県立癌センター病院長 武田 文和 |
| 平成4年7月7日
In situ hybridization in cytogenetical studies
Leiden University The Netherlands
Prof. A. T. Natarajan | 平成4年12月18日
創薬の経験と serendipity
東京大学薬学部教授 長尾 拓 |
| 平成4年7月13日
多環芳香族炭化水素の発癌性と DNA との反応
NIDDK, NIH 博士 八木 治彦 | 平成5年1月20日
反復配列を利用した染色体・DNA 変異の検出
法
新潟大学医学部教授 木南 凌 |
| 平成4年9月11日
LPSによるマクロファージの活性化機構
国立予防衛生研究所博士 西島 正弘 | 平成5年1月20日
リンパ球のホーミングと糖結合分子
東京大学薬学部博士 今井 康之 |
| 平成4年10月19日
抗潰瘍薬評価における問題点
胃粘膜損傷発生における胃運動の重要性
京都薬科大学薬学部助教授 竹内 孝治 | 平成5年2月2日
糖鎖情報とその認識機構
京都大学薬学部教授 川崎 敏祐 |

 支所特別講演会

- 平成4年11月24日
重金属結合蛋白メタロチオネイン
大阪大学薬学部教授 田中 慶一

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, 療品, 食品)
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 (療品, 生物, 機能, 病理, 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. 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
2. リンパ球の分裂中期細胞集積法に関する研究 (変異)
Establishment of the method to accumulate metaphases in cultured human lymphocytes
3. タンパク性アレルギー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 radioassay systems for fungal allergens
4. 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
5. 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
6. 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 detection of endotoxin using radioactive materials and establishment of diagnosis for endotoxemia
7. 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 (生物)
Utilization of radioisotope-multilabelling for investigation of new trace bioactive proteins for new drug development
8. 生分解性高分子ドラッグデリバリーシステムの薬物放出制御に対する放射線エネルギー負荷の影響に関する研究 (薬品)
Effect of gamma-irradiation on biodegradable controlled delivery systems
9. 照射香辛料等の検知法に関する研究 (食品)
Study on detection method of irradiated spices

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

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 system
- (1) 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. 情報理論による分析法の開発と精度向上に関する研究 (食品)
Study of analytical method development and improvement of precision based on the information theory
5. 類縁生薬の薬効評価に関する相同性の基礎研究 (生薬)
Studies on a novel method for classifying taxonomically related medicinal plants based on their biological activities

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 organotin compounds in marine aquatic environments
2. 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
3. 水域環境におけるダイオキシン等非意図的有害物質の生成機構と安全性評価に関する研究 (環境)
Human risk assessment and exposure for chlorinated dibenzo-p-dioxines in freshwater
4. 細胞内および細胞間情報ネットワークへの影響面からみた環境汚染物質の有害反応の解析 (薬理, 病理)
Studies on Effects of Environmental Pollutants on Intracellular Signaling and Cell-to-cell Communication Network
5. 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
6. 利水過程における農業等化学物質の動態および

- 分解生成物等の評価に関する研究 (環境)
Behavior and assessment of pesticide and its byproducts in water utilization system
- 厚生科学研究費補助金 (厚生省)**
1. 有機溶剤の生殖に及ぼす影響に関する研究 (毒性)
Toxicological study on the effects of Organic solvent to Reproduction
 2. 医療用具と健康器具等との区分の明確化に関する研究 (療品)
On the problem how to define health care apparatus as medical devices
 3. 薬物依存の発現機序に関する神経化学的研究 (毒性)
Nurochemical study on dependence-producing mechanisms
 4. 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
 5. 内的およ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
 6. 体外診断用医薬品の臨床評価に関する研究 (生物)
Study on the clinical evaluation of the *in vitro* diagnostic drugs
 7. 糖尿病に関する研究 (生物)
Study on diabetes mellitus
 8. 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)
Sanitary indexes on biodegradative plastics
 9. 重金属等の健康影響と器具容器からの溶出に関する研究 (食添)
Evaluation of heavy metals on human health and migration from food-contact ware
 10. 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
 11. 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 deterioration and/or degradation of biomaterials in biological environment and accompanied toxic effects
 12. 新配合香粧品の品質確保に関する研究 (環境)
Study on the quality control of new type cosmetics and quasi-drugs
 13. 生体試料中の薬物鑑定に関する総合的研究 (薬品)
Comprehensive Study on drug testing of biological specimens
 14. 日本薬局方一般試験法の国際調和に関する研究 (薬品)
Studies on international harmonization of general test and assays for the pharmaco-
- poeia of Japan
15. 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, 情報, 毒性, 薬理, 病理, 変異, 評価)
Study on improvement of risk assessment from chemical exposure
 16. 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
 17. 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 (薬理)
Studies for toxicokinetics and structure-toxicity relationships of decomposed and/or metabolized substances of insecticide
 18. 農薬の分解・代謝物の安全性評価研究 (センター長)
Study on methodologies for safety evaluation of degradation products and metabolites of agrochemicals
 19. 医薬品規制ハーモナイゼーション推進国際共同研究 (センター長, 薬品)
International collaborative study on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals
 20. 残留農薬の分解・代謝に関する研究 (食品, 情報, 支食)
Studies on decomposition and metabolism of pesticides
 21. 食品中の有害物質等の分析評価に関する研究 (食品, 衛微)
Studies on the analytical evaluation of environmental contamination
 22. 食品および食品関連機器の衛生管理等に関する研究 (衛微)
Study on sanitary management of food processing equipment
 23. 生活衛生関連使用水 (非水道水) 中の微量化学物質の動態に関する研究 (環境)
Behaviors of micropollutants in aquatic environment
 24. 新開発食品素材健康影響評価研究 (所長)
Regulatory issues on newly developed foodstuffs
 25. 必須アミノ酸製品等による健康影響に関する調査研究 (所長)
Investigation of the health effects associated with essential amino acid products
 26. 畜水産食品中の残留物質の検査法等に関する研究 (食品)
Studies on the developments of analytical methods for residual chemicals in livestock products and sea food
 27. 新しい日米科学技術に関する研究 (センター長)
Toxicology program under the US -Japan non -energy research cooperation
 28. 食品中のダイオキシン類汚染実態調査研究 (食品)

- Studies on food contamination with dioxins
29. ダイオキシンの毒性発現機構に関する調査研究 (センター長)
Studies on mechanisms of toxicological manifestation from exposure to dioxins
30. インスリン製剤のHPLC試験法の開発研究 (生物, 支薬, 支生)
Development of High Performance Liquid Chromatography as an assay methodology of insulin preparations
31. 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 (支薬, 薬品)
Studies on the establishment of reliability assurance system for the government permitted testing laboratory
32. 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
33. 医用・歯科用有機高分子材料の溶出試験等のガイドラインの作成に関する研究 (療品)
Establishment of guidelines of extraction test and other subjects on organic polymers for medical and dental uses
34. ハカマオニゲシの簡易識別法に関する研究 (筑植)
Establishment of the simple method for distinguishing among *Papaver bracteatum* Lindl., *P. orientale* L. and *P. pseudo-orientale* Fedde.
35. 医薬品の同等性試験見直しに関する研究 (薬品)
Re-evaluation of bioequivalence tests in Japan
36. 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 of surface active agent, oil and fat for cosmetics
37. 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 (薬理, 毒性)
Studies on the methods for the safety evaluation of cosmetics containing new chemicals
38. 一般用医薬品の品質試験方法に関する研究 (薬品, 支薬)
Studies on the methods of quality test for generic drugs
39. 体外診断用医薬品原料規格の作成に関する研究 (生物)
Establishment of the standards on the *in vitro* diagnostic materials
40. 熱帯病治療薬の開発研究 (薬品)
Development of drugs for tropical diseases
41. タンパク性医薬品の分子修飾による安定化戦略 (生物)
Stabilization of protein drugs by molecular modification
42. 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)
Study on development of test methods and criteria for toxicity assessment of chemicals including drugs
43. 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 research methods for cellular toxicology using fluorescence probes
44. と畜場 (牛肉) の微生物制御法の確立のための基礎的研究 (衛微)
Study on the technology for microbiological control of nationwide beef
45. 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 fresh shell-eggs and egg products
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. 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
48. 輸入食品検査における高度検査機器利用に関する研究 (支食)
Utilization of high level analytical apparatus on inspections of imported foods
49. 初代培養細胞を用いたラット中枢神経系の初期発生に関する研究 (支生)
Studies on the early development of rat central nervous system in primary culture
- 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. 開口放出の細胞内調節機構に関する研究 (薬理)
Studies on the intracellular mechanisms for exocytosis
3. 植物由来アントラキノン系天然色素の変異原性メカニズムに関する研究 (食添)
Studies on mechanism of mutagenicity by plant-originated anthraquinone
4. 豚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 mechanisms controlling tumor development in multi-stage pancreatic carcinogenesis
5. 環境因子の発癌リスク評価 (病理)
Assessment of carcinogenic risks in environmental factors
6. 覚醒剤の選択的拮抗薬の探索およびその応用 (薬理)
Studies on the new selective antagonist of amphetamine
7. 細胞内 Ca^{2+} 動態異常による脳機能障害発症と治療法開発に関する精神神経薬理学的研究 (薬理)

Psycho-neuropharmacological studies on the brain damages by internal Ca^{2+} abnormality and on the therapeutic methods

8. カルシトニン遺伝子関連ペプチドの心筋膜イオン電流に対する作用の電気生理学的解析 (生薬)
Electrophysiological study of the effect of calcitonin gene-related peptide on ion channels of cardiac myocytes
9. モノクローナル抗体の機能変換に関する研究 (機能)
Studies on engineering of monoclonal antibodies
10. 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

がん研究助成金 (厚生省)

1. 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 modifications of carcinogenesis in the digestive organs by dietary factors
2. 実験動物における複数発がん物質による遺伝毒性の検出 (変異)
Detection of genotoxicity in experimental animals exposed to a mixture of several different carcinogenes
3. 環境化学物質による発がんの一次予防に関する研究 (センター長, 毒性, 病理)
Studies on primary prevention of environmental carcinogenesis
4. ヒトがんの環境因子と個体特性に関する疫学的研究 (病理)
Epidemiological studies on environmental factors and individual susceptibility related to human cancers

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 polydrug abuse

精神・神経疾患委託費

1. 薬物依存の発生機序および臨床と治療 (薬品)
Induced mechanism, clinical and therapeutic study on drug dependence

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. 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
4. 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 according to market basket studies in Japan
5. 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
6. 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
7. 農作物のポストハーベスト農薬の保存, 加工および消長に関する研究 (食品, 支食)
Decrease of post-harvest pesticides contained in agricultural products in the processes of storing, manufacturing and cooking
8. ポリスチレン製品中の揮発性物質の分析法に関する研究 (食添)
Analysis of volatile substances in polystyrene products
9. ガラス器具からの鉛とカドミウム溶出に関する研究 (食添)
Migration of lead and cadmium from glass-ware
10. UNCED 化学物質安全対策調査 (情報)
Survey of chemical safety control proclaimed in UNCED
11. 残留農薬の公定分析法の設定のための研究 (支食)
Establishment of official methods for pesticides from agricultural products

食品添加物安全性再評価費 (厚生省生活衛生局)

1. n-パラフィンの慢性毒性試験 (病理)
Chronic toxicity test of n-paraffin
2. ヨウ化カリウムの慢性毒性試験 (病理)
Chronic toxicity test of potassium iodide
3. ヒスチジン塩酸塩の慢性毒性試験 (病理)
Chronic toxicity test of histidine dihydrochloride
4. ケイ皮アルデヒドの慢性毒性試験 (病理)
Chronic toxicity test of cinnamyl aldehyde

既存化学物質等試験検査費 (厚生省生活衛生局)

1. 指定化学物質摂取量予測調査 (情報)
Estimation of intake of the designated chemical substances

その他

1. 肺の線維化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官民共同プロジェクト研究 (ヒューマンサイエンス基礎科学研究事業)

1. オピオイドレセプターの構造と機能の解明に関する研究 (機能)
Studies on the structure and function of opioid 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性栄養因子とモデュレータの機能評価の開発 (薬理)
Development of 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. 各種細菌からの遺伝子操作関連試薬の探索と開発 (衛微)
Screening of bio-engineering reagents produced in various bacteria
4. バイオテクノロジー応用医薬品の品質等評価試験方法の開発に関する研究 (生物)
Development of evaluating methods for the characterization and control of biotechnologically drugs
5. 遺伝子操作技術等を用いた食品添加物の開発とその安全性評価のための分離分析に関する研究 (食添)
Development of food additives using biotechnology and of separation analyses for evaluation of them
6. 食品中の活性成分の検索と産生に関する研究 (食品)
Preliminary screening and production through biotechnology of bioactive
7. 化学物質の生体との相互作用とその評価方法に関する研究 (代謝)
Studies on the chemico-biological interaction and its application for risk assessment
8. バイオテクノロジーを用いた薬物代謝酵素の生産と薬効・毒性予測への応用 (薬理)
Biotechnological production of drug metabolizing enzymes and their application to efficacy and toxicity prediction
9. 太陽紫外線の生体影響とその防御に関する研究 (環境)
Studies on protection and effect of vital functions by the solar UV radiation in sunlight
10. 変異原性試験に有用な遺伝子クローニングと外来遺伝子トランスフェクト法による革新的な試験系の開発に関する研究 (変異)
Cloning of genes useful for mutagenicity tests and development of novel test systems by transfection method of external genes
11. バイオテクノロジーを用いた細胞間相互作用と薬効・毒性との関わりに関する研究 (薬理)
Studies on the relationship between cell-to-cell communication and efficacy/toxicity of drugs
12. コンピュータによる分子モデリングとグラフィック技法を用いた構造と薬効・毒性の相関解析法の開発 (情報)
Structure-Pharmacology and Toxicology Relation Based on Computer-based Molecular Modeling and Graphics
13. 培養細胞を用いた電気生理学的手法による糖鎖の役割の解明 (生薬)
Electrophysiological studies on physiological and functional role of carbohydrates using isolated and cultured cardiac myocytes
14. 糖鎖含有タンパク製剤における糖鎖の機能解明と特性・品質等評価試験方法の開発に関する基礎的研究 (生物)
Studies on the characterization, standardization and control of glycoprotein products
15. 放出制御等の製剤機能を支配する物理化学的性質の安定化とその評価 (薬品)
Stabilization and stability evaluation of the physicochemical properties of controlled delivery systems
16. 新医薬品製剤の生物薬剤学的評価に関する基礎研究 (薬品)
Study on biopharmaceutical evaluation of new dosage forms
17. エマルションおよびリポプロテインを薬物担体とする組織指向性製剤の開発とその評価法に関する研究 (支薬)
Research and development of tissue-targeting preparations by using emulsion and lipoprotein as a drug carrier, and the establishment of the evaluation method of their drug formulations
18. ヒアルロン酸のキャラクタリゼーションおよび製剤材料としての利用に関する研究 (支薬)
Characterization of hyaluronic acid and its application as a drug formulation material
19. 細胞接着因子関連医薬品の有用性確保のための基礎的研究 (生物)
Study on acquisition of usefulness of protein drugs related with cell adhesive factor
20. 高分子材料によるMFHの素因の解析と短期検索法の開発 (療品)
Studies on the mechanisms of malignant fibrous histiocytoma (MFH) induced by polymeric materials and development of short-term test methods
21. 新医薬品・医用材料の評価技術の開発と応用 (支生)
Development of evaluation methods for new drugs and biomaterials
22. 生薬成分と生体応答の研究 (生薬)
Studies on bioactive principles of medicinal plants and their interactions with living materials
23. バイオテクノロジーにより得られた有用形質の保存に関する研究 (筑植)
Research on preservation of important traits by plant biotechnology

24. 食細胞の活性酸素産生系の解明との調節因子についての研究 (生物)

Study on the mechanism of active oxygen-generating system and its regulatory factor in phagocytic cell

25. 脳高次機能障害改善を目的としたCa拮抗薬の作用評価法の開発 (薬理)

Studies on the development of new evaluating methods for drugs improving brain damages: Ca-antagonist as a candidate

ヒューマンサイエンス振興財団国際共同研究事業

1. バイオテクノロジー由来食品—ヒトの健康との関連について— (所長, 食品, 食添)

Foods and food products produced by biotechnology: Human health implications

2. 加速試験不適合製剤のShelf-life予測法の開発研究 (薬品)

Applicability of accelerated testing for shelf-life prediction of novel dosage forms

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. エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究 (衛微)

Preliminary screening for antiviral AIDS drugs

ヒューマンサイエンス振興財団創薬科学総合研究事業

1. 神経伝達物質および抗不整脈薬による心筋イオンチャンネル機能の調節機構の解明 (生薬)

Studies on the intracellular mechanism of ion-channel regulation in cardiac muscle by neuro-transmitters and antiarrhythmic drugs

2. 成長ホルモン受容体の細胞下動態に関する研究 (機能)

Subcellular metabolism and translocation of growth hormone receptor

3. 画像処理法による免疫細胞の細胞内物質動態の検出技術の開発 (機能)

Imaging analysis for tracing functional components in living cells

4. 高速高分解能細胞内カルシウムイオン濃度画像解析技術の開発 (病理)

High speed and high resolution imaging of intracellular calcium ion concentration

5. 抗ウイルス剤開発のための基礎的研究—ウイルス遺伝子の特異的発現機構の解明 (衛微)

Mechanism of virus-specific gene expression

6. 中枢神経系幹細胞樹立細胞系の開発 (支生)

Development of the CNS stem cell lines

7. 自然発症疾患モデル動物の評価とそれら動物胚の凍結保存法の開発に関する研究 (支生)

Evaluation of animal models for human diseases and development for the cryopreserva-

tion methods of their embryos

8. 薬用植物の生育および成分に及ぼす因子の解析 (筑植)

Analysis of factors affecting growth and secondary metabolism of medicinal plants

新医療技術開発研究事業

1. 人工臓器に関する新滅菌法の研究 (療品)

Studies on a new sterilization method for artificial organs

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. 内的および外的因子による発がんの促進と抑制 (センター長)

Promotion and suppression of carcinogenesis by inner and outer factors

部	名	略	称
	薬	品	部.....薬品
	生	物	薬品部.....生物
	生	薬	品部.....生薬
	療	品	部.....療品
	環	境	衛生化学部.....環境
	食	品	部.....食品
	食	品	添
	有	機	化学部.....有機
	機	能	生化学部.....機能
	代	謝	生化学部.....代謝
	衛	生	微生物部.....衛微
	化	学	物質情報部.....情報
	毒	性	部.....毒性
	薬	理	部.....薬理
	病	理	部.....病理
	変	異	遺
	綜	合	評
	大	阪	支
	大	阪	支
	大	阪	支
	北	海	道
	筑	波	薬
	伊	豆	薬
	和	歌	山
	種	子	島

国家検定および検査等の処理状況

Survey of the Results of National Tests

平成4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	(60)	79	(60)	79	件	19	31.67
国 家 検 査	(0)	0	(77)	55	(77)	55	△	22	△ 28.57
製 品 検 査	(0)	0	(835)	711	(835)	711	△	124	△ 14.85
特 別 審 査 試 験	(172)	256	(0)	0	(172)	256		84	48.84
特 別 行 政 試 験	(76)	95	(11)	8	(87)	103		16	18.39
一 斉 取 締 試 験	(179)	184	(40)	23	(219)	207	△	12	△ 5.48
輸 入 食 品 検 査	(0)	0	(12)	18	(12)	18		6	50.00
一 般 依 頼 試 験	(2)	0	(0)	0	(2)	0		2	—
合 計	(429)	535	(1,035)	894	(1,464)	1,429	△	35	△ 2.39

() 内数字は平成3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4年度国家検定品目別月別判定別件数
実績表…………… 306頁
- 平成4年度国家検査品目別月別判定別件数
実績表…………… 306頁
- 平成4年度製品検査月別判定別件数実績表… 308頁

- 平成4年度特別審査試験月別判定別件数
実績表…………… 308頁
- 平成4年度輸入食品検査月別判定別件数
実績表…………… 303頁
- 平成4年度特別行政試験実績表…………… 309頁
- 平成4年度一斉取締試験判定別件数実績表… 309頁

平成4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															
ヒト結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	1	—	1	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0
生合成ヒトインスリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	0	—	0	3	—	3	3	—	3	2	—	2	2	—	2	0	—	0
生合成ヒト中性インスリン注射液	大阪	1	—	1	1	—	1	1	—	1	0	—	0	2	—	2	1	—	1
半合成ヒト二相性インスリン水性懸濁注射液	大阪	2	—	2	3	—	3	2	—	2	5	—	5	3	—	3	3	—	3
半合成ヒトインスリン水性懸濁注射液	大阪	2	—	2	2	—	2	3	—	3	1	—	1	2	—	2	0	—	0
計		6	—	6	9	—	9	9	—	9	8	—	8	9	—	9	4	—	4

平成4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												
ブドウ糖注射液	大阪	4	—	4	0	—	0	0	—	0	6	—	6	10	—	10	12	—	12
内訳	内容量 100 ml 未満	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0
	内容量 100 ml 以上	4	—	4	0	—	0	0	—	0	6	—	6	10	—	10	12	—	12
結晶性インシュリン亜鉛水性懸濁注射液	大阪	1	—	1	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0
無晶性インシュ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
リングル液	大阪	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	1	0	—	0
計		5	—	5	0	—	0	0	—	0	6	—	6	11	—	11	12	—	12

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	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	1	—	1
1	—	1	1	—	1	1	—	1	1	—	1	0	—	0	2	—	2	16	—	—	16
1	—	1	2	—	2	3	—	3	0	—	0	0	—	0	2	—	2	14	—	—	14
2	—	2	3	—	3	2	—	2	3	—	3	3	—	3	1	—	1	32	—	—	32
1	—	1	1	—	1	2	—	2	0	—	0	1	—	1	1	—	1	16	—	—	16
5	—	5	7	—	7	8	—	8	4	—	4	4	—	4	6	—	6	79	—	—	79

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	
12	—	12	1	—	1	2	—	2	3	—	3	2	—	2	0	—	0	52	—	—	52
0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	—	0
12	—	12	1	—	1	2	—	2	3	—	3	2	—	2	0	—	0	52	—	—	52
0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	—	1
1	—	1	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	—	1
0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	1	—	—	1
13	—	13	1	—	1	2	—	2	3	—	3	2	—	2	0	—	0	55	—	—	55

平成4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															
東 京	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大 阪	78	—	78	18	—	18	72	—	72	58	—	58	80	—	80	27	—	27
計	78	—	78	18	—	18	72	—	72	58	—	58	80	—	80	27	—	27

平成4年度輸入食品検査月別判定別件数実績表

区 分	4 月		7 月		9 月		合 格		試 験 件 数
	無 判 定	計	無 判 定	計	無 判 定	計	無 判 定	計	
農 産 物	—	—	8	8	2	2	10	10	10
水 産 物	—	—	5	5	—	—	5	5	5
酒 精 飲 料	3	3	—	—	—	—	3	3	3
合 格	3	3	13	13	2	2	18	18	18

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
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
121	—	121	57	—	57	49	—	49	18	—	18	64	—	64	69	—	69	711	—	711
121	—	121	57	—	57	49	—	49	18	—	18	64	—	64	69	—	69	711	—	711

平成4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	8	支所生物試験部
	2. 医薬部外品の試験について	2	環境衛生化学部
麻 薬 課	輸入生あへのモルヒネ含有率試験について	90	薬品部
宮崎地方裁判所 延岡支部	鑑定依頼について	1	薬品部
東京地方裁判所	鑑定依頼について	1	薬品部
岩手県保健衛生部	はちみつを原因食品とする食中毒について	1	生薬部, 食品部
合 計		103	東 京 95件 大 阪 8件

平成4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	183	1	0	184
大 阪	23	0	0	23
合 計	206	1	0	207

国立衛生試験所標準品

Reference Standards Prepared by National
Institute of Health 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)

番号	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、イン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、イン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	エピチオスタンール	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	2μg入り 1本	15,700	・注射用水のエンドトキシン試験
10	含糖ベプシン	5g入り 1本	16,300	・含糖ベプシンの定量法
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	ジトキシン	20mg入り 1本	12,300	・ジゴキシン、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

番号	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	・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	・パ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、バルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
47	薄層クロマトグラフ用バルミチン酸レチノール	10,000単位入り 10カプセル	3,500	・酢酸レチノール、バルミチン酸レチノールの確認試験、ビタミンA油、同カプセルの定量法
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

番号	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	ラナトシンドC	100mg入り 1本	12,400	・ラナトシンド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	リボフラビン	200mg入り 1本	16,300	・リボフラビンおよび同散の定量法. リン酸リボ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	レセルピン	50mg入り 1本	24,000	・レセルピン, 同散, 同錠, 同注射液の定量法. 同錠の溶出試験および含量均一性試験

国立衛生試験所標準品(医薬品等試験用標準品):局方外医薬品

(平成4年4月1日現在)

番号	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	テオプロミン	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	プリミドン	300mg入り1本	13,300	・プリミドン, 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	リン酸プレドニゾロンナトリウム	100mg入り1本	11,700	・リン酸プ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)

番号	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	アゾルビンエキストラ	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ビ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rom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romフルオレセインの確認試験
20	テトラブrom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rom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	パーマネントオレンジ	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ネ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）

番号	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 ^円	・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	リゾールルピン BCA	1g入り 1本	2,800	・外用医薬品、化粧品および製剤中のリゾールルピン 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4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	87	150	189	1	47	
アセトアミノフェン	0	60	0	0	60	
安息香酸エストラジオール	7	31	27	3	8	
インスリン	77	0	14	5	58	
インドシアニングリーン	20	0	0	0	20	
ウロキナーゼ	78	100	107	0	71	
エストラジオール	20	21	40	1	0	
エストリオール	10	0	4	0	6	
エストロン	38	0	1	0	37	
エテンザミド	0	30	0	0	30	
エピチオスタノール	15	0	9	0	6	
エルゴカルシフェロール	2	176	136	0	42	
塩酸チアミン	117	200	194	0	123	
塩酸チアミン液	17	20	5	10	22	
塩酸ピリドキシン	186	300	324	0	162	
エンドトキシン	158	900	917	0	141	
カリジノゲナーゼ	83	100	96	0	87	
含糖ペプシン	66	50	21	0	95	
d-カンフル	112	0	22	0	90	
dl-カンフル	53	100	59	0	94	
吉草酸ジフルコルトロン	47	0	5	0	42	
吉草酸ベタメタゾン	55	0	27	0	28	
ギトキシン	31	0	9	0	22	
血清性性腺刺激ホルモン	68	0	41	0	27	
高分子量ウロキナーゼ	0	50	0	0	50	
コハク酸トコフェロール	16	100	101	0	15	
コハク酸ヒドロコルチゾン	53	0	11	0	42	
コレカルシフェロール	51	175	214	0	12	
酢酸クロルマジノン	110	0	27	0	83	
酢酸コルチゾン	91	0	8	0	83	
酢酸デキサメタゾン	46	0	4	2	40	
酢酸トコフェロール	60	600	653	1	6	
酢酸ヒドロコルチゾン	41	50	49	0	42	
酢酸プレドニゾン	34	50	26	0	58	
シアノコバラミン	107	200	307	0	0	
ジギタリス	15	0	0	0	15	
ジギトキシン	53	100	68	57	28	
シクランデラート	9	38	7	0	40	
ジクロフェナミド	15	0	0	0	15	
ジゴキシン	33	0	12	0	21	
酒石酸水素エビネフリン	70	0	14	0	56	
酒石酸水素ノルエビネフリン	55	0	5	0	50	
ショ糖オクタ硫酸エステルカリウム	3	50	16	0	37	
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	86	100	163	0	23	
チロジン	33	150	148	0	35	
低分子量ヘパリン	0	50	0	0	50	
テオブロミン	20	0	0	0	20	
デキサメタゾン	9	49	31	1	26	

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	42	0	10	0	32	
トコフェロール	88	150	234	1	3	
トリアムシノロン	28	0	3	0	25	
トリアムシノロンアセトニド	36	0	8	0	28	
トルナフタート	4	50	21	0	33	
トロンビン	50	100	114	3	33	
ニコチン酸	22	0	6	7	9	
ニコチン酸アミド	93	150	155	7	81	
脳下垂体後葉	16	51	11	0	56	
薄層クロマトグラフ用酢酸レチノール	22	0	9	2	11	
薄層クロマトグラフ用バルミチン酸レチノール	20	60	16	0	64	
パラアミノベンゾイルグルタミン酸	17	0	7	0	10	
ヒアルロニダーゼ	2	33	26	0	9	
ヒドロクロロチアジド	49	0	2	0	47	
ヒドロコルチゾン	22	50	33	0	39	
ブリミドン	0	30	0	0	30	
フルオシノニド	14	50	13	0	51	
フルオシノロンアセトニド	14	50	39	0	25	
フルオロメトロロン	47	0	1	0	46	
フルドロキンコルチド	49	0	0	0	49	
ブレドニゾロン	18	100	81	0	37	
プロゲステロン	14	52	20	3	43	
プロピオン酸テストステロン	17	0	7	3	7	
プロピオン酸ベタクロメタゾン	27	50	13	0	64	
ベタメタゾン	46	50	26	0	70	
ヘパリンナトリウム	81	150	86	0	145	
マレイン酸エルゴメトリン	36	0	12	0	24	
マレイン酸メチルエルゴメトリン	11	0	5	0	6	
メストラノール	46	0	1	0	45	
メチルジゴキシン	48	0	3	0	45	
メトキサレン	20	0	0	0	20	
メトトレキサート	26	0	0	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)	42	0	29	0	13	
葉酸	22	132	64	0	90	
酪酸ヒドロコルチゾン	43	0	2	0	41	
ラナトシドC	28	0	14	0	14	
リゾチーム	73	200	218	3	52	
リボフラビン	65	363	392	1	35	
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	24	0	5	0	19	
リン酸ヒスタミン	73	0	35	0	38	
リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム	11	50	27	0	34	
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	13	50	34	0	29	
レセルピン	39	0	8	0	31	
計	3,925	5,971	5,901	111	3,884	

(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	2	0	69	
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	2	71	
アマランス	448	0	1	0	447	
アルラレッドAC	0	50	3	0	47	
インジゴ	128	0	0	0	128	
インジゴカルミン	0	0	0	0	0	
エオシン	115	0	1	0	114	
エリスロシン	493	0	1	0	492	
オイルエローAB	217	0	0	0	217	
オイルエローOB	225	0	0	0	225	
オイルオレンジSS	223	0	0	0	223	
オイルレッドXO	201	0	0	0	201	
オレンジI	272	0	1	0	271	
オレンジII	154	0	1	1	152	
ギネアグリーンB	66	0	1	0	65	
サンセットエローFCF	0	0	0	0	0	
タートラジン	41	0	7	0	34	
テトラクロルテトラプロムフル オレセイン	149	0	0	0	149	
テトラプロムフルオレセイン	110	0	0	0	110	
トルイジンレッド	76	0	0	0	76	
ナフトールエローS	140	0	1	0	139	
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	5	0	4	0	1	
ファストレッドS	196	0	0	0	196	
ブリリアントブルーFCF	484	0	20	0	464	
フルオレセイン	185	0	0	0	185	
フロキシソ	326	0	1	0	325	
ボンソーR	245	0	0	0	245	
ボンソーSX	146	0	1	0	145	
ボンソー3R	155	0	1	0	154	
リソールルビンBCA	358	0	0	0	358	
レーキレッドC	384	0	1	0	383	
レーキレッドCBA	119	0	1	0	118	
レーキレッドDBA	159	0	1	0	158	
ローズベンガル	0	0	0	0	0	
計	6,064	50	49	3	6,062	

衛生試験所報告第 111 号キーワード索引 (アルファベット順)

A

accumulation 232
acetyl-CoA binding site 240
acetyltransferase 240
acid dissociation constant 244
ada transcription 240
adaptive response 240
adenocarcinoma 237
ADI 258, 260
AIDS 100
adriamycin 39
aflatoxin 229
agar 222
aging 230
air 216
ajicoat 25
alcohol-induced spasms 248
allergic contact cheilitis 213
allergic contact dermatitis 212, 213, 214
4-aminobiphenyl 241
amines 210
analgesic effect 213
analytical performance parameter 141
analytical validation 141
3-anilino-L-alanine 222
Anoectochilus formosanus HAY 218
Anoectochilus koushunensis HAY 218
Anti-HIV drugs 100
antigen retrieval method 239
anthraquinone 221, 223
antibacterial 224
antibacterials 61
anticancer agents 258
antigen-combining sites 225
antiinflammatory effect 212
antioxidant 230
aromatic amines 259
arylhydrocarbonhydroxylase 237
assessment of waterquality 218
ATP-activated channel 232, 233, 234
ATP 233, 234
ATP receptor 234
ATP channels 233
ATP-stimulated release 233
authorization 116, 120, 123, 127, 130
autoclave sterilization 215
azaarene 224

B

bacterial toxin 254
bacteroids 227

BALB/3T3 243
banana 224
BCA method 84
beans 220
benomyl 224
benzo[a]pyrene 224
benzodiazepines 47
berberine 249
betel quid 234
BHA 230
BHA distribution 221
bioassay 218, 257
bioequivalence 212, 251
biomaterial 252
bionole 25
biotechnology drugs 253
bitterling 241
 β -blockers 245
bone cement 252
boric acid 222
breeding and physiology lab 262
bromodichloromethane 243
Bupleurum falcatum 250, 251, 261
butyl benzyl phthalate 247, 248
butylated hydroxyanisole 212, 221, 230

C

Ca-block 234
Ca²⁺ channels 234
CaCl₂ 243
Campylobacter spp. 254
caffeine 238
calcium 222, 239, 245
calmodulin inhibitors 234
canvas shoes 213
capillary gas chromatography 221
captafol 221, 245
captan 245
carbamate pesticide 245
carcinogen 258
carcinogenesis 238, 239
carcinogenicity 234, 238, 256
carcinogenicity testing 256
carcinogenicity study 257
cataract 238
catecholamine release 233
causative chemical investigation 212, 213
cDNA 233
V79 Cell 215
cell culture technology-derived drugs 211
cell line identification 259
cell proliferation 232, 239

cell transformation 228
 cerebral arteriole and venular 248
 CGRP 234
 character 229
 chemical analysis 219
 chemical carcinogen 256
 chemicals 252
 chemiluminescence 210
 Chinese hamster lung(CHL)cell 242
 chimeric cDNA 217
 chiral derivatization 210
 chitosan 244
 chlorambucil 241
 cholecalciferol 130
 chromosomal aberration in vitro 242
 chromosomal aberration 149, 241, 243, 259
 ciclosporin 91
 citrus 246
 clastogens 259
 CMC 260
 cnidium officinale 250
 cocaine 251
 Codex Alimentarius 253
 colorimetric determination 84, 216
 Comment 103
 Commercial kit for pesticide residue analysis 246
 contact sensitization 215
 control of cell lines 211
 controlled-release 251
 Coptidis Rhizoma 212
 Coptis japonica 249
 cortisol 236
 coronary artery 235
 cortisone acetate 120
 cosmetics 217
 covalent binding 212
 crotonaldehyde 238
 crystal structure 224
 cultivation 250, 251, 261, 262
 cultured cell 212
 cyanogenic compounds 220
 cyclophosphamide 34
 cyclosporin 91
 cytochrome P-450 240
 cytochrome P4502A 217
 cytotoxic test 218
 cytotoxicity 214, 215

D

daily intake 261
 Dalbergia odorifera 222
 database 229, 255
 decrease of violation 224
 dehydroacetic acid 247

dental material 216
 deoxynivalenol 228
 Dermal toxicity 18
 detection 215
 Developmental toxicity 247, 248
 diacetylmorphine 210
 diagnosis 252
 dialysis set 252
 Dibutyltin dichloride 247
 Diethylnitrosamine 236
 digestive enzyme 252
 digestive power test 252
 Diiodomethyl p-tolyl sulfone 248
 3, 7-dinitrofluoranthene 242
 3, 9-dinitrofluoranthene 242
 4, 4'-diphenylmethanediurethane 214
 Disbudding 250
 discriminant analysis 229
 dissolution 251
 dithiocarbamate-type accelerator 213
 DNA adduct 223, 238
 DNA fingerprint 241
 DNA fingerprinting 242, 259
 DNA hybridization 254
 DNA probe 242
 DNA profiling 242
 DNA profiling system 259
 DNA repair 241, 259
 DNA synthesis 234
 DNA transfection 243
 DNA-adduct 223
 dopamine 232, 234
 dose-dependent effect 236
 dose-response 237
 drgmented polyurethane 214
 drinking water quality standard 146
 drug 259
 drug analysis 210
 drug dependence 252
 Dry column 220
 DT-diaphorase 225

E

ECD-GC 245
 ED-PCR 254
 EDRF 235
 effect of food 209
 effect of size 209
 egg yolk lecithin 244
 EHC 103
 EIA 254
 ELISA 229, 246
 eluate 215
 elution 88
 embryoletality 214, 247

enantiomers 209
endogenous N-nitrosation 231
endothelial cells 235
endotoxin 248, 254
endotoxin(inhibitor) 227
Environmental Health Criteria 103
enzyme isolation and purification 227
eosinophilia-myalgia syndrome(EMS) 222
epoxy resin hardener 213
ergocalciferol 127
erythropoietin 211
ESR 219
essential oil 219
ethanol 260
ethylene chlorohydrin 217
ethylene oxide 217
Eucalyptus 224
extrapolation 257
eye irritancy 215
eye lesion 78

F

FAD 57
FAO/WHO 148
FDRV 233
feeding experiment 250
ferric chloride 238
ferulic acid 212
fetus 221
fibrinolytic activity 133
FID-GC 220
fish peripheral blood 241
flame retardant 18
Florisil column 245
flow cytometry 241
fluo-3 225
fluorescence analysis 210
fluorescence images 225
FMN 57
folic acid 116
food additive 243, 253, 260, 261
food color 112, 261
food 107, 246
food poisoning bacteria 1
food poisoning 254
Food Red No. 40 221
food safety 255
foods 253
forestomach protein 212
formaldehyde 223
free radical 219
freeze-drying 209
fructose 227
FUMI 252, 253
functional site 229

furanoisophthalide 223
Fusarium 228, 229

G

G. P. Center 228
 β -galactosidase 209
gamma-irradiated wheat 219
gamma-ray irradiation 215
gamma-ray irradiation sterilization 215
gas chromatography 219, 245, 260
gastric emptying 209
gastric emptying rate 209
GATT 255
GC/MS 61
gel permeation chromatography 244
gelatin 209
genetic code 255
germination 219
giant cell 100
Glutaraldehyde 247
glutathione S-transferase 225
gold-decorated glassware 88
granule 209
green hairy roots 250
GSH 235
Guideline 258
Guinea Pig Maximization Test 144
guinea pig 18, 231

H

HACCP 228
hair 251, 252
hair analysis 210
hairy root cultures 250, 261
hairy roots 250
HBCD 18
HCHO 216
heating and cooking 220
heating apparatus 218
heavy metal 88
heavy metals 225
hematopoietic neoplasm 258
hemodialyzer 78
hemolysis 57
hemolytic activity 214
Hepatocarcinogenesis 230, 236, 237
hepatocytes 235
hepatomegaly 230
hepatotoxicity 232
High Molecular Weight Urokinase 133
high performance liquid chromatography 107,
252, 260
hirsuteine 234
histological diagnosis 258
historical control 259

HIV 100
 hormonal imbalance 239
 host-controlled variation 1
 household product 213
 HPLC 47, 61, 209, 210, 217, 220, 246, 251
 HPLC-ECD 230
 human cell lines 242
 human genome 255
 human lymphocytes 243
 4-Hydroxyaminoquinoline 1-oxide 235
 4-hydroxy-2, 5, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl 218
 8-hydroxydeoxyguanosine 230, 256, 13
 hydroxynonenal 237
 1-hyoscyamine 249
 Hyoscyamus albus 250

I

ICH 253
 ICOS 47
 identification 242
 identification of irradiated food 219, 254
 identification test 219
 imazalil 253
 Immunohistochemistry 239
 immunoassay 211
 immunofluorescence 225
 immunosuppressant 257
 immunosurveillance 257
 immunotoxicity 91, 257
 Implant retrieval 252
 imported food 224, 254, 260
in vitro chromosomal aberration 242
in vitro micronucleus test 242
in vivo bioassay 211
in vivo biological activity 211
in vivo micronucleus test 242
 indoor air 216
 indoor air pollution 218
 inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry(ICP) 222
 information theory 216, 252, 253
 infrared spectroscopy 214
 inspection 224, 254
 introduction 261, 262
 interdigitated membrane 260
 interleukin-1 225
 international harmonization 242
 intrabilayer-reversed micelle 244
 intravenous administration 245
 iodine deficiency 239
 iodine excess 239
 IPCS 103
 γ -irradiated food 219
 γ -irradiation 254
 Islet cell tumor 236

isolated cells 233
 isolated hepatocytes 257
 isolated liver mitochondria 231

J

Japanese guideline 243
 JECFA 148, 257
 Job's tears(hatomugi) 229
 JP Reference Standard 116, 120, 123, 127, 130

K

Kalman filter 216, 252, 253
 KDO 4-phosphate 226, 227
 KDO phosphate 227
 kinetin 220

L

L-ascorbic acid 251
 lacZ mutation 241
 lanthanum chloride 232
 laser-induced fluorescence 209
 latex gloves 84
 lecithin 260
 light intensity 238
 light scattering 244
 Lignification 250
 Limulus test 248, 254
 linamarin 220
 lipid A 227
 lipid peroxidation 256
 lipstick 213
 liquid chromatography/mass spectrometry 223
 Lithol Rubine BCA 213
 liver toxicity 257
 Lobelia inflata 250
 lobeline 250
 local lymph node assay 215
 long-term toxicity 243
 LPS 226, 227
 Islet cell tumor 236
 lucidin-3-O-primeveroside 222
 lysozyme 246
 lysozyme preparation 75

M

m-xylenylenediamine 213
 machine oil 214
 macrocarpal 224
 madder color 222
 magnesium sulfate 248
 malondialdehyde 223
 manufacturing 253
 marineproduct 218
 marine toxin 254
 maximum residue level 148

- Maximum residue limit 257
medicinal plants 262
melamine 223
melamine tableware 223
menaquinone 244
6-mercaptapurine 238
mercaptobenzothiazole-type accelerator 213
2, 2'-methylenebis(4-ethyl-6-tert-butylphenol)
231
4-O-methylaldobiouronic acid 78
4-O-methylglucuronic acid 78
4-O-methylglucuronoxylan 78
4-methylumbelliferyltri-N-acetyl- β -chititrioxide
246
metabolism 218, 220, 240, 251
metal allergen 215
metal allergy 215, 252
metal ions 240
metallothionein 222, 225
methamphetamine 251
methoxychlor 245
methyl methacrylate 216
methylene blue 13
methylenedianiline 215, 252
methyl isothiocyanate 219
microplate methods 100
microcapsule 243, 244
micromass culture 214
micronucleus 230
micronucleus test 149, 241
micropollutants 257
midbrain 214
minerals 245
minisatellite DNA 241
mitogen 227
mitogens 243
mitotic index 243
MNPA 234
mobility 209
modification methylases 1
molecular structure 259
molecular species 218
Monascus anka U-1 223
monitoring method and measurement result 216
monitoring 253
monoclonal antibody 211, 225
morphine 210, 211, 225
mushroom poisoning 255
musk xylene 225
mutagenesis 259
mutagenicity 149, 221, 240
mutagenicity test data 259
mutagenicity tests 243
mutation 237
mycetismus 255
mycotoxicosis 255
mycotoxin 254
myosin light chain 233
m-xzylenediamine 213
- N
- N-Metyl-N-nitrosourethane(MNUR) 237
N-methyl-N-nitrosourea 236
N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine 238
N-nitrosamino acid 231
N-nitrosamino acids 231
N-nitroso compounds 237
National Toxicology Program 256
neurotoxicity 258
natural food additives 261
negative list 261
nicotinamide 107
nicotinic acid 107
nicotinic receptor 234
NIHS Reference Standard 133
6-nitrochrysene 237
nitrate 246
nitrite 246
nitroarene 224, 240, 259
nitroarenes 259
nitronaphthalene 225
nitroreductase 225, 240, 259
nitrosamine 240
nitrosourea 224
nivalenol 228
¹⁷O-NMR 209
NO₂ 216
NOEL 258
NONMEN 251
nongenotoxic carcinogen 256, 257
NORs 239
notopterol 213
Notopterygium incisum 213
nucleolar organizer regions 239
nucleotide sequence 240
- O
- o*-phenylphenol 261
official inspection 112
official test 141
oocyte 233
Orchidaceae 218
organization 262
Organotropism 237
organochlorine pesticide 220
organophosphorus pesticide 245
ovarian tumor 239
oxidative cleavage 224
oxidative DNA damage 230, 256

P

p. hostifolia 249
 p-Dichlorobenzene 216, 232
 p-hydroxybenzate 247
 p53 237
 pancreatic carcinogenesis 238
 panax ginseng 220
 pancreas 34, 238
 pancreatic carcinogenesis 236
 parenteral drugs 248
 partition coefficient 244
 passive sampler 216
 patch testing in patient and animal group 212
 PC12 233
 p-dichlorobenzen 216
 pepper 219
 peripheral blood micronucleus assay 241
 peripheral blood 241
 perosamine 226
 peroxisome proliferator 230
 personal identification 242
 Pesticide 220, 229, 246, 260
 pesticide residue 253
 pesticides 260
 pharmaceuticals 143
 pharmacokinetic model dependent parameter 251
 pharmacopoeia 252
 phenobarbital 236, 237
 phlorlglucinol 224
 photodiode array detection 47
 photodiode array detector 61
 Phyllanthus niruri 249
 pigmentation 214
 plant tissue culture 261
 Plantaginis Herba 249
 Plantago depressa 249
 platelet aggregation inhibitor 222
 poisonous substances 253
 polymorphism paternity 242
 polymorphic DNA markers 242
³²P-postlabelling analysis 241
 positive list 261
 post-harvest pesticide 260
 postharvest 260
 postharvest application 246
 potassium bromate 230, 256
 potato 246
 preservation 260, 261
 primary cultured hepatocytes 257
 proliferating cell nuclear antigen 239
 promoting effects 238, 239
 production 112, 261
 Promotion 236

prostaglandin biosynthesis inhibitor 222
 prostaglandin 210
 protein structural analysis 255
 psychotropic substance 66
 purity test 221

Q

quantitative evaluation 144
 quality control 211
 quality evaluation 116, 120, 123, 127, 130
 quality of enzyme preparation 75
 quarantine office 254
 quarantine station 260

R

rabbit serum 235
 radiation vulcanized natural rubber latex 214
 rapid analysis 251
 rare earth elements 245
 rare earths 232
 rat α_1 -acid glycoprotein 245
 rat 25, 91, 235, 238
 rat embryo culture 235
 rat femur 232
 rat serum 235
 rat(s) 237
 RBL-2H3 cells 225
 recombinant DNA technology 253
 recombinational mutation 241
 reduction potential 225
 regulatory science 140, 143
 report on the section of Pharmacopoeia and Phytopharmacy 260
 restriction cleavage analysis 1
 restriction endonuclease 1, 227
 retinopathy 238
 reverse mutation 149, 243
 Ri plasmid 261
 riboflavin 57, 123
 risk assessment 229, 232, 256, 258
 river and top water samples 216
 revision of Japanese Pharmacopoeia 260
 rodent 258
 Root Morphology 250
 rose bengal 13
 rubber chemical 215
 rubber glove 213
 ruberythric acid 222
 Rubia akane Nakai 223
 Rubia tinctorum L 223
 Rubia tinctorum 221

S

S. Enteritidis 228
 saccharin 261

safety evaluation 140, 143, 229, 252
Salmonella spp. 254
Salmonella typhimurium 242
Sapl isoschizomer 227
school room 216
scopolamine 249
scopoletin 249
Scopolia japonica 249
Scopolia Rhizome 249
screening test 47
Scutellaria baicalensis cultivation 261
secondary carcinogenesis 258
secondary metabolites 261
self-association 259
sensitization 144
Sep-Pak tC18 107
separation of iodide and iodate 216
sequence analysis 255
silica gel 220
silicone 252
single cell 233
singlet oxygen 13
site-directed mutagenesis 217
smooth muscle 234
sodium chloride 231
sodium periodate 224
Soil microflora 251
solid phase extraction 215, 216, 252
sorbic acid 247
SOS mutagenesis 259
SOS response 259
Soybean trypsin inhibitor 235, 238
spandextape 212
spermatogonia 39
stability 209
stabilization 209
standard 137
stadard chromatogram 66
standard spectra 66
statistical power 242
statistical procedures 259
stereoselective binding 245
stomach cancer mortality 231
stomach 239
Streptozotocin 236
strontium 222
structural aberrations 259
subchronic toxicity 231, 244
subsidiary colors 221
sulfadimidine 61
sunset yellow FCF 137
sustained-release 251
Syrian golden hamster 236

T

tablet 209
tannin 249
2, 4, 3, '4'-tetrachlorobiphenyl 218
Teratogenicity 214, 247, 248
teratogenic activity 214
testing 258
testicular toxicity 39, 231
testis 34
testosterone hydroxylation 217
tetrakis- μ -3, 5-diisopropylsalicylatodiaquodi
copper(II) 235
tetramethylpyrazine 212
the 14th FAPA 260
thiabendazole 214
thioglycolic acid salt 217
thiols 210 238
thophanatemethyl 224
threshold 232
time of fertilizer application 250
tinuvin P 212
tissue culture 249
titanium trichloride titration method 137
TNF 228
d/- α -tocopherol acetate 217
tolerance 253
total protein 84
toxicity evaluation 146
toxicity 237, 252
toxic microorganisms 254
Trachea carcinogenesis 236
transgenic mouse 149
transgenic mice 241
transplacental 239
transversion 241
tributyltin 218, 220
trihalomethane 244
tropane alkaloids 244, 249, 250, 261
tryptophan 222
tumor promoter 228, 232
twenty-eight-day repeated dose toxicity test 25

U

umu test 240, 259
umuDC 242
uncertainty factor 146
uncoupler 231
unsaturated α -ketol 224
unshaded condition 249
upper digestive tract tumor 237
urea 224
UV mutagenesis 242
UVA 57

V

01 *V. Cholerae* 226
V. cholerae 226, 227
validation 91
veterinary drugs 148
veterinary drug residues 257
vibrionaceae 226
vibrio parahaemolyticus 254
viral validation 211
voltage-gated Ca²⁺ channel 233
V. parahaemolyticus 227

W

water activity 254

water-safety 257
WBN/Kob rats 34
WHO 255
wine 219
wortmannin 233

X

xanthomonasin A 223

Y

Y. enterocolitica 09 226

Z

zearalenone 229

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。
 研究に関する資料：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。
 標準品に関する資料：標準品に関する試験、製造または調査などで、記録しておく必要のあるもの。
 ステートメント：学会等の発表および会議内容の記録。
 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。
 ステートメント：5枚程度
 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し、所長宛の報告書を表紙の上に添えて、定められた原稿〆切期日までに図書館宛に提出する。
5. 原稿の審査：図書委員会は提出された原稿の採否および分類を決定する。また、必要ならば字句や表現の部分的な訂正、図表の書き直しなどを求める。

執 筆 規 定

1. 文 体：現代かなづかい、新送りがなの、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ド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は、和文、英文とも最初は正式な名称とともに示す。例えば、イソニコチン酸(INA)、示差熱分析法—ガスクロマトグラフィー (DTA-GC) と書き、(以下 INA と略す) などとしない。

3・1 単位のべき指数表記には、次の記号を用いる。

テ	ラ (tera)	10 ¹²	T	ミ	リ (milli)	10 ⁻³	m
ギ	ガ (giga)	10 ⁹	G	マイク	ロ (micro)	10 ⁻⁶	μ
メ	ガ (mega)	10 ⁶	M	ナ	ノ (nano)	10 ⁻⁹	n
キ	ロ (kilo)	10 ³	k	ピ	コ (pico)	10 ⁻¹²	p
デ	シ (deci)	10 ⁻¹	d	フェム	ト (femto)	10 ⁻¹⁵	f
セ	ンチ (centi)	10 ⁻²	c	ア	ト (atto)	10 ⁻¹⁸	a

3・2 物理量、化学量、物性などの単位および定数の記号または略号は、次に掲げるものを用いる。

メートル	m	度(セルシウス)	°C	parts per billion	ppb
マイクロメートル	μm	ケルビン度	K	モル濃度	M
ナノメートル	nm	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 ²	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 _m
(L を用いない)		サイクル	cycle	R _f 値	R _f
ミリリットル	ml	回毎分	rpm	保持時間	t _R
(cc を用いない)		ヘルツ	Hz	50%致死量	LD ₅₀
マイクロリットル	μl	キャンデラ	cd	50%有効量	ED ₅₀
(λ を用いない)		ルクス	lx	経口投与	p. o.
立方メートル	m ³	ダイン	dyn	静脈投与	i. v.
グラム	g	気圧	atm	腹腔投与	i. p.
マイクログラム	μg	トル	Torr	皮下投与	s. c.
(γ を用いない)		水銀柱ミリメートル	mmHg	筋肉投与	i. m.
時	hr	毎センチメートル	cm ⁻¹	標準偏差	S. D.
分	min	(カイザー)		標準誤差	S. E.
秒	sec	融点	mp		
(時間は複数でも s をつけない)		分解点	mp(dec.)		
アンペア	A	沸点	bp	紫外吸収	UV
ボルト	V	凝固点	fp	赤外吸収	IR
オーム	Ω	比重	d	核磁気共鳴	NMR
ガウス	G	屈折率	n	電子スピン共鳴	ESR
エルステッド	Oe	重量パーセント	%	旋光分散	ORD
ジュール	J	容量/重量パーセント	v/w%	円偏光二色性	CD
カロリー	cal	parts per million	ppm	マススペクトル	MS

4. 句読点: , . を用い、, 。 としない。

5. 数字: アラビア数字を用いる。千の単位にコンマをつけない。ただし、成語となっている数字は漢字とする。

6. 字体の指定: 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、ステートメントの記載要領:

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^{3), 2), 1-4)}のように記し, 終わりに文献として引用順に書く。

雑誌名は Chemical Abstracts 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。

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)

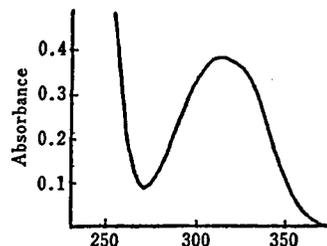


Fig. 2. Ultraviolet spectrum of material for "Ergometrine Maleate Reference Standard" (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (コピーにタイプ)

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^{a), b), ……}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。

編集後記

今回の第111号では、編集方針に次のような数点の変更があった。先ず、各部からの図書委員の中から7名の衛生試験所報告編集委員を選んだ。総説、報文、資料等審査を必要とするものについては、編集委員から先ず第2校閲者を決め、その各々が所内から最も適当と思われる第1校閲者を選定、依頼して審査に当たった。第2には、当所におけるレギュラトリーサイエンスの重要性に鑑み、「ステートメント」の分野を新たに設け、今回は所員の日本薬学会での「レギュラトリーサイエンス討論会」における発表報告および各種のレギュラトリーサイエンス関連会議（今回は、海外でのものに限った）の報告を掲載した。今後もこの分野の報告は継続することになった。第3に、誌上発表

リストをより見やすくするために、一定の行数、字数に制限してまず目の中に記載することにした。この点に関しては、次号からもより一層の協力を望みたい。第4に、従来の「資料」を「標準品に関する資料」と「研究等に関する資料」に区分して掲載した。第5に、別冊作成上の便を考慮して報文等の頁切りを徹底した。なお、編集に関わる業務の一部を業務課が担当することとなった。最後に、より充実した形の衛生試験所報告とするためにも、編集委員、図書委員のみならず、所内外から広く積極的な御意見をいただき、次号以降の編集方針の参考としたいと思うものである。

(黒川 雄二)

平成5年度図書編集委員

寺尾 允 男	*黒川 雄 二	神 沼 二 眞	木 倉 瑠 理
小 林 哲	*小 野 景 義	新 谷 英 晴	*徳 永 裕 司
根 本 了	河 村 葉 子	丹 野 雅 幸	*手 島 玲 子
最 上 知 子	小 畠 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	村 上 真 平	

(*は編集委員)

衛生試験所報告 第111号

平成5年11月20日印刷
平成5年11月25日発行

発行所 国立衛生試験所化学物質情報部
東京都世田谷区上用賀1丁目18番1号

印刷所 サンコー印刷株式会社
東京都文京区小石川2-25-12-903